



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112358548 B

(45) 授权公告日 2024.10.25

(21) 申请号 202011269813.2

(22) 申请日 2014.07.03

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112358548 A

(43) 申请公布日 2021.02.12

(30) 优先权数据
13174995.4 2013.07.03 EP

(62) 分案原申请数据
201480048732.6 2014.07.03

(73) 专利权人 因美诺克股份公司
地址 德国杜塞尔多夫

(72) 发明人 萨达·F·Y·哈克
艾德里安·海迪 凯·金萨德
凯·克朗 安娜莉莎·玛卡吉诺
史蒂芬·迈耶 帕特·彼得森
麦克·罗斯 菲利普·弗拉伊库
马丁·沃克沃德

(74) 专利代理机构 成都超凡明远知识产权代理
有限公司 51258
专利代理师 王晖 刘书芝

(51) Int.Cl.

G07K 16/24 (2006.01)

G12N 15/13 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

G01N 33/564 (2006.01)

G01N 33/577 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

A61P 5/00 (2006.01)

(56) 对比文件

WO 2013059299 A1, 2013.04.25

CN 101128484 A, 2008.02.20

审查员 程珂

权利要求书2页 说明书73页
序列表77页 附图47页

(54) 发明名称

人抗IFN- α 抗体、IFN- α 结合片段、多核苷酸、组合物、试剂盒及应用和制备方法

(57) 摘要

本发明涉及人抗IFN- α 抗体、IFN- α 结合片段、多核苷酸、组合物、试剂盒及应用和制备方法。该抗IFN- α 抗体或IFN- α 结合片段包括以下互补决定区CDR: VH-CDR1: 氨基酸序列为SEQ ID NO: 84的第31-35位, VH-CDR2: 氨基酸序列为SEQ ID NO: 84的第50-66位, VH-CDR3: 氨基酸序列为SEQ ID NO: 84的第99-112位, VL-CDR1: 氨基酸序列为SEQ ID NO: 86的第24-34位, VL-CDR2: 氨基酸序列为SEQ ID NO: 86的第50-56位, 以及VL-CDR3: 氨基酸序列为SEQ ID NO: 86的第89-98位。

1. 一种人抗IFN- α 抗体,所述抗体:
 - (i) 结合至人IFN- α 亚型IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA10和IFNA14;
 - (ii) 结合于人IFN- α 亚型IFNA1/13、IFNA8、IFNA16和IFNA21中的至少一种;以及
 - (iii) 能够中和在(i)和(ii)中限定的所述人IFN- α 亚型中的至少一种,以及在其可变区中包括以下互补决定区CDR:
VH-CDR1:氨基酸序列为SEQ ID NO:84的第31-35位,
VH-CDR2:氨基酸序列为SEQ ID NO:84的第50-66位,
VH-CDR3:氨基酸序列为SEQ ID NO:84的第99-112位,
VL-CDR1:氨基酸序列为SEQ ID NO:86的第24-34位,
VL-CDR2:氨基酸序列为SEQ ID NO:86的第50-56位,以及VL-CDR3:氨基酸序列为SEQ ID NO:86的第89-98位。
2. 根据权利要求1所述的人抗IFN- α 抗体,其中所述人抗IFN- α 抗体为IgG1。
3. 根据权利要求1所述的人抗IFN- α 抗体,在其可变区中包括如SEQ ID NO:84所示的VH区的氨基酸序列以及如SEQ ID NO:86所示的VL区的氨基酸序列。
4. 根据权利要求1所述的人抗IFN- α 抗体,包括C_H和/或C_L恒定区,所述C_H和/或C_L恒定区包括选自SEQ ID NO:88和90的氨基酸序列或具有至少91%同一性的氨基酸序列。
5. 根据权利要求1所述的人抗IFN- α 抗体,其针对至少五种人IFN- α 亚型具有 ≤ 10 ng的IC50值。
6. 根据权利要求1所述的人抗IFN- α 抗体,其被可检测地标记或附着于药物。
7. 根据权利要求6所述的人抗IFN- α 抗体,其中可检测标记选自由酶、放射性同位素、荧光团、肽和重金属组成的组。
8. 一种编码根据权利要求1至7中任一项所述的抗IFN- α 抗体的多核苷酸。
9. 一种包括根据权利要求8所述的多核苷酸的载体。
10. 一种包括根据权利要求8所述的多核苷酸或根据权利要求9所述的载体的宿主细胞。
11. 一种组合物或试剂盒,包括根据权利要求1至7中任一项所述的人抗IFN- α 抗体,根据权利要求8所述的多核苷酸,根据权利要求9所述的载体,和/或根据权利要求10所述的宿主细胞。
12. 根据权利要求11所述的组合物或试剂盒,其中所述组合物为:
 - (i) 药物组合物,并且进一步包括药学上可接受的载体;或
 - (ii) 诊断组合物或试剂盒,并且进一步包括常规用于基于免疫的或基于核酸的诊断方法中的试剂。
13. 根据权利要求12所述的组合物,其中所述组合物进一步包括用于治疗免疫介导的疾病或病症的另外药剂,其中所述另外药剂选自由抗炎药和抗风湿药组成的组。
14. 根据权利要求12所述的组合物,其中,所述组合物进一步包括用于治疗自身免疫性疾病或病症的另外药剂,其中所述另外药剂选自由抗炎药和抗风湿药组成的组。
15. 根据权利要求13或14所述的组合物,其中,所述另外药剂选自由非甾体抗炎药、皮质类固醇、抗组胺剂和免疫抑制药组成的组。
16. 根据权利要求14所述的组合物,其中,所述自身免疫性疾病选自由系统性红斑狼

疮、皮肤性红斑狼疮、盘状红斑狼疮、1型糖尿病、干燥综合征、皮炎、多发性硬化症、银屑病、自身免疫性甲状腺炎、类风湿性关节炎、脊柱关节炎和硬皮病、肾小球肾炎和自身免疫性多内分泌腺病综合征1型组成的组。

17. 根据权利要求16所述的组合物,其中,所述自身免疫性甲状腺炎是格雷夫斯病。

18. 根据权利要求1至7中任一项所述的人抗IFN- α 抗体在制备用于检测或确定IFN- α 的试剂盒中的应用,其中,所述人抗IFN- α 抗体与混合物中存在的IFN- α 亚型形成复合物,以及检测所述混合物中存在的所述复合物。

19. 一种用于制造人源化的抗IFN- α 单克隆抗体、或者包括所述抗IFN- α 单克隆抗体的组合物的方法,该制造包括以下步骤:通过在重组宿主生物体中表达编码根据权利要求1至7中任一项所述的人抗IFN- α 抗体的转化DNA来制备所述抗体。

20. 根据权利要求19所述的方法,其中,所述组合物为药物组合物,并且其中,在制备所述抗体的步骤之后,在药物组合物的制造中使所述抗体与药学上可接受的载体混合。

人抗IFN- α 抗体、IFN- α 结合片段、多核苷酸、组合物、试剂盒及应用和制备方法

[0001] 本申请是申请日为2014年7月3日发明名称为“人抗IFN- α 抗体”的申请号为2014800487326(国际申请号为PCT/EP2014/064167)的发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明大体上涉及结合哺乳动物(优选人)源的IFN- α 的新型分子,特别是识别IFN- α 的不同亚型的人单克隆抗体及其片段、衍生物和变体。特别地,提供了重组的人患者来源的抗IFN- α 抗体及其制备方法。此外,描述了包括可用于治疗和诊断失调(紊乱, disorder)的这样的结合分子、抗体及其模拟物(mimics)的组合物。此外,本发明涉及在免疫治疗中用作药剂以及在自身免疫和自发炎症性失调以及恶性肿瘤(诸如全身性红斑狼疮(SLE)和1型糖尿病(T1DM))的治疗干预中用作靶的自身抗体(自体抗体)。更具体地,本发明涉及单克隆自身抗体,该单克隆自身抗体已经与来源于由于涉及免疫调节的基因突变而通常受已受损的中枢和/或外周耐受或自身耐受的丧失影响的受试者的B细胞分离。

背景技术

[0003] 免疫系统的不恰当反应可以引起所涉及机体的应激症状(stressful symptom)。通常对动物或人的健康没有显著影响的外来物质或物理状况的的夸张的免疫应答可能引起具有下述症状的过敏,上述症状在从温和反应(诸如皮肤刺激)到致命情形(诸如过敏性休克或各种血管炎)的范围内变动。对内源性抗原的免疫应答可以引起自身免疫失调,诸如系统性红斑狼疮(SLE)、1型或胰岛素依赖型糖尿病(T1DM或IDDM)和不同形式的关节炎。

[0004] 免疫反应以协调方式发生,涉及多种细胞并且需要通过信号分子诸如所涉及的细胞之间的细胞因子进行通讯。可以通过例如信号拦截或各受体的阻断来影响或抑制这种通讯。

[0005] 细胞因子是以纳摩尔至皮摩尔浓度的作为体液调节物的分泌的可溶性蛋白、肽和糖蛋白,由于它们在系统水平起作用,因此其表现出像典型荷尔蒙,并且它们在正常或病理状况下调节各个细胞和组织的功能活性。细胞因子与荷尔蒙的不同之处在于:它们并不是由组织在专门腺体中的专门细胞生成的,即不存在针对这些介体(mediator)的单一器官或细胞源,这是因为它们实质上由先天免疫和适应性免疫所涉及的所有细胞表达,上述细胞诸如为上皮细胞、巨噬细胞、树突细胞(DC)、自然杀伤(NK)细胞,并且特别是由其中主要是辅助性T(Th)淋巴细胞的T细胞表达。

[0006] 根据它们各自的功能,细胞因子可以被分为三种功能类别:调节先天免疫反应、调节适应性免疫反应以及刺激造血。由于它们在所述三种类别内的例如涉及细胞活化、增殖、分化、募集或其他生理反应(例如通过靶细胞来分泌炎症特有的蛋白)的多效活性,已经发现由异常调节的细胞因子产生介导的细胞信号传导的干扰是与缺陷免疫反应相关联的许多失调(例如炎症和肿瘤)的原因。

[0007] 由三种已知的蛋白家族(I型、II型和III型干扰素)组成的干扰素(IFN)构成细胞

因子的最重要种类之一。所有的人I型干扰素结合至由两种跨膜蛋白(IFNAR-1和IFNAR-2)组成的细胞表面受体(IFN α 受体,IFNAR),该细胞表面受体引起JAK-STAT活化、ISGF3的形成和随后开始的基因表达(Platanias和Fish,Exp.Hematol.(1999),1583-1592)。已经在例如Stark等人,Annu.Rev.Biochem.(1998),227-64;Pestka S.,Biopolymers(2000),254-87中综述了I型IFN的组合物、受体和信号通路。I型干扰素构建了在结构上相关的家族(IFN- α (α)、IFN- β (β)、IFN- κ (κ)、IFN- δ (δ)、IFN- ϵ (ϵ)、IFN- τ (τ)、IFN- ω (ω)和IFN- ζ (ζ)),其中IFN- δ 和IFN- τ 不会在人类中出现。人I型干扰素(IFN)基因簇集在人染色体9p21上,而小鼠基因位于小鼠4号染色体上的保守的共线性区中。迄今为止,已在小鼠中鉴定出14种IFN- α 基因和3种伪基因。在人类中,已经鉴定出13种IFN- α (或IFNA)基因(IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA8、IFNA10、IFNA13、IFNA14、IFNA16、IFNA17和IFNA21)以及1个伪基因,其中两种人IFN- α 基因(IFNA1/IFN- α 1和IFNA13/IFN- α 13)针对相同的蛋白编码(van Pesch等人,J.Virol.(2004),8219-8228)。

[0008] IFN- γ 是唯一的II型干扰素。其主要涉及通过巨噬细胞刺激诱导抗菌和抗肿瘤机制。IFN- γ 受体(IFNGR)是由与两种信号转导IFNGR2链相关联的两种配体结合IFNGR1链组成的异质二聚体受体(Schroder等人,J.Leukoc.Biol.75(2004),163-189;Bach等人,Annu.Rev.Immunol.15(1997),563-591)。III型干扰素由三种亚型组成,并且还被称为IFN λ (IFN λ 1或IL-29、IFN λ 2或IL-28A和IFN λ 3或IL-28B),且具有抗病毒、抗肿瘤和免疫调节活性。IFN- λ 受体也是由唯一的配体结合链IFN- λ R1(也被指定为IL-28R α)以及与用于IL-10相关细胞因子的受体共享的副链IL-10R2组成的异质二聚体复合物(Li等人,J.Leukoc.Biol.86(2009),23-32)。

[0009] I型干扰素是具有抗病毒、抗肿瘤和免疫调节功能的多效细胞因子。根据所处环境,它们可以是抗炎的和组织保护性的或促炎的,并且促进自身免疫。IFN- β 1a或1b用于治疗多种硬化症,而IFN- α 2b疗法用于多种癌症(黑素瘤、血液学、恶变)。经常在患有系统性红斑狼疮(SLE)的患者的血清中检测到升高的IFN- α 活性,这表明IFN- α 在SLE的发展中起核心作用(Rönnblom和Alm,J.Exp.Med.(2001),F59-F63;Crow MK,Arthritis Rheum.(2003),2396-2401;Crow MK.,Curr Top Microbiol.Immunol.(2007),359-386;Crow MK.Rheum Dis Clin North Am.(2010),173-186)。

[0010] 另一方面,在患有各种自身免疫失调(诸如SLE、T1DM、干燥综合征、皮炎、多发性硬化症(MS)、银屑病和风湿性关节炎(RA)患者的患者的白细胞中显示出干扰素依赖基因的特异性表达谱(pattern)(也称为“干扰素签名”)。此外,在IFN- α 治疗期间已经重复观察到炎性关节炎、MS和T1DM的发展,这表明IFN- α 至少促进了那些疾病Crow MK.,Arthritis Res Ther.(2010),Suppl 1:S5)。另外的数据表明在肌炎、系统性硬皮病、慢性牛皮癣(Higgs等人,Eur Musc Rev(2012),22-28;Bissonnette等人,J Am Acad Dermatol(2009),427-436;Greenberg SA,Arth Res Ther(2010):S4)和自身免疫甲状腺炎(Prummel和Laurberg,Thyroid(2003),547-551)中涉及IFN- α 。

[0011] 因此,其中根据环境情形,在例如RA、MS和不同白血病中使用I型干扰素进行治疗或在例如SLE中使用中和I型干扰素的抗体进行治疗可以表明,非常相同的治疗可能通过促进自身免疫、炎症和干扰素治疗相关的毒性而对患者有害,或者甚至引起诸如MS和T1DM的疾病的发展。这些不同效果的一个因素可能由下述事实引起:尽管不同的IFN亚型激活相同

的细胞表面受体复合物,但是它们介导还是细胞类型依赖性的不同反应(van Pesch等人,J Virol 78(2004),8219-8228;Antonelli G.,New Microbiol.31(2008),305-318;Gibbert等人,PLoS Pathog.8(2012),e1002868)。因此,优选地应当以选择性方式进行治疗,其中,向患者给予仅特定的IFN- α 亚型,或中和特定的IFN- α 亚型,这与给定的病理状况有关。关于IFN- α 治疗,这样的选择性可以通过使用用于治疗目的的高度纯化的IFN- α 制剂获得Antonelli G.,New Microbiol.31(2008),305-318)。然而,关于IFN- α 抗体的使用,较难获得关于特异性IFN- α 亚型的选择性,这是因为在氨基酸水平存在高同源度,其中在IFN- α 亚型之间具有80-95%的同源性而在IFN- β 亚型之间具有50%的同源性。因此,可以期望提供在对所有的、选择的或特定的人IFN α 亚型具有不同特异性的人体中耐受的IFN- α 抗体的池,其可以根据治疗和/或诊断指示而选择性使用。

[0012] 已经进行了实现该目的首次尝试。例如,专利申请US2009/0214565 A1描述了分离多种小鼠抗人IFN- α 抗体,其中和人IFN- α 的第三至第十三不同亚型之间的不同亚型,并且美国专利第7,087,726B2号描述了识别人IFN- α 的第七亚型的小鼠抗人IFN- α 抗体及其人源化版本。然而,迄今为止提供的抗IFN抗体即便不是全部也是大多数为鼠源性的,因此易于对人产生不良反应。

[0013] 由于人体中对外来抗体如小鼠抗体的免疫反应(HAMA-反应(HAMA-response); Schroff等人,Cancer Res.45(1985),879-885;Shawler等人,J.Immunol.135(1985),1530-1535),因此在当前的治疗方法中大多使用人源化版本的抗体(Chan和Carter,Nature Reviews Immunology 10(2010),301-316;Nelson等人,Nature Reviews Drug Discovery 9(2010),767-774)。一种获取这样的抗体的方法是将互补决定区(CDR)移植到完全的人体框架中,一种称为抗体人源化的方法(Jones等人,Nature 321(1986),522-525)。这种方法经常由于下述事实而复杂化:小鼠CDR不易于转移到人体可变域框架,从而导致人源化抗体相对于其亲代小鼠抗体具有较低的亲和力。因此,通常需要另外的和详尽的诱变实验,以增加如此工程化的抗体的亲和力。另一种用于实现人源化抗体的方法是对已经用人抗体基因替代其先天性抗体基因的小鼠进行免疫,并分离通过这些动物产生的抗体。然而,这种方法依然需要用抗原进行免疫,但却不可能用所有抗原进行免疫,原因在于它们中的一些存在毒性。此外,这种方法限于特异性菌株的转基因小鼠的产生。

[0014] 另一种方法是使用人抗体库,诸如如在国际申请W0 2005/007699中描述的例如用于生成IL-13特异性抗体的噬菌体展示。此处,通过将人抗体基因插入到噬菌体群中来工程化细菌噬菌体以在它们的表面上展示人scFv/Fab片段。遗憾的是,这种方法也存在很多缺点,包括用于多价展示的蛋白序列的尺寸限制、对来自细菌的蛋白即抗体scFv/Fab片段的分泌的需求、库的尺寸限制、有限数量的所生产且经测试的可能抗体、降低比例的具有通过自然免疫产生的体细胞突变的抗体;并且所有噬菌体编码的蛋白都是融合蛋白,这可能限制了用于一些蛋白结合的活性或可接近性(accessibility)。相似地,欧洲专利申请EP 0 616 640 A1描述了由在噬菌体上展示的抗体片段集合(repertoire)来生成自身抗体。在这方面,由未免疫的人来生成噬菌体库(参见,例如第16页第43-51行的实施例1;第17页第[0158]段第57-58行的实施例2)。然而,与在哺乳动物即人体中生成并成熟的抗体相比,该专利申请中描述的方法也存在从噬菌体库生成的抗体的上述一般缺点。

[0015] 这同样适用于最显著的抗IFN α 单克隆抗体斯法利木单抗(Sifalimumab)(以前称

为MEDI-545),其结合并特异性地中和大多数IFN- α 亚型,从而阻止通过I型IFN受体发送信号。斯法利木单抗据称是“人”抗IFN α 单克隆抗体,但其实际上已经源自人源化小鼠,即源自前Medarex公司的UltiMab平台,该平台基于在其中引入了最大比例的人生殖细胞系集合的转基因小鼠。

[0016] 然而,虽然来自人源化小鼠的抗体的氨基酸序列是人源性的,但是这些抗体是人造的而非真正的人类抗体,这是因为它们并未在人体中经受免疫、重组、选择和亲和力成熟,正是由于该原因,依然存在它们是免疫性的和较少有效的风险,特别是与人源化抗体相比。

[0017] 鉴于上述内容,依然需要另外的新型化合物如结合分子,其针对特定的人IFN- α 亚型具有高特异性、针对选定的范围或针对所有的IFN- α 亚型是特异性的,并且其无论对于单一疗法还是组合方法均在人体中是可容许的。

[0018] 通过如在权利要求书中所表征的且在说明书中所公开的以及实施例和附图中所说明的本发明的实施方式,下面进一步提供了该问题的解决方案。

发明内容

[0019] 本发明涉及IFN- α 特异性人单克隆抗体及其IFN- α 结合片段。特别地,如在实施例和附图中所示出的,人单克隆抗IFN- α 抗体被设置有针对IFN- α 亚型的选择性结合分布并且显示出结合和中和活性。由于它们的中和性质,本发明的抗体具有治疗、预后和诊断功效,这使它们特别是对于与多种多样的自身免疫或自身炎症失调和病症相关的应用是有价值的:所述失调和病症与不期望的免疫反应的起始和/或维持中的IFN- α 活性相关联/涉及不期望的免疫反应的起始和/或维持中的IFN- α 活性,诸如系统性红斑狼疮(SLE)、包括但不限于类风湿性关节炎(RA)的各种形式的关节炎、I型或胰岛素依赖型糖尿病(T1DM或IDDM)、干燥综合征、皮炎、多发性硬化症(MS)、银屑病、慢性银屑病、肌炎、系统性硬皮病、自身免疫性甲状腺炎和包括白血病的癌症(ALL;Einav等人,Oncogene 24(2005),6367-6375);还参见上述“背景技术”部分,其中描述了IFN- α 亚型及其可能涉及的失调以及对本发明的抗体在相关治疗、诊断和/或预兆应用中的隐含。

[0020] 本发明的抗体优选地从哺乳动物特别是人分离,其受受损的中枢和/或外周耐受性或自身耐受性的丧失的影响,该受损的中枢和/或外周耐受性或自身耐受性的丧失可能由自身耐受的破坏或反常发生引起或者与其相关,其优选地由单基因自身免疫失调引起。为根据本发明的自身抗体提供特别适合的来源的哺乳动物的实例为下述哺乳动物,例如患有与AIRE(自身免疫调节)基因的突变相关联的失调的人,上述失调诸如为自身免疫性多内分泌腺病综合征I型(APS1)(Peterson等人,Nat.Rev.Immunol.8(2008),948-957)、自身免疫性多内分泌腺病综合征II型(APS2)(Baker等人,J.Clin.Endocrinol.Metab.95(2010),E263-E270)和免疫失调多发性内分泌腺病肠病X连锁综合征(IPEX)(Powell等人,J.Pediatr.100(1982),731-737;Ochs等人,Immunol.Rev.203(2005),156-164)。优选地,从其分离抗体的患者为APS1患者,其特征是不存在系统性红斑狼疮(SLE)的症状,并且显示出抗dsDNA和至少一种人IFN- α 亚型的血清反应性(seroreactivity)。

[0021] 特别地,根据本发明,源于人和人类患者的抗IFN- α 抗体首次被提供有不同的IFN- α 结合分布和IFN- α 中和活性,从而单独或组合地覆盖基本上所有的IFN- α 亚型。

[0022] 因此,在一方面,本发明大体上涉及若干种IFN- α 亚型的高亲和力中和单克隆抗体。在另外的方面中,本发明涉及针对若干种IFN- α 亚型,即人IFN- α (IFNA) 亚型IFN- α 1/13 (IFNA1/13; IFNA1b)、IFN- α 2 (IFNA2)、IFN- α 4 (IFNA4)、IFN- α 5 (IFNA5)、IFN- α 6 (IFNA6)、IFN- α 8 (IFNA8)、IFN- α 10 (IFNA10)、IFN- α 14 (IFNA14) 或IFN- α 21 (IFNA21) 中的至少一种的人单克隆抗体 (mAb或MAB),如下文详细描述,它们被认为是对于其中涉及那些细胞因子的失调安全且有效的疗法。在一个实施方式中,本发明的IFN- α 结合分子并不结合和/或中和任何显著程度的IFN- β (β 干扰素, IFNB)、IFN- γ (γ 干扰素, IFNG) 或IFN- ω (干扰素 ω , IFNW)。

[0023] 在另一个实施方式中,根据本发明,提供了抗IFN- α 抗体,它们另外地分别结合至IFN- ω 并且中和IFN- ω 的活性,IFN- ω 到目前为止被描述为在其抗原特性方面与IFN- α 无关,这是因为其在免疫测定或抗病毒中和生物测定中通常不与抗血清或单克隆抗体交叉反应。因此,在一个方面,本发明涉及新型的IFN结合分子,优选地人源化单克隆抗体及其片段和生物技术衍生物,其能够结合至至少一种人IFN- α 亚型和人IFN- ω 和/或中和至少一种人IFN- α 亚型和人IFN- ω 的活性。优选地,针对一种或多种IFN- α 亚型和IFN- ω ,IFN结合分子的结合和中和活性分别为基本上相同或至少处于同一量级。

[0024] 自然地,本发明扩展至核酸,特别是编码本发明的抗体的至少一种可变、恒定和/或互补决定区的cDNA,并且扩展至包括这样的核酸的载体、产生抗体的细胞系和重组细胞。本发明还涉及药物组合物、诊断测定物和试剂盒以及基于其的治疗方法,上述药物组合物、诊断测定物和试剂盒均包括通过根据本发明分离的抗体识别的结合分子或肽。

[0025] 另外,本发明涉及一种方法,其用于分别制造人源化抗IFNA和抗IFNA/IFNW单克隆抗体或其IFN结合片段或生物技术衍生物,或者用于制造分别包括抗IFNA和抗IFNA/IFNW单克隆抗体或者其IFN-结合片段或生物技术衍生物的组合,该制造包括下述步骤:通过在重组宿主生物体中表达编码抗体、其IFN结合片段或生物技术衍生物的转化DNA来制备抗体、其IFN结合片段或生物技术衍生物。在一个实施方式中,该组合物为药物组合物,其中,在制备抗体、其INF结合片段或生物技术衍生物的步骤之后,在药物组合物的制造中使抗体、其IFN结合片段或生物技术衍生物与药学上可接受的载体混合。

[0026] 虽然通过参照在根据本发明进行的和在实施例中描述的实验中最初获得的人源化抗体来说明和描述本发明,但是需要理解的是,本发明的抗体或抗体片段包括抗体的合成和生物技术衍生物,其表示通过化学或重组技术合成的任何工程化抗体或抗体样的IFN结合分子,其保留了受试者抗体的功能特性中的一种或多种,特别是其针对IFNA和INFNW的中和活性。因此,虽然为了简明起见可以通过参考抗体来描述本发明,但是除非另有说明,否则抗体的合成和生物技术衍生物以及等同的IFN结合分子也意指术语抗体并且包括在术语抗体的含义中。

[0027] 根据下面的描述和实施例,本发明的其他实施方式将是显而易见的。

附图说明

[0028] 图1:本发明的抗IFN- α 特异性人抗体的可变区即重链和 κ/λ 轻链(VH, VL)的氨基酸序列。IgG1、 κ -抗IFN- α 特异性抗体A:5D1、B:13B11、C:19D11、D:25C3、E:26B9、F:31B4、G:8H1、H:12H5和I:50E11。用加有下划线的CDR指示框架(FR)和互补决定区(CDR)。斜体的氨基

酸表示尚未序列化但已从数据库获得的序列。由于克隆策略,在重链和轻链的N端的氨基酸序列可能潜在地包含FR1的引物诱导改变,然而这实质上并不影响抗体的生物活性。

[0029] 图2:交叉-竞争-表位图。在关于A: IFNA2、B: IFNA4和C: IFNA1的交叉竞争实验中研究了本发明的示例性抗IFNA MAB与不同结合位点的不同结合。作为IFN- α 非结合对照(hIgG1),已经使用了与不相关抗原结合的人抗体。

[0030] 图3:EC50 ELISA测定。hMAB 5D1、13B11、25C3和26B9与A: IFNA2、B: IFNA4和C: IFNA14的EC50结合。hMAB D:19D11和E:31B4与IFNA2/-4/-14的EC50结合。

[0031] 图4:使在APS1患者中存在已知的疾病相关和保护性自身抗体相关,表明IFN- α 自身抗体阻止了红斑狼疮在APS1患者中的发作(列dsDNA至IFN α 14)。靶:在相关研究中检查的特定APS1患者的编码编号。抗dsDNA抗体对SLE是高度特异性的,并且用于诊断该疾病。尽管如通过ProtoArray分析(Life Technologies公司)所评估的,频繁存在抗-dsDNA抗体,但是没有APS1患者狼疮。APS1患者显示出针对作为许多狼疮牵连分子机制中所涉及的临床相关药物靶的若干种IFN- α 亚型的明显血清反应性。圆圈表明存在特定抗体,而空单元格(empty cell)表明不存在特定抗体。患者2、4、13和21(黑色箭头)为T1DM。患者10、14、16、17和18(白色箭头)具有作为T1DM的特性但并非T1DM。结果表明在患有T1DM的APS1患者和未患有T1DM的APS1患者的血清中的不同的中和活性。如可以从图31和图32推断出的,这里观察到的这种区别似乎是由于两种患者类型的抗IFN抗体的滴度差异而不是由于单独的抗IFN抗体的中和活性差异,其中在未患有T1DM的APS1患者中具有更高的抗体滴度。

[0032] 图5:人源化的抗IFN- α 单克隆抗体中和HEK 293细胞中的rhIFNA介导的STAT1激活。在缺乏抗体的情况下或在存在人源化的IFNA单克隆抗体或如(Ctrl)所示的人对照IgG的情况下,HEK 293T细胞未被处理(-)或者利用重组人rhIFNA或IFN高斯荧光素酶融合蛋白(g1 IFN)刺激(+).细胞裂解物经受SDS-PAGE,并且在免疫印迹中显现出磷酸化的STAT1水平(pSTAT1)。总的STAT1水平或微管蛋白水平充当加载对照。抗体浓度:5 μ g/ml。rhIFNA浓度:10ng/ml(rhIFNA1)、2ng/ml(所有其他的rhIFN);瞬时表达IFN-高斯荧光素酶融合蛋白的293T细胞的含g1 IFNA的上清液以它们各自的EC80稀释使用。A1:对照:在100ng/ml的IFNA2/-4/-14刺激之后,通过免疫印迹(WB)在293T细胞中检测总的和磷酸化的STAT1(pSTAT1)。通过IFNA2/-4/-14进行的293T-细胞刺激。(i):磷酸化的STAT1,(ii):总的STAT1,(iii)微管蛋白加载对照。时间:指明利用各自的IFN对细胞的处理持续时间。在刺激之后,对于所有的三种IFNA亚型均可以观察到磷酸化的STAT1。在印迹的左侧示出了各分子量(kDa)标准带的位置,以用于对比。A2:对照:在用不同剂量的rhIFNA1、rhIFNA2和rhIFNA16刺激之后,通过免疫印迹(WB)在293T细胞中检测总的和磷酸化的STAT1(pSTAT1)。B: IFNA1、IFNA2、IFNA4、g1 IFNA5和IFNA6刺激。除5D1之外的所有示例性抗体均有效地中和IFNA1,并且所有示例性抗体均中和IFNA2、IFNA4和g1 IFNA5。示例性抗体25C3、5D1和13B11显示出IFNA6的较弱的中和性。C: IFNA7、g1 IFNA8、IFNA10、IFNA14和IFNA16刺激。所有示例性抗体均中和IFNA7。除25C3和13B11之外的所有示例性抗体有效地中和g1 IFNA8。通过除25C3之外的所有示例性抗体有效地中和IFNA10,而仅通过示例性抗体19D11、5D1和13B11有效地中和IFNA16。D: IFNA17、IFNA21、IFNW、IFNB和g1 IFNG刺激。所有示例性抗体均中和IFNA17,并且除13B11之外的所有示例性抗体有效地中和IFNA21。明显地仅通过示例性抗体26B9和31B4有效地中和IFNW。示例性抗体均不中和IFNB或g1 IFNG。

[0033] 图6:荧光虫荧光素酶报告构建体和用作内部归一化对照的海肾荧光素酶构建体的示意图。TRE-转录应答元件;CMV-巨细胞病毒。

[0034] 图7:人源化的抗IFN- α 单克隆抗体中和HEK 293T细胞中的rhIFNA诱导的ISRE荧光素酶报告基因激活。A和B:测试示例性抗IFN- α 抗体19D11、25C3、26B9和31B4。在缺乏抗体的情况下或在存在人源化的IFNA单克隆抗体或如所示出的人对照IgC的情况下,瞬时表达ISRE双荧光素酶报告构建体的HEK 293T细胞未被处理(-)或者利用rhIFN刺激(+).rhIFN浓度:2ng/ml;抗体浓度:5 μ g/ml,C和D:测试示例性抗IFN- α 抗体5D1和13B11。如在(A/B)中一样处理瞬时表达ISRE双荧光素酶报告构建体的HEK 293T细胞,并且在24小时之后分析ISRE报告活性。rhIFNA浓度:1ng/ml;抗体浓度:5 μ g/ml。A/C:相关荧光素酶单元的测量,B/D:表达的倍数变化的计算。E:通过本发明的示例性人源化单克隆抗体8H1和12H5来中和rhIFNA1、A2、A4、A5、A6、A7、A8、A10、A14、A16、A17、A21、rhIFNW和rhIFNB。示例性抗体8H1完全中和IFNW以及IFNA1、A4、A5、A6、A7、A10、A16、A17和A21,而显示出对IFNA2、A8和A14的稍微较弱的中和性。示例性的抗体12H5中和所有的IFNA亚型但未中和IFNW。示例性的抗体8H1和12H5均不中和IFNB。HEK 293T MSR如在A中一样进行处理,并且在24小时之后分析ISRE报告活性。rhIFN浓度:10ng/ml (IFNA1)、1.3ng/ml (IFNA16)、4ng/ml (IFNA21)、1ng/ml (IFNB)和2ng/ml (所有其他的IFN)。抗体浓度:5 μ g/ml。

[0035] 图8:通过ISRE-荧光素酶报告中和测定对示例性人源化的IFNA mAb 26B9进行的IC50分析。通过示例性的抗体26B9进行的IC50中和图:A:IFNA2;B:IFNA4;C:IFNA5;D:IFNA8;E:IFNA14。示出了针对示例性抗体26B9的一系列证实性中和测定的IC50分析结果:F:IFNA1、G:IFNA2、H:IFNA4、I:IFNA5、J:IFNA6、K:IFNA7、L:IFNA8、M:IFNA10、N:IFNA14、O:IFNA16、P:IFNA17、Q:IFNA21和R:IFNW。表4中总结了IC 50数据。如之前的图中一样,Y轴的RLU=相对光单位。

[0036] 图9:通过ISRE荧光素酶报告中和测定对示例性的人源化抗IFN- α mAb 25C3进行的IC50分析。如图8所描述的进行测定。通过示例性的抗体26B9进行的IC50中和图:A:IFNA2;B:IFNA4;C:IFNA5;D:IFNA8和E:IFNA14。

[0037] 图10:通过ISRE荧光素酶报告中和测定对示例性的人源化抗IFN- α mAb19D11进行的IC50分析。如图8所描述的进行测定。通过示例性的抗体19D11进行的IC50中和曲线图:A:IFNA2;B:IFNA4;C:IFNA5;D:IFNA8;E:IFNA14。通过示例性的抗体19D11进行的一系列证实性实验的IC50中和曲线图:F:IFNA1;G:IFNA2;H:IFNA4;I:IFNA5;J:IFNA6;K:IFNA7;L:IFNA8;M:IFNA10;N:IFNA14;O:IFNA16;P:IFNA17和Q:IFNA21。在表4中总结了IC50数据。

[0038] 图11:A:通过ELISA进行的本发明的示例性MAB 19D11、25C3、26B9、5D1和13B11与IFNA1和IFNA2(免疫工具(ImmunoTools))的结合的确定和对比。示例性的抗IFNA- α 抗体5D1不与IFNA1交叉反应。B:通过LIPS进行的本发明的示例性MAB 5D1、13B11、19D11、25C3、26B9和31B4与IFNA8和IFNA14(IFN-高斯荧光素酶融合蛋白)的结合的确定和对比。示例性的MAB 13B11与IFNA8(g1IFNA8)不具有交叉反应性。C:对本发明的示例性MAB 5D1、13B11、19D11、25C3、26B9和31B4与IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA21(其全部来自PBL)和IFNA14(ATGen)的结合的确定和对比。示例性的抗IFNA- α 抗体13B11不与IFNA8和IFNA21交叉反应。相比于与其他IFNA亚型交叉反应,抗体19D11以较低的亲和力与IFNA21交叉反应。在(C)中以1 μ g/ml测试MAB。

[0039] 图12:LIPS测定-确定本发明的抗体与不同IFN α 亚型(IFN高斯荧光素酶融合蛋白)的结合。本发明的示例性抗体与A:IFNA5、B:IFNA6和C:IFNA8的结合。示例性的抗IFN- α 抗体13B11显示出基本上不与IFNA8交叉反应。作为IFN- α 非结合对照(hIgG1),使用了与不相关抗原结合的人抗体。

[0040] 图13:LIPS测定-确定本发明的示例性抗体5D1、13B11、19D11、25C3、26B9和31B4针对IFNA1、IFNA2、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16和IFNA 21(IFN高斯荧光素酶融合蛋白)的结合特性。作为IFN- α 非结合对照(hIgG1),使用了与不相关抗原结合的人抗体。以0.5 μ g/ml测试所有的抗体。图12和图13中使用的所有IFN- α 亚型均为IFN- α 高斯荧光素酶融合蛋白(g1IFNA)。

[0041] 图14:耳朵炎症测定-测试人IFN亚型在小鼠中的促炎效果。A:示例性的6天实验时间轴。B:针对每一群组,相对于第0天测量值所计算的CytoEar耳朵厚度测量值与归一化到相关PBS对照相比为倍数变化。B1:所有归一化的测量值的效果的概述。B2:IFNa2a和IFNa2b注射的效果。B3:IFNa4和IFNa14注射的效果。被测试的所有四种人IFNA亚型均能够在ID之后显著地诱导耳肿胀。所有耳朵均明显厚于经PBS处理的耳朵。IFNa14是最有效的促炎药剂。平均值 \pm 标准差(Mean \pm SEM)、I1-3或ID=皮内细胞因子注射,M=测量值-耳朵厚度和动物体重,S=动物的牺牲;短箭头-细胞因子注射;长箭头-抗IFN- α 抗体注射的示例性天数。

[0042] 图15:耳朵炎症测定-测试人IFN亚型在小鼠中的促炎效果。针对每一群组,CytoEar耳朵厚度测量值被示出为绝对值(mm)。A:所有测量值的效果的概述。B:IFNa2a和IFNa2b注射的效果。C:IFNa4和IFNa14注射的效果。所有的指示如图14中一样。

[0043] 图16:耳朵炎症测定-测试人IFN亚型在小鼠中的促炎效果。针对每一群组,CytoEar耳朵厚度测量值被示出为从第0天开始的倍数变化。已经将第0天的厚度设定为1。A:所有测量值的效果的概述。B:IFNa2a和IFNa2b注射的效果。C:IFNa4和IFNa14注射的效果。所有的指示如图14中一样。

[0044] 图17:关于人IFN- α 亚型诱导耳朵炎症的能力的耳朵炎症测定的总结。通过双向ANOVA测试获得的P值,ns(不显著)= $P>0.05$;*= $P\leq 0.05$;**= $P\leq 0.01$;***= $P<0.001$ 、****= $p<0.0001$ 。所有的耳朵均明显厚于经PBS处理的耳朵;从第3天开始直到实验结束,在第二次ID之后,这在所有组中是显著的。

[0045] 图18:LIPS测定-本发明的示例性抗IFN- α 抗体5D1、13B11、19D11、25C3、26B9和31B4针对IFN γ (IFNG)、IFN- β 1(IFNB1)、IFN ϵ (IFNE)、IFN- ω (IFNW)、三种IFN(IL28A、IL28B和IL29)和IFNA10(所有的IFN-高斯荧光素酶融合蛋白)的结合特征的确定和对比。A:抗体针对不同IFN型的结合。B:对应图,通过抗体进行的IFN的结合。除了它们对IFNA10的亲合力之外,示例性的抗体26B9和31B4示出了还结合IFN- ω (IFNW)。可以观察到示例性的抗体基本上未与IFN- β 1(IFNB1)、IFN ϵ (IFNE)、三种IFN和IFN γ (IFNG)结合。

[0046] 图19:MAB针对小鼠IFNA(ELISA)的交叉反应性。hIgG1=非IFNA相关特异性的抗体(阴性对照)。A:在ELISA测定中测试示例性抗体5D1、13B11、19D11、25C3、26B9和31B4针对人和小鼠IFNA2、IFNA4和IFNA14的交叉反应性。除了抗体25C3示出针对小鼠IFNA2的交叉反应性之外,其他抗体均未示出针对经测试的小鼠IFNA亚型的结合特异性或仅示出针对其的残留结合特异性。B:MAB对小鼠IFNA的交叉反应性(LIPS测定)。抗体5D1和19D11示出了针对小

鼠g1mIFNA1的交叉反应性,其中其他抗体仅示出低于针对阴性对照所观察到的水平的反应性。没有一种抗体示出针对小鼠IFN- α 亚型g1mIFNA9的交叉反应性。

[0047] 图20:通过ISRE荧光素酶报告中和测定进行的示例性人源化抗IFN- α mAb8H1的IC50分析。示例性抗体8H1的IC50中和曲线图。A: IFNA1、B: IFNA2、C: IFNA4、D: IFNA5、E: IFNA6、F: IFNA7、G: IFNA8、H: IFNA10、I: IFNA14、J: IFNA16、K: IFNA17、L: IFNA21和M: IFNW。在表4中总结了IC50数据。

[0048] 图21:通过ISRE荧光素酶报告中和测定进行的示例性人源化抗IFN- α mAb12H5的IC50分析。示例性抗体12H5的IC50中和曲线图。A: IFNA1、B: IFNA2、C: IFNA4、D: IFNA5、E: IFNA6、F: IFNA7、G: IFNA8、H: IFNA10、I: IFNA14、J: IFNA16、K: IFNA17和L: IFNA21。在表4中总结了IC50数据。

[0049] 图22:通过ISRE荧光素酶报告中和测定进行的示例性人源化抗IFN- α mAb50E11的IC50分析。示例性抗体50E11的IC50中和曲线图。A: IFNA1、B: IFNA2、C: IFNA4、D: IFNA5、E: IFNA6、F: IFNA7、G: IFNA8、H: IFNA10、I: IFNA14、J: IFNA16、K: IFNA17、L: IFNA21和M: IFNW。在表4中总结了IC50数据。

[0050] 图23:在荧光细胞结合测定中人源化抗IFN- α 克单克隆抗体中和IFN高斯荧光素酶融合蛋白与内源性表达IFN受体的HEK 293T MSR细胞的结合。在不存在抑制剂(-)的情况下或在存在如所示出的竞争性抑制剂的情况下,利用表达干扰素-高斯荧光素酶融合蛋白的HEK 293T细胞的上清液来孵育细胞。A:基于荧光素酶的化学发光细胞结合测定的示意图。感兴趣的配体(3)融合至高斯荧光素酶(4)。将融合蛋白结合至表达用于感兴趣配体(2)的受体的细胞(1)。在去除未结合的融合蛋白之后,加入(5)荧光素酶基质并记录(6)光发射。光输出与结合的融合蛋白的量成比例。与用于结合感兴趣配体(7)的受体竞争的抗配体抗体导致所结合配体的降低和减少的光输出。B:对照:人IFNA高斯荧光素酶融合蛋白特异性地结合至HEK 293T MSR细胞。IFNA5高斯荧光素酶融合蛋白(g1 IFNA5)与HEK 293T MSR细胞的结合通过未标记的rhIFNA2(3 μ g/ml)和示例性人源化的单克隆IFNA抗体19D11(1.7 μ g/ml)抑制。人对照抗体(huIgG,15 μ g/ml)示出没有效果。C:g1 IFNA2、A4、A5、A6、A7、A8、A10、A14、A16、A17和A21融合蛋白与HEK 293T MSR细胞的结合被示例性人源化单克隆IFN抗体19D11抑制。g1 IFNA16和g1 IFNW的结合不受19D11的影响。所有g1 IFN的结合不受对照人抗体(huIgG)影响。抗体浓度:5 μ g/ml。D:g1 IFNA16和g1 IFNW通过示例性抗体19D11和26B9的结合中和。如所示出的,在缺乏抗体(-)的情况下或在存在示例性抗体19D11、26B9或存在对照人抗体(huIgG)的情况下,用g1 IFNA16或g1 IFNW处理细胞。抗体浓度:10 μ g/ml。在中和g1 IFNA16时,示例性抗体19D11比26B9更有效力。示例性抗体26B9有效地阻断g1 IFNW与其在293T MSR细胞上的受体结合,而示例性抗体19D11示出对该配体的没有明显效果。

[0051] 图24:人IFNW高斯荧光素酶融合蛋白特异性地结合至表达跨膜抗IFNW mAb的HEK 293T MSR细胞。用指定量的编码抗IFNW mAb 26B9的膜结合版本(26B9-TM)的cDNA或空载体(模拟物(Mock))逆向转染HEK 293T MSR细胞。转染后48小时,加入IFNW高斯荧光素酶(g1 IFNW)并且在化学发光细胞结合测定中分析结合。A:对照:26B9-TM在转染的HEK 293T MSR细胞的细胞表面处表达。在转染后48小时,以基于细胞的ELISA来分析表面抗体表达。B:在发光细胞结合测定中,g1 IFNW特异性地结合至表达26B9-TM的细胞。

[0052] 图25:抗IFNW抗体的交叉竞争测定。通过可溶性26B9并且通过克隆相关的31B4抗

体来剂量依赖性地竞争g1 IFNW与26B9-TM的结合。相比之下,该结合不受对照IgG或示例性抗IFNW抗体8H1的影响。

[0053] 图26:SPR分析。A:关于人A1/B1:IFNA2b、A2/B2:IFNA4、A3/B3:IFN14和A4/B4:IFN ω 与本发明的示例性抗体19D11(A1-A4)和26B9(B1-B4)的结合的传感图(sensogram)的详细分析。观察到1:1结合动力学。以1nM、2.5nM、5nM、10nM、15nM、25nM、50nM和100nM的浓度注射抗原。图中示出了计算的亲和力(KD值[M])。C:图示出了由用于所有经测试的抗体的缔合(结合)(结合率(on-rate)ka)和离解(离解率(off-rate)kd)的拟合曲线得到的动力学参数。虚的对角线表明亲和力(KD)。D:与生物素链霉亲和素结合的SPR文献值相比,本发明的示例性抗体的KD值。对于IFN2b,针对人IFNA4和IFNA14的亲和力分别在亚皮摩尔范围内和亚纳摩尔范围内。26B9还以亚皮摩尔的亲和力结合人IFN ω 。

[0054] 图27:表位图。A:本发明的抗体与结合至微阵列的全长抗原的结合。Y轴表明在用Cy5结合的二抗进行检测时的荧光强度(RFU)。B:人IFNA2的18mer肽的一级肽阵列针对本发明的抗体19D11。在最下面的图中,描绘了覆盖从天冬酰胺65到赖氨酸98和从赖氨酸117到丝氨酸150的序列的肽。抗体19D11特异性地结合至肽19和32。C:人IFNA2的18mer肽的一级肽阵列针对本发明的抗体26B9。在最下面的图中,描绘了覆盖从天冬氨酸77到赖氨酸110的序列的肽。抗体26B9特异性地结合至肽22。D:人IFNAW的18mer肽的一级肽阵列针对本发明的抗体26B9。在最下面的图中,描绘了覆盖从蛋氨酸102至丙氨酸135的序列的肽。抗体26B9特异性地结合至肽23。

[0055] 图28:耳朵炎症测定CytoEar IFNA14。测试在hIFNA14诱发的炎症之后本发明的不同的IFNA阻断抗体的效果。为了诱发炎症,以25 μ g/ml的浓度对每只耳朵注射20 μ l的IFNa14。在提供注射之前还进行厚度的测量,并且其中每只耳朵进行两次测量。A:示例性的10天实验时间轴。B:实验动物组A至I的实验治疗的概述。Ref.A-IFNA特异性参考抗体。对于每一群组,相对于第0天测量值所计算的CytoEar耳朵厚度测量值与归一化为相关PBS对照相比为倍数变化。C:所有归一化的测量值的效果的概述。D:在IFNa14注射之后26B9治疗的效果。E:在IFNa14注射之后19D11治疗的效果。F:在IFNa14注射之后用参考抗IFN- α 抗体Ref.A治疗的效果。与用IgG(具有IFN- α 非相关结合特异性)进行的对照治疗和用Ref.A进行的治疗相比,用本发明的抗体26B9和19D11进行的治疗(耳朵厚度在第7、9、10天明显减小,对于19D11在第4、7-10天明显减小)导致由IFNa14注射引起的耳朵厚度的明显减少。平均值 \pm 标准差, ID=皮内细胞因子注射, M=测量值-耳朵厚度, S=动物的牺牲; ID-细胞因子注射; 在第0天(IP)注射经测试的抗体26B9、19D11、Ref.A和对照IgG。

[0056] 图29:耳朵炎症测定CytoEar IFNA5。测试在hIFNA5诱发的炎症之后,本发明的不同IFNA阻断抗体的效果。为了诱发炎症,以25 μ g/ml的浓度向每只耳朵注射20 μ l的IFNa5。在提供注射之前也进行厚度的测量,并且其中每只耳朵进行两次测量。A:示例性的10天实验时间轴。B:实验动物组A至I的实验治疗的概述。Ref.A-参考IFNA特异性抗体。对于每一群组,相对于第0天测量值所计算的CytoEar耳朵厚度测量值与归一化为相关PBS对照相比为倍数变化。C:所有归一化的测量值的效果的概述。D:在IFNa5注射之后26B9治疗的效果。E:在IFNa5注射之后19D11治疗的效果。F:在IFNa5注射之后用参考抗IFN- α 抗体Ref.A治疗的效果。用本发明的抗体26B9和19D11进行的治疗导致由IFNa5注射所引起的耳朵厚度的减小(对于26B9,在第4、6、7、8和9天显著减小,对于19B11,在第7至9天显著减小)。对于进一步的

细节,参见图26的描述。在第0天(IP)注射经测试的抗体26B9、19D11、Ref.A和对照IgG。

[0057] 图30:耳朵炎症测定CytoEar IFN ω 。测试在hIFN ω (IFN ω)诱发炎症之后本发明的不同IFNA阻断抗体的效果。为了诱发炎症,以6.25 μ g/ml的浓度向每只耳朵注射20 μ l的IFN ω ,125ng/耳朵。在提供注射之前也进行厚度的测量,并且其中每只耳朵进行两次测量。A:示例性的10天实验时间轴。B:实验动物组A至I的实验治疗的概述。Ref.A-参考IFNA特异性抗体。对于每一群组,CytoEar耳朵厚度测量值被计算为与归一化到相关PBS对照相比的、相对于第0天测量值的倍数变化。C:所有归一化的测量值的效果的概述。D:在IFN ω 注射之后26B9治疗的效果。E:在IFN ω 注射之后19D11治疗的效果。F:在IFN ω 注射之后用参考抗IFN- α 抗体Ref.A治疗的效果。用本发明的抗体26B9进行的治疗导致在实验的第9天由IFN ω 注射所引起的耳朵厚度的显著减小。用19D11或Ref.A进行的治疗均没有明显导致耳朵厚度的减小或导致耳朵厚度的非常轻微的减小(在所有天数下与对照IgG注射相比不显著(ns))。对于进一步的细节,参见图26的描述。在第0天(IP)注射经测试的抗体26B9、19D11、Ref.A和对照IgG。

[0058] 图31:在患有1型糖尿病(T1D)或未患有(N)的APS1/APECED患者的血清中的IFN中和活性的比较。A:IFNA1,B:IFNA2a,C:IFNA4,D:IFNA5,E:IFNA6,F:IFNA7,G:IFNA16,H:IFNA17,I:IFNA21和J:IFN ω 。

[0059] 图32:患有1型糖尿病(T1D)或未患有(N)的APS1/APECED患者的血清中的IFN中和活性的比较。与图31中一样,然而其中Y轴使用对数刻度,以用于使在患有T1D的APS1/APECED患者的血清中测量的中和活性更加直观。A:IFNA1、B:IFNA2a、C:IFNA4、D:IFNA5、E:IFNA6、F:IFNA7、G:IFNA8、H:IFNA10、I:IFNA14、J:IFNA16、K:IFNA17和L:IFNA21。与T1D-APS1患者相比,未患有T1D(N)的APS1患者在它们的血清中显示出针对所有抗体较高的滴度。这种滴度差异可以表明两种患者组中的不同治疗要求。

具体实施方式

[0060] 本发明大体上涉及结合哺乳动物(优选为人)源的IFN- α 的新型分子,特别是涉及识别且更重要地能够中和IFN- α 的不同亚型的活性的患者来源的人单克隆抗体及其片段、衍生物和变体;还参见先前用于描述IFNA亚型的背景技术部分,该IFNA亚型包括IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA8、IFNA10、IFNA13、IFNA14、IFNA16、IFNA17和IFNA21,其中IFNA1和IFNA13基因编码相同的IFNA1/13亚型。

[0061] 如在实施例中所描述的,通过申请人的国际申请W02013/098419A1中公开的方法主题已经分离出本发明的示例性抗体,上述方法基于:在患有受损的中枢和/或外周耐受性或自我耐受性丧失的患者(诸如APECED/APS1患者)的血清中筛选针对IFN- α 蛋白的自身抗体,以及使用作为在申请人的国际申请W02013/098420A1中的主题并在其中公开的从患有自身免疫失调或自身炎症疾病的受试者的B细胞分离抗体的新颖方法。

[0062] 根据本发明进行的实验涉及提供选择性IFN- α 亚型特异性的IFN- α 结合分子,即,抗体及其IFN- α 结合片段,其免疫反应性已在APECED/APS1患者中显示为防止例如SLE的发生,或至少减少SLE症状的表现。

[0063] 因此,在第一通常的方面,本发明提供了一种人源化抗干扰素- α (IFN- α)抗体或其IFN- α 结合片段、合成或生物技术衍生物,其针对所有的IFN- α 亚型或者仅于范围或特定的

IFN- α 亚型显示出结合特异性且优选地显示出中和活性。在本发明的优选实施方式中,抗IFN- α 抗体或IFN- α 结合片段

[0064] (i) 结合至人IFN- α 亚型IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA10和IFNA14;

[0065] (ii) 结合至至少一种人IFN- α 亚型IFNA1/13 (IFNA1b)、IFNA8、IFNA16和/或IFNA21;和/或

[0066] (iii) 能够中和人IFN- α 亚型中的至少一种的生物活性。

[0067] 因此,本发明提供了不同IFN- α 亚型特异性的抗体的池,其与现有技术中已知的抗体不同并且提供比现有技术中已知的抗体更宽的应用分布。

[0068] 所有的IFN α 亚型均利用异源二聚体IFN α / β 受体 (IFNAR),并在受体细胞 (接受细胞, receiving cell) 中经由细胞质酪氨酸激酶Tyk2和Jak1生成信号,其进行STAT1和STAT2 (信号转导和转录活化因子) 的磷酸化和伴随的活化。STAT蛋白转移至细胞核,并且激活 (活化) 具有GAS或ISRE位点或者两者的基因在它们的启动子中的表达 (Borden等人, Nat.Rev.Drug Discov.6 (2007), 975-990;Hu等人, Immunol.Rev.226 (2008), 41-56;van Boxel-Dezaire等人, Immunity 25 (2006), 361-372)。这种激活 (活化) 机制已用于本发明中,以及用于设计在离体方法中的IFN活性测量,诸如如此处例如在实施例3和图5至图7中所描述和使用 (Signal Reporter Assay, Qiagen) 的用于监测本发明的抗体的中和能力的基于细胞的STAT (信号转导和转录活化因子) 活化测定和ISRE (干扰素刺激的反应元件) 报告基因测定。如本文中详细描述,已经发现本发明的抗体针对如下面进一步详细指明的若干种IFNA亚型均具有有效的中和活性。

[0069] 因此,在本发明的一个实施方式中,由本发明的抗体或IFN- α 结合片段中和的生物活性在基于细胞的STAT (信号转导和转录活化因子) 活化测定、ISRE (干扰素刺激的应答元件) 报告基因测定和/或分子结合测定 (参见实施例9) 中为IFN- α 信号转导。

[0070] 此外,如本文中例如在实施例1、2、6和9中所描述的以及在图3、图7至图13和图18至图27中所示出的,已经通过ELISA、LIPS和细胞结合测定对本发明的抗体的结合亲和力进行了测试。根据这些实验的结果,本发明提供了针对不同IFNA亚型显示出不同结合亲和力的若干种示例性抗IFN- α 抗体,其均例证了本文中提供的IFN- α 结合分子的结合和中和特性。

[0071] 例如,本发明的示例性抗IFN- α 抗体19D11至少结合至人IFN- α 亚型IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16和IFNA21 (参见,例如图13和图18至图27),并且具有中和特性,如在实施例和图5至图7中所描述的。因此,在一个实施方式中,本发明的除了前面在部分 (i) 中定义的IFN- α 亚型之外的抗体或IFN- α 结合片段至少与人IFN- α 亚型IFNA1/13、IFNA8、IFNA16和IFNA21结合。因此,在一个优选的实施方式中,如在所附的实施例和图中示出的,抗IFN- α 抗体或者其IFN- α 结合片段、合成或生物技术衍生物具有抗体19D11的免疫特征和/或生物性能,特别是在其针对不同的IFN- α 亚型的中和活性方面。

[0072] 本发明的示例性抗IFN- α 抗体26B9和31B4至少与人IFN- α 亚型IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14和IFNA21结合 (参见例如图13和图18至图27),并且具有中和特性,如在实施例和图5至图7中所描述的。因此,在一个实施方式中,本发明的除了前面在部分 (i) 中定义的IFN- α 亚型之外的抗体或IFN- α 结合片段至少与人IFN- α 亚

型IFNA1/13、IFNA8和IFNA21结合。因此,在另一个优选的实施方式中,如在所附的实施例和图中所示出的,抗IFN- α 抗体或者其IFN- α 结合片段、合成或生物技术衍生物具有抗体26B9或31B4的免疫特征和/或生物性能,特别是在其针对不同IFN- α 亚型的中和活性方面。

[0073] 本发明的示例性抗IFN- α 抗体25C3至少与人IFN- α 亚型IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16和IFNA21结合(参见例如图13和图18至图19),并且具有中和特性,如在实施例和图5至图7中所描述的,特别是显示出针对IFNA6、IFNA8、IFNA10和IFNA16的降低的中和能力。因此,在一个实施方式中,除了前面在部分(i)中定义的IFN- α 亚型之外,本发明的抗体或IFN- α 结合片段还至少与人IFN- α 亚型IFNA1/13、IFNA8、IFNA16和IFNA21结合,但是仅显示出IFNA16的较弱的中和性。在另外的实施方式中,本发明的抗体或IFN- α 结合片段另外显示出对IFNA6、IFNA8和IFNA10仅较弱的中和性。因此,在另一优选的实施方式中,如在所附的实施例和图中所示出的,抗IFN- α 抗体或者其IFN- α 结合片段、合成或生物技术衍生物具有抗体25C3的免疫特征和/或生物性能,特别是在其针对不同IFN- α 亚型的中和活性方面。

[0074] 本发明的示例性抗IFN- α 抗体5D1至少与人IFN- α 亚型IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16和IFNA21结合但不与IFNA1/13结合,并且具有中和特性,如在实施例和图5至图7中所描述的。因此,在一个实施方式中,除了前面在部分(i)中定义的IFN- α 亚型之外,本发明的抗体或IFN- α 结合片段还至少与人IFN- α 亚型IFNA8、IFNA16和IFNA21结合,但不与IFNA1/13结合。因此,在另一优选的实施方式中,如在所附的实施例和图中所示出的,抗IFN- α 抗体或者其IFN- α 结合片段、合成或生物技术衍生物具有抗体5D1的免疫特征和/或生物性能,特别是在其针对不同IFN- α 亚型的中和活性方面。

[0075] 本发明的示例性抗IFN- α 抗体13B11至少与人IFN- α 亚型IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA10、IFNA14和IFNA16结合但不与IFNA8结合,并且具有中和特性,如在实施例和图5至图7中所描述的。因此,在一个实施方式中,除了前面在部分(i)中定义的IFN- α 亚型之外,本发明的抗体或IFN- α 结合片段还至少与人IFN- α 亚型IFNA1/13和IFNA16结合,但不与IFNA8结合。因此,在另一优选的实施方式中,如在所附的实施例和图中所示出的,抗IFN- α 抗体或者其IFN- α 结合片段、合成或生物技术衍生物具有抗体13B11的免疫特征和/或生物性能,特别是在其针对不同IFN- α 亚型的中和活性方面。

[0076] 本发明的示例性抗IFN- α 抗体8H1至少与人IFN- α 亚型IFNA1、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA10、IFNA16、IFNA17和IFNA21结合,然而显示出较弱的IFNA2、IFNA8和IFNA14的中和性,并且具有中和特性,如在实施例和图7中所描述的。因此,在一个实施方式中,除了前面在部分(i)中定义的IFN- α 亚型之外,本发明的抗体或IFN- α 结合片段还至少与人IFN- α 亚型IFNA1/13、IFNA17和IFNA21结合。因此,在再一优选的实施方式中,如在所附的实施例和图中所示出的,抗IFN- α 抗体或者其IFN- α 结合片段、合成或生物技术衍生物具有抗体8H1的免疫特征和/或生物特性,特别是在其针对不同IFN- α 亚型的中和活性方面。

[0077] 本发明的示例性抗IFN- α 抗体12H5结合至并中和所有的人IFN- α 亚型,即IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16、IFNA17和IFNA21,并且具有中和特性,如在实施例和图7中所描述的。因此,在一个实施方式中,本发明的抗体或IFN- α 结合片段与所有的人IFN- α 亚型结合。因此,在再一优选的实施方式中,如在所附的实施例和图中所示出的,抗IFN- α 抗体或者其IFN- α 结合片段、合成或生物技术衍生物具有抗

体12H5的免疫特征和/或生物特性,特别是在其针对不同IFN- α 亚型的中和活性方面。

[0078] 在一个实施方式中,本发明的抗IFN- α 抗体和IFN- α 结合片段识别和/或中和IFNA21,优选地以与由该抗体或其片段识别和/或中和的任何其他IFNA至少基本上相同的结合偏好/中和活性进行。

[0079] 此外,在本发明的范围内进行的实验中获得的初步结果已经表明由本发明提供的示例性抗体除了与至少一种IFNA亚型结合之外还与另外的I型干扰素结合,即还与IFN- ω (在本文中也被示出为IFNW或IFN- ω)结合,如图18中针对抗体26B9和31B4所示例性示出的,另外的实验证实了受试者抗体中的一些针对IFNW的惊人的中和特性,即,对于图5中的抗体26B9和31B4以及图24中与抗体19D11相比的抗体26B9、图25和图26中的抗体26B9、图25中的抗体31B4、图7和图20中的抗体8H1以及图22中的抗体50E11。因此,在一个实施方式中,本发明还涉及除了与至少一种IFNA亚型结合也另外与至少一种其他I型干扰素结合的抗IFN- α 抗体及其IFN- α 结合片段,其中,优选地,其他I型干扰素为人IFN- ω (IFNW)。相应的IFN-结合分子也可以被表示为IFNA/IFNW结合分子或抗IFNA/IFNW抗体。优选地,除了至少一种IFN- α 亚型之外,本发明的抗IFN- α 抗体或IFN- α 结合片段还能够中和人IFN- ω (IFNW)的生物活性。这样的抗体在用于预防、治疗或诊断具有较高滴度的IFNW的患者和/或均显示出IFNA亚型和IFNW的增加的滴度的患者方面具有特别的价值。因此,在再一优选的实施方式中,如在所附的实施例和图中所示出的,抗IFN- α 抗体或者其IFN- α 结合片段、合成或生物技术衍生物具有抗体26B9、31B4、8H1或50E11的免疫特征和/或生物性能,特别是在其针对IFN- ω 的中和活性方面。

[0080] 本发明的IFNA/IFNW结合分子特别可用于预防、治疗和/或诊断与受试者中的IFNW的增加的表达或活性水平相关联的疾病,特别是在IFNA的表达或活性水平也增加的情况下。例如,除了IFNA亚型的升高的水平之外,还在患有系统性红斑狼疮(SLE)和肾脏疾病的患者的血清中发现了IFNW;参见,例如M C Dall' Era等人,Ann.Rheum.Dis.64(2005),1692-1697以及Han等人,Genes and Immunity 4(2003),177-186。因此,本发明的广泛阻断多种I型IFN的IFNA/IFNW结合分子与仅对IFNA特异性的抗体相比可以更加有利地作为潜在治疗剂。此外,据报道,除了IFN- β 之外,患有类风湿性关节炎的患者的血清还具有相对于正常对照提高水平的IFN- ω ,但IFN- α 的水平未提高;参见Lavoie等人,J.Immunol.186(2011),186,会议摘要101.37。因此,本发明的IFNA/IFNW结合分子还可以证明可用于治疗并不涉及或并不显著性地涉及IFNA但涉及IFNW的自身免疫失调。

[0081] 因此,在另外的方面,本发明涉及作为人源化抗IFN- α 抗体26B9、31B4、8H1或50E11的合成或生物技术衍生物的IFNW结合分子,其基本上保留它们针对IFNW的中和活性,但是丧失它们与一种或多种IFN- α 亚型的结合特异性或将IFN- α 结合在一起的能力。另外,本发明涉及任何IFNW结合分子,优选地抗体或抗体片段,其与在实施例中描述的任一测定中的人源化抗IFN- α 抗体26B9、31B4、8H1或50E11中的任一种在结合和/或中和IFNW方面但未必关于结合和/或中和IFN- α 竞争。

[0082] 此外,如图18所示,本发明的示例性抗IFN- α 抗体针对以下干扰素显示出更加较弱的亲和力或未显示出亲和力:I型干扰素IFN- ϵ 、IFN- β ;作为II型干扰素的IFN- γ ;和/或作为III型干扰素的IFN- λ (图18中的IL-29、IL-28A和IL-28B)。因此,在一个实施方式中,本发明涉及相对于II型和/或III型干扰素优选结合I型的抗IFN- α 抗体及其IFN- α 结合片段,更

加优选地,本发明的抗IFN- α 抗体和IFN- α 结合片段基本上不识别II型和III型干扰素。

[0083] 本发明举例说明了IFN- α 结合分子,即抗体及其IFN- α 结合片段,其特征可以通常在于:在它们的可变区(即结合结构域)中包括可变区的 V_H 和/或 V_L 的至少一个互补决定区(CDR),该可变区包括图1的(V_H) (SEQ ID NOs:2、10、18、22、30、38、76、84和92)和(V_L) (SEQ ID NOs:4、12、20、24、32、40、78、86和94)中描绘的的氨基酸序列-参见图1中加下划线和表1中指出的示例性CDR序列。然而,如下面所讨论的,本领域技术人员清楚地意识到以下事实:另外或可替换地,可以使用这样的CDR,其在它们的氨基酸序列方面与图1中示出的那些相差一个、两个、三个或甚至更多个氨基酸,特别是在CDR2和CDR3的情况下。

[0084] 关于如在实施例和图中所示出的针对特定IFN- α 亚型和IFNW的特别结合偏好和中和能力,可以将上面提供的一般特征细分成IFN- α 结合分子的以下组,即本发明的抗体及其结合片段。

[0085] 在一个实施方式中,本发明的抗体或IFN- α 结合片段为人源化抗体,并且与选自由IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16和IFNA21组成的组中的至少一种IFN- α 亚型结合,在其可变区中包括:

[0086] (a) 在图1(V_H) (SEQ ID NO:18)和图1(V_L) (SEQ ID NO:20)中描述的 V_H 和/或 V_L 可变区氨基酸序列中的至少一个互补决定区(CDR);

[0087] (b) 如图1所描绘的 V_H 和/或 V_L 区的氨基酸序列;

[0088] (c) 由从(a)的氨基酸序列中的任一种的部分改变所得到的氨基酸序列组成的至少一个CDR;和/或

[0089] (d) 包括由(b)的氨基酸序列的部分改变所得到的氨基酸序列的重链和/或轻可变区。

[0090] 另外地或者可替换地,本发明的抗体或IFN- α 结合片段的特征在于显示出示例性抗体19D11的结合特性。

[0091] 如实施例5中所说明和图27A/B中所示出的,已经鉴定出由示例性抗体19D11特异性识别的IFNA2中的表位。因此,在一个实施方式中,本发明的抗体或者IFN- α 结合片段、合成或生物技术衍生物能够结合由氨基酸序列SAAWDETLLDKFYTELYQ (SEQ ID NO:99) 和/或RITLYLKEKKYSPCAWEV (SEQ ID NO:100) 组成的IFNA2中的表位。

[0092] 在另一实施方式中,本发明的抗体或IFN- α 结合片段为人源化抗体,并且与选自由IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14和IFNA21组成的组中的至少一种IFN- α 亚型结合,在其可变区中包括:

[0093] (a) 在图1(V_H) (SEQ ID NO:30或SEQ ID NO:38)和图1(V_L) (SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:40)中描绘的 V_H 和/或 V_L 可变区氨基酸序列的至少一个互补决定区(CDR);

[0094] (b) 如图1中所描绘的 V_H 和/或 V_L 区的氨基酸序列;

[0095] (c) 由从(a)的氨基酸序列中的任一种的部分改变所得到的氨基酸序列组成的至少一个CDR;和/或

[0096] (d) 包括由(b)的氨基酸序列的部分改变所得到的氨基酸序列的重链和/或轻可变区。

[0097] 另外地或者可替换地,本发明的抗体或IFN- α 结合片段的特征在于显示出示例性抗体26B9或31B4的结合特性。因此,在该实施方式中,抗IFN- α 抗体或IFN- α 结合片段优选地

还识别并中和IFNW,还参见之前所述。

[0098] 如实施例5中所说明和图27C/D中所示出的,已经鉴定出由示例性抗体26B9特异性识别的IFNA2和IFNW中的表位。因此,在一个实施方式中,本发明的抗体或IFN- α 结合片段、合成或生物技术衍生物能够结合由氨基酸序列YTELYQQLNDLEACVIQG (SEQ ID NO:101) 组成的IFNA2的表位和/或由氨基酸序列TGLHQQLQHLETCLLQVV (SEQ ID NO:102) 组成的IFNAW的表位。

[0099] 在另一实施方式中,本发明的抗体或IFN- α 结合片段为人源化抗体,并且与选自由亚型IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16和IFNA21组成的组中的至少一种IFN- α 亚型结合,在其可变区中包括:

[0100] (a) 图1 (V_H) (SEQ ID NO:22) 和图1 (V_L) (SEQ ID NO:24) 中描绘的 V_H 和/或 V_L 可变区氨基酸序列的至少一个互补决定区 (CDR);

[0101] (b) 如图1中所描绘的 V_H 和/或 V_L 区的氨基酸序列;

[0102] (c) 由从 (a) 的氨基酸序列中的任一种的部分改变所得到的氨基酸序列组成的至少一个CDR;和/或

[0103] (d) 包括由 (b) 的氨基酸序列的部分改变所得到的氨基酸序列的重链和/或轻可变区。

[0104] 另外地或者可替代地,本发明的抗体或IFN- α 结合片的特征在于显示出示例性抗体25C3的结合特性。

[0105] 在另一实施方式中,本发明的抗体或IFN- α 结合片段为人源化抗体,并且与选自由亚型IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16和IFNA21组成的组中的至少一种IFN- α 亚型结合但是不与IFNA1/13结合,在其可变区中包括:

[0106] (a) 在图1 (V_H) (SEQ ID NO:2) 和图1 (V_L) (SEQ ID NO:4) 中描绘的 V_H 和/或 V_L 可变区氨基酸序列的至少一个互补决定区 (CDR);

[0107] (b) 如图1中所描绘的 V_H 和/或 V_L 区的氨基酸序列;

[0108] (c) 由从 (a) 的氨基酸序列中的任一种的部分改变所得到的氨基酸序列组成的至少一个CDR;和/或

[0109] (d) 包括由 (b) 的氨基酸序列的部分改变所得到的氨基酸序列的重链和/或轻可变区。

[0110] 另外地或者可替代地,本发明的抗体或IFN- α 结合片的特征在于显示出示例性抗体5D1的结合特征。

[0111] 在另一实施方式中,本发明的抗体或IFN- α 结合片段为人源化抗体,并且与选自由亚型IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA10、IFNA14和IFNA16组成的组中的至少一种IFN- α 亚型结合,在其可变区中包括:

[0112] (a) 在图1 (V_H) (SEQ ID NO:10) 和图1 (V_L) (SEQ ID NO:12) 中描绘的 V_H 和/或 V_L 可变区氨基酸序列的至少一个互补决定区 (CDR);

[0113] (b) 如图1中所描绘的 V_H 和/或 V_L 区的氨基酸序列;

[0114] (c) 由从 (a) 的氨基酸序列中的任一种的部分改变所得到的氨基酸序列组成的至少一个CDR;和/或

[0115] (d) 包括由 (b) 的氨基酸序列的部分改变所得到的氨基酸序列的重链和/或轻可变

区。

[0116] 另外地或者可替代地,本发明的抗体或IFN- α 结合片段的特征在于显示出示例性抗体13B11的结合特征。

[0117] 在另一实施方式中,本发明的抗体或IFN- α 结合片段为人源化抗体,并且与选自由IFNA1、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA10、IFNA16、IFNA17和IFNA21组成的组中的至少一种IFN- α 亚型结合,在其可变区中包括:

[0118] (a) 在图1 (V_H) (SEQ ID NO:76) 和图1 (V_L) (SEQ ID NO:78) 中描绘的 V_H 和/或 V_L 可变区氨基酸序列的至少一个互补决定区(CDR);

[0119] (b) 如图1中所描绘的 V_H 和/或 V_L 区的氨基酸序列;

[0120] (c) 由从(a)的氨基酸序列中的任一种的部分改变所得到的氨基酸序列组成的至少一个CDR;和/或

[0121] (d) 包括由(b)的氨基酸序列的部分改变所得到的氨基酸序列的重链和/或轻可变区。

[0122] 另外地或者可替代地,本发明的抗体或IFN- α 结合片段的特征在于显示出示例性抗体8H1的结合特性。因此,在该实施方式中,抗IFN- α 抗体或IFN- α 结合片段优选地还识别并中和IFN ω ;还参见之前所述。

[0123] 在另一实施方式中,本发明的抗体或IFN- α 结合片段为人源化抗体,并且与选自由IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14和IFNA21组成的组中的至少一种IFN- α 亚型结合,在其可变区中包括:

[0124] (a) 图1 (V_H) (SEQ ID NO:84) 和图1 (V_L) (SEQ ID NO:86) 中描绘的 V_H 和/或 V_L 可变区氨基酸序列的至少一个互补决定区(CDR);

[0125] (b) 如图1中所描绘的 V_H 和/或 V_L 区的氨基酸序列;

[0126] (c) 由从(a)的氨基酸序列中的任一种的部分改变所得到的氨基酸序列组成的至少一个CDR;和/或

[0127] (d) 包括由(b)的氨基酸序列的部分改变所得到的氨基酸序列的重链和/或轻型可变区。

[0128] 另外地或者可替代地,本发明的抗体或IFN- α 结合片段的特征在于显示出示例性抗体12H5的结合特征。

[0129] 在另一实施方式中,本发明的抗体或IFN- α 结合片段为人源化抗体,并且与选自由IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14和IFNA21组成的组中的至少一种IFN- α 亚型结合,在其可变区中包括:

[0130] (a) 在图1 (V_H) (SEQ ID NO:92) 和图1 (V_L) (SEQ ID NO:94) 中描绘的 V_H 和/或 V_L 可变区氨基酸序列的至少一个互补决定区(CDR);

[0131] (b) 如图1中所描绘的 V_H 和/或 V_L 区的氨基酸序列;

[0132] (c) 由从(a)的氨基酸序列中的任一种的部分改变所得到的氨基酸序列组成的至少一个CDR;和/或

[0133] (d) 包括由(b)的氨基酸序列的部分改变所得到的氨基酸序列的重链和/或轻可变区。

[0134] 另外地或者可替代地,本发明的抗体或IFN- α 结合片段的特征在于显示出示例性

抗体50E11的结合特征。因此,在该实施方式中,抗IFN- α 抗体或IFN- α 结合片段优选地还至少在在一定程度上识别并中和IFNW;还参见之前所述。

[0135] 总之,在一个方面,本发明涉及人源化单克隆抗体和IFN- α 结合片段以及本文中举例说明的受试者抗体的合成和生物技术衍生物,在它们的可变区中包括:

[0136] (a) 在(i)图1(V_H) (SEQ ID NOs:2、10、18、22、30、38、76、84和92)和(ii)图1(V_L) (SEQ ID NOs:4、12、20、24、32、40、78、86和94))中描绘的 V_H 和/或 V_L 可变区氨基酸序列的至少一个互补决定区(CDR);

[0137] (b) 如图1中所描绘的 V_H 和/或 V_L 区的氨基酸序列;

[0138] (c) 由从(a)的氨基酸序列中的任一种的部分改变所得到的氨基酸序列组成的至少一个CDR;和/或

[0139] (d) 包括由(b)的氨基酸序列的部分改变所得到的氨基酸序列的重链和/或轻可变区。

[0140] 优选地,其中,所述抗体、其IFN- α 结合片段或其合成和生物技术衍生物保留实施例中所描述的受试者抗体中的任一种的免疫特性和/或生物活性中的至少一种,例如,针对不同IFNA亚型和/或IFNW的中和活性。

[0141] 此外,在一个方面,本发明涉及与如上面所定义的所述抗体或其片段在结合和/或中和至少一种IFN- α 亚型和/或IFNW方面竞争的IFN- α 中和抗体或其IFN- α 结合片段。此外,在一个实施方式中,本发明的抗体或其IFN- α 结合片段包含在(i)图1(V_H) (SEQ ID NOs:2、10、18、22、30、38、76、84和92)和(ii)图1(V_L) (SEQ ID NOs:4、12、20、24、32、40、78、86和94))中描绘的 V_H 和/或 V_L 可变区的至少一个CDR3,或相应的CDR3,该相应的CDR3在其氨基酸序列方面通过替换、缺失和/或添加6个、5个或4个氨基酸而不同,优选地不超过3个且更优选地不超过2个或1个氨基酸。

[0142] 为了提供特别适合于治疗应用的抗体,即为了避免对本发明的抗体的免疫应答,如针对外来抗体诸如人抗小鼠抗体中所观察到的(HAMA-应答),本发明优选地涉及完全人或人源化抗体,这是因为在示出本发明的实施例中描述的示例性IFN- α 抗体已经从人患者中得到。

[0143] 在这一方面,与人源化抗体和其他类人抗体(人样抗体)相反,也参见以下讨论,本发明的人源化抗体的特征在于包括已经通过人体观察到的并且因此基本上没有产生免疫原性的风险的CDR。因此,如果抗体的可变轻链和重链中的一种或两者中的至少一个、优选两个并且最优选地所有三个CDR源自本文中说明的人抗体,则本发明的抗体可能仍然表明是人源化的。

[0144] 也可以将本发明的人源化抗体称为“人自身抗体”,以便强调那些抗体实际上最初由人受试者表达,并且不是例如通过人免疫球蛋白表达噬菌体库生成的体外选择构建体,或者在人免疫球蛋白库的转基因动物表达部分中生成的异种抗体,其迄今表示用于试图提供类人抗体的最常用方法。另一方面,本发明的人源化抗体可以被表示为合成的、重组的和/或生物技术的,以便将其与自身可以通过蛋白A或亲和柱纯化的人血清抗体区分开。

[0145] 然而,本发明使用并设想本发明的抗体在动物模型中(例如在表达人IFN- α 的转基因小鼠中)的进一步研究。为了避免在实验动物中类似于人体中的HAMA-应答的免疫原性效果,在一个方面,本发明的抗体可以是人源化的、异种的或嵌合型人-小鼠抗体,优选地为嵌

合型啮齿动物-人或啮齿动物源化 (rodentized) 抗体,最优选地为嵌合型小鼠-人抗体或鼠源化 (murinized) 抗体。

[0146] 如本文中下面更详细描述,本发明的抗体或其抗原结合片段可以是或源自任何类型、种类或子类的免疫球蛋白分子。然而,在优选的实施方式中,提供了为IgG同种型,最优选地为IgG1子类的本发明的抗体。

[0147] 为了提供这样的人源化、嵌合型并且特别是全人抗体、其片段和/或天然的Fab片段,本发明的抗体优选地进一步包括C_H和/或C_L恒定区,该恒定区包括选自在表1中描述的C_H和C_L氨基酸序列 (SEQ ID NOs:6、8、14、16、26、28、34、36、42、44、72、74、80、82、88、90、96和98) 的氨基酸序列或与所提及的参考序列具有至少60%同一性、优选70%同一性、更优选80%同一性、还更优选90%同一性,以及特别优选地至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0148] 另外地或可替代地,本发明的抗体的框架区包括:选自图1 (V_H) (SEQ ID NOs:2、10、18、22、30、38、76、84和92) 和图1 (V_L) (SEQ ID NOs.:4、12、20、24、32、40、78、86和94) 的氨基酸序列;或与所提及的参考序列具有至少60%同一性、优选70%同一性、更优选80%同一性、还更优选90%同一性,以及特别优选地至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0149] 如上面提及的,已经从APECED/APS1患者中分离本发明的抗体。在此情形下,申请人的共同待审国际申请W02013/098419中公开的实验惊人地表明:APECED/APS1患者显示出自身免疫体 (auto-immunosome),即还包括对不同IFN α 亚型特异的广谱结合分子的自身抗体谱。APS1是由自身免疫调节 (AIRE) 基因的突变所引起的罕见自身免疫疾病。AIRE蛋白支配通过MHC呈现的许多外周自身抗原 (例如胰岛素) 的髓质胸腺上皮细胞中的表达,以容忍发展的胸腺细胞。在APS1中,AIRE突变引起异常的阴性选择,其使得自身反应性T细胞能够逃逸至外周。因此,患者在APS1中表现出变化极大的临床特征谱,但是通常却具有内分泌组织的若干种自身免疫失调。定义的APS1三联体 (三联征, triad) 包括慢性皮肤粘膜念珠菌病、甲状旁腺功能减退症和肾上腺衰竭 (Perheentupa, *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 31 (2002), 295-320)。APECED患者中所见的其他临床病症包括甲状腺自身免疫疾病、糖尿病、性腺衰竭、白癜风、斑秃、慢性肝炎、慢性胃炎和恶性贫血以及不同形式的其他胃肠道症状。关于APECED/APS1患者以及它们的自身免疫体的筛选的进一步细节,参见国际申请W02013/098419的描述和其中描述的实施例,特别是第112-117页的材料和方法部分;第117-118页的实施例1和第128页的实施例7以及随后的表1至表14;以及第168-171页的实施例17,将该申请的公开内容通过引用并入到本文中。

[0150] 如上面详细描述的和实施例1中说明的,在一个优选的实施方式中,从受自身免疫性多内分泌腺病-念珠菌病-外胚层营养不良 (APECED/APS1) 影响的人受试者的样品获得本发明的抗体,或者从受类似自身免疫疾病影响的患者获得本发明的抗体,如在国际申请W02013/098419和其中的实施例中所描述的,特别是第112-117页的材料和方法部分;第117-118页的实施例1;第156-161页的实施例10,具体地其中第156页的“患者和对照”部分;以及第168-171页的实施例17,将其公开内容通过引用并入到本文中。

[0151] 在此情形下,需要注意的是,通过在申请人的共同待审国际申请W02013/098420中公开的分离人抗体的新型且专有的方法已克隆出本发明的受试者抗IFN- α 抗体,将该申请

的公开内容通过引用并入到本文中。

[0152] 简言之,用于分离感兴趣抗体的样品包括用于检测可能的抗体反应性的外周血单核细胞(PBMC)和血清,或者由其组成。源自受试者的样品可以直接用于例如测试对期望的抗原中的一种或多种的血清反应性,或者可以被进一步处理,例如被富集用于B淋巴细胞。特别地,优选的是,样品包括或源自产生感兴趣抗体的B细胞,更优选地为记忆B细胞。在如下条件下培养记忆B细胞:其仅允许B细胞的确定生命周期,通常不超过1至2周,直到从B细胞培养物中挑选出对期望的抗原具有反应性的细胞,随后进行单个挑选细胞的RT-PCR以用于获得免疫球蛋白基因谱系(基因库);关于详细的描述,参见W02013/098419第118-120页的实施例1和2,并且特别是W02013/098420第27-31页的实施例1至4,将其公开内容通过引用并入到本文中。自然地,本发明分别延伸至永生生化人B记忆淋巴细胞和B细胞,其产生具有如上下文所限定的显著和唯一特征的抗体。

[0153] 因此,除了使用选择的患者库之外,已经通过采用下述特定方法提供了抗IFN- α 抗体,该特定方法专门开发并适于从患有自身免疫疾病的患者诸如APECED/APS1患者的B细胞分离人单克隆抗体。

[0154] 在一个实施方式中,本发明的抗体或IFN- α 结合片段包括如图1中所描绘的或者如由表1所示的相应核酸编码的V_H和/或V_L区的氨基酸序列。另外,在另一实施方式中,本发明涉及与如上文中定义的本发明抗体在特异性结合至至少一种人IFN- α 亚型和/或人IFN- ω 方面竞争的抗IFN- α 抗体或IFN- α 结合分子。

[0155] 特别地,提供了抗IFN- α 抗体,其表明如针对实施例和图中所说明的抗体概述的免疫学结合特征和/或生物性能。目前,术语抗体与抗原的“免疫结合特征”或其他结合特征(在其所有语法形式方面)是指抗体的特异性、亲和力、交叉反应性和其他结合特征。

[0156] 如在实施例中所表明的,特别地,本发明的抗体的特征在于它们对于大多数IFNA亚型的高中和活性,以及在26B9、31B4和8H1抗体的情况下,针对IFNW在亚纳摩尔范围内的高中和活性。优选地,人源化单克隆抗体和IFN- α 结合片段以及其合成和生物技术衍生物显示出如在本文针对至少一种、两种、三种、四种、五种、六种、七种、八种、九种、十种、十一种、十二种或几乎所有IFNA亚型以及可选地针对IFNW举例说明的受试者抗体的ISRE(干扰素刺激的应答元件)报告基因测定中所确定的IC₅₀值,或者它们的IC₅₀值与针对在实施例和图中所说明的用于任一IFNA亚型并且可选地用于IFNW的受试者抗体所确定的IC₅₀值相差不超过50%、优选地少于40%、更优选地少于30%、还更优选地少于20%并且特别优选地少于10%。在优选的实施方式中,本发明的抗体或类似的IFN结合分子对于至少5个、优选地6个、更优选地7个、还更优选地8个或有利地9个或10个人IFN- α 亚型和/或人IFN- ω 具有 ≤ 10 ng的IC₅₀值。

[0157] 在另外的实施方式中,本发明的抗体为抗体片段。例如,本发明的抗体或抗体片段可以选自由单链Fv片段(scFv)、F(ab')片段、F(ab)片段、F(ab')₂片段和单域抗体片段(sdAB)组成的组。

[0158] 本发明的抗体的另外的优点在于:由于已经在其生理和细胞环境中针对天然抗原引发体液免疫应答的事实,因此通常产生自身抗体并且可以分离自身抗体,该自身抗体由于其在例如具有其他细胞组分的环境中呈递、在细胞表面膜上呈递和/或结合至受体而可以识别抗原的构象表位。相反,生成单克隆抗体(诸如小鼠单克隆抗体)、其人源化版本或从

噬菌体展示获得的抗体的传统方法通常采用靶蛋白的抗原片段,以用于分别使非人哺乳动物免疫和进行检测,由此通常获得识别限于免疫原的二维结构的线性表位或构象表位而非识别在其生理和细胞环境中天然蛋白的存在的抗体。因此,谨慎地期望本发明的自身抗体在它们的表位特异性方面是独特的。因此,本发明还涉及抗体和类似的结合分子(like-binding molecule),其显示出与根据本发明的方法分离的自身抗体基本上相同的结合特异性。这样的抗体可以容易地通过以下进行测试:例如竞争性ELISA或更适合地基于细胞的中和测定,其分别使用本发明的自身抗体及其单克隆衍生物作为参考抗体;以及实施例中描述的或本领域技术人员以其他方式已知的免疫测试。

[0159] 如在实施例和附图例如图19中进一步说明的,本发明的抗体优选地从人类供体分离并且因此结合人IFN α 亚型。因此,在一个实施方式中,本发明的抗IFN- α 抗体和IFN- α 结合片段识别仅人抗原或者至少优先于来自其他物种诸如小鼠的相应抗原进行识别。在另一实施方式中,本发明的抗IFN- α 抗体和IFN- α 结合片段结合其他物种的至少一种IFN α 亚型,优选地,其中所述其他物种为小鼠。本发明的抗体的结合特征(诸如特异性和亲和力)已在如本文中例如在实施例2、5和6中以及图2-3、图8-13和图18至27中所描述和示出的若干个实验测定中进行了测试。

[0160] 如已经针对本发明的抗体进一步证实的,它们能够中和其靶蛋白的生物活性;参见,例如在实施例3和图5至图7中描述的STAT1磷酸化测定以及干扰素特异应答元件报告基因测定的结果。在该情形下,术语“中和”是指本发明的抗体在生化的或基于细胞的测定中能够干预其靶蛋白的生物活性,如可以通过在本发明的受试者抗体存在的情况下进行相应的测定估计的,其中,与在不存在本发明的抗体的情况下并且在化合物例如已知在性质上使靶蛋白的生物活性不受影响的对照抗体存在的情况下的蛋白的生物活性相比,靶蛋白的生物活性伴随着增加经受该测定的本发明的抗体的水平而降低。还可以使用已知能够中和靶蛋白的生物活性(诸如已经针对本发明的抗IFN- α 抗体所示出的)的参考抗体并使候选抗体作为测试样品来进行这样的生化的和基于体外的测定,其中,可以观察到由于参考抗体和候选抗体的组合活性所引起的附加中和效果,或者观察到候选抗体和参考抗体的竞争,这可以通过对任一抗体进行标记来确定。因此,在本发明的优选实施方式中,通过本发明的方法获得的抗体能够中和其抗原(例如至少一种人IFN- α 亚型)的生物活性。

[0161] 如上面所指出的,通过例如在宿主细胞或在体外无细胞翻译系统中的表达,可以提供本发明的抗体或抗原结合片段,例如肽、多肽或融合蛋白。为了在宿主细胞中表达肽、多肽或融合蛋白,可以将编码所述肽、多肽或融合蛋白的核酸分子插入到适当的表达载体中,即包含用于转录和翻译所插入的编码序列的必需元件的载体。可以使用本领域技术人员公知的方法来构建包含对感兴趣多肽编码的序列和适当的转录和翻译控制元件的表达载体。这些方法包括体外重组DNA技术、合成技术以及体内基因重组。这样的技术描述在 Sambrook 等人, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* (1989), 以及 Ausubel 等人, *Current Protocols in Molecular Biology* (1989) 中;对于在该方面的进一步细节,还参见下文中进一步描述的“多核苷酸”和“表达”部分以及在实施例部分中引用的文献。

[0162] 用于表达产物的合适宿主细胞可以是任何原核或真核细胞;例如,细菌细胞(诸如大肠杆菌或枯草芽孢杆菌)、昆虫细胞(杆状病毒)、酵母细胞、植物细胞或动物细胞。然而,为了高效进行处理,哺乳动物细胞是优选的。可用于该目的的典型哺乳细胞系包括CHO细

胞、HEK293细胞、COS细胞和NSO细胞。

[0163] 当然,本发明的分离抗体可以不像这样应用于患者,而是通常必须按药学配制以确保例如它们在患者中的稳定性、可接受性和生物利用度。因此,在一个实施方式中,提供了本发明的方法,其进一步包括使经分离的单克隆抗体或其片段与药学上可接受的载体混合的步骤。下文将进一步详细地描述药学上可接受的载体。

[0164] 作为获得本发明的结合分子的稳定和永久来源的措施,特别是用于药用用途,可以通过直接克隆、PCR扩增或人工合成来分离编码这些结合分子的异源基因,并且该异源基因可以被引入且表达在合适的宿主细胞或机体中。因此,本发明的目的还在于提供一种用于制备可用于生产重组人抗IFN- α 抗体或其IFN- α 结合片段的重组细胞的方法,包括如下步骤:

[0165] (a) 通过如上所述的方法来制备B细胞;

[0166] (b) 对核酸进行测序和/或从B细胞获得核酸,该核酸编码;

[0167] (i) 表1中列出的C_H和C_L氨基酸序列(SEQ ID N0s: .6、8、14、16、

[0168] 26、28、34、36、42、44、72、74、80、82、88、92、96和98)中的至少一种或具有至少60%同一性的氨基酸序列;

[0169] (ii) 在图1(V_H) (SEQ ID N0s: 2、10、18、22、30、38、76、84和92)和图1((V_L) (SEQ ID N0s: 4、12、20、24、32、40、78、86和94))

[0170] 中所描绘的V_H和/或V_L可变区氨基酸序列的至少一个互补决定区

[0171] (CDR);

[0172] (iii) 如在图1中所描绘的V_H和/或V_L区的氨基酸序列;

[0173] (iv) 由从(a)的氨基酸序列中的任一种的部分改变所得到的氨基酸序列组成的至少一个CDR;和/或

[0174] (v) 包括由(ii)的氨基酸序列的部分改变所得到的氨基酸序列的重链和/或轻可变区;和/或

[0175] (c) 将核酸插入到表达宿主中以允许在该宿主中表达感兴趣抗体。

[0176] 如本文中所述的宿主细胞也可以用于先前的方法中,并且可以如在该说明书的“宿主”部分中所详细描述的那样使用。在这一方面,在一个实施方式中,提供了上述方法,其中表达宿主为酵母细胞、植物细胞或动物细胞。

[0177] 此外,在一个实施方式中,提供了一种用于制备药物组合物的方法,该药物组合物用于治疗与IFN- α 和/或IFN- ω 的表达和活性相关联的失调,该方法包括:

[0178] (a) 培养如上所定义的宿主细胞;

[0179] (b) 从培养物中纯化本发明的抗体、其IFN- α 结合片段、其生物技术衍生物或一个或多个免疫球蛋白链至制药等级;以及

[0180] (c) 将本发明的抗体、其IFN- α 结合片段或其生物技术衍生物与药学上可接受的载体混合。

[0181] 关于上述的用于生产各感兴趣抗体的方法,在一个实施方式中,本发明提供了一种方法,其中在上述步骤(b)与(c)之间操作该核酸,以引入限制位点、改变密码子使用、和/或增加或优化转录和/或翻译调节序列。

[0182] 如在所附的实施例2和3中所证实的和表4中所总结的,已经鉴定并克隆出结合分

子,即抗体,其以低抑制浓度(IC50)表现出针对至少一种人IFN- α 亚型的特别高的明显结合亲和力(EC50/ED50)和/或特别高的体外中和活性。在这方面,在一个实施方式中,本发明的抗IFN- α 抗体和其IFN- α 结合片段针对其相应的靶分子(例如如上文定义的人IFN- α 亚型)具有高亲和力,在低于100ng/ml,优选地低于20ng/ml并且更优选地低于10ng/ml的浓度显示出EC50。可替换地或另外地,在一个实施方式中,抗IFN- α 抗体及其IFN- α 结合片段针对至少一种人IFN- α 亚型具有高中和活性,在低于500、400、300或100ng/ml,优选地低于20ng/ml,更优选地低于10ng/ml,且最优选地低于5ng/ml的浓度显示出IC50。关于本发明的抗体的结合亲和力的更多细节,进一步参见例如下文的“结合特征”部分。

[0183] 本发明还涉及至少编码本发明的抗体或抗原结合片段的免疫球蛋白链的可变区的多核苷酸。优选地,所述可变区包括如图1中所阐述的 V_H 和/或 V_L 可变区的至少一个互补决定区(CDR)。

[0184] 在衍生序列的情况下,所述序列显示出与由上面提到的和在序列中所识别的那些序列组成的组中的序列至少60%的同一性、更优选地(按照如下顺序)至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%,并且最优选地95%、至少96-99%或甚至100%的同一性。两个序列之间的百分比同一性是由序列共享的相同位置的数目的函数,其中考虑到需要引入以用于两种序列的最佳对准的空位(间隙)的数目和每个空位的长度。可以使用本领域技术人员熟知的数学算法来完成序列的对比和两个序列之间的百分比同一性的确定。本文中所提到的同一性通过使用如下文进一步提及的BLAST程序确定。

[0185] 如上面所提及的,在一个优选的实施方式中,本发明涉及基本上完全人抗体,优选地为IgG,其至少包括恒定区的恒定重链I(C_H1)和对应的轻链,即与 λ 或 κ 组合的 $\gamma-1$ 、 $\gamma-2$ 、 $\gamma-3$ 或 $\gamma-4$ 。在一个特别优选的实施方式中,实施例中所说明的针对受试者抗体分离的那些恒定区的核苷酸和氨基酸序列如下面表1中所描述的使用,并且关于核苷酸序列以SEQ ID NOs:5、7、13、15、25、27、33、35、41、43、71、73、79、81、87、89、95和97中所描述的使用和/或关于氨基酸序列或以与先前提及的那些具有至少60%同一性的氨基酸序列以SEQ ID NOs:6、8、14、16、26、28、34、36、42、44、72、74、80、82、88、90、96和98中描述的使用。

[0186] 根据上述内容,本发明还涉及多核苷酸,特别是重组多核苷酸,其至少编码本发明的抗IFN- α 抗体或IFN- α 结合片段的一个免疫球蛋白链的可变区。通常地,由多核苷酸编码的所述可变区包括所述抗体的可变区的 V_H 和/或 V_L 的至少一个互补决定区(CDR)。在下面的“IgG结构”部分中更详细地描述了抗体的可变和恒定区。在本发明的一个优选实施方式中,多核苷酸包括具有下述多核苷酸序列的核酸、基本上由上述核酸组成或由所述核酸组成,所述多核苷酸序列编码如在下面的表1中所描述的本发明的抗体的 V_H 或 V_L 区。在这方面,本领域技术人员将容易理解的是,至少编码轻链和/或重链的可变结构域的多核苷酸可以编码任一免疫球蛋白链或它们中的仅一个的可变结构域。在一个优选的实施方式中,多核苷酸编码如上所限定的抗IFN- α 抗体或IFN- α 结合片段。

[0187] 表1:本发明的IgG1、 κ 、IFN特异性5D1、13B11、19D11、25C3、26B9、31B4、8H1、12H5和50E11抗体的可变和恒定区(V_H 、 V_L 、 C_H 、 C_L)的核苷酸序列。加下划线的加粗的核苷酸或氨基酸表明可变链序列中的CDR编码区。加下划线的斜体核苷酸或氨基酸表明尚未排序但已从数据库中获得序列。在恒定链中,这样的区与数据库中的相关人种系可变区序列对准并且根据数据库中相关人种系可变区序列进行调谐;参见例如由蛋白工程MRC中心(英国,剑

桥大学)主办的Vbase (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk>)。

| | |
|---------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 抗体 | 可变重链 (VH) 和可变轻链 (LV)、恒定重链 (CH) 和恒定轻链 (L) 的核苷酸和氨基酸序列。 |
| 5D1-V _H | gaagtgcaactggtgcaggccggcgagaggtgaaagcggcgggagtctctgaggatctctgtaaggtgctggatacacctttac aagttattggatcagttgggtgcgccagattcccgggaaaggcctggagtgatggtgaaatfgatcctagagactctataaccatc facaaccgctcctccaaggccacgtctcatctcagttgacaagtccatcaccactgtctacctgcagtggagcagcctgcaggcctcg gacaccgccattattattgtgtgagacattatctfacacagtcattgggtgactacttfgaccactggggccagggaacgctggtcc gtctctct SEQ ID NO:1 |
| 5D1-V _H | EVQLVQAGAEVKAPGESLRISCKVSGYFTFTSYWISWVRQIPGKGLEWMVKIDPRDSYT LYNPSFOGHVSISVDKSITTVYLQWSSLQASDTAIYYCVRHYLTQSLVDYFDHWGQGT LVAVSS SEQ ID NO:2 |
| 5D1-V _L κ 型 | gacattcagatgaccagctctccatectccctgtctgcatctgtgggagacagtgaccatcacttgcgggcaagtcagagcgtatcc aactacttccattggatcgacagaagccgggaaagccctgaactctgatctattctgcatccaattfgcaaacctgggtccatca agattcactggcagtggtgtgggacagaatgacactctaccatcaccagctctgcagcctgatgattcgaacttactactgtcaacagac tcacgggtaccggtfcaactttgcccaggggaccaagctggacgtcaga SEQ ID NO:3 |
| 5D1-V _L κ 型 | DIQMTQSPSSLSASVGDSTITCRASQSVSNYFHWYRQPKGAPELLIYSASNLQITGVP SRFTGSGSGTECTLTITSLQPDDFATYYCQQTHGYPFITFGQGTKLDVR SEQ ID NO:4 |
| 5D1-C _H | gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaa ggactactccccgaaccgggtgacgggtgctgggaactcagcgcctgaccagcggcgtgcacacctccccggctgctctacagctctc aggactctactcctcagcagcgtggtagccctccagcagctgggaccaccagacctatctgcaactggaatcacaagccca gcaacaccaaggtggacaagaagttgagccaaatcttgacaaaactcacatgcccaccgtgccagcacctgaaactctgggg ggaccgtcagcttctcttcccccaaacccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgctgggtgggtgacgtg agccacgaagacctgaggtcaagtcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaagccggggagggagcag tacaacagcacgtaccgtgtgtcagcgtctcaccgtctgcaccaggactggctgaaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctcaa caaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcc cgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgaactgcctggtcaaaagcttctatcccagcagatcgccgtggagtgaggagca atgggcagccggagaacaactacaagaccagcctcctcctgctggactccagcggctcctctctctacagcaagctcaccgtggac aagagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgctcctgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcct gtctccgggtaaatga SEQ ID NO:5 |
| 5D1-C _H | ASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK SEQ ID NO:6 |
| 5D1-C _L κ 型 | cgaactgtggtgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgctgctgaataact ctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagaggtgcacagagcaggacagc aaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgtgagcgaagcagactacgagaacacaaagtctacgcctgcaagtcacc catcagggcctgagctgcccgtcacaagagcttcaacagggagaggttag |

[0188]

[0189]

| | |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | SEQ ID NO:7 |
| 5D1-C _L κ 型 | RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHOGLSSPVTKSFNRGEC |
| | SEQ ID NO:8 |
| 13B11-V _H | Gacgtacagctgttcagctctgggggaggcttgatacagccggggggctccctgagactctctgtgagcctctggcttactttaagg actatgccatgagttgggtccgccaggctccaggaaggccctggagtggtctcagtaataagctgtagtgtaattgtagact atgtcgaactccggaagggcggttcaccgtctccagagacaattccaacaacacactcttctgcaaatggagccctgagagccgac gacacggccatttactgtgcgaa <u>ccaaggatagatgtctgtgctccctcggggcttgaactcctggggccagggaaacctgt</u> ctccgtctctca |
| | SEQ ID NO:9 |
| 13B11-V _H | DVQLLQSGGGLIQPGSLRLSCAASGFTFKDYAMSWVRQAPGKGLEWVSVISRS GNIV DYVDSVKGRFTVSRDNSNNTLFLQMDGLRADDTAIYYCAKPKDMIVVVPAGFDSWG QGTLVSVSS |
| | SEQ ID NO:10 |
| 13B11-V _L κ 型 | gacatccagatgaccagtttccatccacctgtctcatctgttgagacagcgtcaccatcacttgcggggccagtcagagcattg gcctgtgtggcctggatcagcagaaccagggaagccctaaactcctgatctataaggggtctagattagaaaacggggctccat cgaggttcagcggcagtgatctgggacagaatcactctcaccatcggcagcctgagcctgatatttgcacttattactgcca <u>aca</u> atataagacttggagcttcggccaagggaccaaggtggaatcaaa |
| | SEQ ID NO:11 |
| 13B11-V _L κ 型 | DIQMTQFPSTLSASVGDSTITCRASQISAWLAWYQQKPGKAPKLLIYKGSRL ENGV PSRFSGSGSGTEFTLTIGSLQPDDFATYYCQOYKTWTFGQGTKVEIK |
| | SEQ ID NO:12 |
| 13B11-C _H | gcctccaccaagggccatcggcttccctcggcaccctctccaagcactctgggggcacagcggccctggctgcctgtcaa ggactactccccgaaccggtagcgtgtcgggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcaacctccccgctgctctacagctctc aggactctactcctcagcagcgtggtgacctgacctccagcagctgggcaaccagacctatctgcaactgtaatacaagccca gcaacaccaaggtggacaagaagttgagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgccaccctgcccagcactgaactcctggg ggaccgtcagctctctctcccccaaaaccaagacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgctggtggtggacgtg agccacgaagacctgaggtcaagtcaactggtacgtgacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaaaccgcccgggagcag tacaacagcactgacctgtgtgacagctcctcaccctcctgaccagcagctggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctcaa caaagccctcccagccccatcgagaaaacatctcaaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatc ccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgctcaaaggcttatcccagcagatccctggtgagtgaggagag aatgggagcgggagacaactacaagaccagcctccctgctgactccgacgctcctctctctacagaagctcaccgtgga caagagcaggtggcagcaggggaactctctcatgctccctgatgatgagctctgcacaaccaactacacgagaagacctctccc tgtctccggtaaatga |
| | SEQ ID NO:13 |
| 13B11-C _H | ASTKGPSVFPLPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFNFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| | SEQ ID NO:14 |
| 13B11-C _L κ 型 | cgaactgtggctgaccatctgtctcatctcccaccatctgatgagcagttgaaatctggaactcctctgtgtgtgctgctgaataact ctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgacctcaatcgggtaactcccagagaggtgacagagcaggacagc aaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgtgagcaagcagactacgagaaacaaaactacgctcggaggtacc catcagggcctgagctcggcctcacaagagcttcaacaggggagaggttag |
| | SEQ ID NO:15 |
| 13B11-C _L κ 型 | RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHOGLSSPVTKSFNRGEC |
| | SEQ ID NO:16 |
| 19D11-V _H | gaggtgagctgtggagcttgggctgaggtgaagagccctggctcgtcggtaggggtcctcagggctctgagacacctcag cagttaccctatcagttgggtgcgacagccctggacaaggccttgatggatgggaaggatcctcctgacctgggtgtcaaaa ctacgtcagaacttccgggcagaatcacgattaccgcggacaagtcgcccctacagcctacttggaaactgagtagcctcagattg aggacacggcctgtattactgtcaggt <u>cccagtgccgacataatcctcagatttggggagcaccctcttgccttctggggccag</u> <u>ggaacctgtcaccgtctctca</u> |

[0190]

| | |
|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | SEQ ID NO:17 |
| 19D11-V _H | <u>EVOLLESGAEVKRPGSSVRVSCRASGDTFSSYPISWVRQAPQGLEWMGRILPALGVT</u> <u>NYAQNFRGRITITADKSPLTAYLESSLRFEDTAVYYCASPSADIIPSILGTTLFAFWGQ</u> <u>GSLVTVSS</u> SEQ ID NO: 18 |
| 19D11-V _L κ型 | <u>gaaattgtgtgacgcagtcctcagcaccctgtctctcctcgggggaagggccaccctctctcagggccagtcagaatgttag</u> <u>cagacactacttaacctgggtaccagcagaacctggccagctctcccggctcctctctatgtgtgctccagcagggccactggcgtc</u> <u>ccagacaggttcagtgccgggtgtctgggacagacttactctaccatcagcaggttggagcctgaagacttgcagtgctttactgcc</u> <u>agagctatcatagcccactctgtgtacacttcggccaggggaccaaggtggagatcaaa</u> SEQ ID NO:19 |
| 19D11-V _L κ型 | <u>EIVLTQSPGTLSPGEGATLSCRASQNVSRYHLTWYQQKPGQSPRLLIYGGSSRATGV</u> <u>PDRFSGGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVFYCQSYHSPPPVYTFGQGTKVEIK</u> SEQ ID NO:20 |
| 19D11-C _H | <u>gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggccacctctccaagagcactctgggggacacagcggccctgggctgcctggta</u> <u>aggactactccccgaaccgggtgacggtgtctgtggaactcagcgccctgaccagcggcgtgcacacctccccggctgtcctacagctct</u> <u>caggacttactcccacagcagcgtgtgaccgtgccctccagcagcttgggcaaccagacctacatctgcaactgaaacacaagccc</u> <u>agcaacaccaaggtggacaagagagtgagccaaactgtgacaaactcacacatgccaccgtgccagcactgaactcctggg</u> <u>gggaccgtcagcttctcttcccccaaaaaccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgctgtgtggtggagct</u> <u>gagccacgaagacctgaggtcaagttcaactgttacgtggacggcgtggaggtgcataatccaagacaagccgaggagagca</u> <u>gtacaacagcacgtaccgtgtgtcagcgtcctaccgtcctgcaccaggaactggctgaatggcaaggagtacaagtcaaggtctcca</u> <u>acaaaacctcccagccccatcgagaaaaccatccaagcacaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccat</u> <u>ccggggaggagatgaccaagaaccaggctcagcctgacctgctgcaaaagcttctatcccagcagacatcgccgtggagtgaggagag</u> <u>caatggcgaccgggagacaactacaagaccacgctcccgtgctggactccgacggctctcttctctatagcaagctcaccgtgga</u> <u>caagagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgtcccgtgatgatgaggtctgcacaaccactacacgcagaanacctctccc</u> <u>gtccccgggtaaatga</u> SEQ ID NO: 71 |
| 19D11-C _H | <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHFTFPAVLQSS</u> <u>GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLG</u> <u>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u> <u>QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLTP</u> <u>PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT</u> <u>VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQXXLSLSPGK</u> SEQ ID NO: 72 |
| 19D11-C _L κ型 | <u>cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgcctctgatgagcagttgaaatctggaactcctctgtgtgtgcctgtgaataact</u> <u>ctatccagagaggccaaagtacagtggaggtggataaacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgacagagcaggacagc</u> <u>aaggacagcacctacagcctcagcagacctgacgctgagcaagcagactacgagaaacaaaagtctacgctgcgaagtcacc</u> <u>catcaggcctgagctcggcgtcacaaaagagctccaacaggggagaggttag</u> SEQ ID NO: 73 |
| 19D11-C _L κ型 | <u>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE</u> <u>QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u> SEQ ID NO: 74 |
| 25C3-V _H | <u>gagatgcagctgatggagtctgggggaggttgggtacaaccgggggtccctgagactctcctgtgtagcctctgttccaccttaaaa</u> <u>gttttcgatgagtgggtccgccaggctccagggaagggctggagtggctgctagtgtcggctctcagggtggcagcaaaact</u> <u>atgcacctccgtgaaggccgggtctccatctccagagacaattccaacaacctctctatgtcaaatgaacagcctgggagctgagg</u> <u>acacggcctttatttattgtttaaagagaccgatcagtgccgacgatggaccctcttgacatgtggggccaaggaccctgtgctac</u> <u>gtctctacc</u> SEQ ID NO: 21 |
| 25C3-V _H | <u>EMQLMESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFKSFAMSWVRQAPGKLEWVASVGSQGG</u> <u>SKYYAPSVKGRFISISRDNNTLYVQMNSLGVEDTAFYYCVKETDAVATMDALDM</u> <u>WGQGLVIVST</u> SEQ ID NO:22 |
| 25C3-V _L κ型 | <u>gacatcgggtgaccagctcctccctctctctctctctctctctctctctctctctccagacaagtcagagtggttaac</u> <u>atfatctaaatgggtatcaacagagaccagggaagggccctcagctcctgatctctcgtcctccacttgcagagtggggtccatca</u> <u>aggttcagtgagcagtgatctgggacagacttctaccatcagctctacaacctgaagattctgacatcactactgtcaacaggg</u> |

[0191]

| | |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | tfacattfaceccgfacact ttggccaggggaccaaggtggagatcaaa SEQ ID NO:23 |
| 25C3-V _L κ 型 | DIRVTQSPSSLSASVGD ^R VSIS CQTSQSVNIYLNWYQQRPGKGPQLLISAAASTLQSGVPS RFGSGSGTDFILTHISLQPEDSASYY CQOGYITPYT FGQGTKVEIK SEQ ID NO:24 |
| 25C3-C _H | gcctccaccaagggcccatcggcttccccctggcaccctectccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggctcaa ggactactccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgacacctcccggctgtctacagctctc aggactctactccctcagcagcgtggtgacctgacctccagcagctgggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccca gcaacaccaaggtggacaagagagttgagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgcccagcactgaactcctgggg ggaccgtcagcttctcttcccccaaaacccaaggacacctcatgatctcccggaccctgagggtcacatgctggtggtggagctg agccacgaagacctgagggtcaagttcaactggtgacgtggagggcgtggaggtgcataatgccaagacaagcccgggaggagcag tacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtctcaccgtctgaccaggactggtgagtgaaggtacaaggtcaaggtctca caaaagcctcccagccccatcgagaaaaccttccaaagccaaagggcagccccgagaccacaggtgtacacctgccccatc ccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcggctggagtgggagagc aatgggcagccggagaacaactacaagaccagcctcccgtgctggactccgacgctcctctctctatagcaagctaccgtggac aagagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgctccgtgatgatgaggtctgcaacaacctacacgcagaagagcctctcct gtccccgggtaaatga SEQ ID NO:25 |
| 25C3-C _H | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKISKAKGQPREPQVYTLT PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK SEQ ID NO:26 |
| 25C3-C _L κ 型 | cgaactgtggctgaccatctgtctctatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactcctctgtgtgctgctgaataacct ctatcccagagagggcacaagtacagtggaaggtggataaccctccaatcgggtaactcccaggagaggtgcacagagcaggacagc aaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgtgagcaaaagcagactacgagaacaacaagtctacgctcggaaatcacc <u>catcagggcctgagctcggccgtcacaagagcttcaacaggggagaggttag</u> SEQ ID NO:27 |
| 25C3-C _L κ 型 | RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNLYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THOGLSSPVTKSFNRGEC SEQ ID NO:28 |
| 26B9-V _H | cagatactactcagagagtcgggcccaggactggtgaagccacggagacctgtccctcactgtagtgtctctggtgactccatcagt gatagtactactactgggctt ggattcggcagccccagggaagggaccagagtgattggc aggtctctattttagttcagacc actacaaccctcctcaaaagt cgctcagcatctccgttgacaagcccaagaaccagttctcttaaaagtacctctgtgactgtcg ccgacacggccacataattactgtgcgagaca agcccttggccagtcggagccatgaattgggtcagaccct ggggccagggatctct ggtcacagtctctca SEQ ID NO:29 |
| 26B9-V _H | QILLQESGPLVKPTETLSLTCVSVGDSIS DSSHYWA WIRQPPGKGP ^E WIGSVYFSSMT HYNPSLKSR VSISVDKPKNQFSLKVTSVTVADTATYYCAR QALARV GAMNWFDPWG QGSLVTVSS SEQ ID NO: 30 |
| 26B9-V _L κ 型 | gacataatgaccagctcaccagactcctgctgtgtctctggcgagggggcaccatcaactgca agtcaccagcagagcgtttt tfacctccagtaataagagttgtttagct tggtatcagcagaagccaggaaggtctccaaatgtctatctac gggcatcaaccgc caatcggggctccctgaccgaticagaggcagcgggtctgggacagattctctctaccatcaccagttctcagcgtgaagatgtgct gtttattctgt cagcaggtcagacatccccctccact tggcgaggaggaccaggtggagatcaaa SEQ ID NO:31 |
| 26B9-V _L κ 型 | DIIMTQSPDSL ^P VS ^L LG ^E VTINC KSSQSVFF TSSNK SCLA WYQKPGKSPKLLIY WAST RQSGVPDR FRGSGSGTDFSLTITSLQAEDVAVYFC QQCQTS PPTFGGGTRLEIK SEQ ID NO:32 |
| 26B9-C _H | gcctccaccaagggcccatcggcttccccctggcaccctectccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggctcaa ggactactccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgacacctcccggctgtctacagctctc aggactctactccctcagcagcgtggtgacctgacctccagcagctgggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccca gcaacaccaaggtggacaagagagttgagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgcccagcactgaactcctgggg |

[0192]

| | |
|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | ggaccgtcagcttctctctccccccaaaacccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgctggtggtggacgtg agccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtagcggcggcggaggtgcataatgccaagacaagccgaggagagcag tacaacagcacgtaccgtgtgtgacgctcctcaccgctcgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtccaaggtctcaa caaagcctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccccatc ccgggagagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaggtctctatcccagcgacatcgccgtggagtggagagc aatgggagccggagaacaactacaagaccacgctcccgctgctggactccgacgctcctctctctatagcaagctaccgtggac aagagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgctcctgatgatgaggtctgcaacaacctacacgcagaagagcctctcct gtccccggtaaatga SEQ ID NO:33 |
| 26B9-C _H | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLTP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK SEQ ID NO:34 |
| 26B9-C _L κ 型 | cgaactgtggctgcaccatctgtctcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgctctgaataact ctatcccagagagggcaaaagtacagtggaaggtggataaccctccaatcgggtaactcccaggagagtgcacagagcaggacagc aaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaaagcagactacgagaacaacaagctacgctcgcgaagtcacc catcagggcctgagctcggcctcacaagagctcaacagggagaggttag SEQ ID NO:35 |
| 26B9-C _L κ 型 | RTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPPVTKSFNRGEC SEQ ID NO:36 |
| 31B4-V _H | cagatacagctcaggagtcggccaggactggtagggcccacggagaccctgtccctcactgtgagtctctggtgactccatcag cagagtagtactactgggctggattcggcagccccagggaaggaccagaatggattggcagtgctatfttagctgatgacc actacaacccgtccctcacaagtgcgctcagcatctccattgacaaggccatgaataagttctccttaaaagtgacctgtgactgcgc cgacagggccacatattactgtgcgagac agggccttggccgagtcggagccatgaatgggtcagccctggggccaggatctct ggtcacagtctcctca SEQ ID NO:37 |
| 31B4-V _H | QIQLQESGPLVRPTETLSLTCSVSGDSIS QSSHYWA WIRQPPGKGPEWIGSVYFSSMT HYNPSLTSR VSISIDKAMNKFSLK VTSVTVADTATYYCAR QALARVGMNWFD PWG QGSLVTVSS SEQ ID NO:38 |
| 31B4-V _L κ 型 | gacatcataatgaccagctccagagtcctcctgctgtctctgggcgagggggcaccatcaactca agtcagccagagcgtcttt ttcactccagtaataggagttgttagctt ggtatcagcagaagccaggacagcttcccaattgctcatt ctgggcatcaacccgc caatccgggctccctgaccgattcacagcagcgggtctgggacagattctctcaccatcgccggtctgcaggttgaagatgtgct gtttattct gtcagcaggtcagcgateccctccactt cggcggcgggaccaggtggagctcaga SEQ ID NO:39 |
| 31B4-V _L κ 型 | DIIMTQSPESLPVSLGEGVTINCK KSSQSVFFTSSNR SCLAWYQQKPGQSPKLLIYWAST RQSGV PDRFTGSGSGTDFSLTIAGLQVEDVAVYFC QQCHAS PPTFGGGTRLELR SEQ ID NO:40 |
| 31B4-C _H | gctccaccaagggccatcgggttccccctggcaccctcctccaagagcactctgggggcacagcggccctgggctgctggtcaa ggactctccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacctccccgctgtctacagctctc aggactctactcctcagcagcgtggtgacctgacctcagcagctgggcaccagacctatctgcaactggaatcacaagccca gcaacaccaaggtggacaagagagttgagccaaactctgtgacaaaactcacatgcccaccgtgccagcacctgaactcctgggg ggaccgtcagctctctctccccccaaaacccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgctggtggtggagctg agccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtgacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaagccgcgggagagcag tacaacagcagctaccgtgtgtcagcgtcctcaccgtcctgaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctcaa caaagcctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccccatc ccgggagagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaggtctctatcccagcgacatcgccgtggagtggagagc aatgggagccggagaacaactacaagaccacgctcccgctgctggactccgacggtcctctctctatagcaagctaccgtggac aagagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgctcctgatgatgaggtctgcaacaacctacacgcagaagagcctctcct gtccccggtaaatga SEQ ID NO:41 |
| 31B4-C _H | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS |

[0193]

| | |
|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | SGLYLSVVVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLT PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK SEQ ID NO:42 |
| 31B4-C _L κ 型 | cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagtgaaatctggaactgcctctgtgtgtgcctgctgaataact ctatcccagagaggccaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgctacagagcaggacagc aaggacagcactacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaaagcagactacgagaacaacaagtctacgcctgcgaagtcc <u>catcaggcctgagctgccccgcacaagaagcttcaacaggggagagtgtag</u> SEQ ID NO:43 |
| 31B4-C _L κ 型 | RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV <u>THOGLSSPVTKSFNRGEC</u> SEQ ID NO:44 |
| 8H1 V _H | caggtgcagctggctgagctgtgggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtctctgcaaggctctgacagaccttcac <u>cagtgatgatacaactgggtgcgacaggccccctggacaggggctagagtgatggatggaggaacccaacactcaggacac</u> <u>ggctatgcagaagttccacggc</u> gactacactgaccagcaacagttccataagtacatctatctgaggtgagcggcctgagat ctgaggacacggcctgtattactgtgcgagag <u>gggggactcagcttgcacggccactactcctttgggggtct</u> ggggccagg ggaccaggtcatctctcctca SEQ ID NO:75 |
| 8H1 V _H | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGQFTF <u>SDDIN</u> WVRQAPGQGLEWMGWRNPNT <u>QDTGYAOKFHGRL</u> TLTSSSISTSYLELSGLRSEDVAVYYCAR <u>AGTSTLTGHYFALG</u> <u>VWGQGTIVVSS</u> SEQ ID NO:76 |
| 8H1 V _L κ 型 | gacatcagctgaccagcttccatcctcctctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactgt <u>caggcactcaggataatgac</u> <u>aaatattaaatgg</u> tatcagcagaaaccaggaaagtcctaaactcctgatctac <u>gaacatccaattggagta</u> ggggccccat caaggtcagtggaagtggtctgggacacatttactcaccatcagcagcctgcaggctgaagatttgaacatattact <u>gcaacag</u> <u>tatgagaattcccgctcact</u> ttcggcggaggaccaaggtggagatcaaa SEQ ID NO:77 |
| 8H1 V _L κ 型 | DIQLTQSPSSLSASVGDRTITC <u>QATQDISKYL</u> NWYQQKPKGVPKLLIY <u>ETSNLEV</u> GV PSRFSGSGSGTHFTLTISSLQAEDFATYYC <u>QOYENFPFT</u> FGGGTKVEIK SEQ ID NO: 78 |
| 8H1 C _H | gcctcccaaggcccatcggcttcccctggcaacctcctccaagagcaactctggggcacagcggccccgggctgctggtca aggactactccccgaaccggtagcgggtgctggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgacacacctcccggctgctctacagctc tcaggacttactcctcagcagcgtggtgaccgtgccccccagcagctgggacccagacatcatctgcaacgtgaatcacaagcc cagcaacaccaaggtggacaagagagtgagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgccccaccgtgccagcactgaaactctg gggggaccgtcagctctctctcccccaaaacccaaggaacacctcatgatctcccggacctgaggtcacatgctggtggtgga cgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccggggagg agcagtaacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggt ctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaacctcctcaaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcc cccatccgggagagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaggtcttatcccagcagatcgccgtggagtg gagagcaatgggagcgggagaacaactacaagaccagcctcccgtgctggactccgacggctcctctctctatagcaagctcac cgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacctctctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcaaacactacacgcagaagagc ctctcctgtccccgggtaaa SEQ ID NO:79 |
| 8H1 C _H | ASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYLSVVVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK SEQ ID NO: 80 |
| 8H1 C _L κ 型 | cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagtgaaatctggaactgcctctgtgtgtgcctgctgaataact tctatcccagagaggccaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgctacagagcaggacaca gcaaggacagcactacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaaagcagactacgagaacaacaagtctacgcctgcgaagtca |

[0195]

| | |
|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 50E11 V _H | QVQLVQSGAEMKPKGSSVKVSCCKDFGGTFSVYGVNWVRQAPGQGLEWMGGLIPVI GPANYAQKFQGRITITADESTSTAYMELSSLRFDDTAIYYCVRDDNEYWGQGLTVT SS SEQ ID NO:92 |
| 50E11 V _L κ型 | gaaatggtgctgacacagtccagccacctgtcttctgctccaggagaaagagccacctctctgtaggccagctcagactgttag cactcttagcctggtaccaacagaaacctggccaggtccaggctcctctgtctacgatatctctccagggccaatggcactccag ccaggttcagtgccgggtgctgggacagacttcaactctcaccatcagcagcctagaacttgaagatttgcggttttactgtcagtg cgtagcaactggcctccctcctcacttcggcggagggaccagggtggagatcaaa SEQ ID NO: 93 |
| 50E11 V _L κ型 | EMVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQTVSTFLAWYQKPGQVPRLLVYDISSRANGT PARFSGGGSGTDFTLTISSLELEDFAVYYCQWRSNWPPSLTFGGGTRVEIK SEQ ID NO: 94 |
| 50E11 C _H | gcctccaccaaggcccatcggctctcccctggcaccctcctccaagagcactctggggcacagcggccctgggctgctgctga aggactactcccgaaccgggtgacgggtgctgctggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacctcccggctgtctactagtc tcaggacttactccctcagcagcgtggtgaccgtgcccctccagcagctgggcccagacactatctgcaactgaaatcacaagcc cagcaacaccaaggtggacaagaagtggagcccaaatctgtgacaaaactcacatgccaccctgaggtccagcactgaactcctg ggggaccgtcagctctctcttcccccaaaacccaagacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgctggtggtgga cgtgagccacgaagacctgaggtcaagtcaactggtacgtggacggcgtggaggtgataatgccaagacaaaaccggggagg agcagtiacaacagcactaccgtggtgacgtcctcaccgtcctgaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtcaaggt ctccaacaaaagcctcccagccccatcgagaaaaccatctccaagccaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcc cccatccgggatgagctgaccaagaaccaggctgacctgacctggtcaaaaggtcttatcccagcagatcgcctggagtg gagagcaatggcagccggagaacaactacaagaccgcctcccgtgctggactccgacggctcctcttctctacagcaagctca ccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaactctctcatgctccgtgatgcatgagggtctgcacaaccaactacagcagaagag cctctccctgtctccggtaaatga SEQ ID NO: 95 |
| 50E11 C _H | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSVTVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHCTCPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEGLHNHYTQKSLSLSPGK SEQ ID NO: 96 |
| 50E11 C _L κ型 | cgaactggtgctcaccatctgtcttctctcccgcacctgatgagcagtgaaatctggaactgcctctgtgtgctgctgaataact tctatcccagagagccaaagtacagtggaaggtggataaccgctccaatcgggtaactcccagagaggtgtcacagagcaggaca gcaagagacagcactacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaaagcagactacgagaacacaaggtctacgctcggaagtc cccatcagggcctgagctcgcctcacaagaagctcaacaggggagagtgtag SEQ ID NO: 97 |
| 50E11 C _L κ型 | RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC SEQ ID NO: 98 |

[0196] 本领域技术人员将容易理解的是,具有上述可变结构域的抗体的可变结构域可以用于构建具有期望的特异性和生物功能的其他多肽或抗体。因此,本发明还包含多肽和抗体,该多肽和抗体包括上述可变结构域中的至少一个CDR并且有利地具有与在所附实施例中描述的抗体基本上相同或相似的结合特性。本领域技术人员将容易理解的是,根据本领域已知的方法,例如如在欧洲专利申请EP 0451216 A1和EP 0549581A1中描述的方法,可以通过利用本文中描述的可变结构域或CDR来构建抗体。此外,本领域技术人员已知,可以通过在CDR内或在与如由Kabat定义的CDR部分重叠的超变环(Chothia和Lesk, J.Mol.Biol.196(1987),901-917)内进行氨基酸替换来提高结合亲和力。因此,本发明也涉及这样的抗体,其中所提及的CDR中的一种或多种包括一个或多个(优选不超过两个)的氨基酸替换。优选地,本发明的抗体在其免疫球蛋白链的一种或两者中包括如针对V_H区在SEQ ID NOs:2、10、18、22、30、38、76、84和92中描述的,针对V_L区在SEQ ID NOs:4、12、20、24、32、40、78、86和94描述的或如图1中所示的可变区的两个或所有三个CDR。

[0197] 编码上述抗体的本发明的多核苷酸可以是例如DNA、cDNA、RNA或者合成生成的DNA或RNA,或以单独或组合的方式包括这些多核苷酸中的任一种的重组生成的嵌合型核酸分子。在一个实施方式中,多核苷酸是编码可变区和恒定域的至少一部分的cDNA。在一个优选的实施方式中,提供了包括上述多核苷酸的载体,可选地与编码所述抗体的其他免疫球蛋白链的可变区的所述多核苷酸组合。这样的载体可以包括另外的基因,诸如允许在合适的

宿主细胞中且在合适的条件下选择所述载体的标记基因。

[0198] 优选地,本发明的多核苷酸可操作性地连接至允许在原核或真核细胞中表达的表达对照序列。所述多核苷酸的表达包括将多核苷酸转录为可翻译的mRNA。确保在真核细胞(优选地为哺乳动物细胞)中表达的调节元件对于本领域技术人员而言是公知的。它们通常包括确保转录的起始的调节序列以及可选地确保转录的终止和转录物的稳定性的聚A信号。另外的调节元件可以包括转录以及翻译增强子、和/或自然关联或异源启动子区。

[0199] 在这方面,本领域技术人员将容易理解的是,至少编码轻链和/或重链的可变结构域的多核苷酸可以编码两种免疫球蛋白链或仅一种链的可变结构域。

[0200] 同样,所述多核苷酸可以处于相同启动子的控制下,或者可以被单独控制以用于表达。允许在原核宿主细胞中表达的可能的调节元件包括例如大肠杆菌中的PL、lac、trp或tac启动子,并且允许在真核宿主细胞中表达的调节元件的实例为酵母中的AOX1或GAL1启动子,或者哺乳动物和其他动物细胞中的CMV启动子、SV40启动子、RSV启动子、CMV增强子、SV40增强子或球蛋白内含子。

[0201] 除了负责转录的起始的元件之外,这样的调节元件还可以包括多核苷酸下游的转录终止信号,诸如SV40聚A位点或tk聚A位点。此外,取决于所使用的表达体系,能够将多肽引导至细胞区室或能够将多肽分泌到介质中的前导序列可以被添加到本发明的多肽的编码序列中,并且是本领域中公知的。一种或多种前导序列在适当的阶段与翻译、起始和终止序列一起组装,并且优选地是一种能够将翻译蛋白或其一部分的分泌引导到周质空间或胞外介质中的前导序列。可选地,异源序列可以对包括C端或N端鉴定肽的融合蛋白进行编码,该C端或N端鉴定肽赋予所表达的重组产物的期望特征,例如稳定性或简单纯化。在该环境下,合适的表达载体在本领域是已知的,诸如Okayama-Berg cDNA表达载体pcDV1 (Pharmacia)、pCDM8、pRc/CMV、pcDNA1、pcDNA3 (Invitrogen) 或pSPORT1 (GIBCO BRL)。

[0202] 优选地,表达控制序列将载体中能够转化或转染真核宿主细胞的真核启动子系统,但还可以使用用于原核宿主的控制序列。一旦载体已经被结合到适当的宿主中,将宿主保持在适合于核苷酸序列的高水平表达的条件下,并且如果需要的话,后面可以跟随免疫球蛋白轻链、重链、轻/重链二聚体或完整抗体、结合片段或其他免疫球蛋白形式的收集和纯化;参见,Beychok, Cells of Immunoglobulin Synthesis, Academic Press, N.Y., (1979)。

[0203] 此外,本发明涉及载体,特别是在基因工程中常规使用的质粒、粘粒、病毒和噬菌体,其包括对抗原进行编码或优选地对本发明的抗体的免疫球蛋白链的可变结构域进行编码的多核苷酸;可选地,其与对本发明的抗体的其他免疫球蛋白链的可变结构域进行编码的本发明的多核苷酸组合。优选地,所述载体是表达载体和/或基因转移或靶向载体。

[0204] 从病毒诸如逆转录病毒、牛痘病毒、腺相关病毒、疱疹病毒或牛乳头瘤病毒得到的表达载体可以用于将本发明的多核苷酸或载体递送到靶细胞群体中。本领域技术人员公知的方法可以用于构建重组病毒载体;参见,例如,在Sambrook, Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y. 和 Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1994) 中描述的技术。可替换地,本发明的多核苷酸和载体可以被重组到脂质体中,以用于递送至靶细胞。包含本发明的多核苷酸(例如,免疫球蛋白链的重和/

或轻可变结构域、编码序列和表达控制序列)的载体可以通过公知的方法转移到宿主细胞中,这些方法根据细胞宿主的类型而变化。例如,氯化钙转染通常用于原核细胞,而磷酸钙处理或电穿孔可以用于其他细胞宿主的转化;参见上述Sambrook部分。

[0205] 关于上述,本发明还涉及包括所述多核苷酸或载体的宿主细胞。所述宿主细胞可以是原核或真核细胞。存在于宿主细胞中的本发明的多核苷酸或载体可以整合到宿主细胞的染色体组(基因组)中,或者可以保持在染色体外。宿主细胞可以是任何原核或真核细胞,诸如细菌、昆虫、真菌、植物、动物或人细胞;在下面的“宿主细胞”部分更加详细地描述了用于产生本发明的抗体的合适宿主细胞和方法。

[0206] 使用上述宿主细胞,可以产生和制备本发明的抗体,例如,用于药用用途或作为治疗干预的靶。因此,在一个实施方式中,本发明的目的还在于提供一种用于制备抗IFN- α 抗体或其IFN- α 结合片段的方法,所述方法包括:

[0207] (a) 培养如上所定义的细胞;以及

[0208] (b) 从培养物中分离上述抗体或其IFN- α 结合片段。

[0209] 因此,本发明涉及由本发明的多核苷酸编码的或可以通过用于制备抗IFN- α 抗体或其一种或多种免疫球蛋白链的上述方法获得的重组抗体或其IFN- α 结合片段,其一种或多种免疫球蛋白链。用于抗体及其模拟物的重组生产的方式和方法以及筛选竞争结合分子(其可以是抗体或可以不是抗体)的方法在本领域中是已知的。然而,如本文中所描述的,特别是关于人体中的治疗应用,本发明的抗体在以下意义上是重组人抗体:所述抗体的应用基本上没有针对这样的抗体的免疫反应,而针对嵌合抗体和甚至人源化抗体会观察到这种免疫反应。

[0210] 结合分子、抗体或其片段可以被直接用作治疗剂。然而,在一个实施方式中,由本发明提供的抗体或抗原结合片段被可检测地标记或附着于药物,优选地,其中可检测标记选自自由酶、放射性同位素、荧光团、肽和重金属组成的组。本发明的经标记的抗体或抗原结合片段可以用于在体内或体外检测特定靶,包括体外“免疫化学/免疫标记”类测定。在体内,它们可以以与核医学成像技术相似的方式用于检测表达感兴趣抗原的组织、细胞或其他材料。下面在“标记和诊断”部分进一步更加详细地描述标记、它们在诊断中的用途以及它们与本发明的结合分子的偶联。

[0211] 本发明的抗体从受自身免疫失调影响的动物或人分离。另一方面,本发明中鉴定的IFN- α 特异性抗体可能涉及到严重损害受影响个体的免疫系统,其与例如在APECED患者中观察到的症状相关联。因此,本发明的另外的方面在于通过提供用于最小化自身抗体的数目和/或自身抗体在患病的人患者或动物中的作用的手段和措施来消除或至少减轻患有自身免疫失调的受试者的病理反应。因此,在一个实施方式中,本发明也涉及包括由本发明的自身抗体特异性识别的表位的肽或基于肽的化合物。如下面进一步详细描述的,可以通过抗独特型抗体获得与通过应用竞争抗原、隔绝并因而防止自身抗体与它们的相应靶结合的相似作用。因此,在一个实施方式中,本发明还提供了本发明的自身抗体的抗独特型抗体。

[0212] 如上已经表明的,本发明还涉及本发明的抗独特型抗体或肽或基于肽的化合物,用于治疗如上所定义的失调,即与自身耐受的破坏或不受控发生相关联的失调。本发明的这些分离抗体或其片段可以用作免疫基因以生成单克隆抗独特型抗体组。对于用于生成抗

独特型抗体的合适方法,参见Raychadhuri等人,J.Immunol.137(1986),1743,并且对于T细胞,参见Ertl等人,J.Exp.Med.159(1985),1776。将使用本领域中经常进行的标准测定,根据内图像和非内图像独特型(个体基因型)的表达来表征抗独特型抗体,如在Raychaudhuri等人,J.Immunol.137(1986),1743中详细描述。如果抗独特型抗体在结构上模拟其结合至或被其结合的抗体的抗原,则其被称为抗原的“内图像”。

[0213] 本领域中描述了提供模拟自身免疫疾病相关联的自身抗体(自体抗体)的独特型的分子的方法;参见,例如,国际申请W003/099868,将该申请的公开内容通过引用并入到本文中。例如,这样的方法可以包括以下步骤:(a)根据本发明的方法提供自身抗体;(b)将自身抗体结合至固相以形成亲和基质;(c)使包括免疫球蛋白的混合血浆或B细胞与亲和基质接触,随后去除未结合的血浆组分;(d)从基质洗提作为自身抗体的抗独特型抗体(抗Id)的结合免疫球蛋白;(e)提供包括多种分子成员的分子库;以及(e)使抗Id与分子库接触,并分离被抗Id结合的那些结合分子,结合分子为模拟自身抗体的独特型的分子。国际申请W02010/136196中公开了分离独特型自身抗体的方法,将其公开内容通过引用并入到本文中,该申请描述了用于治疗自身免疫疾病和免疫系统失调的包含从正常人血清(NHS)中分离的自然多克隆IgG反应抗体(Abs)的免疫球蛋白制剂。IgG反应Ab通过结合至它们位于抗原组合位点内或附近(例如,与抗原组合位点重叠)的抗原决定簇,强有力地中和存在于患有自身免疫疾病的患者的血清中的疾病相关或病原自身抗体。

[0214] 本发明还涉及包括本发明的上述抗IFN- α 抗体和/或IFN- α 结合片段、多核苷酸、载体、细胞、肽或基于肽的化合物和/或组合时显示出本发明的抗体或其IFN- α 结合片段的特征的抗体或其IFN- α 结合片段的混合物(cocktail)中的任一种的组合物。另外地或可替换地,在一个实施方式中,本发明的组合物或试剂盒包括本发明的抗独特性抗体。在一个实施方式中,该组合物为药物组合物并且进一步包括药学上可接受的载体。药学上可接受的载体、给药途径和剂量方案可以从本领域技术人员已知的文献中获取,并且还在下面的“药物载体”和“剂量方案”部分进一步更加详细地描述。

[0215] 除了生化和基于细胞的体外测定之外,本发明的抗体的治疗功效可以在适当的动物模型中进行验证,诸如针对RA、牛皮癣、SLE或T1DM;参见下面的实施例,例如实施例4。

[0216] 在一个实施方式中,该药物组合物进一步包括可用于治疗炎症或自身免疫失调的另外的药剂,优选地,其中所述药剂选自非甾体抗炎药(NSAID)、皮质类固醇、抗组胺剂以及它们的组合组成的组。另外地或可替换地,在另外的实施方式中,该药物组合物进一步包括可用于治疗炎症相关疾病的另外的药剂,该药剂选自免疫抑制药和抗炎药或“抗风湿”药组成的组。

[0217] 在另一实施方式中,该组合物为诊断组合物或试剂盒,并且进一步包括在基于免疫或基于核酸的诊断方法中惯常使用的试剂。

[0218] 此外,本发明涉及前述抗IFN- α 抗体及其IFN- α 结合片段中的任一种,或如上所定义的组合物,用于以下方法中:

[0219] (a) 治疗或预防免疫介导的或自身免疫疾病或病症的进展;

[0220] (b) 减轻与免疫介导的或自身免疫性疾病或病症相关联的症状;和/或

[0221] (c) 在受试者中诊断或筛选免疫介导的或自身免疫性疾病或病症的存在或用于确定受试者发展免疫介导的或自身免疫性疾病或病症的风险,其中疾病和病症与患者中的

IFN- α 和/或IFN- ω 的表达相关联。

[0222] 在这方面,可以使用若干种给药路径。在本发明的一个实施方式中,提供了上述抗体或抗原结合片段、抗独特型抗体或者肽或基于肽的化合物和/或以组合方式显示出本发明的抗体的特征的抗体的混合物,其均被设计静脉内、肌内、皮下、腹膜内、鼻内、胃肠外或作为气溶胶给药。

[0223] 如上所述,由于它们的结合特异性,本发明的分子诸如抗体及其片段可以优选地用于上面限定的治疗、减轻、诊断和/或筛选免疫介导的或自身免疫失调或病症的方法中。例如,已经在患有SLE的患者的血清中频繁地检测到升高的IFN- α 活性(Rönnblom等人, Sem. Immun. 23(2011), 113-121)。在患有各种自身免疫失调(诸如干燥综合征、皮炎、多发性硬化症(MS)、牛皮癣、I型或胰岛素依赖型糖尿病(T1DM或IDDM)的患者和小部分RA患者的白细胞中进一步显示出干扰素依赖基因(称为“干扰素签名”)的特异表达谱(参见,例如Higgs等人, Eur Musc Rev(2012), 22-28)。此外,在IFN- α 治疗期间重复观察到发炎性关节炎、MS和T1DM的发展,这表明IFN- α 至少促进了这些疾病(Crow MK., Arthritis Res Ther. (2010), Suppl 1:S5)。另外的数据表明在肌炎、系统性硬皮病、慢性牛皮癣中(Higgs等人, Eur Musc Rev(2012), 22-28; Bissonnette等人, J Am Acad Dermatol(2009), 427-436; Greenberg SA, Arth Res Ther(2010):S4)和自身免疫性甲状腺炎(Prummel和Laurberg, Thyroid(2003), 547-551)中涉及IFN- α 。因此,在一个实施方式中,提供了供上述方法使用的如上所定义的抗体或其IFN- α 结合片段或组合物,其中所述疾病为自身免疫疾病,其优选地选自自由以下组成的组:系统性红斑狼疮(SLE)、皮肤性红斑狼疮(CLE)、盘状红斑狼疮(DLE)、1型糖尿病(T1DM)、干燥综合征、皮炎、牛皮癣、自身免疫性甲状腺炎、类风湿性关节炎、脊柱关节炎、硬皮病和包括白血病的不同癌症形式,诸如乳腺癌和卵巢癌和儿童急性淋巴细胞白血病(ALL; Einav等人, Oncogene 24(2005), 6367-6375)。初步结果表明在从另外患有或未患有T1DM的APS1患者获得的抗体的中和活性方面存在差异(图4)。然而,对患者血清的更加详细的分析揭示了两种患者中各自的抗IFN α 抗体的中和活性可以基本上相同,而IFN中和活性的抗体滴度和总水平显著不同,其中在T1DM患者中具有非常低的滴度;参见图31和图32。因此,在一个实施方式中,本发明还涉及本文中描述的IFN- α 和IFN- α / ω 结合分子以及其他IFN- α 结合分子,用于治疗患者中的T1DM,已确定来自这些患者的血清样品显示出与对照样品(即来自健康受试者的血清或来自无疾病症状的T1DM患者的血清)相比针对至少一种IFN- α 亚型的细胞因子较低的中和活性。

[0224] 由于适合治疗例如与本文中呈现的炎症相关联的失调的大量分子,本发明还涉及治疗、诊断和/或预后这样的失调的可能过程和结果的方法,优选地,其中免疫介导的或自身免疫疾病或病症与IFN- α 和/或IFN- ω 表达相关联,并且还涉及本发明的分子的用途。在一个实施方式中,提供了一种用于治疗这样的失调的方法,该方法包括:给予需要其的受试者治疗有效量的上述抗体或抗原结合片段、组合时显示出本发明的抗体的特征的抗体的混合物、抗独特型抗体或者肽或基于肽的化合物。

[0225] 此外,在一个实施方式中,本发明涉及一种治疗与IFN- α 和/或IFN- ω 的表达相关联的免疫介导的或自身免疫疾病或病症的方法,包括给予受试者治疗有效量的配体结合分子,该配体结合分子包括:

[0226] (i) 本发明的抗IFN- α 抗体和IFN- α 结合片段的至少一个CDR;或

[0227] (ii) 如上所定义的至少一种抗独特型抗体和/或肽或基于肽的化合物。

[0228] 基于使用仅一种特异于与疾病相关或引起疾病的特定抗原的表位的单克隆抗体的治疗方法可能会存在若干缺点。例如,治疗的困难和可能的低效率可能起源于导致特定失调的需要同时靶向若干种抗原的发病机理的多样性。此外,必须考虑患者群体的内在多样性,涉及例如不同患者或一个患者中给定抗原的多态性、糖基化异质性或轻微变性,这可能至少导致所使用的单克隆抗体的降低的结合效率。这些缺点中的一些可以通过例如进行预处理筛选以确定抗原是否与旨在待治疗的患者免疫地相关以及确定在特定的患者中是否存在任何表位变化来避开。然而,由于治疗紧急性或成本限制,通常省略这样的筛选。因此,本发明还涉及基于一次向患者应用多于一种类型的结合分子的方法,即涉及结合分子的混合物的应用。这些结合分子可以特异性地结合至不同表位的一种IFNA亚型和/或IFN- ω 的表位,所应用的每种结合分子可以特异性地结合另一IFNA亚型,或者若干种结合分子用于结合至多于一种的IFNA亚型和/或IFN- ω 的若干种表位。在本发明的结合分子针对(特异性地结合)作为抗原的一种IFNA亚型的情况下,它们的结合特异性针对所述抗原的不同表位。这样的化合物的使用被特别地设想成用于治疗患有自身免疫失调例如APS1的患者,该患者由于针对约3000个内源抗原的自身抗体的存在而经常不能使用一种特定抗体进行单一治疗。在这种情况下,期望利用本发明的具有相同或不同抗原特异性的两种或更多种单克隆抗体和/或肽和基于肽的化合物的组合疗法来实现至少症状的一些缓解。

[0229] 因此,在一个实施方式中,提供了治疗失调的另外的方法,该方法包括给予受试者治疗有效量的混合物,该混合物基本上由选自自由以下组成的组中的至少两种、三种、四种、五种和更多种组分组成:

[0230] -特异性地结合如上文定义的IFNA亚型和/或IFN- ω 的本发明的抗IFN- α 抗体和IFN- α 结合片段;和/或

[0231] -本发明的抗独特型抗体和/或本发明的肽或基于肽的化合物,该肽或基于肽的化合物包括通过本发明的抗IFN- α 抗体和IFN- α 结合片段特异性地识别的表位。

[0232] 本发明自然地还扩展到下述诊断和预后方法,该诊断和预测方法针对诊断与IFN- α 和/或IFN- ω 的一种或多种亚型的表达相关联的免疫介导的或自身免疫病症和失调,和/或预后疾病的发展,即其进展、对治疗的反应或恢复。因此,在一个实施方式中,本发明涉及一种用于诊断与IFN- α 表达相关联的受试者中的免疫介导的或自身免疫疾病或病症的方法,该方法包括:使受试者的生物样品与本发明的抗IFN- α 抗体和IFN- α 结合片段接触,并检测IFN- α 和/或IFN- ω 的存在。此外,在一个实施方式中,本发明涉及在所分离的生物样品中检测或确定IFN- α 和/或IFN- ω 的方法,该方法包括:将样品与本发明的抗IFN- α 抗体混合,允许抗体与存在于混合物中的任何IFN- α 亚型和/或IFN- ω 形成复合物,以及检测存在于混合物中的复合物。

[0233] 如上面已经提及的,在一个实施方式中,本发明涉及用于诊断与IFN- α 和/或IFN- ω 的表达相关联的免疫介导的或自身免疫疾病或病症的试剂盒,所述试剂盒包括上述抗IFN- α 抗体和IFN- α 结合片段、抗独特型抗体或者肽或基于肽的化合物、多核苷酸、载体或细胞,可选地具有试剂和/或使用说明书。与本发明的试剂盒相关联地,例如在包括该试剂盒的容器内可以是调节药物或生物产品的制造、使用或销售的政府机关规定的形式的通知,该通知反映了上述机构对制造、使用或销售用于人类给药的批准。另外地或可替代地,该试

剂盒包括在适当的诊断测定中的试剂和/或使用说明书。组合物,即本发明的试剂盒当然特别适合于诊断、预防和治疗伴有IFN- α 表达的失调,特别是可应用于治疗如上所述的疾病。在一个特别优选的实施方式中,失调与一种或多种IFN- α 亚型和/或IFN- ω 的表达相关联。

[0234] 在另一实施方式中,本发明涉及一种诊断组合物,其包括本发明的上述结合分子、抗体、抗原结合片段、肽或基于肽的化合物、多核苷酸、载体或细胞中的任一种,以及可选地包含用于检测的合适工具(手段,means),诸如在基于免疫或基于核酸的诊断方法中惯用的试剂。本发明的抗体例如适合用于免疫测定,其中,它们可以以液相使用或者可以结合至固相载体。可以利用本发明的抗体的免疫测定的实例为直接或间接形式的竞争和非竞争免疫测定。这样的免疫测定的实例为放射免疫测定法(RIA)、夹层(免疫测定)、流式细胞术和蛋白印迹测定。本发明的抗原和抗体可以结合至许多不同的载体,并且用于分离特异性结合至其的细胞。公知的载体的实例包括玻璃、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚丙烯、聚乙烯、聚碳酸酯、葡聚糖、尼龙、直链淀粉、天然的和改性的纤维素、聚丙烯酰胺、琼脂糖和磁铁矿。为了本发明的目的,载体的性质可以是可溶或不可溶的。存在许多本领域普通技术人员已知的不同标记和标记方法。可以用于本发明中的标记类型的实例包括酶、放射性同位素、胶体金属、荧光化合物、化学发光化合物和生物发光化合物;还参见上文讨论的实施方式。

[0235] 在这种环境下,本发明还涉及具体设计成用于该目的的装置(means)。例如,可以使用基于蛋白或基于抗体的阵列,其例如加载有源自一种或多种IFN- α 亚型的并且包含疾病相关抗原的任一抗原,以便检测可能存在于患有自身免疫疾病(特别是SLE或APECED/APS1)的患者中的自身抗体,或者加载有特异性地识别那些炎症相关抗原中的任一的一种的本发明的抗体或等同的抗原结合分子。在Kusnezow等人,Mol.Cell Proteomics 5(2006),1681-1696中总结了微阵列免疫测定的设计。因此,本发明还涉及加载有结合分子,特别是本发明的抗IFN- α 抗体和IFN- α 结合片段或根据本发明识别的抗原的微阵列。

[0236] 定义和实施方式

[0237] 除非另有说明,否则如本文中使用的术语和实施方式被给予如在国际申请W02013/098419和国际申请W02013/098420中所提供和使用的定义。作为补充,如本文中使用的常用术语被给予如在2000修订和2003年再次印刷的ISBN 0 19850673 2的Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology(牛津生物化学和分子生物学字典),牛津大学出版社,1997中所提供的定义。

[0238] 需要注意的是,术语“一个”或“一种”实体是指一个或多个该实体;例如,“一种抗体”被理解为代表一种或多种抗体。因此,术语“一个”(或“一种”)、“一种或多种(一个或多个)”和“至少一个(至少一种)”在本文中可以互换使用。

[0239] 术语“中和”和“中和抗体”分别如本领域中常见的一样使用,即抗体是指降低或消除抗原或活体微生物的至少某种生物活性。例如,本发明的亚型特异性抗IFN- α 抗体为中和抗体,例如在如在实施例描述的测定中,如果处于充足的量,则该抗体消除或降低一种或多种相应IFN- α 亚型的活性。中和通常用50%抑制浓度(IC50)来定义,并且其可以基于中和滴定曲线(AUC)下的面积来统计估计。在本文中例如在图8-10和表4中描述和示出了本发明的示例性抗IFN- α 抗体的IC50值。

[0240] 中枢和外周耐受

[0241] 在国际申请W02013/098419第62-63页的相应章节中更详细地描述了中枢和外周

耐受,将该申请的公开内容通过引用并入到本文中。

[0242] 肽和多肽:

[0243] 术语“肽”被理解为包括术语“多肽”和“蛋白”(其在本文中有时可能会互换使用)和在其含义内的任何氨基酸序列,诸如本发明的重链和轻链可变区以及恒定区的那些氨基酸序列。类似地,也预期蛋白和多肽的片段,并且其在本文中可以被称为“肽”。然而,术语“肽”优选地表示包括至少5个连续氨基酸,优选地至少10个连续氨基酸,更优选地至少15个连续氨基酸,还更优选地至少20个连续氨基酸和特别优选地至少25个连续氨基酸的氨基酸聚合物。此外,根据本发明的肽通常具有不超过100个连续氨基酸,优选地少于80个连续氨基酸且更优选地少于50个连续氨基酸。

[0244] 如本文中所使用的,术语“多肽”旨在涵盖单数“多肽”以及复数“多肽”,诸如本发明的抗体,并且是指由通过酰胺键(也称为肽键)线性连接的单体(氨基酸)构成的分子。术语“多肽”是指两种或多种氨基酸的任何一个链或多个链,并不指特定长度的产品。因此,“肽”、“二肽”、“三肽”、“寡肽”、“蛋白”、“氨基酸链”、或用于指两种或多种氨基酸的一个或多个链的其他术语包括在“多肽”的定义之内,并且术语“多肽”可以由这些术语中的任一个代替或可互换使用。

[0245] 术语“多肽”还旨在是指多肽的表达后修饰的产物,该表达后修饰包括但不限于糖基化、乙酰化、磷酸化、酰胺化、通过已知的保护/阻断基团进行的衍生化、蛋白水解切割(蛋白水解裂解,proteolytic cleavage)、或通过非天然存在的氨基酸进行的修饰。多肽可以源自天然生物源或者可以通过重组技术产生,但不一定由指定的核酸序列翻译。多肽可以包括通过化学合成的任何方式生成。

[0246] 本发明的多肽可以具有约3个或更多个、5个或更多个、10个或更多个、20个或更多个、25个或更多个、50个或更多个、75个或更多个、100个或更多个、200个或更多个、500个或更多个、1000个或更多个、或者2000个或更多个氨基酸的尺寸。然而,术语“多肽”优选地表示包括至少100个氨基酸的氨基酸聚合物。多肽可以具有限定的三维结构,虽然它们并不一定具有这样的结构。具有限定的三维结构的多肽被称为折叠式的,并且不具有限定的三维结构的多肽却可以采用大量的不同构像,并被称为非折叠式的。如本文中所使用的,术语糖蛋白是指与至少一种碳水化合物部分偶联的蛋白,该碳水化合物部分经由氨基酸残基(例如丝氨酸残基或天冬酰胺残基)的含氧侧链或含氮侧链附着于蛋白。

[0247] “分离的”多肽或其片段、变体或衍生物意指并非处于其天然环境中的多肽。不需要特定水平的纯化。例如,分离的多肽可以从其原生或天然环境中移出。为了本发明的目的,如已经通过任何合适的技术分离、分馏或者部分或基本上纯化的原生或重组多肽一样,在宿主细胞中表达的重组产生的多肽和蛋白被视为是分离的。

[0248] “重组肽、多肽或蛋白”是指通过重组DNA技术产生(即由通过对包括期望肽的融合蛋白编码的外源性重组DNA表达构建体转化的细胞、微生物或哺乳动物产生)的肽、多肽或蛋白。在大多数细菌培养物中表达的蛋白或肽通常不含多糖。在酵母中表达的蛋白或多肽可以具有与在哺乳动物细胞中表达的糖基化模式不同的糖基化模式。

[0249] 作为本发明的多肽,还包括上述多肽的片段、衍生物、类似物和变体以及它们的任意组合。术语“片段”、“变体”、“衍生物”和“类似物”包括具有与天然肽的氨基酸序列足够相似的氨基酸序列的肽和多肽。术语“足够相似的”是指相对于第二氨基酸序列,第一氨基酸

序列包含足够的或最少数量的相同或等同的氨基酸残基,使得第一和第二氨基酸序列具有共同的结构域和/或共同的功能活性。例如,在本文中将包含至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、或至少约100%相同的共同结构域的氨基酸序列限定为足够相似的。优选地,变体将与本发明的优选肽的氨基酸序列,特别是与抗体或抗体片段,或者与包括由本发明的抗体或它们中任一种的片段、变体、衍生物或类似物识别的表位的合成肽或基于肽的化合物是足够相似的。这样的变体通常保留本发明的肽的功能活性,即被本发明的抗体结合。通过一种或多种氨基酸缺失、添加和/或替换,变体包括在氨基酸序列方面分别与原生和wt肽不同的肽。它们可以是天然存在的变体以及人工设计的变体。

[0250] 当提到本发明的抗体或抗体多肽时,术语“片段”、“变体”、“衍生物”和“类似物”包括保留相应的原生结合分子、抗体或多肽的抗原结合特性中的至少一些的任何多肽。除了在本文中其他地方讨论的特异性抗体片段之外,本发明的多肽的片段还包括蛋白水解片段以及缺失片段。本发明的抗体和抗体多肽的变体包括如上面所描述的片段,以及由于氨基酸替换、缺失或插入而具有改变的氨基酸序列的多肽。变体可以天然存在或者可以是非天然存在的。非天然存在的变体可以利用本领域已知的突变技术产生。变体多肽可以包括保守的或非保守的氨基酸替换、缺失或添加。本发明的结合分子的衍生物,例如本发明的抗体和抗体多肽,是已经被改变的多肽,从而呈现出在原生多肽上未发现的另外特征。实例包括融合蛋白。变体多肽在本文中还可以被称为“多肽类似物”。如本文中所使用的,结合分子或其片段、抗体或抗体多肽的“衍生物”是指具有通过功能侧基化学衍生出的一个或多个残基的受试者多肽。作为“衍生物”,还包括含有20个标准氨基酸的一种或多种天然存在的氨基酸衍生物的多肽。例如,4-羟基脯氨酸可以替换脯氨酸;5-羟基赖氨酸可以替换赖氨酸;3-甲基组氨酸可以替换组氨酸;高丝氨酸可以替换丝氨酸;以及鸟氨酸可以替换赖氨酸。

[0251] 抗独特型抗体:

[0252] 当提及抗体或其他结合分子时,术语“抗独特型抗体”包括与位于抗原结合位点处或附近的抗体可变区上的独特抗原肽序列结合的分子,由此抑制通过给定的自身抗体以其他方式引起的特定免疫反应。以类似的方式,可以使用包括由本发明的抗体特异性识别的表位的合成肽或基于肽的化合物。

[0253] 可以以与其他抗体类似的方式获得抗独特型抗体。通过任何类型的交联(通过凝集(在浊度或比浊测定法中)、沉淀(放射免疫扩散)或夹心免疫测定如ELISA)来检测特定的抗独特型抗体。美国专利申请第20020142356号提供了一种用于获得针对下述抗体的抗独特型单克隆抗体群的方法,上述抗体对高浓度、高分子量靶抗原具有特异性,其中,所述抗独特型单克隆抗体群对于特异于所述靶抗原的所选抗体具有宽范围的结合亲和力,并且其中,可以选择针对特定应用具有所需亲和力的所述抗独特型抗体群的子集。

[0254] 美国专利申请第20020142356号描述了抗原的竞争免疫测定,其使用抗体作为涂层并且使用抗独特型抗体作为检测,或者反之亦然。公开使用抗独特型抗体作为替代抗原的其他参考文献包括Losman等人,Cancer Research,55(1995)(23suppl.S):S5978-S5982;Becker等人,J.of Immunol.Methods 192(1996),73-85;Baral等人,International J.of Cancer,92(2001),88-95;和Kohen等人,Food and Agriculture Immunology,12(2000),

193-201。抗独特型抗体在治疗疾病或对抗寄生虫中的用途在本领域中是已知的；参见，例如Sacks等人，*J. Exper. Medicine*, 155(1982), 1108-1119中。

[0255] 分子的相似性和/或同一性的确定：

[0256] 通过将一种肽的氨基酸序列与第二种肽的序列进行比较来确定两种肽之间的“相似性”。如果是相同的或者是保守氨基酸替换，则一种肽的氨基酸与第二种肽的相应氨基酸相似。保守替换包括在Dayhoff, M.O. 编, *The Atlas of Protein Sequence and Structure* 5, National Biomedical Research Foundation, Washington, D.C. (1978) 中以及在Argos, *EMBO J.* 8(1989), 779-785中描述的那些。例如，属于下述组之一的氨基酸表示保守变化或替换：-Ala、Pro、Gly、Gln、Asn、Ser、Thr；-Cys、Ser、Tyr、Thr；-Val、Ile、Leu、Met、Ala、Phe；-Lys、Arg、His；-Phe、Tyr、Trp、His；以及-Asp、Glu。

[0257] 优选地使用Karlin和Altschul (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877的数学算法来完成两个序列之间的百分比同一性或相似性的确定。在NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>) 上可获得的Altschul等人 (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410的BLASTn和BLASTp程序中结合了这样的算法。

[0258] 利用BLASTn和BLASTp程序的标准参数来进行百分比同一性或相似性的确定。

[0259] 利用BLASTn程序进行BLAST多核苷酸检索。

[0260] 关于常规参数，可以将“最大靶序列框”设定为100，可以勾选“短查询串”框，可以将“期望阈值”框设定为10，并且可以将“字体大小”框设定为28。关于得分参数，可以将“匹配/失配分数”设定为1、-2，并且可以将“空位代价(成本)”框设定为线性。关于过滤器和掩避参数，可以不勾选“低复杂性区”框，可以不勾选“物种特异性重复”框，可以勾选“仅用于查询表的掩避”框，并且可以不勾选“掩避小写字母”框。

[0261] 利用BLASTp程序进行BLAST蛋白检索。关于常规参数，可以将“最大靶序列”框设定为100，可以勾选“短查询串”框，可以将“期望阈值”框设定为10，并且可以将“字体大小”框设定为“3”。关于得分参数，可以将“矩阵”框设定为“BLOSUM62”，可以将“空位代价”框设定为“存在:11延伸:1”，可以将“组成调整”框设定为“条件性组成得分矩阵调整”。关于过滤器和掩避参数，可以不勾选“低复杂性区”框，可以不勾选“仅用于查询表掩避”框，并且可以不勾选“掩避小写字母”框。

[0262] 多核苷酸：

[0263] 术语“多核苷酸”旨在涵盖单数核酸以及复数核酸，并且是指分离的核酸分子或构建体，例如，信使RNA (mRNA) 或质粒DNA (pDNA)。多核苷酸可以包括常规的磷酸二酯键或非常规键(例如，如在肽核酸(PNA)中发现的酰胺键)。术语“核酸”是指存在于多核苷酸中的任何一个或多个核酸段，例如DNA或RNA片段。“分离的”核酸或多核苷酸是指已经从其原生环境中移出的核酸分子、DNA或RNA。例如，为了本发明的目的，对包含在载体中的抗体进行编码的重组多核苷酸被认为是分离的。分离的多核苷酸的另外的实例包括保持在异源宿主细胞中的重组多核苷酸或溶液中的(部分地或基本上)纯化的多核苷酸。分离的RNA分子包括本发明的多核苷酸的体内或体外RNA转录物。根据本发明的分离的多核苷酸或核酸还包括合成产生的这样的分子。此外，多核苷酸或核酸可以是或可以包括调节元件，例如启动子、核糖体结合位点或转录终止子。

[0264] 如本文中所使用的，“编码区”是由翻译成氨基酸的密码子组成的核酸的一部分。

尽管“终止密码子”(TAG、TGA或TAA)没有被翻译成氨基酸,但是其可以被认为是编码区的一部分,但任何侧翼序列(例如启动子、核糖体结合位点、转录终止子、内含子等)不是编码区的一部分。本发明的两个或多个编码区可以存在于单个多核苷酸构建体中,例如在单个载体上,或者可以存在于分开的多核苷酸构建体中,例如在分开的(不同的)的载体上。此外,任何载体可以含有单个编码区,或者可以包括两个或更多个编码区,例如单个载体可以分别对免疫球蛋白重链可变区和免疫球蛋白轻链可变区进行编码。另外,本发明的载体、多核苷酸或核酸可以对融合或未融合于编码结合分子、抗体或其片段、变体或衍生物的核酸的异源编码区进行编码。异源编码区包括但不限于专门的元件或基序,诸如分泌信号肽或异源功能结构域。

[0265] 在某些实施方式中,多核苷酸或核酸为DNA。在DNA的情况下,包括对多肽编码的核酸的多核苷酸通常可以包括可操作性地与一个或多个编码区相关联的启动子和/或其他转录或翻译控制元件。可操作关联(结合,association)是:此时用于基因产物例如多肽的编码区以下列方式与一个或多个调节序列相关联,即使得在一个或多个调节序列的影响或控制下放置基因产物的表达。如果启动子功能的诱发导致编码期望基因产物的mRNA的转录,并且如果两个DNA片段之间的连接的性质不干扰表达调节序列指导该基因产物的表达的能力或不干扰DNA模板被转录的能力,则两个DNA片段(诸如多肽编码区和与其相关联的启动子)是“可操作性关联的”或“可操作性连接的”。因此,如果启动子能够影响对多肽编码的核酸的转录,则启动子区可以可操作地与该核酸相关联。启动子可以是仅在预定的细胞中指导DNA的实质性转录的细胞特异性启动子。除启动子之外的其他转录控制元件,例如增强子、操纵子、阻遏子和转录终止信号,可以可操作性地与多核苷酸相关联,以指导细胞特异性转录。本文中公开了合适的启动子和其他转录控制区。

[0266] 各种转录控制区对于本领域技术人员而言是已知的。这些包括但不限于在脊椎动物细胞中起作用的转录控制区,诸如但不限于来自巨细胞病毒的启动子和增强子段(立即早期启动子,结合有内含子-A)、猿猴病毒40(早期启动子)和逆转录病毒(诸如劳氏肉瘤病毒)。其他转录控制区包括源自脊椎动物基因(诸如肌动蛋白、热休克蛋白、牛生长激素和兔 β -球蛋白)的那些,以及能够控制真核细胞中的基因表达的其他序列。另外的合适转录控制区包括组织特异性启动子和增强子以及淋巴因子诱导型启动子(例如可由干扰素或白细胞介素诱导的启动子)。

[0267] 类似地,各种翻译控制元件对于本领域的普通技术人员来说是已知的。这些包括但不限于核糖体结合位点、翻译起始和终止密码子、和源自小核糖核酸病毒(特别是内部核糖体进入位点、或IRES,也被称为CITE序列)的元件。

[0268] 在其他实施方式中,本发明的多核苷酸为例如信使RNA(mRNA)、小发夹RNA(shRNA)、小干扰RNA(siRNA)或任何其他RNA产物形式的RNA。

[0269] 本发明的多核苷酸和核酸编码区可以与编码分泌或信号肽的其他编码区相关联,其指导由本发明的多核苷酸编码的多肽的分泌。根据信号假说,由哺乳动物细胞分泌的蛋白具有信号肽或分泌前导序列,一旦生长的蛋白链已经开始跨越粗面内质网排出,就从成熟蛋白切割该信号肽或分泌前导序列。本领域普通技术人员知晓由脊椎动物细胞分泌的多肽通常具有融合于多肽的N端的信号肽,该信号肽是从完整的或“全长”多肽切割出来的以产生分泌的或“成熟”形式的多肽。在某些实施方式中,使用原生信号肽例如免疫球蛋白重

链或轻链信号肽,或该序列的功能衍生物,该功能衍生物保留了指导与其可操作性地相关联的多肽的分泌的能力。可替换地,可以使用异源哺乳动物信号肽或其功能衍生物。例如,野生型前导序列可以用人组织型纤溶酶原激活剂(TPA)或小鼠 β -葡萄糖醛酸酶的前导序列替代。然而,细胞内产生本发明的多肽特别是免疫球蛋白及其片段也是可能的。

[0270] 表达:

[0271] 如本文中所述的术语“表达”是指一种过程,通过该过程,基因产生生物,例如RNA或多肽。该过程包括细胞内的基因的功能存在的任何表现,包括但不限于基因敲落以及瞬时表达和稳定表达两者。其包括但不限于:将基因转录成信使RNA(mRNA)、转移RNA(tRNA)、小发夹RNA(shRNA)、小干扰RNA(siRNA)或任何其他RNA产物,以及将这样的mRNA翻译成一种或多种多肽。如果最终期望的产物是生物,则表达包括产生该生物和任何前体。基因的表达产生“基因产物”。如本文所使用的,基因产物可以是核酸,例如通过基因的转录所产生的小干扰RNA(siRNA)、信使RNA,或者由转录物翻译得到的多肽。本文中所描述的基因产物还包括具有转录后修饰(例如聚腺苷酸化)的核酸,或具有翻译后修饰(例如甲基化、糖基化、添加脂质、与其他蛋白亚基相关联、蛋白水解切割等)的多肽。

[0272] 可以利用各种表达载体/宿主系统来包含和表达多核苷酸序列。这些包括但不限于:微生物,诸如利用重组噬菌体、质粒或粘粒DNA表达载体转化的细菌;利用酵母表达载体转化的酵母;感染有病毒表达载体(例如杆状病毒)的昆虫细胞系统;利用病毒表达载体(例如,花椰菜花叶病毒,CaMV;烟草花叶病毒,TMV)或用细菌表达载体(例如,Ti或pBR322质粒)转化的植物细胞系统;或动物细胞系统。

[0273] 为了在宿主细胞中表达肽、多肽或融合蛋白(下文中称为“产物”),可以使用诸如下述的程序。可以将含有对所述产物编码的DNA序列的限制片段克隆到含有在宿主细胞中起作用的复制起点和合适的选择标记的合适重组质粒中。质粒可以包括用于产物的可诱导表达的启动子(例如,pTrc(Amann等人,Gene 69(1988),301315)和pET1 Id(Studier等人,Gene Expression Technology:Methods in Enzymology 185,Academic Press,San Diego,Calif.(1990),60-89)。重组质粒可通过例如电穿孔引入到宿主细胞中,并且含有重组质粒的细胞可以通过选择质粒上的标记来识别。可以使用对产物特异性的测定在宿主细胞中诱导和检测该产物的表达。

[0274] 在一些实施方式中,可以优化对产物/肽编码的DNA,用于在宿主细胞中表达。例如,DNA可以包括用于一个或多个氨基酸的密码子,所述密码子相对于用于相同氨基酸的其他密码子在宿主细胞中占主导地位。

[0275] 可替换地,可以通过在无细胞的提取物中体外合成蛋白来进行产物的表达,该无细胞的提取物还特别适合于并入修饰的或非天然的氨基酸,以用于功能性研究;也参见下文。当过表达产物对宿主细胞有毒时,当产物不可溶或形成包涵体时,或者当蛋白通过胞内蛋白酶经历迅速的蛋白降解时,体外翻译系统的使用相对于体内基因表达可以具有优势。最经常使用的无细胞翻译系统由来自兔网织红细胞、麦胚和大肠杆菌的提取物组成。全部被制备成包含异源RNA的翻译所需要的所有大分子组分(70S或80S核糖体、tRNA、氨酰基tRNA合成酶、起始因子、延伸因子和终止因子等)的粗提取物。为了确保有效翻译,每种提取物必须补充有氨基酸、能源(ATP、GTP)、能量再生系统(用于真核系统的磷酸肌酸和肌酸磷酸激酶,以及用于大肠杆菌裂解物的磷酸烯醇丙酮酸和丙酮酸激酶)以及本领域中已知的

其他辅助因子 (Mg^{2+} , K^{+} 等)。合适的转录/翻译系统是商业上可获得的,例如来自Promega公司、Roche Diagnostics、以及Ambion,即Applied Biosystems公司(Anderson,C.等人, Meth.Enzymol.101(1983),635-644;Arduengo,M.等人(2007),The Role of Cell-Free Rabbit Reticulocyte Expression Systems in Functional Proteomics in,Kudlicki, Katzen和Bennett编,Cell-Free Expression Vol.2007.Austin,Tx:Landes Bioscience, pp.1-18;Chen和Zubay, Meth.Enzymol.101(1983),674-90;Ezure等人, Biotechnol.Prog.22(2006),1570-1577)。

[0276] 宿主细胞:

[0277] 关于本发明,宿主细胞可以是任何原核或真核细胞,诸如细菌细胞、昆虫细胞、真菌细胞、植物细胞、动物细胞或人细胞。优选的真菌细胞为例如酵母属的那些真菌细胞,特别是物种酿酒酵母(*S.cerevisiae*)的那些真菌细胞。术语“原核”是指包括可以利用用于表达本发明的抗体或相应的免疫球蛋白链的DNA或RNA分子转化或转染的所有细菌。原核宿主可以包括革兰氏阴性细菌和革兰氏阳性细菌,诸如例如大肠杆菌、鼠伤寒沙门氏菌(*S.typhimurium*)、粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)和枯草杆菌。术语“真核”是指包括酵母细胞、高等植物细胞、昆虫细胞和优选地哺乳动物细胞,最优选地为HEK 293细胞、NSO细胞、CSO细胞和CHO细胞。取决于重组生产过程中采用的宿主,由本发明的多核苷酸编码的抗体或免疫球蛋白链可以是糖基化的,或者可以是非糖基化的。本发明的抗体或相应的免疫球蛋白链还可以包括起始蛋氨酸(甲硫氨酸)氨基酸残基。使用本领域普通技术人员通常已知的任何技术,本发明的多核苷酸可以用来转化或转染宿主。此外,用于制备融合的可操作性地连接的基因并且在例如哺乳动物细胞和细菌中表达它们的方法在本领域中是公知的(Sambrook,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,NY,1989)。其中所描述的基因构建体和方法可以用于在真核或原核宿主中表达本发明的抗体或相应的免疫球蛋白链。通常,含有促进所插入多核苷酸的有效转录的启动子序列的表达载体与宿主结合使用。表达载体通常含有复制起点、启动子和终止子,以及能够提供所转化细胞的表型选择的特定基因。可以由多个来源诸如美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection)获得用于DNA序列的合适源细胞和用于免疫球蛋白表达和分泌的宿主细胞(“Catalogue of Cell Lines and Hybridomas,”Fifth edition(1985)Rockville,Maryland,U.S.A.,将其通过引用并入到本文中)。此外,包括本发明的细胞的转基因动物(优选地为哺乳动物)可以用于大规模生产本发明的抗体。

[0278] 经转化的宿主可以在发酵器中生长,并根据本领域中已知的技术进行培养,以实现最佳的细胞生长。一旦被表达,本发明的全部抗体、它们的二聚体、各轻链和重链、或其他免疫球蛋白形式可以根据本领域的标准程序进行纯化,这些标准程序包括硫酸铵沉淀、亲和柱、柱层析、凝胶电泳等;参见Scopes,“Protein Purification”,Springer Verlag,N.Y.(1982)。本发明的抗体或其相应的一种或多种免疫球蛋白链然后可以从生长介质、细胞裂解物或细胞膜组分(fraction)中分离出来。例如本发明的重组表达抗体或免疫球蛋白链的分离和纯化可以通过任何常规的方式,诸如例如制备性色谱分离和免疫分离,诸如涉及使用针对例如本发明的抗体的恒定区的单克隆抗体或多克隆抗体的那些。本领域技术人员显而易见的是,本发明抗体可以进一步偶联至其他部分,以用于例如药物靶向和成像应用。在

将抗体或抗原表达之后可以化学地进行至附着位点的这样的偶联,或者偶联产物可以在DNA水平上被工程化成本发明的抗体或抗原。然后在合适的宿主系统中表达DNA,并且如果有必要,收集经表达的蛋白并使其复性。

[0279] 对于药物用途,具有至少约90%至95%同源性的基本上纯的免疫球蛋白是优选的,并且具有98%至99%或更多的同源性的是最优选的。一旦纯化或部分地纯化至所需的同源性,则抗体就可以在治疗上(包括体外)使用或者可以用于开发和执行测定程序。

[0280] 本发明还涉及用于生产能够表达本发明的抗体或一种或多种其对应的免疫球蛋白链的方法,该方法大体上包括:用本发明的多核苷酸或载体基因工程化细胞。可通过本发明的方法获得的细胞可以用于例如测试本发明的抗体与其抗原的相互作用。

[0281] ELISA-测定

[0282] 用于各种抗原的酶联免疫吸附测定(ELISA)包括基于比色法、化学发光法和荧光法的那些测定。ELISA已经成功地应用于确定血浆样品和尿液样品中的低量药物和其他抗原组分,不涉及提取步骤并且易于执行。用于检测针对蛋白抗原的抗体的ELISA经常使用短合成肽与微量滴定板的塑料表面的直接结合。由于肽的合成性质和使用高效液相色谱法的有效纯化方法,因此肽通常是非常纯的。短肽的缺点在于,它们通常表示线性表位,而不表示构象或非连续表位。为了呈现构象表位,使用长肽或完整的原生蛋白。蛋白抗原与板的疏水性聚苯乙烯载体的直接结合可以导致所结合蛋白的部分或完全变性以及构象表位的丧失。用介导抗原的固定化(捕获ELISA)的抗体涂覆该板可以避免这种影响。

[0283] 然而,过表达的重组蛋白通常是不可溶的,并且当要分析构象表位的抗体时需要在变性条件下进行纯化和复性。参见,例如,关于使用重组融合蛋白作为外壳蛋白的通用ELISA的美国专利申请第20030044870号。

[0284] 结合分子:

[0285] 如在本发明的上下文中使用的“结合分子”主要涉及抗体及其片段,但还可以指与本发明中的“感兴趣分子”结合的其他非抗体分子,其中,所述感兴趣分子是被称为细胞因子的糖蛋白类的蛋白,特别是选自不同IFN- α 亚型的组中的干扰素。在本发明的以上和以下具体实施方式的描述中进一步详细地定义了本发明的感兴趣分子。本发明的结合分子包括但不限于激素、受体、配体、主要组织相容性复合体(MHC)分子、伴侣分子(诸如热休克蛋白(HSP))、以及细胞-细胞粘附分子(诸如钙粘着蛋白、整合素、C型凝集素和免疫球蛋白(Ig)超家族中的成员)。因此,仅出于清楚起见,并且在不限本发明的范围情况下,大多数以下实施方式均关于代表用于开发治疗和诊断试剂的优选结合分子的抗体和类抗体分子(抗体样分子)进行了讨论。

[0286] 抗体:

[0287] 术语“抗体”和“免疫球蛋白”在本文中可互换使用。抗体或免疫球蛋白是结合至如上下文所定义的本发明感兴趣分子的分子,该分子至少包括重链的可变结构域,并且通常至少包括重链和轻链的可变结构域。脊椎动物系统中的基本免疫球蛋白结构被相对较好地理解;例如,参见Harlow和Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988)。术语“结合”和“识别”在关于本发明的结合分子(例如抗体)的结合亲和力方面互换使用。

[0288] 包括用以特异性结合至如上下文所定义的感兴趣分子的充足结构的任何抗体或

免疫球蛋白片段在本文中可互换地表示为“结合分子”、“结合片段”或“免疫特异性片段”。

[0289] 本发明的抗体或其抗原结合片段、免疫特异性片段、变体或衍生物包括但不限于多克隆抗体、单克隆抗体、多特异性抗体、人抗体、人源化抗体、灵长类化抗体、鼠源化抗体或嵌合型抗体、单链抗体、表位结合片段(例如Fab、Fab'和F(ab')₂)、Fd、Fvs、单链Fvs(scFv)、单链抗体、二硫键连接的Fvs(sdFv)、包括V_L或V_H结构域的片段、通过Fab表达文库产生的片段、以及抗独特型(抗Id)抗体(包括,例如针对(抗)本文中公开的抗体的抗Id抗体)。scFv分子在本领域是已知的,并且例如描述在美国专利5,892,019中。在这方面,抗体的抗原结合片段还可以为结构域抗体(dAB),其也称为单域抗体(sdAB)或纳米抗体TM(nanobodiesTM) (Ablynx公司,根特,比利时),参见,例如De Haard等人,J.Bacteriol.187(2005),4531-4541;Holt等人,Trends Biotechnol.21(2003),484-490。如下面将进一步详细讨论的,术语“免疫球蛋白”包括可以在生化上区分各种宽泛种类的多肽。本领域技术人员将理解的是,重链被分类为 γ 、 μ 、 α 、 δ 或 ϵ (γ 、 μ 、 α 、 δ 、 ϵ),在它们中具有一些子类(例如, γ 1至 γ 4)。将抗体的“类”分别确定为IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY是该链的性质。免疫球蛋白子类(同种型)(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1等)被很好地表征,并且已知会赋予功能特化。本发明的免疫球蛋白或抗体分子可以是免疫球蛋白分子的任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2等)或子类。鉴于本公开内容,本领域技术人员易于辨别这些类和同种型中的每一种的改进版本,并且因此,这些改进版本均落入本发明的范围内。尽管所有的免疫球蛋白类清楚地在本发明的范围内,但以下讨论通常针对免疫球蛋白分子的IgG类。关于IgG,标准免疫球蛋白分子包括分子量为约23,000道尔顿的两条相同的轻链多肽和分子量为53,000-70,000的两条相同的重链多肽。四条链通常通过二硫键以“Y”构型结合,其中,轻链括住(bracket)在“Y”的口处开始并继续通过可变区的重链。

[0290] 如根据上面的表1中所列出的本发明的示例性抗IFN- α 抗体的分类明显的,本发明的示例性抗体为IgG1类,可能涉及在这些AIRE缺陷状态下在它们的启动中调节性T细胞应答和/或上皮细胞。由Kärner等人,在Clin.Exp.Immunol.(2012);doi:10.1111/cei.12024中所描述的在AIRE缺陷小鼠中发现的相应自身抗体的分类证实了这些发现,上述文献的公开内容通过引用并入到本文中。因此,在本发明的优选实施方式中,本发明的抗体为IgG型,甚至更优选地为IgG1。

[0291] IgG结构:

[0292] 轻链被分类为 κ 或 λ (κ 、 λ)。每条重链类可以与 κ 或 λ 轻链结合。通常,轻链和重链相互共价结合,并且当免疫球蛋白通过杂交瘤、B细胞或基因工程化的宿主细胞生成时,两条重链的“尾”部通过共价二硫键或非共价键相互结合。在重链中,氨基酸序列从Y构造的叉端处的N端持续到每条链的底部的C端。

[0293] 将轻链和重链二者分为结构和功能同源的区。功能性地使用术语“恒定”和“可变”。在这方面,将理解的是,轻链(V_L)部分和重链(V_H)部分二者的可变结构域决定了抗原的识别和特异性。相反地,轻链(CL)和重链(CH1、CH2或CH3)的恒定结构域赋予重要的生物特性,诸如分泌、经胎盘移动、Fc受体结合、补体结合等。按照惯例,恒定区结构域的编号随着它们更加远离抗原结合位点或抗体的氨基端而增加。N端部分是可变区,而在C端部分处是恒定区;CH3和CL结构域实际上分别包括重链和轻链的羧基端。

[0294] 如上所述,可变区允许抗体选择性地识别并特异性地结合抗原上的表位。也就是说,抗体的V_L结构域和V_H结构域、或者互补决定区(CDR)的子集相组合以形成限定三维抗原结合位点的可变区。该四元抗体结构形成存在于Y的每个臂的端部处的抗原结合位点。更具体地,通过V_H和V_L链中的每个链上的三个CDR来限定抗原结合位点。含有用以特异性地结合至本发明的感兴趣分子的充足结构的任何抗体或免疫球蛋白片段在本文中可互换地表示为“结合片段”或“免疫特异性片段”。

[0295] 在天然存在的抗体中,抗体包括存在于每个抗原结合结构域中的有时被称为“互补决定区”或“CDR”的六个高变区,当抗体在含水环境中呈现其三维构造时,上述高变区是被具体定位成形成抗原结合结构域的氨基酸的短的非连续序列。“CDR”两侧有显示出较小的分子间可变性的四个相对保守的“框架”区或“FR”。框架区主要采用β折叠构象,并且CDR形成连接β折叠结构或在一些情况下形成β折叠结构的一部分的环。因此,框架区用于形成通过链间非共价相互作用在正确方位定位CDR的支架。由定位的CDR形成的抗原结合结构域限定了与免疫反应抗原上的表位互补的表面。该互补表面促进抗体与其同源表位的非共价结合。针对任何给定的重链或轻链可变区,本领域普通技术人员可以容易地鉴定分别包括CDR和框架区的氨基酸,这是因为它们已被精确地定义;参见“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”Kabat,E.等人,U.S.Department of Health and Human Services,(1983);以及Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196(1987),901-917,将它们的全部内容通过引用并入到本文中。

[0296] 在本领域内使用的或接受的术语存在两种或更多种定义的情况下,除非有明确相反说明,否则如本文中所使用的该术语的定义旨在包括所有这样的含义。一个具体的实例为使用术语“互补决定区”(“CDR”)来描述在重链和轻链多肽的可变区内发现的非连续抗原结合位点。Kabat等人,U.S.Dept.of Health and Human Services,“Sequences of Proteins of Immunological Interest”(1983)以及Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196(1987),901-917已经描述了该特定区,上述文献通过引用并入到本文中,其中,当彼此相互比较时,该定义包括氨基酸残基的重叠或子集。然而,指代抗体或其变体的CDR的任一定义的应用旨在落入如本文中所定义和使用的术语的范围内。包含如由上述引用的参考文献中的每一个定义的CDR的适当氨基酸残基在下面的表2中阐述,作为对比。包含特定CDR的确切残基编号将根据CDR的序列和大小发生变化。本领域技术人员可以常规地确定在给定抗体的可变区氨基酸序列的情况下哪些残基包括该抗体的人IgG亚型的特定高变区或CDR。

[0297] 表2:CDR定义¹

[0298]

| | Kabat | Chothia |
|---------|--------|---------|
| VH CDR1 | 31-35 | 26-32 |
| VH CDR2 | 50-65 | 52-58 |
| VH CDR3 | 95-102 | 95-102 |
| VL CDR1 | 24-34 | 26-32 |
| VL CDR2 | 50-56 | 50-52 |
| VL CDR3 | 89-97 | 91-96 |

[0299] ¹表2中所有CDR定义的编号按照由Kabat等人阐述的编号惯例(参见下文)。

[0300] Kabat等人还定义了可应用于任何抗体的针对可变结构域序列的编号系统。本领域

域的普通技术人员可以明确地将该“Kabat编号”系统分配给任何可变结构域序列,而不依赖于超出序列本身的任何实验数据。如本文中所使用的,“Kabat编号”是指由Kabat等人在U.S.Dept.of Health and Human Services,“Sequence of Proteins of Immunological Interest”(1983)中阐述的编号系统。除非特别指明,否则对本发明的抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物中的特定氨基酸残基位置的编号的引用依据Kabat编号系统,然而Kabat编号系统是理论的并且可能不会同等地应用于本发明的每种抗体。例如,取决于第一CDR的位置,后面的CDR可能沿任一方向移动。

[0301] 在一个实施方式中,本发明的抗体不是具有五价结构的IgM或其衍生物。特别地,在本发明的具体应用特别是治疗用途中,IgM不如IgG和其他二价抗体或相应结合分子有用,这是因为IgM由于它们的五价结构和缺乏亲和力成熟而经常表现出非特异性交叉反应性和非常低的亲和力。

[0302] 在一个特别优选的实施方式中,本发明的抗体不是多克隆抗体,即其基本上由一个特定的抗体种类组成而非从血浆免疫球蛋白样品获得的混合物。

[0303] 抗体片段,动物化:

[0304] 包括单链抗体的抗体片段可以包括单独的或与下述项中的全部或一部分组合的一个或多个可变区:铰链区、CH1结构域、CH2结构域和CH3结构域。本发明还包括与本发明的感兴趣分子结合的片段,所述片段包括一个或多个可变区与铰链区、CH1结构域、CH2结构域和CH3结构域的任何组合。与根据本发明的方法分离的单克隆抗体等同,特别是与人单克隆抗体等同的本发明的抗体或其免疫特异性片段可以来自任何动物来源,包括鸟类和哺乳动物。优选地,抗体为人抗体、鼠抗体、驴抗体、兔抗体、山羊抗体、豚鼠抗体、骆驼抗体、美洲驼抗体、马抗体或鸡抗体。在另一实施方式中,可变区可以为源中的软骨鱼类(condricthoid)(例如来自鲨鱼)。

[0305] 在本发明的一个特别优选的实施方式中,抗体为从人受试者克隆的天然存在的人单克隆抗体或其结合片段、衍生物和变体,其与本发明的特异性IFN α 亚型特异性结合,如在上下文中,例如在表1、附图(特别是图1至图4)中以及实施例(例如实施例2和6中)详细限定的。

[0306] 可选地,根据数据库中的相关人种系可变区序列来对准和采用人抗体的框架区;参见例如由MRC蛋白质工程中心(英国,剑桥大学)主办的Vbase(<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>)。例如,被视为可能从真正种系序列脱离的氨基酸可能是由于在克隆过程期间引入的PCR引物序列。与人工生成的类人抗体(诸如来自噬菌体展示抗体库或异源小鼠的单链抗体片段(scFvs))相比,本发明的人单克隆抗体的特征在于:(i)使用人免疫反应而非动物替代品获得,即抗体已在人体中响应于它们的相关构象的天然IFN α 亚型而生成;(ii)保护个体免受或至少显著地最小化疾病例如SLE的症状的存在;以及(iii)因为该抗体为人源性的,所以针对自身抗原的交叉反应性的风险被最小化。因此,根据本发明,术语“人单克隆抗体”、“人单克隆自身抗体”、“人抗体”等用于表示人源性的具有特定IFN- α 亚型特异性的IFN- α 结合分子,即该结合分子已经从人细胞(诸如B细胞)或其杂交瘤细胞分离出来,或者该结合分子的cDNA已经从人细胞(例如人记忆B细胞)的mRNA直接克隆出。人抗体仍然被认为是“人类的”,即使在抗体中进行了氨基酸替换,例如以提高其结合特性。

[0307] 源自人免疫球蛋白库或源自针对一种或多种人免疫球蛋白转基因的动物并且不

表达内源免疫球蛋白的抗体(如下文以及例如在Kucherlapati等人的美国专利第5,939,598号中所描述的)表示类人抗体,以便将它们与本发明的真正人抗体区分开。

[0308] 例如,类人抗体(诸如通常从噬菌体展示分离出来的合成和半合成抗体)的重链和轻链的配对不一定反映原始配对,这是因为其出现在原始人B细胞中。因此,从如在现有技术中通常使用的重组表达文库中获得的Fab和scFv片段可以被视为是人工的,具有对免疫原性和稳定性的所有可能的相关影响。

[0309] 相比之下,本发明提供了从所选的人受试者分离的亲合力成熟的抗体,其特征在于它们的治疗效用。

[0310] 移植抗体(等同物)

[0311] 本发明还涉及含有分别源自本发明的抗体(诸如抗IFN- α 抗体)的CDR的移植抗体(可互换地称为等同物)。这样的移植CDR包括动物源化抗体,其中来自本发明的抗体的CDR已被移植或者其中移植有含有一个或多个氨基酸替换的CDR。CDR可以被直接移植到如上所述的人框架或来自动物源的抗体框架中。如果需要,还可以通过生成框架库并入框架变化。如下面更详细地描述的,CDR和/或框架序列的优化可以独立地执行并顺序组合,或者可以同时执行。

[0312] 为了生成移植抗体,本发明的抗体的供体CDR被移植到抗体受体可变区框架上。前面已经描述了用于移植抗体和生成CDR变体以优化活性的方法(参见,例如,国际专利申请WO 98/33919;WO 00/78815;WO 01/27160)。可以执行该程序以同时地实现供体CDR的移植和亲和力重新获取。类似地,可以单独或与CDR移植组合地使用该方法,以改进或优化可变区的结合亲和力。用于将供体CDR结合亲和力赋予到受体可变区上的方法可适用于重链和轻链可变区两者,并且因此可以用于同时移植并优化抗体可变区的结合亲和力。

[0313] 可以将供体CDR可以改变成在供体CDR内的所有或所选位置处包含多个不同的氨基酸残基变化。例如,二十种天然存在的氨基酸残基的随机或偏向性合并或预选子集可以被引入到供体CDR中,以产生CDR种类的不同群。将CDR变体种类包含到可变区的不同群中允许生成针对预定抗原呈现出优化的结合亲和力的变体种类。可以在供体CDR位置进行一系列可能改变。可被选择用于改变的上述可能改变中的一些或全部可以被引入到移植供体CDR的群中。可以选择CDR中的单个位置以引入改变,或者可以针对活性组合和筛选具有改变的氨基酸的各种位置。

[0314] 一种方法是通过在每个位置用例如所有二十种天然存在的氨基酸进行替换来沿着CDR改变所有的氨基酸位置。每个位置的替换可以在其他供体CDR氨基酸位置的环境中发生,使得CDR的重要部分保持真实供体CDR序列,并且因此保持供体CDR的结合亲和力。例如,受体可变区框架(无论是原生的或经改变的框架)可以被移植有在CDR内的每个位置处包含单个位置替换的CDR群。类似地,受体可变区框架可以针对用于移植有下述CDR群,该CDR群包含多于一个的变化的位置以并入所有20种氨基酸残基或氨基酸子集。待移植的一个CDR或一组CDR内的一个或多个氨基酸位置可以被改变并移植到受体可变区框架中,以生成移植抗体的群。需要理解的是,如果需要,具有一个或多个改变位置的CDR可以与具有一个或多个改变位置的一个或多个其他CDR组合。

[0315] 具有一个或多个改变位置的CDR变体种类的群可以与构成可变区的结合袋的任何或所有CDR进行组合。因此,受体可变区框架可以针对用于在重链或轻链中的一个、两个或

所有三个受体CDR位置处同时并入供体CDR变体群。选择哪个CDR或者具有氨基酸位置改变的针对靶的CDR的数目将取决于：例如，是否期望将完整的CDR移植到受体中，或者该方法是否是为了优化结合亲和力而执行的。

[0316] 用于选择要改变的供体CDR氨基酸以用于将供体CDR结合亲和力赋予到抗体受体可变区框架上的另一种方法是选择高度可变的已知的或容易鉴定的CDR位置。例如，可变区CDR3通常是高度可变的。因此，该区可以在移植程序过程中选择性地针对用于氨基酸位置改变，以单独地或连同相关受体可变框架改变一起确保结合亲和力再获取或扩增。

[0317] 鼠源化抗体：

[0318] 通过如上所述的移植生成的抗体的实例为鼠源化抗体。如本文中所使用的，术语“鼠源化抗体”或“鼠源化免疫球蛋白”是指这样的抗体，其包括：来自本发明的人抗体的一个或多个CDR；以及包含基于小鼠抗体序列的氨基酸替换和/或缺失和/或插入的人框架区。提供CDR的人免疫球蛋白被称为“亲本”或“受体”，而提供框架改变的小鼠抗体被称为“供体”。不需要存在恒定区，但如果存在恒定区，它们通常与小鼠抗体恒定区基本相同，即至少约85-90%，优选地约95%或更多的相同。因此，在一些实施方式中，全长鼠源化人重链或轻链免疫球蛋白包含小鼠恒定区、人CDR以及具有多个“鼠源化”氨基酸替换的基本上人的框架。通常地，“鼠源化抗体”为包含鼠源化可变轻链和/或鼠源化可变重链的抗体。例如，鼠源化抗体可能不包含典型的嵌合型抗体，例如，这是因为嵌合型抗体的整个可变区是非小鼠的。已通过“鼠源化”过程“鼠源化”的修饰抗体结合至与提供CDR的亲本抗体相同的抗原，并且与亲本抗体相比，该修饰抗体在小鼠中的免疫原性通常较低。

[0319] 抗体片段：

[0320] 如本文中所使用的，术语“重链部分”包括源自免疫球蛋白重链的氨基酸序列。包含重链部分的多肽包括以下中的至少一种：CH1结构域、铰链（例如，上部、中部和/或下部铰链区）结构域、CH2结构域、CH3结构域、或者其变体或片段。例如，用于本发明中的结合多肽可以包括包含CH1结构域的多肽链；包括CH1结构域、铰链结构域的至少一部分和CH2结构域的多肽链；包括CH1结构域和CH3结构域的多肽链；包括CH1结构域、铰链结构域的至少一部分以及CH3结构域的多肽链；或者包括CH1结构域、铰链结构域的至少一部分、CH2结构域以及CH3结构域的多肽链。在另一个实施方式中，本发明的多肽包括包含CH3结构域的多肽链。此外，用于本发明中的结合多肽可以缺少CH2结构域的至少一部分（例如，CH2结构域的全部或一部分）。如上所述，本领域普通技术人员将理解的是，可以修饰这些结构域（例如，重链部分）使得它们的氨基酸序列不同于天然存在的免疫球蛋白分子。

[0321] 在本文中公开的某些抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物中，多聚体的一个多肽链的重链部分与该多聚体的第二多肽链的那些重链部分相同。可替换地，本发明的含有重链部分的单体是不相同的。例如，每种单体可以包含不同的靶结合位点，从而形成例如双特异性抗体或双抗体。

[0322] 在另一实施方式中，本文中公开的抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物由单个多肽链（诸如scFv）组成，并且在细胞内表达（胞内抗体）用于可能的体内治疗和诊断应用。

[0323] 本文中公开的用于诊断和治疗方法中的结合多肽的重链部分可以源自不同的免疫球蛋白分子。例如，多肽的重链部分可以包括源自IgG1分子的CH1结构域和源自IgG3分子的铰链区。在另一实例中，重链部分可以包括部分地源自IgG1分子并且部分地源自IgG3分

子的铰链区。在另一实例中,重链部分可以包括部分地源自IgG1分子并且部分地源自IgG4分子的嵌合型铰链。

[0324] 因此,也如实施例中所例示的,在一个实施方式中,本发明的抗体的恒定区或其一部分(特别是CH2结构域和/或CH3结构域,但可选地也可以是CH1结构域)与根据本发明的方法分离的原生人单克隆抗体的可变区异源。在这种情况下,在本发明的抗体的治疗应用的情况下,一种或多种异源恒定区优选为人源的,但是在动物研究的情况下,该一种或多种异源恒定区也可以是例如啮齿动物源的;同样参见实施例。

[0325] 如本文中所使用的,术语“轻链部分”包括源自免疫球蛋白轻链的氨基酸序列。优选地,轻链部分包括V_L结构域或C_L结构域中的至少一种。

[0326] 如先前所指出的,各种免疫球蛋白类的恒定区的亚基结构和三维构造是公知的。如本文中所使用的,术语“V_H结构域”包括免疫球蛋白重链的氨基端可变结构域,而术语“CH1结构域”包括免疫球蛋白重链的第一(主要为氨基端)恒定区结构域。CH1结构域邻近VH结构域,并且是免疫球蛋白重链分子的铰链区的氨基端。

[0327] 如本文中所使用的,术语“CH2结构域”包括使用传统编号方案的从例如抗体的约残基244延伸至残基360(残基244至360,kabat编号系统;以及残基231-340,EU编号系统,参见Kabat EA等人,同前)的重链分子的部分。CH2结构域的独特之处在于它不与另一结构域紧密配对。相反地,在完整的原生IgG分子的两个CH2结构域之间插入两个N-连接的分支糖链。还有据可查的是,CH3结构域从CH2结构域延伸至IgG分子的C端,并且包含约108个残基。

[0328] 如本文中所使用的,术语“铰链区”包括将CH1结构域接合至CH2结构域的重链分子的部分。该铰链区包含约25个残基并且是柔性的,从而允许两个N端抗原结合区独立地移动。铰链区可以细分为三个不同的结构域:上部、中部以及下部铰链结构域;参见Roux等人,J. Immunol. 161(1998),4083。

[0329] 如本文中所使用的,术语“二硫键”包括在两个硫原子之间形成的共价键。氨基酸半胱氨酸包含可以与第二硫醇基形成二硫键或桥的硫醇基。在大多数天然存在的IgG分子中,CH1区和CL区通过二硫键连接,并且两条重链通过两个二硫键在与使用Kabat编号系统的239和242(位置226或229,EU编号系统)相对应的位置处连接。

[0330] 如本文中所使用的,术语“连接的”,“融合的”或“融合”可互换使用。这些术语是指两种或更多种元件(要素)或组分通过包括化学偶联或重组方式在内的任何方式连接在一起。“框内融合”是指两个或多个多核苷酸的开放阅读框(ORF)以保持原始ORF的正确翻译阅读框的方式形成连续的较长ORF而进行的接合。因此,重组融合蛋白是含有与由原始ORF编码的多肽相对应的两个或更多个段(这些段通常实际上并不如此连接)的单种蛋白。虽然阅读框因此在整个融合段被制成连续的,但是这些段可以通过例如框内连接序列在物理上或空间上分开。例如,对免疫球蛋白可变区的CDR编码的多核苷酸可以在框内被融合,但通过对至少一个免疫球蛋白框架区或另外的CDR区编码的多核苷酸分开,只要“融合的”CDR被共同翻译作为连续多肽的一部分即可。因此,在一个实施方式中,多核苷酸是对恒定域的至少一部分和可变区编码的cDNA。在一个实施方式中,多核苷酸是对如本文中定义的本发明的抗体的可变区和恒定域编码的cDNA。

[0331] 表位:

[0332] 用于抗体的肽或多肽表位的最小尺寸被认为是约四至五个氨基酸。肽或多肽表位

优选地包含至少七个氨基酸,更优选地至少九个氨基酸并且最优选地在至少约15个至约30个氨基酸之间。因为CDR可以以其三级形式识别抗原肽或多肽,所以包含表位的氨基酸不需要是连续的,并且在一些情况下甚至可以不处于相同的肽链上。在本发明中,通过本发明的抗体识别的肽或多肽表位包含本发明的感兴趣分子的至少4个、至少5个、至少6个、至少7,更优选地至少8个、至少9个、至少10个、至少15个、至少20个、至少25个、在约15个至约30个之间或在约30个至约50个之间的连续或非连续氨基酸的序列,即在抗体识别不止一个亚型的情况下的至少一个IFNA亚型、或其他IFNA亚型的同源序列。关于用于本发明的示例性抗体19D11和26B9的IFNA2的表位以及用于示例性抗体26B9的IFNW的表位的绘制,请参见图27。

[0333] 结合特性:

[0334] 本文中可互换使用的“结合”或“识别”通常是指:结合分子(例如抗体)经由其抗原结合结构域结合至预定表位;以及该结合引起抗原结合结构域与表位之间的一些互补性。根据该定义,当抗体结合至表位时,该抗体被认为经由其抗原结合结构域“特异性结合”至该表位比该抗体结合至随机的不相关表位更加容易。术语“特异性”在本文中用于限定通过其某一抗体与某一表位结合的相对亲和力。例如,可以认为抗体“A”与抗体“B”相比具有针对给定表位的较高特异性,或者说抗体“A”以比其针对相关表位“D”所具有的特异性高的特异性结合至表位“C”。不相关的表位通常是非特异性抗原(例如,BSA、酪蛋白、或任何其他指定多肽)的一部分,其可以用于估计给定结合分子的结合特异性。在这一方面,术语“特异性结合”是指抗体以比其与非特异性抗原的结合的 K_D 低至少两倍的 K_D 与预定抗原结合。如本文中所述的术语“高度特异性”结合是指抗体针对特异性靶抗原的相对 K_D 比该抗体与其他配体结合的 K_D 低至少10倍。

[0335] 在存在的情况下,抗体与抗原的所有语法形式的术语“免疫球蛋白结合特征”或其他结合特征是指抗体的特异性、亲和力、交叉反应性和其他结合特征。

[0336] “优先结合”意指结合分子例如抗体特异性地结合至表位比该抗体结合至相关、相似、同源或类似表位更加容易。因此,与和相关表位结合相比,“优先结合”至给定表位的抗体更可能结合至该给定表位,即便这样的抗体可能与所述相关表位交叉反应。关于特定抗原,诸如特异性IFNA亚型,术语“优先结合”意指结合分子(例如抗体)特异性地结合至IFNA亚型比该抗体结合至相关、相似、同源或类似IFNA亚型更加容易。

[0337] 通过非限制性实例,如果结合分子例如抗体以比该抗体针对第二表位的离解常数(K_D)低的 K_D 结合第一表位,则可以认为该抗体优先结合所述第一表位。在另一个非限制性实例中,如果抗体以比该抗体针对第二表位的 K_D 低至少一个数量级的亲和力结合第一表位,则可以认为该抗体优先结合第一抗原。在另一非限制性实例中,如果抗体以比该抗体针对第二表位的 K_D 低至少两个数量级的亲和力结合第一表位,则可以认为该抗体优先结合所述第一表位。

[0338] 在另一非限制性实例中,如果结合分子例如抗体以比该抗体针对第二表位的解离率(off rate) ($k(\text{off})$)低的 $k(\text{off})$ 结合第一表位,则可以认为该抗体优先结合所述第一表位。在另一个非限制性实例中,如果抗体以比该抗体针对第二表位的 $k(\text{off})$ 低至少一个数量级的亲和力结合第一表位,则可以认为该抗体优先结合所述第一表位。在另一个非限制性实例中,如果抗体以比该抗体针对第二表位的 $k(\text{off})$ 低至少两个数量级的亲和力结合第

一表位,则可以认为该抗体优先结合所述第一表位。

[0339] 本文中公开的结合分子,例如抗体或抗原结合片段、变体或衍生物,可以被认为以低于或等于 $5 \times 10^{-2} \text{秒}^{-1}$ 、 10^{-2}秒^{-1} 、 $5 \times 10^{-3} \text{秒}^{-1}$ 或 10^{-3}秒^{-1} 的解离率(k(off))与本发明的感兴趣分子、其片段或变体结合。更优选地,本发明的抗体可以被认为以低于或等于 $5 \times 10^{-4} \text{秒}^{-1}$ 、 10^{-4}秒^{-1} 、 $5 \times 10^{-5} \text{秒}^{-1}$ 或 10^{-5}秒^{-1} 、 $5 \times 10^{-6} \text{秒}^{-1}$ 、 10^{-6}秒^{-1} 、 $5 \times 10^{-7} \text{秒}^{-1}$ 或 10^{-7}秒^{-1} 的解离率(k(off))与本发明的感兴趣分子、或其片段或变体结合。

[0340] 本文中公开的结合分子,例如抗体或抗原结合片段、变体或衍生物,可以被认为以大于或等于 $10^3 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 、 $5 \times 10^3 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 、 $10^4 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 或 $5 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 的结合率(on rate) (k(on))与本发明的感兴趣分子或其片段或变体结合。更优选地,本发明的抗体可以被认为以大于或等于 $10^5 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 、 $5 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 、 $10^6 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 、或 $5 \times 10^6 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 、或 $10^7 \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$ 的结合率(k(on))与本发明的感兴趣分子或其片段或变体结合。

[0341] 如果结合分子例如抗体优先结合至给定表位到这样的程度,使得在一定程度上阻止参考抗体与该表位的结合,则该抗体被认为竞争性抑制该参考抗体与该给定表位的结合。竞争性抑制可以通过本领域已知的任何方法(例如竞争ELISA测定)来确定。抗体可以被认为竞争性抑制参考抗体与给定表位至少90%、至少80%、至少70%、至少60%、或至少50%的结合。

[0342] 如本文中所使用的,术语“亲和力”是指各个表位与结合分子(例如免疫球蛋白分子)的CDR的结合强度的度量;参见,例如Harlow等人, *Antibodies: A Laboratory Manual*, 冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press), 第二版(1988), 第27-28页。如本文中所使用的,术语“亲合力(avidity)”是指免疫球蛋白群与抗原之间的复合物的总体稳定性,也就是说,免疫球蛋白混合物与抗原的功能组合强度;参见例如Harlow第29-34页。亲合力与群中各个免疫球蛋白分子与特异性表位的亲和力以及免疫球蛋白和抗原的化合价有关。例如,二价单克隆抗体与具有高度重复表位结构的抗原(诸如聚合物)之间的相互作用可以是高亲合力中的一种。可以使用任何合适的方法在实验上确定抗体对抗原的亲和力或亲合力;参见,例如Berzofsky等人, “Antibody-Antigen Interactions” In *Fundamental Immunology*, Paul, W.E. 编, Raven Press New York, N Y(1984), Kuby, Janis *Immunology*, W.H. Freeman and Company New York, N Y(1992), 以及其中描述的方法。用于测量抗体对抗原的亲合力的常用技术包括ELISA、RIA和表面等离子体共振。如果在不同的条件(例如盐浓度、pH)下进行测量,则所测量的特定抗体-抗原相互作用的亲和力可以变化。因此,优选地利用抗体和抗原的标准溶液以及标准缓冲液来进行亲合力和其他抗原结合参数,例如 K_D 、 IC_{50} 的测量。

[0343] 本发明的结合分子,例如抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物,也可以根据它们的交叉反应性进行描述或具体化。如本文中所使用的,术语“交叉反应性”是指对一种抗原特异性的抗体与第二抗原反应的能力;两种不同的抗原物质之间的相关性的度量。因此,如果抗体与诱导其形成的表位不同的一个表位结合,则该抗体是交叉反应性的。交叉反应性表位通常含有许多相同的互补结构特征作为诱导表位,并且在一些情况下,实际上可能比最初更加适合。

[0344] 例如,某些抗体具有一定程度的交叉反应性,原因在于它们结合相关但不相同的表位,例如,与参考表位具有至少95%、至少90%、至少85%、至少80%、至少75%、至少

70%、至少65%、至少60%、至少55%、以及至少50%的同一性(如使用本领域已知的和本文所描述的方法计算的)的表位。如果抗体并不与与参考表位具有低于95%、低于90%、低于85%、低于80%、低于75%、低于70%、低于65%、低于60%、低于55%以及低于50%的同一性(如使用本领域中已知和本文中所描述的方法计算出的)的表位结合,则可以认为该抗体具有较少的交叉反应性或不具有交叉反应性。如果抗体不与某一表位的任何其他类似物、直系同源物或同系物结合,则可以认为该抗体针对该表位“高度特异性”。

[0345] 本发明的结合分子,例如抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物,也可以根据它们与本发明的感兴趣分子的结合亲和力进行描述或具体化。优选的结合亲和力包括具有低于 $5 \times 10^{-2} \text{M}$ 、 10^{-2}M 、 $5 \times 10^{-3} \text{M}$ 、 10^{-3}M 、 $5 \times 10^{-4} \text{M}$ 、 10^{-4}M 、 $5 \times 10^{-5} \text{M}$ 、 10^{-5}M 、 $5 \times 10^{-6} \text{M}$ 、 10^{-6}M 、 $5 \times 10^{-7} \text{M}$ 、 10^{-7}M 、 $5 \times 10^{-8} \text{M}$ 、 10^{-8}M 、 $5 \times 10^{-9} \text{M}$ 、 10^{-9}M 、 $5 \times 10^{-10} \text{M}$ 、 10^{-10}M 、 $5 \times 10^{-11} \text{M}$ 、 10^{-11}M 、 $5 \times 10^{-12} \text{M}$ 、 10^{-12}M 、 $5 \times 10^{-13} \text{M}$ 、 10^{-13}M 、 $5 \times 10^{-14} \text{M}$ 、 10^{-14}M 、 $5 \times 10^{-15} \text{M}$ 、或 10^{-15}M 的解离常数或 K_D 的那些结合亲和力。通常,抗体以 10^{-7}M 或更低的解离常数(K_D)与其预定抗原结合。优选地,抗体以 10^{-9}M 或更低的解离常数(K_D)且还更优选地以 10^{-11}M 或更低的解离常数(K_D)与其同源抗原结合。

[0346] 抗体的修饰:

[0347] 可以进一步修饰免疫球蛋白或其编码cDNA。因此,在另外的实施方式中,本发明的方法包括生产嵌合型抗体、人源化抗体、单链抗体、Fab片段、双特异抗体、融合抗体、标记抗体或这些中任一种的类似物的一个或多个步骤中的任一个。相应的方法对于本领域技术人员来说是已知的,并且例如在Harlow和Lane“Antibodies, A Laboratory Manual”, CSH Press, Cold Spring Harbor, 1988中进行了描述。当通过噬菌体展示技术获得所述抗体的衍生物时,如在BIAcore系统中采用的表面等离子体共振可以用于增加与和由本发明提供的抗体中任一种的表位相同的表位结合的噬菌体抗体的效率(Schier, Human Antibodies Hybridomas 7(1996), 97-105; Malmborg, J. Immunol. Methods 183(1995), 7-13)。例如,在国际申请W089/09622中描述了嵌合型抗体的生产。在例如欧洲申请EP-A1 0239400和国际申请W090/07861中描述了用于生产人源化抗体的方法。按照本发明待利用的抗体的其他来源是所谓的异源抗体。在例如国际申请W091/10741、W094/02602、W096/34096和W096/33735中描述了用于在小鼠中产生异源抗体(例如人抗体)的一般原理。如上面所讨论的,除了完整抗体之外,本发明的抗体还可以以各种形式存在,包括例如Fv、Fab和F(ab)₂、以及单链;参见例如国际申请W088/09344。

[0348] 使用本领域已知的传统技术可以进一步修饰本发明的抗体或其对应的一种或多种免疫球蛋白链,例如,通过单独地或组合地使用本领域已知的氨基酸的一个或多个缺失、一个或多个插入、一个或多个替换、一个或多个添加和/或一个或多个重组和/或一个或多个任何其他修饰。用于在免疫球蛋白链的氨基酸序列下的DNA序列中引入这样的修饰的方法对于本领域技术人员而言是公知的;参见,例如, Sambrook, Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y. 和 Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1994)。本发明的抗体的修饰包括在一个或多个组成氨基酸处的化学和/或酶衍生化,包括:侧链修饰;主链修饰;以及N端和C端修饰,包括乙酰化、羟基化、甲基化、酰胺化以及碳水化合物或脂质部分、辅因子等的附着。同样地,本发明包括嵌合蛋白的生产,该嵌合蛋白包括在氨基端融合至异源分子(诸如标记或药物)的所描述抗体或其一些

片段。以此方式生成的抗原结合分子可以用于将药物分别定位至表达患病细胞和组织的适当表面结构的细胞。这种对细胞的靶向和结合可以有助于治疗或诊断活性剂的递送以及基因治疗/基因递送。具有本发明的抗体的分子/颗粒会特异性地结合至表达特定的感兴趣抗原的细胞/组织,并且因此可以具有诊断和治疗用途。

[0349] 样品:

[0350] 如本文中所使用的,术语“样品”或“生物样品”是指从受试者或患者获得的任何生物材料。在一个方面,样品可以包括血液、脑脊髓液(“CSF”)或尿液。在另一方面,样品可以包括全血、血浆、从外周血(PBMC)富集的单核细胞(诸如淋巴细胞(即T细胞、NK细胞或B-细胞)、单核细胞、巨噬细胞、树突细胞和嗜碱细胞)以及培养的细胞(例如,来自受试者的B细胞)。样品还可以包括含有肿瘤组织的活检或组织样品。在又一方面,样品可以包括全细胞和/或该细胞的裂解物。在一个实施方式中,样品包含外周血单核细胞(PBMC)。可以通过本领域中已知的方法来收集样品。

[0351] 抗IFN- α 抗体的鉴定、对应B细胞的分离和抗IFN- α 抗体的重组表达

[0352] 通常可以如在国际申请W02013/098419和W02013/098420中所描述的那样执行对特异于本发明的抗IFN- α 抗体的B细胞(如表1所列出的以及如针对若干种IFN- α 亚型所例示的)的鉴定和显示出感兴趣特异性以及它们的重组表达和功能特征的抗体的分子克隆;参见上述国际申请中的实施例部分,特别是W02013/098419第118-120页的实施例1和2以及W02013/098420第27-31页的实施例1至4,将其公开内容通过引用并入到本文中。

[0353] 简言之,在本发明的一个实施方式中,如在实施例中所描述的,培养单个或寡克隆B细胞的培养物,并且针对特异于一种或多种IFN- α 亚型的抗体的存在和亲和力对包含由所述B细胞产生的抗体的培养物的上清液进行筛选。在另一实施方式中,首先在患者血清中筛选抗IFN- α 亚型的自身抗体的存在,然后选择具有高滴度(效价)的那些用于外周血单核细胞分离;参见W02013/098419第118-120页的实施例2,将其公开内容通过引用并入到本文中。筛选过程包括筛选在IFN- α 亚型的片段、肽或衍生物上的结合。随后,分离检测到结合的抗体或生产所述抗体的细胞;参见W02013/098419第120页的实施例3,其公开内容通过引用并入到本文中。因此,使用包含抗体分泌细胞(如总外周血或血清)的样品,可以对候选供体组进行初步筛选。特别地,使用用于分离外周血单核细胞(PBMC)的标准分离技术诸如梯度离心,可以从血液或淋巴组织分离出单核细胞。在此分离步骤之后和/或之前,可以使用用于检测抗体和抗体分泌细胞的存在的技术(例如ELISA、BIACORE、蛋白印迹、FACS、SERPA、抗原阵列、在细胞培养系统中的病毒感染的中和、或ELISPOT测定)预筛选(从不同的患者、不同的组织和/或在不同的时间点获得的)血清(或者血浆)、细胞培养物上清液或细胞的样品。该文献提供了显示出例如使用ELISPOT用于表征接种供体中的免疫反应(Crotty等人, *Immunol Meth.* 286(2004), 111-122)、使用抗原微阵列作为用于新感染患者的诊断工具(Mezzasoma等人, *Clin Chem.* 48(2002), 121-130)的这些技术以及用于测量抗原特异性免疫反应的其他技术(Kern等人, *Trends Immunol.* 26(2005), 477-484)的若干示例。

[0354] 在分别鉴定候选抗IFN- α 抗体和分泌所述抗体的B细胞之后,获得对感兴趣抗体编码的核酸序列,包括如下步骤:制备B细胞,并且获得/排序来自B细胞的对感兴趣抗体编码的核酸,以及进一步将所述核酸插入到可以表达兴趣抗体的表达宿主中或使用所述核酸来制备该表达宿主,在感兴趣抗体被表达的条件下培养或传代培养表达宿主,以及可选地纯

化感兴趣抗体。不言而喻,可以在中间操作该核酸,以引入限制位点、改变密码子使用和/或添加或优化转录和/或翻译调节序列。这些技术为现有技术,并且可以由本领域技术人员在无过度负担的情况下执行。例如,重链恒定区可以与不同同种型的重链恒定区交换或被一起消除。可以连接可变区,以对单链Fv区进行编码。可以连接多个Fv区以向多于一种的靶赋予结合能力,或者可以采用嵌合重链和轻链组合。一旦基因材料是可用的,如上所述的保留其结合期望靶的能力的类似物的设计就明确了。用于克隆抗体可变区和生成重组抗体的方法对本领域技术人员而言是已知的,并且其描述在例如Gilliland等人,Tissue Antigens 47 (1996), 1-20; Doenecke等人,Leukemia 11 (1997), 1787-1792中。然而,在本发明的一个优选实施方式中,通过在国际申请W02013/098420,特别是其中第28-30页的实施例3中所述的方法,获得B细胞并且表达对应的抗体,将上述申请的公开内容通过引用并入到本文中。

[0355] 疾病和失调:

[0356] 除非另有说明,否则术语“失调”和“疾病”在本文中可互换使用。如本文所使用的术语“自身免疫失调”是起因于和针对个体自身组织或器官或者其共分离或表现或由其引起病症的疾病或失调。自身免疫疾病主要是由适应性免疫应答的异常调节引起的,并且形成了针对自身结构的自身抗体或自身反应性T细胞。几乎所有的自身免疫疾病均具有炎症成分。自身炎症疾病主要是炎症,并且一些经典的自身炎症疾病是由先天炎症通路中的基因缺陷引起的。在自身炎症疾病中,未发现自身反应性T细胞或自身抗体。在许多这些自身免疫和自身炎症失调中,可能存在多个临床和实验室标记,包括但不限于血丙种球蛋白过多、高水平的自身抗体、组织中的抗原-抗体复合物沉积、来自皮质类固醇或免疫抑制治疗的益处、以及在受影响组织中的淋巴样细胞聚集。不限于关于B细胞介导的自身免疫失调的理论,据信B细胞通过多种机械途径证实了在人自身免疫疾病中的致病作用,所述机械途径包括自身抗体生产、免疫复合物形成、树突细胞和T细胞活化、细胞因子合成、直接趋化因子释放、以及提供用于异位新淋巴液生成的病灶。这些途径中的每一种可以不同程度地参与到自身免疫性疾病的病理(病变)中。

[0357] 如本文中所使用的,“自身免疫失调”可以是器官特异性疾病(即免疫应答特异性地针对器官系统,诸如内分泌系统、造血系统、皮肤、心肺系统、胃肠和肝系统、肾系统、甲状腺、耳、神经肌肉系统、中枢神经系统等)或者为可以影响多个器官系统的全身性疾病(例如,系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿性关节炎、多肌炎、1型自身免疫性多内分泌腺病综合征(APS1)/自身免疫性多内分泌腺病-念珠菌病-外胚层营养不良(APECED)等。优选地,这样的疾病包括自身免疫性风湿失调(诸如,例如类风湿性关节炎、干燥综合征、硬皮病、狼疮诸如SLE和狼疮肾炎、多肌炎/皮肌炎和银屑病关节炎)、自身免疫性皮肤病失调(诸如例如牛皮癣、天疱疮组疾病、大疱性类天疱疮疾病和皮肤红斑狼疮)和自身免疫性内分泌失调(诸如例如糖尿病相关自身免疫疾病诸如1型或胰岛素依赖型糖尿病(T1DM或IDDM)、自身免疫甲状腺病(例如,格雷夫斯病和甲状腺炎))以及影响自身免疫性生成的疾病,诸如1型自身免疫多内分泌腺病综合征(APS1)/自身免疫性多内分泌腺病-念珠菌病-外胚层营养不良(APECED)、重症肌无力(MG/胸腺瘤)。

[0358] 优选的疾病包括例如SLE、RA、T1DM、MS、干燥综合征、格雷夫斯病、甲状腺炎和肾小球肾炎和APS1。还更优选的是RA、SLE和MS,并且最优选的是SLE。

[0359] 标记和诊断:

[0360] 标记剂可以直接或间接偶联至本发明的抗体或抗原。间接偶联的一个实例为通过使用间隔基 (spacer) 部分。此外,本发明的抗体可以包括另外的结构域,所述结构域通过共价键或非共价键连接。该连接可以基于根据本领域已知的和在上面描述的方法的基因融合,或者可以通过例如如在例如国际申请W094/04686中描述的化学交联来执行。存在于包括本发明的抗体的融合蛋白中的另外的结构域可以优选地通过柔性接头 (linker)、有利地多肽接头进行连接,其中所述多肽接头包含多个亲水性肽键合的氨基酸,其长度足以跨越所述另外的结构域的C端端部和本发明的抗体的N端端部之间的距离,或者反之亦然。治疗或诊断活性剂可以通过各种方式偶联至本发明的抗体或其抗原结合片段。这包括例如单链融合蛋白,其包括通过共价方法如肽键偶联至治疗或诊断活性剂的本发明的抗体的可变区。另外的实例包括下述分子,该分子包括共价或非共价地偶联至另外的分子的至少一个抗原结合片段,包括下面非限制示例性列表中的那些。Traunecker, *Int. J. Cancer Surp. SuDP* 7 (1992), 51-52描述了双特异性试剂janusin,其中针对CD3的Fv区偶联至可溶的CD4或其他配体,诸如OVCA和IL-7。类似地,本发明的抗体的可变区可以被构建为Fv分子并且偶联至可替换的配体(如所引用文献示出的那些)。Higgins, *J. Infect. Disease* 166 (1992), 198-202描述了由与针对GP120的V3区中特定序列的抗体交联的OKT3组成的异轭合抗体(异缀合抗体,杂缀合抗体, hetero-conjugate antibody)。这样的异轭合抗体也可以至少使用包含在本发明方法的抗体中的可变区来构建。特异性抗体的另外的实例包括Fanger, *Cancer Treat. Res.* 68 (1993), 181-194和Fanger, *Crit. Rev. Immunol.* 12 (1992), 101-124描述的那些。作为包括常规抗体的免疫毒素的轭合物(缀合物, conjugate)已经在本领域中得到广泛描述。毒素可以通过常规的偶联技术偶联至抗体,或者可以将含有蛋白毒素部分的免疫毒素生产为融合蛋白。可以以相应的方式使用本发明的抗体,以获得这样的免疫毒素。这样的免疫毒素的示例为Byers, *Seminars Cell. Biol.* 2 (1991), 59-70和Fanger, *Immunol. Today* 12 (1991), 51-54所描述的那些。

[0361] 上述融合蛋白还可以包括用于蛋白酶的可切割接头或切割位点。这些间隔基部分进而可以是不可溶的或可溶的(Diener等人, *Science* 231 (1986), 148), 并且其可以被选择成用以使药物能够在靶位点从抗原释放。可以偶联至本发明的抗体和抗原的用于免疫治疗的治疗剂的实例为趋化因子、归巢分子、药物、放射性同位素、凝集素和毒素。可以轭合至本发明的抗体和抗原的药物取决于旨在使用所轭合分子的疾病环境。例如,对可用于治疗肿瘤性疾病的靶特异性的抗体可以轭合至被经典地称为抗肿瘤药物的化合物,如丝裂霉素C、柔红霉素和长春花碱。在使用本发明的放射性同位素轭合的抗体或抗原用于例如肿瘤免疫治疗的情况下,取决于诸如白细胞分布以及稳定性和发射的因素,某些同位素可能比其他同位素更加优选。取决于自身免疫应答,某些发射体可能比其他发射体优选。通常,发射放射性同位素的 α 和 β 粒子在免疫疗法中是优选的。优选的是短距离、高能量的 α 发射体,诸如 ^{212}Bi 。可以结合至本发明的抗体或抗原以用于治疗目的的放射性同位素的实例为 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{90}Y 、 ^{67}Cu 、 ^{212}Bi 、 ^{212}At 、 ^{211}Pb 、 ^{47}Sc 、 ^{109}Pd 和 ^{188}Re 。本领域普通技术人员已知或可以容易地确定可以偶联至本发明的抗体或抗原的其他治疗剂以及体外和体内治疗方案。用于标记的合适放射性同位素的非限制性实例为 ^{198}Au 、 ^{212}Bi 、 ^{11}C 、 ^{14}C 、 ^{57}Co 、 ^{67}Cu 、 ^{18}F 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^3H 、 ^{197}Hg 、 ^{166}Ho 、 ^{111}In 、 $^{113\text{m}}\text{In}$ 、 ^{123}I 、 ^{125}I 、 ^{127}I 、 ^{131}I 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{15}O 、 ^{13}N 、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{203}Pb 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{105}Rh

、 ^{97}Ru 、 ^{35}S 、 ^{153}Sm 和 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 。适于标记的其他分子为荧光或发光染料、磁性粒子、金属以及可以通过二次(辅助)酶促或结合步骤检测到的分子(诸如酶或肽标签)。在荧光探针和研究产品手册(*Handbook of Fluorescent Probes and Research Products*)的第八版中列出了适合在本发明中用作标记的商业荧光探针,将该文献的公开内容通过引用并入到本文中。适用于基于磁性粒子的测定(MPA)的磁性粒子可以选自顺磁材料、抗磁材料、铁磁材料、铁磁材料和超顺磁材料。

[0362] 可以在标准教科书中发现可用于诊断目的的分子和细胞生化通用方法,这类标准教科书诸如*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*(分子克隆:实验手册),第三版(Sambrook等人,Harbor Laboratory出版社2001);*Short Protocols in Molecular Biology*(经编分子生物学实验指南),第四版(Ausubel等人编,John Wiley&Sons1999);*Protein Methods*(蛋白方法)(Bollag等人,John Wiley&Sons 1996)。用于诊断目的的试剂、检测方法(手段,工具)和试剂盒可以从商业供应商(诸如Pharmacia Diagnostics、Amersham、BioRad、Stratagene、Invitrogen和Sigma-Aldrich)以及从本文中引用的任一个参考文献特别是专利文献中给出的来源得到。

[0363] 治疗和药物:

[0364] 如本文中所使用的,术语“医治(处理,treat)”或“治疗(treatment)”是指治疗性治疗(处理)和预防性或防范性措施,其中目的是防止或减缓(减轻)不期望的生理学变化或失调,如自身免疫和/或自身炎性疾病的发展。无论是可检测的还是不可检测的,有益或期望的临床效果包括但不限于:症状的减轻、疾病程度的减弱、疾病的稳定(即不恶化)状态、疾病进展的延迟或减缓、疾病状态的改善或缓和、以及缓解(无论是部分的还是全部的)。“治疗”还可以指与不接受治疗的预期存活相比延长存活。需要治疗的那些对象包括:已经患有病症或失调的那些对象,以及易患有病症或失调的对象,或要预防病症或失调的表现的对象。

[0365] 如果没有另外说明,则术语“药物”、“药品”或“药剂(药物,medicament)”在本文中可互换使用,并且应包括但不限于所有下述:(A)内用或外用的制品、药品和制剂,以及旨在用于诊断、治愈、缓解、治疗或预防人或其他动物的疾病的任何物质或物质的混合物;和(B)旨在影响人体或其他动物体的结构或任何功能的制品、药品和制剂(除了食物);以及(C)旨在用作在条目(A)和(B)中规定的任何制品的组分的制品。术语“药物”、“药品”或“药剂”应包括旨在用于人或其他动物中的制剂的完整配方,其包括一种或多种“试剂(药剂,agent)”、“化合物”、“物质”或“(化学)组合物”作为并且在一些其他情况下还包括其他无药理活性的赋形剂作为填充剂,崩解剂,润滑剂,助流剂,粘合剂或者在人或其他动物的身体内的预定目标位置(例如,在皮肤上,在胃或肠中)确保“药物”,“药品”或“药剂”的容易运输,崩解,解聚,溶出和生物可用性。术语“试剂”、“化合物”或“物质”在本文中可互换使用,并且在更具体的上下文中,应当包括,但不限于所有的药理学活性剂,即诱导期望的生物学或药理学效果或研究或测试用于通过本发明的方法诱导这样的可能的药理作用的能力的试剂。

[0366] “抗风湿药物”和免疫抑制药物的实例包括氯喹、羟基氯喹、硫代苯酸金钠(myocrisin)、金诺芬(auranofm)、柳氮磺吡啶、甲氨蝶呤、来氟米特、依那西普、英夫利昔单抗(加口服和皮下用甲氨蝶呤)、阿达木单抗等、硫唑嘌呤、D-青霉胺、金盐(口服)、金盐(肌

内的)、米诺环素、包括环孢素A和外用环孢素的环孢素、他克莫司、霉酚酸酯、环磷酰胺、金黄色葡萄球菌蛋白A(Goodyear和Silverman, J. Exp. Med., 197(2003), 125-39), 包括它们的盐和衍生物等。

[0367] “非甾体抗炎药物”或“NSAID”的实例包括阿司匹林、乙酰水杨酸、布洛芬和布洛芬缓释、非诺洛芬、吡罗昔康、氟比洛芬、萘普生、酮洛芬、萘普生、替诺昔康、贝诺酯、双氯芬酸、萘普生、萘丁美酮、消炎痛、酮洛芬、甲灭酸、双氯芬酸、芬布芬、阿扎丙宗、阿西美辛、噻洛芬酸、消炎痛、舒林酸、托美丁、保泰松、双氯芬酸和双氯芬酸缓释、环氧合酶(COX)-2抑制剂(诸如GR 253035、MK966、塞来昔布(CELEBREX®; 4-(5-(4-甲基苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)、苯磺酰胺和伐地考昔(BEXTRA®))和美洛昔康(MOBIC®), 包括其盐和衍生物等。优选地, 它们为阿司匹林、萘普生、布洛芬、消炎痛、或托美丁。这样的NSAID可选地与镇痛剂(诸如可待因(codenine)、曲马多, 和/或双氢可待因)或麻醉药(如吗啡)一起使用。

[0368] “受试者”或“个体”或“动物”或“患者”或“哺乳动物”是指任何受试者, 特别是哺乳动物受试者, 例如人类患者, 对他们来说, 诊断、预后、预防或治疗是期望的。

[0369] 药物载体:

[0370] 可以从本领域技术人员已知的相应文献中获取药学上可接受的载体和给药途径。本发明的药物组合物可以根据本领域公知的方法配制; 参见例如Remington: 费城科学大学(University of Sciences in Philadelphia)的Robinson等人的The Science and Practice of Pharmacy(2000), ISBN 0-683-306472, Vaccine Protocols. 第二版, Humana出版社, Totowa, New Jersey, USA, 2003; Taylor和Francis的Banga, Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing, and Delivery Systems第二版(2006), ISBN: 0-8493-1630-8。合适的药物载体的实例在本领域中是公知的并且包括磷酸盐缓冲盐溶液、水、乳剂, 例如油/水乳液, 各种类型的润湿剂、无菌溶液等。包括这样的载体的组合物可以通过公知的常规方法来配制。这些药物组合物可以以合适的剂量给予受试者。合适组合物的给药可以通过不同的途径来实现。实例包括经由口服、鼻内、直肠、局部、腹膜内、静脉内、肌内、皮下、真皮下、经皮、鞘内和颅内方法给予包含药学上可接受的载体的组合物。气溶胶制剂(诸如鼻喷雾制剂)包括具有防腐剂和等渗剂的活性剂的纯化水溶液或其他溶液。这样的制剂优选被调节至与鼻粘膜相容的pH和等渗状态。本发明中也设想用于口服给药的药物组合物(例如单结构域抗体分子(例如, “nanobodies™”)等)。这样的口服制剂可以是片剂、胶囊、粉末、液体或半固体形式。片剂可以包含固体载体, 诸如明胶或佐剂。用于直肠或阴道给药的制剂可呈现为具有合适载体的栓剂; 还参见O'Hagan等人的Nature Reviews, Drug Discovery 2(9)(2003), 727-735。有关适合于各种类型给药的配方的进一步指导可以在Remington的Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985)和相应的更新中找到。对于用于药物递送的方法的简要评述, 参见Langer, Science 249(1990), 1527-1533。

[0371] 剂量方案

[0372] 剂量方案将由主治医生和临床因素确定。如医学领域中公知的, 用于任何一名患者的剂量取决于多种因素, 包括患者的体型、体表面积、年龄、待给予的特定化合物、性别、给药的时间和途径、一般健康状况、以及待同时给予的其他药物。典型的剂量可以例如在

0.001至1000 μg 的范围内(或者具有在该范围内用于表达或用于抑制表达的核酸);然而,特别是考虑到上述因素,还设想到低于或高于该示例性范围的剂量。通常,作为药物组合物的常规给予的方案应在每天1 μg 到10mg单位的范围内。如果方案为连续输注,则还应当分别在1 μg 到10mg单位/kg体重/分钟的范围。可以通过定期评估来监测进程。用于肠胃外给药的制剂包括无菌的水溶液或非水溶液、悬浮液和乳液。非水溶剂的实例为丙二醇、聚乙二醇、植物油(如橄榄油)、和可注射的有机酯(如油酸乙酯)。水性载体包括水、醇/水溶液、乳液或悬浮液,包括盐水和缓冲介质。肠胃外载体(vehicle)包括氯化钠溶液、林格氏葡萄糖、葡萄糖和氯化钠、乳酸林格氏液或固定油。静脉内载体包括流体和营养补充剂、电解质补充剂(如基于林格氏葡萄糖的那些)等。防腐剂和其他添加剂也可以存在,诸如,例如抗菌剂、抗氧化剂、螯合剂和惰性气体等。此外,根据药物组合物的预期用途,本发明的药物组合物可以包含另外的药剂(试剂),如抗肿瘤剂和细胞毒性药物。

[0373] 另外,其他药剂的共同给予或顺序给予可以是期望的。治疗有效剂量或量是指足以减轻症状或病症的活性成分的量。这样的化合物的治疗功效和毒性可以通过在细胞培养物或实验动物中的标准药物程序来确定,例如ED50(在50%的群体中治疗有效的剂量)和LD50(对50%的群体致命的剂量)。在治疗和毒性作用之间的剂量比为治疗指数,并且其可以被表示为比率,LD50/ED50。

[0374] 优选地,组合物中的治疗剂以足以防止炎症或抑制免疫应答的量存在。

[0375] 本发明的说明书和实施例公开并涵盖了这些和其他实施方式。可以使用例如电子设备从公共图书馆和数据库来检索关于根据本发明待采用的材料、方法、用途和化合物中任一种的其他文献。例如,可以利用由美国国家生物技术信息中心和/或美国国立卫生研究院的国家医学图书馆主办的公共数据库“Medline”。进一步的数据库和网址,诸如欧洲生物信息研究所(EBI)的那些,其是欧洲分子生物学实验室(EMBL)的一部分,对于本领域技术人员来说是已知的,并且也可以使用互联网搜索引擎获得。在Berks, TIBTECH 12(1994), 352-364中给出了生物技术中的专利信息 and 可用于追溯检索和当前意识的专利信息的相关来源的概述。

[0376] 上述公开内容大体上描述了本发明。在整个说明书中引用了若干文献。在紧接权利要求书之前的说明书的末尾处可以找到完整的文献资料出处。所有引用的参考文献(包括如在整个本申请中所引用的文献参考、授权的专利、公开的专利申请和制造商的说明书、使用说明书等)的内容通过引用明确地并入到本文中;然而,并未承认任何引用的文件确实是关于本发明的现有技术。通过参照以下具体实施例可以获得更全面的理解,文中提供这些具体实施例仅在于说明性的目的而旨在限制本发明的范围。

[0377] 实施例

[0378] 后面的实施例1至9以及相应的图1至图32进一步说明了本发明,但不应被解释为以任何方式限制本发明的范围。在所引用的文献中可以发现常规方法(如文中所采用的那些)的详细描述;也参见Beers和Berkow的“The Merck Manual of Diagnosis and Therapy”第十七版(Merck&Co.公司,2003)。

[0379] 除非另有说明,否则本发明的实践将采用细胞生物学、细胞培养、分子生物学、转基因生物学、微生物学、重组DNA和免疫学的常规技术,这些都在本领域内的技术范围内。分子遗传学和基因工程中的方法通常描述在以下文献的现行版本中:Molecular Cloning:A

Laboratory Manual (分子克隆:实验手册), (Sambrook等人, (1989); Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第二版, 冷泉港实验室出版社); DNA Cloning, 第I卷和第II卷 (Glover 编, 1985); Oligonucleotide Synthesis (Gait 编, 1984); Nucleic Acid Hybridization (Hames和Higgins编, 1984); Transcription And Translation (Hames和Higgins编, 1984); Culture Of Animal Cells (Freshney和Alan, Liss, Inc., 1987); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (Miller和Calos编); Current Protocols in Molecular Biology and Short Protocols in Molecular Biology, 第三版 (Ausubel等人编); 和 Recombinant DNA Methodology (Wu 编, Academic出版社); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (Miller和Calos, eds., 1987, 冷泉港实验室); Methods In Enzymology, 154和155卷 (Wu等人, eds.); Immobilized Cells And Enzymes (IRL出版社, 1986); Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); the treatise, Methods In Enzymology (Academic出版社, N.Y.); Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer和Walker编, Academic出版社, London, 1987); Handbook Of Experimental Immunology, I-IV卷 (Weir和Blackwell编, 1986)。本公开内容所提及的用于基因操作的试剂、克隆载体和试剂盒可以从商业供应商 (诸如BioRad、Stratagene、Invitrogen和Clontech) 获得。在 Large Scale Mammalian Cell Culture (Hu 等人, Curr. Opin. Biotechnol. 8 (1997), 148)、Serum-free Media (Kitano, Biotechnology 17 (1991), 73)、Large Scale Mammalian Cell Culture (Curr. Opin. Biotechnol. 2 (1991), 375) 和 Suspension Culture of Mammalian Cells (Birch 等人, Bioprocess Technol. 19 (1990), 251) 中概述了细胞培养和培养基收集的通用技术。

[0380] 材料和方法:

[0381] 如在国际申请W02013/098419和W02013/098420中描述的那样执行患者选择、从APECED/APS1患者的记忆B细胞培养物分离外周血单核细胞(PBMC)以及抗体分离,但区别在于所分离和分析的抗体的特异性针对如上下文所定义的IFNA亚型而非上述PCT申请中具体使用的IL-17和IL-22;参见其中的实施例部分,特别是W02013/098419第117-120页的实施例1和2以及第168-171页的实施例17,以及W02013/098420第27-31页的实施例1至4,将其公开内容通过引用并入到本文中。

[0382] 本发明的人抗体的分子克隆和随后的抗体生产和纯化如国际申请W02013/098419中所描述的那样执行,参见该申请的实施例部分,特别是其中第117-120页的实施例1至3,将其公开内容通过引用并入到本文中。对AIRE基因的突变分析如国际申请W02013/098419中所描述的那样执行;参见其中的实施例,特别是第115-116页的实施例的材料和方法中的“AIRE基因的突变分析”部分,将其公开内容通过引用并入到本文中,其中具体步骤如W099/15559中所描述的那样执行。关于这一点,AIRE (APECED) 基因中的相应突变的分型如国际申请W099/15559第12-13页的实施例2中所描述的那样执行;对AIRE基因的外显子2和6的突变的证实如国际申请W099/15559第13页第5行到第14页第13行的实施例3中所描述的那样执行,将该申请的全部公开内容通过引用并入到本文中。特别地,对于突变分析,DNA样品由来自患有APECED的患者和APECED的疑似载体的外周血单核细胞以及正常健康的对照来纯化(根据Sambrook等人,1989, Molecular Cloning. A Laboratory Manual. CSH Press),并且使用对所有鉴定的外显子特异性的引物进行PCR。

[0383] 实施例1:检测患者的血清中的细胞因子特异性抗体

[0384] 通过在申请人的国际申请W02013/098419第128页的实施例7中描述的和第128至130页的表1和2所示出的Protoarray分析,已经确定出患有基因病症APECED(自身免疫性多内分泌腺病念珠菌病表皮发育不良,也称为自身免疫性多内分泌腺病1型(APS1))的患者的血清中各种细胞因子和疾病特异性抗体的一般存在,将该国际申请的公开内容通过引用并入到本文中。在测定中使用了由从APS1-1至APS1-23的代码所表示的来自23位患者的所有血清。从年龄与患者匹配的健康实验人员获得8个对照血清,并将其编号为C1-C8。参见图4,其示出了在所检查的23位患者中存在IFNA亚型特异性抗体和dsDNA-特异性抗体。除了图4所示出的血清反应性之外,患者APS1-9和APS1-2显示出针对IFNA1/13、IFNA5、IFNA6、IFNA10、IFNA14、IFNA16和IFNA21的血清反应性。

[0385] 抗dsDNA抗体高度特异于SLE,并且用于诊断疾病。出人意料地,尽管抗dsDNA抗体的频繁存在,但没有APS1患者患有狼疮。然而,APS1患者显示出针对作为许多狼疮牵连分子机制中所涉及的临床相关药物靶的若干种干扰素- α 亚型的显著血清反应性,这表明这些抗体在SLE治疗中的可能适宜性。

[0386] ELISA-IFN- α

[0387] 用人IFNA1、IFNA2(ImmunoTools)、IFNA4(SinoBiological)、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA21(所有形式的PBL)和IFNA14(ATGen)或IFNA8(Novus Biologicals)涂覆96孔微孔板(美国Costar)。用PBS-T洗涤板,并在室温下用含有2%的BSA(瑞士布克斯的Sigma)的PBS使其封闭1小时。患者血清、B细胞条件培养基、或重组抗体试剂在室温下孵育2小时。使用辣根过氧化物酶耦联的山羊抗人Fc- γ 特异性抗体(英国剑桥郡Jackson Immuno Research, Europe Ltd., 剑桥郡, 英国)来确定人IgG与感兴趣抗原的结合,接着使用TMB底物液(Sigma, TMB, 布克斯, 瑞士)测量HRP活性。利用辣根过氧化物酶耦联的抗-F(ab')₂特异性抗体来检测与人Fc融合小鼠IFNA2、IFNA4、IFNA14(SinoBiological)的结合(参照图19A)。

[0388] 实施例2:本发明的抗体的EC50的ELISA确定

[0389] 通过ELISA来确定本发明的hMAB与IFNA2(ImmunoTools)、IFNA4(SinoBiological)、IFNA14(ATGen)的EC50结合(关于与所使用的重组蛋白相关的详情,还参见下面的表3)。将MAB的系列稀释液(从1000ng/ml下降到0.0169ng/ml)用涂覆有抗原的板(在PBS中以1 μ g/ml涂覆整晚,接着用含有2%的BSA的PBS进行洗涤和封闭)孵育2小时。随后对板进行洗涤,并且利用抗人HRP耦联的二级抗体(二抗)来检测MAB的结合。使用Prism 4GraphPad软件在通过标绘浓度的对数对OD 450nm测量值所获得的S型剂量-应答曲线(可变斜率、4个参数)上计算引起与各抗原的最大结合的一半的MAB的浓度(EC50, ng/ml);参见图3和下表4。

| | 靶 | 提供商 | 目录编号 |
|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------|------------|
| [0390] | IFN- α 1 β (IFNA1/13) | Immunotools | 11343596 |
| | IFNA2 | ImmunoTools | 11343516 |
| | IFNA4 | Sino Biological | 10336-H08B |
| | IFNA5 | PBL | 11135 |
| | IFNA6 | PBL | 11165 |
| | IFNA8 | PBL | 11115 |
| | IFNA21 | PBL | 11130 |
| | [0391] | IFNA14 | ATGen |
| IFN- Ω 1 | | ProSpec | CYT-040 |
| IFN. γ | | Immunotools | 11343536 |
| gIFNA1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 16, 17, 21, B, W | | 室内生产, 利用高斯荧光素酶的融合构建体 | |

[0392] 表3: Elisa测定中使用的重组蛋白的列表

| 抗原 | IC 50 (ng/ml) | | | | |
|--------|---------------|--------|--------|-------|-------|
| | 19D11 | 26B9 | 8H1 | 12H5 | 50E11 |
| IFNA1 | 3.80 | 8.60 | 28.98 | 51.32 | 97.38 |
| IFNA2 | 1.62 | 2.83 | 1039.0 | 10.66 | 158.6 |
| IFNA4 | 0.95 | 2.07 | 5.43 | 0.48 | 20.25 |
| IFNA5 | 0.85 | 3.74 | 1.78 | 22.61 | 0.91 |
| IFNA6 | 0.79 | 3.16 | 77.70 | 3.55 | 39.30 |
| IFNA7 | 0.37 | 1.57 | 0.90 | 0.64 | 1.90 |
| IFNA8 | 27.69 | 205.0 | 571.0 | 0.86 | 4.02 |
| IFNA10 | 0.72 | 1.84 | 2.69 | 0.66 | 3.63 |
| IFNA14 | 0.31 | 2.01 | 784.6 | 2.15 | 9.20 |
| IFNA16 | 1.86 | 4013.0 | 1.86 | 32.99 | 2.35 |
| IFNA17 | 0.75 | 2.22 | 2.11 | 0.75 | 2.31 |
| IFNA21 | 2.22 | 4.65 | 2.78 | 13.02 | 3.05 |
| IFNW | - | 0.50 | 2.13 | - | 113.2 |

[0394] 表4: 如在ISRE双荧光素酶报告测定中获得的本发明的示例性抗IFN- α 抗体19D11、26B9、8H1、12H5和50E11的IC 50中和值的总结。[0395] 根据本发明的示例性抗IFN- α 抗体、使用从表3所示出的商业供应商获得的IFNA-

蛋白和根据本发明生成的IFNA-蛋白gIFNA2/-4和-14所执行的先前EC50结合对IC50中和测定给出类似的结果。

[0396] 此外,通过ELISA将本发明的示例性MAB 19D11、25C3、26B9、5D1和13B11与IFNA1 (ImmunoTools)的结合同这些抗体与IFNA2 (ImmunoTools)的结合进行比较。在该实验中,所检查的MAB (300ng/ml)用涂覆有抗原的板(在PBS中以1 μ g/ml涂覆整晚,接着用含有2%的BSA的PBS进行洗涤和封闭)一起孵育2小时。随后对板进行洗涤,并利用抗人HRP耦联的二级抗体来检测MAB的结合。示例性的MAB 19D11、25C3、26B9和13B11已示出与IFNA1和IFNA2的相当的结合亲和力(参见图11A)。然而,示例性的抗IFN- α MAB 5D1结合IFNA2并且不与IFNA1交叉反应(参见图11A)。在另外的实验中,通过LIPS对本发明的示例性MAB 19D11、25C3、26B9、5D1和13B11与IFNA8的结合同这些抗体与IFNA14的结合(二者都是IFN高斯荧光素酶融合蛋白)进行比较。在此,示例性的MAB 13B11未示出与IFNA8的交叉反应性。其他示例性的抗体19D11、25C3、26B9和5D1均示出与IFNA8的结合强于与IFNA4的结合(参见图11B)。在另外的实验中,确定并比较了本发明的示例性MAB 5D1、13B11、19D11、25C3、26B9和31B4与IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA21(全部来自PBL)和IFNA14(ATGen)的结合。示例性的抗IFNA- α 抗体13B11不与IFNA8和IFNA21交叉反应,并且以与其他IFNA亚型交叉反应相比,抗体19D11以较低的亲和力与IFNA21交叉反应(参见图11C)。

[0397] 实施例3:中和测定

[0398] 对所研究的细胞因子应答即携带必需受体的细胞系执行中和测定。结合至受体的配体激活对应的信号传导通路、使转录因子易位至细胞核,并且上调应答者基因(responder gene)转录、翻译以及(如果适用)产物分泌。从剂量-应答曲线的线性部分的始端选择所使用的细胞因子浓度,以使测定的灵敏度最大化。为了测试抗体的中和能力,利用血清的系列稀释液、上清液或纯化的抗体样品预孵育最佳浓度的靶细胞因子。结果被表示为抗体的滴度或浓度,其示出了在阳性对照和阴性对照之间的中间值(值的一半)。

[0399] 磷酸-STAT1测定

[0400] 分别将30000个HEK 293T或HEK 293T MSR细胞种植到涂覆有聚L-赖氨酸的96孔板(美国马萨诸塞州, Bedford, BD Biocoat)或经常规组织培养处理的96孔板(目录编号3598, Corning公司, Cornig, 纽约, 美国)中。第二天, rhIFNA或瞬时表达IFN-高斯荧光素酶融合蛋白(G1 IFN)的HEK 293T细胞的上清液与抗IFNA MAB或对照物IgG (5 μ g/ml)混合,并在37 $^{\circ}$ C下预孵育一小时。在预孵育后,混合物用于在37 $^{\circ}$ C下刺激HEK 293T或HEK 293T MSR细胞10分钟。在刺激后,利用补充有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的CellLyticTM裂解缓冲液(美国密苏里州圣路易斯Sigma-Aldrich公司, 目录编号C2978、P5726、P0044、P8340)使细胞裂解,并且在4 $^{\circ}$ C下在台式离心机中以13000RPM使所收集的裂解物清澈。裂解物经受降低的SDS-PAGE,并且被印迹到硝酸纤维素膜上。用含有0.25%的牛明胶、150mM的NaCl、5mM的EDTA、50mM且pH为7.5的Tris/HCl、0.05%的Triton X-100的缓冲液在室温下将膜封闭一小时,接着用针对磷酸化的STAT1的兔单克隆抗体(Tyr701,其在封闭缓冲液中以1:1000稀释,目录号为9167, Cell Signaling Technology公司, 丹弗斯, 马萨诸塞州, 美国)在4 $^{\circ}$ C下整夜进行孵育。在接下来的一天,用封闭缓冲液将印迹洗涤三次,接着利用抗兔IgG的辣根过氧化物酶联二级抗体(其在封闭缓冲液中以1:20,000稀释,目录号111-035-144, Jackson ImmunoResearch公司, 西格罗夫(West Grove), 宾西法利亚州, 美国)进行孵育。在三个另外的洗涤步骤之后,

加入ECL底物(目录号34087, Thermo Fisher Scientific公司, 罗克福德, 伊利诺伊州, 美国), 并且通过放射自显影术(自体放射照相术)来显现反应带(reactive band)。通过在恢复蛋白印迹剥离缓冲液(Restore Western Blot Stripping Buffer)(目录号21059, Thermo Fisher Scientific公司)中进行孵育来去除所结合的抗体, 并且使用兔多克隆抗STAT1血清来显现总的STAT1水平(其在封闭缓冲液中以1:1000进行稀释, 目录号9172, Cell Signaling Technology公司)。

[0401] 在下文中, 对利用示例性的抗IFN- α 特异性抗体5D1、19D11、25C3、26B9、31B4和13B11执行的两种磷酸STAT1测定的结果进行讨论。如在图5B和5C中可以看出的, 示例性的抗IFN- α 特异性抗体19D11、25C3、26B9、31B4和13B11的添加阻止STAT1的IFNA2、IFNA4和IFNA14依赖性磷酸化, 这表明本发明的抗体的IFN- α 中和能力。此外, 示例性的抗IFN- α 特异性抗体19D11、26B9和31B4还阻止STAT1的IFNA1、g1 IFNA5和IFNA6依赖性磷酸化, 其中抗体26B9针对IFNA5的中和能力略微降低。与其对IFNA2和IFNA4的中和能力相比, 抗体25C3关于IFNA6和IFNA14活性示出略微较弱的中和能力。本发明的示例性抗IFN- α 特异性抗体5D1的添加示出该抗体针对IFNA2和IFNA4的中和活性, 其中关于IFNA14依赖性STAT1磷酸化, 未能观察到中和或观察到非常弱的中和(图5C, 右图), 并且可以观察到IFNA6的稍微较弱的中和。

[0402] 在IFNA1b或IFNA16刺激之后, 示例性的抗体19D11、25C3、26B9、31B4和13B11已经示出了针对IFNA1b(IFNA1/13)活性的中和能力, 其中关于抗体5D1未能观察到中和(图5B)。关于IFNA16, 仅抗体19D11、5D1和13B11已经示出中和能力, 其中示例性的抗体25C3、26B9和31B4表明针对IFNA16至少严重减小或甚至缺乏的中和能力(图5C)。示例性的抗体13B11有效地中和IFNA1、IFNA2、IFNA4和g1 IFNA5, 而关于IFNA6依赖性STAT1磷酸化可以观察到非常弱的中和。如所使用的rhIFNA浓度为: 10ng/ml (IFNA1b)、2ng/ml (IFNA2、IFNA4、IFNA6、IFNA16)。g1 IFNA5上清液以其EC80稀释使用。

[0403] 虽然在该功能测定中除13B11之外的所有示例性抗体均中和IFNA21(图5D), 但是示例性的抗体25C3和13B11并不中和IFNA6(图5B)。MAB的浓度为5 μ g/ml, rhIFNAs(PBL)的浓度为2ng/ml。

[0404] 所有抗体均中和IFNA5(g1 IFNA5)(图5B)。抗体25C3和13B11不中和IFNA8(g1 IFNA8)。本发明的示例性抗IFN- α 抗体均不中和IFN- γ (IFN- γ /IFNG)(图5D)。除了在上述一般实验描述中, 在不存在抗体的情况下或者在存在如图5D所示的5 μ g/ml的人源化的示例性人MAB或人对照IgG(huIgG)的情况下, 在此293T细胞保持未被治疗(-)或者利用瞬时表达人IFN-高斯荧光素酶融合蛋白的HEK 293T细胞的上清液进行刺激(+)

[0405] 在第二轮实验中, 已经测试了另外的IFNA亚型。在图5中已经结合了这两轮实验的结果。在IFNA7、g1 IFNA8、IFNA10、IFNA14或IFNA16刺激后, 示例性的抗体19D11已经示出了针对所有测试的IFN的中和能力, 其中示例性的抗体26B9和31B4不能中和IFNA16(图5C)。示例性的抗体25C3完全中和IFNA7, 但显示出g1 IFNA8、IFNA10、IFNA14和IFNA16的较弱的中和。示例性的抗体5D1中和IFNA7、g1 IFNA8、IFNA10和IFNA16但不中和IFNA14。示例性的抗体13B11示出了对IFNA7、IFNA10、IFNA14和IFNA16的中和, 但未中和g1 IFNA8。如所使用的rhIFNA浓度为2ng/ml (IFNA7、IFNA10、IFNA14、IFNA16)。g1 IFNA8上清液以其EC80稀释使用。

[0406] 所有示例性的抗体在该功能性测定中均中和IFNA17 (图5D)。除了13B11之外的所有示例性抗体均中和IFNA21。在该功能测定中,仅两个示例性抗体(26B9和31B4)中和IFNW,然而没有示例性抗体中和IFNB或g1 IFNG。rhIFNA的浓度为2ng/ml。g1 IFNG上清液以其EC80稀释使用。

[0407] ISRE-荧光素酶报告测定

[0408] 将20000个HEK 293T或10000个HEK 293T MSR细胞种植到涂覆有聚L-赖氨酸的96孔板(BD Biocoat)(白色半区96微孔板(目录号3688,Corning公司)中-括弧中的值表示利用HEK 293T MSR细胞的第二实验选项的差异),并且利用100ng (50ng)的预混ISRE-萤火虫荧光素酶报告和海肾荧光素酶构建体(目录号CCS-008L,Qiagen公司,希尔登,德国)(参见图6中的构建体方案),根据制造商的使用说明(Promega公司,麦迪逊,威斯康辛州,美国)使用Fugene HD进行逆向转染。表达海肾荧光素酶的构建体用作内部规范化对照。在补充有0.1mM的非必需氨基酸、1mM的丙酮酸钠、10% (0.5%)的胎牛血清(美国加利福尼亚州卡尔斯巴德的Life Technologies公司)的Opti-MEM® I减少血清的培养基中,在37°C下在含5%的CO₂的潮湿气氛中整夜孵育细胞。在整夜孵育之后,利用含有具有或不具有已在37°C下预孵育一小时的抗IFNA mAb或对照IgG的rhIFNA的混合物的培养基对细胞刺激24小时。在刺激24小时之后,根据制造商(Promega)的使用说明来执行双荧光素酶测定。

[0409] 如在图7中可以看出的,示例性的抗IFN- α 特异性抗体19D11、25C3、26B9、31B4(图7A和7B)和13B11(图7C和7D)的添加阻止IFNA2、IFNA4和IFNA14依赖性ISRE荧光素酶报告激活,这表明本发明的抗体的IFN- α 中和能力。本发明的示例性抗IFN- α 特异性抗体5D1的添加示出该抗体针对IFNA2和IFNA4的中和活性,其中关于IFNA14依赖性ISRE荧光素酶激活未观察到中和或可以观察到非常弱的中和(图7C和7D)。如已经在磷酸STAT1测定中看出的,与其针对IFNA2和IFNA4的中和能力相比,抗体25C3示出关于IFNA14活性略微较弱的中和能力。类似地,示例性的抗IFN- α 特异性抗体13B11已经示出针对IFNA14略微较弱的中和能力(图7C和7D)。示例性的抗体8H1中和IFNW以及IFNA1、A4、A5、A6、A7、A10、A16、A17和A21,然而示出对IFNA2、A8和A14较弱的中和(图7E)。示例性的抗体12H5通过所有 α 干扰素即IFNA1、A2、A4、A5、A6、A7、A8、A10、A14、A16、A17和A21强劲地抑制ISRE荧光素酶报告诱导,然而几乎不影响IFNW介导的报告诱导。无论是示例性的抗体8H1还是12H5均不干扰IFNB介导的报告诱导(图7E)。

[0410] 如图8所示,示例性的抗体26B9有效地中和rhIFNA1、A2、A4、A5、A6、A8、A10、A14、A17、A21和rhIFNW,然而较弱地中和rhIFNA16。rhIFN的浓度为10ng/ml (IFNA1)、1.3ng/ml (IFNA16)和2ng/ml (所有其他rhIFN)。如在ISRE荧光素酶报告测定中确定的IC₅₀值的总结在表4中示出。

[0411] 如可以在图9中看出的,示例性的抗体19D11中和所有的rhIFNA分子,即,IFNA1、A2、A4、A5、A6、A7、A8、A10、A14、A16、A17和A21。rhIFN的浓度为10ng/ml (IFNA1)、1.3ng/ml (IFNA16)和2ng/ml (所有其他rhIFNs)。如在ISRE荧光素酶报告测定中确定的IC₅₀值的总结在表4中示出。

[0412] 化学发光细胞结合测定

[0413] 将30000个HEK 293T MSR细胞种植到白色半区96孔组织培养板(目录号3688,Corning公司)中。第二天,瞬时表达人IFN-高斯荧光素酶融合蛋白的HEK 293T细胞的上清

液与抗IFN mAb、对照IgG或过量浓度的未标记重组IFNA2混合,并在37°C下预孵育一小时。在预孵育之后,混合物用于在37°C下刺激HEK 293T MSR细胞40分钟。一经结合,用PBS将细胞洗涤三次,并且根据制造商的使用说明(目录号16159,Thermo Fisher Scientific公司),使用高斯闪光测定试剂盒开发高斯荧光素酶测定。

[0414] 如图10C中所示,示例性的抗体19D11有效地中和g1 IFNA2、A4、A5、A6、A7、A8、A10、A14、A16、A17和A21与内源性表达IFN受体的HEK 293T MSR细胞的结合。相反,示例性的抗体19D11几乎不干预g1 IFNB和g1 IFNW的结合。本文中示出的所有g1 IFN的结合显然不受对照人抗体(huIgG)的影响。抗体的浓度:5 μ g/ml。

[0415] 如在图10D中可以看出的,与示例性抗体26B9相比,通过示例性的抗体19D11能更有效地中和g1 IFNA16与HEK 293T MSR细胞的结合。然而,示例性的抗体26B9强劲地中和g1 IFNW与HEK 293T MSR细胞的结合,而示例性的抗体19D11未示出针对该配体的明显中和能力。g1 IFNA16和g1 IFNW二者的结合均保持未受对照人抗体(huIgG)影响。抗体的浓度:10 μ g/ml。

[0416] 实施例4:受试者抗体的验证

[0417] 在动物疾病模型中关于本发明提供的抗体针对人IFN- α 的中和活性对上述抗体进行了测试。当进行这样的实验时,必须确保人IFN- α 亚型在小鼠中诱导病变表型,并且确保在本发明的所测试IFN- α 抗体与小鼠IFN- α 同源物之间不发生交叉反应。由于在现有技术中不能获得用于IFN- α 的适当模型系统,所以本实施例描述并提供了这样的一种系统以用于测试不与小鼠IFN交叉反应的IFN- α 中和抗体。首先,针对诱导耳肿胀,体内测试了不同IFN- α 的效果。特别是,已经测试了人亚型IFNA2a、IFNA2b、IFNA4和IFNA14的促炎活性。IFNA2a与IFNA2b的不同之处在于氨基酸23(在IFNA2a中为Lys,而在IFNA2b中为Arg)。

[0418] 耳朵炎症测定

[0419] 通过在第0天、第2天和第4天隔天地使用30规格针将在20 μ l的PBS或PBS对照中的人IFNA2a、IFNA2b、IFNA4和IFNA14皮内注射到给定的每只耳朵(20 μ l/耳朵、500ng/耳朵、总共1 μ g/小鼠/天),在8周龄C57BL/6J(WT;来自Charles River)小鼠中诱导耳肿胀表型。小鼠在第6天处死;关于实验时间轴,参见下表5和图14A。

[0420]

| 组 | n | 细胞因子 | ng/20 μ l |
|---|---|--------|---------------|
| A | 5 | PBS | Na |
| B | 5 | IFNA2a | 500 |
| C | 5 | IFNA2b | 500 |
| D | 5 | IFNA4 | 500 |
| E | 5 | IFNA14 | 500 |

[0421] 表5:动物至所测试的不同细胞因子的组分配。n-组中动物的数量,ng/20 μ l-每只耳朵注射的细胞因子的量。

[0422] 为了测试所注射的IFNA亚型的促炎效果,在细胞因子施用期间,在第0天的细胞因子注射之前以及在第1天、第3天、第5天隔天地(图14A中用字母M表示)以及可替换地或另外地在第6天动物处死之后,利用Mitutoyo数字测微计通过对每只耳朵进行两次测量来获取动物的耳朵厚度测量值。

[0423] 此外,在治疗期间监测体重,以观察由于炎症诱导引起的任何可能的体重变化或

者由于所施加的治疗引起的体重的相应降低。另外,在处死动物之后,进行耳朵的H&E(苏木素和伊红(hematoxylin and eosin);参见Harris,H.F.,J.Appl.Microscopy III(1900),777-781和Mallory,F.B.:Pathological technique.Philadelphia,Saunders,1938)组织学染色。

[0424] 在细胞因子注射之后,所测试的所有四种人IFNA亚型均能够显著诱发耳肿胀;参见图14至图16以及图17的表中总结的实验结果。所有的耳朵均明显厚于经PBS治疗的耳朵,这在第二次皮内注射后从第3天直到实验结束为止在所有组中均是显著的。在该实验中,IFNA14是最有效力的,特别是在第5天。IFNA2a和IFNA4诱导出相似水平的耳增厚。IFNa2b与IFNA4和IFNA14诱导的肿胀最相似。在该实验中,IFNa2b诱导的肿胀超过IFNA2a同种型;参见图14至图16以及图17的表中的实验结果总结。

[0425] 该实验的结果表明耳朵炎症测定对于本发明的抗体的治疗实用性的测试的适用性。由于本发明的示例性抗IFN- α 抗体19D11、26B9、31B4、5D1和3B11未表现出与至少小鼠IFN- α 亚型2、4和14的任何明显交叉反应(参见图19A),所以在上面示出的测定中关于所述抗体针对用于诱导炎症的人IFN- α 的中和特性对所述抗体进行测试。当设计本文中所述的体内CytoEar中和实验时,考虑到示例性抗IFN- α 抗体25C3针对小鼠INFA2的明显结合亲和力以及示例性抗IFN- α 抗体5D1和19D11针对小鼠IFNA1的亲和力。

[0426] 利用本发明的示例性抗IFN- α 抗体,通过在上述所设计的实验时间轴期间(也参见图14A)在不同的时间点处注射抗体来执行这样的治疗测试,以用于测试人IFN- α 的炎症诱导。例如,为了测试预防和/或治疗效果,在实验的第0天将本发明的示例性抗体中的一种或多种一起或单独地注射至一种或多种IFNA亚型。另外地或者可替换地,隔天地将本发明的抗体或其IFN- α 结合片段中的一种或多种与一种或多种IFNA亚型一起注射。例如,如果一种或多种IFNA亚型如上所述在第0天、第2天和第4天注射(图14A中的短箭头),则第1天、第3天和/或第5天隔天注射所述抗体(图14A中的长箭头)。

[0427] 通过对在获得抗IFN- α 抗体治疗的动物中与在下述对照组中所观察的耳肿胀(厚度)进行对比,检查本发明的抗体或其IFN- α 结合片段用以降低所诱导的耳肿胀表型和/或用以防止这样的诱发的中和潜能,上述对照组获得PBS或具有针对不同于人IFNA亚型的其他分子的结合特异性的(IFN- α 非相关结合特异性的)人IgG。

[0428] 此外,或者可替换地,在治疗期间监测体重,以观察由于炎症诱导引起的任何可能的体重变化或由于所施加的治疗引起的体重的相应降低。另外,在动物处死之后,进行耳朵的H&E(苏木素和伊红;见上文)组织染色。该测定优选地被用于作用于牛皮癣的替代模型。

[0429] 在第二轮实验中,在进行一些改进的情况下使用上述测定,以通过注射人IFNA14(图28)、IFNA5(图29)和IFNW(图30)来测试本发明的示例性抗体26B9和19D11针对在小鼠耳朵中诱导的炎症的中和特性。如从图28A、图29A和图30A中所示的时间方案可以看出,实验时间轴在此延长到10天,其中在实验第0天(IP)注射所测试的抗体和对照,在第1天、第3天、第6天和第8天皮内注入细胞因子,并且所测试的动物在第10天处死。在各幅图的图B的表中示出了动物至不同的所测试细胞因子的组分配以及细胞因子和所测试的各抗体的相应浓度和量。抗体26B9和19D11二者均示出显著的预防和/或治疗潜能,这是由于与IgG对照相比,在IFNA14(图28D和28E)和IFNA5(图29D和29E)诱导耳部炎症之后的若干实验天数内耳厚度明显减小。利用参考IFN- α 特异性抗体(图28和图29,特别是图28F和29F中的Ref.A)进

行的治疗也在IFNA14治疗之后的若干实验天数内引起耳肿胀的明显减小,然而,与本发明的抗体26B9和19D11相比在第10天具有稍微降低的减小(将图28D中针对26B9的曲线F和图28E中针对19D11的曲线G与图28F中针对Ref.A的曲线H和每个图中针对IgG对照的曲线E进行对比)。此外,示例性抗体26B9在实验第9天示出显著降低的IFNW诱导耳肿胀(图30D),其中,与非特异性IgG治疗相比,抗体19D11和Ref.A的注射并未示出耳肿胀的任何显著降低。因此,利用本发明提供的抗体具有较高的潜力以用于预防和/或治疗与升高的IFNA和/或IFNW活性相关联的疾病。

[0430] 踝关节细胞因子 (CytoAnkle) 测定

[0431] 在该测定中,每48-72小时将在10u1的PBS(或PBS对照)中的62.5-1000ng细胞因子(例如至少一种IFNA亚型(诸如IFNA2a、IFNA2b、IFNA4或IFNA14)或若干种IFNA亚型的混合物)关节内(IA)注射到小鼠同生群(c57/b16,7-8周)的踝关节中。然后利用Mitutoyo数字测微计进行轴向踝关节厚度测量。每天对动物进行称重,并且在用异氟醚(isofluorane)对小鼠进行麻醉时施用相应的一种或多种IFNA亚型。如上面针对耳朵炎症测定的那样设计实验时间架构(time frame),其中如上所述的那样注射本发明的一种或多种抗IFN- α 抗体、各个对照组获得具有IFN- α 非相关结合特异性的PBS或人IgG。踝关节肿胀的降低被用作本发明的抗体的治疗效果的读出(读数,readout)。该测定优选地被用于作用于关节炎例如类风湿性关节炎的代理(surrogate)模型。

[0432] 实施例5:示例性IFN- α 抗体的表位图

[0433] 作为绘图的第一步,检查本发明的抗IFN- α MAB与不同抗原结合位点的不同结合,以确定不同结合位点的数目。

[0434] 为此,用人(hMAB)或小鼠(hmMAB)Fc表达MAB,并且通过在板上涂覆抗原且通过在存在大量过剩的人MAB的情况下检测hmMAB的结合来进行交叉竞争实验。通过针对一级抗体的Fc部分的HRP耦联的二级抗体来执行对结合至配体的hmMAB的检测。

[0435] 如从图2A和下表6A可以看出,本发明的示例性抗IFN- α 抗体19D11、26B9、31B4和13B11相互竞争与IFNA2的结合,但不与抗体5D1和25C3竞争,这表明5D1和25C3结合除19D11、26B9、31B4和13B11之外的IFNA2的一个或多个其他位点。关于IFNA4和IFNA14,可以看见相同的竞争模式,然而不同之处在于13B1并不竞争与IFNA4的结合而仅较弱地与19D11、26B9、31B竞争与IFNA14的结合,这表明抗体所结合的表位在该IFN- α 亚型中可能是不保守的并且特别是在IFNA4中是有分歧的(发散的)。第一种方法的结果还指出本发明的抗IFN- α 抗体5D1和25C3较弱地相互竞争与IFNA2和IFNA4的结合,这表明这些抗体的可能部分重叠的表位;参见图2A、图2B和表5A、图5B。此外,可以观察到关于IFNA14的分歧(发散性)竞争模式,其中hMAB 25C3示出与hmMAB 5D1较强的竞争,但是在相反的情形(hMAB 5D1对hmMAB 25C3)下可以观察到仅较弱的竞争,这表明25C3抗体针对IFNA14-特异性表位的可能偏好;参见图2C和下面的表6C。

[0436] 表6:本发明的示例性抗体的交叉竞争实验的结果。在添加具有小鼠Fc的MAB(hmMAB)之前,将人MAB(hMAB)以较大的过量添加至涂覆有相应抗原的板。

| A 人 IFNA2 | | 人 MAB 竞争者 | | | | | |
|---------------|-------|-----------|-------|-------|-------|---------|---------|
| | | 19D11 | 25C3 | 26B9 | 31B4 | 5D1 | 13B11 |
| 竞争与 hmMAB 的结合 | 19D11 | +++++ | - | +++++ | +++++ | - | ++++ |
| | 25C3 | - | +++++ | - | - | + | - |
| | 31B4 | +++++ | - | +++++ | +++++ | (+) | ++++ |
| | 5D1 | - | (+) | - | - | +++ (+) | - |
| | 13B11 | - | - | - | - | - | +++ (+) |

[0437]

| B 人 IFNA4 | | 人 MAB 竞争者 | | | | | |
|---------------|-------|-----------|------|-------|---------|---------|-------|
| | | 19D11 | 25C3 | 26B9 | 31B4 | 5D1 | 13B11 |
| 竞争与 hmMAB 的结合 | 19D11 | +++++ | - | ++++ | +++ (+) | - | - |
| | 25C3 | - | ++++ | - | - | (+) | - |
| | 31B4 | +++++ | - | +++++ | +++++ | - | +++ |
| | 5D1 | - | (+) | - | - | +++ (+) | - |
| | 13B11 | - | - | - | - | - | + (+) |

[0438]

| C 人 IFNA14 | | 人 MAB 竞争者 | | | | | |
|---------------|-------|-----------|-------|---------|---------|-------|--------|
| | | 19D11 | 25C3 | 26B9 | 31B4 | 5D1 | 13B11 |
| 竞争与 hmMAB 的结合 | 19D11 | +++++ | - | ++++ | +++ (+) | - | ++ |
| | 25C3 | (+) | +++++ | (+) | - | +++ | (+) |
| | 31B4 | +++++ | - | +++++ | +++++ | ++ | ++ (+) |
| | 5D1 | +++++ | +++++ | +++++ | +++++ | +++++ | (+) |
| | 13B11 | +++ (+) | - | +++ (+) | +++ | - | ++++ |

[0439] 可以通过例如PepStar™分析来绘制MAB与它们相应抗原的结合区。因此,设计了重叠20mer肽(15个氨基酸重叠)以覆盖感兴趣IFNA- α 亚型,例如IFNA2、IFNA4和IFNA14,其包括所有已知的变体。将肽和全长抗原(作为阳性对照)点在微阵列上,并且利用一级抗体孵育肽微阵列,接着荧光标记针对一级抗体的Fc部分的二级抗体。为了避免由于位阻引起的假阴性,在玻璃表面和抗原衍生的肽序列之间插入优化的亲水性接头部分。

[0440] 针对本发明的示例性抗体19D11和26B9、对人IFNA2的18mer肽的肽阵列以及相应地对人IFNA4的18mer肽的肽阵列执行了这样的肽绘图。在图27中示出了测定的结果。示例性抗体19D11特异性结合至IFNA2的肽19(SAAWDETLLDKFYTELYQ SEQ ID NO:99)和肽32(RITLYLKEKKYSPCAWEV SEQ ID NO:100)(图27B)。抗体26B9特异性结合至IFNA2的肽22(YTELYQQQLNDLEACVIQG SEQ ID NO:101)(图27C)和IFNA4的肽23(TGLHQQLQHLETCLLQVV SEQ ID NO:102)(图27D)。

[0441] 实施例6:通过LIPS测定来确定结合至IFNA亚型的MAB

[0442] 除了ELISA测定之外,通过LIPS测定来确定MAB与不同IFNA亚型的结合。如在申请人的国际申请W02013/098419第158页的实施例10和第165-167页的实施例15中所描述的,通过克隆各自均在N端与高斯荧光素酶融合的IFNA5、IFNA6和IFNA8并且通过HEK293细胞的瞬时转染单独表达它们(在2天之后收获上清液),使用下面的表8中示出的引物来生产

IFNA5-高斯融合蛋白、IFNA6-高斯融合蛋白和IFNA8-高斯融合蛋白,将该国际申请的公开内容通过引用并入到本文中。在缓冲液A(50mM Tris、pH为7.5、100mM NaCl、5mM MgCl₂、1%的Triton X-100)中稀释MAB(4μg/ml),并且使其在旋转摇荡器上的MultiScreen HTS过滤板(Millipore)的孔中、利用相同的蛋白A琼脂糖珠(Exalpha)孵育一小时。添加两体积的IFNA5-高斯融合蛋白、IFNA6-高斯融合蛋白或IFNA8-高斯融合蛋白(1百万LU),并且孵育板1小时。在添加底物(高斯荧光素酶闪光测定盒(Gaussia Luciferase Flash Assay Kit),Pierce公司)之前,用缓冲液A洗涤板五次,然后用PBS另外洗涤板两次。使用EnSprire(Perkin Elmer)读取荧光(CPS)(参见图11B,图12A-12C和图13)。与非相关抗原人MAB结合的人抗体已经被用作阴性对照。

[0443] 如从图11和图12中所示出的结果可以看出,示例性的MAB 13B11结合至IFNA2、IFNA 4、IFNA 5、IFNA 6、IFNA 10和IFNA 14,但是不结合或较弱地结合至IFNA1/13,并且不结合至IFNA8。此外,本文中例如在实施例2和实施例3中描述的实验中所提供的结果表明示例性的MAB 13B1中和:IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA14,但不中和IFNA6、IFNA8和IFNA21。在下面的表7中总结了如由实施例2、3以及6中描述的实验所提供的关于本发明的示例性抗体的结合以及中和特性的所有结果。

[0444]

| 抗原 | 19D11 | | 25C3 | | 26B9 | | 31B4 | | 5D1 | | 13B11 | |
|--------|-------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|-----|-----|-------|-----|
| | B | N | B | N | B | N | B | N | B | N | B | N |
| IFNA1 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | - | - | +++ | +++ |
| IFNA2 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| IFNA4 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| IFNA5 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| IFNA6 | +++ | +++ | +++ | + | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ | + |
| IFNA7 | nd | +++ | nd | +++ | nd | +++ | nd | +++ | nd | +++ | nd | +++ |
| IFNA8 | +++ | +++ | +++ | + | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | - | - |
| IFNA10 | +++ | +++ | +++ | + | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| IFNA14 | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | - | +++ | +++ |
| IFNA16 | +++ | +++ | +++ | + | +++ | - | +++ | - | +++ | +++ | +++ | +++ |
| IFNA17 | nd | +++ | nd | +++ | nd | +++ | nd | +++ | nd | +++ | nd | +++ |
| IFNA21 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | + |
| IFNW | - | - | nd | - | +++ | +++ | nd | +++ | nd | - | nd | - |

[0445] 表7:通过如在本文中描述的ELISA、LIPS或中和测定中获得的本发明的示例性抗体进行的不同IFNA亚型的结合(B)和中和(N)。本发明的示例性人抗IFN-α抗体19D11中和所有的IFNA亚型但不中和IFNW。示例性的抗体26B9中和IFNW和除IFNA16之外的所有IFNA亚型。+/++/+++ = 结合,相应地为中和;- = 缺乏结合/中和.nd = 未确定,B = 结合,其是通过利

用商业重组蛋白的ELISA、或通过利用自产的IFN-高斯荧光素酶融合蛋白的LIPS确定的；N=中和,其是通过ISRE荧光素酶报告测定或通过磷酸STAT1测定确定的。

[0446] 先前在ELISA、LIPS和中和测定中关于本发明的示例性抗体对不同IFNA亚型的结合和中和的试验给出了相似的结果。

[0447]

| 基因 | AA | 引物名称 | 序列和 SEQ ID NO: |
|--------|------------|---------|----------------------------------------------------------------------------|
| IFNA1 | 24-1 89 | IFNA1F | TTTGGATCCTATGTGATCTCCCTGAGACCCACAGCCTGGA SEQ ID NO:45 |
| | | IFNA1R | TTTGCGGCCGCGACCAGATGTTATTCCTTCCTCCTTAATCTTT C SEQ ID NO:46 |
| IFNA2 | 24-1 88 | IFNA2F | TTTGGGATCCTCTGTGATCTGCCTCAAACCCACA SEQ ID NO:47 |
| | | IFNA2R | TTTGCGGCCGCTTACTTCTTAAACTTTCTTGCA SEQ ID NO:48 |
| IFNA4 | 24-1 89 | IFNA4F | TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGG SEQ ID NO:49 |
| | | IFNA4R | TTTGCGGCCGCTCAATCCTTCCTCCTTAATCTTTTTTGCAAGT TTGTTGAAAAC SEQ ID NO:50 |
| IFNA5 | 22-1 89 | IFNA5F | TTTGGATCCTACTGGGCTGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCC TGAG SEQ ID NO:51 |
| | | IFNA5R | TTTGCGGCCGCTCATTCCTTCCTCCTTAATCTTCTTGCAAGT TTGC SEQ ID NO:52 |
| IFNA6 | 21-1 89 | IFNA6F | TTTGGATCCTATCTCTGGACTGTGATCTGCCTCAGACCCACA GCCTGGGTC SEQ ID NO:53 |
| | | IFNA6R | TTTGCGGCCGCTTATTCCTTCCTCCTTAACCTTTCTTGCAAGT TTC SEQ ID NO:54 |
| IFNA7 | 24-1 89 | IFNA7F | TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGC SEQ ID NO:55 |
| | | IFNA7R | TTTGCGGCCGCGAACCAGTTTTCAATCCTTCCTCCTTAATCC TTTTTT SEQ ID NO:56 |
| IFNA8 | 23-1 89 | IFNA8F | TTTGGGATCCTCTGTGATCTGCCTCAGACTCACA SEQ ID NO:57 |
| | | IFNA8R | TTTGCGGCCGCTCATTCCTTACTCTTCAATCTT SEQ ID NO:58 |
| IFNA10 | 24-1 89 | IFNA17F | TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGGG SEQ ID NO:59 |
| | | IFNA4R | TTTGCGGCCGCTCAATCCTTCCTCCTTAATCTTTTTTGCAAGT TTGTTGAAAAC SEQ ID NO:50 |
| IFNA14 | 24-1 89 | IFNA14F | TTTGGATCCTATGTAATCTGTCTCAAACCCACAGCCTGAA SEQ ID NO:60 |
| | | IFNA14R | TTTGCGGCCGCTCAATCCTTCCTCCTTAATCTTTTTTGCAAGT TTGT SEQ ID NO:61 |
| IFNA16 | 24-1 89 | IFNA16F | TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACT SEQ ID NO:62 |
| | | IFNA16R | TTTGCGGCCGCTCAATCCTTCCTTCTTAATCC SEQ ID NO:63 |
| IFNA17 | 24-1 89 | IFNA17F | TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGGG SEQ ID NO:59 |
| | | IFNA17R | TTTGCGGCCGCGTTGAACCAGTTTTCAATCCTTCCTCCTTAA TA SEQ ID NO:64 |
| IFNA21 | 24-1 89 | IFNA21F | TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCT SEQ ID NO:65 |
| | | IFNA21R | TTTGCGGCCGCTCATTCCTTCCTCCTTAATCTTCTTGAAAAA SEQ ID NO:66 |

| | | | | |
|--------|------|------------|--------|-----------------------------------------------------------|
| [0448] | IFNB | 22-1 87 | IFNB1F | TTTGGATCCTAATGAGCTACAACCTTGCTTGGATTCTAC SEQ ID NO:67 |
| | | | IFNB1R | TTTGCGGCCGCTCAGTTTCGGAGGTAACCTGTAAGTCT SEQ ID NO:68 |
| | IFNG | 24-1 66 | IFNGF | TTTGGATCCTACAGGACCCATATGTAAAAGAAGCAGAAAAC SEQ ID NO:69 |
| | | | IFNGR | TTTGCGGCCGCCATTACTGGGATGCTCTTCGACCT SEQ ID NO:70 |

[0449] 表8:用于克隆高斯荧光素酶IFN融合构建体的所有IFN蛋白和所使用的引物序列的概述。

[0450] 克隆融合至高斯荧光素酶的人IFN亚型

[0451] 将不具有信号肽的IFNA1、IFNA6、IFNA7、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16、IFNA17、IFNA21、IFNW、IFNB、IFNG、IFNE和IFNK的编码序列克隆到天然分泌的高斯荧光素酶(Gluc)下游的经修饰的pPK-CMV-F4融合载体(德国海德堡PromoCell GmbH公司)中,该载体被替换成质粒而非萤火虫荧光素酶。

[0452] 实施例7:通过ISRE荧光素酶报告中和测定进行的示例性人源化IFNA mAb的IC50分析

[0453] 在存在如所说明的人源化IFNA mAb 26B9(图8A-8E)、25C3(图9A-9E)或19D11(图10A-10E)的情况下,利用2ng/ml的rhIFNA2、rhIFNA4、rhIFNA14或利用瞬时表达人IFN-高斯荧光素酶融合蛋白(IFNA5、IFNA8)的HEK 293T细胞的上清液来刺激瞬时表达ISRE-萤火虫荧光素酶报告和海肾荧光素酶构建体(目录号CCS-008L, Quiagen公司, 希尔登, 德国)的HEK 293T MSR细胞(产品目录号R79507, Invitrogen公司, 卡尔斯巴德, 加利福尼亚州, 美国)。在刺激24小时之后,根据制造商的使用说明(Promega公司, 麦迪逊, 威斯康星州, 美国)进行双荧光素酶报告测定。

[0454] 在证实性实验回合中,在存在如所说明的人源化IFNA mAb 26B9(图8F-8R)或19D11(图10F-10Q)的情况下,利用10ng/ml rhIFNA1、2ng/ml rhIFNA2、rhIFNA4、rhIFNA5、rhIFNA6、rhIFNA8、rhIFNA10、hIFNA14、rhIFNA17、rhIFNA21、1.3ng/ml rhIFNA16来刺激如上所述的瞬时表达ISRE-萤火虫荧光素酶报告和海肾荧光素酶构建体的HEK 293T MSR细胞。在刺激24小时之后,根据制造商的使用说明(Promega公司, 麦迪逊, 威斯康星州, 美国)进行双荧光素酶报告测定。已经进一步使用相同的实验设置来执行人源化mAb 8H1(图20)、12H5(图21)和50E11(图22)的IC50分析。在上面的表4中总结了测定的结果。

[0455] 实施例8:使用表面等离子体共振(SPR)技术的抗体亲和力测量

[0456] 对于本发明的抗体的亲和力确定,使用ProteinTMXPR36仪器、根据制造商的使用说明(美国加利福尼亚州赫拉克勒斯BIO-RAD公司)、以如国际申请W02013/098419第163-165页的实施例14中描述的类似实验设置使用本发明的感兴趣分子来执行SPR测量,将该国际申请的公开内容通过引用并入到本文中。可替换地或另外地,根据制造商的使用说明使用Biacore的SPR仪器进行相似的分析。

[0457] 在图26中示出了对本发明的示例性抗体19D11和26B9进行的SPR测量的结果,其中对于针对IFNA2b、IFNA4、IFNA14的抗体,并且关于还针对IFNW的抗体26B9,观察到1:1的结合动力学。针对人IFNA4和IFNA14的亲和力在亚皮摩尔的范围内,而对IFNA2b的亲和力在亚纳摩尔的范围内。26B9还以亚皮摩尔的亲和力结合人IFNW。

[0458] 实施例9:化学发光细胞结合测定

[0459] 干扰素高斯荧光素酶

[0460] 将30000个HEK 293T MSR细胞种植到白色半区96孔组织培养板(目录号3688, Corning公司)中。第二天,使瞬时表达人IFN-高斯荧光素酶融合蛋白的HEK 293T细胞的上清液与抗IFNmAb、对照IgG或过量浓度的未标记重组IFNA2混合,并在37°C下预孵育一小时。在预孵育后,混合物用于在37°C下刺激HEK 293T MSR细胞40分钟。一经结合,使用PBS洗涤细胞三次,并且根据制造商的使用说明(目录号16159, Thermo Fisher Scientific公司)、使用高斯闪光测定试剂盒进行高斯荧光素酶测定。

[0461] 结合至跨膜抗体

[0462] 将30000个HEK 293T MSR细胞种植到白色半区96孔组织培养板(目录号3688, Corning公司)中。在种植期间,使用Fugene HD(目录号E2311, 美国威斯康辛州麦迪逊 Promega公司)用对抗IFN mAb 26B9的跨膜版本(26B9-TM)编码的100ng的cDNA使细胞转染。以基于细胞的ELISA,在转染后48小时分析表面抗体(26B9-TM)表达(图24A)。在转染后的48小时,将瞬时表达人IFNW-高斯荧光素酶融合蛋白(G1 IFNW)的HEK 293T细胞的上清液用于在37°C下刺激先前转染的HEK 293T MSR细胞40分钟。可替换地,将g1 IFNW上清液与抗IFN mAb或对照IgG混合,并在37°C下预孵育一小时。在预孵育后,将混合物用于在37°C下刺激瞬时表达26B9-TM的HEK 293T MSR细胞40分钟。一经结合,用PBS洗涤细胞三次,并且根据制造商的使用说明(目录号16159, Thermo Fisher Scientific公司)、使用高斯闪光测定试剂盒进行高斯荧光素酶测定,其表明g1 IFNW特异性结合至表达26B9-TM的细胞(图24B)。

[0463] 抗IFNW抗体的交叉竞争测定。

[0464] 上述实验设置还已经被用于测试本发明的示例性抗体26B9、31B4和8H1之间的交叉竞争(参见图25)。利用对26B9-TM编码的cDNA反向转染HEK293T MSR细胞。在转染后48小时,g1 IFNW与可溶性抗IFNW抗体26B9、31B4、8H或对照IgG(huIgG)混合并预孵育一小时。在孵育后,将混合物添加至转染的细胞中,并以化学发光细胞结合测定分析结合。g1 IFNW与26B9-TM的结合与可溶性26B9和克隆相关的31B4抗体剂量依赖性地竞争。相反地,结合不受对照IgG或示例性抗IFNW抗体8H1影响。这些结果表明,示例性的抗体26B9和31B4共享相似的表位,而8H1似乎结合至不同的表位。

[0001] 序列表
[0002] <110> 因美诺克股份公司 (ImmunoQure AG)
[0003] <120> 人抗IFN- α 抗体、IFN- α 结合片段、多核苷酸、组合物、试剂盒及应用和制备方法
[0004] <130> PPQ20033885DE
[0005] <150> EP13174995.4
[0006] <151> 2013-07-03
[0007] <160> 102
[0008] <170> PatentIn version 3.5
[0009] <210> 1
[0010] <211> 366
[0011] <212> DNA
[0012] <213> 智人
[0013] <220>
[0014] <221> CDS
[0015] <222> (1) .. (366)
[0016] <223> 5D1-VH可变重链 (VH) 序列; 5D1: IgG1, κ
[0017] <220>
[0018] <221> V_region
[0019] <222> (91) .. (105)
[0020] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR1
[0021] <220>
[0022] <221> V_region
[0023] <222> (148) .. (198)
[0024] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR2
[0025] <220>
[0026] <221> V_region
[0027] <222> (295) .. (333)
[0028] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR3
[0029] <400> 1
[0030] gaa gtg caa ctg gtg cag gcc ggc gca gag gtg aaa gcg ccc ggg gag 48
[0031] Glu Val Gln Leu Val Gln Ala Gly Ala Glu Val Lys Ala Pro Gly Glu
[0032] 1 5 10 15
[0033] tct ctg agg atc tcc tgt aag gtg tct gga tac acc ttt aca agt tat 96
[0034] Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[0035] 20 25 30
[0036] tgg atc agt tgg gtg cgc cag att ccc ggg aaa ggc ctg gag tgg atg 144
[0037] Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ile Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

| | | | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|----|
| [0038] | 35 | 40 | 45 | |
| [0039] | gtg aaa att gat cct aga gac tct tat acc atc tac aac ccg tcc ttc | 192 | | |
| [0040] | Val Lys Ile Asp Pro Arg Asp Ser Tyr Thr Ile Tyr Asn Pro Ser Phe | | | |
| [0041] | 50 | 55 | 60 | |
| [0042] | caa ggc cac gtc tcc atc tca gtt gac aag tcc atc acc act gtc tac | 240 | | |
| [0043] | Gln Gly His Val Ser Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Thr Thr Val Tyr | | | |
| [0044] | 65 | 70 | 75 | 80 |
| [0045] | ctg cag tgg agc agc ctg cag gcc tcg gac acc gcc att tat tat tgt | 288 | | |
| [0046] | Leu Gln Trp Ser Ser Leu Gln Ala Ser Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys | | | |
| [0047] | 85 | 90 | 95 | |
| [0048] | gtg aga cat tat ctt aca cag tca ttg gtg gac tac ttt gac cac tgg | 336 | | |
| [0049] | Val Arg His Tyr Leu Thr Gln Ser Leu Val Asp Tyr Phe Asp His Trp | | | |
| [0050] | 100 | 105 | 110 | |
| [0051] | ggc cag gga acg ctg gtc gcc gtc tcc tct | 366 | | |
| [0052] | Gly Gln Gly Thr Leu Val Ala Val Ser Ser | | | |
| [0053] | 115 | 120 | | |
| [0054] | <210> 2 | | | |
| [0055] | <211> 122 | | | |
| [0056] | <212> PRT | | | |
| [0057] | <213> 智人 | | | |
| [0058] | <400> 2 | | | |
| [0059] | Glu Val Gln Leu Val Gln Ala Gly Ala Glu Val Lys Ala Pro Gly Glu | | | |
| [0060] | 1 | 5 | 10 | 15 |
| [0061] | Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr | | | |
| [0062] | 20 | 25 | 30 | |
| [0063] | Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ile Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met | | | |
| [0064] | 35 | 40 | 45 | |
| [0065] | Val Lys Ile Asp Pro Arg Asp Ser Tyr Thr Ile Tyr Asn Pro Ser Phe | | | |
| [0066] | 50 | 55 | 60 | |
| [0067] | Gln Gly His Val Ser Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Thr Thr Val Tyr | | | |
| [0068] | 65 | 70 | 75 | 80 |
| [0069] | Leu Gln Trp Ser Ser Leu Gln Ala Ser Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys | | | |
| [0070] | 85 | 90 | 95 | |
| [0071] | Val Arg His Tyr Leu Thr Gln Ser Leu Val Asp Tyr Phe Asp His Trp | | | |
| [0072] | 100 | 105 | 110 | |
| [0073] | Gly Gln Gly Thr Leu Val Ala Val Ser Ser | | | |
| [0074] | 115 | 120 | | |
| [0075] | <210> 3 | | | |
| [0076] | <211> 321 | | | |

[0077] <212> DNA
 [0078] <213> 智人
 [0079] <220>
 [0080] <221> CDS
 [0081] <222> (1) .. (321)
 [0082] <223> 5D1-VL可变轻链(VL)序列, κ型
 [0083] <220>
 [0084] <221> V_区
 [0085] <222> (70) .. (102)
 [0086] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR1
 [0087] <220>
 [0088] <221> V_区
 [0089] <222> (148) .. (168)
 [0090] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR2
 [0091] <220>
 [0092] <221> V_区
 [0093] <222> (265) .. (291)
 [0094] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR3
 [0095] <400> 3
 [0096] gac att cag atg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct gtg gga 48
 [0097] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 [0098] 1 5 10 15
 [0099] gac agt gtc acc atc act tgc cgg gca agt cag agc gta tcc aac tac 96
 [0100] Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Tyr
 [0101] 20 25 30
 [0102] ttc cat tgg tat cga cag aag ccc ggg aaa gcc cct gaa ctc ctg atc 144
 [0103] Phe His Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu Ile
 [0104] 35 40 45
 [0105] tat tct gca tcc aat ttg caa act ggg gtc cca tca aga ttc act ggc 192
 [0106] Tyr Ser Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Thr Gly
 [0107] 50 55 60
 [0108] agt ggg tct ggg aca gaa tgc act ctc acc atc acc agt ctg cag cct 240
 [0109] Ser Gly Ser Gly Thr Glu Cys Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
 [0110] 65 70 75 80
 [0111] gat gat ttc gca act tac tac tgt caa cag act cac ggt tac ccg ttc 288
 [0112] Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr His Gly Tyr Pro Phe
 [0113] 85 90 95
 [0114] act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gac gtc aga 321
 [0115] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Val Arg

| | | | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|------------------|-----|-----|
| [0116] | | 100 | | 105 |
| [0117] | <210> | 4 | | |
| [0118] | <211> | 107 | | |
| [0119] | <212> | PRT | | |
| [0120] | <213> | 智人 | | |
| [0121] | <400> | 4 | | |
| [0122] | Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly | | | |
| [0123] | 1 | 5 | 10 | 15 |
| [0124] | Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Tyr | | | |
| [0125] | | 20 | 25 | 30 |
| [0126] | Phe His Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu Ile | | | |
| [0127] | | 35 | 40 | 45 |
| [0128] | Tyr Ser Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Thr Gly | | | |
| [0129] | | 50 | 55 | 60 |
| [0130] | Ser Gly Ser Gly Thr Glu Cys Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro | | | |
| [0131] | | 65 | 70 | 75 |
| [0132] | Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr His Gly Tyr Pro Phe | | | |
| [0133] | | 85 | 90 | 95 |
| [0134] | Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Val Arg | | | |
| [0135] | | 100 | 105 | |
| [0136] | <210> | 5 | | |
| [0137] | <211> | 993 | | |
| [0138] | <212> | DNA | | |
| [0139] | <213> | 智人 | | |
| [0140] | <220> | | | |
| [0141] | <221> | CDS | | |
| [0142] | <222> | (1) .. (993) | | |
| [0143] | <223> | 5D1-CH恒定重链(CH)序列 | | |
| [0144] | <400> | 5 | | |
| [0145] | gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag | | | 48 |
| [0146] | Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys | | | |
| [0147] | 1 | 5 | 10 | 15 |
| [0148] | agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac | | | 96 |
| [0149] | Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr | | | |
| [0150] | | 20 | 25 | 30 |
| [0151] | ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc | | | 144 |
| [0152] | Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser | | | |
| [0153] | | 35 | 40 | 45 |
| [0154] | ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc | | | 192 |

[0155] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 [0156] 50 55 60
 [0157] ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240
 [0158] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 [0159] 65 70 75 80
 [0160] tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag 288
 [0161] Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 [0162] 85 90 95
 [0163] aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc 336
 [0164] Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 [0165] 100 105 110
 [0166] cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca 384
 [0167] Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 [0168] 115 120 125
 [0169] aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc 432
 [0170] Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 [0171] 130 135 140
 [0172] gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg 480
 [0173] Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 [0174] 145 150 155 160
 [0175] tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag 528
 [0176] Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 [0177] 165 170 175
 [0178] gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg 576
 [0179] Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 [0180] 180 185 190
 [0181] cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac 624
 [0182] His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 [0183] 195 200 205
 [0184] aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg 672
 [0185] Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 [0186] 210 215 220
 [0187] cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag 720
 [0188] Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 [0189] 225 230 235 240
 [0190] ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat 768
 [0191] Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 [0192] 245 250 255
 [0193] ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac 816

| | |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| [0194] | Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn |
| [0195] | 260 265 270 |
| [0196] | aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc 864 |
| [0197] | Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe |
| [0198] | 275 280 285 |
| [0199] | ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac 912 |
| [0200] | Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn |
| [0201] | 290 295 300 |
| [0202] | gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg 960 |
| [0203] | Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr |
| [0204] | 305 310 315 320 |
| [0205] | cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 993 |
| [0206] | Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys |
| [0207] | 325 330 |
| [0208] | <210> 6 |
| [0209] | <211> 330 |
| [0210] | <212> PRT |
| [0211] | <213> 智人 |
| [0212] | <400> 6 |
| [0213] | Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys |
| [0214] | 1 5 10 15 |
| [0215] | Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr |
| [0216] | 20 25 30 |
| [0217] | Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser |
| [0218] | 35 40 45 |
| [0219] | Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser |
| [0220] | 50 55 60 |
| [0221] | Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr |
| [0222] | 65 70 75 80 |
| [0223] | Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys |
| [0224] | 85 90 95 |
| [0225] | Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys |
| [0226] | 100 105 110 |
| [0227] | Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro |
| [0228] | 115 120 125 |
| [0229] | Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys |
| [0230] | 130 135 140 |
| [0231] | Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp |
| [0232] | 145 150 155 160 |

[0233] Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 [0234] 165 170 175
 [0235] Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 [0236] 180 185 190
 [0237] His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 [0238] 195 200 205
 [0239] Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 [0240] 210 215 220
 [0241] Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 [0242] 225 230 235 240
 [0243] Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 [0244] 245 250 255
 [0245] Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 [0246] 260 265 270
 [0247] Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 [0248] 275 280 285
 [0249] Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 [0250] 290 295 300
 [0251] Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 [0252] 305 310 315 320
 [0253] Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 [0254] 325 330
 [0255] <210> 7
 [0256] <211> 324
 [0257] <212> DNA
 [0258] <213> 智人
 [0259] <220>
 [0260] <221> CDS
 [0261] <222> (1) .. (324)
 [0262] <223> 5D1-CL恒定κ链 (CL) 序列
 [0263] <220>
 [0264] <221> misc_feature
 [0265] <222> (268) .. (324)
 [0266] <223> 未测序, 从数据库中获得
 [0267] <400> 7
 [0268] cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48
 [0269] Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 [0270] 1 5 10 15
 [0271] cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 96

[0272] Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 [0273] 20 25 30
 [0274] tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144
 [0275] Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 [0276] 35 40 45
 [0277] tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192
 [0278] Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 [0279] 50 55 60
 [0280] acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240
 [0281] Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 [0282] 65 70 75 80
 [0283] aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288
 [0284] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 [0285] 85 90 95
 [0286] ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324
 [0287] Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [0288] 100 105
 [0289] <210> 8
 [0290] <211> 107
 [0291] <212> PRT
 [0292] <213> 智人
 [0293] <400> 8
 [0294] Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 [0295] 1 5 10 15
 [0296] Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 [0297] 20 25 30
 [0298] Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 [0299] 35 40 45
 [0300] Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 [0301] 50 55 60
 [0302] Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 [0303] 65 70 75 80
 [0304] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 [0305] 85 90 95
 [0306] Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [0307] 100 105
 [0308] <210> 9
 [0309] <211> 369
 [0310] <212> DNA

[0311] <213> 智人
 [0312] <220>
 [0313] <221> CDS
 [0314] <222> (1) .. (369)
 [0315] <223> 13B11-VH可变重链 (VH) 序列; 13B11: IgG1, κ
 [0316] <220>
 [0317] <221> V_区
 [0318] <222> (91) .. (105)
 [0319] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR1
 [0320] <220>
 [0321] <221> V_区
 [0322] <222> (148) .. (198)
 [0323] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR2
 [0324] <220>
 [0325] <221> V_区
 [0326] <222> (295) .. (336)
 [0327] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR3
 [0328] <400> 9
 [0329] gac gta cag ctg ttg cag tct ggg gga ggc ttg ata cag ccg ggg ggg 48
 [0330] Asp Val Gln Leu Leu Gln Ser Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly
 [0331] 1 5 10 15
 [0332] tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct ggc ttt act ttt aag gac tat 96
 [0333] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Lys Asp Tyr
 [0334] 20 25 30
 [0335] gcc atg agt tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggc ctg gag tgg gtc 144
 [0336] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 [0337] 35 40 45
 [0338] tca gta ata agt cgt agt ggt aat att gta gac tat gtc gac tcc gtg 192
 [0339] Ser Val Ile Ser Arg Ser Gly Asn Ile Val Asp Tyr Val Asp Ser Val
 [0340] 50 55 60
 [0341] aag ggc cgg ttc acc gtc tcc aga gac aat tcc aac aac aca ctc ttt 240
 [0342] Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Asn Asn Thr Leu Phe
 [0343] 65 70 75 80
 [0344] ctg caa atg gac ggc ctg aga gcc gac gac acg gcc att tat tac tgt 288
 [0345] Leu Gln Met Asp Gly Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 [0346] 85 90 95
 [0347] gcg aaa ccc aag gat atg att gtc gtg gtc cct gcg ggc ttt gac tcc 336
 [0348] Ala Lys Pro Lys Asp Met Ile Val Val Val Pro Ala Gly Phe Asp Ser
 [0349] 100 105 110

[0350] tgg ggc cag gga acc ctt gtc tcc gtc tcc tca 369
 [0351] Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Ser Val Ser Ser
 [0352] 115 120
 [0353] <210> 10
 [0354] <211> 123
 [0355] <212> PRT
 [0356] <213> 智人
 [0357] <400> 10
 [0358] Asp Val Gln Leu Leu Gln Ser Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly
 [0359] 1 5 10 15
 [0360] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Lys Asp Tyr
 [0361] 20 25 30
 [0362] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 [0363] 35 40 45
 [0364] Ser Val Ile Ser Arg Ser Gly Asn Ile Val Asp Tyr Val Asp Ser Val
 [0365] 50 55 60
 [0366] Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Asn Asn Thr Leu Phe
 [0367] 65 70 75 80
 [0368] Leu Gln Met Asp Gly Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 [0369] 85 90 95
 [0370] Ala Lys Pro Lys Asp Met Ile Val Val Val Pro Ala Gly Phe Asp Ser
 [0371] 100 105 110
 [0372] Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Ser Val Ser Ser
 [0373] 115 120
 [0374] <210> 11
 [0375] <211> 315
 [0376] <212> DNA
 [0377] <213> 智人
 [0378] <220>
 [0379] <221> CDS
 [0380] <222> (1) .. (315)
 [0381] <223> 13B11-VL可变轻链(VL)序列, κ型
 [0382] <220>
 [0383] <221> V_区
 [0384] <222> (70) .. (102)
 [0385] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR1
 [0386] <220>
 [0387] <221> V_区
 [0388] <222> (148) .. (168)

[0389] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR2
 [0390] <220>
 [0391] <221> V_区
 [0392] <222> (265) .. (285)
 [0393] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR3
 [0394] <400> 11
 [0395] gac atc cag atg acc cag ttt cca tcc acc ctg tct gca tct gtt gga 48
 [0396] Asp Ile Gln Met Thr Gln Phe Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 [0397] 1 5 10 15
 [0398] gac agc gtc acc atc act tgc cgg gcc agt cag agc att agt gcc tgg 96
 [0399] Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ala Trp
 [0400] 20 25 30
 [0401] ttg gcc tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gcc cct aaa ctc ctg atc 144
 [0402] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 [0403] 35 40 45
 [0404] tat aag ggg tct aga tta gaa aac ggg gtc cca tcg agg ttc agc ggc 192
 [0405] Tyr Lys Gly Ser Arg Leu Glu Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 [0406] 50 55 60
 [0407] agt gga tct ggg aca gaa ttc act ctc acc atc ggc agc ctg cag cct 240
 [0408] Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Gly Ser Leu Gln Pro
 [0409] 65 70 75 80
 [0410] gat gat ttt gca act tat tac tgc caa caa tat aag act tgg acg ttc 288
 [0411] Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Thr Trp Thr Phe
 [0412] 85 90 95
 [0413] ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa 315
 [0414] Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 [0415] 100 105
 [0416] <210> 12
 [0417] <211> 105
 [0418] <212> PRT
 [0419] <213> 智人
 [0420] <400> 12
 [0421] Asp Ile Gln Met Thr Gln Phe Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 [0422] 1 5 10 15
 [0423] Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ala Trp
 [0424] 20 25 30
 [0425] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 [0426] 35 40 45
 [0427] Tyr Lys Gly Ser Arg Leu Glu Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[0428] 50 55 60
 [0429] Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Gly Ser Leu Gln Pro
 [0430] 65 70 75 80
 [0431] Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Thr Trp Thr Phe
 [0432] 85 90 95
 [0433] Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 [0434] 100 105
 [0435] <210> 13
 [0436] <211> 993
 [0437] <212> DNA
 [0438] <213> 智人
 [0439] <220>
 [0440] <221> CDS
 [0441] <222> (1) .. (993)
 [0442] <223> 13B11-CH恒定重链(CH)序列
 [0443] <400> 13
 [0444] gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48
 [0445] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 [0446] 1 5 10 15
 [0447] agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96
 [0448] Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 [0449] 20 25 30
 [0450] ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144
 [0451] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 [0452] 35 40 45
 [0453] ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192
 [0454] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 [0455] 50 55 60
 [0456] ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240
 [0457] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 [0458] 65 70 75 80
 [0459] tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag 288
 [0460] Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 [0461] 85 90 95
 [0462] aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc 336
 [0463] Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 [0464] 100 105 110
 [0465] cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca 384
 [0466] Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

| | | | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| [0467] | 115 | 120 | 125 | |
| [0468] | aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc | | | 432 |
| [0469] | Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys | | | |
| [0470] | 130 | 135 | 140 | |
| [0471] | gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg | | | 480 |
| [0472] | Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp | | | |
| [0473] | 145 | 150 | 155 | 160 |
| [0474] | tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag | | | 528 |
| [0475] | Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu | | | |
| [0476] | | 165 | 170 | 175 |
| [0477] | gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg | | | 576 |
| [0478] | Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu | | | |
| [0479] | | 180 | 185 | 190 |
| [0480] | cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac | | | 624 |
| [0481] | His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn | | | |
| [0482] | | 195 | 200 | 205 |
| [0483] | aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg | | | 672 |
| [0484] | Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly | | | |
| [0485] | 210 | 215 | 220 | |
| [0486] | cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag | | | 720 |
| [0487] | Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu | | | |
| [0488] | 225 | 230 | 235 | 240 |
| [0489] | ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat | | | 768 |
| [0490] | Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr | | | |
| [0491] | | 245 | 250 | 255 |
| [0492] | ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac | | | 816 |
| [0493] | Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn | | | |
| [0494] | | 260 | 265 | 270 |
| [0495] | aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc | | | 864 |
| [0496] | Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe | | | |
| [0497] | | 275 | 280 | 285 |
| [0498] | ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac | | | 912 |
| [0499] | Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn | | | |
| [0500] | 290 | 295 | 300 | |
| [0501] | gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg | | | 960 |
| [0502] | Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr | | | |
| [0503] | 305 | 310 | 315 | 320 |
| [0504] | cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga | | | 993 |
| [0505] | Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys | | | |

| | | | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| [0506] | | 325 | | 330 |
| [0507] | <210> | 14 | | |
| [0508] | <211> | 330 | | |
| [0509] | <212> | PRT | | |
| [0510] | <213> | 智人 | | |
| [0511] | <400> | 14 | | |
| [0512] | Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys | | | |
| [0513] | 1 | 5 | 10 | 15 |
| [0514] | Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr | | | |
| [0515] | | 20 | 25 | 30 |
| [0516] | Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser | | | |
| [0517] | | 35 | 40 | 45 |
| [0518] | Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser | | | |
| [0519] | | 50 | 55 | 60 |
| [0520] | Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr | | | |
| [0521] | | 65 | 70 | 75 |
| [0522] | Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys | | | |
| [0523] | | 85 | 90 | 95 |
| [0524] | Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys | | | |
| [0525] | | 100 | 105 | 110 |
| [0526] | Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro | | | |
| [0527] | | 115 | 120 | 125 |
| [0528] | Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys | | | |
| [0529] | | 130 | 135 | 140 |
| [0530] | Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp | | | |
| [0531] | | 145 | 150 | 155 |
| [0532] | Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu | | | |
| [0533] | | 165 | 170 | 175 |
| [0534] | Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu | | | |
| [0535] | | 180 | 185 | 190 |
| [0536] | His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn | | | |
| [0537] | | 195 | 200 | 205 |
| [0538] | Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly | | | |
| [0539] | | 210 | 215 | 220 |
| [0540] | Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu | | | |
| [0541] | | 225 | 230 | 235 |
| [0542] | Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr | | | |
| [0543] | | 245 | 250 | 255 |
| [0544] | Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn | | | |

| | | | |
|--------|---------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| [0545] | 260 | 265 | 270 |
| [0546] | Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe | | |
| [0547] | 275 | 280 | 285 |
| [0548] | Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn | | |
| [0549] | 290 | 295 | 300 |
| [0550] | Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr | | |
| [0551] | 305 | 310 | 315 |
| [0552] | Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys | | |
| [0553] | 325 | 330 | |
| [0554] | <210> 15 | | |
| [0555] | <211> 324 | | |
| [0556] | <212> DNA | | |
| [0557] | <213> 智人 | | |
| [0558] | <220> | | |
| [0559] | <221> CDS | | |
| [0560] | <222> (1) .. (324) | | |
| [0561] | <223> 13B11-CL恒定κ链 (CL)序列 | | |
| [0562] | <400> 15 | | |
| [0563] | cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48 | | |
| [0564] | Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu | | |
| [0565] | 1 5 10 15 | | |
| [0566] | cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 96 | | |
| [0567] | Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe | | |
| [0568] | 20 25 30 | | |
| [0569] | tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144 | | |
| [0570] | Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln | | |
| [0571] | 35 40 45 | | |
| [0572] | tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192 | | |
| [0573] | Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser | | |
| [0574] | 50 55 60 | | |
| [0575] | acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240 | | |
| [0576] | Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu | | |
| [0577] | 65 70 75 80 | | |
| [0578] | aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288 | | |
| [0579] | Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser | | |
| [0580] | 85 90 95 | | |
| [0581] | ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324 | | |
| [0582] | Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys | | |
| [0583] | 100 105 | | |

[0584] <210> 16
 [0585] <211> 107
 [0586] <212> PRT
 [0587] <213> 智人
 [0588] <400> 16
 [0589] Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 [0590] 1 5 10 15
 [0591] Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 [0592] 20 25 30
 [0593] Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 [0594] 35 40 45
 [0595] Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 [0596] 50 55 60
 [0597] Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 [0598] 65 70 75 80
 [0599] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 [0600] 85 90 95
 [0601] Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [0602] 100 105
 [0603] <210> 17
 [0604] <211> 378
 [0605] <212> DNA
 [0606] <213> 智人
 [0607] <220>
 [0608] <221> CDS
 [0609] <222> (1) .. (378)
 [0610] <223> 19D11-VH可变重链 (VH) 序列; 19D11: IgG1, κ
 [0611] <220>
 [0612] <221> misc_feature
 [0613] <222> (1) .. (18)
 [0614] <223> 未测序, 从数据库获得
 [0615] <220>
 [0616] <221> V_区
 [0617] <222> (91) .. (105)
 [0618] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR1
 [0619] <220>
 [0620] <221> V_区
 [0621] <222> (148) .. (198)
 [0622] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR2

[0623] <220>
 [0624] <221> V_区
 [0625] <222> (295) .. (345)
 [0626] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR3
 [0627] <220>
 [0628] <221> misc_feature
 [0629] <222> (361) .. (378)
 [0630] <223> 未测序, 从数据库获得
 [0631] <400> 17
 [0632] gag gtg cag ctg ttg gag tct ggg gct gag gtg aag agg cct ggg tcg 48
 [0633] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg Pro Gly Ser
 [0634] 1 5 10 15
 [0635] tcg gtg agg gtc tcc tgc agg gct tct gga gac acc ttc agc agt tac 96
 [0636] Ser Val Arg Val Ser Cys Arg Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
 [0637] 20 25 30
 [0638] cct atc agt tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggc ctt gag tgg atg 144
 [0639] Pro Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 [0640] 35 40 45
 [0641] gga agg atc ctc cct gcc ctt ggt gtc aca aac tac gct cag aac ttc 192
 [0642] Gly Arg Ile Leu Pro Ala Leu Gly Val Thr Asn Tyr Ala Gln Asn Phe
 [0643] 50 55 60
 [0644] cgg ggc aga atc acg att acc gcg gac aag tcg ccc ctc aca gcc tac 240
 [0645] Arg Gly Arg Ile Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Pro Leu Thr Ala Tyr
 [0646] 65 70 75 80
 [0647] ttg gaa ctg agt agc ctc aga ttt gag gac acg gcc gtg tat tac tgt 288
 [0648] Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Phe Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 [0649] 85 90 95
 [0650] gcg agt ccc agt gcg gac ata att cct tcg att ttg ggg acg acc ctc 336
 [0651] Ala Ser Pro Ser Ala Asp Ile Ile Pro Ser Ile Leu Gly Thr Thr Leu
 [0652] 100 105 110
 [0653] ttt gcc ttc tgg ggc cag gga agc ctg gtc acc gtc tcc tca 378
 [0654] Phe Ala Phe Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
 [0655] 115 120 125
 [0656] <210> 18
 [0657] <211> 126
 [0658] <212> PRT
 [0659] <213> 智人
 [0660] <400> 18
 [0661] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg Pro Gly Ser

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------|-------|------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|-----|
| [0662] | 1 | 5 | 10 | 15 | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0663] | Ser | Val | Arg | Val | Ser | Cys | Arg | Ala | Ser | Gly | Asp | Thr | Phe | Ser | Ser | Tyr | | | |
| [0664] | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | | | | | |
| [0665] | Pro | Ile | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met | | | |
| [0666] | | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | | | | |
| [0667] | Gly | Arg | Ile | Leu | Pro | Ala | Leu | Gly | Val | Thr | Asn | Tyr | Ala | Gln | Asn | Phe | | | |
| [0668] | | | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | | | |
| [0669] | Arg | Gly | Arg | Ile | Thr | Ile | Thr | Ala | Asp | Lys | Ser | Pro | Leu | Thr | Ala | Tyr | | | |
| [0670] | | | 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | | 80 |
| [0671] | Leu | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Phe | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys | | | |
| [0672] | | | | | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | | 95 |
| [0673] | Ala | Ser | Pro | Ser | Ala | Asp | Ile | Ile | Pro | Ser | Ile | Leu | Gly | Thr | Thr | Leu | | | |
| [0674] | | | | | | | | 100 | | | | | 105 | | | | | | 110 |
| [0675] | Phe | Ala | Phe | Trp | Gly | Gln | Gly | Ser | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | | | | | |
| [0676] | | | | | | | | 115 | | | | | 120 | | | | | | 125 |
| [0677] | <210> | 19 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0678] | <211> | 330 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0679] | <212> | DNA | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0680] | <213> | 智人 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0681] | <220> | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0682] | <221> | CDS | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0683] | <222> | (1) .. (330) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0684] | <223> | 19D11-VL可变轻链(VL)序列, κ型 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0685] | <220> | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0686] | <221> | misc_feature | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0687] | <222> | (1) .. (18) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0688] | <223> | 未测序, 从数据库获得 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0689] | <220> | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0690] | <221> | V_区 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0691] | <222> | (70) .. (105) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0692] | <223> | 互补决定区(CDR) VL-CDR1 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0693] | <220> | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0694] | <221> | V_区 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0695] | <222> | (151) .. (171) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0696] | <223> | 互补决定区(CDR) VL-CDR2 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0697] | <220> | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0698] | <221> | V_区 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0699] | <222> | (268) .. (300) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [0700] | <223> | 互补决定区(CDR) VL-CDR3 | | | | | | | | | | | | | | | | | |

[0701] <220>
 [0702] <221> misc_feature
 [0703] <222> (312) .. (330)
 [0704] <223> 未测序, 从数据库获得
 [0705] <400> 19
 [0706] gaa att gtg ttg acg cag tct cca ggc acc ctg tct ctg tct ccg ggg 48
 [0707] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 [0708] 1 5 10 15
 [0709] gaa ggg gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag aat gtt agc aga cac 96
 [0710] Glu Gly Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Ser Arg His
 [0711] 20 25 30
 [0712] tac tta acc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag tct ccc cgg ctc ctc 144
 [0713] Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu
 [0714] 35 40 45
 [0715] atc tat ggt ggc tcc agc agg gcc act ggc gtc cca gac agg ttc agt 192
 [0716] Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 [0717] 50 55 60
 [0718] ggc ggt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc agg ctg gag 240
 [0719] Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 [0720] 65 70 75 80
 [0721] cct gaa gac ttt gca gtg ttt tac tgc cag agc tat cat agc cca cct 288
 [0722] Pro Glu Asp Phe Ala Val Phe Tyr Cys Gln Ser Tyr His Ser Pro Pro
 [0723] 85 90 95
 [0724] cct gtg tac act ttc ggc cag ggg acc aag gtg gag atc aaa 330
 [0725] Pro Val Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 [0726] 100 105 110
 [0727] <210> 20
 [0728] <211> 110
 [0729] <212> PRT
 [0730] <213> 智人
 [0731] <400> 20
 [0732] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 [0733] 1 5 10 15
 [0734] Glu Gly Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Ser Arg His
 [0735] 20 25 30
 [0736] Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu
 [0737] 35 40 45
 [0738] Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 [0739] 50 55 60

[0740] Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 [0741] 65 70 75 80
 [0742] Pro Glu Asp Phe Ala Val Phe Tyr Cys Gln Ser Tyr His Ser Pro Pro
 [0743] 85 90 95
 [0744] Pro Val Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 [0745] 100 105 110
 [0746] <210> 21
 [0747] <211> 366
 [0748] <212> DNA
 [0749] <213> 智人
 [0750] <220>
 [0751] <221> CDS
 [0752] <222> (1) .. (366)
 [0753] <223> 25C3-VH可变重链 (VH) 序列; 25C3: IgG1, κ
 [0754] <220>
 [0755] <221> V_区
 [0756] <222> (91) .. (105)
 [0757] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR1
 [0758] <220>
 [0759] <221> V_区
 [0760] <222> (148) .. (198)
 [0761] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR2
 [0762] <220>
 [0763] <221> V_区
 [0764] <222> (295) .. (333)
 [0765] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR3
 [0766] <400> 21
 [0767] gag atg cag ctg atg gag tct ggg gga ggt ttg gta caa ccg ggg ggg 48
 [0768] Glu Met Gln Leu Met Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 [0769] 1 5 10 15
 [0770] tcc ctg aga ctc tcc tgt gta gcc tct ggt ttc acc ttt aaa agt ttt 96
 [0771] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Lys Ser Phe
 [0772] 20 25 30
 [0773] gcg atg agt tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtc 144
 [0774] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 [0775] 35 40 45
 [0776] gct agt gtc ggc tct cag ggt ggc agc aaa tac tat gca ccc tcc gtg 192
 [0777] Ala Ser Val Gly Ser Gln Gly Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Pro Ser Val
 [0778] 50 55 60

[0779] aag ggc cgg ttc tcc atc tcc aga gac aat tcc aac aac act ctc tat 240
 [0780] Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ser Asn Asn Thr Leu Tyr
 [0781] 65 70 75 80
 [0782] gtg caa atg aac agc ctg gga gtc gag gac acg gcc ttt tat tat tgt 288
 [0783] Val Gln Met Asn Ser Leu Gly Val Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys
 [0784] 85 90 95
 [0785] gtt aaa gag acc gat gca gtg gcg acg atg gac gct ctt gac atg tgg 336
 [0786] Val Lys Glu Thr Asp Ala Val Ala Thr Met Asp Ala Leu Asp Met Trp
 [0787] 100 105 110
 [0788] ggc caa ggg acc ctg gtc atc gtc tct acc 366
 [0789] Gly Gln Gly Thr Leu Val Ile Val Ser Thr
 [0790] 115 120
 [0791] <210> 22
 [0792] <211> 122
 [0793] <212> PRT
 [0794] <213> 智人
 [0795] <400> 22
 [0796] Glu Met Gln Leu Met Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 [0797] 1 5 10 15
 [0798] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Lys Ser Phe
 [0799] 20 25 30
 [0800] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 [0801] 35 40 45
 [0802] Ala Ser Val Gly Ser Gln Gly Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Pro Ser Val
 [0803] 50 55 60
 [0804] Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ser Asn Asn Thr Leu Tyr
 [0805] 65 70 75 80
 [0806] Val Gln Met Asn Ser Leu Gly Val Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys
 [0807] 85 90 95
 [0808] Val Lys Glu Thr Asp Ala Val Ala Thr Met Asp Ala Leu Asp Met Trp
 [0809] 100 105 110
 [0810] Gly Gln Gly Thr Leu Val Ile Val Ser Thr
 [0811] 115 120
 [0812] <210> 23
 [0813] <211> 321
 [0814] <212> DNA
 [0815] <213> 智人
 [0816] <220>
 [0817] <221> CDS

[0818] <222> (1) .. (321)
 [0819] <223> 25C3-VL可变轻链 (VL) 序列, κ型
 [0820] <220>
 [0821] <221> V_区
 [0822] <222> (70) .. (102)
 [0823] <223> 互补决定区 (CDR) VL-CDR1
 [0824] <220>
 [0825] <221> V_区
 [0826] <222> (148) .. (168)
 [0827] <223> 互补决定区 (CDR) VL-CDR2
 [0828] <220>
 [0829] <221> V_区
 [0830] <222> (265) .. (291)
 [0831] <223> 互补决定区 (CDR) VL-CDR3
 [0832] <400> 23
 [0833] gac atc cgg gtg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct gtc gga 48
 [0834] Asp Ile Arg Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 [0835] 1 5 10 15
 [0836] gac agg gtc tcc atc tct tgc cag aca agt cag agt gtt aac ata tat 96
 [0837] Asp Arg Val Ser Ile Ser Cys Gln Thr Ser Gln Ser Val Asn Ile Tyr
 [0838] 20 25 30
 [0839] cta aat tgg tat caa cag aga cca ggg aaa ggc cct cag ctc ctg atc 144
 [0840] Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Gly Pro Gln Leu Leu Ile
 [0841] 35 40 45
 [0842] tct gct gct tcc act ttg cag agt ggg gtc cca tca agg ttc agt ggc 192
 [0843] Ser Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 [0844] 50 55 60
 [0845] agt gga tct ggg aca gac ttc atc ctc acc atc atc agt cta caa cct 240
 [0846] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Ile Ser Leu Gln Pro
 [0847] 65 70 75 80
 [0848] gaa gat tct gca tcc tac tac tgt caa cag ggt tac att acc ccg tac 288
 [0849] Glu Asp Ser Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Thr Pro Tyr
 [0850] 85 90 95
 [0851] act ttt ggc cag ggg acc aag gtg gag atc aaa 321
 [0852] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 [0853] 100 105
 [0854] <210> 24
 [0855] <211> 107
 [0856] <212> PRT

[0857] <213> 智人
 [0858] <400> 24
 [0859] Asp Ile Arg Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 [0860] 1 5 10 15
 [0861] Asp Arg Val Ser Ile Ser Cys Gln Thr Ser Gln Ser Val Asn Ile Tyr
 [0862] 20 25 30
 [0863] Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Gly Pro Gln Leu Leu Ile
 [0864] 35 40 45
 [0865] Ser Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 [0866] 50 55 60
 [0867] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Ile Ser Leu Gln Pro
 [0868] 65 70 75 80
 [0869] Glu Asp Ser Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Thr Pro Tyr
 [0870] 85 90 95
 [0871] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 [0872] 100 105
 [0873] <210> 25
 [0874] <211> 993
 [0875] <212> DNA
 [0876] <213> 智人
 [0877] <220>
 [0878] <221> CDS
 [0879] <222> (1) .. (993)
 [0880] <223> 25C3-恒定重链 (CH) 序列
 [0881] <400> 25
 [0882] gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48
 [0883] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 [0884] 1 5 10 15
 [0885] agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96
 [0886] Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 [0887] 20 25 30
 [0888] ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144
 [0889] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 [0890] 35 40 45
 [0891] ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192
 [0892] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 [0893] 50 55 60
 [0894] ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240
 [0895] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

| | | | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| [0896] | 65 | 70 | 75 | 80 |
| [0897] | tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag | 288 | | |
| [0898] | Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys | | | |
| [0899] | 85 | 90 | 95 | |
| [0900] | aga gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc | 336 | | |
| [0901] | Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys | | | |
| [0902] | 100 | 105 | 110 | |
| [0903] | cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca | 384 | | |
| [0904] | Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro | | | |
| [0905] | 115 | 120 | 125 | |
| [0906] | aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc | 432 | | |
| [0907] | Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys | | | |
| [0908] | 130 | 135 | 140 | |
| [0909] | gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg | 480 | | |
| [0910] | Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp | | | |
| [0911] | 145 | 150 | 155 | 160 |
| [0912] | tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag | 528 | | |
| [0913] | Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu | | | |
| [0914] | 165 | 170 | 175 | |
| [0915] | gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg | 576 | | |
| [0916] | Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu | | | |
| [0917] | 180 | 185 | 190 | |
| [0918] | cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac | 624 | | |
| [0919] | His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn | | | |
| [0920] | 195 | 200 | 205 | |
| [0921] | aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg | 672 | | |
| [0922] | Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly | | | |
| [0923] | 210 | 215 | 220 | |
| [0924] | cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag | 720 | | |
| [0925] | Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu | | | |
| [0926] | 225 | 230 | 235 | 240 |
| [0927] | atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat | 768 | | |
| [0928] | Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr | | | |
| [0929] | 245 | 250 | 255 | |
| [0930] | ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac | 816 | | |
| [0931] | Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn | | | |
| [0932] | 260 | 265 | 270 | |
| [0933] | aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc | 864 | | |
| [0934] | Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe | | | |

| | | | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| [0935] | 275 | 280 | 285 | |
| [0936] | ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac | 912 | | |
| [0937] | Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn | | | |
| [0938] | 290 | 295 | 300 | |
| [0939] | gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg | 960 | | |
| [0940] | Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr | | | |
| [0941] | 305 | 310 | 315 | 320 |
| [0942] | cag aag agc ctc tcc ctg tcc ccg ggt aaa tga | 993 | | |
| [0943] | Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys | | | |
| [0944] | 325 | 330 | | |
| [0945] | <210> 26 | | | |
| [0946] | <211> 330 | | | |
| [0947] | <212> PRT | | | |
| [0948] | <213> 智人 | | | |
| [0949] | <400> 26 | | | |
| [0950] | Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys | | | |
| [0951] | 1 | 5 | 10 | 15 |
| [0952] | Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr | | | |
| [0953] | 20 | 25 | 30 | |
| [0954] | Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser | | | |
| [0955] | 35 | 40 | 45 | |
| [0956] | Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser | | | |
| [0957] | 50 | 55 | 60 | |
| [0958] | Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr | | | |
| [0959] | 65 | 70 | 75 | 80 |
| [0960] | Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys | | | |
| [0961] | 85 | 90 | 95 | |
| [0962] | Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys | | | |
| [0963] | 100 | 105 | 110 | |
| [0964] | Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro | | | |
| [0965] | 115 | 120 | 125 | |
| [0966] | Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys | | | |
| [0967] | 130 | 135 | 140 | |
| [0968] | Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp | | | |
| [0969] | 145 | 150 | 155 | 160 |
| [0970] | Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu | | | |
| [0971] | 165 | 170 | 175 | |
| [0972] | Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu | | | |
| [0973] | 180 | 185 | 190 | |

[0974] His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 [0975] 195 200 205
 [0976] Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 [0977] 210 215 220
 [0978] Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 [0979] 225 230 235 240
 [0980] Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 [0981] 245 250 255
 [0982] Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 [0983] 260 265 270
 [0984] Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 [0985] 275 280 285
 [0986] Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 [0987] 290 295 300
 [0988] Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 [0989] 305 310 315 320
 [0990] Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 [0991] 325 330
 [0992] <210> 27
 [0993] <211> 324
 [0994] <212> DNA
 [0995] <213> 智人
 [0996] <220>
 [0997] <221> CDS
 [0998] <222> (1) .. (324)
 [0999] <223> 25C3-恒定κ链 (CL) 序列
 [1000] <220>
 [1001] <221> misc_feature
 [1002] <222> (268) .. (324)
 [1003] <223> 未测序, 从数据库获得
 [1004] <400> 27
 [1005] cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48
 [1006] Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 [1007] 1 5 10 15
 [1008] cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ctc 96
 [1009] Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Leu
 [1010] 20 25 30
 [1011] tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144
 [1012] Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

[1013] 35 40 45
 [1014] tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192
 [1015] Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 [1016] 50 55 60
 [1017] acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240
 [1018] Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 [1019] 65 70 75 80
 [1020] aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288
 [1021] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 [1022] 85 90 95
 [1023] ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324
 [1024] Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [1025] 100 105
 [1026] <210> 28
 [1027] <211> 107
 [1028] <212> PRT
 [1029] <213> 智人
 [1030] <400> 28
 [1031] Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 [1032] 1 5 10 15
 [1033] Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Leu
 [1034] 20 25 30
 [1035] Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 [1036] 35 40 45
 [1037] Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 [1038] 50 55 60
 [1039] Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 [1040] 65 70 75 80
 [1041] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 [1042] 85 90 95
 [1043] Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [1044] 100 105
 [1045] <210> 29
 [1046] <211> 372
 [1047] <212> DNA
 [1048] <213> 智人
 [1049] <220>
 [1050] <221> CDS
 [1051] <222> (1) .. (372)

[1052] <223> 26B9-VH可变重链 (VH) 序列; 26B9: IgG1, κ
 [1053] <220>
 [1054] <221> V_区
 [1055] <222> (91) .. (111)
 [1056] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR1
 [1057] <220>
 [1058] <221> V_区
 [1059] <222> (154) .. (201)
 [1060] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR2
 [1061] <220>
 [1062] <221> V_区
 [1063] <222> (298) .. (339)
 [1064] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR3
 [1065] <400> 29
 [1066] cag ata cta ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag ccc acg gag 48
 [1067] Gln Ile Leu Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Glu
 [1068] 1 5 10 15
 [1069] acc ctg tcc ctc acc tgt agt gtc tct ggt gac tcc atc agt gat agt 96
 [1070] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Asp Ser
 [1071] 20 25 30
 [1072] agt cac tac tgg gcc tgg att cgc cag ccc cca ggg aag gga cca gag 144
 [1073] Ser His Tyr Trp Ala Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Pro Glu
 [1074] 35 40 45
 [1075] tgg att ggc agt gtc tat ttt agt tcg atg acc cac tac aac ccg tcc 192
 [1076] Trp Ile Gly Ser Val Tyr Phe Ser Ser Met Thr His Tyr Asn Pro Ser
 [1077] 50 55 60
 [1078] ctc aaa agt cgc gtc agc atc tcc gtt gac aag ccc aag aac cag ttc 240
 [1079] Leu Lys Ser Arg Val Ser Ile Ser Val Asp Lys Pro Lys Asn Gln Phe
 [1080] 65 70 75 80
 [1081] tcc tta aaa gtg acc tct gtg act gtc gcc gac acg gcc aca tat tac 288
 [1082] Ser Leu Lys Val Thr Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 [1083] 85 90 95
 [1084] tgt gcg aga caa gcc ctt gcc cga gtc gga gcc atg aat tgg ttc gac 336
 [1085] Cys Ala Arg Gln Ala Leu Ala Arg Val Gly Ala Met Asn Trp Phe Asp
 [1086] 100 105 110
 [1087] ccc tgg ggc cag gga tct ctg gtc aca gtc tcc tca 372
 [1088] Pro Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
 [1089] 115 120
 [1090] <210> 30

[1091] <211> 124
 [1092] <212> PRT
 [1093] <213> 智人
 [1094] <400> 30
 [1095] Gln Ile Leu Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Thr Glu
 [1096] 1 5 10 15
 [1097] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Asp Ser
 [1098] 20 25 30
 [1099] Ser His Tyr Trp Ala Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Pro Glu
 [1100] 35 40 45
 [1101] Trp Ile Gly Ser Val Tyr Phe Ser Ser Met Thr His Tyr Asn Pro Ser
 [1102] 50 55 60
 [1103] Leu Lys Ser Arg Val Ser Ile Ser Val Asp Lys Pro Lys Asn Gln Phe
 [1104] 65 70 75 80
 [1105] Ser Leu Lys Val Thr Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 [1106] 85 90 95
 [1107] Cys Ala Arg Gln Ala Leu Ala Arg Val Gly Ala Met Asn Trp Phe Asp
 [1108] 100 105 110
 [1109] Pro Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
 [1110] 115 120
 [1111] <210> 31
 [1112] <211> 339
 [1113] <212> DNA
 [1114] <213> 智人
 [1115] <220>
 [1116] <221> CDS
 [1117] <222> (1) .. (339)
 [1118] <223> 26B9-VL可变轻链(VL)序列, κ型
 [1119] <220>
 [1120] <221> V_区
 [1121] <222> (70) .. (120)
 [1122] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR1
 [1123] <220>
 [1124] <221> V_区
 [1125] <222> (166) .. (186)
 [1126] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR2
 [1127] <220>
 [1128] <221> V_区
 [1129] <222> (283) .. (309)

[1130] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR3
 [1131] <400> 31
 [1132] gac atc ata atg acc cag tct cca gac tcc ctg cct gtg tct ctg ggc 48
 [1133] Asp Ile Ile Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 [1134] 1 5 10 15
 [1135] gag ggg gtc acc atc aac tgc aag tcc agc cag agc gtc ttt ttc acc 96
 [1136] Glu Gly Val Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Thr
 [1137] 20 25 30
 [1138] tcc agt aat aag agt tgt tta gct tgg tat cag cag aag cca gga aag 144
 [1139] Ser Ser Asn Lys Ser Cys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 [1140] 35 40 45
 [1141] tct ccc aaa ttg ctc att tac tgg gca tca acc cgc caa tcc ggg gtc 192
 [1142] Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Gln Ser Gly Val
 [1143] 50 55 60
 [1144] cct gac cga ttc aga ggc agc ggg tct ggg aca gat ttc tct ctc acc 240
 [1145] Pro Asp Arg Phe Arg Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr
 [1146] 65 70 75 80
 [1147] atc acc agt ctg cag gct gaa gat gtg gct gtt tat ttc tgt cag cag 288
 [1148] Ile Thr Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln
 [1149] 85 90 95
 [1150] tgt cag aca tcc cct ccc act ttc ggc gga ggg acc agg ttg gag atc 336
 [1151] Cys Gln Thr Ser Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile
 [1152] 100 105 110
 [1153] aaa 339
 [1154] Lys
 [1155] <210> 32
 [1156] <211> 113
 [1157] <212> PRT
 [1158] <213> 智人
 [1159] <400> 32
 [1160] Asp Ile Ile Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 [1161] 1 5 10 15
 [1162] Glu Gly Val Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Thr
 [1163] 20 25 30
 [1164] Ser Ser Asn Lys Ser Cys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 [1165] 35 40 45
 [1166] Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Gln Ser Gly Val
 [1167] 50 55 60
 [1168] Pro Asp Arg Phe Arg Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr

| | | | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| [1169] | 65 | 70 | 75 | 80 |
| [1170] | Ile Thr Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln | | | |
| [1171] | | 85 | 90 | 95 |
| [1172] | Cys Gln Thr Ser Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile | | | |
| [1173] | | 100 | 105 | 110 |
| [1174] | Lys | | | |
| [1175] | <210> 33 | | | |
| [1176] | <211> 993 | | | |
| [1177] | <212> DNA | | | |
| [1178] | <213> 智人 | | | |
| [1179] | <220> | | | |
| [1180] | <221> CDS | | | |
| [1181] | <222> (1) .. (993) | | | |
| [1182] | <223> 26B9-CH恒定重链(CH)序列 | | | |
| [1183] | <400> 33 | | | |
| [1184] | gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag | | | 48 |
| [1185] | Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys | | | |
| [1186] | 1 | 5 | 10 | 15 |
| [1187] | agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac | | | 96 |
| [1188] | Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr | | | |
| [1189] | | 20 | 25 | 30 |
| [1190] | ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc | | | 144 |
| [1191] | Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser | | | |
| [1192] | | 35 | 40 | 45 |
| [1193] | ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc | | | 192 |
| [1194] | Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser | | | |
| [1195] | | 50 | 55 | 60 |
| [1196] | ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc | | | 240 |
| [1197] | Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr | | | |
| [1198] | 65 | 70 | 75 | 80 |
| [1199] | tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag | | | 288 |
| [1200] | Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys | | | |
| [1201] | | 85 | 90 | 95 |
| [1202] | aga gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc | | | 336 |
| [1203] | Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys | | | |
| [1204] | | 100 | 105 | 110 |
| [1205] | cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca | | | 384 |
| [1206] | Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro | | | |
| [1207] | | 115 | 120 | 125 |

[1208] aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc 432
 [1209] Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 [1210] 130 135 140
 [1211] gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg 480
 [1212] Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 [1213] 145 150 155 160
 [1214] tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag 528
 [1215] Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 [1216] 165 170 175
 [1217] gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg 576
 [1218] Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 [1219] 180 185 190
 [1220] cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac 624
 [1221] His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 [1222] 195 200 205
 [1223] aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg 672
 [1224] Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 [1225] 210 215 220
 [1226] cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag 720
 [1227] Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 [1228] 225 230 235 240
 [1229] atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat 768
 [1230] Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 [1231] 245 250 255
 [1232] ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac 816
 [1233] Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 [1234] 260 265 270
 [1235] aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc 864
 [1236] Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 [1237] 275 280 285
 [1238] ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac 912
 [1239] Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 [1240] 290 295 300
 [1241] gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg 960
 [1242] Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 [1243] 305 310 315 320
 [1244] cag aag agc ctc tcc ctg tcc ccg ggt aaa tga 993
 [1245] Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 [1246] 325 330

| | |
|--------|---------------------------------------------------------------------|
| [1286] | Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe |
| [1287] | 275 280 285 |
| [1288] | Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn |
| [1289] | 290 295 300 |
| [1290] | Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr |
| [1291] | 305 310 315 320 |
| [1292] | Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys |
| [1293] | 325 330 |
| [1294] | <210> 35 |
| [1295] | <211> 324 |
| [1296] | <212> DNA |
| [1297] | <213> 智人 |
| [1298] | <220> |
| [1299] | <221> CDS |
| [1300] | <222> (1) .. (324) |
| [1301] | <223> 26B9-CL恒定κ链 (CL)序列 |
| [1302] | <400> 35 |
| [1303] | cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48 |
| [1304] | Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu |
| [1305] | 1 5 10 15 |
| [1306] | cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 96 |
| [1307] | Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe |
| [1308] | 20 25 30 |
| [1309] | tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144 |
| [1310] | Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln |
| [1311] | 35 40 45 |
| [1312] | tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192 |
| [1313] | Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser |
| [1314] | 50 55 60 |
| [1315] | acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240 |
| [1316] | Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu |
| [1317] | 65 70 75 80 |
| [1318] | aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288 |
| [1319] | Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser |
| [1320] | 85 90 95 |
| [1321] | ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324 |
| [1322] | Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys |
| [1323] | 100 105 |
| [1324] | <210> 36 |

[1325] <211> 107
 [1326] <212> PRT
 [1327] <213> 智人
 [1328] <400> 36
 [1329] Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 [1330] 1 5 10 15
 [1331] Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 [1332] 20 25 30
 [1333] Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 [1334] 35 40 45
 [1335] Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 [1336] 50 55 60
 [1337] Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 [1338] 65 70 75 80
 [1339] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 [1340] 85 90 95
 [1341] Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [1342] 100 105
 [1343] <210> 37
 [1344] <211> 372
 [1345] <212> DNA
 [1346] <213> 智人
 [1347] <220>
 [1348] <221> CDS
 [1349] <222> (1) .. (372)
 [1350] <223> 31B4-VH可变重链 (VH) 序列; 31B4: IgG1, κ
 [1351] <220>
 [1352] <221> V_区
 [1353] <222> (91) .. (111)
 [1354] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR1
 [1355] <220>
 [1356] <221> V_区
 [1357] <222> (154) .. (201)
 [1358] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR2
 [1359] <220>
 [1360] <221> V_区
 [1361] <222> (298) .. (339)
 [1362] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR3
 [1363] <400> 37

[1364] cag ata cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg agg ccc acg gag 48
 [1365] Gln Ile Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Thr Glu
 [1366] 1 5 10 15
 [1367] acc ctg tcc ctc act tgt agt gtc tct ggt gac tcc atc agt cag agt 96
 [1368] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Gln Ser
 [1369] 20 25 30
 [1370] agt cat tac tgg gcc tgg att cgc cag ccc cca ggg aag gga cca gaa 144
 [1371] Ser His Tyr Trp Ala Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Pro Glu
 [1372] 35 40 45
 [1373] tgg att ggc agt gtc tat ttt agc tcg atg acc cac tac aac ccg tcc 192
 [1374] Trp Ile Gly Ser Val Tyr Phe Ser Ser Met Thr His Tyr Asn Pro Ser
 [1375] 50 55 60
 [1376] ctc aca agt cgc gtc agc atc tcc att gac aag gcc atg aat aag ttc 240
 [1377] Leu Thr Ser Arg Val Ser Ile Ser Ile Asp Lys Ala Met Asn Lys Phe
 [1378] 65 70 75 80
 [1379] tcc tta aaa gtg acc tct gtg act gtc gcc gac acg gcc aca tat tac 288
 [1380] Ser Leu Lys Val Thr Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 [1381] 85 90 95
 [1382] tgt gcg aga cag gcc ctt gcc cga gtc gga gcc atg aat tgg ttc gac 336
 [1383] Cys Ala Arg Gln Ala Leu Ala Arg Val Gly Ala Met Asn Trp Phe Asp
 [1384] 100 105 110
 [1385] ccc tgg ggc cag gga tct ctg gtc aca gtc tcc tca 372
 [1386] Pro Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
 [1387] 115 120
 [1388] <210> 38
 [1389] <211> 124
 [1390] <212> PRT
 [1391] <213> 智人
 [1392] <400> 38
 [1393] Gln Ile Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Thr Glu
 [1394] 1 5 10 15
 [1395] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Gln Ser
 [1396] 20 25 30
 [1397] Ser His Tyr Trp Ala Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Pro Glu
 [1398] 35 40 45
 [1399] Trp Ile Gly Ser Val Tyr Phe Ser Ser Met Thr His Tyr Asn Pro Ser
 [1400] 50 55 60
 [1401] Leu Thr Ser Arg Val Ser Ile Ser Ile Asp Lys Ala Met Asn Lys Phe
 [1402] 65 70 75 80

[1403] Ser Leu Lys Val Thr Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 [1404] 85 90 95
 [1405] Cys Ala Arg Gln Ala Leu Ala Arg Val Gly Ala Met Asn Trp Phe Asp
 [1406] 100 105 110
 [1407] Pro Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
 [1408] 115 120
 [1409] <210> 39
 [1410] <211> 339
 [1411] <212> DNA
 [1412] <213> 智人
 [1413] <220>
 [1414] <221> CDS
 [1415] <222> (1) .. (339)
 [1416] <223> 31B4-VL可变轻链(VL)序列, κ型
 [1417] <220>
 [1418] <221> V_区
 [1419] <222> (70) .. (120)
 [1420] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR1
 [1421] <220>
 [1422] <221> V_区
 [1423] <222> (166) .. (186)
 [1424] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR2
 [1425] <220>
 [1426] <221> V_区
 [1427] <222> (283) .. (309)
 [1428] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR3
 [1429] <400> 39
 [1430] gac atc ata atg acc cag tct cca gag tcc ctg cct gtg tct ctg ggc 48
 [1431] Asp Ile Ile Met Thr Gln Ser Pro Glu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 [1432] 1 5 10 15
 [1433] gag ggg gtc acc atc aac tgc aag tcc agc cag agc gtc ttt ttc acc 96
 [1434] Glu Gly Val Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Thr
 [1435] 20 25 30
 [1436] tcc agt aat agg agt tgt tta gct tgg tat cag cag aag cca gga cag 144
 [1437] Ser Ser Asn Arg Ser Cys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 [1438] 35 40 45
 [1439] tct ccc aaa ttg ctc att tac tgg gca tca acc cgc caa tcc ggg gtc 192
 [1440] Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Gln Ser Gly Val
 [1441] 50 55 60

[1442] cct gac cga ttc aca ggc agc ggg tct ggg aca gat ttc tct ctc acc 240
 [1443] Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr
 [1444] 65 70 75 80
 [1445] atc gcc ggt ctg cag gtt gaa gat gtg gct gtt tat ttc tgt cag cag 288
 [1446] Ile Ala Gly Leu Gln Val Glu Asp Val Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln
 [1447] 85 90 95
 [1448] tgt cac gca tcc cct ccc act ttc ggc ggc ggg acc agg ttg gag ctc 336
 [1449] Cys His Ala Ser Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Leu
 [1450] 100 105 110
 [1451] aga 339
 [1452] Arg
 [1453] <210> 40
 [1454] <211> 113
 [1455] <212> PRT
 [1456] <213> 智人
 [1457] <400> 40
 [1458] Asp Ile Ile Met Thr Gln Ser Pro Glu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 [1459] 1 5 10 15
 [1460] Glu Gly Val Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Thr
 [1461] 20 25 30
 [1462] Ser Ser Asn Arg Ser Cys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 [1463] 35 40 45
 [1464] Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Gln Ser Gly Val
 [1465] 50 55 60
 [1466] Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr
 [1467] 65 70 75 80
 [1468] Ile Ala Gly Leu Gln Val Glu Asp Val Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln
 [1469] 85 90 95
 [1470] Cys His Ala Ser Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Leu
 [1471] 100 105 110
 [1472] Arg
 [1473] <210> 41
 [1474] <211> 993
 [1475] <212> DNA
 [1476] <213> 智人
 [1477] <220>
 [1478] <221> CDS
 [1479] <222> (1) .. (993)
 [1480] <223> 31B4-CH恒定重链 (CH) 序列

[1481] <400> 41
 [1482] gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48
 [1483] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 [1484] 1 5 10 15
 [1485] agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96
 [1486] Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 [1487] 20 25 30
 [1488] ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144
 [1489] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 [1490] 35 40 45
 [1491] ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192
 [1492] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 [1493] 50 55 60
 [1494] ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240
 [1495] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 [1496] 65 70 75 80
 [1497] tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag 288
 [1498] Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 [1499] 85 90 95
 [1500] aga gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc 336
 [1501] Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 [1502] 100 105 110
 [1503] cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca 384
 [1504] Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 [1505] 115 120 125
 [1506] aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc 432
 [1507] Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 [1508] 130 135 140
 [1509] gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg 480
 [1510] Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 [1511] 145 150 155 160
 [1512] tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag 528
 [1513] Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 [1514] 165 170 175
 [1515] gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg 576
 [1516] Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 [1517] 180 185 190
 [1518] cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac 624
 [1519] His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

| | | | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| [1520] | 195 | 200 | 205 | |
| [1521] | aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg | | | 672 |
| [1522] | Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly | | | |
| [1523] | 210 | 215 | 220 | |
| [1524] | cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag | | | 720 |
| [1525] | Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu | | | |
| [1526] | 225 | 230 | 235 | 240 |
| [1527] | atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat | | | 768 |
| [1528] | Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr | | | |
| [1529] | | 245 | 250 | 255 |
| [1530] | ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac | | | 816 |
| [1531] | Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn | | | |
| [1532] | | 260 | 265 | 270 |
| [1533] | aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc | | | 864 |
| [1534] | Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe | | | |
| [1535] | | 275 | 280 | 285 |
| [1536] | ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac | | | 912 |
| [1537] | Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn | | | |
| [1538] | 290 | 295 | 300 | |
| [1539] | gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg | | | 960 |
| [1540] | Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr | | | |
| [1541] | 305 | 310 | 315 | 320 |
| [1542] | cag aag agc ctc tcc ctg tcc ccg ggt aaa tga | | | 993 |
| [1543] | Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys | | | |
| [1544] | | 325 | 330 | |
| [1545] | <210> | 42 | | |
| [1546] | <211> | 330 | | |
| [1547] | <212> | PRT | | |
| [1548] | <213> | 智人 | | |
| [1549] | <400> | 42 | | |
| [1550] | Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys | | | |
| [1551] | 1 | 5 | 10 | 15 |
| [1552] | Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr | | | |
| [1553] | | 20 | 25 | 30 |
| [1554] | Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser | | | |
| [1555] | | 35 | 40 | 45 |
| [1556] | Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser | | | |
| [1557] | | 50 | 55 | 60 |
| [1558] | Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr | | | |

| | | | | |
|--------|---------------------|---------------------|-----------------|---------|
| [1559] | 65 | 70 | 75 | 80 |
| [1560] | Tyr Ile Cys Asn Val | Asn His Lys Pro Ser | Asn Thr Lys Val | Asp Lys |
| [1561] | | 85 | 90 | 95 |
| [1562] | Arg Val Glu Pro Lys | Ser Cys Asp Lys Thr | His Thr Cys Pro | Pro Cys |
| [1563] | | 100 | 105 | 110 |
| [1564] | Pro Ala Pro Glu Leu | Leu Gly Gly Pro Ser | Val Phe Leu Phe | Pro Pro |
| [1565] | | 115 | 120 | 125 |
| [1566] | Lys Pro Lys Asp Thr | Leu Met Ile Ser Arg | Thr Pro Glu Val | Thr Cys |
| [1567] | | 130 | 135 | 140 |
| [1568] | Val Val Val Asp Val | Ser His Glu Asp Pro | Glu Val Lys Phe | Asn Trp |
| [1569] | 145 | 150 | 155 | 160 |
| [1570] | Tyr Val Asp Gly Val | Glu Val His Asn Ala | Lys Thr Lys Pro | Arg Glu |
| [1571] | | 165 | 170 | 175 |
| [1572] | Glu Gln Tyr Asn Ser | Thr Tyr Arg Val Val | Ser Val Leu Thr | Val Leu |
| [1573] | | 180 | 185 | 190 |
| [1574] | His Gln Asp Trp Leu | Asn Gly Lys Glu Tyr | Lys Cys Lys Val | Ser Asn |
| [1575] | | 195 | 200 | 205 |
| [1576] | Lys Ala Leu Pro Ala | Pro Ile Glu Lys Thr | Ile Ser Lys Ala | Lys Gly |
| [1577] | | 210 | 215 | 220 |
| [1578] | Gln Pro Arg Glu Pro | Gln Val Tyr Thr Leu | Pro Pro Ser Arg | Glu Glu |
| [1579] | 225 | 230 | 235 | 240 |
| [1580] | Met Thr Lys Asn Gln | Val Ser Leu Thr Cys | Leu Val Lys Gly | Phe Tyr |
| [1581] | | 245 | 250 | 255 |
| [1582] | Pro Ser Asp Ile Ala | Val Glu Trp Glu Ser | Asn Gly Gln Pro | Glu Asn |
| [1583] | | 260 | 265 | 270 |
| [1584] | Asn Tyr Lys Thr Thr | Pro Pro Val Leu Asp | Ser Asp Gly Ser | Phe Phe |
| [1585] | | 275 | 280 | 285 |
| [1586] | Leu Tyr Ser Lys Leu | Thr Val Asp Lys Ser | Arg Trp Gln Gln | Gly Asn |
| [1587] | | 290 | 295 | 300 |
| [1588] | Val Phe Ser Cys Ser | Val Met His Glu Ala | Leu His Asn His | Tyr Thr |
| [1589] | 305 | 310 | 315 | 320 |
| [1590] | Gln Lys Ser Leu Ser | Leu Ser Pro Gly Lys | | |
| [1591] | | 325 | 330 | |
| [1592] | <210> | 43 | | |
| [1593] | <211> | 324 | | |
| [1594] | <212> | DNA | | |
| [1595] | <213> | 智人 | | |
| [1596] | <220> | | | |
| [1597] | <221> | CDS | | |

[1598] <222> (1) .. (324)
 [1599] <223> 31B4-CL恒定κ链 (CL) 序列
 [1600] <220>
 [1601] <221> misc_feature
 [1602] <222> (268) .. (324)
 [1603] <223> 未测序, 从数据库获得
 [1604] <400> 43
 [1605] cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48
 [1606] Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 [1607] 1 5 10 15
 [1608] cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 96
 [1609] Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 [1610] 20 25 30
 [1611] tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144
 [1612] Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 [1613] 35 40 45
 [1614] tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192
 [1615] Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 [1616] 50 55 60
 [1617] acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240
 [1618] Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 [1619] 65 70 75 80
 [1620] aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288
 [1621] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 [1622] 85 90 95
 [1623] ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324
 [1624] Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [1625] 100 105
 [1626] <210> 44
 [1627] <211> 107
 [1628] <212> PRT
 [1629] <213> 智人
 [1630] <400> 44
 [1631] Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 [1632] 1 5 10 15
 [1633] Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 [1634] 20 25 30
 [1635] Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 [1636] 35 40 45

- [1637] Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 [1638] 50 55 60
 [1639] Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 [1640] 65 70 75 80
 [1641] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 [1642] 85 90 95
 [1643] Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [1644] 100 105
 [1645] <210> 45
 [1646] <211> 40
 [1647] <212> DNA
 [1648] <213> 人工序列
 [1649] <220>
 [1650] <223> 正向寡核苷酸/引物IFNA1F,, 用于扩增编码IFNA1的aa 24-189的片段
 [1651] <400> 45
 [1652] tttggatcct atgtgatctc cctgagaccc acagcctgga 40
 [1653] <210> 46
 [1654] <211> 44
 [1655] <212> DNA
 [1656] <213> 人工序列
 [1657] <220>
 [1658] <223> 反向寡核苷酸/引物IFNA1R,, 用于扩增编码IFNA1的aa 24-189的片段
 [1659] <400> 46
 [1660] tttgcggccg cgaccagatg ttattccttc ctccttaate ttte 44
 [1661] <210> 47
 [1662] <211> 34
 [1663] <212> DNA
 [1664] <213> 人工序列
 [1665] <220>
 [1666] <223> 正向寡核苷酸/引物IFNA2F,, 用于扩增编码IFNA2的aa 24-188的片段
 [1667] <400> 47
 [1668] tttgggatcc tctgtgatct gcctcaaacc caca 34
 [1669] <210> 48
 [1670] <211> 33
 [1671] <212> DNA
 [1672] <213> 人工序列
 [1673] <220>
 [1674] <223> 反向寡核苷酸/引物IFNA2R,, 用于扩增编码IFNA2的aa 24-188的片段
 [1675] <400> 48

- [1676] tttgcggccg cttacttctt aaactttctt gca 33
- [1677] <210> 49
- [1678] <211> 39
- [1679] <212> DNA
- [1680] <213> 人工序列
- [1681] <220>
- [1682] <223> 正向寡核苷酸/引物IFNA4F,, 用于扩增编码IFNA4的aa 24-189的片段
- [1683] <400> 49
- [1684] tttggatcct atgtgatctg cctcagaccc acagcctgg 39
- [1685] <210> 50
- [1686] <211> 54
- [1687] <212> DNA
- [1688] <213> 人工序列
- [1689] <220>
- [1690] <223> 反向寡核苷酸/引物IFNA4R,, 用于扩增编码IFNA4的aa 24-189的片段且用于扩增编码IFNA10的aa 24-189的片段
- [1691] <400> 50
- [1692] tttgcggccg ctcaatcctt cctccttaat cttttttgca agtttggtga aaac 54
- [1693] <210> 51
- [1694] <211> 46
- [1695] <212> DNA
- [1696] <213> 人工序列
- [1697] <220>
- [1698] <223> 正向寡核苷酸/引物IFNA5F,, 用于扩增编码IFNA5的aa 22-189的片段
- [1699] <400> 51
- [1700] tttggatcct actgggctgt gatctgcctc agaccacag cctgag 46
- [1701] <210> 52
- [1702] <211> 47
- [1703] <212> DNA
- [1704] <213> 人工序列
- [1705] <220>
- [1706] <223> 反向寡核苷酸/引物IFNA5R,, 用于扩增编码IFNA5的aa 22-189的片段
- [1707] <400> 52
- [1708] tttgcggccg ctcattcctt cctccttaat ctttcttgca agtttgc 47
- [1709] <210> 53
- [1710] <211> 51
- [1711] <212> DNA
- [1712] <213> 人工序列
- [1713] <220>

- [1714] <223> 正向寡核苷酸/引物IFNA6F,, 用于扩增编码IFNA6的aa 21-189的片段
[1715] <400> 53
[1716] tttggatcct atctctggac tgtgatctgc ctcagacca cagcctgggt c 51
[1717] <210> 54
[1718] <211> 46
[1719] <212> DNA
[1720] <213> 人工序列
[1721] <220>
[1722] <223> 反向寡核苷酸/引物IFNA6R,, 用于扩增编码IFNA6的aa 21-189的片段
[1723] <400> 54
[1724] tttgcgcccg cttattcctt cctccttaac ctttcttgca agtttc 46
[1725] <210> 55
[1726] <211> 39
[1727] <212> DNA
[1728] <213> 人工序列
[1729] <220>
[1730] <223> 正向寡核苷酸/引物IFNA7F,, 用于扩增编码IFNA7的aa 24-189的片段
[1731] <400> 55
[1732] tttggatcct atgtgatctg cctcagaccc acagcctgc 39
[1733] <210> 56
[1734] <211> 48
[1735] <212> DNA
[1736] <213> 人工序列
[1737] <220>
[1738] <223> 反向寡核苷酸/引物IFNA7R,, 用于扩增编码IFNA7的aa 24-189的片段
[1739] <400> 56
[1740] tttgcgcccg cgaaccagtt ttcaatcctt cctccttaat cctttttt 48
[1741] <210> 57
[1742] <211> 34
[1743] <212> DNA
[1744] <213> 人工序列
[1745] <220>
[1746] <223> 正向寡核苷酸/引物IFNA8F,, 用于扩增编码IFNA8的aa 23-189的片段
[1747] <400> 57
[1748] tttgggatcc tctgtgatct gcctcagact caca 34
[1749] <210> 58
[1750] <211> 33
[1751] <212> DNA
[1752] <213> 人工序列

- [1753] <220>
- [1754] <223> 反向寡核苷酸/引物IFNA8R,, 用于扩增编码IFNA8的aa 23-189的片段
- [1755] <400> 58
- [1756] tttgcgccg ctcatcctt actcttcaat ctt 33
- [1757] <210> 59
- [1758] <211> 40
- [1759] <212> DNA
- [1760] <213> 人工序列
- [1761] <220>
- [1762] <223> 正向寡核苷酸/引物IFNA17F,, 用于扩增编码IFNA10的aa 24-189的片段
且用于扩增编码IFNA17的24-189的片段
- [1763] <400> 59
- [1764] tttggatcct atgtgatctg cctcagaccc acagcctggg 40
- [1765] <210> 60
- [1766] <211> 40
- [1767] <212> DNA
- [1768] <213> 人工序列
- [1769] <220>
- [1770] <223> 正向寡核苷酸/引物IFNA14F,, 用于扩增编码IFNA14的aa 24-189的片段
- [1771] <400> 60
- [1772] tttggatcct atgtaatctg tctcaaacc acagcctgaa 40
- [1773] <210> 61
- [1774] <211> 47
- [1775] <212> DNA
- [1776] <213> 人工序列
- [1777] <220>
- [1778] <223> 反向寡核苷酸/引物IFNA14R,, 用于扩增编码IFNA14的24-189的片段
- [1779] <400> 61
- [1780] tttgcgccg ctcaatccttcctccttaat cttttttgca agtttgt 47
- [1781] <210> 62
- [1782] <211> 29
- [1783] <212> DNA
- [1784] <213> 人工序列
- [1785] <220>
- [1786] <223> 正向寡核苷酸/引物IFNA16F,, 用于扩增编码IFNA16的aa 24-189的片段
- [1787] <400> 62
- [1788] tttggatcct atgtgatctg cctcagact 29
- [1789] <210> 63
- [1790] <211> 32

- [1791] <212> DNA
[1792] <213> 人工序列
[1793] <220>
[1794] <223> 反向寡核苷酸/引物IFNA16R,, 用于扩增编码IFNA16的aa 24-189的片段
[1795] <400> 63
[1796] tttgcggccg ctcaatcctt ccttcttaat cc 32
[1797] <210> 64
[1798] <211> 44
[1799] <212> DNA
[1800] <213> 人工序列
[1801] <220>
[1802] <223> 反向寡核苷酸/引物IFNA17R,, 用于扩增编码IFNA17的aa 24-189的片段
[1803] <400> 64
[1804] tttgcggccg cgttgaacca gttttcaatc cttcctcctt aata 44
[1805] <210> 65
[1806] <211> 37
[1807] <212> DNA
[1808] <213> 人工序列
[1809] <220>
[1810] <223> 正向寡核苷酸/引物IFNA21F,, 用于扩增编码IFNA21的aa 24-189的片段
[1811] <400> 65
[1812] tttgatcct atgtgatctg cctcagaccc acagcct 37
[1813] <210> 66
[1814] <211> 43
[1815] <212> DNA
[1816] <213> 人工序列
[1817] <220>
[1818] <223> 反向寡核苷酸/引物IFNA21R,, 用于扩增编码IFNA21的aa 24-189的片段
[1819] <400> 66
[1820] tttgcggccg ctcatcctt cctccttaat ctttcttgaa aaa 43
[1821] <210> 67
[1822] <211> 39
[1823] <212> DNA
[1824] <213> 人工序列
[1825] <220>
[1826] <223> 正向寡核苷酸/引物IFNB1F, 用于扩增编码IFN- β 1的aa 22-187的片段
[1827] <400> 67
[1828] tttgatcct aatgagctac aacttgcttg gattcctac 39
[1829] <210> 68

- [1830] <211> 38
[1831] <212> DNA
[1832] <213> 人工序列
[1833] <220>
[1834] <223> 反向寡核苷酸/引物IFNB1R, 用于扩增编码IFN- β 1的aa 22-187的片段
[1835] <400> 68
[1836] tttgcggccg ctcagtttcg gaggtaacct gtaagtct 38
[1837] <210> 69
[1838] <211> 41
[1839] <212> DNA
[1840] <213> 人工序列
[1841] <220>
[1842] <223> 正向寡核苷酸/引物IFNGF, 用于扩增编码IFN- γ 的24-166的片段
[1843] <400> 69
[1844] tttggatcct acaggacceca tatgtaaaag aagcagaaaa c 41
[1845] <210> 70
[1846] <211> 36
[1847] <212> DNA
[1848] <213> 人工序列
[1849] <220>
[1850] <223> 反向寡核苷酸/引物IFNGR, 用于扩增编码IFN- γ 的aa 24-166的片段
[1851] <400> 70
[1852] tttgcggccg cccattactg ggatgctctt cgacct 36
[1853] <210> 71
[1854] <211> 993
[1855] <212> DNA
[1856] <213> 智人
[1857] <220>
[1858] <221> CDS
[1859] <222> (1) .. (993)
[1860] <223> 19D11-CH恒定重链(CH)序列
[1861] <220>
[1862] <221> Unsure
[1863] <222> (1) .. (35)
[1864] <223> 未测序, 从数据库获得
[1865] <220>
[1866] <221> misc_feature
[1867] <222> (966) .. (966)
[1868] <223> n is a, c, g, or t

[1869] <220>
 [1870] <221> misc_feature
 [1871] <222> (968)..(968)
 [1872] <223> n is a, c, g, or t
 [1873] <400> 71
 [1874] gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48
 [1875] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 [1876] 1 5 10 15
 [1877] agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96
 [1878] Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 [1879] 20 25 30
 [1880] ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144
 [1881] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 [1882] 35 40 45
 [1883] ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192
 [1884] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 [1885] 50 55 60
 [1886] ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240
 [1887] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 [1888] 65 70 75 80
 [1889] tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag 288
 [1890] Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 [1891] 85 90 95
 [1892] aga gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc 336
 [1893] Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 [1894] 100 105 110
 [1895] cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca 384
 [1896] Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 [1897] 115 120 125
 [1898] aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc 432
 [1899] Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 [1900] 130 135 140
 [1901] gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg 480
 [1902] Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 [1903] 145 150 155 160
 [1904] tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag 528
 [1905] Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 [1906] 165 170 175
 [1907] gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg 576

[1908] Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 [1909] 180 185 190
 [1910] cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac 624
 [1911] His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 [1912] 195 200 205
 [1913] aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg 672
 [1914] Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 [1915] 210 215 220
 [1916] cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag 720
 [1917] Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 [1918] 225 230 235 240
 [1919] atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat 768
 [1920] Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 [1921] 245 250 255
 [1922] ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac 816
 [1923] Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 [1924] 260 265 270
 [1925] aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc 864
 [1926] Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 [1927] 275 280 285
 [1928] ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac 912
 [1929] Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 [1930] 290 295 300
 [1931] gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg 960
 [1932] Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 [1933] 305 310 315 320
 [1934] cag aan anc ctc tcc ctg tcc ccg ggt aaa tga 993
 [1935] Gln Xaa Xaa Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 [1936] 325 330
 [1937] <210> 72
 [1938] <211> 330
 [1939] <212> PRT
 [1940] <213> 智人
 [1941] <220>
 [1942] <221> misc_feature
 [1943] <222> (322)..(322)
 [1944] <223> The 'Xaa' at location 322 stands for Lys, or Asn.
 [1945] <220>
 [1946] <221> misc_feature

[1947] <222> (323) .. (323)
 [1948] <223> The 'Xaa' at location 323 stands for Asn, Ser, Thr, or Ile.
 [1949] <400> 72
 [1950] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 [1951] 1 5 10 15
 [1952] Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 [1953] 20 25 30
 [1954] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 [1955] 35 40 45
 [1956] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 [1957] 50 55 60
 [1958] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 [1959] 65 70 75 80
 [1960] Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 [1961] 85 90 95
 [1962] Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 [1963] 100 105 110
 [1964] Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 [1965] 115 120 125
 [1966] Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 [1967] 130 135 140
 [1968] Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 [1969] 145 150 155 160
 [1970] Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 [1971] 165 170 175
 [1972] Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 [1973] 180 185 190
 [1974] His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 [1975] 195 200 205
 [1976] Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 [1977] 210 215 220
 [1978] Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 [1979] 225 230 235 240
 [1980] Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 [1981] 245 250 255
 [1982] Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 [1983] 260 265 270
 [1984] Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 [1985] 275 280 285

| | |
|--------|---------------------------------------------------------------------|
| [1986] | Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn |
| [1987] | 290 295 300 |
| [1988] | Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr |
| [1989] | 305 310 315 320 |
| [1990] | Gln Xaa Xaa Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys |
| [1991] | 325 330 |
| [1992] | <210> 73 |
| [1993] | <211> 324 |
| [1994] | <212> DNA |
| [1995] | <213> 智人 |
| [1996] | <220> |
| [1997] | <221> CDS |
| [1998] | <222> (1) .. (324) |
| [1999] | <223> 19D11-CL恒定κ链 (CL)序列 |
| [2000] | <400> 73 |
| [2001] | cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48 |
| [2002] | Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu |
| [2003] | 1 5 10 15 |
| [2004] | cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 96 |
| [2005] | Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe |
| [2006] | 20 25 30 |
| [2007] | tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144 |
| [2008] | Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln |
| [2009] | 35 40 45 |
| [2010] | tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192 |
| [2011] | Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser |
| [2012] | 50 55 60 |
| [2013] | acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240 |
| [2014] | Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu |
| [2015] | 65 70 75 80 |
| [2016] | aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288 |
| [2017] | Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser |
| [2018] | 85 90 95 |
| [2019] | ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324 |
| [2020] | Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys |
| [2021] | 100 105 |
| [2022] | <210> 74 |
| [2023] | <211> 107 |
| [2024] | <212> PRT |

[2025] <213> 智人
 [2026] <400> 74
 [2027] Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 [2028] 1 5 10 15
 [2029] Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 [2030] 20 25 30
 [2031] Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 [2032] 35 40 45
 [2033] Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 [2034] 50 55 60
 [2035] Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 [2036] 65 70 75 80
 [2037] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 [2038] 85 90 95
 [2039] Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [2040] 100 105
 [2041] <210> 75
 [2042] <211> 372
 [2043] <212> DNA
 [2044] <213> 智人
 [2045] <220>
 [2046] <221> CDS
 [2047] <222> (1) .. (372)
 [2048] <223> 8H1-VH可变重链 (VH) 序列; 8H1: κ
 [2049] <220>
 [2050] <221> V_区
 [2051] <222> (91) .. (105)
 [2052] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR1
 [2053] <220>
 [2054] <221> V_区
 [2055] <222> (148) .. (198)
 [2056] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR2
 [2057] <220>
 [2058] <221> V_区
 [2059] <222> (295) .. (339)
 [2060] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR3
 [2061] <400> 75
 [2062] cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc 48
 [2063] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

| | | | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|----|
| [2064] | 1 | 5 | 10 | 15 |
| [2065] | tca gtc aag gtc tcc tgc aag gct tct gga cag acc ttc acc agt gat | 96 | | |
| [2066] | Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gln Thr Phe Thr Ser Asp | | | |
| [2067] | 20 | 25 | 30 | |
| [2068] | gat atc aac tgg gtg cga cag gcc cct gga cag ggg cta gag tgg atg | 144 | | |
| [2069] | Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met | | | |
| [2070] | 35 | 40 | 45 | |
| [2071] | gga tgg agg aac cct aac act cag gac acg ggc tat gca cag aag ttc | 192 | | |
| [2072] | Gly Trp Arg Asn Pro Asn Thr Gln Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe | | | |
| [2073] | 50 | 55 | 60 | |
| [2074] | cac ggc aga ctc acc ttg acc agc aac agt tcc ata agt aca tcc tat | 240 | | |
| [2075] | His Gly Arg Leu Thr Leu Thr Ser Asn Ser Ser Ile Ser Thr Ser Tyr | | | |
| [2076] | 65 | 70 | 75 | 80 |
| [2077] | ctg gag ttg agc ggc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt | 288 | | |
| [2078] | Leu Glu Leu Ser Gly Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys | | | |
| [2079] | 85 | 90 | 95 | |
| [2080] | gcg aga gcg ggg act tcg acc ttg acc ggc cac tac ttc gct ttg ggg | 336 | | |
| [2081] | Ala Arg Ala Gly Thr Ser Thr Leu Thr Gly His Tyr Phe Ala Leu Gly | | | |
| [2082] | 100 | 105 | 110 | |
| [2083] | gtc tgg ggc cag ggg acc acg gtc atc gtc tcc tca | 372 | | |
| [2084] | Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Ile Val Ser Ser | | | |
| [2085] | 115 | 120 | | |
| [2086] | <210> 76 | | | |
| [2087] | <211> 124 | | | |
| [2088] | <212> PRT | | | |
| [2089] | <213> 智人 | | | |
| [2090] | <400> 76 | | | |
| [2091] | Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala | | | |
| [2092] | 1 | 5 | 10 | 15 |
| [2093] | Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gln Thr Phe Thr Ser Asp | | | |
| [2094] | 20 | 25 | 30 | |
| [2095] | Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met | | | |
| [2096] | 35 | 40 | 45 | |
| [2097] | Gly Trp Arg Asn Pro Asn Thr Gln Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe | | | |
| [2098] | 50 | 55 | 60 | |
| [2099] | His Gly Arg Leu Thr Leu Thr Ser Asn Ser Ser Ile Ser Thr Ser Tyr | | | |
| [2100] | 65 | 70 | 75 | 80 |
| [2101] | Leu Glu Leu Ser Gly Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys | | | |
| [2102] | 85 | 90 | 95 | |

[2103] Ala Arg Ala Gly Thr Ser Thr Leu Thr Gly His Tyr Phe Ala Leu Gly
 [2104] 100 105 110
 [2105] Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Ile Val Ser Ser
 [2106] 115 120
 [2107] <210> 77
 [2108] <211> 321
 [2109] <212> DNA
 [2110] <213> 智人
 [2111] <220>
 [2112] <221> CDS
 [2113] <222> (1) .. (321)
 [2114] <223> 8H1-VL可变轻链(VL)序列, κ型
 [2115] <220>
 [2116] <221> V_区
 [2117] <222> (70) .. (102)
 [2118] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR1
 [2119] <220>
 [2120] <221> V_区
 [2121] <222> (148) .. (168)
 [2122] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR2
 [2123] <220>
 [2124] <221> V_区
 [2125] <222> (265) .. (291)
 [2126] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR3
 [2127] <400> 77
 [2128] gac atc cag ctg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct gta gga 48
 [2129] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 [2130] 1 5 10 15
 [2131] gac aga gtc acc atc act tgt cag gcg act cag gat att agc aaa tat 96
 [2132] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Thr Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
 [2133] 20 25 30
 [2134] tta aat tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gtc cct aaa ctc ctg atc 144
 [2135] Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 [2136] 35 40 45
 [2137] tac gaa aca tcc aat ttg gaa gta ggg gtc cca tca agg ttc agt gga 192
 [2138] Tyr Glu Thr Ser Asn Leu Glu Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 [2139] 50 55 60
 [2140] agt ggg tct ggg aca cat ttt act ctc acc atc agc agc ctg cag gct 240
 [2141] Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala

| | | | | |
|--------|---------------------------------------------------------------------|-----|----|----|
| [2142] | 65 | 70 | 75 | 80 |
| [2143] | gaa gat ttt gca aca tat tac tgt caa cag tat gag aat ttc ccg ttc 288 | | | |
| [2144] | Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu Asn Phe Pro Phe | | | |
| [2145] | 85 | 90 | 95 | |
| [2146] | act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa 321 | | | |
| [2147] | Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys | | | |
| [2148] | 100 | 105 | | |
| [2149] | <210> 78 | | | |
| [2150] | <211> 107 | | | |
| [2151] | <212> PRT | | | |
| [2152] | <213> 智人 | | | |
| [2153] | <400> 78 | | | |
| [2154] | Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly | | | |
| [2155] | 1 | 5 | 10 | 15 |
| [2156] | Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Thr Gln Asp Ile Ser Lys Tyr | | | |
| [2157] | 20 | 25 | 30 | |
| [2158] | Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile | | | |
| [2159] | 35 | 40 | 45 | |
| [2160] | Tyr Glu Thr Ser Asn Leu Glu Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly | | | |
| [2161] | 50 | 55 | 60 | |
| [2162] | Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala | | | |
| [2163] | 65 | 70 | 75 | 80 |
| [2164] | Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu Asn Phe Pro Phe | | | |
| [2165] | 85 | 90 | 95 | |
| [2166] | Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys | | | |
| [2167] | 100 | 105 | | |
| [2168] | <210> 79 | | | |
| [2169] | <211> 990 | | | |
| [2170] | <212> DNA | | | |
| [2171] | <213> 智人 | | | |
| [2172] | <220> | | | |
| [2173] | <221> CDS | | | |
| [2174] | <222> (1) .. (990) | | | |
| [2175] | <223> 8H1-CH恒定重链(CH)序列 | | | |
| [2176] | <400> 79 | | | |
| [2177] | gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48 | | | |
| [2178] | Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys | | | |
| [2179] | 1 | 5 | 10 | 15 |
| [2180] | agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96 | | | |

| | |
|--------|---------------------------------------------------------------------|
| [2181] | Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr |
| [2182] | 20 25 30 |
| [2183] | ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144 |
| [2184] | Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser |
| [2185] | 35 40 45 |
| [2186] | ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192 |
| [2187] | Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser |
| [2188] | 50 55 60 |
| [2189] | ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240 |
| [2190] | Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr |
| [2191] | 65 70 75 80 |
| [2192] | tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag 288 |
| [2193] | Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys |
| [2194] | 85 90 95 |
| [2195] | aga gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc 336 |
| [2196] | Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys |
| [2197] | 100 105 110 |
| [2198] | cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca 384 |
| [2199] | Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro |
| [2200] | 115 120 125 |
| [2201] | aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc 432 |
| [2202] | Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys |
| [2203] | 130 135 140 |
| [2204] | gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg 480 |
| [2205] | Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp |
| [2206] | 145 150 155 160 |
| [2207] | tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag 528 |
| [2208] | Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu |
| [2209] | 165 170 175 |
| [2210] | gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg 576 |
| [2211] | Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu |
| [2212] | 180 185 190 |
| [2213] | cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac 624 |
| [2214] | His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn |
| [2215] | 195 200 205 |
| [2216] | aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg 672 |
| [2217] | Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly |
| [2218] | 210 215 220 |
| [2219] | cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag 720 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|--|--|--|--|-----|--|--|--|--|-----|--|--|--|--|--|--|--|-----|
| [2220] | Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2221] | 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | | | | 240 |
| [2222] | atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat | | | | | | | | | | | | | | | | | | 768 |
| [2223] | Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2224] | | | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | | | | 255 |
| [2225] | ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac | | | | | | | | | | | | | | | | | | 816 |
| [2226] | Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2227] | | | | | | 260 | | | | | 265 | | | | | | | | 270 |
| [2228] | aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc | | | | | | | | | | | | | | | | | | 864 |
| [2229] | Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2230] | | | | | | 275 | | | | | 280 | | | | | | | | 285 |
| [2231] | ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac | | | | | | | | | | | | | | | | | | 912 |
| [2232] | Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2233] | | | | | | 290 | | | | | 295 | | | | | | | | 300 |
| [2234] | gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg | | | | | | | | | | | | | | | | | | 960 |
| [2235] | Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2236] | 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | | | | 320 |
| [2237] | cag aag agc ctc tcc ctg tcc ccg ggt aaa | | | | | | | | | | | | | | | | | | 990 |
| [2238] | Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2239] | | | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | | | | |
| [2240] | <210> | | | | | | | | | | | | | | | | | | 80 |
| [2241] | <211> | | | | | | | | | | | | | | | | | | 330 |
| [2242] | <212> | | | | | | | | | | | | | | | | | | PRT |
| [2243] | <213> | | | | | | | | | | | | | | | | | | 智人 |
| [2244] | <400> | | | | | | | | | | | | | | | | | | 80 |
| [2245] | Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2246] | 1 | | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | | | | 15 |
| [2247] | Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2248] | | | | | | 20 | | | | | 25 | | | | | | | | 30 |
| [2249] | Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2250] | | | | | | 35 | | | | | 40 | | | | | | | | 45 |
| [2251] | Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2252] | | | | | | 50 | | | | | 55 | | | | | | | | 60 |
| [2253] | Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2254] | 65 | | | | | | | | | | 70 | | | | | | | | 75 |
| [2255] | Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2256] | | | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | | | | 95 |
| [2257] | Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2258] | | | | | | 100 | | | | | 105 | | | | | | | | 110 |

| | |
|--------|--------------------------------------------------------------------|
| [2259] | Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro |
| [2260] | 115 120 125 |
| [2261] | Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys |
| [2262] | 130 135 140 |
| [2263] | Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp |
| [2264] | 145 150 155 160 |
| [2265] | Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu |
| [2266] | 165 170 175 |
| [2267] | Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu |
| [2268] | 180 185 190 |
| [2269] | His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn |
| [2270] | 195 200 205 |
| [2271] | Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly |
| [2272] | 210 215 220 |
| [2273] | Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu |
| [2274] | 225 230 235 240 |
| [2275] | Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr |
| [2276] | 245 250 255 |
| [2277] | Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn |
| [2278] | 260 265 270 |
| [2279] | Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe |
| [2280] | 275 280 285 |
| [2281] | Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn |
| [2282] | 290 295 300 |
| [2283] | Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr |
| [2284] | 305 310 315 320 |
| [2285] | Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys |
| [2286] | 325 330 |
| [2287] | <210> 81 |
| [2288] | <211> 324 |
| [2289] | <212> DNA |
| [2290] | <213> 智人 |
| [2291] | <220> |
| [2292] | <221> CDS |
| [2293] | <222> (1) .. (324) |
| [2294] | <223> 8H1-CL恒定κ链 (CL)序列 |
| [2295] | <400> 81 |
| [2296] | cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48 |
| [2297] | Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu |

| | | | | |
|--------|---------------------------------------------------------------------|-----|----|----|
| [2298] | 1 | 5 | 10 | 15 |
| [2299] | cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 96 | | | |
| [2300] | Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe | | | |
| [2301] | 20 | 25 | 30 | |
| [2302] | tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144 | | | |
| [2303] | Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln | | | |
| [2304] | 35 | 40 | 45 | |
| [2305] | tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192 | | | |
| [2306] | Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser | | | |
| [2307] | 50 | 55 | 60 | |
| [2308] | acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240 | | | |
| [2309] | Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu | | | |
| [2310] | 65 | 70 | 75 | 80 |
| [2311] | aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288 | | | |
| [2312] | Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser | | | |
| [2313] | 85 | 90 | 95 | |
| [2314] | ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324 | | | |
| [2315] | Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys | | | |
| [2316] | 100 | 105 | | |
| [2317] | <210> 82 | | | |
| [2318] | <211> 107 | | | |
| [2319] | <212> PRT | | | |
| [2320] | <213> 智人 | | | |
| [2321] | <400> 82 | | | |
| [2322] | Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu | | | |
| [2323] | 1 | 5 | 10 | 15 |
| [2324] | Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe | | | |
| [2325] | 20 | 25 | 30 | |
| [2326] | Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln | | | |
| [2327] | 35 | 40 | 45 | |
| [2328] | Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser | | | |
| [2329] | 50 | 55 | 60 | |
| [2330] | Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu | | | |
| [2331] | 65 | 70 | 75 | 80 |
| [2332] | Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser | | | |
| [2333] | 85 | 90 | 95 | |
| [2334] | Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys | | | |
| [2335] | 100 | 105 | | |
| [2336] | <210> 83 | | | |

[2337] <211> 369
 [2338] <212> DNA
 [2339] <213> 智人
 [2340] <220>
 [2341] <221> CDS
 [2342] <222> (1) .. (369)
 [2343] <223> 12H5-VH可变重链 (VH) 序列; 12H5, κ
 [2344] <220>
 [2345] <221> V_区
 [2346] <222> (91) .. (105)
 [2347] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR1
 [2348] <220>
 [2349] <221> V_区
 [2350] <222> (148) .. (198)
 [2351] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR2
 [2352] <220>
 [2353] <221> V_区
 [2354] <222> (295) .. (336)
 [2355] <223> 互补决定区 (CDR) VH-CDR3
 [2356] <400> 83
 [2357] caa gtg caa ctg ata cag tct ggg cct gag gtg aag agg cct ggg gcc 48
 [2358] Gln Val Gln Leu Ile Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Arg Pro Gly Ala
 [2359] 1 5 10 15
 [2360] tca gtg aag gtc tcc tgc aag gcg tct gaa aac acc ttc gac act cat 96
 [2361] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asn Thr Phe Asp Thr His
 [2362] 20 25 30
 [2363] tat att aat tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt act tgg ctg 144
 [2364] Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Thr Trp Leu
 [2365] 35 40 45
 [2366] gga tgg ctg aac cct acc act ggt aaa aca ggc ttt cca caa aag ttt 192
 [2367] Gly Trp Leu Asn Pro Thr Thr Gly Lys Thr Gly Phe Pro Gln Lys Phe
 [2368] 50 55 60
 [2369] aag ggc aga gtc att ctg acc agc gac acc tcc cta aat act gcc tat 240
 [2370] Lys Gly Arg Val Ile Leu Thr Ser Asp Thr Ser Leu Asn Thr Ala Tyr
 [2371] 65 70 75 80
 [2372] atg gaa gtg agc cgc ctg aca tct gag gac acg gcc gtt tat ttc tgt 288
 [2373] Met Glu Val Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 [2374] 85 90 95
 [2375] gcc aga gtt ttg aag ttg tct gat gag tac aac tat ggt ttc gac gtc 336

[2376] Ala Arg Val Leu Lys Leu Ser Asp Glu Tyr Asn Tyr Gly Phe Asp Val
 [2377] 100 105 110
 [2378] tgg ggc caa ggg acc acg gtc atc gtc tcc tca 369
 [2379] Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Ile Val Ser Ser
 [2380] 115 120
 [2381] <210> 84
 [2382] <211> 123
 [2383] <212> PRT
 [2384] <213> 智人
 [2385] <400> 84
 [2386] Gln Val Gln Leu Ile Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Arg Pro Gly Ala
 [2387] 1 5 10 15
 [2388] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asn Thr Phe Asp Thr His
 [2389] 20 25 30
 [2390] Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Thr Trp Leu
 [2391] 35 40 45
 [2392] Gly Trp Leu Asn Pro Thr Thr Gly Lys Thr Gly Phe Pro Gln Lys Phe
 [2393] 50 55 60
 [2394] Lys Gly Arg Val Ile Leu Thr Ser Asp Thr Ser Leu Asn Thr Ala Tyr
 [2395] 65 70 75 80
 [2396] Met Glu Val Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 [2397] 85 90 95
 [2398] Ala Arg Val Leu Lys Leu Ser Asp Glu Tyr Asn Tyr Gly Phe Asp Val
 [2399] 100 105 110
 [2400] Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Ile Val Ser Ser
 [2401] 115 120
 [2402] <210> 85
 [2403] <211> 324
 [2404] <212> DNA
 [2405] <213> 智人
 [2406] <220>
 [2407] <221> CDS
 [2408] <222> (1) .. (324)
 [2409] <223> 12H5-VL可变轻链 (VL) 序列, κ型
 [2410] <220>
 [2411] <221> V_区
 [2412] <222> (70) .. (102)
 [2413] <223> 互补决定区 (CDR) VL-CDR1
 [2414] <220>

[2415] <221> V_区
 [2416] <222> (148) .. (168)
 [2417] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR2
 [2418] <220>
 [2419] <221> V_区
 [2420] <222> (265) .. (294)
 [2421] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR3
 [2422] <400> 85
 [2423] gac atc cag gtg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct att ggg 48
 [2424] Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly
 [2425] 1 5 10 15
 [2426] gac aga gtc acc atc acg tgc cgg gca agt cag aac att ctc acc ttt 96
 [2427] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Leu Thr Phe
 [2428] 20 25 30
 [2429] ata aat tgg tat cag cac aaa cca ggg aaa gcc cct aaa ctc ctg atc 144
 [2430] Ile Asn Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 [2431] 35 40 45
 [2432] tat gct gca tcc gtt tta caa aat gaa gtc cca tca agg ttc agt ggc 192
 [2433] Tyr Ala Ala Ser Val Leu Gln Asn Glu Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 [2434] 50 55 60
 [2435] agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc acc agt ctg caa cct 240
 [2436] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
 [2437] 65 70 75 80
 [2438] gac gat ttt gga act tac tac tgt cag cag act tac ctt acc cct caa 288
 [2439] Asp Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Leu Thr Pro Gln
 [2440] 85 90 95
 [2441] tgc agt ttt ggc cag ggg acc aag gtg gag atc aaa 324
 [2442] Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 [2443] 100 105
 [2444] <210> 86
 [2445] <211> 108
 [2446] <212> PRT
 [2447] <213> 智人
 [2448] <400> 86
 [2449] Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly
 [2450] 1 5 10 15
 [2451] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Leu Thr Phe
 [2452] 20 25 30
 [2453] Ile Asn Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

[2454] 35 40 45
 [2455] Tyr Ala Ala Ser Val Leu Gln Asn Glu Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 [2456] 50 55 60
 [2457] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
 [2458] 65 70 75 80
 [2459] Asp Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Leu Thr Pro Gln
 [2460] 85 90 95
 [2461] Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 [2462] 100 105
 [2463] <210> 87
 [2464] <211> 993
 [2465] <212> DNA
 [2466] <213> 智人
 [2467] <220>
 [2468] <221> CDS
 [2469] <222> (1) .. (993)
 [2470] <223> 12H5-CH恒定重链(CH)序列
 [2471] <400> 87
 [2472] gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48
 [2473] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 [2474] 1 5 10 15
 [2475] agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96
 [2476] Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 [2477] 20 25 30
 [2478] ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144
 [2479] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 [2480] 35 40 45
 [2481] ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192
 [2482] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 [2483] 50 55 60
 [2484] ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240
 [2485] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 [2486] 65 70 75 80
 [2487] tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag 288
 [2488] Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 [2489] 85 90 95
 [2490] aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc 336
 [2491] Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 [2492] 100 105 110

| | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|
| [2493] | cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca | 384 |
| [2494] | Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro | |
| [2495] | 115 120 125 | |
| [2496] | aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc | 432 |
| [2497] | Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys | |
| [2498] | 130 135 140 | |
| [2499] | gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg | 480 |
| [2500] | Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp | |
| [2501] | 145 150 155 160 | |
| [2502] | tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag | 528 |
| [2503] | Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu | |
| [2504] | 165 170 175 | |
| [2505] | gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg | 576 |
| [2506] | Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu | |
| [2507] | 180 185 190 | |
| [2508] | cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac | 624 |
| [2509] | His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn | |
| [2510] | 195 200 205 | |
| [2511] | aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg | 672 |
| [2512] | Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly | |
| [2513] | 210 215 220 | |
| [2514] | cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag | 720 |
| [2515] | Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu | |
| [2516] | 225 230 235 240 | |
| [2517] | ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat | 768 |
| [2518] | Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr | |
| [2519] | 245 250 255 | |
| [2520] | ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac | 816 |
| [2521] | Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn | |
| [2522] | 260 265 270 | |
| [2523] | aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc | 864 |
| [2524] | Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe | |
| [2525] | 275 280 285 | |
| [2526] | ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac | 912 |
| [2527] | Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn | |
| [2528] | 290 295 300 | |
| [2529] | gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg | 960 |
| [2530] | Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr | |
| [2531] | 305 310 315 320 | |

[2532] cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 993
 [2533] Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 [2534] 325 330
 [2535] <210> 88
 [2536] <211> 330
 [2537] <212> PRT
 [2538] <213> 智人
 [2539] <400> 88
 [2540] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 [2541] 1 5 10 15
 [2542] Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 [2543] 20 25 30
 [2544] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 [2545] 35 40 45
 [2546] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 [2547] 50 55 60
 [2548] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 [2549] 65 70 75 80
 [2550] Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 [2551] 85 90 95
 [2552] Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 [2553] 100 105 110
 [2554] Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 [2555] 115 120 125
 [2556] Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 [2557] 130 135 140
 [2558] Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 [2559] 145 150 155 160
 [2560] Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 [2561] 165 170 175
 [2562] Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 [2563] 180 185 190
 [2564] His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 [2565] 195 200 205
 [2566] Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 [2567] 210 215 220
 [2568] Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 [2569] 225 230 235 240
 [2570] Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------|-------|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|
| [2571] | | 245 | | 250 | | 255 | | | | | | | | | | | | | | |
| [2572] | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | | | | |
| [2573] | | | | | 260 | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2574] | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | | | | |
| [2575] | | | | | 275 | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2576] | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | | | | |
| [2577] | | | | | 290 | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2578] | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | | | | |
| [2579] | | | | | 305 | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2580] | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys | | | | | | | | | | |
| [2581] | | | | | 325 | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2582] | <210> | 89 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2583] | <211> | 324 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2584] | <212> | DNA | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2585] | <213> | 智人 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2586] | <220> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2587] | <221> | CDS | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2588] | <222> | (1) .. (324) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2589] | <223> | 12H5-CL可变轻链(VL)序列, κ型 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2590] | <400> | 89 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2591] | cga | act | gtg | gct | gca | cca | tct | gtc | ttc | atc | ttc | ccg | cca | tct | gat | gag | 48 | | | |
| [2592] | Arg | Thr | Val | Ala | Ala | Pro | Ser | Val | Phe | Ile | Phe | Pro | Pro | Ser | Asp | Glu | | | | |
| [2593] | 1 | | | | 5 | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2594] | cag | ttg | aaa | tct | gga | act | gcc | tct | ggt | gtg | tgc | ctg | ctg | aat | aac | ttc | 96 | | | |
| [2595] | Gln | Leu | Lys | Ser | Gly | Thr | Ala | Ser | Val | Val | Cys | Leu | Leu | Asn | Asn | Phe | | | | |
| [2596] | | | | | 20 | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2597] | tat | ccc | aga | gag | gcc | aaa | gta | cag | tgg | aag | gtg | gat | aac | gcc | ctc | caa | 144 | | | |
| [2598] | Tyr | Pro | Arg | Glu | Ala | Lys | Val | Gln | Trp | Lys | Val | Asp | Asn | Ala | Leu | Gln | | | | |
| [2599] | | | | | 35 | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2600] | tcg | ggt | aac | tcc | cag | gag | agt | gtc | aca | gag | cag | gac | agc | aag | gac | agc | 192 | | | |
| [2601] | Ser | Gly | Asn | Ser | Gln | Glu | Ser | Val | Thr | Glu | Gln | Asp | Ser | Lys | Asp | Ser | | | | |
| [2602] | | | | | 50 | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2603] | acc | tac | agc | ctc | agc | agc | acc | ctg | acg | ctg | agc | aaa | gca | gac | tac | gag | 240 | | | |
| [2604] | Thr | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Thr | Leu | Thr | Leu | Ser | Lys | Ala | Asp | Tyr | Glu | | | | |
| [2605] | | | | | 65 | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2606] | aaa | cac | aaa | gtc | tac | gcc | tgc | gaa | gtc | acc | cat | cag | ggc | ctg | agc | tcg | 288 | | | |
| [2607] | Lys | His | Lys | Val | Tyr | Ala | Cys | Glu | Val | Thr | His | Gln | Gly | Leu | Ser | Ser | | | | |
| [2608] | | | | | 85 | | | | | | | | | | | | | | | |
| [2609] | ccc | gtc | aca | aag | agc | ttc | aac | agg | gga | gag | tgt | tag | 324 | | | | | | | |

| | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|
| [2610] | Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys |
| [2611] | 100 105 |
| [2612] | <210> 90 |
| [2613] | <211> 107 |
| [2614] | <212> PRT |
| [2615] | <213> 智人 |
| [2616] | <400> 90 |
| [2617] | Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu |
| [2618] | 1 5 10 15 |
| [2619] | Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe |
| [2620] | 20 25 30 |
| [2621] | Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln |
| [2622] | 35 40 45 |
| [2623] | Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser |
| [2624] | 50 55 60 |
| [2625] | Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu |
| [2626] | 65 70 75 80 |
| [2627] | Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser |
| [2628] | 85 90 95 |
| [2629] | Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys |
| [2630] | 100 105 |
| [2631] | <210> 91 |
| [2632] | <211> 342 |
| [2633] | <212> DNA |
| [2634] | <213> 智人 |
| [2635] | <220> |
| [2636] | <221> CDS |
| [2637] | <222> (1) .. (342) |
| [2638] | <223> 50E11-VH可变重链(VH)序列; 50E1, κ |
| [2639] | <220> |
| [2640] | <221> V_区 |
| [2641] | <222> (91) .. (105) |
| [2642] | <223> 互补决定区(CDR) VH-CDR1 |
| [2643] | <220> |
| [2644] | <221> V_区 |
| [2645] | <222> (148) .. (198) |
| [2646] | <223> 互补决定区(CDR) VH-CDR2 |
| [2647] | <220> |
| [2648] | <221> V_区 |

[2649] <222> (295) .. (309)
 [2650] <223> 互补决定区(CDR) VH-CDR3
 [2651] <400> 91
 [2652] cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gca gag atg aag aag cct ggg tcc 48
 [2653] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Met Lys Lys Pro Gly Ser
 [2654] 1 5 10 15
 [2655] tcg gtg aag gtc tcc tgc aag gat ttt gga ggc acc ttc agc gtc tat 96
 [2656] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Asp Phe Gly Gly Thr Phe Ser Val Tyr
 [2657] 20 25 30
 [2658] ggt gtc aac tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg ctt gag tgg atg 144
 [2659] Gly Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 [2660] 35 40 45
 [2661] ggg ggg ctc atc cct gtc att ggg cca gct aac tac gca cag aag ttc 192
 [2662] Gly Gly Leu Ile Pro Val Ile Gly Pro Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 [2663] 50 55 60
 [2664] cag ggc aga atc acc att act gcg gac gaa tcc acg agc aca gcc tat 240
 [2665] Gln Gly Arg Ile Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 [2666] 65 70 75 80
 [2667] atg gag ttg agc agc ctg aga ttt gac gac acg gcc att tat tat tgt 288
 [2668] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Phe Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 [2669] 85 90 95
 [2670] gtg aga gac gac aac gaa tat tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc 336
 [2671] Val Arg Asp Asp Asn Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 [2672] 100 105 110
 [2673] tcc tcg 342
 [2674] Ser Ser
 [2675] <210> 92
 [2676] <211> 114
 [2677] <212> PRT
 [2678] <213> 智人
 [2679] <400> 92
 [2680] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Met Lys Lys Pro Gly Ser
 [2681] 1 5 10 15
 [2682] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Asp Phe Gly Gly Thr Phe Ser Val Tyr
 [2683] 20 25 30
 [2684] Gly Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 [2685] 35 40 45
 [2686] Gly Gly Leu Ile Pro Val Ile Gly Pro Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 [2687] 50 55 60

[2688] Gln Gly Arg Ile Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 [2689] 65 70 75 80
 [2690] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Phe Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 [2691] 85 90 95
 [2692] Val Arg Asp Asp Asn Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 [2693] 100 105 110
 [2694] Ser Ser
 [2695] <210> 93
 [2696] <211> 327
 [2697] <212> DNA
 [2698] <213> 智人
 [2699] <220>
 [2700] <221> CDS
 [2701] <222> (1) .. (327)
 [2702] <223> 50E11-VL可变轻链(VL)序列, κ型
 [2703] <220>
 [2704] <221> V_区
 [2705] <222> (70) .. (102)
 [2706] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR1
 [2707] <220>
 [2708] <221> V_区
 [2709] <222> (148) .. (168)
 [2710] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR2
 [2711] <220>
 [2712] <221> V_区
 [2713] <222> (265) .. (297)
 [2714] <223> 互补决定区(CDR) VL-CDR3
 [2715] <400> 93
 [2716] gaa atg gtg ctg aca cag tct cca gcc acc ctg tct ttg tct cca gga 48
 [2717] Glu Met Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 [2718] 1 5 10 15
 [2719] gaa aga gcc acc ctc tcc tgt agg gcc agt cag act gtt agc acc ttc 96
 [2720] Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Ser Thr Phe
 [2721] 20 25 30
 [2722] tta gcc tgg tac caa cag aaa cct ggc cag gtt ccc agg ctc ctc gtc 144
 [2723] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Val Pro Arg Leu Leu Val
 [2724] 35 40 45
 [2725] tac gat atc tcc tcc agg gcc aat ggc act cca gcc agg ttc agt ggc 192
 [2726] Tyr Asp Ile Ser Ser Arg Ala Asn Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly

[2727] 50 55 60
 [2728] ggt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc agc cta gaa ctt 240
 [2729] Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Leu
 [2730] 65 70 75 80
 [2731] gaa gat ttt gcg gtt tat tac tgt cag tgg cgt agc aac tgg cct ccc 288
 [2732] Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Trp Arg Ser Asn Trp Pro Pro
 [2733] 85 90 95
 [2734] tcg ctc act ttc ggc gga ggg acc agg gtg gag atc aaa 327
 [2735] Ser Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Val Glu Ile Lys
 [2736] 100 105
 [2737] <210> 94
 [2738] <211> 109
 [2739] <212> PRT
 [2740] <213> 智人
 [2741] <400> 94
 [2742] Glu Met Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 [2743] 1 5 10 15
 [2744] Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Ser Thr Phe
 [2745] 20 25 30
 [2746] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Val Pro Arg Leu Leu Val
 [2747] 35 40 45
 [2748] Tyr Asp Ile Ser Ser Arg Ala Asn Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 [2749] 50 55 60
 [2750] Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Leu
 [2751] 65 70 75 80
 [2752] Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Trp Arg Ser Asn Trp Pro Pro
 [2753] 85 90 95
 [2754] Ser Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Val Glu Ile Lys
 [2755] 100 105
 [2756] <210> 95
 [2757] <211> 993
 [2758] <212> DNA
 [2759] <213> 智人
 [2760] <220>
 [2761] <221> CDS
 [2762] <222> (1) .. (993)
 [2763] <223> 50E11-CH恒定重链(CH)序列
 [2764] <400> 95
 [2765] gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48

[2766] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 [2767] 1 5 10 15
 [2768] agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac 96
 [2769] Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 [2770] 20 25 30
 [2771] ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc 144
 [2772] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 [2773] 35 40 45
 [2774] ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc 192
 [2775] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 [2776] 50 55 60
 [2777] ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc 240
 [2778] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 [2779] 65 70 75 80
 [2780] tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag 288
 [2781] Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 [2782] 85 90 95
 [2783] aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc 336
 [2784] Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 [2785] 100 105 110
 [2786] cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca 384
 [2787] Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 [2788] 115 120 125
 [2789] aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc 432
 [2790] Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 [2791] 130 135 140
 [2792] gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg 480
 [2793] Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 [2794] 145 150 155 160
 [2795] tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag 528
 [2796] Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 [2797] 165 170 175
 [2798] gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg 576
 [2799] Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 [2800] 180 185 190
 [2801] cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac 624
 [2802] His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 [2803] 195 200 205
 [2804] aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg 672

[2805] Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 [2806] 210 215 220
 [2807] cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag 720
 [2808] Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 [2809] 225 230 235 240
 [2810] ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat 768
 [2811] Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 [2812] 245 250 255
 [2813] ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac 816
 [2814] Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 [2815] 260 265 270
 [2816] aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc 864
 [2817] Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 [2818] 275 280 285
 [2819] ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac 912
 [2820] Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 [2821] 290 295 300
 [2822] gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag ggt ctg cac aac cac tac acg 960
 [2823] Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr
 [2824] 305 310 315 320
 [2825] cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 993
 [2826] Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 [2827] 325 330
 [2828] <210> 96
 [2829] <211> 330
 [2830] <212> PRT
 [2831] <213> 智人
 [2832] <400> 96
 [2833] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 [2834] 1 5 10 15
 [2835] Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 [2836] 20 25 30
 [2837] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 [2838] 35 40 45
 [2839] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 [2840] 50 55 60
 [2841] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 [2842] 65 70 75 80
 [2843] Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

| | | | | | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|--|-----|--|-----|
| [2844] | | 85 | | 90 | | 95 |
| [2845] | Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys | | | | | |
| [2846] | | 100 | | 105 | | 110 |
| [2847] | Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro | | | | | |
| [2848] | | 115 | | 120 | | 125 |
| [2849] | Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys | | | | | |
| [2850] | | 130 | | 135 | | 140 |
| [2851] | Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp | | | | | |
| [2852] | | 145 | | 150 | | 155 |
| [2853] | Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu | | | | | |
| [2854] | | 165 | | 170 | | 175 |
| [2855] | Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu | | | | | |
| [2856] | | 180 | | 185 | | 190 |
| [2857] | His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn | | | | | |
| [2858] | | 195 | | 200 | | 205 |
| [2859] | Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly | | | | | |
| [2860] | | 210 | | 215 | | 220 |
| [2861] | Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu | | | | | |
| [2862] | | 225 | | 230 | | 235 |
| [2863] | Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr | | | | | |
| [2864] | | 245 | | 250 | | 255 |
| [2865] | Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn | | | | | |
| [2866] | | 260 | | 265 | | 270 |
| [2867] | Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe | | | | | |
| [2868] | | 275 | | 280 | | 285 |
| [2869] | Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn | | | | | |
| [2870] | | 290 | | 295 | | 300 |
| [2871] | Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr | | | | | |
| [2872] | | 305 | | 310 | | 315 |
| [2873] | Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys | | | | | |
| [2874] | | 325 | | 330 | | |
| [2875] | <210> 97 | | | | | |
| [2876] | <211> 324 | | | | | |
| [2877] | <212> DNA | | | | | |
| [2878] | <213> 智人 | | | | | |
| [2879] | <220> | | | | | |
| [2880] | <221> CDS | | | | | |
| [2881] | <222> (1) .. (324) | | | | | |
| [2882] | <223> 50E11-CL恒定κ链 (CL)序列 | | | | | |

[2883] <400> 97
 [2884] cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 48
 [2885] Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 [2886] 1 5 10 15
 [2887] cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 96
 [2888] Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 [2889] 20 25 30
 [2890] tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 144
 [2891] Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 [2892] 35 40 45
 [2893] tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 192
 [2894] Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 [2895] 50 55 60
 [2896] acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 240
 [2897] Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 [2898] 65 70 75 80
 [2899] aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 288
 [2900] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 [2901] 85 90 95
 [2902] ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag 324
 [2903] Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [2904] 100 105
 [2905] <210> 98
 [2906] <211> 107
 [2907] <212> PRT
 [2908] <213> 智人
 [2909] <400> 98
 [2910] Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 [2911] 1 5 10 15
 [2912] Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 [2913] 20 25 30
 [2914] Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 [2915] 35 40 45
 [2916] Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 [2917] 50 55 60
 [2918] Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 [2919] 65 70 75 80
 [2920] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 [2921] 85 90 95

| | |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| [2922] | Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys |
| [2923] | 100 105 |
| [2924] | <210> 99 |
| [2925] | <211> 18 |
| [2926] | <212> PRT |
| [2927] | <213> 智人 |
| [2928] | <220> |
| [2929] | <221> 结合 |
| [2930] | <222> (1) .. (18) |
| [2931] | <223> IFNA2-肽19, 被mAB 19D11特异性结合 |
| [2932] | <400> 99 |
| [2933] | Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu |
| [2934] | 1 5 10 15 |
| [2935] | Tyr Gln |
| [2936] | <210> 100 |
| [2937] | <211> 18 |
| [2938] | <212> PRT |
| [2939] | <213> 智人 |
| [2940] | <220> |
| [2941] | <221> 结合 |
| [2942] | <222> (1) .. (18) |
| [2943] | <223> IFNA2-肽32, 被mAB 19D11特异性结合 |
| [2944] | <400> 100 |
| [2945] | Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp |
| [2946] | 1 5 10 15 |
| [2947] | Glu Val |
| [2948] | <210> 101 |
| [2949] | <211> 18 |
| [2950] | <212> PRT |
| [2951] | <213> 智人 |
| [2952] | <220> |
| [2953] | <221> 结合 |
| [2954] | <222> (1) .. (18) |
| [2955] | <223> IFNA2-肽22, 被mAB 26B9特异性结合 |
| [2956] | <400> 101 |
| [2957] | Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys Val Ile |
| [2958] | 1 5 10 15 |
| [2959] | Gln Gly |
| [2960] | <210> 102 |

| | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|--------------------------|
| [2961] | <211> | 18 |
| [2962] | <212> | PRT |
| [2963] | <213> | 智人 |
| [2964] | <220> | |
| [2965] | <221> | 结合 |
| [2966] | <222> | (1) .. (18) |
| [2967] | <223> | IFNW-肽23, 被mAB 26B9特异性结合 |
| [2968] | <400> | 102 |
| [2969] | Thr Gly Leu His Gln Gln Leu Gln His Leu Glu Thr Cys Leu Leu Gln | |
| [2970] | 1 | 5 10 15 |
| [2971] | Val Val | |

A 5D1 (可变重链序列VH) – SEQ ID NO: 2
FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
EVQLVQAGAEVKAPGESLRISCKVSGYTFYSYWISWVRQIPGKGLEWMVKIDPRDSYTIYNPSFQG

FR3-----CDR3-----FR4-----
HVSISVDKSIITVYLQWSSLQASDTAIYYCVRHYLTQSLVDYFDHWGQGTLVAVSS

5D1 (可变κ链序列VL) – SEQ ID NO: 4
FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
DIQMTQSPSSLSASVGDSTITCRASQSVSNYFHWYRQKPGKAPPELLIYASANLQT

FR3-----CDR3-----FR4-----
GVPSRFTGSGSGTECTLTITSLQPDDFATYYCQOTHGYPFTFGQGTKLDVR

B 13B11 (可变重链序列VH) – SEQ ID NO: 10
FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
DVQLLQSGGLIQPGSLRLSCAASGFTFKDYAMSWVRQAPGKGLEWVVISRSGNIVDYVDSVKG

FR3-----CDR3-----FR4-----
RFTVSRDNSNNTLFLQMDGLRADDTAIYYCAKPKDMI VVVPAGFDSWGQGTLVSVSS

13B11 (可变κ链序列VL) – SEQ ID NO: 12
FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
DIQMTQFPSTLSASVGDSTITCRASQSI SAWLAWYQQKPGKAPKLLIYKGSRLN

FR3-----CDR3-----FR4-----
GVPSRFSGSGSGTEFTLTIGSLQPDDFATYYCQYKTWTFGQGTKVEIK

C 19D11 (可变重链序列VH) – SEQ ID NO: 18
FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
EVQLLESGAEVKRPGSSVRVSCRASGDTFSSYPISWVRQAPGQGLEWMGRILPALGVTNYAQNFRG

FR3-----CDR3-----FR4-----
RITITADKSPLTAYLELSSRFEDTAVYYCASPSADIIPSILGTTLFAFWGQGS LVTVSS

19D11 (可变κ链序列VL) – SEQ ID NO: 20
FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2-----
EIVLTQSPGTLSSLSPGEGATLSCRASQNVSRHYLTWYQQKPGQSPRLLIYGGSSRAT

FR3-----CDR3-----FR4-----
GVPDFRFSGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVFYCQSYHSPPPVTFGQGTKVEIK

图1

D 25C3 (可变重链序列VH) – SEQ ID NO: 22
 FR1-----CDR1--FR2-----CDR2-----
 EMQLMESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFKSFAMSWVRQAPGKGLEWVASVGSQGGSKYYAPSVKG

FR3-----CDR3-----FR4-----
 RFSISRDNNSNTLYVQMNSLGVEDTAFYYCVKETDAVATMDALDMWGQGTLVIVST

25C3 (可变 κ 链序列VL) – SEQ ID NO: 24
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 DIRVTQSPSSLSASVGDVRSISCQTSQSVNIYLNWYQQRPGKGPQLLISAASTLQS

FR3-----CDR3-----FR4-----
 GVPSRFSGSGSGTDFILTIISLQPEDSASYCQOQYITPYTFGQGTKVEIK

E 26B9 (可变重链序列VH) – SEQ ID NO: 30
 FR1-----CDR1--FR2-----CDR2-----
 QILLQESGPGLVKPTETLSLTCVSGDSISDSSHYWAWIRQPPGKGP EWIGSVYFSSMTHYNPSLKS

FR3-----CDR3-----FR4-----
 RVSISVDKPKNQFSLKVTSVTVADTATYYCARQALARVGAMNWFDPWGQGLVTVSS

26B9 (可变 λ 链序列VL) – SEQ ID NO: 32
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 DIIMTQSPDSLPLVSLGEGVTINCKSSQSVFFTSSNKSLAWYQQKPGKSPKLLIYWASTRQS

FR3-----CDR3-----FR4-----
 GVPDRFRGSGSGTDFSLTITSLQAEDVAVYFCQOCOTSPPTFGGGTRLEIK

F 31B4 (可变重链序列VH) – SEQ ID NO: 38
 FR1-----CDR1--FR2-----CDR2-----
 QIQLQESGPGLVRPTETLSLTCVSGDSISQSSHYWAWIRQPPGKGP EWIGSVYFSSMTHYNPSLTS

FR3-----CDR3-----FR4-----
 RVSISIDKAMNKFSLKVTSVTVADTATYYCARQALARVGAMNWFDPWGQGLVTVSS

31B4 (可变 λ 链序列VL) – SEQ ID NO: 40
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 DIIMTQSPESLPLVSLGEGVTINCKSSQSVFFTSSNRSLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRQS

FR3-----CDR3-----FR4-----
 GVPDRFTGSGSGTDFSLTIAGLQVEDVAVYFCQOCHASPTFGGGTRLELR

图1 (续)

G 8H1 (可变重链序列VH) – SEQ ID NO: 76
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGQTFTSDDINWVRQAPGQGLEWMGWRNPNTQDTGYAOKFHG
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 RLTLTSSSISTSYLELSGLRSEDTAVYYCARAGTSTLTGHYFALGVWGQGTIVVSS

8H1 (可变κ链序列VL) – SEQ ID NO: 78
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCQATQDISKYLNWYQQKPGKVPKLLIYETSNLEV
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 GVPSRFSGSGSGTHFTLTISLQAEDFATYYCQQYENFPFTFGGGTKVEIK

H 12H5 (可变重链序列VH) – SEQ ID NO: 84
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 QVQLIQSGPEVKRPGASVKVSKASENTFDTHYINWVRQAPGQGLTWLGWLNPTTGKTGFPOKFKG
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 RVILTSDTSLNTAYMEVSRLTSEDVAVYFCARVLKLSDEYNYGFDVWGQGTIVVSS

12H5 (可变κ链序列VL) – SEQ ID NO: 86
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 DIQVTQSPSSLSASIGDRVTITCRASQNILTFINWYQHKGKAPKLLIYAASVLQN
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 EVPSRFSGSGSGTDFTLTITSLQPDFGTYYCQQTYLTPQCSFGGGTKVEIK

I 50E11 (可变重链序列VH) – SEQ ID NO: 92
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 QVQLVQSGAEMKKPGSSVKVSKDFGGTFSVYGVNWVRQAPGQGLEWMGGLIPVIGPANYAOKFQG
 FR3-----CDR3-FR4-----
 RITITADESTSTAYMELSSLRFD DDTAIYYCVRDDNEYWGQGTIVVSS

50E11 (可变κ链序列VL) – SEQ ID NO: 94
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 EMVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQTVSTFLAWYQQKPGQVPRLLVYDISSRAN
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 GTPARFSGGGSGTDFTLTISLLELEDFAVYYCQWRSNWPPSLTFGGGTRVEIK

图1 (续)

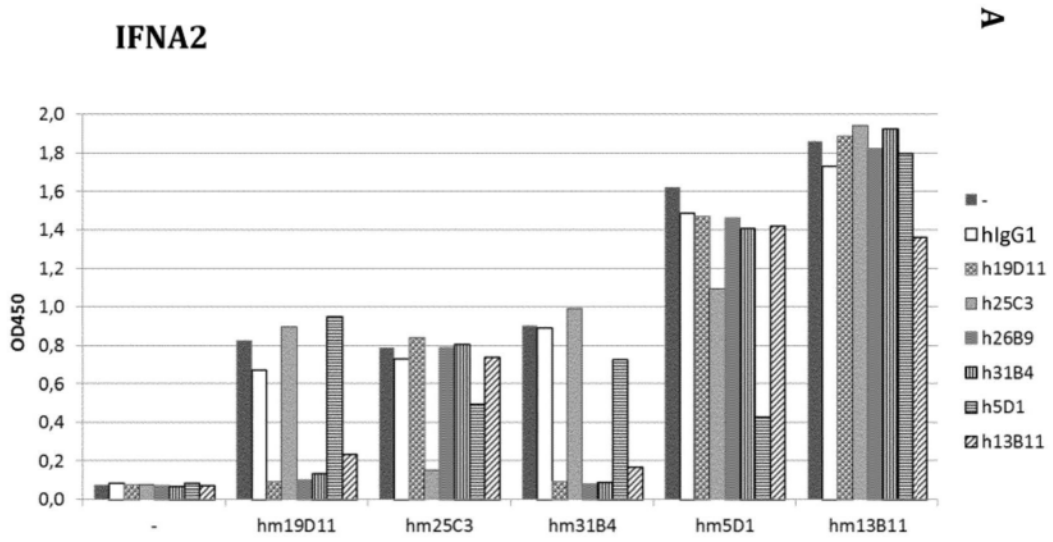


图2

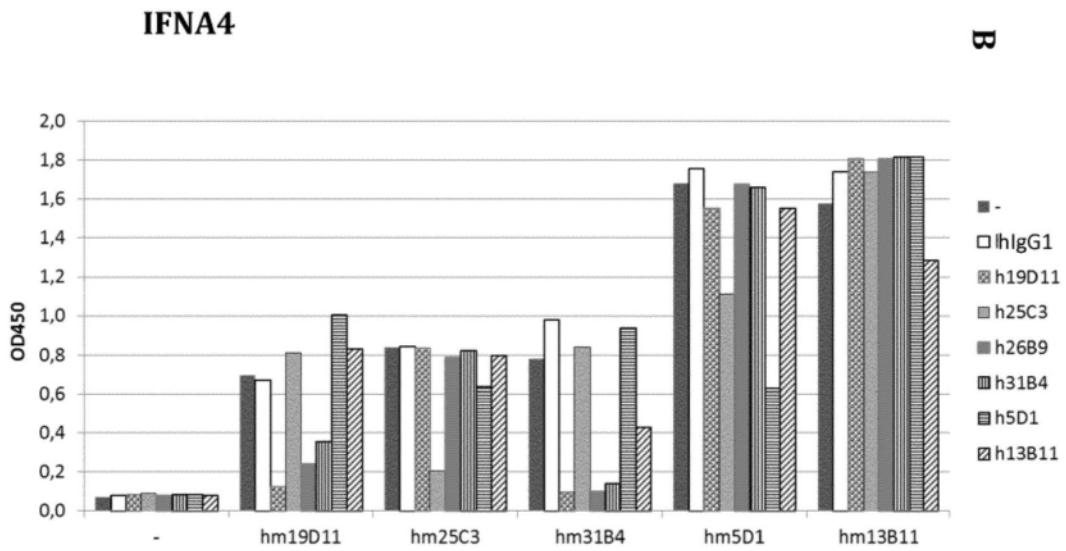


图2(续)

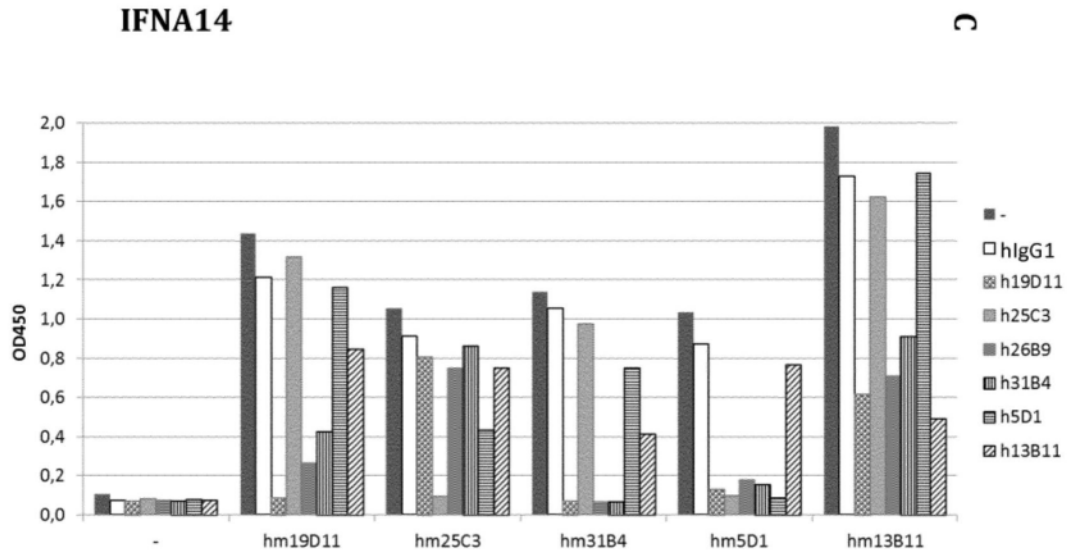


图2 (续)

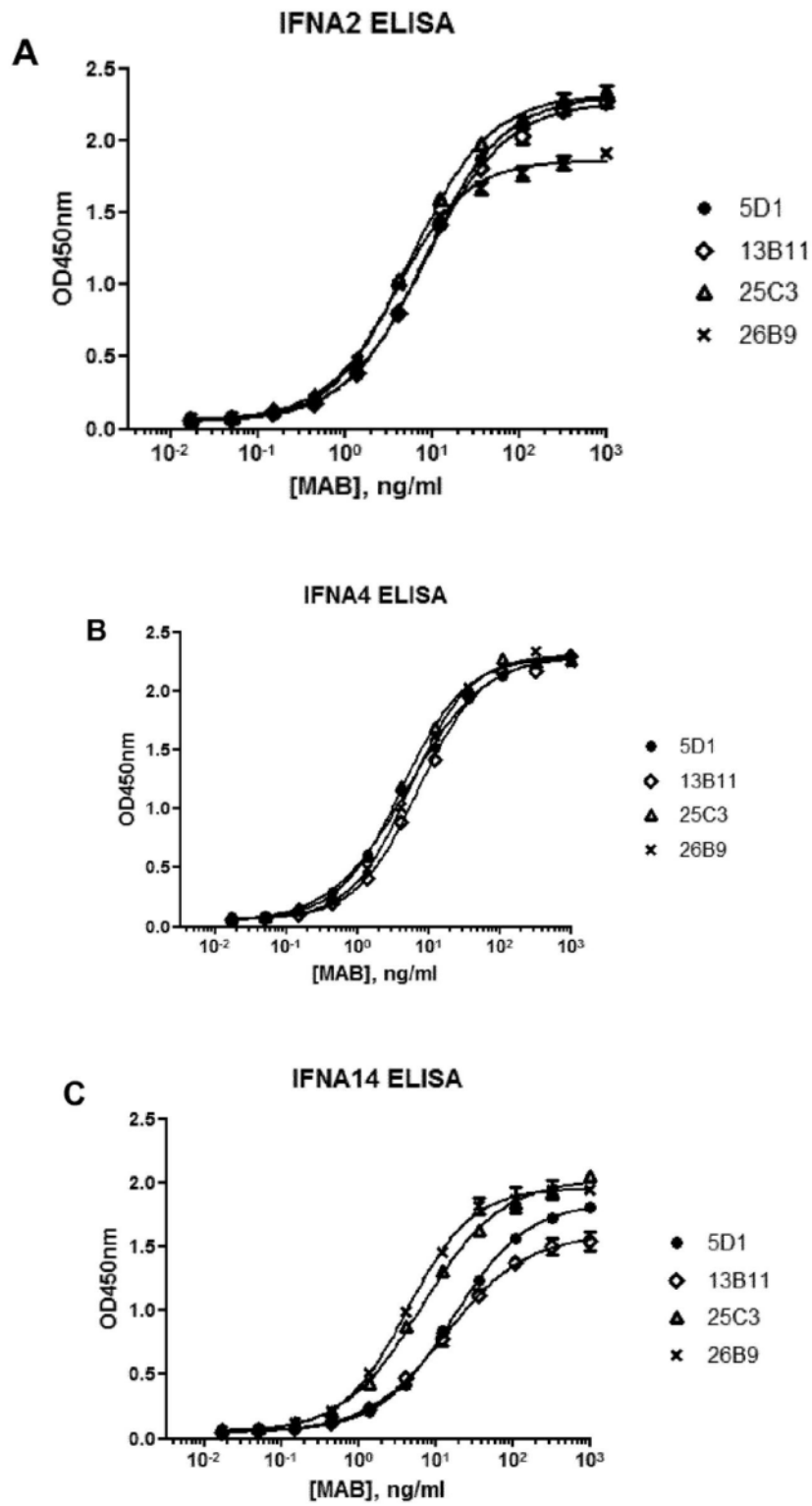


图3

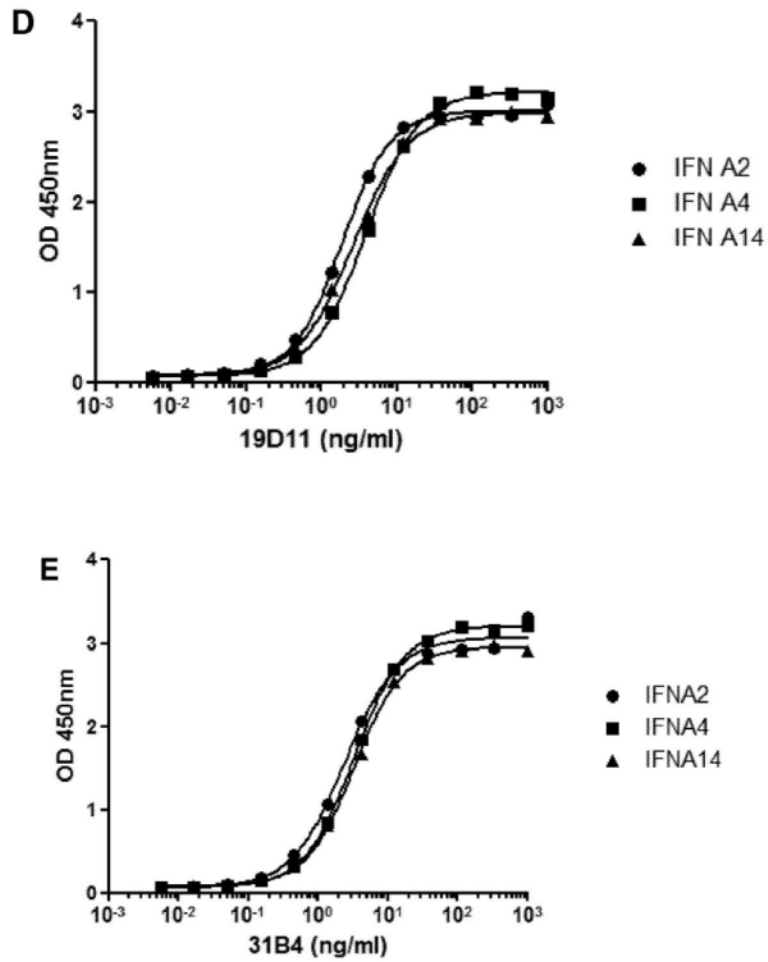
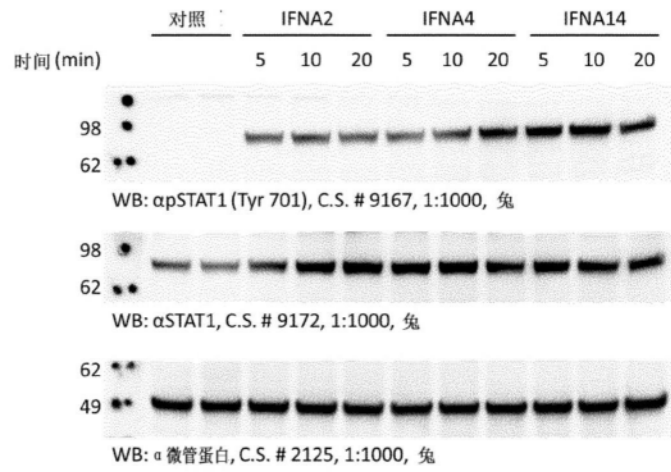


图3 (续)

| 靶 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 |
|------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| dsDNA | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| IFN-α8 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| IFN-α2 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| IFN-α4 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| IFN-α14 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| GAD1 大脑 | | ○ | | ○ | | | | | | ○ | | | | ○ | | ○ | ○ | ○ | | | ○ | | |
| GAD2 | | ○ | ○ | ○ | | | ○ | | | ○ | ○ | | | ○ | | ○ | ○ | ○ | | | | ○ | |
| 胰岛素 | | ○ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| IFN-α5 | ○ | | ○ | | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | | | | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | | | ○ | ○ |
| IFN-α6 | ○ | | ○ | | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | | | | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | | | ○ |
| IFN-α21 | ○ | | ○ | | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | | | | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | | | | ○ |

图4

A1



A2

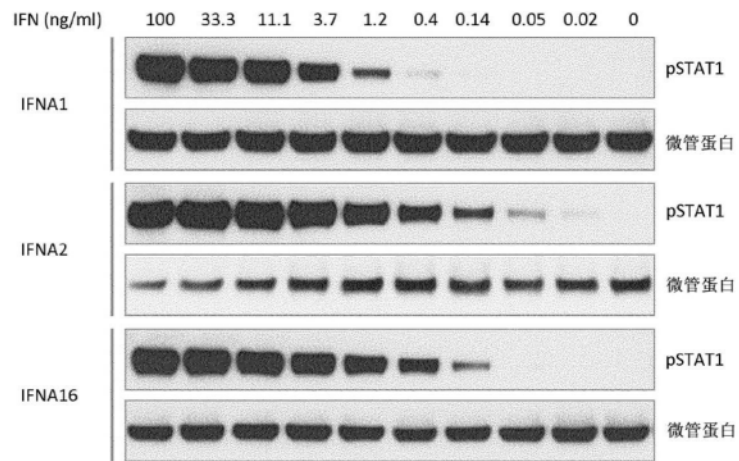


图5

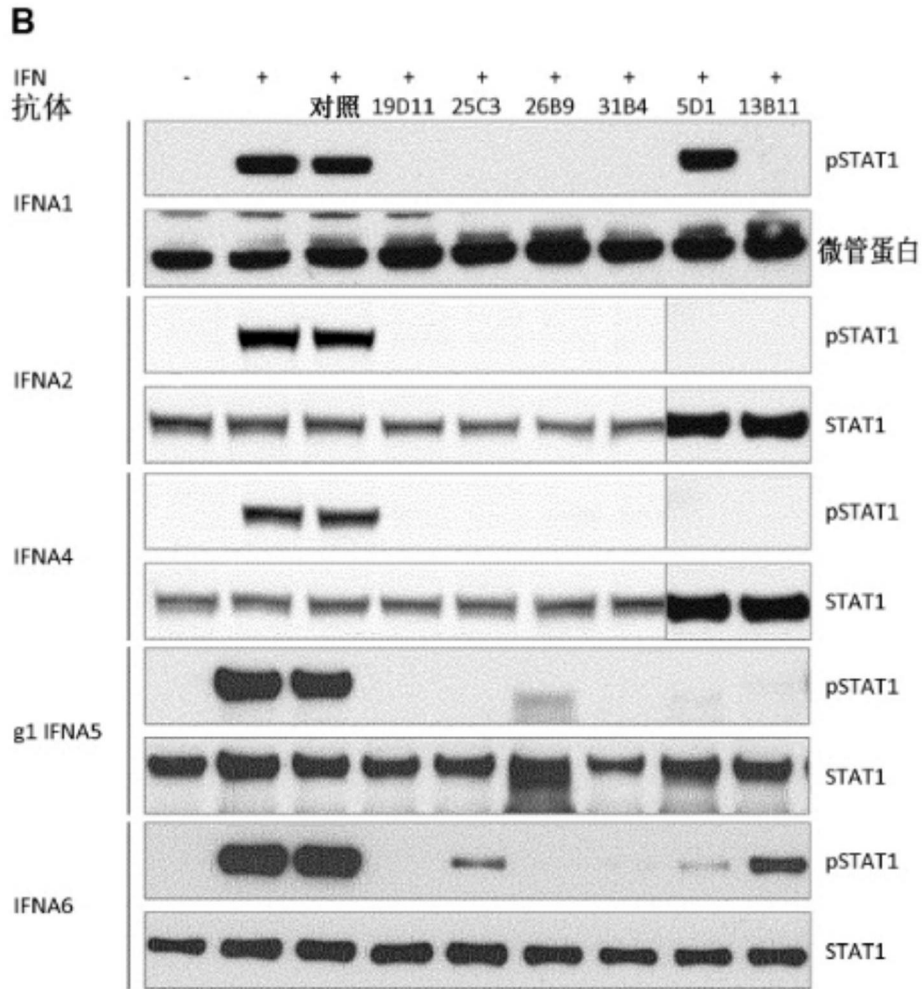


图5 (续)

C

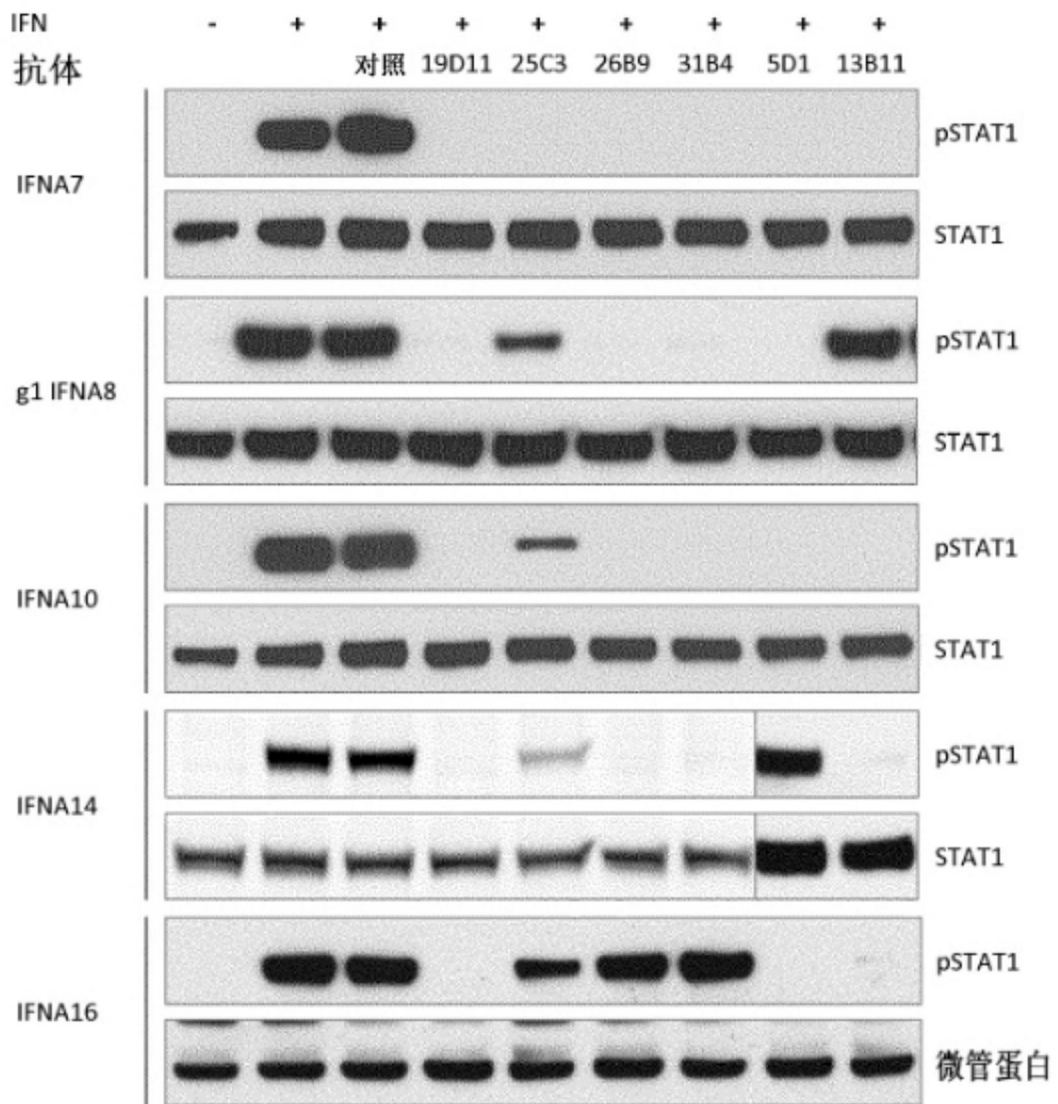


图5 (续)

D

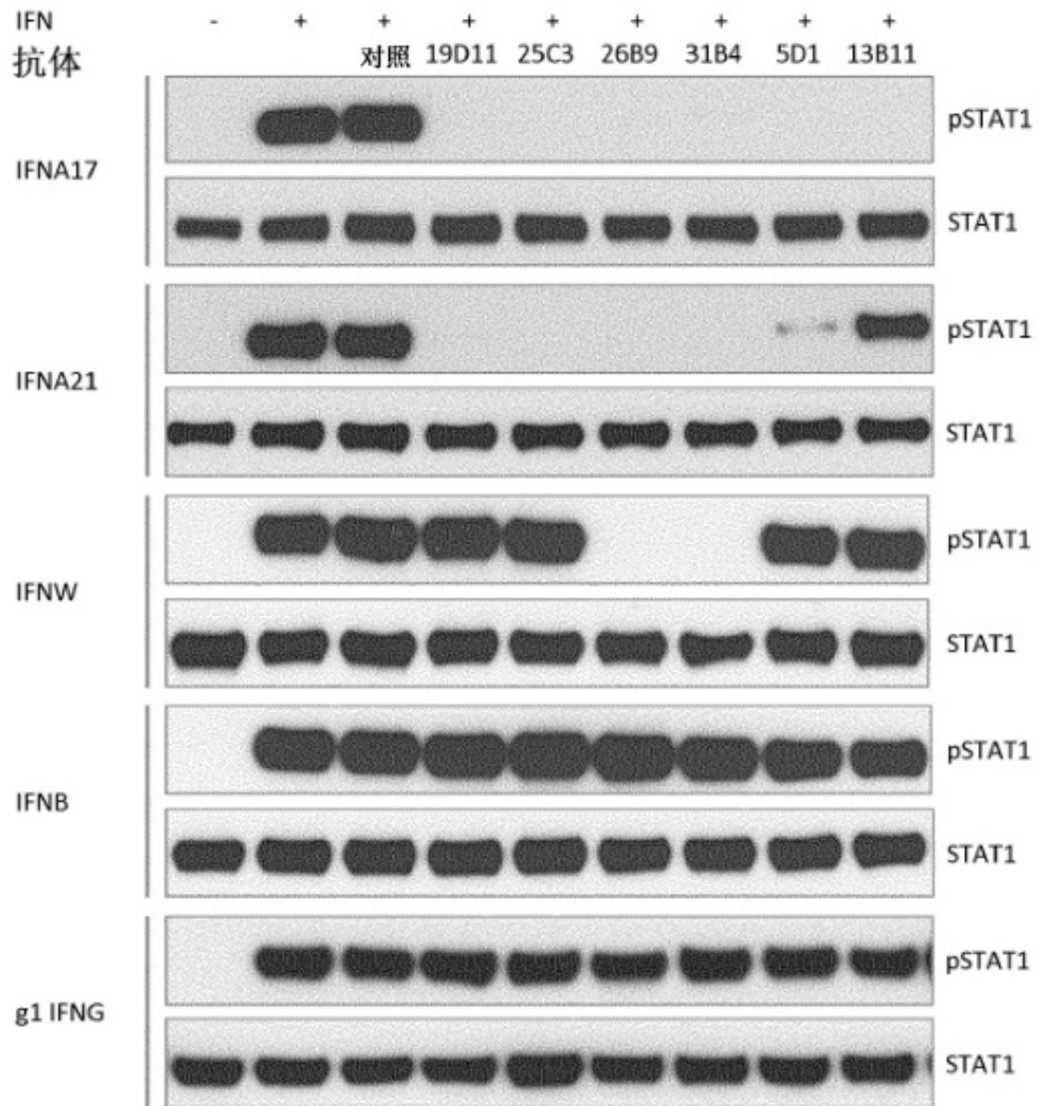


图5 (续)

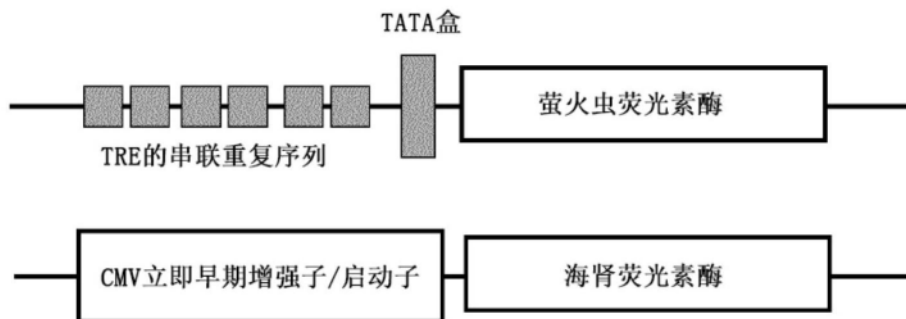


图6

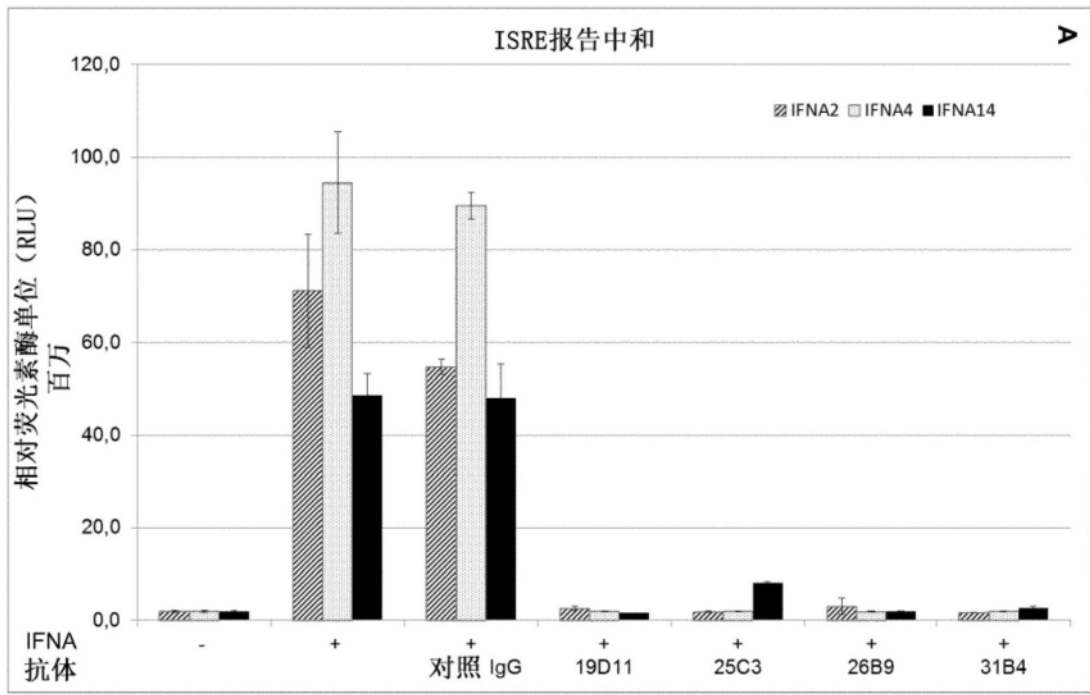


图7

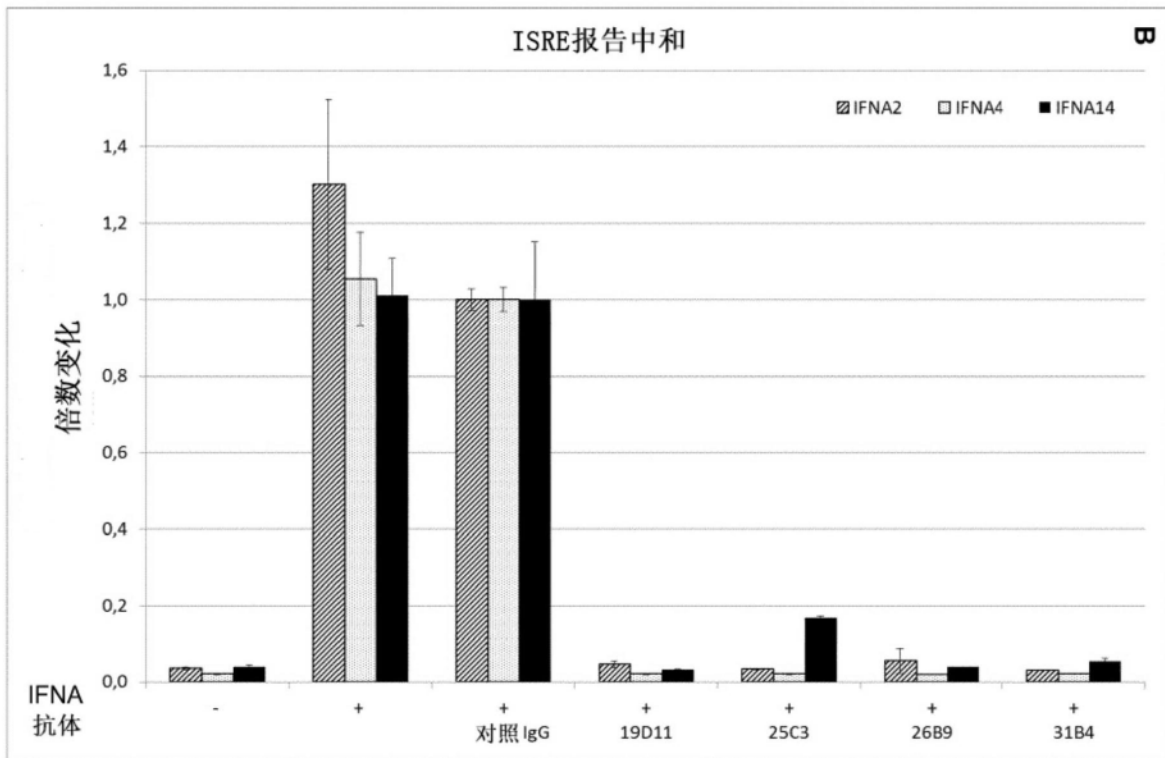


图7 (续)

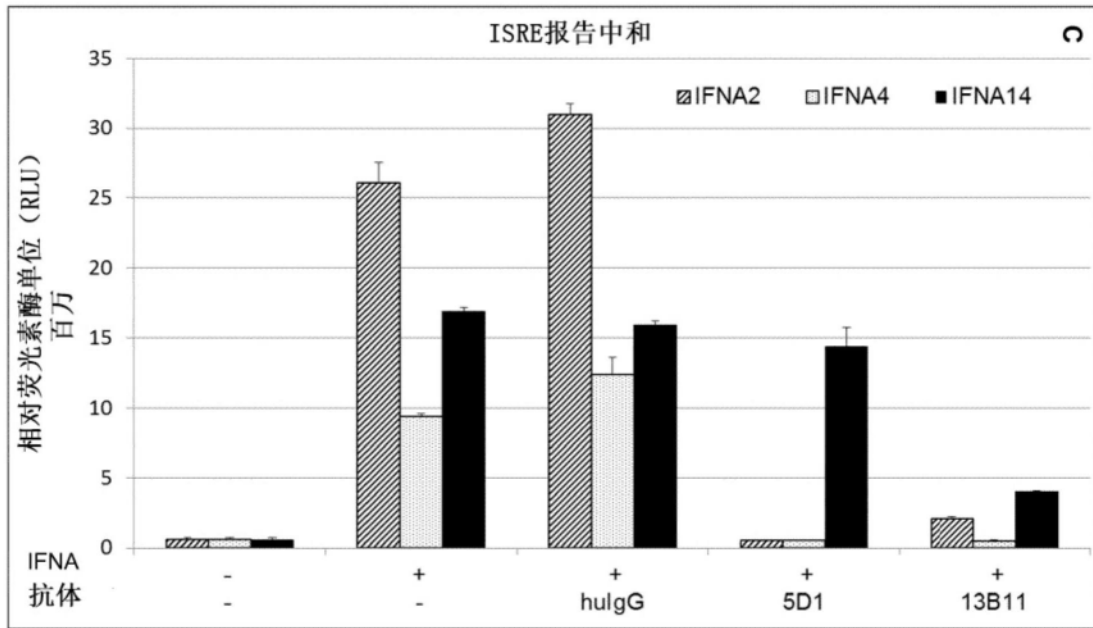


图7 (续)

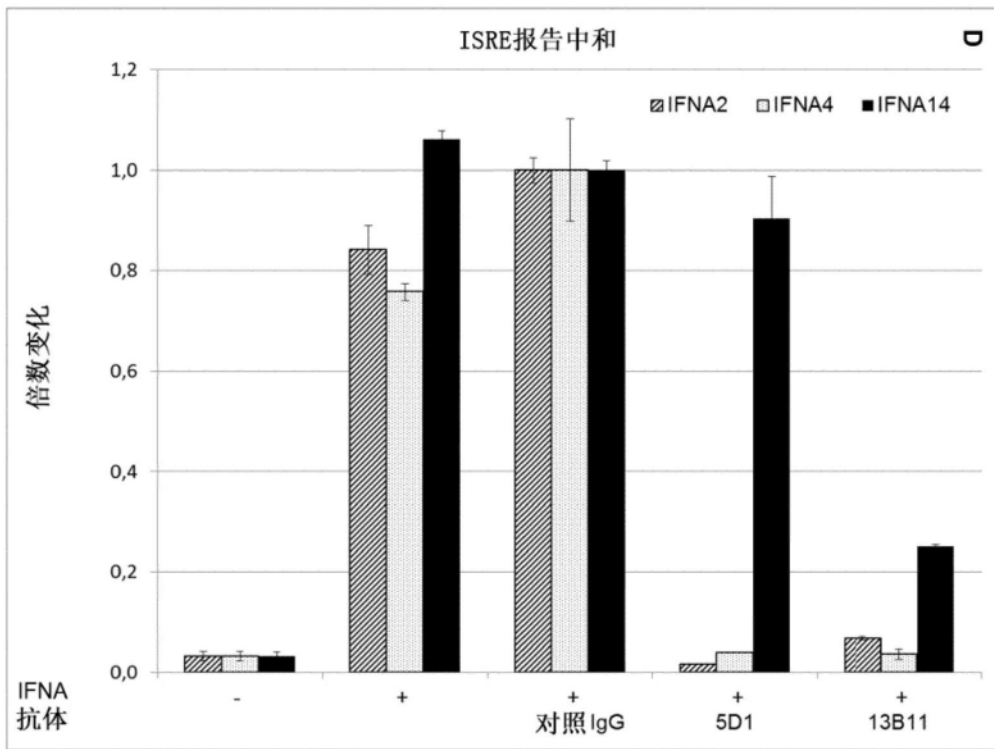


图7 (续)

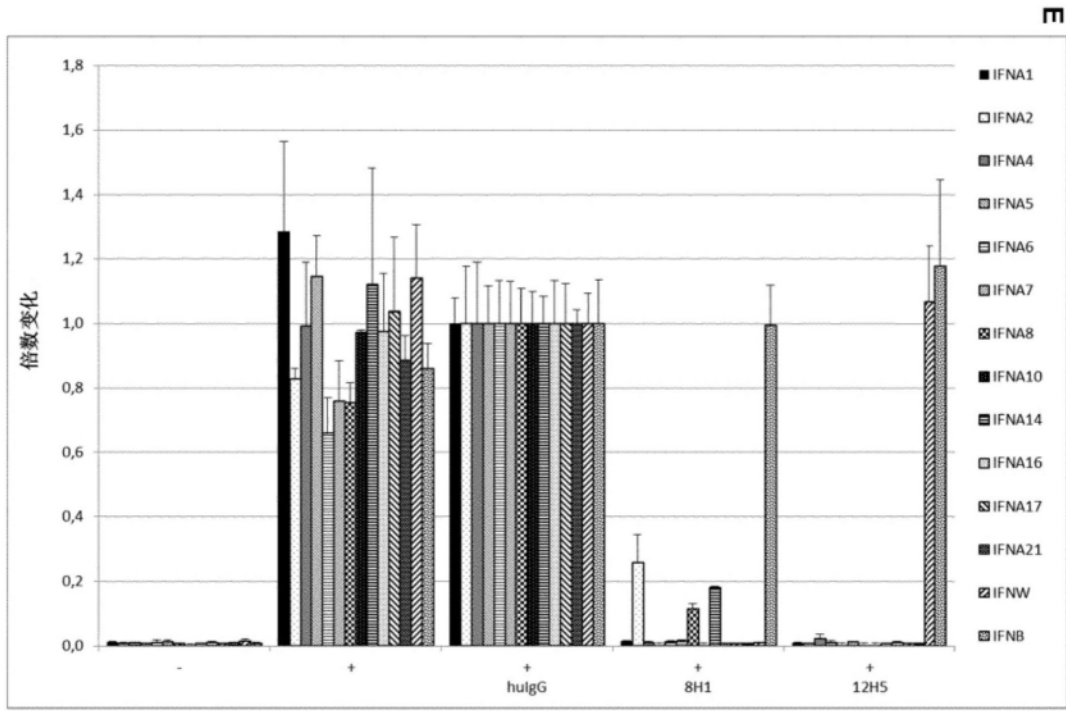


图7(续)

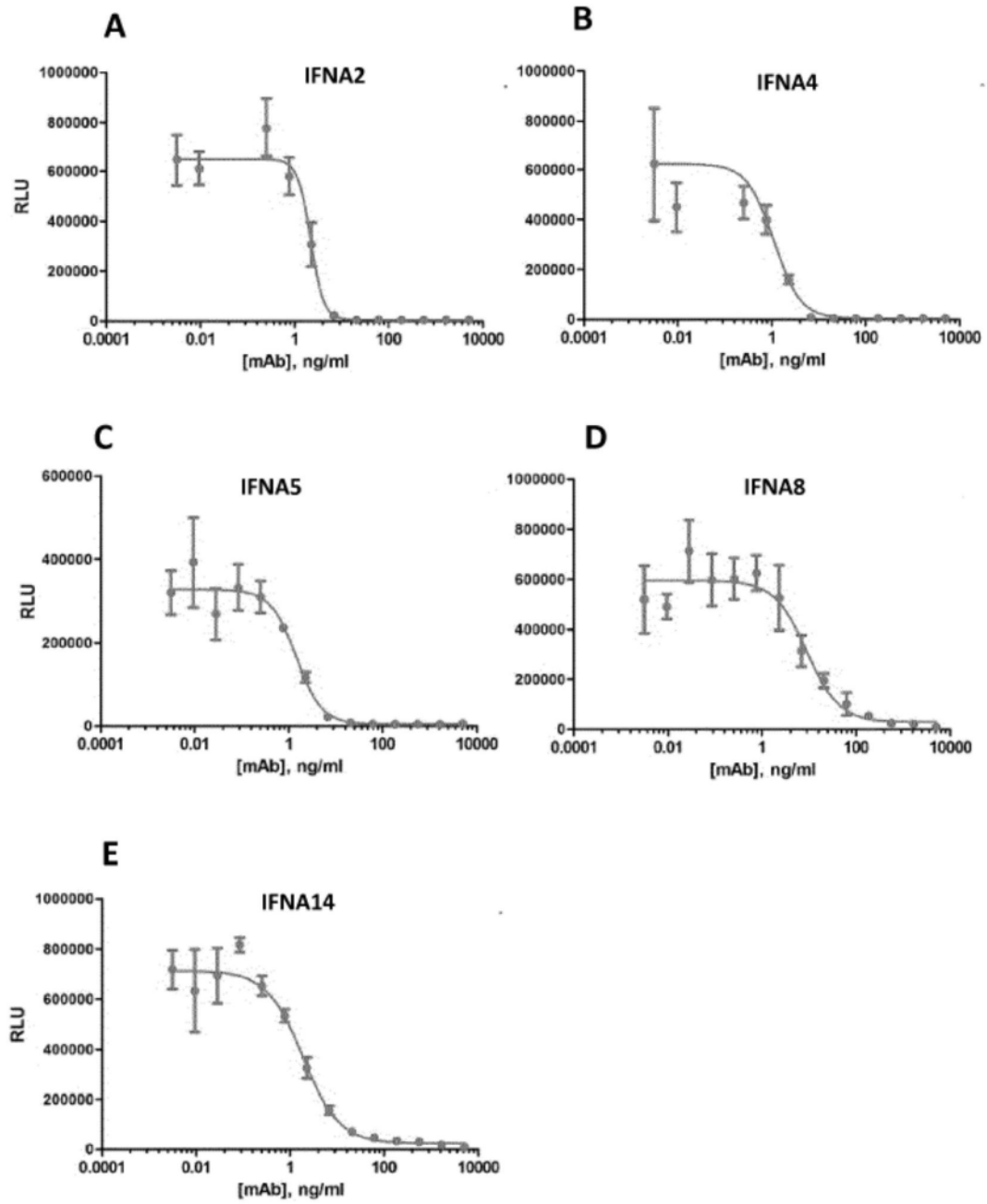


图8

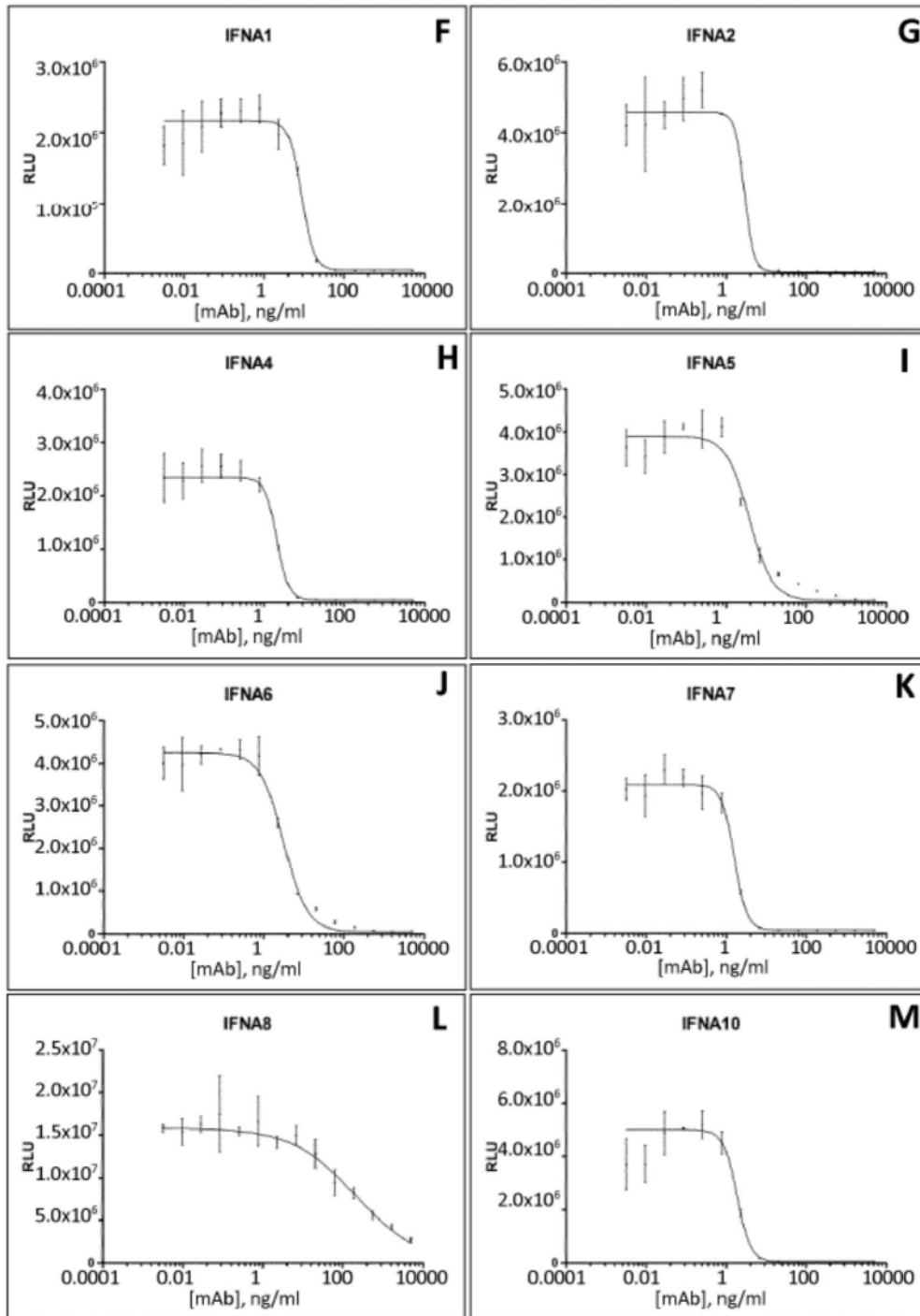


图8 (续)

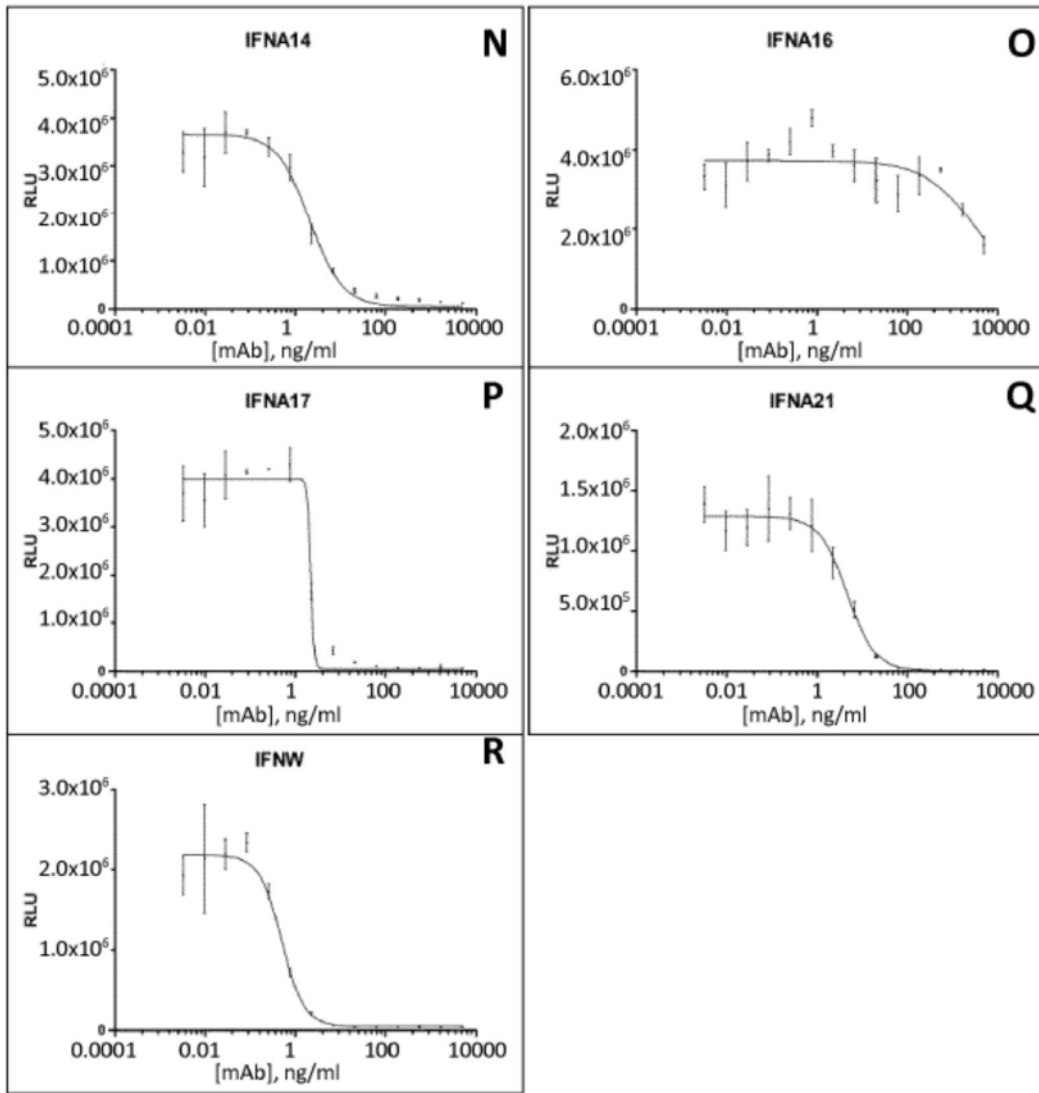


图8 (续)

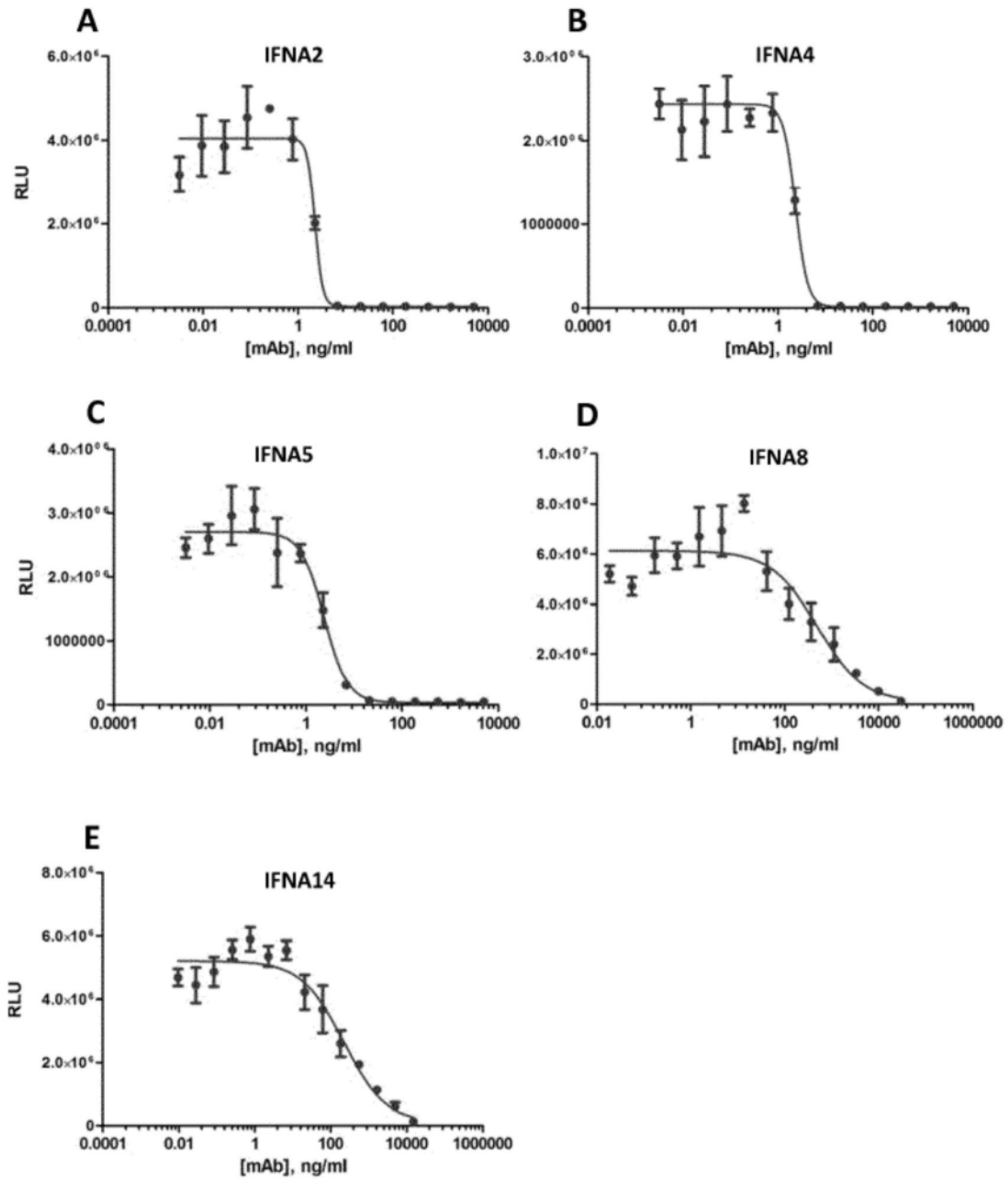


图9

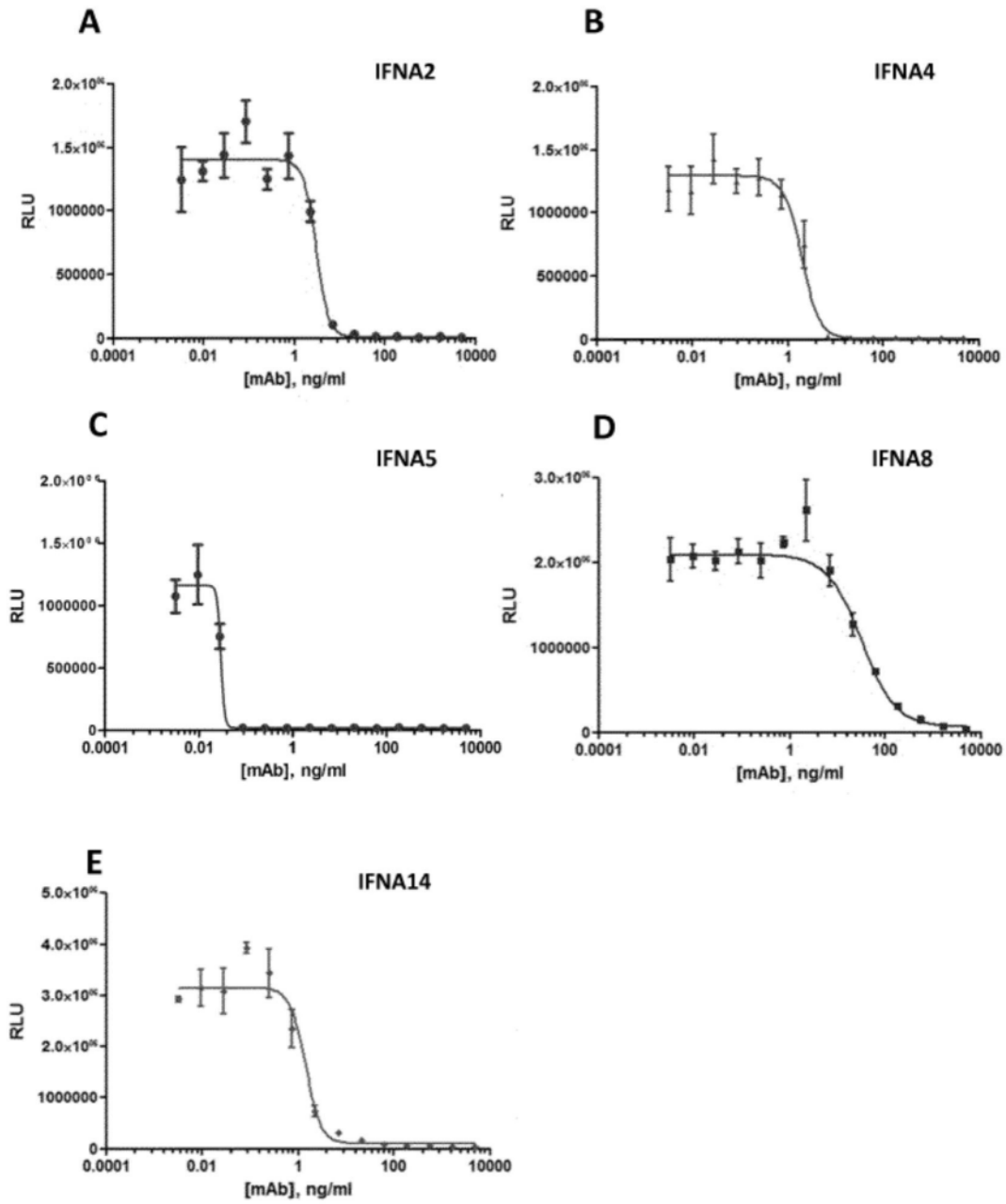


图10

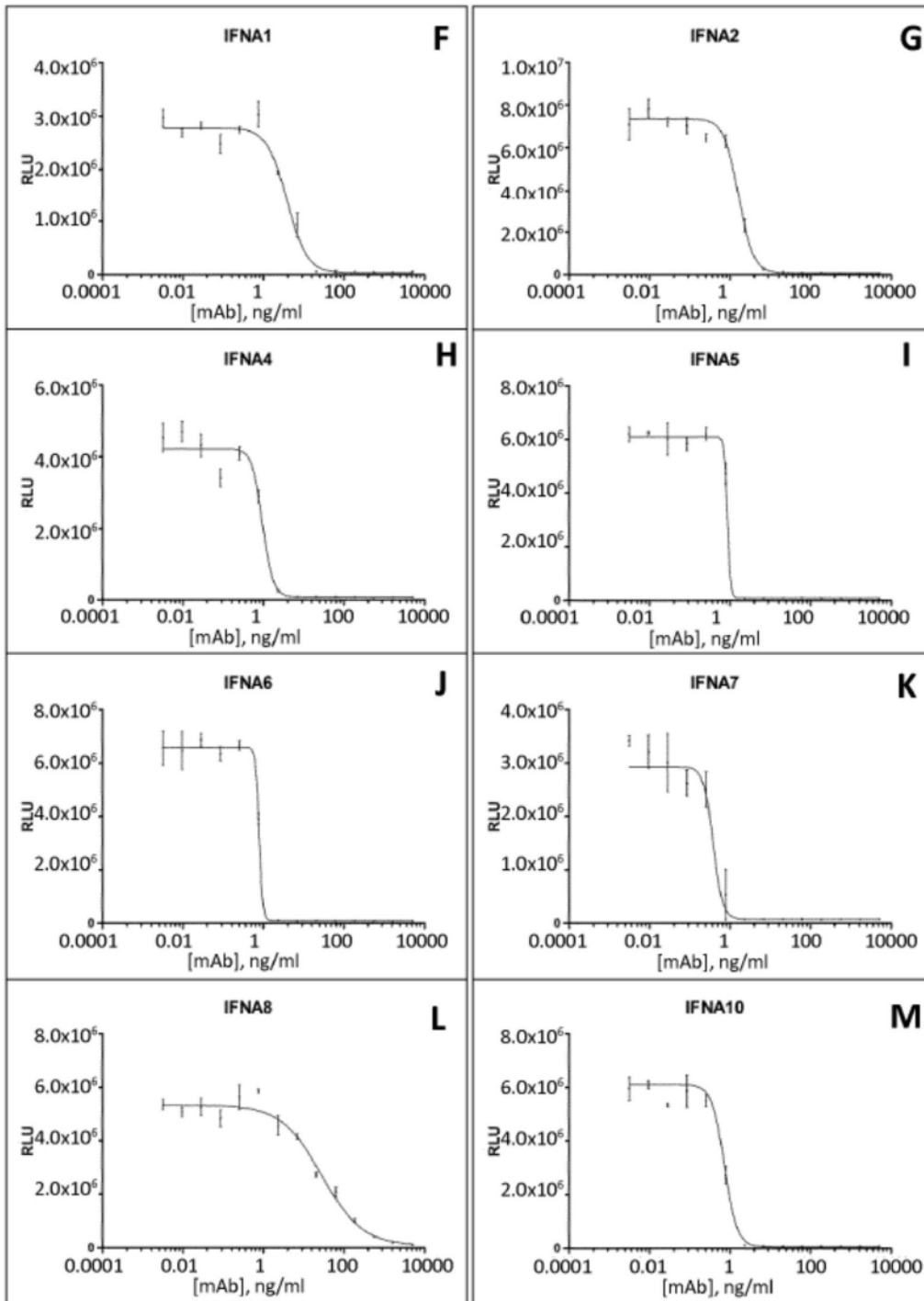


图10(续)

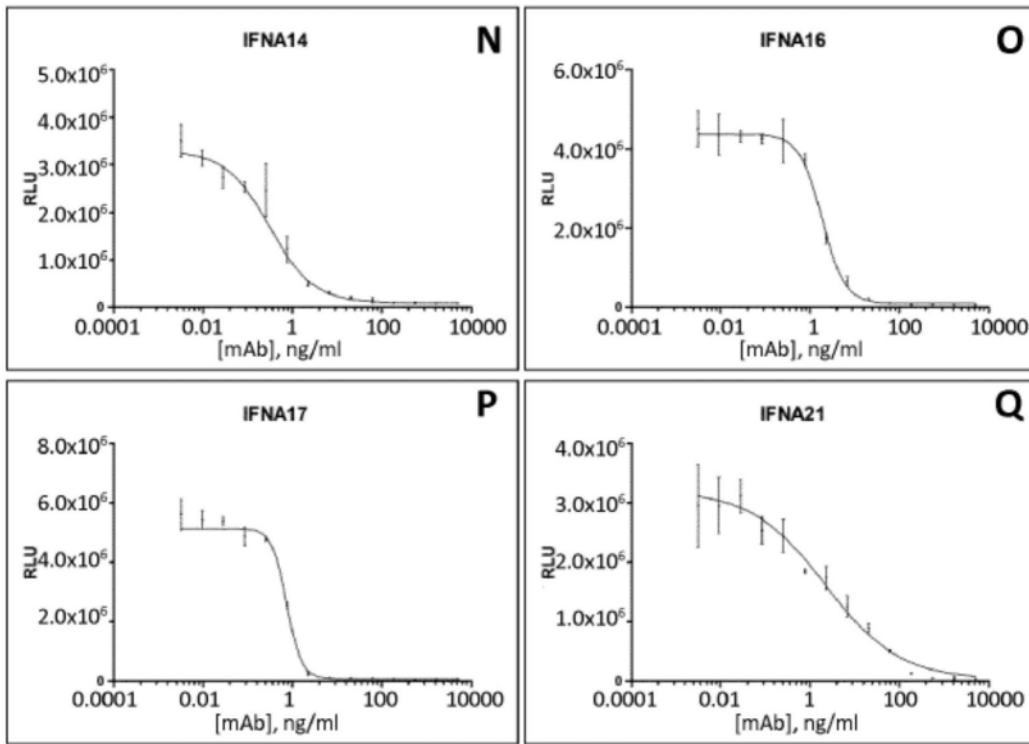


图10(续)

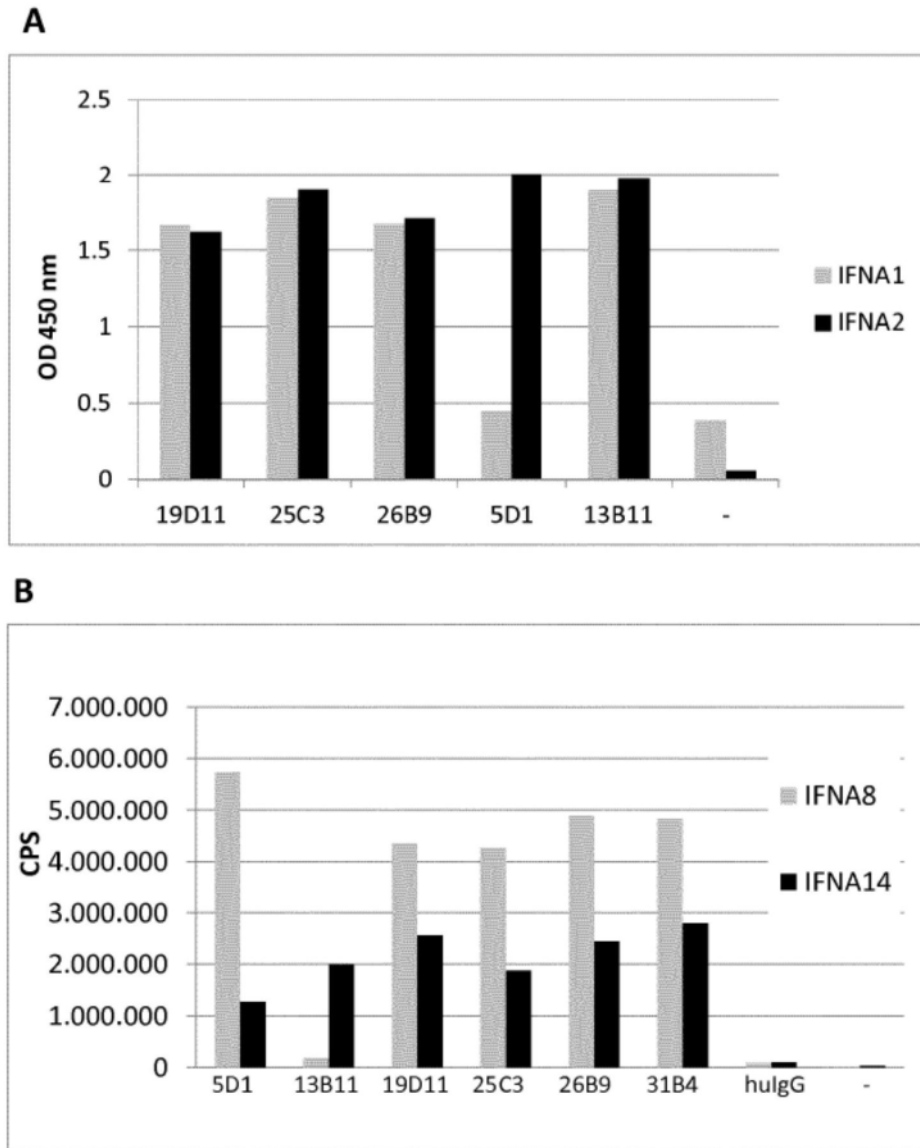


图11

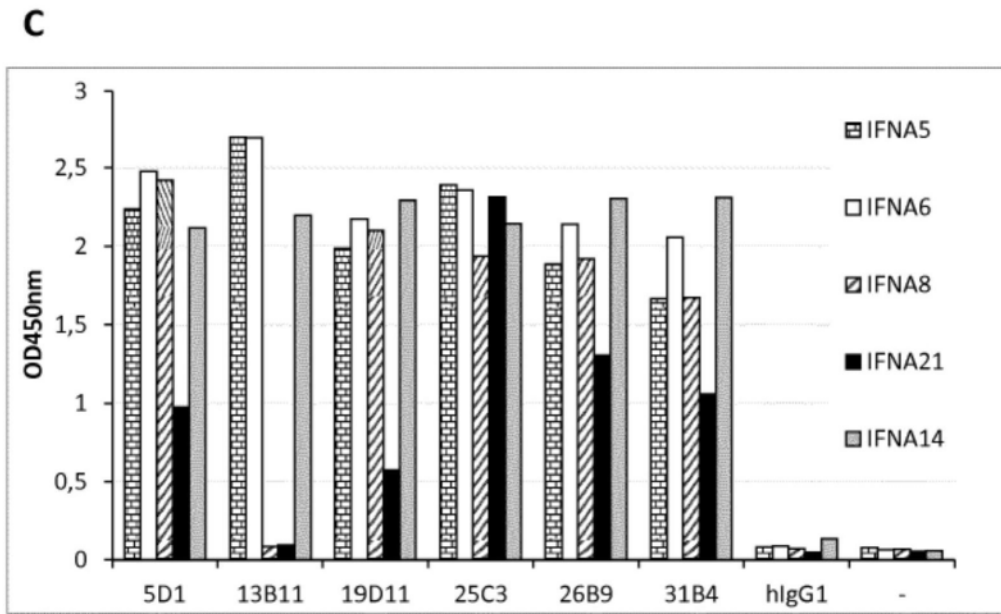


图11(续)

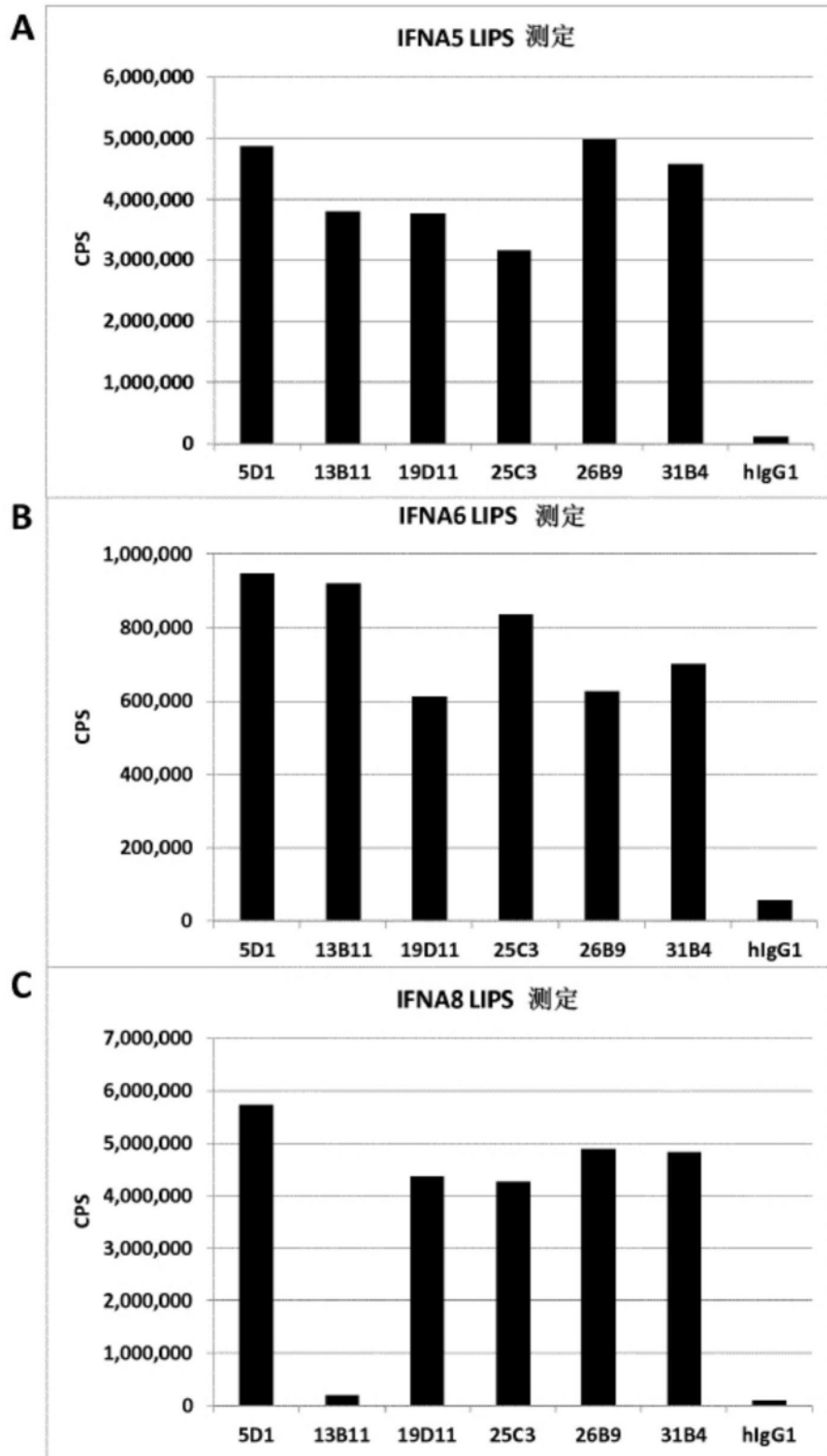


图12

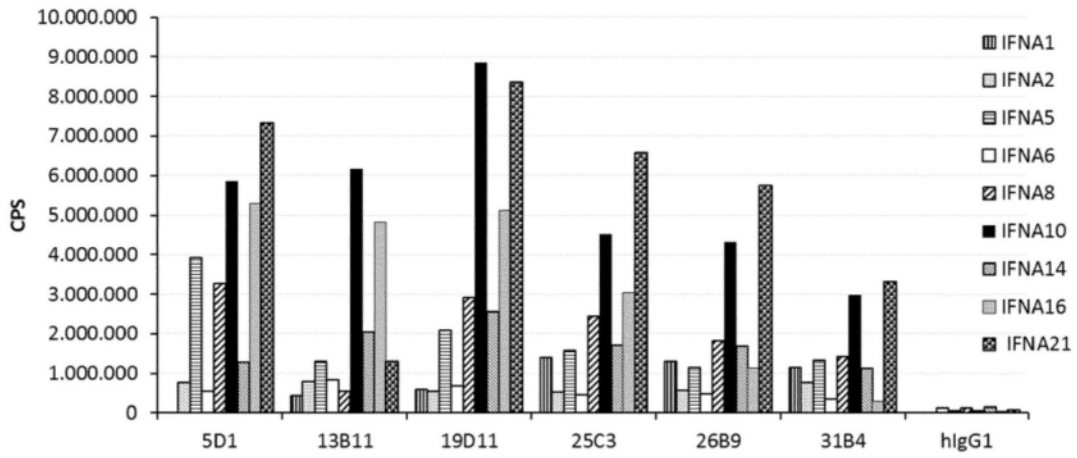


图13

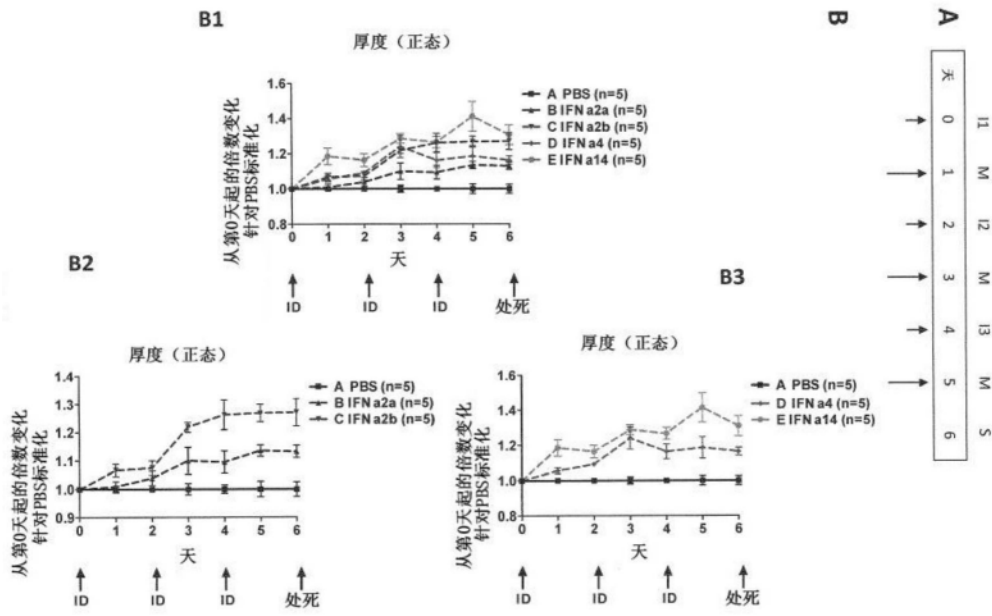


图14

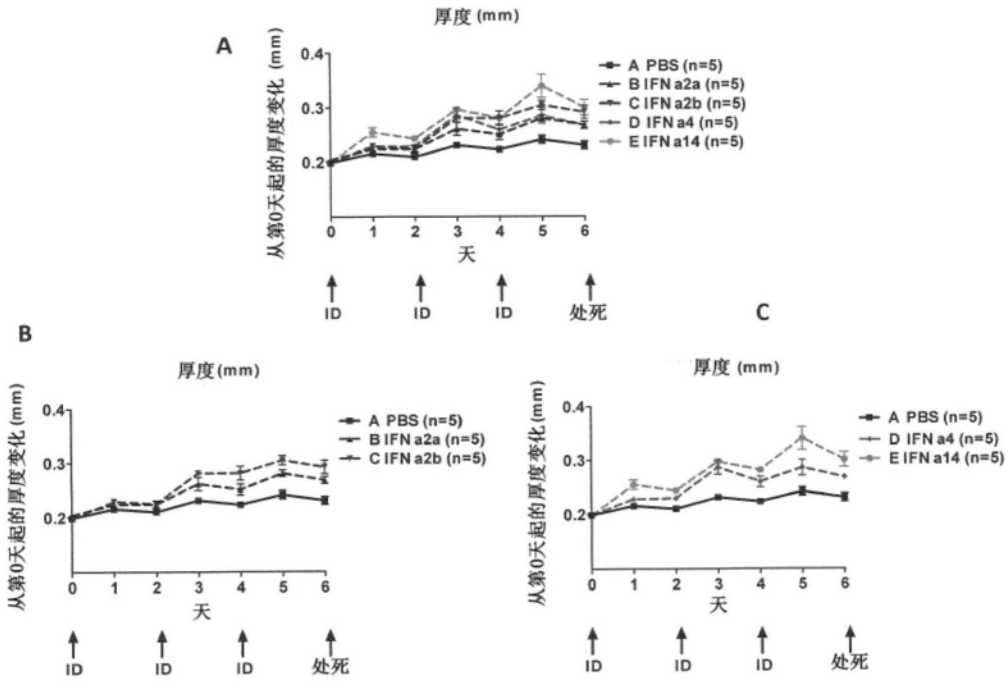


图15

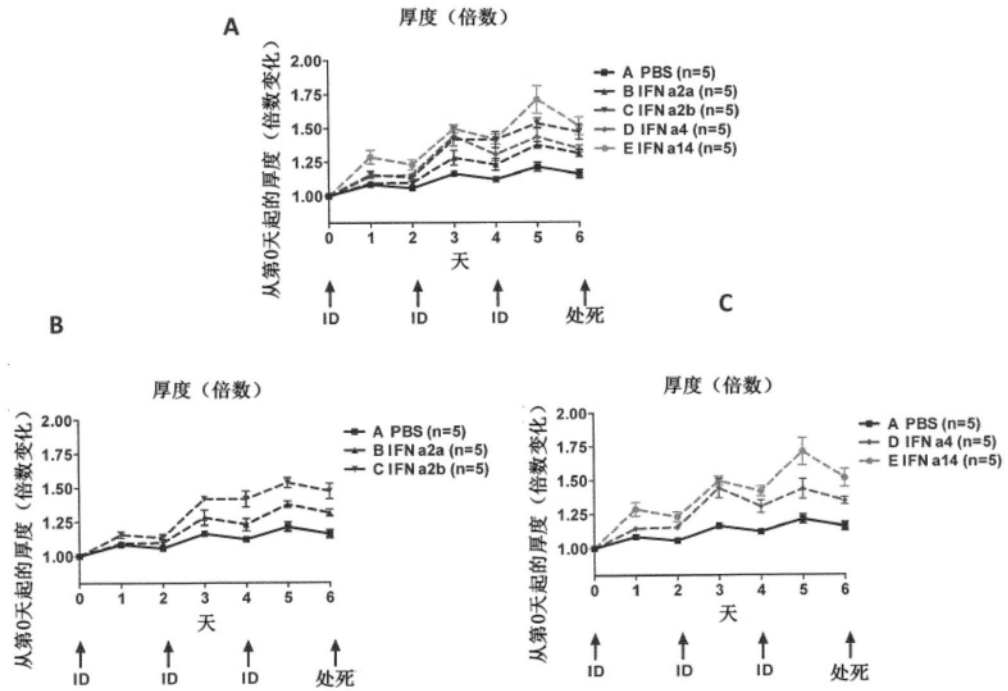


图16

| 标准化 | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|------------|----------|------------|----|----|----|------|------|------|------|
| A | v | B | ns | ns | ns | * | * | ** | ** |
| PBS | | a2a | | | | | | | |
| A | v | C | ns | ns | ns | **** | **** | **** | **** |
| PBS | | a2b | | | | | | | |
| A | v | D | ns | ns | ns | **** | ** | *** | ** |
| PBS | | a4 | | | | | | | |
| A | v | E | ns | ** | * | **** | **** | **** | **** |
| PBS | | a14 | | | | | | | |
| B | v | C | ns | ns | ns | ns | ** | * | * |
| a2a | | a2b | | | | | | | |
| B | v | D | ns | ns | ns | * | ns | ns | ns |
| a2a | | a4 | | | | | | | |
| B | v | E | ns | * | ns | ** | * | **** | * |
| a2a | | a14 | | | | | | | |
| C | v | D | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| a2b | | a4 | | | | | | | |
| C | v | E | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| a2b | | a14 | | | | | | | |
| D | v | E | ns | ns | ns | ns | ns | ** | ns |
| a4 | | a14 | | | | | | | |

图17

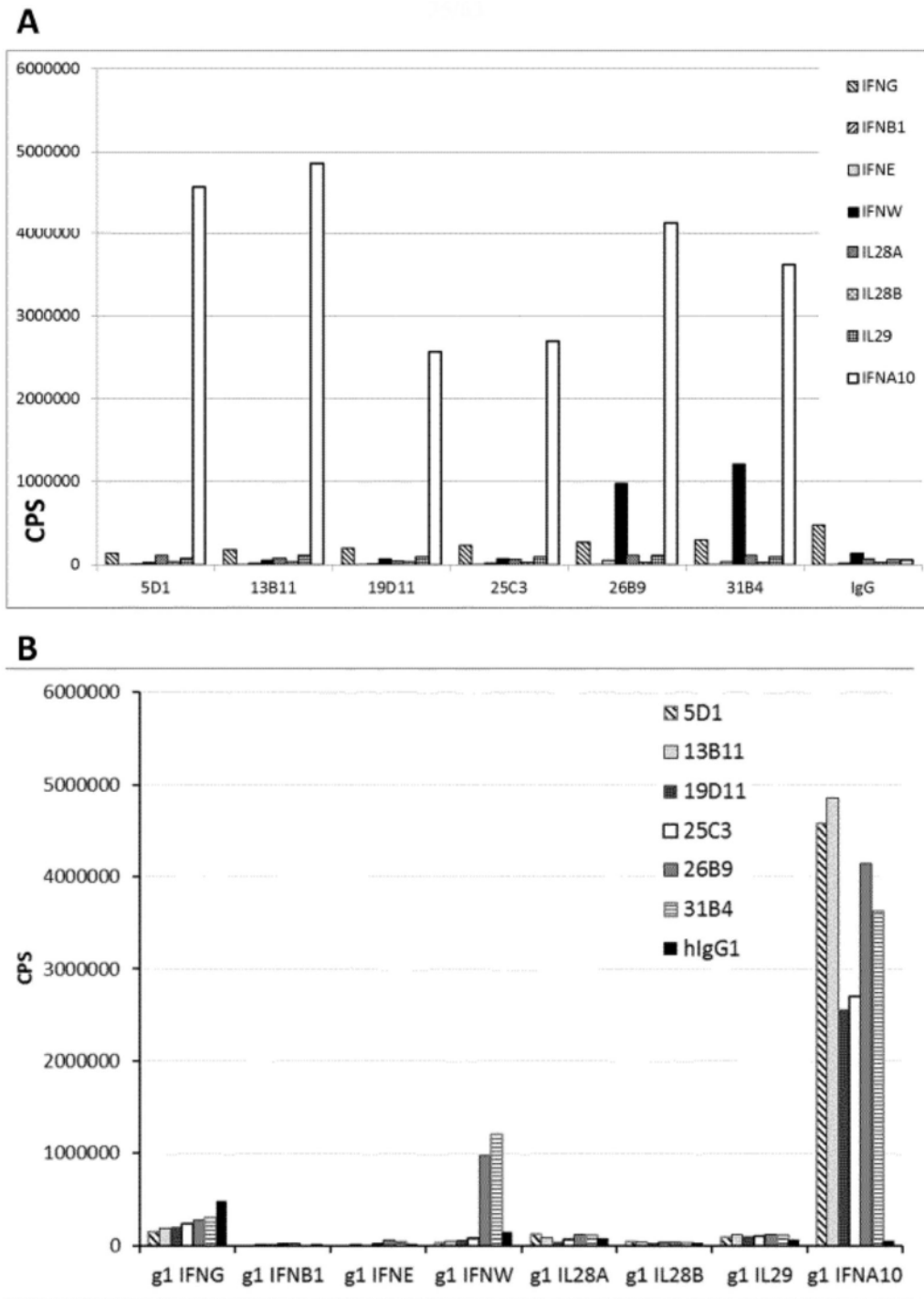


图18

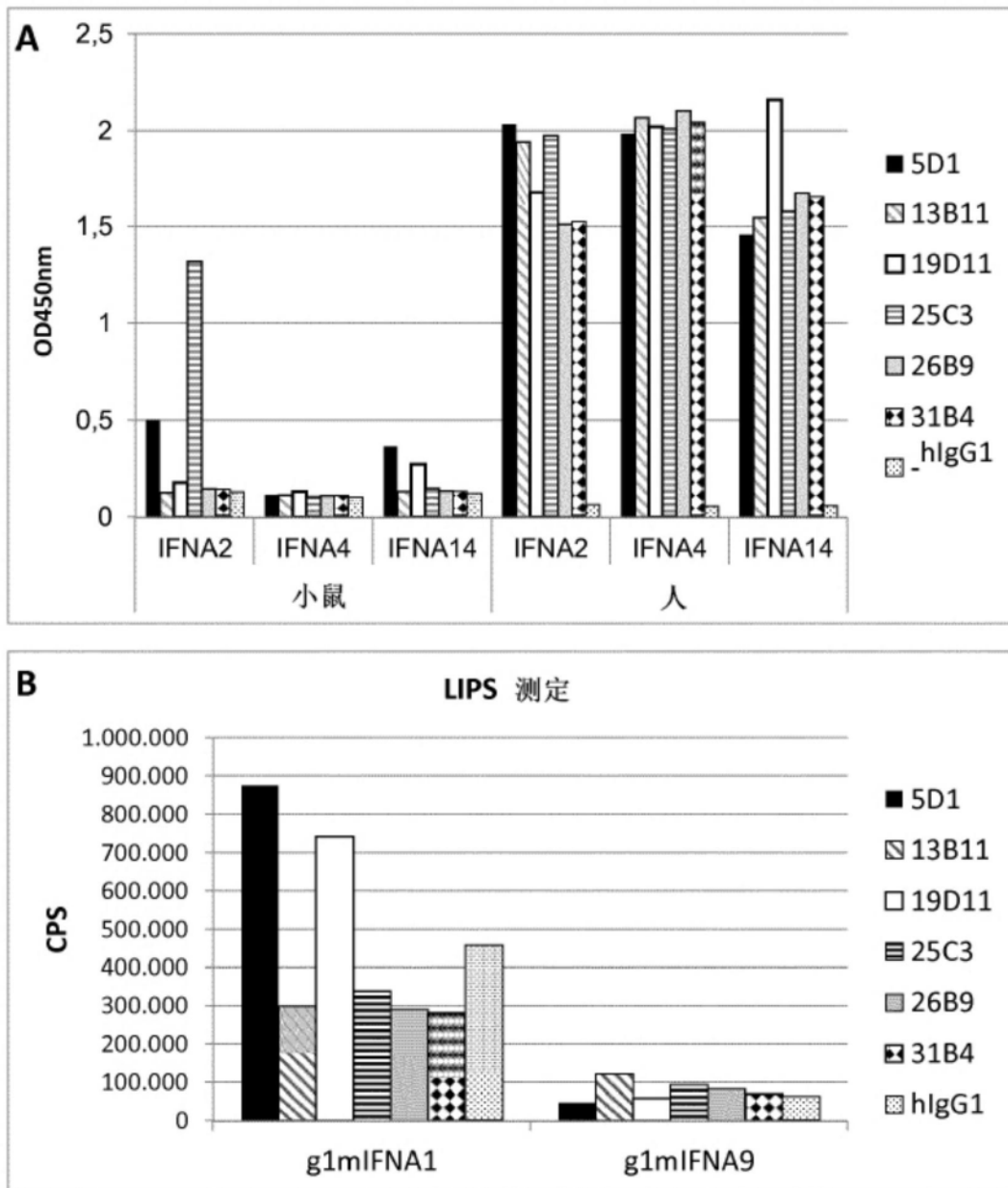


图19

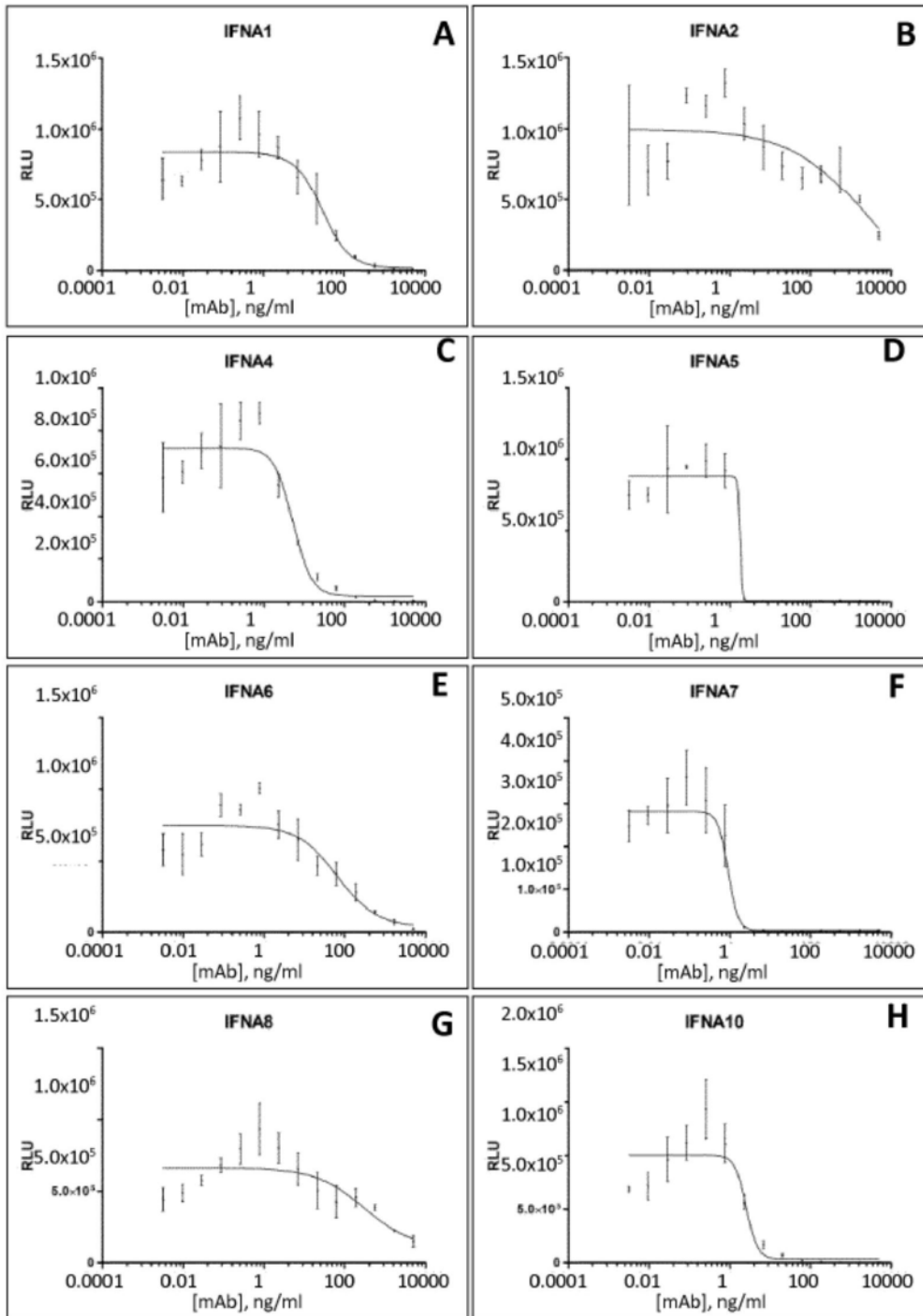


图20

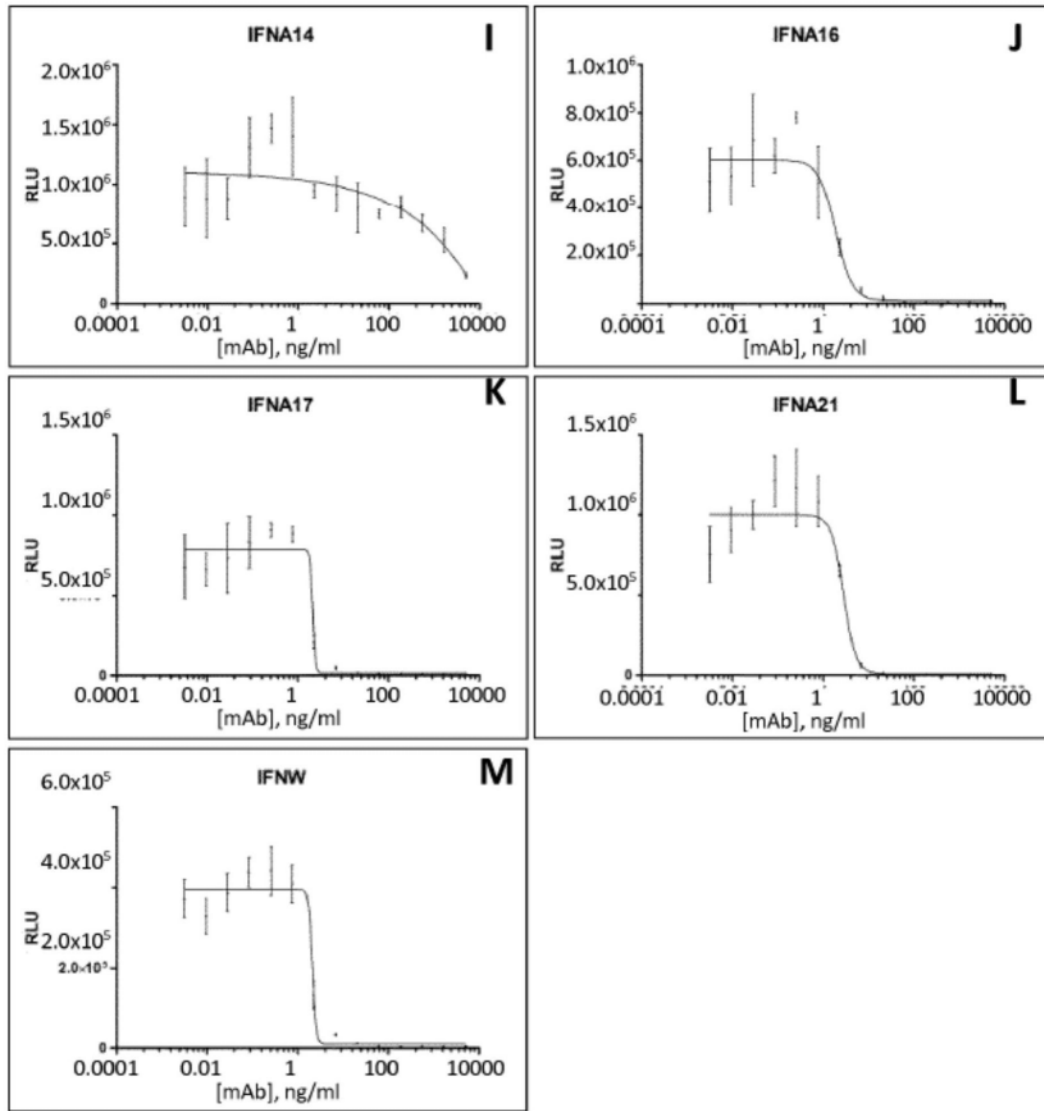


图20(续)

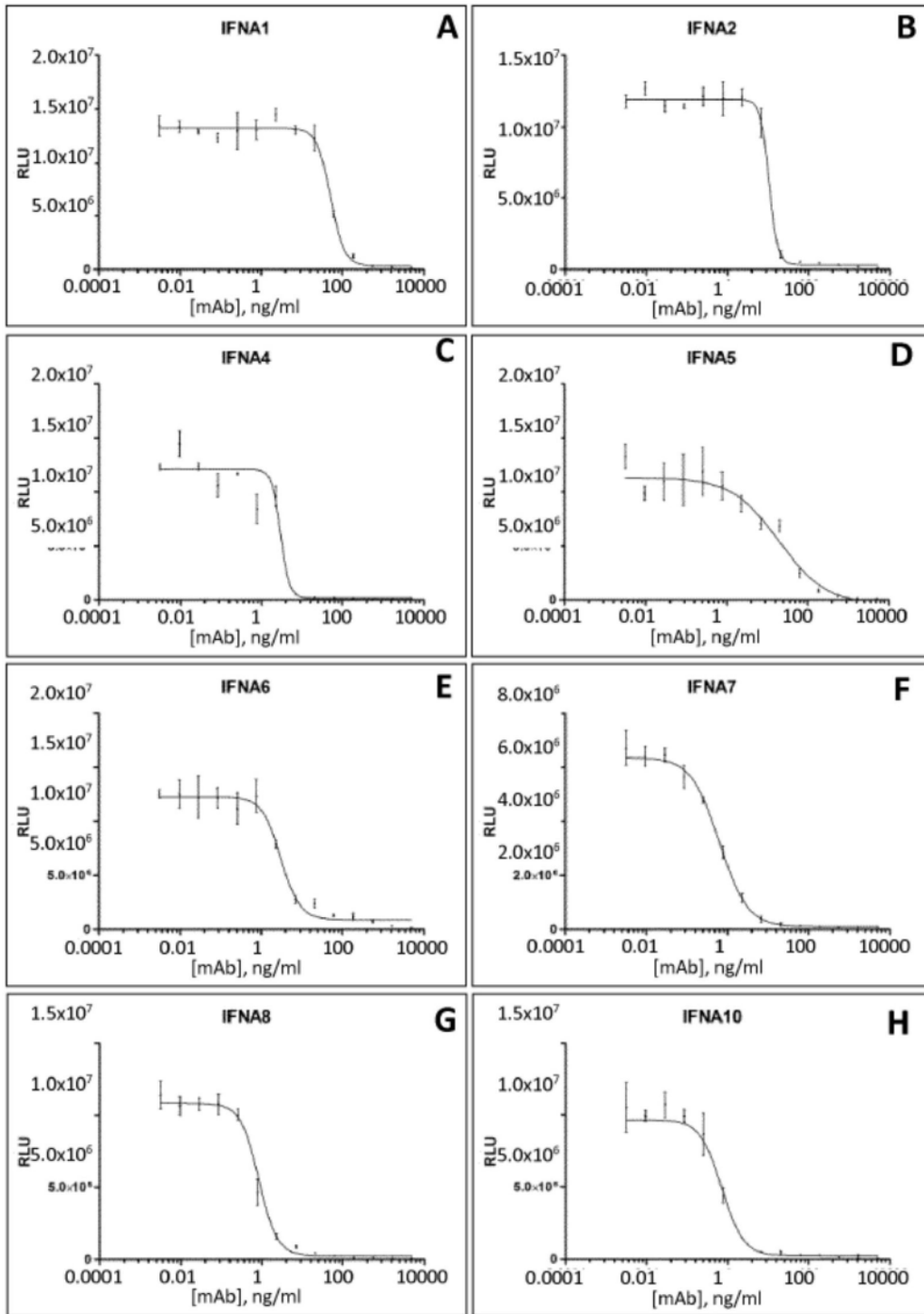


图21

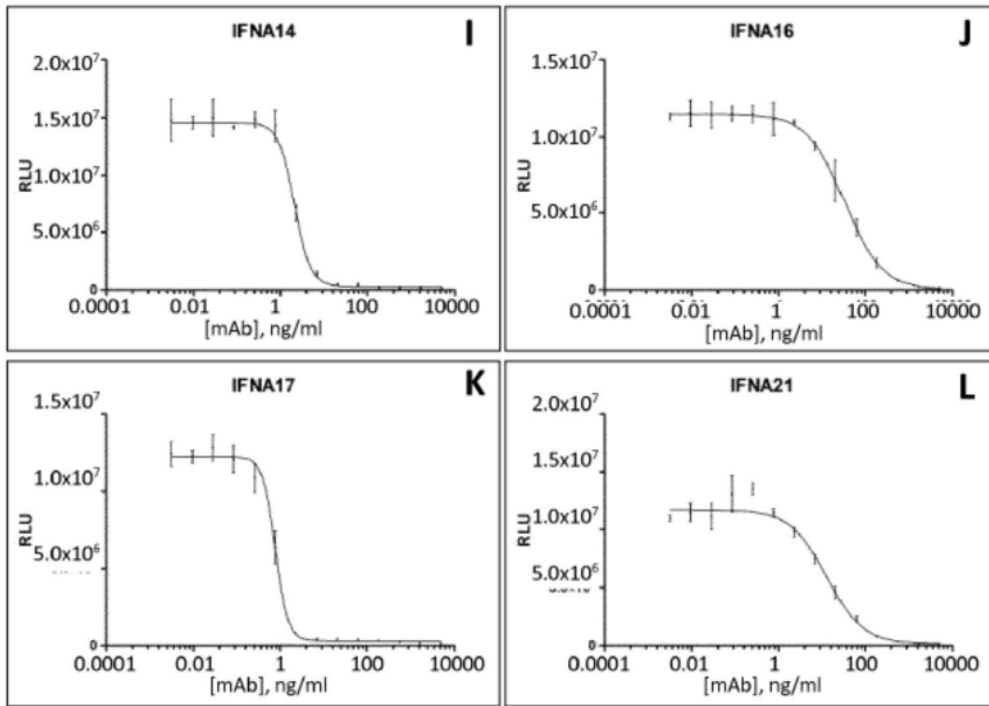


图21(续)

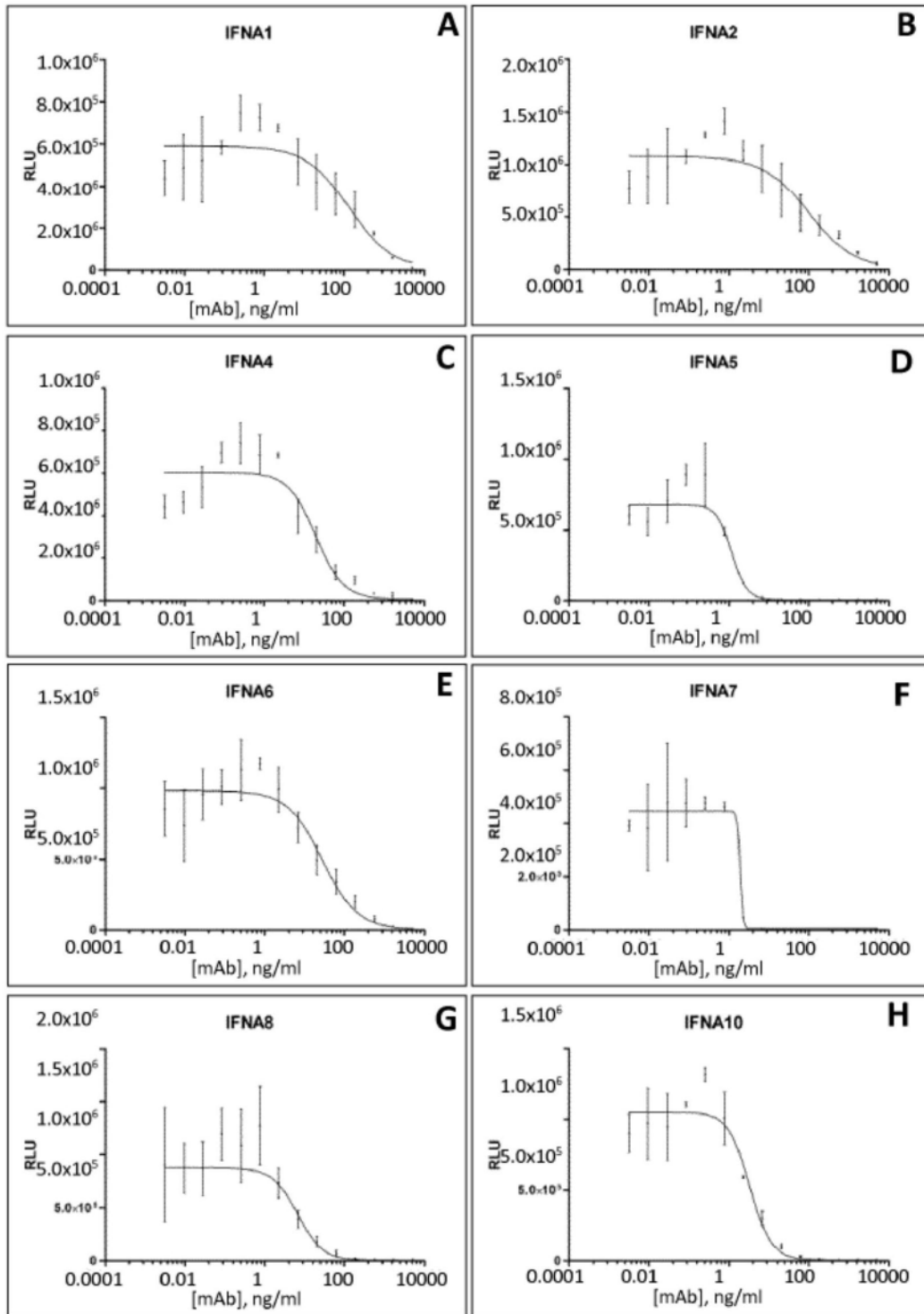


图22

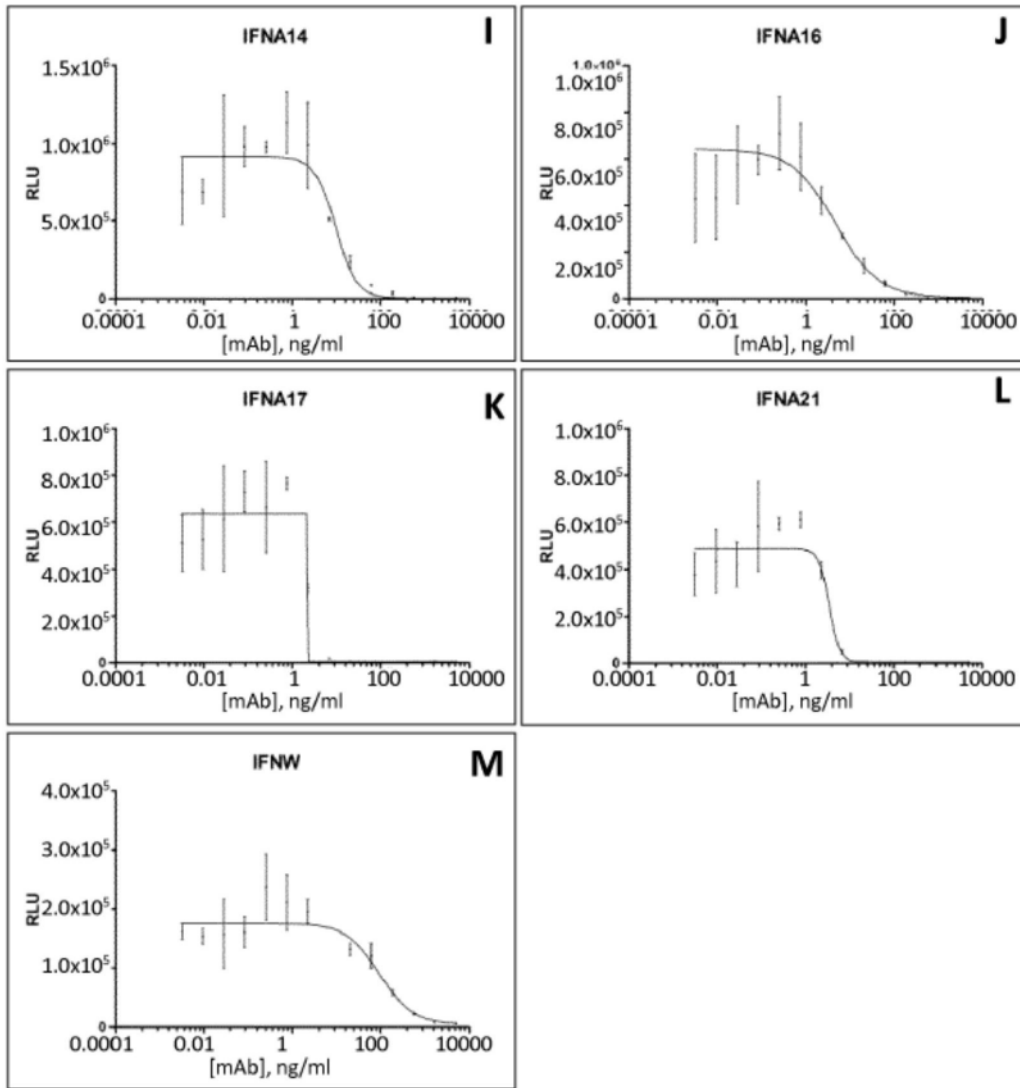


图22(续)

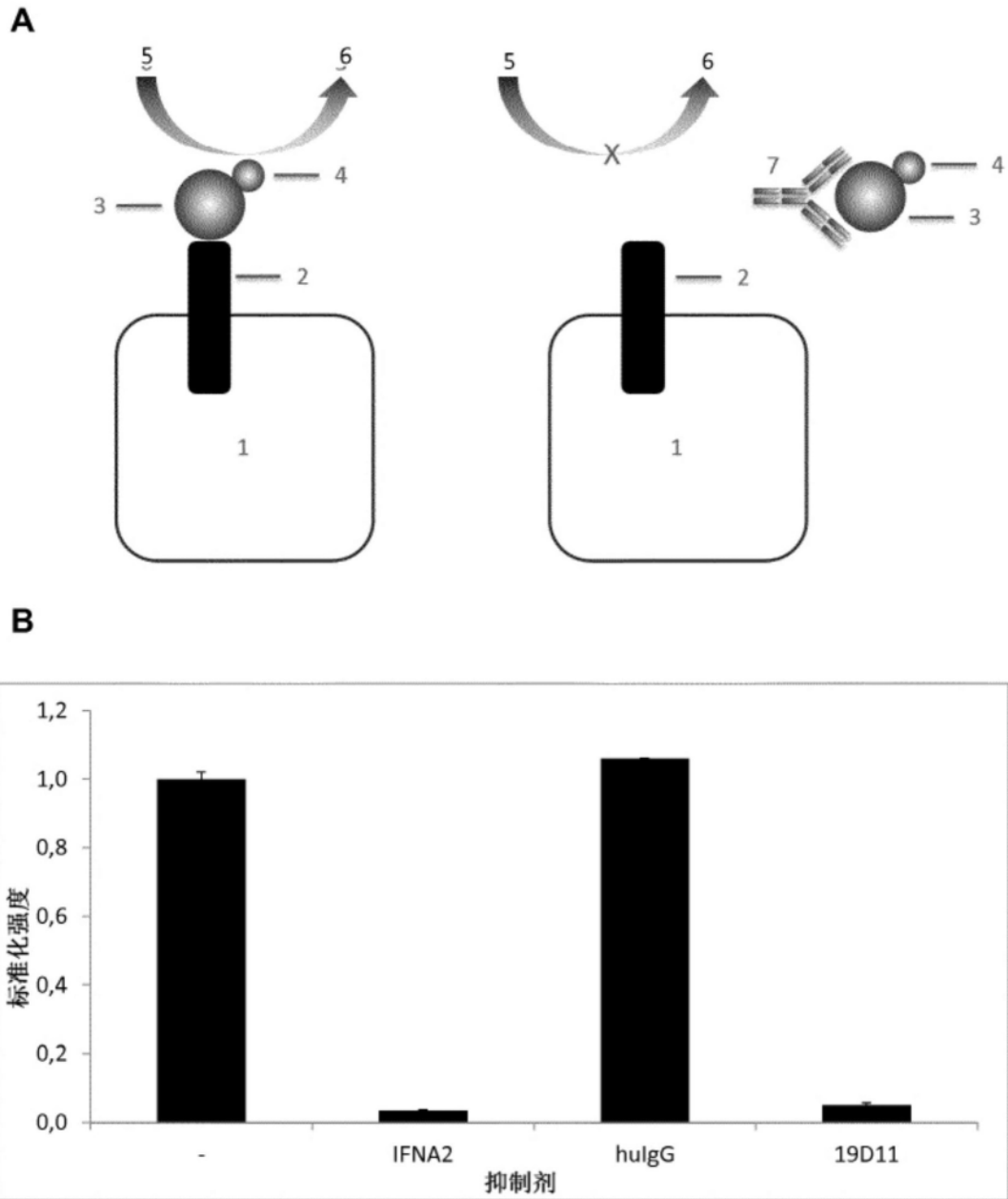


图23

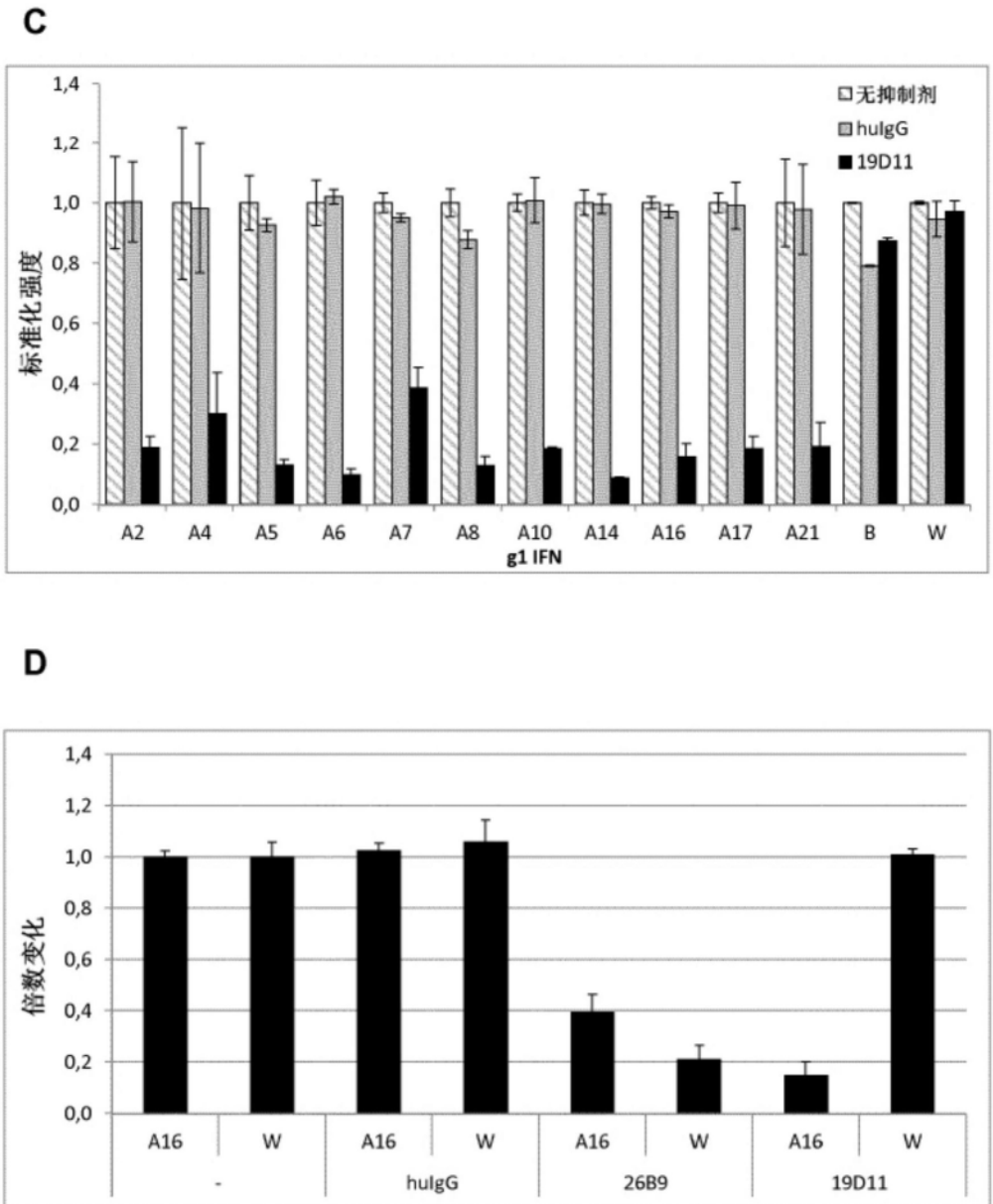


图23(续)

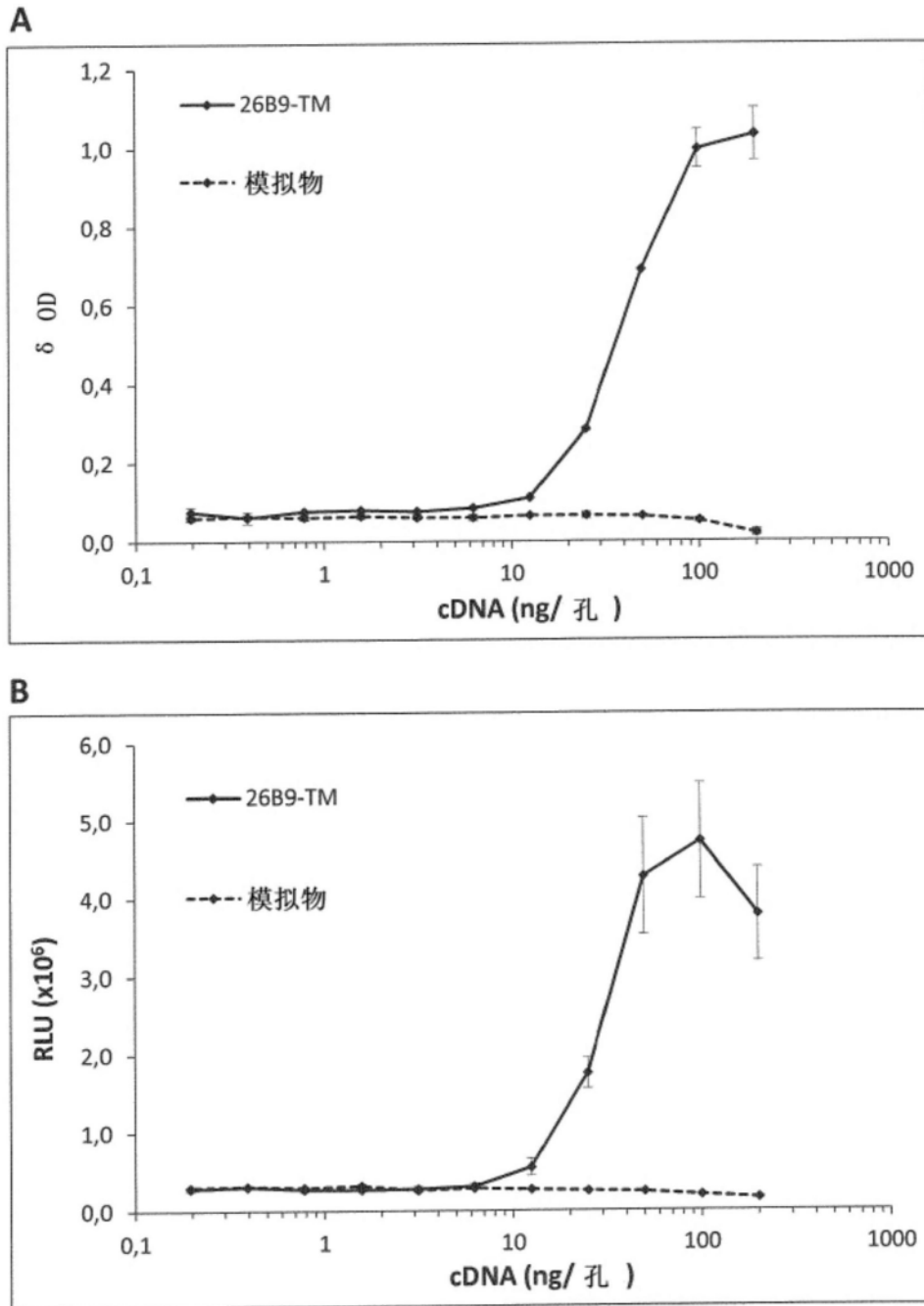


图24

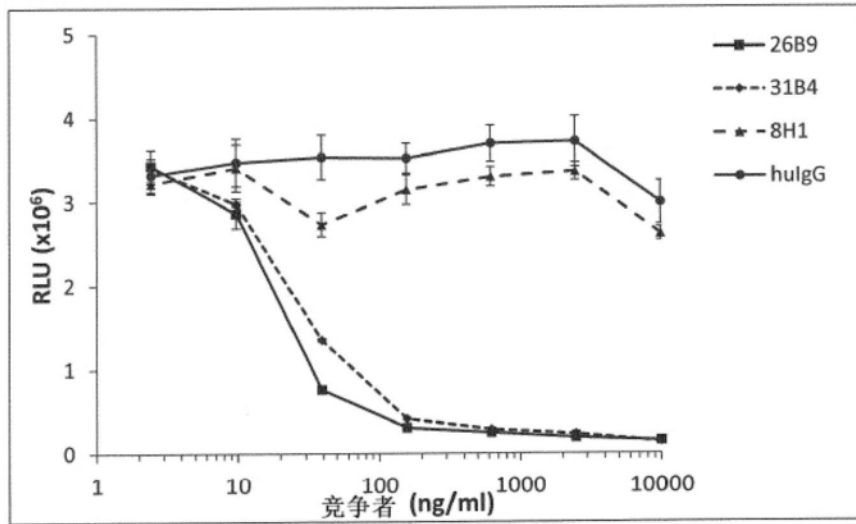


图25

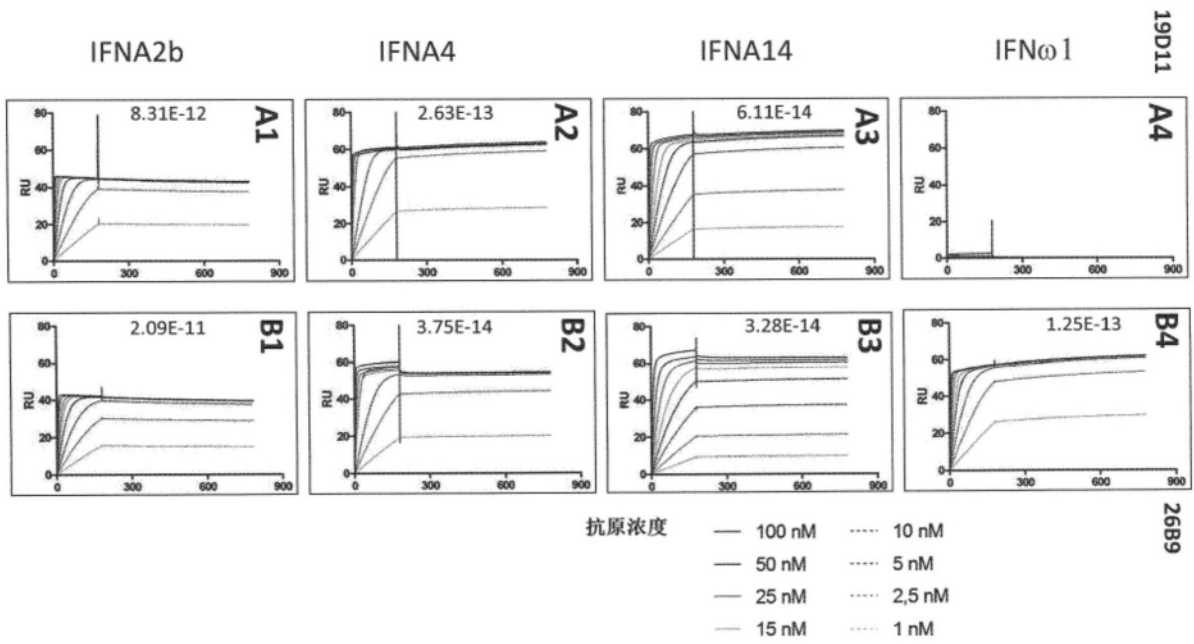


图26

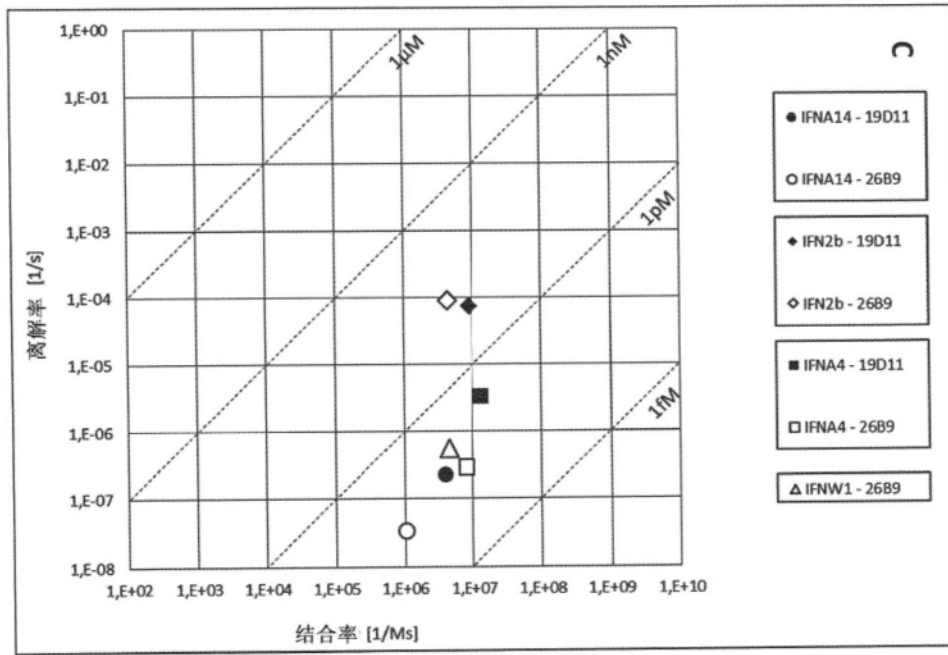


图26(续)

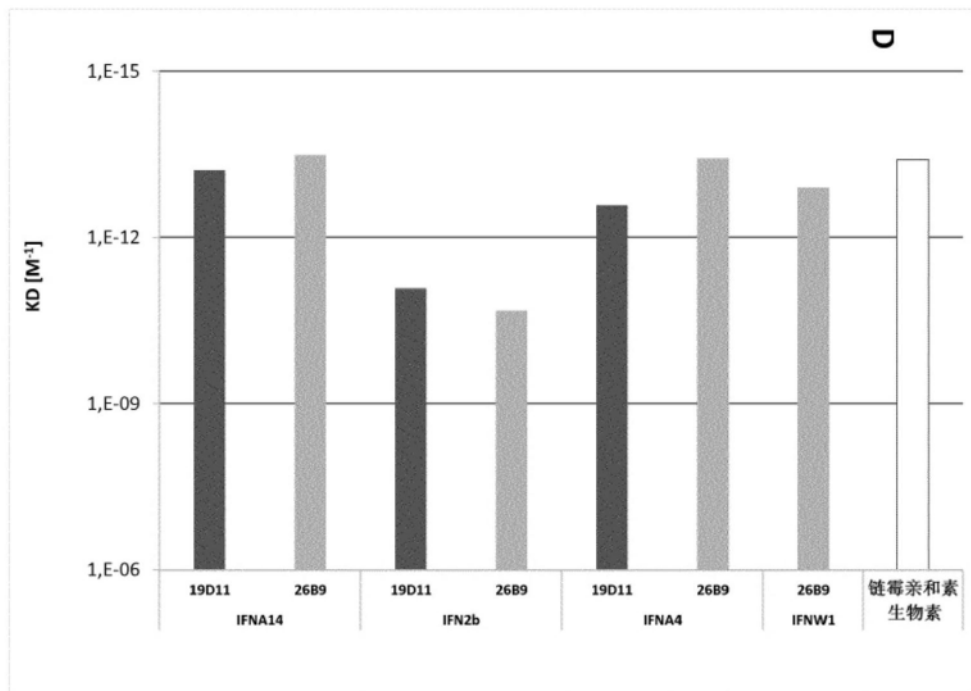


图26(续)

A

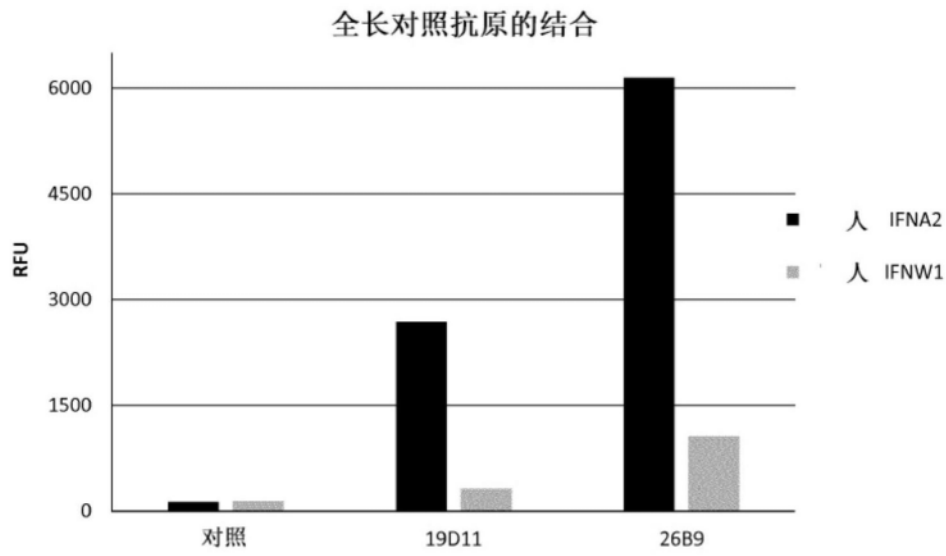
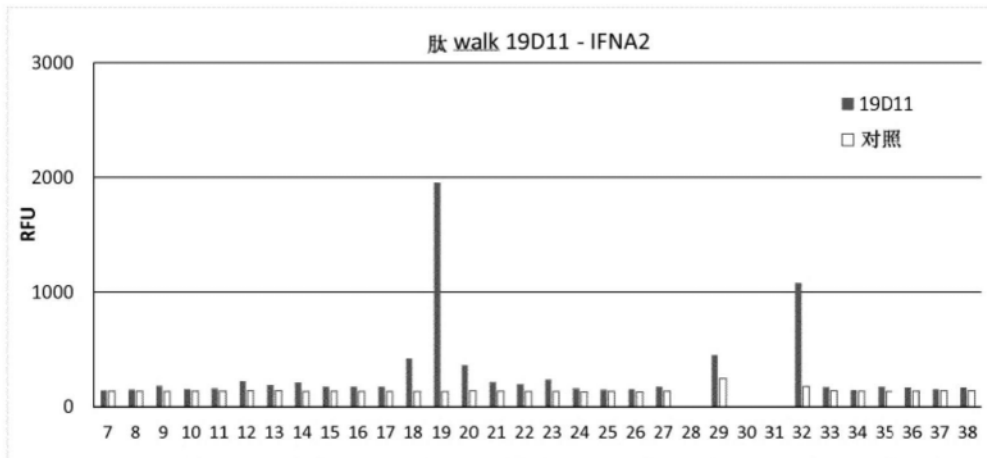


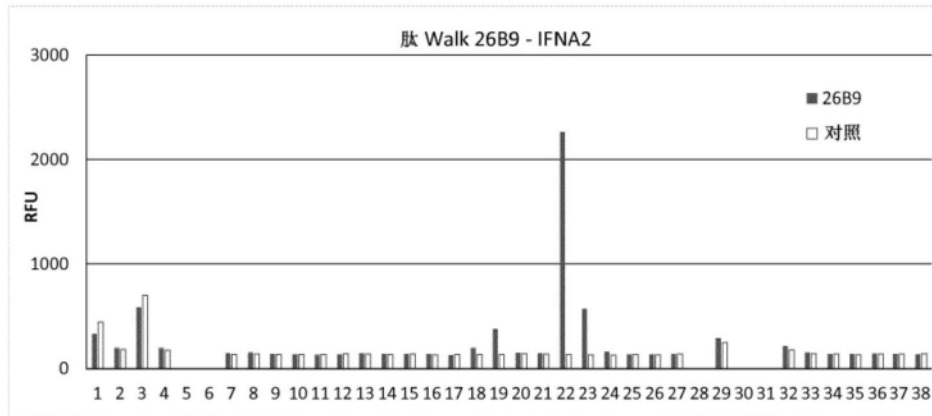
图27



B

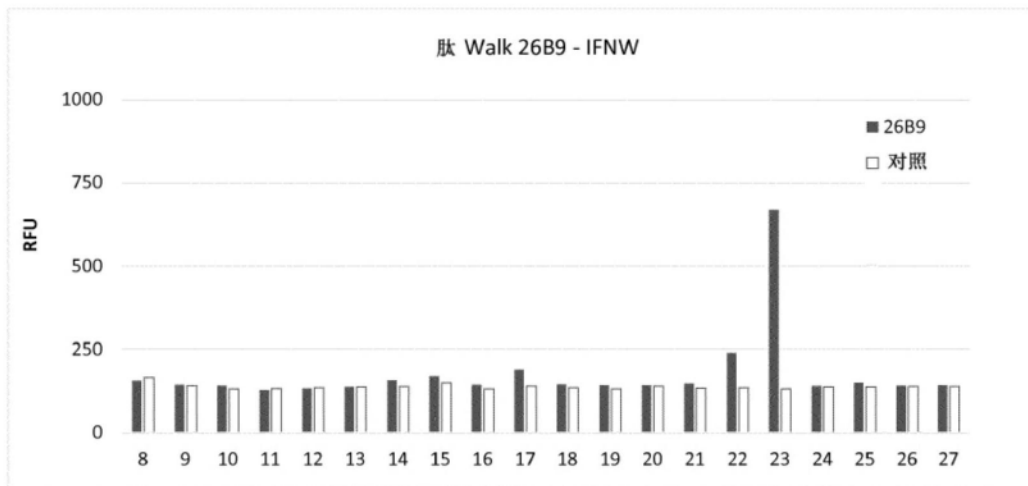
| | | | |
|----|--------------------|----|--------------------|
| 17 | NLFSTKDSSAAWDETLDD | 30 | LAVRKYFQRITLYLKEKK |
| 18 | TKDSSAAWDETLDDKFYT | 31 | KYFQRITLYLKEKKYSPC |
| 19 | SAAWDETLDDKFYTELYQ | 32 | RITLYLKEKKYSPCAWEV |
| 20 | DETLDDKFYTELYQQLND | 33 | YLKEKKYSPCAWEVVRAE |
| 21 | | 34 | KKYSPCAWEVVRAEIMRS |

图27(续)



20 DETLLDKFYTELYQQLND
 21 LDKFYTELYQQLNDLEAC
 22 YTELYQQLNDLEACVIQG
 23 YQQLNDLEACVIQGVGVT
 24 NDLEACVIQGVGTETPL

图27(续)



21 MTLLDQLHTGLHQQQLHL
 22 DQLHTGLHQQQLHLETCL
 23 TGLHQQQLHLETCLLQW
 24 QQLQHLETCLLQVVGEGE
 25 HLETCLLQVVGEGESAGA

图27(续)

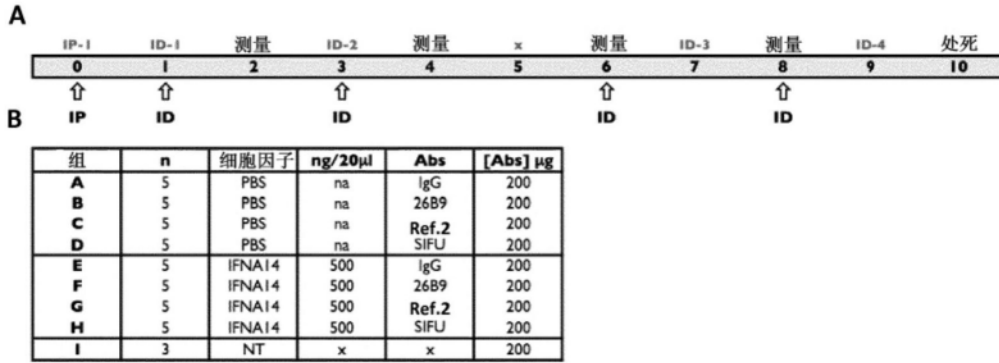


图28

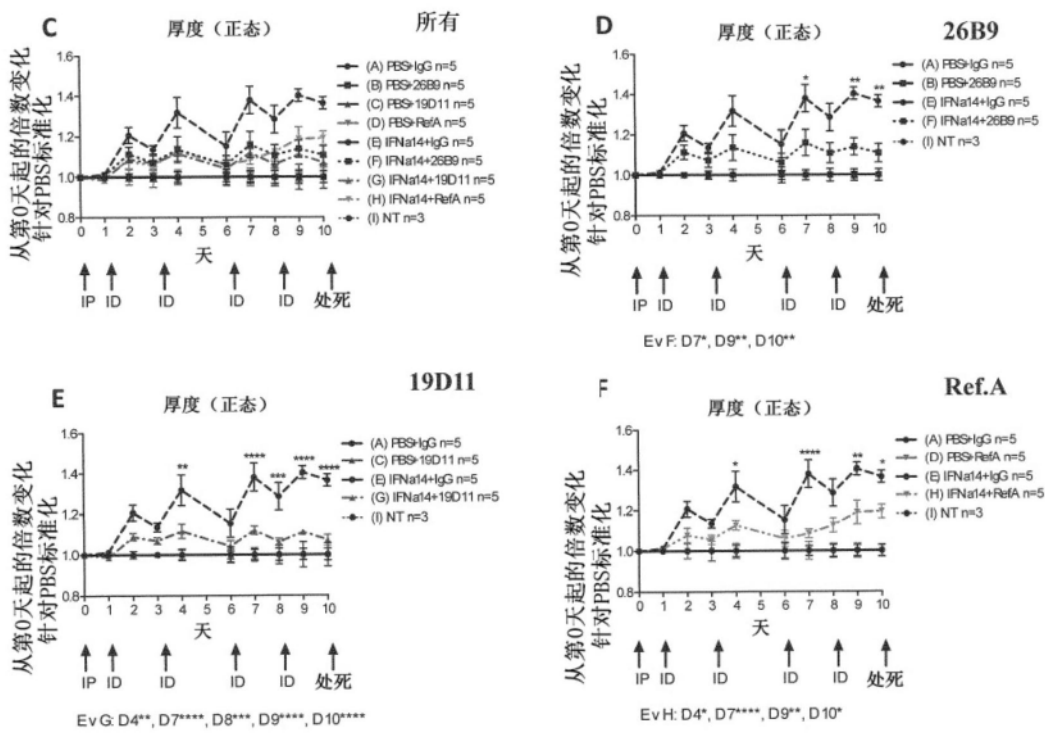


图28 (续)

A

| | | | | | | | | | | |
|------|------|----|------|----|---|----|------|----|------|----|
| IP-1 | ID-1 | 测量 | ID-2 | 测量 | x | 测量 | ID-3 | 测量 | ID-4 | 处死 |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| ↑ | ↑ | | ↑ | | | ↑ | | ↑ | | |

B

| 组 | n | 细胞因子 | ng/20μl | Abs | [Abs] μg |
|---|---|-------|---------|-------|----------|
| A | 5 | PBS | na | IgG | 200 |
| B | 5 | PBS | na | 26B9 | 200 |
| C | 5 | PBS | na | Ref.2 | 200 |
| D | 5 | PBS | na | αIFN | 200 |
| E | 5 | IFNA5 | 500 | IgG | 200 |
| F | 5 | IFNA5 | 500 | 26B9 | 200 |
| G | 5 | IFNA5 | 500 | Ref.2 | 200 |
| H | 5 | IFNA5 | 500 | SIFU | 200 |
| I | 5 | NT | x | x | 200 |

图29

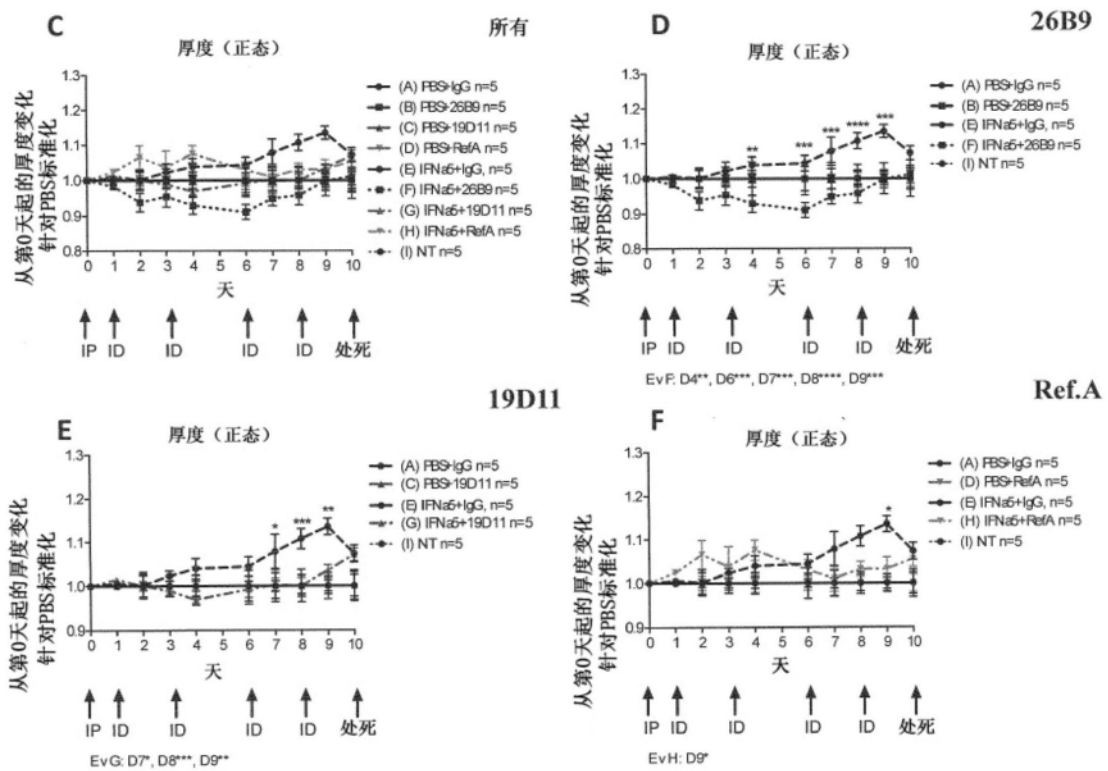


图29(续)

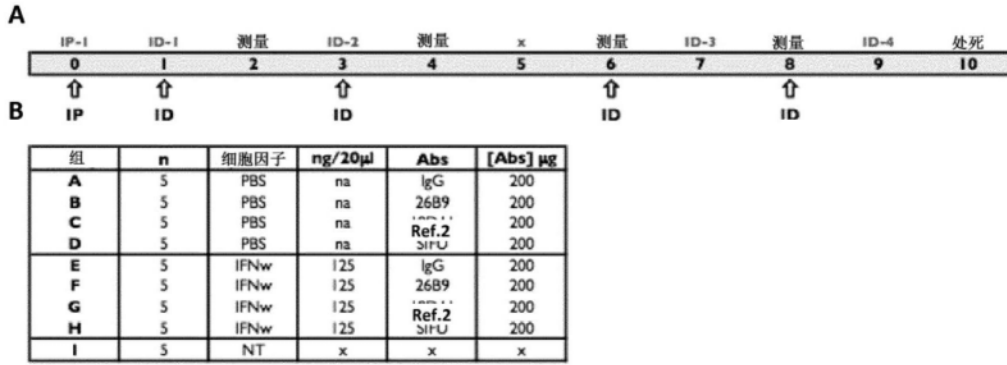


图30

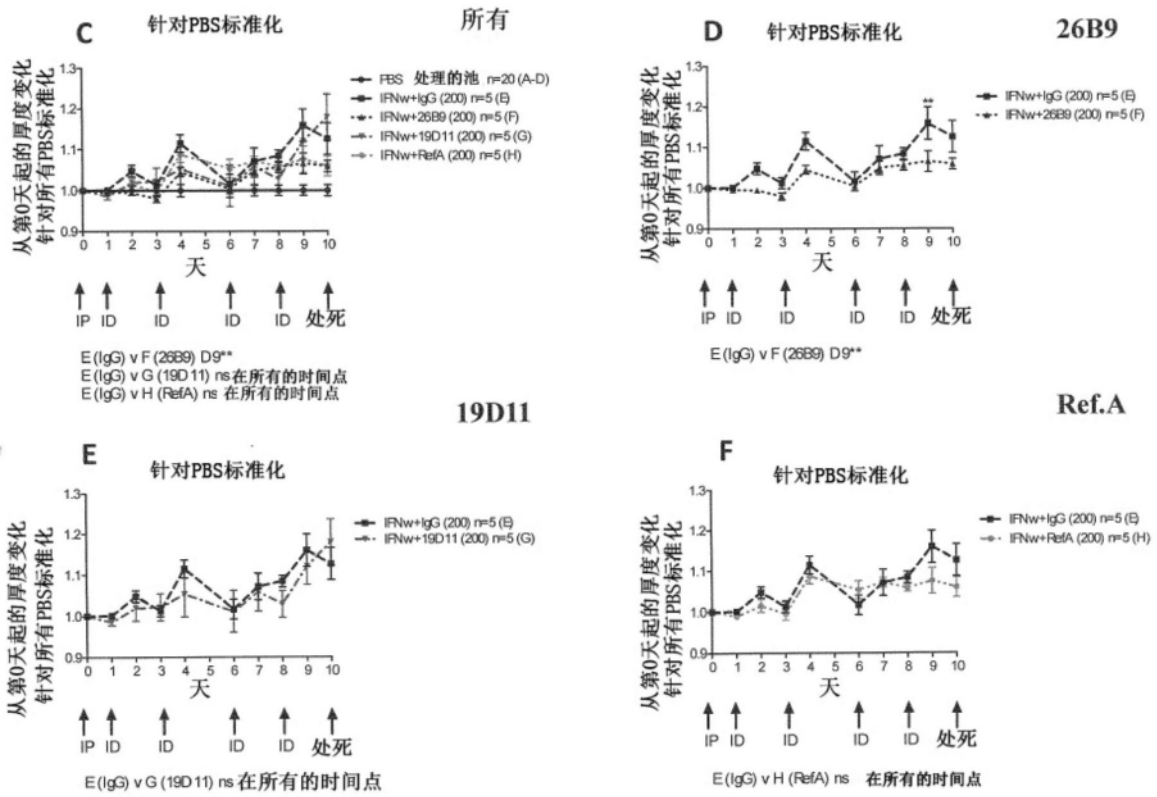


图30(续)

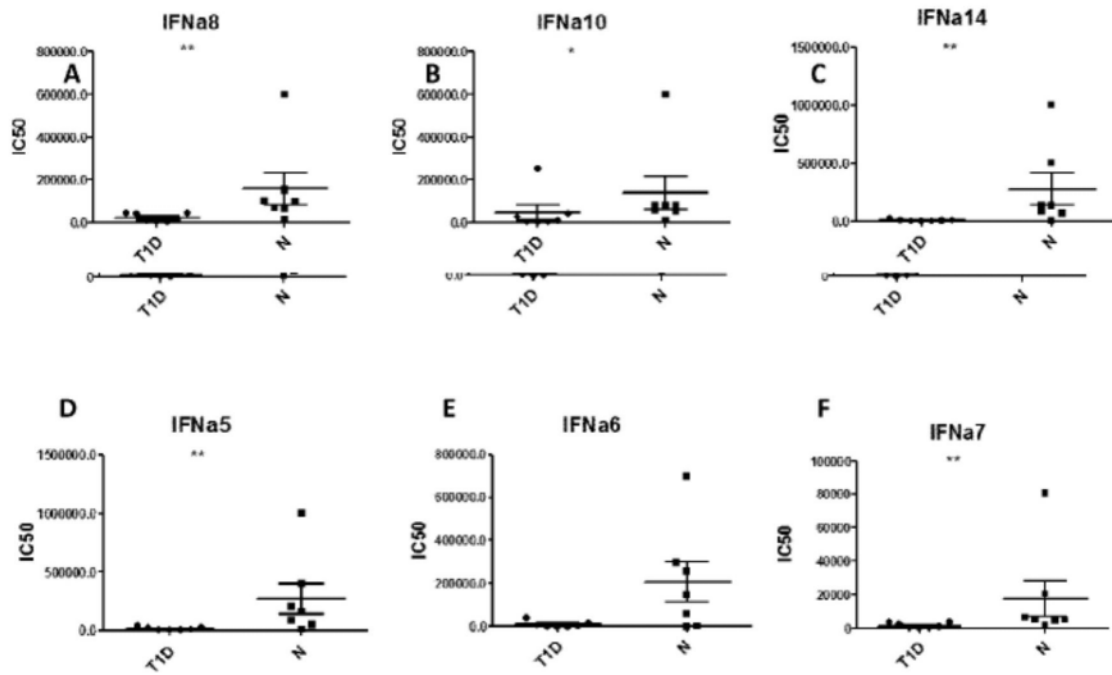


图31

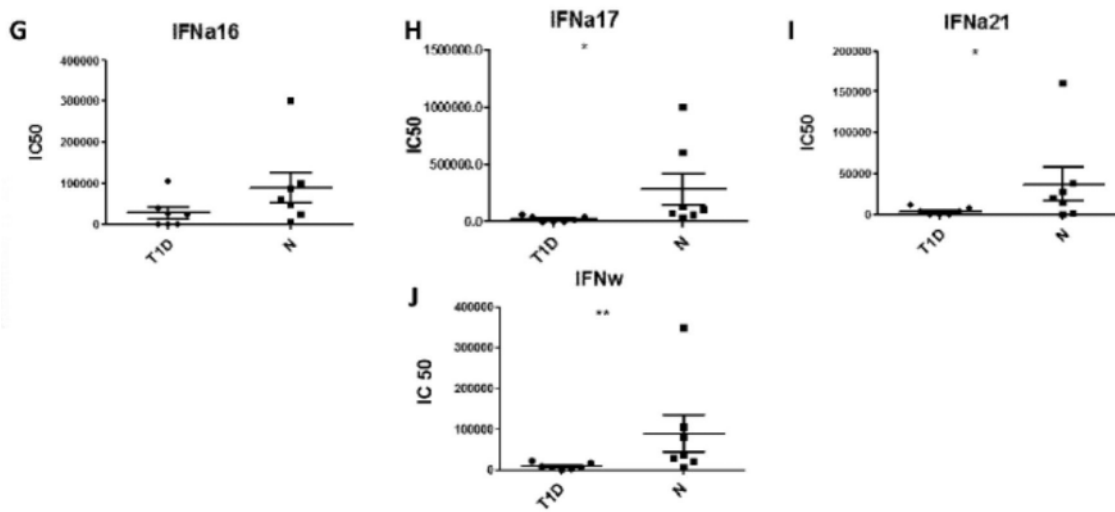


图31(续)

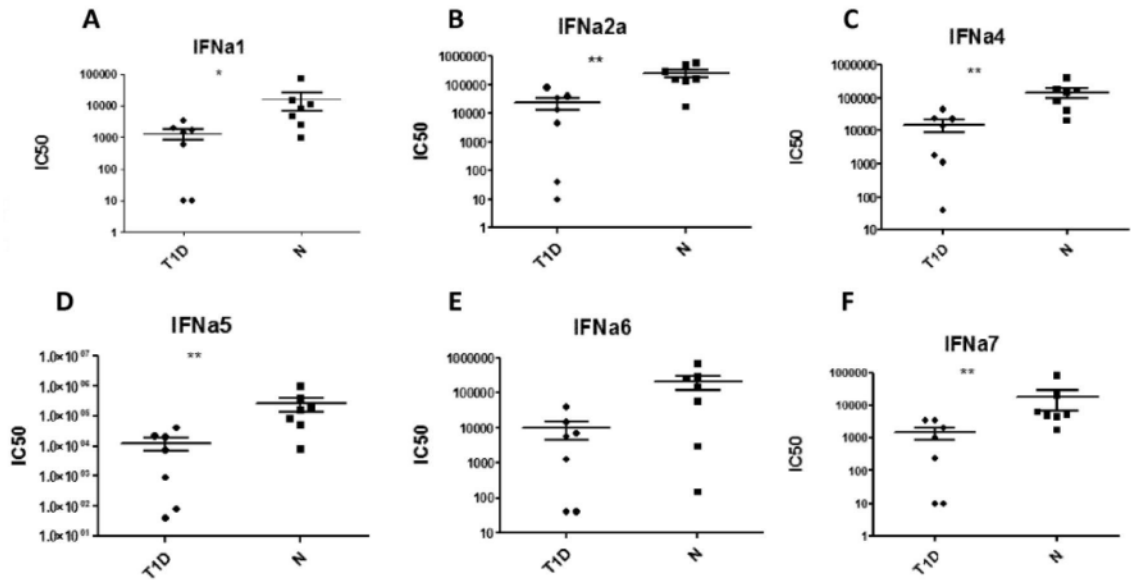


图32

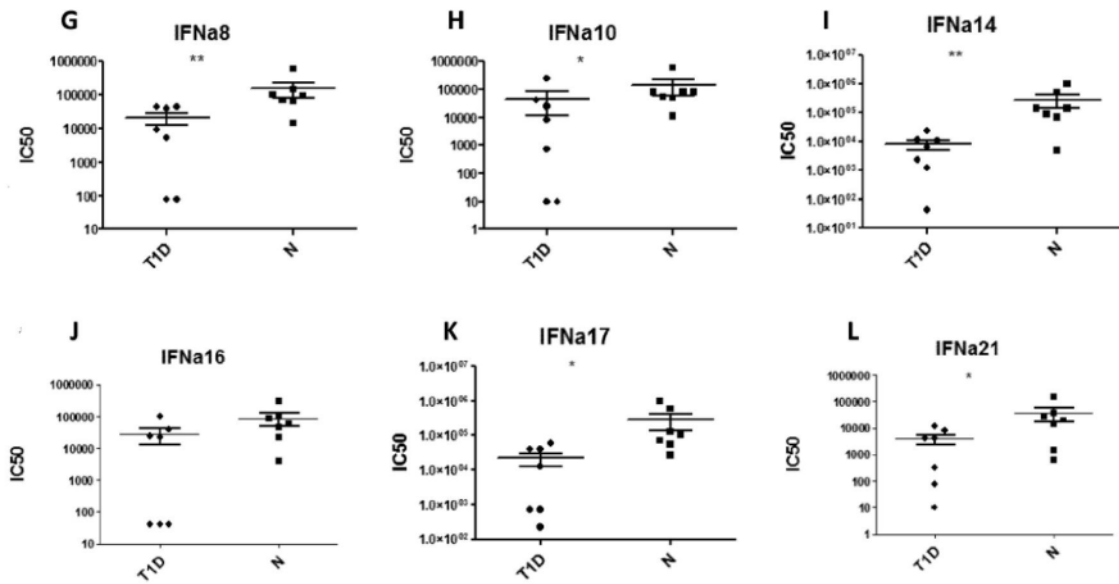


图32(续)