



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110494445 A

(43)申请公布日 2019. 11. 22

(21)申请号 201880015254.7

郑镇沅 金衍周 孙镛圭 成炳济

(22)申请日 2018.01.05

(74)专利代理机构 北京银龙知识产权代理有限公司

(30)优先权数据

62/443,151 2017.01.06 US

公司 11243

代理人 钟海胜 宋琴芝

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.09.05

(51)Int.Cl.

C07K 16/18(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2018/000239 2018.01.05

A61K 39/00(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/128454 K0 2018.07.12

(71)申请人 ABL生物公司

地址 韩国京畿道

(72)发明人 安珍衡 安晟媛 金东寅 成恩实

严在铉 李尚勋 李承宰 金泰京

崔珉善 刘原圭 郑在浩 金柱嬉

权利要求书5页 说明书47页

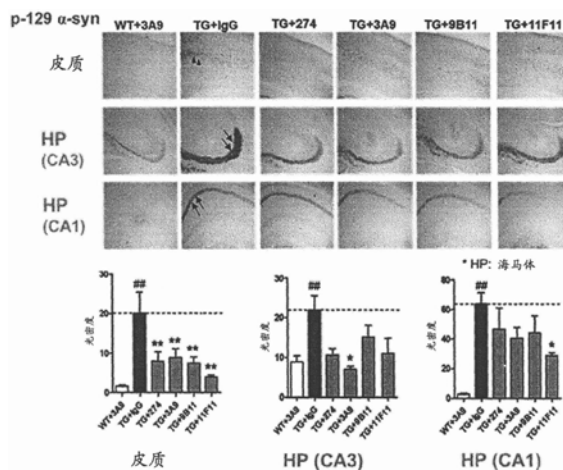
序列表144页 附图11页

(54)发明名称

抗 α -SYN抗体及其用途

(57)摘要

本申请公开了一种优先识别 α -syn聚集体的抗 α -syn抗体。根据本申请的抗体以高亲和力和特异性结合 α -syn聚集体,从而抑制其积累或其细胞间通讯,因此可以有效地用于检测、诊断和/或治疗或预防由 α -syn聚集体积累引起的各种疾病。



1. 一种特异性地结合 α -syn聚集体的分离的抗体或抗原结合片段,其中,所述抗体或抗原结合片段包含(i)CDRH1、CDRH2和CDRH3的互补决定区和(ii)CDRL1、CDRL2和CDRL3的互补决定区,并且

CDRH1选自SEQ ID NO:1至14;CDRH2选自SEQ ID NO:15至28;CDRH3选自SEQ ID NO:29至42,和

CDRL1选自SEQ ID NO:43至56;CDRL2选自SEQ ID NO:57至70;CDRL3选自SEQ ID NO:71至84。

2. 根据权利要求1所述的特异性地结合 α -syn聚集体的分离的抗体或抗原结合片段,其中,所述重链可变区的CDRH1、CDRH2和CDRH3和轻链可变区的CDRL1、CDRL2和CDRL3的序列是以下中的任一种:

(aa) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:1、15和29,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:43、57和71;

(ab) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:2、16和30,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:44、58和72;

(ac) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:3、17和31,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:45、59和73;

(ad) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:4、18和32,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:46、60和74;

(ae) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:5、19和33,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:47、61和75;

(af) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:6、20和34,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:48、62和76;

(ag) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:7、21和35,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:49、63和77;

(ah) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:8、22和36,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:50、64和78;

(ai) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:9、23和37,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:51、65和79;

(aj) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:10、24和38,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:52、66和80;

(ak) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:11、25和39,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:53、67和81;

(al) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:12、26和40,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:54、68和82;

(am) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:13、27和41,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:55、69和83;或

(an) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:14、28和42,CDRL1、CDRL2和CDRL3是SEQ ID NO:56、70和84。

3. 根据权利要求1所述的特异性地结合 α -syn聚集体的分离的抗体或抗原结合片段,其

中,所述重链可变区是:

选自SEQ ID NO:85至98的氨基酸序列,

与选自SEQ ID NO:85至98的氨基酸序列具有至少90%或更高序列同一性的氨基酸序列,或

与选自SEQ ID NO:85至98的氨基酸序列具有至少95%或更高序列同一性的氨基酸序列。

4. 根据权利要求1所述的特异性地结合 α -syn聚集体的分离的抗体或抗原结合片段,其中,所述轻链可变区是

选自SEQ ID NO:99至112的氨基酸序列,

与选自SEQ ID NO:99至112的氨基酸序列具有至少90%或更高序列同一性的氨基酸序列,或

与选自SEQ ID NO:99至112的氨基酸序列具有至少95%或更高序列同一性的氨基酸序列。

5. 根据权利要求1所述的特异性地结合 α -syn聚集体的分离的抗体或抗原结合片段,其中,所述重链可变区和所述轻链可变区包含以下氨基酸序列:

SEQ ID NO:85和99;

SEQ ID NO:86和100;

SEQ ID NO:87和101;

SEQ ID NO:88和102;

SEQ ID NO:89和103;

SEQ ID NO:90和104;

SEQ ID NO:91和105;

SEQ ID NO:92和106;

SEQ ID NO:93和107;

SEQ ID NO:94和108;

SEQ ID NO:95和109;

SEQ ID NO:96和110;

SEQ ID NO:97和111;或

SEQ ID NO:98和112。

6. 根据权利要求1所述的特异性地结合 α -syn聚集体的分离的抗体或抗原结合片段,其中,所述抗体或抗原结合片段是单克隆抗体、Fab、Fab'、F(ab')、双抗体或scFV。

7. 根据权利要求6所述的特异性地结合 α -syn聚集体的分离的抗体或抗原结合片段,其中,所述单克隆抗体是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。

8. 根据权利要求6所述的特异性地结合 α -syn聚集体的分离的抗体或抗原结合片段,其中,所述单克隆抗体是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4型。

9. 根据权利要求1所述的特异性地结合 α -syn聚集体的分离的抗体或抗原结合片段,其中,所述抗体包含重链和轻链,所述重链和轻链包含以下序列:

SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:141;

SEQ ID NO:114和SEQ ID NO:142;

SEQ ID NO:115和SEQ ID NO:143;
SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:144;
SEQ ID NO:117和SEQ ID NO:145;
SEQ ID NO:118和SEQ ID NO:146;
SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:147;
SEQ ID NO:120和SEQ ID NO:148;
SEQ ID NO:121和SEQ ID NO:149;
SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:150;
SEQ ID NO:123和SEQ ID NO:151;
SEQ ID NO:124和SEQ ID NO:152;
SEQ ID NO:125和SEQ ID NO:153;或
SEQ ID NO:126和SEQ ID NO:154。

10. 根据权利要求1所述的特异性地结合 α -syn聚集体的分离的抗体或抗原结合片段, 其中, 所述抗体包含重链和轻链, 所述重链和轻链包含以下序列:

SEQ ID NO:127和SEQ ID NO:155;
SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:156;
SEQ ID NO:129和SEQ ID NO:157;
SEQ ID NO:130和SEQ ID NO:158;
SEQ ID NO:131和SEQ ID NO:159;
SEQ ID NO:132和SEQ ID NO:160;
SEQ ID NO:133和SEQ ID NO:161;
SEQ ID NO:134和SEQ ID NO:162;
SEQ ID NO:135和SEQ ID NO:163;
SEQ ID NO:136和SEQ ID NO:164;
SEQ ID NO:137和SEQ ID NO:165;
SEQ ID NO:138和SEQ ID NO:166;
SEQ ID NO:139和SEQ ID NO:167;或
SEQ ID NO:140和SEQ ID NO:168。

11. 根据权利要求1至10中任一项所述的特异性地结合 α -syn聚集体的分离的抗体或抗原结合片段, 其中, 所述抗体或抗原结合片段抑制 α -Syn聚集体的细胞间转移; 降解 α -Syn聚集体; 或抑制 α -Syn聚集体的形成。

12. 一种分离的多核苷酸, 其编码根据权利要求1至10中任一项所述的抗体或抗原结合片段。

13. 一种表达载体, 其包含根据权利要求12所述的多核苷酸。

14. 一种细胞, 其用根据权利要求13所述的表达载体转化。

15. 一种制备特异性地结合 α -syn聚集体的分离的抗体或抗原结合片段的方法, 包括: 培养根据权利要求14所述的细胞; 和从所述细胞中分离抗体或抗原结合片段。

16. 一种组合物, 其包含根据权利要求1至10中任一项所述的抗体或抗原结合片段。

17. 根据权利要求16所述的组合物,其中,所述组合物用于治疗 α -突触核蛋白病,并且还包含药学上可接受的载体或赋形剂。

18. 根据权利要求17所述的组合物,其中,所述 α -突触核蛋白病是帕金森病(PD)、帕金森病痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、阿尔茨海默病路易体变异型(LBV)、阿尔茨海默病合并帕金森病、或多系统萎缩(MSA)。

19. 一种在体内或体外检测生物样品中的 α -Syn聚集体的方法,包括使需要检测 α -Syn聚集体的生物样品与根据权利要求1至10中任一项所述的抗体或抗原结合片段接触的步骤。

20. 一种治疗受试者的 α -突触核蛋白病或调节 α -Syn聚集体浓度的方法,包括将权利要求1至10中任一项所述的抗体或抗原结合片段施用于需要治疗 α -突触核蛋白病或调节 α -Syn聚集体浓度的受试者。

21. 根据权利要求20所述的方法,其中,所述 α -突触核蛋白病是帕金森病(PD)、帕金森病痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、阿尔茨海默病路易体变异型(LBV)、阿尔茨海默病合并帕金森病、或多系统萎缩(MSA)。

22. 一种诊断受试者的 α -突触核蛋白病的方法,包括:

用根据权利要求1至10中任一项所述的抗体或抗原结合片段测定受试者的 α -syn聚集体的浓度和/或细胞间位置,和

比较在受试者中测量的 α -syn聚集体的浓度和/或细胞间位置与对照样品的结果,其中,与对照组的结果的相似性或差异表明受试者患有 α -突触核蛋白病。

23. 根据权利要求22所述的方法,其中,所述 α -突触核蛋白病是帕金森病(PD)、帕金森病痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、阿尔茨海默病路易体变异型(LBV)、阿尔茨海默病合并帕金森病、或多系统萎缩(MSA)。

24. 根据权利要求1至10中任一项所述的抗体或抗原结合片段、或包含所述抗体或抗原结合片段的组合物用于治疗患有 α -突触核蛋白病的受试者的 α -突触核蛋白病的用途,其中,所述抗体或抗原结合片段或包含所述抗体或抗原结合片段的组合物抑制受试者脑中的 α -Syn聚集体的细胞间转移、降解 α -Syn聚集体或抑制 α -Syn聚集体的形成。

25. 根据权利要求24所述的用途,其中,所述 α -突触核蛋白病是帕金森病(PD)、帕金森病痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、阿尔茨海默病路易体变异型(LBV)、阿尔茨海默病合并帕金森病、或多系统萎缩(MSA)。

26. 根据权利要求1至10中任一项所述的抗体或抗原结合片段、或包含所述抗体或抗原结合片段的组合物用于调节脑细胞中 α -Syn聚集体的浓度的用途,其中,所述抗体或抗原结合片段或包含所述抗体或抗原结合片段的组合物抑制 α -Syn聚集体的细胞间转移、降解 α -Syn聚集体或抑制 α -Syn聚集体的形成。

27. 根据权利要求1至10中任一项所述的抗体或抗原结合片段,用于调节受试者脑中 α -Syn聚集体的浓度的方法中的用途,其中,所述抗体或抗原结合片段抑制 α -Syn聚集体的细胞间转移;降解 α -Syn聚集体;或抑制 α -Syn聚集体的形成。

28. 根据权利要求1至10中任一项的抗体或抗原结合片段,用于治疗 α -突触核蛋白病的用途。

29. 根据权利要求28所述的抗体或抗原结合片段,其中,所述 α -突触核蛋白病是帕金森

病 (PD)、帕金森病痴呆 (PDD)、路易体痴呆 (DLB)、阿尔茨海默病路易体变异型 (LBV)、阿尔茨海默病合并帕金森病、或多系统萎缩 (MSA)。

抗 α -SYN抗体及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及抗 α -syn抗体及其用途。

背景技术

[0002] α -突触核蛋白 (α -syn) 是由140个氨基酸组成的蛋白质,主要在神经元的突触前末梢表达。它是正常条件下的天然未折叠单体。已知 α -突触核蛋白维持突触小泡在突触前末梢的供应并调节作为控制自主或不自主运动的神经递质的多巴胺的释放。

[0003] 然而,在病理条件下, α -突触核蛋白通过与液滴、磷脂双层或脂质膜等的结合和相互作用而经历结构变化,从而通过形成 α -突触核蛋白的折叠或折叠 α -螺旋二级结构来形成包括例如二聚体、寡聚体和/或纤维分子的聚集体。已知这些聚集体对细胞产生毒性,并且是在帕金森病、路易体痴呆和各种其他疾病的神经元中发现的路易体异常蛋白质聚集体的主要成分。此外,还已知翻译后修饰例如 α -突触核蛋白的磷酸化或泛素化涉及 α -突触核蛋白的聚集和神经毒性。

[0004] 已知 α -突触核蛋白聚集与帕金森病 (PD)、帕金森病痴呆 (PDD)、路易体痴呆 (DLB)、多系统萎缩 (MSA) 和包括许多神经轴突疾病的各种神经退行性疾病 (称为 α -突触核蛋白病) 的病因有关 (Kim等人,阿尔茨海默研究与治疗 (Alzheimer's Research&Therapy) 2014,6:73)。

[0005] 此外,在患有帕金森病的患者的脑脊液和血浆样品中发现了 α -突触核蛋白的寡聚体形式和单体形式,表明分子量小的 α -突触核蛋白聚集体可以穿透细胞膜并进入细胞外空间。还已经表明,折叠的 α -突触核蛋白可以通过胞吐作用从细胞中释放,然后像朊病毒蛋白那样通过细胞间转移从大脑的一个区域转移到另一个区域 (Brundin P.等人.Nat Rev Mol Cell Biol 2010,11:301-307)。

[0006] 因此, α -突触核蛋白是用于开发 α -突触核蛋白病 (例如帕金森病) 的治疗剂的靶标。主要的开发策略包括聚集体形成的抑制、基因沉默和聚集体的去除。在前一种情况下,包括表没食子儿茶素-3-没食子酸酯 (EGCG) (Bieschke J.等人,Proc Natl Acad Sci USA 2010 107:7710-7715),3-(1,3-苯并二氧戊环-5-基)-5-(3-溴苯基)-1H-吡啶 (anle138b) (Wagner J.等人,Acta Neuropathol 2013,125:795-813)、CLR0120 (Prabhudesai S.等人,神经治疗 (Neurotherapeutics) 2012,9:464-476) 和脯氨酰寡肽酶抑制剂KYP-20479 (Myohanen TT等人,Brit J Pharmacol 2012,166:1097-1113)。结合 α -突触核蛋白的抗体在专利US 8,609,820、US 8,940,276等中公开。

[0007] 分子量低的化合物由于靶特异性结合能力低并且半衰期短而应当以高剂量施用。与分子量低的化合物相比,抗体具有靶特异性和长半衰期。然而,为了增加对疾病的治疗潜力,需要优先以高亲和力结合聚集体的抗体。

[0008] 因此,为了治疗与 α -Syn聚集体的异常积累相关的疾病,需要开发能够优先结合 α -突触核蛋白,特别是 α -突触核蛋白聚集体的抗体。

发明内容

[0009] 技术问题

[0010] 本发明提供特异性识别 α -syn,特别是结合亲和力高的 α -syn聚集体的抗体。

[0011] 技术方案

[0012] 在一个方面,本发明提供了一种特异性地结合 α -syn聚集体的分离的抗体或抗原结合片段,其中根据本发明的抗体或其抗原结合片段包含(i)CDRH1、CDRH2和CDRH3的互补决定区和/或(ii)CDRL1、CDRL2和CDRL3的互补决定区,CDRH1是选自SEQ ID NO:1至14中的任一种;CDRH2是选自SEQ ID NO:15至28中的任一种;CDRH3是选自SEQ ID NO:29至42中的任一种;CDRL1是选自SEQ ID NO:43至56中的任一种;CDRL2是选自SEQ ID NO:57至70中的任一种;CDRL3是选自SEQ ID NO:71至84中的任一种。

[0013] 在其他实施方式中,根据本发明的抗体或抗原结合片段包含:(i)重链可变区,其包含CDRH1、CDRH2和CDRH3的互补决定区,和/或(ii)轻链可变区,其包含CDRL1、CDRL2和CDRL3的互补决定区:

[0014] (aa) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:1、15和29,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:43、57和71;

[0015] (ab) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:2、16和30,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:44、58和72;

[0016] (ac) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:3、17和31,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:45、59和73;

[0017] (ad) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:4、18和32,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:46、60和74;

[0018] (ae) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:5、19和33,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:47、61和75;

[0019] (af) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:6、20和34,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:48、62和76;

[0020] (ag) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:7、21和35,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:49、63和77;

[0021] (ah) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:8、22和36,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:50、64和78;

[0022] (ai) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:9、23和37,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:51、65和79;

[0023] (aj) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:10、24和38,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:52、66和80;

[0024] (ak) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:11、25和39,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:53、67和81;

[0025] (a1) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:12、26和40,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:54、68和82;

[0026] (am) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:13、27和41,CDRL1、CDRL2和CDRL3分别是SEQ ID NO:55、69和83;或

[0027] (an) CDRH1、CDRH2和CDRH3分别是SEQ ID NO:14、28和42,CDRL1、CDRL2和CDRL3是SEQ ID NO:56、70和84。

[0028] 在一种实施方式中,根据本发明的特异性结合 α -syn聚集体的分离抗体或其抗原结合片段的重链可变区包括选自SEQ ID NO:85至98的氨基酸序列、与选自SEQ ID NO:85至98的氨基酸序列具有至少90%或更高序列同一性的氨基酸序列、或与选自SEQ ID NO:85至98的氨基酸序列具有至少95%或更高序列同一性的氨基酸序列。

[0029] 在一种实施方式中,根据本发明的特异性结合 α -syn聚集体的分离的抗体或其抗原结合片段的轻链可变区包括选自SEQ ID NO:99至112的氨基酸序列、与选自SEQ ID NO:99至112的氨基酸序列具有至少90%或更高序列同一性的氨基酸序列、或与选自SEQ ID NO:99至112的氨基酸序列具有至少95%或更高序列同一性的氨基酸序列。

[0030] 在一种实施方式中,根据本发明的特异性结合 α -syn聚集体的分离的抗体或其抗原结合片段包括如下重链可变区和轻链可变区中的任一种。重链可变区和轻链可变区序列可包括SEQ ID NO:85和99;SEQ ID NO:86和100;SEQ ID NO:87和101;SEQ ID NO:88和102;SEQ ID NO:89和103;SEQ ID NO:90和104;SEQ ID NO:91和105;SEQ ID NO:92和106;SEQ ID NO:93和107;SEQ ID NO:94和108;SEQ ID NO:95和109;SEQ ID NO:96和110;SEQ ID NO:97和111;或SEQ ID NO:98和112。

[0031] 一些抗体或其抗原结合片段可以是单克隆抗体或scFV片段,并且抗体或其抗原结合片段与 α -Syn聚集体结合。

[0032] 本发明的抗体可以是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。

[0033] 本发明的单克隆抗体可以是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4型。

[0034] 抗体或其抗原结合片段可以是单克隆抗体、Fab片段、Fab'片段、F(ab')片段、双抗体或scFV。

[0035] 在一种实施方式中,根据本发明的特异性结合 α -syn聚集体的分离的抗体或其抗原结合片段包括如下重链和轻链中的任一种。重链和轻链的序列是SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:141;SEQ ID NO:114和SEQ ID NO:142;SEQ ID NO:115和SEQ ID NO:143;SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:144;SEQ ID NO:117和SEQ ID NO:145;SEQ ID NO:118和SEQ ID NO:146;SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:147;SEQ ID NO:120和SEQ ID NO:148;SEQ ID NO:121和SEQ ID NO:149;SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:150;SEQ ID NO:123和SEQ ID NO:151;SEQ ID NO:124和SEQ ID NO:152;SEQ ID NO:125和SEQ ID NO:153;或SEQ ID NO:126和SEQ ID NO:154。抗体包括小鼠IgG2a作为恒定区。

[0036] 在一种实施方式中,根据本发明的特异性结合 α -syn聚集体的分离的抗体或其抗原结合片段包括如下重链和轻链中的任一种。重链和轻链的序列是SEQ ID NO:127和SEQ ID NO:155;SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:156;SEQ ID NO:129和SEQ ID NO:157;SEQ ID NO:130和SEQ ID NO:158;SEQ ID NO:131和SEQ ID NO:159;SEQ ID NO:132和SEQ ID NO:160;SEQ ID NO:133和SEQ ID NO:161;SEQ ID NO:134和SEQ ID NO:162;SEQ ID NO:135和SEQ ID NO:163;SEQ ID NO:136和SEQ ID NO:164;SEQ ID NO:137和SEQ ID NO:165;SEQ ID NO:138和SEQ ID NO:166;SEQ ID NO:139和SEQ ID NO:167;或SEQ ID NO:140和SEQ ID NO:168。抗体包括人IgG1作为恒定区。

[0037] 根据本发明的抗体或抗原结合片段可用于抑制 α -Syn聚集体的细胞间转移;降解

α -Syn聚集体;或抑制 α -Syn聚集体形成。

[0038] 另一方面,本发明还提供了编码根据本发明的抗体或抗原结合片段的分离的多核苷酸。这样的多核苷酸的实例包括SEQ ID NO:169至224所示的序列。

[0039] 另一方面,本发明还提供了包含根据本发明的多核苷酸的表达载体。

[0040] 另一方面,本发明还提供了用根据本发明的表达载体转化的原核细胞或细胞系、或真核细胞或细胞系。

[0041] 在另一种实施方式中,本发明进一步提供了产生特异性结合 α -Syn的分离的抗体或其抗原结合片段的方法,包括在充分表达抗体或其抗原结合片段的条件下培养本发明的细胞;从细胞系中分离抗体或其抗原结合片段。

[0042] 在另一种实施方式中,本发明还提供了包含根据本发明的抗体或其抗原结合片段的试剂盒或组合物,其中所述组合物可以作为药物组合物或诊断组合物提供。药物组合物可包含药学上可接受的载体或赋形剂,诊断组合物可进一步包含诊断或检测所需的试剂。

[0043] 根据本发明的药物组合物或试剂盒可用于治疗 α -突触核蛋白病。例如, α -突触核蛋白病可以选自由帕金森病(PD)、帕金森病痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、阿尔茨海默病路易体变异型(LBV)、阿尔茨海默病合并帕金森病、或多系统萎缩(MSA)。

[0044] 在另一种实施方式中,本发明提供了检测生物样品中 α -Syn聚集体的方法,包括提供根据本发明的抗体或抗原结合片段,使所述抗体或其抗原结合片段与待检测 α -Syn聚集体的生物样品接触。生物样品包括需要检测 α -Syn聚集体的各种样品,包括:例如,脑脊液、包括血浆的血液、或尿液,以及细胞、组织或器官。该方法可以在体外或体内进行。体内成像可以使用例如正电子发射断层扫描(PET)、单光子发射断层扫描(SPECT)、近红外(NIR)光学成像、或磁共振成像(MRI)来执行。

[0045] 在另一种实施方式中,本发明提供了治疗受试者的 α -突触核蛋白病或调节受试者中 α -Syn聚集体浓度、将本发明的抗体或其抗原结合片段或包含该抗体或其抗原结合片段的组合物施用于需要治疗 α -突触核蛋白病和/或调节 α -Syn聚集体浓度的受试者的方法。

[0046] 在另一种实施方式中,本发明提供了诊断需要诊断 α -突触核蛋白病的受试者的 α -突触核蛋白病的方法,其中该方法包括使用任何本发明的抗体或其抗原结合片段来测量/检测受试者中 α -Syn聚集体的浓度或细胞间位置,并将在受试者中测量的 α -Syn聚集体的浓度或细胞间位置与对照样品的浓度或细胞间位置进行比较,并且其中与对照样品结果相比的相似性或差异表示受试者患有 α -突触核蛋白病。在该方法中,对照组可以是正常样品或患有 α -突触核蛋白病的患者样品。

[0047] 在另一种实施方式中,本发明提供抗体及其抗原结合片段或包含所述抗体及其抗原结合片段的组合物在治疗患有 α -突触核蛋白病的受试者中的 α -突触核蛋白病中的用途,其中所述抗体及其抗原结合片段或包含所述抗体及其抗原结合片段的组合物抑制 α -Syn聚集体的细胞间转移,降解 α -Syn聚集体;或抑制受试者中或受试者大脑中的 α -Syn聚集体形成。

[0048] 在另一种实施方式中,本发明提供了抗体及其抗原结合片段或包含所述抗体及其抗原结合片段的组合物在调节脑细胞中 α -Syn聚集体浓度中的用途,其中所述抗体及其抗原结合片段或者包含所述抗体及其抗原结合片段的组合物抑制 α -Syn聚集体的细胞间转移,降解 α -Syn聚集体;或抑制受试者大脑中的 α -Syn聚集体。

[0049] 有益效果

[0050] 本文公开的抗体优先以高结合亲和力结合 α -Syn,尤其是 α -Syn聚集体。具有高亲和力的抗体和抗原结合片段可以减少 α -Syn聚集体形成并降低脑中聚集体的浓度。此外,对 α -Syn聚集体具有高亲和力的抗体和抗原结合片段可以减少中枢神经系统外的 α -Syn聚集体形成,从而通过改变血脑屏障边界中 α -Syn形式的平衡状态来降低中枢神经系统中聚集体的浓度。

[0051] 它还具有由于高亲和力而以低剂量施用的优点。这具有很大的临床优势,因为例如抗体可以以与更简单的皮下注射相同的方式施用以实现足够的功效,但不限于此。

[0052] 本文公开的抗体可有效去除 α -Syn聚集体并促进降解,并抑制 α -Syn的细胞间转移,从而可用于治疗与 α -Syn聚集体积聚相关的疾病。

附图说明

[0053] 图1是斑点印迹结果,显示了由于测量单克隆抗体是否特异性识别聚集形式的天然 α -syn的结果,所产生的单克隆抗体优先结合 α -syn聚集体。

[0054] 图2是本发明的一种实施方式中产生的单克隆抗体的亲和力的ELISA分析。本发明的抗体优先以高亲和力结合 α -syn聚集体,但是由于与单体的亲和力低于聚集体或不结合单体,因此不能获得对单体的亲和力。这些结果表明,有可能有效地去除或抑制具有 α -突触核蛋白发病机理的神经退行性疾病(例如帕金森病)的致病因子的活性。

[0055] 图3a是在本发明的一种实施方式中产生的单克隆抗体与 α -syn聚集体的优先结合特异性和亲和力的BIAcore分析结果。结果表明,本发明的抗体优先以高亲和力结合 α -syn聚集体。这些结果表明,有可能有效地去除或抑制具有 α -突触核蛋白发病机理的神经退行性疾病(例如帕金森病)的致病因子的活性。

[0056] 图3b是表示图3a的结果的表。

[0057] 图4是在本发明的一种实施方式中产生的单克隆抗体优先结合 α -Syn聚集体的优先结合特异性的Octet分析结果。结果显示本发明的抗体优先结合 α -syn聚集体,并且该结果与图1的结果一致。发现用作比较组的#274抗体与单体和聚集体结合良好。

[0058] 图5是斑点印迹结果,显示了由于测量单克隆抗体是否特异性识别聚集形式的天然 α -syn的结果,在本发明的一种实施方式中的通过噬菌体展示技术选择的单克隆抗体优先结合 α -syn聚集体。

[0059] 图6是用于图5中使用的单克隆抗体与 α -syn聚集体的优先结合特异性的Octet分析结果。结果表明,本发明的抗体优先与 α -syn聚集体结合。该结果表明,有可能有效地去除或抑制具有 α -突触核蛋白发病机理的神经退行性疾病(例如帕金森病)的致病因子的活性。

[0060] 图7示出了分析在本发明的一种实施方式中产生的单克隆抗体是否抑制 α -syn的细胞间传递的原理和实验结果。在此,蓝色是细胞核,绿色是当从一个细胞释放的 α -syn传播到其他细胞并通过遇到另一个 α -syn形成聚集体时的信号。当处理根据本发明的抗体9B11、3A9和11F11时,显示绿色信号的细胞数量相比于阴性对照IgG的细胞数量显著减少。该结果表明,本发明的抗体以高亲和力特异性结合聚集体,可有效抑制 α -syn的细胞间转移。

[0061] 图8a示出了通过将抗体施用于小鼠并测量后,用p-129 α -syn染色小鼠脑组织来分

析本发明的实施方式中产生的单克隆抗体是否在过表达人 α -Syn的小鼠动物模型(TG)中去除 α -Syn聚集体的结果。在该图中,HP是海马体,p-129 α -syn是 α -syn的磷酸化的第129位残基形式的聚集体的标记物,箭头表示磷酸化的 α -syn。该结果表明,本发明的抗体可以显著地消除 α -syn。WT和IgG是阴性对照,抗体274是结合单体和聚集体的比较组。这些结果表明,本发明的抗体可以有效地抑制 α -syn聚集体的积累,因此可以有效地用于预防和/或治疗与 α -syn发病机理有关的疾病。

[0062] 图8b是与图8a相同的实验结果,除了用抗 α -syn抗体作为标记物以外。箭头表示人 α -syn。9B11、11F4和11F11抗体有效抑制 α -syn的积累。 α -syn检测表明本发明的抗体具有清除突触核蛋白本身并抑制 α -syn的细胞间传递的能力。在另一方面,它还可以解释为抑制单体形成聚集体,或除去所有单体。

[0063] 图9a示出了在将抗体施用于小鼠并测量后,通过用Iba-1(小胶质细胞增生)作为标记物染色小鼠脑组织来分析本发明的实施方式中产生的单克隆抗体是否可以减少体内小胶质细胞增生的结果。箭头表示活化的小胶质细胞,结果表明在给予3A9、9B11和11F11抗体的小鼠脑中小胶质细胞激活显著减少。

[0064] 图9b示出了在将抗体施用于小鼠并测量后,通过用GFAP(星形胶质细胞增生)抗体染色小鼠脑组织来分析本发明实施方式中产生的单克隆抗体是否可以减少体内小胶质细胞增生的结果。箭头表示活化的雌激素,结果表明抗体3A9、9B11和11F11有效抑制星形胶质细胞增生至显著水平。

[0065] 图9c示出了在将抗体施用于小鼠并测量后,通过用IL-1 β 抗体作为标记物染色小鼠脑组织来分析本发明实施方式中产生的单克隆抗体是否可以减少体内炎性细胞因子的结果。箭头表示表达IL-1 β 的细胞。IL-1 β 诱导各种神经细胞的炎症和死亡。在用本发明的抗体施用的小鼠的脑组织中IL-1 β 显著降低。

[0066] 图9d示出了在将抗体施用于小鼠并测量后,通过用IL-6抗体作为标记物染色小鼠脑组织来分析本发明实施方式中产生的单克隆抗体是否可以减少体内炎性细胞因子的结果。箭头表示表达炎性细胞因子的IL-6的细胞。结果表明,在用本发明的抗体施用的小鼠的脑组织中IL-6减少。

[0067] 图10a和10b示出了在本发明的一种实施方式中产生的单克隆抗体3A9和11F11可以分别特异性识别人脑组织中的路易体和路易神经突的测量结果。它表明本发明的抗体与路易体(箭头)和路易神经突(左下线状)结合。这些结果表明,本发明的抗体可以特异性地结合人脑组织中的 α -syn聚集体,并且可以有效地用于预防和/或治疗与 α -Syn发病机理相关的疾病。

[0068] 图11是本发明中产生的抗体的表位定位结果的图解表示,并且本发明的抗体主要结合于C-末端区域。识别N末端的 α -syn抗体不识别其他疾病例如属于突触核蛋白病(synucleinopathy)的多系统萎缩(MSA)的聚集体,识别C末端的 α -syn抗体具有不仅识别帕金森病而且识别其他各种突触核蛋白病的聚集体的优点。

具体实施方式

[0069] 本发明涉及一种基于开发能够以高特异性结合 α -Syn聚集体的抗体检测 α -Syn聚集体以及减少 α -Syn聚集体、抑制 α -Syn聚集体和/或 α -Syn聚集体形成和/或抑制 α -Syn聚集

体细胞转移的方法。

[0070] 本部分中使用的标题仅为了便于说明,并不限制本发明。

[0071] 除非本文另有定义,否则本文使用的科学和技术术语具有与本领域技术人员通常理解的含义相同的含义。此外,除非上下文特别要求,否则单数包括复数,并且复数包括单数。

[0072] 定义

[0073] 本文中,“多核苷酸”或“核酸”包括单链或双链核苷酸聚合物。包含这种多核苷酸的核苷酸可以是核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸或其修饰形式。

[0074] 除非本文另有说明,否则本文所述多核苷酸的左端是5'端,其右端代表3'端。

[0075] 本文中,“分离的核酸分子”是指基因组来源的DNA或RNA或合成来源的mRNA、cDNA、或它们的组合,它们全部或部分地与自然界存在的多核苷酸无关,或与自然界中观察不到的多核苷酸有关。出于本发明的目的,包含特定核酸序列的核酸分子不包含完整染色体。相反,包含特定核酸序列的分离的核酸分子除了其特定序列外还可以包含至少几种另外的蛋白质编码序列,或者可以进一步包含用于表达特定核酸序列的调节序列和/或载体。

[0076] 本文中,术语“调节序列”是指通过与编码序列可操作地连接而影响编码序列的表达和加工的多核苷酸序列。调节序列的这种性质可能受到各种宿主的影响。例如,适用于原核细胞的调节序列可包括启动子,偶尔包括操纵子、核糖体结合位点和转录终止序列。在真核细胞中,调节序列可包括包含多个识别位点的启动子、转录增强子、多腺苷酸化序列和转录终止序列。调节序列可以进一步包含读者序列(reader sequence)和/或融合伴侣序列。

[0077] 本文中,“载体”是指用于将编码蛋白质的核酸分子递送至宿主细胞的任何分子,包括例如核酸、质粒、噬菌体或病毒。

[0078] 本文中,“表达载体”是指适合转化宿主细胞的载体,并且包含与表达载体可操作地连接并调节编码靶蛋白的异源序列的表达的核酸序列。该表达载体也可以与编码序列可操作地连接,并且在转录、翻译和存在内含子的情况下,它可以包含调节RNA剪接或影响它的序列。

[0079] 本文中,“可操作地连接”是指待连接的核酸序列被定位以便在适当条件下执行靶向功能。例如,如果编码序列的转录在适当条件下在包含编码序列和调节序列的载体中受调节序列影响,则该编码序列被可操作地连接。

[0080] 本文中,“宿主细胞”是指可以表达通过靶核酸序列转化或待通过靶核酸序列转化的靶基因的细胞。该术语包括只要表达靶基因而无论宿主细胞的形态和形式以及遗传构成如何的宿主细胞的后代。

[0081] 本文中,“转导”通常是指通过噬菌体将核酸从一种细菌移动到另一种细菌。例如,它包括使用不能复制的逆转录病毒将核酸移动到真核细胞。

[0082] 本文中,“转染”是指细胞摄取外来或外源DNA,在这种情况下,DNA通过细胞膜导入细胞。这可以参考本领域已知的方法,例如Sambrook等人,分子克隆:实验手册(Molecular Cloning:A Laboratory Manual),第4版.,冷泉港实验室出版社,冷泉港,N.Y.(2012),Ausubel等人,分子生物学通用方法(Current Protocols in Molecular Biology),格林出版公司。

[0083] 本文中,“转化”是指细胞遗传特性的改变,该细胞被修饰以使细胞包含新的DNA或

RNA。例如,通过由转染、转导或其他技术引入新的遗传物质,可以转化细胞,从而改变遗传特异性。通过包括转导或转染等方法转化的DNA可以通过物理整合到细胞的染色体中而存在,或者可以作为不复制的附加体形式或可复制的质粒而暂时存在。当转化的DNA伴随宿主细胞分裂而复制时,它被认为是稳定转化的。

[0084] 本文中,“氨基酸”包括本领域中理解的共同含义。二十种天然存在的氨基酸及其缩写与本领域常用的一样(免疫学-A合成(Immunology-A Synthesis),第二版,E.S.Golub和D.R.Green编,Sinauer公司:马萨诸塞州桑德兰.1991)。氨基酸包括典型氨基酸,20种典型氨基酸的立体异构体(D-氨基酸)、非天然氨基酸,例如 α -, α -二取代氨基酸、N-烷基氨基酸和其他非典型氨基酸。作为非典型氨基酸的实例,包括4-羟基脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸、 ϵ -N,N,N-三甲基赖氨酸、 ϵ -N-乙酰基赖氨酸、O-磷酸丝氨酸、N-乙酰基丝氨酸、N-甲酰基甲硫氨酸、3-甲基组氨酸、5-羟基赖氨酸、 σ -N-甲基精氨酸和其他类似的氨基酸和亚氨基酸(例如,4-羟基脯氨酸)。在本文使用的多肽标记中,如本领域常用的,序列的左侧是氨基末端,右侧代表羧基末端。

[0085] 本文中,“多肽”或“蛋白质”是指氨基酸残基的聚合物,并且在本文中可互换使用。这不仅包括天然存在的氨基酸残基的聚合物,还包括其类似物或模拟物的聚合物。此外,多肽或蛋白质可以包含修饰,例如添加碳水化合物用于磷酸化或糖基化等。此外,多肽或蛋白质可以在重组或天然发现的细胞中产生。此外,多肽或蛋白质可包括其中一部分野生型序列或氨基酸序列缺失、添加和/或取代的多肽或蛋白质。此外,多肽或蛋白质包括抗体,例如抗 α -syn抗体(或称为 α -syn抗体)、 α -syn结合蛋白或抗原结合片段、或缺失、添加和/或取代序列中一个或多个氨基酸的序列。此外,“多肽片段”是指与全长蛋白质相比具有氨基末端缺失、羧基末端缺失和/或内部缺失的多肽。与全长蛋白质相比,该片段还可包括修饰的氨基酸。在一种实施方式中,片段的长度可为约5至500个氨基酸,例如,长度为至少5、6、8、10、14、20、50、70、100、110、150、200、250、300、350、400或450个或更多个氨基酸。考虑到本发明的目的,这种有用的片段包括CDR序列,所述CDR序列包含1、2或3个重链或轻链或包含重链或轻链的可变区或恒定区的抗体链的全部或部分,但不限于此。

[0086] 本文中,“分离的多肽、抗体或蛋白质”是指通常没有任何其他的蛋白质与它们一起被发现,并且至少天然与它们连接的脂质、碳水化合物和多核苷酸的至少约50%或更多被除去。通常,分离的蛋白质、多肽或抗体在某种组合物中包含至少约5%、至少约10%、至少约25%或至少约50%。该多肽可以由合成来源的基因组DNA、cDNA、mRNA或其他RNA或其任意组合编码。特别地,分离的蛋白质、多肽或抗体基本上不含干扰其治疗、诊断和预防性研究或其他用途的应用的其他蛋白质或其他多肽的污染物。

[0087] 本文中,多肽的“变体”,例如抗原结合片段、蛋白质或抗体,是与另一个多肽序列相比插入、缺失、添加和/或取代一个或多个氨基酸残基的多肽,并且包括融合多肽。另外,蛋白质变体包括通过蛋白质酶切割,磷酸化或其他翻译后修饰来修饰但保持本文公开的抗体生物活性(例如,结合 α -syn)和特异性的蛋白质变体。变体可以与本文公开的抗体或其抗原结合片段的序列相比约99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%或80%相同。

[0088] 本文多肽的“衍生物”是指通过与其他化学部分缀合而在一个或多个残基中化学修饰的多肽,该衍生物不同于插入、缺失、添加或取代变体。

[0089] 本文中,关于多肽、核酸、宿主细胞等使用的术语“天然发现的”是指天然存在的物质。

[0090] 如本文所用,“ α -Syn”是天然 α -Syn (NCBI ID:NP_000336),其由SNCA基因编码的140个氨基酸组成,并且“ α -Syn”包括加工的各种形式以及全长的未加工的蛋白质。此外, α -Syn包括天然存在的 α -Syn变体,例如突变体、剪接变体或等位基因变体。变体可包括缺失外显子3或外显子5的126个和112个残基蛋白形式(CAG3339.1)。还已知SNCA基因的特异性多态性或错义突变与帕金森病的发生有关(Singleton AB等人,Science 2003,302:841)。这些变体也被包括在 α -Syn的变体中, β -Syn和 γ -Syn与 α -Syn同源。在一种实施方式中,根据本发明的抗体特异性识别 α -Syn。 α -Syn的氨基酸序列在SEQ ID NO:225中示出。

[0091] 如本文所用,术语“ α -Syn聚集体”由于 α -Syn的构象的变化而形成,并且是指包括由于 α -Syn构象的变化而形成的低聚物、原纤丝和/或原纤丝中的至少一种的结构或聚集体。

[0092] 本文中“同一性”是指两种或更多种多肽或两种或更多种多核苷酸的序列相似性,其通过排列和比较两种或更多种多肽或两种或更多种多核苷酸来确定。序列之间的这种同一性通常用“同一性百分比”表示,这意味着待比较的分子之间相同氨基酸或核苷酸的比例,并且这基于待比较分子中最小的分子大小计算。以下文献可用于通过排列核酸或多肽来计算许多分子之间的同一性的方法:计算分子生物学(Computational Molecular Biology),(Lesk,A.M.编),1988,纽约牛津大学出版社;生物计算信息学和基因组计划(Biocomputing Informatics and Genome Projects),(Smith,D.W.编),1993,纽约学术出版社;序列数据的计算机分析,第一部分(Computer Analysis of Sequence Data,Part I),(Griffin,A.M.和Griffin,H.G.,编),1994,新泽西胡马纳出版社;von Heinje,G.,1987,分子生物学中的序列分析(Sequence Analysis in Molecular Biology),纽约学术出版社;序列分析引物(Sequence Analysis Primer),(Gribskov,M.和Devereux,J.,eds.),1991,纽约M.斯托克顿出版社;和Carillo等人,1988,SIAM J.Applied Math.48:1073。

[0093] 当计算同一性百分比时,要比较的序列以提供序列之间的最大匹配的方式排列,并且在排列的序列中,可以存在间隙、匹配和不匹配,并且这通过特定的数学模型或计算机算法来处理。在一种实施方式中,可使用包括GAP程序的GCG程序包确定该同一性百分比,所述GAP程序使用Needlman和Wunsch算法以最大化待比较序列之间的匹配并最小化空位数的方式排列两个序列(Devereux等人,1984,Nucl. Acid Res.1984,12:387;美国威斯康辛州麦迪逊市威斯康辛大学遗传学计算机小组)。计算机算法GAP通过在两个待比较的多肽和多核苷酸序列以最大化它们之间的匹配并最小化空位数的方式排列两个序列的来确定“匹配跨度”。该算法还一起使用空位开放罚分[计算为 $3 \times$ 平均对角线(average diagonal),其中“平均对角线”是要使用的比较矩阵的对角线的平均值;并且“对角线”是通过特定比较矩阵为每个完整氨基酸匹配分配的分数或数字]和空位扩展罚分(这通常是间隙开放罚分的1/10倍),以及比较矩阵(例如PAM 250或BLOSUM 62)。在特别的实施方式中,标准比较矩阵(PAM 250比较矩阵参考Dayhoff等人,1978,蛋白质序列和结构图册(Atlas of Protein Sequence and Structure)1978,5:345-352为;BLOSUM 62比较矩阵参考Henikoff等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.1992,89:10915-10919)。在一种实施方式中,推荐用于确定使

用GAP程序的多肽或多核苷酸的同源性百分比的参数如下：算法：Needleman等人，J.Mol.Biol.1970,48:443-453；比较矩阵：BLOSUM 62 (Henikoff等人,1992,同上)；空位罚分：12(对末端空位不予罚分)；空位长度罚分：4；相似度阈值：0。

[0094] 当使用特定参数排列两个序列时，尽管两个序列之间没有显著关系，但是可以导出它们以高度的同源性在短序列区域中匹配的结果。在这种情况下，为了通过至少50个连续氨基酸排列两个序列，可以校正用作GAP程序的算法的参数。

[0095] 本文使用的术语“基本上纯的”是靶向分子作为主要种类存在。换句话说，这意味着基于摩尔，浓度高于同一混合物中的任何其他个体种类。在一种实施方式中，基本上纯的分子在组合物中所包含的所有聚合物中的含量为至少约50% (基于摩尔)、至少约80%、约85%、至少约90%或至少约99%。在其他实施方式中，靶分子被基本上同质地纯化直到通过使用常规方法未检测到任何更多污染物，因此组合物包含一种同质聚合物物质。

[0096] 在一方面，本发明涉及特异性结合 α -syn蛋白或人 α -syn蛋白或其抗原结合片段的重组抗体。在这方面，“重组蛋白”是使用重组技术，即通过表达本发明中描述的重组核酸来制备的蛋白质。用于产生重组蛋白的方法和技术在本领域中是众所周知的。

[0097] 本文中，“亲和力”、“亲和力程度”或“结合亲和力”是抗体或其抗原结合片段与抗原之间相互作用的强度，并且该强度由抗原的性质如抗原的大小、形状和/或电荷以及抗体或抗原结合片段的CDR序列来决定。用于确定亲和力的方法在本领域中是已知的，并且可以参考以下内容。

[0098] 当解离常数 (K_D) 为 $\leq 10^{-6}$ M时，抗体或其抗原结合片段被称为与其靶标(例如抗原)“特异性结合”。当 K_D 为 $\leq 1 \times 10^{-8}$ M时，抗体以“高亲和性”与靶标结合。根据本发明的抗体和抗原结合片段对聚集体具有 $\leq 1 \times 10^{-9}$ M，特别是 $\leq 1 \times 10^{-10}$ M，或更特别是 $\leq 1 \times 10^{-11}$ M的高亲和力。

[0099] 如本文所用，“优先结合”包括仅与 α -Syn聚集体结合，或与 α -Syn单体和 α -Syn聚集体的结合但是与聚集体的结合力比与单体更高。在一种实施方式中，根据本发明的抗体或其抗原结合片段特异性地以高亲和力结合聚集体，但不结合 α -Syn单体。在另一种实施方式中，根据本发明的抗体或其抗原结合片段可以与单体和聚集体结合，但以比与单体结合更高的亲和力结合 α -Syn聚集体。在一种实施方式中，对 α -Syn聚集体的亲和力比对 α -Syn单体的亲和力高至少两倍，或者对 α -Syn聚集体的亲和力是低结合力，这种结合力不能被确定为作为抗体特异性结合或具有在抗体的实验浓度范围内不可测量的结合力。

[0100] 在根据本发明的一种实施方式中，本发明的抗体或抗原结合片段对 α -Syn聚集体的高亲和力是 $K_D \leq 1.0 \times 10^{-8}$ M；在另一种实施方式中， $K_D \leq 1.0 \times 10^{-9}$ M；在进一步的实施方式中， $K_D \leq 1.0 \times 10^{-10}$ ； $K_D \leq 1 \times 10^{-11}$ M；在另一种实施方式中， $K_D \leq 1 \times 10^{-12}$ M。具有如此高亲和力的抗体和抗原结合片段可以与亲和力较低的抗体相比较低的剂量施用，例如大于 $K_D 10^{-7}$ M或 10^{-8} M，但不限于此。在临床实践中有很大的优点，因为通过以与简单的皮下注射相同的方式施用可以获得足够的功效。此外，对 α -Syn聚集体具有高亲和力的抗体和抗原结合片段可以减少 α -Syn聚集体形成，导致脑中聚集体浓度降低。此外，对 α -Syn聚集体具有高亲和力的抗体和抗原结合片段可以减少中枢神经系统外的 α -Syn聚集体形成，从而改变血脑屏障边界中 α -Syn形式的平衡状态，从而降低中枢神经系统内聚集体的浓度。

[0101] 本文中，“抗原结合区或位点”是指与特定抗原特异性结合的蛋白质或蛋白质的一

部分,例如包括通过与抗原相互作用为抗体提供与抗原结合的特异性和亲和性的氨基酸残基的抗体的一部分。抗原结合区通常包含一个或多个“互补决定区(CDR)”。特定的抗原结合区还包含一个或多个“骨架(FR)”区域。骨架区有助于维持这些CDR的适当构象,从而促进抗原结合区和抗原之间的结合。

[0102] 本文中,“抗体”是指能够为与任意同种型的完整免疫球蛋白或靶抗原结合而与完整抗体竞争的抗原结合片段。例如,它包括嵌合的、人源化的、完整的人和双特异性抗体或其抗原结合片段。抗体本身就是一种抗原结合蛋白。完整抗体通常包含至少2个全长重链和2个全长轻链,但在一些情况下,如在骆驼科动物中天然存在的,抗体可仅包含重链。抗体或其抗原结合片段可以仅来源于一种来源或嵌合。嵌合抗体包含来自两种不同抗体的部分,并在下面更详细地描述。抗体或其抗原结合片段可由杂交瘤、重组DNA技术或完整抗体的酶促或化学切割产生。除非另有说明,否则本文中,术语抗体包括含有2条全长重链和2条全长轻链的抗体,及其衍生物、变体、片段和突变体,它们的实例如下所述。

[0103] 本文中,“轻链”包括具有可变区序列的全长轻链,所述可变区序列足以提供与抗原或表位及其片段的结合特异性。全长轻链包含可变区结构域VL和恒定区结构域CL。轻链的可变区结构域存在于轻链多肽的氨基末端。轻链的种类包括 κ 和 λ 链。

[0104] 本文中,“重链”包括具有可变区序列的全长重链,所述可变区序列足以提供与抗原或表位及其片段的结合特异性。全长重链包含可变区结构域VH和3个恒定区结构域CH1、CH2和CH3。VH结构域存在于重链多肽的氨基末端,CH结构域存在于羧基末端,CH3位于最靠近羧基末端的位置。重链包含IgG(包含IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3和IgG4亚型)、IgA(包含IgA1和IgA2亚型)、以及IgM和IgE的同种型。

[0105] 抗体或免疫球蛋白的链(重链或轻链)的术语“抗原结合片段”包括与全长链相比缺少一些氨基酸但可以特异性结合抗原的抗体的一部分。该片段可以被认为具有生物活性,在一方面它可以特异性结合靶抗原,或者可以与其他抗体或抗原结合片段竞争结合特定表位。在一方面,该片段包含存在于全长轻链或重链中的至少一个CDR,并且在一些实施方式中,该片段包含短链重链和/或轻链或其部分。该生物活性片段可以通过重组DNA技术产生,或者可以通过例如酶促或化学切割完整抗体来产生。免疫功能性免疫球蛋白片段包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、结构域抗体和单链Ab,但不限于此,并且可以来源于任何哺乳动物,包括人、小鼠、大鼠、骆驼科动物或兔,但不限于此。抗体的功能部分例如本文所述的一个或多个CDR可以通过共价键与二级蛋白质或小分子化合物连接,从而用作对特定靶标的靶向治疗剂。

[0106] 本文中,“Fab片段”由1条轻链和1条重链组成,所述重链包含可变区和仅CH1。Fab片段可与其他重链形成二硫键。

[0107] 本文中,“Fc”区包含两个重链片段,所述两个重链片段包括抗体的CH2和CH3结构域。这两个重链片段通过两个或更多个二硫键和CH3结构域的疏水相互作用相互结合。

[0108] 本文中,“Fab'片段”除了Fab片段外还包含重链CH1和CH2结构域之间的区域,并且它可以在两个Fab'片段分子的两条重链之间形成二硫键,以形成F(ab')₂分子。

[0109] 本文中,“F(ab')₂片段”包含两条轻链和两条重链,所述重链包含可变区CH1和CH1与CH2结构域之间的恒定区的一部分,如上所述,从而在2个重链之间形成链内二硫键。因此,F(ab')₂片段由两个Fab'片段组成,并且两个Fab'片段通过它们之间的二硫键彼此会

合。

[0110] 本文中，“Fv区”是包含重链和轻链的每个可变区但不包含恒定区的抗体片段。sdFv是重链和轻链通过二硫键连接的抗体片段。scFc是Fv通过柔性接头连接的抗体片段。scFv-Fc是Fc与scFv连接的抗体片段。小型抗体是CH3与scFv相连的抗体片段。双抗体包含两个scFv分子。

[0111] 本文中，“单链抗体(scAb)”是重链和轻链可变区通过柔性接头连接的包含重链或轻链恒定区的一个可变区的单一多肽链。短链抗体可以参考例如美国专利第5,260,203号，并且在此通过引用公开。

[0112] 本文中，“结构域抗体(dAb)”是免疫功能性免疫球蛋白片段，其仅包含重链可变区或轻链可变区。在一种实施方式中，两个或更多个VH区通过肽接头通过共价键连接，以形成二价结构域抗体。该二价结构域抗体的两个VH区可以靶向相同或不同的抗原。

[0113] 本文中，“二价抗原结合蛋白”或“二价抗体”包含两个抗原结合位点。该二价抗体中包含的两个抗原结合位点可具有相同的抗原特异性或可以分别结合不同的双特异性抗体。

[0114] 本文中，“多特异性抗原结合蛋白”或“多特异性抗体”靶向两种或更多种抗原或表位。

[0115] 本文中，“双特异性”，“双重特异性”抗原结合蛋白或抗体是具有2个不同抗原结合位点的杂合抗原结合蛋白或抗体。该双特异性抗体是一种多特异性抗原结合蛋白或多特异性抗体，并且可以通过已知的各种方法，例如杂交瘤的融合或Fab'片段的连接等方法来制备。例如，可以参考Songsivilai和Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 1990, 79: 315-321; Kostelny等人, J. Immunol. 1992, 148: 1547-1553等。特异性抗原结合蛋白或抗体结合的两个抗原结合位点可以位于相同或不同蛋白质靶标中的两个不同表位。

[0116] 本文中，术语“抗原”或“免疫原”是指例如抗原结合蛋白(例如，抗体或其免疫功能性抗原结合片段)可以结合的分子或分子的一部分，并可以用于在动物中产生可与抗原结合的抗体。抗原可包含一个或多个可与不同抗体或其片段相互作用的表位。在根据本发明的一种实施方式中，抗原是全长 α -syn蛋白或C端缺失1至120个氨基酸残基的部分 α -syn蛋白。

[0117] 本文中，“表位”是由抗原结合蛋白或抗体结合或识别的分子的一部分，并且包括例如能够特异性结合抗原结合蛋白(例如抗体或T细胞受体)的决定簇分子。表位可以是连续的或不连续的，例如，可以是在多肽序列中处于分开位置且不连续的氨基酸残基，并且通过一种抗原结合蛋白结合，正如构象表位。在一种实施方式中，表位包括与用于产生抗体的表位相似但就不包括用于抗体产生的表位中的所有残基或残基的一部分而言可以是模拟物的三维结构。通常，表位是蛋白质，但它可能是其他种类的物质，如核酸。表位决定因子可以通过诸如氨基酸、糖侧链、磷酸基或磺酰基的分子在表面上形成的化学活性基团，或者可以具有特定的三维结构性质和/或特定电荷性质。通常，对特定靶抗原特异的抗体可以识别蛋白质和/或聚合物复合物中靶抗原的表位。本发明的抗体可识别C末端。在一种实施方式中，根据本发明的抗体识别 α -Syn蛋白的C末端，特别是在其他实施方式中，识别110至120个残基或111至122个残基。特别地，当抗体识别110至122个残基时，抗体显示出对聚集体的优先结合特性。

[0118] 本文中，“缀合物”是指与本文公开的抗体或其抗原结合片段不同的分子，特别是与下述的特别是血脑屏障转运剂或治疗剂的嵌合分子。在缀合物中，根据本发明的抗体或其抗原结合片段通过共价键、范德华力或疏水相互作用、包封、包埋或其组合方法与其他分子结合。在一种实施方式的缀合物中，根据本发明的抗体或其抗原结合片段可以通过肽接头连接。另外，在缀合物中，根据本发明的抗体或其抗原结合片段可以使用常规化学合成方法（例如，US2010/0028370）通过醇基、酸基、羰基、巯基或胺基与治疗剂连接。本文中，当根据本发明的抗体或其抗原结合片段通过共价键或肽连接体与其他肽连接时，形成融合蛋白。

[0119] 如本文所用，术语“血脑屏障”或BBB是由在在脑，脊柱及其周围的循环系统之间存在的脑的毛细血管内皮细胞膜中的紧密连接形成的屏障。这些屏障非常稳健，并且限制具有约60Da分子量的小分子进入脑中。血脑屏障，血管脊髓屏障和血管视网膜屏障是中枢神经系统内的连续毛细血管屏障，通常称为BBB。

[0120] 术语“血脑屏障转运剂”是指可以通过血脑屏障并递送根据本发明的抗体和抗原结合片段的包括肽和多肽的蛋白质、核酸、抗体或具有低分子量的化合物。

[0121] 本文中，“治疗剂”是指为了目标治疗效果而施用于受试者的分子。受试者包括非人哺乳动物，例如灵长类动物或人类。治疗剂的实例包括含有肽和多肽的蛋白质、核酸、抗体或小分子化合物。在另一方面，治疗剂可以通过与本发明的抗体结合而用作与 α -syn聚集体相关的疾病的治疗剂。

[0122] 本文中，术语“治疗”意指减轻、缓解、减轻或治疗疾病的损伤、疾病或疾病的症状或病症；使患者能够承受疾病的损伤、疾病或疾病的症状或病症；延迟损伤、疾病或疾病的症状或病症的恶化；或减轻或治疗损伤、疾病或疾病的症状或病症，包括改善患者精神或身体生活质量的客观或主观参数。可以基于身体检查、与疾病相关的各种指标的检查 and 成像检查的结果来确定损伤、疾病或疾病的症状或病症的缓解或治疗。在一种实施方式中，该术语包括在本发明的方法中治疗与 α -syn相关的疾病，降低疾病发生频率，降低疾病严重性和/或缓解与 α -syn相关的疾病的症状。

[0123] 如本文所用，术语“与 α -Syn聚集体相关的疾病”是一组称为 α -突触核蛋白病的神经退行性疾病，并且在包括神经元和神经胶质细胞群的病变中发现Syn聚集体，以多巴胺系统的退化，运动表现的改变，认知障碍以及路易体和Lewy神经突的形成为特征（Kim等人，阿尔茨海默病研究与治疗2014,6:73;McKeith等人，神经病学（Neurology）（1996）47:1113-24）。这些疾病包括帕金森病（PD）、帕金森病痴呆（PDD）、路易体痴呆（DLB）、阿尔茨海默病路易体变异型（LBV）、阿尔茨海默病合并帕金森病、多系统萎缩症（MSA）和与神经轴突有关的其他各种疾病，但不限于此。在一种实施方式中，本发明的抗体可用于治疗PD。

[0124] 本文中，“有效剂量”通常是指足以降低由于疾病，特别是与 α -syn相关的疾病引起的症状的严重性和/或发生频率的量，足以去除由于疾病，特别是与 α -syn相关的疾病和/或疾病发生的根本原因引起的症状的量，或足以防止由于疾病，特别是与 α -syn相关的疾病和/或疾病发生的根本原因引起的症状发生的量，和/或足以改善或纠正由疾病，特别是与 α -syn相关的疾病引起的损伤的量。在一些实施方式中，有效剂量是治疗有效剂量或预防有效剂量。“治疗有效剂量”是足以治疗疾病，特别是与 α -syn相关的症状或病症的量，或足以预防、延迟疾病，特别是与 α -syn相关的症状或病症的量，或足以逆转其进展的量。“预防有

效剂量”是用于预防或延迟疾病,特别是与 α -syn或疾病症状有关的疾病,特别是与 α -syn有关的疾病发生或再发生并降低其概率的量。完全治疗或预防效果可以通过几次施用而不通过单次施用来引起。因此,治疗或预防有效剂量可通过一次或多次施用来递送。

[0125] 抗体或抗原结合片段

[0126] 本发明公开了一种与包括人 α -syn的 α -syn蛋白特异性结合的抗体。如本文所公开的,根据本发明的抗体是包含一个或多个互补决定区或位点(CDR)的多肽。

[0127] 在一种实施方式中,CDR包含在“骨架”区域中,并且骨架与CDR对齐,使得该CDR可以具有合适的抗原结合特性。

[0128] 根据本发明的抗体与源自人的 α -syn蛋白,特别是 α -syn聚集体特异性结合。

[0129] 在一种实施方式中,根据本发明的抗体可以以高亲和力优先与 α -Syn聚集体结合并降低其浓度。通过根据本发明的抗体及其抗原结合片段减少或降解 α -Syn聚集体涉及由抗原-抗体复合物引起的病原体的有效切割和降解,以促进细胞中溶酶体对 α -Syn聚集体的降解。

[0130] 在又一种实施方式中,抗体或其抗原结合片段以高亲和力优先结合 α -Syn聚集体,因此可以防止 α -Syn聚集体的额外形成,降低浓度,抑制细胞间转运,并在药物开发中降低有效剂量。

[0131] 在另一种实施方式中,抗体或其抗原结合片段以高亲和力优先结合 α -Syn聚集体,从而抑制或阻止 α -Syn聚集体形式从一个细胞转移至另一个细胞。

[0132] 在一种实施方式中,抗体包括单克隆抗体、双特异性抗体、双抗体、多特异性抗体、多抗体、微抗体、域抗体、抗体模拟物(或合成抗体)、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体或抗体融合体(或抗体缀合物)及其片段,但不限于此,并且抗体包括本文公开的各种形式的抗体。在一种实施方式中,本文公开的抗体的抗体片段包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、双抗体或重链和轻链通过间隔区连接的单链抗体分子。在其他实施方式中,本文公开的抗体可包括包含表1a和表1b中公开的可变区的仅轻链或仅重链的多肽。

[0133] 本文公开的抗体与本文公开的另一种抗体共享特定区域或序列。在一种实施方式中,它可以共享抗体或抗原结合片段的恒定区。在另一种实施方式中,它可以共享Fc区。在另一种实施方式中,它可以共享可变区的骨架。

[0134] 已经证实,本文公开的抗体以高亲和力结合人 α -Syn聚集体。如实施例中另外描述的,测试了多个抗体克隆并发现其具有位于C端的110至120或111至122个残基中的表位。尽管不限于该理论,但与识别C端处的121至130个残基的常规抗体相比,本发明中抗体聚集体的优选结合和高亲和力可能是由于识别110至120个残基。

[0135] 在一种实施方式中,根据本发明的抗体具有自然界中发现的抗体的典型结构。骆驼科动物产生由单个重链组成的抗体,但该抗体的结构单元通常包含四聚体多肽,并且四聚体包含两个由不同的2个多肽链组成的一对多肽链体。在典型的抗体中,一对多肽链体包含一条全长轻链(约25kDa)和一条全长重链(约50至70kDa)。每条链显示出特征性的折叠模式,并且由数个由约90至110个氨基酸组成的免疫球蛋白结构域组成。这些结构域是由抗体多肽组成的基本单元。每条链的氨基末端部分通常包含作为识别抗原部分的被称为可变区或V区的部分。羧基末端部分在进化上比氨基末端更保守,并且它包含被称为恒定区或C区的部分。人轻链通常分类为 κ 和 λ 轻链,它们分别包含一个可变区和一个恒定区。重链通常分

为 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ 链,这些分别定义为IgM、IgD、IgG、IgA和IgE同种型。IgG包括IgG1、IgG2、IgG3和IgG4,但具有无限多种亚型。IgM亚型包括IgM和IgM2。IgA亚型包括IgA1和IgA2。在人类中,IgA和IgD同种型包含4条重链和4条轻链;IgG和IgE同种型包含2条重链和2条轻链,IgM同种型包含5条重链和5条轻链。重链恒定区通常显示效应子功能,但包含一个或多个结构域。重链恒定区结构域的数量根据同种型而不同。例如,IgG重链包含分别称为 C_{H1} 、 C_{H2} 和 C_{H3} 的3个C区。本文公开的抗体可以是这些同种型和亚型中的任何一种。在一种实施方式中,根据本发明的抗体是IgG1、IgG2、IgG2a、IgG2b、IgG3或IgG4亚型。

[0136] 根据本发明的重链可变区和轻链可变区可以与人恒定区的至少一部分连接。恒定区的选择可以通过是否部分地需要抗体依赖性细胞介导的细胞毒性、抗体依赖性细胞吞噬作用和/或补体依赖性细胞毒性来确定。例如,人同种型IgG1和IgG3具有补体依赖性细胞毒性,人同种型IgG2和IgG4不具有这种细胞毒性。此外,人IgG1和IgG3比人IgG2和IgG4诱导更强的细胞介导的效应子功能。轻链恒定区可以是 λ 或 κ 。

[0137] 在一种实施方式中,根据本发明的抗 α -syn抗体可以是人抗体,并且重链恒定区可以是IgG1型、IgG2型、IgG3型或IgG4型。在进一步的实施方式中,本发明的抗体是IgG1型或IgG2型。

[0138] 在全长轻链和重链中,可变区和恒定区通过长度为约12个或更多个氨基酸的“J”区连接,并且重链还包含约10个或更多个氨基酸的“D”区。例如,可参考基础免疫学(Fundamental Immunology),第二版,Ch.7 (Paul,W.编)1989,纽约雷文出版社。通常,抗体的轻链/重链对的可变区形成抗原结合位点。

[0139] 免疫球蛋白链的可变区通常具有相同的总体结构,并且包含由称为“互补决定位点或区或域”或CDR(互补决定区)的3个高变区连接的相对保守的骨架区(FR)。衍生自由重链/轻链对组成组成的每条链的可变区的CDR通常根据骨架区排列,从而形成与靶蛋白(α -syn)的特定表位特异性结合的结构。天然存在的轻链和重链区的这些因子通常以如下顺序从N端到C端而被包含:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。可变区中对应于它们中的每一个的氨基酸序列的位置可以通过Kabat编号系统确定(免疫相关蛋白的Kabat序列(1987和1991,马里兰州贝塞斯达NIH),或Chothia&Lesk,J.Mol.Biol.1987,196:901-917;Chothia等人.1989,Nature 1989,342:878-883)。

[0140] CDR序列分别由表1a至表1b中公开的根据本发明的抗体或抗原结合片段的重链和轻链可变区组成。在每个可变区中,CDR序列加下划线并分别以从前到后的顺序表示CDR1、CDR2和CDR3序列。可变区中的CDR序列以下划线显示。CDR1、CDR2和CDR3序列分别以从前到后的顺序显示。

[0141] [表1a]

[0142]

克隆	VH CDR SEQ ID NOs			重链可变区VH氨基酸序列和 SEQ ID NOs.	
	H1	H2	H3	编号	氨基酸序列
	1E4	1	15	29	85
9B11	2	16	30	86	EVQLQESGGGLVQFPGSLRLSCAASQITITKAMNVRQAPFGGLEWVARIA SKENQATCYASVKGKFTIQRDSSQSMELQNNLKTEDZAMYTCVRQDQD YGGGTLVTVSS
3A9	3	17	31	87	EVQLQESGGGLVFRPGSLRLSCAASQFTTSSYAMSNVROGTFEKLWVATIS NKGQTYTIDEVKGRFTISRDSKNTLYLQNSLRAEDEZAMYTCARMTIVR FTKLTIDINGGGTLVTVSS
10F10	4	18	32	88	EVQLQESGGGLVFRPGSLRLSCAASQFTTSSYAMSNVROGTFEKLWVATIS NKGQTYTIDEVKGRFTISRDSKNTLYLQNSLRAEDEZAMYTCARMTIVR FTKLTIDINGGGTLVTVSS
11F11	5	19	33	89	EVQLQESGGGLVQFPGSLRLSCAASQITITKAMNVRQAPFGGLEWVARIA SKENQATCYASVKGKFTIQRDSSQSMELQNNLKTEDZAMYTCVRQDQD YGGGTLVTVSS
AC8	6	20	34	90	EVQLLESGGGLVQFPGSLRLSCAASQFTTSSYAMSNVROGTFEKLWVATIS NKGQTYTIDEVKGRFTISRDSKNTLYLQNSLRAEDEZAMYTCARMTIVR FTKLTIDINGGGTLVTVSS
AE8	7	21	35	91	EVQLLESGGGLVQFPGSLRLSCAASQFTTSSYAMSNVROGTFEKLWVATIS NKGQTYTIDEVKGRFTISRDSKNTLYLQNSLRAEDEZAMYTCARMTIVR FTKLTIDINGGGTLVTVSS
AA9	8	22	36	92	EVQLLESGGGLVQFPGSLRLSCAASQFTTSSYAMSNVROGTFEKLWVATIS NKGQTYTIDEVKGRFTISRDSKNTLYLQNSLRAEDEZAMYTCARMTIVR FTKLTIDINGGGTLVTVSS
DG5	9	23	37	93	EVQLLESGGGLVQFPGSLRLSCAASQFTTSSYAMSNVROGTFEKLWVATIS NKGQTYTIDEVKGRFTISRDSKNTLYLQNSLRAEDEZAMYTCARMTIVR FTKLTIDINGGGTLVTVSS
AD2	10	24	38	94	EVQLLESGGGLVQFPGSLRLSCAASQFTTSSYAMSNVROGTFEKLWVATIS NKGQTYTIDEVKGRFTISRDSKNTLYLQNSLRAEDEZAMYTCARMTIVR FTKLTIDINGGGTLVTVSS
AD7	11	25	39	95	EVQLLESGGGLVQFPGSLRLSCAASQFTTSSYAMSNVROGTFEKLWVATIS NKGQTYTIDEVKGRFTISRDSKNTLYLQNSLRAEDEZAMYTCARMTIVR FTKLTIDINGGGTLVTVSS
DG11	12	26	40	96	EVQLLESGGGLVQFPGSLRLSCAASQFTTSSYAMSNVROGTFEKLWVATIS NKGQTYTIDEVKGRFTISRDSKNTLYLQNSLRAEDEZAMYTCARMTIVR FTKLTIDINGGGTLVTVSS
DG8	13	27	41	97	EVQLLESGGGLVQFPGSLRLSCAASQFTTSSYAMSNVROGTFEKLWVATIS NKGQTYTIDEVKGRFTISRDSKNTLYLQNSLRAEDEZAMYTCARMTIVR FTKLTIDINGGGTLVTVSS
DA9	14	28	42	98	EVQLLESGGGLVQFPGSLRLSCAASQFTTSSYAMSNVROGTFEKLWVATIS NKGQTYTIDEVKGRFTISRDSKNTLYLQNSLRAEDEZAMYTCARMTIVR FTKLTIDINGGGTLVTVSS

[0143] [表1b]

[0144]

克隆	VL CDR SEQ ID NOs			轻链可变区VL氨基酸序列和 SEQ ID NOs.	
	L1	L2	L3	编号	氨基酸序列
1E4	43	57	71	99	DIVHTQSPFLSLPVSIGDQASISCSQSGLNLSMNTYLAHWLQKPGQSPKLLIYKVENRFSQVDFRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCQSSTHIVRTFGGGTKLEIK
9B11	44	58	72	100	DIVHTQSPFLSLPVSIGDQASISCSQSGLNLSMNTYLAHWLQKPGQSPKLLIYKVENRFSQVDFRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCQSSTHIVRTFGGGTKLEIK
3A9	45	59	73	101	DIVHTQSPFLSLPVSIGDQASISCSQSGLNLSMNTYLAHWLQKPGQSPKLLIYKVENRFSQVDFRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCQSSTHIVRTFGGGTKLEIK
10F10	46	60	74	102	DIVHTQSPFLSLPVSIGDQASISCSQSGLNLSMNTYLAHWLQKPGQSPKLLIYKVENRFSQVDFRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCQSSTHIVRTFGGGTKLEIK
11F11	47	61	75	103	DIVHTQSPFLSLPVSIGDQASISCSQSGLNLSMNTYLAHWLQKPGQSPKLLIYKVENRFSQVDFRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCQSSTHIVRTFGGGTKLEIK
AC8	48	62	76	104	QSVLTQPPASAGTFCQAVTI SCGSSSENIGNSVSWYQQLPGTAPKLLIYASNNRPSGVDFRFSGSGSGTSASLAIISGLRSEDEADYTCAMDSLSAVYVFGGGTKLT VLG
AE8	49	63	77	105	QSVLTQPPASAGTFCQAVTI SCGSSSENIGNSVSWYQQLPGTAPKLLIYASNNRPSGVDFRFSGSGSGTSASLAIISGLRSEDEADYTCAMDSLSAVYVFGGGTKLT VLG
AA9	50	64	78	106	QSVLTQPPASAGTFCQAVTI SCGSSSENIGNSVSWYQQLPGTAPKLLIYASNNRPSGVDFRFSGSGSGTSASLAIISGLRSEDEADYTCAMDSLSAVYVFGGGTKLT VLG
DG5	51	65	79	107	QSVLTQPPASAGTFCQAVTI SCGSSSENIGNSVSWYQQLPGTAPKLLIYASNNRPSGVDFRFSGSGSGTSASLAIISGLRSEDEADYTCAMDSLSAVYVFGGGTKLT VLG
AD2	52	66	80	108	QSVLTQPPASAGTFCQAVTI SCGSSSENIGNSVSWYQQLPGTAPKLLIYASNNRPSGVDFRFSGSGSGTSASLAIISGLRSEDEADYTCAMDSLSAVYVFGGGTKLT VLG
AD7	53	67	81	109	QSVLTQPPASAGTFCQAVTI SCGSSSENIGNSVSWYQQLPGTAPKLLIYASNNRPSGVDFRFSGSGSGTSASLAIISGLRSEDEADYTCAMDSLSAVYVFGGGTKLT VLG
DG11	54	68	82	110	QSVLTQPPASAGTFCQAVTI SCGSSSENIGNSVSWYQQLPGTAPKLLIYASNNRPSGVDFRFSGSGSGTSASLAIISGLRSEDEADYTCAMDSLSAVYVFGGGTKLT VLG
DG8	55	69	83	111	QSVLTQPPASAGTFCQAVTI SCGSSSENIGNSVSWYQQLPGTAPKLLIYASNNRPSGVDFRFSGSGSGTSASLAIISGLRSEDEADYTCAMDSLSAVYVFGGGTKLT VLG
DA9	56	70	84	112	QSVLTQPPASAGTFCQAVTI SCGSSSENIGNSVSWYQQLPGTAPKLLIYASNNRPSGVDFRFSGSGSGTSASLAIISGLRSEDEADYTCAMDSLSAVYVFGGGTKLT VLG

[0145] 在本发明的一种实施方式中,表1a和表1b中公开的抗体或抗原结合片段的重链和轻链可变区可以以各种方式组合以制备不同的抗体。此外,表1a和表1b中公开的抗体或抗原结合片段的重链和轻链可变区可以自由组合而不限制任何方法。

[0146] 本文公开的每个重链和轻链可变区可以与作为靶标的各种重链和轻链恒定区结合以分别形成完整抗体的重链和轻链。另外,与这样的恒定区结合的重链和轻链序列中的每个也可以组合以形成完整的抗体结构。

[0147] 根据本发明的抗体的重链和轻链的任意可变区可以与恒定区的至少一部分连接。可以根据是否需要抗体依赖性细胞介导的细胞毒性、抗体依赖性细胞吞噬作用和/或补体依赖性细胞毒性等来选择恒定区。例如,人同种型IgG1和IgG3具有补体依赖性细胞毒性,并且人同种型IgG2和IgG4不具有细胞毒性。人IgG1和IgG3还比人IgG2和IgG4诱导更强的细胞介导的效应子功能。例如,重链可变区可以结合IgG恒定区,包括IgG1、IgG2、IgG2a、IgG2b、IgG3和IgG4,并且轻链可变区可以结合κ或λ恒定区。对于恒定区,可以根据需要使用适当的恒定区,例如,可以使用人或小鼠来源的恒定区。

[0148] 在一种实施方式中,本文公开的重链可变区可以与鼠IgG2a恒定区或人IgG1恒定区连接,其可以在SEQ ID NO:113至126(包括鼠IgG2a恒定区)或SEQ ID NO:127至140(包括

人IgG1恒定区)中示出。

[0149] 在另一种实施方式中,本文公开的轻链可变区可以与小鼠 κ 恒定区或人 κ 恒定区连接,其可以在SEQ ID NO:141至154(小鼠 κ 恒定区)和SEQ ID NO:155至168(人 κ 恒定区)中示出。

[0150] 另外,待与本文公开的可变区组合的这类恒定区序列是示例性的,并且本领域技术人员将知道包括可以用于稳定性、表达、可制造性或其他靶向性质的修饰恒定区的其他恒定区。

[0151] 本发明包括与本文公开的一种或多种氨基酸序列具有实质的序列同一性的一种或多种氨基酸序列。实质的同一性意味着存在序列变异,但保持本文公开的效果。在一种实施方式中,它与表1a中公开的重链可变区具有约90%、95%或99%的同一性。在其他实施方式中,它与表1b中公开的轻链可变区具有约90%、95%或99%的同一性。例如,在变体显示与本文公开的抗体或抗原结合片段具有90%、95%或99%的同一性的情况下,任何变异发生在可变区的骨架中而不是CDR。

[0152] 本文公开了编码本文公开的抗体或其抗原结合片段部分的一部分或全部的核酸。核酸包括PCR或序列分析引物,所述PCR或序列分析引物用于扩增、研究、分析或突变诱导编码每个抗体链、或抗体的片段、其突变体、衍生物或变体的多核苷酸,编码轻链或重链可变区或仅CDR的多核苷酸,足以用作杂交探针的多核苷酸,以及编码多肽的多核苷酸。核酸可以是任何长度。这些可以是长度例如5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、75、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、750、1000或1500个或更多个的多核苷酸和/或可包含一种或多种其他序列(例如调节序列),和/或可以是更大的核酸,例如载体的一部分。核酸可以是单链或双链,并且可以包含RNA和/或DNA多核苷酸,及其人工变体(例如肽核酸)。

[0153] 在一种实施方式中,编码本文公开的抗体或其片段的核酸是编码本文公开的CDR、包含CDR的可变区、包含可变区和恒定区的全长抗体的核酸。当确定氨基酸序列时,考虑到已知的逆转录程序和密码子使用等,可以有用地确定核酸序列。示例性核酸序列可以是SEQ ID NO:169至182(包含小鼠IgG2a恒定区的重链),SEQ ID NO:83至196(包含人IgG1恒定区的重链),SEQ ID NO:197至210(包含小鼠 κ 恒定区的轻链)和SEQ ID NO:211至224(包含人 κ 恒定区的轻链)。

[0154] 本发明还包括与本文公开的一种或多种核酸序列具有实质的序列同一性的一种或多种核酸序列。实质的同一性意味着由核酸编码的抗体或抗原结合片段保持本文公开的效果,甚至在引起保守取代或氨基酸变异的情况下,其中核酸的变异不伴随氨基酸取代。

[0155] 抗体对聚集体的特异性和亲和力

[0156] 根据本发明的抗体或抗原结合片段特别地具有对 α -syn聚集体的特异性和高亲和力。在一种实施方式中,根据图6,对聚集体的亲和力为 $K_D \leq 1.0 \times 10^{-9}M$;在另一种实施方式中,亲和力为 $K_D \leq 1.0 \times 10^{-10}M$;在另一种实施方式中,亲和力为 $K_D \leq 1.0 \times 10^{-11}M$ 。具有高亲和力的根据本发明的抗体或抗原结合片段具有的优点在于,与具有低亲和力的抗体(例如,亲和力为 $10^{-7}M$ 或 $10^{-8}M$)相比,可以以较低的施用量施用。这并不限制抗体,例如抗体尽管通过更简单的方式施用(例如皮下注射),但由于可以获得足够的功效,在临床上具有很大的优势。

[0157] 此外,对 α -Syn聚集体具有高亲和力的抗体及其抗原结合片段可以抑制和/或减少

α -Syn聚集体的形成和/或积累,和/或细胞间转运,从而降低聚集体的浓度。此外,对 α -Syn聚集体具有高亲和力的抗体和抗原结合片段可以减少中枢神经系统外的 α -Syn聚集体形成,从而通过改变在血脑屏障边界形成 α -Syn的平衡状态来降低中枢神经系统内聚集体的浓度。尽管不限于该理论,但是根据本发明的抗体或抗原结合片段可以通过去除单体,或者去除单体和聚集体两者来抑制聚集体的形成。

[0158] 抗体的可变区

[0159] 本发明涉及表1a和表1b中所示的抗体轻链可变区或抗体重链可变区,以及包括轻链可变区和重链可变区的免疫功能片段、衍生物、突变蛋白和变体的抗体(和相应的核酸序列)。

[0160] 此外,包括编码表1a和1b中所示可变区的核酸序列。核酸序列未另外公开,因为它们包含在SEQ ID NO:169至182(包含鼠IgG2a恒定区的重链)、SEQ ID NO:183至196(包含人IgG1恒定区的重链)、SEQ ID NO:197至210(包含小鼠 κ 恒定区的轻链)和SEQ ID NO:211至224(包含人 κ 恒定区的轻链)中公开的编码全长抗体的核酸序列。基于表1中列出的可变区的氨基酸序列,本领域技术人员可以容易地获得编码蛋白质序列的核酸序列。

[0161] 根据本发明的重链可变区和轻链可变区不同组合的抗体可以用“VH_x/VL_y”表示,其中“x”对应于重链可变区的SEQ ID NO,“y”对应于轻链可变区的SEQ ID NO。在一种实施方式中,根据本发明的可变区域可包括以下组合,但不限于此:

[0162] VH85/VL99、VH85/VL100、VH85/VL101、VH85/VL102、VH85/VL103、VH85/VL104、VH85/VL105、VH85/VL106、VH85/VL107、VH85/VL108、VH85/VL109、VH85/VL110、VH85/VL111、VH85/VL112;VH86/VL99、VH86/VL100、VH86/VL101、VH86/VL102、VH86/VL103、VH86/VL104、VH86/VL105、VH86/VL106、VH86/VL107、VH86/VL108、VH86/VL109、VH86/VL110、VH86/VL111、VH86/VL112;VH87/VL99、VH87/VL100、VH87/VL101、VH87/VL102、VH87/VL103、VH87/VL104、VH87/VL105、VH87/VL106、VH87/VL107、VH87/VL108、VH87/VL109、VH87/VL110、VH87/VL111、VH87/VL112;VH88/VL99、VH88/VL100、VH88/VL101、VH88/VL102、VH88/VL103、VH88/VL104、VH88/VL105、VH88/VL106、VH88/VL107、VH88/VL108、VH88/VL109、VH88/VL110、VH88/VL111、VH88/VL112;VH89/VL99、VH89/VL100、VH89/VL101、VH89/VL102、VH89/VL103、VH89/VL104、VH89/VL105、VH89/VL106、VH89/VL107、VH89/VL108、VH89/VL109、VH89/VL110、VH89/VL111、VH89/VL112;VH90/VL99、VH90/VL100、VH90/VL101、VH90/VL102、VH90/VL103、VH90/VL104、VH90/VL105、VH90/VL106、VH90/VL107、VH90/VL108、VH90/VL109、VH90/VL110、VH90/VL111、VH90/VL112;VH91/VL99、VH91/VL100、VH91/VL101、VH91/VL102、VH91/VL103、VH91/VL104、VH91/VL105、VH91/VL106、VH91/VL107、VH91/VL108、VH91/VL109、VH91/VL110、VH91/VL111、VH91/VL112;VH92/VL99、VH92/VL100、VH92/VL101、VH92/VL102、VH92/VL103、VH92/VL104、VH92/VL105、VH92/VL106、VH92/VL107、VH92/VL108、VH92/VL109、VH92/VL110、VH92/VL111、VH92/VL112;VH93/VL99、VH93/VL100、VH93/VL101、VH93/VL102、VH93/VL103、VH93/VL104、VH93/VL105、VH93/VL106、VH93/VL107、VH93/VL108、VH93/VL109、VH93/VL110、VH93/VL111、VH93/VL112;VH94/VL99、VH94/VL100、VH94/VL101、VH94/VL102、VH94/VL103、VH94/VL104、VH94/VL105、VH94/VL106、VH94/VL107、VH94/VL108、VH94/VL109、VH94/VL110、VH94/VL111、VH94/VL112;VH95/VL99、VH95/VL100、VH95/VL101、VH95/VL102、VH95/VL103、VH95/VL104、VH95/VL105、VH95/VL106、VH95/VL107、VH95/VL108、VH95/VL109、VH95/VL110、VH95/VL111、

VH95/VL112; VH96/VL99、VH96/VL100、VH96/VL101、VH96/VL102、VH96/VL103、VH96/VL104、VH96/VL105、VH96/VL106、VH96/VL107、VH96/VL108、VH96/VL109、VH96/VL110、VH96/VL111、VH96/VL112; VH97/VL99、VH97/VL100、VH97/VL101、VH97/VL102、VH97/VL103、VH97/VL104、VH97/VL105、VH97/VL106、VH97/VL107、VH97/VL108、VH97/VL109、VH97/VL110、VH97/VL111、VH97/VL112; VH98/VL99、VH98/VL100、VH98/VL101、VH98/VL102、VH98/VL103、VH98/VL104、VH98/VL105、VH98/VL106、VH98/VL107、VH98/VL108、VH98/VL109、VH98/VL110、VH98/VL111或VH98/VL112。

[0163] 如上所述的可变区的各种组合可以用作完整抗体和各种形式的包含scFV等的抗体。

[0164] CDR

[0165] 本文公开的抗体是其中移植、插入和/或连接一个或多个根据本发明的CDR的多肽。在一种实施方式中,抗体可具有1、2、3、4、5或6个CDR。因此,抗体可以具有例如一个重链CDR1(“CDRH1”)和/或一个重链CDR2(“CDRH2”)和/或一个重链CDR3(“CDRH3”),和/或一个轻链CDR1(“CDRL1”)和/或一个轻链CDR2(“CDRL2”)和/或一个轻链CDR3(“CDRL3”)。

[0166] 对应于抗体在可变区中的互补决定区(CDR)和骨架区(FR)的氨基酸序列的位置可以通过Kabat确定(Kabat等,免疫相关蛋白的序列,第五版,美国卫生与人类服务部,PHS,NIH,NIH出版物编号91-3242,1991)。

[0167] 表1a至1b中公开了待包含在根据本发明的抗体的重链和轻链中的CDR(或重链CDR H1由SEQ ID NO:1至14表示,重链CDR H2由SEQ ID NO:15至28表示,重链CDR H3由SEQ ID NO:29至42表示,轻链CDR L1由SEQ ID NO:43至56表示,轻链CDR L2由SEQ ID NO:57至70表示,轻链CDR L3由SEQ ID NO:71至84表示)。

[0168] 本发明还包含与表1a至1b中公开的一种或多种CDR的氨基酸序列具有实质的序列同一性的一种或多种氨基酸序列。实质的同一性意味着存在序列变异,但保持本文公开的效果。

[0169] 天然存在的抗体的CDR的结构和性质如上所述。简言之,在典型的抗体中,CDR被包含在由参与抗原结合和识别的区组成的重链可变区和轻链可变区的骨架中。可变区在骨架区中包含至少3个重链或轻链CDR(Kabat等人,1991,免疫相关蛋白的序列,马里兰州贝塞斯达N.I.H.公共卫生服务;或Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.1987,196:901-917;Chothia等人,1989,Nature 1989,342:877-883)。然而,本文公开的CDR用于定义抗原结合域的典型抗体结构,此外,如本文所公开的,CDR可以包含在其他各种多肽结构中。

[0170] 本领域技术人员将理解,当抗体包含一种或多种本文公开的CDR时,公开的每种CDR可以彼此独立地选择和组合。因此,抗体具有1、2、3、4、5或6个独立选择的CDR。另外,本领域技术人员可以知道,当选择CDR用于组合时,不重复使用相同种类的CDR,例如,通常不将抗体制备为包含两个CDRH2区。

[0171] 单克隆抗体

[0172] 另外,可以通过使用本领域已知的任何技术制备单克隆抗体。例如,它可以通过对从免疫的转化动物收集的脾细胞永生生化产生。脾细胞可以通过使用本领域已知的任何技术永生生化,例如,通过将它们与骨髓瘤细胞融合以产生杂交瘤。用于产生杂交瘤的融合过程的骨髓瘤细胞优选是非抗体生产性的,具有高融合效率,并且使它们不能在缺乏某些酶并且

仅支持靶融合细胞(杂交瘤)的生长的特定选择性培养基中生长。用于小鼠融合的合适细胞系的实例包括Sp-20、P3-X63/Ag8、P3-X63-Ag8.653、NS1/1.Ag 41、Sp210-Ag14、F0、NS0/U、MPC-11、MPC11-X45-GTG 1.7和S194/5XX0 Bu1,用于大鼠融合的细胞系的实例包括R210.RCY3、Y3-Ag1.2.3、IR983F和4B210。用于细胞融合的其他细胞系可以是U-266、GM1500-GRG2、LICR-LON-HMy2和UC729-6。

[0173] 在一些情况下,杂交瘤细胞系通过从动物收集脾细胞(例如,具有人免疫球蛋白序列的转化动物,通过 α -syn免疫原免疫的动物);将收集的脾细胞与骨髓瘤细胞融合以产生杂交瘤细胞;由杂交瘤细胞建立杂交瘤细胞系,以及鉴定产生与 α -syn结合的抗体的杂交瘤细胞系来产生。

[0174] 可以通过使用本领域已知的技术来纯化由杂交瘤细胞系分泌的单克隆抗体。

[0175] 嵌合和人源化抗体

[0176] 出于各种目的,还可以通过各种方法来修饰抗体。可以提供嵌合抗体和人源化抗体。嵌合抗体是来源于不同抗体的多肽片段通过共价键连接形成免疫功能性轻链、重链或其片段的抗体。通常,嵌合抗体的轻链和/或重链的一部分是属于某个物种或某个类或亚型的序列,其余序列属于其他物种或其他类或亚型。对于制备嵌合抗体的方法,可以参考例如美国专利第4,816,567号;和Morrison等人,1985,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-6855。对于CDR移植,可以参考例如美国专利第6,180,370号、第5,693,762号、第5,693,761号、第5,585,089号和第5,530,101号。

[0177] 通常,制备嵌合抗体的目的是最大化在使用抗体的生物体中发现的氨基酸的数量。一个实例是“CDR移植的”抗体,其中所述抗体包含一种或多种来源于某个物种或某个类或亚型的CDR,其余部分来源于其他物种或其他类或亚型的抗体。例如,为了将其用于人,通过将啮齿动物抗体的可变区或选择的CDR移植到人抗体中,替换人抗体的天然存在的可变区或CDR,反之亦然。

[0178] 最有用的嵌合抗体型是“人源化”抗体。通常,人源化抗体由最初在非人动物中产生的单克隆抗体产生。在这种单克隆抗体中,通常构成抗体的非抗原识别部分的特定氨基酸残基被修饰为与人抗体的相应同种型的相应残基同源。可以用各种已知方法进行人源化,例如用人抗体的相应区域取代啮齿动物可变区的至少一部分(美国专利第5,585,089和5,693,762号;Jones等人,Nature 1986,321:522-525;Riechmann等人,Nature 1988,332:323-27;Verhoeyen等人,Science 1988,239:1534-1536)。

[0179] 在一个方面,将本文公开的抗体的轻链可变区和重链可变区的CDR植入到来自系统发育的相同或不同物种的抗体的骨架区(FR)中。例如,可以将本文公开的重链可变区和轻链可变区的CDR移植到保守的人FR中。为了产生保守的人FR,可以通过比对几种类型的人重链氨基酸序列或轻链氨基酸序列并从比对的序列中提取保守序列来获得FR的共有氨基酸序列。在其他实施方式中,本文公开的重链或轻链的FR被不同重链或轻链的FR取代。在一个方面,虽然仅在抗- α -Syn抗体的重链和轻链的FR中发现的特定氨基酸不被替换,不过可以替换剩余的FR氨基酸。特定氨基酸通常是存在于在FR中未观察到的位置处的特定氨基酸。可供选择地,从一条重链或轻链移植的可变区可以与不同于如本文公开的特定重链或轻链的恒定区的恒定区一起使用。在其他实施方式中,移植的可变区可以是单链Fv抗体的一部分。本文公开的抗体的轻链可变区和重链可变区的CDR可以以移植形式用于任何抗体。

[0180] 另外,在一种实施方式中,对于来源于除人以外的物种的恒定区,可以使用与来源于人的可变区组合的杂合抗体。

[0181] 完整的人抗体

[0182] 本文还公开了完整的人抗体。可以制备对某些抗原特异的完整人抗体(“完整人抗体”)而不将人暴露于抗原。产生完整人抗体的一种方法是“人源化”小鼠体液免疫系统。内源Ig基因可以将人免疫球蛋白(Ig)遗传基因座引入未活化的小鼠,从而在小鼠中产生完整的人单克隆抗体(mAb)。如果使用完整的人抗体,可通过将小鼠或小鼠衍生的mAb施用于人体而引起的免疫原性反应和过敏反应可以被最小化。

[0183] 这种完整的人抗体可以通过免疫转化的动物(通常是小鼠)来产生,所述转化的动物可以通过缺乏产生内源免疫球蛋白而产生人抗体。用于此目的的抗原通常具有6个或更多个连续氨基酸,并且随机地与载体(例如半抗原)缀合。例如,可以参考以下内容: Jakobovits等人,1993,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:2551-2555;Jakobovits等人,1993,Nature 362:255-258;和Bruggermann等人,1993,Year in Immunol.7:33。作为一个实例,在该方法中,通过使编码小鼠重链和轻链免疫球蛋白链的内源性小鼠免疫球蛋白基因座失活并插入包含编码人重链和轻链蛋白的人基因组DNA的基因座片段来产生转化的动物。通过交叉交配部分包含人免疫球蛋白基因座的部分修饰的小鼠,产生其中引入完整人免疫球蛋白基因座的小鼠。当向动物施用免疫原时,对免疫原具有免疫特异性但包含可变区的抗体具有非鼠的人氨基酸序列。该方法参考例如W096/33735和W094/02602。与转化的小鼠相关用于制备人抗体的方法可参见美国专利第5,545,807号;第6,713,610号;第6,673,986号;第6,162,963号;第5,545,807号;第6,300,129号;第6,255,458号;第5,877,397号;美国专利第5,874,299号和第5,545,806号;W091/10741、W090/04036和EP 546073B1。

[0184] 通过使用杂交瘤技术,然后可以产生具有所需特异性的抗原特异性人mAb,并从转基因小鼠(例如上述那些)中选择。可以使用合适的载体和宿主细胞克隆和表达这些抗体,或者可以从培养的杂交瘤细胞中收获抗体。

[0185] 完整的人抗体也可以来源于噬菌体展示文库(Hoogenboom等人,1991,J.Mol.Biol.227:381;和Marks等人,1991,J.Mol.Biol.222:581)。噬菌体展示技术是模拟一种免疫选择的方法,其在丝状噬菌体的表面上展示抗体库,并从中筛选与靶抗原结合的噬菌体。这一种技术可以参考本文的实施例或BW099/10494。在一种实施方式中,通过噬菌体展示方法(Krebber等人,J.Immunol.Methods.1997,201:35)分选本发明的完整人 α -syn抗体。

[0186] 双特异性或双功能性抗体

[0187] 在一种实施方式中,本文公开的抗体还包含双特异性或双功能性抗体,所述双特异性或双功能性抗体包含一个或多个CDR或一个或多个可变区,如上所述。在一些情况下,双特异性或双功能性抗体是具有2个不同重链/轻链对和两个不同结合位点的人工杂合抗体,并且双特异性抗体可以通过使用各种方法制备,例如融合杂交瘤或Fab'片段的连接(Songsivilai和Lachmann,1990,Clin.Exp.Immunol.79:315-321;Kostelny等人,1992,J.Immunol.148:1547-1553)。

[0188] 在根据本发明的一种实施方式中,本发明的抗体可以采取双特异性抗体的形式,所述双特异性抗体还包括与载体结合以通过血脑屏障递送。通过血脑屏障递送药物的一种

方式涉及使用固有的递送系统(例如葡萄糖和氨基酸转运蛋白)以及受体介导的受体对胰岛素或转铁蛋白的转胞吞作用。受体介导的转胞吞作用中受体的例子如下:

[0189] 胰岛素受体(如人胰岛素受体)、转铁蛋白受体、LRP(如LRP1、LRP6和LRP8)、黑皮质素受体、烟碱乙酰胆碱受体、VACM-1受体、IGFR、EPCR、EGFR、TNFR、瘦素受体、M6PR、脂蛋白受体、NCAM、LIFR、LfR、MRP1、AchR、DTr、谷胱甘肽转运蛋白、SR-B1、MYOF、TFRC、ECE1、LDLR、PVR、CDC50A、SCARF1、MRC1、HLA-DRA、RAMP2、VLDLR、STAB1、TLR9、CXCL16、NTRK1、CD74、DPP4、内皮生长因子受体1、2和3、糖皮质激素受体、离子型谷氨酸受体、M3受体、芳香烃受体、GLUT-1、肌醇-1,4,5-三磷酸(IP3)受体、N-甲基-D-天冬氨酸受体、S1P1、P2Y受体、TMEM30A和RAGE。

[0190] 各种抗体变体

[0191] 本文公开的抗体也是本文公开的抗体的变体。例如,一部分抗原在包含上文公开的重链或轻链、可变区或CDR序列的一个或多个残基中的保守氨基酸取代。天然存在的氨基酸可以基于侧链性质的共同特性分类如下:1) 疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;2) 中性,亲水性:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;3) 酸性:Asp、Glu;4) 碱性:His、Lys、Arg;5) 影响链方向的残基:Gly、Pro;和6) 芳香族:Trp、Tyr、Phe。

[0192] 保守氨基酸的取代是指在分类中属于同一类别的不同残基的取代。保守氨基酸的取代还可以包含非天然存在的氨基酸残基(例如肽模拟物),并且该残基通常通过化学合成而非细胞来引入。

[0193] 非保守取代包括对上述分类中属于其他分类的残基的取代。可以在抗体的与人抗体同源的区域或非同源区域中引入该取代。

[0194] 为了引入该取代,在一种实施方式中,可以考虑显示氨基酸的疏水性或亲水性的指数(亲水指数)。通过指定每种氨基酸的指数,然后重复平均这些值来计算蛋白质的指数谱(亲水性谱)。每种氨基酸的指数基于疏水性和电荷性质指定如下:异亮氨酸(+4.5);缬氨酸(+4.2);亮氨酸(+3.8);苯丙氨酸(+2.8);半胱氨酸/胱氨酸(+2.5);甲硫氨酸(+1.9);丙氨酸(+1.8);甘氨酸(-0.4);苏氨酸(-0.7);丝氨酸(-0.8);色氨酸(-0.9);酪氨酸(-1.3);脯氨酸(-1.6);组氨酸(-3.2);谷氨酸(-3.5);谷氨酰胺(-3.5);天冬氨酸(-3.5);天冬酰胺(-3.5);赖氨酸(-3.9);和精氨酸(-4.5)。

[0195] 为了给蛋白质提供相互作用的生物学功能,指数谱的重要性是本领域已知的(Kyte等人,1982,J.Mol.Biol.157:105-131)。已知特定氨基酸可以被具有相似数值指数或分数的其他氨基酸取代,并且可以保持相似的生物活性。在一种实施方式中,为了基于指数执行改变,包括指数在 ± 2 、 ± 1 或 ± 0.5 内的取代。

[0196] 另外,相似氨基酸之间的取代,特别是当通过取代产生的蛋白质是具有如本文所述的免疫学活性的蛋白质时,可以基于亲水性进行。在一种实施方式中,由亲密氨基酸的亲水性决定的蛋白质的最大局部平均亲水性值与蛋白质的生物学性质(例如免疫原性和抗原结合性质)有关。

[0197] 氨基酸残基的亲水性值如下:精氨酸(+3.0);赖氨酸(+3.0);天冬氨酸(+3.0 \pm 1);谷氨酸(+3.0 \pm 1);丝氨酸(+0.3);天冬酰胺(+0.2);谷氨酰胺(+0.2);甘氨酸(0);苏氨酸(-0.4);脯氨酸(-0.5 \pm 1);丙氨酸(-0.5);组氨酸(-0.5);半胱氨酸(-1.0);甲硫氨酸(-1.3);缬氨酸(-1.5);亮氨酸(-1.8);异亮氨酸(-1.8);酪氨酸(-2.3);苯丙氨酸(-2.5)和色氨酸

(-3.4)。在基于相似亲水性值的取代的情况下,在一种实施方式中,包括其亲水性值在 ± 2 、 ± 1 或 ± 0.5 内的氨基酸取代。另外,可以基于亲水性从一级氨基酸序列鉴定表位。另外,这些区域被称为“表位核心区域”。

[0198] 表2中显示了氨基酸的示例性保守取代。

[0199] [表2]氨基酸的保守取代

[0200]

原始残基	示例性取代
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln,His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro
His	Asn,Gln
Ile	Leu,Val
Leu	Ile,Val
Lys	Arg,Gln,Glu
Met	Leu,Ile
Phe	Met,Leu,Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp,Phe
Val	Ile,Leu

[0201] 本领域技术人员将使用已知技术确定本文公开的多肽的合适变体。本领域技术人员将发现,通过靶向认为对多肽中的活性不重要的区域,可以在不破坏活性的情况下改变蛋白质的位点。本领域技术人员还将鉴定相似多肽之间保守的残基或部分。另外,在其他实施方式中,对于被认为对生物活性或结构重要的部分,可以进行保守氨基酸取代,而不破坏生物活性或对多肽结构产生负面影响。

[0202] 此外,本领域技术人员可以进行结构-功能分析以鉴定类似多肽中对活性或结构重要的残基。通过该分析,在一种蛋白质中,可以通过找到与对与该蛋白质类似的蛋白质的活性或结构的重要氨基酸残基对应的残基来预测靶蛋白质中的重要氨基酸残基。本领域技术人员可以将由此预测的重要氨基酸残基替换为与其化学相似的氨基酸。

[0203] 此外,本领域技术人员可以基于类似多肽的三维结构和与其相关的氨基酸序列分析来预测与抗体的三维结构相关的氨基酸残基。本领域技术人员不引入快速变化,因为预测为在蛋白质表面上存在的氨基酸残基可能参与与另一分子的重要相互作用。此外,本领域技术人员可以产生测试变体,该测试变体包括在每个靶向氨基酸残基中取代单个氨基

酸。然后通过使用对抗原的结合能力筛选这些变体,从而收集关于哪种氨基酸取代与目的匹配的信息。使用此信息,本领域可以容易地确定待取代的位置或待避免的位置。

[0204] 另外,可以基于蛋白质的二级结构确定待取代的位置。例如,一种预测二级结构的方法基于同源性建模。例如,可具有超过30%的序列同一性或超过40%的相似性的2种多肽或蛋白质可具有相似的结构相(Holm等人,1999,Nucl. Acid. Res. 27:244-247)。对于预测二级结构的其他方法,包括“穿线”(Jones,1977,Curr. Opin. Struct. Biol. 7:377-387; Sippl等人,1996,Structure 4:15-19)、“谱分析”(Bowie等人,1991,Science 253:164-170; Gribskov等人,1990, Meth. Enzym. 183:146-159; Gribskov等人,1987, Proc. Nat. Acad. Sci. 84:4355-4358)和“进化联系”(Holm,1999,同上;和Brenner,1997,同上)。

[0205] 在一些实施方式中,氨基酸取代能够(1)降低对蛋白质分解的敏感性,(2)降低对氧化的敏感性,(3)改变对形成蛋白质复合物的结合亲和力,(4)修饰抗原结合亲和力和/或(5)修饰以提供具有其他物理化学或功能特性的蛋白质。例如,包括保守取代的单个或多个氨基酸的取代可以不在涉及分子间接触的结构域中进行取代,而是在其他部分进行取代。在该实施方式中,可以使用基本上不改变亲本序列的结构特性的保守氨基酸取代,例如,对一个或多个不改变抗体二级结构的氨基酸的取代。本领域已知的多肽的二级和三级结构的实例可以参考蛋白、结构和分子原理(Proteins, Structures and Molecular Principles)(Creighton编),1984,W. H. 纽约弗里曼公司;蛋白质结构介绍(Introduction to Protein Structure)(Branden and Tooze编),1991,纽约加兰出版;和Thornton等人,1991,Nature 354:105)。

[0206] 在另外优选的抗体变体中,包括其中在亲本序列中一个或多个半胱氨酸残基缺失的变体或半胱氨酸残基被其他氨基酸(例如丝氨酸)取代的变体。半胱氨酸变体尤其是其中抗体具有生物活性的结构,并且当需要再次折叠时,它是有用的。与亲本抗体相比,半胱氨酸变体可具有少量半胱氨酸残基,并且通常可包含偶数以便使由于未成对的半胱氨酸引起的相互作用最小化。

[0207] 本文公开的重链和轻链,可变区结构域和CDR可用于制备包含可特异性结合 α -syn的抗原结合区的多肽。例如,表1a至表1f中公开的CDR中的一个或多个可以与如多肽的分子非共价或共价结合,因此它们可以用作免疫原性粘附分子。该免疫原性粘附分子可以是CDR整合在大聚合物中,或CDR与另一多肽连接。该免疫原性粘附分子允许特异性结合靶向与其连接的多肽或其他物质(例如 α -syn或表位)的抗原。

[0208] 还提供了基于本文公开的可变区和CDR的肽模拟物。该模拟物可以是肽、非肽或肽和非肽的组合,并且可以参考以下内容:F Fauchere,1986,Adv. Drug Res. 15:29; Veber和Freidinger,1985,TINS p. 392;以及Evans等人,1987,J. Med. Chem. 30:1229。结构上与一种有用的多肽类似的肽模拟物具有与原始多肽类似的效果。该化合物可以通过使用计算机化的分子模型来开发。通常,肽模拟物在结构上类似于显示与本文的 α -syn特异性结合的能力的抗体,但肽键中的一个或多个可以通过本领域广为人知的方法被选自 $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{S}-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}-\text{CH}-$ (顺式和反式)、 $-\text{COCH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 和 $\text{CH}_2\text{SO}-$ 键取代。为了产生更稳定的蛋白质,保守序列的一个或多个残基可以被取代为相同类型的D-氨基酸(例如,D-赖氨酸取代L-赖氨酸)。另外,可以使肽环化的分子可以在内部引入形成半胱氨酸残基的交联,从而

产生结构上对保守序列施加限制的肽 (Rizo和Gierasch,1992,Ann.Rev.Biochem.61:387)。

[0209] 本发明还提供了本文公开的抗体的衍生物。衍生化抗体可包含提供靶向性质(例如在抗体或其片段的某些用途中增加的半衰期)的任何分子或物质。衍生化抗体可包含可检测(或标记)的残基(例如:与放射性、比色性、抗原性或酶分子、可检测的珠子(例如磁性或电子致密的(例如金)珠子)或其他分子(例如生物素或链霉抗生物素蛋白)结合的分子)、治疗或诊断残基(例如:放射性、细胞毒性或药物活性残基),或增加抗体对特殊用途(例如,施用于受试者(例如人受试者)或其他体内或体外用途)的适应性的分子。对于用于衍生抗体的分子的实例,包括白蛋白(例如人血清白蛋白)和聚乙二醇(PEG)。可以通过使用本领域广泛已知的技术来制备抗体的白蛋白连接和聚乙二醇化衍生物。在一种实施方式中,包括聚乙二醇化单链多肽。在另一种实施方式中,抗体可以与转甲状腺素蛋白(TTR)或TTR变体缀合或连接。TTR或TTR变体可以通过选自自由以下组成的组中的化学物质进行化学改性:例如,葡聚糖、聚(N-乙烯基吡咯烷酮)、聚乙二醇、丙二醇同聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化多元醇和聚乙烯醇。

[0210] 其他衍生物包括 α -syn结合蛋白与其他蛋白质或多肽的共价或凝聚缀合物,其可以例如通过表达包含在 α -syn蛋白的N端或C端融合的异源多肽的重组融合蛋白来制备。例如,缀合的肽可以是异源信号(或读者)多肽(例如酵母 α -因子读者)、或肽(例如表位标签)。含有 α -syn抗体的融合蛋白可以包含添加的肽,以便容易地纯化或鉴定 α -syn结合蛋白(例如:poly-His)。如Hopp等人,1988,Bio/Technology 6:1204;和美国专利第5,011,912号所述, α -syn结合蛋白也可以与FLAG肽连接。FLAG肽具有优异的抗原性,因此充当待被特异性单克隆抗体(mAb)可逆结合的表位,从而允许快速确认并容易地纯化重组蛋白。

[0211] 在一种实施方式中,涉及包含多个 α -syn结合多肽的寡聚体,所述多个 α -syn结合多肽待通过与 α -syn结合蛋白融合的肽残基之间的共价或非共价相互作用结合。待结合的肽可以是肽,例如肽接头(间隔区)或具有促进寡聚化的性质的亮氨酸拉链。在一种实施方式中,寡聚体包含2或4个 α -syn结合蛋白。低聚物的 α -syn结合蛋白残基可以是上述任何形式,例如变体或片段。优选地,寡聚体包含具有 α -syn结合活性的 α -syn结合蛋白。

[0212] 在一种实施方式中,通过使用来源于免疫球蛋白的多肽制备寡聚体。包含与抗体衍生的多肽的各种位点(包括Fc结构域)融合的异源多肽的融合蛋白的制备可以参考例如Ashkenazi等人,1991,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:10535;Byrn等人,1990,Nature 344:677;和Hollenbaugh等人,1992“免疫球蛋白融合蛋白的构建”,免疫学常用方案,Suppl.4,第10.19.1-10.19.11页。

[0213] 其他实施方式涉及包含2种融合蛋白的二聚体,其中 α -syn结合蛋白与抗体的Fc区融合。二聚体可以通过将编码融合蛋白的基因融合体插入合适的表达载体中,在通过重组表达载体转化的宿主细胞中表达基因融合体,并使表达的融合蛋白与抗体分子类似地组合来制备,并且就此而言,在Fc残基之间形成链之间的二硫键以收集二聚体。

[0214] 本文使用的术语“Fc多肽”是来源于抗体Fc区的多肽,并且包括野生型或突变型。还包括包含促进二聚化的铰链区的切割形式的多肽。包含Fc或由其形成的寡聚物的融合蛋白具有容易使用蛋白A或蛋白G柱用亲和层析分离的优点。

[0215] 对于合适的Fc多肽的实例,有美国专利第5,426,048号和第5,262,522号、第5,457,035号和Baum等人,1994,EMBO J.13:3992-4001描述的那些。在该突变蛋白的氨基酸序

列中,野生型氨基酸的第19个残基从Leu取代为Ala,氨基酸的第20个残基从Leu取代为Glu,氨基酸的第22个残基从Gly取代为Ala。在突变蛋白中,对Fc受体的亲和力降低。

[0216] 在其他实施方式中,本文公开的 α -syn结合蛋白的重链和/或轻链的可变区可以被取代并进入另一抗体的重链和/或轻链的可变区。

[0217] 标签和效应子基团

[0218] 在一些实施方式中,根据本发明的抗体或抗原结合片段可包含一种或多种标记。“标记”是指任何可检测的物质。合适的标记基团例如,包括但不限于放射性同位素或放射性核素(例如: ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I)、荧光基团(例如FITC、罗丹明、镧系荧光物质),酶基团(例如辣根过氧化物酶、 β -半乳糖苷酶,荧光素酶,碱性磷酸酶),化学发光基团、生物素基团或由第二报告分子识别的某些多肽表位(例如,亮氨酸拉链对序列、二抗结合位点、金属结合结构域、表位标签)。在一些实施方式中,标记基团通过各种长度的空间臂与抗体偶联以减少潜在的空间位阻。标记蛋白质的各种方法是本领域已知的,并且本领域技术人员将针对特定目的选择合适的标记和适当的方法。

[0219] 术语“效应子基团”是与抗体或物质偶联或缀合以起细胞毒性剂作用的物质。用于治疗的适当材料的实例包括用于治疗的放射性物质,例如放射性同位素或放射性核素(例如: ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I)。在一些实施方式中,效应子基团通过各种长度的间隔臂与抗体偶联以减少潜在的空间位阻。

[0220] 通常,标签可根据检测方法分类:a)放射性或同位素标记;b)磁性标记(例如磁性颗粒);c)氧化还原活性残基;d)光学染料;酶基团(例如辣根过氧化物酶、 β -半乳糖苷酶、荧光素酶、碱性磷酸酶);e)生物素基团;f)由第二报告分子识别的某些多肽表位(例如:亮氨酸拉链对序列,二抗结合位点,金属结合结构域,表位标签等)。在一些实施方式中,标记基团通过各种长度的间隔臂与抗体偶联以减少潜在的空间位阻。用于标记蛋白质的各种方法是本领域已知的。

[0221] 在一种实施方式中,标记物包含光学染料,所述光学染料包含发色团、磷光体和荧光物质,但不限于此。荧光物质可以是小分子荧光物质或蛋白质荧光物质。

[0222] “荧光标记”是指通过物质所具有的荧光特性来检测的任何分子。荧光标记例如,包括但不限于荧光素、罗丹明,四甲基罗丹明,曙红,赤藓红,香豆素,甲基香豆素,芘,孔雀石绿,二苯乙烯,荧光黄,级联蓝J,德克萨斯红,IAEDANS,EDANS,BODIPY FL,LC红640,Cy 5,Cy 5.5,LC红705,俄勒冈绿,alexa-fluor染料(alexa-fluor 350,alexa-fluor 430,alexa-fluor 488,alexa-fluor 546,alexa-fluor 568,alexa-fluor 594,alexa-fluor 633,alexa-fluor 647,alexa-fluor 660,alexa-fluor 680),级联蓝(cascade blue),级联黄(cascade yellow)和R-藻红蛋白(PE),FITC,Cy5,Cy5.5和Cy7等。各种光学染料可以参考分子探针手册(Molecular Probes Handbook),Richard P.Haugland。

[0223] 蛋白质荧光标记物质包括:绿色荧光蛋白,其包括海肾(Renilla),海笔(Ptilosarcus)或多管水母(Aequorea)物种的GFP(Chalfie等人,1994,Science 263:802-805),EGFP(Clontech Labs公司,Genbank登录号U55762)、蓝色荧光蛋白(BFP,加拿大魁北克Quantum Biotechnologies公司;Stauber,1998Biotechniques 24:462-471;Heim等人,1996,Curr.Biol.6:178-182),增强黄色荧光蛋白(EYFP,Clontech Labs公司),荧光素酶(Ichiki等人,1993,J.Immunol.150:5408-5417), β 半乳糖苷酶(Nolan等人,1988,

Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.85:2603-2607),但不限于此。

[0224] 核酸

[0225] 在一个方面,本发明涉及在特定杂交条件下与本文公开的核酸杂交的核酸。核酸的杂交方法在本领域中是众所周知的。例如,可参考分子生物学通用方法,John Wiley& Sons, NY (1989), 6.3.1-6.3.6。本文中,严格杂交条件使用包含5×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)、0.5%SDS、1.0mM EDTA (pH8.0)的预洗涤溶液;约50%甲酰胺、6×SSC的杂交缓冲液,杂交温度为55℃(或其他类似的杂交溶液,例如包含约50%甲酰胺的溶液,杂交温度为42℃),洗涤条件为在0.5x SSC,0.1%SDS中60℃。严格杂交条件是在45℃下用6×SSC杂交,然后在68℃下用0.1×SSC杂交,在0.2%SDS中洗涤一次或多次。此外,本领域技术人员将选择所需的适当杂交条件,使得包含至少65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%相同核苷酸序列的核酸序列之间通常保持彼此杂交的状态。

[0226] 影响杂交条件和适当条件选择的基本参数可以参考例如Sambrook,Fritsch和Maniatis,(2001,分子克隆:实验手册,冷泉港实验室出版社,纽约冷泉港,如上;以及分子生物学通用方案,1995,Ausubel等编,John Wiley&Sons公司,第2.10和6.3-6.4节中。这些条件可以由本领域技术人员基于例如核酸的长度和/或碱基组成(A、G、C和T(U)的构型)等容易地确定。

[0227] 本文公开的核酸还包括突变体。核酸编码的多肽(抗体或抗体衍生物)的氨基酸序列的变化可以通过核酸中的突变来诱导。可以通过使用本领域已知的任何技术引入突变体。例如,可以使用定点诱变方法、随机诱变方法。针对具有靶向性质的多肽分选如此制备的核酸突变体。

[0228] 在不显著改变由核酸编码的多肽的生物活性的情况下,可以将突变体引入核酸中。例如,可以进行核苷酸取代,所述核苷酸取代在非必需氨基酸残基中引起氨基酸取代。可供选择地,可以将一种或多种选择性改变由核酸编码的多肽的生物活性的突变体引入核酸中。例如,突变体可以定量或定性地改变生物活性。定量变化的实例包括活性的增加、减少或消除。定性变化的实例包括对抗体的抗原的特异性改变。在一种实施方式中,可以通过使用本领域广泛已知的分子生物学技术突变编码本文公开的任何抗体或其片段的核酸,从而修饰氨基酸序列。

[0229] 另一方面,本发明还涉及适合用作检测本文公开的核酸序列的引物或杂交探针的核酸分子。该核酸可以包含待用作探针或引物的全长核酸序列的一部分,例如,编码全长多肽的核酸片段、或编码多肽的活性部分(α -syn结合部分)的片段核酸。

[0230] 基于核酸序列制备的引物和探针可用于检测编码本文公开的核酸或类似核酸或多肽的转录组。在一种实施方式中,该探针可用于鉴定表达根据本发明的多肽的细胞。引物或探针可以用标记物质(例如放射性同位素、荧光化合物、酶或酶辅因子)来标记。

[0231] 另一方面,此外,本发明提供了载体,其包含编码根据本发明的多肽或其部分的核酸(例如,包含一个或多个CDR或一个或多个可变区结构域的片段)。载体的实例包括质粒、病毒载体、非附加体哺乳动物载体和(重组)表达载体等,但不限于此。重组表达载体可包含用于在宿主细胞中表达核酸的合适形式的核酸。重组表达载体包含基于待用于表达的宿主细胞的一种或多种调节序列,并且这些调节序列与待表达的核酸序列可操作地连接。在调节序列中,例如,包括:SV40初始基因增强子;启动子,例如Rous肉瘤病毒启动子和巨细胞病

毒启动子,所述启动子可以控制各种宿主细胞中核苷酸序列的表达;或者,仅在特定宿主细胞中控制核苷酸序列的表达的组织特异性调节序列,例如组织特异性调节序列(Voss等人,1986,Trends Biochem.Sci.11:287,Maniatis等人,1987,Science 236:1237),以及通过响应于特殊处理或条件而指示诱导表达核苷酸序列,例如在哺乳动物细胞中起作用的金属硫蛋白启动子,以及在原核生物和真核生物系统中起作用的tet反应性和/或链霉素反应性启动子。考虑到诸如待转化的宿主细胞的种类、靶蛋白的表达程度等因素,本领域技术人员将选择合适的载体和调节序列。选择的表达载体可以在宿主细胞中递送,并且可以用于产生由本文公开的核酸编码的蛋白质。

[0232] 另一方面,本发明提供了引入重组表达载体的宿主细胞。宿主细胞可以是任何原核生物(例如大肠杆菌)或真核生物(例如,酵母、昆虫或哺乳动物细胞)。可以通过已知的转化或转染技术将载体DNA引入原核或真核细胞中。已知在哺乳动物细胞中稳定转染的情况下,取决于所用表达载体的种类和转化技术,只有少数细胞可以在其基因组中整合通过转染而递送的DNA。因此,为了鉴定和选择转染的细胞,通常将编码选择标记(例如抗生素抗性标记)的基因与靶向基因一起引入宿主细胞。对于优选的选择标记,包括药物,例如,提供对例如G418、潮霉素和甲氨蝶呤的抗性的那些药物。通过仅通过药物处理选择存活细胞,可以实现对稳定引入靶核酸的细胞的分选。

[0233] 抗体的制备

[0234] 本文中,非人抗体可以来源于例如任何产生抗体的动物,例如小鼠、大鼠、兔、山羊、驴或非人灵长类动物(例如,猴子,例如食蟹猴或恒河猴)或类人猿(例如,黑猩猩)。可通过使用本领域已知的方法免疫动物来产生非人抗体。抗体可以是多克隆的、单克隆的、或者可以通过表达重组DNA在宿主细胞中合成。通过将抗原施用于包含人免疫球蛋白基因座的转化动物,或用抗原处理表达人抗体库的噬菌体展示文库,然后选择目的抗体,可以制备完整的人抗体。

[0235] 单克隆抗体(mAb)可以通过各种技术产生,所述技术包括常规的单克隆抗体方法,例如文献的标准体细胞杂交技术(参见:Kohler和Milstein,1975,Nature)。256:495)。可供选择地,例如,可以使用将B淋巴细胞转化为病毒或肿瘤基因并使用的方法。鼠系统是广泛使用的用于产生杂交瘤细胞的动物系统。免疫方案和用于融合的免疫小鼠的脾细胞的分离技术在本领域中是众所周知的。在该方法中,来自免疫小鼠的B细胞与例如永生生化融合配偶体细胞(例如鼠骨髓瘤细胞系)融合。如果必要,可以免疫大鼠或其他哺乳动物而不免疫小鼠,并且可以将源自这些动物的B细胞与鼠骨髓瘤细胞系融合,以产生杂交瘤。可供选择地,作为用于融合的骨髓瘤细胞系,可以使用来源于除小鼠以外的动物的细胞系。

[0236] 本文公开的单一抗体可以通过使用氨基酸交联(短肽接头)连接重链和轻链可变结构域(Fv区)片段来产生。该单链Fv(scFv)可以通过在编码2个可变结构域多肽(V_L和V_H)的DNA之间融合编码肽接头的DNA来制备。制备的多肽可以通过折叠形成抗原结合二聚体,或者可以根据2个可变结构域之间的柔性接头的长度形成聚合物(例如,二聚体、三聚体或四聚体)(Kortt等人,1997,Prot.Eng.10:423;Kortt等人,2001,Biomol.Eng.18:95-108)。通过组合包含不同的V_L和V_H的多肽,可以形成与不同表位结合的聚合scFv((Kriangkum等人,2001,Biomol.Eng.18:31-40)。进一步地,用于产生另外的单链抗体的技术可以参考例如以下:美国专利第4,946,778号;Bird,1988,Science 242:423;Huston等人,1988,

Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.85:5879;Ward等人,1989,Nature 334:544,de Graaf等人,2002,Methods Mol Biol.178:379-387。本文公开的单链抗体包括scFv,scFv包含表1a至1f中所述的重链和轻链可变区的结构域的组合,或包含表1a至表1中所述的CDR的轻链和重链可变结构域的组合,但不限于此。

[0237] 本文公开的抗体还可以通过亚型转换修饰为不同亚型的抗体。因此,IgG抗体可以来源于例如IgM抗体,反之亦然。通过该技术,制备具有与亲本抗体相同的抗原结合特性但对改变的亚型具有与亲本抗体不同的特征生物学特性的新抗体。对于这种转换,可以使用重组DNA技术。例如,可以使用编码靶同种型抗体的恒定结构域的DNA来制备该抗体。例如,可以参考Lantto等人,2002,Methods Mol.Biol.178:303-316。此外,在转换IgG4的情况下,为了降低在重链中形成可能导致IgG4抗体的异质性的二硫键的倾向,可优选在铰链区引入点突变(CPSCP->CPPCP),如文献Bloom等人,1997,Protein Science 6:407中所述。

[0238] 因此,本文公开的抗体包含可变结构域组合抗体,该可变结构域组合抗体例如用本文公开的靶同种型(例如,IgA、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgE和IgD)转换。

[0239] 另外,还已知制备具有不同性质的抗体的技术,比如对抗原具有各种亲和力的抗体。该技术例如是通过在丝状噬菌体表面上展示免疫球蛋白可变结构域基因库(被称为噬菌体展示)来进行的链改组。另一种技术可参考Marks等人,1992,BioTechnology 10:779中的公开内容。

[0240] 为了产生具有靶向优选的功能和生物化学性质的 α -syn结合蛋白,可以对表1a和表1b中描述的重链和轻链可变区或者表1b中描述的CDR进行保守修饰(和对应于编码核酸的修饰)。进行该修饰的方法如前所述。

[0241] 可以以各种方法进一步修饰 α -syn抗体。例如,当用于治疗目的时,为了增加血清半衰期或改善蛋白质递送,它可以与聚乙二醇缀合,即聚乙二醇化。可供选择地,可以将本发明的抗体或其片段的可变区与不同抗体分子的Fc区融合。用于此目的的Fc区不与补体结合,因此当融合蛋白用作治疗剂时,其在减少患者细胞裂解发生的方向上被修饰。另外,本发明的抗体或其功能片段可以与人血清白蛋白缀合,以改善抗体或其抗原结合片段的血清半衰期。抗体或其抗原结合片段的另一种有用的融合配偶体是转甲状腺素蛋白(TTR)。TTR具有形成四聚体的能力,因此抗体-TTR融合蛋白可以形成蛋白质的结合亲和力增加的多价抗体。

[0242] 可供选择地,可以通过重链和轻链的氨基酸序列中的取代来实现对本文公开的抗体的功能和/或生物化学性质的实质性修饰,它显著影响例如(a)取代位点中的分子骨架结构,如片状或螺旋状,(b)分子在靶位点的电荷或疏水性,或(c)侧链的松散性。

[0243] 本文公开的抗体的氨基酸取代(保守的或非保守的)可以由本领域技术人员通过应用常规技术进行。氨基酸取代可用于鉴定本文公开的抗体的重要残基,或增加或降低抗体对人 α -syn的亲和力,或改变本文公开的另一种抗体的结合亲和力。

[0244] 表达抗体的方法

[0245] 本发明还涉及包含至少一种如上所述的多核苷酸的质粒、表达载体、转录或表达盒形式的表达系统和构建体,包含该表达系统或构建体的宿主细胞,以及使用表达系统或宿主细胞制备抗体的方法。

[0246] 可以通过使用上述技术制备本文公开的抗体。例如, α -Syn抗体可以使用重组表达

系统,根据本领域已知的技术,参考单克隆抗体,杂交瘤:生物学分析的新次元(Monoclonal Antibodies,Hybridomas:A New Dimension in Biological Analyses),Kennet等人(编)纽约Plenum出版社(1980);和抗体:实验手册,Harlow和Lane(编),冷泉港实验室出版社,纽约冷泉港(1988)来制备。

[0247] 抗体可以在除杂交瘤之外的杂交瘤细胞系或表达细胞系中表达。可以使用编码抗体的表达构建体来转化哺乳动物、昆虫或微生物宿主细胞。如上所述,可以通过使用各种任何已知的将多核苷酸导入宿主细胞的方法来执行诸如质粒的构建体。根据宿主细胞的种类,详细方法可能不同。在哺乳动物细胞中引入异源多核苷酸的方法在本领域中是众所周知的,例如,它可以通过例如葡聚糖介导的转染、磷酸钙沉淀、聚凝胺介导的转染、原生质体融合、电穿孔、使用脂质体递送的多核苷酸的包封、混合核酸和带正电荷的脂质,以及将DNA直接显微注射到核内来进行,但不限于此。

[0248] 重组表达结构通常包含编码多肽的核酸分子,所述多肽包含以下中的一种或多种:本文公开的一种或多种CDR;轻链恒定区;轻链可变区;重链可变区;重链恒定区(例如,CH1、CH2和/或CH3);和/或 α -syn抗体的其他支架部分。通过使用标准连接技术将核酸序列插入合适的表达载体中。在一种实施方式中,重链或轻链恒定区与抗 α -syn特异性重链或轻链可变区的C端连接,并连接到表达载体中。选择载体以便在使用载体的特定宿主细胞中起作用。换句话说,载体应使用待使用的宿主细胞的机构扩增和/或表达载体中包含的基因。在一种实施方式中,使用以蛋白质-片段互补分析的载体,所述蛋白质-片段互补分析使用蛋白质报告分子(例如美国专利第6,270,964号中公开的二氢叶酸还原酶)。适当的表达载体可以商业购买,例如,从Life Technologies或BD Biosciences等公司购买。用于克隆和表达抗体和片段的其他载体的实例可以参考Bianchi和McGrew,2003,Biotech.Biotechnol.Bioeng.84:439-44;酶学方法(Methods Enzymol.),第185卷(D.V.Goeddel编),1990,纽约学术出版社,公开的那些。

[0249] 通常,用于任何宿主细胞的表达载体可包含质粒维持和克隆以及表达外源核苷酸序列所需的基本序列。在具体实施方式中,这种基本序列通常包含下列核苷酸序列的一种或多种:启动子、一个或多个增强子序列、复制起点、转录终止序列、包含供体和受体剪接位点的完整内含子序列、编码用于多肽分泌的读者序列的序列、核糖体结合位点、多腺苷酸化序列、用于插入编码待表达多肽的核酸的多接头区、和选择标记序列。

[0250] 选择性地,载体可以包含“标签”-编码序列,换句话说,位于 α -syn结合蛋白编码序列的5'或3'端的寡核苷酸分子;所述寡核苷酸序列可编码多聚His(例如:六聚His)或存在于可商购获得的抗体的其它“标签”,例如,FLAG[®]、HA(血凝素流感病毒)、Fc或myc。通常,这些标签可以与多肽融合并表达,并且在从宿主细胞分离 α -syn结合蛋白期间用作亲和纯化或检测的工具。可以例如通过使用用于标签的抗体作为亲和基质的柱色谱法来实现亲和纯化。选择性地,这些标签可以通过包括使用特定的肽酶的各种方法从纯化的 α -syn结合蛋白中去除。

[0251] 上述基本序列可以是同质的、异质的、或杂合的、合成的或固有的。在这方面,基本序列来自任何原核生物或真核生物、任何脊椎动物或无脊椎动物,或任何植物,只要它可以被激活并在宿主细胞机构中起作用。

[0252] 包含在载体中的有用的基本序列可以通过本领域广泛已知的各种方法收集。通

常,本文使用的基本序列通过作图和/或限制性酶切预先确认,因此,可以使用适当的限制酶将其与适当的组织供应源分离。在一些情况下,基本序列的总核苷酸序列可以是已知的,并且可以通过使用本文公开的核酸合成或克隆方法合成基本序列。

[0253] 无论基本序列的总序列或部分序列是否已知,可以通过使用聚合酶链式反应(PCR)和/或用合适的探针(例如来自相同或不同物种的寡核苷酸和/或基本序列片段)筛选基因组文库来收集基本序列。如果基本序列未知,则可以将包含基本序列的DNA片段与例如编码序列或甚至可包含其他基因的较大DNA片段分开。可以通过使用限制酶处理、琼脂糖凝胶纯化和柱层析或本领域技术人员已知的其他方法来分离靶向片段。显然,本领域技术人员可以选择合适的酶来达到这样的目的。

[0254] 复制起点是宿主细胞中载体扩增所必需的,并且通常,它包含在商业上可获得的原核表达载体中。如果选择的载体不包含复制起点,则可以基于已知序列化学合成,并连接到载体中。例如,质粒pBR322(美国马萨诸塞州比弗利New England Biolabs公司)的复制起点适用于大多数革兰氏阴性细菌,各种病毒来源(例如,SV40、多瘤病毒、腺病毒、水疱性口炎病毒(VSV)或乳头瘤病毒如HPV或BPV)可用于在哺乳动物细胞中克隆载体。通常,哺乳动物表达载体不需要复制起点(例如,也使用SV40起点,因为它包含病毒初始启动子)。

[0255] 通常,转录终止序列位于多肽编码区的3'端并起到终止转录的作用。通常,原核生物中的转录终止序列是后面跟随有聚-T序列的富含GC的片段。这样的序列可以容易地从文库克隆,或商业购买,或通过使用本文公开的核酸合成方法收集。

[0256] 选择标记基因编码在宿主细胞的可选择培养基中存活和生长所需的蛋白质。典型的选择标记基因编码蛋白质,所述蛋白质(a)提供对抗生素或其他毒素的抗性,例如,在原核宿主细胞的情况下,提供氨苄青霉素、四环素或卡那霉素;(b)补充细胞的营养缺陷;或(c)提供无法从复杂介质或特定介质中获得的重要营养素。在一种实施方式中,选择标记是卡那霉素抗性基因、氨苄青霉素抗性基因和四环素抗性基因。新霉素抗性基因也可用于原核和真核宿主细胞的选择。

[0257] 可使用其他可选择基因来扩增待表达的基因。扩增是在后续代的重组细胞的染色体中连续复制产生对细胞生长或存活重要的蛋白质所需的基因的过程。作为适用于哺乳动物细胞的选择标记的实例包括二氢叶酸还原酶(DHFR)和不合启动子的胸苷激酶基因。对于哺乳动物细胞转化体,应用选择压力,该选择压力仅允许转化体通过载体中存在的可选择基因存活。选择压力可以通过逐渐增加培养基中包含的选择剂的浓度来施加,并在该条件下培养细胞以扩增编码与 α -syn结合的抗体的所有基因。从而,可以增加通过扩增的DNA表达的多肽(例如抗体)的量。

[0258] 核糖体结合位点通常是mRNA翻译起始所需要的,并且由Shine-Dalgarno序列(原核生物)或Kozak序列(真核生物)表征。这通常位于启动子的3'和待表达多肽的编码序列的5'。

[0259] 当在真核宿主细胞表达系统中需要糖基化时,为了改善糖基化或产量,可以制造各种前(pre-/pro-)序列。例如,可以修饰特定信号肽的肽酶切割位点,或者可以添加可以影响糖基化的前序列。最终的蛋白质产物在没有完全去除这些氨基酸的同时,可以在-1位置(成熟蛋白质的第一个氨基酸)具有一个或多个另外的氨基酸。例如,最终的蛋白质产物可以具有在肽切割位点中发现的添加到氨基末端的1或2个氨基酸残基。可供选择地,如果

使用蛋白质切割酶,在切割位点包含在靶蛋白质的情况下,可以产生切割形式的蛋白质。

[0260] 表达和克隆通常可包括使用与编码被宿主生物体识别的 α -syn结合蛋白的分子可操作地连接的启动子。启动子是调节结构基因转录的结构基因的起始密码子的上游(通常,在约100至1000bp内),即位于5'的非转录序列。启动子被分类为诱导型启动子和恒定启动子。诱导型启动子响应于培养条件的变化(例如培养基的特定成分的存在或不存在)或温度变化,并启动或控制与其连接的DNA的转录。另一方面,恒定启动子不控制与其可操作连接的基因的转录,并且恒定表达。各种宿主细胞识别的许多启动子是众所周知的。通过在使用限制酶从模板DNA中移出启动子后,将该启动子插入载体中,将适当的启动子与编码包含 α -syn结合蛋白的重链或轻链的DNA连接。

[0261] 适合与酵母宿主一起使用的启动子也是本领域众所周知的。除了酵母启动子之外,还可以使用酵母增强子。适用于哺乳动物宿主细胞的启动子包括从病毒(例如多瘤病毒、咽病毒、腺病毒(例如腺病毒2)、牛乳头瘤病毒、禽肉瘤病毒、巨细胞病毒、逆转录病毒、乙型肝炎病毒和类人猿病毒40(SV40),但不限于此)的基因组中收集的启动子。其他合适的哺乳动物启动子的实例包括异源哺乳动物启动子,例如热激启动子和肌动蛋白启动子。

[0262] 对于另外的启动子,包括SV40初始启动子(Benoist和Chambon,1981,Nature 290:304-310);CMV启动子(Thornsen等人,1984,Proc.Natl.Acad.U.S.A.81:659-663);包含在劳氏肉瘤病毒的3'长端重复序列中的启动子(Yamamoto等人,1980,Cell 22:787-797);疱疹胸苷激酶启动子(Wagner等人,1981,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.78:1444-1445);金属硫蛋白基因的启动子和调节序列(Printer等人,1982,Nature 296:39-42);和原核启动子,例如 β -内酰胺酶启动子(Villa-Kamaroff等人,1978,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.75:3727-3731);或tac启动子(DeBoer等人,1983,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.80:21-25),但不限于此。另外,可以使用如下的动物转录调节区,所述动物转录调节区用于显示组织特异性的转化动物:弹性蛋白酶I基因调节区,其在胰腺腺泡细胞中有活性(Swift等人,1984,Cell 38:639-646;Ornitz等人,1986,冷泉港Symp.Quant.Biol.50:399-409;MacDonald,1987,肝脏学7:425-515);在胰腺 β 细胞中有活性的胰岛素基因调控区(Hanahan,1985,Nature 315:115-122);在淋巴样细胞中有活性的免疫球蛋白基因调节区(Grosschedl等人,1984,Cell 38:647-658;Adames等人,1985,Nature 318:533-538;Alexander等人,1987,Mol.Cell.Biol.7:1436-1444);在睾丸、乳腺、淋巴和肥大细胞中具有活性的小鼠乳腺肿瘤病毒调节区(Leder等人,1986,Cell 45:485-495);在肝脏中有活性的白蛋白基因调节区(inkert等人,1987,Genes and Devel.1:268-276);在肝脏中有活性的 α -胎蛋白基因调节区(Krumlauf等人,1985,Mol.Cell.Biol.5:1639-1648;Hammer等人,1987,Science 253:53-58);在肝脏中有活性的 α 1-抗胰蛋白酶基因调节区(Kelsey等人,1987,Genes and Devel.1:161-171);在骨髓细胞中有活性的 β -珠蛋白基因调节区(Mogram等人,1985,Nature 315:338-340;Kollias等人,1986,Cell 46:89-94);在脑中少突胶质细胞中有活性的髓鞘碱性蛋白基因调节区(Readhead等人,1987,Cell 48:703-712);在骨骼肌中具有活性的肌球蛋白轻链-2基因调节区(Sani,1985,Nature 314:283-286);和在下丘脑中具有活性的促性腺激素释放激素基因调节区(Mason等人,1986,Science 234:1372-1378)。

[0263] 可以将增强子序列插入载体中以增加编码包含高等真核生物中的人 α -syn结合蛋白的轻链或重链的DNA的转录。增强是通常长约为10至300bp的DNA的顺式作用因子,其作用

于启动子并增加转录。在转录单元的5'和3'位置观察到增强子,并且相对地,不受位置和方向的影响。各种增强子序列在哺乳动物基因(例如,球蛋白、弹性蛋白酶、白蛋白、 α -胎蛋白和胰岛素)中是已知的。然而,通常使用源自病毒的增强子。本领域已知的用于激活启动子的示例性增强子包括SV40增强子、巨细胞病毒初始启动子增强子、多瘤增强子和腺病毒增强子。用于激活真核启动子的增强子可以排列在载体中编码序列的5'或3',但通常位于启动子的5'位点。编码适当的固有或异源信号序列(读者序列或信号肽)的序列可以整合到表达载体中以促进抗体的细胞外分泌。根据产生抗体的宿主细胞的种类确定信号肽或读者序列的选择,并且可以用异源信号序列替换固有信号序列。哺乳动物宿主细胞中功能性信号肽的实例包括美国专利第4,965,195号中描述的内白细胞介素-7(IL-7)的信号序列;文献Cosman等人,1984,Nature 312:768中描述的内白细胞介素-2受体的信号序列;EP专利第0367566号中描述的内白细胞介素-4受体的信号序列;美国专利第4,968,607号中描述的I型内白细胞介素-1受体信号肽;EP专利第0460846号中描述的II型内白细胞介素-1受体信号肽。

[0264] 在本文中,表达载体可以通过使用商业上可获得的载体制备。该表达载体可包含靶基本序列的全部或部分或完全不包含该靶基本序列。当本文所述的一种或多种基本序列预先不存在于载体中时,可以将它们单独收集并连接到载体中。收集包含在基本序列中的每个序列的方法是本领域技术人员公知的。

[0265] 在制备载体并将包含轻链、重链或 α -syn抗原结合序列的编码轻链和重链的核酸分子插入载体的适当位点后,可将该重组载体导入适当的宿主细胞中,用于扩增和/或表达多肽。将抗体表达载体导入选定的宿主细胞的方法可以通过转染、感染、磷酸钙共沉淀、电穿孔、显微注射、脂质转染、DEAE-葡聚糖介导的转染或其他众所周知的方法来实现。导入方法根据主要使用的宿主细胞的种类来确定。该方法是本领域技术人员公知的,例如,可以参考上述文献Sambrook等人,2001。

[0266] 随后,在适当条件下培养宿主细胞后,从培养基中收集抗体(在细胞将抗体分泌到培养基中的情况下),或者直接从产生它的宿主细胞中收集抗体(在抗体不分泌的情况下)。适当宿主细胞的选择可受各种因素的影响,例如,靶表达水平、其对于活性(例如,糖基化或磷酸化)是优选或必需的多肽修饰、以及折叠以产生生物活性分子的容易性等。

[0267] 可用于表达的哺乳动物细胞系在本领域中是众所周知的,例如,包括可从ATCC(美国典型培养物保藏中心)购买的永生化细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、HeLa细胞、幼仓鼠肾(BHK)细胞、猴肾细胞(COS)、人肝细胞癌细胞(例如Hep G2)和许多其他细胞系,但不限于此。在一种实施方式中,可以根据具有 α -syn结合特性的抗体以高表达水平表达来确定细胞系。在其他实施方式中,细胞系可以选自具有制备和分泌异源抗体的能力的B细胞系统,尽管它不能制备其自身的抗体。

[0268] α -syn在疾病中的作用

[0269] α -Syn是由140个氨基酸组成的蛋白质,主要在神经元的突触前位点表达。它在正常条件下作为在细胞质中天然未折叠形式的单体存在。 α -Syn的确切功能尚未阐明,并且似乎在成熟的突触前末梢维持突触小泡的供应中起重要作用,因为它仅在突触发育后检测到(Murphy DD等人,J Neurosci 2000,20:3214-3220)。 α -Syn可以调节调控非自主或自主运动的多巴胺的释放或可以影响记忆和认知功能(Kokhan VS等人,Behav Brain Res 2012,231:226230)。特别是,随着突触活动的增加和衰老, α -Syn的功能很重要,并且是神经变性

的重要因素。

[0270] 在病理状态中, α -syn通过与脂滴(lipid droplets)、磷脂双层或脂质膜结合和相互作用而经历结构变化,以形成折叠的 α -螺旋二级结构,从而导致形成包括二聚体、寡聚体和纤维形式的聚集体。

[0271] 特别是, α -syn聚集与一组称为 α -突触核蛋白病的神经退行性疾病的发病机制有关, α -突触核蛋白病包括帕金森病(PD)、帕金森病痴呆(PDD)、路易体痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA)和许多神经轴突疾病,并且在阿尔茨海默病中是次要的(Kim等人,阿尔茨海默研究与治疗2014,6:73)。

[0272] 此外,在患有帕金森病的患者的脑脊液和血清样品中发现了 α -突触核蛋白的寡聚体和单体形式,表明具有小分子量的 α -突触核蛋白聚集体渗透细胞膜以进入细胞外空间。还表明,错误折叠的 α -突触核蛋白可以通过胞吐作用从细胞中释放出来,然后如朊病毒蛋白那样通过细胞间转运从大脑的一个区域转移到另一个区域(Brundin P等人Nat Rev Mol Cell Biol 2010,11:301-307)。

[0273] α -突触核蛋白病是一组神经退行性疾病,其特征是在细胞内存在含有 α -Syn聚集体的实体或小体。这些小体在外观上取决于疾病而有所不同,在帕金森病(PD)和路易体痴呆(DLB)中被称为路易体,在多系统萎缩(MSA)中被称为神经节细胞质体,在神经轴突疾病中被称为轴突球状体。根据本发明的抗体优先且特异地识别 α -Syn聚集体,从而识别这些体。

[0274] 路易体病(LBD)或 α -突触核蛋白神经元疾病的特征在于多巴胺能系统的变性、运动损伤、认知障碍和路易体(LB)的形成(McKeith等人,神经病学1996,47:1113-24)。路易体是在神经细胞中发现的球形蛋白质沉积物。路易体通过干扰大脑中包括乙酰胆碱和多巴胺的化学信使的作用来阻断大脑的正常功能。路易体病包括帕金森病(包括特发性帕金森病(PD))、弥漫性路易体病(DLBD)(也称为路易体痴呆)、阿尔茨海默病合并帕金森病和多系统萎缩(MSA)。DLBD与阿尔茨海默病和帕金森病症状相同,但路易体的位置与帕金森病的位置不同。在DLBD中,白细胞主要存在于皮质中,而在帕金森病中主要存在于黑质中。

[0275] 其他路易体病包括纯自主神经衰竭、路易体紊乱(吞咽困难)、偶发性LBD、遗传性LBD(例如 α -syn基因突变体、PARK3和PARK4基因)和多系统萎缩(MSA,例如,橄榄核桥脑小脑萎缩(Olivopontocerebellar Atrophy)、纹状体黑质变性(Striatonigral Degeneration)和夏-德综合征(Shy-Drager Syndrome))。

[0276] 以高亲和力特异性识别 α -Syn聚集体的本发明的抗 α -Syn抗体可用于诊断或检测这些疾病。此外,特异性识别根据本发明的 α -Syn聚集体的 α -Syn抗体抑制 α -Syn聚集体的形成或降解聚集体,并抑制聚集体的细胞间转移,从而抑制 α -突触核蛋白病,特别是路易体疾病和帕金森病。

[0277] 使用人 α -syn抗体用于诊断和治疗目的

[0278] 本文公开的抗体可用于检测 α -Syn,特别是 α -Syn聚集体(例如路易体),以及鉴定生物样品中含有 α -Syn聚集体的细胞或组织。例如,抗 α -Syn抗体可用于诊断,例如检测和/或定量分析生物样品(例如含有血清的血液、脑脊液(CSF)或尿液)或组织或细胞内表达的 α -Syn聚集体,和/或基于此的 α -突触核蛋白病的诊断。

[0279] 特别地,根据本发明的特异性结合聚集体的抗体可用于治疗需要治疗、诊断和/或

检测与 α -Syn聚集体有关的疾病的受试者的 α -Syn聚集体相关的疾病。根据本发明的抗体或抗原结合片段可通过抑制 α -Syn聚集体的产生、促进 α -Syn聚集体的降解和抑制 α -Syn聚集体的细胞间转移而有效地用于治疗如上所述的与 α -Syn聚集体有关的疾病。

[0280] 诊断方法

[0281] 本文公开的抗体可有效地用于检测、诊断或监测 α -syn相关的疾病或症状。

[0282] 在一种实施方式中,本发明的方法是在需要诊断 α -突触核蛋白病的受试者中诊断 α -突触核蛋白病的方法,其中该方法包括使用根据本发明的抗体和抗原结合片段来测定受试者中 α -Syn聚集体的浓度或细胞间位置;并且将受试者中测量的 α -Syn聚集体的浓度或细胞间位置与对照样品的结果进行比较,并且与对照结果的相似性或差异表明受试者患有 α -突触核蛋白病。

[0283] 在该方法中,受试者包括没有症状或在出现症状之前的患者。在一种实施方式中,对照可以是患有包括PD、DLB或MSA的 α -突触核蛋白病的患者,其中在比较步骤中与对照组的相似性提供受试者是 α -突触核蛋白病患者的诊断。在另一种实施方式中,当对照是来自正常人的样品时,在比较步骤中与对照组的差异(例如聚集体浓度的增加)提供了受试者具有 α -突触核蛋白病的诊断。在另一种实施方式中,可以匹配受试者的年龄和对照。该方法可以在体内进行或者在从受试者分离的生物样品(例如血液、脑脊髓液(CSF)或尿液样品)中进行。

[0284] 该方法可以用体内成像进行。可以使用例如正电子发射断层扫描(PET)、单光子发射断层扫描(SPECT)、近红外(NIR)光学成像或磁共振成像(MRI)来执行体内成像。

[0285] 该方法可以在体外进行。该方法可以使用蛋白质印迹、免疫沉淀、ELISA、放射免疫测定(RIA)或本领域技术人员熟知的免疫组织化学方法进行,例如,Tijssen,1993,酶免疫测定的实验和理论(Practice and Theory of Enzyme Immunoassays),第15卷(Eds)RH Burdon和PH van Knippenberg,阿姆斯特丹Elsevier);Zola,1987,单克隆抗体:技术手册(Monoclonal Antibodies:A Manual of Techniques),第147-158页(CRC出版社公司);Jalkanen等人,1985,J.Cell.Biol.101:976-985;Jalkanen等人,1987,J.Cell Biol.105:3087-3096)。 α -syn的检测可以在体内或体外进行。另外,包括ELISA(酶联免疫吸附测定)和放射免疫测定(RIA)。

[0286] 对于检测或诊断用途,通常,抗体可以用可检测的标记物质标记。适当的标记物质包括放射性同位素或放射性核素(例如, ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I)、荧光物质(例如,FITC、罗丹明、镧系荧光物质)、酶(例如,辣根过氧化物酶、 β -半乳糖苷酶、荧光素酶、碱性磷酸酶)、化学发光基团、生物素基团、或由第二报告分子识别的多肽表位(例如,亮氨酸拉链对序列、第二抗体结合位点、金属结合结构域、表位标签),但不限于此。在一些实施方式中,标记物质可以通过各种长度的间隔臂与抗体偶联以减少潜在的空间位阻。用于标记蛋白质的各种方法是本领域已知的并且可以在本文中应用。

[0287] 在其它方面,本发明的抗体可用于鉴定包含 α -syn聚集体的组织。在具体实施方式中,抗体用标记物质标记,并检测 α -syn聚集体与标记抗体的结合。在一种实施方式中,在体内检测抗体与 α -syn聚集体的结合。

[0288] 在其它方面,本发明公开了测或分选与本文公开的抗体竞争结合 α -syn聚集体的测试物质。例如,在存在或不存在测试物质的情况下,包括检测包含 α -syn聚集体的溶液

中游离抗体的量的步骤。游离抗体浓度的增加,即未与 α -syn聚集体结合的抗体可以指示测试分子可以与抗体竞争 α -syn结合。在一种实施方式中,抗体用标记基团标记。可供选择地,标记测试物质并通过抗体的存在或不存在监测游离测试物质的量。

[0289] 除此之外,本文公开的抗体或抗原结合片段具有各种用途。例如,它可以用于特异性结合分析、基于亲和力的 α -syn纯化、或用于 α -syn拮抗剂研究的筛选方法等。

[0290] 治疗方法:药物制剂,施用途径

[0291] 根据本发明的抗体或抗原结合片段可用于通过抑制 α -Syn聚集体的产生,促进 α -Syn聚集体的降解和抑制 α -Syn聚集体的细胞间转运来治疗如上所述的与 α -Syn聚集体相关的疾病。

[0292] 因此,还提供了使用根据本发明的抗体和抗原结合片段的治疗方法。在一种实施方式中,将抗体提供给患者。以上描述了可以通过根据本发明的抗体和抗原结合片段有效治疗的疾病和患者。

[0293] 在一种实施方式中,根据本公开的抗体可以是与递送载体连接的形式以通过血脑屏障。公开了许多通过血脑屏障递送药物的方法。例如,存在通过使用诸如Brad奎宁或HIGU(高强度聚焦超声)的方法来分解BBB的渗透压的方法。它们还涉及使用细胞递送系统(例如葡萄糖和氨基酸转运和受体介导的胰岛素或转铁蛋白的转胞吞作用)或阻断糖蛋白的外排转运蛋白。受体介导的转胞吞作用系统中受体的实例描述如下:胰岛素受体(例如,人胰岛素受体),转铁蛋白受体,LRP(例如,LRP1、LRP6和LRP8)、黑皮质素受体、烟碱型乙酰胆碱受体、VACM-1受体、IGFR、EPCR、EGFR、TNFR、瘦素受体、M6PR、脂蛋白受体、NCAM、LIFR、LfR、MRP1、AChR、DTr、谷胱甘肽转运蛋白、SR-B1、MYOF、TFRC、ECE1、LDLR、PVR、CDC50A、SCARF1、MRC1、HLA-DRA、RAMP2、VLDLR、STAB1、TLR9、CXCL16、NTRK1、CD74、DPP4、内皮生长因子受体1、2和3、糖皮质激素受体、离子移变型谷氨酸受体、M3受体、芳香烃受体、GLUT-1、肌醇-1,4,5-三磷酸(IP3)受体、N-甲基-D-天冬氨酸受体、S1P1、P2Y受体、TMEM30A和RAGE。

[0294] 在又另一种实施方式中,根据本发明的抗体可以以与其他治疗剂的连接形式使用,以治疗与 α -Syn聚集体相关的疾病。

[0295] 还提供了药物组合物,所述药物组合物包含治疗有效剂量的抗体和药学上可接受的稀释剂、载体、增溶剂、乳化剂、防腐剂和/或补充剂。另外,例如,包括通过施用这种药物组合物来治疗癌症患者的方法。术语“患者”包括与 α -syn相关的人类患者。

[0296] 可接受的制剂物质在使用的容量和浓度下对接受者无毒。在具体实施方式中,提供了包含治疗有效剂量的人 α -syn抗体的药物组合物。

[0297] 在具体实施方式中,可接受的制剂物质优选在使用的容量和浓度下无毒。在一种实施方式中,例如,药物组合物可包含特定制剂物质,所述特定制剂物质用于组合物的pH、渗透压度(osmolality)、粘度、透明度、颜色、等渗性、气味、无菌性、稳定性、溶解或释放速率、改性、维持或保持吸收或渗透。在该实施方式中,合适的制剂物质包括氨基酸(例如:甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸);抗菌剂;抗氧化剂(例如:抗坏血酸,亚硫酸钠或亚硫酸氢钠);缓冲剂(例如:硼酸盐,碳酸氢盐,Tris-HCl,柠檬酸盐,磷酸盐或其他有机酸);蓬松剂(例如:甘露醇或甘氨酸);螯合剂(例如:乙二胺四乙酸(EDTA));络合剂(例如:咖啡因,聚乙烯吡咯烷酮, β -环糊精或羟丙基- β -环糊精);填充剂;单糖;二糖;和其他碳水化合物(例如:葡萄糖,甘露糖或糊精);蛋白质(例如:血清白蛋白,明胶或免疫球蛋白);着

色剂,调味剂和稀释剂;乳化剂;亲水性聚合物(例如:聚乙烯吡咯烷酮);低分子多肽;成盐平衡离子(例如:钠);防腐剂(例如:苯扎氯铵,苯甲酸,水杨酸,硫柳汞,苯乙醇,对羟基苯甲酸甲酯,对羟基苯甲酸丙酯,氯己啶,山梨酸或过氧化物);溶剂(例如:甘油,丙二醇或聚乙二醇);糖醇(例如:甘露醇或山梨糖醇);悬浮剂;表面活性剂或润湿剂(例如:普朗尼克类(Pluronic),PEG,脱水山梨糖醇酯,聚山梨醇酯,例如聚山梨醇酯20,聚山梨醇酯,聚乙二醇辛基苯基醚(triton),氨丁三醇,卵磷脂,胆固醇,泰洛沙泊);稳定性增强剂(例如:蔗糖或山梨糖醇);稳健性增强剂(例如:碱金属卤化物(优选氯化钠或氯化钾),甘露醇,山梨糖醇);递送溶媒;稀释剂;赋形剂和/或药物补充剂,但不限于此。例如,可以参考雷明顿药理学科学(REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES),第18版(AR Genrmo编)1990,Mack出版公司。

[0298] 在具体实施方式中,最佳药物组合物可以由本领域技术人员根据例如靶向施用途径、递送方法和靶向能力来确定(参见如上所述的雷明顿药理学科学)。在具体实施方式中,该组合物可以影响本文公开的抗体的物理条件、稳定性、体内释放速率和体内清除速率。在具体实施方式中,药物组合物中的主要溶媒或载体可以是水性或非水性的。例如,合适的溶媒或载体可以是注射用水,补充有在用于肠胃外施用的组合物中常用的其他材料的生理盐水溶液。此外,中性缓冲盐水溶液或与血清白蛋白混合的盐水溶液可用作溶媒。在具体实施方式中,药物组合物可包含约pH 7.0至8.5Tris缓冲液,或约pH 4.0至5.5乙酸盐缓冲液,并可进一步包含山梨糖醇或适当的替代物。在具体实施方式中,人 α -syn抗体组合物可以通过将具有目标纯度的选定组合物以冻干的块状物或水溶液的形式与任何配制剂(参见雷明顿药理学科学)混合用于储存来制备。进一步地,在具体实施方式中,可以使用合适的赋形剂(例如蔗糖)将人 α -syn抗体配制为冻干产物。

[0299] 药物组合物可以肠胃外递送。可供选择地,组合物可以吸入或通过消化道递送,例如口服。该药理学上可接受的组合物的制备在本领域的技术水平内。

[0300] 制剂所需的组分优选以施用部位可接受的浓度存在。在具体实施方式中,缓冲液用于将组合物维持在生理pH或略低的pH或通常在约5至约8的pH范围内。

[0301] 在肠胃外施用的情况下,治疗组合物包含在药理学上可接受的溶媒中的靶人 α -syn结合蛋白,并且其可以以不包含热原的肠胃外可接受的水溶液形式提供。特别适用于肠胃外注射的溶媒是无菌蒸馏水,在此,人 α -syn抗体用适当保守的无菌等渗溶液配制。在具体实施方式中,该制剂可以伴随使用提供可以通过长效注射剂来递送的组合物的受控释放或持续释放的药剂而配制,所述长效注射剂例如可注射的微球、可生物降解的颗粒、聚合化合物(例如:聚乳酸或聚乙醇酸)、珠子或脂质体。在具体实施方式中,还可以使用具有增加血液中持续时间的效果的透明质酸。在具体实施方式中,为了递送靶抗体,还可以使用可植入药物递送装置。

[0302] 此外,配制药物组合物用于吸入。在一些实施方式中,将人 α -syn抗体配制为干燥可吸入粉末。在具体实施方式中,人 α -syn抗体吸入溶液也可以配制成用于气溶胶递送的推进剂。在具体实施方式中,可以喷雾溶液。在PCT申请号PCT/US94/001875中进一步描述了该肺部施用和配制方法。一些制剂可以口服施用。以这种方式施用的人 α -syn抗体可以用固体剂型例如,通常用于纯化和制备胶囊的载体或不合这种载体配制。在具体实施方式中,胶囊可以设计成在胃肠道中的位置处释放制剂的活性部分,其中生物利用度最大化并且前全身

性降解最小化。为了促进人 α -syn抗体的吸收,可以包含另外的试剂。还可以使用稀释剂、调味剂、低熔点蜡、植物油、润滑剂、悬浮液、片剂崩解剂和粘合剂。

[0303] 一些药物组合物包含有效剂量的人 α -syn抗体,其与适于制备片剂的无毒赋形剂混合。通过将片剂溶解在无菌水或其他适当的溶媒中,可以将溶液制备成单位剂量形式。合适的赋形剂包括:惰性稀释剂,例如碳酸钙、碳酸钠、碳酸氢钠、乳糖或磷酸钙;或粘合剂,例如淀粉、明胶或阿拉伯胶;或润滑剂,例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石,但不限于此。

[0304] 包含含有其它人 α -syn抗体的制剂的另外的药物组合物对本领域技术人员是显而易见的,所述制剂包含持续或控制递送制剂。各种其他持续或控制递送方式,例如,用于配制脂质体载体、生物侵蚀颗粒或多孔珠和长效注射物质的技术也是本领域技术人员已知的。例如,可以参考PCT/US93/00829,其中描述了多孔聚合物颗粒的受控释放。持续释放剂可包括模制品,例如,半透性聚合物基质的薄膜或微胶囊形式。持续释放基质可包含聚酯、水凝胶、聚丙交酯(描述于美国专利第3,773,919号和EP 058481中)、L-谷氨酸和 γ -乙基-L-谷氨酸的共聚物(Sidman等人,1983,Biopolymers 2:547-556)、聚(2-羟乙基-甲基丙烯酸酯)(Langer等人,1981,J.Biomed.Mater.Res.15:167-277;和Langer,1982,Chem.Tech.12:98-105)、乙烯醋酸乙烯酯(Langer等人,1981,如上)或聚-D(-)-3-羟基丁酸(EP133,988)。持续释放组合物还可包含通过已知的各种方法之一制备的脂质体。例如,可参考Eppstein等人,1985,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.82:3688-3692;EP 036,676;EP 088,046和EP 143,949。

[0305] 用于体内施用的药物组合物通常可以作为无菌剂提供。可以通过无菌过滤膜过滤来实现无菌。当将组合物冻干时,应将其溶解在溶液中并冷冻干燥的过程无菌地进行。用于肠胃外施用的组合物可以以冻干形式或溶液储存。例如,肠胃外组合物通常包含在具有无菌入口的容器中,例如带有皮下注射针可以进入的盖子的小瓶或用于静脉内施用的溶液袋。

[0306] 在具体实施方式中,可以将表达本文所述重组抗体的细胞封装用于递送(Invest.Ophthalmol Vis Sci 43:3292-3298,2002;和Proc.Natl.Acad.Science 103:3896-3901,2006)。

[0307] 在具体的制剂中,抗体的浓度为例如,至少10mg/ml、20mg/ml、30mg/ml、40mg/ml、50mg/ml、60mg/ml、70mg/ml、80mg/ml、90mg/ml、100mg/ml或150mg/ml。一些制剂包含缓冲剂、蔗糖和聚山梨醇酯。制剂的一个实例是包含50至100mg/ml抗体、5至20mM乙酸钠、5至10%w/v蔗糖、和0.002至0.008%w/v的聚山梨酯。具体片剂包含例如65至75mg/ml抗体在9至11mM乙酸钠缓冲液中的溶液、8至10%w/v蔗糖、和0.005至0.006%w/v的聚山梨酯。该特定制剂的pH在4.5至6的范围内。其他制剂的pH为5.0至5.5(例如,pH为5.0、5.2或5.4)。

[0308] 一旦配制药物组合物,可将其作为溶液、悬浮液、凝胶、乳液、固体、晶体或脱水或冻干粉末储存在无菌小瓶中。该制剂可以以立即可用的形式或在施用前重构的形式(例如冻干)储存。还提供了用于产生单剂量施用单元的试剂盒。该试剂盒包括具有干燥蛋白质的第一容器和具有水性制剂的第二容器。在具体实施方式中,提供了一种试剂盒,其包括具有单室和多室的预填充注射器。待使用的含人 α -syn抗体的药物组合物的治疗有效剂量可受到例如治疗情况和目的的影响。本领域技术人员可以理解,适于治疗的剂量可以至少部分地根据使用人 α -syn抗体的疾病、施用途径和患者的身体状况(体重、体表或器官大小)和/

或条件(年龄和整体健康)而不同。在具体实施方式中,临床医生可以确定最佳剂量并改变施用途径以获得最佳治疗效果。

[0309] 考虑到前述因素,典型的剂量可以为约1 μ g/kg至约30mg/kg或更高。在具体的实施方式中,剂量可以为10 μ g/kg至约30mg/kg,选择性地,为0.1mg/kg至约30mg/kg,或可供选择地,为0.3mg/kg至约20mg/kg。在某些情况下,剂量为0.5mg/kg至20mg/kg。在某些情况下,抗体以0.3mg/kg、0.5mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg或20mg/kg施用。

[0310] 施用频率可能受所用人 α -syn抗体制剂的药代动力学参数的影响。通常,临床医生施用组合物直至达到实现靶向效果的剂量。因此,组合物可以随时间,作为单剂量或2倍或更多剂量施用,或者通过可植入装置或导管连续注射施用。可以通过使用适当的剂量反应数据确认适当的剂量。在具体实施方式中,可以长时间将抗体施用于患者。长期施用抗体可以使有害的免疫反应或过敏反应最小化,免疫反应或过敏反应通常伴随非完整人抗体,例如在非人动物中对人抗原产生的抗体,例如,非人动物中产生的非完整人抗体或非人抗体。

[0311] 药物组合物的施用途径可以使用已知的方法,例如通过口服注射;静脉注射、腹膜内、脑内(间质)、心室内、肌肉内、眼内、动脉内、门脉内或病灶内途径;持续释放系统或植入装置。在具体实施方式中,组合物可以通过弹丸注射,或注射或植入装置连续施用。

[0312] 另外,组合物可以通过其中靶分子被吸收或包封的植入膜、海绵或其他适当的材料来局部施用。在具体实施方式中,在使用植入装置的情况下,可以将装置植入任何适当的组织或器官,并且可以通过扩散、定时推注或连续施用来实现靶分子的递送。

[0313] 另外,可优选在体外使用人 α -syn抗体药物组合物。在这种情况下,从患者体内取出的细胞、组织或器官可以暴露于人 α -syn抗体药物组合物,然后将细胞、组织和/或器官植入患者体内。

[0314] 特别地,可以使用本文所述方法通过植入基因工程改造的特定细胞来递送人 α -syn抗体,以表达和分泌多肽。在具体实施方式中,该细胞可以是动物或人细胞,并且可以是自体的、非自体的或非同源的。在具体实施方式中,细胞可以是永生化的。在其他实施方式中,为了减少免疫反应,可以将细胞包封以避免渗透到周围组织中。在另外的实施方式中,包封物质通常允许蛋白质产物的释放,但它是防止来自患者的免疫系统或周围组织的其他有害因子破坏细胞的生物相容性半渗透性聚合物外壳或膜。

[0315] 在下文中,呈现了期望的实施例以便于理解本发明。然而,提供以下实施例是为了更好地理解本发明,并且本发明的范围不受以下实施例的限制。

[0316] 本文使用的涉及细胞和组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学、蛋白质和核酸化学以及杂交的术语和技术在本领域中广泛使用和已知。另外,本文公开的方法和技术可以使用常规技术实施,所述常规技术在细胞生物学、细胞培养、分子生物学、遗传转化技术、微生物学、DNA重组技术、免疫学等领域的技术人员的技能范围内。可以在以下书籍和文献中找到对常用技术的更详细描述。对于分子生物学和生物化学的一般方法,可以参考分子克隆:实验手册,第3版(Sambrook等人,港实验室出版社2001);分子生物学简明方案(Short Protocols in Molecular Biology),第4版(Ausubel等人,John Wiley&Sons 1999);DNA克隆,第一卷和第二卷(DNA Cloning,Volumes I and II)(Glover编,1985年);寡核苷酸合成(Oligonucleotide Synthesis)(Gait编,1984);核酸杂交(Nucleic Acid Hybridization)(Hames和Higgins编,1984);转录和翻译(Transcription And

Translation) (Hames和Higgins编,1984);动物细胞培养(Culture Of Animal Cells) (Freshney和Alan,Liss公司,1987);哺乳动物细胞的基因转移载体(Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells) (Miller和Calos编);分子生物学现代方案和分子生物学简明方案(Current Protocols in Molecular Biology and Short Protocols in Molecular Biology),第3版(Ausubel等编);和重组DNA方法学(Recombinant DNA Methodology) (Wu,ed编,学术出版社);Harlow和Lane抗体:实验手册冷泉港出版社,纽约冷泉港(1990)。

[0317] 蛋白质反应和纯化技术在本领域中常规进行或根据本文所述的制造商方法进行。在本发明中,与分析化学、合成有机化学以及医药和药物化学实验室技术和方法相关的术语是本领域公知的并且是常用的。标准技术可用于化学合成、化学分析、药物制备、药物制剂和施用、患者治疗等。

[0318] 实施例1: α -syn抗体的制备

[0319] 实施例1-1:小鼠单克隆抗体

[0320] 免疫接种

[0321] 将具有全长(140个残基)的 α -syn单体或切割C端21个残基的 α -syn单体(119个残基)置于37°C的热混合器中,在1050rpm振荡下聚集14天,并超声处理。将1mg/ml的 α -syn纤维的140个残基和119个残基中的每个与助剂以1:1(vol:vol)的比例混合。

[0322] 然后,将200 μ L制备的混合物皮下注射到5至7周龄的BALB/c雌性小鼠中。2周后,进一步皮下注射200 μ L制备的混合物用于抗体加强。在加强一周后,收集血液并使用施用的抗原通过ELISA方法进行免疫滴定。随后,通过单独皮下注射抗原进行第三次加强免疫。

[0323] 杂交瘤生产

[0324] 去除免疫小鼠的脾脏,从脾脏中获得脾细胞。将脾细胞悬浮于补充有10%FBS的杂交瘤-SFM培养基(Thermo Fisher Scientific,USA)中。为了制备杂交瘤,将鼠骨髓瘤细胞的脾细胞和SP2/0-Ag14在不含血清的杂交瘤-SFM培养基中混合,然后离心去除培养基。然后,将PEG添加到获得的细胞沉淀中并在37°C下孵育1分钟以诱导细胞融合。

[0325] 单细胞克隆

[0326] 在融合2周后,使用施用于小鼠的抗原和细胞培养基,用ELISA法确认与产生抗体的小鼠B细胞的融合。然后,使用杂交瘤进行单细胞克隆以选择16个产生单克隆抗体的杂交瘤。使用全长(140个残基) α -Syn作为抗原的聚集体获得1E4和9B11(分别为IgG1 κ 、IgG3 κ 和IgG3 κ)克隆,使用切割C端的21个残基的 α -Syn聚集体作为抗原获得3A9、10F10和11F11(分别为IgG2b κ 、IgG2a κ 、IgG2b κ)的克隆。

[0327] 抗体的纯化

[0328] 每种杂交瘤在含有10%FBS的RPMI1640培养基中培养。对于抗体生产,将培养基替换为无血清SFM培养基并培养约4天。分离细胞培养上清液,离心,用0.22 μ m过滤器过滤,并用IgG1型蛋白G柱纯化,剩余抗体用蛋白A柱纯化。

[0329] 可变区序列的确定

[0330] 可变区和CDR序列通过参考公开内容Ahn等人,Mol.Cells 2004,18(2):237-241确定。培养杂交瘤并离心,仅分离细胞。通过添加三唑从分离的杂交瘤中分离RNA,并作为模板用于合成cDNA。通过测序确认可变区和CDR序列。

[0331] 氨基酸序列示于表1中,核苷酸序列示于表2中。

[0332] 实施例1-2:噬菌体文库筛选

[0333] 文库噬菌体的制备

[0334] 在30℃下将 1×10^{10} 个来自人的具有多样性的单链可变片段(ScFv)的感受态细胞(获得自梨花女子大学(EHWA WOMANS UNIVERSITY))接种于含有34 μ g/ml氯霉素(Sigma, C0857)、2%葡萄糖(Sigma, G5400)和5mM MgCl₂(Sigma, C0857)的2 \times YT培养基[17g胰化蛋白胨(CONDA, 1612.00), 10g酵母提取物(CONDA, 1702.00)和5g NaCl(Sigma, S7653)]中,持续3小时,至OD₆₀₀为0.5至0.7。然后,用辅助噬菌体感染细胞,并在30℃下在含有34 μ g/ml氯霉素,5mM MgCl₂、70 μ g/ml卡那霉素(Sigma, K1876)和1mM IPTG(ELPISBIO, IPTG025)的2 \times YT培养基中培养6小时,以诱导噬菌体包装。将培养液在4500rpm, 4℃下离心15分钟。向上清液中添加4%PEG6000(Fluka, 81253)和3%NaCl(Sigma, S7653)并在冰上温育1小时。将产物在4℃下以8000rpm离心20分钟,然后将沉淀物悬浮在PBS中并再次在4℃和12,000rpm下离心10分钟以获得含有噬菌体文库的上清液。将获得的上清液在4℃下储存直至后续使用。

[0335] 噬菌体展示淘选

[0336] 为了选择优先于单体而结合 α -突触核蛋白聚集体的抗体,使用实施例1中制备的全长 α -突触核蛋白聚集体进行淘选,并如下进行总共三次淘选。

[0337] 将牛血清白蛋白(BSA)以3 μ g/ml的浓度在试管中添加到细胞中,4℃过夜,在免疫管(maxisorp 444202)中向PBS中添加10 μ g/ml重组 α -syn聚集体和单体,将溶液添加到试管中,并保护其没有吸附 α -syn聚集体和单体的表面。排空试管后,将分散于BSA 3%溶液中的 10^{12} CFU的抗体噬菌体文库放入免疫管中,其中 α -syn聚集体和单体被吸收并反应1小时(阴性选择)。然后,噬菌体不与 α -syn聚集体结合,回收单体并在室温下在 α -syn聚集体中反应2小时,并吸附单体。使用磷酸盐缓冲盐水(0.05%吐温20)溶液回收100 μ M三乙胺溶液,通过使用PBS-T溶液回收。大肠杆菌在37℃下保持1小时,将感染的大肠杆菌在2 \times YT琼脂培养基上涂布并在37℃下培养过夜(pH 7.4),将它们用ER2537感染。第二天,将培养的大肠杆菌悬浮于4ml 2 \times YT羧苄青霉素培养液中,添加15%甘油,将一部分保存在-80℃下,其余的则用于制备噬菌体以用于下次实验。通过总共重复3轮该过程,扩增并浓缩 α -syn抗原特异性噬菌体库。随着淘选轮次的进展,使用PBS-T的洗涤次数增加以扩增和浓缩抗原特异性噬菌体。

[0338] 具体而言,在4℃下过夜将蛋白质吸附在试管表面后,将浓度为10 μ l/ml的重组 α -syn聚集体和单体的PBS溶液添加到免疫管(maxisorp 444202),将牛血清白蛋白(BSA)3%溶液添加到试管中,并保护其中没有吸附 α -syn聚集体和单体的表面。排空试管后,将分散于BSA 3%溶液中的 10^{12} CFU的抗体噬菌体文库放入免疫管中,其中 α -syn聚集体和单体被吸收并反应1小时(阴性选择)。然后,回收未与 α -syn聚集体和单体结合的噬菌体,并在室温下在 α -syn聚集体和单体被吸附的免疫管中反应2小时。将非特异性结合的噬菌体用PBS-T(磷酸盐缓冲盐水-0.05%吐温20)溶液洗涤5次至30次以除去,并通过使用100mM三乙胺溶液回收剩余的抗原特异性噬菌体抗体。用1M Tris缓冲液(pH7.4)中和回收的噬菌体后,将其在37℃下用ER2537大肠杆菌感染1小时,将感染的大肠杆菌涂在2 \times YT琼脂培养基上,37℃下培养过夜。次日,将培养的大肠杆菌悬浮于4ml的2 \times YT羧苄青霉素培养液中,并添加15%甘油,将一部分储存在-80℃下,其余部分用于制备噬菌体以用于下次实验。通过总共重复3轮

该过程,扩增并浓缩 α -syn抗原特异性噬菌体库。

[0339] 随着淘选轮次的进行,使用PBS-T的洗涤次数增加以扩增和浓缩抗原特异性噬菌体。

[0340] 单克隆筛选

[0341] 为了从通过淘选获得的噬菌体库中对特异性结合突触核蛋白聚集体的单克隆抗体进行分选,进行如下实验。

[0342] 为了从浓缩库中分离单克隆,在LB-四环素/羧苄青霉素琼脂培养基上涂布噬菌体库并培养后,确保单个菌落。然后,在每孔添加400 μ l 2 \times YT-四环素/羧苄青霉素培养基的96孔深孔板上接种单克隆并培养过夜后,将10 μ l培养液置于添加390 μ l 2 \times YT-四环素/羧苄青霉素培养基的新的96孔深孔板上,并在37 $^{\circ}$ C培养4小时。将1mM IPTG加入培养液中,在30 $^{\circ}$ C下培养过夜。将培养过夜的培养液离心分离,得到上清液。

[0343] 然后,通过如下使用ELISA方法选择表达与突触核蛋白聚集体结合的单克隆可溶性scFv的克隆(Steinberger.Rader and Barbas III.2000.噬菌体展示载体.In:噬菌体展示实验手册(Phage display vectors.In:Phage Display Laboratory Manual).第一版.美国纽约冷泉港出版社pp.11.9-11.12)。具体地,将实施例1-1中的所选抗体置于96孔板(Nunc-Immuno Plates,NUNC,USA)上并在4 $^{\circ}$ C下包被过夜。向各孔中添加3%BSA,添加量为200 μ L,然后在37 $^{\circ}$ C下封闭2小时。然后,以100ng/孔的浓度加样突触核蛋白聚集体和单体,在37 $^{\circ}$ C下反应2小时,并用300 μ L PBS-T洗涤5次。制备的单克隆上清液以1:1的体积比与3%BSA混合(vol:vol),将100 μ L溶液加样到与聚集体和单体结合的板上,然后在37 $^{\circ}$ C下反应2小时。用300 μ L PBS-T洗涤细胞5次,并用抗HA HRP缀合的抗体在37 $^{\circ}$ C下温育1小时,然后用PBS-T洗涤5次。添加100 μ L TMB(四甲基联苯胺,Sigma,T0440)后,通过添加50 μ L的1N H₂SO₄终止反应以测量450nm处的吸光度。吸光度为0.5或更高的克隆通过结合被认为是阳性反应,并且排除了与非特异性结合BSA的克隆。

[0344] 因此,选择了特异性结合突触核蛋白聚集体的AC8、AE8、AA9、DG5、AD2、AD7、DG11、DG8和DA9抗体克隆,并通过测序蛋白质和核苷酸序列进行。克隆的核酸序列在SEQ ID NO: 169-224中公开。

[0345] 实施例2使用 α -Syn抗体分析抗原结合特异性和结合亲和力

[0346] 实施例2-1:使用小鼠单克隆抗 α -Syn抗体的斑点印迹分析

[0347] 进行斑点印迹实验以分析根据本发明的抗体是否与天然状态的单体或聚集体结合。对于该实验,将50ng或100ng的 α -syn单体或纤维蛋白(由首尔大学的Lee Seung-jae教授制造;Bae等人,J.Neurosci 32:13454,2012)加样在硝酸纤维素膜上。将两倍稀释的单体或纤维蛋白从膜的右侧依次加样到左侧(12.5、25、50、100ng)。用具有TBST组成的5%脱脂干乳将膜在室温下封闭1小时。将1mg/ml实施例1中制备的 α -syn抗体添加到含有1%牛血清白蛋白的TBST中,并在室温下温育1小时。用TBST洗涤后,根据制造商手册,使用作为底物的化学发光底物(NEN)和缀合有HRP(辣根过氧化物酶)的二抗分析信号。使用LAS-3000发光图像分析系统(FUJIFILM Life Science)对结果成像。结果如图1所示。如其中所示出的,发现与 α -syn单体相比,根据本发明的 α -syn抗体优先仅与聚集体结合。特别地,1E4、9B11、3A9和11F11仅与聚集体结合,10F10与聚集体和单体两者结合。使用结合单体和聚集体两者的274抗体(Bae等人,J Neurosci.2012 Sep 26;32(39):13454-13469)作为比较抗体。

[0348] 实施例2-2:使用小鼠单克隆抗 α -Syn抗体的ELISA分析

[0349] 进行ELISA分析以定量分析本发明的抗体与抗原的结合亲和力。为此,将本发明的 α -突触核蛋白抗体以1mg/ml的浓度在96孔板上包被,并用10、100、1000和10000ng/ml的 α -突触核蛋白纤丝聚集体处理。用PBS洗涤后,处理与HRP缀合的链霉亲和素和与生物素缀合的二抗抗体,然后与作为底物的TMB反应。测量吸光度。结果如图2所示。如其中所示出的,发现本发明的抗体优先结合具有高结合亲和力的聚集体。ELISA结果显示,优先与聚集体结合的抗体具有 0.1×10^{-9} M至 2×10^{-9} M的亲和力,而与单体和聚集体两者结合的抗体显示出 $\sim 1 \times 10^{-10}$ M的更高值。

[0350] 实施例2-3.使用小鼠单克隆抗 α -Syn抗体进行BIAcore分析

[0351] 使用BIAcore分析进行实施例1中制备的 α -突触核蛋白抗体与单体和聚集抗原的结合的定量分析。

[0352] 使用的仪器是T200 (GE Healthcare, S/N:1565888)。使用蛋白质A作为芯片 (GE Healthcare, Cat.29-1275-56)。10mM甘氨酸-HCl pH 1.5 (GE Healthcare, Cat.BR-1003-54) 是再生缓冲液。运行缓冲液、分析物稀释液和样品稀释缓冲液是HBS-EP。用 $1 \times$ HBS-EP (GE Healthcare, Cat.BR-1006-69) 稀释实施例1中制备的 α -syn抗体 (3A9, 9B11和11F11), 将 α -突触核蛋白单体 (1mg/ml) 和纤丝蛋白 (3mg/ml) 一式两份地连续稀释,并在包括0nM在内的总共6种浓度 (0、0.39、1.56、6.25、25、100nM) 下进行分析。对于捕获,单体的RU为800 (理论值),纤丝的RU为100 (理论值)。捕获阶段在60秒的接触时间,30 μ l/min的流速和180秒的稳定期下进行。缔合阶段在120秒的缔合时间和30 μ l/min的流速下进行。解离阶段在360秒的解离时间和30 μ l/min的流速下进行。再生阶段在240秒 (初级) 和60秒 (次级) 的再生时间和30 μ l/min的流速下进行两次。使用1:1结合模型进行拟合,评估软件是BIAcore T200评估软件 (GE healthcare)。结果如图3a和图3b所示。在所分析的四种 α -突触核蛋白抗体中,在上述其他方法中优先与聚集体结合的3A9、9B11和11F11仅在BIAcore中与聚集体以 1 至 3×10^{-9} M的高亲和力结合。

[0353] 实施例2-4.使用小鼠单克隆抗 α -Syn抗体进行Octet分析

[0354] 使用Octet进行实施例1中制备的 α -突触核蛋白抗体 (3A9、9B11、11F11) 与单体和聚集体抗原的结合的定量分析。

[0355] 具体而言,在1000rpm下使用运行缓冲液,所述运行缓冲液为 $1 \times$ KB缓冲液 (目录号18-1092) 或 $1 \times$ PBS缓冲液,固定化缓冲液为乙酸钠, pH5 (10mM, Cat.18-1068),将 α -syn单体固定于 α -syn抗原,将纤丝固定于测试抗体。单体的目标浓度为20 μ g/ml,纤丝的目标浓度为0.4 μ g/ml。动力学浓度针对单体从50nM依次稀释两倍,针对纤丝从100nM依次稀释两倍,分别共给出7个点。单体的缔合/解离时间为5分钟/20分钟,纤丝的缔合/解离时间为5分钟/25分钟。生物传感器为ARG2,并使用1:1拟合模型进行拟合。

[0356] 结果如图4所示。如图所示,3A9、9B11和11F11显示与单体很少结合 (红色虚线框) 以及与聚集体良好结合 (红色虚线框中的上升图)。这些结果与斑点印迹、Octet和ELISA中的结果相似或一致。结果,在测试的四种 α -syn抗体中,在其他方法中优先与聚集体结合的抗体3A9、9B11和11F11在Octet分析中也仅与聚集体结合。

[0357] 实施例2-5.使用抗 α -Syn抗体的ScFV进行斑点印迹

[0358] 使用实施例1-2中选择的ScFV抗 α -Syn抗体,如实施例2-1中所述地进行斑点印迹。

抗原从左侧第一行按6.25ng、12.5ng、25ng和50ng的顺序加样。以1 μ g/ml的浓度处理抗体，并通过抗人Fc-HRP第二抗体确认。

[0359] 结果如图5所示。M代表单体抗原，A代表聚集抗原。右表中显示了每种抗体与单体或聚集体的选择性结合。结果表明AA9、AD2、AD7、AC8、DG8、DG11、DA9和DG5仅与聚集体结合，而AE8优先与聚集体结合并与单体弱结合。

[0360] 实施例2-6. 使用ScFV抗 α -Syn抗体进行Octet分析

[0361] 使用实施例1-2中选择的ScFV抗Syn抗体，如实施例2-4中所述地进行Octet分析。结果在图6中示出。发现这些抗体对 α -Syn聚集体具有约 10^{-9} 至约 10^{-11} M的高亲和力。

[0362] 实施例3. 小鼠单克隆抗 α -Syn抗体对细胞介导的 α -突触核蛋白聚集体转运的抑制作用

[0363] 由于提出 α -突触核蛋白聚集体的细胞间转移是 α -突触核蛋白聚集体相关疾病的致病原因，因此能够抑制它们的抗体可用作治疗剂。为此目的，如下进行BiFC(双分子荧光互补)分析。BiFC原理在图7的上部示意性地示出。

[0364] 用于BiFC分析的细胞培养

[0365] 分别表达 α -突触核蛋白和一半的金星荧光蛋白(Venus 1- α Syn(V1S)和 α Syn-Venus2(SV2))的SH-SY5Y人神经母细胞瘤细胞系如先前所述进行培养(Lee HJ等人, J.Neurosci. 2004;24:1888-1896),在实验之前,将180000个表达V1S和SV2的细胞在盖玻片上混合并培养3天。每48小时对共培养物进行传代培养,证实 α -突触核蛋白的连续细胞间迁移。因为在单独的实验中转移程度在传代数为6时最大(数据未显示),所以使用六次传代的共培养物分析抗体对细胞间转运的抑制作用。

[0366] BiFC实验/抗体处理

[0367] 在成像前一天,向共培养物中添加50 μ g/ml的IgG或测试抗体(3A9、9B11、11F11)。每个共培养物中Venus通道中的信号代表由 α -突触核蛋白聚集产生的聚集体,其被认为是由 α -syn从一个细胞迁移到另一个细胞所形成的聚集体。用IN细胞分析仪自动分析这些信号(仪器设置:斑大小:0.1至0.4 μ m,强度:4000至7000)。

[0368] 结果如图7所示。如图所示,蓝色表示核,绿色表示从一个细胞中出来的 α -突触核蛋白与其他细胞的 α -syn相遇并形成聚集体。右侧的图表显示了信号的强度。在9B11、11F11和3A9治疗组中,与阴性对照IgG相比显示绿色信号的细胞数减少。结果表明,本发明的抗体可有效抑制聚集体的细胞间转移。

[0369] 实施例4. 通过小鼠单克隆抗 α -Syn抗体分析 α -突触核蛋白聚集体的体内去除效果

[0370] 为了分析本发明中产生的 α -Syn抗体的体内效应,将10mg/kg人 α -突触核蛋白或IgG转染到转基因小鼠(mThy-1人 α -突触核蛋白,UC San Diego)中。对于过表达人 α -突触核蛋白的转基因小鼠(mThy-1人 α -突触核蛋白,UC San Diego),每周腹腔内施用3个月。每组使用6只小鼠,使用非转基因同窝小鼠作为对照。然后如下进行灌注。

[0371] 在最后一次施用完成后,对于脑的病理学分析,根据人道规则将动物用水合氯醛麻醉,然后用0.9%盐水进行心肺灌注。将灌注的脑的矢状切片储存在4%多聚甲醛在磷酸盐缓冲液中的溶液(pH7.4,4 $^{\circ}$ C)中,直至后续分析,另一半在冷冻(70 $^{\circ}$ C)下储存。

[0372] 病理分析如下进行。使用振动切片机通过自由浮动方法将固定在多聚甲醛中的一半脑切成40 μ m厚的连续切片。为了确认施用组脑中 α -Syn的表达水平,将含有皮质、纹状体

和海马体的切片与 α -syn抗体(作为聚集体的标记物的p 129 α -syn抗体,abcam,ab59264或总 α -syn抗体,Cell Signaling Technology,#2642)在4℃下过夜温育。为了鉴定星形胶质细胞的活性或小胶质细胞的活性,用抗GFAP(胶质纤丝酸性蛋白)(AB5804,millipore)或Iba1(019-19741,Wako)的抗体分别处理切割样品。为了确定神经炎症的程度,切割样品分别用针对IL-6(NB600-1131,Novus Biologicals)或IL-1 β (ab9722,abcam)的抗体处理。在与一抗温育后,处理生物素缀合的山羊抗兔IgG(1:100,Vector Laboratories)和抗生物素蛋白D-辣根过氧化物酶(1:200,ABC Elite,Vector Laboratories),并用二氨基联苯胺(DAB)检测。用明视野显微镜观察每个免疫染色的切片以测量光密度。

[0373] 结果在图8a和8b中示出。图8a是示出作为 α -Syn聚集体的标记物的p-129 α -Syn抗体(识别在Ser129磷酸化的 α -syn的抗体)的分析结果的图。结果,与仅施用IgG的对照小鼠相比,TG(TransGenic)小鼠显示皮质和海马体的CA1和CA3中的聚集水平显著降低(相关部分由IgG样品中的箭头指示)。图8b示出用总 α -Syn抗体染色的结果。通过施用抗体有效地除去TG小鼠中增加的人 α -syn。这些结果表明,根据本发明的抗体有效地减少了 α -Syn聚集体,并且可以有效地用于治疗诸如帕金森病的 α -突触核蛋白病。

[0374] 实施例5:小鼠单克隆抗 α -Syn抗体减少小胶质细胞增生和星形胶质细胞增生和减少炎性细胞因子释放的分析

[0375] 胶质增生是胶质细胞中的非特异性反应,其响应于由BBB损伤、TGF- β 或白细胞介素引发的中枢神经系统的损伤。代表性实例包括小胶质细胞增生和星形胶质细胞增生,它们分别以Iba-1和GFAP蛋白作为标记物。

[0376] 如实施例4中所述地,在小鼠中分析了根据本发明的抗体对由此引发的小胶质细胞增生和星形胶质细胞增生和炎性细胞因子释放的减少的作用。

[0377] 结果显示在图9a、9b、9c和9d中。如图中所示,发现与对照相比,本发明的抗体减少了小神经胶质细胞增生和星形胶质细胞增生,以及减少了引发小神经胶质细胞增生和星形胶质细胞增生的炎性细胞因子IL-1 β 和IL-6的释放。

[0378] 实施例6.通过小鼠单克隆抗 α -Syn抗体检测人脑组织中的Lew体

[0379] 通过使用实施例5中的本发明的抗体对使用从厚度为10微米的死于帕金森病的患者(悉尼大学的Halliday博士)获得的石蜡包埋脑切片中的路易体和路易神经突如下进行染色。将组织切片用90%甲酸处理3分钟以进行抗原修复,然后用1% H_2O_2 (50%乙醇基)抑制组织的过氧化物酶活性。处理10%正常马血清以防止组织的非特异性结合。用磷酸盐缓冲液洗涤后,将相邻切片用本发明的3A9、11F11和11F11抗体在4℃下处理过夜。用磷酸盐缓冲液洗涤后,将生物素缀合的抗人IgG抗体在37℃下处理30分钟,抗生物素蛋白-生物素复合物在室温下反应30分钟(Vectastatin Elite试剂盒;Vector Laboratories)。然后,用含有0.005% H_2O_2 的DAB显色。每个切片用0.5%甲酚紫复染,以区分每个细胞。

[0380] 结果如图10a和图10b所示。如图中所示,显示根据本发明的抗体有效地与路易体和路易神经突结合(由箭头指示)。该结果意味着它能够有效地结合作为人脑组织的路易体的组分的 α -Syn聚集体。结果表明,递送至人脑的抗体可有效且特异性地与 α -syn聚集体结合。

[0381] 实施例7.小鼠单克隆抗 α -Syn抗体的表位分析

[0382] 通过请求PEPSCAN(荷兰)进行肽等位基因分析来进行对根据本发明的3A9和11F11

抗体的表位作图。

[0383] 结果显示在图11中。如图11所示,发现根据本发明的抗体以优选结合聚集体的形式识别C-末端部分,特别是如上所述的第110至122个氨基酸残基部分。

[0384] 本领域普通技术人员将理解,在不脱离由所附权利要求限定的本发明的精神和范围的情况下,可以在形式和细节上进行各种改变。

[0001]		
<110>	ABL生物公司	
<120>	抗 α -突触核蛋白抗体及其用途	
<130>	OPP20183168KR	
<150>	US 62/443151	
<151>	2017-01-06	
<160>	225	
<170>	KoPatentIn 3.0	
<210>	1	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	小家鼠 (<i>Mus musculus</i>) 1E4 CDR H1	
<400>	1	
Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Leu Ile Glu1	5	10
<210>	2	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	小家鼠 (<i>Mus musculus</i>) 9B11 CDR H1	
<400>	2	
Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn1	5	10
<210>	3	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	小家鼠 (<i>Mus musculus</i>) 3A9 CDR H1	
<400>	3	
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser1	5	10
<210>	4	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	小家鼠 (<i>Mus musculus</i>) 10F10 CDR H1	
<400>	4	
Gly Tyr Ser Ile Thr Gly Gly Phe Tyr Trp1	5	10
<210>	5	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	小家鼠 (<i>Mus musculus</i>) 11F11 CDR H1	
<400>	5	
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe Tyr Met Glu1	5	10

[0002]

<210>	6		
<211>	10		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens) AC8 CDR H1		
<400>	6		
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Ser Met Ser1	5		10
<210>	7		
<211>	10		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens) AE8 CDR H1		
<400>	7		
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Ser1	5		10
<210>	8		
<211>	10		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens) AA9 CDR H1		
<400>	8		
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Ser1	5		10
<210>	9		
<211>	10		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens) DG5 CDR H1		
<400>	9		
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Ser1	5		10
<210>	10		
<211>	10		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens) AD2 CDR H1		
<400>	10		
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Ser1	5		10
<210>	11		
<211>	10		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens) AD7 CDR H1		
<400>	11		
Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Ala Met Ser1	5		10
<210>	12		
<211>	10		

[0003]

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens) DG11 CDR H1

<400> 12

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Ala Met Ser1 5 10

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens) DG8 CDR H1

<400> 13

Gly Phe Thr Phe Ser Asp His Ala Met Ser1 5 10

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens) DA9 CDR H1

<400> 14

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Ser1 5 10

<210> 15

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus) 1E4 CDR H2

<400> 15

Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Thr Asn1 5 10

<210> 16

<211> 19

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus) 9B11 CDR H2

<400> 16

Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser1 5
10 15

Val Lys Asp

<210> 17

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus) 3A9 CDR H2

<400> 17

Thr Ile Ser Asn Gly Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys1 5
10 15

Gly

[0004]

<210> 18
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 小家鼠 (*Mus musculus*) 10F10 CDR H2

<400> 18
 Tyr Ile Asn Tyr Asp Gly Ser Ser Asp Tyr Ser Pro Ser Leu Lys Asn1 5
 10 15

<210> 19
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 小家鼠 (*Mus musculus*) 11F11 CDR H2

<400> 19
 Ala Ser Arg Asn Lys Ala Asn Asp Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala Ser1 5
 10 15

Val Lys Gly

<210> 20
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人 (*Homo sapiens*) AC8 CDR H2

<400> 20
 Gly Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys1 5
 10 15

Gly

<210> 21
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人 (*Homo sapiens*) AE8 CDR H2

<400> 21
 Ala Ile Ser Ser Gly Gly Gly Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys1 5
 10 15

Gly

<210> 22
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人 (*Homo sapiens*) AA9 CDR H2

<400> 22
 Ala Ile Tyr Pro Gly Ser Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys1 5
 10 15

[0005]

Gly

<210> 23
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) DG5 CDR H2

<400> 23
 Val Ile Ser Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys1 5
 10 15

Gly

<210> 24
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) AD2 CDR H2

<400> 24
 Ala Ile Ser His Ser Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys1 5
 10 15

Gly

<210> 25
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) AD7 CDR H2

<400> 25
 Ala Ile Ser Pro Asn Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys1 5
 10 15

Gly

<210> 26
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) DG11 CDR H2

<400> 26
 Val Ile Ser Pro Gly Ser Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys1 5
 10 15

Gly

<210> 27
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) DG8 CDR H2

<400> 27

[0007]

<212> PRT
 <213> 小家鼠 (Mus musculus) 11F11 CDR H3

<400> 33
 Asp Ala His Gly Lys Pro Phe Ala Tyr1 5

<210> 34
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) AC8 CDR H3

<400> 34
 Ile Phe His Asn Phe Asp Tyr1 5

<210> 35
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) AE8 CDR H3

<400> 35
 Arg Pro Leu Tyr Phe Asp Tyr1 5

<210> 36
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) AA9 CDR H3

<400> 36
 His Ala Ala Thr Phe Asp Tyr1 5

<210> 37
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) DG5 CDR H3

<400> 37
 Val Thr Ile Ala Cys Pro Thr Lys Arg Cys Ser Tyr Ser Asn Gly Met1 5
 10 15

Asp Val

<210> 38
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) AD2 CDR H3

<400> 38
 Ser Gly Asn Asn Phe Asp Tyr1 5

<210> 39
 <211> 7

[0008]

<212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) AD7 CDR H3

<400> 39
 Arg Pro Val Tyr Phe Asp Tyr1 5

<210> 40
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) DG11 CDR H3

<400> 40
 Val Thr Ile Ser Cys Ala Arg Met Arg Cys Ser Tyr Ala Asp Gly Met1 5
 10 15

Asp Val

<210> 41
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) DG8 CDR H3

<400> 41
 Val Ala Ser Arg Cys Arg Arg Gly Arg Cys Ser Tyr Ser Asp Gly Met1 5
 10 15

Asp Val

<210> 42
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) DA9 CDR H3

<400> 42
 Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Cys Ser Tyr Ser Asn Gly Met1 5
 10 15

Asp Val

<210> 43
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 小家鼠 (Mus musculus) 1E4 CDR L1

<400> 43
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His1 5
 10 15

<210> 44
 <211> 16
 <212> PRT

[0009]

<213> 小家鼠 (Mus musculus) 9B11 CDR L1

<400> 44

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His1 5
10 15

<210> 45

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus) 3A9 CDR L1

<400> 45

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Thr Val Ala1 5 10

<210> 46

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus) 10F10 CDR L1

<400> 46

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Glu Thr Tyr Leu Asn1 5
10 15

<210> 47

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus) 11F11 CDR L1

<400> 47

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu1 5
10 15

Ala

<210> 48

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens) AC8 CDR L1

<400> 48

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Asn Val Tyr1 5
10

<210> 49

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens) AE8 CDR L1

<400> 49

	Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Ser Val Asn1 10	5
	<210> 50	
	<211> 13	
	<212> PRT	
	<213> 智人 (Homo sapiens) AA9 CDR L1	
	<400> 50	
	Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Ser1 10	5
	<210> 51	
	<211> 13	
	<212> PRT	
	<213> 智人 (Homo sapiens) DG5 CDR L1	
	<400> 51	
	Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ala Val Ser1 10	5
	<210> 52	
	<211> 13	
	<212> PRT	
	<213> 智人 (Homo sapiens) AD2 CDR L1	
[0010]	<400> 52	
	Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Ser Val Ser1 10	5
	<210> 53	
	<211> 13	
	<212> PRT	
	<213> 智人 (Homo sapiens) AD7 CDR L1	
	<400> 53	
	Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ala Val Asn1 10	5
	<210> 54	
	<211> 13	
	<212> PRT	
	<213> 智人 (Homo sapiens) DG11 CDR L1	
	<400> 54	
	Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ser Val Ser1 10	5
	<210> 55	
	<211> 13	
	<212> PRT	

	<213>	智人 (Homo sapiens) DG8 CDR L1	
	<400>	55	
	Ser Gly	Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ser Val Ser1	5
	10		
	<210>	56	
	<211>	13	
	<212>	PRT	
	<213>	智人 (Homo sapiens) DA9 CDR L1	
	<400>	56	
	Ser Gly	Ser Pro Ser Asn Ile Gly Asn Asn Ser Val Ser1	5
	10		
	<210>	57	
	<211>	7	
	<212>	PRT	
	<213>	小家鼠 (Mus musculus) 1E4 CDR L2	
	<400>	57	
	Lys Val	Ser Asn Arg Phe Ser1	5
[0011]	<210>	58	
	<211>	7	
	<212>	PRT	
	<213>	小家鼠 (Mus musculus) 9B11 CDR L2	
	<400>	58	
	Lys Val	Ser Asn Arg Phe Ser1	5
	<210>	59	
	<211>	7	
	<212>	PRT	
	<213>	小家鼠 (Mus musculus) 3A9 CDR L2	
	<400>	59	
	Ser Ala	Ser Asn Arg Tyr Thr1	5
	<210>	60	
	<211>	7	
	<212>	PRT	
	<213>	小家鼠 (Mus musculus) 10F10 CDR L2	
	<400>	60	
	Leu Val	Ser Lys Leu Asp Ser1	5
	<210>	61	
	<211>	7	
	<212>	PRT	
	<213>	小家鼠 (Mus musculus) 11F11 CDR L2	

	<400>	61		
			Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser1	5
	<210>	62		
	<211>	7		
	<212>	PRT		
	<213>		智人 (Homo sapiens) AC8 CDR L2	
	<400>	62		
			Tyr Asp Ser Gln Arg Pro Ser1	5
	<210>	63		
	<211>	7		
	<212>	PRT		
	<213>		智人 (Homo sapiens) AE8 CDR L2	
	<400>	63		
			Ala Asn Asn Asn Arg Pro Ser1	5
	<210>	64		
	<211>	7		
	<212>	PRT		
	<213>		智人 (Homo sapiens) AA9 CDR L2	
[0012]	<400>	64		
			Gly Asp Asn Lys Arg Pro Ser1	5
	<210>	65		
	<211>	7		
	<212>	PRT		
	<213>		智人 (Homo sapiens) DG5 CDR L2	
	<400>	65		
			Ser Asn Ser Asn Arg Pro Ser1	5
	<210>	66		
	<211>	7		
	<212>	PRT		
	<213>		智人 (Homo sapiens) AD2 CDR L2	
	<400>	66		
			Ser Asp Asn Asn Arg Pro Ser1	5
	<210>	67		
	<211>	7		
	<212>	PRT		
	<213>		智人 (Homo sapiens) AD7 CDR L2	
	<400>	67		
			Ser Asn Asn His Arg Pro Ser1	5

	<210>	68	
	<211>	7	
	<212>	PRT	
	<213>	智人 (Homo sapiens) DG11 CDR L2	
	<400>	68	
		Ala Asn Ser Asn Arg Pro Ser1	5
	<210>	69	
	<211>	7	
	<212>	PRT	
	<213>	智人 (Homo sapiens) DG8 CDR L2	
	<400>	69	
		Ala Asn Asn Asn Arg Pro Ser1	5
	<210>	70	
	<211>	7	
	<212>	PRT	
	<213>	智人 (Homo sapiens) DA9 CDR L2	
	<400>	70	
		Ala Asn Ser His Arg Pro Ser1	5
[0013]	<210>	71	
	<211>	9	
	<212>	PRT	
	<213>	小家鼠 (Mus musculus) 1E4 CDR L3	
	<400>	71	
		Ser Gln Ser Thr His Val Pro Arg Thr1	5
	<210>	72	
	<211>	9	
	<212>	PRT	
	<213>	小家鼠 (Mus musculus) 9B11 CDR L3	
	<400>	72	
		Ser Gln Ser Thr His Val Pro Leu Thr1	5
	<210>	73	
	<211>	9	
	<212>	PRT	
	<213>	小家鼠 (Mus musculus) 3A9 CDR L3	
	<400>	73	
		Gln Gln Tyr Ser Asn Tyr Pro Leu Thr1	5
	<210>	74	

[0014]

<211> 9
 <212> PRT
 <213> 小家鼠 (Mus musculus) 10F10 CDR L3

<400> 74
 Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Gln Thr1 5

<210> 75
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 小家鼠 (Mus musculus) 11F11 CDR L3

<400> 75
 Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Trp Thr1 5

<210> 76
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) AC8 CDR L3

<400> 76
 Ala Ser Trp Asp Ala Ser Leu Ser Ala Tyr Val1 5 10

<210> 77
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) AE8 CDR L3

<400> 77
 Gly Ser Trp Asp Ala Ser Leu Asn Gly Tyr Val1 5 10

<210> 78
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) AA9 CDR L3

<400> 78
 Gly Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Tyr Val1 5 10

<210> 79
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) DG5 CDR L3

<400> 79
 Ala Ala Trp Asp Ala Ser Leu Ser Gly Tyr Val1 5 10

[0015]

<210>	80		
<211>	11		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens) AD2 CDR L3		
<400>	80		
Gly Ser Trp Asp Ala Ser Leu Ser Gly Tyr Val1		5	10
<210>	81		
<211>	11		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens) AD7 CDR L3		
<400>	81		
Gly Ala Trp Asp Ser Ser Leu Asn Gly Tyr Val1		5	10
<210>	82		
<211>	11		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens) DG11 CDR L3		
<400>	82		
Ala Ala Trp Asp Ala Ser Leu Ser Ala Tyr Val1		5	10
<210>	83		
<211>	11		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens) DG8 CDR L3		
<400>	83		
Gly Ala Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Tyr Val1		5	10
<210>	84		
<211>	11		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens) DA9 CDR L3		
<400>	84		
Gly Ser Trp Asp Ala Ser Leu Asn Gly Tyr Val1		5	10
<210>	85		
<211>	115		
<212>	PRT		
<213>	1E4重链可变VH区		
<400>	85		
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr1			5

[0016]

10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr20
 25 30
 Leu Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile35
 40 45
 Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe50
 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr65
 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys85
 90 95
 Ala Ser Gly Asn Tyr Asp Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr100
 105 110
 Val Ser Ala115

<210> 86
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 9B11重链可变VH区

<400> 86
 Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly1 5
 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr20
 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45
 Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp50
 55 60
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Met65
 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr85
 90 95
 Tyr Cys Val Arg Gln Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu100
 105 110
 Thr Val Ser Ser115

<210> 87
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 3A9重链可变VH区

[0017]

<400> 87
 Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly1 5
 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr20
 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val35
 40 45
 Ala Thr Ile Ser Asn Gly Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val50
 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80
 Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys85
 90 95
 Ala Arg His Ile Thr Thr Val Arg Pro Thr Lys Tyr Phe Asp Tyr Trp100
 105 110
 Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser115 120

<210> 88
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 10F10重链可变VH区

<400> 88
 Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln1 5
 10 15
 Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Gly Gly20
 25 30
 Phe Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Asn Leu Glu Trp35
 40 45
 Met Gly Tyr Ile Asn Tyr Asp Gly Ser Ser Asp Tyr Ser Pro Ser Leu50
 55 60
 Lys Asn Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe65
 70 75 80
 Leu Asn Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys85
 90 95
 Val Arg Gly Asp Tyr Asp Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser100
 105 110
 Ser

<210> 89

[0018]

<211> 120

<212> PRT

<213> 11F11重链可变VH区

<400> 89

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1 5
 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe20
 25 30

Tyr Met Glu Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile35
 40 45

Ala Ala Ser Arg Asn Lys Ala Asn Asp Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala50
 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Ile Val Ser Arg Asp Thr Ser Gln Ser Ile65
 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr85
 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Ala His Gly Lys Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln100
 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala115 120

<210> 90

<211> 116

<212> PRT

<213> AC8重链可变VH区

<400> 90

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1 5
 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr20
 25 30

Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45

Ser Gly Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95

Ala Lys Ile Phe His Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100
 105 110

Thr Val Ser Ser115

[0019]

<210> 91
<211> 116
<212> PRT
<213> AE8重链可变VH区

<400> 91
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1 5
 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr20
 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45
Ser Ala Ile Ser Ser Gly Gly Gly Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95
Ala Arg Arg Pro Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100
105 110
Thr Val Ser Ser115

<210> 92
<211> 116
<212> PRT
<213> AA9重链可变VH区

<400> 92
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1 5
 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr20
 25 30
Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45
Ser Ala Ile Tyr Pro Gly Ser Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95
Ala Arg His Ala Ala Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100

[0020]

105 110

Thr Val Ser Ser115

<210> 93

<211> 127

<212> PRT

<213> DG5重链可变VH区

<400> 93

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1 5
10 15Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr20
25 30Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
40 45Ser Val Ile Ser Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
55 60Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
70 75 80Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
90 95Ala Arg Val Thr Ile Ala Cys Pro Thr Lys Arg Cys Ser Tyr Ser Asn100
105 110Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser115
120 125

<210> 94

<211> 116

<212> PRT

<213> AD2重链可变VH区

<400> 94

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1 5
10 15Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr20
25 30Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
40 45Ser Ala Ile Ser His Ser Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65

[0021]

70

75

80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95

Ala Arg Ser Gly Asn Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100
 105 110

Thr Val Ser Ser115

<210> 95

<211> 116

<212> PRT

<213> AD7重链可变VH区

<400> 95

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
 10 15

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr20
 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45

Ser Ala Ile Ser Pro Asn Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95

Ala Arg Arg Pro Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100
 105 110

Thr Val Ser Ser115

<210> 96

<211> 127

<212> PRT

<213> DG11重链可变VH区

<400> 96

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
 10 15

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr20
 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45

Ser Val Ile Ser Pro Gly Ser Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50

[0022]

55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95
 Ala Lys Val Thr Ile Ser Cys Ala Arg Met Arg Cys Ser Tyr Ala Asp100
 105 110
 Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser115
 120 125

- <210> 97
- <211> 127
- <212> PRT
- <213> DG8重链可变VH区

<400> 97
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1 5
 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His20
 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45

Ser Val Ile Ser His Gly Asn Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95

Ala Arg Val Ala Ser Arg Cys Arg Arg Gly Arg Cys Ser Tyr Ser Asp100
 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser115
 120 125

- <210> 98
- <211> 127
- <212> PRT
- <213> DA9重链可变VH区

<400> 98
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1 5

[0023]

	10	15	
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr	25	30	20
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	40	45	35
Ser Val Ile Ser Pro Ser Asp Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	55	60	50
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	90	95	85
Ala Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Cys Ser Tyr Ser Asn	105	110	100
Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	120	125	115

<210> 99
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 1E4轻链可变VL区

<400>	99		
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly	10	15	5
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser	25	30	20
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser	40	45	35
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro	55	60	50
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile	70	75	80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser	90	95	85
Thr His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	105	110	100

<210> 100

[0024]

<211> 112
 <212> PRT
 <213> 9B11轻链可变VL区

<400> 100
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly1 5
 10 15
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser20
 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser35
 40 45
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro50
 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile65
 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser85
 90 95
 Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Gln Lys100
 105 110

<210> 101
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 3A9轻链可变VL区

<400> 101
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly1 5
 10 15
 Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Thr20
 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile35
 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly50
 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Met Gln Ser65
 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Asn Tyr Pro Leu85
 90 95
 Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Arg100 105

<210> 102

[0025]

<211> 112

<212> PRT

<213> 10F10轻链可变VL区

<400> 102

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly1
10 15

5

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser20
25 30Asp Gly Glu Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser35
40 45Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro50
55 60Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile65
70 75 80Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly85
90 95Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys100
105 110

<210> 103

<211> 113

<212> PRT

<213> 11F11轻链可变VL区

<400> 103

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly1
10 15

5

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser20
25 30Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln35
40 45Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val50
55 60Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr65
70 75 80Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln85
90 95Tyr Tyr Ser Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile100
105 110

Lys

[0026]

<210> 104
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> AC8轻链可变VL区

<400> 104

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
 25 30

Asn Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45

Ile Tyr Tyr Asp Ser Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Ala Ser Leu85
 90 95

Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly100
 105 110

<210> 105
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> AE8轻链可变VL区

<400> 105

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn20
 25 30

Ser Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45

Ile Tyr Ala Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Trp Asp Ala Ser Leu85
 90 95

Asn Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly100
 105 110

[0027]

<210> 106

<211> 111

<212> PRT

<213> AA9轻链可变VL区

<400> 106

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45

Ile Tyr Gly Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ala Trp Asp Asp Ser Leu85
 90 95

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly100
 105 110

<210> 107

<211> 111

<212> PRT

<213> DG5轻链可变VL区

<400> 107

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
 25 30

Ala Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45

Ile Tyr Ser Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Ala Ser Leu85
 90 95

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly100

[0028]

105

110

<210> 108

<211> 111

<212> PRT

<213> AD2轻链可变VL区

<400> 108

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1
10 15

5

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn20
25 30Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
40 45Ile Tyr Ser Asp Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
55 60Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
70 75 80Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Trp Asp Ala Ser Leu85
90 95Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly100
105 110

<210> 109

<211> 111

<212> PRT

<213> AD7轻链可变VL区

<400> 109

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1
10 15

5

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
25 30Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
40 45Ile Tyr Ser Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
55 60Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
70 75 80Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ala Trp Asp Ser Ser Leu85
90 95

[0029]

Asn Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly100
105 110

<210> 110
<211> 111
<212> PRT
<213> DG11轻链可变VL区

<400> 110
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
25 30

Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
40 45

Ile Tyr Ala Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Ala Ser Leu85
90 95

Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly100
105 110

<210> 111
<211> 111
<212> PRT
<213> DG8轻链可变VL区

<400> 111
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
25 30

Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
40 45

Ile Tyr Ala Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ala Trp Asp Ser Ser Leu85
90 95

[0030]

Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly100
105 110

<210> 112

<211> 111

<212> PRT

<213> DA9轻链可变VL区

<400> 112

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Pro Ser Asn Ile Gly Asn Asn20
25 30

Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
40 45

Ile Tyr Ala Asn Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Trp Asp Ala Ser Leu85
90 95

Asn Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly100
105 110

<210> 113

<211> 445

<212> PRT

<213> 包含小鼠IgG2a恒定区的1E4全长重链

<400> 113

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr1 5
10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr20
25 30

Leu Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile35
40 45

Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe50
55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr65
70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys85

90	95	
Ala Ser Gly Asn Tyr Asp Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr	100	
105	110	
Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro	115	
120	125	
Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val	130	
135	140	
Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser	145	150 155 160
Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu	165	
170	175	
Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser	180	
185	190	
Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val	195	
200	205	
Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro	210	
215	220	
Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile	225	230 235 240
[0031] Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile	245	
250	255	
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln	260	
265	270	
Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln	275	
280	285	
Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu	290	
295	300	
Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys	305	310 315 320
Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys	325	
330	335	
Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro	340	
345	350	
Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr	355	
360	365	
Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys	370	
375	380	
Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly		

[0032]

385 390 395 400

Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val405
410 415

Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn420
425 430

His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys435 440
445

<210> 114
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> 包含小鼠IgG2a恒定区的9B11全长重链

<400> 114

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly1 5
10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr20
25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp50
55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Met65
70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr85
90 95

Tyr Cys Val Arg Gln Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu100
105 110

Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala115
120 125

Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu130
135 140

Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp165
170 175

Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro180
185 190

Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys195
200 205

[0033]

Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro210
215 220

Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro245
250 255

Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val260
265 270

Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr275
280 285

Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala290
295 300

Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser325
330 335

Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro340
345 350

Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val355
360 365

Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly370
375 380

Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp405
410 415

Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His420
425 430

Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys435
445

440

<210> 115

<211> 452

<212> PRT

<213> 包含小鼠IgG2a恒定区的3A9全长重链

<400> 115

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly1
10 15

5

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr20

25 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val35
 40 45
 Ala Thr Ile Ser Asn Gly Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val50
 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80
 Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys85
 90 95
 Ala Arg His Ile Thr Thr Val Arg Pro Thr Lys Tyr Phe Asp Tyr Trp100
 105 110
 Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro115
 120 125
 Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser130
 135 140
 Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro165
 170 175
 [0034] Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val180
 185 190
 Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His195
 200 205
 Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro210
 215 220
 Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu245
 250 255
 Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser260
 265 270
 Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu275
 280 285
 Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr290
 295 300
 Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro325

[0035]

330 335
 Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln340
 345 350
 Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val355
 360 365
 Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val370
 375 380
 Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg405
 410 415
 Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val420
 425 430
 Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg435
 440 445
 Thr Pro Gly Lys450

<210> 116
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> 包含小鼠IgG2a恒定区的10F10全长重链

<400> 116
 Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln1 5
 10 15
 Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Gly Gly20
 25 30
 Phe Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Asn Leu Glu Trp35
 40 45
 Met Gly Tyr Ile Asn Tyr Asp Gly Ser Ser Asp Tyr Ser Pro Ser Leu50
 55 60
 Lys Asn Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe65
 70 75 80
 Leu Asn Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys85
 90 95
 Val Arg Gly Asp Tyr Asp Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser100
 105 110
 Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys115
 120 125
 Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly130

135	140	
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser 145 150 155 160		
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr 170 175 165		
Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser 185 190 180		
Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys 200 205 195		
Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys 215 220 210		
Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro 225 230 235 240		
Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr 250 255 245		
Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser 265 270 260		
Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His 280 285 275		
[0036] Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile 295 300 290		
Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn 305 310 315 320		
Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys 330 335 325		
Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu 345 350 340		
Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe 360 365 355		
Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu 375 380 370		
Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr 385 390 395 400		
Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg 410 415 405		
Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His 425 430 420		
Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys 435 440		

[0037]

<210> 117
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 包含小鼠IgG2a恒定区的11F11全长重链

<400> 117

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe20
 25 30

Tyr Met Glu Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile35
 40 45

Ala Ala Ser Arg Asn Lys Ala Asn Asp Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala50
 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Ile Val Ser Arg Asp Thr Ser Gln Ser Ile65
 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr85
 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Ala His Gly Lys Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln100
 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val115
 120 125

Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr130
 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr
 145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val165
 170 175

Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser180
 185 190

Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala195
 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile210
 215 220

Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile245
 250 255

Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp260

[0038]

265

270

Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His275
280 285

Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg290
295 300

Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys
305 310 315 320

Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu325
330 335

Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr340
345 350

Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu355
360 365

Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp370
375 380

Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu405
410 415

Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His420
425 430

Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro435
440 445

Gly Lys450

<210> 118

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 包含小鼠IgG2a恒定区的AC8全长重链

<400> 118

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
10 15

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr20
25 30

Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
40 45

Ser Gly Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val150
 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95
 Ala Lys Ile Phe His Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100
 105 110
 Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala115
 120 125
 Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu130
 135 140
 Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160
 Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp165
 170 175
 Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro180
 185 190
 [0039] Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys195
 200 205
 Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro210
 215 220
 Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro245
 250 255
 Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val260
 265 270
 Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr275
 280 285
 Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala290
 295 300
 Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser325
 330 335
 Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro340
 345 350

[0040]

Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val355
360 365

Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly370
375 380

Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp405
410 415

Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His420
425 430

Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys435
445

440

<210> 119

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含小鼠IgG2a恒定区的AE8全长重链

<400> 119

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
10 15

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr20
25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
40 45

Ser Ala Ile Ser Ser Gly Gly Gly Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
90 95

Ala Arg Arg Pro Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100
105 110

Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala115
120 125

Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu130
135 140

[0041]

Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160
 Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp165
 170 175
 Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro180
 185 190
 Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys195
 200 205
 Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro210
 215 220
 Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro245
 250 255
 Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val260
 265 270
 Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr275
 280 285
 Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala290
 295 300
 Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser325
 330 335
 Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro340
 345 350
 Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val355
 360 365
 Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly370
 375 380
 Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp405
 410 415
 Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His420
 425 430
 Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys435
 445 440

[0042]

<210> 120
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含小鼠IgG2a恒定区的AA9全长重链

<400> 120
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly 5
 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr20
 25 30
 Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45
 Ser Ala Ile Tyr Pro Gly Ser Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95
 Ala Arg His Ala Ala Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100
 105 110
 Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala115
 120 125
 Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu130
 135 140
 Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160
 Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp165
 170 175
 Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro180
 185 190
 Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys195
 200 205
 Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro210
 215 220
 Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

[0043]

Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro245
250 255

Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val260
265 270

Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr275
280 285

Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala290
295 300

Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser325
330 335

Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro340
345 350

Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val355
360 365

Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly370
375 380

Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp405
410 415

Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His420
425 430

Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys435
445

440

<210> 121

<211> 457

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含小鼠IgG2a恒定区的DG5全长重链

<400> 121

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
10 15

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr20
25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
40 45

Ser Val Ile Ser Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
90 95

Ala Arg Val Thr Ile Ala Cys Pro Thr Lys Arg Cys Ser Tyr Ser Asn100
105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala115
120 125

Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp130
135 140

Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe
145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly165
170 175

[0044] Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser180
185 190

Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr195
200 205

Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile210
215 220

Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro
225 230 235 240

Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys245
250 255

Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val260
265 270

Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe275
280 285

Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu290
295 300

Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
305 310 315 320

Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys325
330 335

[0045]

Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser340
345 350

Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met355
360 365

Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro370
375 380

Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn
385 390 395 400

Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met405
410 415

Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser420
425 430

Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr435
440 445

Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys450 455

<210> 122

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含小鼠IgG2a恒定区的AD2全长重链

<400> 122

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
10 15

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr20
25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
40 45

Ser Ala Ile Ser His Ser Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
90 95

Ala Arg Ser Gly Asn Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100
105 110

Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala115
120 125

Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu130
 135 140

Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp165
 170 175

Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro180
 185 190

Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys195
 200 205

Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro210
 215 220

Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro245
 250 255

Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val260
 265 270

[0046] Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr275
 280 285

Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala290
 295 300

Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys
 305 310 315 320

Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser325
 330 335

Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro340
 345 350

Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val355
 360 365

Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly370
 375 380

Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400

Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp405
 410 415

Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His420
 425 430

[0047]

Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys435 440
445

<210> 123

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含小鼠IgG2a恒定区的AD7全长重链

<400> 123

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1 5
10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr20
25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
40 45

Ser Ala Ile Ser Pro Asn Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
90 95

Ala Arg Arg Pro Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100
105 110

Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala115
120 125

Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu130
135 140

Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp165
170 175

Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro180
185 190

Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys195
200 205

Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro210
215 220

[0048]

Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro
 250 255
 Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val
 265 270
 Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr
 280 285
 Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala
 290 300
 Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser
 330 335
 Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro
 345 350
 Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val
 360 365
 Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly
 375 380
 Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp
 410 415
 Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His
 425 430
 Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 445 440

<210> 124

<211> 457

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含小鼠IgG2a恒定区的DG11全长重链

<400> 124

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

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr20
 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45
 Ser Val Ile Ser Pro Gly Ser Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95
 Ala Lys Val Thr Ile Ser Cys Ala Arg Met Arg Cys Ser Tyr Ala Asp100
 105 110
 Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala115
 120 125
 Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp130
 135 140
 Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe
 145 150 155 160
 [0049] Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly165
 170 175
 Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser180
 185 190
 Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr195
 200 205
 Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile210
 215 220
 Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro
 225 230 235 240
 Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys245
 250 255
 Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val260
 265 270
 Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe275
 280 285
 Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu290
 295 300
 Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
 305 310 315 320

[0050]

Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys325
330 335

Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser340
345 350

Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met355
360 365

Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro370
375 380

Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn
385 390 395 400

Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met405
410 415

Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser420
425 430

Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr435
440 445

Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys450 455

<210> 125

<211> 457

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含小鼠IgG2a恒定区的DG8全长重链

<400> 125

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
10 15

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His20
25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
40 45

Ser Val Ile Ser His Gly Asn Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
90 95

Ala Arg Val Ala Ser Arg Cys Arg Arg Gly Arg Cys Ser Tyr Ser Asp100

105
 Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala115
 120 125

Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp130
 135 140

Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe
 145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly165
 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser180
 185 190

Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr195
 200 205

Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile210
 215 220

Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro
 225 230 235 240

Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys245
 250 255

[0051]

Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val260
 265 270

Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe275
 280 285

Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu290
 295 300

Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
 305 310 315 320

Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys325
 330 335

Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser340
 345 350

Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met355
 360 365

Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro370
 375 380

Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn
 385 390 395 400

Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met405

[0052]

410

415

Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser420
425 430

Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr435
440 445

Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys450 455

<210> 126

<211> 457

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含小鼠IgG2a恒定区的DA9全长重链

<400> 126

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
10 15

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr20
25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
40 45

Ser Val Ile Ser Pro Ser Asp Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
90 95

Ala Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Cys Ser Tyr Ser Asn100
105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala115
120 125

Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp130
135 140

Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe
145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly165
170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser180
185 190

Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr195
 200 205
 Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile210
 215 220
 Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro
 225 230 235 240
 Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys245
 250 255
 Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val260
 265 270
 Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe275
 280 285
 Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu290
 295 300
 Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
 305 310 315 320
 Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys325
 330 335
 Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser340
 [0053] 345 350
 Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met355
 360 365
 Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro370
 375 380
 Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn
 385 390 395 400
 Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met405
 410 415
 Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser420
 425 430
 Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr435
 440 445
 Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys450 455
 <210> 127
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>

[0054]

<223> 包含人IgG1恒定区的1E4全长重链

<400> 127

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr1
 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr20
 25 30

Leu Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile35
 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe50
 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr65
 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys85
 90 95

Ala Ser Gly Asn Tyr Asp Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr100
 105 110

Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro115
 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val130
 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
 145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly165
 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly180
 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys195
 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys210
 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu245
 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys260
 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys275
 280 285

5

[0055]

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu290
 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys325
 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser340
 345 350

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys355
 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln370
 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln405
 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn420
 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys435 440
 445

<210> 128

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含人IgG1恒定区的9B11全长重链

<400> 128

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly1 5
 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr20
 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp50
 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Met65
 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr85
 90 95

Tyr Cys Val Arg Gln Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu100
 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala115
 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu130
 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser165
 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu180
 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr195
 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr210
 215 220

[0056] Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro245
 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val260
 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr275
 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val290
 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser325
 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro340
 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val355
 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly370
 375 380

[0057]

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp405
 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His420
 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys435 440
 445

<210> 129

<211> 452

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含人IgG1恒定区的3A9全长重链

<400> 129

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly1 5
 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr20
 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val35
 40 45

Ala Thr Ile Ser Asn Gly Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val50
 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys85
 90 95

Ala Arg His Ile Thr Thr Val Arg Pro Thr Lys Tyr Phe Asp Tyr Trp100
 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro115
 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr130
 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro165
 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr180
185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn195
200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser210
215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu245
250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser260
265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu275
280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr290
295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

[0058] Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro325
330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln340
345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val355
360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val370
375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr405
410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val420
425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu435
440 445

Ser Pro Gly Lys450

<210> 130
<211> 443
<212> PRT

[0059]

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含人IgG1恒定区的10F10全长重链

<400> 130

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln1
10 15

5

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Gly Gly20
25 30Phe Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Asn Leu Glu Trp35
40 45Met Gly Tyr Ile Asn Tyr Asp Gly Ser Ser Asp Tyr Ser Pro Ser Leu50
55 60Lys Asn Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe65
70 75 80Leu Asn Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys85
90 95Val Arg Gly Asp Tyr Asp Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser100
105 110Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser115
120 125Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp130
135 140Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
145 150 155 160Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr165
170 175Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln180
185 190Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp195
200 205Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro210
215 220Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225 230 235 240Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr245
250 255Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn260
265 270

[0060]

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg275
280 285

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val290
295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305 310 315 320

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys325
330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu340
345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe355
360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu370
375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly405
410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr420
425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys435 440

<210> 131

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含人IgG1恒定区的11F11全长重链

<400> 131

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
10 15

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe20
25 30

Tyr Met Glu Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile35
40 45

Ala Ala Ser Arg Asn Lys Ala Asn Asp Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala50
55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Ile Val Ser Arg Asp Thr Ser Gln Ser Ile65

70	75	80
Leu Tyr Leu Gln Met 90	Asn Ala Leu Arg Ala 95	Glu Asp Thr Ala Ile Tyr85
Tyr Cys Ala Arg Asp 105	Ala His Gly Lys Pro 110	Phe Ala Tyr Trp Gly Gln100
Gly Thr Leu Val Thr 120	Val Ser Ala Ala Ser 125	Thr Lys Gly Pro Ser Val115
Phe Pro Leu Ala Pro 135	Ser Ser Lys Ser Thr 140	Ser Gly Gly Thr Ala Ala130
Leu Gly Cys Leu Val 145	Lys Asp Tyr Phe Pro 150	Glu Pro Val Thr Val Ser 160
Trp Asn Ser Gly Ala 170	Leu Thr Ser Gly Val 175	His Thr Phe Pro Ala Val165
Leu Gln Ser Ser Gly 185	Leu Tyr Ser Leu Ser 190	Ser Val Val Thr Val Pro180
Ser Ser Ser Leu Gly 200	Thr Gln Thr Tyr Ile 205	Cys Asn Val Asn His Lys195
Pro Ser Asn Thr Lys 215	Val Asp Lys Lys Val 220	Glu Pro Lys Ser Cys Asp210
[0061] Lys Thr His Thr Cys 225	Pro Pro Cys Pro Ala 230	Pro Glu Leu Leu Gly Gly 240
Pro Ser Val Phe Leu 250	Phe Pro Pro Lys Pro 255	Lys Asp Thr Leu Met Ile245
Ser Arg Thr Pro Glu 265	Val Thr Cys Val Val 270	Val Asp Val Ser His Glu260
Asp Pro Glu Val Lys 280	Phe Asn Trp Tyr Val 285	Asp Gly Val Glu Val His275
Asn Ala Lys Thr Lys 295	Pro Arg Glu Glu Gln 300	Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg290
Val Val Ser Val Leu 305	Thr Val Leu His Gln 310	Asp Trp Leu Asn Gly Lys 320
Glu Tyr Lys Cys Lys 330	Val Ser Asn Lys Ala 335	Leu Pro Ala Pro Ile Glu325
Lys Thr Ile Ser Lys 345	Ala Lys Gly Gln Pro 350	Arg Glu Pro Gln Val Tyr340
Thr Leu Pro Pro Ser 360	Arg Glu Glu Met Thr 365	Lys Asn Gln Val Ser Leu355
Thr Cys Leu Val Lys 370	Gly Phe Tyr Pro Ser 375	Asp Ile Ala Val Glu Trp370

[0062]

375

380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp405
 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His420
 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro435
 440 445

Gly Lys450

<210> 132

<211> 446

<212> PRT

<213> 包含人IgG1恒定区的AC8全长重链

<400> 132

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

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr20
 25 30

Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45

Ser Gly Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95

Ala Lys Ile Phe His Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100
 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala115
 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu130
 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser165
 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu180

[0064]

<400> 133

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1 5
 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr20
 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45

Ser Ala Ile Ser Ser Gly Gly Gly Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95

Ala Arg Arg Pro Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100
 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala115
 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu130
 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser165
 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu180
 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr195
 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr210
 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro245
 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val260
 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr275
 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val290
 295 300

[0065]

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser325
 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro340
 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val355
 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly370
 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp405
 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His420
 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys435 440
 445

<210> 134
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> 包含人IgG1恒定区的AA9全长重链

<400> 134 5
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr20
 25 30
 Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45
 Ser Ala Ile Tyr Pro Gly Ser Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95
 Ala Arg His Ala Ala Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100
 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala115
 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu130
 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser165
 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu180
 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr195
 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr210
 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro245
 250 255

[0066] Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val260
 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr275
 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val290
 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser325
 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro340
 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val355
 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly370
 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp405
 410 415

[0067]

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His420
425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys435 440
445

<210> 135

<211> 457

<212> PRT

<213> 包含人IgG1恒定区的DG5全长重链

<400> 135

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1 5
10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr20
25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
40 45

Ser Val Ile Ser Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
90 95

Ala Arg Val Thr Ile Ala Cys Pro Thr Lys Arg Cys Ser Tyr Ser Asn100
105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala115
120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser130
135 140

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly165
170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu180
185 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr195
200 205

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys210
215 220

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

[0070]

345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val355
 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly370
 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp405
 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His420
 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys435 440
 445

- <210> 137
- <211> 446
- <212> PRT
- <213> 包含人IgG1恒定区的AD7全长重链

<400> 137 5
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr20
 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45
 Ser Ala Ile Ser Pro Asn Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95
 Ala Arg Arg Pro Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val100
 105 110
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala115
 120 125
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu130
 135 140
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

[0071]

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser165
170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu180
185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr195
200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr210
215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro245
250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val260
265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr275
280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val290
295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser325
330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro340
345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val355
360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly370
375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp405
410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His420
425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys435
445

440

[0072]

<210> 138
 <211> 457
 <212> PRT
 <213> 包含人IgG1恒定区的DG11全长重链

<400> 138

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
 10 15

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr20
 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45

Ser Val Ile Ser Pro Gly Ser Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95

Ala Lys Val Thr Ile Ser Cys Ala Arg Met Arg Cys Ser Tyr Ala Asp100
 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala115
 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser130
 135 140

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly165
 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu180
 185 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr195
 200 205

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys210
 215 220

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 225 230 235 240

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys245
 250 255

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val260
 265 270

[0073]

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr275
280 285

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu290
295 300

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
305 310 315 320

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys325
330 335

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln340
345 350

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met355
360 365

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro370
375 380

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
385 390 395 400

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu405
410 415

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val420
425 430

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln435
440 445

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys450 455

<210> 139

<211> 457

<212> PRT

<213> 包含人IgG1恒定区的DG8全长重链

<400> 139

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
10 15

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His20
25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
40 45

Ser Val Ile Ser His Gly Asn Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95

Ala Arg Val Ala Ser Arg Cys Arg Arg Gly Arg Cys Ser Tyr Ser Asp100
 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala115
 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser130
 135 140

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly165
 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu180
 185 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr195
 200 205

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys210
 215 220

[0074] Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 225 230 235 240

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys245
 250 255

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val260
 265 270

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr275
 280 285

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu290
 295 300

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 305 310 315 320

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys325
 330 335

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln340
 345 350

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met355
 360 365

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro370
 375 380

[0075]

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 385 390 395 400

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu405
 410 415

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val420
 425 430

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln435
 440 445

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys450 455

<210> 140

<211> 457

<212> PRT

<213> 包含人IgG1恒定区的DA9全长重链

<400> 140

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly1
 10 15

5

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr20
 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val35
 40 45

Ser Val Ile Ser Pro Ser Asp Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val50
 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr65
 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys85
 90 95

Ala Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Cys Ser Tyr Ser Asn100
 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala115
 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser130
 135 140

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly165
 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu180
 185 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr195
 200 205
 Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys210
 215 220
 Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 225 230 235 240
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys245
 250 255
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val260
 265 270
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr275
 280 285
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu290
 295 300
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 305 310 315 320
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys325
 330 335
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln340
 [0076] 345 350
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met355
 360 365
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro370
 375 380
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 385 390 395 400
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu405
 410 415
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val420
 425 430
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln435
 440 445
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys450 455

 <210> 141
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> 包含小鼠 x 恒定区的1E4全长轻链

 <400> 141

[0077]

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly1 5
 10 15
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser20
 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser35
 40 45
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro50
 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile65
 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser85
 90 95
 Thr His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys100
 105 110
 Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln115
 120 125
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr130
 135 140
 Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
 145 150 155 160
 Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr165
 170 175
 Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg180
 185 190
 His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro195
 200 205
 Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys210 215

<210> 142

<211> 218

<212> PRT

<213> 包含小鼠κ恒定区的9B11全长轻链

<400> 142

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly1 5
 10 15
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser20
 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser35
 40 45

[0078]

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro50
55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile65
70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser85
90 95

Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Gln Lys100
105 110

Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln115
120 125

Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr130
135 140

Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
145 150 155 160

Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr165
170 175

Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg180
185 190

His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro195
200 205

Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys210 215

<210> 143

<211> 213

<212> PRT

<213> 包含小鼠 κ 恒定区的3A9全长轻链

<400> 143

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly1
10 15 5

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Thr20
25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile35
40 45

Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly50
55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Met Gln Ser65
70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Asn Tyr Pro Leu85
90 95

[0079]

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Arg Ala Asp Ala Ala Pro100
105 110

Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly115
120 125

Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn130
135 140

Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn
145 150 155 160

Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser165
170 175

Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr180
185 190

Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe195
200 205

Asn Arg Asn Glu Cys210

<210> 144

<211> 218

<212> PRT

<213> 包含小鼠 κ 恒定区的10F10全长轻链

<400> 144

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly1
10 15 5

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser20
25 30

Asp Gly Glu Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser35
40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro50
55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile65
70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly85
90 95

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys100
105 110

Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln115
120 125

Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr130
135 140

[0080]

Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
 145 150 155 160

Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr165
 170 175

Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg180
 185 190

His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro195
 200 205

Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys210 215

<210> 145
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> 包含小鼠 κ 恒定区的11F11全长轻链

<400> 145
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly1 5
 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser20
 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln35
 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val50
 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr65
 70 75 80

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln85
 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile100
 105 110

Lys Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu115
 120 125

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe130
 135 140

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
 145 150 155 160

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser165
 170 175

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu180
 185 190

[0081]

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser195
200 205

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys210 215

<210> 146

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含小鼠 κ 恒定区的AC8全长轻链

<400> 146

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
25 30

Asn Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
40 45

Ile Tyr Tyr Asp Ser Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Ala Ser Leu85
90 95

Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ala100
105 110

Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu115
120 125

Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro130
135 140

Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn
145 150 155 160

Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr165
170 175

Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His180
185 190

Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile195
200 205

Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys210 215

[0082]

<210> 147
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含小鼠 κ 恒定区的AE8全长轻链

<400> 147
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn20
 25 30
 Ser Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45
 Ile Tyr Ala Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
 70 75 80
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Trp Asp Ala Ser Leu85
 90 95
 Asn Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ala100
 105 110
 Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu115
 120 125
 Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro130
 135 140
 Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn
 145 150 155 160
 Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr165
 170 175
 Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His180
 185 190
 Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile195
 200 205
 Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys210 215

<210> 148
 <211> 217
 <212> PRT

[0083]

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含小鼠 κ 恒定区的AA9全长轻链

<400> 148

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1
10 15

5

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
25 30Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
40 45Ile Tyr Gly Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
55 60Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
70 75 80Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ala Trp Asp Asp Ser Leu85
90 95Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ala100
105 110Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu115
120 125Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro130
135 140Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn
145 150 155 160Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr165
170 175Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His180
185 190Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile195
200 205

Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys210 215

<210> 149

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含小鼠 κ 恒定区的DG5全长轻链

[0084]

<400> 149

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
 25 30

Ala Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45

Ile Tyr Ser Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Ala Ser Leu85
 90 95

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ala100
 105 110

Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu115
 120 125

Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro130
 135 140

Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn
 145 150 155 160

Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr165
 170 175

Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His180
 185 190

Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile195
 200 205

Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys210 215

<210> 150

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含小鼠 κ 恒定区的AD2全长轻链

<400> 150

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
 10 15

[0085]

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn20
 25 30

Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45

Ile Tyr Ser Asp Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Trp Asp Ala Ser Leu85
 90 95

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ala100
 105 110

Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu115
 120 125

Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro130
 135 140

Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn
 145 150 155 160

Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr165
 170 175

Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His180
 185 190

Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile195
 200 205

Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys210 215

<210> 151
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含小鼠 κ 恒定区的AD7全长轻链

<400> 151
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
 25 30

Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45

[0086]

Ile Tyr Ser Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ala Trp Asp Ser Ser Leu85
90 95

Asn Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ala100
105 110

Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu115
120 125

Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro130
135 140

Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn
145 150 155 160

Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr165
170 175

Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His180
185 190

Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile195
200 205

Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys210 215

<210> 152
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
<223> 包含小鼠 κ 恒定区的DG11全长轻链

<400> 152
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
25 30

Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
40 45

Ile Tyr Ala Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65

[0088]

Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ala100
105 110

Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu115
120 125

Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro130
135 140

Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn
145 150 155 160

Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr165
170 175

Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His180
185 190

Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile195
200 205

Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys210 215

<210> 154

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含小鼠 κ 恒定区的DA9全长轻链

<400> 154

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1
10 15

5

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Pro Ser Asn Ile Gly Asn Asn20
25 30

Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
40 45

Ile Tyr Ala Asn Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Trp Asp Ala Ser Leu85
90 95

Asn Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ala100
105 110

Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu115
120 125

[0089]

Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro130
 135 140

Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn
 145 150 155 160

Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr165
 170 175

Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His180
 185 190

Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile195
 200 205

Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys210 215

<210> 155

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含人 κ 恒定区的1E4全长轻链

<400> 155

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly1
 10 15

5

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser20
 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser35
 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro50
 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile65
 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser85
 90 95

Thr His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys100
 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu115
 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe130
 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

[0091]

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu180
185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser195
200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys210 215

<210> 157

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含人 κ 恒定区的3A9全长轻链

<400> 157

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly1
10 15 5

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Thr20
25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile35
40 45

Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly50
55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Met Gln Ser65
70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Asn Tyr Pro Leu85
90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Arg Arg Thr Val Ala Ala100
105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly115
120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala130
135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser165
170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr180
185 190

[0092]

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser195
200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys210

<210> 158

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含人κ恒定区的10F10全长轻链

<400> 158

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly1
10 15 5Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser20
25 30Asp Gly Glu Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser35
40 45Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro50
55 60Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile65
70 75 80Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly85
90 95Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys100
105 110Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu115
120 125Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe130
135 140Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser165
170 175Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu180
185 190Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser195
200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys210 215

[0093]

<210> 159
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含人 κ 恒定区的11F11全长轻链

<400> 159

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly1 5
 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser20
 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln35
 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val50
 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr65
 70 75 80

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln85
 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile100
 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp115
 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn130
 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp165
 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr180
 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser195
 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys210 215
 220

<210> 160

<211> 218

[0094]

<212> PRT
 <213> 包含人 κ 恒定区的AC8全长轻链

<400> 160

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
 25 30

Asn Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45

Ile Tyr Tyr Asp Ser Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Ala Ser Leu85
 90 95

Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Arg100
 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln115
 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr130
 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr165
 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys180
 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro195
 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys210 215

<210> 161
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> 包含人 κ 恒定区的AE8全长轻链

<400> 161

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn20
 25 30

[0095]

Ser Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
40 45

Ile Tyr Ala Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Trp Asp Ala Ser Leu85
90 95

Asn Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Arg100
105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln115
120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr130
135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr165
170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys180
185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro195
200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys210 215

<210> 162

<211> 218

<212> PRT

<213> 包含人κ恒定区的AA9全长轻链

<400> 162

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1
10 15

5

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
40 45

Ile Tyr Gly Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
70 75 80

[0096]

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ala Trp Asp Asp Ser Leu85
 90 95

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Arg100
 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln115
 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr130
 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr165
 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys180
 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro195
 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys210 215

<210> 163

<211> 218

<212> PRT

<213> 包含人κ恒定区的DG5全长轻链

<400> 163

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1
 10 15 5

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
 25 30

Ala Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45

Ile Tyr Ser Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Ala Ser Leu85
 90 95

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Arg100
 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln115
 120 125

[0097]

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr130
 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr165
 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys180
 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro195
 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys210 215

<210> 164

<211> 218

<212> PRT

<213> 包含人κ恒定区的AD2全长轻链

<400> 164

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1
 10 15 5

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn20
 25 30

Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45

Ile Tyr Ser Asp Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Trp Asp Ala Ser Leu85
 90 95

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Arg100
 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln115
 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr130
 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr165
 170 175

[0098]

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys180
185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro195
200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys210 215

<210> 165

<211> 218

<212> PRT

<213> 包含人κ恒定区的AD7全长轻链

<400> 165

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1
10 15 5

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
25 30

Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
40 45

Ile Tyr Ser Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ala Trp Asp Ser Ser Leu85
90 95

Asn Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Arg100
105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln115
120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr130
135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr165
170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys180
185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro195
200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys210 215

[0099]

<210> 166
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> 包含人 κ 恒定区的DG11全长轻链

<400> 166
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
 25 30
 Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45
 Ile Tyr Ala Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
 70 75 80
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Ala Ser Leu85
 90 95
 Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Arg100
 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln115
 120 125
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr130
 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr165
 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys180
 185 190
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro195
 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys210 215

<210> 167
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> 包含人 κ 恒定区的DG8全长轻链

<400> 167
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1 5
 10 15

[0100]

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn20
 25 30

Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45

Ile Tyr Ala Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ala Trp Asp Ser Ser Leu85
 90 95

Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Arg100
 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln115
 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr130
 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr165
 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys180
 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro195
 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys210 215

<210> 168

<211> 218

<212> PRT

<213> 包含人κ恒定区的DA9全长轻链

<400> 168

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln1
 10 15

5

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Pro Ser Asn Ile Gly Asn Asn20
 25 30

Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu35
 40 45

Ile Tyr Ala Asn Ser His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser50
 55 60

[0101]

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg65
 70 75 80
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Trp Asp Ala Ser Leu85
 90 95
 Asn Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Arg100
 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln115
 120 125
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr130
 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr165
 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys180
 185 190
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro195
 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys210 215

<210> 169
 <211> 1335
 <212> DNA
 <213> 包含小鼠IgG2a恒定区的1E4重链

<400> 169
 gaagttcagc tgcaagaatc tggcgccgaa ctctgtgcgac ctggcacctc tgtgaaagtg 60
 tcttgcaagg cctctggcta cgcttcacc aactacctga tcgagtgggt caagcagagg 120
 cctggacagg gacttgagtg gatcggagtg atcaatcctg gctccggcgg caccaattac 180
 aacgagaagt tcaaggcaa agctaccctg accgccaca agtcctcttc caccgcttac 240
 atgcagctgt ccagcctgac ctctgacgac tctgccgtgt acttctgcgc ctctggcaac 300
 tacgatacct attggggcca gggcacctg gtcacagtgt ctgctgcca gaccaccgcc 360
 cccagcgtgt accccctggc ccccggtgac ggcgacacca ccggcagcag cgtgaccctg 420
 ggctgcctgg tgaagggcta cttccccgag cccgtgacct tgacctggaa cagcggcagc 480
 ctgagcagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcgacctgta caccctgagc 540
 agcagcgtga ccgtgaccag cagcacctgg cccagccaga gcatcacctg caacgtggcc 600

[0102]		
caccccgcca gcagcaccaa ggtggacaag aagatcgagc ccagaggccc caccatcaag		660
ccctgcccc cctgcaagtg ccccgcccc aacctgctgg gcgccccag cgtgttcac		720
ttcccccca agatcaagga cgtgctgatg atcagcctga gccccatcgt gacctgcgtg		780
gtggtggacg tgagcgagga cgaccccgac gtgcagatca gctggttcgt gaacaacgtg		840
gaggtgcaca ccgcccagac ccagaccac agagaggact acaacagcac cctgagagtg		900
gtgagcgccc tgcccatcca gcaccaggac tggatgagcg gcaaggagtt caagtgaag		960
gtgaacaaca aggacctgcc cgccccatc gagagaacca tcagcaagcc caagggcagc		1020
gtgagagccc cccaggtgta cgtgctgccc cccccgagg aggagatgac caagaagcag		1080
gtgacctga cctgcatggt gaccgacttc atgcccgagg acatctacgt ggagtggacc		1140
aacaacggca agaccgagct gaactacaag aacaccgagc ccgtgctgga cagcgacggc		1200
agctacttca tgtacagcaa gctgagagtg gagaagaaga actgggtgga gaaaaacagc		1260
tacagctgca gcgtggtgca cgagggcctg cacaaccacc acaccaccaa gagcttcagc		1320
agaacccccg gcaag		1335

- <210> 170
 <211> 1338
 <212> DNA
 <213> 包含小鼠IgG2a恒定区的9B11重链

<400> 170		
gaagttcagc tgcaagaatc tggcggcggga ctggtgcagc ctaagggatc tctgaagctg		60
tcttgtgccg cctccggett cacettcaac acctacgcca tgaactgggt ccgacaggct		120
cctggcaaag gactggaatg gtcgccccg atcagatcca agtctaaca ctacgccacc		180
tactacgccg actccgtgaa ggacagattc accatctctc gggacgactc ccagtccatg		240
ctgtacctgc agatgaacaa cctgaaaacc gaggacaccg ccatgtacta ctgcgtgcgg		300
caggatttcg attactgggg ccagggcaca accctgaccg tgtcctctgc caagaccacc		360
gccccagcg tgtacccct ggccccgtg tgcggcgaca ccaccggcag cagcgtgacc		420
ctgggctgcc tgggtgaagg ctacttcccc gagcccgtga ccctgacctg gaacagcggc		480
agcctgagca gcggcgtgca caccttcccc gccgtgctgc agagcgacct gtacaccctg		540
agcagcagcg tgaccgtgac cagcagcacc tggcccagcc agagcatcac ctgcaacgtg		600
gcccccccc ccagcagcac caaggtggac aagaagatcg agcccagagg ccccaccatc		660
aagccctgcc ccccctgcaa gtgccccgcc cccaacctgc tgggcggccc cagcgtgttc		720

[0103]

```

atcttcccc ccaagatcaa ggacgtgctg atgatcagcc tgagcccat cgtgacctgc      780
gtggtggtgg acgtgagcga ggacgacccc gacgtgcaga tcagctggtt cgtgaacaac      840
gtggaggtgc acaccgcca gaccagacc cacagagagg actacaacag caccctgaga      900
gtggtgagcg ccctgcccac ccagcaccag gactggatga gcggcaagga gttcaagtgc      960
aaggtgaaca acaaggacct gcccgcccc atcgagagaa ccatcagcaa gcccagggc      1020
agcgtgagag cccccaggt gtacgtgctg ccccccccg aggaggagat gaccaagaag      1080
caggtgacc tgacctgcat ggtgaccgac ttcctgccc aggacatcta cgtggagtgg      1140
accaacaacg gcaagaccga gctgaactac aagaacacc agccctgct ggacagcgac      1200
ggcagctact tcattgtacag caagctgaga gtggagaaga agaactgggt ggagagaaac      1260
agctacagct gcagcgtggt gcacgagggc ctgcacaacc accacaccac caagagcttc      1320
agcagaacct ccggcaag

```

<210> 171
<211> 1356
<212> DNA
<213> 包含小鼠IgG2a恒定区的3A9重链

```

<400> 171
gaagttcagc tgcaagaatc tggcggcggg cttgtgaaac ctggcggctc tctgaagctg      60
tcttgtgccg cctctggctt caccttctcc tcttacgcca tgtcctgggt ccgacagacc      120
cctgagaaga gactggaatg ggctgccacc atctctaacg gcggaggcta cacctactat      180
cccgactccg tgaaggcag attcaccatc tcagagaca acgccaagaa caccctgtac      240
ctgcagatgt ccagcctgag atctgaggac accgcatgt actactgcgc cagacatata      300
accaccgtgc ggcccaccaa gtacttccgat tattggggcc agggcaccac actgaccgtg      360
tcctctgcca agaccaccgc cccagcgtg taccctctgg ccccgtgtg cggcgacacc      420
accggcagca gcgtgaccct gggctgcctg gtgaagggt acttccccga gccctgacc      480
ctgacctgga acagcggcag cctgagcagc ggcgtgcaca cttccccgc cgtgctgcag      540
agcgacctgt acaccctgag cagcagcgtg accgtgacca gcagcacctg gccagccag      600
agcatcacct gcaacgtggc ccaccccgcc agcagcacca aggtggacaa gaagatcgag      660
cccagaggcc ccacatcaa gccctgcccc cctgcaagt gcccccccc caacctgctg      720
ggcggcccca gcgtgttcat cttcccccc aagatcaagg acgtgctgat gatcagcctg      780
agcccatcgc tgacctgcgt ggtggtggac gtgagcgagg acgacccga cgtgcagatc      840

```

[0104]

```

agctggttcg tgaacaacgt ggaggtgcac accgcccaga cccagaccca cagagaggac      900
tacaacagca ccctgagagt ggtgagcgcc ctgccatcc agcaccagga ctggatgagc      960
ggcaaggagt tcaagtcaa ggtgaacaac aaggacctgc ccgccccat cgagagaacc      1020
atcagcaagc ccaagggcag cgtgagagcc ccccaggtgt acgtgctgcc ccccccgag      1080
gaggagatga ccaagaagca ggtgaccctg acctgcatgg tgaccgactt catgcccgag      1140
gacatctacg tggagtggac caacaacggc aagaccgagc tgaactaaa gaacaccgag      1200
cccgctctgg acagcgacgg cagctacttc atgtacagca agctgagagt ggagaagaag      1260
aactgggtgg agagaaacag ctacagctgc agcgtggtgc acgagggcct gcacaaccac      1320
cacaccacca agagcttcag cagaaccccc ggcaag      1356

```

```

<210> 172
<211> 1329
<212> DNA
<213> 包含小鼠IgG2a恒定区的10F10重链

```

<400> 172

```

gaagttcagc tgcaagagtc tggccctggc ctggtcaaac cttctcagtc tctgtccctg      60
acctgctccg tgaccggata ttctatcacc ggcggcttct actggaactg gatcagacag      120
ttccccggca acaacctgga atggatgggc tacatcaact acgacggctc ctccgactac      180
tcccctagcc tgaagaaccg gatctccatc accagagaca cctccaagaa ccagttcttc      240
ctgaacctga acagcgtgac caccgaggac accgccacct attattgtgt gcggggcgat      300
tatgactggg gccagggaac aacctgacc gtgtcctctg ccaagaccac cgccccagc      360
gtgtaccccc tggccccctg gtgcggcgac accaccggca gcagcgtgac cctgggctgc      420
ctggtgaagg gctacttccc cgagcccgtg accctgacct ggaacagcgg cagcctgagc      480
agcggcgtgc acacattccc cgccgtgctg cagagcgacc tgtacacct gagcagcagc      540
gtgaccgtga ccagcagcac ctggcccagc cagagcatca cctgcaactg ggcccccccc      600
gccagcagca ccaaggtgga caagaagatc gagcccagag gccccaccat caagccctgc      660
ccccctgca agtgccccgc cccaacctg ctgggcggcc ccagcgtggt catcttcccc      720
cccaagatca aggacgtgct gatgatcagc ctgagcccca tcgtgacctg cgtggtggtg      780
gacgtgagcg aggacgacc cgacgtgcag atcagctggt tcgtgaacaa cgtggaggtg      840
cacaccgccc agaccagac ccacagagag gactacaaca gcaccctgag agtggtgagc      900
gccctgccc tccagacca ggactggatg agcggcaagg agttcaagt caaggtgaac      960

```

[0105]

aacaaggacc tgcccccccc catcgagaga accatcagca agcccaaggg cagcgtgaga	1020
gccccccagg tgtacgtgct gcccccccc gaggaggaga tgaccaagaa gcaggtgacc	1080
ctgacctgca tggtagaccga ctcatgccc gaggacatct acgtggagtg gaccaacaac	1140
ggcaagaccg agctgaacta caagaacacc gagcccgtgc tggacagcga cggcagctac	1200
ttcatgtaca gcaagctgag agtggagaag aagaactggg tggagagaaa cagctacagc	1260
tgcagcgtgg tgcacgaggg cctgcacaac caccacacca ccaagagctt cagcagaacc	1320
cccggcaag	1329

<210> 173

<211> 1350

<212> DNA

<213> 包含小鼠IgG2a恒定区的11F11重链

<400> 173

gaagttcagc tgcaagaatc tggcggcgga ttggttcagc ctggcggatc tctgagactg	60
tcttgtgcca cctccggctt caccttctcc gacttctaca tggaatgggt ccgacagcct	120
cctggcaaga gactggaatg gatcgccgcc tccagaaaca aggccaacga ctacaccacc	180
gagtactccg cctctgtgaa gggcagattc atcgtgtctc gggacaccag ccagtccatc	240
ctgtacctgc agatgaatgc cctgagagcc gaggacaccg ccactacta ctgtgctaga	300
gatgcccacg gcaagccttt tgcttattgg ggccagggca ccctggtcac cgtgtctgct	360
gccaagacca ccgccccag cgtgtacccc ctggccccg tgtgcggcga caccaccggc	420
agcagcgtga ccctgggctg cctggtgaag ggctacttcc ccgagcccgt gaccctgacc	480
tggaacagcg gcagcctgag cagcggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagcgac	540
ctgtacacc tgagcagcag cgtgaccgtg accagcagca cctggcccag ccagagcatc	600
acctgcaacg tggcccaccc cgccagcagc accaaggtgg acaagaagat cgagcccaga	660
ggccccacca tcaagccctg cccccctgc aagtgccccg ccccaacct gctgggcggc	720
cccagcgtgt tcatcttccc cccaagatc aaggacgtgc tgatgatcag cctgagcccc	780
atcgtgacct gcgtggtggt ggacgtgagc gaggacgacc ccgacgtgca gatcagctgg	840
ttcgtgaaca acgtggaggt gcacaccgcc cagaccaga cccacagaga ggactacaac	900
agcacctga gagtgggtgag cgccctgccc atccagcacc aggactggat gagcggcaag	960
gagttcaagt gcaaggtgaa caacaaggac ctgcccgcc ccacagagag aacctcagc	1020
aagcccaagg gcagcgtgag agccccccag gtgtacgtgc tgccccccc cgaggaggag	1080

[0106]		
atgaccaaga agcaggtgac cctgacctgc atggtgaccg acttcatgcc cgaggacatc		1140
tacgtggagt ggaccaaaa cggcaagacc gagctgaact acaagaacac cgagcccgtg		1200
ctggacagcg acggcagcta cttcatgtac agcaagctga gaggggagaa gaagaactgg		1260
gtggagagaa acagctacag ctgcagcgtg gtgcacgagg gcctgcacaa ccaccacacc		1320
accaagagct tcagcagaac ccccggcaag		1350
<210>	174	
<211>	1338	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	包含小鼠IgG2a恒定区的AC8重链	
<400>	174	
gaagttcagc tgctcgaatc aggaggggga ctggtccagc caggtggttc cttgcgactg		60
tcattgcgctg cttccggttt tacttttagt gattactcaa tgagttgggt gagacaagca		120
cctgggaagg gtttggagtg ggtgagcggc ataagttcag gaggctcttc caagtattac		180
gcagattcag taaagggtcg cttaccatc tcacgggata atagtaagaa cacactttac		240
cttcaaatga actctctgag agctgaggat accgcagttt attattgtgc aaagatTTTT		300
cataatTTTg actactgggg ccaggggact cttgttaccg tcagcagcgc caagaccacc		360
gccccagcg tgtaccctt ggccccctg tgcggcgaca ccaccggcag cagcgtgacc		420
ctgggctgcc tggtaagggt ctacttccc gagcccgtga ccctgacctg gaacagcggc		480
agcctgagca gcggcgtgca caccttccc gccgtgctgc agagcgacct gtacacctg		540
agcagcagcg tgaccgtgac cagcagcacc tggcccagcc agagcatcac ctgcaacgtg		600
gcccaccccg ccagcagcac caagtggtgac aagaagatcg agcccagagg ccccaccatc		660
aagccctgcc ccccctgcaa gtgccccgcc cccaacctgc tgggcggccc cagcgtgttc		720
atcttcccc ccaagatcaa ggacgtgctg atgatcagcc tgagcccat cgtgacctgc		780
gtggtggtgg acgtgagcga ggacgacccc gacgtgcaga tcagctggtt cgtgaacaac		840
gtggaggtgc acaccgccc gaccagacc cacagagagg actacaacag cacctgaga		900
gtggtgagcg ccctgcccac ccagcaccag gactggatga gcggcaagga gttcaagtgc		960
aaggtgaaca acaaggacct gcccgccttc atcgagagaa ccatcagcaa gcccagggc		1020
agcgtgagag cccccaggt gtacgtgctg ccccccccg aggaggagat gaccaagaag		1080

[0107]		
caggtgaccc tgacctgcat ggtgaccgac ttcattgccc aggcacatcta cgtggagtgg		1140
accaacaacg gcaagaccga gctgaactac aagaacaccg agcccgtgct ggacagcgac		1200
ggcagctact tcatgtacag caagctgaga gtggagaaga agaactgggt ggagagaaac		1260
agctacagct gcagcgtggt gcacgagggc ctgcacaacc accacaccac caagagcttc		1320
agcagaaccc ccggcaag		1338
<210>	175	
<211>	1338	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	包含小鼠IgG2a恒定区的AE8重链	
<400>	175	
gaagtgaac ttcttgaatc aggtggagga ctctgacaac ccggaggtag cctgagactt		60
tcatgtgcag cctcagggtt taccttctct aactacgcca tgagctgggt acggcaggca		120
cctggcaaag gactggaatg ggtttcagca atatcctctg gcggtggtaa catctattac		180
gccgattcag tgaagggtcg attcacaatt tctagggata actccaaaaa cacactgtac		240
ctccaatga actcccttag agccgaagat accgctgtgt actattgtgc tcgaagaccc		300
ctctactttg actattgggg acaagggacc cttgtgaccg tatcatctgc caagaccacc		360
gccccagcg tgtaccccct ggccccctg tgcggcgaca ccaccggcag cagcgtgacc		420
ctgggctgcc tgggtgaagg ctacttcccc gagcccgtga ccctgacctg gaacagcggc		480
agcctgagca gcggcgtgca caccttcccc gccgtgctgc agagcgacct gtacaccctg		540
agcagcagcg tgaccgtgac cagcagcacc tggcccagcc agagcatcac ctgcaacgtg		600
gcccaccccg ccagcagcac caaggtggac aagaagatcg agcccagagg ccccaccatc		660
aagccctgcc ccccctgcaa gtgccccgcc cccaacctgc tggggcgccc cagcgtgttc		720
atcttcccc ccaagatcaa ggacgtgctg atgatcagcc tgagcccat cgtgacctgc		780
gtggtggtgg acgtgagcga ggacgacccc gacgtgcaga tcagctgggt cgtgaacaac		840
gtggaggtgc acaccgcca gaccagacc cacagagagg actacaacag caccctgaga		900
gtggtgagcg ccctgcccac ccagcaccag gactggatga gcggcaagga gttcaagtgc		960
aaggtgaaca acaaggacct gcccgcctcc atcgagagaa ccatcagcaa gcccgaagggc		1020
agcgtgagag cccccaggt gtacgtgctg ccccccccg agggaggat gaccaagaag		1080

[0108]

caggtgaccc tgacctgcat ggtgaccgac ttcattgccc aggacatcta cgtggagtgg	1140
accaacaacg gcaagaccga gctgaactac aagaacaccg agcccgtgct ggacagcgac	1200
ggcagctact tcatgtacag caagctgaga gtggagaaga agaactgggt ggagagaaac	1260
agctacagct gcagcgtggt gcacgagggc ctgcacaacc accacaccac caagagcttc	1320
agcagaaccc cggcaag	1338

<210> 176
 <211> 1338
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含小鼠IgG2a恒定区的AA9重链

<400> 176	
gaggttcagc ttctgaaag cggaggggga ttgtccaac ctgggggttc acttcgtttg	60
tcatgcgccg ctccggctt tactttcagt tcatactcta tgagctgggt acggcaggct	120
ccagggaag gacttgagtg gttttctgca atataccctg gatcaagcaa caagtactac	180
gcagattctg taaaagggcg gttcactatc tcacgtgata actcaaagaa cactctttac	240
ctccagatga atagtttgag ggcagaagac actgctgttt actattgccc tcgtcatgcc	300
gccacatttg attattgggg acagggaaact ctggttacag tgagtagtgc caagaccacc	360
gccccagcg tgtaccccct gggccccgtg tgcggcgaca ccaccggcag cagcgtgacc	420
ctgggctgcc tggatgaagg ctacttcccc gagcccgtga ccctgacctg gaacagcggc	480
agcctgagca gcgcgctgca caccttcccc gccgtgctgc agagcgacct gtacacctg	540
agcagcagcg tgaccgtgac cagcagcacc tggcccagcc agagcatcac ctgcaacgtg	600
gcccaccccg ccagcagcac caaggtggac aagaagatcg agcccagagg ccccaccatc	660
aagccctgcc ccccctgcaa gtgccccgcc cccaacctgc tgggcggccc cagcgtgttc	720
atcttcccc ccaagatcaa ggacgtgctg atgatcagcc tgagccccat cgtgacctgc	780
gtggtggtgg acgtgagcga ggacgacccc gacgtgcaga tcagctggtt cgtgaacaac	840
gtggaggtgc acaccgcca gaccagacc cacagagagg actacaacag caccctgaga	900
gtggtgagcg ccctgcccac ccagcaccag gactggatga gcggcaagga gttcaagtgc	960
aaggtgaaca acaaggacct gcccgcccc atcgagagaa ccatcagcaa gcccagggc	1020
agcgtgagag cccccaggt gtacgtgctg ccccccccaggaggagat gaccaagaag	1080

[0109]		
caggtgaccc	tgacctgcat ggtgaccgac ttcatgcccc aggacatcta cgtggagtgg	1140
accaacaacg	gcaagaccga gctgaactac aagaacaccg agccccgtgct ggacagcgac	1200
ggcagctact	tcatgtacag caagctgaga gtggagaaga agaactgggt ggagagaaac	1260
agctacagct	gcagcgtggt gcacgagggc ctgcacaacc accacaccac caagagcttc	1320
agcagaaccc	ccggcaag	1338
<210>	177	
<211>	1371	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	包含小鼠IgG2a恒定区的DG5重链	
<400>	177	
gaggtccaac	ttctggaatc aggtggtggc ctggttcagc caggaggctc tctccgactc	60
tctgtgctg	cttctggctt caccttagt aattacgcca tgtcatgggt gcgtcaggca	120
ccaggcaaag	ggcttgaatg ggtctcagtc atctctcctg gaagcggtaa tacctattac	180
gcagattctg	tcaaggggag gtttactatc tcaagagaca atagcaagaa tactttgtac	240
ctgcaaatga	atagccttcg agcagaagac acagccgtgt actactgccc acgagtcacc	300
atgcctgcc	caacaaaacg atgttcatac tccaatggga tggatgtatg gggacaagga	360
actctcgtaa	ctgtttcatc tgccaagacc accgccccca gcgtgtaccc cctggcccc	420
gtgtgcggcg	acaccaccgg cagcagcgtg accctgggct gcctggtgaa gggctacttc	480
cccagcccc	tgacctgac ctggaacagc ggcagcctga gcagcggcgt gcacaccttc	540
cccgcctgc	tgcagagcga cctgtacacc ctgagcagca gcgtgaccgt gaccagcagc	600
acctggcccc	gccagagcat cacctgcaac gtggcccacc ccgccagcag caccaaggtg	660
gacaagaaga	tcgagcccag aggccccacc atcaagcct gccccctg caagtcccc	720
gcccccaacc	tgctgggcgg ccccagcgtg ttcatcttc ccccaagat caaggacgtg	780
ctgatgatca	gcctgagccc catcgtgacc tgctggtgg tggacgtgag cgaggacgac	840
cccgacgtgc	agatcagctg gttcgtgaac aacgtggagg tgcacaccgc ccagaccag	900
accacagag	aggactacaa cagcacctg agagtgggtga gcgccctgcc catccagcac	960
caggactgga	tgagcggcaa ggagttcaag tgcaaggtga acaacaagga cctgcccccc	1020
cccatcgaga	gaaccatcag caagccccag ggcagcgtga gagccccca ggtgtacgtg	1080

[0110]

ctgcccccc	ccgaggagga	gatgaccaag	aagcaggtga	ccctgacctg	catggtgacc	1140
gacttcatgc	ccgaggacat	ctacgtggag	tggaccaaca	acggcaagac	cgagctgaac	1200
tacaagaaca	ccgagcccgt	gctggacagc	gacggcagct	acttcatgta	cagcaagctg	1260
agagtggaga	agaagaactg	ggtggagaga	aacagctaca	gctgcagcgt	ggtgcacgag	1320
ggcctgcaca	accaccacac	caccaagagc	ttcagcagaa	cccccgcaa	g	1371

<210> 178
 <211> 1338
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含小鼠IgG2a恒定区的AD2重链

<400>	178	
gaggtacaac	ttcttgagag	cgcgggcggg
ctcttacagc	ctgggggctc	cttgcggttg
60		
tcttgtgccg	cttcaggttt	cacattctct
aactacgcca	tgagctgggt	caggcaagcc
120		
cccggcaaag	gtttggagtg	ggtcagtgtc
attagtcatt	ctgggtcctc	aaaatactac
180		
gcagactcag	tgaaaggacg	atttaccata
agtcgggata	atagcaaaaa	cacactttat
240		
ctccaaatga	atagtttgcg	ggccgaagac
actgctgtct	attactgtgc	caggtccgga
300		
aataatttcg	attattgggg	tcaggaaca
ctggtcaccg	tcagctccgc	caagaccacc
360		
gccccagcgc	tgtaccccct	ggccccctg
tgcggcgaca	ccaccggcag	cagcgtgacc
420		
ctgggctgcc	tggtgaaggg	ctacttcccc
gagcccgtga	ccctgacctg	gaacagcggc
480		
agcctgagca	gcggcgtgca	caccttcccc
gccgtgctgc	agagcgacct	gtacaccctg
540		
agcagcagcg	tgaccgtgac	cagcagcacc
tggcccagcc	agagcatcac	ctgcaacgtg
600		
gcccaccccg	ccagcagcac	caaggtggac
aagaagatcg	agcccagagg	ccccaccatc
660		
aagccctgcc	ccccctgcaa	gtgccccgcc
cccaacctgc	tggcgggccc	cagcgtgttc
720		
atcttcccc	ccaagatcaa	ggacgtgctg
atgatcagcc	tgagccccat	cgtgacctgc
780		
gtggtggtgg	acgtgagcga	ggacgacccc
gacgtgcaga	tcagctggtt	cgtgaacaac
840		
gtggaggtgc	acaccgcca	gaccagacc
cacagagagg	actacaacag	caccctgaga
900		
gtggtgagcg	ccctgccccat	ccagcaccag
gactggatga	gcggcaagga	gttcaagtgc
960		
aaggtgaaca	acaaggacct	gcccccccc
atcgagagaa	ccatcagcaa	gcccgaagggc
1020		
agcgtgagag	ccccccaggt	gtacgtgctg
cccccccccg	aggaggagat	gaccaagaag
1080		

[0111]		
caggtgacct	tgacctgcat	ggtgaccgac
ttcatgcccc	aggacatcta	cgtggagtgg
1140		
accaacaacg	gcaagaccga	gctgaactac
aagaacaccg	agcccgtgct	ggacagcgac
1200		
ggcagctact	tcatgtacag	caagctgaga
gtggagaaga	agaactgggt	ggagagaaac
1260		
agctacagct	gcagcgtggt	gcacgagggc
ctgcacaacc	accacaccac	caagagcttc
1320		
agcagaaccc	ccggcaag	
1338		
<210>	179	
<211>	1338	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	包含小鼠IgG2a恒定区的AD7重链	
<400>	179	
gaagttcaac	tgcttgaaag	cgggggcgga
ttggtccagc	caggagggtc	cttgcggctg
60		
agctgcgctg	cctccggttt	tacctttagt
ggttatgcta	tgcatgggt	tcgtcaggcc
120		
ccaggtaaag	gtttggagtg	ggtgagtgcc
atctcaccca	acggaggtaa	taaataattat
180		
gccgactcag	tcaaggggcg	attcactatc
tctagggaca	atagcaaaaa	cacactctac
240		
cttcaaatga	acagtcttcg	agctgaagac
acagcagtgt	actattgcgc	aaggaggccc
300		
gtctatttcg	attactgggg	gcaggggaca
ctcgtgacag	tttctagtgc	caagaccacc
360		
gccccagcg	tgtaccccct	ggccccctg
tgccggcaca	ccaccggcag	cagcgtgacc
420		
ctgggctgcc	tggtgaaggg	ctacttcccc
gagcccgtga	ccctgacctg	gaacagcggc
480		
agcctgagca	gcggcgtgca	caccttcccc
gccgtgctgc	agagcgacct	gtacaccctg
540		
agcagcagcg	tgaccgtgac	cagcagcacc
tggcccagcc	agagcatcac	ctgcaacgtg
600		
gcccaccccg	ccagcagcac	caaggtggac
aagaagatcg	agcccagagg	ccccaccatc
660		
aagccctgcc	ccccctgcaa	gtgccccgcc
cccaacctgc	tgggcggccc	cagcgtgttc
720		
atcttcccc	ccaagatcaa	ggacgtgctg
atgatcagcc	tgagccccat	cgtgacctgc
780		
gtggtggtgg	acgtgagcga	ggacgacccc
gacgtgcaga	tcagctggtt	cgtgaacaac
840		
gtggaggtgc	acaccgcca	gaccagacc
cacagagagg	actacaacag	caccctgaga
900		
gtggtgagcg	ccctgccccat	ccagcaccag
gactggatga	gcggcaagga	gttcaagtgc
960		
aaggtgaaca	acaaggacct	gcccccccc
atcgagagaa	ccatcagcaa	gcccgaagggc
1020		
agcgtgagag	ccccccaggt	gtacgtgctg
cccccccccg	aggaggagat	gaccaagaag
1080		

[0112]

caggtgaccc tgacctgcat ggtgaccgac ttcatgcccc aggacatcta cgtggagtgg	1140
accaacaacg gcaagaccga gctgaactac aagaacaccg agcccgtgct ggacagcgac	1200
ggcagctact tcatgtacag caagctgaga gtggagaaga agaactgggt ggagagaaac	1260
agctacagct gcagcgtggt gcacgagggc ctgcacaacc accacaccac caagagcttc	1320
agcagaaccc ccggcaag	1338

<210> 180
 <211> 1371
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含小鼠IgG2a恒定区的DG11重链

<400> 180

gaggtgcagc ttctggagtc tggcggaggg ctggttcaac ctggtgggtc tcttcgtctc	60
tcttgtgcag cttctggctt cactttctcc gactatgcca tgagctgggt caggcaggca	120
cctggcaaag gtctggagtg ggtctccgtg atttctcctg gctcaggag caagtattac	180
gcagactcag tgaaggaag attcaccata tcccagata acagtaaaaa tactctctat	240
ttgcagatga acagtctcag agccgaagat acagcagtct actattgcgc taaagttact	300
atatcttgcg ctgcaatgag gtgctcctac gcagatggta tggacgtatg ggggcagggt	360
accctggtta ccgtagctc cgccaagacc accgccccca gcgtgtacc cctggcccc	420
gtgtgcggcg acaccaccgg cagcagcgtg accctgggct gcctggtgaa gggctacttc	480
cccagccccg tgacctgac ctggaacagc ggcagcctga gcagcggcgt gcacaccttc	540
cccgccgtgc tgcagagcga cctgtacacc ctgagcagca gcgtgaccgt gaccagcagc	600
acctggcccc gccagagcat cacctgcaac gtggcccacc ccgccagcag caccaaggtg	660
gacaagaaga tcgagcccag aggccccacc atcaagcct gccccccctg caagtgcccc	720
gcccccaacc tgctgggcgg ccccagcgtg ttcatcttcc ccccaagat caaggacgtg	780
ctgatgatca gcctgagccc catcgtgacc tgcgtgggtg tggacgtgag cgaggacgac	840
cccgacgtgc agatcagctg gttcgtgaac aacgtggagg tgcacaccgc ccagaccag	900
accacagag aggactacaa cagcaccctg agagtgggtg gcgccctgcc catccagcac	960
caggactgga tgagcggcaa ggagttcaag tgcaaggtga acaacaagga cctgccccgc	1020
cccatcgaga gaaccatcag caagcccag ggcagcgtga gagccccca ggtgtacgtg	1080

[0113]		
ctgcccccc	ccgaggagga gatgaccaag aagcaggtga ccctgacctg catggtgacc	1140
gacttcatgc	ccgaggacat ctacgtggag tggaccaaca acggcaagac cgagctgaac	1200
tacaagaaca	ccgagcccgt gctggacagc gacggcagct acttcatgta cagcaagctg	1260
agagtggaga	agaagaactg ggtggagaga aacagctaca gctgcagcgt ggtgcacgag	1320
ggcctgcaca	accaccacac caccaagagc ttcagcagaa cccccggcaa g	1371
<210>	181	
<211>	1371	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	包含小鼠IgG2a恒定区的DG8重链	
<400>	181	
gaagtacaat	tgcttgaaag tggggggggc ttgtacagc ctggcgctc ccttcggctt	60
tcttgtgctg	cttcaggatt tacctcagt gaccacgcca tgtcctgggt ccgtcaagct	120
ccaggtaaag	ggctcgaatg ggtatctgta attagccatg gtaacggttc taagtattac	180
gccgatagtg	taaagggacg atttaccatt agtagagata attctaagaa tactctttat	240
ctccaaatga	actctttgag ggccgaggac acagccgtgt actactgcg cctgtttgcc	300
tctcgggtgc	gacggggacg atgcagttat tcagacggca tggacgtttg gggacaaggg	360
actttggtca	ctgtgagttc tgccaagacc accgccccca gcgtgtacct cctggcccc	420
gtgtgcggcg	acaccaccgg cagcagcgtg accctgggct gcctggtgaa gggctacttc	480
cccagccccg	tgaccctgac ctggaacagc ggcagcctga gcagcggcgt gcacaccttc	540
cccgccgtgc	tgcagagcga cctgtacacc ctgagcagca gcgtgaccgt gaccagcagc	600
acctggcccc	gccagagcat cacctgcaac gtggcccacc ccgccagcag caccaaggtg	660
gacaagaaga	tcgagcccag aggccccacc atcaagcctt gccccccctg caagtgcccc	720
gcccccaacc	tgctgggdcg ccccagcgtg ttcatcttcc ccccccaagat caaggacgtg	780
ctgatgatca	gcctgagccc catcgtgacc tgcgtggtgg tggacgtgag cgaggacgac	840
cccgacgtgc	agatcagctg gttcgtgaac aacgtggagg tgcacaccgc ccagaccag	900
accacagag	aggactacaa cagcaccctg agagtgggtg gcgccctgcc catccagcac	960
caggactgga	tgagcggcaa ggagttcaag tgcaaggtga acaacaagga cctgcccgcc	1020
cccatcgaga	gaaccatcag caagccccag ggcagcgtga gagccccca ggtgtacctg	1080

[0114]

ctgcccccc	ccgaggagga	gatgaccaag	aagcaggtga	ccctgacctg	catggtgacc	1140
gacttcatgc	ccgaggacat	ctacgtggag	tggaccaaca	acggcaagac	cgagctgaac	1200
tacaagaaca	ccgagcccgt	gctggacagc	gacggcagct	acttcatgta	cagcaagctg	1260
agagtggaga	agaagaactg	ggtggagaga	aacagctaca	gctgcagcgt	ggtgcacgag	1320
ggcctgcaca	accaccacac	caccaagagc	ttcagcagaa	cccccgcaa	g	1371

<210> 182
 <211> 1371
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含小鼠IgG2a恒定区的DA9重链

<400>	182	
gaggttcagc	tcttggagtc	cggtggtggc ctggttcagc ccggagggtc cttgcgtttg 60
tcttgcgctg	caagcgggtt	cactttctcc aactatgcta tgtcttgggt caggcaagcc 120
cctggaaagg	gactcgagtg	ggtcagtgta atttcccat ctgattcaa cacatattat 180
gcagacagcg	ttaaaggacg	gttcaccatt tcccgtgata attcaaaaaa taccttgtac 240
ttgcaaatga	atagtcttcg	tgctgaggat accgcagttt actactgcg ccgagttacc 300
ctgagttgca	gggctagccg	atgctcttac agcaatggta tggatgtatg gggtaaggt 360
acattggtca	cagtctcttc	cgccaagacc accgccccca gcgtgtacc cctggcccc 420
gtgtgcggcg	acaccaccgg	cagcagcgtg accctgggct gcctggtgaa gggctacttc 480
cccagccccg	tgaccctgac	ctggaacagc ggcagcctga gcagcggcgt gcacaccttc 540
cccgccgtgc	tgacagcgca	cctgtacacc ctgagcagca gcgtgaccgt gaccagcagc 600
acctggccca	gccagagcat	cacctgcaac gtggcccacc ccgccagcag caccaaggtg 660
gacaagaaga	tcgagcccag	aggccccacc atcaagccct gccccccctg caagtgcccc 720
gcccccaacc	tgctgggagg	cccagcgtg ttcctcttcc ccccccaagat caaggacgtg 780
ctgatgatca	gcctgagccc	catcgtgacc tgcgtggtgg tggacgtgag cgaggacgac 840
cccagcgtgc	agatcagctg	gttcgtgaac aacgtggagg tgacacaccgc ccagaccagc 900
accacagag	aggactacaa	cagcacctg agagtgggtga gcgccctgcc catccagcac 960
caggactgga	tgagcggcaa	ggagttcaag tgcaaggtga acaacaagga cctgccccgc 1020
cccatcgaga	gaaccatcag	caagcccgaag ggcagcgtga gagccccca ggtgtacgtg 1080

[0115]

ctgcccccc	ccgaggagga	gatgaccaag	aagcaggtga	ccctgacctg	catggtgacc	1140
gacttcatgc	ccgaggacat	ctacgtggag	tggaccaaca	acggcaagac	cgagctgaac	1200
tacaagaaca	ccgagcccgt	gctggacagc	gacggcagct	acttcatgta	cagcaagctg	1260
agagtggaga	agaagaactg	ggtggagaga	aacagctaca	gctgcagcgt	ggtgcacgag	1320
ggcctgcaca	accaccacac	caccaagagc	ttcagcagaa	cccccgcaa	g	1371

<210> 183
 <211> 1335
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含人IgG1恒定区的1E4重链

<400>	183	
gaagttcagc	tgcaagaatc	tggcgccgaa ctcgtgcgac ctggcacctc tgtgaaagtg 60
tcttgcaagg	cctctggcta	cgccttcacc aactacctga tcgagtgggt caagcagagg 120
cctggacagg	gacttgagtg	gatcggagtg atcaatcctg gctccggcgg caccaattac 180
aacgagaagt	tcaagggcaa	agctaccctg accgccgaca agtcctcttc caccgcttac 240
atgcagctgt	ccagcctgac	ctctgacgac tctgccgtgt acttctgcgc ctctggcaac 300
tacgatacct	attggggcca	gggcaccctg gtcacagtgt ctgctgcgag caccaaaggc 360
ccgagcgtgt	ttccgctggc	gccgagcagc aaaagcacca gcgcgggcac cgcggcgctg 420
ggctgcctgg	tgaaagatta	ttttccggaa ccggtgaccg tgagctggaa cagcggcgcg 480
ctgaccagcg	gcgtgcatac	ctttccggcg gtgctgcaga gcagcggcct gtatagcctg 540
agcagcgtgg	tgaccgtgcc	gagcagcagc ctgggcacc agacctatat ttgcaacgtg 600
aaccataaac	cgagcaacac	caaagtggat aaaaaagtgg aaccgaaaag ctgcgataaa 660
accatacct	gcccgccgtg	cccggcgccg gaactgctgg gcgccccgag cgtgtttctg 720
tttccgccga	aaccgaaaga	taccctgatg attagccgca ccccggaagt gacctgcgtg 780
gtggtggatg	tgagccatga	agatccggaa gtgaaattta actggtatgt ggatggcgtg 840
gaagtgcata	acgcgaaaac	caaaccgcgc gaagaacagt ataacagcac ctatcgcgtg 900
gtgagcgtgc	tgaccgtgct	gcatcaggat tggctgaacg gcaaagaata taaatgcaaa 960
gtgagcaaca	aagcgtgcc	ggcgccgatt gaaaaaacca ttagcaaagc gaaaggccag 1020
ccgcgcgaac	cgcaggtgta	taccctgccg ccgagcccg aagaaatgac caaaaaccag 1080

[0116]		
gtgagcctga cctgcctggt gaaaggcttt tatccgagcg atattgcggt ggaatgggaa		1140
agcaacggcc agccggaaaa caactataaa accaccccg cggctgctgga tagcgatggc		1200
agcttttttc tgtatagcaa actgaccgtg gataaaagcc gctggcagca gggcaacgtg		1260
tttagctgca gcgtgatgca tgaagcgctg cataaccatt atacccagaa aagcctgagc		1320
ctgagcccgg gcaaa		1335
<210>	184	
<211>	1338	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	包含人IgG1恒定区的9B11重链	
<400>	184	
gaagttcagc tgcaagaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctaagggatc tctgaagctg		60
tcttgtgccg cctccggett cacettcaac acctacgcca tgaactgggt ccgacaggct		120
cctggcaaag gactggaatg ggtcgcccgg atcagatcca agtctaaca ctacgccacc		180
tactacgccg actccgtgaa ggacagattc accatctctc gggacgactc ccagtccatg		240
ctgtacctgc agatgaacaa cctgaaaacc gaggacaccg ccatgtacta ctgcgtgcgg		300
caggatttcg attactgggg ccagggcaca accctgaccg tgtcctctgc gagcaccaaa		360
ggcccagcgc tgtttccgct ggcgccgagc agcaaaagca ccagcggcgg caccgcggcg		420
ctgggctgcc tgggtgaaaga ttattttccg gaaccgggtga ccgtgagctg gaacagcggc		480
gcgctgacca gcggcgtgca tacctttccg gcggtgctgc agagcagcgg cctgtatagc		540
ctgagcagcg tggtagcctg gccgagcagc agcctgggca cccagacctc tatttgcaac		600
gtgaaccata aaccgagcaa caccaaagtg gataaaaaag tggaaaccgaa aagctgcgat		660
aaaaccata cctgcccgcc gtgcccggcg ccggaactgc tgggcggccc gagcgtgttt		720
ctgtttccgc cgaaaccgaa agataccctg atgattagcc gcaccccgga agtgacctgc		780
gtggtggtgg atgtgagcca tgaagatccg gaagtgaaat ttaactggta tgtgatggc		840
gtggaagtgc ataacgcgaa aaccaaacg cgcaagaac agtataacag cacctatcgc		900
gtggtgagcg tgctgaccgt gctgcatcag gattggctga acggcaaaga atataaatgc		960
aaagtgagca acaaagcgt gccggcgccg attgaaaaaa ccattagcaa agcgaaggc		1020
cagccgcgcg aaccgcaggt gtataccctg ccgccgagcc gcgaagaaat gacaaaaaac		1080

[0117]		
caggtgagcc tgacctgcct ggtgaaagc ttttatccga gcgatattgc ggtggaatgg		1140
gaaagcaacg gccagccgga aaacaactat aaaaccaccc cgccggtgct ggatagcgat		1200
ggcagctttt ttctgtatag caaactgacc gtggataaaa gccgctggca gcagggcaac		1260
gtgttttagct gcagcgtgat gcatgaagcg ctgcataacc attataccca gaaaagcctg		1320
agcctgagcc cgggcaaa		1338
<210>	185	
<211>	1356	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	包含人IgG1恒定区的3A9重链	
<400>	185	
gaagttcagc tgcaagaatc tggcggcgga cttgtgaaac ctggcggctc tctgaagctg		60
tcttgtgccg cctctggctt caccttctcc tcttacgcca tgtcctgggt ccgacagacc		120
cctgagaaga gactggaatg ggtcgccacc atctctaacg gcggaggcta cacctactat		180
cccgactccg tgaagggcag attcaccatc tccagagaca acgccaagaa caccctgtac		240
ctgcagatgt ccagcctgag atctgaggac accgccatgt actactgcgc cagacatatac		300
accaccgtgc ggcccaccaa gtacttcgat tattggggcc agggcaccac actgaccgtg		360
tcctctgcga gcaccaaagg ccgagcgtg tttccgctgg cgccgagcag caaaagcacc		420
agcggcggca ccgcgcgct gggctgcctg gtgaaagatt attttccgga accggtgacc		480
gtgagctgga acagcggcgc gctgaccage ggcgtgcata cttttccggc ggtgctgcag		540
agcagcggcc tgtatagcct gagcagcgtg gtgaccgtgc cgagcagcag cctgggcacc		600
cagacctata tttgcaacgt gaaccataaa ccgagcaaca ccaaagtgga taaaaaagtg		660
gaaccgaaaa gctgcgataa aaccataacc tgcccgccgt gcccgccgccc ggaactgctg		720
ggcggcccga gcgtgtttct gtttccgccg aaaccgaaag ataccctgat gattagccgc		780
accccggaag tgacctgcgt ggtggtggat gtgagccatg aagatccgga agtgaaatth		840
aactggtatg tggatggcgt ggaagtgcata aacgcgaaaa ccaaaccgcg cgaagaacag		900
tataacagca cctatcgcgt ggtgagcgtg ctgaccgtgc tgcatcagga ttggctgaac		960
ggcaaagaat ataaatgcaa agtgagcaac aaagcgtgc cggcgccgat tgaaaaaacc		1020
attagcaaag cgaaaggcca gccgcgcgaa ccgaggtgt ataccctgcc gccgagccgc		1080

[0118]

gaagaaatga ccaaaaacca ggtgagcctg acctgcctgg tgaaaggctt ttatccgagc	1140
gatattgctg tggaatggga aagcaacggc cagccggaaa acaactataa aaccaccccg	1200
ccggtgctgg atagcgatgg cagctttttt ctgtatagca aactgaccgt ggataaaagc	1260
cgctggcagc agggcaacgt gtttagctgc agcgtgatgc atgaagcgct gcataacat	1320
tatacccaga aaagcctgag cctgagcccc ggcaaa	1356

<210> 186
 <211> 1329
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含人IgG1恒定区的10F10重链

<400> 186	
gaagttcagc tgcaagagtc tggccctggc ctggtcaaac cttctcagtc tctgtccctg	60
acctgctccg tgaccggata ttctatcacc ggcggcttct actggaactg gatcagacag	120
ttccccggca acaacctgga atggatgggc tacatcaact acgacggctc ctccgactac	180
tcccctagcc tgaagaaccg gatctccatc accagagaca cctccaagaa ccagttcttc	240
ctgaacctga acagcgtgac caccgaggac accgccacct attattgtgt gcggggcgat	300
tatgactggg gccagggaac aacctgacc gtgtcctctg cgagcaccaa aggccccgagc	360
gtgtttccgc tggcgccgag cagcaaaagc accagcggcg gcaccgcggc gctgggctgc	420
ctggtgaaag attatthttcc ggaaccggtg accgtgagct ggaacagcgg cgcgctgacc	480
agcggcgtgc atacctttcc ggcggtgctg cagagcagcg gcctgtatag cctgagcagc	540
gtggtgaccg tgccgagcag cagcctgggc acccagacct atatttgcaa cgtgaacat	600
aaaccgagca acaccaaagt ggataaaaa gtggaaccga aaagctgca taaaacccat	660
acctgcccgc cgtgcccggc gccggaactg ctgggcggcc cgagcgtgtt tctgtttccg	720
ccgaaaccga aagataccct gatgattagc cgcaccccgg aagtgacctg cgtggtggtg	780
gatgtgagcc atgaagatcc ggaagtgaaa tttactggt atgtggatgg cgtggaagtg	840
cataacgcga aaaccaaacc gcgcgaagaa cagtataaca gcacctatcg cgtggtgagc	900
gtgctgaccg tgctgcatca ggattggctg aacggcaaag aatataaatg caaagtgagc	960
aacaaagcgc tgccggcgcc gattgaaaa accattagca aagcgaagg ccagccgcgc	1020
gaaccgcagg tgtataccct gccgccgagc cgcgaagaaa tgaccaaaa ccaggtgagc	1080

[0119]		
ctgacctgcc	tggtgaaagg	ctttatccg agcgatattg cgggtggaatg ggaaagcaac 1140
ggccagccgg	aaaacaacta	taaaaccacc ccgccggtgc tggatagcga tggcagcttt 1200
tttctgtata	gcaaactgac	cgtggataaa agccgctggc agcagggcaa cgtgttttagc 1260
tgcagcgtga	tgcatgaagc	gctgcataac cattataccc agaaaagcct gagcctgagc 1320
ccgggcaaa		1329
<210>	187	
<211>	1350	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	包含人IgG1恒定区的11F11重链	
<400>	187	
gaagttcagc	tgcaagaatc	tggcggcgga ttggttcagc ctggcggatc tctgagactg 60
tcttgtgcca	cctccggctt	caccttctcc gacttctaca tggaatgggt ccgacagcct 120
cctggcaaga	gactggaatg	gatcgccgcc tccagaaaca aggccaacga ctacaccacc 180
gagtactccg	cctctgtgaa	gggcagattc atcgtgtctc gggacaccag ccagtccatc 240
ctgtacctgc	agatgaatgc	cctgagagcc gaggacaccg ccatctacta ctgtgctaga 300
gatgcccacg	gcaagccttt	tgcttattgg ggccagggca ccctggtcac cgtgtctgct 360
gcgagcacca	aaggcccag	cgtgtttccg ctggcgccga gcagcaaaaag caccagcggc 420
ggcaccgcgg	cgctgggctg	cctggtgaaa gattatttcc cggaaccggt gaccgtgagc 480
tggaacagcg	gcgcgctgac	cagcggcgtg cataccttcc cggcggtgct gcagagcagc 540
ggcctgtata	gcctgagcag	cgtggtgacc gtgccgagca gcagcctggg caccagacc 600
tatatttgca	acgtgaacca	taaaccgagc aacaccaaag tggataaaaa agtggaaaccg 660
aaaagctgcg	ataaaacca	tacctgcccg ccgtgcccgg cgccggaact gctgggcggc 720
ccgagcgtgt	ttctgtttcc	gccgaaaccg aaagataccc tgatgattag ccgcaccccg 780
gaagtgacct	gcgtggtggt	ggatgtgagc catgaagatc cggaagtga atttaactgg 840
tatgtggatg	gcgtggaagt	gcataacgcg aaaaccaaac cgcgcgaaga acagtataac 900
agcacctatc	gcgtggtgag	cgtgctgacc gtgctgcatc aggattggct gaacggcaaa 960
gaatataaat	gcaaagtgag	caacaaagcg ctgccggcgc cgattgaaaa aaccattagc 1020
aaagcgaaa	gccagccgcg	cgaaccgcag gtgtataccc tgccgccgag ccgcgaagaa 1080

[0120]

atgacaaaa accaggtgag cctgacctgc ctggtgaaag gcttttatcc gagcgatatt	1140
gcggtggaat gggaaagcaa cggccagccg gaaaacaact ataaaaccac cccgccggtg	1200
ctggatagcg atggcagctt ttttctgtat agcaaactga ccgtggataa aagccgctgg	1260
cagcagggca acgtgtttag ctgcagcgtg atgcatgaag cgctgcataa ccattatacc	1320
cagaaaagcc tgagcctgag cccgggcaaa	1350

<210> 188
 <211> 1338
 <212> DNA
 <213> 包含人IgG1恒定区的AC8重链

<400> 188	
gaagttcagc tgctcgaatc aggaggggga ctggtccagc caggtggttc cttgcgactg	60
tcatgcgctg cttccggttt tacttttagt gattactcaa tgagttgggt gagacaagca	120
cctgggaagg gtttgagtg ggtgagcggc ataagttcag gaggctcttc caagtattac	180
gcagattcag taaagggctg cttaccatc tcacgggata atagtaagaa cacactttac	240
cttcaaatga actctctgag agctgaggat accgcagttt attattgtgc aaagatTTTT	300
cataatTTTg actactgggg ccaggggact cttgttaccg tcagcagcgc gagcaccaaa	360
ggcccagcgc tgtttccgct ggcgccgagc agcaaaaagca ccagcggcgg caccgcggcg	420
ctgggctgcc tgggtgaaaga ttatTTTccg gaaccggtga ccgtgagctg gaacagcggc	480
gcgctgacca gcggcgtgca tacctttccg gcggtgctgc agagcagcgg cctgtatagc	540
ctgagcagcgc tggtgaccgt gccgagcagc agcctgggca ccagaccta tatttgcaac	600
gtgaaccata aaccgagcaa caccaaagt gataaaaaag tggaaccgaa aagctgcgat	660
aaaaccata cctgcccgcc gtgcccggcg ccggaactgc tgggcggccc gagcgtgttt	720
ctgtttccgc cgaaaccgaa agatacctg atgattagcc gcaccccgga agtgacctgc	780
gtggtggtgg atgtgagcca tgaagatccg gaagtgaaat ttaactggta tgtggatggc	840
gtggaagtgc ataacgcgaa aaccaaccg cgcaagaac agtataacag cacctatcgc	900
gtggtgagcg tgctgaccgt gctgcatcag gattggctga acggcaaaga atataaatgc	960
aaagtgagca acaaagcgt gccggcgccg attgaaaaaa ccattagcaa agcgaaaggc	1020
cagccgcgcg aaccgcaggt gtatacctg ccgccgagcc gcgaagaaat gacaaaaaac	1080
caggtgagcc tgacctgcct ggtgaaaggc ttttatccga gcgatattgc ggtggaatgg	1140
gaaagcaacg gccagccgga aaacaactat aaaaccacce cgccggtgct ggatagcgat	1200

[0121]		
ggcagctttt ttctgtatag caaactgacc gtggataaaa gccgctggca gcagggcaac		1260
gtgttttagct gcagcgtgat gcatgaagcg ctgcataacc attataccca gaaaagcctg		1320
agcctgagcc cgggcaaa		1338
<210>	189	
<211>	1338	
<212>	DNA	
<213>	包含人IgG1恒定区的AE8重链	
<400>	189	
gaagtgcaac ttcttgaatc aggtggagga ctctgacaac cgggaggtag cctgagactt		60
tcatgtgcag cctcagggtt taccttctct aactacgcca tgagctgggt acggcaggca		120
cctggcaaag gactggaatg ggtttcagca atatacctctg gcggtggtaa catctattac		180
gccgattcag tgaagggtcg attcacaatt tctagggata actccaaaaa cacactgtac		240
ctccaaatga actcccttag agccgaagat accgctgtgt actattgtgc tcgaagacct		300
ctctactttg actattgggg acaagggacc ctgtgaccg tatcatctgc gagcaccaaa		360
ggcccagcgc tgtttccgct ggcgccgagc agcaaaaagca ccagcggcgg caccgcggcg		420
ctgggctgcc tgggtgaaaga ttattttccg gaaccgggtga ccgtgagctg gaacagcggc		480
gcgctgacca gcggcgtgca tacctttccg gcggtgctgc agagcagcgg cctgtatagc		540
ctgagcagcg tgggtaccgt gccgagcagc agcctgggca ccagacctt tatttgcaac		600
gtgaaccata aaccgagcaa caccaaagt gataaaaaag tggaaccgaa aagctgcgat		660
aaaaccata cctgcccgcc gtgcccggcg ccggaactgc tggcggccc gagcgtgttt		720
ctgtttccgc cgaaacgaa agatacctg atgattagcc gcacccgga agtgacctgc		780
gtggtggtgg atgtgagcca tgaagatcc gaagtgaaat ttaactgta tgtggatggc		840
gtggaagtgc ataacgcgaa aaccaaccg cgcaagaac agtataacag cacctatcgc		900
gtggtgagcg tgctgaccgt gctgcatcag gattggctga acggcaaaga atataaatgc		960
aaagtgagca acaaagcgt gccggcgccg attgaaaaaa ccattagcaa agcgaaaggc		1020
cagccgcgcg aaccgcaggt gtatacctg ccgccgagcc gcgaagaaat gacaaaaaac		1080
caggtgagcc tgacctgcct ggtgaaaggc ttttatccga gcgatattgc ggtggaatgg		1140
gaaagcaacg gccagccgga aaacaactat aaaaccacc cgccggtgct ggatagcgat		1200
ggcagctttt ttctgtatag caaactgacc gtggataaaa gccgctggca gcagggcaac		1260
gtgttttagct gcagcgtgat gcatgaagcg ctgcataacc attataccca gaaaagcctg		1320

[0122]

agcctgagcc cgggcaaa 1338

<210> 190

<211> 1338

<212> DNA

<213> 包含人IgG1恒定区的AA9重链

<400> 190

gaggttcagc ttctggaaag cggaggggga ttggtccaac ctgggggttc acttcgtttg 60
tcatgcgccg cttccggcct tactttcagt tcatactcta tgagctgggt acggcaggct 120
ccagggaaag gacttgagtg ggtttctgca atataccttg gatcaagcaa caagtactac 180
gcagattctg taaaaggcgc gttcactatc tcacgtgata actcaaagaa cactctttac 240
ctccagatga atagtttgag ggcagaagac actgctgttt actattgcgc tcgtcatgcc 300
gccacatttg attattgggg acaggaact ctggttacag tgagtagtgc gagcaccaaa 360
ggcccagcgc tgtttccgct ggcgccgagc agcaaaagca ccagcggcgg caccgcggcg 420
ctgggctgcc tggtgaaaga ttattttccg gaaccgggtga ccgtgagctg gaacagcggc 480
gcgctgacca gcggcgtgca tacctttccg gcgggtctgc agagcagcgg cctgtatagc 540
ctgagcagcg tggtgaccgt gccgagcagc agcctgggca cccagaccta tatttgcaac 600
gtgaaccata aaccgagcaa caccaaagtg gataaaaaag .tggaaccgaa aagctgcgat 660
aaaaccata cctgcccgcc gtgcccggcg ccggaactgc tgggcggccc gagcgtgttt 720
ctgtttccgc cgaaaccgaa agataccttg atgattagcc gcaccccgga agtgacctgc 780
gtggtggtgg atgtgagcca tgaagatccg gaagtgaaat ttaactggta tgtggatggc 840
gtggaagtgc ataacgcgaa aaccaaccg cgcaagaac agtataacag cacctatcgc 900
gtggtgagcg tgctgaccgt gctgcatcag gattggctga acggcaaaga atataaatgc 960
aaagtgagca acaaagcgcct gccggcgcgg attgaaaaaa ccattagcaa agcgaaggc 1020
cagccgcgcg aaccgcaggt gtataccttg ccgccgagcc gcgaagaaat gacaaaaaac 1080
caggtgagcc tgacctgcct ggtgaaaggc ttttatccga gcgatattgc ggtggaatgg 1140
gaaagcaacg gccagccgga aaacaactat aaaaccaccc cgccggtgct ggatagcgat 1200
ggcagctttt ttctgtatag caaactgacc gtggataaaa gccgctggca gcagggcaac 1260
gtgttagct gcagcgtgat gcatgaagcg ctgcataacc attataccca gaaaagcctg 1320
agcctgagcc cgggcaaa 1338

<210> 191

[0123]

<211> 1371
 <212> DNA
 <213> 包含人IgG1恒定区的DG5重链

<400> 191
 gaggtccaac ttctggaatc aggtggtggc ctggttcagc caggaggctc tctccgactc 60
 tcctgtgctg cttctggctt caccttagt aattacgcca tgtcatgggt gcgtcaggca 120
 ccaggcaaag ggcttgaatg ggtctcagtc atctctcctg gaagcggtaa tacctattac 180
 gcagattctg tcaaggggag gtttactatc tcaagagaca atagcaagaa tactttgtac 240
 ctgcaaatga atagccttcg agcagaagac acagccgtgt actactgcgc acgagtcacc 300
 atcgcctgcc caacaaaacg atgttcatac tccaatggga tggatgtatg gggacaagga 360
 actctcgtaa ctgtttcadc tgcgagcacc aaaggccga gcgtgtttcc gctggcgccg 420
 agcagcaaaa gcaccagcgg cggcaccgcg gcgctgggct gcctggtgaa agattatfff 480
 ccggaaccgg tgaccgtgag ctggaacagc ggcgcgctga ccagcggcgt gcatacctff 540
 ccggcgggtgc tgcagagcag cggcctgtat agcctgagca gcgtggtgac cgtgccgagc 600
 agcagcctgg gcaccagac ctatatttgc aacgtgaacc ataaaccgag caacaccaaaa 660
 gtggataaaa aagtggaacc gaaaagctgc gataaaaacc atacctgccc gccgtgcccg 720
 gcgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg tttctgttfc cgccgaaacc gaaagatacc 780
 ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc tgcgtgggtg tggatgtgag ccatgaagat 840
 ccggaagtga aatttaactg gtatgtggat ggctggaag tgcataacgc gaaaaccaaaa 900
 ccgcgcgaag aacagtataa cagcacctat cgcgtgggtga gcgtgctgac cgtgctgcat 960
 caggattggc tgaacggcaa agaatataaa tgcaaagtga gcaacaaagc gctgccggcg 1020
 ccgattgaaa aaaccattag caaagcgaag gccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc 1080
 ctgccgccga gccgcgaaga aatgaccaaa aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaaa 1140
 ggcttttadc cgagcgatat tgcggtggaa tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac 1200
 tataaaacca ccccgccggt gctggatagc gatggcagct tttttctgta tagcaaaactg 1260
 accgtggata aaagccgctg gcagcagggc aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa 1320
 gcgctgcata accattatac ccagaaaagc ctgagcctga gcccgggcaa a 1371

<210> 192
 <211> 1338
 <212> DNA
 <213> 包含人IgG1恒定区的AD2重链

[0124]

<400> 192
 gaggtacaac ttcttgagag cggcggcggc ctcgtacagc ctgggggctc cttgcggttg 60
 tcttgtgccg cttcaggttt cacattctct aactacgcc a tgagctgggt caggcaagcc 120
 cccggcaaag gtttggagtg ggtcagtgct attagtcatt ctgggtcctc aaaatactac 180
 gcagactcag tgaaaggacg atttaccata agtcgggata atagcaaaaa cacactttat 240
 ctccaaatga atagtttgcg ggccgaagac actgctgtct attactgtgc caggctccgga 300
 aataatttcg attattgggg tcaggaaca ctggtcaccg tcagctccgc gagcaccaaa 360
 ggcccagcgc tgtttccgct ggcgccgagc agcaaaagca ccagcggcgg caccgcggcg 420
 ctgggctgcc tgggtgaaaga ttattttccg gaaccgggtga ccgtgagctg gaacagcggc 480
 gcgctgacca gcggcgtgca tacctttccg gcggtgctgc agagcagcgg cctgtatagc 540
 ctgagcagcg tggtgaccgt gccgagcagc agcctgggca cccagaccta tatttgaac 600
 gtgaaccata aaccgagcaa caccaaagt gataaaaaag tggaaccgaa aagctgcgat 660
 aaaaccata cctgcccgcc gtgcccggcg ccggaactgc tgggcggccc gagcgtgttt 720
 ctgtttccgc cgaaacgaa agataccctg atgattagcc gcaccccgga agtgacctgc 780
 gtggtggtgg atgtgagcca tgaagatccg gaagtgaaat ttaactggta tgtggatggc 840
 gtggaagtgc ataacgcgaa aaccaaaccg cgcgaagaac agtataacag cacctatcgc 900
 gtggtgagcg tgctgaccgt gctgcatcag gattggctga acggcaaaga atataaatgc 960
 aaagtgagca acaaagcgt gccggcggcg attgaaaaaa ccattagcaa agcgaagggc 1020
 cagccgcgcg aaccgcaggt gtataccctg ccgccgagcc gcgaagaaat gacaaaaaac 1080
 caggtgagcc tgacctgcct ggtgaaagc ttttatccga gcgatattgc ggtggaatgg 1140
 gaaagcaacg gccagccgga aaacaactat aaaaccaccc cgccggtgct ggatagcgat 1200
 ggcagctttt ttctgtatag caaactgacc gtggataaaa gccgctggca gcagggcaac 1260
 gtgtttagct gcagcgtgat gcatgaagcg ctgcataacc attatacca gaaaagcctg 1320
 agcctgagcc cgggcaaa 1338

<210> 193

<211> 1338

<212> DNA

<213> 包含人IgG1恒定区的AD7重链

<400> 193

gaagttcaac tgcttgaaag cgggggcgga ttggtccagc caggagggtc cttgcggttg 60
 agctgcgctg cctccggttt taccttagt ggttatgcta tgtcatgggt tcgtcagccc 120

[0125]

ccaggtaaag gtttggagtg ggtgagtgcc atctcaccca acggaggtaa taaatattat	180
gccgactcag tcaaggggcg attcactatc tctagggaca atagcaaaaa cacactctac	240
cttcaaatga acagtcttcg agctgaagac acagcagtgt actattgcgc aaggaggccc	300
gtctatttcg attactgggg gcaggggaca ctctgtacag tttctagtgc gagcaccaaa	360
ggcccagagc tgtttccgct ggcgccgagc agcaaaagca ccagcggcgg caccgcggcg	420
ctgggctgcc tggtgaaaga ttattttccg gaaccgggtga ccgtgagctg gaacagcggc	480
gcgctgacca gcggcgtgca tacctttccg gcggtgctgc agagcagcgg cctgtatagc	540
ctgagcagcg tggtagcctg gccgagcagc agcctgggca cccagacctt tatttgcaac	600
gtgaaccata aaccgagcaa caccaaagtg gataaaaaag tggaaccgaa aagctgcgat	660
aaaaccata cctgcccgcc gtgcccggcg ccggaactgc tggcggccc gagcgtgttt	720
ctgtttccgc cgaaaccgaa agatacctg atgattagcc gcaccccgga agtgacctgc	780
gtggtggtgg atgtgagcca tgaagatccg gaagtgaaat ttaactggta tgtggatggc	840
gtggaagtgc ataacgcgaa aaccaaccg cgcgaagaac agtataacag cacctatcgc	900
gtggtgagcg tgctgaccgt gctgcatcag gattggctga acggcaaaga atataaatgc	960
aaagtgagca acaaagcgct gccggcgccg attgaaaaaa ccattagcaa agcgaaaggc	1020
cagccgcgcg aaccgcaggt gtatacctg ccgccgagcc gcgaagaaat gacaaaaaac	1080
caggtgagcc tgacctgcct ggtgaaaggc ttttatccga gcgatattgc ggtggaatgg	1140
gaaagcaacg gccagccgga aaacaactat aaaaccacc cgccggtgct ggatagcgat	1200
ggcagctttt ttctgtatag caaactgacc gtggataaaa gccgctggca gcagggcaac	1260
gtgtttagct gcagcgtgat gcatgaagcg ctgcataacc attataccca gaaaagcctg	1320
agcctgagcc cgggcaaa	1338

<210> 194
 <211> 1371
 <212> DNA
 <213> 包含人IgG1恒定区的DG11重链

<400> 194	
gaggtgcagc ttctggagtc tggcggaggg ctggttcaac ctggtgggtc tcttctctc	60
tcttctgcag cttctggctt cactttctcc gactatgcca tgagctgggt caggcaggca	120
cctggcaaag gtctggagtg ggtctccgtg atttctctg gctcaggag caagtattac	180
gcagactcag tgaaggaag attcaccata tcccagata acagtaaaaa tactctctat	240

[0126]

ttgcagatga acagtctcag agccgaagat acagcagtct actattgcgc taaagttact	300
atatcttgcg ctgcaatgag gtgctcctac gcagatggta tggacgtatg ggggcagggt	360
accctggtta ccgttagctc cgcgagcacc aaaggcccga gcgtgtttcc gctggcgccg	420
agcagcaaaa gcaccagcgg cggcaccgcg gcgctgggct gcctggtgaa agattatfff	480
ccggaaccgg tgaccgtgag ctggaacagc ggcgcgctga ccagcggcgt gcataccttt	540
ccggcgggtgc tgcagagcag cggcctgtat agcctgagca gcgtggtgac cgtgccgagc	600
agcagcctgg gcaccagac ctatatttgc aacgtgaacc ataaaccgag caacacccaaa	660
gtggataaaa aagtggaacc gaaaagctgc gataaaaacc atacctgcc gccgtgcccg	720
gcgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg tttctgttcc cgccgaaacc gaaagatacc	780
ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc tgcgtggtgg tggatgtgag ccatgaagat	840
ccggaagtga aatttaactg gtatgtggat ggctggaag tgcataacgc gaaaacccaaa	900
ccgcgcgaag aacagtataa cagcacctat cgcgtgggta gcgtgctgac cgtgctgcat	960
caggattggc tgaacggcaa agaataataa tgcaaagtga gcaacaaagc gctgccggcg	1020
ccgattgaaa aaaccattag caaagcgaag gccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc	1080
ctgccgccga gccgcgaaga aatgacccaa aaccagggtg gcctgacctg cctggtgaaa	1140
ggcttttatc cgagcgatat tgcggtggaa tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac	1200
tataaaacca ccccgccggt gctggatagc gatggcagct tttttctgta tagcaaacctg	1260
accgtggata aaagccgctg gcagcagggc aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa	1320
gcgctgcata accattatac ccagaaaagc ctgagcctga gccgggcaa a	1371

<210> 195

<211> 1371

<212> DNA

<213> 包含人IgG1恒定区的DG8重链

<400> 195

gaagtacaat tgcttgaag tggggggggc ttggtacagc ctggcggctc ccttcggctt	60
tcttgctgctg cttcaggatt taccttcagt gaccagcca tgtcctgggt ccgtcaagct	120
ccaggtaaag ggctcgaatg ggtatctgta attagccatg gtaacggttc taagtattac	180
gccgatagtg taaagggacg atttaccatt agtagagata attctaagaa tactctttat	240
ctccaaatga actctttgag ggccgaggac acagccgtgt actactgcgc ccgtgttgc	300
tctcgggtgc gacggggacg atgcagttat tcagacggca tggacgtttg gggacaaggg	360

[0127]

acttttggtca ctgtgagttc tgcgagcacc aaaggcccga gcgtgtttcc gctggcgccg	420
agcagcaaaa gcaccagcgg cggcaccgcg gcgctgggct gcctggtgaa agattatntt	480
ccggaaccgg tgaccgtgag ctggaacagc ggcgcgctga ccagcggcgt gcataccttt	540
ccggcgggtgc tgcagagcag cggcctgtat agcctgagca gcgtggtgac cgtgcccagc	600
agcagcctgg gcaccagac ctatatttgc aacgtgaacc ataaaccgag caacaccaaa	660
gtggataaaa aagtggaacc gaaaagctgc gataaaacc atacctgcc gccgtgccc	720
gcgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg tttctgtttc cgccgaaacc gaaagatacc	780
ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc tgcgtggtgg tggatgtgag ccatgaagat	840
ccggaagtga aatttaactg gtatgtggat ggcgtggaag tgcataacgc gaaaaccaaa	900
ccgcgcgaag aacagtataa cagcacctat cgcgtggtga gcgtgctgac cgtgctgcat	960
caggattggc tgaacggcaa agaataaaa tgcaaagtga gcaacaaagc gctgccggcg	1020
ccgattgaaa aaaccattag caaagcgaag gccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc	1080
ctgccgccga gccgcgaaga aatgaccaaa aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaaa	1140
ggctttttatc cgagcgatat tgcggtggaa tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac	1200
tataaaacca ccccgccggt gctggatagc gatggcagct tttttctgta tagcaactg	1260
accgtggata aaagccgctg gcagcagggc aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa	1320
gcgctgcata accattatac ccagaaaagc ctgagcctga gcccgggcaa a	1371

<210> 196
 <211> 1371
 <212> DNA
 <213> 包含人IgG1恒定区的DA9重链

<400> 196	
gaggttcagc tcctggagtc cgggtgtggc ctggttcagc ccggagggtc cttgcgtttg	60
tcttgcgctg caagcgggtt cactttctcc aactatgcta tgtcttgggt caggcaagcc	120
cctggaaagg gactcgagtg ggtcagtgtg atttccccat ctgattccaa cacatattat	180
gcagacagcg ttaaaggacg gttaccatt tcccgtgata attcaaaaaa taccttgtac	240
ttgcaaatga atagtcttcg tgctgaggat accgcagttt actactgcgc ccgagttacc	300
ctgagttgca gggctagccg atgctcttac agcaatggta tggatgtatg gggtaaggt	360
acattggtca cagtctctc cgcgagcacc aaaggcccga gcgtgtttcc gctggcgccc	420
agcagcaaaa gcaccagcgg cggcaccgcg gcgctgggct gcctggtgaa agattatntt	480

[0128]		
ccggaaccgg	tgaccgtgag	ctggaacagc
ggcgcgctga	ccagcggcgt	gcataccttt
		540
ccggcggtgc	tgacagagcag	cggcctgtat
agcctgagca	gcgtggtgac	cgtgccgagc
		600
agcagcctgg	gcaccagac	ctatatttgc
aacgtgaacc	ataaaccgag	caacaccaaa
		660
gtggataaaa	aagtggaacc	gaaaagctgc
gataaaaccc	atacctgcc	gccgtgcccg
		720
gcgccggaac	tgctgggagg	cccagcgtg
tttctgtttc	cgccgaaacc	gaaagatacc
		780
ctgatgatta	gccgcacccc	ggaagtgacc
tgctgtggtg	tgatgtgag	ccatgaagat
		840
ccggaagtga	aatttaactg	gtatgtggat
ggcgtggaag	tgcataacgc	gaaaaccaaa
		900
ccgcgcgaag	aacagtataa	cagcacctat
cgcgtggtga	gcgtgctgac	cgtgctgcat
		960
caggattggc	tgaacggcaa	agaatataaa
tgcaaagtga	gcaacaaagc	gctgccggcg
		1020
ccgattgaaa	aaaccattag	caaagcgaag
ggccagccgc	gcgaaccgca	ggtgtatacc
		1080
ctgccgccga	gccggaaga	aatgaccaaa
aaccagggtga	gcctgacctg	cctggtgaaa
		1140
ggcttttatac	cgagcgatat	tgcggtggaa
tgggaaagca	acggccagcc	ggaaaacaac
		1200
tataaaacca	ccccgccggt	gctggatagc
gatggcagct	tttttctgta	tagcaaactg
		1260
accgtggata	aaagccgctg	gcagcagggc
aacgtgttta	gctgcagcgt	gatgcatgaa
		1320
gcgctgcata	accattatac	ccagaaaagc
ctgagcctga	gcccgggcaa	a
		1371

- <210> 197
 <211> 654
 <212> DNA
 <213> 包含小鼠 κ 恒定区的1E4轻链

<400>	197	
gatatcgtga	tgaccagtc	tcctctgagc
ctgcctgtgt	ctctgggcca	tcaggcctcc
		60
atctcctgca	gatcttctca	gtccctggtg
cactccaacg	gcaacaccta	cctgcactgg
		120
tatctgcaga	agccccgcca	gtctccaaag
ctgctgatct	acaagggtgc	caaccggttc
		180
tctggcgtgc	ccgacagatt	ttctggctct
ggatctggca	ccgacttcac	cctgaagatc
		240
tccagagtgg	aagccgagga	cctgggcgtg
tacttctgta	gccagtctac	ccacgtgcca
		300
agaacctttg	gcggaggcac	caagctggaa
atcaaggcgg	atgcggcgcc	gaccgtgagc
		360
atctttccgc	cgagcagcga	acagctgacc
agcggcggcg	cgagcgtggt	gtgctttctg
		420
aacaactttt	atccgaaaga	tattaacgtg
aatggaaaa	ttgatggcag	cgaacgccag
		480
aacggcgtgc	tgaacagctg	gaccgatcag
gatagcaaag	atagcaccta	tagcatgagc
		540
agcaccctga	ccctgaccaa	agatgaatat
gaacgcata	acagctatac	ctgcgaagcg
		600

[0129]

accataaaa ccagcaccag cccgattgtg aaaagcttta accgcaacga atgc 654

<210> 198

<211> 654

<212> DNA

<213> 包含小鼠 κ 恒定区的9B11轻链

<400> 198

gatatcgtga tgaccagtc tcctctgagc ctgcctgtgt ctctgggcga tcaggcctcc 60

atctctgca gatcttctca gtccctgggt cactccaacg gcaacaccta cctgcactgg 120

tatctgcaga agcccggcca gtctccaaag ctgctgatct acaaggtgtc caaccggttc 180

tctggcgtgc ccgacagatt ttctggctct ggatctggca ccgacttcac cctgaagatc 240

tccagagtgg aagccgagga cctgggcgtg tacttctgta gccagtctac ccacgtgcca 300

ctgacctttg gcgctggcac aaagctggaa cagaaggcgg atgcggcgcc gaccgtgagc 360

atititccgc cgagcagcga acagctgacc agcggcggcg cgagcgtggt gtgctttctg 420

aacaactttt atccgaaaga tattaacgtg aatggaaaa ttgatggcag cgaacgccag 480

aacggcgtgc tgaacagctg gaccgatcag gatagcaaag atagcaccta tagcatgagc 540

agcacctga ccctgaccaa agatgaatat gaacccata acagctatac ctgcgaagcg 600

accataaaa ccagcaccag cccgattgtg aaaagcttta accgcaacga atgc 654

<210> 199

<211> 639

<212> DNA

<213> 包含小鼠 κ 恒定区的3A9轻链

<400> 199

gatatcgtga tgaccagtc tcctaagttc atgtccacct ccgtgggcga cagagtgtcc 60

atcacatgca aggcctctca gaacgtgggc accaccgttg cctggtatca gcagaaacct 120

ggccagtctc caaagctgct gatctactcc gcctctaaca gatacacagg cgtgcccagc 180

agattcaccg gctctggctc tggcaccgat ttcacctga ccatctcaa catgcagtcc 240

gaggacctgg ccgactactt ctgccagcag tacagcaact accctctgac ctttggcgct 300

ggcaccaagc tggaactgag agcggatgcg gcgccaccg tgagcatttt tccgccgagc 360

agcgaacagc tgaccagcgg cggcgcgagc gtggtgtgct ttctgaacaa cttttatccg 420

aaagatatta acgtgaaatg gaaaattgat ggcagcgaac gccagaacgg cgtgctgaac 480

agctggaccg atcaggatag caaagatagc acctatagca tgagcagcac cctgaccctg 540

[0130]

accaaagatg aatatgaacg ccataacagc tatacctgcg aagcgacca taaaaccagc 600
accagcccga ttgtgaaaag cttaaccgc aacgaatgc 639

<210> 200
<211> 654
<212> DNA
<213> 包含小鼠 κ 恒定区的10F10轻链

<400> 200
gatatcgtga tgaccagtc tcctctgaca ctgtccgtga ccatcgcca gcctgcctcc 60
atttcttgca agtcctctca gtccctgctg gactccgatg gcgagacata cctgaactgg 120
ctgttcgaga ggcttgcca gagtcctaag agactgatct acctggtgtc caagctggat 180
tccggcgtgc ccgatagatt ttccggctct ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc 240
tctagagtgg aagccgagga cctgggcgtg tactactggt ggccagggaac ccactttcct 300
cagacctttg gcggcggaa aaagctgga atcaaggcgg atgcggcgc gaccgtgagc 360
atTTTTccgc cgagcagcga acagctgacc agcggcggcg cgagcgtggt gtgctttctg 420
aacaactttt atccgaaaga tattaacgtg aaatggaaaa ttgatggcag cgaacgccag 480
aacggcgtgc tgaacagctg gaccgatcag gatagcaaag atagcaccta tagcatgagc 540
agcaccctga ccctgaccaa agatgaatat gaacgcata acagctatac ctgcgaagcg 600
accataaaa ccagcaccag cccgattgtg aaaagcttta accgcaacga atgc 654

<210> 201
<211> 654
<212> DNA
<213> 包含小鼠 κ 恒定区的11F11轻链

<400> 201
gatatcgtga tgaccagtc tcctctgaca ctgtccgtga ccatcgcca gcctgcctcc 60
atttcttgca agtcctctca gtccctgctg gactccgatg gcgagacata cctgaactgg 120
ctgttcgaga ggcttgcca gagtcctaag agactgatct acctggtgtc caagctggat 180
tccggcgtgc ccgatagatt ttccggctct ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc 240
tctagagtgg aagccgagga cctgggcgtg tactactggt ggccagggaac ccactttcct 300
cagacctttg gcggcggaa aaagctgga atcaaggcgg atgcggcgc gaccgtgagc 360
atTTTTccgc cgagcagcga acagctgacc agcggcggcg cgagcgtggt gtgctttctg 420
aacaactttt atccgaaaga tattaacgtg aaatggaaaa ttgatggcag cgaacgccag 480
aacggcgtgc tgaacagctg gaccgatcag gatagcaaag atagcaccta tagcatgagc 540

[0131]

agcacctga ccctgaccaa agatgaatat gaacgccata acagctatac ctgccaagcg 600
accataaaa ccagcaccag cccgattgtg aaaagcttta accgcaacga atgc 654

<210> 202
<211> 651
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
<223> 包含小鼠 κ 恒定区的AC8轻链

<400> 202
caaagcgtac ttactcagcc tccaagcgc agcgggacac ccggtcagag ggtcactatt 60
agttgctctg ggagctcttc aatatagcc tctaataacg tgtactggta tcagcaactg 120
cccgtactg caccaaaact gtcataatc tacgatagcc aacgtcctag cggagtccca 180
gaccgcttca gcggcagtaa atccggcacc tccgccagtt tggccataag cggacttcgc 240
tcagaggacg aagcagacta ctattgcgct tcttgggatg cttcattgag tgcttatgtg 300
ttcgggtggcg ggactaagct cactgtcctt ggtgcggatg cggcgccgac cgtgagcatt 360
tttccgccga gcagcgaaca gctgaccagc ggccggcgcga gcgtgggtgtg ctttctgaac 420
aacttttatc cgaaagatat taacgtgaaa tggaaaattg atggcagcga acgccagaac 480
ggcgtgctga acagctggac cgatcaggat agcaaagata gcacctatag catgagcagc 540
accctgacce tgaccaaaga tgaatatgaa cgccataaca gctataacctg cgaagcgacc 600
cataaaacca gcaccagccc gattgtgaaa agctttaacc gcaacgaatg c 651

<210> 203
<211> 651
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
<223> 包含小鼠 κ 恒定区的AE8轻链

<400> 203
caaagtgtgc tcacacagcc accaagcgc agcgggactc ctggtcaacg agttactata 60
agctgttcag gaagtagttc taacattggc aataactccg tcaactggta tcaacaactc 120
ccaggcacag cacctaagtt gctgatctac gccataata accgccccag cggggttcca 180
gaccgcttct ccgggtctaa gagcgggact tctgcatcat tggcaatttc cggccttagg 240

[0132]

tccgaagacg aggcagatta ttattgtggt agctgggacg catctctcaa tggatacgtt	300
tttggcgggg gcaccaagct tacagttctt ggagcggatg cggcgccgac cgtgagcatt	360
tttccgccga gcagcgaaca gctgaccagc ggccggcgca gcgtggtgtg ctttctgaac	420
aacttttata cgaaagatat taacgtgaaa tggaaaattg atggcagcga acgccagaac	480
ggcgtgctga acagctggac cgatcaggat agcaaagata gcacctatag catgagcagc	540
accctgacct tgaccaaaga tgaatatgaa cgccataaca gctataacctg cgaagcgacc	600
cataaaacca gcaccagccc gattgtgaaa agctttaacc gcaacgaatg c	651

<210> 204
 <211> 651
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含小鼠 κ 恒定区的AA9轻链

<400> 204	
caatctgtgc ttactcaacc cccagtgca tccgttactc ccggtcaaag ggtcactatac	60
agctgttcag gttcaagctc caatatcggg agtaattatg ttagctggta tcaacagctc	120
cctggaacag ctccaaagct gctcatttat ggggacaaca agcgtccatc tggcgtgcct	180
gacagattta gtggctcaa gtccgggaca tccgcatctt tggcaatcag cggacttcga	240
tccgaggatg aggccgacta ttattgtgga gcctgggacg attcactgag cgggtacgtt	300
tttgggtggg gtactaaact gacagtgctt ggagcggatg cggcgccgac cgtgagcatt	360
tttccgccga gcagcgaaca gctgaccagc ggccggcgca gcgtggtgtg ctttctgaac	420
aacttttata cgaaagatat taacgtgaaa tggaaaattg atggcagcga acgccagaac	480
ggcgtgctga acagctggac cgatcaggat agcaaagata gcacctatag catgagcagc	540
accctgacct tgaccaaaga tgaatatgaa cgccataaca gctataacctg cgaagcgacc	600
cataaaacca gcaccagccc gattgtgaaa agctttaacc gcaacgaatg c	651

<210> 205
 <211> 651
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含小鼠 κ 恒定区的DG5轻链

[0133]

<400> 205
 cagagtgtgc tactcaacc tccatccgcc tctggtacac caggtcaacg ggtcactatc 60
 tcatgcagcg gctccagctc caacatagga tctaagtctg tcagttggta tcaacagttg 120
 cccggaacag cacctaagtt gctgatatac agcaattcca accgcccctc tggcgtgccc 180
 gaccggtttt caggttccaa gtctggcaca tcagcttctc tcgccattag tgggctccgt 240
 tctgaggatg aggcagacta ctactgtgct gcctgggacg catccctgtc cgggtacgtc 300
 tttggaggcg gaaccaagtt gaccgtgctg ggagcggatg cggcgccgac cgtgagcatt 360
 tttccgccga gcagcgaaca gctgaccagc ggcgcgcgca gcgtggtgtg ctttctgaac 420
 aacttttata cgaaagatat taacgtgaaa tggaaaattg atggcagcga acgccagaac 480
 ggcggtctga acagctggac cgatcaggat agcaaagata gcacctatag catgagcagc 540
 accctgacce tgaccaaaga tgaatatgaa cgccataaca gctatacctg cgaagcgacc 600
 cataaaacca gcaccagccc gattgtgaaa agctttaacc gcaacgaatg c 651

<210> 206
 <211> 651
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含小鼠 κ 恒定区的AD2轻链

<400> 206
 caaagtgtgc tactcagcc tccatcagct agtggaaactc ccggacaaag ggtaaccatt 60
 agctgcactg gatcttctc caatatcggg aataatagtg taagttggta tcagcaattg 120
 cctggaaccg cacccaagtt gctcatctac tctgataaca accgtccatc aggtgtccct 180
 gaccgttttt caggttctaa aagtgggact tcagcctctc tcgccatctc aggtctgcga 240
 agcgaagacg aagcagacta ctattgtggt tcctgggatg ctagcctcag tggctacgtg 300
 tttggtggtg gaacaaaact cactgtactt ggtgcggatg cggcgccgac cgtgagcatt 360
 tttccgccga gcagcgaaca gctgaccagc ggcgcgcgca gcgtggtgtg ctttctgaac 420
 aacttttata cgaaagatat taacgtgaaa tggaaaattg atggcagcga acgccagaac 480
 ggcggtctga acagctggac cgatcaggat agcaaagata gcacctatag catgagcagc 540
 accctgacce tgaccaaaga tgaatatgaa cgccataaca gctatacctg cgaagcgacc 600
 cataaaacca gcaccagccc gattgtgaaa agctttaacc gcaacgaatg c 651

[0134]

<210> 207
 <211> 651
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含小鼠 κ 恒定区的AD7轻链

<400> 207
 caatctgtct tgactcaacc tectagtgtc tcaggtactc ctgggcagcg tgtaactatt 60
 tcttgtactg ggagcagttc caacatcggg agcaatgccg tgaactggta tcagcagttg 120
 ccaggtacag ctcccaact tctcatttac agcaacaacc atcgcccatc cggggtgccc 180
 gatagtttct ctggctctaa aagtggaaca agcgaagcc tggcaatctc cggcttgcgt 240
 tcagaggatg aagccgacta ctactgcggc gcatgggact cctctctcaa tggatatgtg 300
 tttggaggcg gcactaaact taccgtattg ggagcggatg cggcgccgac cgtgagcatt 360
 tttccgccga gcagcgaaca gctgaccagc ggcggcgcga gcgtggtgtg ctttctgaac 420
 aacttttata cgaaagatat taacgtgaaa tggaaaattg atggcagcga acgccagaac 480
 ggcgtgctga acagctggac cgatcaggat agcaaagata gcacctatag catgagcagc 540
 accctgacct tgaccaaaga tgaatatgaa cgccataaca gctataacctg cgaagcgacc 600
 cataaaacca gcaccagccc gattgtgaaa agctttaacc gcaacgaatg c 651

<210> 208
 <211> 651
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含小鼠 κ 恒定区的DG11轻链

<400> 208
 cagtctgtac tgactcaacc acccagtgcc agtgggtacc caggcaacg tgtaactatt 60
 agttgactg gaagttcctc taacatagga agcaactcag tgagttggta ccagcaactt 120
 ccaggacag ctccctaaact tttgatatac gcaaattcta accgacctc tggagtccct 180
 gatagtttta gcgggagcaa gtcaggaacc agcgcacccc ttgctataag cggacttcgg 240
 agcgaagacg aggccgatta ctattgcgct gcctgggatg cctctttgtc tgacctagtg 300
 tttggtggag ggactaagct caccgtactt ggggcggatg cggcgcccac cgtgagcatt 360
 tttccgccga gcagcgaaca gctgaccagc ggcggcgcga gcgtggtgtg ctttctgaac 420

[0135]
aacttttata cgaagatat taacgtgaaa tggaaaattg atggcagcga acgccagaac 480
ggcgtgctga acagctggac cgatcaggat agcaaagata gcacctatag catgagcagc 540
accctgacct tgaccaaaga tgaatatgaa cgccataaca gctataacctg cgaagcgacc 600
cataaaacca gcaccagccc gattgtgaaa agctttaacc gcaacgaatg c 651

<210> 209
<211> 651
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
<223> 包含小鼠 κ 恒定区的DG8轻链

<400> 209
cagtctgttc tgacceaac accctcagca agcgggactc ctggccaacg ggtgacaata 60
agttgctcag ggtcttctc aaatatagga agcaacagcg taagctggta tcagcagttg 120
ccaggcaccg cacccaaact gtcatttat gccacaaca atcgaccatc tgggtgcca 180
gatcggttta gcgggtctaa gtcaggcact agtgccagtc tggccatttc cggcctccgg 240
tctgaagacg aagccgacta ctattgcggg gcatgggata gtcattgtc cgcatacctg 300
tttggcggcg ggaccaagt gaccgttctg ggggcggatg cggcgccgac cgtgagcatt 360
tttccgccga gcagcgaaca gctgaccagc ggccggcgca gcgtgggtgtg ctttctgaac 420
aacttttata cgaagatat taacgtgaaa tggaaaattg atggcagcga acgccagaac 480
ggcgtgctga acagctggac cgatcaggat agcaaagata gcacctatag catgagcagc 540
accctgacct tgaccaaaga tgaatatgaa cgccataaca gctataacctg cgaagcgacc 600
cataaaacca gcaccagccc gattgtgaaa agctttaacc gcaacgaatg c 651

<210> 210
<211> 651
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
<223> 包含小鼠 κ 恒定区的DA9轻链

<400> 210
caaagtgtct tgactcaacc tcccagtgcc tctgggacct ctgggcaaag agtcaccatt 60
agctgttctg gttcccctc taatatagga aacaattctg taagttgta tcagcagctc 120
ccaggcacag ctcccaaact gcttatctac gctaactcac accggcccag tggagtcccc 180

[0136]

gaccgtttct cggtagcaa atccgtacc tccgcctcac ttgctatttc aggacttcgc	240
agcgaggacg aggccgacta ttattgtggg tcttgggatg cctcactgaa tggatatggt	300
ttcgggtggcg gcaccaagct caccgttttg ggcgcggatg cggcgccgac cgtgagcatt	360
tttccgccga gcagcgaaca gctgaccagc ggcggcgcga gcgtggtgtg ctttctgaac	420
aacttttatc cgaaagatat taacgtgaaa tggaaaattg atggcagcga acgccagaac	480
ggcgtgctga acagctggac cgatcaggat agcaaagata gcacctatag catgagcagc	540
accctgacce tgaccaaaga tgaatatgaa cgccataaca gctatacctg cgaagcgacc	600
cataaaacca gcaccagccc gattgtgaaa agctttaacc gcaacgaatg c	651

<210> 211
 <211> 657
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
 <223> 包含人 κ 恒定区的1E4轻链

<400> 211	
gatatcgtga tgaccagtc tcctctgagc ctgcctgtgt ctctgggcga tcaggcctcc	60
atctcctgca gatcttctca gtccctgggtg cactccaacg gcaacaccta cctgcactgg	120
tatctgcaga agcccggcca gtctccaaag ctgctgatct acaaggtgtc caaccggttc	180
tctggcgtgc ccgacagatt ttctggctct ggatctggca ccgacttcac cctgaagatc	240
tccagagtgg aagccgagga cctgggcgtg tacttctgta gccagtctac ccacgtgcc	300
agaacctttg gcggaggcac caagctggaa atcaagcga ccgtggcggc gccgagcgtg	360
tttatttttc cgccgagcga tgaacagctg aaaagcggca ccgcgagcgt ggtgtgcctg	420
ctgaacaact tttatccgcg cgaagcgaaa gtgcagtgga aagtggataa cgcgctgcag	480
agcggcaaca gccaggaaag cgtgaccgaa caggatagca aagatagcac ctatagcctg	540
agcagcacc ctgaccctgag caaagcggat tatgaaaaac ataaagtgta tgcgtgcgaa	600
gtgaccatc agggcctgag cagcccgggtg accaaaagct ttaaccgcgg cgaatgc	657

<210> 212
 <211> 657
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

[0137]

<223> 包含人 κ 恒定区的9B11轻链

<400> 212

gatatcgtga tgaccagtc tcctctgagc ctgcctgtgt ctctgggcga tcaggcctcc	60
atctcctgca gatcttctca gtccttggtg cactccaacg gcaacaccta cctgcactgg	120
tatctgcaga agcccggcca gtctccaaag ctgctgatct acaaggtgtc caaccggttc	180
tctggcgtgc ccgacagatt ttctggctct ggatctggca ccgacttcac cctgaagatc	240
tccagagtgg aagccgagga cctgggcgtg tacttctgta gccagtctac ccacgtgcca	300
ctgacctttg gcgctggcac aaagctggaa cagaagcgca ccgtggcggc gccgagcgtg	360
tttatttttc cgccgagcga tgaacagctg aaaagcggca ccgcgagcgt ggtgtgcctg	420
ctgaacaact tttatccgcg cgaagcgaag gtgcagtgga aagtgataa cgcgctgcag	480
agcggcaaca gccaggaaag cgtgaccgaa caggatagca aagatagcac ctatagcctg	540
agcagcacc cc tgaccctgag caaagcggat tatgaaaaac ataaagtgtg tgcgtgcgaa	600
gtgaccatc agggcctgag cagcccgggtg accaaaagct ttaaccgcgg cgaatgc	657

<210> 213

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含人 κ 恒定区的3A9轻链

<400> 213

gatatcgtga tgaccagtc tcctaagttc atgtccacct ccgtgggcga cagagtgtcc	60
atcacatgca aggcctctca gaacgtgggc accaccgttg cctggtatca gcagaaacct	120
ggccagtctc caaagctgct gatctactcc gcctctaaca gatacacagg cgtgcccagc	180
agattcaccg gctctggctc tggcaccgat ttcacctga ccatctcaa catgcagtcc	240
gaggacctgg ccgactactt ctgccagcag tacagcaact accctctgac ctttggcgtc	300
ggcaccaagc tggaactgag acgcaccgtg gcggcgccga gcgtgtttat tttccgccg	360
agcgtatgaa agctgaaaag cggcaccgcg agcgtggtgt gcctgctgaa caacttttat	420
ccgcgcgaag cgaaagtgca gtggaaagtg gataacgcgc tgcagagcgg caacagccag	480
gaaagcgtga ccgaacagga tagcaaagat agcacctata gcctgagcag caccctgacc	540
ctgagcaaag cggattatga aaaacataaa gtgtatgcgt gcgaagtgc ccatcagggc	600

[0138]

ctgagcagcc cggtagaccaa aagctttaac cgcggcgaat gc 642

<210> 214

<211> 657

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含人 κ 恒定区的10F10轻链

<400> 214

gatatcgtga tgaccagtc tcctctgaca ctgtccgtga ccatcgcca gcctgcctcc 60

atttcttgca agtcctctca gtccctgctg gactccgatg gcgagacata cctgaactgg 120

ctgttgacaga ggcctggcca gaggcctaag agactgatct acctgggtgc caagctggat 180

tccggcgtgc ccgatagatt ttccggctct ggctctggca ccgacttac cctgaagatc 240

tctagagtgg aagccgagga cctgggcgtg tactactgtt ggcagggaac ccactttcct 300

cagaccttg gcggcggaac aaagctggaa atcaagcga ccgtggcggc gccgagcgtg 360

tttatttttc cgccgagcga tgaacagctg aaaagcggca ccgagcgtg ggtgtgcctg 420

ctgaacaact tttatccgcg cgaagcgaat gtgcagtggc aagtggataa cgcgctgcag 480

agcggcaaca gccaggaaag cgtgaccgaa caggatagca aagatagcac ctatagcctg 540

agcagcacc tgaccctgag caaagcggat tatgaaaaac ataaagtgta tgcgtgcgaa 600

gtgaccatc agggcctgag cagcccgggtg accaaaagct ttaaccgagg cgaatgc 657

<210> 215

<211> 660

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 包含人 κ 恒定区的11F11轻链

<400> 215

gatatcgtga tgaccagtc tccttctct ctggctgtgt ccgtgggcga gaaagtgacc 60

atgtcctgca agtcctctca gtccctgctg tactcctcca accagaagaa ctacctggcc 120

tggtatcagc agaagcccgg ccagtctcca aagctgctga tctactgggc ctccaccaga 180

gaatctggcg tgccagatag attcaccggc tctggtctg gcaccgactt caccctgaca 240

atctcttcg tgaaggcga ggacctggcc gtgtactact gccagcagta ctacagctac 300

ccctggacct ttggcggagg caccaagctg gaaatcaage gcaccgtggc ggcgccgagc 360

[0139]

gtgtttatatt ttccgccgag cgatgaacag ctgaaaagcg gcaccgag cgtggtgtgc 420
 ctgctgaaca acttttatcc gcgcgaagcg aaagtgcagt ggaaagtgga taacgcgctg 480
 cagagcggca acagccagga aagcgtgacc gaacaggata gcaaagatag cacctatagc 540
 ctgagcagca ccctgaccet gagcaaagcg gattatgaaa aacataaagt gtatgcgtgc 600
 gaagtgacct atcagggcct gagcagccc gtgacaaaa gctttaaccg cggcgaatgc 660
 660

<210> 216
 <211> 654
 <212> DNA
 <213> 包含人 κ 恒定区的AC8轻链

<400> 216
 caaagcgtac ttactcagcc tccaagcgc agcgggacac ccggtcagag ggtcactatt 60
 agttgctctg ggagctcttc aaatatagc tctaataacg tgtactggta tcagcaactg 120
 cccggtactg caccaaaact gtcataatc tacgatagcc aacgtcctag cggagtccca 180
 gaccgcttca gcggcagtaa atccggcacc tccgccagtt tggccataag cggacttcgc 240
 tcagaggacg aagcagacta ctattgcgct tcttgggatg cttcattgag tgcttatgtg 300
 ttcggtggcg ggactaagct cactgtcctt ggtcgcaccg tggcggcgcc gagcgtgttt 360
 atttttccgc cgagcgatga acagctgaaa agcggcaccg cgagcgtggt gtgcctgctg 420
 aacaactttt atccgcgcga agcgaagtg cagtggaaag tggataacgc gctgcagagc 480
 ggcaacagcc aggaaagcgt gaccgaacag gatagcaaag atagcaccta tagcctgagc 540
 agcaccctga ccctgagcaa agcggattat gaaaaacata aagtgtatgc gtgcgaagtg 600
 acccatcagg gcctgagcag cccggtgacc aaaagcttta accgcggcga atgc 654

<210> 217
 <211> 654
 <212> DNA
 <213> 包含人 κ 恒定区的AE8轻链

<400> 217
 caaagtgtgc tcacacagcc accaagcgc agcgggactc ctggtcaacg agttactata 60
 agctgttcag gaagtagttc taacattggc aataactccg tcaactggta tcaacaactc 120
 ccaggcacag cacctaagtt gctgatctac gccaataata accgccccag cggggttcca 180
 gaccgcttct ccgggtctaa gagcgggact tctgcatcat tggcaatttc cggccttagg 240
 tccgaagacg aggcagatta ttattgtggt agctgggacg catctctcaa tggatacgtt 300

[0140]

tttggcgggg gcaccaagct tacagttcct ggacgcaccg tggcggcgcc gagcgtgttt	360
atTTTTccgc cgagcgatga acagctgaaa agcggcaccg cgagcgtggt gtgcctgctg	420
aacaactttt atccgcgcga agcgaaagtg cagtggaaag tggataacgc gctgcagagc	480
ggcaacagcc aggaaagcgt gaccgaacag gatagcaaag atagcaccta tagcctgagc	540
agcacctga ccctgagcaa agcggattat gaaaaacata aagtgtatgc gtgcgaagtg	600
accatcagg gcctgagcag cccggtgacc aaaagcttta accgcggcga atgc	654

<210> 218
 <211> 654
 <212> DNA
 <213> 包含人 κ 恒定区的AA9轻链

<400> 218	
caatctgtgc ttactcaacc cccagtgca tccggtactc ccggtcaaag ggtcactatc	60
agctgttcag gttcaagctc caatatcggg agtaattatg ttagctggta tcaacagctc	120
cctggaacag ctccaaagct gtcatttat ggggacaaca agcgtccatc tggcgtgcct	180
gacagattta gtggctccaa gtccgggaca tccgcatctt tggcaatcag cggacttcga	240
tccgaggatg aggccgacta ttattgtgga gcctgggacg attcactgag cgggtacgtt	300
tttgggtgggg gtactaaact gacagtgctt ggacgcaccg tggcggcgcc gagcgtgttt	360
atTTTTccgc cgagcgatga acagctgaaa agcggcaccg cgagcgtggt gtgcctgctg	420
aacaactttt atccgcgcga agcgaaagtg cagtggaaag tggataacgc gctgcagagc	480
ggcaacagcc aggaaagcgt gaccgaacag gatagcaaag atagcaccta tagcctgagc	540
agcacctga ccctgagcaa agcggattat gaaaaacata aagtgtatgc gtgcgaagtg	600
accatcagg gcctgagcag cccggtgacc aaaagcttta accgcggcga atgc	654

<210> 219
 <211> 654
 <212> DNA
 <213> 包含人 κ 恒定区的DG5轻链

<400> 219	
cagagtgtgc tactcaacc tccatccgcc tctggtacac caggtcaacg ggtcactatc	60
tcatgcagcg gctccagctc caatatagga tctaattctg tcagttggta tcaacagttg	120
cccggaacag cacctaagtt gctgatatac agcaattcca accgcccctc tggcgtgccc	180
gaccggtttt caggttccaa gtctggcaca tcagcttctc tcgccattag tgggctcctg	240

[0141]

tctgaggatg aggcagacta ctactgtgct gcctgggacg catccctgtc cgggtacgtc	300
tttggaggcg gaaccaagt gaccgtgctg ggacgcaccg tggcggcgcc gagcgtgttt	360
atTTTTccgc cgagcgatga acagctgaaa agcggcaccg cgagcgtggt gtgcctgctg	420
aacaactttt atccgcgcga agcgaagtgt cagtggaaag tggataacgc gctgcagagc	480
ggcaacagcc aggaaagcgt gaccgaacag gatagcaaag atagcaccta tagcctgagc	540
agcaccctga ccctgagcaa agcggattat gaaaaacata aagtgtatgc gtgcgaagtg	600
accatcagg gcctgagcag cccggtgacc aaaagcttta accgcggcga atgc	654

<210> 220
 <211> 654
 <212> DNA
 <213> 包含人 κ 恒定区的AD2轻链

<400> 220	
caaagtgtgc tactcagcc tccatcagct agtggaaactc cggacaaag ggtaaccatt	60
agctgcactg gatcttctc caatatcggg aataatagtg taagttggta tcagcaattg	120
cctggaaccg cacccaagt gctcatctac tctgataaca accgtccatc aggtgtccct	180
gaccgttttt caggttctaa aagtgggact tcagcctctc tcgccatctc aggtctgcga	240
agcgaagacg aagcagacta ctattgtggt tcctgggatg ctagcctcag tggctacgtg	300
tttgggtggtg gaacaaaact cactgtactt ggtcgcaccg tggcggcgcc gagcgtgttt	360
atTTTTccgc cgagcgatga acagctgaaa agcggcaccg cgagcgtggt gtgcctgctg	420
aacaactttt atccgcgcga agcgaagtgt cagtggaaag tggataacgc gctgcagagc	480
ggcaacagcc aggaaagcgt gaccgaacag gatagcaaag atagcaccta tagcctgagc	540
agcaccctga ccctgagcaa agcggattat gaaaaacata aagtgtatgc gtgcgaagtg	600
accatcagg gcctgagcag cccggtgacc aaaagcttta accgcggcga atgc	654

<210> 221
 <211> 654
 <212> DNA
 <213> 包含人 κ 恒定区的AD7轻链

<400> 221	
caatctgtct tgactcaacc tctagtgtct tcaggtactc ctgggcagcg tgtaactatt	60
tcttgacttg ggagcagttc caacatcggg agcaatgccg tgaactggta tcagcagttg	120
ccaggtacag ctccaaact tctcatttac agcaacaacc atcggccatc cggggtgccc	180
gataggttct ctggctctaa aagtggaaac agcgaagcc tggcaatctc cggettgcgt	240

[0142]

tcagaggatg aagccgacta ctactgcggc gcatgggact cctctctcaa tggatatgtg	300
tttggaggcg gcactaaact taccgtattg ggacgcaccg tggcggcgcc gagcgtgttt	360
atTTTTccgc cgagcgatga acagctgaaa agcggcaccg cgagcgtggt gtgcctgctg	420
aacaactttt atccgcgcga agcgaagtg cagtggaaag tggataacgc gctgcagagc	480
ggcaacagcc aggaaagcgt gaccgaacag gatagcaaag atagcaccta tagcctgagc	540
agcacctga ccctgagcaa agcggattat gaaaaacata aagtgtatgc gtgcgaagtg	600
accatcagg gcctgagcag cccggtgacc aaaagcttta accgcggcga atgc	654

<210> 222
 <211> 654
 <212> DNA
 <213> 包含人 κ 恒定区的DG11轻链

<400> 222	
cagtctgtac tgactcaacc acccagtgcc agtggtagcc cagggcaacg tgtaactatt	60
agttgcaactg gaagttcctc taacatagga agcaactcag tgagttggta ccagcaactt	120
ccaggacag ctctaaact tttgatatac gcaaattcta accgaccctc tggagtccct	180
gataggttta gcgggagcaa gtcaggaacc agcgcattcc ttgctataag cggacttcgg	240
agcgaagacg aggccgatta ctattgcgct gcctgggatg cctctttgtc tgcctacgtg	300
tttggtaggag ggactaagct caccgtactt gggcgcaccg tggcggcgcc gagcgtgttt	360
atTTTTccgc cgagcgatga acagctgaaa agcggcaccg cgagcgtggt gtgcctgctg	420
aacaactttt atccgcgcga agcgaagtg cagtggaaag tggataacgc gctgcagagc	480
ggcaacagcc aggaaagcgt gaccgaacag gatagcaaag atagcaccta tagcctgagc	540
agcacctga ccctgagcaa agcggattat gaaaaacata aagtgtatgc gtgcgaagtg	600
accatcagg gcctgagcag cccggtgacc aaaagcttta accgcggcga atgc	654

<210> 223
 <211> 654
 <212> DNA
 <213> 包含人 κ 恒定区的DG8轻链

<400> 223	
cagtctgttc tgacccaacc accttcagca agcgggactc ctggccaacg ggtgacaata	60
agttgctcag ggtcttcctc aaatatagga agcaacagcg taagctggta tcagcagttg	120
ccaggcaccg cacccaaact gctcatttat gccacaaca atcgaccatc tgggtgcca	180

[0143]

gatcggttta gcggttctaa gtcaggcact agtgccagtc tggccatttc cggcctccgg 240
 tctgaagacg aagccgacta ctattgcggg gcatgggata gctcattgtc cgcatacgtg 300
 tttggcggcg ggaccaagtt gaccgttctg gggcgcaccg tggcggcgcc gagcgtgttt 360
 atttttccgc cgagcgatga acagctgaaa agcggcaccg cgagcgtggt gtgcctgctg 420
 aacaactttt atccgcgcga agcgaagtg cagtggaaag tggataacgc gctgcagagc 480
 ggcaacagcc aggaaagcgt gaccgaacag gatagcaaag atagcaccta tagcctgagc 540
 agcacctga ccctgagcaa agcggattat gaaaaacata aagtgtatgc gtgcgaagtg 600
 acccatcagg gcctgagcag cccggtgacc aaaagcttta accgcggcga atgc 654

<210> 224
 <211> 654
 <212> DNA
 <213> 包含人 κ 恒定区的DA9轻链

<400> 224
 caaagtgtct tgactcaacc tcccagtgcc tctgggacc ctgggcaaag agtcaccatt 60
 agctgttctg gttccccttc taatatagga aacaattctg taagttgta tcagcagctc 120
 ccaggcacag ctcccaaact gcttatctac gctaactcac accggcccag tggagtcccc 180
 gaccgtttct ccggtagcaa atccgttacc tccgcctcac ttgctatttc aggacttcgc 240
 agcaggagacg aggccgacta ttattgtggg tcttgggatg cctcactgaa tggatatggt 300
 ttcggtggcg gcaccaagct caccgttttg ggccgcaccg tggcggcgcc gagcgtgttt 360
 atttttccgc cgagcgatga acagctgaaa agcggcaccg cgagcgtggt gtgcctgctg 420
 aacaactttt atccgcgcga agcgaagtg cagtggaaag tggataacgc gctgcagagc 480
 ggcaacagcc aggaaagcgt gaccgaacag gatagcaaag atagcaccta tagcctgagc 540
 agcacctga ccctgagcaa agcggattat gaaaaacata aagtgtatgc gtgcgaagtg 600
 acccatcagg gcctgagcag cccggtgacc aaaagcttta accgcggcga atgc 654

<210> 225
 <211> 140
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens) α -突触核蛋白

<400> 225
 Met Asp Val Phe Met Lys Gly Leu Ser Lys Ala Lys Glu Gly Val Val 5
 10 15
 Ala Ala Ala Glu Lys Thr Lys Gln Gly Val Ala Glu Ala Ala Gly Lys 20
 25 30

Thr Lys Glu Gly Val Leu Tyr Val Gly Ser Lys Thr Lys Glu Gly Val35
 40 45

Val His Gly Val Ala Thr Val Ala Glu Lys Thr Lys Glu Gln Val Thr50
 55 60

Asn Val Gly Gly Ala Val Val Thr Gly Val Thr Ala Val Ala Gln Lys65
 70 75 80

[0144] Thr Val Glu Gly Ala Gly Ser Ile Ala Ala Ala Thr Gly Phe Val Lys85
 90 95

Lys Asp Gln Leu Gly Lys Asn Glu Glu Gly Ala Pro Gln Glu Gly Ile100
 105 110

Leu Glu Asp Met Pro Val Asp Pro Asp Asn Glu Ala Tyr Glu Met Pro115
 120 125

Ser Glu Glu Gly Tyr Gln Asp Tyr Glu Pro Glu Ala130 135
 140

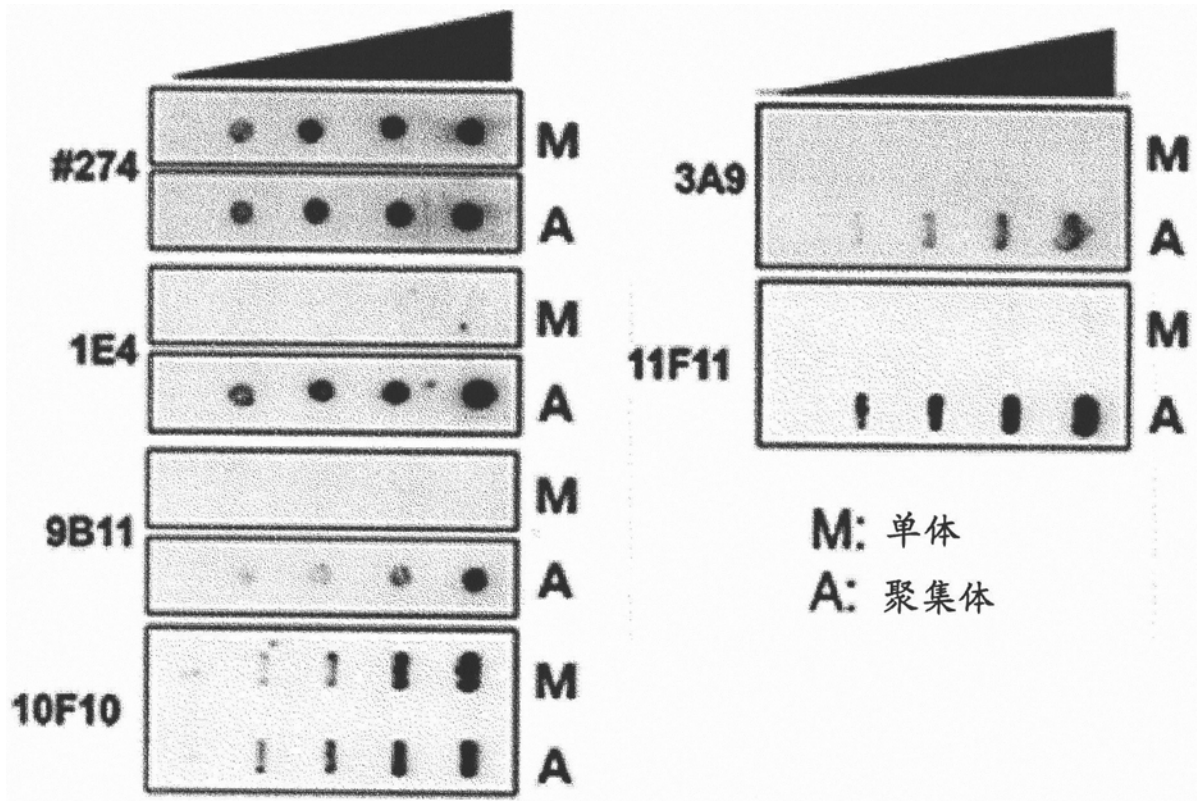


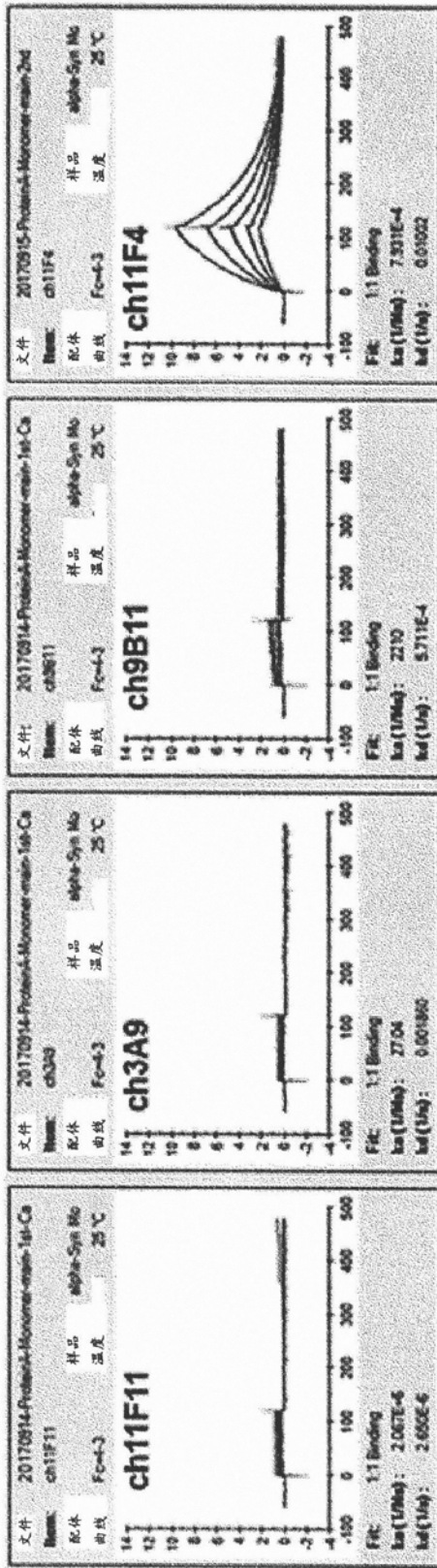
图1

克隆	EC50 (ng/ml)		EC50 (nM)	
	单体	纤丝	单体	纤丝
1E4	-	24.47	-	0.163
3A9	-	319.4	-	2.129
9B11	-	184.9	-	1.233
10F10	23.30	13.12	0.155	0.087
11F11	-	326.5	-	2.177
274	26.82	15.13	0.179	0.101

-: 已测试, 但不可用

图2

单体的感应图



纤丝的感应图

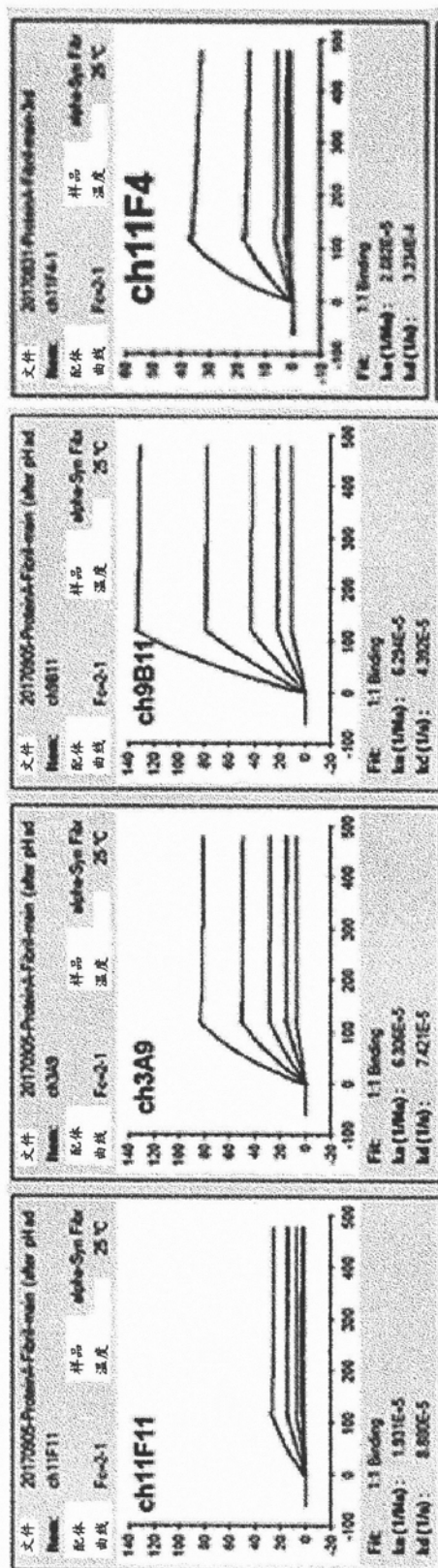


图3a

克隆	KD (M, X 10 ⁻⁹)	
	单体	纤丝
3A9	-	1.320
9B11	-	0.904
11F11	-	2.873

-: 已测试, 但不可用

图3b

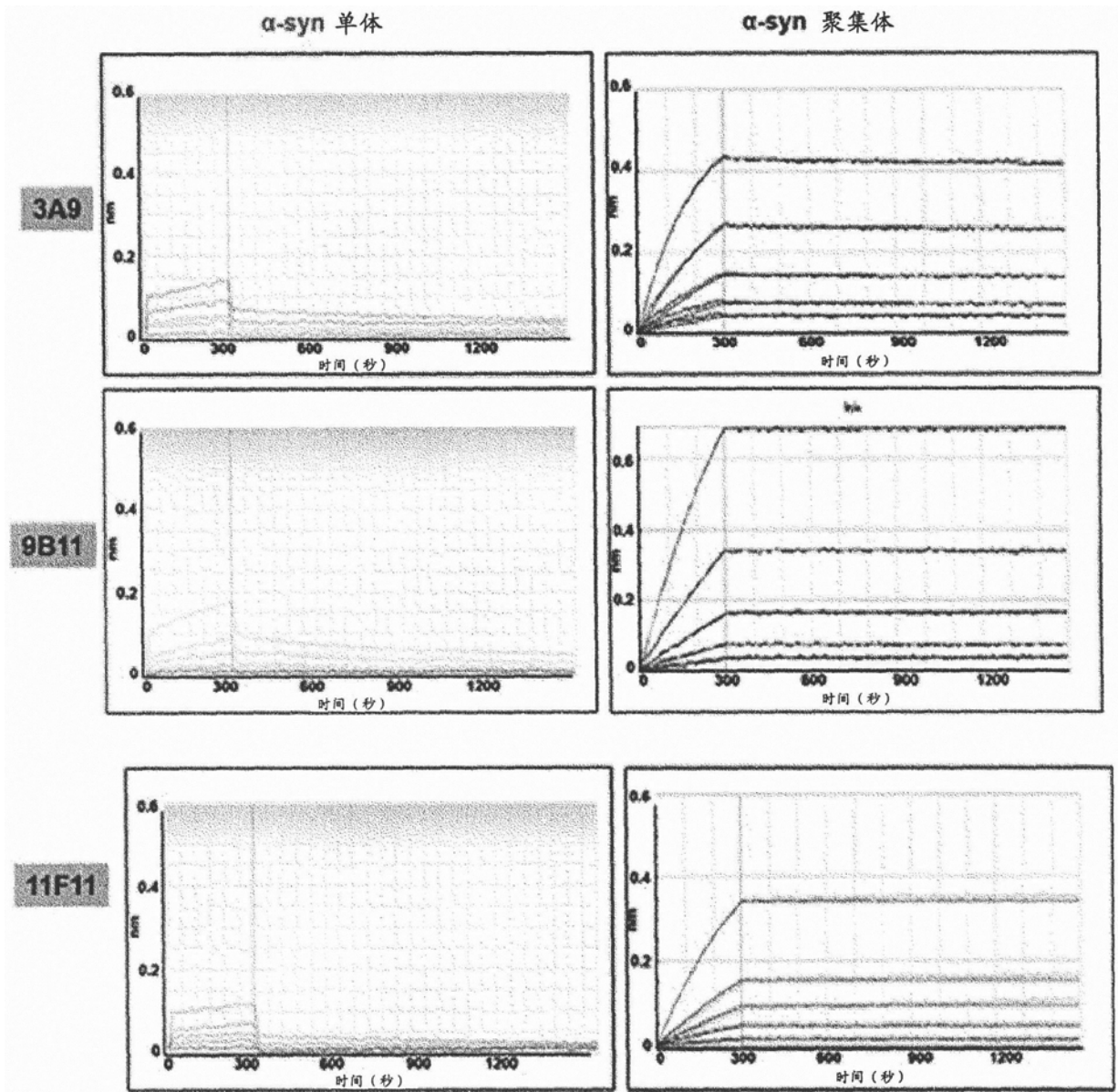


图4

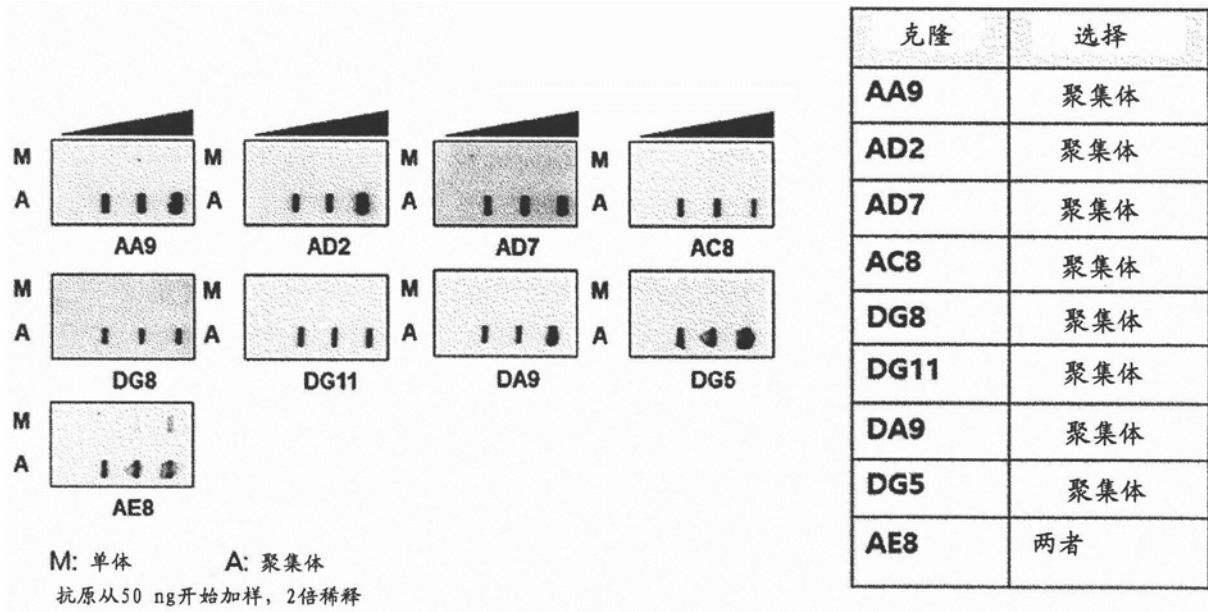


图5

克隆	KD (10^{-9} M)	克隆	KD (10^{-9} M)
1E4	0.18	AA9	0.88
10F10	0.81	DG5	1.26
11F4	0.14	AD2	1.67
3A9	0.13	AD7	0.17
9B11	0.018	DG11	2.66
11F11	0.16	DG8	3.80
AC8	0.24	DA9	4.31
AE8	0.39		

图6

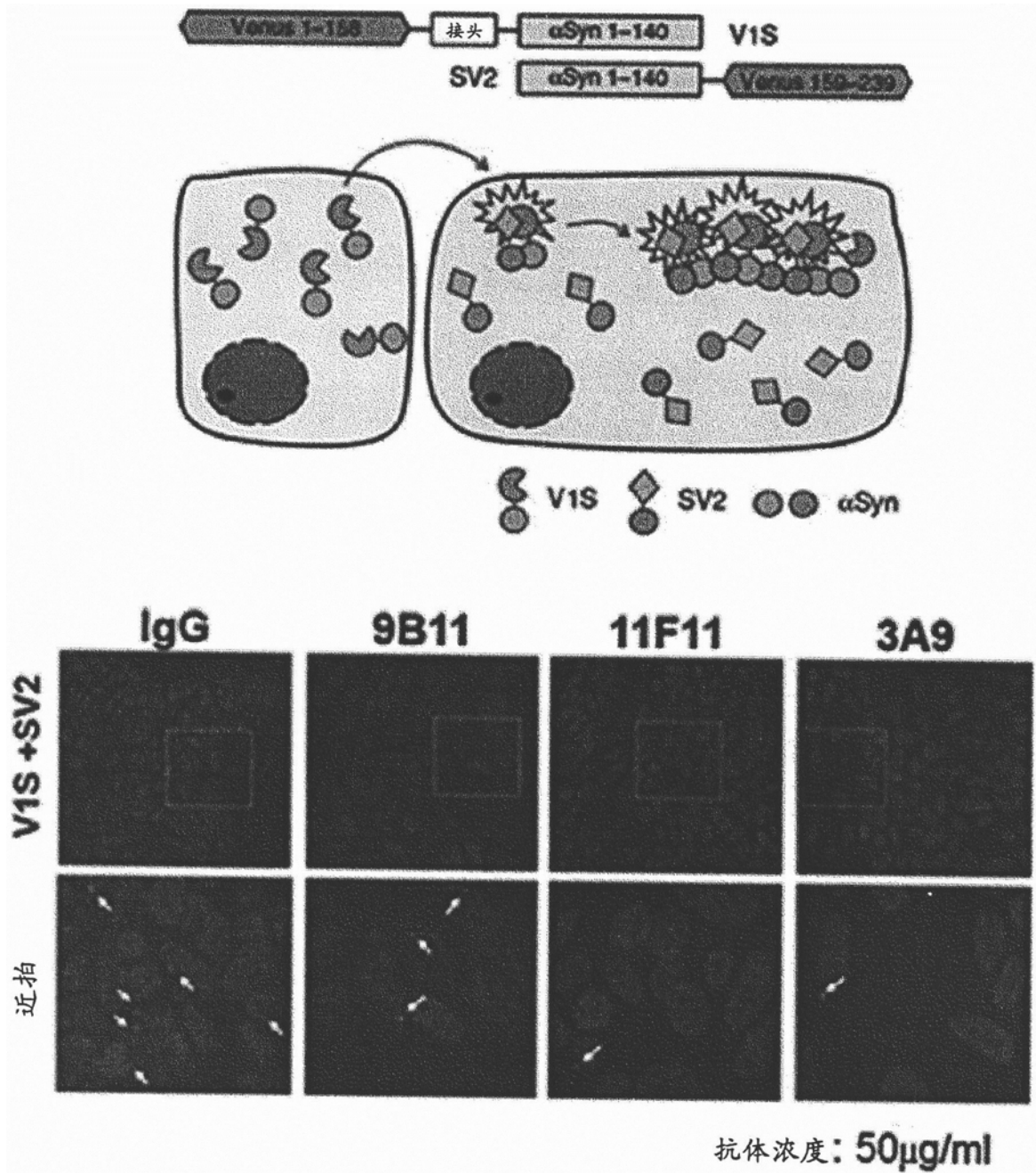


图7

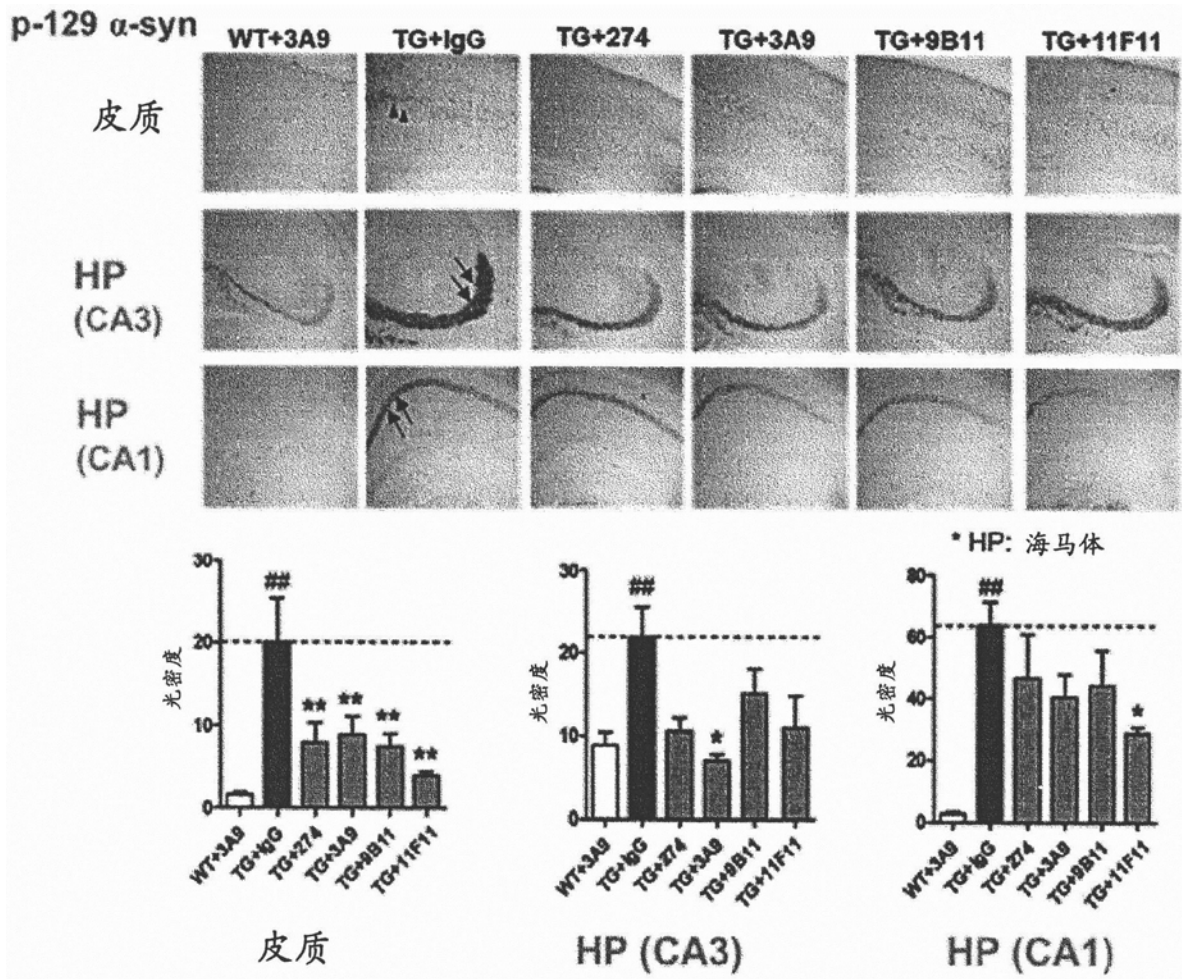


图8a

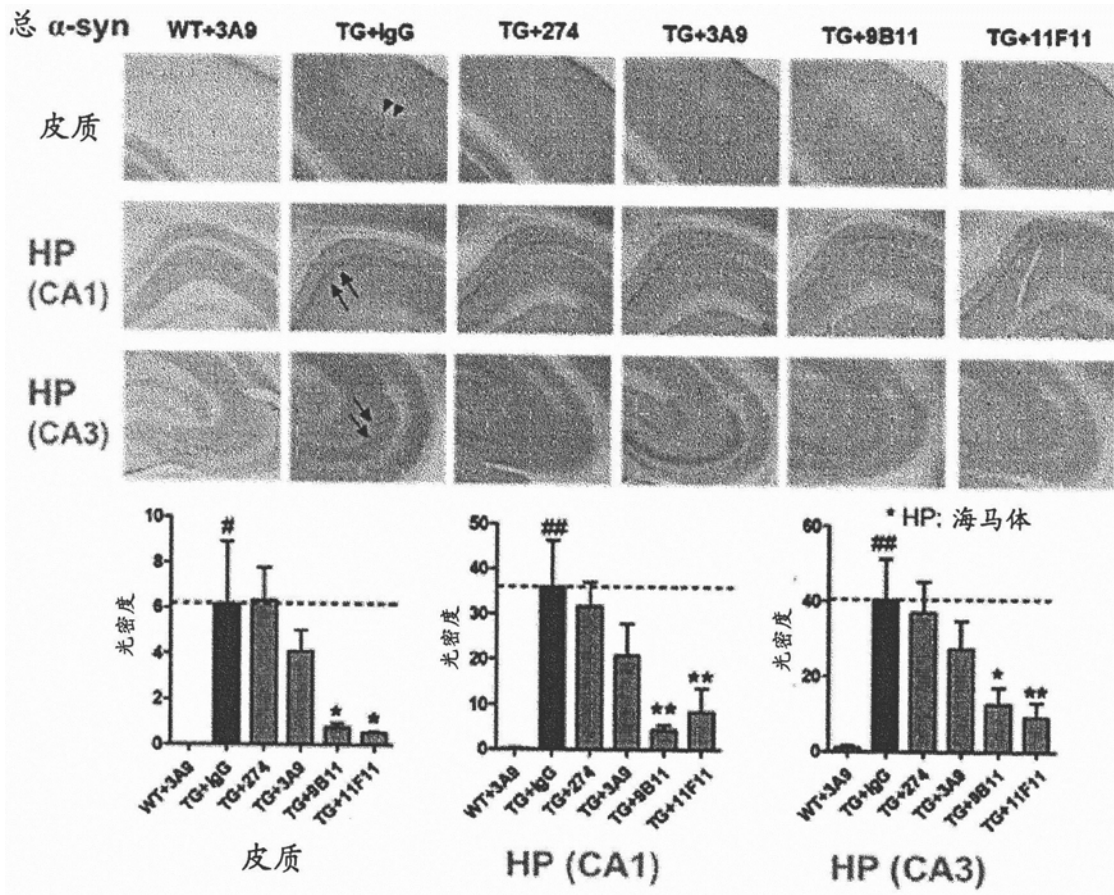


图8b

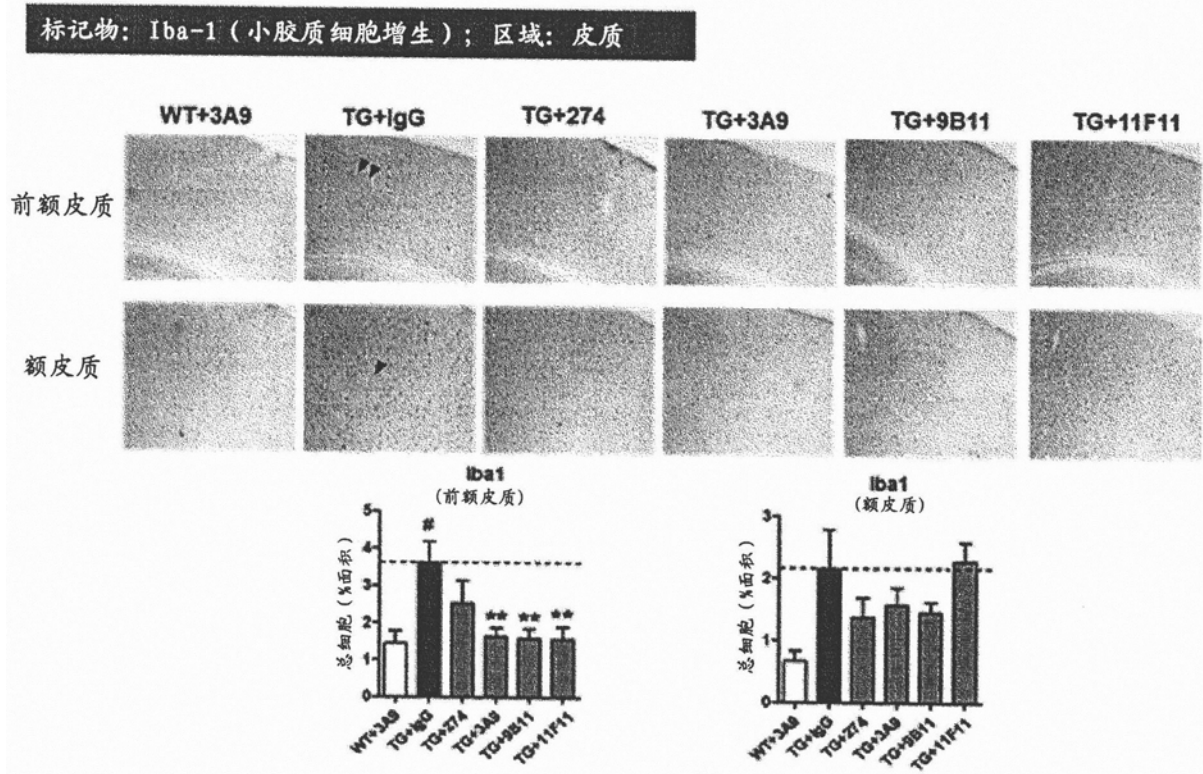


图9a

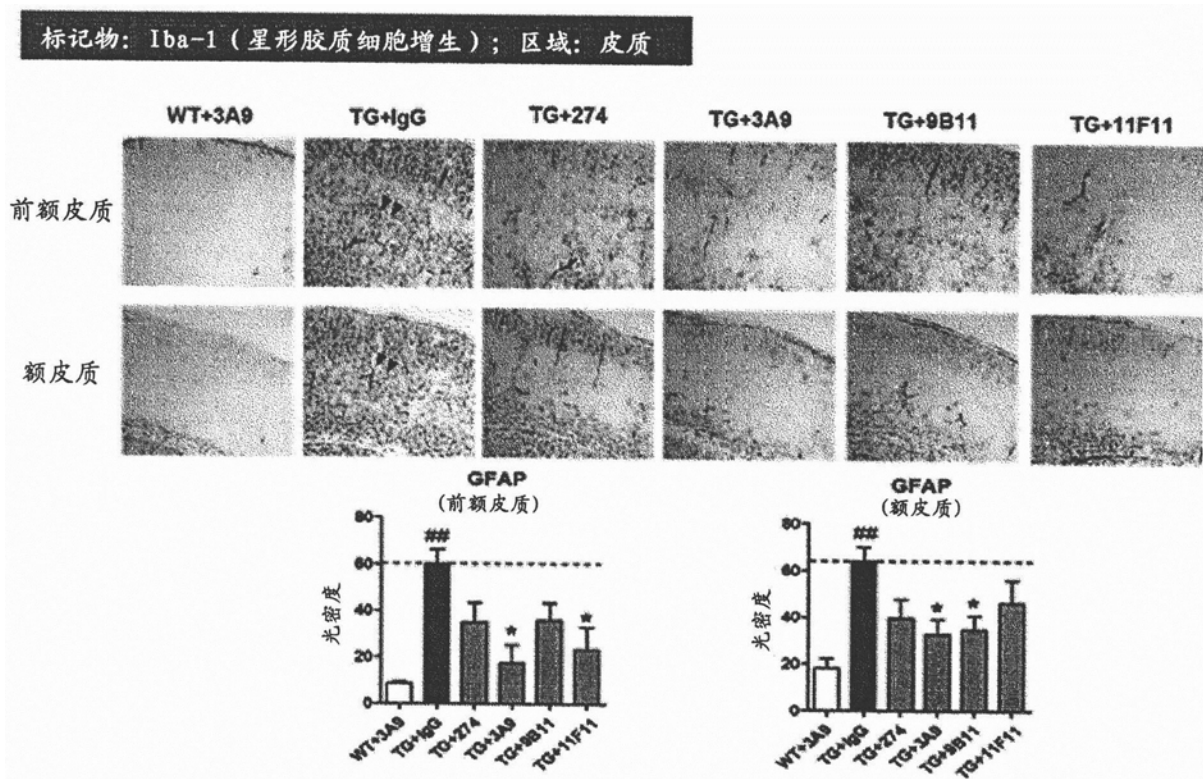


图9b

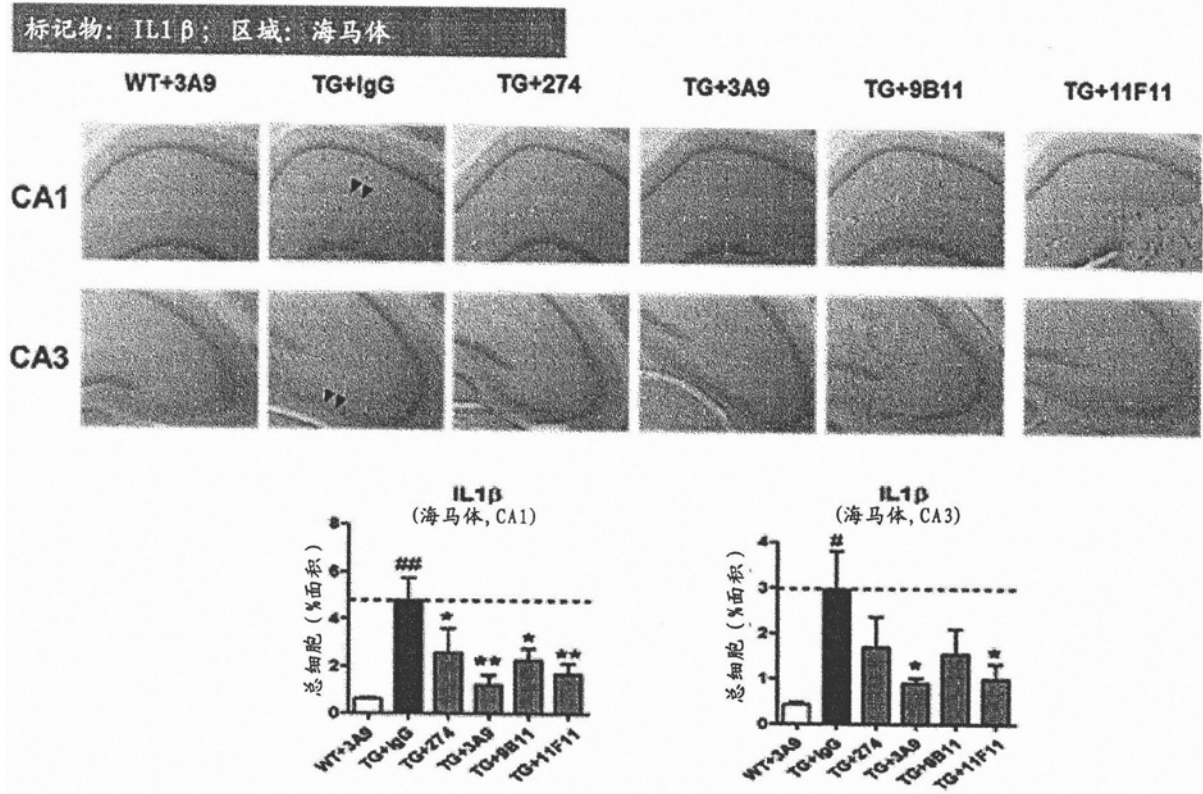


图9c

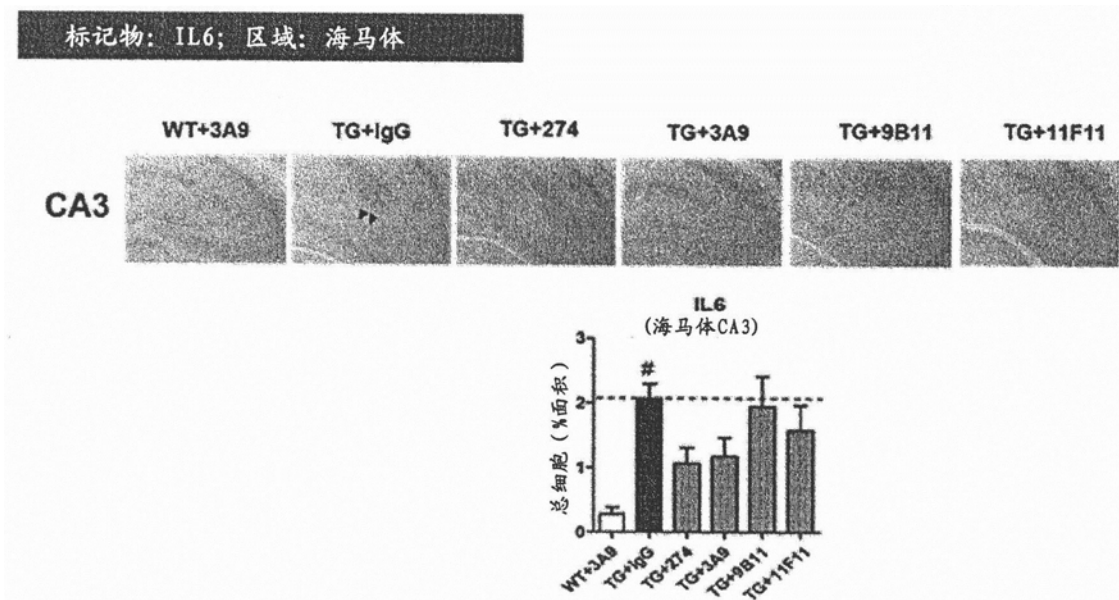


图9d

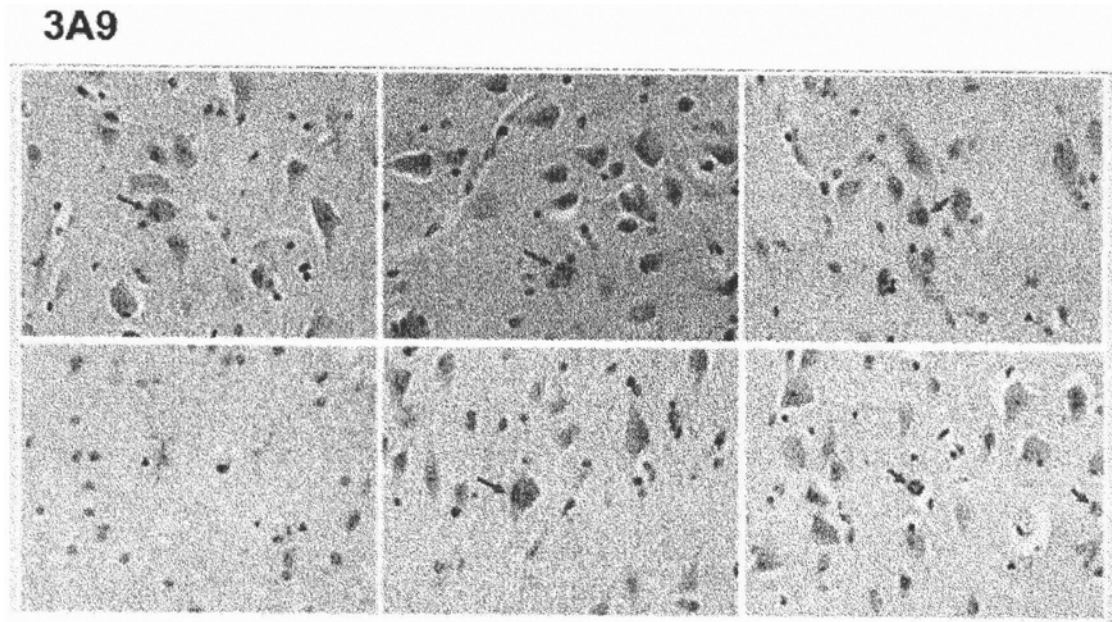


图10a

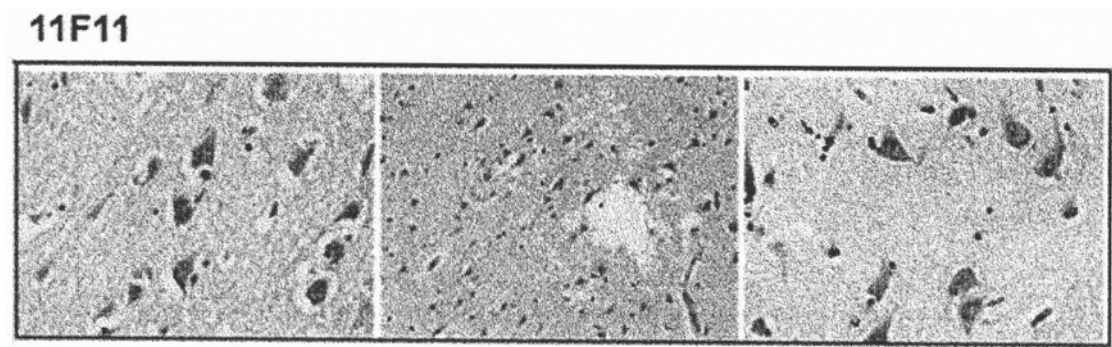


图10b

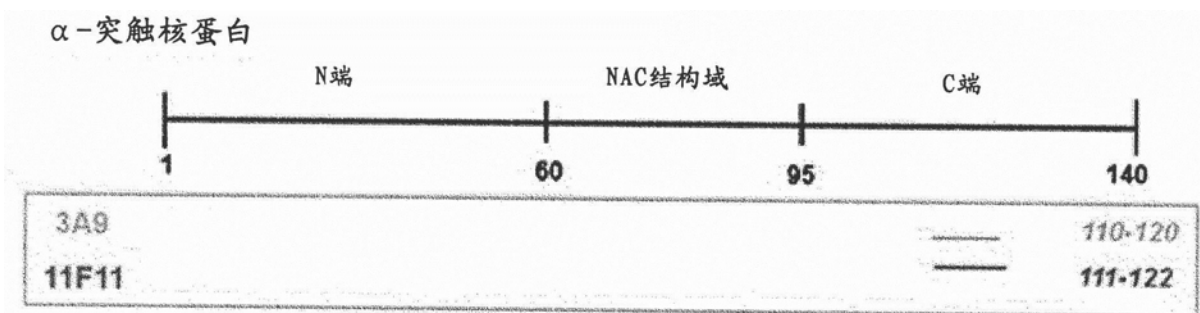


图11