



(21)申請案號：099113107

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 04 月 26 日

(51)Int. Cl. : *A61K39/395 (2006.01)*  
*A61P21/00 (2006.01)**C07K16/28 (2006.01)*(30)優先權：2009/04/27 美國  
2010/02/19 美國61/173,004  
61/306,137(71)申請人：諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)  
瑞士(72)發明人：柏格 柯川 BERGER, CATRIN (DE)；赫曼 譚賈 HERRMANN, TANJA (DE)；  
陸 克里斯 LU, CHRIS (US)；雪柏 凱莉 安 SHEPPARD, KELLY-ANN (US)；  
崔佛里夫 艾絲特 TRIFILIEFF, ESTELLE (FR)；爾林格 史蒂芬尼 URLINGER,  
STEFANIE (DE)

(74)代理人：陳長文

(83)生物材料寄存：

食品工業發展研究所 BCRC 940595 2010 年 07 月 20 日

食品工業發展研究所 BCRC 940596 2010 年 07 月 20 日

(56)參考文獻：

US 6656475B1

NCBI GenBank:AAC64515.1，公開日：1998/10/19.

審查人員：張子威

申請專利範圍項數：24 項 圖式數：9 共 275 頁

(54)名稱

用於增加肌肉生長之組合物及方法

COMPOSITIONS AND METHODS FOR INCREASING MUSCLE GROWTH

(57)摘要

本發明係關於抗活化素受體 IIB(ActRIIB)抗體領域。特定言之，本發明係關於該等抗體用於治療肌肉病症(諸如因疾病或不使用之肌肉萎縮)的用途。

This invention is in the field of anti-Activin receptor IIB (ActRIIB) antibodies. In particular, it relates to the use of said antibodies for treating muscle disorders, such as muscle wasting due to disease or disuse.

指定代表圖：

符號簡單說明：  
(無元件符號說明)

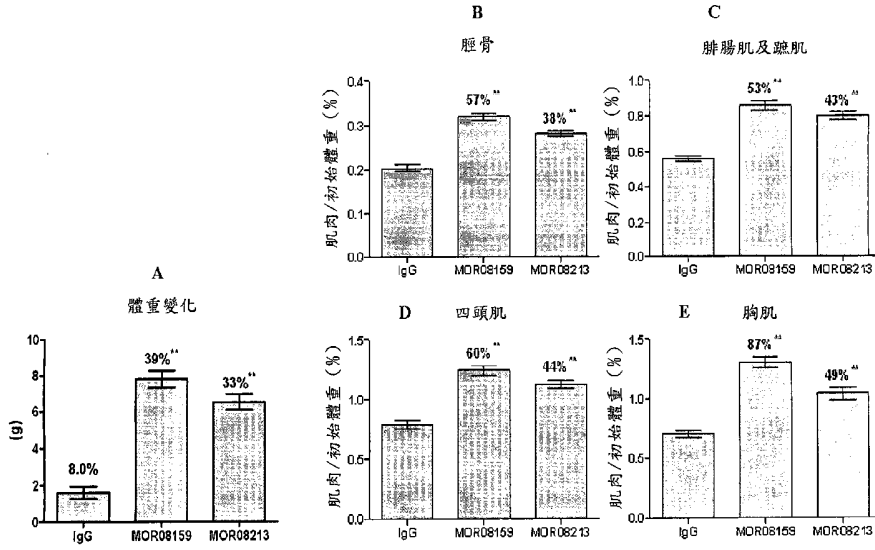


圖6

## 六、發明說明：

### 【發明所屬之技術領域】

本發明係關於抗活化素受體 IIB(ActRIIB) 抗體領域。特定言之，係關於該等抗體用於治療肌肉病症，諸如歸因於疾病或不使用之肌肉萎縮的用途。

### 【先前技術】

活化素為二聚生長與分化因子，其屬於結構上相關之信號傳導蛋白之轉化生長因子 $\beta$ (TGF- $\beta$ )總科。活化素經由包括至少兩種 I 型(I 及 IB)及兩種 II 型(II 及 IIB, aka ACVR2A 及 ACVR2B)受體之受體絲胺酸激酶之雜二聚複合物進行信號傳導。此等受體均為跨膜蛋白，由具有富含半胱胺酸之區域之配位體結合細胞外域、跨膜域及具有所預測之絲胺酸/蘇胺酸特異性之細胞質域構成。I 型受體為信號傳導所必需，而 II 型受體為結合配位體及表現 I 型受體所需。I 型受體及 II 型受體在配位體結合後形成穩定複合物，致使 I 型受體被 II 型受體磷酸化。

活化素受體 IIB(ActRIIB)為肌肉生長抑制素(myostatin)受體。肌肉生長抑制素與此受體之間的相互作用經由 Smad 依賴性路徑調控對骨骼肌分化之抑制。因此，藉由抑制或防止肌肉生長抑制素結合於 ActRIIB，可誘導骨骼肌之形成。

許多小組已著眼於研究此現象。Bogdanovich 等人(Nature, 2002, 420:418-421)描述在杜興氏肌肉營養不良症(Duchenne muscular dystrophy)之小鼠模型中，抗肌肉生長

抑制素抗體能夠阻斷肌肉生長抑制素，從而增加肌肉質量。Bradley等人(Cell Mol. Life Sci. 2008, 65:2119-2124)已論述可用於調節肌肉生長抑制素/ActRIIB相互作用的不同方法，包括上述抗肌肉生長抑制素抗體；藉由投與肌肉生長抑制素前肽來抑制成熟肌肉生長抑制素之釋放；投與卵泡抑素來阻斷肌肉生長抑制素受體；投與HDAC抑制劑來誘導卵泡抑素產生；投與經改變之肌肉生長抑制素肽來防止肌肉生長抑制素結合受體；及投與肌肉生長抑制素之可溶性誘餌受體。

雖然存在此等可能療法，但並無可用於治療患者的產品。實際上，最近一個公司取消了其抗肌肉生長抑制素抗體計劃。

因此，需要一種增加患者之肌肉質量及力量的方法。

#### 【發明內容】

已發現，針對ActRIIB受體之抗體可防止肌肉生長抑制素結合於該受體，從而防止經由Smad依賴性路徑抑制肌肉分化。此結果使患者之肌肉質量及力量增加。

因此，在一態樣中，本發明提供抗ActRIIB抗體或包含該抗體之抗原結合部分的功能蛋白。在一項實施例中，ActRIIB為人類ActRIIB。人類ActRIIB之多肽序列以SEQ ID NO: 181(AAC64515.1、GI:3769443)陳述。在一項實施例中，抗體或功能蛋白來自哺乳動物，具有諸如人類或駱駝科之起源。因此該抗體可能為嵌合抗體、人類抗體或人類化抗體。在一特定實施例中，抗ActRIIB抗體特徵為具



有對標靶蛋白 ActRIIB 具特異性且結合於 ActRIIB 或 ActRIIB 之片段的抗原結合區。該抗體較佳適用於療法中。

在一項實施例中，本發明抗體為不具促效活性或具有低促效活性的 ActRIIB 拮抗劑。在另一實施例中，該抗體或功能片段結合標靶蛋白 ActRIIB，且使肌肉生長抑制素與 ActRIIB 之結合降至基礎水準。在此實施例之一態樣中，該抗體或功能片段減少結合於 ActRIIB 之肌肉生長抑制素之量。在此實施例之另一態樣中，該抗體或功能片段完全防止肌肉生長抑制素結合於 ActRIIB。在另一實施例中，該抗體或功能片段抑制 Smad 活化。在另一實施例中，該抗體或功能片段抑制經由 Smad 依賴性路徑，由 IIB 型活化素受體介導之肌肉生長抑制素誘導之對骨骼分化之抑制。

結合可藉由一或多種可用於測量活性(抗體之拮抗性或促效性)的檢定來測定。該等檢定較佳測量抗體對 ActRIIB 之至少一種作用，包括：抑制肌肉生長抑制素結合於 ActRIIB(藉由 ELISA)；抑制肌肉生長抑制素誘導信號傳導(例如，藉由 Smad 依賴性報導基因檢定)；抑制肌肉生長抑制素誘導之 Smad 磷酸化(P-Smad ELISA)；及抑制肌肉生長抑制素誘導之對骨骼肌細胞分化之抑制(例如，藉由肌酸激酶檢定)。

在一項實施例中，本發明提供特異性結合於 ActRIIB 之肌肉生長抑制素結合區(亦即配位體結合域)的抗體。此配位體結合域由 SEQ ID NO: 181 之胺基酸 19-134 組成，且在

[ S ]

本文中已指定為SEQ ID NO: 182。

在一項實施例中，抗體以100 nM或100 nM以下、10 nM或10 nM以下、1 nM或1 nM以下之 $K_D$ 結合於ActRIIB。本發明抗體較佳以100 pM或100 pM以下(亦即100 pM、50 pM、10 pM、1 pM或1 pM以下)之親和力結合於ActRIIB。在一項實施例中，本發明抗體以10 pM至20 pM之間之親和力結合於ActRIIB。

在一項實施例中，本發明抗體不與ActRIIB相關蛋白交叉反應，且更特定言之，不與人類ActRIIA(NP\_001607.1、GI:4501897)交叉反應。

在一項實施例中，本發明抗體優先結合於ActRIIB，而非ActRIIA。在一項實施例中，本發明抗體結合於ActRIIB之親和力為其結合於ActRIIA之親和力的5倍，更佳為10倍，更佳為50倍，更佳為100倍。

在一項實施例中，本發明抗體以100 pM或100 pM以上(亦即，250 pM、500 pM、1 nM、5 nM或5 nM以上)之親和力結合於ActRIIA。

在一項實施例中，本發明抗體為IgG2同型。

在另一實施例中，本發明抗體為IgG1同型。在另一實施例中，本發明抗體為IgG1同型，且經由Fc區突變而具有改變之效應功能。在一項實施例中，該改變之效應功能為ADCC及CDC活性降低。在一項實施例中，該改變之效應功能為靜止之ADCC及CDC活性。

在另一相關實施例中，本發明抗體為不具抗體依賴性細

胞毒性(ADCC)活性或CDC活性之完全人類或人類化IgG1抗體且結合於由SEQ ID NO:181之胺基酸19-134組成之ActRIIB區。

在另一相關實施例中，本發明抗體為具有降低之抗體依賴性細胞毒性(ADCC)活性或CDC活性之完全人類或人類化IgG1抗體且結合於由SEQ ID NO:181之胺基酸19-134組成之ActRIIB區。

本發明係關於分離之抗體，特別是在活體外及活體內抑制肌肉生長抑制素結合於ActRIIB且活化骨骼肌分化的人類或人類化抗體。在某些實施例中，本發明抗體係源自特定重鏈序列及輕鏈序列，及/或包含特定結構特徵，諸如包含特定胺基酸序列之CDR區。本發明提供分離之抗體；製造該等抗體之方法；包含該等抗體之免疫結合物及多價或多特異性分子；及含有本發明之抗體、免疫結合物或雙特異性分子之醫藥組合物。本發明亦關於使用該等抗體抑制(亦即拮抗)ActRIIB功能之方法，以抑制Smad活化及從而誘導骨骼肌分化，例如因而治療病理性病症。

病理性病症可能為肌肉骨骼疾病或病症，諸如肌肉萎縮。肌肉萎縮有許多原因，包括由使用糖皮質激素(諸如皮質醇(cortisol)、地塞米松(dexamethasone)、倍他米松(betamethasone)、潑尼松(prednisone)、甲潑尼龍(methylprednisolone)或潑尼龍(prednisolone))治療引起。肌肉萎縮亦可由神經創傷造成去神經化或由退化性、代謝性或發炎性神經病變(例如格林-巴利症候群(Guillian-Barré

[ 5 ]

syndrome)、周邊神經病變，或暴露於環境毒素或藥物)引起。

此外，肌肉萎縮可由肌病，諸如肌強直；先天性肌病，包括桿狀體肌病、多軸空/微軸空肌病及肌管(中央核)肌病；粒線體肌病；家族性週期性麻痺；發炎性肌病；代謝性肌病，諸如由肝糖或脂質儲存疾病所致；皮膚炎；多肌炎；包涵體肌炎；骨化性肌炎；橫紋肌溶解症；及肌球蛋白尿所致。

肌病可能由肌肉營養不良症候群，諸如杜興氏、貝克氏(Becker)、肌緊張性、顏肩肱型(fascioscapulohumeral)、艾-德氏(Emery-Dreifuss)、眼咽型、肩肱型、肢帶型、福山氏(Fukuyama)、先天性肌肉營養不良，或遺傳性遠端肌病引起。肌肉骨骼病亦可為骨質疏鬆症、骨折、矮小症或侏儒症。

此外，肌肉萎縮可由以下引起：成人運動神經元疾病、嬰兒脊髓性肌萎縮、肌萎縮性側索硬化症、少年型脊髓性肌萎縮、伴有多病竈傳導阻斷之自體免疫運動神經病、因中風或脊髓損傷之癱瘓、因創傷之骨骼固定化、長期臥床、自主不活動、非自主不活動、代謝壓力或營養不足、癌症、AIDS、禁食、甲狀腺病症、糖尿病、良性先天性低張症、中央軸空病、燒傷、慢性阻塞性肺病、肝病(實例諸如纖維化、硬化)、敗血症、腎衰竭、充血性心臟衰竭、衰老、太空航行或在零重力環境中度過一段時間。

可治療之年齡相關之病狀的實例包括肌肉減少症、皮膚





萎縮、肌肉萎縮、腦萎縮、動脈粥樣硬化、動脈硬化、肺氣腫、骨質疏鬆症、骨關節炎、免疫功能不全、高血壓、癡呆、亨廷頓氏病(Huntington's disease)、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)、白內障、年齡相關之黃斑部變性、前列腺癌、中風、預期壽命縮短、虛弱、失憶症、皺紋、腎功能損傷及年齡相關之聽覺損失；代謝性病徵，包括II型糖尿病、代謝症候群、高血糖症及肥胖。

可用本發明抗體治療之其他病狀包括急性及/或慢性腎病或腎衰竭、肝纖維化或肝硬化、諸如乳癌之癌症、帕金森氏病；與神經元死亡相關之病狀，諸如ALS，腦萎縮，或癡呆及貧血。

其他病狀包括惡病質、與類風濕性關節炎相關之惡病質及與癌症相關之惡病質。

迄今，幾乎未開發出可靠或有效之療法治療此等病症。

基於所報導之關於活化素結合於ActRIIB而非其他受體(Werner及Alzheimer, Cytokine Growth Factors Rev 2006, 17(3):157-171)在促成肝、腎及肺纖維化中之作用以及肌肉生長抑制素、活化素或ActRIIB在癌症中之作用(Tsuchida等人, Endo J, 2008, 55(1):11-21)之證據，本發明抗體可用於治療肝、腎、肺纖維化；及癌症，例如(但不限於)橫紋肌肉瘤、骨質流失誘發之癌症、肝細胞癌、胃腸癌。

預防可能為完全的，例如完全不存在年齡相關之病狀或代謝障礙。預防亦可能為部分的，使得相較於未接受本發

[S]

明抗體之個體，個體發生年齡相關之病狀或代謝障礙的可能性較低。

為了可更輕易地理解本發明，首先定義某些術語。其他定義在[實施方式]全文中陳述。

術語「免疫反應」係指例如淋巴細胞、抗原呈現細胞、吞噬細胞、粒細胞及由以上細胞或肝臟產生之可溶性巨分子(包括抗體、細胞激素及補體)產生之選擇性損害、破壞或自人體消除侵襲性病原體、受病原體感染之細胞或組織、癌細胞，或在自體免疫或病理性炎症的情況下，正常人類細胞或組織的作用。

「信號轉導路徑」或「信號傳導活性」係指一般由蛋白質-蛋白質相互作用(諸如生長因子結合於受體)引發，使信號自細胞之一部分傳輸至細胞之另一部分的生物化學因果關係。一般而言，該傳輸涉及在引起信號轉導之反應系列中一或多種蛋白質上之一或多個酪胺酸、絲胺酸或蘇胺酸殘基經特異性磷酸化。次末過程通常包括核事件，引起基因表現變化。

術語 ActRIIB 或 ActIIB 受體係指如 SEQ ID NO: 181 (AAC64515.1、GI:3769443)所定義之人類 ActRIIB。研究級多株及單株抗 ActRIIB 抗體在此項技術中已知，諸如由 R&D Systems<sup>®</sup>(MN, USA)所製造之抗體。先前未曾描述治療性抗 ActRIIB 抗體。當然，可產生對抗來自其他物種之 ActRIIB 的抗體，並用於治療彼等物種之病理性病狀。

如本文中所提及之術語「抗體」包括完整抗體及其任何



抗原結合片段(亦即「抗原結合部分」)或單鏈。天然存在之「抗體」為包含至少兩條重(H)鏈及兩條輕(L)鏈經二硫鍵相互連接之醣蛋白。各重鏈包含一個重鏈可變區(本文中縮寫為 $V_H$ )及一個重鏈恆定區。重鏈恆定區包含三個結構域，即 $CH_1$ 、 $CH_2$ 及 $CH_3$ 。各輕鏈包含一個輕鏈可變區(本文中縮寫為 $V_L$ )及一個輕鏈恆定區。輕鏈恆定區包含一個結構域 $C_L$ 。 $V_H$ 及 $V_L$ 區可進一步再分為稱作互補決定區(CDR)的高變區，穿插有稱作構架區(FR)的更保守之區域。各 $V_H$ 及 $V_L$ 由三個CDR及四個FR構成，其自胺基末端至羧基末端按以下順序排列： $FR_1$ 、 $CDR_1$ 、 $FR_2$ 、 $CDR_2$ 、 $FR_3$ 、 $CDR_3$ 、 $FR_4$ 。重鏈可變區及輕鏈可變區含有與抗原相互作用的結合域。抗體恆定區可介導免疫球蛋白結合於宿主組織或包括免疫系統之多種細胞(例如效應細胞)及經典補體系統之第一組分( $C1q$ )的因子。

如本文中所用，術語抗體之「抗原結合部分」(或簡稱為「抗原部分」)係指全長抗體或抗體中保留特異性結合於抗原(例如ActRIIB之一部分)之能力之一或多個片段。已顯示抗體之抗原結合功能可由全長抗體之片段執行。術語抗體之「抗原結合部分」內所涵蓋之結合片段的實例包括Fab片段，其為由 $V_L$ 、 $V_H$ 、 $C_L$ 及 $CH_1$ 域組成之單價片段； $F(ab)_2$ 片段，其為包含兩個Fab片段在鉸鏈區由二硫橋連接之二價片段；由 $V_H$ 及 $CH_1$ 域組成之Fd片段；由抗體單臂之 $V_L$ 域及 $V_H$ 域組成之 $Fv$ 片段；由 $V_H$ 域組成之dAb片段(Ward等人，1989 Nature 341:544-546)；及經分離互補決定區

[S]

(CDR)。

此外，儘管Fv片段之兩個結構域V<sub>L</sub>及V<sub>H</sub>由單獨基因編碼，但可使用重組方法藉由合成連接子將其接合使其能夠成為V<sub>L</sub>區與V<sub>H</sub>區配對形成單價分子的單一蛋白質鏈(稱為單鏈Fv(scFv)；參看例如Bird等人，1988 Science 242:423-426；及Huston等人，1988 Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883)。該等單鏈抗體亦意欲涵蓋於術語抗體之「抗原結合區」內。此等抗體片段係使用熟習此項技術者已知的習知技術獲得，並且用與完整抗體相同之方式篩選該等片段以供使用。

如本文中所用，「經分離抗體」係指實質上不含具有不同抗原特異性之其他抗體的抗體(例如，特異性結合ActRIIB的經分離抗體實質上不含特異性結合非ActRIIB之抗原的抗體)。然而，特異性結合ActRIIB之經分離抗體可能對其他抗原(諸如來自其他物種之ActRIIB分子)具有交叉反應性。此外，經分離抗體可能實質上不含其他細胞物質及/或化學物質。

如本文中所用，術語「單株抗體」或「單株抗體組合物」係指單一分子組成之抗體分子製劑。單株抗體組合物對特定抗原決定基呈現單一結合特異性及親和力。

如本文中所用，術語「人類抗體」意欲包括具有構架區及CDR區均源自人類起源之序列之可變區的抗體。此外，若抗體含有恆定區，則該恆定區亦源自該等人類序列(例如人類生殖系序列或人類生殖系序列之突變型式)，或含



有來源於人類構架序列分析之共同構架序列之抗體，例如如Knappik等人(2000. J Mol Biol 296, 57-86)中所述。

本發明人類抗體可包括並非由人類序列編碼之胺基酸殘基(例如藉由活體外隨機或位點特異性突變誘發或藉由活體內體細胞突變引入突變)。然而，如本文中所用，術語「人類抗體」不意欲包括源自另一哺乳動物物種(諸如小鼠)之生殖系之CDR序列已移植於人類構架序列上之抗體。

術語「人類單株抗體」係指呈現單一結合特異性之抗體，其具有構架區與CDR區均源自人類序列的可變區。在一項實施例中，人類單株抗體係由融合瘤產生，該融合瘤包括獲自具有包含人類重鏈轉殖基因及輕鏈轉殖基因之基因體的轉殖基因非人類動物(例如轉殖基因小鼠)之B細胞融合於永生化細胞。

如本文中所用，術語「重組人類抗體」包括藉由重組方式製備、表現、產生或分離的所有人類抗體，諸如自人類免疫球蛋白基因之轉殖基因或轉染色體動物(例如小鼠)或由其製備之融合瘤分離之抗體；由經轉型以表現人類抗體之宿主細胞(例如由轉染瘤)分離之抗體；由重組組合人類抗體庫分離之抗體；及藉由涉及剪接所有或一部分人類免疫球蛋白基因、序列至其他DNA序列的任何其他方式而製備、表現、產生或分離的抗體。該等重組人類抗體具有構架區與CDR區源自人類生殖系免疫球蛋白序列的可變區。然而，在某些實施例中，可對該等重組人類抗體進行活體

[S]

外突變誘發(或當使用人類Ig序列轉殖基因動物時，進行活體內體細胞突變誘發)，且因此重組抗體之 $V_H$ 及 $V_L$ 區之胺基酸序列為如下序列：儘管源自人類生殖系 $V_H$ 及 $V_L$ 序列且與人類生殖系 $V_H$ 及 $V_L$ 序列相關，但該等序列可能並非天然活體內存在於人類抗體生殖系譜系內。

如本文中所用，「同型」係指由重鏈恆定區基因所提供之抗體種類(例如IgM、IgE、IgG，諸如IgG1或IgG2)。

片語「識別抗原之抗體」及「對抗原具特異性之抗體」在本文中可與術語「特異性結合於抗原之抗體」互換使用。

如本文中所用，「特異性結合於ActRIIB多肽」之抗體意指以100 nM或100 nM以下、10 nM或10 nM以下、1 nM或1 nM以下之 $K_D$ 結合於人類ActRIIB多肽的抗體。「與非ActRIIB之抗原交叉反應」之抗體意指以 $10 \times 10^{-9}$  M或 $10 \times 10^{-9}$  M以下、 $5 \times 10^{-9}$  M或 $5 \times 10^{-9}$  M以下，或 $2 \times 10^{-9}$  M或 $2 \times 10^{-9}$  M以下之 $K_D$ 結合彼抗原之抗體。「不與特定抗原交叉反應」之抗體意指以 $1.5 \times 10^{-8}$  M或 $1.5 \times 10^{-8}$  M以上之 $K_D$ ，或 $5 \times 10^{-8}$ 至 $10 \times 10^{-8}$  M或 $1 \times 10^{-7}$  M或 $1 \times 10^{-7}$  M以上之 $K_D$ 結合至彼抗原之抗體。在某些實施例中，不與抗原交叉反應之該等抗體在標準結合檢定中展現基本上不可偵測之與此等蛋白質的結合。 $K_D$ 可使用生物感測器系統，諸如Biacore<sup>®</sup>系統；或溶液平衡滴定(Solution Equilibrium Titration)測定。

如本文中所用，術語「拮抗劑抗體」意指在肌肉生長抑



制素存在下抑制 ActRIIB 誘導之信號傳導活性的抗體。對此進行偵測之檢定實例包括抑制肌肉生長抑制素誘導之信號傳導(例如，藉由 Smad 依賴性報導基因檢定)、抑制肌肉生長抑制素誘導之 Smad 磷酸化(P-Smad ELISA)及抑制肌肉生長抑制素誘導之對骨骼肌細胞分化之抑制(例如藉由肌酸激酶檢定)。

在一些實施例中，該等抗體以 10 nM 或 10 nM 以下、1 nM 或 1 nM 以下、或 100 pM 或 100 pM 以下之 IC<sub>50</sub> 抑制肌肉生長抑制素誘導之信號傳導，如在 Smad 依賴性報導基因檢定中所測量。

如本文中所用，「無促效活性」之抗體意指在基於細胞之檢定中在無肌肉生長抑制素存在下不顯著增加 ActRIIB 介導之信號傳導活性的抗體，諸如抑制肌肉生長抑制素誘導之信號傳導(例如，藉由 Smad 依賴性報導基因檢定)、抑制肌肉生長抑制素誘導之 Smad 磷酸化(P-Smad ELISA)及抑制肌肉生長抑制素誘導之對骨骼肌細胞分化之抑制(例如，藉由肌酸激酶檢定)。在以下實例中更詳細描述該等檢定。

如本文中所用，術語「 $K_{assoc}$ 」或「 $K_a$ 」意指特定抗體-抗原相互作用之締合速率，而如本文中所用術語「 $K_{dis}$ 」或「 $K_d$ 」意指特定抗體-抗原相互作用之解離速率。如本文中所用術語「 $K_D$ 」意指解離常數，其係由  $K_d$  與  $K_a$  之比(亦即  $K_d/K_a$ )獲得，且表達為莫耳濃度(M)。抗體之  $K_D$  值可使用此項技術中已確立之方法來測定。測定抗體之  $K_D$  的一

[ S ]

種方法係藉由使用表面電漿共振，諸如 Biacore® 生物感測器系統或溶液平衡滴定 (SET) (參看 Friguet B 等人 (1985) *J. Immunol Methods*; 77(2): 305-319; 及 Hanel C 等人 (2005) *Anal Biochem*; 339(1): 182-184)。

如本文中所用，術語「親和力」係指單一抗原位點處抗體與抗原間相互作用之強度。在各抗原位點內，抗體「臂」之可變區在許多位點處經由弱非共價力與抗原相互作用；相互作用愈多，親和力愈強。

如本文中所用，術語「親和性 (Avidity)」係指提供關於抗體-抗原複合物之總體穩定性或強度之資訊的度量。其受 3 個主要因素控制：抗體抗原決定基之親和力；抗原及抗體之結合價；及相互作用部分之結構配置。最終，此等因素確定抗體之特異性，亦即特定抗體結合於確切抗原決定基之可能性。

如本文中所用，術語「ADCC」或「抗體依賴性細胞毒性」活性係指人類 B 細胞損耗活性。ADCC 活性可藉由此項技術中已知之人類 B 細胞損耗檢定來測量。

為了獲得親和性較高之探針，可建構二聚結合物 (2 個抗體蛋白分子偶合於一個 FACS 標記物)，從而使低親和力相互作用 (諸如與生殖系抗體之相互作用) 更易被 FACS 所偵測。此外，增加抗原結合之親和性的另一措施涉及產生抗 ActRIIB 抗體之任何本文所述構築體的二聚體、三聚體或多聚體。該等多聚體可經由個別模組之間的共價結合，例如藉由模擬天然 C 末端與 N 末端結合或藉由模擬經由恆定



區固持在一起的抗體二聚體而產生。經工程改造至Fc/Fc界面中之鍵可為共價鍵或非共價鍵。此外，在ActRIIB雜交物中可使用除Fc之外的二聚或多聚搭配物以產生該等較高級結構。舉例而言，可能使用多聚結構域，諸如WO 2004/039841中所描述之三聚結構域、或WO 98/18943中所描述之五聚結構域。

如本文中所用，術語抗體之「選擇性」係指抗體結合於某一標靶多肽但不結合於密切相關之多肽。

如本文中所用，術語抗體之「高親和力」係指抗體對標靶抗原之 $K_D$ 為1 nM或1 nM以下。如本文中所用，術語「個體」包括任何人類動物或非人類動物。

術語「非人類動物」包括所有脊椎動物，例如哺乳動物及非哺乳動物，諸如非人類靈長類動物、綿羊、狗、貓、馬、牛、雞、兩栖類動物、爬行動物等。

如本文中所用，術語「最佳化」意謂核苷酸序列已經改變以使用產生細胞或生物體，一般為真核細胞(例如畢赤酵母(*Pichia*)細胞、木黴(*Trichoderma*)細胞、中國倉鼠卵巢細胞(CHO)或人類細胞)中較佳的密碼子來編碼胺基酸序列。最佳化核苷酸序列經工程改造以完全或儘可能多地保留最初由起始核苷酸序列編碼之胺基酸序列，該起始核苷酸序列亦稱為「親本」序列。本文中之最佳化序列已經工程改造以便具有在CHO哺乳動物細胞中較佳之密碼子，然而本文中亦預想此等序列在其他真核細胞中之最佳化表現。由最佳化核苷酸序列編碼之胺基酸序列亦稱為經最佳

[ S ]

化。

本發明之各種態樣進一步詳細描述於以下子部分中。

評估抗體對各種物種之ActRIIB之結合能力的標準檢定於此項技術中已知，包括例如ELISA、西方墨點法及RIA。適合檢定詳細描述於實例中。抗體之結合親和力亦可藉由此項技術中已知之標準檢定來評定，諸如藉由Biacore分析或溶液平衡滴定。基於表面電漿共振之技術，諸如Biacore可測定結合動力學，從而計算結合親和力。評估抗體對ActRIIB功能性質(例如受體結合、防止或誘導人類B細胞增殖或IgG產生)之作用的檢定在實例中進一步詳細描述。

因此，抗體如根據此項技術中已知及本文中描述之方法所測定「抑制」一或多種此等ActRIIB功能性質(例如，生物化學活性、免疫化學活性、細胞活性、生理活性或其他生物活性，或其類似活性)應理解為係指特定活性相對於無該抗體存在下(例如，或當具有無關特異性之對照抗體存在時)所見之活性統計上顯著降低。抑制ActRIIB活性之抗體所實現的該統計上顯著之降低為測量參數之至少10%，至少50%、80%或90%，且在某些實施例中，本發明抗體可抑制超過95%、98%或99%的ActRIIB功能活性。

術語「交叉阻斷」在本文中可互換使用，意謂抗體或其他結合劑在標準競爭性結合檢定中干擾其他抗體或結合劑結合於ActRIIB，特別是配位體結合域的能力。

可使用標準競爭結合檢定測定抗體或其他結合劑能夠干



擾另一抗體或結合分子結合於ActRIIB之能力或程度，並因此確定根據本發明可否稱其為交叉阻斷。一種適合檢定包括使用Biacore技術(例如藉由使用BIAcore儀器(Biacore, Uppsala, Sweden))，其可使用表面電漿共振技術測量相互作用之程度。測量交叉阻斷之另一檢定使用基於ELISA之方法。另一檢定使用FACS分析，其中測試各種抗體對結合於ActRIIB表現細胞之競爭(諸如實例中所描述)。

根據本發明，在所述BIAcore交叉阻斷檢定中，本發明交叉阻斷抗體或其他結合劑結合於ActRIIB，使所記錄之抗體或結合劑之組合(混合物)的結合在兩種抗體或結合劑組合之最大理論結合(如上文所定義)的80%與0.1%之間(例如80%至4%)，特定言之在最大理論結合的75%與0.1%之間(例如75%至4%)，且更特定言之在70%與0.1%之間(例如70%至4%)，且更特定言之在最大理論結合的65%與0.1%之間(例如65%至4%)。

當與陽性對照孔(亦即，抗ActRIIB抗體及ActRIIB相同，但無「測試」交叉阻斷抗體)相比時，若測試抗體能夠使抗ActRIIB抗體結合於ActRIIB減少達60%至100%，特定言之70%至100%，且更特定言之80%至100%，則抗體定義為在ELISA檢定中交叉阻斷本發明之抗ActRIIB抗體。本文中所引用之交叉阻斷抗體之實例為MOR08159及MOR08213。因此，本發明提供交叉阻斷MOR08159或MOR08213結合於ActRIIB的抗體。

### **重組抗體**

本發明抗體包括如實例中所述經分離且經結構表徵的人類重組抗體。本發明之經分離抗體的V<sub>H</sub>胺基酸序列以SEQ ID NO:99-112顯示。本發明之經分離抗體的V<sub>L</sub>胺基酸序列分別以SEQ ID NO:85-98顯示。本發明抗體之較佳全長重鏈胺基酸序列的實例以SEQ ID NO:146-150及156-160顯示。本發明抗體之較佳全長輕鏈胺基酸序列之實例分別以SEQ ID NO: 141-145及151-155顯示。本發明之其他抗體包括已藉由胺基酸缺失、插入或取代而突變，但在CDR區中與上述序列中所述之CDR區仍具有至少60%、70%、80%、90%、95%、97%或99%一致性的胺基酸。在一些實施例中，其包括突變胺基酸序列，其中當與上述序列中所述之CDR區相比時，CDR區中不超過1、2、3、4或5個胺基酸已藉由胺基酸缺失、插入或取代而突變。

此外，可變重鏈親本核苷酸序列以SEQ ID NO: 127-140顯示。可變輕鏈親本核苷酸序列以SEQ ID NO: 113-126顯示。經最佳化以供於哺乳動物細胞中表現之全長輕鏈核苷酸序列以SEQ ID NO: 161-165及171-175顯示。經最佳化以供於哺乳動物細胞中表現之全長重鏈核苷酸序列以SEQ ID NO: 166-170及176-180顯示。本發明之其他抗體包括已經突變，但與上述序列仍具有至少60%或60%以上(亦即80%、90%、95%、97%、99%或99%以上)一致性的胺基酸或核酸。在一些實施例中，其包括突變胺基酸序列，其中當與上述序列中所描述之可變區相比時，該等可變區中不超過1、2、3、4或5個胺基酸已藉由胺基酸缺失、插入或



取代而突變。

由於此等抗體各結合相同抗原決定基，且為來自相同親本抗體之後代，故 $V_H$ 、 $V_L$ 、全長輕鏈及全長重鏈序列(核苷酸序列及胺基酸序列)可「經混合及匹配」以產生本發明之其他抗ActRIIB結合分子。該等「經混合及匹配」之抗體之ActRIIB結合可使用上述及實例中所述之結合檢定(例如ELISA)來測試。當此等鏈經混合及匹配時，應以結構上相似之 $V_H$ 序列置換來自特定 $V_H/V_L$ 配對之 $V_H$ 序列。同樣，應以結構上相似之全長重鏈序列置換來自特定全長重鏈/全長輕鏈配對之全長重鏈序列。同樣，應以結構上相似之 $V_L$ 序列置換來自特定 $V_H/V_L$ 配對之 $V_L$ 序列。同樣，應以結構上相似之全長輕鏈序列置換來自特定全長重鏈/全長輕鏈配對之全長輕鏈序列。因此，在一態樣中，本發明提供一種經分離重組抗ActRIIB抗體或其抗原結合區，其具有：一重鏈可變區，其包含選自由SEQ ID NO: 99-112組成之群的胺基酸序列；及一輕鏈可變區，其包含選自由SEQ ID NO: 85-98組成之群的胺基酸序列。

在另一態樣中，本發明提供：

(i)經分離重組抗ActRIIB抗體，其具有：一全長重鏈，其包含選自由SEQ ID NO: 99-112組成之群的胺基酸序列；及一全長輕鏈，其包含選自由SEQ ID NO: 85-98組成之群的胺基酸序列；或

(ii)包含其抗原結合部分之功能蛋白。

在另一態樣中，本發明提供：

[S]

(i)經分離重組抗 ActRIIB 抗體，其具有：一全長重鏈，其係由已經最佳化以供於哺乳動物細胞中表現且選自由 SEQ ID NO:127-140 組成之群的核苷酸序列編碼；及一全長輕鏈，其係由已經最佳化以供於哺乳動物細胞中表現且選自由 SEQ ID NO:113-126 組成之群的核苷酸序列編碼；或

(ii)包含其抗原結合部分之功能蛋白。

抗體之  $V_H$  CDR1 之胺基酸序列以 SEQ ID NO: 1-14 顯示。  
抗體之  $V_H$  CDR2 之胺基酸序列以 SEQ ID NO: 15-28 顯示。  
抗體之  $V_H$  CDR3 之胺基酸序列以 SEQ ID NO: 29-42 顯示。  
抗體之  $V_L$  CDR1 之胺基酸序列以 SEQ ID NO: 43-56 顯示。  
抗體之  $V_L$  CDR2 之胺基酸序列以 SEQ ID NO: 57-70 顯示。  
抗體之  $V_L$  CDR3 之胺基酸序列以 SEQ ID NO: 71-84 顯示。  
使用 Kabat 系統 (Kabat, E. A. 等人, 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版, 美國衛生與人類服務部 (U.S. Department of Health and Human Services), NIH 公開案第 91-3242 號) 描繪 CDR 區。測定 CDR 區之替代方法使用 Chothia 所設計之方法 (Chothia 等人 1989, Nature, 342:877-883)。Chothia 定義係基於結構環區之位置。然而，由於 Chothia 所使用之編號系統 (參看例如 <http://www.biochem.ucl.ac.uk/~martin/abs/GeneralInfo.html> 及 <http://www.bioinf.org.uk/abs/>) 中的變化，因此現今較不常使用此系統。存在定義 CDR 的其他系統，且亦在此兩個網站中提及。

假定此等抗體中各者均可結合於 ActRIIB 且主要由



CDR1、CDR2及CDR3區提供抗原結合特異性，則 $V_H$  CDR1、CDR2及CDR3序列以及 $V_L$  CDR1、CDR2及CDR3序列可「經混合及匹配」(亦即，來自不同抗體之CDR可經混合及匹配)，含有 $V_H$  CDR1、CDR2及CDR3以及 $V_L$  CDR1、CDR2及CDR3之各抗體產生本發明之其他抗ActRIIB結合分子。該等「經混合及匹配」之抗體之ActRIIB結合可使用上述及實例中所述之結合檢定(例如ELISA)來測試。當 $V_H$  CDR序列經混合及匹配時，應以結構上相似之CDR序列置換來自特定 $V_H$ 序列之CDR1、CDR2及/或CDR3序列。同樣，當 $V_L$  CDR序列經混合及匹配時，應以結構上相似之CDR序列置換來自特定 $V_L$ 序列之CDR1、CDR2及/或CDR3序列。一般熟習此項技術者將顯而易見，可用來自本文中關於本發明單株抗體所示之CDR序列的結構上相似之序列取代一或多個 $V_H$ 及/或 $V_L$  CDR區序列來產生新穎 $V_H$ 及 $V_L$ 序列。

經分離重組抗ActRIIB抗體或其抗原結合區具有：重鏈可變區CDR1，其包含選自由SEQ ID NO: 1-14組成之群的胺基酸序列；重鏈可變區CDR2，其包含選自由SEQ ID NO: 15-28組成之群的胺基酸序列；重鏈可變區CDR3，其包含選自由SEQ ID NO: 29-42組成之群的胺基酸序列；輕鏈可變區CDR1，其包含選自由SEQ ID NO: 43-56組成之群的胺基酸序列；輕鏈可變區CDR2，其包含選自由SEQ ID NO: 57-70組成之群的胺基酸序列；及輕鏈可變區CDR3，其包含選自由SEQ ID NO: 71-84組成之群的胺基酸序列。

[ S ]

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 1之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 15之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 29之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 43之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 57之輕鏈可變區 CDR2；及SEQ ID NO: 71之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 2之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 16之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 30之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 44之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 58之輕鏈可變區 CDR2；及SEQ ID NO: 72之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 3之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 17之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 31之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 45之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 59之輕鏈可變區 CDR2；及SEQ ID NO: 73之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 4之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 18之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 32之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 46之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 60之輕鏈可變區 CDR2；及SEQ ID NO: 74之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 5之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 19之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 33之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 47之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 61之輕鏈可變區 CDR2；及SEQ ID





NO: 75之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 6之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 20之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 34之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 48之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 62之輕鏈可變區 CDR2；及SEQ ID NO: 76之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 7之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 21之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 35之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 49之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 63之輕鏈可變區 CDR2；及SEQ ID NO: 77之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 8之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 22之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 36之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 50之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 64之輕鏈可變區 CDR2；及SEQ ID NO: 78之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 9之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 23之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 37之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 51之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 65之輕鏈可變區 CDR2；及SEQ ID NO: 79之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 10之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 24之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 38之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 52之輕鏈可變

[ S ]

區 CDR1；SEQ ID NO: 66 之輕鏈可變區 CDR2；及 SEQ ID NO: 80 之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 11 之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 25 之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 39 之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 53 之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 67 之輕鏈可變區 CDR2；及 SEQ ID NO: 81 之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 12 之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 26 之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 40 之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 54 之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 68 之輕鏈可變區 CDR2；及 SEQ ID NO: 82 之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 13 之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 27 之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 41 之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 55 之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 69 之輕鏈可變區 CDR2；及 SEQ ID NO: 83 之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，該抗體包含：SEQ ID NO: 14 之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 28 之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 42 之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 56 之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 70 之輕鏈可變區 CDR2；及 SEQ ID NO: 84 之輕鏈可變區 CDR3。

在一項實施例中，本發明提供一種抗體，其包含：(a) SEQ ID NO: 85 之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 99 之可變輕



鏈序列；(b) SEQ ID NO: 86之可變重鏈序列及SEQ ID NO: 100之可變輕鏈序列；(c) SEQ ID NO: 87之可變重鏈序列及SEQ ID NO: 101之可變輕鏈序列；(d) SEQ ID NO: 88之可變重鏈序列及SEQ ID NO: 102之可變輕鏈序列；(e) SEQ ID NO: 89之可變重鏈序列及SEQ ID NO: 103之可變輕鏈序列；(f) SEQ ID NO: 90之可變重鏈序列及SEQ ID NO: 104之可變輕鏈序列；(g) SEQ ID NO: 91之可變重鏈序列及SEQ ID NO: 105之可變輕鏈序列；(h) SEQ ID NO: 92之可變重鏈序列及SEQ ID NO: 106之可變輕鏈序列；(i) SEQ ID NO: 93之可變重鏈序列及SEQ ID NO: 107之可變輕鏈序列；(j) SEQ ID NO: 94之可變重鏈序列及SEQ ID NO: 108之可變輕鏈序列；(k) SEQ ID NO: 95之可變重鏈序列及SEQ ID NO: 109之可變輕鏈序列；(l) SEQ ID NO: 96之可變重鏈序列及SEQ ID NO: 110之可變輕鏈序列；(m) SEQ ID NO: 97之可變重鏈序列及SEQ ID NO: 111之可變輕鏈序列；或(n) SEQ ID NO: 98之可變重鏈序列及SEQ ID NO: 112之可變輕鏈序列。

在一項實施例中，本發明提供一種抗體，其包含：(a) SEQ ID NO: 146之重鏈序列及SEQ ID NO: 141之輕鏈序列；(b) SEQ ID NO: 147之重鏈序列及SEQ ID NO: 142之輕鏈序列；(c) SEQ ID NO: 148之重鏈序列及SEQ ID NO: 143之輕鏈序列；(d) SEQ ID NO: 149之重鏈序列及SEQ ID NO: 144之輕鏈序列；(e) SEQ ID NO: 150之重鏈序列及SEQ ID NO: 145之輕鏈序列；(f) SEQ ID NO: 156之重鏈

[ S ]

序列及SEQ ID NO: 151之輕鏈序列；(g) SEQ ID NO: 157之重鏈序列及SEQ ID NO: 152之輕鏈序列；(h) SEQ ID NO: 158之重鏈序列及SEQ ID NO: 153之輕鏈序列；(i) SEQ ID NO: 159之重鏈序列及SEQ ID NO: 154之輕鏈序列；或(j) SEQ ID NO: 160之重鏈序列及SEQ ID NO: 155之輕鏈序列。

如本文中所用，若人類抗體之可變區或全長鏈係獲自使用人類生殖系免疫球蛋白基因之系統，則該抗體包含作為特定生殖系序列之「產物」或「來源於」特定生殖系序列的重鏈或輕鏈可變區或者全長重鏈或輕鏈。該等系統包括以相關抗原使具有人類免疫球蛋白基因之轉殖基因小鼠免疫，或以相關抗原篩選呈現於噬菌體上之人類免疫球蛋白基因庫。作為人類生殖系免疫球蛋白序列之「產物」或「來源於」人類生殖系免疫球蛋白序列的人類抗體可如下鑑別：比較人類抗體之胺基酸序列與人類生殖系免疫球蛋白之胺基酸序列，且選擇序列最接近(亦即一致性%最大)該人類抗體之序列的人類生殖系免疫球蛋白序列。作為特定人類生殖系免疫球蛋白序列之「產物」或「來源於」該生殖系序列的人類抗體相較於該生殖系序列可能由於例如天然存在之體細胞突變或有意引入之定點突變而含有胺基酸差異。然而，所選人類抗體之胺基酸序列通常與由人類生殖系免疫球蛋白基因所編碼之胺基酸序列至少90%一致，且當與其他物種之生殖系免疫球蛋白胺基酸序列(例如，鼠類生殖系序列)相比時，其含有將該人類抗體鑑別



為人類抗體的胺基酸殘基。在某些情況下，人類抗體之胺基酸序列可與生殖系免疫球蛋白基因所編碼之胺基酸序列至少80%、90%或至少95%，或甚至至少96%、97%、98%或99%一致。通常，來源於特定人類生殖系序列之人類抗體相較於人類生殖系免疫球蛋白基因所編碼之胺基酸序列，將呈現不超過10個胺基酸差異。在某些情況下，該人類抗體相較於生殖系免疫球蛋白基因所編碼之胺基酸序列，可呈現不超過5個，或甚至不超過4、3、2或1個胺基酸差異。

在一項實施例中，本發明抗體係由 pBW522 或 pBW524 (2009年8月18日寄存於 DSMZ, Inhoffenstr. 7B, D-38124 Braunschweig, Germany, 寄存編號分別為 DSM22873 及 DSM22874) 編碼。

### **同源抗體**

在另一實施例中，本發明抗體具有與本文中所述抗體之胺基酸及核苷酸序列同源的全長重鏈及輕鏈胺基酸序列；全長重鏈及輕鏈核苷酸序列、可變區重鏈及輕鏈核苷酸序列，或可變區重鏈及輕鏈胺基酸序列，且其中該等抗體保留本發明抗 ActRIIB 抗體之所要功能性質。

舉例而言，本發明提供一種經分離重組抗 ActRIIB 抗體 (或包含其抗原結合部分之功能蛋白)，其包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中：該重鏈可變區包含與選自由 SEQ ID NO: 99-112 組成之群的胺基酸序列至少80%或至少90%(較佳為至少95%、97%或99%)一致的胺基酸序列；該輕鏈可

[ S ]

變區包含與選自由SEQ ID NO: 85-98組成之群的胺基酸序列至少80%或至少90%(較佳為至少95%、97%或99%)一致的胺基酸序列；且該抗體展現至少一種以下功能性質：(i)其活體外或活體內抑制肌肉生長抑制素結合及/或(ii)減少經由Smad依賴性路徑對肌肉分化的抑制。

在另一實例中，本發明提供一種經分離重組抗ActRIIB抗體(或包含其抗原結合部分之功能蛋白)，其包含全長重鏈及全長輕鏈，其中：該全長重鏈包含與選自由SEQ ID NO: 146-150及156-160組成之群的胺基酸序列至少80%或至少90%(較佳為至少95%、97%或99%)一致的胺基酸序列；該全長輕鏈包含與選自由SEQ ID NO: 141-145及151-155組成之群的胺基酸序列至少80%或至少90%(較佳為至少95%、97%或99%)一致的胺基酸序列；且該抗體展現至少一種以下功能性質：(i)其活體外或活體內抑制肌肉生長抑制素結合及/或(ii)減少經由Smad依賴性路徑對肌肉分化的抑制。該抗體較佳結合於ActRIIB之配位體結合域。

在另一實例中，本發明提供一種經分離重組抗ActRIIB抗體(或包含其抗原結合部分之功能蛋白)，其包含全長重鏈及全長輕鏈，其中：該全長重鏈係由與選自由SEQ ID NO: 166-170及176-180組成之群的核苷酸序列至少80%或至少90%(較佳為至少95%、97%或99%)一致的核苷酸序列編碼；該全長輕鏈係由與選自由SEQ ID NO: 161-165及171-175組成之群的核苷酸序列至少80%或至少90%(較佳為至少95%、97%或99%)一致的核苷酸序列編碼；且該抗



體展現至少一種以下功能性質：(i)其活體外或活體內抑制肌肉生長抑制素結合及/或(ii)減少經由Smad依賴性路徑對肌肉分化的抑制。該抗體較佳結合於ActRIIB之配位體結合域。

在各實施例中，該抗體可能展現一或多種，兩種或兩種以上，或三種上文所論述之功能性質。該抗體可為例如人類抗體、人類化抗體或嵌合抗體。該抗體較佳為完全人類IgG1抗體。

在其他實施例中，V<sub>H</sub>及/或V<sub>L</sub>胺基酸序列可能與上述序列80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。在其他實施例中，除在不超過1、2、3、4或5個胺基酸位置上之胺基酸取代以外，V<sub>H</sub>及/或V<sub>L</sub>胺基酸序列可一致。V<sub>H</sub>及V<sub>L</sub>區分別與SEQ ID NO 99-112及SEQ ID NO: 85-98之V<sub>H</sub>及V<sub>L</sub>區具有高度(亦即80%或80%以上)一致性之抗體可分別藉由核酸分子SEQ ID NO: 127-140及SEQ ID NO: 113-126之突變誘發(例如，定點突變誘發或PCR介導之突變誘發)來獲得；隨後使用本文所述之功能檢定來測試所編碼之經改變之抗體所保留的功能(亦即上述功能)。

在其他實施例中，全長重鏈及/或全長輕鏈胺基酸序列可能與上述序列80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。全長重鏈及全長輕鏈分別與SEQ ID NO: 146-150及156-160中任一者之全長重鏈以及SEQ ID NO: 141-145及151-155中任一者之全長輕鏈具有高度(亦即80%或80%以上)一致性之抗體可分別藉由核酸分子SEQ ID NO:

[ S ]

166-170及176-180以及SEQ ID NO: 161-165及171-175之突變誘發(例如定點突變誘發或PCR介導之突變誘發)來獲得;隨後使用本文所述之功能檢定來測試所編碼之經改變之抗體所保留的功能(亦即上述功能)。

在其他實施例中,全長重鏈及/或全長輕鏈核苷酸序列可能與上述序列80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。

在其他實施例中,重鏈及/或輕鏈核苷酸序列之可變區可能與上述序列80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。

如本文中所用,兩個序列間的一致性百分比為考慮為達成兩個序列之最佳比對所需引入之間隙數及各間隙之長度,該等序列所共有之相同位置數的函數(亦即,一致性 $\%$ =相同位置數/位置總數 $\times 100$ )。兩個序列間的序列比較及一致性百分比之測定可使用數學演算法達成,如下文所述。

兩個胺基酸序列間的一致性百分比可使用已併入ALIGN程式(2.0版)中之E. Meyers及W. Miller演算法(Comput. Appl. Biosci., 4:11-17, 1988),使用PAM120權重殘基表(weight residue table)、間隙長度罰分12及間隙罰分4來測定。此外,兩個胺基酸序列間的一致性百分比可使用已併入GCG軟體套裝(可在<http://www.gcg.com>獲得)中之GAP程式中的Needleman及Wunsch(J. Mol. Biol. 48:444-453, 1970)演算法,使用Blossom 62矩陣或PAM250矩陣及間隙





權重 16、14、12、10、8、6 或 4 及長度權重 1、2、3、4、5 或 6 來測定。

### *經保守修飾之抗體*

在某些實施例中，本發明抗體具有包含 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列之重鏈可變區及包含 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列之輕鏈可變區，其中一或多個此等 CDR 序列具有基於本文中所述抗體之特定胺基酸序列或其保守修飾，且其中該等抗體保留本發明抗 ActRIIB 抗體之所要功能性質。因此，本發明提供經分離重組抗 ActRIIB 抗體或包含其抗原結合部分之功能蛋白，其由包含 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列之重鏈可變區及包含 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列之輕鏈可變區組成，其中：該重鏈可變區 CDR1 胺基酸序列係選自由 SEQ ID NO: 1-14 及其保守修飾組成之群；該重鏈可變區 CDR2 胺基酸序列係選自由 SEQ ID NO: 15-28 及其保守修飾組成之群；該重鏈可變區 CDR3 胺基酸序列係選自由 SEQ ID NO: 29-42 及其保守修飾組成之群；該輕鏈可變區 CDR1 胺基酸序列係選自由 SEQ ID NO: 43-56 及其保守修飾組成之群；該輕鏈可變區 CDR2 胺基酸序列係選自由 SEQ ID NO: 57-70 及其保守修飾組成之群；該輕鏈可變區 CDR3 胺基酸序列係選自由 SEQ ID NO: 71-84 及其保守修飾組成之群。該抗體較佳展現至少一種以下功能性質：(i) 其活體外或活體內抑制肌肉生長抑制素結合及/或(ii) 減少經由 Smad 依賴性路徑對肌肉分化的抑制。

在各實施例中，抗體可能展現一或兩種上文列出之功能

[ S ]

性質。該等抗體可為例如人類抗體、人類化抗體或嵌合抗體。

在其他實施例中，經最佳化以供於哺乳動物細胞中表現之本發明抗體具有全長重鏈序列及全長輕鏈序列，其中一或多個此等序列具有基於本文所述之抗體的特定胺基酸序列或其保守修飾，且其中該等抗體保留本發明抗ActRIIB抗體之所要功能性質。因此，本發明提供經最佳化以供於哺乳動物細胞中表現且由全長重鏈及全長輕鏈組成的經分離單株抗ActRIIB抗體，其中：該全長重鏈具有選自SEQ ID NO: 146-150及156-160及其保守修飾之群的胺基酸序列；且該全長輕鏈具有選自由SEQ ID NO: 141-145及151-155及其保守修飾組成之群的胺基酸序列；且該抗體展現至少一種以下功能性質：(i)其活體外或活體內抑制肌肉生長抑制素結合及/或(ii)減少經由Smad依賴性路徑對肌肉分化的抑制。

在各實施例中，抗體可能展現一或兩種上文列出之功能性質。該等抗體可為例如人類抗體、人類化抗體或嵌合抗體。

如本文中所用，術語「保守序列修飾」意指胺基酸修飾不顯著影響或改變含有該胺基酸序列之抗體的結合特徵。該等保守修飾包括胺基酸取代、增加及缺失。修飾可藉由此項技術中已知的標準技術，諸如定點突變誘發及PCR介導之突變誘發而引入本發明抗體中。

保守胺基酸取代為胺基酸殘基經具有類似側鏈之胺基酸



殘基置換的取代。此項技術中已定義具有類似側鏈之胺基酸殘基家族。此等家族包括具有鹼性側鏈的胺基酸(例如離胺酸、精胺酸、組胺酸)、具有酸性側鏈的胺基酸(例如天冬胺酸、麩胺酸)、具有不帶電極性側鏈的胺基酸(例如甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸、色胺酸)、具有非極性側鏈的胺基酸(例如丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸)、具有 $\beta$ -分支側鏈的胺基酸(例如蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸)及具有芳族側鏈的胺基酸(例如酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸)。因此，本發明抗體之CDR區內的一或多個胺基酸殘基可用來自同一側鏈家族之其他胺基酸殘基置換，且可使用本文所述之功能檢定來測試經改變之抗體所保留之功能。

#### **與本發明抗ActRIIB抗體結合於相同抗原決定基之抗體**

在另一實施例中，本發明提供與本文所述之各種本發明特異性抗ActRIIB抗體結合於相同抗原決定基的抗體。實例中所描述之能夠阻斷肌肉生長抑制素結合於ActRIIB的所有抗體均以高親和力結合ActRIIB中之同一抗原決定基，該抗原決定基包含在SEQ ID NO:181之胺基酸19-134之間。

因此，其他抗體可基於其在標準ActRIIB結合檢定中與本發明其他抗體交叉競爭(例如，以統計上顯著之方式競爭性抑制其他抗體之結合)之能力來鑑別。測試抗體抑制本發明抗體結合於人類ActRIIB的能力表明測試抗體可與

[ 5 ]

彼抗體競爭結合於人類 ActRIIB；根據非限制性理論，該抗體可與跟其競爭之抗體結合於人類 ActRIIB 上之相同或相關(例如結構相似或空間上接近)的抗原決定基。在某一實施例中，與本發明抗體結合於人類 ActRIIB 上之相同抗原決定基的抗體為人類重組抗體。該等人類重組抗體可如實例中所述來製備及分離。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 85 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 99 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 86 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 100 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 87 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 101 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 88 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 102 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 89 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 103 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 90 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 104 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 91 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 105 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 92 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 106 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 93 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 107 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 94 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 108 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 95 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 109 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 96 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 110 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 97 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 111 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於具有 SEQ ID NO: 98 所述之可變重鏈序列及 SEQ ID NO: 112 所述之可變輕鏈序列的抗體所識別之抗原決定基。

根據更詳細之抗原決定基定位實驗，已更清楚地確定本發明較佳抗體之結合區。

因此，本發明提供一種抗體，其結合於包含SEQ ID NO: 181之胺基酸78-83的抗原決定基(WLDDFN-SEQ ID NO:188)。

本發明亦提供一種抗體，其結合於包含SEQ ID NO: 181之胺基酸76-84的抗原決定基(GCWLDDFNC-SEQ ID NO:186)。

本發明亦提供一種抗體，其結合於包含SEQ ID NO: 181之胺基酸75-85的抗原決定基(KGCWLDDFNCY-SEQ ID NO:190)。

本發明亦提供一種抗體，其結合於包含SEQ ID NO: 181之胺基酸52-56的抗原決定基(EQDKR-SEQ ID NO:189)。

本發明亦提供一種抗體，其結合於包含SEQ ID NO: 181之胺基酸49-63的抗原決定基(CEGEQDKRLHCYASW-SEQ ID NO:187)。

本發明亦提供結合於由此等序列組成之抗原決定基或包含此等抗原決定基區之組合之抗原決定基的抗體。

因此，本發明亦提供一種抗體，其結合於包含SEQ ID NO: 181之胺基酸78-83(WLDDFN)及SEQ ID NO: 181之胺基酸52-56(EQDKR)或由該等胺基酸組成的抗原決定基。

#### **經工程改造及修飾之抗體**

本發明抗體另外可使用具有一或多個本文中所示之V<sub>H</sub>序列及/或V<sub>L</sub>序列的抗體作為起始物質來工程改造經修飾之



抗體而製備，該經修飾之抗體可能具有不同於起始抗體的性質。抗體可藉由修飾一或兩個可變區(亦即， $V_H$ 及/或 $V_L$ )內，例如在一或多個CDR區內及/或在一或多個構架區內之一或多個殘基而工程改造。或者或另外，抗體可藉由例如修飾恆定區內之殘基以改變該抗體之效應功能來工程改造。

可進行之一種類型之可變區工程改造為CDR移植。抗體主要經由位於6個重鏈及輕鏈互補決定區(CDR)中之胺基酸殘基與標靶抗原相互作用。為此，在個別抗體之間，CDR內之胺基酸序列比CDR外之序列差異更大。由於CDR序列負責大部分抗體-抗原相互作用，因此可能藉由建構包括來自天然存在之特定抗體之CDR序列移植至來自具有不同性質之不同抗體之構架序列上的表現載體來表現模擬天然存在之特定抗體之性質的重組抗體(參看例如 Riechmann, L.等人，1998 Nature 332:323-327；Jones, P.等人，1986 Nature 321:522-525；Queen, C.等人，1989 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:10029-10033；Winter之美國專利第5,225,539號；及Queen等人之美國專利第5,530,101號、第5,585,089號、第5,693,762號及第6,180,370號)。

因此，本發明之另一實施例係關於經分離單株抗ActRIIB抗體，或包含其抗原結合部分之功能蛋白，其包含重鏈可變區，該重鏈可變區分別包含具有選自由SEQ ID NO:1-14組成之群之胺基酸序列的CDR1序列、具有選自由SEQ ID NO:15-28組成之群之胺基酸序列的CDR2序列、具

[S]

有選自由SEQ ID NO:29-42組成之群之胺基酸序列的CDR3序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區分別含有具有選自由SEQ ID NO:43-56組成之群之胺基酸序列的CDR1序列、具有選自由SEQ ID NO:57-70組成之群之胺基酸序列的CDR2序列、及由選自由SEQ ID NO:71-84組成之群之胺基酸序列組成的CDR3序列。因此，該等抗體含有單株抗體之V<sub>H</sub>及V<sub>L</sub> CDR序列，亦可含有不同於此等抗體之構架序列。

該等構架序列可獲自包括生殖系抗體基因序列之公開DNA資料庫或已出版之參考文獻。舉例而言，人類重鏈及輕鏈可變區基因之生殖系DNA序列可見於：「VBase」人類生殖系序列資料庫（可得自網際網路 [www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase](http://www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase)）；以及Kabat, E. A.等人，[同上文]；Tomlinson, I. M.等人，1992 *J. mol. Biol.* 227:776-798；及Cox, J. P. L.等人，1994 *Eur. J Immunol.* 24:827-836。

用於本發明抗體中之構架序列之實例為結構上類似於本發明所選抗體所使用之構架序列(例如共同序列)及/或本發明單株抗體所使用之構架序列的構架序列。V<sub>H</sub> CDR1、CDR2及CDR3序列及V<sub>L</sub> CDR1、CDR2及CDR3序列可移植至與產生構架序列之生殖系免疫球蛋白基因中所見之序列具有一致序列的構架區上，或者CDR序列可移植至相較於生殖系序列含有一或多個突變的構架區上。舉例而言，已發現在某些情況下，在構架區內使殘基突變對維持或增強抗體之抗原結合能力有益(參看，例如Queen等人之美國專利第5,530,101號、第5,585,089號、第5,693,762號及第





6,180,370號)。

另一類型之可變區修飾為使 $V_H$ 及/或 $V_L$  CDR1、CDR2及/或CDR3區內之胺基酸殘基突變，藉此改良相關抗體之一或多種結合性質(例如親和力)，稱為「親和力成熟」。可進行定點突變誘發或PCR介導之突變誘發以引入突變，且對抗體結合或其他相關功能性質之作用可在如本文中所述及實例中所提供之活體外或活體內檢定中評估。可引入保守修飾(如上文所論述)。該等突變可能為胺基酸取代、添加或缺失。此外，通常改變CDR區內不超過1、2、3、4或5個殘基。

因此，在另一實施例中，本發明提供經分離抗ActRIIB單株抗體或包含其抗原結合部分之功能蛋白，其由以下組成：具有以下之重鏈可變區：由選自具有SEQ ID NO:1-14之群之胺基酸序列或相較於SEQ ID NO:1-14，具有1、2、3、4或5個胺基酸取代、缺失或添加之胺基酸序列組成的 $V_H$  CDR1區；具有選自由SEQ ID NO:15-28組成之群之胺基酸序列或相較於SEQ ID NO:15-28，具有1、2、3、4或5個胺基酸取代、缺失或添加之胺基酸序列的 $V_H$  CDR2區；具有選自由SEQ ID NO:29-42組成之群之胺基酸序列或相較於SEQ ID NO:29-42，具有1、2、3、4或5個胺基酸取代、缺失或添加之胺基酸序列的 $V_H$  CDR3區；具有選自由SEQ ID NO:43-56組成之群之胺基酸序列或相較於SEQ ID NO:43-56，具有1、2、3、4或5個胺基酸取代、缺失或添加之胺基酸序列的 $V_L$  CDR1區；具有選自由SEQ ID

{ S }

NO:52-70 組成之群之胺基酸序列，或相較於 SEQ ID NO:52-70，具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、缺失或添加之胺基酸序列的 V<sub>L</sub> CDR2 區；及具有選自由 SEQ ID NO:71-84 組成之群之胺基酸序列或相較於 SEQ ID NO:71-84，具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸取代、缺失或添加之胺基酸序列的 V<sub>L</sub> CDR3 區。

#### **將抗原結合域移植至替代構架或骨架中**

可採用多種抗體/免疫球蛋白構架或骨架，只要所得多肽包括至少一個特異性結合於 ActRIIB 之結合區即可。該等構架或骨架包括人類免疫球蛋白之 5 種主要個體基因型或其片段(諸如本文中別處所揭示者)，且包括較佳具有人類化部分的其他動物物種之免疫球蛋白。就此而言，諸如在駱駝科中所鑑別之單一重鏈抗體特別受關注。熟習此項技術者繼續探索及開發新穎構架、骨架及片段。

在一態樣中，本發明係關於使用本發明之 CDR 可移植至其上的非免疫球蛋白骨架來產生基於非免疫球蛋白之抗體。可採用已知或未來非免疫球蛋白構架及骨架，只要其包含對 SEQ ID NO:181 之標靶蛋白具特異性的結合區(其配位體結合域較佳以 SEQ ID NO:182 顯示)即可。該等化合物在本文中稱為「包含標靶特異性結合區之多肽」。在以下部分(駱駝科抗體及非抗體骨架)中進一步描述非免疫球蛋白構架之實例。

#### **駱駝科抗體**

獲自駱駝及單峰駱駝家族(雙峰駝(*Camelus bactrianus*))



及單峰駝(*Camelus dromaderius*)之成員，包括諸如美洲駝種(*llama species*)(小羊駝(*Lama paccos*)、原駝(*Lama glama*)及瘦駝(*Lama vicugna*))之新世界成員的抗體蛋白已就尺寸、結構複雜性及對人類個體之抗原性進行表徵。天然發現之來自此哺乳動物家族之某些IgG抗體缺乏輕鏈，且因此在結構上不同於來自其他動物之抗體之具有2條重鏈及2條輕鏈的典型四鏈四級結構(參看WO 94/04678)。

駱駝科抗體中為鑑別為V<sub>HH</sub>之小單一可變域之區域可藉由基因工程改造獲得，產生對標靶具有高親和力的小蛋白質，產生來源於低分子量抗體的蛋白質，稱為「駱駝科奈米抗體(*camelid nanobody*)」(參看US 5,759,808；Stijlemans, B.等人，2004 J Biol Chem 279: 1256-1261；Dumoulin, M.等人，2003 Nature 424: 783-788；Pleschberger, M.等人，2003 Bioconjugate Chem 14: 440-448；Cortez-Retamozo, V.等人，2002 Int J Cancer 89: 456-62；及Lauwereys, M.等人，1998 EMBO J 17:3512-3520)。駱駝科抗體及抗體片段之工程改造庫可購自例如Ablynx, Ghent, Belgium。如同非人類來源之其他抗體，駱駝科抗體之胺基酸序列可經重組改變以獲得更密切類似人類序列之序列，亦即奈米抗體可經「人類化」。因此，駱駝科抗體對人類之天然低抗原性可進一步降低。

駱駝科奈米抗體之分子量約為人類IgG分子之十分之一，且該蛋白質之實體直徑僅為幾奈米。該小尺寸所引起之一個結果為駱駝科奈米抗體能夠結合於對較大抗體蛋白

[S]

功能上隱形之抗原位點，亦即駱駝科奈米抗體適用作偵測使用經典免疫技術時隱藏之抗原的試劑且適用作可能之治療劑。因此，小尺寸之另一結果為駱駝科奈米抗體可由於結合於標靶蛋白之凹槽或窄間隙中之特定位點而具有抑制作用，且因此相較於經典抗體，所發揮作用可更密切類似經典低分子量藥物之功能。

低分子量及緊密尺寸進一步使駱駝科奈米抗體具有極高熱穩定性，對極端pH值及蛋白水解消化具穩定性，且具有極弱抗原性。另一結果為駱駝科奈米抗體易於自循環系統移入組織中，且甚至橫穿血腦障壁並可治療影響神經組織之病症。奈米抗體可進一步促進藥物橫穿血腦障壁輸送(參看US 2004/0161738)。此等特徵與對人類之低抗原性組合表明極大治療潛力。此外，此等分子可在原核細胞(諸如大腸桿菌(*E. coli*))中充分表現，且表現為與噬菌體之融合蛋白並具有功能性。

因此，本發明之特徵為一種對ActRIIB具有高親和力的駱駝科抗體或奈米抗體。在本文之某些實施例中，駱駝科抗體或奈米抗體係在駱駝科動物中天然產生，亦即由駱駝科動物在用ActRIIB或其肽片段、使用本文關於其他抗體所述之技術進行免疫之後產生。或者，將抗ActRIIB駱駝科奈米抗體工程改造，亦即藉由例如如本文實例中所述，使用淘選程序以ActRIIB作為標靶自呈現經適當突變誘發之駱駝科奈米抗體蛋白之噬菌體庫選擇產生。經工程改造之奈米抗體可進一步藉由基因工程改造定製以使在接受個



體中具有自45分鐘至2週之半衰期。在一特定實施例中，駱駝科抗體或奈米抗體係藉由將本發明人類抗體之重鏈或輕鏈CDR序列移植至奈米抗體或單結構域抗體構架序列中來獲得，如例如WO 94/04678中所描述。

### 非抗體骨架

已知非免疫球蛋白構架或骨架包括(但不限於)Adnectins(纖維結合蛋白)(Compound Therapeutics, Inc., Waltham, MA)、錨蛋白(Molecular Partners AG, Zurich, Switzerland)、域抗體(Domantis, Ltd(Cambridge, MA)及Ablynx nv(Zwijnaarde, Belgium))、脂質運載蛋白(Anticalins)(Pieris Proteolab AG, Freising, Germany)、小分子免疫藥物(Trubion Pharmaceuticals Inc., Seattle, WA)、麥克西抗體(maxybodies)(Avidia, Inc.(Mountain View, CA))、蛋白質A(Affibody AG, Sweden)及affilin( $\gamma$ -晶狀體蛋白或泛素)(Scil Proteins GmbH, Halle, Germany)、蛋白質抗原決定基模擬劑(Polyphor Ltd, Allschwil, Switzerland)。

#### (i)纖維結合蛋白骨架

纖維結合蛋白骨架較佳係基於III型纖維結合蛋白域(例如，III型纖維結合蛋白之第十個模組(10 Fn3域))。III型纖維結合蛋白域具有7條或8條 $\beta$ 股分布於兩個 $\beta$ 摺疊之間，該等摺疊本身彼此相抵組裝形成蛋白質之核心，且進一步含有使 $\beta$ 股彼此連接且經溶劑暴露之環(類似於CDR)。在 $\beta$ 摺疊夾層之各邊緣處存在至少三個該等環，其中該邊緣為蛋白質垂直於 $\beta$ 股方向的邊界(US 6,818,418)。

[ S ]

此等基於纖維結合蛋白之骨架並非免疫球蛋白，儘管總摺疊與包含駱駝及美洲駝IgG中之完整抗原識別單元之最小功能抗體片段(重鏈之可變區)的總摺疊密切相關。由於此結構，非免疫球蛋白抗體模擬性質及親和力類似於抗體之抗原結合性質的抗原結合性質。此等骨架可用於類似於活體內抗體親和力成熟過程之活體外環隨機化及改組策略中。此等基於纖維結合蛋白之分子可用作骨架，其中可使用標準選殖技術用本發明CDR置換該分子之環區。

(ii) 錨蛋白-分子搭配物

該技術係基於使用具有來源於錨蛋白之重複模組的蛋白質作為骨架負載可用於結合於不同標靶之可變區。錨蛋白重複模組為由兩個反向平行之 $\alpha$ -螺旋及一個 $\beta$ -翻轉組成的33個胺基酸之多肽。可變區之結合主要藉由使用核糖體呈現而最佳化。

(iii) 麥克西抗體/高親和性多聚體(Avimer)-Avidia

高親和性多聚體係來源於含天然A結構域之蛋白質，諸如LRP-1。此等結構域本性上用於蛋白質-蛋白質相互作用，且在人類中250餘種蛋白質在結構上基於A結構域。高親和性多聚體由許多不同「A結構域」單體(2-10個)經由胺基酸連接子連接組成。可使用例如US 2004/0175756、US 2005/0053973、US 2005/0048512及US 2006/0008844中所描述之方法產生可結合於標靶抗原之高親和性多聚體。

(vi) 蛋白質A-Affibody

Affibody®親和力配位體為由基於蛋白質A之一個IgG結



合域之骨架的三螺旋束構成的小單純蛋白質。蛋白質A為來自細菌金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 之表面蛋白。此骨架結構域係由58個胺基酸組成，隨機選擇其中13個胺基酸以產生具有許多配位體變異體之Affibody®庫(參看例如 US 5,831,012)。Affibody®分子模擬抗體，Affibody®分子之分子量為6 kDa，相比之下，抗體之分子量為150 kDa。儘管Affibody®分子尺寸小，但其結合位點類似於抗體。

#### (v) Anticalins-Pieris

Anticalins®為Pieris ProteoLab AG公司所開發之產品。其係來源於脂質運載蛋白，其為於化學敏感性或不溶性化合物之生理輸送或儲存中所通常涉及之一組分佈廣泛、小而穩固的蛋白質。在人類組織或體液中存在若干種天然脂質運載蛋白。

該蛋白質架構使人聯想起免疫球蛋白，其中高變環位於剛性構架頂部。然而，與抗體或其重組片段相比，脂質運載蛋白係由具有160至180個胺基酸殘基之單一多肽鏈構成，僅略大於單一免疫球蛋白域。

構成結合袋之四個環之組展示顯著結構可塑性且允許具有多種側鏈。因此，該結合位點可以專用方法再成形，以便以高親和力及高特異性識別不同形狀之指定標靶分子。

脂質運載蛋白家族之一種蛋白質，即大菜粉蝶 (*Pieris Brassicae*) 之後膽色素結合蛋白 (BBP) 已用於藉由誘發四個環之組突變來開發 anticalin。描述「anticalin」之專利申

請案之一實例為 WO 1999/16873。

(vi) Affilin-Scil Proteins

Affilin™分子為小非免疫球蛋白蛋白質，其經設計以對蛋白質及小分子具有特異親和力。新 Affilin™分子可自兩個庫極快速地選擇，各庫係基於不同的來源於人類之骨架蛋白。

Affilin™分子並不展示與免疫球蛋白蛋白質的任何結構同源性。Scil蛋白採用兩種 Affilin™骨架，其中一種為 $\gamma$ 晶狀體，即人類結構眼晶狀體蛋白，而另一種為「泛素」總科蛋白。兩種人類骨架均極小，展示高溫穩定性且幾乎抗 pH 值變化及變性劑。此高穩定性主要由於該等蛋白質的 $\beta$ 摺疊結構擴展。來源於 $\gamma$ 晶狀體之蛋白質的實例描述於 WO 2001/004144 中且「泛素樣」蛋白質的實例描述於 WO 2004/106368 中。

(vii) 蛋白質抗原決定基模擬劑 (PEM)

PEM 為中等尺寸環狀肽樣分子 (MW 1-2 kDa)，其模擬蛋白質之 $\beta$ 髮夾狀二級結構，即蛋白質-蛋白質相互作用所涉及之主要二級結構。

**構架或 Fc 工程改造**

本發明之經工程改造抗體包括已對  $V_H$  及 / 或  $V_L$  內之構架殘基進行修飾以例如改良抗體性質者。通常進行該等構架修飾以降低抗體之免疫原性。舉例而言，一種方法為使一或多個構架殘基「回復突變」成相應生殖系序列。更特定言之，已經受體細胞突變之抗體可含有不同於產生該抗體





之生殖系序列的構架殘基。該等殘基可藉由比較抗體構架序列與產生該抗體之生殖系序列來鑑別。為使該等構架區序列回復其生殖系組態，可藉由例如定點突變誘發或PCR介導之突變誘發使體細胞突變「回復突變」成生殖系序列。該等經「回復突變」之抗體亦意欲為本發明所涵蓋。

另一種類型之構架修飾涉及使構架區內，或甚至一或多個CDR區內之一或多個殘基突變以移除T細胞抗原決定基，由此降低抗體之潛在免疫原性。此方法亦稱為「去免疫」，且進一步詳細描述於US 2003/0153043中。

除構架區或CDR區內進行之修飾以外，或替代地，本發明抗體可經工程改造以包括Fc區內之修飾，通常用於改變該抗體之一或多種功能性質，諸如血清半衰期、補體固定、Fc受體結合及/或抗原依賴性細胞毒性。此外，本發明抗體可經化學修飾(例如，可使一或多個化學部分連接至抗體)，或經修飾以改變其糖基化，再改變該抗體之一或多種功能性質。下文進一步詳細描述此等實施例中之各者。Fc區中之殘基編號為Kabat之EU指數之編號。

在一項實施例中，CH1之鉸鏈區經修飾使得改變，例如增加或減少該鉸鏈區中之半胱胺酸殘基數。此方法進一步描述於US 5,677,425中。改變CH1之鉸鏈區中之半胱胺酸殘基數例如便利於輕鏈及重鏈之組裝或增強或降低該抗體之穩定性。

在另一實施例中，抗體之Fc鉸鏈區經突變以減少該抗體之生物半衰期。更特定言之，將一或多個胺基酸突變引入

[S]

Fc 鉸鏈片段之 CH2-CH3 域界面區，使得該抗體之葡萄球菌蛋白 A (SpA) 結合相對於原生 Fc 鉸鏈域 SpA 結合削弱。此方法進一步詳細描述於 US 6,165,745 中。

在另一實施例中，該抗體經修飾以增加其生物半衰期。可能使用多種方法。舉例而言，可引入一或多個下列突變：T252L、T254S、T256F，如 US 6,277,375 中所描述。或者，為了增加生物半衰期，抗體可在 CH1 或 CL 區內經改變以含有取自 IgG 之 Fc 區之 CH2 域之兩個環的救助受體結合抗原決定基，如 US 5,869,046 及 US 6,121,022 中所述。

在其他實施例中，藉由將至少一個胺基酸殘基用不同胺基酸殘基置換來改變 Fc 區，從而改變抗體之效應功能。舉例而言，一或多個胺基酸可用不同胺基酸殘基置換，使得抗體對效應配位體之親和力改變但保留親本抗體之抗原結合能力。已改變對其親和力之效應配位體可為例如 Fc 受體或補體之 C1 組分。此方法進一步詳細描述於 Winter 等人之 US 5,624,821 及 US 5,648,260 中。詳言之，殘基 234 及 235 可能經突變。詳言之，此等突變可能突變成丙胺酸。因此，在一項實施例中，本發明抗體在 Fc 區中在胺基酸 234 及 235 中之一或二處具有突變。在另一實施例中，胺基酸 234 及 235 中之一或二者可能經取代為丙胺酸。胺基酸 234 及 235 二者皆取代為丙胺酸使 ADCC 活性降低。

在另一實施例中，選自胺基酸殘基之一或多種胺基酸可經不同胺基酸殘基置換使得抗體具有改變之 Clq 結合及/或減弱或消除之補體依賴性細胞毒性 (CDC)。此方法進一步



詳細描述於US 6,194,551中。

在另一實施例中，一或多個胺基酸殘基經改變，由此改變該抗體固定補體之能力。此方法進一步描述於WO 94/29351中。

在另一實施例中，Fc區經修飾以藉由修飾一或多個胺基酸增加抗體介導抗體依賴性細胞毒性(ADCC)之能力，及/或增加抗體對Fc $\gamma$ 受體之親和力。此方法進一步描述於WO 00/42072中。此外，已定位人類IgG1上Fc $\gamma$ R1、Fc $\gamma$ R2、Fc $\gamma$ R3及FcRn之結合位點並描述具有改良結合之變異體(參看 Shields, R.L.等人，2001 J. Biol. Chem. 276:6591-6604)。

在又一實施例中，修飾抗體之糖基化。舉例而言，可製備去糖基化抗體(亦即，抗體缺乏糖基化)。可改變糖基化以例如增加抗體對抗原之親和力。該等碳水化合物修飾可藉由例如改變抗體序列內之一或多個糖基化位點來實現。舉例而言，可進行一或多個胺基酸取代，從而消除一或多個可變區構架糖基化位點，藉此消除彼位點處之糖基化。該去糖基化可增加抗體對抗原之親和力。該方法進一步詳細描述於Co等人之美國專利第5,714,350號及第6,350,861號中。

或者或另外，可製備糖基化類型已改變之抗體，諸如岩藻糖基殘基量減少之低岩藻糖基化抗體或平分GlcNac結構增加之抗體。已證明該等經改變之糖基化模式增加抗體之ADCC能力。該等碳水化合物修飾可藉由例如於糖基化機

[S]

制改變之宿主細胞中表現抗體來實現。糖基化機制已改變之細胞已描述於此項技術中且可用作表現本發明重組抗體從而產生糖基化改變之抗體的宿主細胞。舉例而言，Hang等人之EP 1,176,195描述編碼岩藻糖基轉移酶之FUT8基因經功能破壞之細胞株，使得表現於該細胞株中之抗體展現低岩藻糖基化。因此，在一項實施例中，本發明抗體係藉由在展現低岩藻糖基化模式之細胞株，例如編碼岩藻糖基轉移酶之FUT8基因表現缺乏的哺乳動物細胞株中重組表現而產生。WO 03/035835描述變異CHO細胞株、Lecl3細胞，其使岩藻糖附著於Asn(297)-鍵聯之碳水化合物上之能力降低，亦使得表現於彼宿主細胞中之抗體低岩藻糖基化(亦參看Shields, R.L.等人，2002 J. Biol. Chem. 277:26733-26740)。WO 99/54342描述經工程改造以表現醣蛋白修飾醣基轉移酶(例如 $\beta(1,4)$ -N乙醯基葡糖胺基轉移酶III(GnTIII))之細胞株，使得表現於經工程改造細胞株中之抗體展現之平分GlcNac結構增加，使得該等抗體之ADCC活性增加(亦參看Umana等人，1999 Nat. Biotech. 17:176-180)。或者，本發明抗體可產生於經工程改造為哺乳動物樣糖基化模式且能夠產生糖基化模式為缺乏岩藻糖之抗體的酵母或絲狀真菌中(參看例如EP 1297172B1)。

本發明所涵蓋之本文之抗體的另一種修飾為聚乙二醇化。抗體可經聚乙二醇化以例如增加該抗體之生物(例如血清)半衰期。為使抗體聚乙二醇化，通常使該抗體或其片段與聚乙二醇(PEG)，諸如PEG之反應性酯或醛衍生物



在使一或多個PEG基團連接至該抗體或抗體片段之條件下反應。聚乙二醇化可藉由與反應性PEG分子(或類似反應性水溶性聚合物)之醯化反應或烷基化反應來進行。如本文中所示，術語「聚乙二醇」意欲涵蓋已用於衍生其他蛋白質之任何PEG形式，諸如單(C1-C10)烷氧基或芳氧基聚乙二醇或聚乙二醇-順丁烯二醯亞胺。在某些實施例中，欲經聚乙二醇化之抗體為去糖基化之抗體。使蛋白質聚乙二醇化之方法在此項技術中已知，且可用於本發明抗體(參看例如EP 0154316及EP 0401384)。

本發明所涵蓋之抗體之另一種修飾為至少本發明抗體之抗原結合區與血清蛋白(諸如人類血清白蛋白或其片段)之結合物或蛋白融合物，以增加所得分子之半衰期(參看例如EP 0322094)。

另一可能性為至少本發明抗體之抗原結合區與能夠結合於血清蛋白(諸如人類血清白蛋白)之蛋白質的融合物，以增加所得分子之半衰期(參看例如EP 0486525)。

#### *工程改造經改變之抗體的方法*

如上文所論述，具有本文所示之 $V_H$ 及 $V_L$ 序列或全長重鏈及輕鏈序列之抗ActRIIB抗體可用於藉由修飾全長重鏈及/或輕鏈序列、 $V_H$ 及/或 $V_L$ 序列或與其連接之恆定區來產生新抗ActRIIB抗體。因此，在本發明之另一態樣中，本發明抗ActRIIB抗體之結構特徵用於產生結構相關之抗ActRIIB抗體，其保留本發明抗體之至少一種功能性質(諸如結合於人類ActRIIB)但亦抑制ActRIIB之一或多種功能

[ 5 ]

性質(例如抑制 Smad 活化)。

舉例而言，本發明抗體之一或多個 CDR 區或其突變體可與已知構架區及/或其他 CDR 重組組合以產生如上文所述之本發明之其他重組工程改造抗 ActRIIB 抗體。其他類型之修飾包括先前部分中所述之修飾。工程改造方法之起始物質為本文中所提供之一或多個 V<sub>H</sub> 及/或 V<sub>L</sub> 序列，或其一或多個 CDR 區。為產生經工程改造抗體，不必實際上製備(亦即表現為蛋白質)具有本文中所提供之一或多個 V<sub>H</sub> 序列及/或 V<sub>L</sub> 序列，或其一或多個 CDR 區的抗體。實情為，該等序列中所含之資訊用作起始物質以產生來源於原始序列之「第二代」序列，且接著使「第二代」序列製備且表現為蛋白質。

因此，在另一實施例中，本發明提供一種製備抗 ActRIIB 抗體之方法，該抗 ActRIIB 抗體由以下組成：一重鏈可變區抗體序列，其具有選自由 SEQ ID NO: 1-14 組成之群的 CDR1 序列、選自由 SEQ ID NO: 15-28 組成之群的 CDR2 序列及/或選自由 SEQ ID NO: 29-42 組成之群的 CDR3 序列；及一輕鏈可變區抗體序列，其具有選自由 SEQ ID NO: 43-56 組成之群的 CDR1 序列、選自由 SEQ ID NO: 57-70 組成之群的 CDR2 序列及/或選自由 SEQ ID NO: 71-84 組成之群的 CDR3 序列；改變該重鏈可變區抗體序列及/或該輕鏈可變區抗體序列內至少一個胺基酸殘基以產生至少一個經改變之抗體序列；及使該經改變之抗體序列表現為蛋白質。



因此，在另一實施例中，本發明提供一種製備經最佳化以供於哺乳動物細胞中表現之抗ActRIIB抗體的方法，該抗ActRIIB抗體由以下組成：一全長重鏈抗體序列，其具有選自SEQ ID NO: 146-150及156-160之群的序列；及一全長輕鏈抗體序列，其具有選自SEQ ID NO: 141-145及151-155之群的序列；改變該全長重鏈抗體序列及/或該全長輕鏈抗體序列內至少一個胺基酸殘基以產生至少一個經改變之抗體序列；及使該經改變之抗體序列表現為蛋白質。

經改變之抗體序列亦可藉由篩選具有選自由SEQ ID NO: 29-42及SEQ ID NO: 71-84組成之群之固定CDR3序列或如US 2005/0255552中所述之最小必需結合決定子以及CDR1及CDR2序列上具有多樣性的抗體庫來製備。篩選可根據適合於自抗體庫篩選抗體之任何篩選技術(諸如噬菌體呈現技術)來執行。

可使用標準分子生物學技術製備及表現經改變之抗體序列。由經改變之抗體序列所編碼之抗體為保留本文所述之抗ActRIIB抗體之一種、一些或所有功能性質的抗體，其功能性質包括(但不限於)特異性結合於人類ActRIIB及抑制Smad活化。

經改變之抗體可展現一或多種、兩種或兩種以上、或三種或三種以上上文所論述之功能性質。

經改變之抗體之功能性質可使用此項技術中可用及/或本文中所述之標準檢定，諸如實例中所述之標準檢定(例如ELISA)來評定。

在工程改造本發明抗體之方法的某些實施例中，可沿抗ActRIIB抗體編碼序列之全部或一部分隨機或選擇性引入突變，且可針對結合活性及/或如本文中所述之其他功能性質篩選所得經修飾之抗ActRIIB抗體。突變方法已描述於此項技術中。舉例而言，WO 02/092780描述使用飽和突變誘發、合成連接組裝或其組合來產生及篩選抗體突變的方法。或者，WO 03/074679描述使用電腦篩選法使抗體之生理化學性質最佳化的方法。

#### **編碼本發明抗體之核酸分子**

本發明之另一態樣係關於編碼本發明抗體之核酸分子。經最佳化以供於哺乳動物細胞中表現之全長輕鏈核苷酸序列之實例以SEQ ID NO: 161-165及171-175顯示。經最佳化以供於哺乳動物細胞中表現之全長重鏈核苷酸序列之實例以SEQ ID NO: 166-170及176-180顯示。

核酸可能存在於完整細胞中，存在於細胞溶胞物中，或可能為呈部分純化或實質上純形式的核酸。當核酸藉由標準技術(包括鹼/SDS處理、CsCl顯帶(CsCl banding)、管柱層析、瓊脂糖凝膠電泳及此項技術中熟知之其他技術)自其他細胞組分或其他污染物(例如其他細胞核酸或蛋白質)純化時，其為「經分離」或「表現實質上純的」。參看F. Ausubel 等人編 1987 Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York。本發明核酸可為例如DNA或RNA，且可能含有或可能不含有內含子序列。在一實施例中，核酸為cDNA分





子。核酸可存在於諸如噬菌體呈現載體之載體中，或重組質體載體中。本發明亦提供稱為pBW522及pBW524之載體(2009年8月18日寄存於DSMZ，Inhoffenstr. 7B, D-38124 Braunschweig, Germany, 寄存編號分別為DSM22873及DSM22874)。

本發明核酸可使用標準分子生物學技術獲得。對於由融合瘤(例如，如下文進一步描述之由具有人類免疫球蛋白基因之轉殖基因小鼠製備的融合瘤)表現之抗體而言，編碼由該融合瘤製得之抗體之輕鏈及重鏈的cDNA可藉由標準PCR擴增或cDNA選殖技術獲得。對於獲自免疫球蛋白基因庫之抗體(例如使用噬菌體呈現技術)而言，編碼該抗體之核酸可自作為庫成員的多種噬菌體純系回收。

本發明範疇內亦包括包含一或多個缺失、添加或取代的變異核酸序列。在一項實施例中，本發明包含SEQ ID NO: 113-140或161-180中之一或多者，其包含保守核苷酸取代。由於基因密碼簡併，故胺基酸可能由一個以上密碼子編碼。因此，可能修正核苷酸序列，同時經轉譯之胺基酸序列保持不變。

獲得編碼 $V_H$ 及 $V_L$ 區段之DNA片段之後，即可藉由標準重組DNA技術進一步操作此等DNA片段，以便例如將可變區基因轉化為全長抗體鏈基因、Fab片段基因或scFv基因。在此等操作中，將編碼 $V_L$ 或 $V_H$ 之DNA片段可操作地連接於另一DNA分子或編碼另一蛋白質之片段，諸如抗體恆定區或可撓性連接子。如在此上下文中所用之術語「可

[ S ]

操作地連接」意欲意謂兩個DNA片段以功能方式接合，例如使得由兩個DNA片段編碼之胺基酸序列保持同框，或使得蛋白質在所要啟動子控制下表現。

可藉由將編碼 $V_H$ 之DNA可操作地連接至編碼重鏈恆定區(CH1、CH2及CH3)之另一DNA分子而將編碼 $V_H$ 區的經分離DNA轉化為全長重鏈基因。人類重鏈恆定區基因之序列在此項技術中已知(參看例如Kabat, E. A., 等人[同上文])，且涵蓋此等區域之DNA片段可藉由標準PCR擴增獲得。重鏈恆定區可為IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM或IgD恆定區。在一些實施例中，重鏈恆定區係選自IgG1同型。對於Fab片段重鏈基因而言，可將編碼 $V_H$ 之DNA可操作地連接至僅編碼重鏈CH1恆定區之另一DNA分子。

可藉由將編碼 $V_L$ 之DNA可操作地連接至編碼輕鏈恆定區CL之另一DNA分子而將編碼 $V_L$ 區的經分離DNA轉化成全長輕鏈基因(以及Fab輕鏈基因)。人類輕鏈恆定區基因之序列在此項技術中已知(參看例如Kabat, E. A., 等人[同上文])，且涵蓋此等區域之DNA片段可藉由標準PCR擴增獲得。該輕鏈恆定區可為 $\kappa$ 或 $\lambda$ 恆定區。

為產生scFv基因，使編碼 $V_H$ 及 $V_L$ 之DNA片段可操作地連接至編碼可撓性連接子(例如編碼胺基酸序列(Gly4-Ser)<sub>3</sub>)之另一片段，使得 $V_H$ 序列及 $V_L$ 序列可表現為連續單鏈蛋白質，其中 $V_L$ 與 $V_H$ 區藉由可撓性連接子接合(參看例如Bird等人，1988 Science 242:423-426；Huston等人，1988 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883；McCafferty等

人，1990 Nature 348:552-554)。

本發明核酸可用於基因傳遞。亦即，編碼本發明多肽(抗體或功能蛋白)之核酸可直接傳遞至患者以在患者中轉譯。

核酸通常「經包裝」以供投與患者。基因傳遞媒劑可為非病毒，諸如脂質體；或複製缺陷病毒，諸如 Berkner, K.L.於 Curr. Top. Microbiol. Immunol., 158, 39-66(1992)中所描述之腺病毒，或如 Muzyczka, N.於 Curr. Top. Microbiol. Immunol., 158, 97-129(1992)及美國專利第 5,252,479號中所描述之腺相關病毒(AAV)載體。或者可使用反轉錄病毒，諸如慢病毒(lentivirus)。舉例而言，編碼本發明多肽之核酸分子可經工程改造以便表現於複製缺陷反轉錄病毒載體中。接著可分離此表現構築體並引入用含有編碼多肽之RNA之反轉錄病毒質體載體轉導之包裝細胞中，使得包裝細胞現今產生含有相關基因之感染病毒粒子。此等生產細胞可投與個體以便在活體內工程改造細胞及在活體內表現多肽(參看 Human Molecular Genetics (1996)中第20章 Gene Therapy and other Molecular Genetic-based Therapeutic Approaches(及其中所引用之參考文獻), T Strachan及 A P Read, BIOS Scientific Publishers Ltd)。

另一方法為投與「裸DNA」，其中治療基因係直接注射至血流或肌肉組織中。

#### **本發明之單株抗體的產生**

單株抗體(mAb)可藉由多種技術產生，包括習知單株抗

[ 5 ]

體方法，例如Kohler及Milstein(1975 Nature 256:495)之標準體細胞雜交技術。可採用許多用於產生單株抗體之技術，例如B淋巴細胞之病毒性或致癌性轉型。

用於製備融合瘤之動物系統為鼠類系統。在小鼠體內產生融合瘤為已經確立之程序。用於分離經免疫之脾細胞以供融合之免疫方案及技術在此項技術中已知。亦已知融合搭配物(例如鼠類骨髓瘤細胞)及融合程序。

本發明之嵌合抗體或人類化抗體可基於如上所述製備之鼠類單株抗體序列來製備。編碼重鏈及輕鏈免疫球蛋白之DNA可使用標準分子生物學技術自相關鼠類融合瘤獲得且經工程改造以含有非鼠類(例如人類)免疫球蛋白序列。舉例而言，為了產生嵌合抗體，可使用此項技術中已知之方法將鼠類可變區連接至人類恆定區(參看例如US 4,816,567)。為了產生人類化抗體，可使用此項技術中已知之方法將鼠類CDR區插入人類構架中(參看例如美國專利第5225539號、第5530101號、第5585089號、第5693762號及第6180370號)。

在某一實施例中，本發明抗體為人類單株抗體。針對ActRIIB之該等人類單株抗體可使用具有部分人類免疫系統而非小鼠系統的轉殖基因或轉染色體小鼠來產生。此等轉殖基因及轉染色體小鼠包括在本文中分別稱為HuMAb小鼠及KM小鼠的小鼠，且在本文中統稱為「人類Ig小鼠」。

HuMAb mouse<sup>®</sup>(Medarex, Inc.)含有編碼未重排人類重鏈( $\mu$ 及 $\gamma$ )及 $\kappa$ 輕鏈免疫球蛋白序列之人類免疫球蛋白基因微型



基因座(miniloci)以及使內源 $\mu$ 及 $\kappa$ 鏈基因座失活之靶向突變(參看例如 Lonberg 等人, 1994 Nature 368(6474): 856-859)。因此, 小鼠展現小鼠IgM或 $\kappa$ 表現減少, 且回應於免疫作用, 所引入之人類重鏈及輕鏈轉殖基因進行種類轉換及體細胞突變以產生高親和力人類IgG $\kappa$ 單株(Lonberg, N. 等人, 1994 [同上文]; Lonberg, N., 1994 Handbook of Experimental Pharmacology 113: 49-101 中之論述; Lonberg, N.及Huszar, D., 1995 Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93; 及Harding, F.及Lonberg, N., 1995 Ann. N. Y. Acad. Sci. 764:536-546)。HuMAb小鼠之製備及使用及該等小鼠所具有之基因組修飾進一步描述於下列文獻中: Taylor, L. 等人, 1992 Nucleic Acids Research 20: 6287-6295; Chen, J. 等人, 1993 International Immunology 5: 647-656; Tuailon等人, 1993 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:3720-3724; Choi等人, 1993 Nature Genetics 4: 117-123; Chen, J.等人, 1993 EMBO J. 12: 821-830; Tuailon等人, 1994 J. Immunol. 152: 2912-2920; Taylor, L. 等人, 1994 International Immunology 579-591; 及Fishwild, D.等人, 1996 Nature Biotechnology 14: 845-851, 所有該等文獻之內容均特定地以全文引用的方式併入本文中。進一步參看美國專利第5,545,806號、第5,569,825號、第5,625,126號、第5,633,425號、第5,789,650號、第5,877,397號、第5,661,016號、第5,814,318號、第5,874,299號、第5,770,429號及第5,545,807號, 以及WO 92/103918、WO

[ S ]

93/12227、WO 94/25585、WO 97/113852、WO 98/24884、WO 99/45962及WO 01/14424。

在另一實施例中，本發明人類抗體可使用在轉殖基因及轉染色體上具有人類免疫球蛋白序列之小鼠，諸如具有人類重鏈轉殖基因及人類輕鏈轉染色體之小鼠來產生。該等小鼠在本文中稱為「KM小鼠」，詳細描述於WO 02/43478中。

另外，表現人類免疫球蛋白基因之替代性轉殖基因動物系統可在此項技術中獲得且可用於產生本發明之抗ActRIIB抗體。舉例而言，可使用稱為Xenomouse (Abgenix, Inc.)之替代性轉殖基因系統。該等小鼠描述於例如美國專利第5,939,598號、第6,075,181號、第6,114,598號、第6,150,584號及第6,162,963號中。

此外，表現人類免疫球蛋白基因之替代性轉染色體動物系統可在此項技術中獲得，且可用於產生本發明之抗ActRIIB抗體。舉例而言，可使用稱為「TC小鼠」之具有人類重鏈轉染色體與人類輕鏈轉染色體之小鼠；該等小鼠描述於Tomizuka等人，2000 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97: 722-727中。此外，具有人類重鏈及輕鏈轉染色體之牛已描述於此項技術中(Kuroiwa等人，2002 Nature Biotechnology 20:889-894)且可用於產生本發明之抗ActRIIB抗體。

亦可使用噬菌體呈現方法篩選人類免疫球蛋白基因庫來製備本發明之人類重組抗體。用於分離人類抗體之該等噬菌體呈現方法在此項技術中已確立或描述於以下實例中。



參看例如美國專利第5,223,409號、第5,403,484號、第5,571,698號、第5,427,908號、第5,580,717號、第5,969,108號、第6,172,197號、第5,885,793號、第6,521,404號、第6,544,731號、第6,555,313號、第6,582,915號及第6,593,081號。

本發明之人類單株抗體亦可使用已於之中復原人類免疫細胞從而在免疫後可產生人類抗體反應之SCID小鼠來製備。該等小鼠描述於例如美國專利第5,476,996號及第5,698,767號中。

#### *產生人類單株抗體之融合瘤的產生*

為了產生可產生本發明人類單株抗體之融合瘤，可分離來自經免疫小鼠之脾細胞及/或淋巴結細胞且融合於諸如小鼠骨髓瘤細胞株之經適當永生之細胞株。可篩選所得融合瘤用於產生抗原特異性抗體。舉例而言，可以50% PEG將來自經免疫小鼠之脾淋巴細胞之單細胞懸浮液融合於六分之一數目之P3X63-Ag8.653非分泌性小鼠骨髓瘤細胞(ATCC, CRL 1580)。將細胞以約 $2 \times 10^5$ 接種於平底微量滴定盤中，繼而在含有20%胎純系血清、18%「653」條件培養基、5% origen(IGEN)、4 mM L-麩醯胺酸、1 mM 丙酮酸鈉、5 mM HEPES、0.055 mM 2-巰基乙醇、50單位/毫升青黴素(penicillin)、50 mg/ml鏈黴素(streptomycin)、50 mg/ml健他黴素(gentamycin)及1X HAT(Sigma；融合24小時後添加HAT)之選擇性培養基中培育兩週。約兩週之後，可在HAT經HT置換之培養基中培養細胞。接著可藉由

[S]

ELISA篩選個別孔之人類單株IgM及IgG抗體。出現大量融合瘤生長之後，通常可在10-14天後觀察培養基。可再接種分泌抗體之融合瘤，再次篩選，且若仍為人類IgG陽性，則可藉由限制稀釋法次選殖單株抗體至少兩次。接著可在活體外培養穩定次純系以在組織培養基中產生少量抗體以供表徵。

為純化人類單株抗體，可使所選融合瘤在2公升旋轉瓶中生長以進行單株抗體純化。可過濾上清液並濃縮，隨後用蛋白質A-瓊脂糖(Pharmacia)進行親和層析。可藉由凝膠電泳及高效液相層析檢查溶離之IgG以確保純度。可將緩衝溶液替換為PBS，且可使用1.43消光係數藉由OD<sub>280</sub>測定濃度。可等分單株抗體且在-80°C下儲存。

#### **產生單株抗體之轉染瘤的產生**

本發明抗體亦可使用例如此項技術中熟知的重組DNA技術與基因轉染方法之組合而於宿主細胞轉染瘤中產生(例如Morrison, S. (1985) Science 229:1202)。

舉例而言，為表現該等抗體或其抗體片段，可藉由標準分子生物學技術(例如，PCR擴增或cDNA選殖，使用表現相關抗體之融合瘤)獲得編碼部分或全長輕鏈及重鏈之DNA，且該等DNA可插入表現載體，使得該等基因可操作地連接至轉錄及轉譯控制序列。在此上下文中，術語「可操作地連接」意欲意謂抗體基因接合至載體中，使得載體內之轉錄及轉譯控制序列發揮其調控抗體基因之轉錄及轉譯的預期功能。表現載體及表現控制序列經選擇為與所用





表現宿主細胞相容。抗體輕鏈基因及抗體重鏈基因可插入獨立載體中，或更通常為兩種基因插入同一表現載體中。藉由標準方法(例如抗體基因片段及載體上互補限制性位點接合，或若不存在限制性位點時鈍端接合)將抗體基因插入表現載體中。本文所述抗體之輕鏈及重鏈可變區可用於藉由將該等可變區插入已編碼所要同型之重鏈恆定區及輕鏈恆定區之表現載體中，使得 $V_H$ 區段可操作地連接至載體內之 $CH$ 區段且使 $V_L$ 區段可操作地連接至載體內之 $CL$ 區段來產生任何抗體同型之全長抗體基因。或者或另外，重組表現載體可編碼促進宿主細胞分泌抗體鏈之信號肽。抗體鏈基因可選殖至載體中，使得該信號肽同框連接至該抗體鏈基因之胺基末端。信號肽可為免疫球蛋白信號肽或異源信號肽(亦即，來自非免疫球蛋白之信號肽)。

除抗體鏈基因外，本發明之重組表現載體具有控制抗體鏈基因在宿主細胞中表現的調控序列。術語「調控序列」意欲包括啟動子、強化子及控制抗體鏈基因轉錄或轉譯的其他表現控制元件(例如，聚腺苷酸化信號)。該等調控序列描述於例如 Goeddel(Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA 1990)中。熟習此項技術者應瞭解，表現載體之設計(包括調控序列之選擇)可視諸如對欲轉化之宿主細胞之選擇、所要蛋白質表現量等因素而定。用於哺乳動物宿主細胞表現之調控序列包括在哺乳動物細胞中引導高含量蛋白質表現之病毒元件，諸如來源於細胞巨大病毒(CMV)之啟

[S]

動子及/或強化子、來源於猿猴病毒40(Simian Virus 40；SV40)之啟動子及/或強化子、來源於腺病毒之啟動子及/或強化子(例如腺病毒主要晚期啟動子(AdMLP))、及來源於多形瘤之啟動子及/或強化子。或者，可使用非病毒調控序列，諸如泛素啟動子或P-血球蛋白啟動子。此外，調控元件由來自不同來源之序列構成，諸如SRa啟動子系統，其含有來自SV40早期啟動子之序列及1型人類T細胞白血病毒之長末端重複序列(Takebe, Y.等人，1988 Mol. Cell. Biol. 8:466-472)。

除抗體鏈基因及調控序列以外，本發明之重組表現載體可具有其他序列，諸如調控宿主細胞中之載體複製之序列(例如，複製源)及可選擇標記基因。可選擇標記基因有助於選擇已引入載體之宿主細胞(參看例如美國專利第4,399,216號、第4,634,665號及第5,179,017號)。舉例而言，可選擇標記基因通常賦予已引入載體之宿主細胞對諸如以下之藥物之抗性：G418、潮黴素(hygromycin)或甲胺喋呤(methotrexate)。可選擇標記基因包括二氫葉酸還原酶(DHFR)基因(用於經甲胺喋呤選擇/擴增之dhfr-宿主細胞中)及neo基因(用於G418選擇)。

為了表現輕鏈及重鏈，藉由標準技術將編碼該重鏈及輕鏈之表現載體轉染至宿主細胞中。術語「轉染」之各種形式意欲涵蓋常用於將外源DNA引入原核或真核宿主細胞中之多種技術，例如電穿孔、磷酸鈣沈澱、DEAE-聚葡萄糖轉染及其類似技術。理論上可能使本發明抗體表現於原核



或真核宿主細胞中。論述抗體在真核細胞(尤其哺乳動物宿主細胞)中之表現，因為該等真核細胞且尤其哺乳動物細胞比原核細胞更有可能組裝及分泌經適當摺疊且具免疫活性之抗體。已報導抗體基因之原核表現對於產生高產率之活性抗體無效(Boss, M. A.及Wood, C. R., 1985 Immunology Today 6:12-13)。

用於表現本發明重組抗體之哺乳動物宿主細胞包括中國倉鼠卵巢(CHO細胞)(包括 Urlaub及 Chasin, 1980 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220所述之 dhfr-CHO細胞，與例如 R.J. Kaufman及 P.A. Sharp, 1982 Mol. Biol. 159:601-621中所述之 DH FR可選擇標記物一起使用)、NSO骨髓瘤細胞、COS細胞及SP2細胞。在一項實施例中，宿主細胞為 CHO K1PD細胞。詳言之，與NSO骨髓瘤細胞一起使用之另一表現系統為WO 87/04462、WO 89/01036及EP 338,841中所示之GS基因表現系統。在一項實施例中，表現本發明重組抗體之哺乳動物宿主細胞包括缺失FUT8基因表現之哺乳動物細胞株，例如如US 6,946,292B2中所述。當將編碼抗體基因之重組表現載體引入哺乳動物宿主細胞中時，藉由培養該等宿主細胞歷時足以使抗體於宿主細胞中表現或抗體分泌至該等宿主細胞所生長之培養基中的一段時間來產生抗體。可使用標準蛋白質純化方法自培養基回收抗體。

### 免疫結合物

在另一態樣中，本發明之特徵在於抗 ActRIIB 抗體或其

[S]

片段與諸如細胞毒素、藥物(例如免疫抑制劑)或放射性毒素之治療部分結合。該等結合物在本文中稱為「免疫結合物」。包括一或多種細胞毒素的免疫結合物稱為「免疫毒素」。細胞毒素或細胞毒性劑包括對細胞有害(例如殺死細胞)之任何藥劑。

可使用此項技術中可獲得之連接子技術使細胞毒素結合於本發明抗體。已用於使細胞毒素結合至抗體之連接子類型的實例包括(但不限於)含有脘、硫醚、酯、二硫化物及肽的連接子。可選擇例如易於在低pH值下在溶菌體代謝區內裂解或易於被蛋白酶，諸如在腫瘤組織中優先表現之蛋白酶，諸如組織蛋白酶(例如組織蛋白酶B、C、D)裂解的連接子。

細胞毒素、連接子之類型及使治療劑結合於抗體之方法的進一步論述亦參看 Saito, G. 等人，2003 *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55:199-215；Trail, P.A. 等人，2003 *Cancer Immunol. Immunother.* 52:328-337；Payne, G. 2003 *Cancer Cell* 3:207-212；Allen, T.M., 2002 *Nat. Rev. Cancer* 2:750-763；Pastan, I. 及 Kreitman, R. J., 2002 *Curr. Opin. Investig. Drugs* 3:1089-1091；Senter, P.D. 及 Springer, C.J., 2001 *Adv. Drug Deliv. Rev.* 53:247-264。

本發明之抗體亦可結合於放射性同位素以產生細胞毒性放射性藥物，亦稱為放射性免疫結合物。可結合於抗體以用於診斷性或治療性用途之放射性同位素的實例包括(但不限於)碘<sup>131</sup>、銻<sup>111</sup>、釷<sup>90</sup>及鐳<sup>177</sup>。此項技術中已確立用於



製備放射性免疫結合物之方法。放射性免疫結合物之實例可市售，包括 Zevalin™(DEC Pharmaceuticals)及 Bexxar™(Corixa Pharmaceuticals)，且類似方法可用於使用本發明抗體製備放射性免疫結合物。

本發明抗體結合物可用於改變指定生物反應，且藥物部分不應視為限於經典化學治療劑。舉例而言，藥物部分可能為具有所要生物活性之蛋白質或多肽。該等蛋白質可包括例如酶促活性毒素，或其活性片段，諸如相思子素(abrin)、蓖麻毒素A(ricin A)、綠膿桿菌外毒素(pseudomonas exotoxin)或白喉毒素(diphtheria toxin)；蛋白質，諸如腫瘤壞死因子或干擾素- $\gamma$ ；或生物反應調節劑，諸如淋巴介質、介白素-1(「IL-1」)、介白素-2(「IL-2」)、介白素-6(「IL-6」)、顆粒球巨噬細胞群落刺激因子(「GM-CSF」)、顆粒球群落刺激因子(「G-CSF」)；或其他生長因子。

用於使該治療部分結合於抗體之技術眾所周知，參看例如 Amon 等人，「Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy」，Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld 等人(編)，第 243-56 頁(Alan R. Liss, Inc. 1985)；Hellstrom 等人，「Antibodies For Drug Delivery」，Controlled Drug Delivery (第 2 版)，Robinson 等人(編)，第 623-53 頁(Marcel Dekker, Inc. 1987)；Thorpe, 「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」，Monoclonal Antibodies '84:

[ S ]

Biological And Clinical Applications, Pinchera等人(編), 第 475-506 頁 (1985); 「Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy」, Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin等人(編), 第 303-16 頁 (Academic Press 1985); 及 Thorpe 等人, 「The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates」, Immunol. Rev., 62:119-58 (1982)。

### 雙特異性分子

在另一態樣中, 本發明之特徵在於包含本發明之抗 ActRIIB 抗體或其片段的雙特異性或多特異性分子。本發明抗體或其抗原結合區可衍生為或連接至另一功能分子, 例如另一肽或蛋白質(例如受體之另一抗體或配位體), 以產生結合於至少兩個不同結合位點或標靶分子的雙特異性分子。本發明抗體實際上可衍生為或連接至一個以上其他功能分子, 以產生結合於兩個以上不同結合位點及/或標靶分子的多特異性分子; 該等多特異性分子亦意欲涵蓋於如本文中所示之術語「雙特異性分子」中。為了產生本發明之雙特異性分子, 可使本發明抗體(例如藉由化學偶合、基因融合、非共價締合或其他方法)功能性連接至一或多個其他結合分子, 諸如另一抗體、抗體片段、肽或結合模擬劑, 從而產生雙特異性分子。

因此, 本發明包括包含至少一種針對 ActRIIB 之第一結合特異物及針對第二標靶抗原決定基之第二結合特異物的



雙特異性分子。舉例而言，第二標靶抗原決定基可能為 ActRIIB 之不同於第一標靶抗原決定基的另一抗原決定基。

此外，對於雙特異性分子具有多特異性之發明而言，除第一及第二標靶抗原決定基之外，該分子亦可另外包括第三結合特異性。

在一項實施例中，本發明之雙特異性分子包含至少一個抗體或其抗體片段作為一種結合特異物，包括例如 Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv 或單鏈 Fv。抗體亦可能為輕鏈或重鏈二聚體，或其任何最小片段，諸如 Fv 或單鏈構築體，如 Ladner 等人 US 4,946,778 中所述，該專利之內容以引用的方式明確併入本文中。

可用於本發明之雙特異性分子中的其他抗體為鼠類單株抗體、嵌合單株抗體及人類化單株抗體。

本發明之雙特異性分子可藉由使用此項技術中已知之方法使結合特異物組分結合來製備。舉例而言，雙特異性分子之各結合特異物可獨立地產生且接著彼此結合。當結合特異物為蛋白質或肽時，可使用多種偶合劑或交聯劑來進行共價結合。交聯劑之實例包括蛋白質 A、碳化二亞胺、S-乙醯基-硫乙酸 N-丁二醯亞胺酯 (SATA)、5,5'-二硫雙(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、鄰伸苯基二順丁烯二醯亞胺 (oPDM)、3-(2-吡啶基二硫基)丙酸 N-丁二醯亞胺酯 (SPDP)、及 4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸磺基丁二醯亞胺酯(磺基-SMCC)(參看例如 Karpovsky 等人，

[S]

1984 J. Exp. Med. 160:1686; Liu, MA 等人, 1985 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:8648)。其他方法包括下列文獻中所述者: Paulus, 1985 Behring Ins. Mitt. 第78, 118-132號; Brennan 等人, 1985 Science 229:81-83; 及 Glennie 等人, 1987 J. Immunol. 139: 2367-2375。結合劑為 SATA 及 磺基-SMCC, 均可獲自 Pierce Chemical Co. (Rockford, IL)。

當結合特異物為抗體時, 其可藉由兩條重鏈之C末端鉸鏈區的氫硫基鍵結而結合。在一特定實施例中, 該鉸鏈區在結合之前經修飾以含有奇數個氫硫基殘基, 例如1個。

或者, 兩種結合特異物可在同一載體中經編碼且在同一宿主細胞中表現及組裝。此方法特別適用於該雙特異性分子為 mAb×mAb、mAb×Fab、Fab×F(ab')<sub>2</sub> 或配位體×Fab 融合蛋白之情況。本發明之雙特異性分子可為包含一個單鏈抗體及一個結合決定子的單鏈分子, 或包含兩個結合決定子的單鏈雙特異性分子。雙特異性分子可包含至少兩個單鏈分子。用於製備雙特異性分子之方法描述於例如美國專利第 5,260,203 號、第 5,455,030 號、第 4,881,175 號、第 5,132,405 號、第 5,091,513 號、第 5,476,786 號、第 5,013,653 號、第 5,258,498 號及第 5,482,858 號中。

雙特異性分子與其特異性標靶之結合可藉由例如酶聯免疫吸附檢定(ELISA)、放射免疫檢定(RIA)、FACS 分析、生物檢定(例如生長抑制)或西方墨點檢定來證實。此等檢定中之每一者一般藉由採用對相關複合物具特異性之標記試劑(例如抗體)來偵測特定相關蛋白質-抗體複合物的存





在。

### **多價抗體**

在另一態樣中，本發明提供多價抗體，其包含本發明抗體之至少兩個相同或不同的抗原結合部分結合於 ActRIIB。在一項實施例中，多價抗體提供抗體之至少 2 個、3 個或 4 個抗原結合部分。抗原結合部分可經由蛋白質融合或共價或非共價鍵聯而連接在一起。或者，已描述雙特異性分子之鍵聯方法。可例如藉由本發明抗體與結合於本發明抗體之恆定區（例如 Fc 或鉸鏈區）之抗體的交聯抗體來獲得四價化合物。

### **醫藥組合物**

在另一態樣中，本發明提供一種含有一種或一組本發明單株抗體或其抗原結合部分連同醫藥學上可接受之載劑一起調配的組合物，例如醫藥組合物。該等組合物可包括一種或一組（例如兩種或兩種以上不同的）本發明抗體、或免疫結合物或雙特異性分子。舉例而言，本發明之醫藥組合物可包含結合於標靶抗原上之不同抗原決定基或具有互補活性之抗體的組合。

本發明之醫藥組合物亦可以組合療法，亦即與其他藥劑組合投與。舉例而言，組合療法可包括本發明抗 ActRIIB 抗體組合至少一種其他肌肉質量/力量增加劑，例如 IGF-1、IGF-2、或 IGF-1 或 IGF-2 之變異體、抗肌肉生長抑制素抗體、肌肉生長抑制素前肽、結合 ActRIIB 但不使其活化之肌肉生長抑制素誘餌蛋白、 $\beta$ 2 促效劑、饑餓激素促效劑、

{ S }

SARM、GH促效劑/模擬劑或卵泡抑素。可用於組合療法中之治療劑的實例更詳細地描述於下文關於本發明抗體之用途的部分中。

如本文中所用，「醫藥學上可接受之載劑」包括生理學上相容之任何及所有溶劑、分散介質、包衣、抗細菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑、以及其類似物。載劑應適合靜脈內、肌肉內、皮下、非經腸、經脊椎或經表皮投與(例如藉由注射或輸注)。視投藥途徑而定，活性化合物，亦即抗體、免疫結合物或雙特異性分子，可包覆於一種材料中以保護該化合物免於酸及可使該化合物失活之其他自然條件的作用。

本發明之醫藥化合物可包括一或多種醫藥學上可接受之鹽。「醫藥學上可接受之鹽」係指保留母體化合物之所要生物學活性且並不賦予任何不合需要之毒理學效應的鹽(參看例如Berge, S.M.等人, 1977 J. Pharm. Sci. 66:1-19)。該等鹽之實例包括酸加成鹽及鹼加成鹽。酸加成鹽包括衍生自以下的鹽：無毒無機酸，諸如鹽酸、硝酸、磷酸、硫酸、氫溴酸、氫碘酸、亞磷酸及類似酸；以及無毒有機酸，諸如脂族單羧酸及二羧酸、經苯基取代之烷酸、羥基烷酸、芳族酸、脂族磺酸及芳族磺酸、及其類似酸。鹼加成鹽包括衍生自以下的鹽：鹼土金屬，諸如鈉、鉀、鎂、鈣及其類似物；以及無毒有機胺，諸如N,N'-二苯甲基乙二胺、N-甲基葡糖胺、氯普魯卡因(chloroprocaine)、膽鹼、二乙醇胺、乙二胺、普魯卡因及其類似物。



本發明之醫藥組合物亦可包括醫藥學上可接受之抗氧化劑。醫藥學上可接受之抗氧化劑之實例包括：水溶性抗氧化劑，諸如抗壞血酸、半胱胺酸鹽、硫酸氫鈉、偏亞硫酸氫鈉、亞硫酸鈉及其類似物；油溶性抗氧化劑，諸如抗壞血基棕櫚酸酯、丁基化羥基大茴香醚(BHA)、丁基化羥基甲苯(BHT)、卵磷脂、沒食子酸丙酯、 $\alpha$ -生育酚及類似物；及金屬螯合劑，諸如檸檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸及其類似物。

可用於本發明之醫藥組合物中的適合水性及非水性載劑的實例包括水、乙醇、多元醇(諸如甘油、丙二醇、聚乙二醇及其類似物)、及其適合混合物、植物油(諸如橄欖油)、及可注射有機酯(諸如油酸乙酯)。可例如藉由使用塗佈物質(諸如卵磷脂)、在分散液情況下藉由維持所需粒度、及藉由使用界面活性劑來維持適當流動性。

此等組合物亦可含有佐劑，諸如防腐劑、濕潤劑、乳化劑及分散劑。可藉由滅菌程序(同上文)且藉由包括多種抗細菌劑及抗真菌劑(例如，對羥基苯甲酸、氯丁醇、苯酚山梨酸及其類似物)來確保防止微生物存在。亦可能需要在組合物中包括等張劑，諸如糖、氯化鈉及其類似物。此外，可注射藥物形式之吸收延長可藉由包括延遲吸收之藥劑(諸如單硬脂酸鋁及明膠)來達成。

醫藥學上可接受之載劑包括無菌水性溶液或分散液，及用於即時製備無菌可注射溶液或分散液的無菌粉末。醫藥活性物質之該等介質及藥劑之用途在此項技術中已知。除

[S]

非任何習知介質或藥劑與活性化合物不相容，否則涵蓋其將用於本發明之醫藥組合物中。亦可在組合物中併入補充性活性化合物。

治療組合物通常必須在製造及儲存條件下無菌且穩定。組合物可調配為溶液、微乳液、脂質體或其他適合高藥物濃度之規則結構。載劑可為含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、及液態聚乙二醇、及其類似物)、及其適合混合物之溶劑或分散介質。可例如藉由使用諸如卵磷脂之塗料、在分散液之情況下藉由維持所需粒度及藉由使用界面活性劑來維持適當流動性。在許多情況下，組合物中可包括等張劑，例如糖、多元醇(諸如甘露醇、山梨糖醇)或氯化鈉。可注射組合物之吸收延長可藉由在該組合物中包括延遲吸收之藥劑(例如單硬脂酸鹽及明膠)來達成。

無菌可注射溶液可藉由併入含所要量活性化合物之適當溶劑及一種或一組上文所列舉之藥劑，需要時隨後進行無菌微過濾來製備。一般而言藉由將活性化合物併入含有鹼性分散介質及來自上文所列舉之藥劑之其他所需藥劑的無菌媒劑中來製備分散液。在用於製備無菌可注射溶液之無菌粉末情況下，製備方法為真空乾燥及冷凍乾燥(凍乾)，產生活性劑加來自其先前無菌過濾溶液之任何其他所要藥劑的粉末。

可與載劑物質組合以產生單一劑型之活性劑量將視所治療之個體及特定投藥模式而變化。可與載劑物質組合以產



生單一劑型之活性劑量一般將為產生治療效應之組合物量。一般而言，此量以100%計將在約0.01%至約99%活性劑，約0.1%至約70%，或約1%至約30%活性劑與醫藥學上可接受之載劑組合之範圍內。

調整給藥方案以提供最佳所要反應(例如治療反應)。舉例而言，可投與單次劑量(single bolus)；可隨時間投與若干分次劑量；或可根據治療情況之緊急程度所指示按比例減少或增加劑量。出於易於投藥及劑量均一性，尤其宜將非經腸組合物調配成單位劑型。如本文中所用單位劑型係指適合作為單位劑量用於待治療之個體的實體上離散單位；各單位含有經計算產生所要治療效應之預定量之活性化合物與所需醫藥載劑聯合。本發明單位劑型之規格由活性化合物之獨特特徵及欲達成之特定治療效應，及在混配該活性化合物以治療個體敏感性之技術中的固有限制來規定且直接視其而定。

對於投與該抗體而言，劑量在每公斤主體體重約0.0001毫克至100毫克範圍內，且更通常為0.01毫克至5毫克。舉例而言，劑量可為每公斤體重0.3毫克、每公斤體重1毫克、每公斤體重3毫克、每公斤體重5毫克、或每公斤體重10毫克，或在1至10毫克/公斤或3至7毫克/公斤範圍內。例示性治療方案需要每週投藥一次，每兩週投藥一次，每三週投藥一次，每四週投藥一次，每月投藥一次，每三個月投藥一次，或每三至六個月投藥一次。或者，抗體可能約一年投與一次或僅投與一次。該投藥可靜脈內或皮下進

[ S ]

行。本發明抗 ActRIIB 抗體之給藥方案包括靜脈內投與每公斤體重1毫克或每公斤體重3毫克，其中使用以下給藥時程之一給予該抗體：每四週6次劑量，隨後每三個月；每三週；每公斤體重3毫克一次，隨後每三週每公斤體重1毫克。

劑量應為使肌肉質量及/或力量上調之劑量。較佳對骨骼肌具有效應。該劑量較佳使肌肉過度生長而內臟(例如心臟、肺、肝、腎)尺寸不超過與肌肉生長成比例增加之尺寸。該成比例增加可藉由測量質量或體積來比較。

在一些方法中，同時投與兩種或兩種以上具有不同結合特異性之單株抗體，在該情況下，所投與之各抗體的劑量處於指定範圍內。抗體通常分多次投藥。單次劑量之間的時間間隔可為例如每週、每個月、每三個月、每六個月或每年。時間間隔亦可根據藉由測量患者體內針對標靶抗原之抗體的血液含量所指示而為不規則的。在一些方法中，調整劑量以使血漿抗體濃度達到約1-1000  $\mu\text{g/ml}$ ，且在一些方法中達到約25-300  $\mu\text{g/ml}$ 。舉例而言，本發明之 ActRIIB 抗體可與抗肌肉生長抑制素抗體共同投與。

或者，抗體可以持續釋放調配物形式投與，在該情況下所需投藥頻率較低。劑量及頻率視抗體在患者體內之半衰期而變化。一般而言，人類抗體展示最長半衰期，其次為人類化抗體、嵌合抗體及非人類抗體。投藥之劑量及頻率可視治療是預防性還是治療性而變化。在預防性應用中，經較長時段以相對不頻繁之時間間隔投與相對低之劑量。



一些患者在其餘生中持續接受治療。在治療性應用中，有時需要以相對較短之時間間隔投與相對較高之劑量，直至疾病進程得以減緩或終止，或直至患者顯示疾病症狀部分或完全改善。其後，可向患者投與預防性療法。

本發明醫藥組合物中活性劑之實際劑量可變化以獲得活性劑可有效達成針對特定患者、組合物及投藥模式之所要治療反應而對患者無毒之量。所選劑量將視多種藥物動力因素而定，包括所用之本發明特定組合物或其酯、鹽或醯胺的活性；投藥途徑；投藥時間；所用特定化合物的排泄速率；治療持續時間；與所用特定組合物組合使用的其他藥物、化合物及/或物質；所治療患者之年齡、性別、體重、病狀、一般健康狀況及先前病史；及醫學技術中所熟知的類似因素。

「治療有效劑量」之本發明抗 ActRIIB 抗體可使疾病症狀嚴重程度降低，無疾病症狀時期之頻率及持續時間增加，或預防疾病病痛所致之損傷或殘疾，亦即使肌肉質量及/或力量增加。

本發明組合物可藉由一或多種投藥途徑使用一或多種此項技術中已知之各種方法投與。熟習此項技術者應瞭解，投藥途徑及/或投藥模式將視所需結果而變化。本發明抗體之投藥途徑包括靜脈內、肌肉內、皮內、腹膜內、皮下、經脊椎或其他非經腸投藥途徑，例如藉由注射或輸注。本文中所用片語「非經腸投與」意謂除經腸及局部投藥以外通常藉由注射的投藥模式，包括(但不限於)靜脈

內、肌肉內、動脈內、鞘內、囊內、眼眶內、心臟內、皮內、腹膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蜘蛛膜下、脊椎內、硬膜外及腦幹內注射及輸注。在一項實施例中，抗體經靜脈內投藥。在另一實施例中，抗體經皮下投藥。

或者，本發明抗體可藉由經腸途徑，諸如局部、表皮或黏膜投藥途徑投與，例如鼻內、經口、經陰道、經直腸、舌下或局部投與。

活性化合物可與保護該化合物免於快速釋放之載劑一起製備，諸如控制釋放調配物，包括植入物、經皮貼片及微膠囊化傳遞系統。可使用生物可降解、生物相容性聚合物，諸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。製備該等調配物之許多方法已取得專利或一般為熟習此項技術者所知。參看例如 Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson編，Marcel Dekker, Inc., New York, 1978。

治療組合物可以此項技術中已知的醫療裝置投與。舉例而言，在一項實施例中，本發明之治療組合物可以無針皮下注射裝置投與，諸如美國專利第 5,399,163 號、第 5,383,851 號、第 5,312,335 號、第 5,064,413 號、第 4,941,880 號、第 4,790,824 號或第 4,596,556 號中所示之裝置。適用於本發明之熟知植入物及模組的實例包括：美國專利第 4,487,603 號，其展示一種用於以控制速率分配藥物之可植入式微輸注泵；美國專利第 4,486,194 號，其展示一



種用於投與藥物通過皮膚之治療裝置；美國專利第4,447,233號，其展示一種用於以精確輸注速率傳遞藥物之藥物輸注泵；美國專利第4,447,224號，其展示一種用於持續藥物傳遞之可變流動速率可植入式輸注設備；美國專利第4,439,196號，其展示一種具有多腔隔室之滲透性藥物傳遞系統；及美國專利第4,475,196號，其展示一種滲透性藥物傳遞系統。許多其他該等植入物、傳遞系統及模組已為熟習此項技術者已知，且包括由MicroCHIPS™(Bedford, MA)所製造者。

在某些實施例中，可調配本發明之人類單株抗體以確保在活體內適當分佈。舉例而言，血腦障壁(BBB)可排除許多高度親水性化合物。為確保本發明之治療化合物穿過BBB(需要時)，可在例如脂質體中調配該等化合物。關於製造脂質體之方法，參看例如美國專利4,522,811；5,374,548；及5,399,331。脂質體可包含一或多個部分，該等部分選擇性地輸送至特定細胞或器官中，從而增強靶向藥物傳遞(參看例如V.V. Ranade, 1989 J. Clin Pharmacol. 29:685)。例示性靶向部分包括葉酸鹽或生物素(參看例如美國專利5,416,016)；甘露糖苷(Umezawa等人，1988 Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038)；抗體(P.G. Bloeman等人，1995 FEBS Lett. 357:140；M. Owais等人，1995 Antimicrob. Agents Chemother. 39:180)；界面活性劑蛋白質A受體(Briscoe等人，1995 Am. J. Physiol. 1233:134)；p120(Schreier等人，1994 J. Biol. Chem. 269:9090)；亦參

[ S ]

看 K. Keinanen; M.L. Laukkanen, 1994 FEBSLett. 346:123 ; J.J. Killion; I.J. Fidler, 1994 Immunomethods 4:273。

### 本發明之用途及方法

本發明抗體具有活體外及活體內診斷及治療效用。舉例而言，此等分子可投與培養物中(例如活體外或離體)或個體體內(例如活體內)之細胞以治療、預防或診斷各種病症。因此，抗體可用於治療疾病、預防及用於延遲疾病症狀發作。如本文中所用術語「個體」意欲包括人類及非人類動物。非人類動物包括所有脊椎動物，例如哺乳動物及非哺乳動物，諸如非人類靈長類動物、綿羊、狗、貓、牛、馬、雞、兩栖類動物及爬蟲動物。

本發明提供一種治療罹患病理性病症(諸如肌肉萎縮疾病或病症)之患者的方法，該方法包含投與治療有效量之抗ActRIIB抗體。

本發明亦提供一種抗ActRIIB抗體用於治療。

本發明亦提供抗ActRIIB抗體用於製造治療病理性病症之藥物的用途。

該等方法特別適用於治療、預防、改善或診斷病理性病症。

如本文中所用。「病理性病症」包括(但不限於)肌肉骨骼疾病或病症，諸如肌肉萎縮。肌肉萎縮亦可由歸因於神經損傷之去神經化或由退化性、代謝性或發炎性神經病變(例如格林-巴利症候群、周邊神經病變，或暴露於環境毒



素或藥物)引起。

此外，肌肉萎縮可由肌病，諸如肌強直；先天性肌病，包括桿狀體肌病、多軸空/微軸空肌病及肌管(中央核)肌病；粒線體肌病；家族性週期性麻痺；發炎性肌病；代謝性肌病，諸如由糖原或脂質儲存疾病所致；皮膚炎；多肌炎；包涵體肌炎；骨化性肌炎；橫紋肌溶解症；及肌球蛋白尿所致。

肌病可能由肌肉營養不良症候群，諸如杜興氏、貝克氏、肌緊張性、顏肩肱型、艾-德氏、眼咽型、肩肱型、肢帶型、福山氏、先天性肌肉營養不良，或遺傳性遠端肌病引起。肌肉骨骼病亦可為骨質疏鬆症、骨折、矮小症或侏儒症。

此外，肌肉萎縮可由以下引起：成人運動神經元疾病、嬰兒脊髓性肌萎縮、肌萎縮性側索硬化症、少年型脊髓性肌萎縮、伴有多病灶傳導阻斷之自體免疫運動神經病、歸因於中風或脊髓損傷之癱瘓、歸因於損傷之骨骼固定、長期臥床、自主不活動、非自主不活動、代謝應激或營養不足、癌症、AIDS、禁食、甲狀腺病症、糖尿病、良性先天性低張症、中央軸空病、燒傷、慢性阻塞性肺病、肝病(實例諸如纖維化、硬化)、敗血症、腎衰竭、充血性心臟衰竭、衰老、太空航行或在零重力環境中度過一段時間。

可治療之年齡相關之病狀的實例包括肌肉減少症、皮膚萎縮、肌肉萎縮、腦萎縮、動脈粥樣硬化、動脈硬化、肺氣腫、骨質疏鬆症、骨關節炎、免疫功能不全、高血壓、

{ S }

癡呆、亨廷頓氏病、阿茲海默氏病、白內障、年齡相關之黃斑部變性、前列腺癌、中風、預期壽命縮短、虛弱、失憶症、皺紋、腎功能損傷及年齡相關之聽覺損失；代謝性病變，包括II型糖尿病、代謝症候群、高血糖症及肥胖。當然，患者可能同時罹患一或多種此等病狀，例如，肌肉減少症與肺氣腫或肌肉減少症與腎功能損傷。

視為本文所述之「病理性病症」的其他病狀包括急性及/或慢性腎病或腎衰竭、肝纖維化或肝硬化、諸如乳癌之癌症、帕金森氏病；與神經元死亡相關之病狀，諸如ALS，腦萎縮，或癡呆及貧血。

其他病狀包括惡病質、與類風濕性關節炎相關之惡病質、及與癌症相關之惡病質。

迄今，幾乎未開發出可靠或有效之療法治療此等病症。

根據所報導之關於活化素結合於ActRIIB而非其他受體(Werner及Alzheimer, Cytokine Growth Factors Rev 2006, 17(3):157-171)在促成肝、腎及肺纖維化中之作用以及肌肉生長抑制素、活化素或ActRIIB在癌症中之作用(Tsuchida等人, Endo J, 2008)之證據，本文中所述之「病理性病症」包括肝、腎及肺纖維化；及癌症，例如(但不限於)橫紋肌肉瘤、骨質流失誘發之癌症、肝細胞癌、胃腸癌。

預防可能為完全的，例如完全不存在年齡相關之病狀或代謝障礙。預防亦可能為部分的，使得相較於未接受本發明抗體之個體，個體發生年齡相關之病狀或代謝障礙的可



能性較低。

本文中所提及之年齡相關之病狀可能起於50歲或50歲以上(亦即60歲、70歲、80歲或80歲以上)之年齡。

在一項實施例中，患者可能在預期強制休息/不活動時期之前用抗ActRIIB抗體進行預治療。當患者被許可住院以例如進行髖關節或腿部手術時，可能出現該時期。不活動可能為局部的，諸如藉由石膏固定(casting)斷肢或關節，或藉由投與麻痺劑。

在一項實施例中，所治療之患者具有肢體(亦即腿或臂)或關節(亦即膝關節或髖關節)骨折。因此，在一項實施例中，所治療之患者具有肱骨、橈骨、尺骨、腕骨、掌骨、鎖骨、肩胛骨、股骨、髖骨、膝蓋骨、脛骨、腓骨、距骨、跟骨、跗骨、蹠骨、坐骨或髌骨(ileum)中一或多處骨折。在另一實施例中，所治療之患者已經或即將在一或多個以下關節上進行手術：膝關節、髖關節、踝關節、肩關節、肘關節。該手術包括髖關節置換及膝關節置換。

歸因於固定之萎縮可能快速發生，但通常緩慢發生。因此，在一項實施例中，患者之關節或肢體已固定或將固定2週或超過2週(亦即3週、4週、6週、8週或超過8週)。在一項實施例中，患者之關節或肢體已固定或將固定1至8週、2至6週或3至5週。

在另一實施例中，患者可能為對先前之骨合成代謝治療無反應的患者。舉例而言，患者可能對用IGF-1、IGF-2、或IGF-1或IGF-2之變異體、抗肌肉生長抑制素抗體、肌肉

[ S ]

生長抑制素前肽、結合ActRIIB但不使其活化之肌肉生長抑制素誘餌蛋白、 $\beta 2$ 促效劑、饑餓激素促效劑、SARM、GH促效劑/模擬劑或卵泡抑素治療無反應。測量患者對治療之反應的一個簡單方法可為記錄患者攀爬已知高度之樓梯所需之時間，並且比較治療前後之結果。

本發明抗體可以單獨活性劑形式或聯合(例如作為佐劑或組合)其他藥物一起投與，該等其他藥物例如IGF-1、IGF-2、或IGF-1或IGF-2之變異體、抗肌肉生長抑制素抗體、肌肉生長抑制素前肽、結合ActRIIB但不使其活化之肌肉生長抑制素誘餌蛋白、 $\beta 2$ 促效劑、饑餓激素促效劑、SARM、GH促效劑/模擬劑或卵泡抑素。舉例而言，本發明抗體可與IGF-1模擬劑組合使用，如WO 2007/146689中所揭示。

根據上文，本發明在又一態樣中提供：

如上文所定義之方法，其包含共同投與(例如伴隨或依序)治療有效量之ActRIIB拮抗劑(例如本發明抗體)及至少一種第二藥物，該第二藥物為IGF-1、IGF-2、或IGF-1或IGF-2之變異體、抗肌肉生長抑制素抗體、肌肉生長抑制素前肽、結合ActRIIB但不使其活化之肌肉生長抑制素誘餌蛋白、 $\beta 2$ 促效劑、饑餓激素促效劑、SARM、GH促效劑/模擬劑或卵泡抑素。

本發明進一步提供一種治療組合，例如套組，其包含治療有效量之a)ActRIIB拮抗劑，例如本發明抗體，及b)至少一種選自IGF-1、IGF-2、或IGF-1或IGF-2之變異體、抗肌



肉生長抑制素抗體、肌肉生長抑制素前肽、結合 ActRIIB 但不使其活化之肌肉生長抑制素誘餌蛋白、 $\beta 2$  促效劑、饑餓激素促效劑、SARM、GH 促效劑/模擬劑或卵泡抑素之第二藥物，如上文所指示。該套組可進一步包含其投藥說明書。

當本發明抗體係聯合另一活性劑一起投藥時，共同投與之組合化合物之劑量當然將視所採用之共同投藥 (co-drug) 類型、所採用之特定藥物、所治療之病狀等而變化。

在另一實施例中，本發明抗體僅投與選自罹患肌肉萎縮之患者的患者群體。在另一實施例中，本發明抗體投與罹患骨骼肌萎縮之患者群體。在另一實施例中，本發明抗體僅投與選自對抗 ActRIIB 治療有反應之患者之群的患者群體。鑑別對抗 ActRIIB 治療反應之可能性較大之患者的生物標記物可能為 (但不限於) 以下任一者：相較於對照患者，血清肌肉生長抑制素、GDF-11 或活化素之含量較高。

在一項實施例中，本發明抗體可用於偵測 ActRIIB 之含量或含有 ActRIIB 之細胞之含量。此可藉由例如使樣品 (諸如活體外樣品) 及對照樣品與抗 ActRIIB 抗體在允許於該抗體與 ActRIIB 之間形成複合物的條件下接觸來達成。在樣品與對照物中偵測抗體與 ActRIIB 之間所形成之任何複合物且進行比較。舉例而言，可使用本發明之組合物來進行此項技術中所熟知的標準偵測方法，諸如 ELISA 及流式細胞測量檢定。

因此，在一態樣中，本發明進一步提供用於偵測樣品中

{ S }

ActRIIB(例如人類ActRIIB)之存在或測量ActRIIB之量的方法，包含使樣品及對照樣品與特異性結合於ActRIIB之本發明抗體或其抗原結合區在允許於該抗體或其部分與ActRIIB之間形成複合物的條件下接觸。接著偵測複合物之形成，其中樣品相較於對照樣品在複合物形成方面之差異指示樣品中存在ActRIIB。

由本發明組合物(例如抗體、人類抗體及雙特異性分子)及使用說明書組成的套組亦在本發明範疇內。該套組可進一步含有至少一種其他試劑，或一或多種本發明之其他抗體(例如，結合於不同於第一抗體之標靶抗原上之抗原決定基且具有互補活性的抗體)。套組通常包括指示該套組之內含物之預期用途的標籤。術語標籤包括提供於套組上或與其一起提供，或以其他方式伴隨套組的任何書面或錄製材料。套組可進一步包含用於診斷患者是否屬於將對抗ActRIIB抗體治療有反應之群(如上文所定義)的工具。該等套組可包含呈凍乾形式之本發明抗體、稀釋劑及使用說明書。

已充分描述本發明，藉由以下實例及申請專利範圍進一步說明，該等實例及申請專利範圍為說明性的，且並不意欲進一步限制本發明。

### 概要

術語「包含」意謂「包括」以及「由...組成」，例如「包含」X之組合物可能僅由X組成或可能包括其他某物，例如X+Y。





關於數值  $x$  之術語「約」意謂例如  $x \pm 10\%$ 。

### 【實施方式】

#### 功能檢定

#### 報導基因檢定(RGA)

#### 培養 HEK293T/17 細胞株

將親本 HEK293T/17 細胞維持在含有 10% FBS、2 mM L-麩醯胺酸、青黴素(50 IE/ml)及鏈黴素(50  $\mu\text{g/ml}$ )的 DMEM 中。使細胞在培育箱中於 37°C 及 5% CO<sub>2</sub> 下生長，且每 3 至 4 天進行繼代培養。使用 Accutase™ 分離細胞，且接著轉移至含有新鮮培養基之新燒瓶中。

經 CAGA-12 luc 穩定轉染之 HEK293T/17 細胞如上文關於親本 HEK293T/17 細胞所述進行培養，但細胞生長培養基中除 FBS、青黴素及鏈黴素以外亦補充有 4 mM L-麩醯胺酸及 3  $\mu\text{g/ml}$  殺稻瘟菌素(blasticidin)。

#### 肌肉生長抑制素誘導之螢光素酶報導基因檢定

為了測定抗 ActRIIB 抗體抑制肌肉生長抑制素誘導之信號傳導的能力，使用穩定報導細胞株 HEK293T/17 CAGA-12 luc 進行報導基因檢定。CAGA-12 螢光素酶報導子構築體在最小啟動子下游具有螢光素酶基因且具有對磷酸化 Smad-2 及 Smad-3 具特異性之多個 CAGA 盒。添加經純化肌肉生長抑制素(亦具有 GDF-11、活化素或 TGF $\beta$ )誘導 Smad 磷酸化，從而結合於 CAGA-12 報導子，且引起螢光素酶基因表現。

在 HEK293T/17 CAGA-12 luc 細胞 90% 匯合時，如所述分

[ S ]

離細胞，且在培養基中稀釋至 $2.5 \times 10^5$ 細胞/毫升之濃度。隨後，在平底96孔盤中每孔接種100  $\mu$ l細胞，並在37°C及5% CO<sub>2</sub>下培育隔夜。

次日，將充當陽性對照之抗體(Fab或IgG)及重組人類ActRIIB/Fc在PBS中稀釋至所要濃度。向前一天已接種之孔中添加20  $\mu$ l抗體溶液，且培養細胞1小時以允許抗體結合。最後，向孔中添加50 ng/mL肌肉生長抑制素，且再培養細胞隔夜。

次日早晨，向各孔中添加120  $\mu$ l Bright-Glo螢光素酶試劑(Promega)。2分鐘之培育時間之後，在光度計中讀取發光值。在充分滴定各別抗體之後，計算半數最大抑制濃度(IC<sub>50</sub>值)。

#### 特異性ELISA

在ELISA設置中評估抗ActRIIB Fab抗體對人類ActRIIB之特異性以及對人類ActRIIA及小鼠ActRIIB之交叉反應性。另外，測定與相關受體(對應物標靶：人類TGF- $\beta$ RII/Fc(R&D systems)、小鼠TGF- $\beta$ RI(ALK-5)/Fc(R&D systems)、人類活化素RIB(ALK-4)/Fc(R&D systems))之結合。為此，向黑色96孔平底MaxiSorp™盤中添加稀釋於PBS中的5  $\mu$ g/ml(若未另外陳述)重組蛋白質，且在4°C下培育隔夜以供塗佈。

次日早晨，用TBST洗滌盤且用MTBST阻斷。洗滌盤數次之後，添加5  $\mu$ g/ml抗ActRIIB Fab且培育2.5小時。隨後，藉由與鹼性磷酸酶結合之Fab特異性山羊抗人類IgG一



起培育，接著添加 AttoPhos 螢光受質來偵測抗原結合 Fab。在 TECAN Spectrafluor 盤讀取器中以 430 nm 激發記錄 535 nm 處的螢光發光。

### ActRIIB/Fc-肌肉生長抑制素結合相互作用 ELISA

為了評定抑制性 Fab 是否經由阻斷人類 ActRIIB 之肌肉生長抑制素結合位點而起作用，進行 hActRIIB/Fc-肌肉生長抑制素相互作用 ELISA。為此，將重組肌肉生長抑制素在 PBS 中稀釋至 5  $\mu\text{g/ml}$ ，且塗佈在黑色 96 孔平底 Maxisorp 盤上。次日早晨，用 MTBST 阻斷該等孔。同時，在室溫下將 50  $\mu\text{g/ml}$  抗 ActRIIB Fab 與含 10  $\mu\text{g/ml}$  ActRIIB/Fc 之 TBST 一起預培育 1.5 小時，且最後添加至經塗佈及阻斷之孔中(在室溫下，1.5 小時)。用 TBST 緩衝液洗滌之後，使用未經標記之小鼠抗人類 Ig Fc 特異性抗體及經 POD 標記之綿羊抗小鼠 IgG 偵測抗體偵測結合之 ActRIIB/Fc。用 TBST 緩衝液洗滌該等孔數次之後，添加 Quanta Blu™ 螢光過氧化酶受質。在 GENiosPro™ 讀取器(激發 320 nm，發光 430 nm)中讀取螢光。

### 結合於細胞

#### 細胞

將使用 HEK293T/17 細胞(ATCC)，使用 FuGENE6(Roche) 以線性化 pEGFP (Clontech)-ActRIIB (ECD) 或 -ActRIIA (ECD) 及 pPGK-puro (AddGene) 轉染產生之穩定人類 ActRIIA 及人類 ActRIIB 轉染之 HEK293T/17 細胞維持在含有 10% FBS、2 mM L-麩醯胺酸、青黴素(50 IE/ml)、鏈黴

[ S ]

素(50  $\mu\text{g/ml}$ )及噻呤黴素(2  $\mu\text{g/ml}$ )之DMEM中。使細胞在培育箱中於37°C及5%  $\text{CO}_2$ 下生長，且每3至4天進行繼代培養。使用Accutase™分離細胞，且接著轉移至含有新鮮培養基之新燒瓶中。

在約70%至90%匯合時收集人類骨骼肌細胞(huSkMC)(Cambrex)。對於彼等細胞，吸出培養基，即由補充有20% FCS(Amimed)之骨骼肌基礎培養基(skBM; Lonza)組成的生長培養基(GM)，且用HEPES-BSS洗滌細胞，且與胰蛋白酶/EDTA一起培育。分離細胞之後，用胰蛋白酶中和溶液來中和胰蛋白酶。使細胞在220 $\times$ g下離心5分鐘，且將細胞小球再懸浮於骨骼肌生長培養基中。接著將細胞用於實驗或以約3500細胞/平方公分之細胞密度接種以供繼代培養。使細胞在培育箱中於37°C及5%  $\text{CO}_2$ 下生長，且每5至6天進行繼代培養。

#### 對hActRIIB及hActRIIA表現細胞之FACS滴定

抗ActRIIB抗體之半數最大有效濃度(EC50)係藉由FACS經由結合於細胞hActRIIA及hActRIIB來測定。

為此，將抗ActRIIB Fab或IgG之連續稀釋液與每孔 $1 \times 10^4$ 經hActRIIA轉染、經hActRIIB轉染或親本HEK293T/17細胞一起在4°C下培育1小時。數個洗滌步驟之後，用與藻紅素結合之山羊抗人類IgG(H+L)二次抗體偵測與細胞結合之Fab或IgG。在4°C下培育1小時之後，再次洗滌細胞且再懸浮於FACS緩衝液中，且在FACSArray™儀器中測定細胞之螢光強度。



### 結合於初級人類骨骼肌細胞

將抗 ActRIIB Fab 或 IgG 以及同型對照 Fab 或 IgG (10  $\mu$ g) 與每管含  $10^5$  huSkMC 之 FACS 緩衝液 (PBS, 2% FCS, 1 mM EDTA) 一起在 4°C 下培育 1 小時。洗滌步驟之後，用已 1:200 稀釋於 FACS 緩衝液中之與藻紅素結合之山羊抗人類 IgG(H+L) 二次抗體偵測與細胞結合之 Fab 或 IgG。在 4°C 下在振盪器上培育 1 小時之後，再次洗滌細胞並再懸浮於 FACS 緩衝液中，且在 FACSCaliber™ 儀器中測定細胞之螢光強度。

### 親和力測定

使用表面電漿共振 (Biacore) 測定所選抗人類 ActRIIB Fab 之親和力

為直接固定抗原，使用標準 EDC-NHS 胺偶合化學反應。用含約 6000 RU 人類或小鼠 ActRIIB/Fc，或約 1500 RU 人類 ActRIIA/Fc (根據抗原之活性) 之 10 mM 乙酸鹽緩衝液 (pH 4.5) 塗佈 CM5 晶片 (Biacore, Sweden)。對於參考流槽，使用相應量之 HSA。用 5  $\mu$ l 10 mM 甘胺酸/HCl 緩衝液 (pH 1.5) 進行再生。

或者，抗原並非直接固定，而是捕捉於以抗人類 Fc 抗體改質之 CM5 晶片 (Fc 捕捉套組，GE Healthcare/Biacore) 上。在參考流槽上，固定捕捉抗體，但無抗原被捕捉。使用 2 次注射 5  $\mu$ L 3 M MgCl<sub>2</sub> 達成再生。

在杜爾貝科氏 (Dulbecco) PBS 中以 20  $\mu$ l/min 之流動速率使用 Fab 樣品之連續稀釋列進行動力學測量。Fab 濃度在

[S]

15.6至500 nM範圍內。各濃度之注射時間為1分鐘。解離時間設定為至少2分鐘(或2分鐘以上，根據所測定之親和力)。使用操作緩衝液之空白注射作為雙參考。所有感測器圖譜均使用BIA評估軟體3.2(Biacore, Sweden)進行全域擬合。

### CK檢定

接種後24小時，藉由將細胞自GM轉移至由骨骼肌基礎培養基(skBM)組成之不含血清之分化培養基中來引發分化。細胞在有及無既定濃度之肌肉生長抑制素(R&D systems)或其他TGF- $\beta$ 蛋白質及測試抗體存在下分化3天。用PBS洗滌細胞，且接著用報導子溶解緩衝液(Promega)溶解並在-80°C儲存直至測量。使用CK(IFCC)試劑(Thermo Electron)測量CK活性。根據製造商說明書製備CK試劑。將細胞溶胞物調節至室溫，添加CK試劑，且立即讀取在340 nm處之吸光度歷經20分鐘，讀取時間間隔1分鐘。使用來自兔肌肉之CK(Roche Diagnostics)新製備CK標準曲線。使用BCA套組測定蛋白質含量。

### 動物模型

根據體重將9週齡雌性CB17/ICR-*Prkdc<sup>scid</sup>*/Crl小鼠(每組n=10, Charles River, Germany)隨機分組，且接著在第0、3、7、14、21、28及35天(每週一次及第3天)用劑量為10 mg/kg之抗人類ActRIIB抗體(MOR8159, MOR8213)或IgG對照抗體(研究1; 比較研究)，或用劑量為25、5或1 mg/kg的MOR8213(研究2; 劑量反應研究)經腹膜內治療。



每週測定體重兩次。投藥後6週(42天)，用CO<sub>2</sub>對小鼠處以安樂死。收集脛骨、腓腸肌及蹠肌、四頭肌、及胸肌並稱重。

#### 治療方案

對照抗體：抗雞溶菌酶hIgG；

濃度：2 mg/mL(研究1)，5 mg/mL(研究2)；施用體積：5 mL/kg

媒劑：50 mM檸檬酸鹽，140 mM NaCl或PBS

抗人類ActRIIB抗體：抗ActRIIB-MOR8159及MOR8213，hIgG；

濃度：2 mg/mL(研究1)，5 mg/mL(研究2)，1 mg/mL(研究2)，0.2 mg/mL(研究2)；施用體積：5 mL/kg

媒劑：50 mM檸檬酸鹽，140 mM NaCl

治療組：

研究1：比較MOR08159與MOR08213

1 IgG對照物，i.p.(抗雞溶菌酶IgG)，10 mg/kg

2 抗ActRIIB-MOR8159，i.p.，10 mg/kg

3 抗ActRIIB-MOR8213，i.p.，10 mg/kg

研究2：MOR08213之劑量反應

1 IgG對照物，i.p.(抗雞溶菌酶IgG)，25 mg/kg

2 抗ActRIIB-MOR8213，i.p.，25 mg/kg

3 抗ActRIIB-MOR8213，i.p.，5 mg/kg

4 抗ActRIIB-MOR8213，i.p.，1 mg/kg

維持條件

將動物以每組4至5隻動物在25°C下以12:12小時光暗循環圈養。對其餵食含有18.2%蛋白質及3.0%脂肪，能量為15.8 MJ/kg的標準實驗室飲食(NAFAG 3890, Kliba)。提供可任意採食之食物及水。根據Basel-City, Switzerland之Canton實施之規則進行動物實驗。

## 方法

### 統計分析

結果表達為平均值 $\pm$ SEM。使用鄧恩氏多重比較測試(Dunnett's multiple comparison test)按照單向方差分析進行統計分析。測試治療組(抗ActRIIB抗體MOR8159及MOR8213)相對於對照組(對照抗體)之差異，且當機率值 $<0.05$ 時差異視為顯著：\*： $P<0.05$ ，\*\*： $P<0.01$ ，NS：相對於IgG對照物無顯著性。藉由GraphPad Prism 5.0版(GraphPad Software, Inc)進行統計分析。藉由減去第0天之體重計算體重，且藉由第0天之體重(初始體重)校正肌肉重量。

### 淘選、抗體鑑別及表徵

藉由使用市售噬菌體呈現庫，即MorphoSys HuCAL GOLD®庫作為抗體變異蛋白之來源選擇具有高結合親和力之純系來產生抗人類ActRIIB蛋白之治療性抗體。

HuCAL GOLD®庫為Fab庫(Knappik等人，2000)，其中所有6個CDR均藉由適當方法多樣化，且其採用CysDisplay™技術使Fab連接至噬菌體表面(WO 01/05950)。

使用HuCAL GOLD®噬菌粒庫(Rothe等人，2008)選擇特





異性Fab抗體片段。

藉由自庫中淘選ActRIIB特異性抗體選擇

為了選擇識別人類ActRIIB之抗體，應用數種淘選策略。

總言之，將HuCAL GOLD<sup>®</sup>抗體噬菌體分成數個包含不同VH主基因之池。

對此等池個別進行差異細胞淘選，其中交替進行在經人類ActRIIB暫時轉染之細胞上之數輪選擇與在重組人類ActRIIB/Fc蛋白上之數輪選擇。

#### i. 全細胞淘選

為進行淘選，稀釋於PBS中之噬菌體粒子與等體積之PBS/BSA混合並經阻斷。同時，亦在經預阻斷之管中，將每噬菌體池 $1 \times 10^7$ 個各別hActRIIB表現細胞再懸浮於PBS/3% FCS/0.04% NaN<sub>3</sub>中，且在振盪器上於4°C下阻斷1小時。經阻斷之細胞經短暫離心(spun down)，再懸浮於經預阻斷之噬菌體粒子中，且培育3小時。同時，每個噬菌體池製備 $1 \times 10^7$  hActRIIB剔除細胞。

在PBS/BSA中洗滌噬菌體-細胞複合物，接著在PBS中洗滌。自hActRIIB表現細胞溶離噬菌體粒子係藉由用甘胺酸緩衝液(pH 2.2)進行酸性溶離來進行。離心之後，藉由添加無緩衝性Tris中和溶離液。

感染且隨後離心之後，將細菌小球再懸浮於2×YT培養基中，接種於LB/CAM/Glc瓊脂盤上，且在37°C下培育隔夜。次日早晨，自盤刮去群落，且營救並擴增噬菌體。

[ 5 ]

## ii. 固相淘選

為進行固相淘選，在4°C下將重組人類ActRIIB/Fc塗佈在MaxiSorp™盤上隔夜。用PBS洗滌之後，經塗佈之孔用5% MPBST阻斷。

在選擇之前，HuCAL GOLD®噬菌體在阻斷緩衝液中預先吸附。將經阻斷之噬菌體添加至經塗佈之抗原中，且在室溫下培育2小時。用PBST及PBS洗去無特異性噬菌體。藉由添加20 mM DTT溶離結合之噬菌體。使用溶離液感染大腸桿菌TG-1培養物。感染之後，將細菌接種在LB/CAM/Glc瓊脂盤上且在37°C下培育隔夜。次日早晨，自盤刮去群落，且營救並擴增噬菌體。

最成功之淘選方法被證明是差異細胞/蛋白質淘選，其中在經ActRIIB轉染之HEK293T/17細胞上進行第一輪淘選，接著在重組人類ActRIIB/Fc上及再次在經轉染之細胞上進行一輪選擇。

分析所選Fab與親本HEK293細胞或rhActRIIB轉染之HEK293細胞的結合。

MOR07079 Fab優先結合於ActRIIB轉染之細胞，EC50為20 nM(圖1)。在肌肉生長抑制素結合抑制ELISA中，MOR07079 Fab顯示出抑制活性且阻斷rhActRIIB/Fc結合於肌肉生長抑制素。ELISA中之強肌肉生長抑制素結合抑制係由使用HEK293-CAGA12之報導基因檢定中MOR07079之肌肉生長抑制素抑制反映。使用特異性ELISA時，MOR07079顯示特異性結合於人類及鼠類ActRIIB，而不結



合於無關 TGF $\beta$ RII、ALK4及 ALK5受體。相較於 ActRIIA，MOR7079亦顯示優先結合於 ActRIIB。

### 產生 HuCAL<sup>®</sup> 免疫球蛋白

#### i. Fab轉化成 IgG格式

為表現全長免疫球蛋白(Ig)，將重鏈可變域片段(VH)與輕鏈可變域片段(VL)自 pMORPH<sup>®</sup>X9\_FH Fab表現載體次選殖至人類 IgG2之 pMORPH<sup>®</sup>2\_h\_Ig載體系列中。所選純系亦轉化成靜止 IgG1LALA格式，其中位置 234及 235處之白胺酸突變成丙胺酸以消除 FcR $\gamma$ 結合且減少效應功能。

使用適當限制酶(Knappik等人，2000)將 VH及 VL域片段次選殖至 pMORPH<sup>®</sup>2\_h\_IgG2、pMORPH<sup>®</sup>2\_h\_IgG1LALA、pMORPH<sup>®</sup>2\_h\_Ig $\kappa$ ；及 pMORPH<sup>®</sup>2\_h\_Ig $\lambda$ 2中。

所有 DNA製劑在轉染至 HKB11細胞中之前均進行序列分析。

#### ii. 人類 IgG之短暫表現及純化

真核 HKB11細胞用 IgG重鏈及輕鏈表現載體 DNA轉染。在轉染後3天或7天時收集細胞培養物上清液，且進行標準蛋白質 A親和層析。若無另外說明，則將緩衝液交換為 1 $\times$  杜爾貝科氏 PBS(pH 7.2)，且對樣品進行無菌過濾(0.2  $\mu$ m)。

### CDR-L3及 CDR-H2成熟庫

為了增加所選抗體片段之親和力及生物活性，藉由卡匣突變誘發、使用三核苷酸定點突變誘發(trinucleotide directed mutagenesis)(Virnekas等人，1994, Nucleic Acids

{ S }

Res. 22:5600-5607)使 CDR-L3與 CDR-H2區平行最佳化，其中構架區保持恆定(Nagy 等人，2002, Nature Medicine, 8:801-807)。選殖成熟庫之前，將所有親本 Fab 片段經由 *XbaI/EcoRI* 限制位點自表現載體 pMORPH<sup>®</sup>X9 轉移至 CysDisplay<sup>™</sup>成熟載體 pMORPH<sup>®</sup>25 中。此載體提供 N 末端融合於半胱胺酸殘基以及 C 末端半胱胺酸融合於 Fd 抗體鏈之噬菌體蛋白 pIII，且因此使得各別 Fab 片段在噬菌體表面上經二硫化物連接呈現。

為了產生 CDR-H2 庫，刪去各親本 Fab 之 CDR-H2 區且置換為高度多樣化 CDR-H2 成熟卡匣。

同時，將親本純系之 CDR-L3 區置換為多樣化 CDR-L3 成熟卡匣。

成熟庫之大小在  $4 \times 10^5$  至  $1 \times 10^8$  個純系範圍內。在所有情況下，載體背景低於 1%。藉由定序單一純系達成之品質控制顯示各庫之高品質。

對於各 CDR-L3 及 CDR-H2 成熟庫，製備抗體呈現噬菌體且藉由斑點滴定測定噬菌體力價。

對於親和力成熟之淘選策略

對來自以下成熟庫之抗體呈現噬菌體分別進行淘選及篩選：

前導序列 1：MOR07079(L-CDR3 成熟)

前導序列 1：MOR07079(H-CDR2 成熟)

使用各別抗體在經結合生物素之 hActRIIB/Fc 上及 huSkMC 上進行成熟淘選。

每子碼  $2 \times 10^{10}$  或  $1 \times 10^{11}$  個噬菌體自新產生之成熟庫中營救用於第一批數輪選擇。

進行數次差異淘選，其中交替進行在經結合生物素之重組 hActRIIB/Fc 上之數輪選擇與在 huSkMC 上之一輪選擇。

對於第一輪及第三輪溶液淘選，經結合生物素之重組 hActRIIB/Fc 經捕捉於經抗生素蛋白鏈菌素塗佈之 Dynabead 上。應用如下方案：對於各噬菌體池，用 PBS 洗滌抗生素蛋白鏈菌素珠粒，且再懸浮於阻斷緩衝液中。稀釋於 PBS 中之噬菌體粒子與含有 0.1% Tween20 之阻斷緩衝液混合，且保持在旋轉輪上。預清潔噬菌體粒子 2 次，以便移除抗生素蛋白鏈菌素或珠粒結合之噬菌體：每個噬菌體池添加經阻斷抗生素蛋白鏈菌素珠粒至阻斷噬菌體粒子且在旋轉輪上培育。經由磁裝置分離珠粒之後，將噬菌體上清液轉移至預先已阻斷之新反應管中，且重複預吸附。

阻斷程序之後，將經結合生物素之 hActRIIB/Fc 抗原添加至經預清潔且已阻斷之噬菌體粒子中，且在旋轉輪上培育。使用經阻斷之抗生素蛋白鏈菌素珠粒捕捉噬菌體-抗原複合物，添加至噬菌體淘選池中並進一步培育。收集結合於抗生素蛋白鏈菌素珠粒之噬菌體粒子。接著用 PBST 及 PBS 洗滌珠粒。藉由添加 20 mM DTT 自抗生素蛋白鏈菌素珠粒溶離噬菌體粒子。收集溶離液且用於感染已生長至  $OD_{600nm}$  0.6-0.8 的大腸桿菌 TG-1 培養物。

感染及隨後離心之後，將細菌小球再懸浮於 2×YT 培養基中，接種於 LB/CAM/Glc 瓊脂盤上，且在 37°C 下培育隔

[ S ]

夜。次日早晨，自盤刮去群落，且主要根據(Krebs等人，2001)所描述營救並擴增噬菌體，例外之處在於輔助噬菌體感染之細胞在22°C下在含有0.25 mM IPTG之培養基中生長隔夜。根據第一輪方案在經結合生物素之hActRIIB/Fc上進行第三輪溶液淘選，例外之處在於減少所使用之抗原量並提高洗滌條件之嚴格度。

為進行第二輪淘選(對表現內源hActRIIB之huSkMC)，將稀釋於PBS中之噬菌體粒子與等體積之PBS/BSA混合並阻斷。同時，對於各子碼，在4°C下用PBS/FCS/0.02% NaN<sub>3</sub>阻斷 $9 \times 10^5$ 個huSkMC。經阻斷之細胞經短暫離心，與經預阻斷之噬菌體粒子一起再懸浮，且進一步培育。

用PBS/BSA洗滌噬菌體-細胞複合物，接著在PBS中洗滌。將細胞在4°C下以 $410 \times g$ 離心2分鐘。藉由以甘胺酸緩衝液(pH 2.2)培育10分鐘之步驟來進行噬菌體粒子自表現hActRIIB之huSkMC的酸性溶離。離心之後，藉由添加無緩衝性Tris中和溶離液。用含噬菌體之上清液感染已生長至OD<sub>600nm</sub> 0.6-0.8的大腸桿菌TG-1培養物。

感染及隨後離心之後，將細菌小球再懸浮於2×YT培養基中，接種於LB/CAM/Glc瓊脂盤上，且在37°C下培育隔夜。次日早晨，自盤刮去群落，且主要根據(Krebs等人，2001)所描述營救並擴增噬菌體，例外之處在於輔助噬菌體感染之細胞在22°C下在含有0.25 mM IPTG之培養基中生長隔夜。

最成功之淘選方法(其產生極有效之結合劑)被證明是差



異淘選，其中第一輪及第三輪在經結合生物素之 ActRIIB/Fc 上進行，而第二輪在 huSkMC 上進行。

定序之後，選擇 Fab 以供表現及純化，且進一步表徵最有前景者。

大部分抗 ActRIIB 抗體展示結合於經 hActRIIB 轉染之 HEK293T/17 細胞，EC50 值在一位數至低雙位數奈莫耳範圍內。數種 Fab 可在肌肉生長抑制素結合抑制 ELISA 中使肌肉生長抑制素自 ActRIIB/Fc 移位，但其中僅 MOR08067 在報導基因檢定中呈現完全抑制肌肉生長抑制素誘導之活性(圖 2)。

在下表(表 1)中列出匯總之最有前景之 Fab 對人類及小鼠 ActRIIB/Fc 之親和力。

Fab	KD 測定(Biacore)	
	人類 ActRIIB-Fc KD [nM]	小鼠 ActRIIB-Fc KD [nM]
MOR07079	51	62
MOR08047	23	22
MOR08062	15	17
MOR08067	<0.1	<0.1
MOR08077	11	13
MOR08078	9	10

表 1：抗 ActRIIB Fab-FH 對 ActRIIB 抗原之親和力資料

Fab 純系 MOR08067 在肌肉生長抑制素誘導之 RGA 中展現優良抑制以及結合於經 rhActRIIB 轉染之 HEK293 細胞。藉由 Biacore 測定親和力顯示對人類及小鼠 ActRIIB/Fc 之 KD

值低於100 pM。選擇MOR08067及其他候選物以供藉由交叉選殖法進一步最佳化，而含有潛在N連接糖基化位點之MOR08067亦進行去糖基化法。

**使來源於第一次親和力成熟之抗體最佳化**

a) MOR08067之去糖基化

根據序列分析，此抗體在重鏈之CDR-H2內含有潛在N連接糖基化位點。移除此位點以產生MOR08156及MOR08159。此等MOR08067衍生物之表徵於下文中描述。

b)最佳化Fab之交叉選殖

為進行進一步功能改良及移除CDR-H2及/或CDR-L3內之潛在N連接糖基化位點，組合來自第一次親和力成熟所產生之單次親和力成熟之Fab的經獨立最佳化之CDR-H2及CDR-L3區，同時保持各家族分開。MOR07079之後代進行交叉選殖。在FACS親和力分級中在HEK293T/17/ActRIIB上測試大約200種細菌溶解產物，且表現並純化最有前景之Fab純系，MOR08144及MOR08213。

c)最佳化抗體之表徵

在以下部分中，詳細描述MOR08067之去糖基化後代(MOR08156、MOR08159)及來源於MOR08067之兩個交叉純系(MOR08144及MOR08213)。

在報導基因檢定中測定經最佳化之Fab抑制肌肉生長抑制素信號傳導的能力，其中所有結合劑在最高濃度下均能夠誘導>95%抑制(圖3)。





在使用 Biacore 之親和力測定實驗中，MOR08159 及 MOR08213 被鑑別為人類及小鼠 ActRIIB 之高度有效結合劑 (表 2)。顯然，經成熟及最佳化之 Fab 的親和力增加表明在肌肉生長抑制素誘導報導基因檢定中之效能增加。

Fab	KD測定(Biacore)	
	人類 ActRIIB-Fc KD [pM]	小鼠 ActRIIB-Fc KD [pM]
MOR08159	3.8	3.1
MOR08213	13.2	13.5

表 2：抗 ActRIIB Fab 對 ActRIIB 抗原之親和力資料  
親和力成熟之 Fab 的 IgG2 轉化 (第一次成熟)

選擇來源於第一次親和力成熟之最有前景之 Fab 用於 IgG2 轉化。

藉由短暫轉染 HKB11 細胞進行 IgG2 表現，且自細胞培養物上清液純化全長免疫球蛋白。

轉化成 IgG 之後，所有候選物在報導基因檢定中均保留其劑量依賴性抑制肌肉生長抑制素誘導之活性的能力 (表 3)。

IgG	IC <sub>50</sub> [nM]	%抑制
MOR08067	2.57	86.5
MOR08144	0.5	94.9
MOR08156	0.19	97.4
MOR08159	0.32	99
MOR08213	0.32	98.6

表3：測定抗ActRIIB IgG在肌肉生長抑制素誘導之螢光素  
酶報導基因檢定中之IC50

藉由FACS測試MOR08159及MOR08213結合於人類初級肌母細胞之能力，且報導與彼等細胞之特異性結合，與ActRIIB在彼等細胞上之較低表現一致(圖4)。

MOR08159及MOR08213呈現能夠完全逆轉肌肉生長抑制素誘導之對初級骨骼肌母細胞分化之抑制(圖5)。彼等抗體在無外源肌肉生長抑制素存在下亦使分化增加至高於基礎水準，因為其能夠中和外源產生之ActRIIB配位體。

#### 第二次親和力成熟

選擇候選物用於第二次親和力成熟以進一步改良功效。

##### i. 構造CDR-L3及CDR-H2成熟庫

為了增加所選抗體片段(例如MOR08067)之親和力及生物活性，藉由卡匣突變誘發、使用三核苷酸定點突變誘發(Virnekas等人[同上文])使CDR-L1及CDR-H2區最佳化，其中構架區保持恆定(Nagy等人[同上文])。選殖成熟庫之前，將所有親本Fab片段經由*XbaI/EcoRI*限制位點自表現載體 pMORPH<sup>®</sup>X9 轉移至 CysDisplay<sup>™</sup> 成熟載體 pMORPH<sup>®</sup>25 中。

所產生之所有成熟庫之大小始終為最少 $1 \times 10^7$ 個獨立純系。在所有情況下，載體背景均低於1%。藉由定序單一純系達成之品質控制顯示各庫之高品質。

對於各CDR-L1及CDR-H2成熟庫，製備抗體呈現噬菌體



且藉由斑點滴定測定噬菌體力價。

## ii. 淘選策略、親和力分級及篩選改良抗體

第二輪親和力成熟之差異淘選包括低含量外源性表現人類 ActRIIB 之親本 HEK293T/17 細胞及 huSkMC。此外，所有淘選策略中均包括經結合生物素之重組 hActRIIB/Fc 抗原。

為了對抗 ActRIIB Fab 分級，在基於 MSD 之方法中，在經結合生物素之重組 hActRIIB/Fc 抗原及經 hActRIIB 轉染之 HEK293T/17 細胞之膜囊製劑上對約 2700 種細菌溶解產物（各淘選子碼，約 88 個純系）進行親和力分級。定序具有高親和力分級因子之命中 (hit)。

此外，在 FACS 親和力分級中評估隨機選擇之未作為命中顯現的純系。為此，使用親本 HEK293T/17 及 / 或經 hActRIIB 轉染之 HEK293T/17 細胞篩選細菌溶解產物。以與藻紅素結合之山羊抗人類 IgG(H+L) 二次抗體偵測與細胞結合之 Fab。同時進行溶解產物中 Fab 表現之定量。

所有淘選策略均產生抗 ActRIIB 特異性抗體。序列分析之後可鑑別 MOR08067 後代。所有結合劑在 CDR-H2 中均成熟。

## IgG2 轉化及 IgG2 之表徵 (第 2 次成熟)

又，選擇來源於第二次親和力成熟的最有前景之 Fab 用於 IgG2 轉化。藉由短暫轉染 HKB11 細胞進行 IgG2 表現，且自細胞培養物上清液純化全長免疫球蛋白。

所測試之所有 IgG 均能夠完全逆轉肌肉生長抑制素誘導

[ S ]

之對初級骨骼肌母細胞分化之抑制(表4)。

IgG	CK檢定 IC50 [nM]
MOR08159	1.89
MOR08213	1.7
MOR08806	0.52
MOR08807	5.02
MOR09032	1.02
MOR09058	2.3

表4：在肌肉生長抑制素誘導之對骨骼肌分化之抑制檢定  
中測定抗ActRIIB IgG之IC50

吾人評估抗ActRIIB Ab中和肌肉生長抑制素以及其他TGFβ家族配位體結合於初級人類骨骼肌母細胞上之ActRIIB的能力。在肌母細胞分化檢定中，吾人評定在有或無MOR08159或MOR08213存在下可能抑制分化的各種配位體。

TGFβ家族 配位體	無Ab		MOR08159		MOR08213	
	IC <sub>50</sub> (ng/ml)	E <sub>max</sub> (%對照)	IC <sub>50</sub> (ng/ml)	E <sub>max</sub> (%對照)	IC <sub>50</sub> (ng/ml)	E <sub>max</sub> (%對照)
肌肉生長抑 制素	8.5±0.6	25.7±1.5	42.7±5.8	28.9±4.8	35.1±5.1	35.3±4.5
GDF-11	7.0±1.2	23.2±3.8	13.3±0.9	22.1±2.1	12.0±1.0	27.1±2.6
活化素A	14.7±2.9	37.1±3.9	34.7±9.0	61.9±5.4	41.9±3.4	57.2±1.9
BMP-2	26.9±2.6	2.6±4.2	34.0±2.6	5.1±3.4	32.3±1.4	4.8±1.9

表5：在有或無MOR08159/MOR08213(10 μg/ml)存在下測  
定各種配位體誘導之對骨骼肌分化之抑制檢定的IC50及

E<sub>max</sub>



肌肉生長抑制素及GDF-11能夠以類似效率及類似程度抑制人類肌母細胞分化。在單一濃度MOR08159或MOR08213存在下，以平行方式轉移肌肉生長抑制素及GDF-11劑量反應。活化素A亦能夠抑制分化，然而，在MOR08159或MOR08213存在下，吾人觀察到非平行轉移，伴隨E<sub>max</sub>及效能變化。BMP-2反應不受MOR08159或MOR08213存在的影響，表明其並非經由ActRIIB結合而發生。

#### **抗ActRIIB抗體在活體內鼠類研究中之表徵**

在每週經腹膜內投與10 mg/kg MOR08159或MOR08213歷經6週的SCID小鼠中評估抗ActRIIB抗體誘導肌肉過度生長之能力(圖6)。

在研究結束時，兩種抗體均能夠誘導所有經檢查肌肉深度過度生長。早在治療1週之後即偵測到經抗ActRIIB抗體治療之小鼠的總體體重顯著增加。

MOR08213能夠在5及25 mg/kg下誘導所有經檢查肌肉劑量依賴性深度過度生長，而在1 mg/kg劑量下未發覺顯著變化(圖7)。

#### **交叉阻斷研究**

將穩定人類ActRIIB轉染之HEK293T/17細胞維持在含有10% FBS、2 mM L-麩醯胺酸、青黴素(50 IE/ml)、鏈黴素(50 µg/ml)及嘌呤黴素(2 µg/ml)的DMEM中。使細胞在培育箱中於37°C及5% CO<sub>2</sub>下生長，且每3至4天進行繼代培養。使用Accutase™分離細胞，且接著轉移至含有新鮮培養基

[S]

之新燒瓶中。

藉由 FACS，使用表現 hActRIIB 之細胞來評定抗 ActRIIB 抗體結合於人類 ActRIIB 之相同抗原決定基的能力。

為此，抗 ActRIIB IgG 與每孔  $1 \times 10^5$  個經 hActRIIB 轉染之細胞一起在  $4^\circ\text{C}$  下培育 1 小時。洗滌之後，不同經結合生物素之抗 ActRIIB IgG 或對照經結合生物素之 IgG 以與第一抗 ActRIIB IgG 等莫耳濃度在  $4^\circ\text{C}$  下培育 1 小時。洗滌之後，用抗生蛋白鏈菌素 APC (Biolegend) 偵測與細胞結合之經結合生物素之 IgG。在  $4^\circ\text{C}$  下培育 1 小時之後，再次洗滌細胞並再懸浮於 FACS 緩衝液中，且在 FACSArray™ 儀器中測定細胞之螢光強度。

藉由 FACS 測試 MOR08159 及 MOR08213 共同結合於經人類 ActRIIB 轉染之細胞的能力，且報導單獨之 MOR08159 (粗體黑線) 或在 MOR08213 存在下之 MOR08159 (粗體虛線) 相較於同型對照物 (黑線) 或在 MOR08213 存在下之同型對照物 (虛線) 的特異性結合 (圖 8)。

在 MOR08213 存在下，MOR08159 之結合顯著降低，表明彼兩種抗體結合於相同位點或結合於可能在一定程度上重疊之位點，或 MOR08213 結合於不同但相近之位點可能對 MOR08159 結合造成位阻。

#### **抗原決定基定位**

使用數種互補方法來測定抗體 MOR08159 所結合之抗原決定基。在此實例中，殘基編號係參考全長 ActRIIB 胺基酸序列 (SEQ ID NO: 181)。



### 點漬墨法

對MOR08159抗原決定基進行點漬墨法分析。將天然及變性(還原及熱變性)ActRIIB點墨於硝化纖維膜上，以MOR08159探測，且用經標記之抗人類抗體偵測。僅偵測到天然ActRIIB，而未偵測到還原及熱變性之ActRIIB。結果表明該抗原決定基為構形抗原決定基。

### 突變研究

藉由易錯PCR產生ActRIIB之細胞外域庫(aa 21-120)，且變異體表現於大腸桿菌之胞外質中。藉由群落過濾篩選及西方污點(western staining)測試約30'000(理論庫大小之一小部分)個彼等變異體與MOR08159之結合。藉由ELISA進一步確認僅顯示弱結合或不結合於MOR08159的變異體。將ActRIIB變異體之表現量(以抗Flag抗體偵測)及與MOR08159之結合與野生型ActRIIB比較。若表現為野生型之至少75%且與MOR08159之結合小於25%，則認為該突變涉及於MOR08159結合中。僅考慮並非明顯結構變形，具有單一點突變之變異體(例如，如S-S橋接半胱氨酸突變)。

發現防止MOR08159結合之大部分突變在位置K75至D81之區段中，表明此區域對抗體結合為重要的。發現位置W78、D80及D81處之突變顯著減少MOR08159結合。

### 環狀肽陣列

將抗原集合產生之呈現於肽微陣列上之環狀肽與相關抗體一起培育。藉由RepliTope分析進行測定肽-抗體結合，其中肽微陣列與一次抗體一起培育，接著使螢光標記之二

[S]

次抗體導向一次抗體之Fc部分。數次洗滌步驟之後，使用微陣列離心乾燥肽微陣列，且在高解析度微陣列掃描系統中在適當波長設置下進行掃描。

微陣列由3個子陣列構成，各呈現來源於ActRIIB之環狀肽(Cys殘基交換成Ser)，對其進行掃描(肽掃描格式15/12)。作為對照實驗，依序與無關抗體(ACE18543，同型對照物)及經螢光標記之二次抗體(經Cy-5標記之抗人類IgG)一起培育一次，以確定假正信號。此外，依序與標靶抗體及經螢光標記之二次抗體一起培育。

抗體MOR08159(ACE19819)顯示可識別一個抗原決定基，在3個測試肽(第18號至第20號)中發現該現象。

18 IELVKKGSWLDDFNS (SEQ ID NO: 183)

19 VKKGSWLDDFNSYDR (SEQ ID NO: 184)

20 GSWLDDFNSYDRQES (SEQ ID NO: 185)

此等肽中共同之認為可結合於MOR08159之序列為76GCWLDDFNC84(SEQ ID NO: 186)。

亦使用此方法鑑別具有較弱結合特徵之第二區。此第二區具有序列49CEGEQDKRLHCYASW63(SEQ ID NO: 187)。

#### *X射線結晶學*

表現人類ActRIIB aa20-120及aa24-117。此外，表現並純化MOR08159 Fab及Fv區(所有表現均在大腸桿菌中進行)。使用此等蛋白質製備4種蛋白質複合物，純化並結晶(MOR08159Fab-ActRIIB 20-120、MOR08159Fab-ActRIIB 24-117、MOR08159Fv-ActRIIB 20-120、MOR08159Fv-





ActRIIB 24-1107)。

游離 MOR08159 Fab之X射線結構解析至 1.78Å 解析度。Fv與 ActRIIB-LBD之複合物之X射線結構解析至 3.35Å 解析度。使用標準 3.9Å 距離截止來確定接觸殘基，證明序列 76GCWLDDDFNC84為一個重要區域，其中主要結合貢獻來自 78WLDDDFN83序列 (SEQ ID NO: 188)。此外，亦發現與肽區 49CEGEQDKRLHCYASW63之相互作用。

各種抗原決定基定位實驗之結果概述於圖 9 中。

#### 藉由 SET 證明親和力

在 PBS 0.5% (w/v) BSA/0.02% (w/v) Tween 20 中製備抗原 (ActRIIB 或 ActRIIA 之細胞外域) 之連續稀釋液，且向各抗原濃縮物中添加抗體 (MOR08159) 達到恆定抗體濃度。100 微升/孔之各稀釋混合物以一式兩份分配至 96 孔聚丙烯 MTP (Greiner)。檢定緩衝液充當陰性對照，且不含抗原之樣品充當陽性對照 (Bmax)。將盤密封且培育隔夜。用 25  $\mu$ l 稀釋於 PBS 中之 0.1  $\mu$ g/ml 小鼠 ActRIIB-Fc 塗佈 96 孔高結合 MTP (Meso Scale Discovery)。亦將盤密封且在 4°C 下培育隔夜。培育之後，用 PBS/0.05% (w/v) Tween 20 洗滌該經抗原塗佈之高結合 MTP。隨後，用 PBS/5% (w/v) BSA 將盤阻斷。重複洗滌步驟，且將 50 微升/孔來自聚丙烯 MTP 之抗體-抗原製劑轉移至經抗原塗佈之高結合 MTP 中。將高結合 MTP 在室溫下培育 25 分鐘。3 個其他洗滌步驟之後，向各孔中添加 25  $\mu$ l 稀釋於檢定緩衝液中之 1  $\mu$ g/ml 經 Sulfo-Tag 標記之山羊抗人類偵測抗體 (Meso Scale Discovery)，

[ 5 ]

且在室溫下培育1小時。將盤洗滌之後，將50  $\mu$ l讀取緩衝液(Meso Scale Discovery)轉移至各孔中。產生電化學發光(ECL)信號，且藉由Sector成像器6000讀取器(Meso Scale Discovery)加以偵測。

繪製ECL值相對於相應抗原濃度的曲線。藉由以Piehler J等人(J Immunol Methods; 1997, 201(2): 189-206)所描述之擬合模型擬合該曲線來測定 $K_D$ 。

所報導之 $K_D$ 值及標準差係由獲自獨立實驗之個別 $K_D$ 值來測定。

根據此等實驗，測定人類ActRIIB之解離平衡常數 $K_D$ 平均值為1.73( $\pm$ 0.31) pM，同時測定ActRIIA之解離平衡常數 $K_D$ 平均值為434( $\pm$ 25) pM。

應瞭解，僅以實例之方式描述本發明，且可在本發明之範疇及精神內進行修改。

### 【圖式簡單說明】

圖1展示藉由對親本及ActRIIB轉染之HEK293T/17細胞株進行FACS滴定來測定MOR07079之 $EC_{50}$ 。

圖2展示在報導基因檢定中藉由2、10及50  $\mu$ g/ml之多個抗ActRIIB Fab抑制肌肉生長抑制素誘導之螢光素酶表現。

圖3展示在肌肉生長抑制素誘導之螢光素酶報導基因檢定中測定Fab之 $IC_{50}$ 。

圖4展示結合於初級人類骨骼肌細胞之抗體。

圖5展示在肌肉生長抑制素誘導之對骨骼肌分化之抑制



檢定中測定IgG之IC50。

圖6展示小鼠研究：未經處理之動物中的活體內功效研究-以10 mg/kg之MOR08159或MOR08213治療6週使體重及肌肉重量增加。展示(A)體重、(B)脛骨、(C)腓腸肌及蹠肌、(D)四頭肌、及(E)胸肌之變化。

圖7展示小鼠研究：在未經處理之動物中的劑量反應活體內功效研究-用25、5、1 mg/kg之MOR08213治療6週，體重及肌肉重量劑量依賴性地增加。展示(A)體重、(B)脛骨、(C)腓腸肌及蹠肌、(D)四頭肌、及(E)胸肌之變化。

圖8展示FACS結果，表明相較於單獨同型對照物(黑線)或存在MOR08213之同型對照物(虛線)，在存在MOR08213之MOR08159(粗體虛線)與單獨之MOR08159(粗體黑線)之間存在交叉阻斷。

圖9展示使用各種抗原決定基測定技術，MOR08159所結合之ActRIIB殘基(SEQ ID NO:181)的概況。

序列表

<110> 瑞士商諾華公司

<120> 用於增加肌肉生長之組合物及方法

<130> 53508

<140> 099113107

<141> 2010-04-26

<150> US 61/173,004 ; US 61/306,137

<151> 2009-04-27 ; 2010-02-19

<160> 190

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 1

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Ser	Tyr	Ile	Asn
1				5					10

<210> 2

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 2

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Ser	Tyr	Ile	Asn
1				5					10

<210> 3  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 3

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Ser	Tyr	Ile	Asn
1				5					10

<210> 4  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 4

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Ser	Tyr	Ile	Asn
1				5					10

<210> 5  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 5

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Ser	Tyr	Ile	Asn
1				5					10



<210> 6  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 6

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Tyr Ile Asn  
1                   5                   10

<210> 7  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 7

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Tyr Ile Asn  
1                   5                   10

<210> 8  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 8

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Tyr Ile Asn  
1                   5                   10

<210> 9  
<211> 10

<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 9

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Ser	Tyr	Ile	Asn
1				5					10

<210> 10  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 10

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Ser	Tyr	Ile	Asn
1				5					10

<210> 11  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 11

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Ser	Tyr	Ile	Asn
1				5					10

<210> 12  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列



<220>  
<223> CDR

<400> 12

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Tyr Ile Asn  
1                   5                   10

<210> 13  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 13

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Tyr Ile Asn  
1                   5                   10

<210> 14  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 14

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Tyr Ile Asn  
1                   5                   10

<210> 15  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>



<223> CDR

<400> 15

Thr Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1                   5                   10                   15

Gly

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 16

Thr Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1                   5                   10                   15

Gly

<210> 17

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 17

Thr Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1                   5                   10                   15



Gly

<210> 18  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 18

Thr Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1                    5                                    10    15

Gly

<210> 19  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 19

Met Ile Asn Ala Pro Ile Gly Thr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1                    5                                    10    15

Gly

<210> 20  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 20

Gln Ile Asn Ala Ala Ser Gly Met Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1                   5                   10                   15

Gly

<210> 21

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 21

Met Ile Asn Ala Pro Ile Gly Thr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1                   5                   10                   15

Gly

<210> 22

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 22

Thr Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1                   5                   10                   15



Gly

<210> 23  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 23

Thr Ile Asn Pro Val Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1                    5                                    10    15

Gly

<210> 24  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 24

Gln Ile Asn Ala Ala Ser Gly Met Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1                    5                                    10    15

Gly

<210> 25  
<211> 17

<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 25

Asn Ile Asn Ala Ala Ala Gly Ile Thr Leu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1                   5                   10                   15

Gly

<210> 26  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 26

Thr Ile Asn Pro Pro Thr Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1                   5                   10                   15

Gly

<210> 27  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 27



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

Gly

<210> 28  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 28

Asn Ile Asn Pro Ala Thr Gly His Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1 5 10 15

Gly

<210> 29  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 29

Gly Gly Trp Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 30  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 30

Gly Gly Trp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 31

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 31

Gly Gly Trp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 32

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 32

Gly Gly Trp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 33

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>



<223> CDR

<400> 33

Gly Gly Trp Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 34

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 34

Gly Gly Trp Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 35

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 35

Gly Gly Trp Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 36

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR



<400> 36

Gly Gly Trp Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 37

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 37

Gly Gly Trp Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 38

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 38

Gly Gly Trp Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 39

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 39



Gly Gly Trp Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 40  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 40

Gly Gly Trp Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 41  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 41

Gly Gly Trp Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 42  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 42

Gly Gly Trp Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 43  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 43

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Tyr Val Asn  
1 5 10

<210> 44  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 44

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Tyr Val Asn  
1 5 10

<210> 45  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 45

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Tyr Val Asn  
1 5 10



<210> 46  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> CDR

<400> 46

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Tyr Val Asn  
 1                   5                           10

-  
 <210> 47  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> CDR

<400> 47

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Tyr Val Asn  
 1                   5                           10

<210> 48  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> CDR

<400> 48

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Tyr Val Asn  
 1                   5                           10

<210> 49  
 <211> 14

<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 49

Thr	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Ser	Tyr	Asn	Tyr	Val	Asn
1				5						10			

<210> 50  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 50

Thr	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Ser	Tyr	Asn	Tyr	Val	Asn
1				5						10			

<210> 51  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 51

Thr	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Ser	Tyr	Asn	Tyr	Val	Asn
1				5						10			

<210> 52  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工序列



<220>

<223> CDR

<400> 52

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Tyr Val Asn  
1                   5                                   10

<210> 53

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 53

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Tyr Val Asn  
1                   5                                   10

<210> 54

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 54

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Tyr Val Asn  
1                   5                                   10

<210> 55

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 55

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Tyr Val Asn  
1 5 10

<210> 56

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 56

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Tyr Val Asn  
1 5 10

<210> 57

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 57

Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1 5 10

<210> 58

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR



<400> 58

Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1                   5                   10

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 59

Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1                   5                   10

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 60

Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1                   5                   10

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 61



Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1                    5                    10

<210> 62  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 62

Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1                    5                    10

<210> 63  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 63

Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1                    5                    10

<210> 64  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 64

Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1                    5                    10



<210> 65  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 65

Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1                   5                   10

<210> 66  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 66

Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1                   5                   10

<210> 67  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 67

Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1                   5                   10

<210> 68  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 68

Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1                   5                   10

<210> 69  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 69

Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1                   5                   10

<210> 70  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 70

Leu Met Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Pro Ser  
1                   5                   10

<210> 71  
<211> 9



<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 71

Gln Ala Trp Thr Ser Lys Met Ala Gly  
1                   5

<210> 72  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 72

Ser Ser Tyr Thr Arg Met Gly His Pro  
1                   5

<210> 73  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> CDR

<400> 73

Ala Thr Tyr Gly Lys Gly Val Thr Pro Pro  
1                   5                   10

<210> 74  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 74

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

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 75

Gln Ala Trp Thr Ser Lys Met Ala Gly  
1                   5

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 76

Gln Ala Trp Thr Ser Lys Met Ala Gly  
1                   5

<210> 77

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>



<223> CDR

<400> 77

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

<210> 78

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 78

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

<210> 79

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 79

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

<210> 80

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 80

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

<210> 81

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 81

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

<210> 82

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 82

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

<210> 83

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR

<400> 83



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

<210> 84  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> CDR

<400> 84

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

<210> 85  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 85

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

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

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

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



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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Thr Ser Lys  
85 90 95

Met Ala Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln  
100 105 110

<210> 86  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> VL

<400> 86

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

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

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

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

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

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



Gly His Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln  
 100 105 110

<210> 87  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 87

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

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

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

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

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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Tyr Gly Lys Gly  
 85 90 95

Val Thr Pro Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln

<210> 88  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 88

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

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

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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
                   100                   105                   110

Gln



<210> 89  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> VL

<400> 89

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

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

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

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

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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Thr Ser Lys  
                  85                   90                   95

Met Ala Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln  
          100                   105                   110

<210> 90  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; VL

&lt;400&gt; 90

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

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

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

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

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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Thr Ser Lys  
                   85                    90                    95

Met Ala Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln  
                   100                    105                    110

&lt;210&gt; 91

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; VL

&lt;400&gt; 91



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

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

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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
                   100                    105                    110

Gln

- <210> 92
- <211> 113
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> VL

<400> 92

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

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

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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln

<210> 93  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 93

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



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

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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln

<210> 94

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 94

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

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



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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln

<210> 95  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 95

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

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



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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln

- <210> 96
- <211> 113
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> VL

<400> 96

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

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

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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln

<210> 97  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 97

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

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

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



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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln

<210> 98  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 98

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

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

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

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



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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
100 105 110

Val Ser Ser  
115

<210> 100  
<211> 115  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> VH

<400> 100

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

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

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

Gly Thr Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser  
 115

<210> 101

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 101

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

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

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

Gly Thr Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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



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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser  
 115

<210> 102

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 102

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

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

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

Gly Thr Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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



Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser  
 115

<210> 103  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 103

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

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

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

Gly Met Ile Asn Ala Pro Ile Gly Thr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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



Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser  
 115

<210> 104  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 104

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

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

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

Gly Gln Ile Asn Ala Ala Ser Gly Met Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser  
115

<210> 105  
<211> 115  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> VH

<400> 105

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

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

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

Gly Met Ile Asn Ala Pro Ile Gly Thr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
100 105 110



Val Ser Ser  
115

<210> 106  
<211> 115  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> VH

<400> 106

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

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

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

Gly Thr Ile Asn Pro Val Ser Gly Asn Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe  
                  50                   55                   60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
                  100                   105                   110

Val Ser Ser  
115

<210> 107  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 107

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

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

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

Gly Thr Ile Asn Pro Val Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe  
                   50                                    55                                    60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
                   100                                    105                                    110

Val Ser Ser  
 115



<210> 108  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 108

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

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

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

Gly Gln Ile Asn Ala Ala Ser Gly Met Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser  
 115

<210> 109  
 <211> 115

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; VH

&lt;400&gt; 109

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

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

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

Gly Asn Ile Asn Ala Ala Ala Gly Ile Thr Leu Tyr Ala Gln Lys Phe  
                   50                    55                    60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
                   100                    105                    110

Val Ser Ser  
                   115

&lt;210&gt; 110

&lt;211&gt; 115

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列



<220>

<223> VH

<400> 110

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

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

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

Gly Thr Ile Asn Pro Pro Thr Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
100 105 110

Val Ser Ser  
115

<210> 111

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>



<223> VH

<400> 111

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
                  100                   105                   110

Val Ser Ser  
                  115

<210> 112

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH



&lt;400&gt; 112

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

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

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

Gly Asn Ile Asn Pro Ala Thr Gly His Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe  
                   50                    55                    60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
                   100                    105                    110

Val Ser Ser  
                   115

&lt;210&gt; 113

&lt;211&gt; 336

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; VL

&lt;400&gt; 113

gatatcgcaac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60

[ S ]

tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggg tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
 catccccgga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
 agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgcga gcctgaccat tagcggcctg 240  
 caagcggaag acgaagcgga ttattattgc caggcttggg cttctaagat ggctggtgtg 300  
 tttggcggcg gcacgaagtt aaccgttctt ggccag 336

<210> 114  
 <211> 336  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 114  
 gatatgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60  
 tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggg tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
 catccccgga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
 agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgcga gcctgaccat tagcggcctg 240  
 caagcggaag acgaagcgga ttattattgc tcttcttata ctcgtatggg tcacctctgtg 300  
 tttggcggcg gcacgaagtt aaccgttctt ggccag 336

<210> 115  
 <211> 339  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 115  
 gatatgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60



tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggt tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
 catcccggga aggcgcccga acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
 agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gctgacat tagcggcctg 240  
 caagcggaag acgaagcggga ttattattgc gctacttatg gtaagggtgt tactcctcct 300  
 gtgtttggcg gcggcacgaa gttaaccgtt cttggccag 339

<210> 116  
 <211> 339  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 116  
 gatatcgcaac tgaccagccc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60  
 tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggt tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
 catcccggga aggcgcccga acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
 agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gctgacat tagcggcctg 240  
 caagcggaag acgaagcggga ttattattgc ggtacttttg ctggtggttc ttattatggt 300  
 gtgtttggcg gcggcacgaa gttaaccgtt cttggccag 339

<210> 117  
 <211> 336  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 117  
 gatatcgcaac tgaccagccc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60

tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggg tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
 catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
 agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gcctgacat tagcggcctg 240  
 caagcgaag acgaagcga ttattattgc caggcttga cttctaagat ggctggtgtg 300  
 tttggcgcg gcacgaagt aaccgttctt ggccag 336

<210> 118  
 <211> 336  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 118  
 gatatgcac tgaccagcc agcttcagt agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60  
 tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggg tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
 catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
 agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gcctgacat tagcggcctg 240  
 caagcgaag acgaagcga ttattattgc caggcttga cttctaagat ggctggtgtg 300  
 tttggcgcg gcacgaagt aaccgttctt ggccag 336

<210> 119  
 <211> 339  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 119  
 gatatgcac tgaccagcc agcttcagt agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60



tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggg tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatgggtgtt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgga gcctgacat tagcggcctg 240  
caagcggaag acgaagcgga ttattattgc ggtactttg ctggtggttc ttattatggt 300  
gtgtttggcg gcggcacgaa gtaaccgtt cttggccag 339

<210> 120  
<211> 339  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> VL

<400> 120  
gatatgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60  
tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggg tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatgggtgtt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgga gcctgacat tagcggcctg 240  
caagcggaag acgaagcgga ttattattgc ggtactttg ctggtggttc ttattatggt 300  
gtgtttggcg gcggcacgaa gtaaccgtt cttggccag 339

<210> 121  
<211> 339  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> VL

<400> 121  
gatatgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60

tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggt tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
agcaaccggt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gcoctgacat tagcggcctg 240  
caagcggaag acgaagcgga ttattattgc ggtacttttg ctggtggttc ttattatggt 300  
gtgtttggcg gcggcacgaa gttaaccggt cttggccag 339

- <210> 122
- <211> 339
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> VL

<400> 122  
gatatgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60  
tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggt tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
agcaaccggt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gcoctgacat tagcggcctg 240  
caagcggaag acgaagcgga ttattattgc ggtacttttg ctggtggttc ttattatggt 300  
gtgtttggcg gcggcacgaa gttaaccggt cttggccag 339

- <210> 123
- <211> 339
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> VL

<400> 123  
gatatgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60



tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggt tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gctgaccat tagcggcctg 240  
caagcgggaag acgaagcggga ttattattgc ggtacttttg ctggtggttc ttattatggt 300  
gtgtttggcg gcggcacgaa gttaaccgtt cttggccag 339

<210> 124  
<211> 339  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> VL

<400> 124  
gatatgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60  
tcgtgtactg gtactagcag cgatgttggt tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gctgaccat tagcggcctg 240  
caagcgggaag acgaagcggga ttattattgc ggtacttttg ctggtggttc ttattatggt 300  
gtgtttggcg gcggcacgaa gttaaccgtt cttggccag 339

<210> 125  
<211> 339  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> VL

<400> 125  
gatatgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60



tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggg tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
 catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
 agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gcctgaccat tagcggcctg 240  
 caagcggaag acgaagcggga ttattattgc ggtacttttg ctggtggttc ttattatggt 300  
 gtgtttggcg gcggcacgaa gttaaccgtt cttggccag 339

<210> 126  
 <211> 339  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VL

<400> 126  
 gatatgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60  
 tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggg tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
 catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
 agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gcctgaccat tagcggcctg 240  
 caagcggaag acgaagcggga ttattattgc ggtacttttg ctggtggttc ttattatggt 300  
 gtgtttggcg gcggcacgaa gttaaccgtt cttggccag 339

<210> 127  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 127  
 cagggtcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagtg 60



agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcgcaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagtg gatgggcact atcaatccgg tttctggcaa tacgtcttac 180  
 ggcgagaagt ttcagggccg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctca 345

<210> 128  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 128  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagt 60  
 agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcgcaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagtg gatgggcact atcaatccgg tttctggcaa tacgtcttac 180  
 ggcgagaagt ttcagggccg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctca 345

<210> 129  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 129  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagt 60

agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcceaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagt gatgggcaact atcaatccgg tttctggcaa tacgtcttac 180  
 ggcgagaagt ttcagggccg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcbc gcgtggtggt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctca 345

<210> 130  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 130  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagtg 60  
 agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcceaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagt gatgggcaact atcaatccgg tttctggcaa tacgtcttac 180  
 ggcgagaagt ttcagggccg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcbc gcgtggtggt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctca 345

<210> 131  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 131  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagtg 60



agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcgcaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagt gatgggcatg attaatgctc ctattggtac tactcgttat 180  
 gctcagaagt ttcagggtcg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctca 345

<210> 132  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 132  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagt 60  
 agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcgcaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagt gatgggcatg attaatgctc cttctggtat gactcgttat 180  
 gctcagaagt ttcagggtcg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctca 345

<210> 133  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 133  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagt 60

agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcceaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagtg gatgggcatg attaatgctc ctatttgtac tactcgttat 180  
 gctcagaagt ttcagggtcg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcbc gcgtggtggt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctca 345

<210> 134  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 134  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagtg 60  
 agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcceaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagtg gatgggcact atcaatccgg tttctggcaa tacgcgttac 180  
 ggcagaagt ttcagggccg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcbc gcgtggtggt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctca 345

<210> 135  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 135  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagtg 60



agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcceaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagt gatgggcact atcaatccgg tttctggctc tacgtcttac 180  
 ggcagaagt ttcaggccg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctca 345

<210> 136  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 136  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagt 60  
 agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcceaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagt gatgggcagg attaatgctg cttctggtat gactcgttat 180  
 gctcagaagt ttcagggtcg ggtcaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctca 345

<210> 137  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 137  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagt 60

agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcceaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagtg gatgggcaat attaatgctg ctgctggat tactctttat 180  
 gctcagaagt ttcagggtcg ggtcaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgctc gcgtgggtgt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggta gctca 345

<210> 138  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 138  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagt 60  
 agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcceaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagtg gatgggcaat attaatcctc ctactggagg tacttattat 180  
 gctcagaagt ttcagggtcg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgctc gcgtgggtgt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggta gctca 345

<210> 139  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 139  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagt 60



agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcceaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagt gatgggcggt attaatectc ctgctggtac tacttcttat 180  
 gctcagaagt ttcagggtcg ggtcacatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gctggtggt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggta gctca 345

<210> 140  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> VH

<400> 140  
 cagggtcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagt 60  
 agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cgcceaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagt gatgggcaat attaatectc ctactggtca tcttgattat 180  
 gctcagaagt ttcagggtcg ggtcacatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gctggtggt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggta gctca 345

<210> 141  
 <211> 217  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 141



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

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

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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
                   100                    105                    110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
                   115                    120                    125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe  
 130                    135                    140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val  
 145                    150                    155                    160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys  
                   165                    170                    175



Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
 180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu  
 195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 142

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈

<400> 142

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

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

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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
 115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val  
 145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys  
 165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
 180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu  
 195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 143  
 <211> 217  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 143



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

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

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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
 115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val  
 145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys  
 165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
 180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu  
 195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 144  
 <211> 217  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 144

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

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

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

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

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

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



Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
 115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val  
 145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys  
 165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
 180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu  
 195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 145  
 <211> 217  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 145



Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
 180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu  
 195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 146  
 <211> 445  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 146

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

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

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

Gly Thr Ile Asn Pro Val Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

{ S }



Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 130 135 140

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

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly  
 180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 195 200 205

Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys  
 210 215 220

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

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
 245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 260 265 270



Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 340 345 350

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
 355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 370 375 380

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

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 147  
 <211> 445  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 147

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

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

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

Gly Gln Ile Asn Ala Ala Ser Gly Met Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe  
           50                   55                   60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
           100                   105                   110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
           115                   120                   125



Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 130 135 140

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

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly  
 180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 195 200 205

Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys  
 210 215 220

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

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
 245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 340 345 350

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
 355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 370 375 380

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

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 148  
 <211> 445  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈



&lt;400&gt; 148

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

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

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

Gly Asn Ile Asn Ala Ala Ala Gly Ile Thr Leu Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 130 135 140

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

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 165 170 175

[ S ]

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly  
 180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 195 200 205

Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys  
 210 215 220

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

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
 245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 340 345 350



Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
 355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 370 375 380

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

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 149  
 <211> 445  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 149

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

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



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

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

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 130 135 140

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

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly  
 180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 195 200 205



Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys  
 210 215 220

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

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
 245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 340 345 350

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
 355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 370 375 380

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

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 150  
 <211> 445  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 150

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

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

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

Gly Asn Ile Asn Pro Ala Thr Gly His Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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





Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 340 345 350

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
 355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 370 375 380

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

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 420 425 430



His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 151  
 <211> 217  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 151

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

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

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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
 115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val  
 145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys  
 165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
 180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu  
 195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 152  
 <211> 217  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 152

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

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



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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
 115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val  
 145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys  
 165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
 180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu  
 195 200 205



Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 153  
 <211> 217  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 153

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

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

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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110



Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
 115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val  
 145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys  
 165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
 180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu  
 195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 154

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈

<400> 154

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

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

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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
 115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val  
 145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys  
 165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
 180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu  
 195 200 205



Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 155  
 <211> 217  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 155

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

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

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

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

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

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

Ser Tyr Tyr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
 100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
 115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val  
 145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys  
 165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
 180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu  
 195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 156

<211> 441

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 重鏈

<400> 156

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

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



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

Gly Thr Ile Asn Pro Val Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 115 120 125

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 130 135 140

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

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly  
 180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 195 200 205

Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys  
 210 215 220

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr  
 260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 275 280 285

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His  
 290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 305 310 315 320

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln  
 325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 370 375 380



Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440

<210> 157  
 <211> 441  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 157

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

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

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

Gly Gln Ile Asn Ala Ala Ser Gly Met Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60



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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
115 120 125

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
130 135 140

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

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly  
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
195 200 205

Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys  
210 215 220

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



Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr  
 260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 275 280 285

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His  
 290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 305 310 315 320

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln  
 325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440

<210> 158  
 <211> 441  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 158

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

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

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

Gly Asn Ile Asn Ala Ala Ala Gly Ile Thr Leu Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110



Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 115 120 125

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 130 135 140

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

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly  
 180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 195 200 205

Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys  
 210 215 220

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr  
 260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 275 280 285

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His  
 290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 305 310 315 320

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln  
 325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440

<210> 159

<211> 441



<212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 159

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 115 120 125

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 130 135 140

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

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly  
 180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 195 200 205

Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys  
 210 215 220

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr  
 260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 275 280 285

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His  
 290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 305 310 315 320



Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln  
 325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440

<210> 160  
 <211> 441  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 160

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



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

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

Gly Asn Ile Asn Pro Ala Thr Gly His Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 115 120 125

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 130 135 140

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

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly  
 180 185 190



Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 195 200 205

Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys  
 210 215 220

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr  
 260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 275 280 285

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His  
 290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 305 310 315 320

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln  
 325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440

<210> 161  
 <211> 651  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 161  
 cagagcgccc tgaccagcc cgccagcgtg tccggcagcc caggccagtc tatcacaatc 60  
 agctgcaccg gcacctccag cgacgtgggc agctacaact acgtgaactg gtatcagcag 120  
 caccocggca aggccccaa gctgatgata tacggcgtga gcaagaggcc cagcggcgtg 180  
 tccaacaggt tcagcggcag caagagcggc aacaccgcca gcctgacaat cagtgggctg 240  
 caggctgagg acgaggccga ctactactgc ggcaccttg cggcggatc atactacggc 300  
 gtgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtg ctgggccage ctaaggctgc cccagcgtg 360  
 accctgttcc cccccagcag cgaggagctg caggccaaca aggccaccct ggtgtgcctg 420

atcagcgact tctaccagg cgccgtgacc gtggcctgga aggccgacag cagccccgtg 480  
aaggccggcg tggagaccac cacccccagc aagcagagca acaacaagta cgccgccagc 540  
agctacctga gcctgacccc cgagcagtgg aagagccaca ggtcctacag ctgccaggtg 600  
accacgagg gcagcacctg ggaaaagacc gtggcccaaa ccgagtgcag c 651

<210> 162  
<211> 651  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 輕鏈

<400> 162  
cagagcgccc tgaccagcc cgccagcgtg tccggcagcc caggccagtc taccacaatc 60  
agctgcaccg gcacctccag cgacgtgggc agctacaact acgtgaactg gtatcagcag 120  
cacccccgca aggcccccaa gctgatgac tacggcgtga gcaagaggcc cagcggcgtg 180  
tccaacaggt tcagcggcag caagagcggc aacaccgcca gcctgacaat cagtgggctg 240  
caggctgagg acgaggccga ctactactgc ggcaccttg ccggcggatc atactacggc 300  
gtgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtg ctgggccagc ctaaggctgc ccccagcgtg 360  
accctgttcc cccccagcag cgaggagctg caggccaaca aggccaccct ggtgtgcctg 420  
atcagcgact tctaccagg cgccgtgacc gtggcctgga aggccgacag cagccccgtg 480  
aaggccggcg tggagaccac cacccccagc aagcagagca acaacaagta cgccgccagc 540  
agctacctga gcctgacccc cgagcagtgg aagagccaca ggtcctacag ctgccaggtg 600  
accacgagg gcagcacctg ggaaaagacc gtggcccaaa ccgagtgcag c 651

<210> 163  
<211> 651

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈

<400> 163

cagagcgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60

tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggg tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120

catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatgggtgtt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180

agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gcctgaccat tagcggcctg 240

caagcgggaag acgaagcggg ttattattgc ggtacttttg ctggtggttc ttattatggt 300

gtgtttggcg gcggcacgaa gtaaccgtc ctaggtcagc ccaaggctgc ccctcggtc 360

actctgttcc cgccctctc tgaggagctt caagccaaca aggccacact ggtgtgtctc 420

ataagtgact tctaccggg agccgtgaca gtggcctgga aggcagatag cagccccgtc 480

aagcggggag tggagaccac cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgcggccagc 540

agctatctga gcctgacgcc tgagcagtg aagtcccaca gaagctacag ctgccaggtc 600

acgcatgaag ggagcacctg ggagaagaca gtggccccta cagaatgttc a 651

<210> 164

<211> 651

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈

<400> 164

cagagcgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60

tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggg tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120

catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatgggtgtt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180



agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gcctgacat tagcggcctg 240  
 caagcggaag acgaagcgga ttattattgc ggtacttttg ctggtggttc ttattatggt 300  
 gtgtttggcg gcggcacgaa gttaaccgtc ctaggtcagc ccaaggctgc ccctcggtc 360  
 actctgttcc cgcctcctc tgaggagctt caagccaaca aggccacact ggtgtgtctc 420  
 ataagtgact tctaccggg agccgtgaca gtggcctgga aggcagatag cagccccgtc 480  
 aaggcgggag tggagaccac cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgcggccagc 540  
 agctatctga gcctgacgcc tgagcagtgg aagtcccaca gaagctacag ctgccaggtc 600  
 acgcatgaag ggagcaccgt ggagaagaca gtggccccta cagaatgttc a 651

<210> 165  
 <211> 651  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 165  
 cagagcgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60  
 tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggg tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
 catccccgga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
 agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gcctgacat tagcggcctg 240  
 caagcggaag acgaagcgga ttattattgc ggtacttttg ctggtggttc ttattatggt 300  
 gtgtttggcg gcggcacgaa gttaaccgtc ctaggtcagc ccaaggctgc ccctcggtc 360  
 actctgttcc cgcctcctc tgaggagctt caagccaaca aggccacact ggtgtgtctc 420  
 ataagtgact tctaccggg agccgtgaca gtggcctgga aggcagatag cagccccgtc 480  
 aaggcgggag tggagaccac cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgcggccagc 540

agctatctga gcctgacgcc tgagcagtgg aagtcccaca gaagctacag ctgccaggtc 600  
 acgcatgaag ggagcaccgt ggagaagaca gtggccccta cagaatgttc a 651

<210> 166  
 <211> 1335  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 166  
 caggtgcagc tgggtcagag cggagctgag gtgaagaagc caggcggcag cgtaagggtg 60  
 tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc agcagctaca tcaactgggt ccgccaggct 120  
 cctgggcagg gactggagtg gatgggcacc atcaaccccg tgtccggcag caccagctac 180  
 gcccaagaat tccagggcag agtcaccatg accagggaca ccagcatcag caccgcctac 240  
 atggagctgt ccaggctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagggggcggc 300  
 tggttcgact actggggcca gggcacctg gtgaccgtgt cctcagctag caccaagggc 360  
 cccagcgtgt tccccctggc ccccagcagc aagagcacct ccggcggcac agccgccctg 420  
 ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgtcctggaa cagcggagcc 480  
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgtgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540  
 tccagcgtgg tgacagtgcc cagcagcagc ctgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600  
 aaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagtgg agcccaagag ctgcgacaag 660  
 acccacacct gccccccctg cccagcccc gaagctgcag gcggcccttc cgtgttctg 720  
 ttcccccca agcccaagga caccctgatg atcagcagga cccccgaggt gacctgcgtg 780  
 gtggtggacg tgagccacga ggaccagag gtgaagtca actggtacgt ggacggcgtg 840  
 gaggtgcaca acgccaagac caagcccaga gaggagcagt acaacagcac ctacagggtg 900



gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggac tggctgaacg gcaaagaata caagtgcaag 960  
 gtctccaaca aggcctgccc tgccccatc gaaaagacca tcagcaaggc caagggccag 1020  
 ccacgggagc cccaggtgta caccctgccc ctttctcggg aggagatgac caagaaccag 1080  
 gtgtccctga cctgtctggt gaagggcttc taccacagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140  
 agcaacggcc agcccagaaa caactacaag accaccccc cagtgtgga cagcgacggc 1200  
 agcttcttcc tgtacagcaa gctgaccgtg gacaagagca ggtggcagca gggcaactg 1260  
 ttcagctgca gcgtgatgca cgaggccctg cacaaccact acaccagaa gacccctgac 1320  
 ctgtcaccgg gcaag 1335

<210> 167  
 <211> 1335  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 167  
 cagggtgcagc tgggtcagag cggagctgag gtgaagaagc caggcgccag cgtcaagggtg 60  
 tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc agcagctaca tcaactgggt gcgccaggct 120  
 ccagggcagg gactggagtg gatgggccag atcaacgccg ccagcggcat gaccagatac 180  
 gcccagaagt tccagggcag agtcacaatg accagggaca cctctatcag caccgcctac 240  
 atggagctgt ccaggctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgccc cagggggcgc 300  
 tggttcgact actggggcca gggcaccctg gtgaccgtgt cctcagctag caccaagggc 360  
 cccagcgtgt tccccctggc ccccagcagc aagagcaoct cggcggcac agccgccctg 420  
 ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgtcctggaa cagcggagcc 480  
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540



tccagcgtgg tgacagtgcc cagcagcagc ctgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600  
 aaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagtgg agcccaagag ctgcgacaag 660  
 acccacacct gccccccctg cccagccccc gaagctgcag gcggcccttc cgtgttcctg 720  
 ttcccccca agcccaagga caccctgatg atcagcagga cccccgaggt gacctgcgtg 780  
 gtggtggacg tgagccaaga ggaccagag gtgaagtcca actggtacgt ggaaggcgtg 840  
 gaggcgcaca acgccaagac caagcccaga gaggagcagt acaacagcac ctacagggtg 900  
 gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggac tggctgaacg gcaaagaata caagtgaag 960  
 gtctccaaca aggccctgcc tgccccatc gaaaagacca tcagcaaggc caagggccag 1020  
 ccacgggagc cccaggtgta caccctgcc ctttctcggg aggagatgac caagaaccag 1080  
 gtgtccctga cctgtctggt gaaggcttc taccacagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140  
 agcaacggcc agcccagaaa caactacaag accaccccc cagtgtctgga cagcgacggc 1200  
 agctttctcc tgtacagcaa gctgaccgtg gacaagagca ggtggcagca gggcaacgtg 1260  
 ttcagctgca gcgtgatgca cgaggccctg cacaaccact acaccagaa gagcctgagc 1320  
 ctgtcaaccg gcaag 1335

<210> 168  
 <211> 1335  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 168  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cggcgcgag cgtgaaagtg 60  
 agctgcaaag cctccgata taccttact tcttcttata ttaattgggt ccgcaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagt gatggcaat attaatgctg ctgctggtat tactctttat 180



gctcagaagt ttcagggtcg ggtcaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
atggaactga gccgcctgcg tagcgatgat acggccgtgt attattgcgc gcgtgggtgt 300  
tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggta gctcagcctc caccaagggt 360  
ccatcgtctt tccccctggc accctctcc aagagcacct ctgggggcac agcggcctg 420  
ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgc 480  
ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtctacagt cctcaggact ctactcctc 540  
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600  
aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agcccaaadc ttgtgacaaa 660  
actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaagcagcgg ggggaccgtc agtcttcctc 720  
ttcccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccga cccctgaggt cacatgcgtg 780  
gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840  
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgggtg 900  
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgaag 960  
gtctccaaca aagccctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020  
ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1080  
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgcctg ggagtgggag 1140  
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200  
tcctttctcc tctacagcaa gtcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260  
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gacccctcc 1320  
ctgtctccgg gtaaa 1335

<210> 169

<211> 1335

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 重鏈

&lt;400&gt; 169

caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagtg 60  
agctgcaaag cctccgata taccttact tcttctata ttaattgggt cgcgaagcc 120  
cctgggcagg gtctcgagt gatggcggt attaatcctc ctgctgtac tacttctat 180  
gctcagaagt ttcagggtcg ggtcacatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
atggaactga gccgcctgcg tagcgatgat acggccgtgt attattgcgc gcgtgggtgt 300  
tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggtta gtcagcctc caccaagggt 360  
ccatcggctc tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg 420  
ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa cgggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480  
ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactcctc 540  
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600  
aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agcccaaate ttgtgacaaa 660  
actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaagcagcgg ggggaccgtc agtcttctc 720  
ttcccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccga cccctgaggt cacatgcgtg 780  
gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840  
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgggtg 900  
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgaag 960  
gtctcaaca aagccctccc agccccate gagaaaacca tctccaaagc caaaggcag 1020  
ccccgagaac cacaggtgta caccctgcc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1080  
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tateccagc acatcgccgt ggagtgggag 1140



agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgctgctgga ctccgacggc 1200  
 tcctttcttc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260  
 ttctcatgct ccgatgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1320  
 ctgtctccgg gtaaa 1335

<210> 170  
 <211> 1335  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 170  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagtg 60  
 agctgcaaag cctccgata tacctttact tcttcttata ttaattgggt cggccaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagt gatgggcaat attaactctg ctactggtca tgctgattat 180  
 gctcagaagt ttcagggtcg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gccgcctgcg tagcgatgat acggccgtgt attattgogc gcgtgggtgt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggta gctcagcctc caccaagggt 360  
 ccacgtgtct tccccctggc accctctcc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg 420  
 ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa cgggtgacgg tgctgtggaa ctcaggcgcc 480  
 ctgaccagcg gcggtcacac cttcccggct gtctacagt cctcaggact ctactccctc 540  
 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600  
 aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agcccaaac ttgtgacaaa 660  
 actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaagcagcgg ggggaccgtc agtcttctc 720  
 ttcccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccga cccctgaggt cacatgctg 780

gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840  
 gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgggtg 900  
 gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggtgaatg gcaaggagta caagtgaag 960  
 gtctccaaca aagccctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020  
 ccccgagaac cacaggtgta caccctgcc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1080  
 gtcagcctga cctgcctggt caaagcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140  
 agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200  
 tcctttctcc tctacagcaa gtcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260  
 ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1320  
 ctgtctccgg gtaaa 1335

<210> 171  
 <211> 651  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 171  
 cagagcgccc tgaccagcc cgccagcgtg tccggcagcc caggccagtc tatcacaate 60  
 agctgcaccg gcacctccag cgacgtgggc agctacaact acgtgaactg gtatcagcag 120  
 caccocggca aggccccaa gctgatgac tacggcgtga gcaagaggcc cagcggcgtg 180  
 tccaacaggt tcagcggcag caagagcggc aacaccgcca gcctgacaat cagtgggctg 240  
 caggctgagg acgaggccga ctactactgc ggcaccttg cggcgggac atactacgge 300  
 gtgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtg ctgggccagc ctaaggctgc cccagcgtg 360  
 acctgttcc cccagcag cgaggagctg caggccaaca aggccaccct ggtgtgectg 420



atcagcgact tctaccagg cgccgtgacc gtggcctgga aggccgacag cagccccgtg 480  
aaggccggcg tggagaccac cacccccagc aagcagagca acaacaagta cgccgccagc 540  
agctacctga gcctgacccc cgagcagtgg aagagccaca ggtcctacag ctgccaggtg 600  
accacagagg gcagcacctg gaaaagacc gtggcccaaa ccgagtgcag c 651

<210> 172  
<211> 651  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 輕鏈

<400> 172  
cagagcgccc tgaccagcc cgccagcgtg tccggcagcc caggccagtc taccacaatc 60  
agctgcaccg gcacctccag cgacgtgggc agctacaact acgtgaactg gtatcagcag 120  
cacccccgca aggcccccaa gctgatgac tacggcgtga gcaagaggcc cagcggcgtg 180  
tccaacaggt tcagcggcag caagagcggc aacaccgcca gcctgacaat cagtgggctg 240  
caggctgagg acgaggccga ctactactgc ggcaccttg ccggcggatc atactacggc 300  
gtgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtg ctgggccagc ctaaggctgc ccccagcgtg 360  
accctgttc cccccagcag cgaggagctg caggccaaca aggccaccct ggtgtgcctg 420  
atcagcgact tctaccagg cgccgtgacc gtggcctgga aggccgacag cagccccgtg 480  
aaggccggcg tggagaccac cacccccagc aagcagagca acaacaagta cgccgccagc 540  
agctacctga gcctgacccc cgagcagtgg aagagccaca ggtcctacag ctgccaggtg 600  
accacagagg gcagcacctg gaaaagacc gtggcccaaa ccgagtgcag c 651

<210> 173  
<211> 651

<212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 173  
 cagagcgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60  
 tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggt tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
 catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
 agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgcga gcctgaccat tagcggcctg 240  
 caagcgggaag acgaagcggga ttattattgc ggtacttttg ctgggtggttc ttattatggt 300  
 gtgtttggcg gcggcacgaa gttaaccgtc ctaggtcagc ccaaggctgc ccctcggtc 360  
 actctgttcc cgcctcctc tgaggagctt caagccaaca aggccacact ggtgtgtctc 420  
 ataagtgact tctaccggg agccgtgaca gtggcctgga aggcagatag cagccccgtc 480  
 aaggcgggag tggagaccac cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgcggccagc 540  
 agctatctga gcctgacgcc tgagcagtgg aagtcaccaca gaagctacag ctgccaggtc 600  
 acgcatgaag ggagcaccgt ggagaagaca gtggccccta cagaatgttc a 651

<210> 174  
 <211> 651  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 174  
 cagagcgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60  
 tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggt tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
 catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180



agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gcctgacat tagcggcctg 240  
 caagcggaag acgaagcgga ttattattgc ggtacttttg ctggtggttc ttattatggt 300  
 gtgtttggcg gcggcacgaa gtaaccgtc ctaggtcagc ccaaggctgc ccctcggtc 360  
 actctgttcc cgcctcctc tgaggagctt caagccaaca aggccacact ggtgtgtctc 420  
 ataagtgact tctaccggg agccgtgaca gtggcctgga aggcagatag cagccccgtc 480  
 aaggcgggag tggagaccac cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgcggccagc 540  
 agctatctga gcctgacgcc tgagcagtg aagtcaccaca gaagctacag ctgccaggtc 600  
 acgcatgaag ggagcacctg ggagaagaca gtggccccta cagaatgttc a 651

<210> 175  
 <211> 651  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 輕鏈

<400> 175  
 cagagcgcac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60  
 tcgtgtacgg gtactagcag cgatgttggc tcttataatt atgtgaattg gtaccagcag 120  
 catcccggga aggcgccgaa acttatgatt tatggtgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180  
 agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gcctgacat tagcggcctg 240  
 caagcggaag acgaagcgga ttattattgc ggtacttttg ctggtggttc ttattatggt 300  
 gtgtttggcg gcggcacgaa gtaaccgtc ctaggtcagc ccaaggctgc ccctcggtc 360  
 actctgttcc cgcctcctc tgaggagctt caagccaaca aggccacact ggtgtgtctc 420  
 ataagtgact tctaccggg agccgtgaca gtggcctgga aggcagatag cagccccgtc 480  
 aaggcgggag tggagaccac cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgcggccagc 540



agctatctga gctgacgcc tgagcagtgg aagtcccaca gaagctacag ctgccaggtc 600

acgcatgaag ggagcacctg ggagaagaca gtggccccta cagaatgttc a 651

<210> 176  
 <211> 1323  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 176  
 cagggtgcagc tggtgcagag cggagctgag gtgaagaagc caggcgccag cgtcaagggtg 60

tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc agcagctaca tcaactgggt cggccaggct 120

cctgggcagg gactggagtg gatgggcacc atcaaccccg tgcggcag caccagctac 180

gccagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca ccagcatcag caccgcctac 240

atggagctgt ccaggetgag aagcagcagc accgccgtgt actactgcgc caggggcggc 300

tggttcgact actggggcca gggcacctg gtgaccgtgt cctcagctag caccaagggc 360

cccagcgtgt tccccctggc ccctgcagc agaagcacca gcgagagcac agccgcctg 420

ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgag ccagtgaccg tgcctggaa cagcggagcc 480

ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540

tccagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcaac ttcggcacc agacctacac ctgcaacgtg 600

gaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaccgtgg agaggaagtg ctgcgtggag 660

tgccccctt gccagcccc ccagtgccc ggaccctccg tgttctggt ccccccaag 720

cccaaggaca ccctgatgat cagcaggacc ccgaggtga cctgcgtggt ggtggacgtg 780

agccaagagg acccagaggt gcagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcacaac 840

gccaagacca agcccagaga ggaacagttt aacagcacct tcagggtggt gtcctgtcgtg 900



accgtggtgc accaggactg gctgaacggc aaagagtaca agtgcaaggt ctccaacaag 960  
 ggctgcccag ccccatcga gaaaaccatc agcaagacca agggccagcc acgggagccc 1020  
 caggtgtaca ccctgcccc cagccgggag gaaatgacca agaaccaggt gtcctgacc 1080  
 tgtctggtga agggcttcta ccccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caacggccag 1140  
 cccgagaaca actacaagac ccccccccc atgctggaca gcgacggcag cttcttctg 1200  
 tacagcaagc tgacagtga caagagcagg tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc 1260  
 gtgatgcagc aggcctgca caaccactac accagaaga gcctgagcct gtccccggc 1320  
 aag 1323

<210> 177  
 <211> 1323  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 177  
 caggtgcagc tggcagag cggagctgag gtgaagaagc caggcggcag cgtcaaggtg 60  
 tcttcaagg ccagcggcta caccttacc agcagctaca tcaactgggt gcgccaggct 120  
 ccagggcagg gactggagtg gatgggccc atcaacgcc ccagcggcat gaccagatac 180  
 gccagaagt tccagggcag agtcacaatg accagggaca cctctatcag caccgcctac 240  
 atggagctgt ccaggctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc caggggccc 300  
 tggttcgact actggggcca gggcacctg gtgaccgtgt cctcagctag caccaagggc 360  
 ccagcgtgt tccccctggc ccctgcagc agaagcacca gcgagagcac agccgccctg 420  
 ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgag ccagtgaccg tgtcctggaa cagcggagcc 480  
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540

tccagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcaac ttcggcacc agacctacac ctgcaacgtg 600  
gaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaccgtgg agaggaagtg ctgctgtggag 660  
tgccccctt gccagcccc ccagtgggc ggaccctccg tgttcctgtt ccccccaag 720  
cccaaggaca ccctgatgat cagcaggacc cccgaggtga cctgctgtgt ggtggacgtg 780  
agccacgagg acccagaggt gcagttcaac tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaac 840  
gccaagacca agcccagaga ggaacagttt aacagcacct tcagggtggt gtccgtgctg 900  
accgtggtgc accaggactg gctgaacggc aaagagtaca agtgcaaggt ctccaacaag 960  
ggcctgccag ccccatcga gaaaaccatc agcaagacca agggccagcc acgggagccc 1020  
caggtgtaca ccctgcccc cagccgggag gaaatgacca agaaccaggt gtcctgacc 1080  
tgtctgtgta agggcttcta ccccagcgac atgcocgtgg agtgggagag caacggccag 1140  
cccgagaaca actacaagac ccccccccc atgtctggaca gcgacggcag cttcttctg 1200  
tacagcaagc tgacagtgga caagagcagg tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc 1260  
gtgatgcacg aggccctgca caaccactac acccagaaga gcctgagcct gtccccggc 1320  
aag 1323

<210> 178  
<211> 1323  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 重鏈

<400> 178  
caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagtg 60  
agctgcaaag cctccgata tacctttact tcttcttata ttaattgggt ccgccaagcc 120  
cctgggcagg gtctcgagtg gatgggcaat attaatgctg ctgctgttat tactctttat 180



gctcagaagt ttcagggtcg ggtcacatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
atggaactga gccgcctgcg tagcgatgat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300  
tggtttgatt attggggcca aggcacccctg gtgacggtta gtcagcttc caccaagggc 360  
cccagcgtgt tccccctggc cccctgcagc agaagcacca gcgagagcac agccgccctg 420  
ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgagctggaa cagcggagcc 480  
ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540  
agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcaac ttcggcacc agacctacac ctgcaacgtg 600  
gaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaccgtgg agcgggaagtg ctgcgtggag 660  
tgccccccct gcctgcccc tctgtggcc ggaccctccg tgttctggt ccccccaag 720  
cccaaggaca ccctgatgat cagccggacc cccgaggatga cctgcgtggt ggtggacgtg 780  
agccacgagg accccgaggt gcagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcacaac 840  
gccaagacca agccccggga ggaacagttc aacagcacct tccgggtggt gtccgtgctg 900  
accgtggtgc accaggactg gctgaacggc aaagaataca agtgaaggt gtccaacaag 960  
ggcctgcctg cccccatga gaaaaccatc agcaagacaa agggccagcc cagggaacct 1020  
caggtgtaca ccctgcccc cagccgggag gaaatgacca agaaccaggt gtccctgacc 1080  
tgtctggtga agggcttcta ccccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caacggccag 1140  
cccgagaaca actacaagac ccccccccc atgctggaca gcgacggcag cttcttctg 1200  
tacagcaagc tgacagtgga caagagccgg tggcagcagg gcaacgtggt cagctgcagc 1260  
gtgatgcacg aggcctgca caaccactac acccagaaga gcctgagcct gtccccggc 1320  
aaa 1323

<210> 179

<211> 1323

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 重鏈

&lt;400&gt; 179

caggtgcaat tggttcagag cggcgcgaa gtgaaaaaac cggcgcgag cgtgaaagtg 60  
agctgcaaag cctccggata tacctttact tcttcttata ttaattgggt ccgccaagcc 120  
cctgggcagg gtctcgagtg gatgggcggt attaatcctc ctgctggtac tacttcttat 180  
gctcagaagt ttcagggtcg ggtcacatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
atggaactga gccgcctcgc tagcgatgat acggccgtgt attattgcgc gcgtgggtgg 300  
tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctcagcttc caccaagggc 360  
cccagcgtgt tccccctggc ccctgcagc agaagcacca gcgagagcac agccgccctg 420  
ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgagctggaa cagcggagcc 480  
ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540  
agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcaac ttcggcacc agacctacac ctgcaacgtg 600  
gaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaccgtgg agcggaaagtg ctgcgtggag 660  
tgccccccct gcctgcccc tctgtggcc ggaccctcgc tgttctggt ccccccaag 720  
ccaaggaca cctgatgat cagccggacc cccgaggtga cctgcgtggt ggtggacgtg 780  
agccacgagg accccgaggt gcagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcacaac 840  
gccaagacca agccccgga ggaacagttc aacagcacct tccgggtggt gtccgtgctg 900  
accgtggtgc accaggactg gctgaacggc aaagaataca agtgcaaggt gtccaacaag 960  
ggcctgcctg cccccatga gaaaaccatc agcaagaaa agggccagcc cagggaaacc 1020  
caggtgtaca cctgcccc cagccgggag gaaatgacca agaaccaggt gtcctgacc 1080  
tgtctggtga agggcttcta cccagcgcac atcgccgtgg agtgggagag caacggccag 1140



cccgagaaca actacaagac ccccccccc atgctggaca gcgacggcag cttcttctg 1200  
 tacagcaagc tgacagtgga caagagccgg tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc 1260  
 gtgatgcagc aggcctgca caaccactac acccagaaga gcctgagcct gtccccggc 1320  
 aaa 1323

<210> 180  
 <211> 1323  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重鏈

<400> 180  
 caggtgcaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cggcgcgag cgtgaaagt 60  
 agctgcaaag cctccgata taccttact tcttctata ttaattgggt ccgccaagcc 120  
 cctgggcagg gtctcgagt gatgggcaat attaactctg ctactggtca tgctgattat 180  
 gctcagaagt ttcagggtcg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat 240  
 atggaactga gccgcctgcg tagcgatgat acggccgtgt attattgcgc gcgtggtggt 300  
 tggtttgatt attggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctcagcttc caccaagggc 360  
 cccagcgtgt tccccctggc cccctgcagc agaagcacca gcgagagcac agccgccctg 420  
 ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgagctggaa cagcggagcc 480  
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg 540  
 agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcaac ttcggcacc agacctacac ctgcaacgtg 600  
 gaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaccgtgg agcgggaagt ctgcgtggag 660  
 tgccccccct gccctgcccc tcctgtggcc ggaccctccg tgttctgtt ccccccaag 720  
 cccaaggaca ccctgatgat cagccggacc cccgaggtga cctgcgtggt ggtggacgtg 780

```

agccacgagg accccgaggt gcagttcaac tggtagtgg acggcgtgga ggtgcacaac      840
gccaagacca agccccggga ggaacagttc aacagcacct tccgggtggt gtccgtgctg      900
accgtggtgc accaggactg gctgaacggc aaagaataca agtgcaaggt gtccaacaag      960
ggcctgctg cccccatcga gaaaaccatc agcaagaaa agggccagcc caggaaccc      1020
caggtgtaca ccctgcccc cagccgggag gaaatgacca agaaccaggt gtcctgacc      1080
tgtctggtga agggcttcta ccccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caacggccag      1140
cccgagaaca actacaagac cacccccccc atgctggaca gcgacggcag cttcttctg      1200
tacagcaagc tgacagtgga caagagccgg tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc      1260
gtgatgcacg aggccctgca caaccactac acccagaaga gcctgagcct gtcccccgcc      1320
aaa                                                                           1323

```

<210> 181  
 <211> 512  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 181

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

Ala Gly Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr  
                   20                    25                    30

Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg  
                   35                    40                    45

Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg  
                   50                    55                    60



Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp  
65 70 75 80

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

Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg  
100 105 110

Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro  
115 120 125

Pro Pro Thr Ala Pro Thr Leu Leu Thr Val Leu Ala Tyr Ser Leu Leu  
130 135 140

Pro Ile Gly Gly Leu Ser Leu Ile Val Leu Leu Ala Phe Trp Met Tyr  
145 150 155 160

Arg His Arg Lys Pro Pro Tyr Gly His Val Asp Ile His Glu Asp Pro  
165 170 175

Gly Pro Pro Pro Pro Ser Pro Leu Val Gly Leu Lys Pro Leu Gln Leu  
180 185 190

Leu Glu Ile Lys Ala Arg Gly Arg Phe Gly Cys Val Trp Lys Ala Gln  
195 200 205

Leu Met Asn Asp Phe Val Ala Val Lys Ile Phe Pro Leu Gln Asp Lys  
210 215 220

Gln Ser Trp Gln Ser Glu Arg Glu Ile Phe Ser Thr Pro Gly Met Lys  
225 230 235 240



His Glu Asn Leu Leu Gln Phe Ile Ala Ala Glu Lys Arg Gly Ser Asn  
 245 250 255

Leu Glu Val Glu Leu Trp Leu Ile Thr Ala Phe His Asp Lys Gly Ser  
 260 265 270

Leu Thr Asp Tyr Leu Lys Gly Asn Ile Ile Thr Trp Asn Glu Leu Cys  
 275 280 285

His Val Ala Glu Thr Met Ser Arg Gly Leu Ser Tyr Leu His Glu Asp  
 290 295 300

Val Pro Trp Cys Arg Gly Glu Gly His Lys Pro Ser Ile Ala His Arg  
 305 310 315 320

Asp Phe Lys Ser Lys Asn Val Leu Leu Lys Ser Asp Leu Thr Ala Val  
 325 330 335

Leu Ala Asp Phe Gly Leu Ala Val Arg Phe Glu Pro Gly Lys Pro Pro  
 340 345 350

Gly Asp Thr His Gly Gln Val Gly Thr Arg Arg Tyr Met Ala Pro Glu  
 355 360 365

Val Leu Glu Gly Ala Ile Asn Phe Gln Arg Asp Ala Phe Leu Arg Ile  
 370 375 380

Asp Met Tyr Ala Met Gly Leu Val Leu Trp Glu Leu Val Ser Arg Cys  
 385 390 395 400

Lys Ala Ala Asp Gly Pro Val Asp Glu Tyr Met Leu Pro Phe Glu Glu  
 405 410 415



Glu Ile Gly Gln His Pro Ser Leu Glu Glu Leu Gln Glu Val Val Val  
 420 425 430

His Lys Lys Met Arg Pro Thr Ile Lys Asp His Trp Leu Lys His Pro  
 435 440 445

Gly Leu Ala Gln Leu Cys Val Thr Ile Glu Ala Cys Trp Asp His Asp  
 450 455 460

Ala Glu Ala Arg Leu Ser Ala Gly Cys Val Glu Glu Arg Val Ser Leu  
 465 470 475 480

Ile Arg Arg Ser Val Asn Gly Thr Thr Ser Asp Cys Leu Val Ser Leu  
 485 490 495

Val Thr Ser Val Thr Asn Val Asp Leu Pro Pro Lys Glu Ser Ser Ile  
 500 505 510

<210> 182

<211> 116

<212> PRT

<213> 智人

<400> 182

Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala  
 1 5 10 15

Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu  
 20 25 30

Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser  
 35 40 45

Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe  
50 55 60

Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln  
65 70 75 80

Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr  
85 90 95

His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro  
100 105 110

Thr Ala Pro Thr  
115

<210> 183  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> 智人

<400> 183

Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Ser Trp Leu Asp Asp Phe Asn Ser  
1 5 10 15

<210> 184  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> 智人

<400> 184

Val Lys Lys Gly Ser Trp Leu Asp Asp Phe Asn Ser Tyr Asp Arg  
1 5 10 15

<210> 185  
<211> 15



<212> PRT  
<213> 智人

<400> 185

Gly Ser Trp Leu Asp Asp Phe Asn Ser Tyr Asp Arg Gln Glu Ser  
1                   5                   10                   15

<210> 186  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 智人

<400> 186

Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys  
1                   5

<210> 187  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> 智人

<400> 187

Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp  
1                   5                   10                   15

<210> 188  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 智人

<400> 188

Trp Leu Asp Asp Phe Asn  
1                   5

<210> 189  
<211> 5

<212> PRT  
<213> 智人

<400> 189

Glu Gln Asp Lys Arg  
1                    5

<210> 190  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 智人

<400> 190

Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr  
1                    5                                    10



發明專利說明書

公告本

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：99113107

※申請日：99-04-26 ※IPC 分類：C07K; A61K<sup>39</sup>/395 (2006.01)

## 一、發明名稱：(中文/英文)

用於增加肌肉生長之組合物及方法

C07K<sup>16</sup>/28 (2006.01)A61P<sup>21</sup>/<sub>00</sub> (2006.01)COMPOSITIONS AND METHODS FOR INCREASING MUSCLE  
GROWTH

## 二、中文發明摘要：

本發明係關於抗活化素受體 IIB (ActRIIB) 抗體領域。特定言之，本發明係關於該等抗體用於治療肌肉病症(諸如因疾病或不使用之肌肉萎縮)的用途。

## 三、英文發明摘要：

This invention is in the field of anti-Activin receptor IIB (ActRIIB) antibodies. In particular, it relates to the use of said antibodies for treating muscle disorders, such as muscle wasting due to disease or disuse.





















四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(6)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)



## 七、申請專利範圍：

1. 一種抗 ActRIIB 抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含：

(a) 重鏈可變區 CDR1，其包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；重鏈可變區 CDR2，其包含 SEQ ID NO: 23 之胺基酸序列；重鏈可變區 CDR3，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；輕鏈可變區 CDR1，其包含 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列；輕鏈可變區 CDR2，其包含 SEQ ID NO: 65 之胺基酸序列；及輕鏈可變區 CDR3，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列；或

(b) 重鏈可變區 CDR1，其包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；重鏈可變區 CDR2，其包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列；重鏈可變區 CDR3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；輕鏈可變區 CDR1，其包含 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列；輕鏈可變區 CDR2，其包含 SEQ ID NO: 66 之胺基酸序列；及輕鏈可變區 CDR3，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列。

2. 一種抗 ActRIIB 抗體或其抗原結合部分，其包含：

(i) SEQ ID NO: 93 之可變輕鏈序列及 SEQ ID NO: 107 之可變重鏈序列；或

(j) SEQ ID NO: 94 之可變輕鏈序列及 SEQ ID NO: 108 之可變重鏈序列。

3. 一種抗 ActRIIB 抗體或其抗原結合部分，其包含：

(a) SEQ ID NO: 146 之重鏈序列及 SEQ ID NO: 141 之輕

鏈序列；或

(b) SEQ ID NO: 147之重鏈序列及SEQ ID NO: 142之輕鏈序列。

4. 如請求項1至3中任一項之抗ActRIIB抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分為IgG1同型(isotype)。
5. 如請求項1至3中任一項之抗ActRIIB抗體或其抗原結合部分，其經由Fc區突變而具有改變之效應功能。
6. 如請求項1至3中任一項之抗ActRIIB抗體或其抗原結合部分，其係用作藥物。
7. 如請求項1至3中任一項之抗ActRIIB抗體或其抗原結合部分，其係用於肌肉骨骼疾病或病症之治療。
8. 如請求項1或2之抗ActRIIB抗體或其抗原結合部分，其包含(a) SEQ ID NO: 93之輕鏈可變區序列及(b) 由包含於SEQ ID NO: 146中之重鏈序列胺基酸1-115組成的重鏈可變區序列。
9. 如請求項1至3中任一項之抗ActRIIB抗體或其抗原結合部分，其中該抗體結合於ActRIIB之親和力為其結合於ActRIIA之親和力的10倍或10倍以上。
10. 一種分離之聚核苷酸序列，其編碼如請求項1至9中任一項之抗ActRIIB抗體或其抗原結合部分。
11. 如請求項10之分離之聚核苷酸序列，其包含：
  - (a) 編碼包含SEQ ID NO: 121及135之可變區的核苷酸序列，或

- (b) 編碼包含SEQ ID NO: 122及136之可變區的核苷酸序列，或
- (c) 編碼包含SEQ ID NO: 161及166之輕鏈的核苷酸序列，或
- (d) 編碼包含SEQ ID NO: 162及167之重鏈的核苷酸序列。
12. 一種選殖或表現載體，其包含一或多個如請求項10或11之分離之聚核苷酸序列。
13. 一種分離之宿主細胞，其包含一或多個如請求項12之載體。
14. 一種產生如請求項1至9中任一項之抗ActRIIB抗體或其抗原結合部分之方法，其包含培養如請求項13之宿主細胞及分離該抗ActRIIB抗體或其抗原結合部分。
15. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1至9中任一項之抗ActRIIB抗體或其抗原結合部分。
16. 如請求項15之醫藥組合物，其進一步包含醫藥學上可接受之稀釋劑或載劑。
17. 如請求項15或16之醫藥組合物，其進一步包含一或多種其他活性劑。
18. 如請求項17之醫藥組合物，其中該其他活性劑係選自IGF-1、IGF-2、或IGF-1或IGF-2之變異體、抗肌肉生長抑制素抗體、肌肉生長抑制素前肽、結合ActRIIB但不使其活化之肌肉生長抑制素誘餌蛋白、 $\beta$ 2促效劑、饑餓激素促效劑(Ghrelin agonist)、SARM、GH促效劑/模擬

劑或卵泡抑素。

19. 如請求項15或16之醫藥組合物，其係用作藥物。
20. 如請求項15或16之醫藥組合物，其係用於肌肉骨骼疾病或病症之治療。
21. 如請求項20之醫藥組合物，其中該肌肉骨骼疾病或病症係肌肉萎縮。
22. 一種如請求項1至5中任一項之抗ActRIIB抗體或其抗原結合部分或如請求項15至18中任一項之醫藥組合物之用途，其係用於製造治療肌肉骨骼疾病或病症之藥物。
23. 如請求項22之用途，其中該肌肉骨骼疾病或病症為肌肉萎縮。
24. 一種抗體，其係由pBW522(BCRC 940595)或pBW524( BCRC 940596)編碼。