



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101589062 B

(45) 授权公告日 2014. 08. 20

(21) 申请号 200780042973. X

(22) 申请日 2007. 09. 19

(30) 优先权数据

60/846, 202 2006. 09. 20 US

60/968, 977 2007. 08. 30 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2009. 05. 20

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2007/020349 2007. 09. 19

(87) PCT国际申请的公布数据

W02008/036341 EN 2008. 03. 27

(73) 专利权人 安姆根有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 H·颜 S·S·胡 T·C·布恩

R·A·林伯格

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 刘玥 黄可峻

(51) Int. Cl.

C07K 16/28(2006. 01)

A61K 39/395(2006. 01)

C12N 15/13(2006. 01)

A61P 3/08(2006. 01)

(56) 对比文件

WO 9535374 A1, 1995. 12. 28, 全文.

EP 1514932 A2, 2005. 03. 16, 全文.

WRIGHT L M ET AL. Structure of Fab hGR-2 F6, a competitive antagonist of the glucagon receptor. 《CRYSTALLOGRAPHICA. SECTION D, BIOLOGICAL CRYSTALLOGRAPHY》. 2000, 第 56 卷 (第 Pt 5 期), 573-580.

BUGGY J ET AL. Human glucagon receptor monoclonal. 《HORMONE AND METABOLIC RESEARC》. 1996, 第 28 卷 (第 5 期), 215-219.

审查员 邢维玲

权利要求书3页 说明书74页

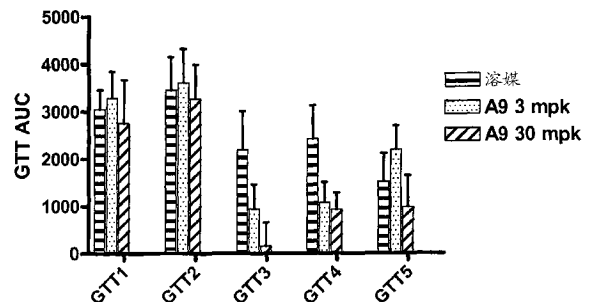
序列表124页 附图6页

(54) 发明名称

与胰高血糖素受体抗体相关的组合物和方法

(57) 摘要

本发明提供与抗原结合蛋白尤其是与胰高血糖素受体特异性结合的抗体相关的组合物和方法。本发明提供编码该抗原结合蛋白和抗体的核酸以及制备和使用该类抗体的方法,包括通过给予需要治疗的受试者该类抗体以治疗和预防 2 型糖尿病和相关病症的方法。



1. 分离的抗原结合蛋白,其包含:
 - a. 包含以下的轻链可变结构域:
 - i. SEQ ID NO:14 所示的轻链 CDR1 序列;
 - ii. SEQ ID NO:45 或 SEQ ID NO:50 所示的轻链 CDR2 序列;
 - iii. SEQ ID NO:74 所示的轻链 CDR3 序列;和
 - b. 包含以下的重链可变结构域:
 - i. SEQ ID NO:102 所示的重链 CDR1 序列;
 - ii. SEQ ID NO:128 所示的重链 CDR2 序列;
 - iii. SEQ ID NO:169 所示的重链 CDR3 序列;其中所述抗原结合蛋白与人胰高血糖素受体特异性结合。
2. 权利要求 1 的抗原结合蛋白,其包含:
 - a. 轻链可变结构域,其选自 SEQ ID NO:217、219 或 229 所示的氨基酸序列;
 - b. 重链可变结构域,其选自 SEQ ID NO:263、265 或 275 的氨基酸序列;或
 - c. 轻链可变结构域和重链可变结构域的组合,其中轻链可变结构域和重链可变结构域选自以下组合:SEQ ID NO:217 所示的轻链可变结构域和 SEQ ID NO:263 所示的重链可变结构域;SEQ ID NO:219 所示的轻链可变结构域和 SEQ ID NO:265 所示的重链可变结构域;和 SEQ ID NO:229 所示的轻链可变结构域和 SEQ ID NO:275 所示的重链可变结构域,其中所述抗原结合蛋白与人胰高血糖素受体特异性结合。
3. 权利要求 2 的抗原结合蛋白,其中所述轻链可变结构域与重链可变结构域选自以下组合:SEQ ID NO:217 所示的轻链可变结构域和 SEQ ID NO:263 所示的重链可变结构域;SEQ ID NO:219 所示的轻链可变结构域和 SEQ ID NO:265 所示的重链可变结构域;和 SEQ ID NO:229 所示的轻链可变结构域和 SEQ ID NO:275 所示的重链可变结构域,其中所述抗原结合蛋白与人胰高血糖素受体特异性结合。
4. 权利要求 3 的抗原结合蛋白,其进一步包含:
 - a. SEQ ID NO:305 的轻链恒定序列;
 - b. SEQ ID NO:307 的轻链恒定序列;
 - c. SEQ ID NO:309 的重链恒定序列;
 - d. SEQ ID NO:305 的轻链恒定序列和 SEQ ID NO:309 的重链恒定序列,或
 - e. SEQ ID NO:307 的轻链恒定序列和 SEQ ID NO:309 的重链恒定序列。
5. 权利要求 1-4 中任一项的分离的结合蛋白,其中所述抗原结合蛋白选自人类抗体、人源化抗体、嵌合抗体、单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体、抗原结合抗体片段、单链抗体、双链抗体、三链抗体、四链抗体、Fab 片段、F(fa')_x 片段、结构域抗体、IgD 抗体、IgE 抗体、IgM 抗体、IgG1 抗体、IgG2 抗体、IgG3 抗体、IgG4 抗体和在铰链区至少具有一个突变的 IgG4 抗体。
6. 权利要求 5 的抗原结合蛋白,其中所述结合蛋白为人类抗体。
7. 权利要求 6 的抗原结合蛋白,其中所述抗体包含:
 - a. SEQ ID NO:312 所示的轻链和 SEQ ID NO:311 所示的重链;或
 - b. SEQ ID NO:310 所示的轻链和 SEQ ID NO:311 所示的重链。
8. 权利要求 1-4 中任一项的抗原结合蛋白,当其与入胰高血糖素受体结合时,在人胰

高血糖素受体上与参比抗体交叉竞争结合，

其中所述参比抗体包含选自以下的轻链可变结构域和重链可变结构域组合：SEQ ID NO：217 所示的轻链可变结构域和 SEQ ID NO：263 所示的重链可变结构域；SEQ ID NO：219 所示的轻链可变结构域和 SEQ ID NO：265 所示的重链可变结构域；和 SEQ ID NO：229 所示的轻链可变结构域和 SEQ ID NO：275 所示的重链可变结构域。

9. 分离的人类抗体，当其与人类胰高血糖素受体结合时，在人类胰高血糖素受体上与参比抗体交叉竞争结合，

其中所述参比抗体为包含 SEQ ID NO：312 所示轻链和 SEQ ID NO：311 所示重链的 A-3。

10. 权利要求 9 的分离的人类抗体，当其与人类胰高血糖素受体结合时，与人类胰高血糖素受体的氨基酸 Ser80 至 Ser119 特异性结合。

11. 一种药用组合物，其包含与药用可接受载体混合的权利要求 1-8 中任一项的抗原结合蛋白。

12. 一种药用组合物，其包含与药用可接受载体混合的权利要求 9 或 10 的人类抗体。

13. 一种分离的核酸，其包含编码权利要求 1-8 中任一项的抗原结合蛋白的轻链可变结构域、重链可变结构域或二者的多聚核苷酸序列。

14. 权利要求 13 的分离的核酸，其中编码轻链序列的多聚核苷酸序列选自 SEQ ID NO：216、218 和 228；编码重链序列的多聚核苷酸序列选自 SEQ ID NO：262、264 和 274。

15. 一种重组表达载体，其包含权利要求 13 或 14 的核酸。

16. 一种宿主细胞，其包含权利要求 15 的载体。

17. 一种杂交瘤，其能够生产权利要求 6 的抗体。

18. 生产与人类胰高血糖素受体特异性结合的抗原结合蛋白的方法，其包括在允许表达所述抗原结合蛋白的条件下培养权利要求 16 的宿主细胞。

19. 权利要求 11 的组合物在制备用于降低需要治疗的受试者的血糖的药物中的用途。

20. 权利要求 11 的组合物在制备用于提高需要治疗的受试者的葡萄糖耐量的药物中的用途。

21. 权利要求 11 的组合物在制备用于在需要治疗的受试者中预防或治疗 2 型糖尿病或相关病症的药物中的用途。

22. 权利要求 21 的用途，其中所述受试者为人受试者。

23. 权利要求 21 的用途，其中所述相关病症为高血糖症、空腹血糖受损、葡萄糖耐量降低、血脂异常和代谢综合症。

24. 权利要求 12 的组合物在制备用于在需要治疗的受试者中降低血糖的药物中的用途。

25. 权利要求 12 的组合物在制备用于在需要治疗的受试者中提高葡萄糖耐量的药物中的用途。

26. 权利要求 12 的组合物在制备用于在需要治疗的受试者中预防或治疗 2 型糖尿病或相关病症的药物中的用途。

27. 权利要求 26 的用途，其中所述受试者是人受试者。

28. 权利要求 26 的用途，其中所述相关病症为高血糖症、空腹血糖受损、葡萄糖耐量降低、血脂异常和代谢综合症。

29. 一种用于治疗 2 型糖尿病的药盒,其包含权利要求 11 的组合物。

30. 一种用于治疗 2 型糖尿病的药盒,其包含权利要求 12 的组合物。

31. 权利要求 11 或 12 的药用组合物在制备用于治疗可从降低血糖受益的病症的药物中的用途。

32. 权利要求 29 的用途,其中所述病症选自 2 型糖尿病、高血糖症、空腹血糖受损、葡萄糖耐量降低、血脂异常和代谢综合症。

与胰高血糖素受体抗体相关的组合物和方法

[0001] 相关申请的参考

[0002] 本申请要求 2006 年 12 月 20 日申请的美国临时申请序列号 60/846202 和 2007 年 8 月 30 日申请的美国临时申请序列号 60/968977 的权益, 依据其完整的公开内容并以参考形式并于本文。

发明领域

[0003] 本发明涉及与胰高血糖素受体抗体相关的组合物和方法

[0004] 发明背景

[0005] 胰高血糖素是胰 α 细胞中由激素原转化酶 2 的细胞特异表达从其原型加工而成的 29 氨基酸激素 (Furuta 等, J. Biol. Chem. 276 :27197-27202(2001))。在禁食情况下, 胰高血糖素分泌增加以响应葡萄糖水平的降低。增加的胰高血糖素分泌通过促进肝糖原分解和葡萄糖异生刺激葡萄糖生产。因此胰高血糖素平衡了胰岛素在维持动物正常葡萄糖水平中的作用。

[0006] 胰高血糖素受体 (GCGR) 是 G 蛋白偶联受体 (GCGR) 促胰液素亚族 (B 族) 的成员。胰高血糖素受体主要在肝 (其可调节肝葡萄糖输出) 和肾 (反应其在葡萄糖异生中的作用) 表达。胰高血糖素受体在肝脏中的活化刺激腺苷酸环化酶的活性和磷酸肌醇转活, 其可接着引起葡萄糖异生酶表达增加, 包括磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 (PEPCK)、果糖 -1,6- 二磷酸酶 (FBPase-1) 和葡萄糖 -6- 磷酸酶 (G-6-Pase)。此外, 胰高血糖素信号可活化糖原磷酸化酶并抑制糖原合成酶。

[0007] 研究显示更高的基础胰高血糖素水平和食后胰高血糖素分泌抑制缺乏可促成人糖尿病病症 (Muller 等, N Eng J Med 283 :109-115(1970))。靶向胰高血糖素产生或功能可为控制和降低血糖的方法。持续需要提供 II 型糖尿病的有效疗法。本发明通过提供治疗 II 型糖尿病和相关疾病的新颖组合物和方法解决了这一需要。

[0008] 发明概述

[0009] 一方面, 本发明提供了分离的抗原结合蛋白, 其包含以下之一 : a. 包含选自以下序列的轻链 CDR3 : i. 与选自 L1-L23 的轻链 CDR3 序列 (SEQ ID NOs :72 ;74、76、78、80、83、85、87、89、91、93、95、97、100) 相差总共不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR3 序列 ; ii. L Q X₂₁ N S X₂₂ P L T (SEQ ID NO :208), iii. Q A W D S X₂₃T V X₂₄ (SEQ ID NO :209) ; 和 b. 包含选自以下序列的重链 CDR3 序列 : i. 与选自 H1-H23 的重链 CDR3 序列 (SEQ ID NO :165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199) 相差总共不超过四个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR3 序列 ; ii. E X₂₅ X₂₆ X₂₇ Y D I L T G Y X₂₈ X₂₉ Y Y G X₃₀ D V (SEQ ID NO :210) iii. X₃₁ G G G F D Y (SEQ ID NO :211) ; 或 c. (a) 的轻链 CDR3 序列和 (b) 的重链 CDR3 序列 ; 其中 X₂₁ 为组氨酸残基或谷氨酰胺残基, X₂₂ 为天冬酰胺残基、天冬氨酸残基或酪氨酸残基, X₂₃ 为天冬酰胺残基或丝氨酸残基, X₂₄ 为异亮氨酸残基或缬氨酸残基, X₂₅ 为赖氨酸残基、谷氨酸残基或脯氨酸残基, X₂₆ 为天冬氨酸残基、苏氨酸残基、谷氨酰胺残基或脯氨酸残基, X₂₇ 为组氨酸残基或酪氨酸残

基, X_{28} 为天冬酰胺残基、组氨酸残基、天冬氨酸残基或苯丙氨酸残基, X_{29} 为酪氨酸残基、组氨酸残基或天冬酰胺残基, X_{30} 为亮氨酸残基或甲硫氨酸残基, X_{31} 为亮氨酸残基或甲硫氨酸残基, 其中所述抗原结合蛋白与人胰高血糖素受体特异性结合。

[0010] 另一方面, 该分离的结合蛋白进一步包括选自以下的氨基酸序列: a. 选自以下的轻链 CDR1 序列: i. 与 L1-L23CDR 序列 (SEQ ID NOs: 10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38 和 41) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR1; ii. R S X_1 Q S L L D X_2 X_3 D G T Y T L D (SEQ ID NO: 200); iii. R A S Q X_4 I R N D X_5 G (SEQ ID NO: 201); 以及 iv. S G D K L G D K Y X_6 C (SEQ ID NO: 202); 其中 X_1 为丝氨酸残基或苏氨酸残基, X_2 为精氨酸残基或丝氨酸残基, X_3 为天冬氨酸残基或丙氨酸残基, X_4 为甘氨酸残基或天冬氨酸残基, X_5 为亮氨酸残基或苯丙氨酸残基, X_6 为缬氨酸残基或丙氨酸残基, b. 选自以下的轻链 CDR2 序列: i. 与 L1-L23 的 CDR2 序列 (SEQ ID NOs: 43、45、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68 和 70) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR2; ii. A A S L X_9 S (SEQ ID NO: 204); 和 iii. Q X_{10} X_{11} K R P S (SEQ ID NO: 205); 其中 X_9 为谷氨酰胺残基或谷氨酸残基, X_{10} 为丝氨酸残基或苏氨酸残基, X_{11} 为苏氨酸残基或丝氨酸残基; c. 选自以下的重链 CDR1 序列: i. 与 H1-H23 的 CDR1 序列 (SEQ ID NOs: 102、104、106、108、111、113、115、117、118、120 和 122) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR1, ii. X_7 Y X_8 M H (SEQ ID NO: 203), 其中 X_7 为丝氨酸残基或苏氨酸残基, X_8 为甘氨酸残基或天冬氨酸残基; 以及 d. 选自以下的重链 CDR2: 与 H1-H23 的 CDR2 序列 (SEQ ID NOs: 124、126、128、130、132、134、136、138、140、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161 和 63) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR2; ii. X_{12} I W X_{13} D G S X_{14} K Y Y X_{15} D S V K G (SEQ ID NO: 206); 以及 iii. X_{16} I S X_{17} D G S X_{18} K Y X_{19} X_{20} D S V K G (SEQ ID NO: 207); 其中 X_{12} 为丝氨酸残基、苯丙氨酸残基、缬氨酸残基或谷氨酸残基, X_{13} 为酪氨酸残基或天冬酰胺残基, X_{14} 为天冬酰胺残基或谷氨酸残基, X_{15} 为缬氨酸残基或丙氨酸残基, X_{16} 为缬氨酸残基或苯丙氨酸残基, X_{17} 为组氨酸残基或天冬氨酸残基或酪氨酸残基, X_{18} 为天冬氨酸残基、天冬酰胺残基或组氨酸残基, X_{19} 为酪氨酸残基或丝氨酸残基, X_{20} 为丙氨酸残基或甘氨酸残基, 其中所述抗原结合蛋白与人胰高血糖素受体特异性结合。

[0011] 在另一方面, 该分离的结合蛋白包括选自以下的氨基酸序列: a. 与 L1-L23 的 CDR1 序列 (SEQ ID NOs: 10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38 和 41) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR1; b. 与 L1-L23 的 CDR2 序列 (SEQ ID NOs: 43、45、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68 和 70) 相差不超过一个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR2 序列; c. 与 L1-L23 的 CDR3 序列 (SEQ ID NOs: 72、74、76、78、80、83、85、87、89、91、93、95、97 和 100) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR3 序列; d. 与 H1-H23 的 CDR1 序列 (SEQ ID NOs: 102、104、106、108、111、113、115、117、118、120 和 122) 相差不超过一个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR1 序列; e. 与 H1-H23 的 CDR2 序列 (SEQ ID NOs: 124、126、128、130、132、134、138、140、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161 和 163) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR2 序列; 以及 f. 与 H1-H23 的 CDR3 序列 (SEQ ID NOs: 165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、和 199) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR3 序列, 其中所述抗原结合蛋白与人胰高血糖素受体特异性结合。

[0012] 在另一方面,该分离结合蛋白包含选自以下的氨基酸序列:a. 与 L1-L23 的 CDR 序列 (SEQ ID NOs :10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38 和 41) 相差不超过一个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR1 序列 ;b. L1-L23 的轻链 CDR2 序列,SEQ IDNOs : 43、45、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68 和 70 ;c. 与 L1-L23 的 CDR3 序列 (SEQ ID NOs : 72、74、76、78、80、83、85、87、89、91、93、95、97 和 100) 相差不超过一个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR3 序列 ;d. H1-H23 的重链 CDR1 序列,SEQID NOs :102、104、106、108、111、113、115、117、118、120 和 122 ;e. 与 H1-H23 的 CDR2 序列 (SEQ ID NOs :124、126、128、130、132、134、136、138、140、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161 和 163) 相差不超过一个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR2 序列 ;和 f. 与 H1-H23 的 CDR3 序列 (SEQ ID NOs :165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197 和 199) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR3 序列,其中所述抗原结合蛋白与胰高血糖素受体特异性结合。

[0013] 在另一方面,该分离的结合蛋白包含选自以下的氨基酸序列:a. L 1-L23 的轻链 CDR1 序列,SEQ ID NOs :10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38 和 41 ; b. L1-L23 的轻链 CDR3 序列,SEQ ID NOs :72、74、76、78、80、83、85、87、89、91、93、95、97 和 100 ;c. H1-H23 的重链 CDR2 序列,SEQ ID NOs :124、126、128、130、132、134、136、138、140、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161 和 163 ;和 d. 与 H1-H23 的 CDR3 序列 (SEQID NOs :165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197 和 199) 相差不超过一个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR3 序列,其中所述抗原结合蛋白与胰高血糖素受体特异性结合。

[0014] 在又另一方面,该分离的结合蛋白包含选自以下的氨基酸序列:a. H1-H23 的重链 CDR3 序列,SEQ ID NOs :165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197 和 199,其中所述抗原结合蛋白与胰高血糖素受体特异性结合。

[0015] 在另一方面,该分离的结合蛋白包含选自以下的两个氨基酸序列:a. 与 L1-L23 的 CDR1 序列 (SEQ ID NOs :10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38 和 41) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR1 序列 ;b. 与 L1-L23 的 CDR2 序列 (SEQID NOs :43、45、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68 和 70) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR2 序列 ;c. 与 L 1-L23 的 CDR3 序列 (SEQ ID NOs :72、74、76、78、80、83、85、87、89、91、93、95、97 和 100) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR3 序列 ;d. 与 H1-H23 的 CDR1 序列 (SEQ IDNOs :102、104、106、108、111、113、115、117、118、120 和 122) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR1 序列 ;e. 与 H1-H23 的 CDR2 序列 (SEQ ID NOs :124、126、128、130、132、134、136、138、140、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161 和 163) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR2 序列 ;和 f. 与 H1-H23 的 CDR3 序列 (SEQ ID NOs :165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197 和 199) 相差不超过四个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR3 序列,其中所述抗原结合蛋白与胰高血糖素受体特异性结合。

[0016] 在另一方面,该分离的结合蛋白包含选自以下的三个氨基酸序列:a. 与 L1-L23 的 CDR1 序列 (SEQ ID NOs :10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38 和 41) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR1 序列 ;b. 与 L1-L23 的 CDR2 序列 (SEQ

ID N0s :43、45、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68 和 70) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR2 序列 ;c. 与 L1-L23 的 CDR3 序列 (SEQ ID N0s :72、74、76、78、80、83、85、87、89、91、93、95、97 和 100) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR3 序列 ;d. 与 H1-H23 的 CDR1 序列 (SEQ ID N0s :102、104、106、108、111、113、115、117、118、120 和 122) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR1 序列 ;e. 与 H1-H23 的 CDR2 序列 (SEQ ID N0s :124、126、128、130、132、134、136、138、140、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161 和 163) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR2 序列 ;和 f. 与 H1-H23 的 CDR3 序列 (SEQ ID N0s :165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197 和 199) 相差不超过四个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR3 序列, 其中所述抗原结合蛋白与胰高血糖素受体特异性结合。

[0017] 在另一方面, 该分离的结合蛋白包含选自以下的四个氨基酸序列 :a. 与 L1-L23 的 CDR1 序列 (SEQ ID N0s :10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38 和 41) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR1 序列 ;b. 与 L 1-L23 的 CDR2 序列 (SEQ ID N0s :43、45、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68 和 70) 相差最多不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR2 序列 ;c. 与 L1-L23 的 CDR3 序列 (SEQ ID N0s :72、74、76、78、80、83、85、87、89、91、93、95、97 和 100) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR3 序列 ;d. 与 H1-H23 的 CDR1 序列 (SEQ ID N0s :102、104、106、108、111、113、115、117、118、120 和 122) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR1 序列 ;e. 与 H1-H23 的 CDR2 序列 (SEQ ID N0s :124、126、128、130、132、134、136、138、140、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161 和 163) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR2 序列 ;和 f. 与 H1-H23 的 CDR3 序列 (SEQ ID N0s :165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197 和 199) 相差最多不超过四个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR3 序列, 其中所述抗原结合蛋白与胰高血糖素受体特异性结合。在另一方面, 该分离的结合蛋白包含选自以下的五个氨基酸序列 :a. 与 L1-L23 的 CDR1 序列 (SEQ ID N0s :10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38 和 41) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR1 序列 ;b. 与 L1-L23 的 CDR2 序列 (SEQ ID N0s :43、45、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68 和 70) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR2 序列 ;c. 与 L1-L23 的 CDR3 序列 (SEQ ID N0s :72、74、76、78、80、83、85、87、89、91、93、95、97 和 100) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR3 序列 ;d. 与 H1-H23 的 CDR1 序列 (SEQ ID N0s :102、104、106、108、111、113、115、117、118、120 和 122) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR1 序列 ;e. 与 H1-H23 的 CDR2 序列 (SEQ ID N0s :124、126、128、130、132、134、136、138、140、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161 和 163) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR2 序列 ;和 f. 与 H1-H23 的 CDR3 序列 (SEQ ID N0s :165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197 和 199) 相差不超过四个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR3 序列, 其中所述抗原结合蛋白与胰高血糖素受体特异性结合。

[0018] 在另一方面, 该分离的结合蛋白包含 :a. 与 L1-L23 的 CDR1 序列 (SEQ ID N0s :10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38 和 41) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR1 序列 ;b. 与 L1-L23 的 CDR2 序列 (SEQ ID N0s :43、45、48、50、52、54、

56、58、60、62、64、66、68 和 70) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR2 序列 ;c. 与 L1-L23 的 CDR3 序列 (SEQ ID NOs :72、74、76、78、80、83、85、87、89、91、93、95、97 和 100) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的轻链 CDR3 序列 ;d. 与 H1-H23 的 CDR1 序列 (SEQ ID NOs :102、104、106、108、111、113、115、117、118、120 和 122) 相差不超过两个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR1 序列 ;e. 与 H1-H23 的 CDR2 序列 (SEQ ID NOs :124、126、128、130、132、134、136、138、140、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161 和 163) 相差不超过三个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR2 序列 ;和 f. 与 H1-H23 的 CDR3 序列 (SEQ ID NOs :165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197 和 199) 相差不超过四个氨基酸添加、替换和 / 或缺失的重链 CDR3 序列,其中所述抗原结合蛋白与胰高血糖素受体特异性结合。

[0019] 在另一方面,该分离抗原结合蛋白包含以下之一 :a. 包含以下的轻链可变结构域 :i. 选自 SEQ ID NOs :10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38 和 41 的轻链 CDR1 序列 ;选自 SEQ ID NOs :43、45、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68 和 70 的轻链 CDR2 序列 ;和 iii. 选自 SEQ ID NOs :72、74、76、78、80、83、85、87、89、91、93、95、97 和 100 的轻链 CDR3 序列 ;b. 包含以下的重链可变结构域 :i. 选自 SEQ ID NOs :102、104、106、108、111、113、115、117、118、120 和 122 的重链 CDR1 序列 ;ii 选自 SEQ ID NOs :124、126、128、130、132、134、136、138、140、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161 和 163 的重链 CDR2 序列 ;和 iii. 选自 SEQ ID NOs :165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197 和 199 的重链 CDR3 序列 ;或 c. (a) 的轻链可变结构域和 (b) 的重链可变结构域,其中所述抗原结合蛋白与人胰高血糖素受体特异性结合。

[0020] 在另一方面,该分离的抗原结合蛋白包含 :选自以下的轻链可变结构域 :i. 包含与选自 L1-L23 (SEQ ID NOs :213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、239、241、243、245、247、249、251、253、255 和 257) 的轻链可变结构域序列具有至少 80% 同一性的序列的氨基酸 ;ii. 由与编码 L1-L23 (SEQ ID NOs :212、214、216、218、220、222、224、226、228、230、232、234、236、238、240、242、244、246、248、250、252、254 和 256) 的轻链可变结构域序列的多聚核苷酸至少 80% 同一性的多聚核苷酸序列编码的氨基酸序列 ;iii. 由在中等严格条件下与由 L1-L23 (SEQ ID NOs :212、214、216、218、220、222、224、226、228、230、232、234、236、238、240、242、244、246、248、250、252、254 和 256) 的轻链可变结构域序列组成的多聚核苷酸的互补序列杂交的多聚核苷酸序列编码的氨基酸序列 ;b. 选自以下的重链可变结构域序列 :i. 与 H1-H23 (SEQ ID NOs :259、261、263、265、267、269、271、273、275、277、279、281、283、285、287、289、291、293、295、297、299、301 和 303) 的重链可变结构域序列至少 80% 相同的氨基酸序列 ;ii. 由与编码 H1-H23 (SEQ ID NOs :258、260、262、264、266、268、270、272、274、276、278、280、282、284、286、288、290、292、294、296、298、300、 和 302) 的重链可变结构域序列的多聚核苷酸序列至少 80% 相同的多聚核苷酸序列编码的氨基酸序列 ;iii. 由可在中等严格条件下与由 H1-H23 (SEQ ID NOs :258、260、262、264、266、268、270、272、274、276、278、280、282、284、286、288、290、292、294、296、298、300 和 302) 的重链可变结构域序列组成的多聚核苷酸的互补序列杂交的多聚核苷酸序列编码的氨基酸序列 ;或 c. (a) 的轻链结构域和 (b) 的重链结构域,其中所述抗原结合蛋白与人胰高血糖素受体特异性结合。

[0021] 在一个实施方案中,该分离的抗原结合蛋白包含:a.选自L1-L23(SEQ ID NOs:213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、239、241、243、245、247、249、251、253、255和257)的轻链可变结构域序列;b.选自H1-H23(SEQ ID NOs:259、261、263、265、267、269、271、273、275、277、279、281、283、285、287、289、291、293、295、297、299、301和303)的重链可变结构域序列;或c,(a)的轻链结构域和(b)的重链结构域,其中所述抗原结合蛋白与人胰高血糖素受体特异性结合。

[0022] 在另一个实施方案中,该分离的抗原结合蛋白包含选自以下的轻链可变结构域和重链可变结构域的组合:L1H1、L2H2、L3H3、L4H4、L5H5、L6H6、L7H7、L8H8、L9H9、L10H10、L11H11、L12H12、L13H13、L14H14、L15H15、L16H16、L17H17、L18H18、L19H19、L20H20、L21H21、L22H22和L23H23,其中所述抗原结合蛋白与人胰高血糖素受体特异性结合。在一个实施方案中,该分离的抗原结合蛋白进一步包括:SEQ ID NO:305的轻链恒定序列;SEQ ID NO:307的轻链恒定序列;SEQ ID NO:309的重链恒定序列;SEQ ID NO:305的轻链恒定序列;SEQ ID NO:309的重链恒定序列;或SEQ ID NO:307的轻链很顶序列以及SEQ ID NO:309的重链恒定序列。

[0023] 一方面,该分离的抗原结合蛋白选自人类抗体、人源化抗体、嵌合抗体、单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体、抗原-结合抗体片段、单链抗体、双链抗体、三链抗体、四链抗体、Fab片段、F(fa')_x片段、结构域抗体、IgD抗体、IgE抗体、IgM抗体、IgG1抗体、IgG2抗体、IgG3抗体、IgG4抗体和IgG4抗体,其在绞链区至少具有一处可减少形成内H链二硫键趋势的突变。在一个实施方案中,该抗原结合蛋白为人类抗体。

[0024] 另一方面,该分离的抗原结合蛋白当与人胰高血糖素受体结合时:a.以与参比抗体基本相同的K_d与人胰高血糖素受体结合;b.以与所述参比抗体基本相同的IC₅₀抑制人胰高血糖素受体的胰高血糖素激活或c.与所述参比抗体竞争结合,其中所述参比抗体包含选自L1H1、L2H2、L3H3、L4H4、L5H5、L6H6、L7H7、L8H8、L9H9、L11H11、L12H12、L13H13、L15H15、L21H21和L22H22的轻链和重链可变结构域序列的组合。

[0025] 另一方面,提供了分离的人类抗体,当其与人胰高血糖素受体结合时:a.以与参比抗体基本相同的K_d与人胰高血糖素受体结合;b.以与所述参比抗体基本相同的IC₅₀抑制人胰高血糖素受体的胰高血糖素激活或c.与所述参比抗体竞争结合,其中所述参比抗体包含选自A-1、A-2、A-3、A-4、A-5、A-6、A-7、A-8、A-9、A-11、A-12、A-13、A-15、A-21和A-22的轻链和重链可变结构域序列的组合。

[0026] 另一方面,提供了分离的人类抗体,当其与人胰高血糖素受体结合时:a.特异性结合至人胰高血糖素的Ser80至Ser119;b.以90nM或更低的IC₅₀值降低胰高血糖素信号传导;c.降低动物模型的血糖;d.a和b,或e.a、b和c。在一个实施方案中,该动物模型为ob/ob动物模型。

[0027] 在另一方面,提供了包含该抗原结合蛋白与药学可接受的载体混合的药用组合物。在另一个实施方案中,该药用组合物包含与药学可接受载体混合的分离的人类抗体。

[0028] 在另一方面,提供了包含编码本发明抗原结合蛋白的轻链可变结构域、重链可变结构域或二者的多聚核苷酸的分离的核酸分子。在一个实施方案中,该多聚核苷酸包含轻链可变结构域多聚核苷酸序列L1-L23,SEQ ID NOs:212、214、216、218、220、222、224、226、228、230、232、234、236、238、240、242、244、246、248、250、252、254和256,重链可变结构域

多聚核苷酸序列 H1-H23, SEQ ID NO :258、260、262、264、266、270、272、274、276、278、280、282、284、286、288、290、292、294、296、298、300、302,或二者。

[0029] 也提供了包含本发明多聚核苷酸的载体。在一个实施方案中该载体为表达载体。也提供了包含该载体的宿主细胞。也提供了可生产本发明抗原结合蛋白质的杂交瘤。进一步提供了制备本发明抗原结合蛋白的方法,其包括在允许细胞表达本发明抗原结合蛋白的条件下培养该宿主细胞。

[0030] 也提供了降低受试者血糖的方法,包括给予受试者治疗有效量的药用组合物。也提供了提高受试者葡萄糖耐受的方法,包括给予受试者治疗有效量的药用组合物。也提供了通过给予受试者治疗有效量的药用组合物治疗受试者中 II 型糖尿病和相关病症的方法。在另一个实施方案中,该相关病症选自高血糖症、空腹血糖受损、葡萄糖耐量降低、脂肪代谢障碍和代谢综合症。也提供了本发明药用组合物在制备用于降低血糖、预防或治疗 II 型糖尿病包括高血糖症、空腹血糖受损、葡萄糖耐量降低、脂肪代谢障碍和代谢综合症的药物中的应用。

[0031] 附图简述

[0032] 图 1 显示了以 1 或 3mg/kg(n = 10 动物 / 组) 的剂量单次注射抗体 A-3 或抗体 A-4 后与注射缓冲液相比 14 周雄性 ob/ob 小鼠中的血糖水平。在注射后 0 以及 24、48、96、120、144、192 和 240 小时测量血糖。

[0033] 图 2 显示了以 1 或 3mg/kg(n = 10 动物 / 组) 的剂量单次注射抗体 A-3 或抗体 A-9 后与注射缓冲液相比 14 周雄性 ob/ob 小鼠中的血糖水平。在注射后 0 以及 24、72、120、192 和 240 小时测量血糖。

[0034] 图 3 显示了口服葡萄糖耐量试验 (GTT) 的结果,显示了单次皮下注射溶媒 (vehicle) 和抗体 9(A9) 之前 (GTT1 和 GTT2) 和之后 (GTT3、4 和 5) 的曲线下 (AUC) 葡萄糖水平。

[0035] 图 4 显示了可与标记抗体 A-3(可克服 (surmountable) 抗体) 竞争结合的未标记抗体。

[0036] 图 5 显示了可与标记抗体 A-3(部分可克服抗体) 部分竞争结合的未标记抗体。

[0037] 图 6 显示了不可与标记抗体 A-3(可克服抗体) 竞争结合的未标记抗体。

[0038] 图 7 显示了四种抗 GCGR 抗体与构建自人 GCGR 和人 GLP-1 受体的嵌合受体的结合研究结果。

[0039] 发明详述

[0040] 本发明涉及抗原结合蛋白例如可与人胰高血糖素受体 (GCGR) 特异性结合的抗体。这些包括可抑制或阻断胰高血糖素与人 GCGR 结合并降低胰高血糖素经受体信号传导的抗原结合蛋白。在一个实施方案中提供了包括拮抗性抗体的可降低动物模型血糖的人类抗体。该抗原结合蛋白可用于治疗糖尿病和相关疾病。

[0041] 本发明进一步提供与可特异性结合至人胰高血糖素受体的抗原结合蛋白相关的组合物、试剂盒和方法。也提供了核酸分子及其衍生物和片段,其包含编码与胰高血糖素受体结合的多肽的全部或部分的多聚核苷酸,例如编码全部或部分抗胰高血糖素受体抗体、抗体片段或抗体衍生物的核酸。本发明进一步提供包含该类核酸的载体和质粒以及包含该类核酸和 / 或载体和质粒的细胞和细胞系。所提供方法包括,例如,制备、鉴定或分离与人

GCGR 结合的抗原结合蛋白例如抗 GCGR 抗体的方法,测定该抗原结合蛋白是否与 GCGR 结合的方法、制备包含与人 GCGR 结合的抗原结合蛋白的组合物例如药用组合物的方法,以及将与 GCGR 结合的抗原结合蛋白给予受试者的方法,治疗由 GCGR 介导的病症以及体内或体外调节与胰高血糖素信号传导相关的生物活性的方法。

[0042] 定义

[0043] 使用标准的单字母或三字母缩写表明多聚核苷酸和多肽序列。除非另外指明,多肽序列的氨基端在左而它们的羧基端在右,单链核酸序列和双链核酸序列的上游链的 5' 端在左而它们的 3' 端在右。多肽的具体部分可由氨基酸残基编号表示,例如氨基酸 80 至 119,或由该位点的实际残基表示例如 Ser80 至 Ser119。也可通过解释其与参比序列的差异描述具体的多肽或多聚核苷酸序列。具体轻链和重链可变结构域的多聚核苷酸和多肽可表示为 L1(“轻链可变结构域 1”),H1(“重链可变结构域 1”)。包含轻链和重链的抗原结合蛋白或抗体可通过结合轻链的名称和重链可变结构域的名称表示。例如,“L4H7”表示包含 L4 轻链可变结构域和 H7 重链可变结构域的抗体。

[0044] 除非本文另外定义,与本文相关的科学和技术术语应具有本领域普通技术人员所理解的含义。进一步,除非上下文另有要求,单数术语应包括复数并且复数含义术语应包括单数含义。通常,与本文所述 细胞和组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学和蛋白质核酸化学以及杂交相关的命名法和技术为本领域熟知和经常使用的。本发明的方法和技术通常根据本领域已知的常规方法以及本说明书引用和讨论的各种普通和更具体的参考文献所描述的进行,除非另外说明。参见,例如, Sambrook 等, *Molecular Cloning :A Laboratory Manual*, 第 2 版., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989) 和 Ausubel 等, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates(1992), 以及 Harlow and Lane *Antibodies :ALaboratory Manual* Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1990), 均以参考形式并于本文。酶反应和纯化技术根据操作说明进行,如本领域通常完成或本文所述。与本文描述的分析化学、合成有机化学和医学和药理学化学相关的术语学以及实验操作和技术均为本领域熟知和普遍使用者。标准技术可用于化学合成、化学分析、药物制备、制剂和给药以及患者的治疗。

[0045] 以下术语,除非另外指明,应理解为具有以下含义:术语“分离的分子”(其中所述分子例如多肽、多聚核苷酸或抗体)为就其来源或衍生源而言(1)与在天然状态下与其相伴的天然相关组分分离,(2)基本与同种的其它分子游离(3)由不同种细胞表达或(4)不天然存在。因此,化学合成或由与其天然来源的细胞不同的细胞体系表达的分子将与天然相关组分“分离”。也可使用本领域已知的纯化技术通过分离使分子基本与其天然相关组分游离。例如,可使用聚丙烯酰胺凝胶电泳测定多肽样品的纯度并使用本领域熟知的技术将凝胶染色以观察该多肽。对于某些目的,可使用 HPLC 或其它本领域熟知的纯化方法提供更高的分辨率。

[0046] 术语“胰高血糖素抑制剂”和“胰高血糖素拮抗剂”可交替使用。均为可检测地抑制胰高血糖素信号传导的分子。由抑制剂引起的抑制不需为完全抑制只要可使用测定法检测。例如,下文实施例 4 中描述的基于细胞的测定法显示了可用于测定胰高血糖素信号传导抑制的测定法。

[0047] 术语“肽”、“多肽”和“蛋白”均指包含两个或多个通过肽键相互连接的氨基酸的分子。这些术语涵盖例如天然和人工蛋白、蛋白片段和蛋白序列的多肽类似物（例如突变蛋白、变异体和融合蛋白）以及转录后或否则为共价或非共价修饰的蛋白。肽、多肽或蛋白可为单体或多聚体。

[0048] 如本文使用的术语“多肽片段”指与对应的全长蛋白相比具有氨基端和 / 或羧基端缺失的多肽。片段长度可为例如至少 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、50、70、80、90、100、150 或 200 个氨基酸。片段长度可为例如最多 1000、750、500、250、200、175、150、125、100、90、80、70、60、50、40、30、20、15、14、13、12、11 或 10 个氨基酸。片段可在其一端或两端进一步包含一个或多个附加氨基酸，例如，来自不同天然蛋白质的氨基酸序列（例如，Fc 或亮氨酸拉链结构域）或人工氨基酸序列（例如，人工接头序列）。

[0049] 本发明多肽包括以任何原因和经任何方法修饰的多肽，例如，以：(1) 降低蛋白水解敏感性，(2) 降低氧化敏感性，(3) 改变形成蛋白复合物的亲和性，(4) 改变结合亲和性以及 (4) 赋予或修饰其它物理化学或功能性质。类似物包含多肽的突变蛋白。例如，可在天然序列（例如在形成分子内接触的结构域之外的多肽部分）中进行单个或多个氨基酸替换（例如，保守氨基酸替换）。“保守氨基酸替换”为不显著改变母体序列结构特性者（例如，替换氨基酸不应破坏母体序列中出现的螺旋或干扰其它赋予母体序列特性或对其功能是必须的二级结构类型）。领域公认的多肽二级和三级结构的实例描述于 *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton 编辑, W.H. Freeman and Company, New York (1984)) ; *Introduction to Protein Structure* (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N. Y. (1991)) ; 和 Thornton 等, *Nature* 354 :105 (1991), 均以参考形式并于本文。

[0050] 本发明也提供了 GCGR 抗原结合蛋白的非肽类似物。非肽类似物普遍用于提供与模板肽具有相似性质的药物。这些非肽化学物类型被称作“模拟肽 (peptide mimetics)”或“拟肽 (peptidomimetics)”。Fauchere, J. *Adv. Drug Res.* 15 :29 (1986) ; Veber 和 Freidinger *TINS* 第 392 页 (1985) ; 以及 Evans 等, *J. Med. Chem.* 30 :1229 (1987), 均以参考形式并于本文。与治疗用肽结构相似的模拟肽可用于产生相等的治疗或预防效果。通常, 拟肽与范例多肽的结构相似（即具有期望生物化学性质或药理学活性的多肽），例如人类抗体，但是具有一个或多个任选被选自 $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{S}-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ （顺式和反式）、 $-\text{COCH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 、和 $-\text{CH}_2\text{SO}-$ 的连接通过本领域熟知的方法取代的肽连接。用相同类型的 D-氨基酸系统取代一致序列的一个或多个氨基酸（例如，D-赖氨酸取代 L-赖氨酸）也可用于生成更稳定的肽。此外，可通过本领域已知的方法 (Rizo and Gierasch *Ann. Rev. Biochem.* 61 :387 (1992), 以参考形式并于本文) 例如通过添加可形成将肽环化的分子间二硫键的内部半胱氨酸残基生成包含一致序列或基本相同的一致序列变异体的拘束肽 (constrained peptides)。

[0051] 多肽（例如抗体）的“变异体”包含相对于另一多肽序列在氨基酸序列中插入、缺失和 / 或替换了一个或多个氨基酸残基的氨基酸序列。本发明的变异体包括融合蛋白。

[0052] 多肽的“衍生物”为经化学修饰的多肽（例如，抗体），例如通过与其它化学部分例如聚乙二醇、白蛋白（例如人血清白蛋白）结合、磷酸化和糖基化。除非另外说明，术语“抗体”包括除包含两个全长重链和两个全长轻链的抗体外的其衍生物、变异体、片段和突变蛋

白,其实例见下文。

[0053] “抗原结合蛋白”为包含与抗原结合部分并任选为允许抗原结合部分采取促进该抗原结合蛋白与该抗原结合的构象的支架或框架部分的蛋白。抗原结合蛋白的实例包括抗体、抗体片段(例如抗体的抗原结合部分)、抗体衍生物和抗体类似物。该抗原结合蛋白可包含例如可选择的蛋白支架或具有移植 CDRs 或 CDRs 衍生物的人工支架。该支架包括但不限于包含被引入的例如以稳定化该抗原结合蛋白的三维结构的抗体衍生支架以及包含例如生物相容性多聚体的全合成支架。参见,例如, Korndorfer 等,2003, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Volume 53, Issue 1 :121-129 ;Roque 等,2004, *Biotechnol. Prog.* 20 :639-654。此外,可使用模拟肽抗体 (“PAMs”) 以及基于模拟抗体的支架,其如支架一样利用纤维蛋白连接素。

[0054] 抗原结合蛋白可具有例如天然免疫球蛋白的结构。“免疫球蛋白”为四聚体分子。在天然的免疫球蛋白中,各四聚体由两个相同的多肽链对组成,各对具有一个“轻”(约 25kDa) 和一个“重”链(约 50-70kDa)。各链的氨基端包括约 100 至 110 或更多氨基酸的可变结构域,主要与抗原识别相关。各链的羧基端部分确定了主要与效应器作用相关的恒定区。人的轻链分为 κ 和 λ 轻链。重链分为 μ 、 δ 、 α 或 ϵ , 并确定了抗原的同种型,例如分别为 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE。在轻链和重链中,可变和恒定区由约 12 或更多个氨基酸的“J”区连接,重链也包括约 10 多个氨基酸的“D”区。参见, *Fundamental Immunology* Ch. 7 (Paul, W., 编辑,第 2 版. Raven Press, N. Y. (1989)) (其完整内容以参考形式并于本文用于任何目的)。各轻/重链对的可变区形成抗体结合位点,这样一个完整的免疫球蛋白具有两个结合位点。

[0055] 天然免疫球蛋白链显示出由三个高度可变区连接的相对保守骨架区 (FR) 的相同基本结构,也被称作互补决定区或 CDRs。从 N 端到 C 端,轻和重链均包含结构域 FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3 和 FR4。各结构域氨基酸的分配与 Kabat 等在 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第 5 版., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication no. 91-3242, 1991 中的定义一致。

[0056] 除非另外指明,“抗体”指完整的免疫球蛋白或其可与完整抗体竞争特异性结合的抗原结合部分。可由重组 DNA 技术或通过酶或化学裂解完整抗体生产抗原结合部分。抗原结合部分包括,尤其是, Fab、Fab'、 $F(ab')_2$ 、Fv、结构域抗体 (dAbs), 包括互补决定区 (CDRs) 的片段、单链抗体 (scFv)、嵌合抗体、双链抗体 (diabodies)、三链抗体 (triabodies)、四链抗体 (tetraabodies) 和至少包含足以赋予多肽特异抗原结合的免疫球蛋白的一部分的多肽。

[0057] Fab 片段为具有 V_L 、 V_H 、 C_L 和 C_{H1} 结构域的单价片段; $F(ab')_2$ 片段为具有两个在铰链区由二硫键连接的 Fab 片段的二价片段; Fd 片段具有 V_H 或 V_L 结构域; dAb 片段具有 V_H 结构域、 V_L 结构域, 或 V_H 或 V_L 结构域的抗原结合片段(美国专利号 6846634、6696245, 美国专利申请公开号 05/0202512、04/0202995、04/0038291、04/0009507、03/0039958, Ward 等, *Nature* 341 :544-546, 1989)。

[0058] 单链抗体 (scFv) 为其中的 V_L 和 V_H 区由接头(例如,合成的氨基酸残基序列) 连接以形成连续蛋白质的抗体,其中该接头足够长以允许该蛋白链折叠回自身并形成单价抗原结合位点(参见,例如, Bird 等, 1988, *Science* 242 :423-26 and Huston et al., 1988,

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85 :5879-83)。双链抗体为包含两个多肽链的二价抗体,其中各多肽链包含由接头连接的 V_H 和 V_L 结构域,该接头很短以致于不允许两个结构域在相同链上的配对,因此允许各结构域与另一多肽链上的互补结构域配对(参见,例如, Holliger 等,1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA90 :6444-48, 和 Poljak et al.,1994, Structure 2 :1121-23)。如果双链抗体的两个多肽链是相同的,那么由它们配对得到的双链抗体将具有相同的抗原结合位点。具有不同序列的多肽链可用于制备具有不同抗原结合位点的双链抗体。相似地,三链抗体和四链抗体分别为包含三个和四个多肽链的抗体并分别形成三个和四个抗原结合位点,其可相同或不同。

[0059] 可使用 Kabat 等在 Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication no. 91-3242, 1991 中描述的方法鉴定给定抗体的互补决定区(CDRs)和骨架区(FR)。可向分子中共价或非共价并入一个或多个 CDRs 使其成为抗原结合蛋白。抗原结合蛋白可以较大多肽链并入 CDR(s)。可将 CDR(s) 共价连接至另一多肽链,或非共价并入 CDR(s)。CDRs 允许抗原结合蛋白与具体的相关抗原特异性结合。

[0060] 抗原结合蛋白可有一个或多个结合位点。如果多于一个结合位点,该结合位点可与另一个相同或不同。例如,天然人免疫球蛋白通常具有两个相同的结合位点,而“双特异性”或“双功能”抗体具有两个不同的结合位点。

[0061] 术语“人类抗体”包括具有一个或多个来源于人免疫球蛋白序列的可变和恒定区的所有抗体。在一个实施方案中,所有的可变和恒定结构域均来源于人免疫球蛋白序列(全人类抗体)。可经多种方法制备这些抗体,其实例描述于下文,包括通过用相关抗原免疫小鼠,该小鼠被基因修饰以表达来源于人重和 / 或轻链编码基因的抗体。

[0062] 人源化抗体含有与来源于非人种抗原序列具有一个或多个氨基酸替换、缺失和 / 或添加差异的序列,这样与非人种抗体相比当给予人受试者时人源化抗体较不会诱导免疫应答,和 / 或诱导较不严重的免疫应答。在一个实施方案中,突变非人种抗原的重和 / 或轻链的骨架和恒定结构域的某些氨基酸以产生人源化抗体。在另一个实施方案中,来自人类抗体的恒定结构域与非人种的可变结构域融合。在另一个实施方案中,改变非人类抗体的一个或多个 CDR 序列中的一个或多个氨基酸残基以降低给予人受试者时非人类抗体可能的免疫原性,其中改变的氨基酸残基对于该抗体与其抗原的免疫特异性结合不是关键性的,或者对氨基酸序列的改变为保守改变这样人源化抗体与抗原的结合不会显著差于非人类抗体与该抗原的结合。如何制备人源化抗体的实例见美国专利号 6054297、5886152 和 5877293。

[0063] 术语“嵌合抗体”指包含来自一种抗体的一个或多个区域和来自一个或多个其它抗体的一个或多个区域的抗体。在一个实施方案中,一个或多个 CDRs 来源于人抗 GCGR 抗体。在另一实施方案中,所有的 CDRs 来源于人抗 GCGR 抗体。在另一个实施方案中,将来自多于一个人抗 GCGR 抗体的 CDRs 混合并在嵌合抗体中配对。举例而言,嵌合抗体可包含来自第一个人抗 GCGR 抗体轻链的 CDR1,第二个人抗 GCGR 抗体轻链的 CDR2 和 CDR3,以及第三个人抗 GCGR 抗体的 CDRs。进一步,该骨架区可来源于相同的抗 GCGR 抗体之一,来自一个或多个不同的抗体,例如人类抗体或来自人源化抗体。在嵌合抗体的一个实例中,重和 / 或轻链的一部分与来自具体物种的抗体相同、同源或由其衍生,或属于具体的抗体类别或亚

类,而该链的剩余部分与来自另一物种的抗体或多个抗体相同、同源或由其衍生,或属于另一抗体类别或亚类。也包括显示期望生物学活性(即与人胰高血糖素受体特异性结合的能力)的该类抗体的片段。

[0064] “中和抗体”或“抑制抗体”指经例如实施例 4 描述的基于细胞的测定法检测抑制胰高血糖素与人胰高血糖素受体结合,和/或抑制或降低胰高血糖素信号传导的抗体。该抑制不需为完全抑制,在一个实施方案中,其可将结合或信号传导降低至少 20%。在进一步的实施方案中,结合或信号传导至少降低了 30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、97%、99%和 99.9%。

[0065] 本领域普通技术人员根据本说明书的教导并使用本领域熟知的技术可轻易制备抗体片段或类似物。优选的片段或类似物的氨基和羧基端出现在功能结构域交界的附近。可通过与将核苷酸和/或氨基酸序列数据与公共或专有序列数据库对比鉴定结构和功能结构域。计算机对比方法可用于鉴定序列基序或预测在其它结构和/或功能已知的蛋白质中出现的蛋白构象结构域。鉴定折叠成已知三维结构的蛋白序列的方法为已知。参见,例如, Bowie 等,1991, Science 253:164。

[0066] “CDR 移植抗体”为包含一个或多个来源于具体物种或同种型的抗体的 CDRs 以及相同物种或同种型的另一抗体的骨架的抗体。

[0067] “多特异性抗体”为可识别一个或多个抗原上的多于一种表位的抗体。该类型抗体的亚类为可识别相同或不同抗原上的两个不同表位的“双特异抗体”。

[0068] 包括与抗原“特异性结合”抗体的抗原结合蛋白质,如果以 10^{-7} M 或更低(100nM 或更低)的解离常数(Kd 或对应 Kb,如下文所述)测定的高结合亲和力与抗原结合。与人胰高血糖素受体特异性结合的抗原结合蛋白可与其它物种的胰高血糖素受体以相同或不同的亲和力结合。

[0069] “抗原结合结构域”、“抗原结合区”或“抗原结合位点”为包含与抗原相互作用的氨基酸残基(或其它部分)并有助于抗原结合蛋白对抗原的特异性和亲和力的抗原结合蛋白质的部分。对与其抗原特异性结合的抗体而言,这将包括至少部分的至少一个其 CDR 结构域。

[0070] “表位”为与抗原结合蛋白(例如,通过抗体)结合的分子部分。表位可包含分子的非连续部分(例如,在多肽中,在多肽的一级序列中不连续的氨基酸残基在该多肽的三级和四级结构中相互足够接近以致于被一个抗原结合蛋白结合)。

[0071] 两个多聚核苷酸或两个多肽序列的“相同百分比”由使用 GAP 计算机程序(GCG Wisconsin Package, version 10.3(Accelrys, San Diego, CA)的一部分)使用其默认参数比较序列测定。

[0072] 术语“多聚核苷酸”、“寡聚核苷酸”和“核酸”可在全文中交替使用并包括 DNA 分子(例如, cDNA 或基因组 DNA)、RNA 分子(例如 mRNA)、使用核苷酸类似物(例如, 肽核酸和非天然核苷酸类似物)生成的 DNA 或 RNA 类似物及其杂交体。核酸分子可为单链或双链。在一个实施方案中,本发明的核酸分子包含编码本发明抗体或其片段、衍生物、突变蛋白或变体连续的开放阅读框。

[0073] 如果它们的序列可反向平行排列则两个单链多聚核苷酸是相互“互补的”,这样一个多聚核苷酸中的各核苷酸与另一多聚核苷酸中的互补核苷酸相反,不会引入空隙并且各

序列的 5' 或 3' 端没有未配对的核苷酸。如果两个多聚核苷酸可在中等严格条件下相互杂交那么一个多聚核苷酸与另一多聚核苷酸“互补”。因此,一个多聚核苷酸可与另一多聚核苷酸互补,但并不是它的互补序列。

[0074] “载体”为可用于将与其相连的另一核酸引入细胞的核酸。载体的一种类型为“质粒”,其指可连接附加核酸区段的线性或环状双链 DNA 分子。载体的另一类型为病毒载体(例如,复制缺陷逆转录病毒、腺病毒和腺病毒伴随病毒),其中可将附加 DNA 区段引入病毒基因组。某些载体可在它们被引入的宿主细胞中自主复制(例如,包含细菌复制起点的细菌载体以及游离型哺乳动物载体)。其它载体(例如,非游离型哺乳动物载体)在引入宿主细胞时整合入宿主细胞的基因组中并因此与宿主基因组一起复制。“表达载体”为可引导所选多聚核苷酸表达的载体类型。

[0075] 如果调控序列影响核苷酸序列的表达(例如,表达水平、时间或位点)那么核苷酸序列与调控序列“可操作地相连”。“调控序列”为可影响与其可操作相连的核酸的表达(例如,表达水平、时间或位点)的核酸。调控基因,例如,直接对受调控核酸发挥作用或通过一个或多个其它分子(例如,与调控序列和/或核酸结合的多聚核苷酸)的作用。调控序列的实例包括启动子、增强子和其它表达控制元件(例如,多腺苷酸化信号)。调控序列的进一步实例描述于例如 Goeddel, 1990, Gene Expression Technology :Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA and Baron et al., 1995, Nucleic Acids Res. 23 : 3605-06。

[0076] “宿主细胞”为用于表达核酸例如本发明核酸的细胞。宿主细胞可为原核生物,例如大肠杆菌,或者其可为真核生物,例如单细胞真核生物(例如,酵母或其它真菌)、植物细胞(例如烟草或番茄植物细胞)、动物细胞(例如,人细胞、猴细胞、仓鼠细胞、大鼠细胞、小鼠细胞或昆虫细胞)或杂交瘤。通常,宿主细胞为可用多肽编码核酸转化或转染的培养细胞,其可接着在宿主细胞中表达。短语“重组宿主细胞”可用于表述用预期表达的核酸转化或转染的宿主细胞。宿主细胞也可为包含该核酸但是不以期望水平表达的细胞,除非向该宿主细胞引入了调控序列这样其与核酸可操作地相连。应理解的是术语宿主细胞不仅指具体的受试者细胞也指该细胞的子代或可能的子代。由于例如突变或环境影响后续世代会出现某些修饰,该子代事实上可能与母体细胞不同但是仍然属于本文使用的术语范围。

[0077] 胰高血糖素受体

[0078] 胰高血糖素受体 (GCGR) 属于 7-跨膜受体家族,其通过异源三聚体鸟嘌呤核苷酸结合蛋白 (G 蛋白) 与一个或多个胞内信号传导途径偶联 (Jelinek 等, Science 259 : 1614-1616(1993), Segre et al., TrendsEndocrinol. Metab 4 :309-314(1993))。如本文所使用“胰高血糖素受体”和“GCGR”可交替使用。这一家族的其它成员包括胰泌素、胰高血糖素样肽 (GLP-1)、血管活性肠肽 (VIP) 和生长激素释放因子的受体。这些受体具有高度同源的结构特点包括相对较大的胞外 N 端结构域以及一系列的跨膜、胞内和胞外结构域。

[0079] 在一个实施方案中,可选择本发明的抗原结合剂结合表达于细胞上的膜结合胰高血糖素受体并通过胰高血糖素受体抑制或阻断胰高血糖素信号传导。在一个实施方案中,本发明的抗原结合剂与人胰高血糖素受体特异性结合。在进一步的实施方案中,与人胰高血糖素受体结合的抗原结合蛋白也可与其它物种的胰高血糖素受体结合。下文中的实施例提供生成与人膜结合胰高血糖素受体结合的全人类抗体,在进一步的实施方案中与其它物

种的胰高血糖素受体结合。

[0080] 已知数个物种的胰高血糖素受体的多聚核苷酸和多肽序列。表 1 显示了人、小鼠和大鼠的序列。本文鉴定了食蟹猴 (cynomolgus) 的胰高血糖素受体序列并列于下文。

[0081] 表 1 :胰高血糖素受体

[0082]

人(Homo sapiens) 多聚核苷酸(SEQ ID NO: 1)

登录号 BC104854

```
1 gtgcagcccc tgccagatgt gggaggcagc tagctgcca gaggcattgcc ccctgccag
61 ccacagcgac ccctgctgct gttgctgctg ctgctggcct gccagccaca ggtccctcc
121 gctcaggatga tggacttctt gtttgagaag tggagctct acggtgacca gtgtcaccac
181 aacctgagcc tgtgcccccc tcccacggag ctggtgtgca acagaacctt cgacaagtat
241 tctgctggc cggacacccc cgccaatacc acggccaaca tctcctgccc ctggtacctg
301 ccttggcacc acaaagtgc acaccgctt gtttcaaga gatgcgggcc cgacggtcag
361 tgggtgcgtg gaccccgggg gcagccttg cgtgatgcct ccagtgcca gatggatggc
421 gaggagattg aggtccagaa ggaggtggcc aagatgtaca gcagcttcca ggtgatgtac
481 acagtgggct acagcctgtc cctgggggcc ctgctctcg ccttggccat cctggggggc
```

[0083]

541 ctcagcaagc tgcactgcac ccgcaatgcc atccacgcga atctgtttgc gtccttcgtg
 601 ctgaaagcca gtccctgtct ggctattgat gggtgctca ggaccgccta cagccagaaa
 661 attggcgacg acctcagtgt cagcacctgg ctcagtgatg gagegggtggc tggctgccgt
 721 gtggccgagg tgttcattgca atatggcattc gtggccaact actgctggct gctgggtggag
 781 ggctgtacc tgcacaacct gctgggacctg gccaccctcc ccgagaggag cttcttcagc
 841 ctctacctgg gcatcggtg ggggtgcccc atgctgttcg tctccccctg ggcagtggtc
 901 aagtgtctgt tcgagaacgt ccagtgtggt accagcaatg acaacatggg cttctgggtg
 961 atcctgcggt tccccgtctt cctggccatc ctgatcaact tcttcatctt cgtccgcac
 1021 gttcagctgc tctggccaa gctgcgggca cggcagatgc accacacaga ctacaagttc
 1081 cggtggcca agtccacgt gacctcacc cctctgctgg gctccacga agtggcttc
 1141 gcttcctga cggacgagca cggccagggc acctgcgct ccgccaagct cttcttcgac
 1201 ctctctca gctcttcca gggcctgctg gtggtgtcc tctactgctt cctcaacaag
 1261 gaggtgcagt cggagctgag gggcggtgg caccgctggc gctgggcaa agtgcattg
 1321 gaggagcga acaccagcaa ccacaggcc tcattctgc ccggccacgg cctcccagc
 1381 aaggagctgc agttgggag ggtggtggc agccaggatt catctgcgga gacccccgtg
 1441 gctggtggcc tcctagatt ggctgagagc cctctgaa cctgctggg accccageta
 1501 gggtggact ctggcacc

人 (Homo sapiens) 氨基酸 (SEQ ID NO: 2)

477 aa; 登录号: EAW89684

Met Pro Pro Cys Gln Pro Gln Arg Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Cys Gln
 Pro Gln Val Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe Leu Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Gly
 Asp Gln Cys His His Asn Leu Ser Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg
 Thr Phe Asp Lys Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Ala Asn Thr Thr Ala Asn Ile Ser Cys
 Pro Trp Tyr Leu Pro Trp His His Lys Val Gln His Arg Phe Val Phe Lys Arg Cys Gly Pro
 Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg Gly Gln Pro Trp Arg Asp Ala Ser Gln Cys Gln
 Met Asp Gly Glu Glu Ile Glu Val Gln Lys Glu Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Phe Gln Val
 Met Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu Ala Ile Leu Gly
 Gly Leu Ser Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Ala Ile His Ala Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val
 Leu Lys Ala Ser Ser Val Leu Val Ile Asp Gly Leu Leu Arg Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Ile
 Gly Asp Asp Leu Ser Val Ser Thr Trp Leu Ser Asp Gly Ala Val Ala Gly Cys Arg Val Ala
 Ala Val Phe Met Gln Tyr Gly Ile Val Ala Asn Tyr Cys Trp Leu Leu Val Glu Gly Leu Tyr

[0084]

Leu His Asn Leu Leu Gly Leu Ala Thr Leu Pro Glu Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu
 Gly Ile Gly Trp Gly Ala Pro Met Leu Phe Val Val Pro Trp Ala Val Val Lys Cys Leu Phe
 Glu Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe Trp Trp Ile Leu Arg Phe
 Pro Val Phe Leu Ala Ile Leu Ile Asn Phe Phe Ile Phe Val Arg Ile Val Gln Leu Leu Val
 Ala Lys Leu Arg Ala Arg Gln Met His His Thr Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Lys Ser
 Thr Leu Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Val Phe Ala Phe Val Thr Asp Glu
 His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Ser Ala Lys Leu Phe Phe Asp Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln
 Gly Leu Leu Val Ala Val Leu Tyr Cys Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ser Glu Leu Arg
 Arg Arg Trp His Arg Trp Arg Leu Gly Lys Val Leu Trp Glu Glu Arg Asn Thr Ser Asn
 His Arg Ala Ser Ser Ser Pro Gly His Gly Pro Pro Ser Lys Glu Leu Gln Phe Gly Arg Gly
 Gly Gly Ser Gln Asp Ser Ser Ala Glu Thr Pro Leu Ala Gly Gly Leu Pro Arg Leu Ala Glu
 Ser Pro Phe

小鼠 (*Mus musculus*) 多聚核苷酸 (SEQ ID NO: 3)

登录号 BC5057988

1 cgegaggagc gcagccctag ccccggcgac tgagcacacc tgaggagagg tgcacacact
 61 ctgaggacct aggtgtgcaa cctctgccag atgtggggcg tggctaccca gaggcattgcc
 121 cctcaccag ctccactgtc cccacctgct gctgctgctg ttggtgctgt catgtctgcc
 181 agaggcacc tctgccagg taatggactt tttgttgag aagtggaagc tctatagtga
 241 ccaatgccac cacaacctaa gctgctgcc cccacctact gagctggtct gtaacagaac
 301 cttegacaag tactctgct ggcctgacac cctcccaac accactgcca acatttctg
 361 cccctggtac ctacctggt accacaaagt gcagcaccgc ctagtgttca agaggtgtgg
 421 gcccgatggg cagtgggttc gagggccacg ggggcagccg tggcgcaacg cctcccaatg
 481 tcagttggat gatgaagaga tcgaggtcca gaagggggtg gccaagatgt atagcagcca
 541 gcaggtgatg tacaccgtgg gctacagtct gtcctgggg gccttctcc ttgcgtggt
 601 cctctgctg ggcctcagga agctgcactg cacccgaac tacatccatg ggaacctgtt
 661 tgcgtccttt gtctcaagg ctgctctgt gttggtcctc gattggctgc tgaagacacg
 721 gtacagccag aagattggcg atgacctcag tgtgagcgtc tggctcagtg acggggcgat
 781 ggccggctgc agagtggcca cagtgatcat gcagtacggc atcatagcca actattgctg
 841 gttgctgta gagggcgtgt acctgtacag cctgctgagc cttgccacct tctctgagag
 901 gagcttcttt tcctctacc tgggcattgg ctggggtgcg cccctgctgt ttgctatccc

[0085]

961 ctgggtggtg gtcaagtgc tgttgagaa tgttcagtgc tggaccagca atgacaacat
 1021gggattctgg tggatcctgc gtattcctgt ctctctggcc tfactgatca atttttcat
 1081ctttgtccac atcattcacc ttctgtggc caagctgcgt gccatcaga tgcactatgc
 1141tgactataag ttccggctgg ccaggtccac gctgaccctc atccctctgc tgggggtcca
 1201cgaggtggtc ttgcctttg tgactgacga gcatgccaa ggcaccctgc gctccacaa
 1261gctctttttt gacctgttc tcagctcctt ccaggtctg ctgggtgctg ttctctactg
 1321tttctcaac aaggaggctg aggcagagct gatgcggcgt tggaggcaat ggcaagaagg
 1381caaagctctt caggaggaaa ggttgccag cagccatggc agccacatgg ccccagcagg
 1441gccttgc at ggtgatccct gtgagaaact tcagcttatg agtgcaggca gcagcagtg
 1501gactggctgt gtgcccteta tggagacctc gctggccagt agtctccaa ggttggctga
 1561cagccccacc tgaatccea ctggagccta gccaggctgc gttcagaaag ggcctcagag
 1621gacaaccag agccagatgc ccggccaagg ctgaagagac aaagcagcaa gacagcagct
 1681tgtactgtgc aactccct aacctgtct agcctggcac aggccacagt gacagagtag
 1741gggttgata tgatggagaa gccatgttat ctatgaactc tgagtgtcc catgtgtgt
 1801gacatggtcc ctgtaccag atatgtcctt cagtaaaaag ctgagtgagg agctgctgca
 1861caaaaaaaaa aaaaaaaaaa

小鼠 (Mus musculus) 氨基酸 (SEQ ID NO: 4)

485 aa 登录号 AAH57988

Met Pro Leu Thr Gln Leu His Cys Pro His Leu Leu Leu Leu Leu Val Leu Ser Cys
 Leu Pro Glu Ala Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe Leu Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Ser
 Asp Gln Cys His His Asn Leu Ser Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg
 Thr Phe Asp Lys Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Pro Asn Thr Thr Ala Asn Ile Ser Cys
 Pro Trp Tyr Leu Pro Trp Tyr His Lys Val Gln His Arg Leu Val Phe Lys Arg Cys Gly Pro
 Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg Gly Gln Pro Trp Arg Asn Ala Ser Gln Cys Gln
 Leu Asp Asp Glu Glu Ile Glu Val Gln Lys Gly Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Gln Gln Val
 Met Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu Val Ile Leu Leu
 Gly Leu Arg Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Tyr Ile His Gly Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val
 Leu Lys Ala Gly Ser Val Leu Val Ile Asp Trp Leu Leu Lys Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Ile
 Gly Asp Asp Leu Ser Val Ser Val Trp Leu Ser Asp Gly Ala Met Ala Gly Cys Arg Val
 Ala Thr Val Ile Met Gln Tyr Gly Ile Ile Ala Asn Tyr Cys Trp Leu Leu Val Glu Gly Val

[0086]

Tyr Leu Tyr Ser Leu Leu Ser Leu Ala Thr Phe Ser Glu Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu
 Glylle Gly Trp Gly Ala Pro Leu Leu Phe Val Ile Pro Trp Val Val Val Lys Cys Leu Phe
 Glu Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe Trp Trp Ile Leu Arg Ile Pro
 Val Phe Leu Ala Leu Leu Ile Asn Phe Phe Ile Phe Val His Ile Ile His Leu Leu Val Ala
 Lys Leu Arg Ala His Gln Met His Tyr Ala Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Arg Ser Thr
 Leu Thr Leu Ile Pro Leu Leu GlyVal His Glu Val Val Phe Ala Phe Val Thr Asp Glu His
 Ala Gln Gly Thr Leu Arg Ser Thr Lys Leu Phe Phe Asp Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln
 Gly Leu Leu Val Ala Val Leu Tyr Cys Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ala Glu Leu Met
 Arg Arg Trp Arg Gln Trp Gln Glu Gly Lys Ala Leu Gln Glu Glu Arg Leu Ala Ser Ser His
 Gly Ser His Met Ala Pro Ala Gly Pro Cys His Gly Asp Pro Cys GluLys Leu Gln Leu Met
 Ser Ala Gly Ser Ser Ser Gly Thr Gly Cys Val Pro Ser Met Glu Thr Ser Leu Ala Ser Ser
 Leu Pro Arg Leu Ala Asp Ser Pro Thr

大鼠(*Rattus norvegicus*)多聚核苷酸 (SEQ ID NO: 5)
 登录号. NM 172092

1 gaattcggg ccgccgccg gccccagatc ccagtgcgcg aggagcccag tctagacc
 61 agcaacctga ggagaggtgc acacacccc aaggaccag gcaccaacc tctgccagat
 121 gtgggggggt ggctaccag agcatgctc ctaccaccg tccactgtcc ctacctgtg
 181 ctgtgtctgg tgggtctgc atgtctgcca aaggaccct ctgccaggt aatggactt
 241 ttgttgaga agtgaagct ctatagtac cagtgccacc acaacctaa cctgctgcc
 301 ccactactg agctggtctg caacagaact ttcgacaagt actctgctg gctgacacc
 361 cctccaaca cactgcca catttctgc cctgtgtacc taccttgta ccacaaagt
 421 cagcaccgcc tagtgtcaa gaggtgtggg cctgatgggc agtgggttc agggccacgg
 481 gggcagtcac ggccgacgc ctccaatgt cagatggatg atgacgagat cgaggtccag
 541 aaggggtag ccaagatgta tagcagctac cagtgatgt aactgtggg ctacagtctg
 601 tcctggggg cctgtctct ggcgtggtc atctgctgg gctcaggaa gctgactgc
 661 acccggaact acatccacgg gaacctgtc gcgtcctcg tgctcaaggc tggctctgtg
 721 ctggtcattg attggtgct caagacacgc tatagccaga agattggaga tgacctcag
 781 gtgagcgtct ggctcagtga tggggcggg gctggctgca gagtggccac agtgatcatg
 841 cagtacggca tcatagccaa ctactgctgg ttgctggtg aggggtgta cctgtacgc

[0087]

901 ctgctgagca tcaccacctt ctggagaag agcttctct cctctatct gtgcatcgcc
 961 tggggatctc cctgctgtt tgcatcccc tgggtggtgg tcaagtgtct gttgagaat
 1021 gtccagtgtc ggaccagcaa tgacaatag ggattctggt ggatcctgcg taccctgta
 1081 ctctggcca tactgatcaa tttttcacc ttgtccgca tcattcatct tcttgggcc
 1141 aagctgcgtg cccatcagat gcaactatgct gattacaagt tccggctagc caggccacg
 1201 ctgacctca ttctctgct gggagtccac gaagtgtct ttgcctttgt gactgatgag
 1261 catgcccagg gcacctgcg ctccaccaag ctctttttg acctgttctt cagctcctt
 1321 cagggtctgc tgggtgctgt tctctactgt ttctcaaca aggaggtgca ggcagagcta
 1381 ctgcggcgtt ggaggcgtg gcaagaaggc aaagctctc aggaggaaag gatggccagc
 1441 agccatggca gccacatggc cccagcaggg acttgtcatg gtgaccctg tgagaaact
 1501 cagcttatga gtgcaggcag cagcagtggg actggctgtg agccctctgc gaagacctca
 1561 ttggccagta gtctcccaag gctggctgac agccccacct gaatctccac tggactccag
 1621 ccaagtggga ttcagaaagg gcctcacaag acaaccaga aacagatgcc tggccaagge
 1681 tgaagaggca aagcagcaag acagcagctt gtactatcca cactccccta acctgtcctg
 1741 gccgggtaca ggccacattg atggagtagg ggctggatat gatggagtag ccatgctatg
 1801 aactatgggt gtcccatga gtgttgcct gtccatgca cacagatag accttcagta
 1861 aagagctccc gtagg

大鼠 (*Rattus norvegicus*) 氨基酸 (SEQ ID NO: 6)

489 aa, 登录号. NM 172092

Met Leu Leu Thr Gln Leu His Cys Pro TyrLeu Leu Leu Leu Val Val Leu Ser Cys
 Leu Pro Lys Ala Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe Leu Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Ser
 Asp Gln Cys His His Asn Leu Ser Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg
 Thr Phe Asp Lys Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Pro Asn Thr Thr Ala Asn Ile Ser Cys
 Pro Trp Tyr Leu Pro Trp Tyr His Lys Val Gln His Arg Leu Val Phe Lys Arg Cys Gly Pro
 Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg Gly Gln Ser Trp Arg Asp Ala Ser Gln Cys Gln
 Met Asp Asp Asp Glu Ile Glu Val Gln Lys Gly Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Tyr Gln Val
 Met Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu Val Ile Leu Leu
 Gly Leu Arg Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Tyr Ile His Gly Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val
 Leu Lys Ala Gly Ser Val Leu Val Ile Asp Trp Leu Leu Lys Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Ile
 Gly Asp Asp Leu Ser Val Ser Val Trp Leu Ser Asp Gly Ala Val Ala Gly Cys Arg Val Ala

[0088]

Thr Val Ile Met Gln Tyr Gly Ile Ile Ala Asn Tyr Cys Trp Leu Leu Val Glu Gly Val Tyr
 Leu Tyr Ser Leu Leu Ser Ile Thr Thr Phe Ser Glu Lys Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Cys
 Ile Gly Trp Gly Ser Pro Leu Leu Phe Val Ile Pro Trp Val Val Val Lys Cys Leu Phe Glu
 Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe Trp Trp Ile Leu Arg Ile Pro Val
 Leu Leu Ala Ile Leu Ile Asn Phe Phe Ile Phe Val Arg Ile Ile His Leu Leu Val Ala Lys Leu
 Arg Ala His Gln Met His Tyr Ala Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Arg Ser Thr Leu Thr
 Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Val Phe Ala Phe Val Thr Asp Glu His Ala Gln
 Gly Thr Leu Arg Ser Thr Lys Leu Phe Phe Asp Leu Phe Phe Ser Ser Phe Gln Gly Leu
 Leu Val Ala Val Leu Tyr Cys Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ala Glu Leu Leu Arg Arg
 Trp Arg Arg Trp Gln Glu Gly Lys Ala Leu Gln Glu Glu Arg Met Ala Ser Ser His Gly Ser
 His Met Ala Pro Ala Gly Thr Cys His Gly Asp Pro Cys Glu Lys Leu Gln Leu Met Ser
 Ala Gly Ser Ser Ser Gly Thr Gly Cys Glu Pro Ser Ala Lys Thr Ser Leu Ala Ser Ser Leu
 Pro Arg Leu Ala Asp Ser Pro Thr

食蟹猴(*Macaca fascicularis*) 多聚核苷酸 (SEQ ID NO: 7)
 >cyno-20042028417-contig1(32bp - 1465bp, 直接) 1434bp

atgccccctgtcagccacgtcgaccctgctactgttgctgctgctgctggcctgccagccacaggccccctccgctca
 ggtgatggacttctgttfgagaagtggaaactctacggtgaccagtgaccacaacctgagcctgctgccccccca
 cggagctggtctgtaacagaacctcgacaagtattcctgctggccagacacccccgccaataccacagccaacatctcc
 tgcacctggtacctgccttggcaccacaaagtgaacaccgcttcgtgtcaagagatgcgggcccgatggtcagtgggt
 gcgtggacccccgggggcagccttggcgtgacgcctctcagtgccagatggacggcgaggagcttgaggtccagaagg
 aggtggtaagatgtacagcagctccaggtgatgtacaggtgggtacagcctgtccctgggggcccctgctcctgcc
 ttggccatcctggggggcatcagcaagctgcactgcacccgcaacgccatccacgcgaacctgtttgtccttcgtgctg
 aaggccagctccgtgctggtcatcgtgggctgctcaggaccgctacagccagaagattggcgacgacctcagtgta
 gcatctggctcagtgatggagcgggtggccggctgccgtgtggccgggtgtcatgcaatattggcgtcgtggccaactac
 tgetggctgctggtggaggcctgtacctgcacaacctgctgggcctggccaccctccctgagaggagcttcttcagcct
 ctacctgggcatcggtgggtgccccatgctgttcatcatcccctgggtgggtggtcaggtgtctgttcgagaacatcca
 gtgctggaccagcaatgacaacatgggcttctgggtgatctgcgggtccccgtcttctggccatcctgatcaacttctca
 tcttcatccgcatgttacctgctgtggccaagctgcgggcgaggagatgaccacacagactacaagtccgactgg
 ccaagtccacactgacctcatccccctgctgggtgtccacgaagtgatcttcgcttcgtgacggacgagcacgcccag

[0089]

ggcaccctgcgcttcgccaagctcttcttgacctcttctcagctcctccagggcctgctggtggctgtcctctactgcttc
 ctcaacaaggaggtgcagtcggaacttcggcgccattggcaccgctggcgccctgggcaaagtgcaggaggagcg
 gggcaccagcaaccacaagacccccatctgcgctggccaaggccttctggcaagaagctgcagctctgggaggggtg
 gtggcagccaggactcatctgcggagatccccctggctggctggcctccctaggttggtgagagcccccttga

食蟹猴(*Macaca fascicularis*) 氨基酸 (SEQ ID NO: 8)

478 aa

Met Pro Pro Cys Gln Pro Arg Arg Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Cys Gln
 Pro Gln Ala Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe Leu Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Gly
 Asp Gln Cys His His Asn Leu Ser Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg
 Thr Phe Asp Lys Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Ala Asn Thr Thr Ala Asn Ile Ser
 Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp His His Lys Val Gln His Arg Phe Val Phe Lys Arg Cys
 Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg Gly Gln Pro Trp Arg Asp Ala Ser Gln
 Cys Gln Met Asp Gly Glu Glu Leu Glu Val Gln Lys Glu Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser
 Phe Gln Val Met Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu
 Ala Ile Leu Gly Gly Ile Ser Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Ala Ile His Ala Asn Leu
 Phe Val Ser Phe Val Leu Lys Ala Ser Ser Val Leu Val Ile Asp Gly Leu Leu Arg Thr
 Arg Tyr Ser Gln Lys Ile Gly Asp Asp Leu Ser Val Ser Ile Trp Leu Ser Asp Gly Ala
 Val Ala Gly Cys Arg Val Ala Ala Val Phe Met Gln Tyr Gly Val Val Ala Asn Tyr Cys
 Trp Leu Leu Val Glu Gly Leu Tyr Leu His Asn Leu Leu Gly Leu Ala Thr Leu Pro Glu
 Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Gly Ile Gly Trp Gly Ala Pro Met Leu Phe Ile Ile
 Pro Trp Val Val Val Arg Cys Leu Phe Glu Asn Ile Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn
 Met Gly Phe Trp Trp Ile Leu Arg Phe Pro Val Phe Leu Ala Ile Leu Ile Asn Phe Phe
 Ile Phe Ile Arg Ile Val His Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala Arg Glu Met His His
 Thr Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Lys Ser Thr Leu Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val
 His Glu Val Ile Phe Ala Phe Val Thr Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Phe Ala
 Lys Leu Phe Phe Asp Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu Tyr
 Cys Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ser Glu Leu Arg Arg His Trp His Arg Trp Arg Leu
 Gly Lys Val Leu Gln Glu Glu Arg Gly Thr Ser Asn His Lys Thr Pro Ser Ala Pro Gly
 Gln Gly Leu Pro Gly Lys Lys Leu Gln Ser Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ser Ser
 Ala Glu Ile Pro Leu Ala Gly Gly Leu Pro Arg Leu Ala Glu Ser Pro Phe

[0090] 抗原结合蛋白

[0091] 一方面, 本发明提供与人胰高血糖素受体特异性结合的抗原结合蛋白 (例如, 抗

体、抗体片段、抗体衍生物、抗体突变蛋白和抗体变异体)。在一个实施方案中该抗原结合蛋白为人类抗体。

[0092] 根据本发明的抗原结合蛋白包括与人胰高血糖素受体结合并通过胰高血糖素受体抑制胰高血糖素信号传导的抗原结合蛋白。在一个实施方案中,该抗原结合蛋白的 IC_{50} 值为 90nM 或更低。另一方面,该抗原结合蛋白与胰高血糖素受体特异性结合,抑制信号传导并显示出治疗性生物作用,例如降低动物模型的血糖或提高动物模型的葡萄糖清除率(耐受)。在一个实施方案中,该抗原结合蛋白为与胰高血糖素受体特异性结合并通过胰高血糖素受体抑制信号传导的人类抗体。在另一实施方案中,该抗原结合蛋白为与胰高血糖素受体特异性结合、通过胰高血糖素受体抑制信号传导并可以降低血糖或提高动物模型的葡萄糖清除率(耐受)的人类抗体。

[0093] 在一个实施方案中,该抗原结合蛋白(例如,抗体)包含与下文表 2 中 A1-A23 的 CDR 序列各相差 5、4、3、2、1 或 0 个单氨基酸添加、替换和/或缺失的序列。如本文所使用,与下文表 2 所示的 CDR 序列最多不超过例如四个氨基酸添加、替换和或缺失的 CDR 序列指与下文表 2 中的序列相比具有 4、3、2、1 或 0 个单氨基酸添加、替换和/或缺失的序列。

[0094] 在另一个实施方案中,该抗原结合蛋白包含一个或多个下文所示的 CDR 一致序列(consensus sequences)。提供了轻链 CDR1、CDR2、CDR3 和重链 CDR1、CDR2 和 CDR3 的一致序列。

[0095] 抗原结合蛋白(抗体)A1-A23 的轻链 CDRs 以及示例性抗原结合蛋白(抗体)A1-A23 的重链 CDRs 见表 2。A-1 至 A-23 对应于下文的 L1 至 L23 以及下文的 H1 至 H23。也显示了编码 CDRs 氨基酸序列的多聚核苷酸序列。

[0096] 表 2

[0097] 轻链 L1 至 L23

[0098]

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A-1	aggtctagtcagagcctctt	Acgctttcctatcgggcctct	atgcaacgtatagagtttc
NA	ggatagagatgatggagac	(SEQ ID NO: 42)	cattcact

[0099]

	acctatttgac (SEQ ID NO: 9)		(SEQ ID NO: 71)
AA	RSSQSLLDRDDGD TYLD (SEQ ID NO: 10)	TLSYRAS (SEQ ID NO: 43)	MQRIEFPFT (SEQ ID NO: 72)
A-2 NA	aggctagtcagagcctctt ggatagtgctgatggagac acctatttgac (SEQ ID NO: 11)	acgcttctctatcgggcctct (SEQ ID NO: 42)	atgcaacgtatagagttc cattcact (SEQ ID NO: 71)
AA	RSSQSLLDSADGD TYLD (SEQ ID NO: 12)	TLSYRAS (SEQ ID NO: 43)	MQRIEFPFT (SEQ ID NO: 72)
A-3 NA	cgggcaagtcagggcatta gaaatgatttaggc (SEQ ID NO: 13)	gctgcatccagtttgcaaagt (SEQ ID NO: 44)	ctacagcataatagtaacc ctctcact (SEQ ID NO: 73)
AA	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO: 14)	AASSLQS (SEQ ID NO: 45)	LQHNSNPLT (SEQ ID NO: 74)
A-4 NA	cgggcaagtcagggcatta gaaatgatttaggc (SEQ ID NO: 13)	gctgcatccagtttgcaaagt (SEQ ID NO: 44)	ctacagcataatagtaacc ctctcact (SEQ ID NO: 73)
AA	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO: 14)	AASSLQS (SEQ ID NO: 45)	LQHNSNPLT (SEQ ID NO: 74)
A-5 NA	cgggcaagtcagggcatta gaaatgatttaggc (SEQ ID NO: 13)	gctgcctccagtttgcaaagt (SEQ ID NO: 46)	ctacagcataatagtgacc cgctcacc (SEQ ID NO: 75)
AA	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO: 14)	AASSLQS (SEQ ID NO: 45)	LQHNSDPLT (SEQ ID NO: 76)
A-6 NA	agggccagtcagagtgtta gcagcaactacttagcc (SEQ ID NO: 15)	ggtgcatccagcagggccact (SEQ ID NO: 47)	caacaataggttaactcac cattcact (SEQ ID NO: 77)
AA	RASQSVSSNYLA	GASSRAT	QQYGNSPFT

[0100]

	(SEQ ID NO: 16)	(SEQ ID NO: 48)	(SEQ ID NO: 78)
A-7 NA	cgggcaagtcaggacatta gaaatgattttggc (SEQ ID NO: 17)	gctgcatccagtttacaagt (SEQ ID NO: 44)	ctacagcaaaatagttacc cgctcact (SEQ ID NO: 79)
AA	RASQDIRNDFG (SEQ ID NO: 18)	AASSLQS (SEQ ID NO: 45)	LQQNSYPLT (SEQ ID NO: 80)
A-8 NA	gggtctactcagagcctctt ggatagtgatgatggagac acctatttgac (SEQ ID NO: 19)	acgctttcctategggcctct (SEQ ID NO: 42)	atgcaacgtatagagttc cattcact (SEQ ID NO: 71)
AA	RSTQSLLDSDDDG TYLD (SEQ ID NO: 20)	TLSYRAS (SEQ ID NO: 43)	MQRIEFPFT (SEQ ID NO: 72)
A-9 NA	cgggcaagtcagggcatta gaaatgatttaggc (SEQ ID NO: 13)	gctgcatccagtttgaaagt (SEQ ID NO: 49)	ctacagcataatagtaacc ctctcact (SEQ ID NO: 73)
AA	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO: 14)	AASSLES (SEQ ID NO: 50)	LQHNSNPLT (SEQ ID NO: 74)
A-10 NA	caggcgagtcaggacatta gtaagtatttaaat (SEQ ID NO: 21)	gatgcatccaatttgaaaca (SEQ ID NO: 51)	caacagtatggtaatctcc cgatcacc (SEQ ID NO: 75)
AA	QASQDISKYLN (SEQ ID NO: 22)	DASNLET (SEQ ID NO: 52)	QQYGNLPIT (SEQ ID NO: 76)
A-11 NA	tctggagataaattggggg ataaatatgtttgc (SEQ ID NO: 23)	caaactccaagcggccctca (SEQ ID NO: 53)	caggcgtgggacagcaa cactgtgatt (SEQ ID NO: 77)
AA	SGDKLGDKYVC (SEQ ID NO: 24)	QTSKRPS (SEQ ID NO: 54)	QAWDSNTVI (SEQ ID NO: 78)
A-12 NA	tctggagataaattggggg ataaatatgtttgc (SEQ ID NO: 23)	caaactccaagcggccctca (SEQ ID NO: 53)	caggcgtgggacagcag cactgtggtt (SEQ ID NO: 79)

[0101]

AA	SGDKLGDKYVC (SEQ ID NO: 24)	QTSKRPS (SEQ ID NO: 54)	QAWDSSTVV (SEQ ID NO: 80)
A-13 NA	tctggagataaattggggg ataaatatgcttgc (SEQ ID NO: 25)	caatctaccaageggccctca (SEQ ID NO: 55)	caggcgtgggacagcag cactgtgta (SEQ ID NO: 81)
AA	SGDKLGDKYAC (SEQ ID NO: 26)	QSTKRPS (SEQ ID NO: 56)	QAWDSSTVV (SEQ ID NO: 80)
A-14 NA	acccgcagcagtggcagc attgtcagcaactttgtgca a (SEQ ID NO: 27)	gaggataaccaagaccctct (SEQ ID NO: 57)	cagtcttatgataccagca atcagggtg (SEQ ID NO: 82)
AA	TRSSGSIVSNFVQ (SEQ ID NO: 28)	EDNQRPS (SEQ ID NO: 58)	QSYDTSNQV (SEQ ID NO: 83)
A-15 NA	actggaatcacctccaacat cggaagcaataactgtacac (SEQ ID NO: 29)	agtaataatcageggccctca (SEQ ID NO: 59)	gcagcatgggatgacag cctgaatgggccgggtg (SEQ ID NO: 84)
AA	TGITSNIGSNTVH (SEQ ID NO: 30)	SNNQRPS (SEQ ID NO: 60)	AAWDDSLNGPV (SEQ ID NO: 85)
A-16 NA	tctggaagcaggtccaaca tcggaagtaattatgtatac (SEQ ID NO: 31)	aggaataatcageggccctca (SEQ ID NO: 61)	gcagcatgggatgacag cctgagtaggccggta (SEQ ID NO: 86)
AA	SGSRSNIGSNYVY (SEQ ID NO: 32)	RNNQRPS (SEQ ID NO: 62)	AAWDDSLSRPV (SEQ ID NO: 87)
A-17 NA	actgggagcagctccaaca tcggggcaggttatgctgta cac (SEQ ID NO: 33)	gataacaacaatcgccctca (SEQ ID NO: 63)	cagtcctatgacagcagc ctgagtgtata (SEQ ID NO: 88)
AA	TGSSSNIGAGYAV H (SEQ ID NO: 34)	DNNNRP (SEQ ID NO: 64)	QSYDSSL SAI (SEQ ID NO: 89)
A-18	aagtctagtcagagcctct	gaagttcctaccggttctct	atgcaaaatatacagcctc

[0102]

NA	gcatagtgatggaagaac tattgttt (SEQ ID NO: 35)	(SEQ ID NO: 65)	ctctcacc (SEQ ID NO: 90)
AA	KSSQSLHSDGKN YLF (SEQ ID NO: 36)	EVSYRFS (SEQ ID NO: 66)	MQNIQPPLT (SEQ ID NO: 91)
A-19 NA	aggctagtcagagcctcct gcatagtaatggatacaact atttgat (SEQ ID NO: 37)	ttgggtctaatcgggcctcc (SEQ ID NO: 67)	atggaagctcttcaaacta tgtgcagt (SEQ ID NO: 92)
AA	RSSQSLHSDGKN YLD (SEQ ID NO: 38)	LGSNRAS (SEQ ID NO: 68)	MEALQTMCS (SEQ ID NO: 93)
A-20 NA	cgggcaagtcagggcatta gaaatgatttaggc (SEQ ID NO: 39)	gctgcatccagttgcaaagt (SEQ ID NO: 44)	ctacagcataatagttacc ctcgcagt (SEQ ID NO: 94)
AA	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO: 14)	AASSLQS (SEQ ID NO: 45)	LQHNSYPRS (SEQ ID NO: 95)
A-21 NA	cgggcgagtcagggtatta gcagctggtagcc (SEQ ID NO: 40)	gctgcatccagttgcaaagt (SEQ ID NO: 44)	caacaggctaacagttcc cgctcact (SEQ ID NO: 96)
AA	RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 41)	AASSLQS (SEQ ID NO: 45)	QQANSFPLT (SEQ ID NO: 97)
A-22 NA	aggctagtcagagcctctt ggatagagatgatggagac acctatttgac (SEQ ID NO: 9)	acgcttctatcgggcctct (SEQ ID NO: 42)	atgcaacglatagagttc cattcactt (SEQ ID NO: 98)
AA	RSSQSLDRDDGD TYLD (SEQ ID NO: 10)	TLSYRAS (SEQ ID NO: 43)	MQRIEFPFT (SEQ ID NO: 72)
A-23 NA	cgggcgagtcagggtatta gcagctggtagcc	actgcatccactttgcaaagt (SEQ ID NO: 69)	caacagttaacagttcc cgctcact

[0103]

	(SEQ ID NO: 40)		(SEQ ID NO: 99)
AA	RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 41)	TASTLQS (SEQ ID NO: 70)	QQSNSFPLT (SEQ ID NO: 100)

[0104] 重链 H1 至 H23

[0105]

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A-1 NA	agctatggcatgcac (SEQ ID NO: 101)	tctatatggtatgatggaagtaa taaataattatgtagactccgtga agggc (SEQ ID NO: 123)	cttggtggtggtttgactac (SEQ ID NO: 164)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 102)	SIWYDGSNKYYVDS VKG (SEQ ID NO: 124)	LGGGFDY (SEQ ID NO: 165)
A-2 NA	agctatggcatgcac (SEQ ID NO: 101)	tttatatggtatgatggaagtga aaaataattatgtagactccgtg aagggc (SEQ ID NO: 125)	atgggaggcggctttgactac (SEQ ID NO: 166)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 102)	FIWYDGSEKYYVDS VKG (SEQ ID NO: 126)	MGGGFDY (SEQ ID NO: 167)
A-3 NA	agctatggcatgcac (SEQ ID NO: 101)	gttatgtggtatgatggaagta ataaagactatgtagactccgt gaagggc (SEQ ID NO: 127)	gaaaaagatcattacgacatttg actggtataactactactacggtc tggacgtc (SEQ ID NO: 168)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 102)	VMWYDGSNKDYV DSVKG (SEQ ID NO: 128)	EKDHYDILTGYNYYY GLDV (SEQ ID NO: 169)
A-4 NA	agctatggcatgcac (SEQ ID NO: 101)	gttatgtggtatgatggaagta ataaagactatgtagactccgt gaagggc (SEQ ID NO: 127)	gaaaaagatcattacgacatttg actggtataactactactacggtc tggacgtc (SEQ ID NO: 168)

[0106]

AA	SYGMH (SEQ ID NO: 102)	VMWYDGSNKDYV DSVKG (SEQ ID NO: 128)	EKDHYDILTGYNYYY GLDV (SEQ ID NO: 169)
A-5 NA	acctatgggatgcac (SEQ ID NO: 103)	gttatatcagatgatggaagtc ataaatactctgcagactccgt gaagggc (SEQ ID NO: 129)	gaggagacgtattacgatatttg actggctatcatcactactacggt atggacgtc (SEQ ID NO: 170)
AA	TYGMH (SEQ ID NO: 104)	VISDDGSHKYSADS VKG (SEQ ID NO: 130)	EETYYDILTGYYHHYY GMDV (SEQ ID NO: 171)
A-6 NA	agctatggcatgcac (SEQ ID NO: 101)	gaaatatggaatgatggaagt aataaatactatgcagactccg tgaagggc (SEQ ID NO: 131)	gagcctcagtattacgatatttga ctggttatgataactactacggtat ggacgtc (SEQ ID NO: 172)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 102)	EIWNDGSNKYYAD SVKG (SEQ ID NO: 132)	EPQYYDILTGYPDNY GMDV (SEQ ID NO: 173)
A-7 NA	agctatggcatgcac (SEQ ID NO: 105)	gtgatatcacatgatggaagt ataaatactatgcagactccgt gaagggc (SEQ ID NO: 133)	gaaaaaccgtattacgatatttga ctggttatttctactactatggatg gacgtc (SEQ ID NO: 174)
AA	SYDMH (SEQ ID NO: 106)	VISHDGS DKYYADS VKG (SEQ ID NO: 134)	EKPYYDILTGYYFYYY GMDV (SEQ ID NO: 175)
A-8 NA	agctatggcatgcac (SEQ ID NO: 101)	ggtatatggtatgatggaagga ataaatactatgtagactccgt gaagggc (SEQ ID NO: 135)	ttagcagtggcctttgactac (SEQ ID NO: 176)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 102)	GIWYDGRNKYYVD SVKG (SEQ ID NO: 136)	LAVAFDY (SEQ ID NO: 177)

[0107]

A-9 NA	agctatggcatgcac (SEQ ID NO: 101)	gttatgtggtatgatggaagta ataaagactatgtagactccgt gaagggc (SEQ ID NO: 127)	gaaaaagatcattacgacatttg actggtataactactactacggtc tggacgtc (SEQ ID NO: 168)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 102)	VMWYDGSNKDYV DSVKG (SEQ ID NO: 128)	EKDHYDILTGYNYYY GLDV (SEQ ID NO: 169)
A-10 NA	agcaactatgctgctt ggaac (SEQ ID NO: 107)	aggacatactacaggtccaag tggataatgattatgcagtatc tgtgagaagt (SEQ ID NO: 137)	gaagatggcagtggtggtacgg tgctttgacatc (SEQ ID NO: 178)
AA	SNYAAWN (SEQ ID NO: 108)	RTYYRSKWYNDYA VSVRS (SEQ ID NO: 138)	EDGSGWYGAFDI (SEQ ID NO: 179)
A-11 NA	agctatgacatgcac (SEQ ID NO: 109)	tttatatcagatgatggaagtaa taaatactatggagactccgtg aagggc (SEQ ID NO: 139)	gatcaatac gatattttgactggtt attcttctgatgctttgatatc (SEQ ID NO: 180)
AA	SYDMH (SEQ ID NO: 106)	FISDDGSNKYYGDS VKG (SEQ ID NO: 140)	DQYDILTYSSDAFDI (SEQ ID NO: 181)
A-12 NA	agctatgacatgcac (SEQ ID NO: 109)	tttatatcagatgatggaagtaa taaatactatggagactccgtg aagggc (SEQ ID NO: 141)	gatcaatac gatattttgactggtt attcttctgatgctttgatatc (SEQ ID NO: 180)
AA	SYDMH (SEQ ID NO: 106)	FISDDGSNKYYGDS VKG (SEQ ID NO: 140)	DQYDILTYSSDAFDI (SEQ ID NO: 181)
A-13 NA	agctatgacatgcac (SEQ ID NO: 109)	gttatcatatgatggaagtaa taaatactatggagactccgtg aagggc	gatcaatac gatattttgactggtt attcttctgatgctttgatatc (SEQ ID NO: 180)

[0108]

		(SEQ ID NO: 142)	
AA	SYDMH (SEQ ID NO: 106)	VISYDGSNKYYGDS VKG (SEQ ID NO: 143)	DQYDILTYSSDAFDI (SEQ ID NO: 181)
A-14 NA	aactatggcatgcac (SEQ ID NO: 110)	gttatatggtatgatggaagta ataaatactatgcagactccgt gaagggc (SEQ ID NO: 144)	gcctattacgatattttgactgatta ccccagtatgactactactacgg tatggacgtc (SEQ ID NO: 182)
AA	NYGMH (SEQ ID NO: 111)	VIWYDGSNKYYAD SVKG (SEQ ID NO: 145)	AYYDILTDYPQYDYY YGMDV (SEQ ID NO: 183)
A-15 NA	agctatggcatgcac (SEQ ID NO: 101)	cttatatcatttgatggaagta aaatactatgcagactccgtga agggc (SEQ ID NO: 146)	gatgggtattacgatattttgactg gttatgaggatgatgctttgat c (SEQ ID NO: 184)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 102)	LISFDGSNKYYADS VKG (SEQ ID NO: 147)	DGYDILTGYEDDAF DI (SEQ ID NO: 185)
A-16 NA	ggctactatttgcac (SEQ ID NO: 112)	tggatcatccctgacagtgggtg gcacaaagtatgcacagaagt ttcagggc (SEQ ID NO: 148)	gaagggttcattacgatattttga ctggttctacttctactactacgg tatggacgtc (SEQ ID NO: 186)
AA	GYYLH (SEQ ID NO: 113)	WIIPDSGGTKYAQK FQG (SEQ ID NO: 149)	EGFHYDILTGSYFYFY GMDV (SEQ ID NO: 187)
A-17 NA	agctatggtatcagt (SEQ ID NO: 114)	tggatcggcgtttacaatggtc acacaaaatatgcacagaagtt ccagggc (SEQ ID NO: 150)	agggtagcagtggctgggtacttt gactac (SEQ ID NO: 188)
AA	SYGIS (SEQ ID NO: 115)	WIGVYNGHTKYAQ KFQG	RVAVAGYFDY (SEQ ID NO: 189)

[0109]

	115)	(SEQ ID NO: 151)	
A-18 NA	aagtctagtcagagcc tcctgcatagtgatgg aaagaactattgttt (SEQ ID NO: 116)	gaagtttccctaccggttctct (SEQ ID NO: 152)	atgcaaaatatacagcctcctctc acc (SEQ ID NO: 190)
AA	KSSQSLHSD GKNYLF (SEQ ID NO: 117)	VIWYDGS HKYYED SVKG (SEQ ID NO: 153)	VGYGSGWY EYYYHY GMDV (SEQ ID NO: 191)
A-19 NA	agctatggcatgcac (SEQ ID NO: 101)	attatatggctctgatggaattaa caaatactatgcagactccgtg aagggc (SEQ ID NO: 154)	gagagaggcctctacgatatttg actggttattataactactacggta ttgacgtc (SEQ ID NO: 192)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 102)	IIWSDGINKYYADS VKG (SEQ ID NO: 155)	ERGLYDILTGY YNYY GIDV (SEQ ID NO: 193)
A-20 NA	ggctataccttgaac (SEQ ID NO: 117)	aacattaatagtaggagtagtc tcatactacacagactctgtg aagggc (SEQ ID NO: 156)	gatcagtataactggaactactac tacggtatggacgtc (SEQ ID NO: 194)
AA	GYTLN (SEQ ID NO: 118)	NINSRSSLIYYTDSV KG (SEQ ID NO: 157)	DQYNWNYYYGMDV (SEQ ID NO: 195)
A-21 NA	agctatgcatgaac (SEQ ID NO: 119)	tacattggtagtagtagtagtg ccatactacggagactctgt gaagggc (SEQ ID NO: 158)	tatagaagtggctgggtccccctc tttgacttc (SEQ ID NO: 196)
AA	SYAMN (SEQ ID NO: 120)	YIGSSSSAIYYGDSV KG (SEQ ID NO: 159)	YRSGWSPLFDF (SEQ ID NO: 197)
A-22	agctatggcatgcac	tctatatggatgatggaagtaa	cttggtgggtggtttgactac

[0110]

NA	(SEQ ID NO: 101)	taaatattatgtagactccgtga agggc (SEQ ID NO: 160)	(SEQ ID NO: 164)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 102)	SIWYDGSNKYYVDS VKG (SEQ ID NO: 161)	LGGGFDY (SEQ ID NO: 165)
A-23 NA	agatatgccatgaac (SEQ ID NO: 121)	tacattggtagtagtagtg ccatatactacgcagactctgt gaaggc (SEQ ID NO: 162)	tatagcagtggctggccccctc ttgactac (SEQ ID NO: 198)
AA	RYAMN (SEQ ID NO: 122)	YIGSSSSAIYYADSV KG (SEQ ID NO: 163)	YSSGWSPLFDY (SEQ ID NO: 199)

[0111] CDR 一致序列

[0112]

轻链 CDR1

1 组

RSSQSLDRDDGDYLD (SEQ ID NO: 10)

RSSQSLDSADGDYLD (SEQ ID NO: 12)

RSTQSLDSDDGDYLD (SEQ ID NO: 20)

	X ₁						X ₂	X ₃								
R	S	S	Q	S	L	L	D	R	D	D	G	T	Y	T	L	D
		T						S	A							

i. RSX₁QSLLDX₂X₃DGT YTL D (SEQ ID NO: 200)

X₁ 为丝氨酸残基或苏氨酸残基,

X₂ 为精氨酸残基或丝氨酸残基,

X₃ 为天冬氨酸残基或丙氨酸残基,

[0113]

X ₇		X ₈		
S	Y	G	M	H
T		D		

- [0114] i. X₇ Y X₈ M H (SEQ ID NO :203)
- [0115] X₇ 为丝氨酸残基或苏氨酸残基,
- [0116] X₈ 为甘氨酸残基或天冬氨酸残基,
- [0117] 轻链 CDR2
- [0118] 1 组
- [0119] AASSLQS (SEQ ID NO :45)
- [0120] AASSLES (SEQ ID NO :50)
- [0121] X₉
- [0122] A A S S L Q S
- [0123] E
- [0124] i. A A S S L X₉ S (SEQ ID NO :204)
- [0125] X₉ 为谷氨酰胺残基或谷氨酸残基,
- [0126] 2 组
- [0127] QTSKRPS (SEQ ID NO :54)
- [0128] QSTKRPS (SEQ ID NO :56)
- [0129] X₁₀X₁₁
- [0130] Q T S K R P S
- [0131] S T
- [0132] ii. Q X₁₀ X₁₁ K R P S (SEQ ID NO :205)
- [0133] X₁₀ 为丝氨酸残基或苏氨酸残基,
- [0134] X₁₁ 为苏氨酸残基或丝氨酸残基,
- [0135] 重链 CDR2
- [0136] 1 组
- [0137] SIWYDGSNKYYVDSVKG (SEQ ID NO :124)
- [0138] FIWYDGSEKYYVDSVKG (SEQ ID NO :126)
- [0139] VIWYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO :145)
- [0140] EIWNDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO :132)
- [0141] X₁₂ X₁₃ X₁₄ X₁₅
- [0142] S I W Y D G S N K Y Y V D S V K G
- [0143] F N E A
- [0144] V
- [0145] E
- [0146] i. X₁₂ I W X₁₃ D G S X₁₄ K Y Y X₁₅ D S V K G (SEQ ID NO :206)
- [0147] X₁₂ 为丝氨酸残基、苯丙氨酸残基、缬氨酸残基或谷氨酸残基,
- [0148] X₁₃ 为酪氨酸残基或天冬酰胺残基,
- [0149] X₁₄ 为天冬酰胺残基或谷氨酸残基,
- [0150] X₁₅ 为缬氨酸残基或丙氨酸残基,

- [0151] 2 组
- [0152] VISHDGS DKYYADSVKG (SEQ ID NO :134)
- [0153] FISDDGS NKYYGDSVKG (SEQ ID NO :140)
- [0154] VISYDGS NKYYGDSVKG (SEQ ID NO :143)
- [0155] VISDDGSHKYSADSVKG (SEQ ID NO :130)
- [0156] X₁₆ X₁₇ X₁₈ X₁₉ X₂₀
- [0157] V I S H D G S D K Y Y A D S V K G
- [0158] F D N S G
- [0159] Y H
- [0160] ii. X₁₆ I S X₁₇ D G S X₁₈ K Y X₁₉ X₂₀ D S V K G (SEQ ID NO :207)
- [0161] X₁₆ 为丙氨酸残基或苯并氨酸残基,
- [0162] X₁₇ 为组氨酸残基、天冬氨酸残基或酪氨酸残基,
- [0163] X₁₈ 为天冬氨酸残基、天冬酰胺残基或组氨酸残基,
- [0164] X₁₉ 为酪氨酸残基或丝氨酸残基,
- [0165] X₂₀ 为丙氨酸残基或甘氨酸残基,
- [0166] 轻链 CDR3
- [0167] 1 组
- [0168] LQHNSDPLT (SEQ ID NO :76)
- [0169] LQQNSYPLT (SEQ ID NO :80)
- [0170] LQHNSNPLT (SEQ ID NO :74)
- [0171] X₂₁ X₂₂
- [0172] L Q H N S N P L T
- [0173] Q D
- [0174] Y
- [0175] i. L Q X₂₁ N S X₂₂ P L T (SEQ ID NO :208)
- [0176] X₂₁ 为组氨酸残基或谷氨酰胺残基,
- [0177] X₂₂ 为天冬酰胺残基、天冬氨酸残基或酪氨酸残基,
- [0178] 2 组
- [0179] QAWDSNTVI (SEQ ID NO :78)
- [0180] QAWDSSTVV (SEQ ID NO :80)
- [0181] X₂₃ X₂₄
- [0182] Q A W D S N T V I
- [0183] S V
- [0184] ii. Q A W D S X₂₃ T V X₂₄ (SEQ ID NO :209)
- [0185] X₂₃ 为天冬酰胺残基或丝氨酸残基,
- [0186] X₂₄ 为异亮氨酸残基或缬氨酸残基,
- [0187] 重链 CDR3
- [0188] 1 组
- [0189] EKDHYDILTGYNYYYGLDV (SEQ ID NO :169)

[0190] EETYYDILTGYHHYYGMDV (SEQ ID NO :171)

[0191] EPQYYDILTGYDNYYGMDV (SEQ ID NO :173)

[0192] EKPYDILTGYFYFYGMDV (SEQ ID NO :175)

[0193] X₂₅ X₂₆ X₂₇ X₂₈ X₂₉ X₃₀

[0194] E K D H Y D I L T G Y N Y Y Y G L D V

[0195] E T Y H H M

[0196] P Q D N

[0197] P F

[0198] i. E X₂₅ X₂₆ X₂₇ Y D I L T G Y X₂₈ X₂₉ Y Y G X₃₀ D V (SEQ IDNO :210)

[0199] X₂₅ 为赖氨酸残基、谷氨酸残基或脯氨酸残基，

[0200] X₂₆ 为天冬氨酸残基、苏氨酸残基、谷氨酰胺残基或脯氨酸残基，

[0201] X₂₇ 为组氨酸残基或酪氨酸残基，

[0202] X₂₈ 为天冬酰胺残基、组氨酸残基、天冬氨酸残基或苯丙氨酸残基，

[0203] X₂₉ 为酪氨酸残基、组氨酸残基或天冬酰胺残基，

[0204] X₃₀ 为亮氨酸残基或甲硫氨酸残基，

[0205] 2 组

[0206] LGGGFDY (SEQ ID NO :165)

[0207] MGGGFDY (SEQ ID NO :167)

[0208] X₃₁

[0209] L G G G F D Y

[0210] M

[0211] ii. X₃₁ G G G F D Y (SEQ ID NO :211)

[0212] X₃₁ 为亮氨酸残基或甲硫氨酸残基。

[0213] 另一方面，本发明提供包含选自 L1-L23 的轻链可变区或选自 H1-H23 的重链可变区及其片段、衍生物、突变蛋白或变异体的抗原结合蛋白。可用名称“LxHy”表示该类抗原结合蛋白，其中“x”对应于轻链可变区并且“y”对应于重链可变区。例如，L2H1 指具有包含如下文表 3 所示 L2 氨基酸序列的轻链可变区和包含 H1 氨基酸序列的重链可变区的抗原结合蛋白。本发明抗原结合蛋白包括例如包含选自组合 L1H1、L2H2、L3H3、L4H4、L5H5、L6H6、L7H7、L8H8、L9H9、L10H10、L 11H11、L12H12、L13H13、L14H14、L15H15、L16H16、H17H17、L18H18、L19H19、L20H20、L21H21、L22H22 和 L23H2 的轻链和重链可变结构域的组合。在一个实施方案中，该抗体为人类抗体。

[0214] 表 3 也提供了编码示例性 GCGR 抗体的可变轻链和可变重链结构域的氨基酸序列的多聚核苷酸 (DNA) 序列。

[0215] 表 3

[0216] 抗 GCGR 可变区多聚核苷酸序列和氨基酸序列

[0217] 轻链可变区多聚核苷酸和氨基酸序列

[0218] L1 (A-1)

[0219] gatattgtgctgaccagactccactctccctgcccgtcaccctggagagccggcctccatctcctgc
aggctctagtcagagcctcttggatagatgatggagacacctatttggactggtacctgcagaagccagggcagtc

tccacagctcctgatctatacgccttcctatcgggcctctggagtcccagacaggttcagtggcagtgggtcaggca
ctgatttctcactga aaatcagcaggggtggaggctgaggatggtggagtttattactgcatgcaacgtatagagtt
tccattcactttcgccctgggaccaaagtggatatcaaa (SEQ ID NO :212)

[0220] DIVLTQTPLSLPVTGEPASISCRSSQSLLDRDDGDTYLDWYLQKPGQSPQLL

[0221] IYTLSYRASGVPDRFSGSGSGTDFSLKISRVEAEDVGVVYCMQRIEFPFTFGP

[0222] GTKVDIK (SEQ ID NO :213)

[0223] L2 (A-2)

[0224] agactcactctccctgcccgtcaccctggagagccggcctccatctcctgcaggctctagtcagagc
ctcttggatagtgctgatggagacacctatttggactgggtacctgcagaagccaggcagtcctccacagctcctga
tctatacgccttcctatcgggcctctggagtcccagacaggttcagtggcagtgggtcagacactgatttctcac
tgaanaatcagcaggggtggaggctgaggatggtggagtttattactgcatgcaacgtatagagtttccattcactt
tcggccctgggaccaaagtggatatcaaa

[0225] (SEQ ID NO :214)

[0226] DIVMTQTPLSLPVTGEPASISCRSSQSLLDSADGDTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTLSYRASGVPDRFS
GSGSDTDFSLKISRVEAEDVGVVYCMQRIEFPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO :215)

[0227] L3 (A-3)

[0228] gacatccagatgaccagtcctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttg
ccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctgggtatcagcagaaaccagggaagcccttaagcgcctgatc
tatgctgcatccagtttgcaaagtggggteccatcaaggttcagcggcagtggtatctgggacagaattcactctc
acaatcagcagtgctgagcctgaagattttgtaacttattactgtctacagcataatagtaaccctctcactttc
ggcggagggaccaaggtggagatcaaa

[0229] (SEQ ID NO :216)

[0230] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISVQPEDFVITYYCLQHNSNPLTFGGGTKVEIK

[0231] (SEQ ID NO :217)

[0232] L4 (A-4)

[0233] gacatccagatgaccagtcctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttg
ccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctgggtatcagcagaaaccagggaagcccttaagcgcctgatc
tatgctgcatccagtttgcaaagtggggteccatcaaggttcagcggcagtggtatctgggacagaattcactctc
acaatcagcagtcctgagcctgaagattttgcaacttattactgtctacagcataatagtaaccctctcactttc
ggcggagggaccaaggtggagatcaaa

[0234] (SEQ ID NO :218)

[0235] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSNPLTFGGGTKVEIK

[0236] (SEQ ID NO :219)

[0237] L5 (A-5)

[0238] gacatccagatgaccagtcctccatcctccctgtctgattttaggagacagagtcaccatcacttg
ccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctgggtatcagcagaaaccagggaagcccttaagcgcctgctc
tatgctgctccagtttgcaaagtggggteccatcaaggttcagcggcagtggtctgggtcagaattcactctc

acaatcagcagcctgcagcctgaagat~~ttt~~gcaacttattactgtctacagcataatagtgaccgctcaccttc
ggccaagggacacgactggagattaaa

[0239] (SEQ ID NO :220)

[0240] DIQMTQSPS SLSAFVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLLYAASSLQSGVPSRFSSGSG
SEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSDPLTFGQGRLEIK

[0241] (SEQ ID NO :221)

[0242] L6(A-6)

[0243] gaaattgtgttgacgcagtcctccaggcaccctgtctttgtttccaggggaaagagccaccctctcctg
cagggccagtcagagtgtagcagcaactacttagcctggtaccagcagaaatctggccaggctcccaggctcctc
atctatgggtgcatccagcagggccactggcatcccagacaggttcagtggcagtgggctgggacagacttact
ctcaccatcagcagactggagcctgaagat~~ttt~~gcagtgattactgtcaacaataggtaactcaccattcact
ttcgccctgggaccaatgtggatatcaaa

[0244] (SEQ ID NO :222)

[0245] EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKSGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSG
TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGNPFTFGPGTNVDIK

[0246] (SEQ ID NO :223)

[0247] L7(A-7)

[0248] gacatccagatgaccagtcctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccgtcacttg
ccgggcaagtcaggacattagaaatgattttggctggtatcagcaaaaaccagggaaagccctaagcgcctgate
tatgctgcatccagtttacaagtggggtcccacaaaggttcagcggcagtggtatctgggacagaattcactctc
acaatcagcagcctgcagcctgaagat~~ttt~~gcaacttattactgtctacagcaaaaatagttaccgctcactttc
gggggagggaccaaggtggaaatcaaa

[0249] (SEQ ID NO :224)

[0250] DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTTCRASQDIRNDFGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISSLQPEDFATYYCLQQNSYPLTFGGGKVEIK

[0251] (SEQ ID NO :225)

[0252] L8(A-8)

[0253] gatattgtgatgaccagactccactctccctgcccgtcaccctggagagccggcctccatctcctgc
aggcttactcagagcctcttggatagtgatgatggagacacctatttggactggtacctgcagaagccggggcagtc
tccacagctcctgatctatacgcctttcctatcgggctctggagtcccagacaggttcagtggcagtgggtcaggca
ctgatttcacactgaaaatcagcaggtggaggctgaggatggtggagtttattactgcatgcaacgtatagagttt
ccattcactttcgggccctgggaccaaaagtgatatcaaa

[0254] (SEQ ID NO :226)

[0255] DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSTQSLSDDDGDTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTL~~SYRASG~~VDPDRFS
GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFPFTFGPGTKVDIK

[0256] (SEQ ID NO :227)

[0257] L9(A-9)

[0258] gacatccagatgaccagtcctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttg
ccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctggtatcagcagaaaccagggaaagccctaagcgcctgate

tatgctgcatccagtttggaaagtggggtcccatcaaggttcagcggcagtggtatctgggacagaattcactctc
acaatcagcagtgtagcagcctgaagatTTTgtaacttattactgtctacagcataatagtaacctctcactttc
ggcggagggaccaaggtggagatcaaa

[0259] (SEQ ID NO :228)

[0260] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGI RNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLESGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISSVQPEDFVITYYCLQHNSNPLTFGGGKVEIK

[0261] (SEQ ID NO :229)

[0262] L10 (A-10)

[0263] gacatccagatgaccagtcctccatcctccctgtctgcatctgtgggagacagagtcaccatcacttg
ccaggcgagtcaggacattagtaagtatttaaattgggtatcagcagaaaccagggaagcccctaagctcctc
tacgatgcatccaatttggaaacaggggtcccatcaaggttcagtggaagtggatctgggacagattttactttc
accatcagcagcctgcagcctgaagatattgcaacataattactgtcaacagtatggtaaatctcccgatcaccttc
ggccaagggacacgactggagagtaaa

[0264] (SEQ ID NO :230)

[0265] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISKYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGT
DFTFTISSLQPEDIATYYCQQYGNLPITFGQGTRLESK

[0266] (SEQ ID NO :231)

[0267] L11 (A-11)

[0268] tcctatgagctgactcagccaccctcagtgctccgtgtccccaggacagacagccagcatcacctgctc
tggagataaattgggggataaataatgTTTgctgggtatcagcagaagccaggccagtcctcctgtgctgggtcatctat
caaactccaagcggccctcagggatccctgagcgggtctctggctccaactctgggaacacagccactctgacca
tcagcgggaccaggctatgggatgaggctgactattactgtcaggcgtgggacagcaaacactgtgattttcggcg
gagggaccaagctgaccgtccta

[0269] (SEQ ID NO :232)

[0270] SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYVCWYQQKPGQ SPVLVIYQTSKRPSGIPERFSGSNSGN
TATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSNTVIFGGGKLTVL

[0271] (SEQ ID NO :233)

[0272] L12 (A-12)

[0273] tcctatgagctgactcagccaccctcagtgctccgtgtccccaggacagacagccagcatcacctgctc
tgagataaattgggggataaataatgTTTgctgggtatcagcagaagccaggccagtcctcctgtgctgggtcatctatca
aacttccaagcggccctcagggatccctgagcgggtctctggctccaactctgggaacacagccactctgaccatca
gcgggaccaggct atgggatgaggctgactattactgtcaggcgtgggacagcagcactgtggTTTTcggcggagg
gaccaagctgaccgtccta

[0274] (SEQ ID NO :234)

[0275] SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYVCWYQQKPGQSPVLVIYQTSKRPSGIPERFSGSNSGNT
ATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGKLTVL

[0276] (SEQ ID NO :235)

[0277] L13 (A-13)

[0278] tcctatgagctgactcagccaccctcagtgctccgtgtccccaggacagacagccagcatcacctgctc

tggagataaattgggggataaataatgcttgctggtatcagcagaagccaggccagtcacctgtactggtcatctat
caatctaccaagcggccctcagggatccctgagcgttctctggtccaactctgggaacacagccactctgacc
atcagcgggaccaggctatggatgaggetgactattactgtcaggcgtgggacagcagcactgtggtattcgge
ggagggaccaagctgaccgtccta

[0279] (SEQ ID NO :236)

[0280] SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLVIYQSTKRPSGIPERFSGSNSGNT
ATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGTKLTVL

[0281] (SEQ ID NO :237)

[0282] L14(A-14)

[0283] aatthttatgctgactcagccccactctgtgtcggagtctccggggaagacggtaaccatctcctgcacc
cgcagcagtgggcagcattgtcagcaactttgtgcaatgggtaccagcagcggcggcagttccccaccactgtgat
ctatgaggataaccaagaccctctggggtccctgatcggttctctggtccatcgacagctcctccaactctgcct
ccctcaccatctctggactgaagactgaggacgaggctgactactactgtcagtccttatgataaccagcaatcaggtg
ttcggcggagggaccaagctgaccgtcctg

[0284] (SEQ ID NO :238)

[0285] NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIVSNFVQWYQQRPGSSPTTVIYEDNQRPSPVDRFSGSIDS
SSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDTSNQVFGGGTKLTVL

[0286] (SEQ ID NO :239)

[0287] L15(A-15)

[0288] cagtctgtctgactcagccacccccagcgtctgggacccccggcagagggtcaccatctcgtgtact
ggaatcacctccaacatcggaagcaatactgtacactgggtaccagcagttcccaggaacggccccaaactcctcat
ctatagtaataatcagcggccctcaggggtccctgaccgattctctggtccaagtctggcacctcagcctccctgg
ccatcagtgggctccagtctgaggatgaggctgattattactgtgcagcatgggatgacagcctgaatggtccgggtg
ttcggcggagggaccaagctgaccgtccta

[0289] (SEQ ID NO :240)

[0290] QSVLTQPPASGTPGQRVTISCTGITSNIGSNTVHWYQQFPGTAPKLLIYSNNQRPSPVDRFSGSKSG
TSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNPGVFGGGTKLTVL

[0291] (SEQ ID NO :241)

[0292] L16(A-16)

[0293] cagtctgtgctgactcagccaccctcagcgtctgggacccccggcagagggtcaccatctcttgttct
ggaagcaggtccaacatcggaagtaattatgtatactgggtaccaacagctcccaggaacggccccaaactcctcat
ctataggaataatcagcggccctcaggggtccctgaccgattctctggtccaagtctggcacctcagcctccctgg
ccatcagtgggctccggtccgaggatgaggctgattattactgtgcagcatgggatgacagcctgagtaggcccggta
ttcggcggagggaccaagctgaccgtccta

[0294] (SEQ ID NO :242)

[0295] QSVLTQPPASGTPGQRVTISCSGSRSNIGSNYVYVYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSPVDRFSGSKSG
TSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSRPVFGGGTKLTVL

[0296] (SEQ ID NO :243)

[0297] L17(A-17)

[0298] cagtctgtgctgacgcagccgccctcagtgtctggggccccagggcagagggtcaccatctcctgca
ctgggagcagctccaacatcggggcaggtatgctgtacactggtaccagcagcttcaggaaacagccccaaactctc
atctatgataacaacaatcgggcctcaggggtccctgaccgattctctggctccaagtctggcacctcagcctcct
ggccatcactgggctccaggetgaggatgaggctgattattactgcccagtcctatgacagcagcctgagtgctatat
tcggcggagggaccaagctgaccgtccta

[0299] (SEQ ID NO :244)

[0300] QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYAVHWYQQLPGTAPKLLIYDNNRPSGVPDRFSGSKS
GTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSAIFGGGTKLTVL

[0301] (SEQ ID NO :245)

[0302] L18(A-18)

[0303] aatattgtgatgaccagactccactctctctgtccgtcaccctggacagccggcctccatctcctgc
aagtctagtcagagcctcctgcatagtgatggaaagaactatttgttttggtacctacagaagccaggccagtctcc
acagctcctgatctatgaagtttctaccggttctctggagtgcagataggttcagtggcagcgggtcaggacag
atctctcattgaaaatcagccgggtggaggctgaggatggtggggtttattactgcatgcaaaatatacagcctcct
ctcaccttcggccaagggacacgactggagattaaa

[0304] (SEQ ID NO :246)

[0305] NIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLHSDGKNYLFWYLQKPGQSPQLLIYEVSYRFSGVPDRFSG
SGSGTDFSLKISRVEADVGVYYCMQQNIQPPLTFGQGTRLEIK

[0306] (SEQ ID NO :247)

[0307] L19(A-19)

[0308] ggtattgtgctgactcagctctccactctccctgcccgtcaccctggagagccggcctccatctcctgc
aggcttagtcagagcctcctgcatagtaatggatacaactatttggattggtacttgacagaagccaggggcagtctcc
gcagctcctgatctatttgggttcttaatcgggcctccggggtccctgacaggttcagtggcagtgatcaggcacag
atctttacactgaaaatcagcagagtgaggctgaggatggtggggtttattactgcatggaagctcttcaaactatg
tgcagttttggccaggggaccaagctggagatcaag

[0309] (SEQ ID NO :248)

[0310] GIVLTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHSDGKNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCMEALQTMCSFGQGTKLEIK

[0311] (SEQ ID NO :249)

[0312] L20(A-20)

[0313] gacatccagatgaccagctctccatctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgc
cgggcaagtcagggcattagaaatgatttagctggtatcagcagaaaccaggaaagcccctaagcgcctgatcta
tgctgcatccagtttgcaaaagtggggtcccatctaggttcagcggcagtggtctgggacagaattcactctcaaa
tcagcaacctgca gctgaagattttgcaacttattactgtctacagcataatagttaccctcgcaggttttggcc
aggggaccaagctggagatcaaa

[0314] (SEQ ID NO :250)

[0315] DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGI RNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISNLQPEDFATYYCLQHNSYPRSFQGTKLEIK

[0316] (SEQ ID NO :251)

[0317] L21 (A-21)

[0318] gacatccagatgaccagtcctccatcttccgtgtctgcacatctgtaggagacagagtcaccatcacttg
tcgggagagtcagggtattagcagctggtagcctgggtatcagcagaaaccagggaagccccaagctcctaate
tatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccacacaggttcagcggcagtgaggctctgggacagatttcaacttc
accatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttactattgtcaacaggctaacagtttcccgcctcacttcc
ggcggagggaaccaaggtggagatcaaaa

[0319] (SEQ ID NO :252)

[0320] DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGT
DFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIK

[0321] (SEQ ID NO :253)

[0322] L22 (A-22)

[0323] gatattgtgctgaccagactccactctccctgcccgtcaccctggagagccggcctccatctcctgc
aggcttagtcagagcctcttggatagagatgatggagacacctatttggactggtacctgcagaagccagggcagtc
tccacagctcctgatctatacgcctttcctatcgggacctctggagtcccagacaggttcagtggcagtgaggcagga
ctgatttctcactgaaaatcagcagggtggaggctgaggatggtggagtttattactgcatgcaacgtatagagttt
ccattcactttcggccctgggaccaaaagtgatcaaaa

[0324] (SEQ ID NO :254)

[0325] DIVLTQTPLSLPVTPEPASISCRSSQSLLDRDDGDTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTLSYRASGVPRFRS
GSGSGTDFSLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFPFTFGPGTKVDIK

[0326] (SEQ ID NO :255)

[0327] L23 (A-23)

[0328] gacatccagatgaccagtcctccatcttccgtgtctgcgctctgtaggggacagagtcaccatcacttg
tcgggagagtcagggtattagcagctggtagcctgggtatcagcagaaaccagggaagccccaagctcctgatc
tatactgcatccactttgcaaagtggggtcccacacaggttcagcggcagtgagctctgggacagatttcaacttc
accatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttactattgtcaacagctcaacagtttcccgcctcacttcc
ggcggagggaaccaaggtggagatcaaaa

[0329] (SEQ ID NO :256)

[0330] DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQQKPKGKAPKLLIYTASTLQSGVPSRFRSGSGSGT
DFTLTISSLQPEDFATYYCQQNSFPLTFGGGTKVEIK

[0331] (SEQ ID NO :257)

[0332] 重链可变区多聚核苷酸和氨基酸序列

[0333] H1 (A-1)

[0334] caggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgca
gcgtctggaatcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggc
atctatatggtatgatggaagtaataaatattatgtagactccgtgaaggccgattcaccatcttcagagacaatt
ccaagaaaacgctgtatctgcaaatgaacaggctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgagagacttgg
ggtggttttgaactactggggccagggaaccctgggtcaccgtctcctca

[0335] (SEQ ID NO :258)

[0336] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGITFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVASIWDGNSNKYYVDSVKGRFT

IFRDNSKKTLYLQMNRLRAEDTAVYYCARLGGGFDYWGQGLVTVSS

[0337] (SEQ ID NO :259)

[0338] H2(A-2)

[0339] caggtgcaactggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgca
gcgtctggaatcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaaggggctggagtgggtggc
atztatatggtatgatggaagtgaaaaatattatgtagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaatt
ccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagctctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgcgagaatggga
ggcggcctttgactactggggccaggggaaccctgggtcacctctcctca

[0340] (SEQ ID NO :260)

[0341] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGITFSSYGMHWVRQPGKGLEWVAFIWDGSEKYYVDSVKGRFT
ISRDNKNTLYLQMNRLRAEDTAVYYCARMGGGFDYWGQGLVTVSS

[0342] (SEQ ID NO :261)

[0343] H3(A-3)

[0344] caggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgca
gcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaaggggctggagtgggtggc
agttatgtggtatgatggaagtaataaagactatgtagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaatt
ccaagaacacgctgtatctgcaaatgaaccgctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgcgagagaaaa
gatcattacgacatctttgactggttataactactactacggctctggacgtctggggccaagggaccacggtcacctg
ctcctca

[0345] (SEQ ID NO :262)

[0346] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVMWYDGSNKDYVDSVKGRFT
ISRDNKNTLYLQMNRLRAEDTAVYYCAREKDHYDILTGYNYYYGLDVGQGTTVTVSS

[0347] (SEQ ID NO :263)

[0348] H4(A-4)

[0349] caggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgc
agcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaaggggctggagtgggtg
gcagttatgtggtatgatggaagtaataaagactatgtagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagac
aattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaaccgctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgcgaga
gaaaaagatcattacgacatctttgactggttataactactactacggctctggacgtctggggccaagggaccacg
gtcacctctcctcagcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgag
agcacagcggccctgggctgcct

[0350] (SEQ ID NO :264)

[0351] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVMWYDGSNKDYVDSVKGRFT
ISRDNKNTLYLQMNRLRAEDTAVYYCAREKDHYDILTGYNYYYGLDVGQGTTVTVSS

[0352] (SEQ ID NO :265)

[0353] H5(A-5)

[0354] caggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgc
agcctctgg attcaccttcagtagctatgggatgcactgggtccgccagggtccaggcaagggctctggagtgggt
ggcagttatatcagatgatggaagtcataaatactctgcagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagac

aattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagaactgaggactcggctgtgtattactgtgcgagag
aggagacgtattacgatattttgactggctatcatcactactacggataggacgtctggggccaaggaccacggt
caccgtctcctca

[0355] (SEQ ID NO :266)

[0356] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISDDGSHKYSADSVKGRFT
ISRDNKNTLYLQMNSLRTEDSA VYYCAREETYDILTGYHHYYGMDVWGQ GTTIVTVSS

[0357] (SEQ ID NO :267)

[0358] H6 (A-6)

[0359] caggtgcagctggtggagtctggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgca
gcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggc
agaaatatggaatgatggaagtaataaataactatgcagactccgtgaagggccgattcacatctccagagacaatc
ccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtgtattattgtgcgagagagcct
cagattacgatattttgactgggtatgataactactacggataggacgtctggggccaaggaccacggtcaccgt
ctcctca

[0360] (SEQ ID NO :268)

[0361] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAEIWNDGSNKYYADSVKGRFT
ISRDNPKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREPQYYDILTGYDNYGMDVWGQ GTTIVTVSS

[0362] (SEQ ID NO :269)

[0363] H7 (A-7)

[0364] caggtgcagctggtggagtctggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgca
gcctctggattcaccttcagtagctatgacatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggc
agtgatatacacatgatggaagtataaataactatgcagactccgtgaagggccgattcacatctccagagacaatt
ccaagaacacgctgtatctgcaaatgagcagtttgagagctgaggacacggctgtgtattactgtgcgagagaaaa
ccgtattacgatattttgactgggtatttctactactatggataggacgtctggggccaaggaccacggtcaccgt
ctcctca

[0365] (SEQ ID NO :270)

[0366] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQAPGKGLEWVAVISHDGS DKYYADSVKGRFT
ISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCAREKPYYDILTGYFYGGMDVWGQ GTTIVTVSS

[0367] (SEQ ID NO :271)

[0368] H8 (A-8)

[0369] caggtgcagttggcggagtctggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtaca
gcgtctggaatcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggc
aggatatggatgatggaaggaataaataactatgtagactccgtgaagggccgattcacatctccagagacaattc
caagaaaacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgcgaggttagcag
tggcctttgactactggggccaggaactttggtcaccgtctcctca

[0370] (SEQ ID NO :272)

[0371] QVQLAESGGGVVQPGRSLRLSCTASGITFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAGIWDGRNKYYVDSVKGRFT
ISRDNKKTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAVAFDYWGQ GTTLVTVSS

[0372] (SEQ ID NO :273)

[0373] H9 (A-9)

[0374] caggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgca
gcgtctggattcaccctcagtagctatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggc
agttatgtggtatgatggaagtaataaagactatgtagactccgtgaaggccgattcaccatctccagagacaatt
ccaagaacacgctgtatctgcaaatgaaccgctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgcgagagaaaa
gatcattacgacatctttgactggttataactactactacggctcggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgt
ctcctca

[0375] (SEQ ID NO :274)

[0376] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVMWYDGSNKDYVDSVKGRFT
ISRDNKNTLYLQMNRLRAEDTAVYYCARE KDHYDILTGYNYYYGLDWVGQGTMTVSS

[0377] (SEQ ID NO :275)

[0378] H10 (A-10)

[0379] caggtacagctgcagcagtcaggtccaggactggtgaggcctcgcagaccctctcactcacctgtgcc
atctccggggacagtgctctcagcaactatgctgcttggaaactggatcaggcagtcctccatcagagagccttgagt
gctgggaaggacatactacaggtccaagtggataatgattargcagtatctgtgagaagtcgaacaacctcaacc
cagacacatccaagaaccagttctccctgcagttgaactctgtgactcccaggacacggctgtgtattactgtaca
agagaagatggcagtggtggttacggctgttttgacatctggggccaagggacaatggtcaccgtctcttca

[0380] (SEQ ID NO :276)

[0381] QVQLQQSGPGLVLRPSQTLSTCAISGDSVSSNYAAWNWIRQSPSRGLEWLG RTYYRSKWYNDYAVSVR
SRTTINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCTREDGSGWYGAFDIWVGQGTMTVSS

[0382] (SEQ ID NO :277)

[0383] H11 (A-11)

[0384] caggtgcaactggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgca
gcctctgggagcaccttcagaagctatgacatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggc
atattatattcagatgatggaagtaataaatactatggagactccgtgaaggccgattgaccatctccagagacaat
tccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagctgaggacacggctgtgtattactgtgcgagagatca
atacgatattttgactggttattctctgatgctttgatatctggggccaagggacaatggtcaccgtctcttca

[0385] (SEQ ID NO :278)

[0386] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGTFRSYDMHWVRQAPGKGLEWVAFISDDGSNKYYGDSVKGRFT
ISRDNKNTLYLQMNRLRAEDTAVYYCARDQYDILTGYSSDAFDIWVGQGTMTVSS

[0387] (SEQ ID NO :279)

[0388] H12 (A-12)

[0389] caggtgcaactggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgca
gcctctgggagcaccttcagaagctatgacatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggc
atattatattcagatgatggaagtaataaataatattatggagactccgtgaaggccgattgaccatctccagagacaat
tccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagctgaggacacggctgtgtattattgtgcgagagatca
atacgatattttgactggttattctctgatgctttgatatctggggccaagggacaatggtcaccgtctcttca

[0390] (SEQ ID NO :280)

[0391] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGTFRSYDMHWVRQAPGKGLEWVAFISDDGSNKYYGDSVKGRFT

ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQYDILTGYSSDAFDIWGQGMVTVSS

[0392] (SEQ ID NO :281)

[0393] H13(A-13)

[0394] caggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgca
gcctctggaagcaccctcagaagctatgacatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggc
agttatatcatatgatggaagtaataaataactatggagactccgtgaagggccgattgaccatctccagagacaatt
ccaagaacac gctgtatctgcaaatgaacagcctgagagctgaggacacggctgtgtattactgtgagagagatca
atacgatattttgactggttattctctgatgcttttgatatctggggccaagggacaatggtcaccgtctctca

[0395] (SEQ ID NO :282)

[0396] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSTFRSYDMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYGDSVKGRLT
ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQYDILTGYSSDAFDIWGQGMVTVSS

[0397] (SEQ ID NO :283)

[0398] H14(A-14)

[0399] caggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgca
gcgtctggattcaccttcagtaaactatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggc
agttatatggtatgatggaagtaataaataactatgcagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaatt
ccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgagagagcctat
tacgatattttgactgattacccccagtatgactactactacggtatggacgtctggggccaagggaccacggtcac
cgtctctca

[0400] (SEQ ID NO :284)

[0401] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKLEWVA VIWYDGSNKYYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAYYDILTDYPQYDYYGMDVWGQTTVTVSS

[0402] (SEQ ID NO :285)

[0403] H15(A-15)

[0404] caggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaagtccctgagactctcctgtgca
gtctctggattcatcttcagtaagctatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggc
acttatatcatttgatggaagtaataaataactatgcagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaatt
ccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagctgaggacacggctgtgtattactgtgagagagatggg
tattacgatattttgactggttatgaggatgatgcttttgatatctggggccaagggacaatggtcaccgtctcttc
a

[0405] (SEQ ID NO :286)

[0406] QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAVSGFIFSSYGMHWVRQAPGKLEWVALISFDGSNKYYADSVKGRFT
ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYYDILTGYEDDAFDIWGQGMVTVSS

[0407] (SEQ ID NO :287)

[0408] H16(A-16)

[0409] caggtgcagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtctcctgcaag
gcttctggatacaccttcaccggctactatttgactgggtgagacaggccccctggacaagggcttgagtggatggg
atggatcatecctgacagtggtggcacaaaagtatgcacagaagtttcagggcagggtcaccatgaccaggacacgt
ccatcagcacagcctacttgagctgagcaggctgagatctgacgacacggcctgtattactgtgagagagaaggg

tttcattacgatattttgactggcttctacttctactactacggatggacgtctggggccaaggaccacggtcac
cgtctcctca

[0410] (SEQ ID NO :288)

[0411] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYLHWVRQAPGQGLEWMG WIIPDSGGTKYAQKFQGRV
TMRDTSISTAYLELSRLRSDDTAVYYCAREGFHYDILTGSYFYFYGGMDVWGQGTITVTVSS

[0412] (SEQ ID NO :289)

[0413] H17 (A-17)

[0414] vcaggttcagctgggtgcagctctggagctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaggctctcctgcaa
ggcttctggttacacctttaccagctatgggtatcagttgggcgcgacaggccctggacaaggccttgagtggatgg
gatggatcggcgtttacaatgggtcacacaaaatatgcacagaagttccagggcagagtcaccatgaccacagacaca
tccacgagcacagcctacatggagctgaggagcctgagatctgacgacacggccatattttactgtgcgagaaggg
agcagtggtctgggtactttgactactggggccagggaaccctgggtcaccgtctcctca

[0415] (SEQ ID NO :290)

[0416] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISWARQAPGQGLEWMG WIGVYNGHTKYAQKFQGRV
TMTTDTSTAYMELRSLRSDDTAIFYCARRVAVAGYFDYWGQGLTVTVSS

[0417] (SEQ ID NO :291)

[0418] H18 (A-18)

[0419] caggtgcagctgggtggagctctgggggagcgtgggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgca
gcgtctggattcaccttcagtagatgtggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggc
agttatatgggtatgatggaagtcataaatactatgaagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaatt
ctaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgacgacacgggtgtgtattactgtgcgagagtcggg
tatggcagtggtctgggtacgagctactattaccactacgggtatggacgtctggggccaaggaccacggtcaccgtctc
ctca

[0420] (SEQ ID NO :292)

[0421] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSHKYYEDSVKGRFT
ISRDNKNTLYLQMNSLRADDTGVYYCARVYGSGWYEEYHYGMDVWGQGTITVTVSS

[0422] (SEQ ID NO :293)

[0423] H19 (A-19)

[0424] caggtgcagctgggtggagctctgggggagcgtgggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgca
gcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtgac
aatttatatgggtctgatggaattaacaaatactatgcagactccgtgaagggccgattcaccatattccagagacaatt
ccaagaacacgctgaatctgcaaatgaacagtttgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgcgagagagaga
ggcctctacgatattttgactgggtattataactactacgggtatgacgtctggggccaaggaccacggtcaccgt
ctcctca

[0425] (SEQ ID NO :294)

[0426] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKLEWVTIIWSDGINKYYADSVKGRFT
ISRDNKNTLNLQMNSLRADDTAVYYCARERGLYDILTGYYNYGIDVWGQGTITVTVSS

[0427] (SEQ ID NO :295)

[0428] H20 (A-20)

[0429] gaggtgcagctggtggagtctgggggagacttggtagcagcctggggggtccctgagactctcctgtgca
gcctctggattcaccctcagtggtataccttgaactgggtccgccaggctccaggaaggggctggagtgggttc
aacattaatagtaggagtagtctcatatactacacagactctgtgaaggccgattcaccatctccagagacaatg
ccaagaactcactgtatctgcaaatgaacagcctgagagacgaggacacggctgtgtatttctgtgcgagagatcag
tataactggaactactactacggtatggacgtctggggccaaggaccacggtcaccgtctcctca

[0430] (SEQ ID NO :296)

[0431] EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYTLNWRQAPGKGLEWVSNINSRSSLIYYTDSVKGRFT
ISRDNKNSLYLQMNLRDEDTAVYFCARDQYNWNYYYGMDVWGQGLTVTVSS

[0432] (SEQ ID NO :297)

[0433] H21 (A-21)

[0434] gaggtgcggctggtggagtctgggggagacttggtagcagcctggggggtccctgagactctcctgtgca
gcctctggattcaccctcagtagctatgcatgaactgggtccgccaggctccaggaaggggctggagtggatttc
atacattggttagtagtagtgccatatactacggagactctgtgaaggccgattcaccatctccagagacaatg
ccaagaactcac tgtatctgcaaatgaacagcctgagagacgaggacacggctgtgtattactgtgcgagatatag
aagtggctggtccccctctttgacttctggggccagggaagcctggtcaccgtctcctca

[0435] (SEQ ID NO :298)

[0436] EVRLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWRQAPGKLEWISYIGSSSSAIYYGDSVKGRFT
ISRDNKNSLYLQMNLRDEDTAVYYCARYRSGWSPLDFWGGQGLTVTVSS

[0437] (SEQ ID NO :299)

[0438] H22 (A-22)

[0439] caggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggagggtccctgagactctcctgtgca
gcgtctggaatcaccctcagtagctatggcatgcaactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtgpc
atctatatggtatgatggaagtaataaatattatgtagactccgtgaaggccgattcaccatctccagagacaatt
ccaagaaaacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagaccgaggacacggctgtgtattactgtgcgagacttgggt
ggtggttttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctca

[0440] (SEQ ID NO :300)

[0441] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGITFSSYGMHWVRQAPGKLEWVASIWDGSKNYVDSVKGRFT
IFRDNKKTLYLQMNRLRAEDTAVYYCARLGGGFDYWGQGLTVTVSS

[0442] (SEQ ID NO :301)

[0443] H23 (A-23)

[0444] gaggtgcggctggtggagtctgggggaggcttggtagcagcctggggggtccctgagactctcctgtaca
gcctctggattccccctcaatagatatgcatgaactgggtccgccaggctccaggaaggggctggagtgggttc
atacattggttagtagtagtgccatatactacgcagactctgtgaaggccgattcaccatctccagagacaatg
ccaagaactcactgtatctgcaaatgaacagcctgagagatgaagacacggctgtgtattactgtgcgagatatagc
agtggctggtccccctctttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctca

[0445] (SEQ ID NO :302)

[0446] EVRLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFPFNRYAMNWRQAPGKLEWVSYIGSSSSAIYYADSVKGRFT
ISRDNKNSLYLQMNLRDEDTAVYYCARYSSGWSPLFDYWGQGLTVTVSS

[0447] (SEQ ID NO :303)

[0448] 本发明抗原结合蛋白的具体实施方案包含与一个或多个上文所列 CDRs 和 / 或 FRs (骨架区) 的氨基酸序列相同的一个或多个氨基酸序列。在一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列轻链 CDR1 序列。在另一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列的轻链 CDR2 序列。在另一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列的轻链 CDR3 序列。在另一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列的重链 CDR1 序列。在另一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列的重链 CDR2 序列。在另一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列的重链 CDR3 序列。在另一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列的轻链 FR1 序列。在另一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列的轻链 FR2 序列。在另一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列轻链 FR3 序列。在另一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列轻链 FR4 序列。在另一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列重链 FR1 序列。在另一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列重链 FR2 序列。在另一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列重链 FR3 序列。在另一个实施方案中, 该抗原结合蛋白包含上文所列重链 FR4 序列。

[0449] 在另一个实施方案中, 至少一个抗原结合蛋白的 CDR3 序列与来自 A1-A23 的 CDR3 序列的差异最多不超过 6、5、4、3、2、1 或 0 个单氨基酸添加、替换和 / 或缺失, 如上文表 2 和 3 所示。在另一个实施方案中, 抗原结合蛋白的轻链 CDR3 序列与上述 A1-A23 的轻链 CDR3 序列的差异不得超过 6、5、4、3、2、1 或 0 个单氨基酸添加、替换和 / 或缺失并且抗原结合蛋白的重链 CDR3 序列与上文所述 A1-A23 的重链 CDR3 序列的差异最多不超过 6、5、4、3、2、1 或 0 个单氨基酸添加、替换和 / 或缺失。在另一个实施方案中, 抗原结合蛋白进一步包含 1、2、3、4 或 5 个 CDR 序列, 各序列独自与 A1-A23 的 CDR 序列的差异最多不超过 6、5、4、3、2、1 或 0 个单氨基酸差异。在另一个实施方案中, 抗原结合蛋白包含上文所列轻链可变区的 CDRs 和重链可变区的 CDRs。在另一实施方案中, 抗原结合蛋白包含上文所述的 1、2、3、4、5 和 / 或 6 个一致 CDR 序列。在进一步的实施方案中, 该抗原结合蛋白包含 L1H1、L2H2、L3H3、L4H4、L5H5、L6H6、L7H7、L8H8、L9H9、L10H10、L11H11、L12H12、L13H13、L14H14、L15H15、L16H16、L17H17、L18H18、L19H19、L20H20、L21H21、L22H22 和 L23H23 中任何之一的 CDRs。在一个实施方案中, 该抗原结合蛋白为人类抗体。

[0450] 在一个实施方案中, 该抗原结合蛋白 (例如抗体或抗体片段) 包含轻链可变结构域, 其包含与选自 L1-L23 的轻链可变结构域序列存在 15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1 或 0 个氨基酸差异的氨基酸序列, 其中各该序列的差异独立为一个氨基酸残基的缺失、插入或替换。在另一个实施方案中, 该轻链可变结构域包含与选自 L1-L23 的轻链可变结构域至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97% 或 99% 相同的氨基酸序列。在另一个实施方案中, 该轻链可变结构域包含与下文所列 L1-L23 多聚核苷酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97% 或 99% 相同的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在另一个实施方案中, 该轻链可变结构域包含在中等条件下与编码选自 L1-L23 的轻链可变结构域的多聚核苷酸互补序列杂交的多聚核苷酸编码的氨基酸序列。在另一个实施方案中, 该轻链可变结构域包含在严格条件下与编码选自 L1-L23 的轻链可变结构域的多聚核苷酸的互补序列杂交的多聚核苷酸编码的氨基酸序列。

[0451] 在另一个实施方案中, 本发明提供包含重链可变结构域的抗原结合蛋白, 该可变结构域包含选自 H1-H23 的重链可变结构域序列存在 15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、

2、1 或 0 个残基存在差异的氨基酸序列，其中各该序列差异独立为一个氨基酸的缺失、插入或替换。在另一个实施方案中，该重链可变结构域包含与选自 H1-H23 的重链可变结构域序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97% 或 99% 相同的氨基酸序列。在另一个实施方案中，该重链可变结构域包含在中等严格条件下与编码选自 H1-H23 的重链可变结构域的多聚核苷酸互补序列杂交的多聚核苷酸编码的氨基酸序列。在一个实施方案中，该重链可变结构域包含在严格条件下与编码选自 H1-H23 的重链可变结构域的多聚核苷酸互补序列杂交的多聚核苷酸编码的氨基酸序列。

[0452] 附加实施方案包括包含组合 L1H1、L2H2、L3H3、L4H4、L5H5、L6H6、L7H7、L8H8、L9H9、L10H10、L11H11、L12H12、L13H13、L14H14、L15H15、L16H16、L17H17、L18H18、L19H19、L20H20、L21H21、L22H22 和 L23H23 的抗原结合蛋白。

[0453] 本发明的抗原结合蛋白（例如，抗体、抗体片段和抗体衍生物）可包含本领域已知的任何恒定区。轻链恒定区可为例如 κ 或 λ 型轻链恒定区，例如人 κ 或 λ 型轻链恒定区。重链恒定区可为例如 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 或 μ 型重链恒定区，例如人 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 或 μ 型重链恒定区。在一个实施方案中，该轻链或重链恒定区为天然恒定区的片段、衍生物、变体或突变蛋白。

[0454] 已知从相关抗体衍生不同亚类或同种型抗体的技术，即亚类转换 (subclass switching)。因此，可从 IgM 抗体衍生 IgG 抗体，反之亦然。这类技术允许制备具有给定抗体（母体抗体）的抗原结合性质的新抗体，但是也显示与母体抗体不同的抗体同种型或亚类相关的生物学性质。也可应用重组 DNA 技术。可在该操作中应用编码具体抗体多肽的已克隆 DNA，例如编码期望同种型的抗体恒定结构域的 DNA。也可参见 Lanitto 等，Methods Mol. Biol. 178 :303-16 (2002)。

[0455] 在一个实施方案中，本发明的抗原结合蛋白进一步包含恒定轻链 κ 或 λ 结构域或这些的片段。轻链恒定区序列和它们的编码多聚核苷酸提供于表 4。在另一个实施方案中，本发明抗原结合蛋白进一步包含重链恒定结构域或其片段，例如提供于表 4 的 IgG 重链恒定区。

[0456] 在一个实施方案中，抗体 A-9 和 A-3 的人轻链和重链氨基酸序列的 IgG2 形式列于下文的 SEQ ID NO :310、SEQ ID NO :311、SEQ ID NO :312 和 SEQ ID NO :311。

[0457] 表 4

[0458] 轻链恒定区

[0459] 多聚核苷酸 (κ)

[0460] cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgc
ctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaa
tcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacg
ctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcaaggtcaccatcagggcctgagctcgcccgtc
acaagagcttcaacaggggagagtgt (SEQ ID NO :304)

[0461] 氨基酸 (κ)

[0462] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO :305)

[0463] 多聚核苷酸 (λ)

[0464] ggtcagceccaaggctgcccccteggtcactctgttcccgeectcctctgaggagettcaagccaacaa
ggccacactgggtgtgtctcataagtgacttctacccgggagccgtgacagtggcctggaaggcagatagcagcccc
gtcaaggcgggagtgagaccaccacacctccaaacaagcaacaacaagtaacgcgccagcagctatctgagc
ctgacgcctgagcagtggaagtccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaaggagcaccgtggagaag
acagtggcccctacagaatgttea (SEQ ID NO :306)

[0465] 氨基酸 (λ)

[0466] GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAAS
SYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO :307)

[0467] 重链恒定区

[0468] 多聚核苷酸

[0469] gcctccaccaagggeccatcggtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagcg
gccctgggctgectggctcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgctggaactcaggcgctctgaccagcgg
cgtgcacaccttcccagctgtcctacagtctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagca
acttcggcaccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgc
aaatgttgtgtcgagtgccaccgtgccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttctcttccccccaaaacc
caaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacgtgctggtgggtggacgtgagccacgaagaccccgagg
tccagttcaactggtacgtggacggcgtggagggtgataatgccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacagc
acgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgttgtgcaaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgaaggtctc
caacaaaggcctcccagccccatcgagaaaacctctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtaca
ccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgacctgectggctcaaaggcttctaccccagc
gacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccga
cggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaac gtcttctcatgctcc
gtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

[0470] (SEQ ID NO :308)

[0471] 氨基酸

[0472] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSSGLYSLSSVV
TVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVRKKCCVECPKPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO :309)

[0473] 轻链 A-9IgG2 形式

[0474] MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIKNDLQWYQQKPKGKAPKRL
IYAASSLESVPSRFSGSGSGTEFTLTISVQPEDFVITYYCLQHNSNPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL
SSPVTKSFNRGEC

[0475] (SEQ ID NO :310)

[0476] 重链 A-9IgG2 形式

[0477] MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAV
MWYDGSNKDYVDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNRLRAEDTAVYYCAREKDHYDILTGYNNYYGLDVGQGTITVTVS

SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNF
GTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTK GQPREPQVY
LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO :311)

[0478] 轻链 A-3IgG2 形式

[0479] MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGI RNDLWYQQKPKGKAPKRL
IYAASSLQSGVPSRFSGSGTEFTLTITSSVQPEDFVITYYCLQHNSNPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGL
SSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO :312)

[0480] 重链 A-3IgG2 形式

[0481] MEFGLSWVFLVALLRGGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAV
MWYDGSNKDYVDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNRLRAEDTAVYYCAREKDHYDILTGYNYYYGLDVWQGTTVTVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNF
GTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
HEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO :311)

[0482] 本发明抗原结合蛋白（例如抗体）包括例如包含组合 L1H1、L2H2、L3H3、L4H4、
L5H5、L6H6、L7H7、L8H8、L9H9、L10H10、L11H11、L12H12、L13H13、L14H14、L15H15、L16H15、
L17H17、L18H18、L19H19、L20H20、L21H21、L22H22 和 L23H23 并具有期望表型（例如，IgA、
IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgE 和 IgD）以及其 Fab 或 F(ab')₂ 片段的那些。而且，如果
期望 IgG4，也需要如 Bloom 等，1997，Protein Science 6 :407（以参考形式并于本文）所
述在铰链区引入一个点突变以减轻形成 IgG4 抗体中不均一性的内 H 链二硫键的趋势。

[0483] 抗体和抗体片段

[0484] 在一个实施方案中该抗原结合蛋白为抗体。术语“抗体”指完整抗体或其抗原结
合片段，如定义部分所广泛描述。抗体可包含完整的抗体分子（包括具有全长重和 / 或
轻链的多克隆、单克隆、嵌合、人源化或人类抗体）或包含其抗原结合片段。抗体片段包
括 F(ab')₂、Fab、Fab'、Fv、Fc 和 Fd 片段，并可整合入单结构域抗体、单链抗体、最大抗体
(maxibodies)、微抗体 (minibodies)、内抗体 (intrabodies)、二链抗体、三链抗体、四链抗
体、v-NAR 和 bis-scFv（参见，例如 Hollinger and Hudson, 2005, Nature Biotechnology,
23, 9, 1126-1136）。也包括抗体多肽例如美国专利号 6703199 中所公开的那些，包括纤维结
合素多肽单抗体。其它抗体多肽公开于美国专利出版物 2005/0238646，其为单链多肽。在
一个实施方案中，本发明该抗体包含上文表 2 所列的至少一个 CDR 或一致 CDR。

[0485] 定义部分定义了嵌合抗体和人源化抗体并可通过已知技术制备。在一个实施方
案中，人源化单克隆抗体包含鼠抗体的可变结构域（全部或部分其抗原结合位点）和人
类抗体的恒定结构域。或者，人源化抗体可包含鼠单克隆抗体的抗原结合位点和来源于
人类抗体的可变结构域片段（缺失抗原结合位点）。基因工程单克隆抗体的生产方法包括
Riechmann 等，1988, Nature 332 :323, Liu 等，1987, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 84 :3439,

Larrick 等,1989, *Bio/Technology* 7:934 和 Winter 等,1993, *TIPS* 14:139 中所述。在一个实施方案中,该嵌合抗体为 CDR 移植抗体。人源化抗体的技术描述于例如美国专利号 5869619、5225539、5821337、5859205、6881557, Padlan 等,1995, *FASEB J.* 9:133-39, Tamura 等,2000, *J. Immunol.* 164:1432-41, Zhang, W 等, *Molecular Immunology.* 42(12):1445-1451, 2005 ;Hwang W. 等, *Methods.* 36(1):35-42, 2005 ;Dall'Acqua WF 等, *Methods* 36(1):43-60, 2005 ;和 Clark, M., *Immunology Today.* 21(8):397-402, 2000。

[0486] 本发明抗体也可为全长人单克隆抗体。可通过本领域普通技术人员熟悉的技术生成全长人单克隆抗体。该类方法包括但是不限于 Epstein Barr Virus (EBV) 转染人外周血细胞(例如包含 B 淋巴细胞)、体外免疫人 B 细胞、携带被插入的人免疫球蛋白基因的经免疫转基因小鼠的脾细胞融合、从人免疫球蛋白 V 区噬菌体文库中分离或其它本领域已知并基于本文公开内容的操作。

[0487] 已研发出在非人动物中生成人单克隆抗体的方法。举例而言,已制备了通过各种途径将一个或多个内源免疫球蛋白基因灭活的小鼠。已将人免疫球蛋白基因引入小鼠取代被灭活的小鼠基因。在这一技术中,将人重和轻链基因座的元件引入来源于包含内源重链和轻链基因座的靶向断裂的胚胎干细胞的小鼠株(也可参见 Bruggemann 等, *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:455-58 (1997)。例如,人免疫球蛋白转基因可为小基因构建体或酵母人工染色体上的转位子,其经过在小鼠淋巴样组织中的 B 细胞特异 DNA 重排和超突变。

[0488] 动物中生产的抗体整合了由引入动物中的人遗传物质编码的人免疫球蛋白多肽链。在一个实施方案中,用适当的 GCGR 免疫原免疫非人类动物例如转基因小鼠。适当 GCGR 免疫原的实例为如下文实施例中描述的富含受体的细胞膜部分。另一实例为 SEQ ID NO:2 的胞外结构域。

[0489] 生产技术实例和使用转基因动物生产人或部分人类抗体描述于美国专利 5814318、5569825 和 5545806, Davis 等, *Production of human antibodies from transgenic mice*, Lo, ed. *Antibody Engineering: Methods and Protocols*, Humana Press, NJ:191-200 (2003), Kellermann 等, 2002, *Curr Opin Biotechnol.* 13:593-97, Russel et al., 2000, *Infect Immun.* 68:1820-26, Gallo et al., 2000, *Eur J Immun.* 30:534-40, Davis 等, 1999, *Cancer Metastasis Rev.* 18:421-25, Green, 1999, *J Immunol Methods.* 231:11-23, Jakobovits, 1998, *Advanced Drug Delivery Reviews* 31:33-42, Green et al., 1998, *J Exp Med.* 188:483-95, Jakobovits A, 1998, *Exp. Opin. Invest. Drugs.* 7:607-14, Tsuda 等, 1997, *Genomics.* 42:413-21, Mendez 等, 1997, *Nat Genet.* 15:146-56, Jakobovits, 1994, *Curr Biol.* 4:761-63, Arbones 等, 1994, *Immunity.* 1:247-60, Green 等, 1994, *Nat Genet.* 7:13-21, Jakobovits 等, 1993, *Nature.* 362:255-58, Jakobovits 等, 1993, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90:2551-55. Chen, J., M. Trounstein, F. W. Alt, F. Young, C. Kurahara, J. Loring, D. Huszar. "Immunoglobulin gene rearrangement in B-cell deficient mice generated by targeted deletion of the JH locus." *International Immunology* 5(1993):647-656, Choi 等, 1993, *Nature Genetics* 4:117-23, Fishwild 等, 1996, *Nature Biotechnology* 14:845-51, Harding 等, 1995, *Annals of the New York Academy of Sciences*, Lonberg 等, 1994, *Nature* 368:856-59, Lonberg, 1994, *Transgenic Approaches to Human Monoclonal Antibodies in*

Handbook of Experimental Pharmacology 113 :49-101, Lonberg 等, 1995, Internal Review of Immunology 13 :65-93, Neuberger, 1996, Nature Biotechnology 14 :826, Taylor 等, 1992, Nucleic Acids Research 20 :6287-95, Taylor 等, 1994, International Immunology 6 :579-91, Tomizuka 等, 1997, Nature Genetics 16 :133-43, Tomizuka 等, 2000, Proceedings of the National Academy of Sciences USA 97 :722-27, Tuailon 等, 1993, Proceedings of the National Academy of Sciences USA 90 :3720-24, and Tuailon 等, 1994, Journal of Immunology 152 :2912-20. ; Lonberg 等, Nature 368 :856, 1994 ; Taylor 等, Int. Immun. 6 :579, 1994 ; 美国专利号 5877, 97 ; Bruggemann 等, 1997 Curr. Opin. Biotechnol. 8 :455-58 ; Jakobovits 等, 1995 Ann. N. Y. Acad. Sci. 764 :525-35。此外, 涉及 **XenoMouse®** (Abgenix, now Amgen, Inc.) 的方案描述于例如 U. S. 05/0118643 以及 WO 05/694879、WO 98/24838、WO 00/76310 和美国专利 7064244。

[0490] 例如将被免疫转基因小鼠的淋巴样细胞与骨髓瘤细胞融合以生产杂交瘤。用于生成杂交瘤的融合方法的骨髓瘤细胞优选为非抗体生产, 其具有高融合效率以及使它们可在仅支持期望融合细胞 (杂交瘤) 生长的选择培养基中生长的酶缺陷。用于该类融合的适当细胞系的实例包括 Sp-20、P3-X63/Ag8、P3-X63-Ag8. 653、NS1/1. Ag 41、Sp210-Ag14、FO、NS0/U、MPC-11、MPC11-X45-GTG 1.7 和 S194/5XX0 Bu1 ; 用于大鼠融合的细胞系实例包括 R210. RCY3、Y3-Ag1. 2. 3、IR983F 和 4B210。用于细胞融合的其他细胞系为 U-266、GM1500-GRG2、LICR-LON-HMy2 和 UC729-6。

[0491] 淋巴样 (例如脾) 细胞和杂交瘤细胞可在膜融合促进剂 (例如聚乙二醇或非离子去污剂) 存在下结合数分钟, 然后低密度接种至支持杂交瘤而不支持未融合骨髓瘤细胞生长的选择性培养基上。一种筛选培养基为 HAT (次黄嘌呤、氨基蝶呤、胸腺嘧啶)。经过足够时间之后, 通常约一至两周, 可观察到细胞集落。分离单集落, 可使用各种本领域已知即本文描述的免疫测定法检测细胞产生抗体与人 GCGR 的结合活性。克隆该杂交瘤 (例如, 通过有限稀释克隆或通过软琼脂挑斑分离), 筛选并培养可生产对人 GCGR 具有特异性的抗体的阳性克隆。可从杂交瘤培养物的上清中分离来自杂交瘤培养物的单克隆抗体。

[0492] 另一种生成本发明人类抗体的方法包括通过 EBV 转化永生化人外周血细胞。参见, 例如美国专利号 4464456。可通过本文提供的免疫检测方法例如 ELISA 鉴定生可特异性结合人 GCGR 的单克隆抗体的永生化 B 细胞系 (或类成淋巴细胞), 然后通过标准的克隆技术分离。可将已转化细胞系与鼠杂交瘤融合提高可生产抗 GCGR 抗体的类成淋巴细胞的稳定性 (参见, 例如, Glasky 等, Hybridoma 8 :377-89 (1989))。又另一种生成人单克隆抗体的方法为体外免疫, 其包括用人 GCGR 初次免疫人脾 B 细胞, 然后将已初次免疫的 B 细胞和杂交融合配体融合。参见。例如 1991 J. Immunol. 147 :86-95。

[0493] 在一些实施方案中, 筛选生产抗人 GCGR 抗体的 B 细胞并根据本领域已知 (WO 92/02551 ; 美国专利 5627052 ; Babcook 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93 :7843-48 (1996)) 及本文所述的分子生物学技术从 B 细胞克隆轻链和重链可变区。可从脾、淋巴结或外周血样品中通过筛选生产与 GCGR 特异性结合的抗体从被免疫小鼠分离 B 细胞。也可从人例如外周血样品中分离 B 细胞。检测生产具有期望特异性的抗体的单个 B 细胞的方法为本领域已知, 例如, 通过空斑形成、荧光激活细胞分选术、体内激活然后检测特异抗体及类似方法。筛选特异抗体生产 B 细胞的方法包括例如在包含人 GCGR 的软琼脂中制备 B 细胞的单细胞

混悬液。由 B 细胞生产的特异抗体的结合导致复合物的形成,其可以免疫沉淀物可见。筛选了生产期望抗体的 B 细胞后,可根据本领域已知或本文描述的方法通过分离或扩增 DNA 或 mRNA 克隆特异抗体基因。

[0494] 获得本发明抗体的附加方法为噬菌体展示。参见,例如, Winter 等,1994 *Annu. Rev. Immunol.* 12 :433-55 ;Burton 等,1994 *Adv. Immunol.* 57 :191-280。可在噬菌体载体中建立人或鼠免疫球蛋白可变区基因组合文库,该噬菌体载体可用于筛选与 TGF- β 结合蛋白或其变异体或片段特异性结合的 Ig 片段 (Fab、Fv、sFv 或其多聚体)。参见,例如,美国 专利号 5223409 ;Huse 等,1989 *Science* 246 :1275-81 ;Sastry 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86 :5728-32(1989) ;Alting-Mees 等, *Strategies in Molecular Biology* 3:1-9(1990) ;Kang 等,1991 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 :4363-66 ;Hoogenboom 等,1992 *J. Molec. Biol.* 227 :381-388 ;Schlebusch 等,1997 *Hybridoma* 16 :47-52 以及本文引用的参考文献。例如,可将包含编码 Ig 可变区的多个多聚核苷酸序列的文库插入丝状噬菌体例如 M13 或其变异体的基因组中,与编码噬菌体衣壳蛋白的序列在同一框架中。融合蛋白可为衣壳蛋白与轻链可变区结构域和 / 或重链可变区结构域的融合。根据具体的实施方案,免疫球蛋白 Fab 片段也可展示于噬菌体颗粒 (参见,例如美国专利号 5698426)。

[0495] 也可在 λ 噬菌体中制备重链和轻链免疫球蛋白 cDNA 表达文库,例如使用 λ ImmunoZapTM(H) 和 λ ImmunoZapTM(L) 载体 (Stratagene, La Jolla, California)。简而言之,从 B 细胞群中分离 mRNA 并用于在 λ ImmunoZap (H) 和 λ ImmunoZap (L) 载体中生成重链和轻链免疫球蛋白 cDNA 表达文库。可单独筛选这些载体或共表达以形成 Fab 片段或抗体 (参见上文的 Huse 等 ;也参见上文的 Sastry 等)。接着可将阳性空斑转化成允许从大肠杆菌高水平表达单克隆抗体片段的非裂解质粒。

[0496] 在一个实施方案中,使用核苷酸引物扩增在杂交瘤中表达相关单克隆抗体的基因的可变区。这些引物可由本领域普通技术人员合成或从商业来源购买 (参见,例如 Stratagene (La Jolla, California), 其销售鼠和人可变区引物包括 V_{Ha} 、 V_{Hb} 、 V_{Hc} 、 V_{Hd} 、 C_{H1} 、 V_L 和 C_L 区的引物)。这些引物可用于扩增重链或轻链可变区,然后将其分别插入载体例如 ImmunoZAPTMH 或 ImmunoZAPTML (Stratagene) 中。然后将这些载体引入大肠杆菌、酵母或哺乳动物为基础的表达系统。可使用这些方法生产大量包含 V_H 和 V_L 结构域融合的单链蛋白 (参见, Bird 等, *Science* 242 :423-426, 1988)。

[0497] 一旦使用上述任何免疫和其它技术获得了根据本发明生产抗体的细胞,可根据本文所述标准方法通过分离并从其扩增 DNA 或 mRNA 将特异抗体基因克隆。测序从其生产的抗体并鉴定 CDRs,可如之前所述对编码 CDRs 的 DNA 进行操作以生成根据本发明的其它抗体。

[0498] 本发明的抗原结合蛋白优选在本文描述的基于细胞的测定法中和 / 或本文描述的体内测定法中调节胰高血糖素信号传导和 / 或交叉阻断本 申请所述抗体之一的结合和 / 或经本申请所述抗体之一被结合 GCGR 交叉阻断。因此可使用本文所述测定法鉴定该类结合剂。

[0499] 在一些实施方案中,通过首先鉴定在本文描述的基于细胞的和 / 或体内测定法中与过表达 GCGRs 的细胞结合和 / 或中和和 / 或交叉阻断本申请描述的抗体和 / 或经本申请描述的抗体之一被结合 GCGR 交叉阻断的抗体以生成抗体。

[0500] 本领域技术人员应理解的是一些蛋白质,例如抗体,可能进行可多种转录后修饰。这些修饰的类型和程度取决于用于表达该蛋白的宿主细胞系以及培养条件。该类修饰包括糖基化作用、甲硫氨酸氧化、二酮哌嗪形成、天冬氨酸异构化和天冬酰胺脱酰胺作用的变化。由于羧肽酶的作用频繁修饰导致羧端碱性残基(例如赖氨酸或精氨酸)的丢失(如 Harris, R. J. *Journal of Chromatography* 705 :129-134, 1995 中所述)。

[0501] 生产鼠单克隆抗体的可选择方法为将杂交瘤细胞注入同系基因小鼠的腹膜腔,例如经处理(例如姥蛟烷初次免疫)促进形成包含单克隆抗体的腹水的小鼠。可通过多种已确立的技术分离和纯化单克隆抗体。该类分离技术包括使用蛋白 A-琼脂糖的亲亲和色谱法、分子排阻色谱法和离子交换色谱法(参见,例如, Coligan 第 2.7.1-2.7.12 页和第 2.9.1-2.9.3 页; Baines 等,“Purification of Immunoglobulin G(IgG),” *Methods in Molecular Biology*, 第 10 卷, 第 79-104 页 (The Humana Press, Inc. 1992))。可使用基于抗体的特殊性质(例如,重链或轻链同种型、结合特异性等)筛选的适当配基通过亲和和色谱法纯化单克隆抗体。固定化于固体载体的适当配基的实例包括蛋白 A、蛋白 G、抗恒定区(轻链或重链)抗体、抗独特型抗体以及 TGF- β 结合蛋白或其片段或变异体。

[0502] 可使用抗体结合位点中央的互补决定区(CDRs)的分子进化分离亲和性增加的抗体,例如对 c-erbB-2 亲和性增加的抗体,如 Schier 等, 1996, *J. Mol. Biol.* 263 :551 所述。因此,该类技术可用于制备人胰高血糖素受体的抗体。

[0503] 例如可在检测是否存在胰高血糖素受体的体外或体内测定法中使用针对人胰高血糖素受体的抗原结合蛋白。

[0504] 尽管人类、部分人类或人源化抗体可适用于许多应用,尤其是涉及将抗体给予人类受试者,但是其它类型的抗原结合蛋白也适用于某些应用。本发明的非人类抗体可来源于例如任何生产抗体的动物,例如小鼠、大鼠、兔、山羊、驴或非人灵长类(例如猴子,如食蟹猴或猕猴)或猿(例如猩猩)。本发明的非人类抗体可用于例如体外或基于细胞培养的应用中,或其它任何应用,其中不发生对本发明抗体的免疫应答、不显著、可以预防、不关心或期望。下文的实施例 2 描述了鼠抗体的生成。在一个实施方案中,将本发明的非人类抗体给予非人受试者。在另一个实施方案中,该非人类抗体不会在非人受试者中引起免疫应答。在另一个实施方案中,非人类抗体来自与非人受试者相同的种属,例如将本发明的小鼠抗体给予小鼠。可通过用期望免疫原免疫该种属的动物生产具体种属的抗体或使用人工体系生成该种属的抗体(例如,细菌或基于噬菌体展示体系用于生成具体物种的抗体)或通过例如用另一物种的恒定区取代抗体的恒定区将一个物种的抗体转化成另一物种的抗体,或通过取代抗体的一个或多个氨基酸残基这样其与来自其它物种的抗体序列更相似。在一个实施方案中,该抗体为嵌合抗体,其包含来源于两个或多个不同物种的抗体的氨基酸序列。

[0505] 也可通过任何传统技术制备抗体。例如,可从天然表达这些抗体的细胞将其纯化(例如,可从生产抗体的杂交瘤将其纯化)或使用本领域任何已知的技术在重组表达系统中生产。参见,例如, *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses*, Kennet 等(编辑), Plenum Press, New York (1980); 和 *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow and Land(编辑), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, (1988)。这在下文的核酸部分讨论。

[0506] 可通过任何已知技术制备抗原结合蛋白并筛选期望性质。一些技术涉及分离编码相关抗原结合蛋白（例如，抗胰高血糖素受体抗体）的多肽链（或其部分）的核酸，并通过重组 DNA 技术操作核酸。该核酸可与另一相关核酸融合或经修饰（例如通过诱变或其它传统技术）以添加、缺失或替换一个或多个氨基酸残基。

[0507] 当需要提高根据本发明包含一个或多个上述 CDRs 的抗体的亲和性时，可通过多种亲和成熟方案包括维持 CDRs (Yang 等, *J. Mol. Biol.*, 254, 392-403, 1995)、链替换 (Marks 等, *Bio/Technology*, 10, 779-783, 1992)、使用大肠杆菌的突变株 (Low 等, *J. Mol. Biol.*, 250, 350-368, 1996) DNA 重排 (Patten 等, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8, 724-733, 1997)、噬菌体展示 (Thompson 等, *J. Mol. Biol.*, 256, 7-88, 1996) 以及其它 PCR 技术 (Cramer 等, *Nature*, 391, 288-291, 1998)。所有这些亲和力成熟方法讨论于 Vaughan 等, *Nature Biotechnology*, 16, 535-539, 1998 中。

[0508] 抗体片段

[0509] 在另一方面本发明提供本发明抗胰高血糖素受体片段。该片段可完全由抗体衍生序列组成或可包含附加序列。抗原结合片段的实例包括 Fab、F(ab')₂、单链抗体、双链抗体、三链抗体、四链抗体和结构域抗体。其它实例提供于 Lunde 等, 2002, *Biochem. Soc. Trans.* 30 :500-06。

[0510] 可经氨基酸桥（短肽接头）连接重链和轻链可变结构域 (Fv 区) 形成单链抗体，从而得到单多肽链。已通过将编码肽接头的 DNA 融合在编码两个可变结构域多肽 (V_L 和 V_H) 的 DNAs 之间制备该单链 FVs (scFvs)。所得多肽可折叠回自身形成抗原结合单体，或它们可形成多聚体（例如，二聚体、三聚体或四聚体），取决于两个可变结构域之间的柔性接头的长度 (Kortt 等, 1997, *Prot. Eng.* 10 :423 ;Kortt 等, 2001, *Biomol. Eng.* 18 :95-108)。通过组合包含多肽的不同 V_L 和 V_H，可形成与不同表型结合的多体 scFvs (Kriangkum 等, 2001, *Biomol. Eng.* 18 :31-40)。已研发的用于生产单链抗体的技术包括美国专利号 4946778 ;Bird, 1988, *Science* 242 :423 ;Huston 等, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85 :5879 ;Ward 等, 1989, *Nature* 334 :544, de Graaf 等, 2002, *Methods Mol Biol.* 178 :379-87 中描述的那些。来源于本文提供的抗体的单链抗体包括但不限于包含可变结构域组合 L1H1、L2H2、L3H3、L4H4、L5H5、L6H6、L7H7、L8H8、L9H9、L10H10、L11H11、L12H12、L13H13、L14H14、L15H15、L16H16、L17H17、L18H18、L19H19、L20H20、L21H21、L22H22 和 L23H23 的 scFvs，均涵盖于本发明。

[0511] 也可通过抗体的蛋白水解作用例如根据传统方法用胃蛋白酶或木瓜蛋白酶消化完整的抗体获得来源于抗体的抗原结合片段。举例而言，可用胃蛋白酶裂解抗体提供称作 F(ab')₂ 的 5S 片段生产抗体片段。可使用巯基还原剂进一步裂解这一片段产生 3.5S Fab' 单价片段。可选择性的，可使用巯基保护基团进行该裂解反应得到二硫键的裂解。作为可选择的，使用木瓜蛋白酶的酶裂解直接产生两个单价 Fab 片段和一个 Fc 片段。这些方法描述于例如 Goldenberg, 美国专利号 4, 331, 647, Nisonoff 等, *Arch. Biochem. Biophys.* 89 :230, 1960 ;Porter, *Biochem. J.* 73 :119, 1959 ;Edelman 等, *Methods in Enzymology* 1 :422 (Academic Press 1967) ;以及 Andrews, S. M. 和 Titus, J. A. *Current Protocols in Immunology* (Coligan J. E. 等, 编辑), John Wiley & Sons, New York (2003), 第 2.8.1-2.8.10 页和第 2.10A.1-2.10A.5 页。其它裂解抗体的方法，例如制备重链以形成单价重-轻链片段 (Fd)，进一步裂解片段或也可使用其它酶、化学或基因技术，只要片段与

可被该完整抗体识别的抗原结合。

[0512] 另一种形式的抗体片段为包含一个或多个抗体互补决定区 (CDRs) 的肽。可通过构建编码相关 CDR 的多肽获得 CDRs。例如可通过使用聚合酶链式反应应用抗体生成细胞的 mRNA 作为模板合成可变区制备该类多肽 (参见, 例如, Larrick 等, *Methods: A Companion to Methods in Enzymology* 2:106, 1991; Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies," *Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application*, Ritter 等. (编辑), 166 页 (Cambridge University Press 1995); 和 Ward 等, "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies," *Monoclonal Antibodies: Principles and Applications*, Birch 等, (编辑), 137 页 (Wiley-Liss, Inc. 1995))。该抗体片段可进一步包含本文所述抗体的至少一个可变结构域。因此, 例如, V 区结构域可为单体并且是 V_H 或 V_L 结构域, 其可以如下文所述的至少等于 $1 \times 10^{-7}M$ 或更低的亲和度独立与胰高血糖素受体结合。

[0513] 该可变区结构域可为任何天然可变结构域或其基因工程形式。基因工程形式指使用重组 DNA 工程技术生产的可变区结构域。该基因工程形式包括例如通过向特异抗体的氨基酸序列插入、缺失或改变从特异抗体可变区产生的。具体实例包括包含只含一个 CDR 以及任选来自一个抗体的一个或多个框架氨基酸和来自另一抗体的可变区结构域剩余部分的基因工程可变区结构域。

[0514] 可变区结构域可与至少一个其它抗体结构域或其片段在 C 端氨基酸共价连接。因此, 举例而言, 存在于可变区结构域的 V_H 结构域可与免疫球蛋白 CH1 结构域或其片段相连。相似地, V_L 结构域可与 C_k 结构域或其片段相连。以这种方式, 例如, 该抗体可为 Fab 片段, 其中抗原结合结构域包含它们的 C 端分别与 CH1 和 C_k 结构域共价连接的联合 V_H 和 V_L 结构域。可用其它氨基酸延长 CH1 结构域, 例如以提供铰链区或如 Fab' 片段中的部分铰链结构域或提供其它结构域, 例如抗体 CH2 和 CH3 结构域。

[0515] 抗原结合蛋白的衍生物和变异体

[0516] 例如可通过随机诱变或通过定点诱变 (例如寡聚核苷酸诱导的定点诱变) 改变编码对应于氨基酸序列 A1-A23 的核苷酸序列 L1-L23 和 H1-H23 以产生与未突变多聚核苷酸相比包含一个或多个具体核苷酸替换、缺失或插入的经改变的多聚核苷酸。用于产生该类改变的技术实例描述于 Walder 等, 1986, *Gene* 42:133; Bauer 等, 1985, *Gene* 37:73; Craik, *BioTechniques*, January 1985, 12-19; Smith 等, 1981, *Genetic Engineering: Principles and Methods*, Plenum Press; 以及美国专利号 4518584 和 4737462。这些和其它方法可用于产生例如与未衍生抗体相比具有期望性质例如亲和性、亲和力或对胰高血糖素受体的特异性增强、体内或体外活性或稳定性增强或体内副作用降低的抗胰高血糖素受体抗体的衍生物。

[0517] 本发明领域的其它抗胰高血糖素受体抗体衍生物包括抗胰高血糖素受体抗体或其片段与它蛋白或多肽的共价或聚集结合物, 例如通过表达包含与抗胰高血糖素受体抗体多肽的 N 端或 C 端融合的异源多肽的重组融合蛋白。例如, 该结合肽可为异源信号 (或引导) 多肽, 例如酵母 α 因子前导肽或例如表位标签的肽。包含融合蛋白的抗原结合蛋白可包含被添加以辅助抗原结合蛋白的纯化或鉴定的肽 (例如多聚组氨酸)。抗原结合蛋白也可与 FLAG 肽连接, 如 Hopp 等, *Bio/Technology* 6:1204, 1988 和美国专利 5011912 所述。

FLAG 肽具有高抗原性并提供被特异单克隆抗体 (mAb) 可逆结合的表位, 允许已表达重组蛋白的快速检测和方便纯化。可商业购买 (Sigma, St. Louis, MO) 用于制备其中 FLAG 肽与给定多肽融合的融合蛋白的试剂。在另一个实施方案中, 包含一个或多个抗原结合蛋白的寡聚体可用作胰高血糖素受体拮抗剂或用更高级的寡聚体。寡聚体可以是共价连接的或非共价连接的二聚体、三聚体或更高的寡聚体形式。可使用包含两个或更多个抗原结合蛋白的寡聚体, 其中一个实例为同型二聚体。其它寡聚体包括异二聚体、同型三聚体、异三聚体、同型四聚体、杂四聚体等。

[0518] 一个实施方案是针对包含多个抗原结合蛋白的寡聚体, 它们通过与抗原结合蛋白融合的肽部分之间的共价或非共价相互作用连接。该类肽可为肽接头 (spacers) 或具有促进寡聚化作用性质的肽。亮氨酸拉链和某些来源于抗体的多肽为可促进抗原结合蛋白寡聚化的肽, 如下文详细描述。

[0519] 在具体的实施方案中, 寡聚体包含两个至四个抗原结合蛋白。寡聚体的抗原结合蛋白可为任何形式, 如上文所述任何形式, 例如变异体或片段。优选地, 该寡聚体包含具有胰高血糖素受体结合活性的抗原结合蛋白。

[0520] 在一个实施方案中, 使用来源于免疫球蛋白的多肽制备寡聚体。制备包含一些与抗体衍生多肽 (包括 Fc 结构域) 的不同部位融合的异源多肽已描述于例如 Ashkenazi 等, 1991, PNAS USA 88:10535; Byrn 等, 1990, Nature 344:677; 和 Hollenbaugh 等, 1992 “Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins”, Current Protocols in Immunology, Suppl. 4, 第 10.19.1-10.19.11 页。本发明的一个实施方案是针对包含两个由融合抗胰高血糖素受体抗体的胰高血糖素结合片段与抗体的 Fc 区产生的融合蛋白的二聚体。可通过以下方式制备二聚体: 例如在适当的表达载体中插入编码融合蛋白的基因融合, 在用重组表达载体转化的宿主细胞中表达该融合基因并允许已表达融合蛋白像抗体分子一样组装, 其中 Fc 部分之间的链间二硫键形成二聚体。

[0521] 如本文所使用术语“Fc 多肽”包括来源于抗体 Fc 区的天然和突变蛋白形式的多肽。也包括包含促进二聚体化的铰链区的该类多肽的截短形式。包含 Fc 部分 (以及由其形成的寡聚体) 的融合蛋白提供了在蛋白 A 或蛋白 G 柱子上进行亲和层析法方便纯化的优势。

[0522] PCT 申请 WO 93/10151 (以参考形式并于本文) 中一种适当的 Fc 多肽为从 N 端铰链区延伸至人 IgG1 抗体的 Fc 区的天然 C 端的单链多肽。另一种可用的 Fc 多肽为美国专利 5457035 和 Baum 等, 1994, EMBO J. 13:3992-4001 中描述的 Fc 突变蛋白。该突变蛋白的氨基酸序列与 WO 93/10151 中所示天然 Fc 序列的氨基酸序列相同, 除了氨基酸 19 从亮氨酸变为丙氨酸, 氨基酸 20 从亮氨酸变为谷氨酰胺以及氨基酸 22 从甘氨酸变为丙氨酸。该突变蛋白表现出对 Fc 受体的亲和力降低。在其它实施方案中, 抗胰高血糖素受体抗体的重链和 / 或轻链可被取代为抗体重链和 / 或轻链的可变部分。

[0523] 或者, 该寡聚体为包含多个抗原结合蛋白的融合蛋白, 包含或不包含接头肽 (spacer peptides)。这些适当的接头肽描述于美国专利 4751180 和 4935233。

[0524] 制备寡聚抗原结合蛋白的另一种方法涉及使用亮氨酸拉链。亮氨酸拉链结构域为促进它们所存在的蛋白寡聚化作用的肽。最初发现亮氨酸拉链存在于数种 DNA 结合蛋白中 (Landschulz 等, 1988, Science 240:1759), 此后发现存在于各种不同蛋白中。在已知的

亮氨酸拉链中为可二聚体化或三聚体化的天然肽或其衍生物。适用于生产可溶寡聚蛋白的亮氨酸拉链结构域的实例描述于 PCT 申请 WO 94/10308, 来源于肺表面活性蛋白 D (SPD) 的亮氨酸拉链描述于 Hoppe 等, 1994, FEBS Letters 344:191, 以参考形式并于本文。允许与其融合的异源蛋白稳定三聚体化的经修饰的亮氨酸拉链的使用描述于 Fanslow 等, 1994, Semin. Immunol. 6:267-78。在一种方法中, 在适当的宿主细胞中表达包含与亮氨酸拉链肽融合的抗胰高血糖素受体抗体片段或衍生物的重组融合蛋白, 从培养物上清中收集可溶寡聚抗胰高血糖素受体抗体片段或其衍生物。

[0525] 在另一个实施方案中, 该抗体衍生物可包含至少本文公开的 CDRs 之一。举例而言, 可将一个或多个 CDR 整合入已知的抗体骨架区 (IgG1, IgG2 等) 或与适当的载体结合以增强其半衰期。适当载体包括但不限于 Fc、白蛋白、转铁蛋白及类似物质。这些和其它适当的载体为本领域已知。该结合 CDR 肽可为单体、二聚体、四聚体或其它形式。在一个实施方案中, 一个或多个水溶性多聚体在结合剂的一个或多个特异位点结合, 例如在氨基端。在一个实例中, 抗体衍生物包含一个或多个水溶性多聚体附着物包括但不限于聚乙二醇、聚氧乙烯二醇或聚丙二醇。参见, 例如, 美国专利号 4640835、4496689、4301144、4670417、4791192 和 4179337。在一些实施方案中, 衍生物包含一个或多个一甲氧基-聚乙二醇、葡聚糖、纤维素或其它基于碳水化合物的聚合物, 聚 (N-乙基吡咯酮)-聚乙二醇、聚氧乙烯多元醇 (例如甘油) 和聚乙烯醇, 以及该类聚合物的混合物。在一些实施方案中, 一个或多个水溶性聚合物与一个或多个侧链随机结合。在一些实施方案中, PEG 可提高结合剂例如抗体的治疗作用。一些该类方法描述于例如美国专利号 6133426, 其以参考形式以任何目的并于本文。

[0526] 应当理解的是本发明抗体可具有至少一个氨基酸替换, 只要该抗体保留了结合特异性。因此, 抗体结构的修饰包含于本发明范畴。这些可包括不破坏抗体胰高血糖素受体结合能力的氨基酸替换, 其可为保守或非保守的。保守氨基酸替换可包括非天然氨基酸残基, 其通常经化学肽合成整合而不是生物系统合成。这些包括拟肽和其它反向或倒转形式的氨基酸部分。保守氨基酸替换也可涉及用非天然残基替换天然氨基酸残基这样对该位点氨基酸残基的极性或电荷作用很小或没有作用。非保守替换可涉及一类氨基酸或氨基酸类似物的一个成员与具有不同物理性质 (例如, 体积、极性、疏水性、电荷) 的另一类氨基酸的成员交换。该被替换的残基可引入与非人类抗体同源的人类抗体区, 或引入该分子的非同源区。

[0527] 而且, 本领域技术人员可生成在各期望氨基酸残基上包含氨基酸替换的待测变异体。可使用本领域技术人员已知的活性测定法筛选该类变异体。该类变异体可用于收集关于适当变异体的信息。举例而言, 如果发现某一氨基酸残基可引起活性破坏、非期望的降低或不当的活性, 可避免具有该类变化的变异体。换言之, 基于从这些常规试验收集的信息, 本领域技术人员可轻松确定应避免进一步替换 (单独或与其它突变组合) 的氨基酸。

[0528] 技术人员可使用已知技术确定如本文所列的多肽的适当变异体。在一些实施方案中, 本领域技术人员可通过靶向对于活性不重要的区域鉴定经改变后不会破坏活性的分子适当区域。在一些实施方案中, 可鉴定在相似多肽中保守的残基或分子部分。在一些实施方案中, 甚至可保守替换对于生物活性或结构重要的区域而不破坏生物活性或不会不利作用于多肽结构。此外, 本领域技术人员可考察结构-功能研究鉴定对活性或结构重要的相

似多肽中的残基。鉴于这一对比,可预测对应于在相似蛋白中对活性或结构重要的氨基酸残基的蛋白质中氨基酸残基的重要性。本领域技术人员可为这些经预测重要的氨基酸残基选择化学相似氨基酸替换。

[0529] 本领域技术人员也可分析与相似多肽的结构相关的三维结构和氨基酸序列。鉴于该类信息,本领域技术人员可预测就三维结构而言抗体的氨基酸残基比对。在一些实施方案中,本领域技术人员可选择不对经预测在蛋白质表面的氨基酸残基进行显著改变,因为该类残基可能参与与其它分子的重要相互作用。许多科学出版物致力于二级结构的预测。参见, Moulton J., *Curr. Op. Biotech.*, 7(4) :422-427(1996), Chou 等, *Biochemistry*, 13(2) : 222-245(1974); Chou 等, *Biochemistry*, 113(2) :211-222(1974); Chou 等, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 47 :45-148(1978); Chou 等, *Ann. Rev. Biochem.*, 47 :251-276 和 Chou 等, *Biophys. J.*, 26 :367-384(1979)。此外,目前可使用计算机程序辅助预测二级结构。举例而言,序列同一性大于 30%或相似性大于 40%的两个多肽或蛋白质通常具有相似的结构拓扑学。近期蛋白结构数据库 (PDB) 的增长增强了二级结构的可预测性,包括多肽或蛋白结构中潜在的折叠数量。参见, Holm 等, *Nucl. Acid. Res.*, 27(1) :244-247(1999)。已表明 (Brenner 等, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 7(3) :369-376(1997)) 在给定多肽或蛋白质中存在有限数量的折叠并且一旦确定了临界数量的结构,结构预测将变得显著更加精确。

[0530] 预测二级结构的其它方法包括“穿接 (threading)” (Jones, D., *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 7(3) :377-87(1997); Sippl 等, *Structure*, 4(1) :15-19(1996)), “图谱分析 (profile analysis)” (Bowie 等, *Science*, 253 :164-170(1991); Gribskov 等, *Meth. Enzym.*, 183 :146-159(1990); Gribskov 等, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 84(13) : 4355-4358(1987)) 和“进化联系 (evolutionary linkage)” (参见 Holm, *supra*(1999), and Brenner, *supra*(1997))。在一些实施方案中,抗体变体包括糖基化变体,其中与母体多肽的氨基酸序列相比改变了糖基化位点的数量和 / 或类型。在一些实施方案中,变体与天然蛋白质相比具有更多或更少数量的 N 连接糖基化位点。或者,去除该序列的替换可移除现有的 N 连接糖链。也提供了 N 连接糖链的重排,其中去除了一个或多个 N 连接糖链位点 (通常为天然存在的那些) 并创造了一个或多个新的 N 连接位点。其它优选抗体变体包括半胱氨酸变体,与母体氨基酸序列相比其中 缺失或由另一氨基酸 (例如丝氨酸) 替换一个或多个半胱氨酸残基。当抗体必须折叠成生物活性构象时 (例如在分离可溶包涵体之后) 可用半胱氨酸变体。半胱氨酸变体通常比天然蛋白质具有较少的半胱氨酸残基,并通常具有偶数个半胱氨酸以最小化未配对半胱氨酸引起的相互作用。

[0531] 本领域技术人员可在需要该类替换时确定期望的氨基酸替换 (保守或非保守)。在一些实施方案中,氨基酸替换可用于鉴定人胰高血糖素受体抗体的重要残基或者增加或降低本文所述人胰高血糖素受体抗体的亲和力。

[0532] 根据一些实施方案,优选的氨基酸替换为以下:(1) 降低蛋白质水解敏感性,(2) 降低氧化敏感性,(3) 改变形成蛋白质复合物的结合亲和力,(4) 改变结合亲和力和 / 或 (4) 赋予或修饰该类多肽上的其它物理化学或功能性质。根据一些实施方案,可在天然存在序列中 (在一些实施方案中,在形成分子间接触的结构域之外的多肽部分) 进行单个或多个氨基酸替换 (在一些实施方案中为保守氨基酸替换)。在一些实施方案中,保守氨基酸替换通常不会本质上改变母体序列的结构特性 (例如,替换氨基酸不应破解存在于母体序

列中的螺旋或干扰特征化母体序列的其它类型二级结构)。本领域认可的多肽二级和三级结构的实例描述于 *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, 编辑, W. H. Freeman and Company, New York (1984)); *Introduction to Protein Structure* (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N. Y. (1991)); 以及 Thornton 等, *Nature* 354:105 (1991), 其以参考形式并于本文。

[0533] 在一些实施方案中, 本发明抗体可与多聚体、脂类或其它部分 (moieties) 化学键合。

[0534] 抗原结合试剂可包含至少一个本文描述的 CDRs, 其掺入生物相容性骨架结构中。在一个实例中, 该生物相容性骨架结构包含足以形成构象稳定结构支持或骨架或支架的多肽或其部分, 其可在局限的表面区域展示可与抗原结合的一个或多个氨基酸序列 (例如, CDRs、可变区等)。该类结构可为天然存在多肽或多肽“折叠”(结构基序), 或相对与天然多肽或折叠可具有一个或多个修饰, 例如氨基酸添加、缺失或替换。这些支架可来源于任何物种 (或多于一个物种) 的多肽, 例如, 人类、其它哺乳动物、其它脊椎动物、无脊椎动物、细菌或病毒。

[0535] 生物可溶性骨架结构通常是基于蛋白质支架或骨架而不是免疫球蛋白结构域。举例而言, 可使用基于纤维结合素、锚蛋白、脂质运载蛋白 (lipocalin)、新抑癌蛋白、细胞色素 b、CP1 锌指蛋白、PST1、卷曲螺旋、LACI-D1、Z 结构域和淀粉酶抑肽结构域 (参见, 例如, Nygren 和 Uhlen, 1997, *Current Opinion in Structural Biology*, 7, 463-469)。

[0536] 此外, 本领域技术人员可认识到适当的结合剂包括这些抗体的部分, 例如一个或多个重链 CDR1、CDR2、CDR3, 轻链 CDR1、CDR2 和 CDR3, 如本文所具体公开。至少一个重链 CDR1、CDR2、CDR3、CDR1、CDR2 和 CDR3 区具有至少一个氨基酸替换, 只要该抗体保留了非替换 CDR 的结合特异性。该抗体的非 CDR 部分可为非蛋白分子, 其中该结合剂交叉阻断本文公开的抗体与人 GCGR 的结合和 / 或抑制经该受体的胰高血糖素信号传导。该抗体的非 CDR 部分可为非蛋白质分子, 其中该抗体在竞争结合测定法中显示出与至少抗体 A1-A23 之一所显示相似的与人 GCGR 肽的结合类型, 和 / 或中和胰高血糖素的活性。抗体的非 CDR 部分可由氨基酸组成, 其中该抗体为重组结合蛋白或合成肽, 并且该重组结合蛋白交叉阻断本文公开的抗体与人 GCGR 的结合和 / 或中和体内或体外胰高血糖素活性。抗体的非 CDR 部分可由氨基酸组成, 其中该抗体为重组抗体, 并且该重组抗体在竞争结合测定法中显示出与至少抗体 A1-A23 之一所显示相似的与人 GCGR 肽的结合类型, 和 / 或中和胰高血糖素信号传导。

[0537] 核酸

[0538] 一方面, 本发明提供分离的核酸分子。该核酸分子包含例如编码全部或部分抗原结合蛋白的多聚核苷酸, 例如本发明抗体的一条链或两条链, 或其片段、衍生物、突变蛋白或变异体; 足以用作杂交探针的多聚核苷酸; PCR 引物或用于鉴定、分析、突变或扩增编码多肽的多聚核苷酸的测序引物; 用于抑制多聚核苷酸表达的反义核酸以及其互补序列。该核酸可为任何长度。例如它们的长度可为 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、75、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、750、1000、1500、3000、5000 或更多个核苷酸, 和 / 或包含一个或多个附加序列, 例如调控序列, 和 / 或是较大核酸例如载体的一部分。该核酸可为单链或双链并包含 RNA 和 / 或 DNA 核苷酸以及其人工变异体 (例如, 肽核酸)。

[0539] 可从经 GCGR 抗原免疫的小鼠 B 细胞中分离编码抗体多肽（例如，重链或轻链、仅可变结构域或全长）的核酸。可通过常规方法例如聚合酶链式反应 (PCR) 分离该核酸。

[0540] 编码重链和轻链可变区的核酸序列如上文所示。熟练的技术人员可理解由于遗传密码的简并性，本文公开的各多肽序列可由更多数量的其他核酸序列编码。本发明提供编码本发明抗原结合蛋白的各简并核苷酸序列。

[0541] 本发明进一步提供在具体杂交条件下与其他核酸（例如，包含任何 A1-A14 的核苷酸序列的核酸）杂交的核酸。杂交核酸的方法为本领域熟知。参见，例如，*Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley&Sons, N. Y. (1989), 6. 3. 1-6. 3. 6。如本文定义，例如，中等严格条件使用包含 5X 氯化钠 / 柠檬酸钠 (SSC) 的预洗溶液、0.5% SDS、1.0mMEDTA (pH 8.0)、约 50% 甲酰胺的杂交缓冲液、6X SSC 和 55°C 的杂交温度（或其他相似的杂交溶液，例如包含约 50% 甲酰胺的，以 42°C 杂交），并且洗脱条件为 60°C，使用 0.5X SSC、0.1% SDS。严格杂交条件在 6X SSC 中于 45°C 杂交，然后于 68°C 在 0.1X SSC、0.2% SDS 中洗涤一次或多次。此外，本领域技术人员可操作杂交和 / 或洗涤条件以增加或降低杂交严格度这样包含相互之间至少 65、70、75、80、85、90、95、98 或 99% 同源的核苷酸序列的核酸通常仍可以相互杂交。影响杂交条件选择的基本参数和设计适当条件的指导列于例如 Sambrook, Fritsch 和 Maniatis (1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, ColdSpring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., 第 9 和 11 章; *Current Protocols in Molecular Biology*, 1995, Ausubel 等编辑, John Wiley & Sons, Inc., 第 2.10 和 6.3-6.4 节) 并可由具有本领域普通技术的人员基于例如 DNA 的长度和 / 或碱基组成轻松确定。可通过突变在核酸中引入变化，藉此导致其编码的多肽（例如，抗原结合蛋白）氨基酸序列的变化。可使用本领域已知的任何技术引入突变。在一个事实方案中，使用例如定点诱变方案改变一个或多个具体氨基酸残基。在另一个实施方案中，使用例如随机诱变方案改变一个或多个随机选择的残基。无论其如何生成，可表达突变多肽并筛选期望性质。

[0542] 可将突变引入核酸而不显著改变其编码多肽的生物学活性。例如，可进行引起非必需氨基酸残基处氨基酸替换的核苷酸替换。在一个实施方案中，突变本文为 L-1-L-23 和 H-1 至 H-23 提供的核苷酸序列或其片段、变异体或衍生物这样其编码包含本文所示 L-1 至 L-23 和 H-1 至 H-23 的氨基酸残基的一个或多个缺失或替换，成为两个或多个序列相异的残基。在另一个实施方案中，诱变作用在本文所示 L-1 至 L-23 和 H-1 至 H-23 的一个或多个氨基酸残基附近插入一个氨基酸成为两个或多个序列相异的残基。或者，可将一个或多个突变引入核酸以选择性改变其编码多肽的生物学活性（例如，与 GCGR 结合）。例如，该突变可在数量上或性质上改变生物学活性。量变的实例包括增加、降低或消除该活性。质变的实例包括改变抗原结合蛋白的抗原特异性。

[0543] 在另一方面，本发明提供适于用做引物或检测本发明核酸序列的杂交探针的核酸分子。本发明的核酸分子可仅包含编码本发明全长多肽的核酸序列的一部分，例如，可用作探针或引物或编码本发明多肽活性部分的片段（例如，GCGR 结合部分）的片段。

[0544] 基于本发明核酸序列的探针可用于检测该核酸或相似核酸，例如编码本发明多肽的转录物。该探针可包含标记基团，例如放射性同位素、荧光化合物、酶或酶辅因子。该类探针可用于鉴定表达该多肽的细胞。

[0545] 在另一方面本发明提供包含编码本发明多肽或其部分的核算的载体。载体的实例包括但是不限于质粒、病毒载体、非游离基因哺乳动物载体和表达载体，例如重组表达载体。

[0546] 本发明的重组表达载体可包含适于该核酸在宿主细胞中表达的形式本发明的核酸。该重组表达载体包括一个或多个调控序列，基于用于表达的宿主细胞进行筛选，其与该预表达的核酸序列可操作性相连。调控序列包括引导核苷酸序列在多个种类宿主细胞中组成型表达的（例如，SV40 早期基因增强剂、劳斯氏肉瘤病毒启动子和细胞巨化病毒启动子），引导仅在某些宿主细胞中核苷酸序列的表达的（例如，组织特异调控序列，参见 Voss 等，1986, Trends Biochem. Sci. 11 :287, Maniatis 等，1987, Science 236 :1237, 其完整内容以参考形式并于本文）以及引导核苷酸序列响应具体处理或条件的诱导型表达的（例如，哺乳动物细胞中的金属硫蛋白启动子和原核和真核系统二者中的四环霉素反应 (tet-responsive) 启动子和 / 或链霉素反应启动子（同前））。本领域技术人员应理解表达载体的设计取决于例如用于转化的宿主细胞的选择、所需蛋白表达水平等因素。本发明的表达载体可引入宿主细胞，藉此生产由本文所述核酸编码的蛋白或肽，包括融合蛋白或肽。

[0547] 另一方面，本发明提供可引入本发明表达载体的宿主细胞。宿主细胞可为任何原核或真核细胞。原核宿主细胞包括革兰氏阴性或革兰氏阳性生物体，例如大肠杆菌或杆菌。更高级的真核细胞包括昆虫细胞、酵母细胞以及哺乳动物源的确立细胞系。适当哺乳动物宿主细胞系的实例包括中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞或它们的衍生物例如 VeggieCHO 和在无血清培养基中生长的相关细胞系（参见 Rasmussen 等，1998, Cytotechnology 28 :31）或 CHO 株 DXB-11, 其缺失 DHFR（参见 Urlaub 等，1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77 :4216-20）。其它 CHO 细胞系包括 CHO-K1 (ATCC#CCL-61)、EM9 (ATCC# CRL-1861), 和 UV20 (ATCC# CRL-1862)。其它宿主细胞包括猴肾细胞的 COS-7 系 (ATCC#CRL 1651)（参见 Gluzman 等，1981, Cell 23 :175）、L 细胞、C127 细胞、3T3 细胞 (ATCC CCL 163), AM-1/D 细胞（描述于美国专利序列号 6210924）、HeLa 细胞、BHK (ATCC CRL 10) 细胞系、来源于非洲绿猴肾细胞系 CV1 的 CV1/EBNA 细胞系 (ATCC CCL 70)（参见 McMahan 等，1991, EMBO J. 10 :2821）、人胚肾细胞例如 293, 293 EBNA 或 MSR 293、人上皮 A431 细胞、人 Colo205 细胞、其它经转化灵长动物细胞系、正常二倍体细胞、来源于初生组织体外培养物的细胞株、初移植体、HL-60、U937、HaK 或 Jurkat 细胞。用于细菌、真菌、酵母和哺乳细胞宿主的适当克隆和表达载体描述于 Pouwels 等 (Cloning Vectors :A Laboratory Manual, Elsevier, New York, 1985)。

[0548] 可通过传统转化或转染技术将载体 DNA 引入原核或真核细胞中。对于稳定的哺乳动物转染而言，取决于使用的表达载体和转染技术，已知只有一小部分细胞可将外源 DNA 整合入它们的基因组中。为了鉴定和筛选这些整合子，通常将编码筛选标记（例如抗生素抗性）的基因与所关注基因一起引入宿主细胞。优选的筛选标记包括可赋予药物（如 G418、潮霉素和甲氨喋呤）抗性的那些。在其它方法中可通过药物筛选鉴别包含被引入核酸的稳定转染细胞（例如，整合了筛选基因的细胞可存活，而其它细胞则死亡）。

[0549] 可在提高多肽表达的条件下培养已转化细胞，可通过常规蛋白纯化方法回收多肽。一种该纯化方法描述于下文实施例。预用于本文的多肽包括基本同源的重组哺乳动物抗胰高血糖素受体抗体多肽，其基本不含污染性内源材料。

[0550] 抗原结合蛋白的活性

[0551] 一方面,本发明提供抗原结合蛋白,尤其是能与人胰高血糖素受体特异性结合的人类、人源化或嵌合抗体。该类抗体包括可减少或中和胰高血糖素信号传导(由例如实施例 4 描述的基于细胞的功能测定法检测)的拮抗或中和抗体。在一个实施方案中,抗原结合蛋白,例如本发明的人类抗体的 IC₅₀ 值为 90nM 或更低;在另一个实施方案中,IC₅₀ 值为 80nM 或更低;在另一个实施方案中,70nM 或更低;在另一个实施方案中,60nM 或更低;在另一个实施方案中,50nM 或更低;在另一个实施方案中,40nM 或更低;在另一个实施方案中,30nM 或更低;在另一个实施方案中,25nM 或更低。在另一个实施方案中,抗原结合蛋白例如本发明的人类抗体可与人胰高血糖素受体特异性结合,而且其 IC₅₀ 值与参比抗体基本相似。在另一个实施方案中,抗原结合蛋白具有由下述实施例所描述的测定法(或相似测定法)检测的与参比抗体基本相似的 K_b(或 K_d)。在本文中,术语“基本相似”意为与参比抗体的 IC₅₀ 或 K_b(或 K_d) 可比或约 100%、99%、98%、97%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65% 或 50%。参比抗体包括,例如,具有重链和轻链组合 L1H1、L2H2、L3H3、L4H4、L5H5、L6H6、L7H7、L8H8、L9H9、L11H11、L12H12、L13H13、L15H15、L21H21 及 L22H22 的抗体。在一个实施方案中,参比抗体包括 A-1、A-2、A-3、A-4、A-5、A-6、A-7、A-8、A-9、A-11、A-12、A-13、A-15、A-21 及 A-22。在另一个实施方案中,抗原结合蛋白例如本发明的人类抗体可与人胰高血糖素受体特异性结合,并能降低动物模型的血糖。在一个实施方案中,与未处理动物相比血糖降低 2%;在另一个实施方案中,与未处理动物相比血糖降低 5%;在另一个实施方案中,与未处理动物相比血糖降低 10%;在另一个实施方案中,与未处理动物相比血糖降低 15%,在另一个实施方案中为 20%,在另一个实施方案中为 25% 或更多。血糖降低量由剂量控制。对于动物或人类患者而言,治疗有效剂量是为将血糖降低至正常范围的剂量。示例动物模型为 ob/ob 小鼠,如下文实施例 6 所描述。在另一个实施方案中,本发明的人类抗体可与人胰高血糖素受体特异性结合并提高动物模型的葡萄糖清除率。示例动物模型为食蟹猴,如下文实施例 7 所描述。提高葡萄糖清除率指在动物或人类患者口服葡萄糖后血糖降低所需的时间量,为葡萄糖耐受的量度。它可由标准试验例如口服葡萄糖耐量试验(OGTT)检测,如下文实施例所描述。本发明的抗原结合蛋白可提高动物模型的葡萄糖清除率。此外,抗原结合蛋白可改善其它与 2 型糖尿病和高血糖症相关的体内指标,包括但不限于空腹糖耐量、血脂异常和代谢综合症。

[0552] 与人胰高血糖素受体结合

[0553] 在一个实施方案中,本发明提供与参比抗体交叉竞争结合的抗原结合蛋白,其中参比抗体包含选自 L1H1、L2H2、L3H3、L4H4、L5H5、L6H6、L7H7、L8H8、L9H9、L11H11、L12H12、L13H13、L15H15、L17H17、L21H21 和 L22H22 的轻链和重链结构域的组合。在另一个实施方案中,本发明提供与参比抗体交叉竞争结合的人类抗体,其中该参比抗体为 A-1、A-2、A-3、A-4、A-5、A-6、A-7、A-8、A-9、A-11、A-12、A-13、A-15、A-21 和 A-22。在另一方面,本发明提供与人胰高血糖素受体的 Ser80-Ser119 区域结合的人类抗体。在另一个实施方案中,本发明提供与参比抗体交叉竞争结合的人类抗体,其中参比抗体与人胰高血糖素受体的 Ser80-Ser119 区域结合。在另一个实施方案中,本发明提供与人胰高血糖素受体的 Ser80-Ser119 区域结合的人类抗体,其 IC₅₀ 值为 90nM 或更低,在另一个实施方案中为 80nM 或更低,在另一个实施方案中为 70nM 或更低,在另一个实施方案中为 60nM 或更低,在另一个实施方案中为 50nM 或更低,在另一个实施方案中为 40nM 或更低,在另一个实施方案

中为 30nM 或更低,在另一个实施方案中为 25nM 或更低,由例如实施例 4 所述测定法检测。在另一个实施方案中,本发明提供与参比抗体交叉竞争结合至人胰高血糖素受体的抗体,其中参比抗体为 A-3。

[0554] 在又一实施方案中,抗原结合蛋白在结合至人胰高血糖素受体时:以与参比抗体基本相同的Kd与人胰高血糖素受体结合;以与所述参比抗体基本相同的IC₅₀抑制人胰高血糖素受体的胰高血糖素激活;和/或与所述参比抗体交叉竞争结合至人胰高血糖素受体,其中所述参比抗体包含选自L1H1、L2H2、L3H3、L4H4、L5H5、L6H6、L7H7、L8H8、L9H9、L11H11、L12H12、L13H13、L15H15、L21H21 合 L22H22 的轻链和重链可变结构域序列。

[0555] 在又一实施方案中,所提供分离的人源抗体在结合至人胰高血糖素受体时:以与参比抗体基本相同的Kd与人胰高血糖素受体结合;以与所述参比抗体基本相同的IC₅₀抑制人胰高血糖素受体的胰高血糖素激活;和/或与所述参比抗体交叉竞争结合至人胰高血糖素受体,其中所述参比抗体选自A-1、A-2、A-3、A-4、A-5、A-6、A-7、A-8、A-9、A-11、A-12、A-13、A-15、A-21 和 A-22。

[0556] 在又一实施方案中,所提供分离的人源抗体在结合至人胰高血糖素受体时:a. 与人胰高血糖素受体的氨基酸Ser80-Ser119部分特异性结合;b. 以90nM或更低的IC₅₀降低胰高血糖素信号传导;c. 降低动物模型的血糖;或(a)和(b),或(a)、(b)和(c)。

[0557] 如下检测与抗体交叉竞争的能力。下面的实施例8描述了采用A-3作为参比抗体的示例性竞争结合测定法。所测抗体为可克服(可与A-3竞争结合)、部分可克服(仅部分竞争结合)及非可克服抗体(不能与A-3竞争结合)。结果如图4-6所示。

[0558] 此外,人类抗体A-3和其它人类抗体的结合位点经构建人GCGR和GLP-1受体的嵌合受体检测,如下文实施例9所述。如下所述及如图7所示,采用嵌合受体的检测表明对于抗体A-3,人胰高血糖素受体氨基酸Ser80-Ser117区域是结合必需且足够的。此外,人GCGR包含3对半胱氨酸。对于抗体A-3,结合需要第二和第三对半胱氨酸而不是第一对。这与抗体A-18、A-21和A-10是相反的,它们仅在3对半胱氨酸均完整时结合。

[0559] 适应症

[0560] 糖尿病尤其是2型糖尿病及其并发症已经成为全世界日益严重的问题。通常,该疾病由胰脏β细胞胰岛素生成受损引起。在2型糖尿病(此疾病最常见的形式)中,人们认为遗传和环境因素联合引起β细胞衰竭,使得在跟多个体中引起胰岛素分泌和活性受损以及胰岛素抵抗。一般认为肥胖症是促使成人甚至儿童中2型糖尿病增加的病症。人们还认为血脂异常,或者异常HDL(高密度脂蛋白)和LDL(低密度脂蛋白)均与2型糖尿病相关。

[0561] 2型糖尿病的特征为肌肉和其它器官不能响应正常循环浓度的胰岛素。随后胰脏β细胞分泌胰岛素增多,即高胰岛素血症的病症。最终β细胞无法再补偿,导致葡萄糖耐量降低、空腹葡萄糖浓度受损、慢性高血糖和组织损伤。此外,人们认为早发2型糖尿病与血脂异常,或者异常HDL(高密度脂蛋白)和LDL(低密度脂蛋白)有关。代谢综合症患者都表现血脂异常和高血糖症。

[0562] 本发明提供抗原结合蛋白,尤其是可与胰高血糖素受体体内结合、降低动物模型血糖浓度的人类抗体。抗原结合蛋白还可改善葡萄糖耐量。在一个实施方案中,本发明提供具有体内效价的完全人类抗体。对ob/ob小鼠单次注射抗体的作用可在注射后数天内

降低血糖,为高血糖、2型糖尿病以及相关病症提供了有效、持久的治疗。单次注射抗体也可改善在下文所述食蟹猴上进行的葡萄糖耐量试验(GTT)中血样的葡萄糖清除率(改善葡萄糖耐量)。本发明的抗原结合蛋白,尤其是人类抗体可用于降低血液或血浆葡萄糖,改善葡萄糖耐量降低,改善空腹葡萄糖水平以及改善血脂异常。这样,本发明的抗原结合蛋白,尤其是人类抗体可用于治疗高血糖症、2型糖尿病、代谢综合症和包括血脂异常的其它相关症状。此外,已显示降低血糖可在某些情况下用于预防和治疗具体的癌症例如结肠癌,如Richardson等, *Nature ClinPract Oncol* 2:48-53(2005), Giovannucci等, *Gastroenterology* 132:2208-2225(2007), Krone等, *Integrative Cancer Ther* 4(1):25-31(2005), Chang等, *Diabetologia* 46(5):595-607(2003), Jee等, *Yonsei Med J* 46(4):449-55(2005)所述。

[0563] 治疗方法

[0564] 另一方面,治疗受试者的方法,包括给予治疗剂量的本发明提供的抗原结合蛋白。在一个实施方案中,抗原结合蛋白为人类抗体。本文中,术语“受试者”指哺乳动物,包括人类,可与术语“患者”交替使用。人类抗体可用于治疗、控制或预防以患者体内过量胰高血糖素和/或血糖为特点的病症或症状。这些病症包括高血糖症、代谢综合症和2型糖尿病。术语“治疗”包括减轻或预防至少一种症状或病症的其它方面,或者减轻疾病严重性,等等。本发明的抗原结合蛋白尤其是人类抗体不需要产生完全治愈的效果,或根除疾病的所有症状或表现,即可构成有效治疗剂。如相关领域所公认,作为治疗剂的药物可减少给定疾病状态的严重程度,但不需消除疾病的所有表现即可被认为是有效的治疗剂。相似地,预防给药治疗不需在预防症状出现上完全有效即可构成有效预防剂。只减少疾病的影响(例如,通过减少其症状的数量或严重度,或通过提高另一治疗效果,或通过产生另一有效作用),或者减少受试者中疾病发生或加重的可能性就已经足够。本发明的一个实施方案涉及包含以足以诱导反应具体病症严重性的指示剂高于基线水平的持续改善的量和时间给予患者抗原结合蛋白例如人类抗体的方法。

[0565] 如相关领域所理解,将包含本发明抗原结合蛋白的药用组合物以对适应症恰当的方式给予病人。在一个实施方案中,药物组合物包含本发明的人类抗体。药物组合物可采用任意适当技术包括但不限于肠道外、局部或吸入给药。如果是注射,可通过例如关节内、静脉内、肌肉内、损伤区内、腹膜内或皮下途径,以快速注射或连续输注给予药用组合物。可考虑例如在疾病或损伤部位局部给药,如透皮给药和埋植剂持续释放给药。吸入给药包括例如鼻腔或口腔吸入、采用喷雾剂、以气雾剂形式吸入抗原结合蛋白等等。其它选择包括口腔制剂包括片剂、糖浆剂或锭剂。

[0566] 以包含一个或更多其它组分例如生理学可接受载体、辅料或稀释剂的组合物形式给予本发明抗原结合蛋白是有利的。组合物可任选额外包含一个或更多如下所述的生理学活性剂。在多个具体实施方案中,组合物包含除一个或更多本发明抗原结合蛋白(例如人类抗体)之外的一个、两个、三个、四个、五个或六个生理学活性剂。

[0567] 在一个实施方案中,药物组合物包含本发明人类抗体以及一个或更多选自以下的物质:pH适合于抗体的缓冲液、抗氧化剂例如抗坏血酸、低分子量多肽(例如含少于10个氨基酸的多肽)、蛋白质、氨基酸、糖例如糊精、络合物例如EDTA、谷胱甘肽、稳定剂和辅料。根据适当工业标准,也可加入防腐剂。可使用适当辅料溶液作为稀释剂将组合物配制

成冻干粉末。适当组分在所用剂量和浓度下对受者无毒。可用于药物处方组分的进一步实例见 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 16 版。(1980) 和 20 版。(2000), Mack Publishing Company, Easton, PA.

[0568] 提供医学从业者使用的试剂盒,其包括一种或更多本发明抗原结合蛋白以及治疗本文讨论任何病症的标签或其它说明。在一个实施方案中,试剂盒包括以上述组合物形式装在一个或多个管型瓶中的一种或多种人类抗体的无菌制剂。

[0569] 给药剂量和频率可根据以下因素而改变:给药途径、所用具体抗体、所治疾病的性质和严重程度、症状为急性还是慢性以及患者的体积和总体症状。可通过本领域熟知的方法确定适当剂量,例如在临床试验中包括剂量放大研究。

[0570] 本发明抗原结合蛋白尤其是人类抗体可在例如一段时间内按规律间隔给药一次或多次。在具体实施方案中,在至少一个月或更长时间给药一次给予人类抗体,例如一个、两个或三个月或者甚至不确定。对于治疗慢性症状,长期治疗通常最有效。但是,对于治疗急性症状,短期给药例如从一周至六周就已足够。通常,给予人类抗体直至患者表现出所选体征或指示剂高于基线水平的医学相关改善度为止。

[0571] 本文提供的治疗方案的一个实例包括以适当剂量一周一次皮下注射抗原结合蛋白例如人类抗体治疗血糖水平引起的症状。本文提供的这些症状的实例包括例如高血糖症、2型糖尿病、空腹糖耐量受损、葡萄糖耐量降低和血脂异常。可持续每周或每月给予抗原结合蛋白直到达到所需结果例如病人症状消退。可按需要重新治疗,或者,可选择地,给予维持剂量。

[0572] 可在使用抗原结合蛋白例如人类抗体治疗之前、进行中和 / 或之后监测病人血糖浓度,以检测其浓度的任何变化。对于某些病症,血糖升高发病率可随例如疾病进程等因素而变化。可用已知技术测定葡萄糖水平。也可用已知技术例如 ELISA 在患者血液中测定葡萄糖水平。

[0573] 本发明方法和组合物的具体实施方案涉及使用例如抗原结合蛋白例如人类抗体和一个或多个胰高血糖素拮抗剂、两个或更多本发明抗原结合蛋白,或者本发明抗原结合蛋白和一个或更多其它胰高血糖素拮抗剂。在进一步的实施方案中,单独或与其它用于治疗使患者痛苦的症状的药剂组合给予抗原结合蛋白。这些药剂的实例包括蛋白质以及非蛋白质药物。当联合给予多种药物时,如本领域所熟知其剂量应相应调整。“联合给药”和组合疗法不限于同时给药,也包括在涉及给予患者至少一种其它治疗剂的疗程中至少给予一次抗原和蛋白的治疗方案。

[0574] 另一方面,本发明提供制备治疗 2 型糖尿病、高血糖症、代谢综合症、血脂异常和相关病症药剂的方法,其包含本发明抗原结合蛋白例如人类抗体与药学可接受辅料中的混合物,用于治疗 2 型糖尿病和相关病症。药剂制备方法如上所述。

[0575] 组合疗法

[0576] 另一方面,本发明提供使用本发明治疗性抗原结合蛋白,例如本文所述完全人类治疗性抗体与一种或多种其它治疗一起治疗糖尿病患者的方法。在一个实施方案中,该组合疗法可达到协同效应。抗原结合蛋白可与一个或更多下述当前可用的 2 型糖尿病治疗组合。其中包括双胍(美福明)以及磺脲类(例如格列本脲、格列吡嗪)。用于维持血糖平衡的其它治疗包括 PPAR γ 拮抗剂(吡格列酮、罗格列酮); α 葡萄糖苷酶抑制剂(阿卡

波糖、伏格列波糖)。其它治疗包括可注射治疗例如 **Exenatide®** (胰高血糖素样肽) 和 **Symlin®** (普兰林肽)。

[0577] 已描述本发明,以下实施例用以说明目的,不具有限制性。

[0578] 实施例

[0579] 实施例 1:抗原制备

[0580] 将编码全长 477 个氨基酸的胰高血糖素受体 (SEQ ID NO :2) 的人类 GCGR cDNA 亚克隆到 pDC312 表达载体中,并转染 AM1D 细胞。在筛选和单细胞克隆后,选择单克隆 (克隆 1004) 用于进一步基于受体的细胞表面表达的特性研究。饱和结合分析测定的受体表达水平 (B_{max}) 为每 mg 膜蛋白质含 11.4pmol 胰高血糖素受体。

[0581] 此外,在框架中讲编码 N 端 GCGR (SEQ ID NO :2 的 1-142 氨基酸) 的 cDNA 序列与人 IgG1 Fc 的 cDNA 融合,并亚克隆至 pDsRa21 载体 (如 U. S. 2005/0118643 所述)。在转染至 AM1D 细胞后可筛选细胞稳定库。用重组蛋白质 A 快流速柱 (GE Healthcare) 接着用 Source 30Q 阴离子交换柱 (GE Healthcare) 从浓缩条件培养基中纯化 GCGR N 端 Fc。

[0582] 实施例 2:鼠抗人杂交瘤生成

[0583] 将上述克隆 1004 的粗细胞膜组分用作常规和 RIMMS (多位点注射快速免疫) 免疫 C57BL/6 或 DBF1 小鼠的抗原 (Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine)。在多轮免疫之后,通过电融合将淋巴结 (RIMMS 免疫) 或脾 (常规免疫) 释放的淋巴细胞与小鼠骨髓瘤细胞、Sp2/0-Ag14 (ATCC) 融合。将融合细胞按 2×10^4 个细胞 / 孔的密度接种于预铺 100 μ l 添加 10% FBS、5% 三甲氧唑辛克隆因子 (Bio Veris™)、 $1 \times$ 青霉素 - 链霉素 - 谷酰胺 (Gibco) 以及 $1 \times$ OPI (草酰乙酸盐、丙酮酸盐及胰岛素, Sigma) 的 BD 培养基的 96 孔板。培养 24 小时后,每孔加入 100 μ l $2 \times$ HAT (0.1mM 次黄嘌呤、0.16mM 脱氧胸腺嘧啶苷、4mM 氨基蝶呤, Sigma)。分别在融合后的第 7 天和第 10 天更换培养基,然后在第 2 次更换培养基后的第 2 天收集条件培养基用于下述初步筛选。

[0584] 对杂交瘤上清进行基于细胞的 ELISA (酶联免疫吸附测定法) 或使用 1004 细胞的 FMAT (微体积荧光数字图像测定技术),与亲代 AM1D 细胞平行。基于可与 1004 而非 AM1D 特异性结合来筛选包含 GCGR 特异抗体的杂交瘤克隆。

[0585] 从下述扩增的杂交瘤培养基中部分纯化单克隆抗体,并用结合的 (ELISA 或 FMAT) 和功能的基于细胞的测定法测定其对胰高血糖素诱导 cAMP 生成的中和作用,如下文所述。扩增阳性克隆、克隆单细胞并用多个测定法进一步确认。

[0586] 实施例 3:完全人类抗体生成

[0587] 根据所述方案,例如 U. S. 05/0118643 和 WO 05/694879、WO98/24838、WO 00/76310 和美国专利 7064244 (均以参考形式并于本文),将来源于人 GCGR 高表达细胞系 1004 的粗细胞膜制备品用作免疫 IgG2 和 IgG4 **XenoMouse®** (Abgenix, now Amgen, Inc.) 的抗原。初次免疫后,给予后继轮次的加强免疫直至达到适当的抗体滴度。鉴别显示适当滴度的动物,然后从引流淋巴结获得淋巴细胞,必要时将各组混合。在一些实例中,通过用适当的介质 (例如,DMEM, Invitrogen, Carlsbad, CA) 研磨淋巴组织以解离淋巴细胞将细胞从组织中释放。筛选 B 细胞并与适当融合配体融合,例如非分泌骨髓瘤 P3X63Ag8.653 细胞 (American Type Culture Collection CRL 1580, Kerney 等, J. Immunol. 123, 1548-1550 (1979)), 如上述参考文献所述。其它适当的融合配体包括 Sp2/0-Ag14 (ATCC) 细胞。将融合细胞沉淀并

重悬于筛选介质中（通常为包含偶氮丝氨酸、hypoanthine 和其它补充物质的 DMEM），温育 20-30 分钟，然后重悬于筛选介质中接种于平皿前培养。然后将细胞分布于孔中以最大化克隆形成能力，并用标准技术培养。培养后，用富含胰高血糖素受体细胞克隆 1004 和亲代细胞系 AM1D 用 FMAT 对杂交瘤上清对进行筛选。接着用使用 FITC 标记（异硫氰酸荧光素偶联）的人 IgG 抗体的 FACS 分析确认 GCGR 特异性结合子。按 U.S. 2005/0118643 及其它上述引用参考文献所述方案扩增包含受体特异单克隆抗体的杂交瘤克隆。如下文所述检测上清对胰高血糖素诱导的 cAMP 生成的抑制。将包含拮抗抗体的杂交瘤克隆单细胞克隆并扩增用于进一步检测。然后如下所述纯化抗体，然后测定来自单克隆的纯化抗体的中和活性。

[0588] 用 Mab Select (GE Healthcare) 树脂将抗体从杂交瘤条件培养基中纯化出来。向 7 至 10ml 的条件培养基 (CM) 中加入 100 μ l 在 PBS 中平衡的 Mab Select 树脂的 1 : 2 匀浆。将试管置振荡器于 4-8°C 过夜。1000 \times g 离心试管 5 分钟，倾去未结合部分。用 5ml PBS 洗涤树脂，然后离心并如上所述倾去未结合部分。将转移树脂至 SPIN-X, 0.45 μ m, 2ml 试管中。用 0.5ml PBS 再洗涤树脂两次，然后离心。通过室温下温育并偶尔搅拌 10 分钟用 0.2ml 0.1M 醋酸洗脱单克隆抗体。离心试管，向洗脱液中加入 30 μ l 1M pH8.0 Tris 缓冲液。纯化抗保存于 4-8°C。

[0589] 实施例 4 : 抗体的体外表征

[0590] 抗体 / 受体结合测定法 : 基于总细胞的 ELISA

[0591] 将 GCGR 过表达 CHO 细胞（克隆 1004）和亲代细胞（AM1D）接种于微量培养板至 90% 汇合。用 BSA 封闭细胞，与杂交瘤上清 4°C 温育 90 分钟。强洗涤后，将细胞与检测抗体羊抗鼠 IgG Fc-HRP (Pierce) 温育，洗涤三次。加入 50 μ l / 孔 TMB 底物 (KPL)，室温温育 5-10 分钟。加入 50 μ l 0.5N H₂SO₄ 终止反应，用 SpectraMax (Molecular Devices) 于 450nm 处读取数值。以 GCGR 膜血清免疫小鼠为阳性对照，以空白培养基为背景对照。

[0592] 抗体 / 受体结合测定法 : FMAT

[0593] 将 GCGR 过表达 CHO 细胞（克隆 1004）以亚汇合密度（50-60%）接种于底部洁净、黑壁的 96 孔微量培养板 (Applied Biosystems) 中，然后在室温与杂交瘤上清温育 60 分钟。与 FMAT 蓝色标记第二抗体（羊抗人 IgG, Applied Biosystems）温育后，用 8200 细胞检测系统 (Applied Biosystems) 记录细胞影像和细胞结合荧光量。

[0594] 基于细胞的功能测定法

[0595] 在采用稳定功能细胞系基于细胞的功能测定法中测定抗胰高血糖素受体抗体的中和活性。用包含来自人、小鼠、大鼠、食蟹猴或大鼠的 GCGR cDNAs (cDNAs 分别编码 SEQ ID NO : 2, 4, 6, 8) 的表达构建体 (pcDNA3.1, Invitrogen) 分别转染 CHO K1 细胞以建立稳定细胞系。从转染群中单细胞克隆表达来自上述种属 GCGR 的最终功能细胞系，并检测胰高血糖素刺激 cAMP 生成。基于各单品系的 EC₅₀，选择最终测定法细胞系并保存以备将来使用。

[0596] 在竞争结合测定法中用以下方案测定 Kb，或基于拮抗剂存在下剂量响应曲线漂移的 Schild 分析法计算抗体结合的解离常数。Schild 分析法的使用如 Lazaeno 等, Br. J. Pharmacol. 109(4) : 1110-9 (1993) 所描述，此处以参考形式并于本文。该测定法从用于小分子改编到用于本文抗体。杂交瘤上清和纯化抗体均使用以下方案检测。

[0597] Cisbio 的 HTRF (均相时间分辨荧光分析技术) -cAMP 动态试剂盒用于功能测定。

用功能测定法首先筛选在结合测定法中可与人 GCGR 特异性结合的克隆的杂交瘤上清。然后从杂交瘤条件培养基中纯化抗体,并重新检测 Kb 和 IC₅₀ 值。使用该方法可鉴别可抑制胰高血糖素激活时 cAMP 生成、为胰高血糖素拮抗剂的抗体。

[0598] 将所选稳定功能细胞系接种于 96- 半孔板。将 GCGR 抗体加入孔中,37℃温育 20 分钟,然后加胰高血糖素 (Calbiochem),并在 37℃再温育 15 分钟。在裂解液中加入 cAMP 共轭物之后,将抗 cAMP 穴状化合物 (抗共轭结合至穴状化合物的 cAMP 的抗体) 加入孔中,将板于室温下温育 1 小时,然后用 RubyStar (BMG Labtech 的荧光微量培养板读板仪) 读取数值。

[0599] 用功能性人 GCGR 细胞系初步检测 2 μM 浓度的纯化抗体。用 50pM 胰高血糖素刺激细胞,筛选显示强抑制活性的抗体测定 IC₅₀ (定义为抑制高于基线最大效应一半所需的抗体浓度)。在 1 μM 浓度检测抗体,然后作连续 2 倍系列稀释。绘制剂量响应曲线图,并用 GraphPad Prism 软件测定 IC₅₀。筛选具有较低 IC₅₀ 的抗人 GCGR 抗体,然后用适当细胞系进一步检测交叉种属受体活性。

[0600] 功能测定法中人类抗体的 IC₅₀

[0601]

抗体	IC ₅₀ (nM)			
	人	食蟹猴	鼠(murine)	大鼠
A-3	9.1	22.5	4.9	13.5
A-4	18.1	52.1	10.1	17.2
A-9	7.4	26.6	4.1	9.9

[0602] 对各所选人源抗体作 Schild 分析以检测跨不同种属的人抗 GCGR 抗体的相对效价。简而言之,在连续稀释的胰高血糖素 (100nM 至 10fM) 存在下检测不同浓度的抗体。用 GraphPad Prism 软件绘制不同抗体浓度下的胰高血糖素剂量响应曲线。计算抗体的 pA₂, 即产生胰高血糖素剂量响应曲线 2 倍右移所需抗体浓度的负对数。当 Schild 斜率等于 1 时, pA₂ 等于 pK_b, 即抗体结合的解离常数。然后,由 pK_b 的反 log 值衍生出 K_b,可直接用于比较跨种属单个抗体的相对效价。

[0603] 检测其它抗体对人 GCGR 的活性。

[0604]

抗体	IC ₅₀ (nM)
A-1	15.0
A-2	10.1
A-5	13.3
A-6	32.2
A-7	8.8
A-8	10.4
A-10	无活性
A-11	16.7
A-12	21.3
A-13	72.6

A-14	457.5
A-15	11.3
A-16	无活性
A-17	无活性
A-18	203.7
A-19	无活性
A-20	无活性
A-21	47.2
A-22	7.2
A-23	无活性

[0605] Schild 分析法测定的 Kb 值

[0606]

Kb (nM)				
	人	食蟹猴	鼠(murine)	大鼠
A-3	1.6	5.0	0.5	3.2
A-4	1.76	5.7	0.88	未检出

[0607] 实施例 5 :抗体的重组表达和纯化

[0608] 研发表达抗体的稳定细胞系

[0609] 基于 Abgenix 提供各抗体的 DNA 序列设计 PCR 引物以获得完整轻链开放阅读框、重链开放式阅读框的信号肽和可变域。将完整轻链、重链信号肽和可变域以及人 IgG2 恒定区分与表达载体 pDC323 和 pDC324 相连。

[0610] 作为 PCR 引物设定的实例,5' A-9 轻链引物为 4337-12(5' -AAGCTC GAG GTC GAC TAG ACC ACC ATG GAC ATG AGG GTC CCCGCT CAG CTC CTG-3') (SEQ ID NO :313),其包含 SalI 限制性酶切位点、框内终止密码子、Kozak 序列和氨基酸 MDMRVP AQLL (SEQ ID NO :314) 的密码,3' 引物 3250-80(5' -AAC CGT TTA AAC GCG GCC GCTCAA CAC TCT CCC CTG TTG AA-3') (SEQ ID NO :315),其包含 NotI 限制性酶切位点、终止密码子和氨基酸 FNRGEC (SEQ ID NO :316) 的密码。5' A-9 重链引物为 3444-34(5' -AAG CTC GAG GTC GAC TAGACC ACC ATG GAG TTT GGG CTG AGC TGG GTT TTC-3') (SEQ ID NO :317),其包含 SalI 限制性酶切位点、框内终止密码子、Kozak 序列和氨基酸 MEFGLSWVF (SEQ ID NO :318) 的密码,A-9 重链可变区 /IgG2(+) 链接点引物 4341-29(5' -GAC CAC GGT CAC CGT CTC CTCAGC CTC CAC CAA GGG CCC ATC GGT CTT-3') (SEQ ID NO :319),编码氨基酸 GTTVTVSSASTKGPSVF (SEQ ID NO :321) 的互补 (-) 链引物 4341-30(5' -AAG ACC GAT GGG CCC TTG GTG GAG GCT GAG GAG ACG GTG ACC GTG GTC-3') (SEQ ID NO :320),3' 引物 3250-79(5' -AAC CGT TTA AAC GCG GCC GCT CAT TTA CCC GGA GACAGG GA-3') (SEQ ID NO :322),其包含 NotI 限制性酶切位点、终止密码子和氨基酸 SLSPGK (SEQ ID NO :323) 的密码。

[0611] 用于转染抗 GCGR 表达质粒的 CHO 宿主细胞位通过适应无血清培养基 (Rasmussen 等, Cytotechnology 28 :31-42,1998) 来源于 DXB-11 细胞 (Urlaub 等, PNAS US 77 :4126-4220, (1980)) 的 CHO 细胞系。

[0612] 使用标准电穿孔方法用表达质粒 pDC323- 抗 GCGR κ 和 pDC324-[抗 GCGR-IgG2]

转染宿主细胞产生抗 GCGR 细胞系。在用表达质粒转染宿主细胞系之后,在含有 4% 经透析的胎牛血清 (ds 或 dfFBS) 的选择性培养基 (不含 GHT) 中培养细胞 2-3 周以筛选质粒和回收细胞。然后从培养基中移去血清,在 -GHT 选择性培养基中培养细胞直至其活力 > 85%。随后在含有 150nM MTX 的培养基中培养转染细胞群。

[0613] 细胞系克隆

[0614] 根据以下方法建立所筛选克隆的细胞库。克隆步骤保证产生克隆种群和细胞库,使商业生产具有重现性。将抗体表达细胞扩增群 (pool) 有限稀释地接种于 96 孔板,并在小规模研究中评价候选克隆的生长和生产力特性。

[0615] 实施例 6 :ob/ob 小鼠的体内活性

[0616] 向 12 周雄性 ob/ob 小鼠 (Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine) IP 注射缓冲液或者 1 或 3mg/kg (n = 8-10/ 组) 的抗体 3 或 4。在单次注射抗体后的 0、24、48、72、96、120、144、192、240 小时测定血糖。以 3mg/kg 抗体剂量注射抗体 3 时血糖降低 8 天,如图 1 所示。

[0617] 相似地,向 12 周雄性 ob/ob 小鼠 (Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine) IP 注射缓冲液或者 1 或 3mg/kg (n = 8-10/ 组) 的抗体 3 或 9。在单次注射抗体后的 0、24、72、120、192、240 小时测定血糖。以 3mg/kg 抗体剂量注射抗体 3 和 9 时血糖降低 8 天,如图 2 所示。

[0618] 实施例 7 :正常雄性食蟹猴的体内效力

[0619] 在云南灵长类动物中心 (中国云南) 在雄性食蟹猴中评价抗体 A-9 单次皮下 (SC) 剂量的效力。通过检测给予口服剂量葡萄糖后的血液葡萄糖清除率对猴子进行葡萄糖耐量试验 (GTT)。GTT 数据表示为 AUC (曲线下面积),如图 3 所示,代表通过测定口服后 0、30、90 分钟的血糖量得到的葡萄糖清除率。如图 3 所示,在给予抗体前 24 天以交错方式给予前剂量 GTT1,在单次剂量前 17 天以交错方式给予前剂量 GTT2。向 30 只食蟹猴单次皮下 (SC) 注射总共 3 或 30mg/kg 抗体 A-9 或对照给药抗体。注射后 3 天给予猴子 GTT3,注射后 8 天给予 GTT4,注射后 17 天给予 GTT5。如图 3 所示,结果为单次 SC 注射 3 或 30mg/kg 抗体 9 可提高葡萄糖耐量试验期间的葡萄糖清除率。

[0620] 实施例 8 :竞争结合测定法

[0621] 将本发明的若干抗体混合,用竞争结合测定法检测哪些抗体与标记参比抗 GCGR 抗体交叉竞争结合。用 Alexa 荧光染料 (分子探针 /Invitrogen, Carlsbad, CA) 标记 A-3 抗体作为示踪物,根据操作说明制备。检测一定剂量范围内的各个抗体与固定浓度 1nM 标记 A-3 抗体竞争结合表达于 CHO 细胞 (如上所述) 上的 GCGR 受体的能力。用实施例 4 描述的 FMAT 测定荧光密度,并计算 Alexa A-3 结合受体的抑制程度。基于以上分析可分出三组抗体。即与 Alexa-A-3 竞争时的可克服、部分可克服或非可克服抗体。可克服抗体能与 A-3 竞争结合,而非可克服抗体不能交叉竞争并且似乎在人 GCGR 上具有不同的结合位点。部分可克服抗体与 A-3 结合位点有一些重叠。如图 4-6 所示。经检测并发现能与 Alexa-A-3 竞争结合 (可克服) 的抗体为 A-11、A-2、A-7、A-12、A-17、A-6、A-8、A-15 和 A-5。经检测并发现仅能与 Alexa-A-3 部分竞争结合 (部分可克服) 的抗体为 A-16、A-14、A-20 和 A-23。经检测并发现不能与 Alexa-A-3 竞争结合的抗体为 A-19 和 A-10。需要注意的是所有或大部分可克服抗体在基于细胞测定法 (IC50) 中显示出抑制活性,而部分可克服抗体和非可

克服抗体用此测定法未显示活性。

[0622] 实施例 9:嵌合受体的构建

[0623] 人 GCGR 与人 GLP-1 受体最为同源,且均属于受体 N 端部分有三对半胱氨酸的 GPCR B 家族。为了测定所测人类抗体结合至人 GCGR 上的区域或位点,并测定之间形成二硫键的三对半胱氨酸所维持构象的重要性,生成人 GCGR 和人 GLP-1R(GLP-1R, 登录号 NP_002053) 之间的多种嵌合受体构建物并在细胞中表达。如图 7 所示。来自人 GCGR 的嵌合体序列显示于图 7。举例而言,显示图上部的嵌合体 4 中,氨基酸 1-142 来自人 GCGR,其余部分来自 GLP-1 受体。嵌合体 4 包含完整的三对半胱氨酸。在嵌合体 4 中引入成对半胱氨酸的点突变 (Cys1-3、Cys 2-5 或 Cys 4-6) 使随后的三个嵌合体:嵌合体 -41CA,3CA;42CA,5CA 以及 44CA,6CA 均含一个断裂的半胱氨酸对。嵌合体 -7 的氨基酸 1-79 来自人 GCGR;嵌合体 -8 的氨基酸 80-477 来自人 GCGR;嵌合体 -10 的氨基酸 80-142 来自人 GCGR;嵌合体 -15 的氨基酸 80-119 来自人 GCGR;嵌合体 -19 的氨基酸 1-119 和 143-477 来自人 GCGR。通过荧光蛋白的框内 C 端融合监测细胞表面受体表达。使用 Alexa 标记的参比抗体 A-3 通过 FMAT 直接检测抗体与特定嵌合受体的结合。如图 7 所示,此处测定的所有抗体的结合均需要人 GCGR 的 N 端(氨基酸 1-142)。抗体 A-18、A-21 和 A-10 的表现相似因为它们表现出仅与含三个完整半胱氨酸对的嵌合体 -4 结合。这表明这些抗体的构象表位。对于抗体 A-3,来自人 GCGR 80-119 的氨基酸序列是抗体结合所必需且足够的。此外,研究表明 A-3 结合不需要人 GCGR 的氨基酸 120-142。而且,对于抗体 A-3,构象由第二和第三对 (Cys 2-5、Cys 4-6) 维持,而不是第一对半胱氨酸。因此,抗体 A-3 和所有与 A-3 交叉反应的抗体与人 GCGR 结合的受体区域在人 GCGR 氨基酸 Ser80-Ser119 之内。

[0624] 本文引用的各参考文献就其所述和所有目的完整并于本文作为参考。

[0625] 本发明不限于本文描述的预期作为本发明单个方面的单独例证的特定实施方案、本发明的功能等同方法和组分的范围之内。确实,对于本领域技术人员而言可根据上文的描述和附图做出除本文显示和描述之外的许多本发明的修改。这些修改均涵盖于附加权利要求的范围内。

[0001]

序列表

<110> AMGEN INC.

YAN, HAI

HU, SHAW-FEN SYLVIA

BOONE, THOMAS C.

LINDBERG, RICHARD A.

<120> 与胰高血糖素受体抗体相关的组合物和方法

<130> A-1133-WO-PCT

<140> 待委托

<141> 2007-09-19

<150> 60/846, 202

<151> 2006-09-20

<150> 60/968, 977

<151> 2007-08-30

<160> 324

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 1519

<212> DNA

<213> 人

<400> 1

gtgcagcccc tgccagatgt gggaggcagc tagctgcca gaggcatgcc ccctgccag 60

ccacagcgac ccctgctgct gttgctgctg ctgctggcct gccagccaca ggtcccctcc 120

gctcaggtga tggacttct gttgagaag tggaagctct acggtgacca gtgtcaccac 180

aacctgagcc tgetgcccc tcccaggag ctggtgtgca acagaacctt cgacaagtat 240

tctgctgge cggacacccc cgccaatacc aoggccaaca tctctgccc ctggtacctg 300

ccttggcacc acaaagtgca acaccgttc gtgttcaaga gatgcgggcc cgacggtcag 360

tgggtgctg gaccccgggg gcagccttg cgtgatgcct cccagtgcc gatggatggc 420

[0002]

gaggagattg aggtccagaa ggaggtggcc aagatgtaca gcagcttcca ggtgatgtac	480
acagtgggct acagcctgtc cctgggggcc ctgctcctcg ccttggccat cctggggggc	540
ctcagcaagc tgcactgca cgcgaatgcc atccacgoga atctgtttgc gtccttcgtg	600
ctgaaagcca gctccgtgct ggtcattgat gggtgctca ggaccgcta cagccagaaa	660
attggcgacg acctcagtgt cagcacctgg ctcagtgatg gagcgggtggc tggtgcctt	720
gtggccgagg tgttcattgca atatggcctc gtggccaact actgctggct gctgggtggag	780
ggcctgtacc tgcacaacct gctgggcctg gccaccctcc ccgagaggag cttcttcagc	840
ctctacctgg gcatcggtcg gggtgcccc atgctgttcg tcgtcccctg ggcagtggtc	900
aagtgtctgt tcgagaacgt ccagtgtctgg accagcaatg acaacatggg cttctggtgg	960
atcctgcggg tccccgtctt cctggccatc ctgatcaact tcttcatctt cgtccgcac	1020
gttcagctgc tcgtggccaa gctgcgggca cggcagatgc accacacaga ctacaagttc	1080
cggctggcca agtccacgct gaccctcacc cctctgctgg gcgtccacga agtggctctc	1140
gccttcgtga cggacgagca cggccagggc acctgcgct ccgccaagct cttcttcgac	1200
ctcttctca gctccttcca gggcctgctg gtggctgtcc tctactgctt cctcaacaag	1260
gagggtcagt cggagctgag gcggcgttgg caccgctggc gcctgggcaa agtgctatgg	1320
gaggagcgga acaccagcaa ccacagggcc tcactctcgc ccggccaagg cctcccagc	1380
aaggagctgc agtttgggag ggggtggtgg agccaggatt catctgcgga gaccccttg	1440
gctggtggcc tcctagatt ggctgagagc cccttctgaa cctgctggg accccagcta	1500
gggctggact ctggcacc	1519

<210> 2

<211> 477

<212> PRT

<213> 人

[0003]

<400> 2
 Met Pro Pro Cys Gln Pro Gln Arg Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu
 1 5 10 15

 Leu Ala Cys Gln Pro Gln Val Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe Leu
 20 25 30

 Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Gly Asp Gln Cys His His Asn Leu Ser
 35 40 45

 Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg Thr Phe Asp Lys
 50 55 60

 Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Ala Asn Thr Thr Ala Asn Ile Ser
 65 70 75 80

 Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp His His Lys Val Gln His Arg Phe Val
 85 90 95

 Phe Lys Arg Cys Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg Gly
 100 105 110

 Gln Pro Trp Arg Asp Ala Ser Gln Cys Gln Met Asp Gly Glu Glu Ile
 115 120 125

 Glu Val Gln Lys Glu Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Phe Gln Val Met
 130 135 140

 Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu
 145 150 155 160

 Ala Ile Leu Gly Gly Leu Ser Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Ala Ile
 165 170 175

 His Ala Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val Leu Lys Ala Ser Ser Val Leu
 180 185 190

 Val Ile Asp Gly Leu Leu Arg Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Ile Gly Asp
 195 200 205

 Asp Leu Ser Val Ser Thr Trp Leu Ser Asp Gly Ala Val Ala Gly Cys
 210 215 220

 Arg Val Ala Ala Val Phe Met Gln Tyr Gly Ile Val Ala Asn Tyr Cys

[0004]

225	230	235	240
Trp Leu Leu Val	Glu Gly Leu Tyr Leu His Asn Leu Leu Gly Leu Ala		
	245	250	255
Thr Leu Pro Glu Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Gly Ile Gly Trp			
	260	265	270
Gly Ala Pro Met Leu Phe Val Val Pro Trp Ala Val Val Lys Cys Leu			
	275	280	285
Phe Glu Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe Trp			
	290	295	300
Trp Ile Leu Arg Phe Pro Val Phe Leu Ala Ile Leu Ile Asn Phe Phe			
305	310	315	320
Ile Phe Val Arg Ile Val Gln Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala Arg			
	325	330	335
Gln Met His His Thr Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Lys Ser Thr Leu			
	340	345	350
Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Val Phe Ala Phe Val			
	355	360	365
Thr Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Ser Ala Lys Leu Phe Phe			
	370	375	380
Asp Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu Tyr			
385	390	395	400
Cys Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ser Glu Leu Arg Arg Arg Trp His			
	405	410	415
Arg Trp Arg Leu Gly Lys Val Leu Trp Glu Glu Arg Asn Thr Ser Asn			
	420	425	430
His Arg Ala Ser Ser Ser Pro Gly His Gly Pro Pro Ser Lys Glu Leu			
	435	440	445
Gln Phe Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ser Ser Ala Glu Thr Pro			
	450	455	460

[0005]

Leu Ala Gly Gly Leu Pro Arg Leu Ala Glu Ser Pro Phe
465 470 475

<210> 3

<211> 1880

<212> DNA

<213> 小鼠

<400> 3

```

cgcgaggagc gcagccctag ccccggcgac tgagcacacc tgaggagagg tgcacacact    60
ctgaggacct aggtgtgcaa cctctgccag atgtggggcg tggetaccca gaggcattgcc    120
cctcaccag ctccactgtc cccacctget gctgctgctg ttggtgctgt catgtctgcc    180
agaggcacce tetgcccagg taatggactt tttgtttgag aagtggaagc tctatagtga    240
ccaatgccac cacaacctaa gectgtgtcc cccacctact gagctggtct gtaacagaac    300
cttcgacaag tactctctgt ggectgacac cctcccaac accactgcca acatttctg    360
cccctggtac ctaccttggc accacaaagt gcagcacgc ctagtgttca agaggtgtgg    420
gcccgatggg cagtgggttc gagggccacg ggggcagcgc tggcgcaacg cctcccaatg    480
tcagttgat gatgaagaga tcgaggcca gaagggggtg gccaatgt atagcagcca    540
gcaggtgatg tacacctggc gctacagtct gtccctgggg gccttctcc ttgcctggt    600
cctctctgtg ggectcagga agctgactg caccgaaac tacatccatg ggaacctgtt    660
tgctctctt gtctcaagg ctggctctgt gttggtcacc gattggctgc tgaagacacg    720
gtacagccag aagattggcg atgacctcag tgtgagcgc tggetcagt acggggcgat    780
ggccggctgc agagtggcca cagtgatcat gcagtacggc atcatagcca actattgctg    840
gttctctgta gagggcgtgt acctgtacag cctgtgagc cttgccacct tctctgagag    900
gagcttctt tccctctacc tgggcattgg ctgggggtgc cccctgctgt ttgtcatccc    960
ctgggtggtg gtcaagtgtc tgtttgagaa tgttcagtgc tggaccagca atgacaacat   1020
gggattctgg tggatcctgc gtattctgt ctctctggcc ttaactgatca atttttcat   1080

```

[0006]

ctttgtccac atcattcacc ttcttgtgge caagctgegt gcccatcaga tgcaactatgc 1140
 tgactataag ttccggctgg ccaggtccac gctgaccctc atccctctgc tgggggtcca 1200
 cgaggtggtc ttgcctttg tgactgacga gcatgcccaa ggcaccctgc gctccaccaa 1260
 gctctttttt gacctgttcc tcagctcett ccagggtctg ctggtggctg ttctctactg 1320
 tttcctcaac aaggaggtgc aggcagagct gatgcggcgt tggaggcaat ggcaagaagg 1380
 caaagetctt caggaggaaa ggttggccag cagccatggc agccacatgg ccccagcagg 1440
 gccttgtcat ggtgatccct gtgagaaact tcagcttatg agtgcaggca gcagcagtgg 1500
 gactggctgt gtgccctcta tggagacctc gctggccagt agtctcccaa ggttggctga 1560
 cagccccacc tgaatctcca ctggagccta gccaggtgc gttcagaaag ggctcagag 1620
 gacaaccag agccagatgc cggccaagg ctgaagagac aaagcagcaa gacagcagct 1680
 tgtactgtgc aactccctt aacctgtcct agcctggcac aggccacagt gacagagtag 1740
 gggttggata tgatggagaa gccatgttat ctatgaactc tgagtgttcc catgtgtgtt 1800
 gacatggtcc ctgtaccag atatgtcett cagtaaaaag ctcgagtggg agctgctgca 1860
 caaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1880

<210> 4

<211> 485

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 4

Met Pro Leu Thr Gln Leu His Cys Pro His Leu Leu Leu Leu Leu Leu

1 5 10 15

Val Leu Ser Cys Leu Pro Glu Ala Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe

20 25 30

Leu Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Ser Asp Gln Cys His His Asn Leu

35 40 45

[0007]

Ser Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg Thr Phe Asp
 50 55 60

Lys Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Pro Asn Thr Thr Ala Asn Ile
 65 70 75 80

Ser Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp Tyr His Lys Val Gln His Arg Leu
 85 90 95

Val Phe Lys Arg Cys Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg
 100 105 110

Gly Gln Pro Trp Arg Asn Ala Ser Gln Cys Gln Leu Asp Asp Glu Glu
 115 120 125

Ile Glu Val Gln Lys Gly Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Gln Gln Val
 130 135 140

Met Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala
 145 150 155 160

Leu Val Ile Leu Leu Gly Leu Arg Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Tyr
 165 170 175

Ile His Gly Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val Leu Lys Ala Gly Ser Val
 180 185 190

Leu Val Ile Asp Trp Leu Leu Lys Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Ile Gly
 195 200 205

Asp Asp Leu Ser Val Ser Val Trp Leu Ser Asp Gly Ala Met Ala Gly
 210 215 220

Cys Arg Val Ala Thr Val Ile Met Gln Tyr Gly Ile Ile Ala Asn Tyr
 225 230 235 240

Cys Trp Leu Leu Val Glu Gly Val Tyr Leu Tyr Ser Leu Leu Ser Leu
 245 250 255

Ala Thr Phe Ser Glu Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Gly Ile Gly
 260 265 270

Trp Gly Ala Pro Leu Leu Phe Val Ile Pro Trp Val Val Val Lys Cys
 275 280 285

[0008]

Leu Phe Glu Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe
 290 295 300

Trp Trp Ile Leu Arg Ile Pro Val Phe Leu Ala Leu Leu Ile Asn Phe
 305 310 315 320

Phe Ile Phe Val His Ile Ile His Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala
 325 330 335

His Gln Met His Tyr Ala Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Arg Ser Thr
 340 345 350

Leu Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Val Phe Ala Phe
 355 360 365

Val Thr Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Ser Thr Lys Leu Phe
 370 375 380

Phe Asp Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu
 385 390 395 400

Tyr Cys Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ala Glu Leu Met Arg Arg Trp
 405 410 415

Arg Gln Trp Gln Glu Gly Lys Ala Leu Gln Glu Glu Arg Leu Ala Ser
 420 425 430

Ser His Gly Ser His Met Ala Pro Ala Gly Pro Cys His Gly Asp Pro
 435 440 445

Cys Glu Lys Leu Gln Leu Met Ser Ala Gly Ser Ser Ser Gly Thr Gly
 450 455 460

Cys Val Pro Ser Met Glu Thr Ser Leu Ala Ser Ser Leu Pro Arg Leu
 465 470 475 480

Ala Asp Ser Pro Thr
 485

<210> 5

<211> 1875

<212> DNA

[0009]

<213> 大鼠

<400> 5

```

gaattcgccg cgcgcgcgg gccccagatc ccagtgcggc aggagcccag tccatgaccc 60
agcaacctga ggagaggtgc acacaccccc aaggaccagc gcaccaacc tctgccagat 120
gtgggggggt ggctaccagc aggeatgctc ctcaccagc tccactgtcc ctacctgtg 180
ctgclgctgg tgggtgctgc atgtctgcca aaggcaccct ctgccaggtc aatggacttt 240
ttgtttgaga agtggagctc ctatagtgc cagtgcacc acaacctaac cctgctgccc 300
ccacctactg agctggtctg caacagaact ttgcacaagt actcctgctg gctgacacc 360
cctcccaaca ccaactgcaa catttctgc ccttggtacc taccttggtc ccacaagtg 420
cagcaccgcc tagtgttcaa gaggtgtggc cctgatgggc agtgggttcg agggccacgg 480
gggcagtcac ggccgcacgc ctcccaatgt cagatggatg atgacgagat cgaggtccag 540
aaggggtagc ccaagatgta tagcagctac caggtgatgt aactgtgggc ctacagtctg 600
tccttggggg ccttgctcct ggcctggtc atcctgctgg gcctcaggaa gctgcaactgc 660
accgggaact acatccacgg gaacctgttc gcgtccttcg tctcaagge ttgctctgtg 720
ctggtcattg attggctgct caagacacgc tatagccaga agattggaga tgacctcagt 780
gtgagcgtct ggctcagtga tggggcgggtg gctggctgca gactggccac agtgatcatg 840
cagtaaggca tcatagccaa ctactgctgg ttgctggtgg aggtgtgta cctgtacagc 900
ctgctgagca tcaccacctt ctccgagaag agcttctctt ccctctatct gtgcatcggc 960
tggggatctc cctgctggtt tgctatcccc tgggtggtgg tcaagtgtct gtttgagaat 1020
gtccagtgct ggaccagcaa tgacaatatg ggattctggt ggatcctgcg taccctgta 1080
ctcctggcca tactgateca tttttcactc ttgtctcgca tcattcatct tcttgggcc 1140
aagctgcgtg cccatcagat gcaactatgct gattacaagt tccggctagc caggtccacg 1200
ctgacctca ttcctctgct gggagtccac gaagtgtctt ttgcctttgt gactgatgag 1260

```

[0010]

catgcccagg gcaccctgcg ctccaccaag ctcttttttg acctgttctt cagctccttt 1320
 cagggtctgc tggtagctgt tctctactgt ttcctcaaca aggaggtgca ggcagagcta 1380
 ctgcggcggtt ggaggogatg gcaagaagcg aaagctcttc aggaggaaag gatggccagc 1440
 agccatggca gccacatggc cccagcaggg acttgatcatg gtgatccctg tgagaaactt 1500
 cagcttatga gtgcaggcag cagcagtggg actggctgtg agccctctgc gaagacctca 1560
 ttggccagta gtctccaag gctggctgac agccccacct gaatctccac tggactccag 1620
 ccaagttgga ttcagaaagg gctcacaag acaaccaga aacagatgcc tggccaagcg 1680
 tgaagaggca aagcagcaag acagcagctt gtactatcca cactccccta acctgtcctg 1740
 gccgggtaca ggccacattg atggagtagg ggctggatat gatggagtag ccatgctatg 1800
 aactatgggt gttcccatga gtgttgccat gttccatgca cacagatatg accttcagta 1860
 aagagctccc gtagg 1875

<210> 6

<211> 485

<212> PRT

<213> 大鼠

<400> 6

Met Leu Leu Thr Gln Leu His Cys Pro Tyr Leu Leu Leu Leu Val
 1 5 10 15

Val Leu Ser Cys Leu Pro Lys Ala Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe
 20 25 30

Leu Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Ser Asp Gln Cys His His Asn Leu
 35 40 45

Ser Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg Thr Phe Asp
 50 55 60

Lys Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Pro Asn Thr Thr Ala Asn Ile
 65 70 75 80

[0011]

Ser Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp Tyr His Lys Val Gln His Arg Leu
 85 90 95

Val Phe Lys Arg Cys Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg
 100 105 110

Gly Gln Ser Trp Arg Asp Ala Ser Gln Cys Gln Met Asp Asp Asp Glu
 115 120 125

Ile Glu Val Gln Lys Gly Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Tyr Gln Val
 130 135 140

Met Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala
 145 150 155 160

Leu Val Ile Leu Leu Gly Leu Arg Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Tyr
 165 170 175

Ile His Gly Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val Leu Lys Ala Gly Ser Val
 180 185 190

Leu Val Ile Asp Trp Leu Leu Lys Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Ile Gly
 195 200 205

Asp Asp Leu Ser Val Ser Val Trp Leu Ser Asp Gly Ala Val Ala Gly
 210 215 220

Cys Arg Val Ala Thr Val Ile Met Gln Tyr Gly Ile Ile Ala Asn Tyr
 225 230 235 240

Cys Trp Leu Leu Val Glu Gly Val Tyr Leu Tyr Ser Leu Leu Ser Ile
 245 250 255

Thr Thr Phe Ser Glu Lys Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Cys Ile Gly
 260 265 270

Trp Gly Ser Pro Leu Leu Phe Val Ile Pro Trp Val Val Val Lys Cys
 275 280 285

Leu Phe Glu Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe
 290 295 300

Trp Trp Ile Leu Arg Ile Pro Val Leu Leu Ala Ile Leu Ile Asn Phe
 305 310 315 320

[0012]

Phe Ile Phe Val Arg Ile Ile His Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala
 325 330 335

His Gln Met His Tyr Ala Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Arg Ser Thr
 340 345 350

Leu Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Val Phe Ala Phe
 355 360 365

Val Thr Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Ser Thr Lys Leu Phe
 370 375 380

Phe Asp Leu Phe Phe Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu
 385 390 395 400

Tyr Cys Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ala Glu Leu Leu Arg Arg Trp
 405 410 415

Arg Arg Trp Gln Glu Gly Lys Ala Leu Gln Glu Glu Arg Met Ala Ser
 420 425 430

Ser His Gly Ser His Met Ala Pro Ala Gly Thr Cys His Gly Asp Pro
 435 440 445

Cys Glu Lys Leu Gln Leu Met Ser Ala Gly Ser Ser Ser Gly Thr Gly
 450 455 460

Cys Glu Pro Ser Ala Lys Thr Ser Leu Ala Ser Ser Leu Pro Arg Leu
 465 470 475 480

Ala Asp Ser Pro Thr
 485

<210> 7

<211> 1434

<212> DNA

<213> 食蟹猴

<400> 7

atgccccct gtcagccaag tegaccctg ctactgttgc tgetgetgct ggctgccag 60

ccacagccc cctcgcctca ggtgatggac ttctgtttg agaagtggaa actctacggt 120

[0013]

gaccagtgtc accacaacct gagcctgctg cccccccca cggagctggt ctgtaacaga	180
accttegaca agtattcctg ctggccagac acccccgcca ataccacagc caacatctcc	240
tgcccctggt acctgccttg gcaccacaaa gtgcaacacc gcttcgtggt caagagatgc	300
gggcccgatg gtcagtgggt gcgtggacc cgggggcagc cttggcgtga cgcctctcag	360
tgccagatgg acggcgagga gcttgaggtc cagaaggagg tggctaagat gtacagcagc	420
ttccaggtga tgtacacggt gggetacagc ctgtccctgg gggccctgct cctcgccttg	480
gccatcctgg ggggcatcag caagctgcac tgcaccogca acgccatcca cgggaacctg	540
tttgtgtcct tegtgtgaa ggccagctcc gtgctgggtca tegatgggct gctcaggacc	600
cgtacagcc agaagattgg cgacgacctc agtgtcagca tctggctcag tgatggagcg	660
gtggccggct gccgtgtggc cgcggtgttc atgcaatatg gcgtcgtggc caactactgc	720
tggctgctgg tggagggcct gtacctgcac aacctgctgg gcctggccac cctccctgag	780
aggagcttct tcagcctcta cctgggcata ggctggggtg ccccatgct gttcatcacc	840
ccctgggtgg tggtcagggt tctgttcgag aacatccagt gctggaccag caatgacaac	900
atgggcttct ggtggatcct gcggttcccc gtcttcctgg ccatcctgat caacttcttc	960
atcttcatcc gcattgttca cctgcttgtg gccaaagtgc gggcgcggga gatgcaccac	1020
acagactaca agttccgact ggccaagtec aactgaccc tcateccccct gctgggtgtc	1080
cacgaagtga tcttcgcctt cgtgacggac gagcacgccc agggcaccct gcgcttcgcc	1140
aagctcttct tcgacctctt cctcagctcc ttccagggcc tgctgggtggc tgtcctctac	1200
tgcttctca acaaggagggt gcagtcggaa cttcggcggc attggcaccg ctggcgcctg	1260
ggcaaagtgc tgcaggagga gcggggcacc agcaaccaca agaccccatc tgcgcctggc	1320
caaggccttc ctggcaagaa gctgcagtct gggaggggtg gtggcagcca ggactcatct	1380
gggagatcc ccttgctgg tggcctcctc aggttgctg agagccctt ctga	1434

[0014]

<210> 8
 <211> 477
 <212> PRT
 <213> 食蟹猴

<400> 8
 Met Pro Pro Cys Gln Pro Arg Arg Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu
 1 5 10 15

 Leu Ala Cys Gln Pro Gln Ala Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe Leu
 20 25 30

 Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Gly Asp Gln Cys His His Asn Leu Ser
 35 40 45

 Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg Thr Phe Asp Lys
 50 55 60

 Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Ala Asn Thr Thr Ala Asn Ile Ser
 65 70 75 80

 Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp His His Lys Val Gln His Arg Phe Val
 85 90 95

 Phe Lys Arg Cys Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg Gly
 100 105 110

 Gln Pro Trp Arg Asp Ala Ser Gln Cys Gln Met Asp Gly Glu Glu Leu
 115 120 125

 Glu Val Gln Lys Glu Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Phe Gln Val Met
 130 135 140

 Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu
 145 150 155 160

 Ala Ile Leu Gly Gly Ile Ser Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Ala Ile
 165 170 175

 His Ala Asn Leu Phe Val Ser Phe Val Leu Lys Ala Ser Ser Val Leu
 180 185 190

 Val Ile Asp Gly Leu Leu Arg Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Ile Gly Asp
 195 200 205

[0015]

Asp	Leu	Ser	Val	Ser	Ile	Trp	Leu	Ser	Asp	Gly	Ala	Val	Ala	Gly	Cys
210						215					220				
Arg	Val	Ala	Ala	Val	Phe	Met	Gln	Tyr	Gly	Val	Val	Ala	Asn	Tyr	Cys
225					230					235					240
Trp	Leu	Leu	Val	Glu	Gly	Leu	Tyr	Leu	His	Asn	Leu	Leu	Gly	Leu	Ala
				245					250						255
Thr	Leu	Pro	Glu	Arg	Ser	Phe	Phe	Ser	Leu	Tyr	Leu	Gly	Ile	Gly	Trp
			260					265						270	
Gly	Ala	Pro	Met	Leu	Phe	Ile	Ile	Pro	Trp	Val	Val	Val	Arg	Cys	Leu
		275					280						285		
Phe	Glu	Asn	Ile	Gln	Cys	Trp	Thr	Ser	Asn	Asp	Asn	Met	Gly	Phe	Trp
290						295					300				
Trp	Ile	Leu	Arg	Phe	Pro	Val	Phe	Leu	Ala	Ile	Leu	Ile	Asn	Phe	Phe
305					310					315					320
Ile	Phe	Ile	Arg	Ile	Val	His	Leu	Leu	Val	Ala	Lys	Leu	Arg	Ala	Arg
				325					330						335
Glu	Met	His	His	Thr	Asp	Tyr	Lys	Phe	Arg	Leu	Ala	Lys	Ser	Thr	Leu
			340					345						350	
Thr	Leu	Ile	Pro	Leu	Leu	Gly	Val	His	Glu	Val	Ile	Phe	Ala	Phe	Val
			355				360							365	
Thr	Asp	Glu	His	Ala	Gln	Gly	Thr	Leu	Arg	Phe	Ala	Lys	Leu	Phe	Phe
		370				375					380				
Asp	Leu	Phe	Leu	Ser	Ser	Phe	Gln	Gly	Leu	Leu	Val	Ala	Val	Leu	Tyr
385					390					395					400
Cys	Phe	Leu	Asn	Lys	Glu	Val	Gln	Ser	Glu	Leu	Arg	Arg	His	Trp	His
				405					410					415	
Arg	Trp	Arg	Leu	Gly	Lys	Val	Leu	Gln	Glu	Glu	Arg	Gly	Thr	Ser	Asn
			420					425					430		
His	Lys	Thr	Pro	Ser	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Pro	Gly	Lys	Lys	Leu

[0016]

435

440

445

Gln Ser Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ser Ser Ala Glu Ile Pro
 450 455 460

Leu Ala Gly Gly Leu Pro Arg Leu Ala Glu Ser Pro Phe
 465 470 475

<210> 9

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 9

aggctctagtc agagcctctt ggatagagat gatggagaca cctatttgga c 51

<210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 10

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Arg Asp Asp Gly Asp Thr Tyr Leu
 1 5 10 15

Asp

<210> 11

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 11

aggctctagtc agagcctctt ggatagtgct gatggagaca cctatttgga c 51

<210> 12

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 12

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Ala Asp Gly Asp Thr Tyr Leu
 1 5 10 15

[0017]

Asp

<210> 13

<211> 33

<212> DNA

<213> 人

<400> 13

ogggcaagtc agggcattag aatgattta ggc

33

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 14

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly

1 5 10

<210> 15

<211> 36

<212> DNA

<213> 人

<400> 15

agggccagtc agagtgttag cagcaactac ttagcc

36

<210> 16

<211> 12

<212> PRT

<213> 人

<400> 16

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 17

<211> 33

<212> DNA

<213> 人

<400> 17

[0018]

cgggcaagtc aggacattag aaatgatttt ggc	33
<210> 18	
<211> 11	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 18	
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp Phe Gly	
1 5 10	
<210> 19	
<211> 51	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 19	
gggtctactc agagcctctt ggatagtgat gatggagaca cctatttggga c	51
<210> 20	
<211> 17	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 20	
Arg Ser Thr Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Asp Gly Asp Thr Tyr Leu	
1 5 10 15	
Asp	
<210> 21	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 21	
caggcgagtc aggacattag taagtattta aat	33
<210> 22	
<211> 11	
<212> PRT	
<213> 人	

[0019]

<400> 22

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 23

<211> 33

<212> DNA

<213> 人

<400> 23

tctggagata aattggggga taaatatggt tgc

33

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 24

Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Val Cys

1 5 10

<210> 25

<211> 33

<212> DNA

<213> 人

<400> 25

tctggagata aattggggga taaatatgct tgc

33

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 26

Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala Cys

1 5 10

<210> 27

<211> 39

<212> DNA

<213> 人

<400> 27

[0020]

accgcagca gtgcagcat tgtcagcaac tttgtgcaa	39
<210> 28	
<211> 13	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 28	
Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Val Ser Asn Phe Val Gln	
1 5 10	
<210> 29	
<211> 39	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 29	
actggaatca cctccaacat cggaagcaat actgtacac	39
<210> 30	
<211> 13	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 30	
Thr Gly Ile Thr Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val His	
1 5 10	
<210> 31	
<211> 39	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 31	
tctggaagca ggtccaacat cggaagtaat tatgtatac	39
<210> 32	
<211> 13	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 32	
Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Tyr	
1 5 10	

[0021]

- <210> 33
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> 人

 <400> 33
 actgggagca gctccaacat cggggcaggt tatgctgtac ac 42
- <210> 34
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人

 <400> 34
 Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Ala Val His
 1 5 10
- <210> 35
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> 人

 <400> 35
 aagtctagtc agagcctcct gcatagtgat ggaaagaact attggtt 48
- <210> 36
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人

 <400> 36
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Lys Asn Tyr Leu Phe
 1 5 10 15
- <210> 37
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> 人

 <400> 37
 aggtctagtc agagcctcct gcatagtaat ggatacaact attggat 48
- <210> 38

[0022]

<211> 16

<212> PRT

<213> 人

<400> 38

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp

1 5 10 15

<210> 39

<211> 33

<212> DNA

<213> 人

<400> 39

cgggcaagtc agggcattag aatgattta ggc

33

<210> 40

<211> 33

<212> DNA

<213> 人

<400> 40

cgggogagtc agggatttag cagctgggta gcc

33

<210> 41

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 41

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 42

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 42

acgctttcct atcgggctc t

21

<210> 43

<211> 7

<212> PRT

[0023]

<213> 人

<400> 43

Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser

1 5

<210> 44

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 44

gctgcatcca gtttgcaaag t

21

<210> 45

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 45

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 46

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 46

gctgcctcca gtttgcaaag t

21

<210> 47

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 47

ggtgcatcca gcagggccac t

21

<210> 48

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

[0024]

<400> 48

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 49

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 49

gctgcatcca gtttgaaag t

21

<210> 50

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 50

Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 51

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 51

gatgcatcca atttgaaac a

21

<210> 52

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 52

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210> 53

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 53

[0025]

caaacttcca agcgccctc a	21
<210> 54	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 54	
Gln Thr Ser Lys Arg Pro Ser	
1 5	
<210> 55	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 55	
caatctacca agcgccctc a	21
<210> 56	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 56	
Gln Ser Thr Lys Arg Pro Ser	
1 5	
<210> 57	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 57	
gaggataacc aaagaccctc t	21
<210> 58	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 58	
Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser	
1 5	

[0026]

<210> 59

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 59

agtaataatc agcggcctc a

21

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 60

Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 61

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 61

aggaataatc agcggcctc a

21

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 62

Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 63

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 63

gataacaaca atcggcctc a

21

<210> 64

[0027]

<211> 6

<212> PRT

<213> 人

<400> 64

Asp Asn Asn Asn Arg Pro

1 5

<210> 65

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 65

gaagtttcct accggttctc t

21

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 66

Glu Val Ser Tyr Arg Phe Ser

1 5

<210> 67

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 67

ttgggttcta atcgggcctc c

21

<210> 68

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 68

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser

1 5

<210> 69

<211> 21

[0028]

<212> DNA	
<213> 人	
<400> 69	
actgcatcca ctttgcaaag t	21
<210> 70	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 70	
Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser	
1 5	
<210> 71	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 71	
atgcaacgta tagagtttcc attcact	27
<210> 72	
<211> 9	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 72	
Met Gln Arg Ile Glu Phe Pro Phe Thr	
1 5	
<210> 73	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 73	
ctacagcata atagtaacce ttcact	27
<210> 74	
<211> 9	
<212> PRT	
<213> 人	

[0029]

<400> 74

Leu Gln His Asn Ser Asn Pro Leu Thr

1 5

<210> 75

<211> 27

<212> DNA

<213> 人

<400> 75

ctacagcata atagtgaccc getcacc

27

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> 人

<400> 76

Leu Gln His Asn Ser Asp Pro Leu Thr

1 5

<210> 77

<211> 27

<212> DNA

<213> 人

<400> 77

caacaatatg gtaactcacc attcact

27

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> 人

<400> 78

Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Pro Phe Thr

1 5

<210> 79

<211> 27

<212> DNA

<213> 人

[0030]

<400> 79 ctacagcaaa atagttaccc gctcact	27
<210> 80 <211> 9 <212> PRT <213> 人	
<400> 80 Leu Gln Gln Asn Ser Tyr Pro Leu Thr 1 5	
<210> 81 <211> 27 <212> DNA <213> 人	
<400> 81 caggcgtggg acagcagcac tgtgta	27
<210> 82 <211> 27 <212> DNA <213> 人	
<400> 82 cagtottatg ataccagcaa tcaggta	27
<210> 83 <211> 9 <212> PRT <213> 人	
<400> 83 Gln Ser Tyr Asp Thr Ser Asn Gln Val 1 5	
<210> 84 <211> 33 <212> DNA <213> 人	
<400> 84 gcagcatggg atgacagcot gaatggtccg gtg	33

[0031]

<210> 85

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 85

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Pro Val

1 5 10

<210> 86

<211> 33

<212> DNA

<213> 人

<400> 86

gcagcatggg atgacagcct gagtaggcgg gta

33

<210> 87

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 87

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Arg Pro Val

1 5 10

<210> 88

<211> 30

<212> DNA

<213> 人

<400> 88

cagtctatg acagcagcct gagtgctata

30

<210> 89

<211> 10

<212> PRT

<213> 人

<400> 89

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Ala Ile

1 5 10

[0032]

<210> 90	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 90	
atgcaaaata tacagcctcc tctcacc	27
<210> 91	
<211> 9	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 91	
Met Gln Asn Ile Gln Pro Pro Leu Thr	
1 5	
<210> 92	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 92	
atggaagctc ttcaaactat gtgcagt	27
<210> 93	
<211> 9	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 93	
Met Glu Ala Leu Gln Thr Met Cys Ser	
1 5	
<210> 94	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 94	
ctacagcata atagttacc tgcagt	27
<210> 95	
<211> 9	

[0033]

<212> PRT

<213> 人

<400> 95

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Arg Ser

1 5

<210> 96

<211> 27

<212> DNA

<213> 人

<400> 96

caacaggcta acagtttccc gtcact

27

<210> 97

<211> 9

<212> PRT

<213> 人

<400> 97

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 98

<211> 28

<212> DNA

<213> 人

<400> 98

atgcaacgta tagagtttccc attcactt

28

<210> 99

<211> 27

<212> DNA

<213> 人

<400> 99

caacagtcta acagtttccc gtcact

27

<210> 100

<211> 9

<212> PRT

<213> 人

[0034]

<400> 100

Gln Gln Ser Asn Ser Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 101

<211> 15

<212> DNA

<213> 人

<400> 101

agctatggca tgcac

15

<210> 102

<211> 5

<212> PRT

<213> 人

<400> 102

Ser Tyr Gly Met His

1 5

<210> 103

<211> 15

<212> DNA

<213> 人

<400> 103

acctatggga tgcac

15

<210> 104

<211> 5

<212> PRT

<213> 人

<400> 104

Thr Tyr Gly Met His

1 5

<210> 105

<211> 15

<212> DNA

<213> 人

[0035]

<400> 105 agctatggca tgcac	15
<210> 106 <211> 5 <212> PRT <213> 人	
<400> 106 Ser Tyr Asp Met His 1 5	
<210> 107 <211> 21 <212> DNA <213> 人	
<400> 107 agcaactatg ctgcttgaa c	21
<210> 108 <211> 7 <212> PRT <213> 人	
<400> 108 Ser Asn Tyr Ala Ala Trp Asn 1 5	
<210> 109 <211> 15 <212> DNA <213> 人	
<400> 109 agctatgaca tgcac	15
<210> 110 <211> 15 <212> DNA <213> 人	
<400> 110 aactatggca tgcac	15

[0036]

<210> 111

<211> 5

<212> PRT

<213> 人

<400> 111

Asn Tyr Gly Met His

1 5

<210> 112

<211> 15

<212> DNA

<213> 人

<400> 112

ggctactatt tgcac

15

<210> 113

<211> 5

<212> PRT

<213> 人

<400> 113

Gly Tyr Tyr Leu His

1 5

<210> 114

<211> 15

<212> DNA

<213> 人

<400> 114

agctatggta tcagt

15

<210> 115

<211> 5

<212> PRT

<213> 人

<400> 115

Ser Tyr Gly Ile Ser

1 5

[0037]

<210> 116

<211> 48

<212> DNA

<213> 人

<400> 116

aagtctagtc agagcctcct gcatagtgat ggaaagaact atttgttt

48

<210> 117

<211> 16

<212> PRT

<213> 人

<400> 117

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Lys Asn Tyr Leu Phe

1

5

10

15

<210> 118

<211> 5

<212> PRT

<213> 人

<400> 118

Gly Tyr Thr Leu Asn

1

5

<210> 119

<211> 15

<212> DNA

<213> 人

<400> 119

agctatgccca tgaac

15

<210> 120

<211> 5

<212> PRT

<213> 人

<400> 120

Ser Tyr Ala Met Asn

1

5

<210> 121

[0038]

<211> 15	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 121	
agatatgcc a tgaac	15
<210> 122	
<211> 5	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 122	
Arg Tyr Ala Met Asn	
1 5	
<210> 123	
<211> 51	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 123	
tctatatggt atgatggaag taataaatat tatgtagact ccgtgaaggg c	51
<210> 124	
<211> 17	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 124	
Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys	
1 5 10 15	
Gly	
<210> 125	
<211> 51	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 125	
tttatatggt atgatggaag tgaaaaatat tatgtagact ccgtgaaggg c	51

[0039]

<210> 126

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 126

Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 127

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 127

gttatgtggt atgatggaag taataaagac tatgtagact cegtgaaggg c

51

<210> 128

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 128

Val Met Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Asp Tyr Val Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 129

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 129

gttatatcag atgatggaag tcataaatac tctgcagact cegtgaaggg c

51

<210> 130

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

[0040]

<400> 130

Val Ile Ser Asp Asp Gly Ser His Lys Tyr Ser Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 131

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 131

gaaatatgga atgatggaag taataaatac tatgcagact ccgtgaaggg c

51

<210> 132

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 132

Glu Ile Trp Asn Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 133

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 133

gtgatatcac atgatggaag tgataaatac tatgcagact ccgtgaaggg c

51

<210> 134

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 134

Val Ile Ser His Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

[0041]

Gly

<210> 135

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 135

ggatatatggt atgatggaag gaataaatac tatgtagact ccgtgaaggg c

51

<210> 136

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 136

Gly Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 137

<211> 54

<212> DNA

<213> 人

<400> 137

aggacatact acaggtccaa gtggtataat gattatgcag tatctgtgag aagt

54

<210> 138

<211> 18

<212> PRT

<213> 人

<400> 138

Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val Ser Val

1

5

10

15

Arg Ser

[0042]

<210> 139

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 139

tttatatcag atgatggaag taataaatac tatggagact cegtgaaggg c

51

<210> 140

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 140

Phe Ile Ser Asp Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 141

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 141

tttatatcag atgatggaag taataaatat tatggagact cegtgaaggg c

51

<210> 142

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 142

gttatcat atgatggaag taataaatac tatggagact cegtgaaggg c

51

<210> 143

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 143

Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

[0043]

Gly

<210> 144

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 144

gttatatggt atgatggaag taataaac tatgcagact ccgtgaagg c

51

<210> 145

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 145

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 146

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 146

cttatatcat ttgatggaag taataaac tatgcagact ccgtgaagg c

51

<210> 147

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 147

Leu Ile Ser Phe Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

[0044]

<210> 148

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 148

tggatcatcc ctgacagtgg tggcacaaag tatgcacaga agtttcaggg c

51

<210> 149

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 149

Trp Ile Ile Pro Asp Ser Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 150

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 150

tggatcgggc tttacaatgg tcacacaaaa tatgcacaga agttccaggg c

51

<210> 151

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 151

Trp Ile Gly Val Tyr Asn Gly His Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 152

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

[0045]

<400> 152
gaagtttct accggttctc t 21

<210> 153

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 153

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser His Lys Tyr Tyr Glu Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 154

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 154

attatatggt ctgatggaat taacaaatac tatgcagact ccgtgaaggg c 51

<210> 155

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 155

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

Gly

<210> 156

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 156

aacattaata gtaggagtag tctcatatac tacacagact ctgtgaaggg c 51

[0046]

<210> 157

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 157

Asn Ile Asn Ser Arg Ser Ser Leu Ile Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 158

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 158

tacattggta gtagtagtag tgccatatac tacggagact ctgtgaaggg c

51

<210> 159

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 159

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

1 5 10 15

Gly

<210> 160

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 160

tctatatggt atgatggaag taataaatat tatgtagact ccgtgaaggg c

51

<210> 161

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

[0047]

<400> 161

Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 162

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 162

tacattggta gtagtagtag tgccatatac tacgcagact ctgtgaaggg c

51

<210> 163

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 163

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

1 5 10 15

Gly

<210> 164

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 164

cttggtgggtg gttttgacta c

21

<210> 165

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 165

Leu Gly Gly Gly Phe Asp Tyr

1 5

[0048]

<210> 166

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 166

atgggaggcg gctttgacta c

21

<210> 167

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 167

Met Gly Gly Gly Phe Asp Tyr

1

5

<210> 168

<211> 57

<212> DNA

<213> 人

<400> 168

gaaaaagatc attacgacat ttgactggt tataactact actacggtct ggacgtc

57

<210> 169

<211> 19

<212> PRT

<213> 人

<400> 169

Glu Lys Asp His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asn Tyr Tyr Tyr Gly

1

5

10

15

Leu Asp Val

<210> 170

<211> 57

<212> DNA

<213> 人

<400> 170

[0049]

gaggagacgt attacgatat ttgactggc tatcatcact actacggat ggacgtc 57

<210> 171

<211> 19

<212> PRT

<213> 人

<400> 171

Glu Glu Thr Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr His His Tyr Tyr Gly

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 172

<211> 57

<212> DNA

<213> 人

<400> 172

gagcctcagt attacgatat ttgactggt tatgataact actacggat ggacgtc 57

<210> 173

<211> 19

<212> PRT

<213> 人

<400> 173

Glu Pro Gln Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asp Asn Tyr Tyr Gly

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 174

<211> 57

<212> DNA

<213> 人

<400> 174

gaaaaaccgt attacgatat ttgactggt tatttctact actatggtat ggacgtc 57

<210> 175

<211> 19

[0050]

<212> PRT

<213> 人

<400> 175

Glu Lys Pro Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Phe Tyr Tyr Tyr Gly

1

5

10

15

Met Asp Val

<210> 176

<211> 21

<212> DNA

<213> 人

<400> 176

ttagcagtgg cctttgacta c

21

<210> 177

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 177

Leu Ala Val Ala Phe Asp Tyr

1

5

<210> 178

<211> 36

<212> DNA

<213> 人

<400> 178

gaagatggca gtggetggta cggtgctttt gacatc

36

<210> 179

<211> 12

<212> PRT

<213> 人

<400> 179

Glu Asp Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Ala Phe Asp Ile

1

5

10

[0051]

<210> 180

<211> 48

<212> DNA

<213> 人

<400> 180

gatcaatacag atatattgac tggttattct tctgatgett ttgatata 48

<210> 181

<211> 16

<212> PRT

<213> 人

<400> 181

Asp Gln Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Ser Ser Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 182

<211> 60

<212> DNA

<213> 人

<400> 182

gcctattacg atatattgac tgattacccc cagtatgact actactacgg tatggacgtc 60

<210> 183

<211> 20

<212> PRT

<213> 人

<400> 183

Ala Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Pro Gln Tyr Asp Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Gly Met Asp Val

20

<210> 184

<211> 51

<212> DNA

<213> 人

<400> 184

gatgggtatt acgatatttt gactggttat gaggatgatg cttttgatat c 51

[0052]

<210> 185

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 185

Asp Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Glu Asp Asp Ala Phe Asp
1 5 10 15

Ile

<210> 186

<211> 60

<212> DNA

<213> 人

<400> 186

gaagggtttc attacgatat tttgactggt tcctacttct actactacgg tatggacgtc 60

<210> 187

<211> 20

<212> PRT

<213> 人

<400> 187

Glu Gly Phe His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Ser Tyr Phe Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Val
 20

<210> 188

<211> 30

<212> DNA

<213> 人

<400> 188

agggtagcag tggctgggta ctttgactac 30

<210> 189

<211> 10

<212> PRT

[0053]

<213> 人

<400> 189

Arg Val Ala Val Ala Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 190

<211> 27

<212> DNA

<213> 人

<400> 190

atgcaaaata tacagcctcc tctcacc

27

<210> 191

<211> 18

<212> PRT

<213> 人

<400> 191

Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Glu Tyr Tyr Tyr His Tyr Gly Met

1 5 10 15

Asp Val

<210> 192

<211> 57

<212> DNA

<213> 人

<400> 192

gagagaggcc tctacgatat tttgactggt tattataact actacggtat tgacgtc

57

<210> 193

<211> 19

<212> PRT

<213> 人

<400> 193

Glu Arg Gly Leu Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Asn Tyr Tyr Gly

1 5 10 15

Ile Asp Val

[0054]

<210> 194

<211> 39

<212> DNA

<213> 人

<400> 194

gatcagtata actggaacta ctactacggt atggacgtc

39

<210> 195

<211> 13

<212> PRT

<213> 人

<400> 195

Asp Gln Tyr Asn Trp Asn Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1

5

10

<210> 196

<211> 33

<212> DNA

<213> 人

<400> 196

tatagaagtg gctggteccc cctctttgac ttc

33

<210> 197

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 197

Tyr Arg Ser Gly Trp Ser Pro Leu Phe Asp Phe

1

5

10

<210> 198

<211> 33

<212> DNA

<213> 人

<400> 198

tatagcagtg gctggteccc cctctttgac tac

33

[0055]

<210> 199

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 199

Tyr Ser Ser Gly Trp Ser Pro Leu Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 200

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的一致序列

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3).. (3)

<223> Ser 或 Thr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9).. (9)

<223> Arg 或 Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (10).. (10)

<223> Asp 或 Ala

<400> 200

Arg Ser Xaa Gln Ser Leu Leu Asp Xaa Xaa Asp Gly Thr Tyr Thr Leu

1

5

10

15

Asp

<210> 201

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

[0056]

- <220>
<223> 人工序列的描述：合成的一致序列
- <220>
<221> MOD_RES
<222> (5).. (5)
<223> Gly 或 Asp
- <220>
<221> MOD_RES
<222> (10).. (10)
<223> Leu 或 Phe
- <400> 201
Arg Ala Ser Gln Xaa Ile Arg Asn Asp Xaa Gly
1 5 10
- <210> 202
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
- <220>
<223> 人工序列的描述：合成的一致序列
- <220>
<221> MOD_RES
<222> (10).. (10)
<223> Val 或 Ala
- <400> 202
Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Xaa Cys
1 5 10
- <210> 203
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
- <220>
<223> 人工序列的描述：合成的一致序列
- <220>

[0057]

<221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Ser 或 Thr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Gly 或 Asp

<400> 203
 Xaa Tyr Xaa Met His
 1 5

<210> 204
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成的一致序列

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Glu 或 Gln

<400> 204
 Ala Ala Ser Ser Leu Xaa Ser
 1 5

<210> 205
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成的一致序列

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Ser 或 Thr

<220>

[0058]

<221> MOD_RES
<222> (3).. (3)
<223> Thr 或 Ser

<400> 205
Gln Xaa Xaa Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 206
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述： 合成的一致序列

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1).. (1)
<223> Ser, Phe, Val 或 Gln

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4).. (4)
<223> Tyr 或 Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8).. (8)
<223> Asn 或 Gln

<220>
<221> MOD_RES
<222> (12).. (12)
<223> Val 或 Ala

<400> 206
Xaa Ile Trp Xaa Asp Gly Ser Xaa Lys Tyr Tyr Xaa Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 207

[0059]

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的一致序列

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1).. (1)

<223> Val 或 Phe

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4).. (4)

<223> His, Asp 或 Tyr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8).. (8)

<223> Asp, Asn 或 His

<220>

<221> MOD_RES

<222> (11).. (11)

<223> Tyr 或 Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (12).. (12)

<223> Ala 或 Gly

<400> 207

Xaa Ile Ser Xaa Asp Gly Ser Xaa Lys Tyr Xaa Xaa Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

[0060]

<220>

<223> 人工序列的描述： 合成的一致序列

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> His 或 Gln

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Asn, Asp 或 Tyr

<400> 208

Leu Gln Xaa Asn Ser Xaa Pro Leu Thr

1 5

<210> 209

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述： 合成的一致序列

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Asn 或 Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Ile 或 Val

<400> 209

Gln Ala Trp Asp Ser Xaa Thr Val Xaa

1 5

<210> 210

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

[0061]

<220>

<223> 人工序列的描述： 合成的一致序列

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2).. (2)

<223> Lys, Glu 或 Pro

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3).. (3)

<223> Asp, Thr, Gln 或 Pro

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4).. (4)

<223> His 或 Tyr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (12).. (12)

<223> Asn, His, Asp 或 Phe

<220>

<221> MOD_RES

<222> (13).. (13)

<223> Tyr, His 或 Asn

<220>

<221> MOD_RES

<222> (17).. (17)

<223> Leu 或 Met

<400> 210

Glu Xaa Xaa Xaa Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Xaa Xaa Tyr Tyr Gly

1

5

10

15

Xaa Asp Val

<210> 211

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

[0062]

<220>

<223> 人工序列的描述： 合成的一致序列

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1).. (1)

<223> Leu 或 Met

<400> 211

Xaa Gly Gly Gly Phe Asp Tyr

1 5

<210> 212

<211> 339

<212> DNA

<213> 人

<400> 212

gatattgtgc tgaccagac tccactctcc ctgcccgta ccctggaga gcggcctcc 60

atctctgca ggtctagtca ggcctcttg gatagagatg atggagacac ctatttggac 120

tggtaacctgc agaagccagg gcagtctcca cagctcctga tctatacgtt ttctatcgg 180

gcctctggag tcccagacag gttcagtggc agtgggtcag gcaactgattt ctcactgaaa 240

atcagcaggg tggaggetga ggatgttga gtttattact gcattgcaacg tatagagttt 300

ccattcaactt tcggcctgg gaccaaagtg gatatcaaa 339

<210> 213

<211> 113

<212> PRT

<213> 人

<400> 213

Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Arg

20 25 30

Asp Asp Gly Asp Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln

[0063]

35	40	45													
Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Thr	Leu	Ser	Tyr	Arg	Ala	Ser	Gly	Val
50					55					60					
Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Ser	Leu	Lys
65				70						75				80	
Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln
			85						90					95	
Arg	Ile	Glu	Phe	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Lys	Val	Asp	Ile
		100						105						110	

Lys

- <210> 214
- <211> 323
- <212> DNA
- <213> 人

<400> 214	
agactccact ctcctgcc gtcaccctg gagagcggc ctccatctcc tgcaggtcta	60
gtcagagcct cttgatagt gctgatggag acacctattt ggactggtac ctgcagaagc	120
cagggcagtc tccacagctc ctgatctata cgctttccta tcgggcctct ggagtcccag	180
acaggltcag tggcagtggg tcagacactg atttctcact gaaaatcagc aggggtggagg	240
ctgaggatgt tggagtttat tactgcatgc aacgtataga gtttccattc actttcggcc	300
ctgggaccaa agtggatata aaa	323

- <210> 215
- <211> 113
- <212> PRT
- <213> 人

<400> 215	
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly	
1	5
	10
	15

[0064]

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Ala Asp Gly Asp Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Asp Phe Ser Leu Lys
 65 70 75 80
 Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln
 85 90 95
 Arg Ile Glu Phe Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
 100 105 110

Lys

<210> 216

<211> 321

<212> DNA

<213> 人

<400> 216

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag tgtgcagcct 240

gaagattttg taacttatta ctgtctacag cataatagta accctctcac ttctggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 217

<211> 107

<212> PRT

<213> 人

[0065]

<400> 217
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

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

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

 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Pro
 65 70 75 80

 Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Asn Pro Leu
 85 90 95

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

<210> 218

<211> 321

<212> DNA

<213> 人

<400> 218

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

 atcaactgcc gggcaagtc gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

 gggaaagccc ctaagcgct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag tctgcagcct 240

 gaagatcttg caacttatta ctgtctacag cataatagta accctctcac tttcggcgga 300

 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 219

<211> 107

<212> PRT

<213> 人

[0066]

<400> 219
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

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

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

 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Asn Pro Leu
 85 90 95

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

<210> 220

<211> 321

<212> DNA

<213> 人

<400> 220

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ttgtaggaga cagagtcacc 60

 atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

 gggaaagccc ctaagegect gctctatgct gctccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

 aggttcagcg gcagtgggtc tgggtcagaa ttcactetca caatcagcag cctgcagcct 240

 gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtg acccgctcac cttcggccaa 300

 gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 221

<211> 107

<212> PRT

[0067]

<213> 人

<400> 221

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Ser Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Asp Pro Leu
 85 90 95

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

<210> 222

<211> 324

<212> DNA

<213> 人

<400> 222

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ttccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagggttagc agcaactact tagcctggta ccagcagaaa 120

tctggccagg ctcccagget cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcaa caatatggta actcaccatt cactttcggc 300

cctgggacca atgtggatat caaa 324

<210> 223

<211> 108

[0068]

<212> PRT

<213> 人

<400> 223

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Phe Pro Gly
 1 5 10 15

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

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Pro
 85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Asn Val Asp Ile Lys
 100 105

<210> 224

<211> 321

<212> DNA

<213> 人

<400> 224

gacatcaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

gtcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgattttg getggtatca gcaaaaacca 120

gggaaagccc ctaagegcct gatctatgct gcatccagtt taaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcageg gcagtggatc tgggacagaa ttcactetca caatcageag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag caaaatagtt acccgctcac tttcggggga 300

gggaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 225

[0069]

<211> 107

<212> PRT

<213> 人

<400> 225

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1			5					10						15	
Asp	Arg	Val	Thr	Val	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Arg	Asn	Asp
		20						25						30	
Phe	Gly	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile
		35					40						45		
Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
		50				55						60			
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75					80
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Gln	Asn	Ser	Tyr	Pro	Leu
				85						90					95
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys					
			100							105					

<210> 226

<211> 339

<212> DNA

<213> 人

<400> 226

gatattgtga	tgaccagac	tccactctcc	ctgcccgtca	ccctggaga	gcggcctcc	60
atctcctgca	ggtctactca	gagcctcttg	gatagtgatg	atggagacac	ctatttggac	120
tggtagctgc	agaagccggg	gcagtctcca	cagctcctga	tctatacgct	ttcctatcgg	180
gcctctggag	tcccagacag	gttcagtggc	agtgggtcag	gcactgattt	cacactgaaa	240
atcagcaggg	tggaggetga	ggatgttggg	gtttattact	gcatgcaacg	tatagagttt	300
ccattcaactt	tcggccctgg	gaccaaagtg	gatatcaaa			339

[0070]

<210> 227

<211> 113

<212> PRT

<213> 人

<400> 227

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

Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Thr	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
			20					25						30	

Asp	Asp	Gly	Asp	Thr	Tyr	Leu	Asp	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln
		35					40					45			

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

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

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

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

Lys

<210> 228

<211> 321

<212> DNA

<213> 人

<400> 228

gacatccaga	tgaccacagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc	60
------------	-------------	------------	------------	------------	------------	----

atcacttgcc	gggcaagtca	gggcattaga	aatgatttag	gctggtatca	gcagaaacca	120
------------	------------	------------	------------	------------	------------	-----

gggaaagccc	ctaagcgect	gatctatgct	gcatccagtt	tggaaagtgg	ggtcccatca	180
------------	------------	------------	------------	------------	------------	-----

aggttcagcg	gcagtggatc	tgggacagaa	ttcactctca	caatcagcag	tgtgcagcct	240
------------	------------	------------	------------	------------	------------	-----

[0071]

gaagattttg taacttatta ctgtctacag cataatagta accctctcac ttteggogga	300
gggaccaagg tggagatcaa a	321
<210> 229	
<211> 107	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 229	
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
1 5 10 15	
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp	
20 25 30	
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile	
35 40 45	
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
50 55 60	
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Pro	
65 70 75 80	
Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Asn Pro Leu	
85 90 95	
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	
100 105	
<210> 230	
<211> 321	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 230	
gacatccaga tgaccagtc tccatctctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc	60
atcaacttgcc aggcgagtca ggacattagt aagtatttaa attggtatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctcct catctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca	180
aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct	240

[0072]

gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatggtaate tcccgatcac ctteggecaa 300

gggacacgac tggagagtaa a 321

<210> 231

<211> 107

<212> PRT

<213> 人

<400> 231

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Asn Leu Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ser Lys

100 105

<210> 232

<211> 318

<212> DNA

<213> 人

<400> 232

tcctatgagc tgactcagcc acctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60

acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgtttgct ggtatcagea gaagccaggc 120

cagtcacctg tgctggatcat ctatcaaaact tccaagcggc cctcagggat ccctgagcgg 180

[0073]

ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggetatg	240
gatgaggetg actattaactg tcaggcgtgg gacagcaaca ctgtgatttt cggeggaggg	300
accaagctga ccgctcta	318
<210> 233	
<211> 106	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 233	
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln	
1 5 10 15	
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Val	
20 25 30	
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr	
35 40 45	
Gln Thr Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser	
50 55 60	
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met	
65 70 75 80	
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Asn Thr Val Ile	
85 90 95	
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu	
100 105	
<210> 234	
<211> 318	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 234	
tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc	60
acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgtttgct ggtatcagca gaagccaggc	120
cagtcacctg tgctggatcat ctatcaaaact tccaagcggc cctcagggat ccctgagcgg	180

[0074]

ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg	240
gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgtggtttt cggcggaggg	300
accaagctga ccgtccta	318
<210> 235	
<211> 106	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 235	
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln	
1 5 10 15	
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Val	
20 25 30	
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr	
35 40 45	
Gln Thr Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser	
50 55 60	
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met	
65 70 75 80	
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val	
85 90 95	
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu	
100 105	
<210> 236	
<211> 318	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 236	
tcctatgagc tgaetcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcadc	60
acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgcttget ggtatcagca gaagccagge	120

[0075]

cagtcacctg tactggteat ctatcaatct accaageggc cctcagggat ccctgagcgt 180
 ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagegggac ccaggetatg 240
 gatgagcctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgtggtatt cggeggaggg 300
 accaagctga ccgctcta 318

<210> 237

<211> 106

<212> PRT

<213> 人

<400> 237

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

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

Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

Gln Ser Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
 65 70 75 80

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

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

<210> 238

<211> 330

<212> DNA

<213> 人

<400> 238

aattttatgc tgactcagcc caactctgtg tcggagtctc cggggaagac ggtaaccatc 60

tcttgcaccc geagcagtgg cagcattgtc agcaactttg tgcaatggta ccagcagcgc 120

[0076]

ccgggcagtt cccccaccac tgtgatctat gaggataacc aaagaccctc tggggtccct 180
 gatcggttct ctggctccat cgacagctcc tccaactctg cctccctcac catctctgga 240
 ctgaagactg aggacgaggc tgactactac tgtcagcttt atgataccag caatcaggtg 300
 ttcggcggag ggaccaagct gaccgtcctg 330

<210> 239

<211> 110

<212> PRT

<213> 人

<400> 239

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
 1 5 10 15

Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Val Ser Asn
 20 25 30

Phe Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ser Pro Thr Thr Val
 35 40 45

Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

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

Ser Asn Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 240

<211> 330

<212> DNA

<213> 人

<400> 240

cagtctgtcc tgactcagcc acccccagcg tctgggaccc ccgggcagag ggteaccatc 60

[0077]

tcgtgtactg gaatcacctc caacatcgga agcaatactg tacactggta ccagcagttc 120
ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat agtaataatc agcggcctc aggggtccct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc teagcctccc tggccatcag tgggctccag 240
tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca geatgggatg acagcctgaa tggtecggtg 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 241

<211> 110

<212> PRT

<213> 人

<400> 241

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Pro Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ile Thr Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu

85 90 95

Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 242

<211> 330

<212> DNA

<213> 人

<400> 242

cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tetgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60

[0078]

tcttgttctg gaagcaggtc caacatcgga agtaattatg tatactggta ccaacagctc 120
 ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat aggaataatc agcggccctc aggggtcct 180
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccgg 240
 tccgaggatg aggetgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgag taggocggta 300
 ttcggcggag ggaccaagct gacgctcta 330

<210> 243

<211> 110

<212> PRT

<213> 人

<400> 243

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
 65 70 75 80
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95
 Ser Arg Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 244

<211> 330

<212> DNA

<213> 人

<400> 244

[0079]

cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
tcttgcactg ggagcagctc caacatcggg gcaggttatg ctgtacactg gtaccagcag 120
cttcaggaa cagcccccaa actcctcacc tatgataaca acaatcggcc ctccagggtc 180
cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240
caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgtata 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 245

<211> 110

<212> PRT

<213> 人

<400> 245

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30
Tyr Ala Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Asp Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
85 90 95
Leu Ser Ala Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 246

<211> 336

<212> DNA

<213> 人

[0080]

<400> 246
 aatattgtga tgaccagac tccaactctct ctgtccgtca ccctggaca gccggcctcc 60
 atctcctgca agtctagtea gagcctcctg catagtgatg gaaagaacta tttgttttgg 120
 tacctacaga agccaggcca gtctccacag ctctctgatct atgaagtttc ctaccggttc 180
 tctggagtgc cagataggtt cagtggcagc gggtcaggga cagatttctc attgaaaatc 240
 agccgggtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaaaatat acagcctcct 300
 ctcaccttcg gccaaaggac acgactggag attaaa 336

<210> 247
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 247
 Asn Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Asn Tyr Leu Phe Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Tyr Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Asn
 85 90 95
 Ile Gln Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 248
 <211> 336
 <212> DNA
 <213> 人

[0081]

<400> 248
 ggtattgtgc tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta ccctggaga gcggcctcc 60
 atctctgca ggtctagtca gagcctctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
 tacttgaga agccaggga gtctccgag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
 tccgggggcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tggaagctct tcaaactatg 300
 tgcagttttg gccaggggac caagctggag atcaag 336

<210> 249

<211> 112

<212> PRT

<213> 人

<400> 249

Gly Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Glu Ala
 85 90 95
 Leu Gln Thr Met Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 250

<211> 321

<212> DNA

[0082]

<213> 人

<400> 250
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcaattgcc gggcaagtea gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgctt gatctatgct gcattccagtt tgcaaagtgg ggtcccatct 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcaa cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt accctcgcag ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 251
<211> 107
<212> PRT
<213> 人

<400> 251
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95
Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 252
<211> 321

[0083]

<212> DNA

<213> 人

<400> 252

gacatccaga tgaccacagtc tccatctctcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcaacttgtc gggcgagtc gggattatgc agctggtag cctggatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct aatctatgct gcaccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

cggttcagcg gcagtgggtc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagatcttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccogctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 253

<211> 107

<212> PRT

<213> 人

<400> 253

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 254

[0084]

<211> 339
 <212> DNA
 <213> 人

 <400> 254
 gatattgtgc tgaccagac tccactctcc ctgcccgtca ccctggaga gceggcctcc 60
 atctctgca ggtctagtca ggcctcttg gatagatg atggagacac ctatttgac 120
 tggtaactgc agaagccagg gcagtctcca cagctcctga tctatacgct ttctatcgg 180
 gcctctggag tcccagacag gttcagtggc agtgggtcag gcaactgattt ctactgaaa 240
 atcagcaggg tggaggctga ggatgttga gtttattact gcatgcaacg tatagagttt 300
 ccattcactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatcaaa 339

<210> 255
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 255
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Arg
 20 25 30
 Asp Asp Gly Asp Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Lys
 65 70 75 80
 Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln
 85 90 95
 Arg Ile Glu Phe Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
 100 105 110

[0085]

Lys

<210> 256

<211> 321

<212> DNA

<213> 人

<400> 256

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcgt ctgtagggga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc agctggttag cctggatatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatact gcatccaatt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag tctaacagtt tcccgtcac tttcggogga 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 257

<211> 107

<212> PRT

<213> 人

<400> 257

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95

[0086]

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

<210> 258

<211> 348

<212> DNA

<213> 人

<400> 258

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tctctgtcag cgtctggaat caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcatct atatggtatg atggaagtaa taaatattat 180
gtagactccg tgaagggccg attcaccatc ttcagagaca attccaagaa aacgctgtat 240
ctgcaaatga acaggtctgag agccgaggac aaggctgtgt attactgtgc gagacttgggt 300
ggtggttttg actactgggg ccaggggaacc ctggtcaccg tctctca 348

<210> 259

<211> 116

<212> PRT

<213> 人

<400> 259

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ser Lys Lys Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0087]

	85	90	95	
Ala Arg Leu Gly Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val	100	105	110	
Thr Val Ser Ser	115			
<210> 260				
<211> 348				
<212> DNA				
<213> 人				
<400> 260				
caggtgcaac tggaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc				60
tctgtgcag cgtctggaat caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccagggt				120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatggtatg atggaagtga aaaatattat				180
gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat				240
ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaatggga				300
ggcggettgg actaactgggg ccagggaacc ctggtcaccc tctcctca				348
<210> 261				
<211> 116				
<212> PRT				
<213> 人				
<400> 261				
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg	1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Ser Tyr	20	25	30	
Gly Met His Trp Val Arg Gln Gly Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	35	40	45	
Ala Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val	50	55	60	

[0088]

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 262

<211> 384

<212> DNA

<213> 人

<400> 262

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccagget 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atgtggtatg atggaagtaa taaagactat 180

gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga accgcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaaaaa 300

gatcattaag acattttgac tggttataac tactactacg gtctggacgt ctggggccaa 360

gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 263

<211> 128

<212> PRT

<213> 人

<400> 263

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

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

[0089]

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

Ala Val Met Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Asp Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Lys Asp His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asn Tyr Tyr
 100 105 110

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

<210> 264
 <211> 467
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 264
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atgtggtatg atggaagtaa taaagactat 180
 gtagactcog tgaagggcog attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga accgcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaaaaa 300
 gatcattacg acatthtgac tggttataac tactactaog gtctggacgt ctggggccaa 360
 gggaccaagg tcaccgtctc ctcagocctc accaagggcc catcggtctt cccctggcg 420
 ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca gggccctgg gctgcoct 467

<210> 265
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> 人

[0090]

<400> 265
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Met Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Asp Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Lys Asp His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asn Tyr Tyr
 100 105 110
 Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 266

<211> 384

<212> DNA

<213> 人

<400> 266

caggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctatggga tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg gtctggagtg ggtggcagtt atatcagatg atggaagtca taaatactct 180
 gcagactcgc tgaagggccg attcaccate tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag aactgaggac tcggctgtgt attactgtgc gagagaggag 300
 acgtattacg atatittgac tggctatcat cactactacg gtatggacgt ctggggccaa 360

[0091]

gggaccacgg tcacogtctc ctea	384
<210> 267	
<211> 128	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 267	
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg	
1 5 10 15	
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr	
20 25 30	
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
35 40 45	
Ala Val Ile Ser Asp Asp Gly Ser His Lys Tyr Ser Ala Asp Ser Val	
50 55 60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
65 70 75 80	
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys	
85 90 95	
Ala Arg Glu Glu Thr Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr His His Tyr	
100 105 110	
Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
115 120 125	
<210> 268	
<211> 384	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 268	
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagacte	60
tctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcaactgggt ccgccaggct	120
ccaggcaagg ggctggagtg gttggcagaa atatggaatg atggaagtaa taaatactat	180

[0092]

gcagaactcgg tgaagggecg attcaccate tccagagaca atcccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attattgtgc gagagagcct 300
 cagtattacg atatittgac tggttatgat aactactacg gtatggacgt ctggggccaa 360
 gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 269

<211> 128

<212> PRT

<213> 人

<400> 269

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Pro Gln Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asp Asn Tyr
 100 105 110

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

<210> 270

<211> 384

<212> DNA

<213> 人

<400> 270

[0093]

caggtgcage tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccage ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agotatgaca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtg atatcacatg atggaagtga taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga gcagtttgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaaaaa 300
 ccgtattacg atattttgac tggttatttc tactactatg gtatggacgt ctggggccaa 360
 gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 271

<211> 128

<212> PRT

<213> 人

<400> 271

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

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

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

Ala Val Ile Ser His Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Lys Pro Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Phe Tyr Tyr
 100 105 110

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

[0094]

<210> 272
 <211> 348
 <212> DNA
 <213> 人

 <400> 272
 caggatgcagt tggcggagtc tgggggagge gtggctccage ctgggaggte cctgagactc 60
 tectgtacag cgtctggaat caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaggt atatggtatg atggaaggaa taaatactat 180
 gtagactccg tgaagggcog attcaccatc tccagagaca attccaagaa aacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggttagca 300
 gtggcctttg actactgggg ccaggaact ttggtcaccg tctcctca 348

<210> 273
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 人

 <400> 273
 Gln Val Gln Leu Ala Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Gly Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Lys Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Leu Ala Val Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

[0095]

Thr Val Ser Ser
115

<210> 274

<211> 384

<212> DNA

<213> 人

<400> 274

cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcaactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atgtggtatg atggaagtaa taaagactat 180
gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga accgcctgag agccgaggac accgctgtgt attaactgtgc gagagaaaaa 300
gatcattacg acattttgac tggttataac tactactacg gtctggacgt ctggggccaa 360
gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 275

<211> 128

<212> PRT

<213> 人

<400> 275

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
Ala Val Met Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Asp Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

[0096]

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

Ala Arg Glu Lys Asp His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asn Tyr Tyr
 100 105 110

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

<210> 276
 <211> 372
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 276
 caggtacagc tgcagcagtc aggtccagga ctggtgagge cctcgcagac cctctcacte 60
 acctgtgcca tctccgggga cagtgtctct agcaactatg ctgettggaa ctggatcagg 120
 cagtcceecat cgagaggcct tgagtggctg ggaaggacat actacaggte caagtggat 180
 aatgattatg cagtatctgt gagaagtcga acaaccatca acccagacac atccaagaac 240
 cagttctccc tgcagttgaa ctctgtgact cccgaggaca cggctgtgta ttactgtaca 300
 agagaagatg gcagtggctg gtacgggtct tttgacatct ggggccaagg gacaatggtc 360
 accgtctctt ca 372

<210> 277
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 277
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
 20 25 30

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

[0097]

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
 50 55 60

Val Ser Val Arg Ser Arg Thr Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
 65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
 85 90 95

Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Asp Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Ala Phe Asp
 100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 278
 <211> 374
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 278
 caggtgcaac tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctgggag caccttcaga agctatgaca tgcaactgggt ccgccagget 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcagatg atggaagtaa taaatactat 180
 ggagactcog tgaagggccg attgaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatcaa 300
 tacgatattt tgaactggta ttcttctgat gcttttgata tctggggcca agggacaatg 360
 gtcaccgtct ctte 374

<210> 279
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 279
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

[0098]

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gln Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Ser Ser Asp Ala Phe
 100 105 110

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

<210> 280
 <211> 375
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 280
 caggtgcaac tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tctgtgcaag cctctgggag caccttcaga agctatgaca tgcaactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcagatg atggaagtaa taaatattat 180
 ggagactccg tgaagggccg attgaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attattgtgc gagagatcaa 300
 tacgatattt tgactgggta ttcttctgat gcttttgata tctggggcca aggacaatg 360
 gtcaccgtct cttca 375

<210> 281
 <211> 125

[0099]

<212> PRT

<213> 人

<400> 281

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gln Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Ser Ser Asp Ala Phe
 100 105 110

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

<210> 282

<211> 375

<212> DNA

<213> 人

<400> 282

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tactgtgcag cctctggaag caccttcaga agctatgaca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg gttggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180

ggagactccg tgaagggccg attgaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac aoggctgtgt attactgtgc gagagatcaa 300

[0100]

tacgatattt tgactggta ttettotgat gcttttgata tetggggcca agggacaatg 360

gtcacctct cttea 375

- <210> 283
- <211> 125
- <212> PRT
- <213> 人

<400> 283

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gln Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Ser Ser Asp Ala Phe
 100 105 110

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

- <210> 284
- <211> 387
- <212> DNA
- <213> 人

<400> 284

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60

tctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcaactgggt cgcaccaggct 120

[0101]

ccaggaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggtgtgt attactgtgc gagagcctat 300
tacgatattt tgactgatta cccccagtat gactactact acggtatgga cgtctggggc 360
caagggacca cggtcaccgt ctctca 387

<210> 285

<211> 129

<212> PRT

<213> 人

<400> 285

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Ala Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Pro Gln Tyr Asp Tyr
100 105 110

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

Ser

<210> 286

[0102]

<211> 378
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 286
 caggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc gtgggccagc ctgggaagtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag tctctggatt catcttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccagget 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atatcattg atggaagtaa taaatactat 180
 gcagactccg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatggg 300
 tattaogata ttttgactgg ttatgaggat gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca 360
 atggtcaccg tctcttca 378

<210> 287
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 287
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Leu Ile Ser Phe Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Glu Asp Asp Ala

[0103]

100	105	110	
Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser			
115	120	125	
<p><210> 288 <211> 387 <212> DNA <213> 人</p>			
<p><400> 288</p>			
caggtgcagc tgggtcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc			60
tcttgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactatt tgcactgggt gcgacaggcc			120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcatccctg acagtgggtg cacaaagtat			180
gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac			240
ttggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagaaggg			300
tttcattacg atattttgac tggttcctac ttctactact acggtatgga cgtctggggc			360
caagggacca cggtcaccgt ctctca			387
<p><210> 289 <211> 129 <212> PRT <213> 人</p>			
<p><400> 289</p>			
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 Gly Tyr			
20	25	30	
Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
35	40	45	
Gly Trp Ile Ile Pro Asp Ser Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe			
50	55	60	
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr			

[0104]

65	70	75	80
Leu Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Glu Gly Phe His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Ser Tyr Phe Tyr			
	100	105	110
Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser			
	115	120	125

Ser

<210> 290
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 290
 caggttcagc tgggtcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tctgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatggta tcagttgggc ggcacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcggcgttt acaatggtea cacaaaatat 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagetga ggagcctgag atctgacgac acggccatat tttactgtgc gagaagggta 300
 gcagtggctg ggtactttga ctactggggc cagggaaacc tggtcaccgt ctctca 357

<210> 291
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 291
 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 Tyr
 20 25 30

[0105]

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

Gly Trp Ile Gly Val Tyr Asn Gly His Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 292
 <211> 381
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 292
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agatatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtca taaatactat 180
 gaagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attctaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgacgac acgggtgtgt attactgtgc gagagtcggg 300
 tatggcagtg gctggtacga gtactattac cactacggta tggacgtctg gggccaaggg 360
 accacggtca ccgtctcctc a 381

<210> 293
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 293

[0106]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg	1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr	20	25	30	
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	35	40	45	
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser His Lys Tyr Tyr Glu Asp Ser Val	50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys	85	90	95	
Ala Arg Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Glu Tyr Tyr Tyr His Tyr	100	105	110	
Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	115	120	125	

<210> 294

<211> 384

<212> DNA

<213> 人

<400> 294

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagacte 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgeactgggt ccgccaggt 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacaatt atatggtctg atggaattaa caaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccata tccagagaca attccaagaa cacgctgaat 240

ctgcaaatga acagtttgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagaga 300

ggcctctacg atattttgac tggttattat aactactacg gtattgacgt ctggggccaa 360

gggaccacgg tcaccgtctc ctea 384

[0107]

<210> 295

<211> 128

<212> PRT

<213> 人

<400> 295

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Arg Gly Leu Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Asn Tyr
 100 105 110

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

<210> 296

<211> 366

<212> DNA

<213> 人

<400> 296

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tctgtgcag cctctggatt caccttcagt ggctatacct tgaactgggt cgccaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtttcaaac attaatagta ggagtagtct catatactac 180

acagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcaactgtat 240

[0108]

ctgcaaatga acagcctgag agacgaggac acggctgtgt atttctgtgc gagagatcag	300
tataactgga actactacta cggatatggac gtctggggcc aaggaccac ggtcaccgtc	360
tcctca	366
<210> 297	
<211> 122	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 297	
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly	
1 5 10 15	
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr	
20 25 30	
Thr Leu Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
35 40 45	
Ser Asn Ile Asn Ser Arg Ser Ser Leu Ile Tyr Tyr Thr Asp Ser Val	
50 55 60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr	
65 70 75 80	
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys	
85 90 95	
Ala Arg Asp Gln Tyr Asn Trp Asn Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp	
100 105 110	
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
115 120	
<210> 298	
<211> 360	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 298	
gaggtgcggc tgggtggagtc tgggggagac ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc	60

[0109]

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatgcc tgaactgggt cggccagget 120
ccaggggaagg ggctggagtg gatttcatac attggtagta gtagtagtgc catatactac 180
ggagactctg tgaagggcgg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcaactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agacaggac acggetgtgt attactgtgc gagatataga 300
agtggctggg cccccctctt tgacttctgg ggccagggaa gcttggteac cgtctctca 360

<210> 299

<211> 120

<212> PRT

<213> 人

<400> 299

Glu Val Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
Ser Tyr Ile Gly Ser Ser Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
Ala Arg Tyr Arg Ser Gly Trp Ser Pro Leu Phe Asp Phe Trp Gly Gln
 100 105 110
Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 300

<211> 348

<212> DNA

<213> 人

[0110]

<400> 300
 caggtgcagc tggtagtc tgggggagc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggaat caccttcagt agctatggca tgcaactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcatct atatggtatg atggaagtaa taaatattat 180
 gtagactccg tgaagggccg attcaccatc ttcagagaca attccaagaa aacgctgtat 240
 ctgcaaatga acaggctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacttggt 300
 ggtggttttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctctca 348

<210> 301

<211> 116

<212> PRT

<213> 人

<400> 301

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ser Lys Lys Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Leu Gly Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

[0111]

<210> 302
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 302
 gaggtgcggc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtacag cctctggatt ccccttcaat agatatgcca tgaactgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtttcatac attggtagta gtagtagtgc catatactac 180
 gcagactctg tgaagggcog attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcaactgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agatgaagac acggctgtgt attactgtgc gagatatagc 300
 agtggtctgg cccccctctt tgactactgg ggccagggaa ccttggtcac ogtctctca 360

<210> 303
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 303
 Glu Val Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Pro Phe Asn Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Gly Ser Ser Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Tyr Ser Ser Gly Trp Ser Pro Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

[0112]

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 304
<211> 321
<212> DNA
<213> 人

<400> 304
cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcac ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60
ggaactgcct ctggtgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120
tggaaggagg ataacgcct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240
aaacacaaag tctacgctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300
agcttcaaca ggggagagtg t 321

<210> 305
<211> 107
<212> PRT
<213> 人

<400> 305
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

[0113]

	85	90	95	
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys				
	100	105		
<p><210> 306 <211> 318 <212> DNA <213> 人</p>				
<p><400> 306 ggtcagccca aggetgcccc ctcggtcact ctgttcccgc cctcctctga ggagcttcaa 60 gccacaagg ccacctggt gtgtctcata agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg 120 gcctggaagg cagatagcag ccccgtaag gcgggagtgg agaccaccac accctcaaaa 180 caaagcaaca acaagtacgc ggcccagcagc tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaag 240 tcccacagaa gctacagctg ccaggtcaag catgaagga gcaccgtgga gaagacagtg 300 gccctacag aatgttca 318</p>				
<p><210> 307 <211> 106 <212> PRT <213> 人</p>				
<p><400> 307 Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser 1 5 10 15 Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp 20 25 30 Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro 35 40 45 Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn 50 55 60 Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys 65 70 75 80</p>				

[0114]

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
 85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 100 105

<210> 308

<211> 978

<212> DNA

<213> 人

<400> 308

gcctccacca agggcccac ggtcttcccc ctggcgcct gctccaggag cacctccgag 60
 agcacagcgg cctgggctg cctggtaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgctg 120
 tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca 180
 ggactctact cctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc 240
 tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 300
 aatgtttgtg tcgagtgcc accgtgccc gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 360
 ctcttcccc caaaaccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc 420
 gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 480
 gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 540
 gtggtcagcg tctcaccgt tgtgcaccag gactggetga acggcaagga gtacaagtgc 600
 aaggtctcca acaaaggcct cccagcccc atcgagaaaa ccctctcaa aaccaaaggg 660
 cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 720
 caggtcagcc tgacctgctt ggtcaaagge ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 780
 gagagcaatg ggcagcogga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 840
 ggctctctct tctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 900
 gtcttctcat gctcogtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 960

[0115]

tcacctgtctc cgggtaaa

978

<210> 309

<211> 326

<212> PRT

<213> 人

<400> 309

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
 165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
 180 185 190

[0116]

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
 195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325

<210> 310
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 310
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45

Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60

[0117]

Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
85 90 95

Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
100 105 110

His Asn Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 311

<211> 473

<212> PRT

<213> 人

<400> 311

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln

[0118]

20					25					30									
Pro	Gly	Arg	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe				
35					40					45									
Ser	Ser	Tyr	Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu				
50					55					60									
Glu	Trp	Val	Ala	Val	Met	Trp	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Asp	Tyr	Val				
65					70					75					80				
Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn				
85					90					95									
Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Arg	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val				
100					105					110									
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Glu	Lys	Asp	His	Tyr	Asp	Ile	Leu	Thr	Gly	Tyr				
115					120					125									
Asn	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Leu	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr				
130					135					140									
Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro				
145					150					155					160				
Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val				
165					170					175									
Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala				
180					185					190									
Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly				
195					200					205									
Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly				
210					215					220									
Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys				
225					230					235					240				
Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys				
245					250					255									

[0119]

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 312

<211> 236

[0120]

<212> PRT

<213> 人

<400> 312

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45

Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60

Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
 65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
 85 90 95

Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
 100 105 110

His Asn Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

[0121]

210	215	220	
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
225	230	235	
<210> 313			
<211> 54			
<212> DNA			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列的描述: 合成的引物			
<400> 313			
aagctcgagg tgaactagac caccatggac atgagggtcc ccgctcagct cctg			54
<210> 314			
<211> 10			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列的描述: 合成的肽			
<400> 314			
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu			
1	5	10	
<210> 315			
<211> 41			
<212> DNA			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列的描述: 合成的引物			
<400> 315			
aaccgtttaa acgcgccgc tcaaacactct ccctgttga a			41
<210> 316			
<211> 6			
<212> PRT			
<213> 人工序列			

[0122]

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的肽

<400> 316

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

1 5

<210> 317

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的引物

<400> 317

aagctcgagg tcgactagac caccatggag tttgggctga gctgggtttt c

51

<210> 318

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的肽

<400> 318

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe

1 5

<210> 319

<211> 48

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的引物

<400> 319

gaccacggtc accgtctcct cagcctccac caagggccca teggtctt

48

<210> 320

<211> 48

<212> DNA

[0123]

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的引物

<400> 320

aagaccgatg ggcccttggt ggaggctgag gagacggtga ccgtggtc

48

<210> 321

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的肽

<400> 321

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

1 5 10 15

Phe

<210> 322

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的引物

<400> 322

aaccgtttaa acgcgccgc tcattaccc ggagacaggg a

41

<210> 323

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的肽

<400> 323

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

[0124]

1

5

<210> 324

<211> 15

<212> DNA

<213> 人

<400> 324

ggctatacct tgaac

15

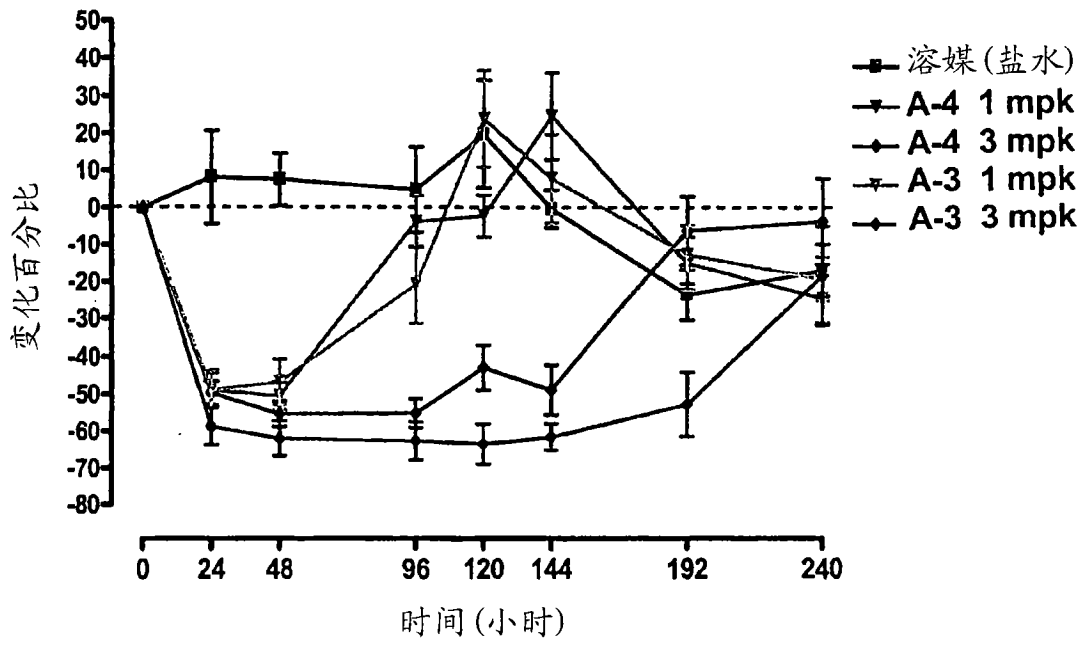


图 1

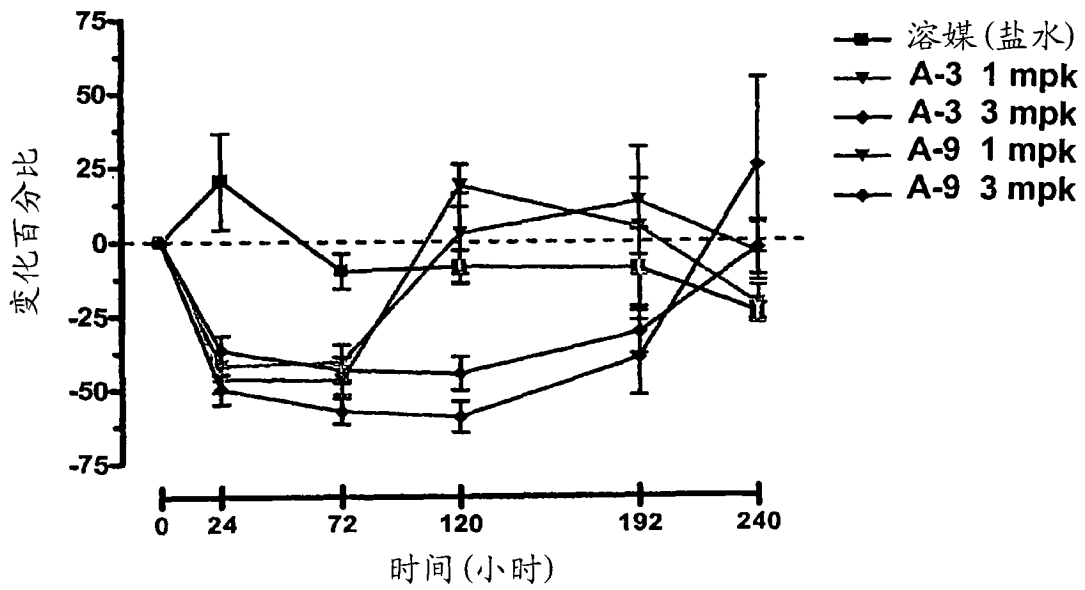


图 2

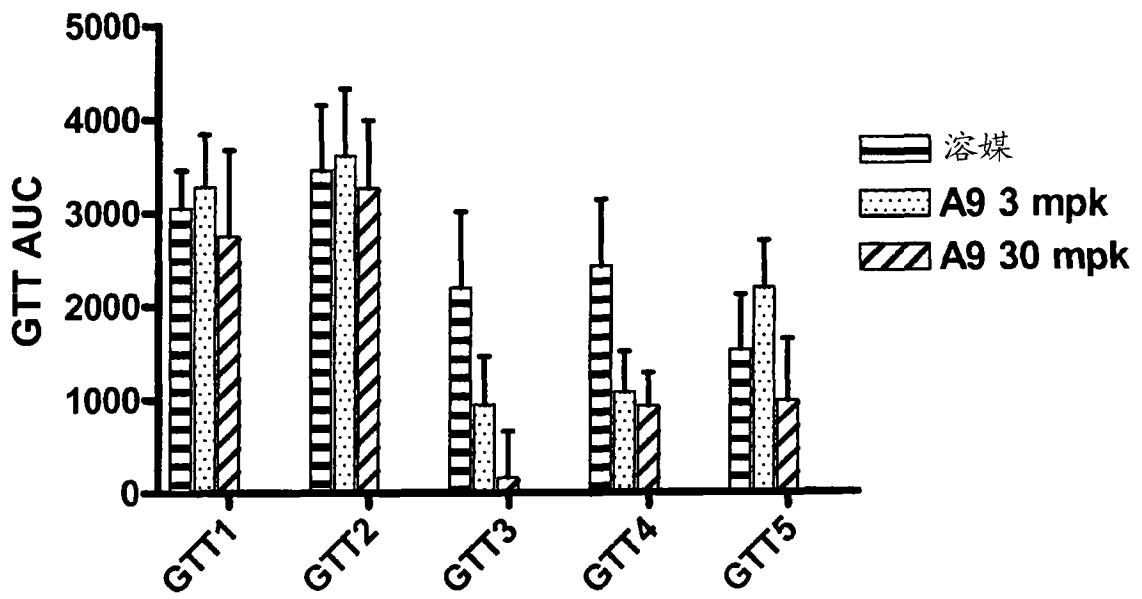


图 3

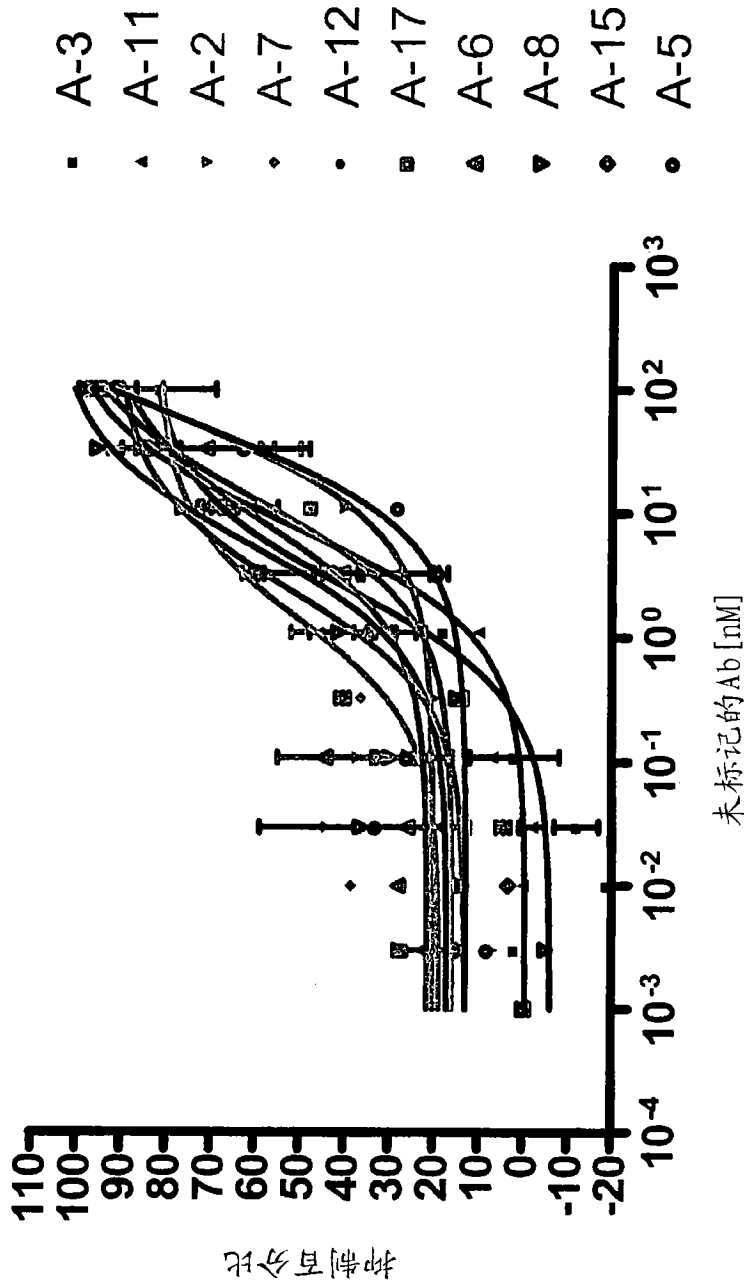


图 4

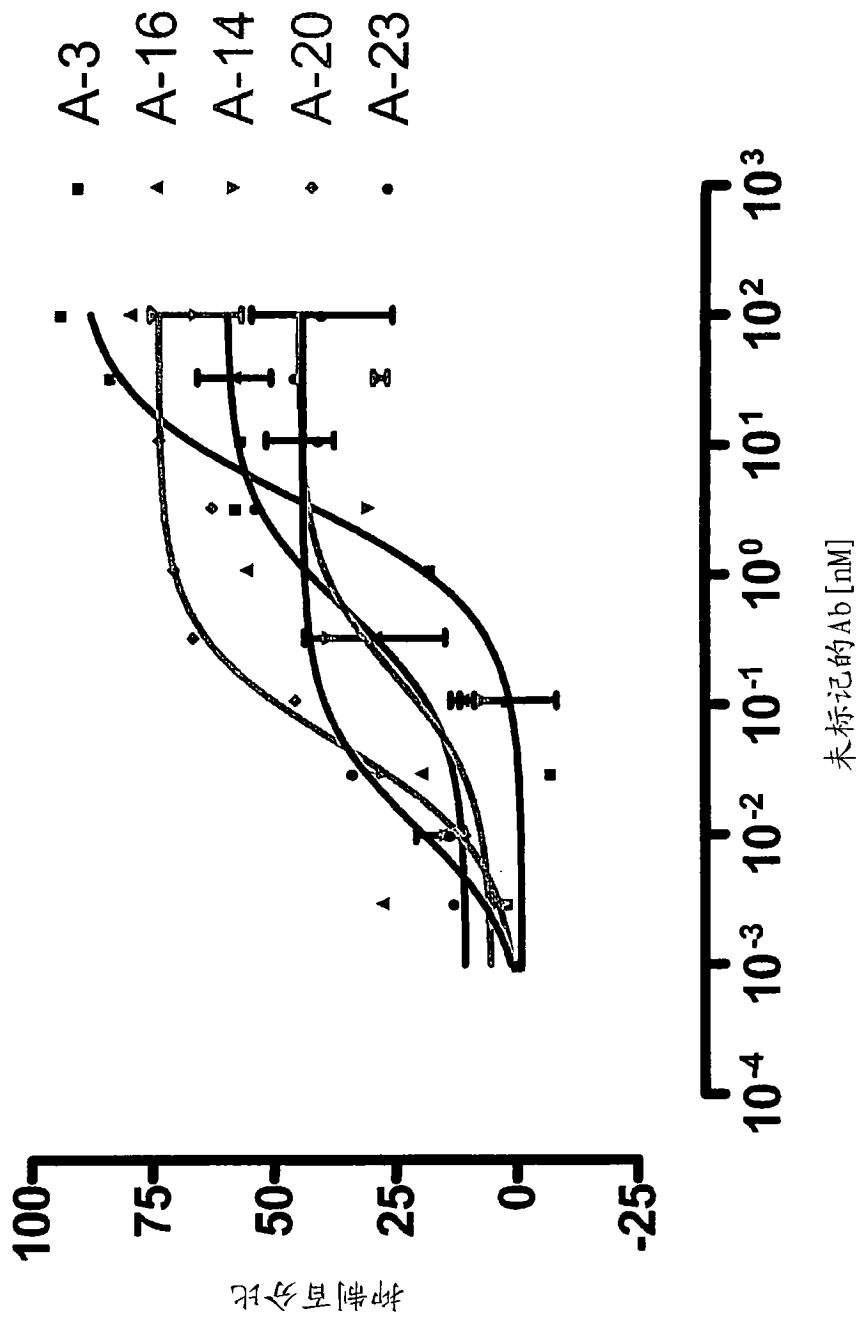


图 5

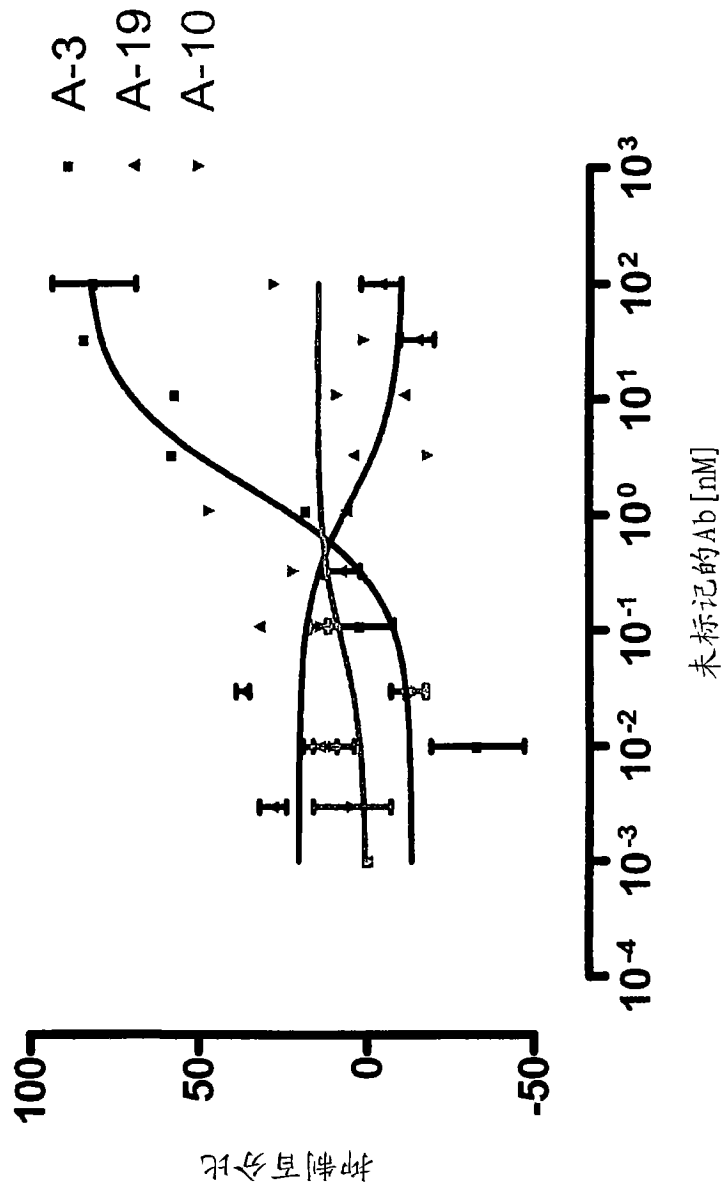


图 6

来源于人GCGR的序列

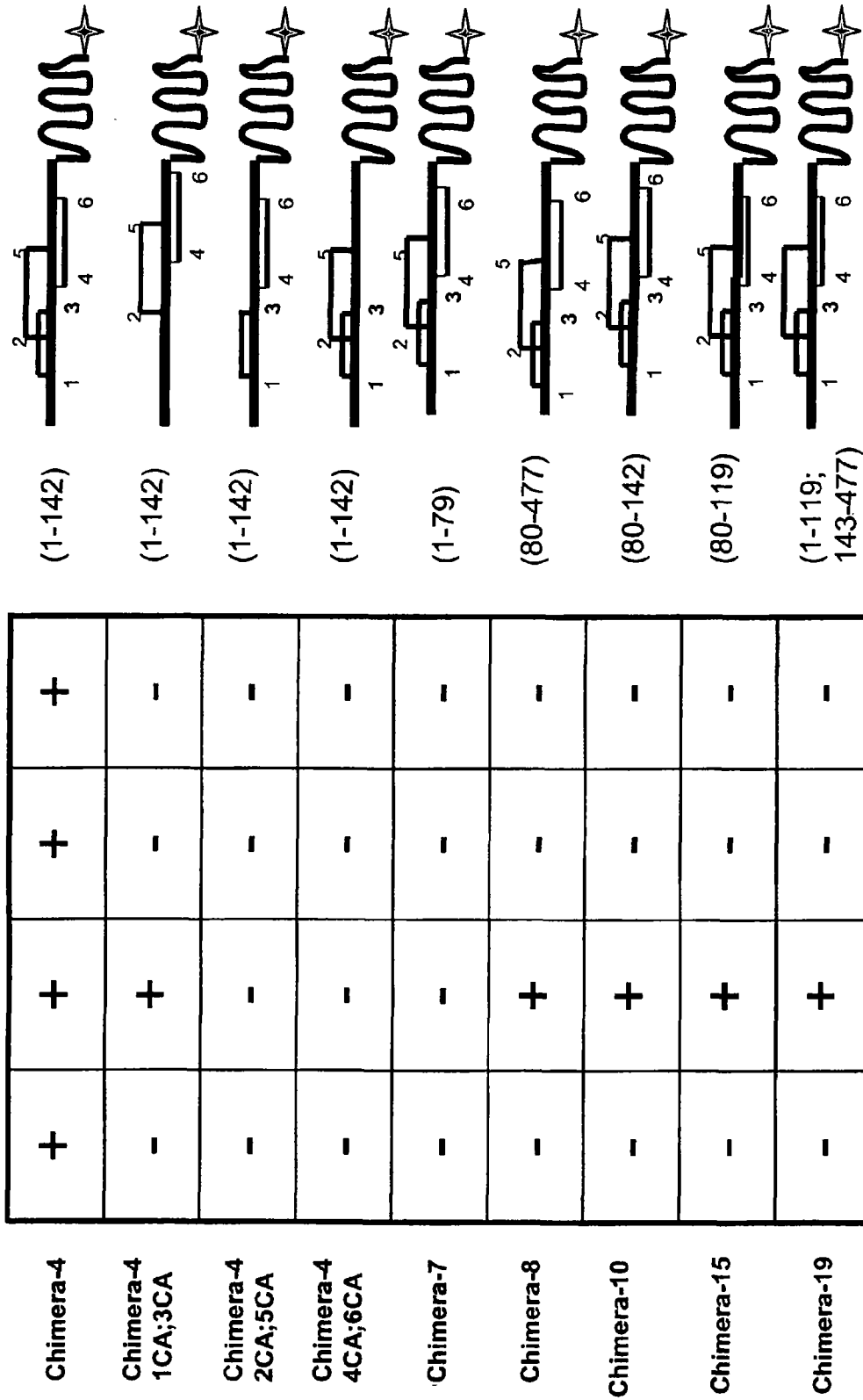


图 7