



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1622958 B

(45) 授权公告日 2013.04.03

(21) 申请号 02816422.9 *C12N 5/10* (2006.01)

(22) 申请日 2002.08.21 *C12N 15/12* (2006.01)

(30) 优先权数据 *G01N 33/53* (2006.01)

0120649.9 2001.08.23 GB *G01N 33/564* (2006.01)

0215212.2 2002.07.01 GB *A61K 39/00* (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日 (56) 对比文件

2004.02.23 WO 0005345 A1, 2000.02.03, 实施例 4, 7, 权利要求 32, 33, 图 17-19.

(86) PCT申请的申请数据 EP 1078986 A2, 2001.02.28, 摘要, 权利要求

PCT/GB2002/003831 2002.08.21 1-3, 8, 9, 实施例 2, 5, 9, 16.

(87) PCT申请的公布数据 审查员 汪波莉

W02003/018632 EN 2003.03.06

(73) 专利权人 RSR 有限公司

地址 英国加的夫

(72) 发明人 伯纳德·里斯·史密斯

雅德维加·富尔马尼亚克

简·菲娜·桑德斯

(74) 专利代理机构 隆天国际知识产权代理有限公司

公司 72003

代理人 高龙鑫 杨淑媛

(51) Int. Cl.

C07K 14/72 (2006.01)

C07K 14/59 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 51 页 附图 49 页

(54) 发明名称
促甲状腺素 (TSH) 受体的表位区域、其用途
和针对该区域的抗体

(57) 摘要
本发明涉及促甲状腺素 (TSH) 受体的表位区域, 及其用途和针对该区域的抗体。

1. 一种 TSH 受体的非人源单克隆抗体或重组抗体,其能与 TSH 受体结合来刺激 TSH 受体,其

包含与图 12 所示抗体 V_L 结构域成对的图 10 所示的抗体 V_H 结构域,从而为 TSH 受体提供包含 V_H 和 V_L 结构域的抗体结合位点 ;或者

包含与图 16 所示抗体 V_L 结构域成对的图 14 所示的抗体 V_H 结构域,从而为 TSH 受体提供包含 V_H 和 V_L 结构域的抗体结合位点 ;或者

包含与图 20 所示抗体 V_L 结构域成对的图 18 所示的抗体 V_H 结构域,从而为 TSH 受体提供包含 V_H 和 V_L 结构域的抗体结合位点 ;或者

包含与图 24 所示抗体 V_L 结构域成对的图 22 所示的抗体 V_H 结构域,从而为 TSH 受体提供包含 V_H 和 V_L 结构域的抗体结合位点 ;或者

包含与图 48 所示抗体 V_L 结构域成对的图 46 所示的抗体 V_H 结构域,从而为 TSH 受体提供包含 V_H 和 V_L 结构域的抗体结合位点。

2. 一种多聚核苷酸,其为 :

(i) 如图 25 至 40、或 57 至 60 所示的核苷酸序列 ;或

(ii) 编码权利要求 1 所述的抗体的核苷酸序列 ;或

(iii) 与 (i) 的核苷酸序列编码相同抗体,且由于遗传密码的简并性与 (i) 中的任意序列都不同的核苷酸序列。

3. 一种生物功能载体,其载递权利要求 2 所述的多聚核苷酸,能够将该多聚核苷酸引入宿主生物的基因组。

4. 一种试剂盒,用来筛选受试者体液样品中针对 TSH 受体的自身抗体,该受试者怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者,所述的试剂盒包括 :

(a) TSH 受体的全长序列、或者一个或多个多肽,所述多肽包括 TSH 受体的一个或多个表位,所述表位与 TSH 受体自身抗体相互反应 ;

(b) 权利要求 1 所述的一个或多个抗体 ;

(c) 用来将从所述受试者中获得的体液样品、所述的 TSH 受体、或所述的一个或多个多肽和所述一个或多个抗体接触,以便允许所述的 TSH 受体或所述的一个或多个多肽能够和所述样品中的针对 TSH 受体的自身抗体或所述一个或多个抗体相互作用 ;以及

(d) 用来监测 TSH 受体或所述的一个或多个多肽与所述样品中的所述自身抗体之间的反应,因而为所述针对 TSH 受体的自身抗体存在于样品中提供了指征。

5. 根据权利要求 4 所述的试剂盒,其特征在于,其包括为所述的一个或多个抗体提供标记物。

6. 根据权利要求 4 所述的试剂盒,其进一步包括在所述一个或多个抗体与所述受试者体液样品和所述 TSH 受体或所述一个或多个多肽相接触之前或之后,将所述一个或多个抗体直接或间接固定在一表面上。

7. 治疗有效量的权利要求 1 所述的抗体在制备治疗甲状腺机能亢进疾病的药物中的应用。

8. 一种药物组合物,包含权利要求 1 所述的抗体,以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

-
9. 权利要求 1 所述的抗体在制备用于治疗甲状腺癌的药物中的应用。
 10. 权利要求 1 所述的抗体在制备用于刺激甲状腺组织或含有 TSH 受体的组织的药物中的应用。

促甲状腺素 (TSH) 受体的表位区域、其用途和针对该区域的抗体

[0001] 本发明涉及促甲状腺素 (TSH) 受体的表位区域,及其用途和针对该区域的抗体。

[0002] 促甲状腺素或甲状腺刺激激素 (TSH) 是一种垂体激素,它在调节甲状腺的功能上起重要作用。在下丘脑中形成的 TRH 能刺激 TSH 的释放,并且 TSH 控制重要的甲状腺激素如甲状腺素 (T4) 和三-碘化甲腺氨酸 (T3) 的形成及释放。根据反馈机理,血清中的甲状腺激素的浓度会控制 TSH 的释放。甲状腺细胞中 T3 和 T4 的形成受 TSH 的刺激,其中在刺激步骤中垂体释放的 TSH 与甲状腺细胞膜上的 TSH 受体结合。

[0003] 在某些病理条件下,也会形成各种类型的针对 TSH 受体的自身抗体。当存在各种类型的自身抗体时,由于 TSH 分子受到屏蔽,在 TSH 受体上 T3 和 T4 的生成和释放会受到抑制,或者,另一方面,由于抗 TSH 受体的自身抗体模拟 TSH 的作用并且刺激甲状腺激素的合成及释放,使得甲状腺激素会以一种不受控的方式被释放。

[0004] 自身免疫甲状腺疾病 (AITD) 是一种在世界不同人群中最常见的自身免疫病。一部分 AITD 病人,主要是有甲状腺机能亢进疾病的病人就具有前述的针对 TSH 受体的自身抗体。自身抗体会结合 TSH 受体并且通常会模拟 TSH 功能,它刺激甲状腺产生高水平的甲状腺激素。这些自身抗体具有刺激作用。在某些病人身上,自身抗体结合 TSH 受体但是不刺激甲状腺激素的产生,这些抗体被称为具有封闭作用 (J Sanders, Y Oda, S-A Roberts, M Maruyama, J Furmaniak, B Rees Smith " Understanding the thyrotrophin receptor function-structure relationship." *Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism*. Ed. T F Davies 1997 11(3) :451-479. Pub. Baillière Tindall, London)。

[0005] 在诊断和治疗 AITD、尤其是甲状腺机能亢进疾病中,测定 TSH 受体的自身抗体非常重要。目前有三种分析方法用于测定 TSH 受体的自身抗体:

[0006] (a) 竞争结合分析,它测定 TSH 受体的自身抗体对 TSH 与 TSH 受体制备物结合的抑制能力;

[0007] (b) 生物分析,它测定 TSH 受体自身抗体刺激培养物中细胞表达 TSH 受体的能力;

[0008] (c) 用 TSH 受体自身抗体对 TSH 受体制备物的免疫沉淀。

[0009] 用这些分析方法对 TSH 受体自身抗体的测定在下列文献中有记载: J Sanders, Y Oda, S-A Roberts, M Maruyama, J Furmaniak, B Rees Smith " Understanding the thyrotrophin receptor function-structure relationship." *Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism*. Ed. T F Davies 1997 11(3) :451-479. Pub. Bailliere Tindall, London, and J Sanders, Y Oda, S Roberts, A Kiddie, T Richards, J Bolton, V McGrath, S Walters, D Jaskólski, J Furmaniak, B Rees Smith " The interaction of TSH receptor autoantibodies with ¹²⁵I-labelled TSH receptor." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999 84(10) :3797-3802.

[0010] 但是,上述目前这些用于测定 TSH 受体自身抗体的分析方法中存在一些缺陷。竞争分析 (a) 可用于不同的类型,并且非常敏感,而且在常规使用中相对容易操作。但是,现在已知的用于检测 TSH 受体自身抗体的竞争性放射受体分析方法具有一些使用上的根本

性的弱点:这是因为对于受体的变化或与之结合的生物分子的变化, TSH 受体制备物的结合能力通常会发生敏感的反应。肽或蛋白这些生物分子,例如激素或自身抗体,与受体的结合在性质上是非常复杂的,并且受体和生物分子间的特异性结合对于受体的结构变化尤其敏感,这种敏感性远远超过涉及受体的大部分免疫检测中作为基础的抗原/抗体结合对的情况。为了固定和/或标记 TSH 受体,通常会导致结构改变,从而大大影响了受体的功能。

[0011] 就生物分析 (b) 而言,它由于昂贵、费时长、对操作人员的技术要求高,因而不适合常规使用。

[0012] 而免疫沉淀分析 (c),目前可用的这类免疫沉淀分析方法在实际中不具备检测 TSH 受体自身抗体所需的敏感度。

[0013] 本发明减少了现有技术检测 TSH 受体自身抗体时存在的问题。尤其是,本发明提供了筛选 TSH 受体自身抗体的诊断方法和试剂盒,它比现有的诊断方法和试剂盒具有更高的敏感度,并且,如果需要的话,允许在上述的竞争分析方法中使用一种或多种 TSH 受体的竞争性结合对应物或竞争因子。尤其是,本发明在筛选 TSH 受体自身抗体的诊断方法和试剂盒中使用一种或多种 TSH 受体特定的表位区域。

[0014] 因此,本发明提供了一段多肽序列,用于诊断或治疗与 TSH 受体的免疫反应相关的自身免疫疾病,该多肽序列含有一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构(它是氨基酸残基的连续序列),针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0015] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个,或者一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0016] (所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构,或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构,或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物);

[0017] 其中,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),从而实现诊断和治疗的目的。

[0018] 更优选地,本发明提供了一段多肽序列,用于诊断或治疗与 TSH 受体的免疫反应相关的自身免疫疾病,该多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构组成,或主要由该一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0019] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个,上述序列中的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0020] (所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组

成：TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构，或 TSH 受体 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；和 / 或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构，或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物）；

[0021] 其中，针对 TSH 受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下），从而实现诊断和治疗的目的。

[0022] 此外，本发明提供了一段多肽序列，用于诊断或治疗与 TSH 受体的免疫反应相关的自身免疫疾病，该多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构组成，或主要由该一级结构组成，针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下），所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0023] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个，上述序列中的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0024] （所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构，或 TSH 受体 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；和 / 或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构，或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物）；

[0025] 其中，针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下），从而实现诊断和治疗的目的。

[0026] 本发明进一步提供了一段多肽序列，用于诊断或治疗与 TSH 受体的免疫反应相关的自身免疫疾病，该多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构组成，或主要由该一级结构组成，针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下），所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0027] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个，上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0028] 如图 1, 3, 5 和 7 中描述的任一段氨基酸序列，（所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：如图 5 所描述的任一氨基酸序列中 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构，或如图 5 所描述的任一氨基酸序列的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；和 / 或如图 3 所描述的任一氨基酸序列的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构，或如图 3 所描述的任一氨基酸序列的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物）；

[0029] 其中，针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下），从而实现所述的诊

断和治疗的目的是。

[0030] 更特殊的是,本发明进一步提供了一段多肽序列,用于诊断或治疗与 TSH 受体的免疫反应相关的自身免疫疾病,该多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0031] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个,或者上述序列中的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0032] 如图 1,3,5 和 7 任一图中描述的任一段氨基酸序列,(所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:如图 5 所描述的任一氨基酸序列的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构,或如图 5 所描述的任一氨基酸序列的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或如图 3 所描述的任一氨基酸序列的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构,或如图 3 所描述的任一氨基酸序列的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物);

[0033] 其中,针对 TSH 受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),从而实现诊断和治疗的目的是。

[0034] 本发明进一步提供了一段多肽序列,用于诊断或治疗与 TSH 受体的免疫反应相关的自身免疫疾病,该多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该一级结构组成,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0035] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个,或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0036] 如图 1,3,5 和 7 任一图中描述的任一段氨基酸序列,(所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:如图 5 所描述的任一氨基酸序列的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构,或如图 5 所描述的任一氨基酸序列的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或如图 3 所描述的任一氨基酸序列的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构,或如图 3 所描述的任一氨基酸序列的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物);

[0037] 其中,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),从而实现诊断和治疗的目的是。

[0038] 更加优选,在诊断或治疗中优选使用下述的一段多肽序列,或包含一个或多个下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由这些一级结构组成的序列:

[0039] TSH 受体的 32-41 位氨基酸、TSH 受体的 36-42 位氨基酸、TSH 受体的 247-260 位氨基酸、TSH 受体的 277-296 位氨基酸、和 TSH 受体的 381-385 位氨基酸中的一个或多个，或上述序列中的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0040] (所述的多肽序列尤其包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构，或 TSH 受体 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；和 / 或 TSH 受体的 247-260 位氨基酸的一级结构，或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物)；

[0041] 尤其是，根据本发明优选诊断或治疗用的多肽序列使用 TSH 受体的第 277-296 位氨基酸，或它的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物。

[0042] 尤其是，根据本发明优选诊断或治疗用的多肽序列使用 TSH 受体的第 246-260 位氨基酸，或它的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物。

[0043] 尤其是，根据本发明优选诊断或治疗用的多肽序列使用 TSH 受体的第 247-260 位氨基酸，或它的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物。

[0044] 本发明特别优选的诊断或治疗应用包含与 TSH 受体的免疫反应相关的自身免疫疾病的诊断和治疗：

[0045] (i) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下），所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0046] TSH 受体的 277-296 位氨基酸，或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；和

[0047] (ii) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下），所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0048] TSH 受体的 246-260 位氨基酸，或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0049] 其中，针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下），从而实现诊断和治疗的目的。

[0050] 尤其是，这些诊断或治疗用途中可包含：

[0051] (i) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构组成，或

主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0052] TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;和

[0053] (ii) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0054] TSH 受体的 246-260 位氨基酸,或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0055] 其中,针对 TSH 受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),从而实现诊断和治疗的目的。

[0056] 此外,这些诊断或治疗用途还包含:

[0057] (i) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0058] TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;和

[0059] (ii) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0060] TSH 受体的 246-260 位氨基酸,或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0061] 其中,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),从而实现诊断和治疗的目的。

[0062] 本发明特别优选的诊断或治疗应用包含与 TSH 受体的免疫反应相关的自身免疫疾病的诊断和治疗:

[0063] (i) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0064] 如图 5 所示的任一个氨基酸序列的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或如图 5 所示的任一个氨基酸序列的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;和

[0065] (ii) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构组成,或

主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用 (在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0066] 如图 3 所示的任一个氨基酸序列的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸,或如图 3 所示的任一个氨基酸序列的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0067] 其中,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用 (在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),从而实现诊断和治疗的目的。

[0068] 尤其是,这些诊断或治疗用途包含:

[0069] (i) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用 (在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0070] 如图 5 所示的任一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或如图 5 所示的任一个氨基酸序列的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;和

[0071] (ii) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用 (在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0072] 如图 3 所示的任一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸,或如图 3 所示的任一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0073] 其中,针对 TSH 受体的自身抗体能与这些多肽序列发生相互作用 (在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),从而实现诊断和治疗的目的。

[0074] 此外,这些诊断或治疗用途可包含:

[0075] (i) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用 (在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0076] 如图 5 所示的任一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或如图 5 所示的任一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;和

[0077] (ii) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构组成,或主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用 (在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0078] 如图 3 所示的任一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸,或如图 3 所示的任一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0079] 其中,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些多肽序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),从而实现诊断和治疗的目的。

[0080] 本发明进一步优选上述的诊断或治疗用途,其利用:

[0081] (i) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构组成,或主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0082] TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;和

[0083] (ii) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构组成,或主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0084] TSH 受体的 246-260 位氨基酸,或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0085] 进一步利用:

[0086] (iii) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构组成,或主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0087] TSH 受体的 381-385 位氨基酸,或 TSH 受体的 381-385 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0088] 尤其是,这些优选的诊断或治疗用途用到:

[0089] (i) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构组成,或主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成,或者主要是由下列一级结构组成:

[0090] 如图 5 所示的任一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或如图 5 所示的任一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;和

[0091] (ii) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构组成,或主要由该部分或全部一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表

位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下），所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0092] 如图 3 所示的任一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸，或如图 3 所示的任一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；和

[0093] (iii) 多肽序列含有或由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构组成，或主要由该部分或全部一级结构组成，针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下），所述的多肽序列包含下列一级结构、由这些一级结构组成，或者主要是由下列一级结构组成：

[0094] 如图 7 所示的任一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 381-385 位氨基酸，或如图 7 所示的任一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 381-385 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0095] 技术人员结合相应的图能更好理解，上述的氨基酸序列可以是人的、猪的、牛的、犬科动物的、猫科动物的、小鼠的、大鼠的或来源于绵羊的，上述每一物种中的特定的氨基酸序列在后面结合图 1, 3, 5 和 7 将会详细描述。

[0096] 本发明还提供了一个或多个 TSH 受体表位，针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下），所述的一个或多个 TSH 受体表位包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0097] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0098] （尤其是 TSH 受体的 277-296 位氨基酸，或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸，或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物）；

[0099] 尤其是，本发明还提供了一个或多个 TSH 受体表位，针对 TSH 受体的自身抗体能与这些表位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下），所述的一个或多个 TSH 受体表位包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0100] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0101] （尤其是 TSH 受体的 277-296 位氨基酸，或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸，或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物）。

[0102] 此外，本发明还提供了一个或多个 TSH 受体表位，针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这

些表位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下），所述的一个或多个 TSH 受体表位包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0103] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0104] （尤其是 TSH 受体的 277-296 位氨基酸，或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸，或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物）。

[0105] 本发明进一步提供了一个或多个 TSH 受体表位，针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下），所述的一个或多个 TSH 受体表位包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0106] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0107] 如图 1, 3, 5 和 7 任一图所示的任一氨基酸序列（尤其是如图 5 所示的任一氨基酸中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸，或如图 5 所示的任一氨基酸中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；或如图 3 所示的任一氨基酸中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸，或如图 3 所示的任一氨基酸中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物）。

[0108] 尤其是，本发明进一步提供了一个或多个 TSH 受体表位，针对 TSH 受体的自身抗体能与这些表位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下），所述的一个或多个 TSH 受体表位包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0109] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0110] 如图 1, 3, 5 和 7 所示的任一氨基酸序列（尤其是如图 5 所示的任一氨基酸的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸，或如图 5 所示的任一氨基酸的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；或如图 3 所示的任一氨基酸的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸，或如图 3 所示的任一氨基酸的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物）。

[0111] 本发明进一步提供了一个或多个 TSH 受体表位，针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些表位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下），所述的一个或多个 TSH 受体表位包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0112] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363

位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个,或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0113] 如图 1,3,5 和 7 所示的任一氨基酸序列(尤其是如图 5 所示的任一氨基酸中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或如图 5 所示的任一氨基酸中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;或如图 3 所示的任一氨基酸的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸,或如图 3 所示的任一氨基酸的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物)。

[0114] 更优选的是,优选一个或多个 TSH 受体表位包含 TSH 受体的 32-41 位氨基酸、TSH 受体的 36-42 位氨基酸、TSH 受体的 247-260 位氨基酸、TSH 受体的 277-296 位氨基酸、和 TSH 受体的 381-385 位氨基酸中的一个或多个,或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0115] (尤其是 TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;或 TSH 受体的 247-260 位氨基酸,或 TSH 受体的 247-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物)。

[0116] 根据本发明的一个尤其优选的 TSH 受体表位,它包含下述氨基酸序列、或由下述氨基酸序列组成、或者主要是由下述氨基酸序列组成:TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)。

[0117] 根据本发明的一个尤其优选的 TSH 受体表位,它包含下述氨基酸序列、或由下述氨基酸序列组成、或者主要是由下述氨基酸序列组成:TSH 受体的 246-260 位氨基酸,或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)。

[0118] 根据本发明的一个尤其优选的 TSH 受体表位,它包含下述氨基酸序列、或由下述氨基酸序列组成、或者主要是由下述氨基酸序列组成:TSH 受体的 247-260 位氨基酸,或 TSH 受体的 247-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)。

[0119] 本发明还提供了一种多肽,由于该多肽的存在,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),并且它包含或是由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构组成,或者主要是由该一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些结构序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0120] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个,或者上述序列的一个或多个突

变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0121] (尤其是 TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸,或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物),针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些氨基酸序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),不包括全长 TSH 受体。

[0122] 尤其是,本发明提供了一种多肽,针对 TSH 受体的自身抗体能与该多肽发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),并且它包含或是由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构(它是氨基酸残基的连续序列)组成,或者主要是由该一级结构组成,针对 TSH 受体的自身抗体能与该表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0123] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个,或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0124] (尤其是 TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸,或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物),针对 TSH 受体的自身抗体能与这些氨基酸序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),TSH 受体的全长序列除外。

[0125] 此外,本发明提供了一种多肽,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),并且它包含或是由一个或多个 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构(它是氨基酸残基的连续序列)组成,或者主要是由该一级结构组成,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0126] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个,或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0127] (尤其是 TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸,或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物),针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些氨基酸序列产生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),而 TSH 受体的全长序列除外。

[0128] 本发明进一步提供了一种多肽,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),

并且它包含或是由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构（它是氨基酸残基的连续序列）组成，或者主要是由该一级结构组成，针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与该表位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下），所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0129] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0130] 如图 1, 3, 5 和 7 任一图中所示的任意一段氨基酸序列（尤其是如图 5 中所示的任意一段氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸，或如图 5 中所示的任意一段氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；和 / 或如图 3 中所示的任意一段氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸，或如图 3 中所示的任意一段氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物）；针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些氨基酸序列产生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下），而 TSH 受体的全长序列除外。

[0131] 尤其是，本发明进一步提供了一种多肽，针对 TSH 受体的自身抗体能与该多肽发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下），并且它包含或是由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构（它是氨基酸残基的连续序列）组成，或者主要是由该一级结构组成，针对 TSH 受体的自身抗体能与该表位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下），所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0132] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个，或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物；

[0133] 如图 1, 3, 5 和 7 中所示的任意一段氨基酸序列（尤其是如图 5 中所示的任意一段氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸，或如图 5 中所示的任意一段氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物；和 / 或如图 3 中所示的任意一段氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸，或如图 3 中所示的任意一段氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段，或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物），针对 TSH 受体的自身抗体能与这些氨基酸序列产生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下），而 TSH 受体的全长序列除外。

[0134] 本发明进一步提供了一种多肽，针对 TSH 受体的淋巴细胞能与该多肽发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下），并且它包含或是由一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构（它是氨基酸残基的连续序列）组成，或者主要是由该一级结构组成，针对 TSH 受体的淋巴细胞能与该表位发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下），所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成，或者主要是由下列序列组成：

[0135] TSH 受体的 22-91 位氨基酸、TSH 受体的 246-260 位氨基酸、TSH 受体的 260-363 位氨基酸、和 TSH 受体的 380-418 位氨基酸中的一个或多个,或上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物;

[0136] 如图 1, 3, 5 和 7 任一图中所示的任意一段氨基酸序列(尤其是如图 5 中所示的任意一段氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或如图 5 中所示的任意一段氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物;和/或如图 3 中所示的任意一段氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸,或如图 3 中所示的任意一段氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或它的片段,或者是它的片段的突变体、类似物或衍生物),针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些氨基酸序列产生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),而 TSH 受体的全长序列除外。

[0137] 更优选的是,本发明优选的多肽包含一个或多个 TSH 受体表位的部分或全部一级结构,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),所述的多肽序列包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0138] TSH 受体的 32-41 位氨基酸、TSH 受体的 36-42 位氨基酸、TSH 受体的 247-260 位氨基酸、TSH 受体的 277-296 位氨基酸、和 TSH 受体的 381-385 位氨基酸中的一个或多个,或者上述序列的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下)。

[0139] 优选本发明的多肽包含下列序列、由下列序列组成,或者主要是由下列序列组成:TSH 受体的 277-296 位氨基酸,或其一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0140] 优选本发明的多肽包含下列序列、由下列序列组成,或者主要是由下列序列组成:TSH 受体的 246-260 位氨基酸,或其一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0141] 优选根据本发明的多肽包含下列序列、由下列序列组成,或者主要是由下列序列组成:TSH 受体的 247-260 位氨基酸,或其一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物。

[0142] 优选本发明所提供的多肽,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),并且所述的多肽包含 TSH 受体表位的部分或全部一级结构,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),该多肽包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0143] (i) TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构,或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下);以及

[0144] (ii) TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构,或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的

一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下);

[0145] TSH 受体的全长序列除外。

[0146] 更加优选的是本发明所提供的多肽,针对 TSH 受体的自身抗体能与该多肽发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),并且所述的多肽包含 TSH 受体表位的部分或全部一级结构,针对 TSH 受体的自身抗体能与该表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),该多肽包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0147] (i) TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构,或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下);以及

[0148] (ii) TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构,或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下);

[0149] TSH 受体的全长序列除外。

[0150] 此外,本发明提供了一种多肽,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),并且所述的多肽包含 TSH 受体表位的部分或全部一级结构,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),该多肽包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0151] (i) TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构,或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下);以及

[0152] (ii) TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构,或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下);

[0153] TSH 受体的全长序列除外。

[0154] 本发明进一步提供了一种多肽,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),并且所述的多肽包含 TSH 受体表位的部分或全部一级结构,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),该多肽包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0155] (i) 如图 5 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构,或如图 5 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突

变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下);以及

[0156] (ii) 如图 3 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构,或如图 3 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下);

[0157] TSH 受体的全长序列除外。

[0158] 更优选,本发明进一步提供了一种多肽,针对 TSH 受体的自身抗体能与该多肽发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),并且所述的多肽包含 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构,针对 TSH 受体的自身抗体能与该表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下),该多肽包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0159] (i) 如图 5 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构,或如图 5 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下);以及

[0160] (ii) 如图 3 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构,或如图 3 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体相互作用的合适条件下);

[0161] TSH 受体的全长序列除外。

[0162] 本发明进一步提供了一种多肽,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),并且所述的多肽包含 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下),该多肽包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0163] (i) 如图 5 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构,或如图 5 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适条件下);以及

[0164] (ii) 如图 3 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构,或如图 3 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些淋巴细胞相互作用的合适

条件下)；

[0165] TSH 受体的全长序列除外。

[0166] 本发明优选提供了一种多肽,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),并且所述的多肽包含 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),该多肽包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0167] (i) TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构,或 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下);以及

[0168] (ii) TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构,或 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下);

[0169] (iii) TSH 受体的 381-385 位氨基酸的一级结构,或 TSH 受体的 381-385 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下);

[0170] TSH 受体的全长序列除外。

[0171] 更优选的是,本发明进一步提供了一种多肽,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与该多肽发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),并且所述的多肽包含 TSH 受体表位的一部分或全部一级结构,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与该表位发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),该多肽包含下列序列、由这些序列组成,或者主要是由下列序列组成:

[0172] (i) 如图 5 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一级结构,或如图 5 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 277-296 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下);以及

[0173] (ii) 如图 3 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一级结构,或如图 3 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 246-260 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用(在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下);

[0174] (iii) 如图 7 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 381-385 位氨基酸的一级结构,或如图 7 中的任意一个氨基酸序列中的 TSH 受体的 381-385 位氨基酸的一个或多个突变体、类似物、衍生物或其中的片段,或这些片段的突变体、类似物或衍生物,针对 TSH 受

体的自身抗体和 / 或淋巴细胞能与这些序列发生相互作用（在允许 TSH 受体和这些自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下）；

[0175] TSH 受体的全长序列除外。

[0176] 技术人员结合相应的图能更好理解，上述的氨基酸序列可以是人的、猪的、牛的、犬科动物的、猫科动物的、小鼠的、大鼠的或来源于绵羊的，上述每一物种中的特定的氨基酸序列在后面结合图 1, 3, 5 和 7 将会详细描述。合适地，根据本发明第二种技术方案的多肽，它包含对应于 TSH 受体一个以上表位的部分或全部一级结构氨基酸序列，对应于相应表位的部分或全部一级结构的氨基酸序列可被氨基酸连接序列分离，以便所提供的特定氨基酸序列在构形、排列或序列上都能与 TSH 受体的活性位点的氨基酸序列相似或实质上类似，和 / 或能有效提供上述 TSH 受体的特定氨基酸序列，使其在构形、排列或序列上都最适合与此处所述的自身抗体和 / 或淋巴细胞产生相互作用。

[0177] 本发明优选的多肽序列和多肽包含分别由图 1, 3, 5 或 7 所示的特定的 TSH 受体氨基酸序列，或由该序列组成，或是主要由该序列组成。如上述所述，本发明还包括在此所述的特定氨基酸序列的“突变体”、“类似物”、“衍生物”和“片段”，当用来指示本发明的多肽序列和多肽时（例如，附图所示的具有特定氨基酸一级结构的多肽），所用的术语“突变体”、“类似物”、“衍生物”和“片段”是指和附图所示的具有特定氨基酸一级结构的多肽序列和多肽具有实质上相同的生物学功能或活性（根据在此表述的自身抗体和 / 或淋巴细胞相互作用）的多肽序列和多肽。合适地，在此所述的突变体、类似物、衍生物和片段，或这些片段的突变体、类似物或衍生物可具有如图所示的氨基酸一级结构，其中几个或少数一些（例如 5 到 10, 1 到 5 或 1 到 3）氨基酸残基以任何组合被取代、缺失或添加。尤其优选的是沉默的取代、缺失和添加，它们没有改变或没有实质上改变本发明上述多肽的生物活性或功能。保守取代也是优选的，这在后面会详细介绍。

[0178] 更优选的是，结合附图，在此描述的具有特定氨基酸一级结构的多肽突变体、类似物或衍生物可以是：

[0179] (i) 其中一个或多个氨基酸残基被一个保守的或非保守的氨基酸残基取代（优选一个保守的氨基酸残基）；或

[0180] (ii) 其中一个或多个氨基酸残基含有一个取代基；或

[0181] (iii) 进一步含有额外的氨基酸，以便所有提供的本发明多肽中特定氨基酸序列在构形、排列或序列上都能与 TSH 受体的活性位点的氨基酸序列相似或实质上类似，和 / 或有效提供的本发明多肽中上述 TSH 受体的特定氨基酸序列，使其在构形、排列或序列上都最适合与此处所述的自身抗体和 / 或淋巴细胞产生相互作用。

[0182] 这些突变体、类似物或衍生物是在本领域的技术人员的认识范围内的。

[0183] 一般来说，突变体、类似物或衍生物可以通过保守氨基酸取代而与参考序列（例如，附图所示的具有特定氨基酸一级结构的多肽）不同的多肽。这些取代可以利用类似性质的另一氨基酸取代多肽中的一个给定的氨基酸。常见的保守取代是在脂肪族氨基酸 A、V、L 和 I 上相互进行的取代；在羟基残基 S 和 T 上的相互取代；在酸性残基 D 和 E 上的相互取代；在酰胺残基 N 和 Q 上的相互取代；在碱性残基 K 和 R 上的相互取代；在芳香残基 F 和 Y 上的相互取代。

[0184] 优选本发明提供的突变体、类似物或衍生物进一步包含额外的氨基酸，以便所有

效提供的本发明多肽中特定氨基酸序列在构形、排列或序列上都能与 TSH 受体的活性位点的氨基酸序列相似或实质上类似,和 / 或有效提供的本发明多肽中上述 TSH 受体的特定氨基酸序列,使其在构形、排列或序列上都最适合与此处所述的自身抗体和 / 或淋巴细胞产生相互作用。

[0185] 更加优选,所用的术语“片段”代表的多肽具有的氨基酸序列与具有图示的特定氨基酸一级结构的多肽及其突变体或衍生物的氨基酸一级结构的部分序列(而非全部)完全相同,这些片段可以是“自由形式的(free standing)”,也就是,不是其它氨基酸或多肽的部分或与其它氨基酸或多肽融合,或是其它更大的多肽的部分或一个区域。本领域的技术人员能够理解到,本发明的片段含有或包含在此所述的 TSH 受体的一个或多个表位的氨基酸一级结构,以便能和自身抗体和 / 或淋巴细胞相互作用。

[0186] 因此,本发明的包括含有图示的特定氨基酸的一级结构多肽,并且多肽(即上述的突变体、类似物和衍生物)至少具有与图示的特定氨基酸的一级结构多肽 70% 的相似性,优选至少 80% 相似性,更加优选具有至少 90% 的相似性,更优选与图示的特定氨基酸的一级结构多肽具有至少 95% 的相似性,并且本发明的多肽还包含上述多肽序列的片段。

[0187] 本发明的多肽还可通过表达后面将要提到的本发明的多聚核苷酸来获得。此外,本发明的多肽还可通过本领域公知的技术,由多肽合成仪来合成。本发明通过这些方式获得的多肽不会与其它真核多肽或污染物结合,而在天然环境中这些真核多肽或污染物则可能与所述多肽结合。

[0188] 在此所述的本发明的多肽可以用各种制备重组蛋白的系统表达。例如,在 Ecoli 表达系统中,编码本发明合适多肽的 cDNA 译码可被克隆到载体中,如 pET22、pMEX8、pGEX2T 或 pQE81L His 或其对应物。在酵母中表达时(例如, *Saccharomyces cerevisiae* 或 *Schizosaccharomyces pombe*),可以使用的载体例如, pYES2、pESP2 或 pYES2/CT 或其对应物。AcMNPV(Bac-N-Blue) 载体或其对应物可被用在昆虫细胞中的表达, pRC/CMV、pcDNA3.1 载体或它们的对应物可被用在哺乳细胞中的表达,例如中国苍鼠卵巢细胞(CHO)。本发明的多肽可以不连续的蛋白方式被表达,或以融合蛋白的方式连接到例如谷胱甘肽 S 转移酶(GST) 或多组氨酸连接处。在不连续的蛋白表达方式中,使用亲和柱层析纯化,其中色谱柱上的琼脂糖颗粒偶联了针对本发明多肽相应部分的鼠单克隆抗体。如果本发明的多肽与 GST 融合,则可使用谷胱甘肽琼脂糖层析纯化来分离融合蛋白。能够使用特定的蛋白酶将 GST 与本发明的多肽分开,接着使用第二轮谷胱甘肽琼脂糖层析来将 GST 和本发明的多肽分离。在多肽与多组氨酸连接的情况下,可使用固定金属亲和层析来纯化。

[0189] 本发明进一步提供了制备前述多肽的方法,其包括下述步骤:

[0190] (i) 提供一种前述的宿主细胞;

[0191] (ii) 培养宿主细胞;并且

[0192] (iii) 从中回收本发明的多肽。

[0193] 可使用常规的分选和纯化技术来回收本发明的多肽,例如本领域普通技术人员公知的层析分离和免疫分离技术。

[0194] 本发明进一步的技术方案所提供的多聚核苷酸包括:

[0195] (i) 编码前述多肽的核苷酸序列;

[0196] (ii) 编码前述多肽的核苷酸序列,其中该多肽包含一段或多段如图 1,3,5 和 7 任

意一个所示的 TSH 受体的特定氨基酸序列；

[0197] (iii) 编码 (ii) 中多肽的核苷酸序列, 其中核苷酸序列包含编码上述图 1, 3, 5 和 7 任意一个所示的 TSH 受体特定氨基酸的核苷酸碱基, 该核苷酸碱基分别由图 2, 4, 6 和 8 定义；

[0198] (iv) 核苷酸序列, 由于遗传密码的简并性而在密码子序列上不同于序列 (iii)；

[0199] (v) 核苷酸序列, 它含有序列 (iii) 的等位突变；

[0200] (vi) 核苷酸序列, 它含有 (i), (ii), (iii), (iv) 或 (v) 序列中任意一个的片段；或

[0201] (vii) 核苷酸序列, 它在严格条件下能和 (i), (ii), (iii), (iv), (v) 或 (vi) 中任意一个序列杂交。

[0202] 本发明多肽的核苷酸碱基, 它编码上述本发明多肽的表位区域, 概述如下：

[0203]

氨基酸序列数	核苷酸序列数
22-91	64-273
32-41	94-123
36-42	106-126
246-260	736-780
247-260	739-780
260-363	778-1089
277-296	829-888
380-418	1138-1254
381-385	1141-1155

[0204] 本发明的多聚核苷酸可以是 DNA 形式, 包括例如 cDNA、合成的 DNA 和基因组 DNA, 它们可以是克隆获得的、或化学合成的, 或两种技术的组合获得的。本发明的优选的实施方式包括 cDNA 或合成的 DNA。

[0205] 编码本发明多肽的编码序列可以和上述 (iii) 中的以及图 2、4、6 和 8 中任意一个的多聚核苷酸编码序列相同。它也可以是具有不同序列的多聚核苷酸, 由于遗传密码的冗余 (简并) 而编码本发明的多肽。

[0206] 本发明进一步涉及上述多聚核苷酸的突变体, 它编码具有图示的特定氨基酸一级结构的多肽, 或该多肽的突变体、类似物、衍生物或片段, 或片段的突变体、类似物或衍生物, 如前文所详细表述的。多聚核苷酸的突变体可以是自然突变体, 例如自然产生的等位突变体, 或可预知的天然突变体。那些非天然产生的多聚核苷酸突变体可以由突变技术制备的。

[0207] 突变体可以通过核苷酸取代、缺失或添加而与前述多聚核苷酸不同的突变体。取代、缺失或添加可以涉及一个或多个核苷酸。如前所述, 编码区域的改变可以产生保守的或非保守的氨基酸取代、缺失或添加。

[0208] 适宜地, 本发明的突变多聚核苷酸与编码图示的特定氨基酸一级结构多肽的多聚核苷酸以及与此多聚核苷酸互补或杂交的多聚核苷酸的全长序列具有至少 70% 的相似性。此外, 更加优选的多聚核苷酸是与编码图示的特定氨基酸一级结构多肽的多聚核苷酸以及与此多聚核苷酸互补或杂交的多聚核苷酸的全长序列具有至少 80% 相似性。尤其优选的核苷酸与上述序列具有至少 90% 相似性, 更优选具有至少 95% 相似性。在具有至少 95% 相似性的多聚核苷酸中, 优选具有至少 97% 相似性的多聚核苷酸, 更优选具有至少 98% 和至少

99%相似性,最有选的是具有至少 99%相似性的多聚核苷酸。

[0209] 事实上,如前所述,本发明进一步涉及与前述序列杂交的多聚核苷酸。在这一点,本发明尤其涉及在严格条件下与前述多聚核苷酸杂交的多聚核苷酸。在此所用的术语“严格条件”意思是只有在序列之间存在至少 95%和优选至少 97%的互补情况下才会发生杂交。

[0210] 本发明还涉及载体,它包含本发明的一种或多种多聚核苷酸,还涉及含有本发明载体的基因工程宿主细胞,以及用重组技术生产本发明的多肽。

[0211] 因此,本发明进一步提供了具有生物功能的载体系统,它含有前述的多聚核苷酸,并且能够将多聚核苷酸导入宿主微生物的基因组中。

[0212] 通过遗传工程的方式可以使多聚核苷酸被整合到宿主细胞中,并表达本发明的多肽,并且本发明进一步提供了一种宿主细胞,该宿主细胞被分别由本发明前述的多聚核苷酸、或载体系统转化或转染。合适的 DNA 序列可以通过本发明任一种公知的技术被插入到载体中。

[0213] 根据本发明一个尤其优选的实施方式,本发明还提供了一种方法,用来从受试者(尤其是人)的体液样品中筛选针对 TSH 受体的自身抗体或淋巴细胞,该受试者怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者,所述方法包含:

[0214] (a) 提供:(i) 从所述受试者中获得的所述体液样品或(ii) 从所述样品中分离到的淋巴细胞;

[0215] (b) 将所述的样品或分离到的淋巴细胞与前述的本发明的多肽接触(在允许 TSH 受体和这些针对 TSH 受体的自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下),以便允许所述的多肽能够和针对 TSH 受体的自身抗体或淋巴细胞相互作用,该抗体或淋巴细胞存在于所述的样品中或从所述的样品中分离到;以及

[0216] (c) 监测所述的多肽与所述的针对 TSH 受体的自身抗体或淋巴细胞相互作用的程度和效果,其中该抗体或淋巴细胞存在于所述的样品中或从所述的样品中分离到,因而提供了所述自身抗体或所述淋巴细胞存在于样品中或从样品中分离的指示。

[0217] 实际上,如上所述,本发明的方法适合用来从受试者的体液样品中筛选针对 TSH 受体的自身抗体或淋巴细胞。本发明的方法,尤其适合用来从受试者的体液样品中筛选针对 TSH 受体的自身抗体,这在后面会有详细叙述。

[0218] 本发明尤其提供了一种方法,用来从受试者(尤其是人)的体液样品中筛选针对 TSH 受体的自身抗体,该受试者怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者,所述方法包含:

[0219] (a) 从所述受试者中提供所述的体液样品;

[0220] (b) 将所述的样品与前述的本发明的多肽接触(在允许 TSH 受体和这些针对 TSH 受体的自身抗体相互作用的合适条件下),以便允许所述的多肽能够和针对 TSH 受体、并存在于所述的样品中的自身抗体相互作用;以及

[0221] (c) 监测所述的多肽与所述的针对 TSH 受体、并存在于所述的样品中的自身抗体相互作用的程度,因而提供了所述自身抗体存在于样品中的指示。

[0222] 典型地,本发明的方法还用到对照,例如,从正常受试者中获得的体液样品,换句

话说,受试者没有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病。

[0223] 筛选本发明 TSH 受体的自身抗体的方法包括:直接监测 (i) 受试者体液样品中针对 TSH 受体的自身抗体与 (ii) 多肽的相互作用,如本发明前面所述,使用本领域已知的典型的非竞争性的三明治型检测方法。

[0224] 典型地,本发明使用非竞争性技术的方法监测前述的 (i) 样品中 TSH 受体的自身抗体与 (ii) 本发明多肽相互作用的程度,该方法包括给本发明前述的多肽或者 TSH 受体自身抗体的结合对应物提供标记的方法,任一种技术都能够达到监测前述相互作用的目的。例如,本发明的方法可包括直接地或间接地标记本发明前述的多肽;将该标记的多肽与准备筛选 TSH 受体自身抗体的体液样品接触,从而提供它们的混合物;往混合物中加入存在于体液样品中的 TSH 受体自身抗体的结合对应物(如,抗 IgG 试剂),从而导致了混合物中标记的多肽和 TSH 受体自身抗体的任一复合物的沉淀。此外,优选本发明的方法进一步包含往混合物中加入 TSH 受体自身抗体的标记过的结合对应物(例如,标记的抗 IgG 试剂,如蛋白 A 或抗人 IgG,或标记的 TSH 受体的全长序列或它的表位),其中混合物是通过接触 (i) 固定到支持物上的本发明前述的多肽和 (ii) 准备用来筛选 TSH 受体自身抗体的体液样品而得到的。

[0225] 此外,还优选使用已知的竞争性检测方法,从本发明的体液样品中筛选 TSH 受体的自身抗体。例如,本发明的方法可使用至少一个竞争物,该竞争物能与 TSH 受体的自身抗体竞争结合本发明前述的多肽。

[0226] 典型地,本发明的竞争性检测方法中使用的竞争物可包含一个或多个抗体,该抗体可以是天然的,或部分或全部合成得到的。本发明使用的竞争物可选择性的含有任何其它具有结合结构域或区域的蛋白(例如 TSH),该含有结合结构域或区域的蛋白能够与 TSH 受体的自身抗体竞争结合本发明前述的多肽。优选地,本发明使用的竞争物包含单克隆抗体,重组抗体和多克隆抗体(尤其是单克隆抗体),它们能与 TSH 受体的自身抗体竞争结合本发明前述的多肽。

[0227] 因此典型地,本发明的竞争性检测方法可进一步包含提供至少一个竞争物,例如单克隆或多克隆抗体,从而在所述方法的步骤 (b) 中本发明前述的多肽能够与竞争物,如单克隆或多克隆抗体,或者所述样品中的 TSH 受体的自身抗体相互作用。

[0228] 典型地,根据本发明在竞争性检测方法中监测包括比较:

[0229] (i) 在不存在待筛选的体液样品(也就是疑似疾病样品),但正常受试者的体液样品、也就是没有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病的受试者的体液样品任意存在的条件下,本发明前述的多肽与一个或多个前述的竞争物(尤其是单克隆或多克隆抗体)的相互作用;与

[0230] (ii) 在存在待筛选的体液样品(也就是疑似疾病样品)的条件下,本发明前述的多肽与一个或多个前述的竞争物(尤其是单克隆或多克隆抗体)的相互作用。

[0231] 典型地,这种比较涉及观察与 (i) 相比 (ii) 中的竞争物与本发明前述多肽之间相互作用的减小,以便能为所述样品中存在 TSH 受体的自身抗体提供指征。一般地,可以通过直接或间接地标记竞争物,在含有和不含有准备筛选 TSH 受体自身抗体的体液样品的条件下,监测上述标记的竞争物与本发明多肽的相互作用间的任何变化,从而观察到相互作用的减小。合适地,本发明前述的多肽可被固定住以便进行上述的监测。

[0232] 本发明尤其提供了一种从受试者（尤其是人）的体液样品中筛选针对 TSH 受体的自身抗体的方法，该受试者怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者，所述方法包含：

[0233] (a) 从所述受试者中提供所述的体液样品；

[0234] (b) 将所述的样品与

[0235] (i) TSH 受体的全长序列（尤其是重组获得的 TSH 受体的全长序列）接触，和

[0236] (ii) 至少一个竞争物接触，其中该竞争物能与本发明的 TSH 受体自身抗体竞争结合本发明前述的多肽，

[0237] （在允许 TSH 受体和这些针对 TSH 受体的自身抗体相互作用的合适条件下），以便允许所述的 TSH 受体的全长序列与所述样品中 TSH 受体的自身抗体或所述的竞争物相互作用；并且

[0238] (c) 监测所述的 TSH 受体的全长序列与所述样品中的自身抗体相互作用，因而提供了所述的 TSH 受体自身抗体存在于样品中的指示。

[0239] TSH 受体的全长序列可以是人的、猪的、牛的、犬科动物的、猫科动物的、小鼠的、大鼠的或来源于绵羊的，更优选是重组获得的 TSH 受体的全长序列。在该检测中使用的竞争物通常包括前述的单克隆或多克隆抗体（优选单克隆）。

[0240] 在本发明的方法中使用的合适的可探测到的标记物选自酶标记物、同位素标记物、化学发光标记物、荧光标记物，染料等。

[0241] 在使用同位素标记（例如 ^{125}I ， ^{14}C ， ^3H 或 ^{35}S ）的情况下，监测包括测定放射性，该放射性依赖于本发明前述多肽的结合。一般用 gamma 计数器或液态闪烁计数器来测定放射性。

[0242] 在根据本发明筛选淋巴细胞的方法下，一般优选首先使用本领域公知的技术从受试者体液样品中分离到淋巴细胞，接着与本发明的多肽接触来刺激分离的淋巴细胞的增殖。监测本发明的多肽与上述增殖的淋巴细胞相互接触的效果，一般使用本领域公知的技术来监测淋巴细胞的增殖。

[0243] 根据本发明进一步优选的实施方式，提供了一种试剂盒用来筛选受试者（尤其是人）体液样品中针对 TSH 受体的自身抗体或淋巴细胞，该受试者怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者，所述的试剂盒包括：

[0244] (a) 本发明前述的多肽；

[0245] (b) 用于将 (i) 从所述受试者中获得的所述体液样品，或 (ii) 从所述受试者体液样品中分离到的淋巴细胞，与本发明前述的多肽接触（在允许 TSH 受体和这些针对 TSH 受体的自身抗体或淋巴细胞相互作用的合适条件下）的装置，以便允许所述的多肽能够与针对 TSH 受体的自身抗体或淋巴细胞相互作用，该抗体或淋巴细胞存在于所述的样品中或从所述的样品中分离到；以及

[0246] (c) 用于监测所述的多肽与所述的针对 TSH 受体的自身抗体或淋巴细胞相互作用的程度和效果的装置，其中该抗体或淋巴细胞存在于所述的样品中或从所述的样品中分离到，从而为所述自身抗体或所述淋巴细胞存在于样品中或从样品中分离出提供指征。

[0247] 实际上，如上所述，本发明的试剂盒适合用来从受试者的体液样品中筛选针对 TSH

受体的自身抗体或淋巴细胞。本发明的试剂盒,尤其适合用来从受试者的体液样品中筛选针对 TSH 受体的自身抗体,在后面会有详细叙述。

[0248] 本发明尤其提供了一种试剂盒,用来从受试者(尤其是人)的体液样品中筛选针对 TSH 受体的自身抗体,该受试者怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者,所述试剂盒包含:

[0249] (a) 本发明前述的多肽;

[0250] (b) 用于将从所述受试者中获得的所述体液样品与前述的本发明的多肽接触(在允许 TSH 受体和这些针对 TSH 受体的自身抗体相互作用的合适条件下),以便允许所述的多肽能够与存在于所述样品中的针对 TSH 受体的自身抗体相互作用;以及

[0251] (c) 用于监测所述的多肽与所述的存在于所述样品中的针对 TSH 受体的自身抗体相互作用的程度,从而为所述自身抗体存在于样品中提供指征。

[0252] 典型地,本发明的试剂盒还包括对照,例如,从正常受试者、也就是没有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病的受试者中获得体液样品。

[0253] 筛选本发明 TSH 受体的自身抗体的试剂盒可以包括直接监测(i)受试者体液样品中的针对 TSH 受体的自身抗体与(ii)如本发明前述的多肽的相互作用的装置,典型地包括本领域已知的非竞争性三明治型检测方法。

[0254] 典型地,本发明的试剂盒包含非竞争性的检测方法,用来监测(i)前述样品中的 TSH 受体的自身抗体与(ii)本发明多肽的相互作用的程度,该方法包括给本发明前述的多肽或者 TSH 受体自身抗体的结合对应物提供标记物,任何一种技术都能够达到监测前述相互作用的目的。例如,本发明的试剂盒可包括直接地或间接地标记本发明前述的多肽;将该标记的多肽与准备筛选 TSH 受体自身抗体的体液样品接触,从而提供它们的混合物;存在于体液样品中的 TSH 受体自身抗体的结合对应物(如,抗 IgG 试剂);往混合物中加入该结合对应物,从而导致了混合物中标记的多肽和 TSH 受体自身抗体的任意一种复合物的沉淀。此外,优选本发明的试剂盒进一步包含往混合物中加入 TSH 受体自身抗体的标记过的结合对应物(例如,标记的抗 IgG 试剂,如蛋白 A 或抗人 IgG,或标记的 TSH 受体的全长序列或它的表位),其中混合物是通过接触(i)固定到支持物上的本发明前述的多肽和(ii)准备用来筛选 TSH 受体自身抗体的体液样品而得到的。

[0255] 此外,还优选使用包含已知的竞争性检测方法的试剂盒从本发明的体液样品中筛选 TSH 受体自身抗体。例如,本发明的试剂盒可使用至少一个竞争物,该竞争物能与 TSH 受体的自身抗体竞争结合本发明前述的多肽。

[0256] 典型地,本发明的竞争性检测试剂盒中使用的竞争物可包含一个或多个抗体,该抗体可以是天然的,或部分或全部合成得到的。本发明使用的竞争物可选择性的含有任何其它具有结合结构域或区域的蛋白(例如 TSH),该含有结合结构域或区域的蛋白能够与 TSH 受体的自身抗体竞争结合本发明前述的多肽。优选地,本发明使用的竞争物包含单克隆抗体或多克隆抗体(尤其是单克隆抗体),它们能与 TSH 受体的自身抗体竞争结合本发明前述的多肽。

[0257] 因此典型地,本发明的竞争性检测试剂盒可进一步包含提供至少一个竞争物,例如单克隆或多克隆抗体,从而本发明前述的多肽能够与竞争物,如单克隆或多克隆抗体,或者所述样品中的 TSH 受体的自身抗体相互作用。

[0258] 典型地,根据本发明监测竞争性检测的试剂盒包括比较:

[0259] (i) 在不存在待筛选的体液样品(也就是疑似疾病样品),并且但正常受试者的体液样品、也就是没有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病的受试者的体液样品任意存在的条件下,本发明前述的多肽与一个或多个前述的竞争物(尤其是单克隆或多克隆抗体)的相互作用;与

[0260] (ii) 在存在待筛选的体液样品的条件下,本发明前述的多肽与一个或多个前述的竞争物(尤其是单克隆或多克隆抗体)的相互作用。

[0261] 典型地,这种比较涉及观察与(i)相比(ii)中的竞争物与本发明前述多肽之间相互作用的减小,以便能为所述样品中存在 TSH 受体的自身抗体提供指征。一般地,可以通过直接或间接地标记竞争物,在含有和不含有准备筛选 TSH 受体自身抗体的体液样品的条件下,监测上述标记的竞争物与本发明多肽的相互作用间的任何变化,从而观察到相互作用的减小。合适地,本发明前述的多肽可被固定住以便进行上述的监测。

[0262] 本发明尤其提供了一种试剂盒,用来从受试者(尤其是人)的体液样品中筛选针对 TSH 受体的自身抗体,该受试者怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者,所述试剂盒包含:

[0263] (a) TSH 受体的全长序列(尤其是重组获得的 TSH 受体的全长序列);

[0264] (b) 至少一个竞争物,其中该竞争物能与本发明的 TSH 受体自身抗体竞争结合本发明前述的多肽,

[0265] (c) 用来接触来源于受试者的体液样品、所述的 TSH 受体全长序列和所述的竞争物(在允许 TSH 受体和这些针对 TSH 受体的自身抗体相互作用的合适条件下),以便允许所述的 TSH 受体全长序列与所述样品中 TSH 受体的自身抗体或所述的竞争物相互作用;并且

[0266] (d) 监测所述的 TSH 受体全长序列与所述样品中的自身抗体相互作用,因而为所述的 TSH 受体自身抗体存在于样品中提供指征。

[0267] TSH 受体的全长序列可以是人的、猪的、牛的、犬科动物的、猫科动物的、小鼠的、大鼠的或来源于绵羊的,更优选是重组获得的 TSH 受体全长序列。在该检测试剂盒中使用的竞争物通常包括前述的单克隆或多克隆抗体(优选单克隆)。

[0268] 在本发明的试剂盒中使用的合适的可探测到的标记物选自酶标记物、同位素标记物、化学发光标记物、荧光标记物,染料等。

[0269] 在使用同位素标记(例如¹²⁵I,¹⁴C,³H或³⁵S)的情况下,监测包括测定放射性,该放射性依赖于本发明前述多肽的结合。一般用 gamma 计数器或液态闪烁计数器来测定放射性。

[0270] 在利用本发明筛选淋巴细胞的试剂盒的情况下,一般优选首先使用本领域公知的技术从受试者体液样品中分离到淋巴细胞,接着与本发明的多肽接触来刺激分离的淋巴细胞的增殖。本发明的试剂盒还提供了监测本发明的多肽与上述增殖的淋巴细胞相互接触效果的手段(也为本领域所公知)。

[0271] 从前文的描述可知,本发明提供了检测方法和试剂盒,用来检测针对体液样品中 TSH 受体的自身抗体(尤其)或淋巴细胞。针对体液样品中 TSH 受体的自身抗体和/或淋巴细胞(或至少是样品中这类自身抗体和/或淋巴细胞的水平)是可检测出的,检测结果可表明在受试者中是否存在与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病,其中样品是从该受

试者中获得的,该检测可以用来诊断与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病的征兆或疾病的存在与否。

[0272] 因此,本发明进一步提供了一种方法,该方法用来诊断在受试者(尤其是人)中与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病的征兆或疾病的存在与否,其中该受试者怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者,所述方法包含检测受试者体液样品中针对 TSH 受体的自身抗体或淋巴细胞,因而,检测到的自身抗体和 / 或淋巴细胞可以用来诊断在受试者中与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病的征兆或疾病的存在与否。

[0273] 本发明进一步提供了一种方法,该方法用来在动物受试者(尤其是人)中推迟或预防与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病的发作,其中该受试者怀疑患有或容易患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者,所述方法包含首先检测受试者体液样品中针对 TSH 受体的自身抗体或淋巴细胞,因而,该自身抗体和 / 或淋巴细胞是受试者中与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病的发作或存在的指征,根据上述指征对受试者与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病的发作征兆进行诊断,以便推迟与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病的发作和 / 或预防该疾病。

[0274] 本发明前述的多肽尤其适合用于与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病的治疗。例如,通过给予怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者是该自身免疫疾病的康复者的受试者(尤其是人)本发明前述的多肽,会产生耐受性。

[0275] 因而,本发明进一步提供了一种药物组合物,其包括本发明前述的多肽,以及药学上可接受的载体,稀释剂或赋形剂,其中该多肽可以和针对 TSH 受体的自身抗体和 / 或淋巴细胞相互作用。

[0276] 本发明进一步提供了前述的多肽在制备治疗甲状腺机能亢进疾病的药物中的应用。

[0277] 本发明所述的组合物或药物应包含治疗有效量或预防有效量的至少一种本发明的多肽,以及药学上可接受的载体。药学载体可以是任何适合用于向病人给予多肽的可相容的、无毒的物质。无菌水、酒精、脂肪、蜡和惰性固体都可用作载体。药学上可接收的佐剂、缓冲试剂、分散剂等也可加到药物组合物中。这种组合物可包含本发明中的单个多肽或含有两个或更多的多肽。

[0278] 也可将本发明的多肽与免疫球蛋白,如 IgG 偶联,或与患者的淋巴细胞偶联,用来促进耐受性。这种方法记载在 Bradley-Mullen, Activation of Distinct Subsets of T Suppressor Cells with Type III Ptzemnococcal Polysaccharide Coupled to Syngeneic Spleen Cells, in: IMMUNOLOGICAL TOLERANCE TO SELF AND NON-SELF, Buttisto et al., eds., Annals N. Y. Acad. Sci. Vol. 392, pp156-166, 1982。此外,多肽可经过修饰以便保持或促进与 MHC 的结合,同时减少或消除与相关的 T 细胞受体的结合。在该方法下,经修饰过的多肽可与天然 TSH 受体竞争,用来抑制辅助 T 细胞活化,从而抑制免疫反应。在该情况下,需要注意,给予的本发明的药物组合物能改善但不会加强自身免疫反应。

[0279] 本发明的药物组合物能用于肠道外给药。优选,组合物可肠道外给药,即皮下、肌肉内或静脉内给药。因此,本发明包括以肠道外给药的方式给予患者的组合物,该组合物包含存在于如前所述的可接受载体中的多肽的溶液或分散体。药物组合物中的多肽浓度可在

很大范围内变动,即,从小于约 0.1%重量比,通常小于约 1%重量比,到 20%重量百分比或更大的范围内变动。典型的用于肌肉内注射的药物组合物含有,例如,1ml 的无菌缓冲水和 1 至 100 μ g 的本发明的纯化多肽。一种用于静脉灌输的典型的组合物包含 100 至 500ml 的无菌 Ringer's 溶液,以及 100 至 500mg 的本发明纯化的多肽。制备肠道外给药组合物的实际方法是本领域公知的,并且在多处都有详细记载,如 Remington's Pharmaceutical Science, 15th Edition, Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1980)。

[0280] 除了直接使用本发明的多肽用于药物组合物中,还可根据下述的原理将本发明的多肽用于增加受试者对 TSH 受体的耐受性,该受试者怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者。更特别的是,可使用常规方法收集受试者的外周血淋巴细胞,并如上所述与本发明的多肽相接触而刺激淋巴细胞。通常,可存在其它的有丝分裂素和生长强化子,例如植物血球凝集素、白细胞介素 2, 及其它。在本发明多肽的刺激下,增殖的 T 辅助细胞可被分离和克隆。然后持续增殖的克隆可用来制备应用于受试者的治疗组合物。克隆的 T 细胞可通过诸如暴露于辐射等方式被弱化,然后给予受试者用来诱导耐受。此外, T 细胞受体或它的一部分可通过常规的蛋白纯化方法从克隆的 T 细胞中分离到,然后给予受试者。这种免疫治疗方法可参考 Sinha et al. (1990) Science 248 :1380-1388。

[0281] 在某些情况下, T 辅助细胞被上述克隆后,也可从 T 细胞受体中开发治疗用肽,这种肽能有效治疗怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病的病人,或者刚从该自身免疫疾病中康复的病人。在这种情况下,可通过常规方法分离并克隆 T 细胞受体基因,并通过上述的重组技术生产基于该受体的肽。然后,可将重组方法获得的肽加入到上述的药物组合物中。

[0282] 本发明还提供了一种克隆针对 TSH 受体的淋巴细胞的方法,该方法包括:

[0283] 提供淋巴细胞源;

[0284] 将淋巴细胞与本发明前述的多肽接触,以便使所述的淋巴细胞增殖;并且

[0285] 分离和克隆增殖的淋巴细胞。

[0286] 本发明还提供了上述制备得到的克隆的淋巴细胞在治疗与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病中的应用。因此,提供了一种药物组合物,含有上述制备到的克隆的淋巴细胞、药学上可接受的载体、稀释剂和赋形剂,以及这种克隆的淋巴细胞在制备治疗与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病,尤其是甲状腺机能亢进疾病,的药物中的应用。

[0287] 本发明还提供了一个或多个治疗剂,该治疗剂通过接触含有前述的 TSH 受体的一个或多个表位的部分或全部一级结构的氨基酸序列而产生治疗效果,本发明进一步提供了一个或多个治疗剂,该治疗剂通过接触含有前述的 TSH 受体的一个或多个表位的部分或全部一级结构的氨基酸序列而产生治疗效果,并且用于治疗与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病。

[0288] 本发明还进一步提供了一种治疗与受试者 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫性疾病的方法,该方法包括首先按前述方法检测受试者的体液样品中针对 TSH 受体的自身抗体或淋巴细胞,从而对受试者的自身免疫性疾病进行诊断,然后给予受试者治疗有效剂量的至少一种能够有效治疗这种自身免疫性疾病的治疗剂,例如本发明前述的多肽。

[0289] 本发明还进一步提供了一种治疗与受试者(尤其是人类受试者) TSH 受体免疫反

应相关的自身免疫性疾病的治疗方法,该方法包括给予受试者治疗有效剂量的治疗剂,该治疗剂通过与包含前述 TSH 受体的一个或多个表位的氨基酸一级结构的部分或全部序列的氨基酸相互反应,从而起到治疗效果。

[0290] 所给予的治疗剂的量根据所治疗的特定的自身免疫性疾病的情况而确定,该情况可能为患者的年龄,最终要依靠治疗医生的判断。

[0291] 本发明还进一步提供了前述的试剂盒与治疗有效量的至少一种可有效治疗与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫性疾病的治疗剂的联合应用。

[0292] 如前所述,本发明筛选的体液样品一般包括血液样品或其它液态血液的部分,例如尤其是血清样品或血浆样品,但该样品通常可以是另外的生物液体,如唾液或尿液或可溶性组织提取物,或通过活组织穿刺法得到的液体。

[0293] 本发明还提供了 TSH 受体的结合对应物,例如 TSH 受体的抗体、或者 TSH 受体的抗体的片段,该结合对应物能够与前述的 TSH 受体的一个或多个表位相互反应,尤其是 TSH 受体的 277-296 位的氨基酸片段。合适地,本发明的抗体可以是单克隆抗体(优选)、重组抗体或多克隆抗体。本发明提供的典型的抗体,例如单克隆抗体,都是纯化的形式。

[0294] 更特异地,本发明提供的单克隆抗体可以包括任意的单克隆抗体 3C7, 2B4, 8E2, 18C5, 4D7, 16E5, 17D2, 3B3 以及 14D3, 或者上述抗体的活性片段,这些单克隆抗体或者片段在实施例中以及接下来的附图中进行了详细地描述。实施例中描述的诸如 2B4, 8E2, 18C5, 4D7, 16E5, 17D2, 3B3 以及 14D3 等抗体或者其活性片段优选具有对 TSH 受体的高亲和力,如最少约为 10^8mol^{-1} 。因此,本发明进一步提供了对 TSH 受体的一个或多个表位的亲和力至少约为 10^8mol^{-1} 的单克隆抗体,该表位由 TSH 受体的下述氨基酸序列之一提供:

[0295] TSH 受体的 22 至 91 位氨基酸;或者

[0296] TSH 受体的 246 至 260 位氨基酸;

[0297] 或者更特异地,包含 TSH 受体的下述氨基酸序列之一:

[0298] TSH 受体的 36 至 42 位氨基酸;或者

[0299] TSH 受体的 247 至 260 位氨基酸。

[0300] 本发明还提供了对 TSH 受体的一个或多个表位的亲和力至少约为 10^8mol^{-1} 的单克隆抗体,该表位由 TSH 受体的下述氨基酸序列之一提供:

[0301] TSH 受体的 32 至 41 位氨基酸;或者

[0302] TSH 受体的 277 至 296 位氨基酸。

[0303] 本发明特别优选的实施例提供了 TSH 受体的结合对应物,该结合对应物能够与 TSH 受体结合从而刺激 TSH 受体,该结合对应物不包括 TSH 或 TSH 受体的天然制备的自身抗体。

[0304] 优选的结合对应物包括抗体,尤其是单克隆或者重组抗体(优选单克隆),其能够与 TSH 受体结合,从而刺激 TSH 受体。本文公开的能够通过这种途径刺激 TSH 受体的单克隆抗体的实例包括 4D7, 16E5, 17D2 和 14D3。

[0305] 本发明的优选情况提供了 TSH 受体的结合对应物,该结合对应物能够与 TSH 受体结合,从而刺激 TSH 受体,其包含:

[0306] 抗体 V_H 结构域,其选自下述成分构成的组:

[0307] 图 10、14、18、22、42、46 或 50 所示的 V_H 结构域,包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结

构域,所述 V_H CDRs 具有与图 10 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列,包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结构域,所述 V_H CDRs 具有与图 14 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列,包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结构域,所述 V_H CDRs 具有与图 18 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列,包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结构域,所述 V_H CDRs 具有与图 22 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列,包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结构域,所述 V_H CDRs 具有与图 42 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列,包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结构域,所述 V_H CDRs 具有与图 46 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列,包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结构域,所述 V_H CDRs 具有与图 50 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列;和 / 或抗体 V_L 结构域,其选自下述成分构成的组:

[0308] 图 12、16、20、24、44、48 或 52 所示的 V_L 结构域,包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 12 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列,包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 16 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列,包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 20 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列,包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 24 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列,包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 44 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列,包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 48 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列,包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 52 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列。

[0309] 本发明前述结合对应物优选包含与前述抗体 V_L 结构域成对的前述抗体 V_H 结构域,从而使提供的 TSH 受体的抗体结合位点包含 V_H 和 V_L 结构域,尽管进一步的讨论说明抗体 V_H 结构域或抗体 V_L 结构域各自独立地用于与 TSH 受体结合。因此前述的结合对应物优选可包含前述抗体 V_H 结构域而不包含抗体 V_L 结构域。前述的结合对应物同样优选可包含前述抗体 V_L 结构域而不包含抗体 V_H 结构域。相应地,前述的结合对应物可以包含与前述抗体 V_L 结构域成对的抗体 V_H 结构域,其提供的 TSH 受体的抗体结合位点包含 V_H 和 V_L 结构域。

[0310] 因此本发明优选的实施例可以包括前述的结合对应物,其包含与图 12 所示抗体 V_L 结构域成对的图 10 所示的抗体 V_H 结构域,从而为 TSH 受体提供包含 V_H 和 V_L 结构域的抗体结合位点;或者包括前述的结合对应物,其包含与图 16 所示抗体 V_L 结构域成对的图 14 所示的抗体 V_H 结构域,从而为 TSH 受体提供包含 V_H 和 V_L 结构域的抗体结合位点;或者包括前述的结合对应物,其包含与图 20 所示抗体 V_L 结构域成对的图 18 所示的抗体 V_H 结构域,从而为 TSH 受体提供包含 V_H 和 V_L 结构域的抗体结合位点;或者包括前述的结合对应物,其包含与图 24 所示抗体 V_L 结构域成对的图 22 所示的抗体 V_H 结构域,从而为 TSH 受体提供包含 V_H 和 V_L 结构域的抗体结合位点;或者包括前述的结合对应物,其包含与图 44 所示抗体 V_L 结构域成对的图 42 所示的抗体 V_H 结构域,从而为 TSH 受体提供包含 V_H 和 V_L 结构域的抗体结合位点;或者包括前述的结合对应物,其包含与图 48 所示抗体 V_L 结构域成对的图 46 所示的抗体 V_H 结构域,从而为 TSH 受体提供包含 V_H 和 V_L 结构域的抗体结合位点;或者包括前述的结合对应物,其包含与图 52 所示抗体 V_L 结构域成对的图 50 所示的抗体 V_H 结构域,从而为 TSH 受体提供包含 V_H 和 V_L 结构域的抗体结合位点。

[0311] 本发明进一步构想前述 V_H 结构域可以与其它的非本文为详述的 V_L 结构域成对连接。本发明还进一步构想本文描述的 V_L 结构域可以与其它的非本文为详述的 V_H 结构域成对连接。

[0312] 本发明的另一实施例提供了如前所述的 TSH 受体的结合对应物,该结合对应物能够与 TSH 受体结合,从而刺激 TSH 受体,其包含:

[0313] 抗体 V_H 结构域,其包含:

[0314] 包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结构域,所述 V_H CDRs 具有与图 10 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列,或者包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结构域,所述 V_H CDRs 具有与图 14 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列,或者包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结构域,所述 V_H CDRs 具有与图 18 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列,或者包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结构域,所述 V_H CDRs 具有与图 22 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列,或者包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结构域,所述 V_H CDRs 具有与图 42 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列,或者包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结构域,所述 V_H CDRs 具有与图 46 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列,或者包含一个或多个 V_H CDRs 的 V_H 结构域,所述 V_H CDRs 具有与图 50 所示的 V_H CDR 相对应的氨基酸序列;和/或

[0315] 抗体 V_L 结构域,其包含:

[0316] 包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 12 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列,或者包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 16 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列,或者包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 20 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列,或者包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 24 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列,或者包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 44 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列,或者包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 48 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列,或者包含一个或多个 V_L CDRs 的 V_L 结构域,所述 V_L CDRs 具有与图 52 所示的 V_L CDR 相对应的氨基酸序列。

[0317] 上述的一个或多个 CDRs 可以选自前述的 V_H 和 V_L 结构域并插入至合适的框架中。例如,前述的一个或多个 CDRs 的氨基酸序列可被插入至与本文所述不同的抗体框架区域,然后该抗体插入一个或多个 CDRs 并能够与 TSH 受体结合,优选刺激前述的 TSH 受体。或者,本发明的结合对应物可以包含能够与 TSH 受体结合的多肽,从而能够刺激前述的 TSH 受体,并包含本文所述的一个或多个 CDRs 的一级结构氨基酸序列,以及任选的进一步包括氨基酸,进一步包括的氨基酸能够增强所述的一个或多个 CDRs 对 TSH 受体的结合亲和力,或者不影响多肽对 TSH 受体的结合特性。

[0318] 本发明优选的结合对应物包括抗体。本文所用的术语“抗体”包括天然的、或者部分或全部合成制备得到的免疫球蛋白。该术语还涵盖了具有结合结构域的任意多肽,该结构域为抗体结合结构域或与抗体结合结构域同源。抗体的实例包括免疫球蛋白同种型和它们的同种亚型 (isotypic subclasses) 以及包含诸如 Fab、scFv 或类似的抗体结合结构域的片段。

[0319] 特别地,本文所述的特异的抗体片段构成了本发明的重要方面。这样,本发明的结合对应物包含前述的抗体,该抗体可以包含下述片段中的任何:(i) 由 V_L 、 V_H 和 C_H1 结构域组成的 Fab 片段;(ii) 由 V_H 和 C_H1 结构域组成的 Fd 片段;(iii) 由 V_L 和 V_H 结构域组成的 Fv 片段;(iv) 由 V_H 结构域组成的 dAb 片段;(v) 分离的 CDR 区域;(vi) F(ab')₂ 片段,一个包含两个相连的 Fab 片段的二价片段;以及 (vii) 单链 Fv 分子 (scFv),其中 V_H 结构域和 V_L

结构域通过肽连接子 (linker) 相连,从而使得两个结构域联合形成抗原结合位点。

[0320] 当本发明的结合对应物包含抗体时,该抗体可以包含完整的抗体,其中的抗体包括可变区和恒定区,参考图 9-24 或者 41-52 可进一步阐述针对本发明抗体的可变区和恒定区。

[0321] 本发明还可包含本文所述的特定的结合对应物、抗体、 V_H 结构域、 V_L 结构域、CDRs 和多肽的突变株、类似物和衍生物,其中所述的突变株、类似物和衍生物保留了与 TSH 受体结合的能力从而刺激本文前述的 TSH 受体。本文前述的术语突变株、类似物和衍生物进一步详细描述了本发明的多肽,前述这些术语意味着也可使用本发明特异的结合对应物的突变株、类似物和衍生物。

[0322] 本发明还进一步提供了能够与 TSH 受体结合的结合对应物,从而刺激本文前述的 TSH 受体,进一步提供的结合对应物能与本文公开的任何特异性结合对应物竞争性结合 TSH 受体,该结合对应物不包含 TSH 或 TSH 受体的自身抗体。特别地,进一步提供的结合对应物可以包含进一步的具有前述 TSH 受体表位区域结合位点的抗体,该进一步的抗体能够与 TSH 受体结合从而刺激如前所述的 TSH 受体,并能与本文公开的任意特异性结合对应物竞争性结合 TSH 受体。

[0323] 本发明还提供了一种多聚核苷酸,其包括:

[0324] (i) 如图 25 至 40、或 53 至 64 所示的核苷酸序列;或诸如图 26、28、30、32、34、36、38、40、54、56、58、60、62 或 64 所示序列的部分,其编码如图 10、12、14、16、18、20、22、24、42、44、46、48、50 或 52 任意所示的抗体 V_H 结构域、抗体 V_L 结构域、或 CDRs 的氨基酸序列;

[0325] (ii) 编码本文前述的结合对应物的核苷酸序列,或者编码如前所述的抗体 V_H 结构域、抗体 V_L 结构域、或结合对应物的 CDR 的氨基酸序列;

[0326] (iii) 编码具有如图 9 至 24 或 41 至 52 所示氨基酸一级结构的结合对应物的核苷酸序列,或者编码如图 10、12、14、16、18、20、22、24、42、44、46、48、50 或 52 任意所示的抗体 V_H 结构域、抗体 V_L 结构域、或 CDRs 的氨基酸序列;

[0327] (iv) 遗传密码的简并性所致的密码子序列与 (i) 中的任意序列都不同的核苷酸序列;

[0328] (v) 包含 (i) 中任意序列的等位基因突变的核苷酸序列;

[0329] (vi) 包含选自 (i)、(ii)、(iii)、(iv) 或 (v) 任意序列的片段的核苷酸序列,尤其是包含选自 (i)、(ii)、(iii)、(iv) 或 (v) 任意序列的片段、且编码本文前述结合对应物的 Fab 片段、Fd 片段、Fv 片段、dAb 片段、分离的 CDR 区域、 $F(ab')_2$ 片段、或 scFv 片段的核苷酸序列;

[0330] (vii) 核苷酸碱基的突变、缺失或取代所致的与 (i) 中的任意序列不同的核苷酸序列,其编码前述的结合对应物,或编码前述的结合对应物的抗体 V_H 结构域、抗体 V_L 结构域、或 CDR 的氨基酸序列。

[0331] 本发明的多聚核苷酸的突变株与 (i) 中任意多聚核苷酸序列的全部长度中至少具有 70% 的相似性,更高的优选与 (i) 中任意的多聚核苷酸序列的全部长度中至少具有 80% 的相似性,特别优选与 (i) 中任意的多聚核苷酸序列的全部长度中至少具有 90% 的相似性,在这些特别优选的多聚核苷酸序列中,尤其优选具有 95% 的相似性。此处所述的特定多聚核苷酸序列突变株的含义已经在前面有详细描述。

[0332] 本发明进一步提供了一种生物功能载体系统,其载递前述的多聚核苷酸,能够将多聚核苷酸引入宿主生物的基因组。

[0333] 本发明还涉及以本发明的多聚核苷酸转化的宿主细胞以及通过重组技术制备本发明的结合对应物。可以利用遗传工程方法使多聚核苷酸掺入宿主细胞并表达本发明的结合对应物。

[0334] 本文前述的结合对应物可以用于诊断和治疗,并可有利地与本文前述的 TSH 受体的一个或多个表位区域相互反应或结合。

[0335] 相应地,本文前述的结合对应物可被用于检测前述自身抗体的筛选方法以及前述的诊断方法。也就是,本发明所述的结合对应物能够用于代替已经描述的竞争物用于检测前述自身抗体的筛选方法以及前述的诊断方法。相似地,本发明的结合对应物能够用于代替已经描述的竞争物用于检测前述自身抗体的试剂盒中。

[0336] 本发明还提供了一种筛选受试者体液样品中 TSH 受体自身抗体的方法,所述的受试者怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体的免疫反应相关的自身免疫性疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者,所述方法包含:

[0337] (a) 从受试者中获得所述的体液样品;

[0338] (b) 将所述样品与下述物质接触:

[0339] (i) TSH 受体的全长序列、该受体的一个或多个表位或包含 TSH 受体的一个或多个表位的多肽,和

[0340] (ii) 前述的一个或多个结合对应物;

[0341] (在允许 TSH 受体和针对 TSH 受体的自身抗体相互作用的合适条件下)从而使得所述的 TSH 受体、所述的该受体的一个或多个表位或者所述的多肽与所述样品中 TSH 受体的自身抗体、或所述的一个或多个结合对应物相互作用;以及

[0342] (c) 监测所述 TSH 受体、所述的该受体的一个或多个表位或者所述的多肽与所述样品中的自身抗体的相互作用,从而提供了所述样品中 TSH 受体的自身抗体存在的指征。

[0343] 优选地,本发明的上述方法进一步包括为一个或多个结合对应物提供标记,适宜的标记如本文前述。

[0344] 本发明还提供了一种筛选受试者体液样品中针对 TSH 受体的自身抗体的方法,所述的受试者怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体的免疫反应相关的自身免疫性疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者,所述方法包含:

[0345] (a) 从受试者中获得所述的体液样品;

[0346] (b) 将所述样品与下述物质接触:

[0347] (i) TSH 受体全长序列、该受体的一个或多个表位或包含 TSH 受体的一个或多个表位的多肽,和

[0348] (ii) TSH 受体的一个或多个结合成分;

[0349] (在允许 TSH 受体与针对 TSH 受体的自身抗体相互作用的合适条件下)从而使得所述的 TSH 受体、所述的该受体的一个或多个表位或者所述的多肽与所述样品中的 TSH 受体的自身抗体、或所述的一个或多个结合成分相互作用;以及

[0350] (c) 监测所述 TSH 受体、所述的该受体的一个或多个表位或者所述的多肽与所述样品中的自身抗体的相互作用,从而提供了所述样品中 TSH 受体的自身抗体存在的指征;

[0351] 其中在步骤 (b) 之前、或之后将所述的一个或多个结合成分直接或间接固定 (immobilised) 至一表面上。

[0352] 特异地,所述一个或多个结合成分包含本发明前述的一个或多个结合对应物。适宜地,提供了 TSH 受体、其一个或多个表位或者多肽的标记方法。

[0353] 本发明还提供了一种试剂盒用来筛选受试者体液样品中针对 TSH 受体的自身抗体,该受试者怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者,所述的试剂盒包含:

[0354] (a) TSH 受体全长序列、该受体的一个或多个表位或包含 TSH 受体的一个或多个表位的多肽;

[0355] (b) 本文前述的一个或多个结合对应物;

[0356] (c) 用来将所述受试者的体液样品、所述 TSH 受体、所述该受体的一个或多个表位或所述多肽、和所述一个或多个结合对应物相接触,(在允许 TSH 受体和针对 TSH 受体的自身抗体相互作用的合适条件下)从而使得所述 TSH 受体、所述该受体的一个或多个表位或所述多肽与样品中存在的针对 TSH 受体的自身抗体、或所述的一个或多个结合对于相互反应;和

[0357] (d) 用来监测所述 TSH 受体、所述该受体的一个或多个表位或所述多肽与样品中存在的自身抗体的相互反应,从而提供了所述样品中 TSH 受体的自身抗体存在的指征。

[0358] 适宜地,如上所述的试剂盒进一步包含用来对一个或多个结合对应物进行标记,适宜的标记手段如本发明前述。

[0359] 本发明还提供了一种试剂盒用来筛选受试者体液样品中针对 TSH 受体的自身抗体,该受试者怀疑患有、容易患有或患有与 TSH 受体免疫反应相关的自身免疫疾病、或者受试者是该自身免疫疾病的康复者,所述的试剂盒包含:

[0360] (a) TSH 受体全长序列、该受体的一个或多个表位或包含 TSH 受体的一个或多个表位的多肽;

[0361] (b) TSH 受体的一个或多个结合成分;

[0362] (c) 用来将所述受试者的体液样品、所述 TSH 受体、所述该受体的一个或多个表位或所述多肽、和所述一个或多个结合对应物相接触,(在允许 TSH 受体和针对 TSH 受体的自身抗体相互作用的合适条件下)从而使得所述 TSH 受体、所述该受体的一个或多个表位或所述多肽与所述样品中存在的针对 TSH 受体的自身抗体、或所述的一个或多个结合对于相互反应;

[0363] (d) 在所述一个或多个结合成分与所述受试者体液样品和所述 TSH 受体、所述该受体的一个或多个表位或所述多肽相接触之前或之后,用来将所述一个或多个结合成分直接或间接固定在一表面上;和

[0364] (e) 用来监测所述 TSH 受体、所述该受体的一个或多个表位或所述多肽与所述样品中存在的自身抗体的相互反应,从而提供了所述样品中 TSH 受体的自身抗体存在的指征。

[0365] 典型地,一个或多个结合成分包含本发明前述的一个或多个结合对应物。适宜地,可提供对 TSH 受体、该受体的一个或多个表位、或者多肽的标记手段。

[0366] 适宜地,前述的方法或试剂盒能够使用本发明前述的多肽或表位。

[0367] 如本发明前述,在 TSH 受体的自身抗体存在时,TSH 受体与固定的结合成分或结合对应物之间的结合将降低。这种筛选 TSH 受体自身抗体的方法和试剂盒能有效减少 TSH 受体固定至表面时产生的问题。

[0368] 本发明前述的结合对应物也可用于治疗。因此,本发明进一步提供了治疗方法,所述方法包含给予前述的特异性结合对应物、包含前述的特异性结合对应物的药物组合物(带有一种或多种药学可接受载体、稀释剂或赋形剂),以及本发明前述的特异性结合对应物在制备药物或组合物、尤其是用于刺激甲状腺组织和/或含有 TSH 受体的组织的药物或组合物中的应用。特别地,本发明的特异性结合对应物可用于肿瘤学,尤其用于甲状腺癌的诊断、处理和/或治疗。

[0369] 尽管最适宜的给药途径通常要依靠患者的状况和所治疗的特定疾病来决定,本发明的药物组合物包括适用于口腔、肠胃外或局部给药的药物组合物。尽管所用剂量要由一系列因素,包括患者的年龄、性别、待治疗的特定疾病以及前述的给药途径来决定,但所能给予患者的本发明前述结合对应物的精确剂量要由临床医生来判断。

[0370] 本发明还进一步提供了刺激甲状腺组织和/或包含 TSH 受体的组织的方法,该方法包括给与需要该种刺激的病人诊断或治疗有效量的本发明前述的结合对应物。

[0371] 本发明还提供了前述的结合对应物与能够刺激甲状腺组织和/或包含 TSH 受体的组织的一种或多种进一步药剂的联合应用,该结合对应物和进一步的药剂可同时、单独或顺序应用来刺激刺激甲状腺组织和/或包含 TSH 受体的组织。优选地,一种或多种进一步的药剂包含重组人 TSH 和/或一种或多种突变株、类似物、衍生物或其片段,或者这类片段的突变株、类似物、或衍生物。选择性地,一个或多个进一步的药剂能够独立与 TSH 受体结合。

[0372] 下面提供的阐述性解释用于理解本文使用的某些术语。下述解释仅为提供便利而非对本发明做出限制。

[0373] TSH 受体的结合对应物或结合成分描述了对 TSH 受体具有结合特异性的分子。本发明所述的结合对应物或结合成分可以是天然的、或全部或部分人工合成制备的。这类结合对应物或结合成分具有与 TSH 受体的一个或多个表位特异性结合的结构域或区域,因此与 TSH 受体的一个或多个表位具有互补性。

[0374] C 结构域表示抗体分子中相对恒定的氨基酸序列区域。

[0375] CDR 表示在抗体分子重链和轻链上存在的决定簇互补区,表示高度可变区的序列。CDRs 约为可变区的 15%至 20%,其代表抗体的抗原结合位点。

[0376] FR 表示骨架区,其代表未出现于 CDRs 的可变轻链结构域和可变重链结构域的剩余部分。

[0377] HC 表示抗体分子的重链部分,其包含重链可变区和 IgG 恒定区的第一结构域。

[0378] 宿主细胞是被转化或转染的细胞,或者能够被外源多聚核苷酸序列转化或转染的细胞。

[0379] 相似性,如现有技术所知,是两个或多个多肽序列、或两个或多个多聚核苷酸序列之间通过序列比较得出的关系。

[0380] LC 表示抗体分子的轻链。

[0381] TSH 受体的刺激(如本文所述,被结合对应物或结合成分刺激)表示结合对应物

或结合成分与 TSH 受体的结合能力,与 TSH 受体的这种结合结果可产生诸如生成环 AMP 的效果。这种刺激与 TSH 受体和 TSH 或 TSH 受体自身抗体的结合所产生的反应相类似,这样,本文所述的结合对应物或者结合成分模拟了 TSH 或 TSH 受体自身抗体与 TSH 受体的结合作用。

[0382] V 结构域表示抗体分子的高度可变氨基酸序列。

[0383] V_H 结构域表示抗体分子重链的可变区域或结构域。

[0384] V_L 结构域表示抗体分子轻链的可变区域或结构域。

[0385] 下面将对本发明的附图和实施例进行阐述,这些阐述并非用于对本发明进行限制。

[0386] 图 1 列出了(以下述顺序)人、猪、牛、猫科动物、犬科动物、小鼠、大鼠和绵羊的 TSH 受体的 1 至 200 位氨基酸。

[0387] 图 2 列出了(以下述顺序)编码猫科动物、牛、犬科动物、小鼠、猪、大鼠、绵羊和人的 TSH 受体区域的 1 至 300 位核苷酸碱基。

[0388] 图 3 列出了(以下述顺序)人、猪、牛、猫科动物、犬科动物、小鼠、大鼠和绵羊的 TSH 受体的 200 至 300 位氨基酸。

[0389] 图 4 列出了(以下述顺序)编码猫科动物、牛、犬科动物、小鼠、猪、大鼠、绵羊和人的 TSH 受体区域的 700 至 899 位核苷酸碱基。

[0390] 图 5 列出了(以下述顺序)人、猪、牛、猫科动物、犬科动物、小鼠、大鼠和绵羊的 TSH 受体的 250 至 499 位氨基酸。

[0391] 图 6 列出了(以下述顺序)编码猫科动物、牛、犬科动物、小鼠、猪、大鼠、绵羊和人的 TSH 受体区域的 750 至 1100 位核苷酸碱基。

[0392] 图 7 列出了(以下述顺序)人、猪、牛、猫科动物、犬科动物、小鼠、大鼠和绵羊的 TSH 受体的 350 至 500 位氨基酸。

[0393] 图 8 列出了(以下述顺序)编码猫科动物、牛、犬科动物、小鼠、猪、大鼠、绵羊和人的 TSH 受体区域的 1100 至 1299 位核苷酸碱基。

[0394] 图 9 列出了 4D7 的重链(HC)氨基酸。

[0395] 图 10 列出了 4D7 的重链(HC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即 10 至 115 位氨基酸)、CDRs(即 31 至 35 位 CDR1 氨基酸、50 至 66 位 CDRII 氨基酸和 99 至 104 位 CDRIII 氨基酸)以及恒定区域或结构域(即 116 至 200 位氨基酸)。

[0396] 图 11 列出了 4D7 的轻链(LC)氨基酸。

[0397] 图 12 列出了 4D7 的轻链(LC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即 9 至 111 位氨基酸)、CDRs(即 24 至 38 位 CDR1 氨基酸、54 至 60 位 CDRII 氨基酸和 93 至 101 位 CDRIII 氨基酸)以及恒定区域或结构域(即 112 至 211 位氨基酸)。

[0398] 图 13 列出了 16E5 的重链(HC)氨基酸。

[0399] 图 14 列出了 16E5 的重链(HC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即 9 至 120 位氨基酸)、CDRs(即 31 至 35 位 CDR1 氨基酸、50 至 66 位 CDRII 氨基酸和 99 至 109 位 CDRIII 氨基酸)以及恒定区域或结构域(即 121 至 205 位氨基酸)。

[0400] 图 15 列出了 16E5 的轻链(LC)氨基酸。

[0401] 图 16 列出了 16E5 的轻链(LC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即 9 至 107 位氨

氨酸)、CDRs(即 24 至 34 位 CDR1 氨基酸、50 至 56 位 CDRII 氨基酸和 89 至 97 位 CDRIII 氨基酸)以及恒定区域或结构域(即 108 至 207 位氨基酸)。

[0402] 图 17 列出了 17D2 的重链(HC)氨基酸。

[0403] 图 18 列出了 17D2 的重链(HC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即 9 至 120 位氨基酸)、CDRs(即 31 至 35 位 CDR1 氨基酸、50 至 66 位 CDRII 氨基酸和 99 至 109 位 CDRIII 氨基酸)以及恒定区域或结构域(即 121 至 205 位氨基酸)。

[0404] 图 19 列出了 17D2 的轻链(LC)氨基酸。

[0405] 图 20 列出了 17D2 的轻链(LC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即 9 至 107 位氨基酸)、CDRs(即 24 至 34 位 CDR1 氨基酸、50 至 56 位 CDRII 氨基酸和 89 至 97 位 CDRIII 氨基酸)以及恒定区域或结构域(即 108 至 207 位氨基酸)。

[0406] 图 21 列出了 14D3 的重链(HC)氨基酸。

[0407] 图 22 列出了 14D3 的重链(HC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即 9 至 120 位氨基酸)、CDRs(即 31 至 35 位 CDR1 氨基酸、50 至 66 位 CDRII 氨基酸和 99 至 109 位 CDRIII 氨基酸)以及恒定区域或结构域(即 121 至 205 位氨基酸)。

[0408] 图 23 列出了 14D3 的轻链(LC)氨基酸。

[0409] 图 24 列出了 14D3 的轻链(LC)氨基酸,显示可变区域或结构域(即 9 至 107 位氨基酸)、CDRs(即 24 至 34 位 CDR1 氨基酸、50 至 56 位 CDRII 氨基酸和 89 至 97 位 CDRIII 氨基酸)以及恒定区域或结构域(即 108 至 207 位氨基酸)。

[0410] 图 25 列出了编码图 9 的 4D7 的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0411] 图 26 列出了编码图 9 的 4D7 的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图 10 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0412] 图 27 列出了编码图 11 的 4D7 的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0413] 图 28 列出了编码图 11 的 4D7 的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图 12 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0414] 图 29 列出了编码图 13 的 16E5 的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0415] 图 30 列出了编码图 13 的 16E5 的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图 14 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0416] 图 31 列出了编码图 15 的 16E5 的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0417] 图 32 列出了编码图 15 的 16E5 的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图 16 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0418] 图 33 列出了编码图 17 的 17D2 的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0419] 图 34 列出了编码图 17 的 17D2 的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图 18 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0420] 图 35 列出了编码图 19 的 17D2 的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0421] 图 36 列出了编码图 19 的 17D2 的轻链(LC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图 20 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

[0422] 图 37 列出了编码图 21 的 14D3 的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基。

[0423] 图 38 列出了编码图 21 的 14D3 的重链(HC)氨基酸的核苷酸碱基,显示编码图 22 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

- [0424] 图 39 列出了编码图 23 的 14D3 的轻链 (LC) 氨基酸的核苷酸碱基。
- [0425] 图 40 列出了编码图 23 的 14D3 的轻链 (LC) 氨基酸的核苷酸碱基, 显示编码图 24 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。
- [0426] 图 41 列出了 3B3 的重链 (HC) 氨基酸。
- [0427] 图 42 列出了 3B3 的重链 (HC) 氨基酸, 显示可变区域或结构域 (即 8 至 112 位氨基酸)、CDRs (即 31 至 35 位 CDR1 氨基酸、50 至 66 位 CDRII 氨基酸和 99 至 101 位 CDRIII 氨基酸) 以及恒定区域或结构域 (即 113 至 196 位氨基酸)。
- [0428] 图 43 列出了 3B3 的轻链 (LC) 氨基酸。
- [0429] 图 44 列出了 3B3 的轻链 (LC) 氨基酸, 显示可变区域或结构域 (即 9 至 111 位氨基酸)、CDRs (即 24 至 38 位 CDR1 氨基酸、54 至 60 位 CDRII 氨基酸和 93 至 101 位 CDRIII 氨基酸) 以及恒定区域或结构域 (即 112 至 211 位氨基酸)。
- [0430] 图 45 列出了 3C7 的重链 (HC) 氨基酸。
- [0431] 图 46 列出了 3C7 的重链 (HC) 氨基酸, 显示可变区域或结构域 (即 10 至 115 位氨基酸)、CDRs (即 31 至 35 位 CDR1 氨基酸、50 至 66 位 CDRII 氨基酸和 99 至 104 位 CDRIII 氨基酸) 以及恒定区域或结构域 (即 116 至 200 位氨基酸)。
- [0432] 图 47 列出了 3C7 的轻链 (LC) 氨基酸。
- [0433] 图 48 列出了 3C7 的轻链 (LC) 氨基酸, 显示可变区域或结构域 (即 9 至 111 位氨基酸)、CDRs (即 24 至 38 位 CDR1 氨基酸、54 至 60 位 CDRII 氨基酸和 93 至 101 位 CDRIII 氨基酸) 以及恒定区域或结构域 (即 112 至 211 位氨基酸)。
- [0434] 图 49 列出了 2B4 的重链 (HC) 氨基酸。
- [0435] 图 50 列出了 2B4 的重链 (HC) 氨基酸, 显示可变区域或结构域 (即 9 至 122 位氨基酸)、CDRs (即 31 至 35 位 CDR1 氨基酸、50 至 66 位 CDRII 氨基酸和 99 至 111 位 CDRIII 氨基酸) 以及恒定区域或结构域 (即 123 至 207 位氨基酸)。
- [0436] 图 51 列出了 2B4 的轻链 (LC) 氨基酸。
- [0437] 图 52 列出了 2B4 的轻链 (LC) 氨基酸, 显示可变区域或结构域 (即 9 至 112 位氨基酸)、CDRs (即 24 至 39 位 CDR1 氨基酸、78 至 82 位 CDRII 氨基酸和 94 至 102 位 CDRIII 氨基酸) 以及恒定区域或结构域 (即 113 至 212 位氨基酸)。
- [0438] 图 53 列出了编码图 41 的 3B3 的重链 (HC) 氨基酸的核苷酸碱基。
- [0439] 图 54 列出了编码图 41 的 3B3 的重链 (HC) 氨基酸的核苷酸碱基, 显示编码图 42 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。
- [0440] 图 55 列出了编码图 43 的 3B3 的轻链 (LC) 氨基酸的核苷酸碱基。
- [0441] 图 56 列出了编码图 43 的 3B3 的轻链 (LC) 氨基酸的核苷酸碱基, 显示编码图 44 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。
- [0442] 图 57 列出了编码图 45 的 3C7 的重链 (HC) 氨基酸的核苷酸碱基。
- [0443] 图 58 列出了编码图 45 的 3C7 的重链 (HC) 氨基酸的核苷酸碱基, 显示编码图 46 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。
- [0444] 图 59 列出了编码图 47 的 3C7 的轻链 (LC) 氨基酸的核苷酸碱基。
- [0445] 图 60 列出了编码图 47 的 3C7 的轻链 (LC) 氨基酸的核苷酸碱基, 显示编码图 48 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。

- [0446] 图 61 列出了编码图 49 的 2B4 的重链 (HC) 氨基酸的核苷酸碱基。
- [0447] 图 62 列出了编码图 49 的 2B4 的重链 (HC) 氨基酸的核苷酸碱基, 显示编码图 50 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。
- [0448] 图 63 列出了编码图 51 的 2B4 的轻链 (LC) 氨基酸的核苷酸碱基。
- [0449] 图 64 列出了编码图 51 的 2B4 的轻链 (LC) 氨基酸的核苷酸碱基, 显示编码图 52 的可变区域或结构域、CDRs 和恒定区域或结构域的核苷酸碱基。
- [0450] 更特异地, 图 1 至 8 阐明了下述:
- [0451] 图 1 列出了上述物种中 TSH 受体的 1 至 200 位氨基酸, 其中包括用于本发明的下述氨基酸序列:
- [0452] TSH 受体的 22 至 91 位氨基酸;
- [0453] TSH 受体的 32 至 41 位氨基酸; 和
- [0454] TSH 受体的 36 至 42 位氨基酸。
- [0455] 图 2 列出了上述物种中 1 至 300 位核苷酸碱基, 其中包括图 1 中上述氨基酸序列的编码区域。
- [0456] 图 3 列出了上述物种中 TSH 受体的 200 至 300 位氨基酸, 其中包括用于本发明的下述氨基酸序列:
- [0457] TSH 受体的 246 至 260 位氨基酸; 和
- [0458] TSH 受体的 247 至 260 位氨基酸。
- [0459] 图 4 列出了上述物种中 700 至 899 位核苷酸碱基, 其中包括图 3 中上述氨基酸序列的编码区域。
- [0460] 图 5 列出了上述物种中 TSH 受体的 250 至 449 位氨基酸, 其中包括用于本发明的下述氨基酸序列:
- [0461] TSH 受体的 260 至 363 位氨基酸; 和
- [0462] TSH 受体的 277 至 296 位氨基酸。
- [0463] 图 6 列出了上述物种中 750 至 1100 位核苷酸碱基, 其中包括图 5 中上述氨基酸序列的编码区域。
- [0464] 图 7 列出了上述物种中 TSH 受体的 350 至 500 位氨基酸, 其中包括用于本发明的下述氨基酸序列:
- [0465] TSH 受体的 380 至 418 位氨基酸; 和
- [0466] TSH 受体的 381 至 385 位氨基酸。
- [0467] 图 8 列出了上述物种中 1100 至 1299 位核苷酸碱基, 其中包括图 7 中上述氨基酸序列的编码区域。
- [0468] 实施例 1
- [0469] (1) TSH 受体的小鼠单克隆抗体的制备
- [0470] 采用 CHO 细胞表达的重组、高纯化成熟形式的 TSH 受体免疫 BALB/c 小鼠 (Y Oda, J Sanders, M Evans, A Kiddie, A Munkley, C James, T Richards, J Wills, J Furmaniak, B Rees Smith " Epitope analysis of the human thyrotrophin (TSH) receptor using monoclonal antibodies. " Thyroid 2000 10(12): 1051-1059.)。利用 pcDNA3.1 中克隆的全长人 TSHR cDNA 通过 DNA 免疫技术制备小鼠抗体。利用标准技术克隆 Mabs, 利用蛋白 A

凝胶亲和色谱法从培养物上清中纯化 IgGs。Mabs 与 TSH 受体的反应通过如下方法进行检验：(a) 利用部分纯化的受体进行 Western 免疫印迹实验，(b) 抑制 TSH 与 TSH 受体的结合，(c) 如 Y Oda, J Sanders, S Roberts, M Maruyama, R Kato, M Perez, VBPeteresen, N Wedlock, J Furmaniak, B Rees Smith" Binding characteristics of antibodies to the TSH receptor." *Journal of Molecular Endocrinology* 1998 20 :233-244. 中所述的在体外转录 / 翻译系统中制备的 ^{35}S - 标记的 TSH 受体的免疫沉淀实验。

[0471] (2) ^{125}I -TSH 与 TSH 受体结合的抑制

[0472] ^{125}I -TSH 与 TSH 受体结合的抑制通过下述实验进行分析：50 μL 用去污剂增溶的 TSH 受体与 50 μL 按照步骤 (1) 纯化的 Mab 在室温下预先温育 15 分钟，然后加入 100 μL 的 ^{125}I -TSH (30,000cpm)，接下来在 37 $^{\circ}\text{C}$ 温育一小时。通过加入 2mL 16.5% 聚乙二醇和 25 μL 健康供血者的血清来沉淀 ^{125}I -TSH/TSH 受体复合物，在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、1500Xg 离心 30 分钟，吸出受体复合物，利用公知的技术测定沉淀的放射性。

[0473] MAb 命名为：2B4Mab (IgG 浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、8E2Mab (IgG 浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、和 18C5Mab (IgG 浓度为 1mg/mL) 对 TSH 结合的抑制分别为 76%、38%、和 91%。用 L-半胱氨酸 / 木瓜蛋白酶或胃蛋白酶消化 2B4Mab、8E2Mab、和 18C5Mab IgGs，然后利用蛋白 A 柱分离 Fc 和 Fab 来制备 Fab 片段。

[0474] (3) 利用 Mabs 进行表位识别

[0475] Western 印迹分析法 (Y Oda, J Sanders, M Evans, A Kiddie, A Munkley, C James, T Richards, J Wills, J Furmaniak, B Rees Smith" Epitope analysis of the human thyrotrophin (TSH) receptor using monoclonal antibodies." *Thyroid* 2000 10 (12) : 1051-1059) 显示 2B4Mab 与 TSH 受体序列氨基酸 (aa) 380 至 418 位之间的表位结合，8E2Mab 与 22 至 91 位之间的表位结合，18C5Mab 与 246 至 260 位之间的表位结合。采用覆盖这些区域的 TSH 受体肽重叠分析 (Y Oda, J Sanders, M Evans, A Kiddie, A Munkley, C James, T Richards, J Wills, J Furmaniak, B Rees Smith" Epitope analysis of the human thyrotrophin (TSH) receptor using monoclonal antibodies." *Thyroid* 2000 10 (12) : 1051-1059.) 表明 2B4Mab 与 aa381 至 385 反应、8E2Mab 与 aa36 至 42 反应、18C5Mab 与 aa247 至 260 反应。

[0476] (4) ^{125}I - 标记的 TSH 受体的制备

[0477] TSH 受体的可溶性制备物通过 ^{125}I - 标记的 MAB (4E31) 与 TSH 受体的 C- 末端反应来标记 ^{125}I ，该方法参见 J Sanders, Y Oda, S Roberts, A Kiddie, T Richards, J Bolton, V McGrath, S Walters, D Jaskolski, J Furmaniak, B Rees Smith" The interaction of TSH receptor autoantibodies with ^{125}I -labelled TSH receptor." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999, 84 (10) : 3797-3802. 在室温下将部分的 ^{125}I - 标记的 4E31F(ab)₂ 和可溶性 TSH 受体温育 15 分钟，然后将其用于步骤 (5) 的免疫沉淀检测中。

[0478] (5) TSH 受体自身抗体 (TRAb) 与 TSH 受体的结合通过 MAb 的抑制

[0479] 采用下述方法检测了 MAb 对 TRAb 与 TSH 受体结合的抑制：

[0480] 取 10 μL 步骤 (4) 中制备的 ^{125}I - 标记的 TSH 受体 (30,000cpm) 与 20 μL 的 2B4Fab (5 和 10mg/mL) 在室温下预先温育 15 分钟，然后与 20 μL 的 TRAb 阳性患者血清一起在室温下温育 1 小时。接下来加入 50 μL 固态蛋白 A (一种抗 - 人 IgG 试剂)，继续在室温

下温育 1 小时,然后洗涤,在 4℃、1500Xg 离心 30 分钟,吸出沉淀,测定沉淀的放射性。利用 8E2 和 18C5Fabs 以及两种 Fabs 结合到一起进行类似的实验。

[0481] 实施例 1 的结果

[0482] TRAb 与 TSH 受体结合抑制的结果如表 1 所示。

[0483] 实施例 2

[0484] 方法

[0485] (1)TSH 受体的小鼠单克隆抗体的制备

[0486] 采用 CHO 细胞表达的重组、高纯化成熟形式的 TSH 受体免疫 BALB/c 小鼠 (Y Oda, J Sanders, M Evans, A Kiddie, A Munkley, C James, T Richards, JWills, J Furmaniak, B Rees Smith " Epitope analysis of the human thyrotrophin(TSH)receptor using monoclonal antibodies. " Thyroid200010(12):1051-1059.)。利用 pRC/CM.1 中克隆的全长人 TSHR cDNA 通过 DNA 免疫技术制备小鼠抗体。利用标准技术克隆 MAbs,利用蛋白 A 凝胶亲和色谱法从培养物上清中纯化 IgGs。

[0487] (Fab)₂ 片段通过下述方法制备:用胃蛋白酶消化纯化的 Mab IgGs,然后进行蛋白 A 亲和柱色谱分离,该分离方法按照 Y.Oda, J. Sanders, S. Roberts, M. Maruyama, R. Kato, M. Perez, VB Petersen, N. Wedlock, J. Furmaniak, B. ReesSmith1998 " Binding characteristics of antibodies to the TSH receptor " .Journal ofMolecular Endocrinology20:233-244. 描述的方法。

[0488] Fab 片段通过下述方法制备:按照 E. Hendry, G. Taylor, F. Grennan-Jones, A. Sullivan, N. Liddy, J. Godfrey, N. Hayakawa, M. Powell, J. Furmaniak, B ReesSmith2001 " X-ray crystal structure of a monoclonal antibody that binds to amajor autoantigenic epitope on thyroid peroxidase. " Thyroid11(12):1091-1099. 描述的方法利用木瓜蛋白酶消化纯化的 MabIgGs。

[0489] MAbs 与 TSH 受体的反应通过下述方法进行检验:(a) 利用部分纯化的受体进行 Western 免疫印迹实验,(b) 抑制 TSH 与 TSH 受体的结合,和 (c) 如 Y Oda, J Sanders, S Roberts, M Maruyama, R Kato, M Perez, VBPeteresen, NWedlock, J Furmaniak, B Rees Smith " Binding characteristics of antibodies to theTSH receptor. " Journal of Molecular Endocrinology199820:233-244. 中所述的在体外转录/翻译系统中制备的 ³⁵S- 标记的 TSH 受体的免疫沉淀实验。

[0490] (2)¹²⁵I-TSH 与 TSH 受体结合的抑制

[0491] (a) 利用去污剂增溶的 TSHR 的 PEG 方法

[0492] ¹²⁵I-TSH 与去污剂增溶的 TSH 受体结合的抑制通过下述实验分析:取 50 μ L 按照上述步骤 (1) 纯化的 MAb 与受体在室温下预先温育 15 分钟,然后加入 100 μ L 的 ¹²⁵I-TSH(30,000cpm),接下来在 37℃温育 1 小时。通过加入 2mL16.5%聚乙二醇和 25 μ L 健康供血者的血清来沉淀 ¹²⁵I-TSH 和 TSH 受体复合物,在 4℃、1500Xg 离心 30 分钟,吸出受体复合物,在 gamma 计数器中测定沉淀的放射性。

[0493] (b) 利用 TSHR 包被管的方法

[0494] 在该方法中,首先用 Mab 诸如 4E31 包被塑料管,其中 Mab 能与 TSHR 的部分结合,该 TSHR 与 TSH 或 TRAb 的结合无关。然后加入用去污剂增溶的 TSHR 制备物并利用 TSHR Mab

进行捕获,则该 TSHR 制备物固定在管的表面,能够与 TSH 或 TRAb 进行结合。特别地,在塑料管 (NuncMaxisorp,每管 200 μ L) 中加入与 TSHR C 末端 (在 pH9.2 的 0.1M Na_2CO_3 中的 10 μ g/mL $(\text{ab})_2$ 制备物) 反应的 MAb4E31,在 4 $^\circ\text{C}$ 包被过夜。洗涤并后续包被 (10mg/mL 牛血清白蛋白) 后,再次以测定缓冲液 (10mM Tris-HCl pH7.8,50mM NaCl,1mg/mL 牛血清白蛋白,0.1% Triton X-100) 洗涤管子。然后加入 200 μ L 用去污剂增溶的 TSHR 制备物,在 4 $^\circ\text{C}$ 温育过夜,接下来进行吸出和洗涤步骤。然后,在 TSHR 包被管中加入 20 μ L “起始”缓冲液 (10mM Tris-HCl pH7.8,50mMNaCl,牛血清白蛋白 1mg/mL,6mM NaN_3 ,1% Triton X-100),接下来加入 100 μ L 纯化的 MAb IgG 或者患者的血清,并在室温下温和振摇同时温育 2 小时。吸出后 (aspiration),用 1mL 测定缓冲液两次洗涤管子,加入 100 μ L 的 ^{125}I -TSH(80,000cpm),在室温下温育 20-60 分钟并振摇。然后用 1mL 测定缓冲液两次洗涤管子,吸出,并在 gamma 计数器中进行计数。

[0495] (3) 对 MAbs 的甲状腺刺激或阻断作用的分析

[0496] 利用购自 Yamasa Corporation, Tokyo, Japan 的试剂测定 Mabs 在分离的猪甲状腺细胞中对环 AMP 生成的刺激 (甲状腺刺激活性) 或者通过阻断环 AMP 的 TSH 刺激而起到 TSH 拮抗剂的作用 (阻断作用)。

[0497] 此外,还利用 M. Kita, L. Ahma, R. C. Marians, H. Vlase, P. Unger, P. N. Graves, T. F. Davies1999 " Regulation and transfer of a murine model of thyrotropin receptor antibody mediated Graves' disease. " Endocrinology140:1392-1398. 中描述的方法分析了在表达人 TSHR 的中国仓鼠卵巢细胞 (CHO) 中 MAbs 刺激环 AMP 生成的能力。

[0498] (4) ^{125}I -标记的 MAbs 与 TSHR 的结合以及 TRAb 的作用

[0499] 用 ^{125}I 标记纯化的 IgG,所述 IgG 来自具有甲状腺刺激活性 (表 2,16E5 和 14D3) 的 MAbs 中的两个,然后利用实施例 1(4) 中的交连葡聚糖 G-50 过滤的方法分离未被标记的 ^{125}I 。

[0500] 按照上述 2b 的方法用 TSHR 制备物包被塑料管。然后,加入 100 μ L 待测血清 (来源于健康供血者或具有甲状腺机能亢进症的患者),将管在室温下温育 2 小时同时振摇。温育后,用测定缓冲液两次洗涤所述管子。然后,向管中加入 100 μ L 的 ^{125}I 标记的 16E5 或 14D3IgG (30,000cpm,稀释液:20mMTris-HCl pH7.3,50mM NaCl,1mg/mL 牛血清白蛋白,0.1% Triton X-100),将管在室温下温育 1 小时同时振摇。温育后,采用与稀释 ^{125}I 标记的 MAbs 相同的缓冲液两次洗涤所得管子,然后用 gamma 计数器进行计数。

[0501] (5) TSHR 与 MAbs 包被管的结合以及 TRAb 的作用

[0502] 将用去污剂增溶的 TSHR 制备物 (20 μ L) 与 100 μ L 待测血清和 20 μ L 起始缓冲液 (上述 2b 中) 在室温下温育 1 小时。取该混合液 100 μ L 加入到以 TSHRMab (如上述 2b 中) 包被的塑料管中,在室温下温育 1 小时并同时振摇。然后吸出该管,洗涤两次 (上述 2b 中),加入如上述 4 中用 ^{125}I 标记的 100 μ L (30,000cpm) 的 ^{125}I 标记 C-末端 TSHR MAb4E31F $(\text{ab})_2$ 。再次在室温下温育 1 小时并同时振摇后,吸出管,洗涤两次,用 gamma 计数器进行测定放射性。

[0503] 利用前文 (Kettleborough C.A. et al " Optimization of primers for cloning libraries of mouse immunoglobulin genes using the polymerase chain reaction. " European Journal of Immunology199323:206-211) 所述的序列设计寡聚核

昔酸引物。

[0504] 上游和下游引物都包括附加的 5' 限制性核酸内切酶位点序列,以便用来克隆 PCR 产物。将 RT-PCR 产物克隆至通过 Qiagen 方法 (Qiagen) 制备的 pUC18DNA 中,并通过 Sanger-Coulson 方法测序。

[0505] 实施例 2 的结果

[0506] (1) TSHR MAbs 甲状腺刺激作用如表 2 和 3 所示。在分离的猪甲状腺细胞中 4 种 MAbs (16E5、14D3、17D2 和 4D7) 能够刺激环 AMP 的生成。此外当检测来自这些 MAbs 中的三种的 Fab 片段时,三种 Fab 片段都能刺激环 AMP 的生成 (表 2)。比较 TRAb 阳性患者血清对 MAbs 的刺激具有类似的水平 (表 2)。而且,具有强烈抑制 TSH 与 TSHR 结合能力的 TSHR MAb2B4 并未表现出甲状腺刺激活性 (表 2)。另一 TSHR MAb 和 Fab (3B3) 以及 Tg MAbFab 2G2 都未刺激环 AMP 的生成 (表 2)。

[0507] 在进一步的系列实验中,检测了能够刺激猪甲状腺细胞的某些 MABS (16E5 和 14D3) 在表达人 TSHR 的 CHO 细胞中刺激环 AMP 生成的能力 (表 3)。得到了与猪甲状腺细胞中类似的结果。

[0508] (2) 在健康供血者血清存在情况下,¹²⁵I- 标记的 16E5 与 TSHR 包被管的结合在所加入总计数的 23% 至 35% 的范围内变动 (表 4)。在甲状腺机能亢进患者血清存在情况下 (都为 TRAb 阳性),¹²⁵I- 标记的 16E5 的结合能力显著降低,在 1.9% 至 7.5% 的范围内变动 (表 4)。

[0509] 上述结果说明甲状腺机能亢进患者血清具有 TRAb 活性,能够抑制 TSHR MAb 16E5 与 TSHR 的结合。采用标记的 16E5 的进一步实验如表 5 所示,其中比较了甲状腺机能亢进患者血清对于 (a) ¹²⁵I- 标记的 16E5 与 TSHR 包被管和 (b) ¹²⁵I- 标记的 TSH 与 TSHR 包被管的结合进行了比较。还采用 ¹²⁵I- 标记的 TSHR MAb14D3 进行了与表 5 类似的实验,结果如表 6 所示。

[0510] 甲状腺机能亢进患者血清对于 ¹²⁵I- 标记的 16E5、14D3 或 TSH 结合 TSHR 包被管的影响类似于多数情况下观察到结合强抑制作用 (表 5 和 6)。与甲状腺机能亢进患者血清相比,健康供血者血清对标记的 MAb 或标记的 TSH 与 TSHR 包被管的结合几乎没有作用 (表 5 和 6)。表 7 为含有自身抗体的血清 (该自身抗体不是 TSHR 自身抗体) 对于标记的 TSH、16E5 和 14D3 结合 TSHR 包被管的影响。由表 7 能够看出,包含谷氨酸脱羧酶自身抗体的血清 (D1 和 D2) 或者包含 21 羟化酶自身抗体的血清 (A1 和 A2) 对 TSH 或 MAb 的结合没有作用。然而,来源于甲状腺机能亢进患者的血清 G42 表现出对 TSH 和 MAb 的结合都有强的、剂量依赖性的抑制。

[0511] (3) 如图 8 所示,以 MAb 16E5 包被的塑料管能够与 TSHR 结合,这种结合被含有 TSHR 自身抗体的甲状腺机能亢进患者的血清所抑制。特别地,利用 ¹²⁵I- 标记的 TSHR MAb 4E31 检测 TSHR 的结合显示:(a) 在健康供血者血清存在的情况下,标记的 4E31 的结合在加入的总 cpm 的 13.5% 至 17.8% 的范围内变动,而 (b) 在甲状腺机能亢进患者的血清存在情况下,标记的 MAb 的结合在加入的总 cpm 的 1.8% 至 4.8% 的范围内变动。用 MAb 14D3 包被的塑料管得到了类似的结果 (表 9)。

[0512] 结论

[0513] 表 2-9 的结果显示:

[0514] (a) 我们已经制备了 TSHR MAbs 和 MAb Fab 片段, 这些抗体和片段能够刺激分离的甲状腺细胞, 刺激方法类似于患者血清中的 TRAb 和 TSH。

[0515] (b) 在检验 TSHR 自身抗体 (TRAb) 时, 这些 MAbs 能够用于代替标记的 TSH。

[0516] (c) 当 MAbs 包被至塑料表面时, 它们能够结合 TSHR 制备物。这种结合会被患者血清中的 TRAb 所抑制, 从而提供了一种新的 TRAb 测试方法。

[0517] (d) MAbs 能够刺激甲状腺表明它们在体外应用代替 TSH 方面非常有用。

[0518] 实施例 3 用 TSH 受体 MAbs 抑制 ^{125}I -16E5Fab 与溶性 TSH 受体的结合方法

[0519] ^{125}I -16E5Fab 与去污剂增溶的 TSH 受体的结合抑制可通过如下测试方法分析: 50ul 前述纯化的 Mab IgG(100ug/ml) 与受体在室温下温育 30 分钟, 然后加入 100ul 的 ^{125}I -16E5Fab(30,000cpm), 接着在室温下温育 2 小时。通过加入 2mL16.5% 聚乙二醇和 50 μL 健康供血者的血清来沉淀 ^{125}I -TSH 和 TSH 受体复合物, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、1500Xg 离心 30 分钟, 吸出受体复合物, 在 gamma 计数器中测定沉淀的放射性。

[0520] 结果见表 10。从表 10 可以看出, Mab4D7 (它结合到表位区域的 246-260 位置, 并刺激分离的甲状腺细胞) 能强烈抑制标记的 16E5Fab 与 TSH 受体的结合 (24.2% 抑制)。两个其它抗体, 3C7 和 18C5 也能强烈抑制 16E5Fab 结合 (分别是 17% 和 15.7% 抑制), 并且也能结合到表位区域的 246-260 位。其它 MAbs 仅观察到很弱或没有抑制现象。这些结果说明了表位区域 246-260 是与 16E5 结合 TSH 受体相关的。从表 10 中还能看出, 其它刺激 MAbs14D3 和 17D2 能有效竞争 16E5 结合 TSH 受体, 表位区域 246-260 也可能对于 14D3 和 17D2 结合 TSH 受体是非常重要的。

[0521] 表 1: 用 MAb Fabs 抑制患者血清 (K3) 中的 TRAb 与 TSH 受体的结合

[0522]

	血清 K3 1/10	
	标记的 TSHR 免疫沉淀(%)	%抑制
缓冲液	17.5	-
2B4 (5mg/ml)	10.1	42
2B4 (10mg/ml)	3.9	77.7
18C5 (5mg/ml)	13.7	21.7
18C5 (10mg/ml)	9.7	44
8E2 (5mg/ml)	15.0	14.3
8E2 (10mg/ml)	13.0	25.7
2B4+18C5 (5mg/ml)	5.7	67.4
18C5+8E2 (5mg/ml)	12.4	29.1
2B4+8E2 (5mg/ml)	8.1	53.7
未标记的 TSH (2.94mg/ml)	7.8	55.4
2B4+8E2+18C5(3.3mg/ml)	7.4	57.7

[0523]

$$\%抑制 = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100 \right)$$

[0524] A = 在有测试血清和 Mab Fab 存在下, ^{125}I -TSHR (cpm) 免疫沉淀占加入试管材料的总 cpm 的百分比,

[0525] B = 在有测试血清和检测缓冲液存在下, ^{125}I -TSHR (cpm) 免疫沉淀占加入试管材料的总 cpm 的百分比。

[0526] 上述结果说明:

[0527] (1) 与 TSH 结合有关的 TSH 受体的序列同样也涉及 TRAb 结合;

[0528] (2) 与这些序列反应的鼠 Mab 能用于有效抑制 TRAb 与 TSH 受体的结合; 以及

[0529] (3) 与一个或多个上述 TSH 受体序列反应的一个或多个 MAbs 可用于探测和测定 TRAb。

[0530] 表 2: 用分离的猪甲状腺细胞来测试 TSHR MAbs 的甲状腺刺激作用

[0531]

测试样品	刺激 (%) ¹	抑制 TSH 结合 (%) ^{2,3}
16E5IgG200 μ g/ml	466	nt
20 μ g/ml	332	83.3
2 μ g/ml	269	73.6
0.2 μ g/ml	157	nt
0.02 μ g/ml	52	nt
14D3IgG200 μ g/ml	557	nt
20 μ g/ml	351	76.4
2 μ g/ml	323	61.0
0.2 μ g/ml	227	nt
0.02 μ g/ml	78	nt
17D2IgG200 μ g/ml	377	nt
20 μ g/ml	207	81.3
2 μ g/ml	134	73.7
4D7IgG200 μ g/ml	259	33 ⁴
20 μ g/ml	31	nt
3B3IgG ^a 200 μ g/ml	34	30.7
20 μ g/ml	37	6.1
2B4IgG ^a 20 μ g/ml	100	nt
2 μ g/ml	116	69.9
3C7Fab1mg/ml	348	45.2
4D7Fab1mg/ml	512	48.6
16E5Fab200 μ g/ml	425	53 ⁵
14D3Fab200 μ g/ml	648	64 ⁵
17D2Fab200 μ g/ml	274	45 ⁵
3B3Fab ^a 200 μ g/ml	42	66.5 ⁴
2G2Fab ⁶ 1mg/ml	55	0
200 μ g/ml	37	0
TRAb+ve 病人 dil1 : 2	771	65 ⁷
dil1 : 4	530	nt
健康血液供体血清库	29	0.6
TRAb 阴性血清	70	0

[0532] 表 2 注释:

[0533] ¹ 用健康血液供体血清库稀释 Mab IgG 或 Fab 的制备物。刺激 (%) 用下述的 $100 \times$

来计算 :在测试样品存在下制得的环 AMP 比上在健康血液供体血清库存在下制得的环 AMP。刺激水平 >180% 作为阳性,即,刺激水平总是大于在单个健康血液供体血清时观察到的水平。

- [0534] ²TSH 结合的抑制水平 >10% 是阳性。
- [0535] ³ 方法 = 包被的试管。
- [0536] ⁴ 在 250ug/ml 测试到的抑制。
- [0537] ⁵ 在 10ug/ml 测试到的抑制。
- [0538] ⁶2G2 是 Mab 与甲状腺球蛋白反应,即,未与 TSHR 反应。
- [0539] ⁷ 使用未稀释血清的抑制。
- [0540] ^a3B3 和 2B4IgGs 作为 TSH 的拮抗剂,即,阻碍 TSH 通过分离的猪甲状腺细胞刺激环 AMP 的产生。
- [0541] nt = 在该浓度下未测试。
- [0542] 表 3 :用 CHO 细胞表达人 TSHR 来测试 TSHR MAbs 的甲状腺刺激作用
- [0543]

测试样品 ¹	刺激 (%) ²	TSH 结合的抑制 (%) ^{3,4}
16E520 μ g/ml	850	78.8 ⁵
14D320 μ g/ml	908	71.8 ⁵
2B420 μ g/ml	111	84.4
TRAb+ve 病人	850	65.0 ⁶
健康血液供体血清库	100	0

- [0544] 表 3 注释 :
- [0545] ¹ 所有样品在加至细胞之前按 1 : 10 稀释。
- [0546] ² 刺激 (%) 用下述的 100× 来计算 :在测试样品存在下制得的环 AMP 比上在健康血液供体血清库存在下制得的环 AMP。
- [0547] ³TSH 结合的抑制水平 >10% 是阳性。
- [0548] ⁴ 方法 = 包被的试管。
- [0549] ⁵ 在 10 μ g/ml 测到的抑制。
- [0550] ⁶ 未稀释抑制的测定。
- [0551] 表 4 :¹²⁵I- 标记的 MAb16E5 与 TSHR 包被的试管的结合以及 TRAb 在患者血清中的效果
- [0552]

测试材料 ¹	抑制 TSH 结合 (%) ²	¹²⁵ I-16E5 结合到 TSHR 包被管 (加入总计数%)
G1	21	5.6
G2	22.7	6.5
G3	24.7	3.5
G4	22.7	6.0
G5	28.1	3.6
G6	29.4	2.5
G7	29.3	5.8
G8	39	1.9
G9	31.9	6.8
G10	34.8	5.4
G11	34.5	3.4

G12	35.3	4.2
G13	35.6	6.2
G14	36.9	2.8
G15	30.3	4.3
G16	35	2.2
G17	47.6	3.9
G18	44.3	3.4
G19	53.5	3.7
G20	59.2	7.5
G21	58.9	4.9
NPS	<14	27.5
NSF1	<14	23.3
NSF2	<14	30.2
NSF3	<14	29.1
NSF4	<14	22.8
NSF5	<14	28.9
NSF6	<14	31.0
NSF7	<14	29.2
NSF8	<14	35.3
NSF9	<14	26.3
NSF10	<14	25.2

[0553] 表 4 注释

[0554] ¹ 血清 G1-G22 来自于甲状腺机能亢进疾病的患者；血清 NSF1-NSF10 来自于健康血液供体；

[0555] NPS = 健康血液供体血清库

[0556] ²TSH 结合的抑制 >14% 是阳性；使用 PEG 方法。

[0557] 表 5：甲状腺机能亢进疾病的患者血清对 ¹²⁵I-16E5 结合的影响以及 ¹²⁵I-TSH 与 TSHR 包被试管的结合

[0558]

测试材料 ¹	¹²⁵ I-16E5 结合到 TSHR 包被管 (加入总计数%) ²	抑制 ¹²⁵ I-16E5 结合 (%) ^{2,3}	¹²⁵ I-TSH 结合到 TSHR 包被管 (加入总计数%) ⁴	抑制 ¹²⁵ I-TSH 结合 (%) ^{3,4}
G23	13.2	44.0	8.9	27.1
G28	5.8	75.4	3.8	68.5
G29	13.3	43.6	8.0	34.3
G30	9.2	61.0	5.3	56.9
G32	11.9	49.6	7.5	38.4
G36	15.5	34.3	10.1	17.5
G38	16.1	31.8	10.0	18.3
G41	17.8	24.6	10.8	11.4
G43	5.9	75.0	4.0	67.2
G44	18.6	21.2	12.4	-ve
G45	5.1	78.4	3.5	71.0
G46	3.8	83.9	2.7	77.9
G47	7.2	69.5	4.3	64.8
G48	6.9	70.8	4.8	60.8
G49	9.1	61.4	6.1	49.6
G50	8.7	63.1	6.3	48.4
G51	11.9	49.6	7.9	35.2
G52	12.3	47.9	7.4	39.0

NSF4	23.0	2.6	12.5	-ve
NSF5	25.3	-ve	12.3	-ve
NSF10	22.4	5.1	12.5	-ve
NSF16	23.3	1.3	12.0	1.8
NSF17	24.3	-ve	11.5	5.3
NSF18	19.9	15.7	11.2	8.0
NSF20	21.5	8.9	12.3	-ve
NSF21	23.3	1.3	12.3	-ve
NSF22	24.5	-ve	12.4	-ve
NSF26	26.5	-ve	12.8	-ve

[0559] 表 5 注释

[0560] ¹ 血清 G23-G52 来自于甲状腺机能亢进疾病的患者；血清 NSF 来自于健康血液供体；

[0561] ² 在健康血液供体血清下对 ¹²⁵I-16E5 结合的平均值为 23.6%。

[0562] ³ 使用下式来计算结合的抑制

[0563]

$$\%抑制 = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100 \right)$$

[0564] 其中 A = 在有测试血清时的结合

[0565] B = 在健康血液供体血清下的结合平均数。

[0566] ⁴ 在健康血液供体血清下对 ¹²⁵I-TSH 结合的平均值为 12.2%。

[0567] 表 6¹²⁵I- 标记的 MAb14D3 与 TSHR 包被的试管的结合以及 TRAb 在患者血清中的效果

[0568]

测试材料 ¹	¹²⁵ I-14D3 结合到 TSHR 包被管 (加入总计数%) ²	抑制 ¹²⁵ I-14D3 结合 (%) ^{2,3}	¹²⁵ I-TSH 结合到 TSHR 包被管 (加入总计数%) ⁴	抑制 ¹²⁵ I-TSH 结合 (%) ^{3,4}
G23	13.9	20	8.9	26.6
G24	11.3	35	6.9	43.4
G25	14.1	19	7.2	40.5
G26	7.3	58	2.6	78.3
G27	12.3	29.7	7.3	40.1
G28	8.0	54.4	3.8	68.3
G29	13.2	24.4	8.0	34.0
G30	12.5	28.4	5.3	56.6
G31	9.8	44	4.3	64.3
G32	11.4	34.8	7.5	38.0
G33	12.7	27.2	6.1	49.9
G34	10.9	37.5	7.5	37.8
G35	9.8	43.6	4.3	64.6
G36	13.5	22.8	10.1	16.9
G37	11.9	31.6	9.3	23.4
G38	11.3	35.4	10.0	17.6
G39	12.3	29.5	7.9	34.8
G40	9.8	44.0	7.2	40.9
G41	14.0	19.8	10.8	10.7
NSF4	17.4	0.3	12.5	-ve

NSF5	16.5	9.1	12.3	-ve
NSF10	17.6	-ve	12.5	-ve
NSF16	17.7	-ve	12.0	1.1
NSF17	17.0	2.7	11.5	4.6
NSF18	16.6	8.6	11.2	7.3
NSF20	18.3	-ve	12.3	-ve
NSF21	16.8	3.6	12.3	-ve
NSF22	16.3	6.7	12.4	-ve
NSF26	18.4	-ve	12.8	-ve

[0569] 表 6 注释

[0570] ¹ 血清 G23-G41 来自于 Graves' 疾病的患者；血清 NSF 来自于健康血液供体；

[0571] ² 在健康血液供体血清下对 ¹²⁵I-14D3 结合的平均值为 17.4%。

[0572] ³ 使用下式来计算结合的抑制

[0573]

$$\%抑制 = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100 \right)$$

[0574] 其中 A = 在有测试血清时的结合；

[0575] B = 在健康血液供体血清下的结合平均数。

[0576] ⁴ 在健康血液供体血清下对 ¹²⁵I-TSH 结合的平均值为 12.1%。

[0577] 表 7：各种患者的血清通过标记的 TSH、16E5 和 14D3 对 TSHR 包被的试管结合的影响

[0578]

测试样品 ¹	与 TSHR 包被试管结合的抑制(%) ² ，分别利用：		
	¹²⁵ I-TSH	¹²⁵ I-16E5	¹²⁵ I-14D3
G42/5	87	71	77
G42/10	82	56	51
G42/20	70	34	24
D1/10	2	3	2
D1/100	-2	3	0
D2/10	1	1	-7
D2/100	-2	0	0
A1/10	-1	3	2
A1/100	-1	3	-1
A2/10	5	3	5
A2/100	1	3	1

[0579] 表 7 的注释：

[0580] ¹ 血清 G42 来自于甲状腺机能亢进疾病的患者；

[0581] 血清 D1 和 D2 来自 1 型糖尿病患者（对谷氨酸脱羧酶的自身抗体为阳性）血清 A1 和 A2 来自爱迪生氏病患者（对类固醇 21-羟化酶的自身抗体为阳性）

[0582] 所有的测试样品都被健康血液供体的血清稀释，稀释因子为 /5, /10, /20/ 或 100

[0583] ² 使用下式来计算结合的抑制

[0584]

$$\%抑制 = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100 \right)$$

[0585] 其中 A = 在有测试血清时的结合

[0586] B = 在健康血液供体血清库时的结合平均数。

[0587] 表 8 : 患者血清对 TSHR 与 16E5F(ab)₂ 包被的试管结合的影响

[0588]

测试材料 ¹	¹²⁵ I-4E31 标记的 TSHR 结合到 16E5F(ab) ₂ 包被管 (加入总计数%)	抑制 TSHR 结合 ²	抑制 TSH 结合 (%) ³
G43	1.8	91.4	72.3
G44	4.8	77.2	45.1
G45	3.0	85.6	71.8
G46	2.0	90.2	83.8
G47	1.8	91.4	75.3
NSF10	17.8	-15	<14
NSF17	14.8	4	<14
NSF21	13.5	12	<14

[0589] 表 8 注释

[0590] ¹ 血清 G43-G47 来自于甲状腺机能亢进疾病的患者；

[0591] 血清 NSF 来自健康血液供体

[0592] ² 使用下式来计算结合的抑制

[0593]

$$\%抑制 = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100 \right)$$

[0594] 其中 A = 在有测试血清时结合 4E31 的结合；

[0595] B = 标记的 4E31 与健康血液供体血清的结合平均数 (15.4%)

[0596] ³TSH 结合的抑制 >14% 为阳性；使用了 PEG 方法。

[0597] 表 9 : 患者血清对 TSHR 与 14D3F(ab)₂ 包被试管结合的影响

[0598]

测试材料 ¹	¹²⁵ I-4E31 标记的 TSHR 结合到 14D3F(ab) ₂ 包被管 (加入总计数%)	抑制 TSHR 结合 ²	抑制 TSH 结合 (%) ³
血清 A	4.0	70	72
血清 B	6.9	49	40
血清 C	3.0	78	85
血清 D	2.6	81	80
NSF5	15.1	-12	<14
NSF17	14.6	-9	<14
NSF21	12.0	10	<14
NSF23	11.8	12	<14

[0599] 表 9 注释：

[0600] ¹ 血清 A-D 来自于甲状腺机能亢进疾病的患者；

- [0601] 血清 NSF 来自健康血液供体
 [0602] ² 使用下式来计算结合的抑制
 [0603]

$$\%抑制 = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100 \right)$$

- [0604] 其中 A = 在有测试血清时标记的 4E31 的结合 ;
 [0605] B = 标记的 4E31 与健康血液供体血清的结合平均数 (13.4%)
 [0606] ³TSH 结合的抑制 >14% 为阳性 ; 使用了 PEG 方法。
 [0607] 表 10 : 通过 TSHR MAbs 对 ¹²⁵I-16E5Fab 与 TSHR 结合的抑制
 [0608]

IgG (100 μg/ml)	抑制%	表位区域 (aa)
16E5	70.4	-
14D3	67.6	-
17D2	69.2	-
2G2	-ve	甲状腺球蛋白特异性的
5D6	-ve	22-41
8E2	-ve	22-41
4B5	7.1	22-41
10C4	-ve	37-56
10D5	-ve	37-71
4D2	-ve	37-71
2E2	-ve	52-71
1D6	-ve	202-221
7B5	-ve	202-221
16B6	-ve	202-221
3C3	11.2	202-236
4B4	-ve	217-236
4E4	-ve	217-236
8D3	-ve	217-236
6D7	-ve	217-236
18C5	15.7	246-260
3C7	17	246-260
4D7	24.2	246-260
3B3	8.8	277-296
5B5	-ve	307-326
4E6	-ve	307-326
6E2	-ve	322-341
9C2	-ve	322-341
6B4	-ve	337-356
3E4	-ve	337-371
3F3	-ve	352-371
3B2	-ve	352-371
7C2	-ve	367-386
2B4	-ve	381-385
3E6	5.4	381-385
8E3	4.8	381-385
7C4	-ve	381-385
1D5	4.2	381-385
4E2	-ve	381-385

3D3	-ve	382-401
2C4	-ve	382-401
10C2	-ve	382-401
7E5	-ve	382-401

	MRPTPLLQLALLALPRSLGGKGCPSPPCECHQEEDFRVT	Majority
1	MRPADLLQLVLLLDLPRDLGGMGCSPPCECHQEEDFRVT	HTSHR. PRO
1	MSLTPLLQLALVVALPRSLRGKGCPSPPCECHQEEDFRVT	PTSHR. PRO
1	MRPTLLRLALFLVLPSSLGGERCPSPPCECRQEEDFRVT	BTSHR. PRO
1	MRQTPLLQLALLLSLPRSLGGKGCPSPPCECHQEEDFRVT	CTSHR. PRO
1	MRPPLLHLALLLALPRSLGGKGCPSPPCECHQEEDFRVT	DTSHR. PRO
1	MRPGLLLLVLALLALSRLRGKECASPPCECHQEEDFRVT	MTSHR. PRO
1	MRPGLLQLTLLLALPRSLWGRGCTSPPECHQEEDFRVT	RTSHR. PRO
1	MRPTLLRLALLLVLPSSLWGERCPSPPCECRQEEDFRVT	STSHRP. PRO
	CKDIHRIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	Majority
41	CKDIQRIPSLPPSTQTLKLIETHLRTIPSHAFSNLPNISR	HTSHR. PRO
41	CKDIHSIPPLPNTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	PTSHR. PRO
41	CKDIQSIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	BTSHS. PRO
41	CKDIHRIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	CTSHR. PRO
41	CKDIHRIPTLPPSTQTLKFIETQLKTIPSRAFSNLPNISR	DTSHR. PRO
41	CKELHRIPSLPPSTQTLKLIETHLKTIPSLAFSSLPNISR	MTSHR. PRO
41	CKELHQIPSLPPSTQTLKLIETHLKTIPSLAFSSLPNISR	RTSHS. PRO
41	CKDIQRIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	STSHRP. PRO
	IYLSIDATLQQLESHSFYNLSKMTHEIRNTRSLTYIDPG	Majority
81	IYVSIDVTLQQLESHSFYNLSKVTHIEIRNTRNLTYIDPD	HTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQQLESQSFYNLSKMTHEIRNTRSLTYINPG	PTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQQLESHSFYNLSKVTHIEIRNTRSLTYIDSG	BTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQRLSHSFYNLSKMTHEIRNTRSLTYIDPG	CTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQRLSHSFYNLSKMTHEIRNTRSLTSIDPD	DTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQRLPHSFYNLSKMTHEIRNTRSLTYIDPD	MTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQRLPHSFYNLSKMTHEIRNTRSLTYIDPD	RTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQQLESHSFYNLSKVTHIEIRNTRSLTYIDSG	STSHRP. PRO
	ALKELPLLKFLGIFNTGLRVFPDLTKVYSTDVFFILEITD	Majority
121	ALKELPLLKFLGIFNTGLKMFDPDLTKVYSTDIFFFILEITD	HTSHR. PRO
121	ALKDLPLLKFLGIFNTGLRIFPDLTKVYSTDVFFILEITD	PTSHR. PRO
121	ALKELPLLKFLGIFNTGLRVFPDLTKIYSTDVFFILEITD	BTSHR. PRO
121	ALKELPLLKFLGIFNTGLGVFPDLTKVYSTDVFFILEITD	CTSHR. PRO
121	ALKELPLLKFLGIFNTGLGVFPDVTKVYSTDVFFILEITD	DTSHR. PRO
121	ALTELPLLKFLGIFNTGLRIFPDLTKIYSTDIFFFILEITD	MTSHR. PRO
121	ALTELPLLKFLGIFNTGLRIFPDLTKIYSTDVFFILEITD	RTSHR. PRO
121	ALKELPLLKFLGIFNTGLRVFPDLTKIYSTDVFFILEITD	STSHRP. PRO
	NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT	Majority
161	NPYMTSIPVNAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSVQGYAFNGT	HTSHR. PRO
161	NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSVQGHAFNGT	PTSHR. PRO
161	NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT	BTSHR. PRO
161	NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT	CTSHR. PRO
161	NPYMASIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT	DTSHR. PRO
161	NPYMTSVPENAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSVQGHAFNGT	MTSHR. PRO
161	NPYMTSVPENAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT	RTSHR. PRO
161	NPYMTSVPANAFQGLSNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT	STSHRP. PRO

图 1

	ATGAGGCCGACGCCCCCTGCTGCAGCTGGCGCTGCTTCTCG	Majority
1	ATGAGGCAGACGCCCCCTGCTGCAGCTGGCGTACTTCTCT	CAT.SEQ
1	ATGCGGCCGACGCCCCCTCCTGCGGCTGGCGCTGTTTCTGG	COW.SEQ
1	ATGAGGCCGCCCCCTGCTGCACCTGGCGCTGCTTCTCG	DOG.SEQ
1	ATGAGGCCAGGGTCCCTGCTGCTGCTGTTCTGCTGCTCG	MOUSE.SEQ
1	ATGAGTCTGACGCCCCCTGTTGCAGCTGGCGCTCGTTCTCG	PTSHR.SEQ
1	ATGAGGCCAGGGTCCCTGCTCCAGCTCACTCTGCTGCTCG	RAT.SEQ
1	ATGCGGCCGACGCCCCCTCCTGCGGTTGGCGCTGCTTCTGG	SHEEP.SEQ
1	ATGAGGCCGCGGACTTGCTGCAGCTGGTGCTGCTGCTCG	HTSHR.SEQ
	CCCTGCCCAGGAGCCTGGGGGGGAAGGGGTGTCCGTCTCC	Majority
41	CCCTGCCCAGGAGCCTGGGGGGGAAGGGGTGTCCGTCTCC	CAT.SEQ
41	TCCTGCCCAGCAGCCTCGGTGGGGAGAGGTGTCCGTCTCC	COW.SEQ
41	CCCTGCCCAGGAGCCTGGGGGGGAAGGGGTGTCCGTCTCC	DOG.SEQ
41	CCCTGTCCAGGAGCCTGCGGGGCAAAGAGTGTGCGTCTCC	MOUSE.SEQ
41	CCCTGCCCAGGAGCCTCAGGGGGAAAGGGGTGTCCGTCTCC	PTSHR.SEQ
41	CCCTGCCCAGGAGCCTCTGGGGCAGAGGTGTACTTCTCC	RAT.SEQ
41	TCCTGCCCAGCAGCCTCTGGGGGGAGAGGTGTCCGTCTCC	SHEEP.SEQ
41	ACCTGCCCAGGAGCCTGGGCGGAATGGGGTGTTCGTCTCC	HTSHR.SEQ
	GCCCTGCGAGTGCCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	Majority
81	GCCCTGCGAGTGTCCACCAGGAAGATGACTTCAGAGTCACC	CAT.SEQ
81	GCCCTGCGAATGCCGCCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	COW.SEQ
81	CCCCTGTGAGTGCCACCAGGAGGATGACTTCAGAGTCACC	DOG.SEQ
81	ACCCTGTGAGTGTCCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	MOUSE.SEQ
81	GCCCTGCGAATGCCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	PTSHR.SEQ
81	ACCCTGCGAATGCCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	RAT.SEQ
81	GCCCTGCGAATGCCGCCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	SHEEP.SEQ
81	ACCCTGCGAGTGCCATCAGGAGGAGACTTCAGAGTCACC	HTSHR.SEQ
	TGCAAGGATATCCACCGCATCCCCAGCTTACCGCCCAGCA	Majority
121	TGCAAGGATATTCACCGTATCCCCAGCCTACCGCCCAGCA	CAT.SEQ
121	TGCAAGGACATCCAGAGCATCCCTAGCTTACCCCCAGCA	COW.SEQ
121	TGCAAGGATATCCACCGCATCCCCACCCTACCACCCAGCA	DOG.SEQ
121	TGCAAGGAGCTCCACCGAATCCCCAGCCTGCCGCCAGCA	MOUSE.SEQ
121	TGCAAGGATATCCACAGCATCCCCCCTTACCACCCAATA	PTSHR.SEQ
121	TGCAAGGAATCCACCAAATCCCCAGCCTACCGCCCAGCA	RAT.SEQ
121	TGCAAGGACATCCAGCGCATCCCTAGCTTACCCCCAGCA	SHEEP.SEQ
121	TGCAAGGATATTCACGCATCCCCAGCTTACCGCCCAGTA	HTSHR.SEQ
	CGCAGACTCTGAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	Majority
161	CGCAGACTCTGAAATTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	CAT.SEQ
161	CGCAGACCCTGAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	COW.SEQ
161	CGCAGACTCTGAAGTTTATAGAGACTCAGCTGAAAACCAT	DOG.SEQ
161	CCCAGACTCTGAAGCTCATCGAGACTCATCTGAAGACCAT	MOUSE.SEQ
161	CTCAGACACTAAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	PTSHR.SEQ
161	CCCAGACTCTGAAGCTCATCGAGACTCACCTGAAGACCAT	RAT.SEQ
161	CGCAGACCCTGAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	SHEEP.SEQ
161	CGCAGACTCTGAAGCTTATTGAGACTCACCTGAGAACTAT	HTSHR.SEQ

图 2

	TCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	Majority
201	TCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	CAT.SEQ
201	TCCCAGTCGTGCGTTCTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	COW.SEQ
201	TCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	DOG.SEQ
201	ACCCAGTCCTTGCATTTTTCGAGTCTGCCCAATATTTCCAGG	MOUSE.SEQ
201	CCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	PTSHR.SEQ
201	TCCCAGTCCTTGCCTTTTTCGAGCCTGCCCAATATTTCCAGG	RAT.SEQ
201	TCCCAGTCGTGCGTTCTCAAATTTGCCCAATATTTCCAGG	SHEEP.SEQ
201	TCCAAGTCATGCATTTTCTAATCTGCCCAATATTTCCAGA	HTSHR.SEQ
	ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCGGCTGGAAT	Majority
241	ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCGACTGGAAT	CAT.SEQ
241	ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCAGCTGGAAT	COW.SEQ
241	ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCGGCTGGAAT	DOG.SEQ
241	ATCTATTTATCTATAGATGCAACTCTGCAGCGGCTGGAAC	MOUSE.SEQ
241	ATCTACCTGTCAATAGATGCAACTCTACAGCAGCTGGAAT	PTSHR.SEQ
241	ATCTATCTATCCATAGATGCCACTCTGCAGCGACTGGAGC	RAT.SEQ
241	ATCTACTTGTCAATAGATGCGACTTTGCAGCAACTGGAAT	SHEEP.SEQ
241	ATCTACGTATCTATAGATGTGACTCTGCAGCAGCTGGAAT	HTSHR.SEQ
	CACATTCCTTCTACAATTTG	Majority
281	CACATTCCTTCTACAATTTG	CAT.SEQ
281	CACATTCCTTCTACAATTTA	COW.SEQ
281	CACATTCCTTCTACAATTTA	DOG.SEQ
281	CACATTCTTTCTACAATTTG	MOUSE.SEQ
281	CACAGTCCTTCTACAATTTG	PTSHR.SEQ
281	CACATTCTTTCTACAATTTG	RAT.SEQ
281	CACATTCCTTCTACAATTTA	SHEEP.SEQ
281	CACACTCCTTCTACAATTTG	HTSHR.SEQ

图 2 续

	TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVYSGFTLLDVSYSVT	Majority
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVYSGPSLLDVSQTSVT	HTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVFSGPTLLDVSYSVT	PTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDQDAFAGVYSGPTLLDISYSVT	BTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDQDAFGGVYSGPTLLDVSYSVT	CTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLSAIDKDAFGGVYSGPTLLDVSYSVT	DTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDNDAFGGVYSGPTLLDVSSTSVT	MTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVYSGPTLLDVSSTSVT	RTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDQDAFAGVYSGPTLLDISYSVT	STSHRP. PRO
	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	Majority
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	HTSHR. PRO
240	ALPPKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	PTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLRKLPLSLSFLHLTRADLSY	BTSHS. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLTSLFLHLTRADLSY	CTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	DTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIAKDTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	MTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIAKNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	RTSHS. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	STSHRP. PRO
	PSHCCAFKNQKKIRGILESML	Majority
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESML	HTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESML	PTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILQSLM	BTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESEM	CTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESML	DTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESML	MTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESML	RTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKNIRGILQSLM	STSHRP. PRO

图 3

	TCTTACACCAGTGTCACTGCCCTTCCATCCAAAGGCCTGG	Majority
700	TCTTACACCAGTGTCACTGCCCTGCCATCCAAAGGCCTGG	CAT.SEQ
700	TCTTATACCAGTGTACAGCCCTACCATCCAAAGGCCTGG	COW.SEQ
700	TCTTACACCAGTGTACTGCCCTGCCATCCAAAGGCCTGG	DOG.SEQ
700	TCTTCCACCAGCGTCACTGCCCTTCCCTTCCAAAGGCCTGG	MOUSE.SEQ
700	TCTTATACCAGTGTACTGCCCTGCCACCCAAAGGCCTGG	PTSHR.SEQ
700	TCTTCCACCAGCGTACTGCTCTTCCCTTCCAAAGGCCTGG	RAT.SEQ
700	TCTTATACCAGTGTCACTGCCCTACCATCCAAAGGCCTGG	SHEEP.SEQ
700	TCTCAAACCAGTGTCACTGCCCTTCCATCCAAAGGCCTGG	HTSHR.SEQ
	AGCACCTGAAGGAACTGATACCAAGAAACACTTGGACTCT	Majority
740	AGCACCTGAAGGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	CAT.SEQ
740	AACACCTGAAGGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	COW.SEQ
740	AGCATCTAAAGGAGCTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	DOG.SEQ
740	AGCACCTCAAAGAACTGATCGCAAAGACACCTGGACTCT	MOUSE.SEQ
740	AACACCTGAAGGAACTGATAGCAAGAAATACTTGGACTCT	PTSHR.SEQ
740	AGCACCTCAAAGAGCTGATCGCAAGAAACACTTGGACTCT	RAT.SEQ
740	AACACCTGAAGGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	SHEEP.SEQ
740	AGCACCTGAAGGAACTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	HTSHR.SEQ
	AAAGAACTTCCACTTTCCTTGAGTTTCCCTTCCACCTCACA	Majority
780	AAAGAACTTCCACTTACCTTGAGTTTCCCTTCCACCTCACA	CAT.SEQ
780	AAGGAACTTCCCTTTCCTTGAGTTTCCCTTCCACCTCACA	COW.SEQ
780	AAAGAACTCCCACCTTTCCTTGAGTTTCCCTTCCACCTTACA	DOG.SEQ
780	CAAAAAGCTCCCGCTGTCGTTGAGTTTCCCTCCACCTCACT	MOUSE.SEQ
780	AAAGAACTTCCACTGTCTTGAGTTTCCCTTCCACCTCACA	PTSHR.SEQ
780	CAAAAAGCTCCCCCTGTCTTGAGCTTCCCTCCACCTCACT	RAT.SEQ
780	AAAGAACTTCCCTTTCCTTGAGTTTCCCTTCCACCTCACA	SHEEP.SEQ
780	TAAGAACTTCCACTTTCCTTGAGTTTCCCTTCCACCTCACA	HTSHR.SEQ
	CGGGCTGACCTTTCCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA	Majority
820	CGGGCTGACCTTTCCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA	CAT.SEQ
820	CGGGCTGACCTTTCCTTATCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTA	COW.SEQ
820	CGGGCTGACCTTTCCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA	DOG.SEQ
820	CGGGCTGACCTTCTTACCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTA	MOUSE.SEQ
820	CGAGCTGACCTTTCCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA	PTSHR.SEQ
820	CGGGCTGACCTTCTTACCCAAGTCACTGCTGTGCTTTTA	RAT.SEQ
820	CGGGCTGACCTTTCCTTATCCGAGCCACTGCTGTGCTTTTA	SHEEP.SEQ
820	CGGGCTGACCTTTCCTTACCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA	HTSHR.SEQ
	AGAATCAGAAGAAAATCAGACCAATCCTTGACTCTTTAAT	Majority
860	AGAATCAGAAGAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCCTTCAT	CAT.SEQ
860	AGAATCAGAAGAAAATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAAT	COW.SEQ
860	AGAATCAGAAGAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCCTTAAT	DOG.SEQ
860	AGAACCAGAAGAAAATCAGGGGAATCCTGGAGTCTTTGAT	MOUSE.SEQ
860	AGAATCAGAAGAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAAT	PTSHR.SEQ
860	AGAACCAGAAGAAAATCAGGGGAATCCTAGAGTCTTTGAT	RAT.SEQ
860	AGAATCAGAAGAAATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAAT	SHEEP.SEQ
860	AGAATCAGAAGAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCCTTGAT	HTSHR.SEQ

图 4

KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ Majority

250 KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ HTSHR. PRO
 250 KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ PTSHR. PRO
 250 KELIARNTWTLRKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ BTSHR. PRO
 250 KELIARNTWTLKKLPLTSLFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ CTSHR. PRO
 250 KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ DTSHR. PRO
 250 KELIAKNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ MTSHR. PRO
 250 KELIAKNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ RTSHR. PRO
 250 KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ STSHRP. PRO

KKIRGILESIMCNESSIRSLRQRKSVNALNGPFYQEYEEED Majority

290 KKIRGILESIMCNESSMQSLRQRKSVNALNSPLHQEYEEEN HTSHR. PRO
 290 KKIRGILESIMCNESSIRSLRQRKSVNAVNGPFYQEYEEED PTSHR. PRO
 290 KKIRGILQSLMCNESSIRGLRQRKSASALNGPFYQEYEDX BTSHS. PRO
 290 KKIRGILESIMCNESSIRSLRQRKSVNALNGPFDQEYEEY CTSHR. PRO
 290 KKIRGILESIMCNESSIRSLRQRKSVNTLNGPFDQEYEEY DTSHR. PRO
 290 KKIRGILESIMCNESSIRNLRQRKSVNLRGPIYQEYEEED MTSHR. PRO
 290 KKIRGILESIMCNESSIRNLRQRKSVNMRGPVYQEYEEG RTSHS. PRO
 290 KNIRGILQSLMCNESSIWGLRQRKSASALNGPFYQEYEEED STSHRP. PRO

LDGSSAGYKENS KFQDTHSN SHYVFFEEQEDEIIGFGQE Majority

330 LGDSIVGYKEKSKFQDTHNNAHYVFFEEQEDEIIGFGQE HTSHR. PRO
 330 LGDTSVGNKENS KFQDTHSN SHYVFFEEQEDEIIGFGQE PTSHR. PRO
 330 LGDGSAGYKENS KFQDTSNSHYVFFEEQEDEIIGFGQQ BTSHR. PRO
 330 LGDSHAGYKDNSKFQDTRSNSHYVFFEEQXDEILGFGQE CTSHR. PRO
 330 LGDSHAGYKDNSQFQDTSNSHYVFFEEQEDEILGFGQE DTSHR. PRO
 330 PGDNSVGYKQNSKFQESPSNSHYVFFEEQEDEVVGFGE MTSHR. PRO
 330 LGDNHVGYKQNSKFQEGPSNSHYVFFEEQEDEIIGFGQE RTSHR. PRO
 330 LGDGSAGYKENS KFQDTHSN SHYVFFEDQEDEIIGFGQE STSHRP. PRO

LKNPQEETLQAFD SHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE Majority

370 LKNPQEETLQAFD SHYDYTCGDS EDMVCTPKSDEFNPCE HTSHR. PRO
 370 LKNPQEETLQAFD SHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE PTSHR. PRO
 370 LKNPQEETLQAFD SHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE BTSHR. PRO
 370 LKNPQEETLQAFD SHYDYTVCGGNEDMVCTPKSDEFNPCE CTSHR. PRO
 370 LKNPQEETLQAFD SHYDYTVCGGNEDMVCTPKSDEFNPCE DTSHR. PRO
 370 LKNPQEETLQAFESHYDYTVCGDNEDMVCTPKSDEFNPCE MTSHR. PRO
 370 LKNPQEETLQAFD SHYDYTVCGDNEDMVCTPKSDEFNPCE RTSHR. PRO
 370 LKNPQEETLQAFDNHYDYTVCGGSEEMVCTPKSDEFNPCE STSHRP. PRO

DIMGYKFLRIVVWFVSL LALLGNVFVLVILLTSHYKLTVP Majority

410 DIMGYKFLRIVVWFVSL LALLGNVFVL LILLTSHYKLNVP HTSHR. PRO
 410 DIMGYRFLRIVVWFVSL LALLGNVFVLVILLTSHYKLTVP PTSHR. PRO
 410 DIMGYKFLRIVVWFVSL LALLGNVFVLVILLTSHYKLTVP BTSHR. PRO
 410 DIMGYKFLRIVVWFVSL LALLGNVFLIILLTSHYKLTVP CTSHR. PRO
 410 DIMGYKFLRIVVWFVSL LALLGNVFLIVLLTSHYKLTVP DTSHR. PRO
 410 DIMGYRFLRIVVWFVSL LALLGNIFVLLILLTSHYKLTVP MTSHR. PRO
 410 DIMGYKFLRIVVWFVSPMALLGNVFVLVILLTSHYKLTVP RTSHR. PRO
 410 DIMGYKFLRIVVWFVSL LALLGNVFVLVILLTSHYKLTVP STSHRP. PRO

图 5

	GGA ACTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAAACTT	Majority
750	GGA ATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAAACTT	CAT .SEQ
750	GGA ATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAGGAAACTT	COW .SEQ
750	GG AGCTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAAACTC	DOG .SEQ
750	AGA ACTGATCGCAAAAGACACCTGGACTCTCAAAAAGCTC	MOUSE .SEQ
750	GGA ACTGATAGCAAGAAATACTTGGACTCTAAAGAAACTT	PTSHR .SEQ
750	AGA GCTGATCGCAAGAACACCTGGACTCTCAAAAAGCTC	RAT .SEQ
750	GGA ATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAAACTT	SHEEP .SEQ
750	GGA ACTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTTAAGAAACTT	HTSHR .SEQ
	CCACTTTCC TTGAGTTTCCCTCACCTCACACGGGCTGACC	Majority
790	CCACTTAC TTGAGTTTCCCTCACCTCACACGGGCTGACC	CAT .SEQ
790	CCTCTTTCC TTGAGTTTCCCTCACCTCACACGGGCTGACC	COW .SEQ
790	CCACTTTCC TTGAGTTTCCCTCACCTTACACGGGCTGACC	DOG .SEQ
790	CCGCTGTCG TTGAGTTTCCCTCCACCTCACTCGGGCTGACC	MOUSE .SEQ
790	CCACTGTCC TTGAGTTTCCCTCACCTCACACGAGCTGACC	PTSHR .SEQ
790	CCCCTGTCC TTGAGTTTCCCTCCACCTCACTCGGGCTGACC	RAT .SEQ
790	CCTCTTTCC TTGAGTTTCCCTCACCTCACACGGGCTGACC	SHEEP .SEQ
790	CCACTTTCC TTGAGTTTCCCTCACCTCACACGGGCTGACC	HTSHR .SEQ
	TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	Majority
830	TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	CAT .SEQ
830	TTTCTTATCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTAAGAATCAGAA	COW .SEQ
830	TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	DOG .SEQ
830	TCTCTTACCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTAAGAACCAGAA	MOUSE .SEQ
830	TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	PTSHR .SEQ
830	TCTCTTACCCAGTCACTGCTGTGCTTTTAAGAACCAGAA	RAT .SEQ
830	TTTCTTATCCGAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	SHEEP .SEQ
830	TTTCTTACCCAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	HTSHR .SEQ
	GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAATGTGTAATGAG	Majority
870	GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTCATGTGTAATGAG	CAT .SEQ
870	GAAAATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAATGTGTAACGAG	COW .SEQ
870	GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAATGTGTAATGAA	DOG .SEQ
870	GAAAATCAGGGGAATCCTGGAGTCTTTGATGTGTAATGAG	MOUSE .SEQ
870	GAAAGATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAATGTGTAATGAG	PTSHR .SEQ
870	GAAAATCAGGGGAATCCTAGAGTCTTTGATGTGTAATGAG	RAT .SEQ
870	GAAATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAATGTGTAACGAG	SHEEP .SEQ
870	GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTGATGTGTAATGAG	HTSHR .SEQ
	AGCAGTATTCGGAGCCTGCGTCAGAGAAAATCTGTGAATG	Majority
910	AGCAGTATTCGGAGCCTGCGTCAGAGAAAATCTGTGAATG	CAT .SEQ
910	AGCAGTATTCGGGGCCTGCGTCAGAGAAAATCCGCAAGTG	COW .SEQ
910	AGCAGTATTCGGAGCCTGCGCCAGAGAAAATCTGTGAATA	DOG .SEQ
910	AGCAGTATCCGGAACCTTCGTCAAAGGAAATCAGTGAACA	MOUSE .SEQ
910	AGCAGTATTCGGAGCCTGCGTCAGAGAAAATCTGTGAATG	PTSHR .SEQ
910	AGTAGTATCCGGAACCTGCGTCAAAGAAAGTCAAGTGAACG	RAT .SEQ
910	AGCAGTATTTGGGGCCTGCGTCAGAGAAAATCCGCGAGTG	SHEEP .SEQ
910	AGCAGTATGCAGAGCTTGCGCCAGAGAAAATCTGTGAATG	HTSHR .SEQ

图 6

	CTTTGAATGGTCCCTTCTACCAGGAATATGAAGAGGATCT	Majority
950	CTTTGAATGGTCCCTTCGACCAGGAATATGAAGAGTATCT	CAT.SEQ
950	CTTTGAATGGTCCCTTCTACCAGGAATATGAGGATNNNCT	COW.SEQ
950	CTTTGAATGGCCCCTTTGACCAGGAATATGAAGAGTATCT	DOG.SEQ
950	TC TTGAGGGTCCCATCTACCAGGAATATGAAGAAGATCC	MOUSE.SEQ
950	CTGTAAATGGTCCCTTTTACCAAGAATATGAAGAGGATCT	PTSHR.SEQ
950	TCATGAGGGTCCCGTCTACCAGGAATATGAAGAAGGTCT	RAT.SEQ
950	CTTTGAATGGTCCCTTCTACCAGGAATATGAAGAGGATCT	SHEEP.SEQ
950	CC TTGAATAGCCCCCTCCACCAGGAATATGAAGAGAATCT	HTSHR.SEQ
	GGGTGACAGCAGTGTTGGGTACAAGGAAAAC TCCAAGTTC	Majority
990	AGGTGACAGCCATGCTGGATATAAGGACAACTCTAAGTTC	CAT.SEQ
990	GGGTGATGGCAGTGCTGGGTACAAGGAGAACTCCAAGTTC	COW.SEQ
990	GGGTGACAGCCATGCTGGGTACAAGGACAACTCTCAGTTC	DOG.SEQ
990	GGGTGACAACAGTGTTGGGTACAAACAAAAC TCCAAGTTC	MOUSE.SEQ
990	GGGCGACACGAGTGTTGGGAATAAGGAAAAC TCCAAGTTC	PTSHR.SEQ
990	GGGTGACAACCATGTTGGGTACAAACAAAAC TCCAAGTTC	RAT.SEQ
990	GGGTGATGGCAGTGCTGGGTACAAGGAGAACTCCAAGTTC	SHEEP.SEQ
990	GGGTGACAGCATTGTTGGGTACAAGGAAAAG TCCAAGTTC	HTSHR.SEQ
	CAGGATACCCATAGCAACTCTCATTATTATGTCTTCTTTG	Majority
1030	CAGGATACTCGCAGCAACTCTCATTATTATGTCTTCTTTG	CAT.SEQ
1030	CAAGATACCCAAAGCAACTCTCATTACTATGTCTTCTTTG	COW.SEQ
1030	CAGGATACCCATAGCAATTCTCATTATTATGTCTTCTTCG	DOG.SEQ
1030	CAGGAGAGCCCAAGCAACTCTCACTATTACGTCTTCTTTG	MOUSE.SEQ
1030	CAGGATACCCATAGCAACTCCCATTA TACGTCTTCTTTG	PTSHR.SEQ
1030	CAGGAGGGCCCAAGCAACTCTCACTATTACGTCTTCTTTG	RAT.SEQ
1030	CAAGATACCCACAGCAACTCTCATTACTATGTCTTCTTTG	SHEEP.SEQ
1030	CAGGATACTCATAACAACGCTCATTATTACGTCTTCTTTG	HTSHR.SEQ
	AAGAACAAGAGGATGAGATCATTGGTTTTGG	Majority
1070	AAGAACAANNNGACGAGATCCTTGGTTTTGG	CAT.SEQ
1070	AGGAGCAAGAAGATGAGATCATCGGTTTTGG	COW.SEQ
1070	AAGAACAAGAAGATGAGATCCTCGGTTTTGG	DOG.SEQ
1070	AAGAACAAGAGGATGAGGTCGTTGGTTTCGG	MOUSE.SEQ
1070	AAGAACAAGAGGATGAGATCATTGGTTTTGG	PTSHR.SEQ
1070	AAGAACAAGAGGACGAGATCATCGGTTTCGG	RAT.SEQ
1070	AGGATCAAGAAGATGAGATCATCGGTTTTGG	SHEEP.SEQ
1070	AAGAACAAGAGGATGAGATCATTGGTTTTGG	HTSHR.SEQ

图 6 续

	SHYYVFFEEQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV	Majority
750	AHYYVFFEEQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTI	CAT.SEQ
750	SHYYVFFEEQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV	COW.SEQ
750	SHYYVFFEEQEDEIIGFGQQLKNPQEETLQAFDSHYDYTV	DOG.SEQ
750	SHYYVFFEEQXDEILGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV	MOUSE.SEQ
750	SHYYVFFEEQEDEILGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV	PTSHR.SEQ
750	SHYYVFFEEQEDEVVGFQELKNPQEETLQAFESHYDYTV	RAT.SEQ
750	SHYYVFFEEQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV	SHEEP.SEQ
750	SHYYVFFEDQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDNHYDYTV	HTSHR.SEQ
	CGGSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	Majority
790	CGDSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	CAT.SEQ
790	CGGSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYRFLRIVVWFVSLAL	COW.SEQ
790	CGGSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	DOG.SEQ
790	CGGNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	MOUSE.SEQ
790	CGGNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	PTSHR.SEQ
790	CGDNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYRFLRIVVWFVSLAL	RAT.SEQ
790	CGDNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSPMAL	SHEEP.SEQ
790	CGGSEEMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	HTSHR.SEQ
	LGNVFVLVILLTSHYKLTVPRFLMCNLAFAFCMGMYLLL	Majority
830	LGNVFVLLILLTSHYKLVPRFLMCNLAFAFCMGMYLLL	CAT.SEQ
830	LGNVFVLVILLTSHYKLTVPRFLMCNLAFAFCMGMYLLL	COW.SEQ
830	LGNVFVLVILLTSHYKLTVPRFLMCNLAFAFCMGLYLLL	DOG.SEQ
830	LGNVFVLIILLTSHYKLTVPRFLMCNLAFAFCMGMYLLL	MOUSE.SEQ
830	LGNVFVLIIVLLTSHYKLTVPRFLMCNLAFAFCMGMYLLL	PTSHR.SEQ
830	LGNIFVLLILLTSHYKLTVPRFLMCNLAFAFCMGVYLLL	RAT.SEQ
830	LGNVFVLFVLLTSHYKLTVPRFLMCNLAFAFCMGVYLLL	SHEEP.SEQ
830	LGNVFVLVILLTSHYKLTVPRFLMCNLAFAFCMGLYLLL	HTSHR.SEQ
	IASVDLYTHSEYYNHAIWQTGPGCNTAGFF	Majority
870	IASVDLYTHSEYYNHAIWQTGPGCNTAGFF	CAT.SEQ
870	IASVDLYTQSEYYNHAIWQTGPGCNTAGFF	COW.SEQ
870	IASVDLYTQSEYYNHAIWQTGPGCNTAGFF	DOG.SEQ
870	IASVDLYTHSEYYNHAIWQTGPGCNAAGFF	MOUSE.SEQ
870	IASVDLYTHSEYYNHAIWQTGPGCNTAGFF	PTSHR.SEQ
870	IASVDLYTHSEYYNHAIWQTGPGCNTAGFF	RAT.SEQ
870	IASVDLYTHTEYYNHAIWQTGPGCNTAGFF	SHEEP.SEQ
870	IASVDLYTQSEYYNHAIWQTGPGCNTAGFF	HTSHR.SEQ

图 7

GCCAAGAGCTCAAAAACCCCCAGGAAGAGACCCCTCCAGGC Majority

700 GCCAGGAGCTTAAAAACCCACAAGAAGAGACCCCTACAGGC CAT.SEQ
700 GCCAACAGCTCAAAAACCCCCAGGAGGAGACCCCTGCAGGC COW.SEQ
700 GGCAGGAGCTTAAAAACCCACAGGAAGAGACCCCTCCAGGC DOG.SEQ
700 GCCAAGAGCTCAAAAATCCTCAGGAAGAGACTCTCCAAGC MOUSE.SEQ
700 GCCAAGAGCTCAAAAACCCCCAGGAAGAGACCCCTCCAGGC PTSHR.SEQ
700 GCCAAGAGCTCAAAAATCCTCAGGAAGAGACTCTCCAAGC RAT.SEQ
700 GCCAAGAGCTTAAAAACCCCCAGGAGGAGACCCCTGCAGGC SHEEP.SEQ
700 GCCAGGAGCTCAAAAACCCCCAGGAAGAGACTCTACAAGC HTSHR.SEQ

CTTTGACAGCCATTATGACTACACCGTGTGTGCGGGGCAGT Majority

740 CTTCGATAGCCATTATGACTACACTGTGTGTGGAGGCAAT CAT.SEQ
740 CTTTGACAGCCATTACGACTATAACCGTGTGTGGGGGCAGT COW.SEQ
740 CTTTGATAGCCATTATGACTACACTGTGTGTGGTGGCAAT DOG.SEQ
740 CTTCGAGAGCCACTATGACTACACGGTGTGTGGGGACAAC MOUSE.SEQ
740 CTTTGACAGCCATTACGACTACACCGTGTGTGGGGGCAGT PTSHR.SEQ
740 CTTCGACAGCCACTATGACTACACTGTGTGTGGGGACAAC RAT.SEQ
740 CTTTGACAACCATTACGACTATAACCGTGTGCGGGGGGAGT SHEEP.SEQ
740 TTTTGACAGCCATTATGACTACACCATATGTGGGGACAGT HTSHR.SEQ

GAGGACATGGTGTGTACCCCAAGTCAGATCAGTTCAACC Majority

780 GAAGACATGGTGTGTACTCCCAAGTCAGATGAGTTCAACC CAT.SEQ
780 GAGGACATGGTGTGTACCCCAAGTCGGATGAGTTCAACC COW.SEQ
780 GAAGACATGGTGTGTACTCCTAAGTCAGATGAGTTCAACC DOG.SEQ
780 GAGGACATGGTGTGTACCCCAAGTCGGACGAGTTAACC MOUSE.SEQ
780 GAAGACATGGTGTGCACCCCAAGTCAGATGAGTTCAACC PTSHR.SEQ
780 GAGGACATGGTGTGTACCCCAAGTCAGACGAGTTAACC RAT.SEQ
780 GAGGAGATGGTGTGTACCCCAAGTCGGATGAGTTCAACC SHEEP.SEQ
780 GAAGACATGGTGTGTACCCCAAGTCCGATGAGTTCAACC HTSHR.SEQ

CCTGTGAAGACATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT Majority

820 CCTGTGAAGACATAATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT CAT.SEQ
820 CCTGTGAGGACATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATCGT COW.SEQ
820 CCTGTGAAGACATAATGGGCTACAAGTTCCTGAGGATTGT DOG.SEQ
820 CCTGTGAAGATATCATGGGCTACAGGTTTCCTGAGAATCGT MOUSE.SEQ
820 CCTGTGAAGACATAATGGGCTACAGGTTTCCTGAGAATCGT PTSHR.SEQ
820 CCTGTGAAGATATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATCGT RAT.SEQ
820 CCTGTGAGGACATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT SHEEP.SEQ
820 CGTGTGAAGACATAATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT HTSHR.SEQ

GGTGTGGTTTGTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC Majority

860 GGTGTGGTTTGTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC CAT.SEQ
860 GGTGTGGTTTGTGAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAACGTC COW.SEQ
860 GGTGTGGTTTGTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC DOG.SEQ
860 GGTGTGGTTTGTGAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATATC MOUSE.SEQ
860 GGTGTGGTTCGTTAGCCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC PTSHR.SEQ
860 GGTATGGTTTGTGAGTCCGATGGCTCTCCTGGGCAACGTC RAT.SEQ
860 GGTGTGGTTTGTGAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAACGTC SHEEP.SEQ
860 GGTGTGGTTCGTTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC HTSHR.SEQ

图 8

4D7 - HC

DVQLKHSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLEWIGL
 INPYTGGTNYNQKFKGKAKLTVDKSSSTAFMELLSLTSEDSAVYYCARDG
 NLDYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE
 PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVA
 HPASKTKVD

图 9

4D7 - HC

DVQLKHS GPELVKPG ASMKISCKASGYSFT GYTMN WVKQSHGKNLEWIG L	50
PCR 引物	CDR I
INPYTGGTNYNQKFKG KAKLTVDKSSSTAFMELLSLTSEDSAVYYCARDG	100
CDR II	CDR III
NLDYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE	150
恒定区	
PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVA	200
HPASKTKVD	209
PCR 引物	

图 10

4D7 - LC

SIVMSQSPASLAVSLGQRATISCRASETVDNYGFSFMHWFQQIPGQPPKL
 LIYAASNQSGVPARFSGSGGTD~~DFSLNIHPMEEDDTAMYFCQOSKEVPY~~
 TFGGGTKLEIKRADAAPT~~VSI~~FPPSSEQLTSGGASVVCFLN~~NFY~~PKDINV
 KWKIDG~~SERQ~~NGVLNSWTDQDSK~~DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA~~
 THKTSTSPIVKSFNRNEC

图 11

4D7 - LC

<u>SIVMSQSPASLAVSLGORATISCRASETVDNYGFSEMHWFQQIPGQPPKL</u>	50
PCR 引物	CDR I
LIY <u>AASNOGS</u> GVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFC <u>QOSKEVBY</u>	100
	CDR II CDR III
<u>T</u> FGGGTKLEIKRADAAPT V SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDIN V	150
	恒定区
KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA	200
<u>THKTSTSPIVKSFN</u> NEC	218
	PCR 引物

图 12

16E5 - HC

DVQLVQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFTGYNMHWKQSHGKSLEWIGY
 IDPYNGATSYNQKFEDKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRW
 DWDPYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK
 GYFPEPVTTLTWNISGLSSGVHTSPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI
 TCNVAHPASKTKVD

图 13

16E5 - HC

DVQLVQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFT	GYNMH	WVKQSHGKSLEWIGY	50
PCR 引物	CDR I		
IDPYNGATSYNOKFED	KATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCAR	RW	100
CDR II			
DWDEYAMDY	WGQGTSVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTS	SGSSVTLGCLVK	150
CDR III	恒定区		
GYFPEPVTTLTWNSGSLSSGVHTSPA	VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI		200
TCNVAHPASKTKVD			214
PCR 引物			

图 14

16E5 - LC

DILLTQSPAILSVPGERVSFSCRASQSIGTSHWYQORTNGSPRLLIKY
 ASESISGIFSRFSGSGSGTDFTLTINSVESEDIADYCYCQQSNRWPLTFGA
 GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNRFYPKDINVKWKI
 DGSERQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKT
 STSPIVKSFNREK

图 15

16E5 - LC

DILLTOSPAILSVSPGERVVSFSC	<u>CRASQSIGTSTHWY</u>	QQRTNGSPRLLIK	50
PCR 引物	CDR I		
<u>ASESIS</u>	GIFSRFSGSGSGTDFTLTINSVESEDIADYYC	<u>QOSNRWPLI</u>	100
CDR II		CDR III	
GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI			150
恒定区			
DGSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKT			200
<u>STSPIVKSFNRNEC</u>			214
PCR 引物			

图 16

17D2 - HC

DVQIQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFTAYNMHWVKQTHGKSLEWIGY
 IDPYSGATSYHQKFKGKATLTVDKSSSTAYMRLNSLTSEDSAVYYCARRW
 DWDPYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVK
 GYFPESVTVTWNSGSLSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSAWPSQTV
 TCSVAHPASNTTVD

图 17

17D2 - HC

DVQIQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFTAYNMEHWVKQTHGKSLEWIGY	50
PCR 引物	CDR I
IDPYSCATS YHQKEKG KATLTVDKSSSTAYMRLNSLTSEDSAVYYCAR RW	100
	CDR II
DWD PYAMDY WGQGTSVTVSSAKTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVK	150
CDR III	恒定区
GYFPESVTVTWN SGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSSAWPSQTV	200
<u>TCSVAHPASNTTVD</u>	214
PCR 引物	

图 18

17D2 - LC

SVEMSQSPAILSVSPGERISFSCRASQSIGTSHWYQORTNGSPRLLIK
 ASASISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYQCQNSWPLTFGA
 GTKLELKRADAAPT~~VSI~~FPPSSEQLTSGGASVVCFLN~~FYPKDINVKW~~
 DGSERQNGVLNSWTDQDSK~~DSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKT~~
 STSPIVKS~~FNRNEC~~

图 19

17D2 - LC

SVEMSQSPAILSVPGERISFSC	RASOSTGTSIH	HWYQRTNGSPRLLIK	50
PCR 引物	CDR I		
ASASIS	GIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC	QOSNSWPLIFGA	100
CDR II		CDR III	
GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI			150
恒定区			
DGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKT			200
STSPIVKSFNRNEC			214
PCR 引物			

图 20

14D3 - HC

DVQMQQPGPELVKPGASLKMSCKASGYSFTGYNMHWVKQSHGKSLEWIGY
 IDPYSGATSYNQKFEGKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRW
 DWDPYAMDYWGQTSVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK
 GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI
 TCNVAHPASNTKVD

图 21

14D3 - HC

DVQMOQPGPELVKPGASLKMSCKASGYSFT	GYNMHWVKQSHGKSLEWIGY	50
PCR 引物	CDR I	
EDPYSGATSYNOKEEG	KATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCAR	100
CDR II		
DNDPYAMDY	WGQGTSVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK	150
CDR III	恒定区	
GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI		200
TCNVAHPASNTKVD		214
PCR 引物		

图 22

14D3 - LC

NILMTQSPAILSVPGERVVFACRASQSIGTSHWYQQRTNGSPRLLIK
 ASESISGIPSRFSGSGGTDFTLSINSVESEDIADYQCQOTNRWPLTFGA
 GTKLELKRADAAPTVISIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNMFYPKDINVKWKI
 DGSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKT
 STSPIVKSEFNRNEC

图 23

14D3 - LC

NILMTQSPAILSVPGERVSFACRASQSIGTSLHWYQORTNGSPRLLIK _Y	50
PCR 引物	CDR I
ASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQOTNRWELT _F FGA	100
CDR II	CDR III
GTKLELKRADAAPT _V SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI	150
恒定区	
DGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTC _E ATHKT	200
STSPIVKSEFNRNEC	214
PCR 引物	

图 24

4D7 - HC

gacgtccagctgaagcactcaggacctgagctgggtgaagcctggagcttc
 aatgaagatatcctgtaaggcttctgggtactcattcactggctacacca
 tgaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattggactt
 attaatccttacactgggtggtactaactacaaccagaagttcaagggcaa
 ggccaaattaactgtagacaagtcattccagcacagccttcatggagctcc
 tcagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagagatgggt
 aaccttgactactggggccaaggcaccactctcacagtctcctcagccaa
 aacgacacccccatctgtctatccactggcccctggatctgctgccaaa
 ctaactccatgggtgaccctgggatgcctgggtcaagggctatctcctgag
 ccagtgacagtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacac
 cttcccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtga
 ctgtcccctccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacgttgcc
 caccagccagcaagaccaaggtcgac

图 25

4D7 - HC

<u>gacgtccagctgaagcactcaggacctgagctggtgaagcctggagcttc</u>	50
PCR 引物	
aatgaagatatcctgtaaggcttctggttactcattcactggtacacca	100
CDR I	
tgaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattgga	150
ctt	
atfaatccttacactgggtggtactaactacaaccagaagttcaagggc	200
aa	
CDR II	
ggccaaattaactgtagacaagtcacccagcacagccttcatggagctcc	250
tcagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaaga	300
gatggt	
CDR III	
aacctgactactggggccaaggcaccactctcacagtctcctcagccaa	350
aacgacacccccatctgtctatccactggccctggatctgtgccc	400
aaa	
恒定区	
ctaactccatgggtgaccctgggatgcctgggtcaagggctatttcctgag	450
ccagtgacagtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacac	500
cttcccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtga	550
ctgtcccctccagcacctggcccagcagaccgtcacctgcaacgttgcc	600
caccagccagcaagaccaaggtcgac	627
PCR 引物	

图 26

4D7 - LC

agcattgtgatgtcacagtcgccagcttctttggctgtgtctctagggca
gagggccaccatctcctgcagagccagcgaaactgttgataattatggct
ttagttttatgcactgggtccaacagataccgggacagccacccaaactc
ctcatctatgctgcatccaaccaaggatccgggggtccctgccaggtttag
tggcagtgggtctgggacagacttcagcctcaacatccatcctatggagg
aggatgatactgcaatgtatcttctgtcagcaaagtaaggagggtccgtac
acgttcggaggggggaccaagctggaaataaaacgggctgatgctgcacc
aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtg
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc
aagtggaagattgatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctca
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc
actcacaagacatcaacttcaccattgtcaagagcttcaacaggaatga
gtgt

图 27

4D7 - LC

<u>agcattgtgatgtcacagtcgccagcttctttggctgtgtctctagggca</u>	50
PCR 引物	
gagggccaccatctcctgcagagccagcgaactgttgataatgatggct	100
CDR I	
ttagttttatgcactgggtccaacagataccgggacagccacccaaactc	150
ctcatctatggctgcatccaaccaaggatccggggtcctgccaggtttag	200
CDR II	
tggcagtgggtctgggacagacttcagcctcaacatccatcctatggagg	250
aggatgatactgcaatgtatctctgtcagcaaaagtaaggagggtccgtac	300
CDR III	
acgttcggaggggggaccaagctggaaataaaaacgggctgatgctgcacc	350
恒定区	
aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtg	400
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc	450
aagtggaagattgatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg	500
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacctca	550
cgttgaccaaggacgagta tgaacgacataacagctatacctgtgaggcc	600
actcacaagacatcaacttcaccattgtcaagagcttcaacaggaatga	650
PCR 引物	
gtgt	654

图 28

16E5 - HC

```
gacgtccagttggtgcaatctggacctgagctggtgaagcctggagcttc  
agtgaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaaca  
tgactgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattgggtat  
attgatccttacaatggtgctactagctacaaccagaaattcgaggacia  
ggccacattgactgtagacaaatcttccagcacagcctacatgcagctca  
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg  
gactgggacccttatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcac  
cgtctcctcagccaaaacaacagcccatcgggtctatccactggccctg  
tgtgtggagatacaagtggctcctcgggtgactctaggatgcctggtcaag  
ggttatttccctgagccagtgaccttgacctggaactctggatccctgtc  
cagtgggtgtgcacacctccccagctgtcctgcagtctgacctctacacc  
tcagcagctcagtgactgtaacctcgagcacctggcccagccagtcctc  
acctgcaatgtggcccacccggccagcaagaccaaggtcgac
```

图 29

16E5 - HC

gacgtccagttggtgcaatctggacctgagctggtgaagcctggagcttc 50
 PCR 引物

agtgaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaaca 100
 CDR I

tgcactgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattgggtat 150

attgatcettacaatggtgctactagctacaaccagaaattcgaggacaa 200
 CDR II

ggccacattgactgtagacaaatcttcagcacagcctacatgcagctca 250

acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg 300
 CDR III

gactgggaccttatgctatggactactgggggtcaaggaacctcagtcac 350

cgtctcctcagccaaaacaacagcccatcgggtctatccactggccctg 400
 恒定区

tgtgtggagatacaagtggctcctcggtgactctaggatgcctgggtcaag 450

ggttatttcctgagccagtgaccttgacctggaactctggatccctgtc 500

cagtgggtgtgcacacctccccagctgtcctgcagtctgacctctacacc 550

tcagcagctcagtgactgtaacctcgagcacctggcccagccagtcctc 600

acctgcaatgtggcccacccggccagcaagaccaaggtcgac 642
 PCR 引物

图 30

16E5 - LC

```
gacatcttgctgactcagtcctccagccatcctgtctgtgagtccaggaga  
aagagtcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac  
actggatcagcaaagaacaaatgggttctccaaggcttctcataaagtat  
gcttctgagtcctctctgggatattttctaggtttagtggcagtgatc  
agggacagattttactcttaccatcaacagtgaggagtctgaagatattg  
cagattactgtcaacaaagtaataggtggccgctcacgttcggagct  
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat  
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt  
gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt  
gatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga  
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacctcacgttgaccaagg  
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca  
tcaacttcaccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtg
```

图 31

16E5 - LC

gacatcttgctgactcagttccagccatcctgtctgtgagtcaggaga 50
 PCR 引物

aagagtcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac 100

CDR I

actggatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcataaagtat 150

gcttctgagtcacatctctgggatattttctaggttagtggcagtgatc 200
 CDR II

agggacagattttactcttaccatcaacagtgaggagctgaagatattg 250

cagattactgtcaacaaagtaataggtggccgctcacgttcggagct 300
 CDR III

gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat 350
 恒定区

cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt 400

gcttcttgaacaacttctaccccaagacatcaatgtcaagtggaagatt 450

gatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga 500

cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacctcacgctgaccaagg 550

acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca 600

tcaacttcaccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt 642
 PCR 引物

图 32

17D2 - HC

```
gacgtccagatccagcagtctgggcctgagctggtgaagcctggagcttc  
agtgaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactgcctacaaca  
tgactgggtgaagcagacccatggaaagagccttgagtggattggttat  
attgatccttacagtggtgctactagctaccaccagaaattcaagggcaa  
ggccacattgactggtgacaaatcttcagcacagcctacatgcgctca  
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg  
gactgggacccttatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcac  
cgtctcctcagccaaaacaacacccccatcagtctatccactggcccctg  
ggtgtggagatacaactggttccctccgtgactctgggatgcctggtcaag  
ggctacttccctgagtcagtgactgtgacttggaaactctggatccctgtc  
cagcagtggtgcacaccttcccagctctcctgcagtctggactctacacta  
tgagcagctcagtgactgtccctccagcgcctggccaagtcagaccgtc  
acctgcagcgttgctcaccggccagcaacaccacgggtcgac
```

图 33

17D2 - HC

<u>gacgtccagatccagcagtcctgggcctgagctggggaagcctggagcttc</u>	50
PCR 引物	
agtgaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactgcctacaaca	100
CDR I	
tgcactgggtgaagcagaccatggaaagagccttgagtggattggttat	150
atgatcccttacagtggtgctactagctaccaccagaaattcaagggc	200
CDR II	
ggccacattgactggtgacaaatcttccagcacagcctacatgcgccctca	250
acagcctgacatctgaggactctgcagtcctattactgtgcaagaagatgg	300
gactgggacccttatgctatggactactgggggtcaaggaacctcagtcac	350
CDR III	
cgtctcctcagccaaaacaacacccccatcagtcctatccactggccctg	400
恒定区	
gggtgtggagatacaactggttcctcctgactctgggatgacctgggtcaag	450
ggctacttcctgagtcagtcagtcgactgtgacttggaaactctggatccctgtc	500
cagcagtggtgacaccttcccagctctcctgagtcctggactctacacta	550
tgagcagctcagtcgactgtccctccagcgcctggccaagtcagaccgtc	600
acctgcagcgttgctcaccggccagcaacaccacgggtcgac	642
PCR 引物	

图 34

17D2 - LC

```
agcgttgagatgtcacagtcgccagccatcctgtctgtgagtccaggaga  
aagaatcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac  
actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcattaagtat  
gcttctgcgtctatctctgggatcccttccaggtttagtggcagtgatc  
agggacagatcttactcttagcatcaacagtgaggagtctgaagatattg  
cagattactgtcaacaagtaatagctggccgctcacgttcgggtgct  
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat  
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt  
gcttcttgaacaacttctaccocaaagacatcaatgtcaagtggaagatt  
gatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga  
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacctcacgttgaccaagg  
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacagaca  
tcaacttcaccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt
```

图 35

17D2 - LC

agcgttgagatgtcacagtcgccagccatcctgtctgtgagtccaggaga 50
 PCR 引物

aagaatcagtttctcctgcaaggccaagtcagagcaattgggacaagcaaac 100
 CDR I

atgggtatcagcaaagaacaaatgggttctccaaggcttctcattaagtat 150

ccttcctgctctctcctctctgggatcccttcaggttttagtggcagtgatc 200
 CDR II

agggacagattttactcttagcatcaacagtgaggagtctgaagatattg 250

cagattattactgtcaacaaagtaataagctggccctcaccgttcgggtgct 300
 CDR III

gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat 350
 恒定区

ctcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtgcctcagtcgtgt 400

gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtgaagatt 450

gatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga 500

cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg 550

acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca 600

tcaacttcaccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtggt 642
 PCR 引物

图 36

14D3 - HC

gacgtccagatgcagcagcctgggcctgagctggtgaagcctggagcttc
actaaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaaca
tgactgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattggatat
attgatccttacagtgggtgctactagctacaaccagaaattcgagggcaa
ggccacattgactgtagacaaatcttccagcacagcctacatgcagctca
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg
gactgggacccttatgctatggactactggggcaaggaacctcagtcac
cgtctcctcagccaaaacaacagccccatcgggtctatccactggccctg
tgtgtggagatacaagtggctcctcggtgactctaggatgctgggtcaag
ggttatttccctgagccagtgcacttgacctggaactctggatccctgtc
cagtggtgtgcacaccttccagctgtcctgcagtctgacctctacacc
tcagcagctcagtgactgtaacctcgagcacctggcccagccagtcctc
acctgcaatgtggcccaccagccagcaacaccaaggtcgac

图 37

14D3 - HC

<u>gacgtccagatgcagcagcctgggcctgagctggtgaagcctggagcttc</u>	50
PCR 引物	
actaaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcact	100
ggctacaaca	
CDR I	
ggcactgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattgga	150
cat	
atgatccctacagtggtgctactagctacaaccagaatccgaggccaa	200
CDR II	
ggccacattgactgtagacaaatcttccagcacagcctacatgcagctca	250
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaaga	300
agatgg	
CDR III	
gagcggagcccttatgctatggactaatgggggtcaaggaacctcagtcac	350
cgtotcctcagccaaaacaacagccccaatcggtctatccactggcccctg	400
恒定	
tgtgtggagatacaagtggctcctcggtgactctaggatgectggtcaag	450
ggttatttcctgagccagtgaccttgacctggaactctggatccctgtc	500
cagtgggtgtgcacaccttcccagctgtcctgcagtctgacctctacaccc	550
tcagcagctcagtgactgtaacctcgagcacctggcccagccagtcctc	600
acctgcaatgtggcccacccagccagcaacaccaaggtcgac	642
PCR 引物	

图 38

14D3 - LC

aacattctgatgacacagtcctccagccatcttgtctgtgagtcaggaga
aagagtcagtttcgcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac
actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcataaagtat
gcttctgagtcctatctctgggatcccttcaggtttagtggcagtgatc
aggacagatcttactcttagcatcaacagtggtggagtcgaagatattg
cagattattactgtcaacaaactaataggtggccgctcacgttcgggtgct
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggctcctcagtcgtgt
gcttctgaacaacttctacoccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt
gatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacctcacgttgaccaagg
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca
tcaacttcaccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtg

图 39

14D3 - LC

aacattctgatgacacagtcctccagccatcttgtctgtgagtccaggaga 50
 PCR 引物

aagagtcagtttcgcctgcaagggccagtcaggagcatctggcaacaagcatc 100
 CDR I

aetgggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcataaagcat 150

gctctctgagtcctatctctgggatcccttcagggttagtggcagtgatc 200
 CDR II

agggacagattttactcttagcatcaacagtgaggagtctgaagatattg 250

cagattattactgtcaacaaacaaataggaggccgcctcaagtttcggtgct 300
 CDR III

gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat 350
 恒定区

cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtgcctcagtcgtg 400

gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt 450

gatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga 500

cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacctcacgttgaccaagg 550

acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca 600

tcaacttcaccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt 642
 PCR 引物

图 40

3B3 - LC

NIVMTOTPASLAVSLGQRATISCRASESVDSVYGNNEMLWYQOKPGQSPRL 50
 PCR 引物 CDR I

LIYRASNLLESGI PARFSGSGSRTDFLLTTPNVEADDVATYYCQOSHKDPI 100
 CDR II CDR III

IFGAGTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV 150
 恒定区

 KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSYMSSTLLTKDEYERHNSYTCEA 200

 THKTSTSPIVKSFKANEC 218
 PCR 引物

图 44

3C7 - HC

DVOLKHSGPELVKPGASKMISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLDWIGL
 INPYNGGTSYDQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDG
 LMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE
 PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVA
 HPASKTKVD

图 45

3C7 - HC

DVOLKHSGPELVKPGASKMISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLDWIGL 50
 PCR 引物 CDR I

INPYNGGTSYDQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDG 100
 CDR II

LMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE 150
 CDR III 恒定区

 PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVA 200

HPASKTKVD 209
 PCR 引物

图 46

3C7 - LC

DIVMTQTPASLAVSLGQRATIFCRASQSVDYNGISYMHWFQOKPGQPPKL
 LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQOSFEDPH
 TFGGGTKLEIKRADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV
 KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA
 THKTSTSPIVKSFNRENC

图 47

3C7 - LC

DIVMTQTPASLAVSLGQRATIFCRASQSVDYNGISYMHWFQOKPGQPPKL	50
PCR 引物	CDR I
LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQOSFEDPH	100
CDR II	CDR III
TFGGGTKLEIKRADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV	150
恒定区	
KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA	200
THKTSTSPIVKSFNRENC	218
PCR 引物	

图 48

2B4 - HC

DVQLQQSGTVLARPGASVRMSCKASGYSFTRYWIHWLQRPQGLEWIGA
 IFPGNRDTSYNQRFKGAEVTAVTSASTAYLDLSSLTNEDSAVYYCTRWP
 YYGSIYVNFYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCL
 VKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSE
 TVTCNVAHPASSTKVD

图 49

2B4 - HC

DVQLQOSGTVLARPGASVRMSCKASGYSFTR**WTH**HWLKORPGQGLEWIG**A** 50
 PCR 引物 CDR I

LEPGNRDTSYNORFKGKAEVTAVTSASTAYLDLSSLTNE~~DSAVYYCTR~~**WLP** 100
 CDR II

YVGSFVYNE~~DI~~WGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCL 150
 CDR III 恒定区

VKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSE 200

TVTCNVAHPASSTKVD 216
 PCR 引物

图 50

2B4 - LC

DIVMTQSP~~LSLPVSLGDQASISCR~~TSQNLVHRNGNTYLHWYLQKPGQSPK
 LLIYKISNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQGT~~HVP~~
 PTFGGGTKLEIKRADAAPT~~VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLN~~FYPKDIN
 VKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCE
 ATHKTSTSPIVKSFNRNEC

图 51

2B4 - LC

DIVMTQSP~~LSLPVSLGDQASISCR~~TSQNLVHRNGNTYLHWYLQKPGQSPK 50
 PCR 引物 CDR I

LLIYKISNRFSGVPDRFSGSGSGTDFT**LKISR**VEAEDLGVYF**CSQGT**HVP 100
 CDR II CDR III

PTFGGGTKLEIKRADAAPT~~VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLN~~FYPKDIN 150
 恒定区

VKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCE 200

ATHKTSTSPIVKSFNRNEC 219
 PCR 引物

图 52

3B3 - HC

gacgtccagctccagcagcctggagcagagcttgtgaagccaggggcctc
agtcaagttgtcctgcaccacttctggcgtcaacattaagacacctata
tgcaactggatgaagcagaggcctgaacagggcctggagtggattggaagg
attgatcctgcgaatggtaataactaataatgacccgaaattccggggcaa
ggccactataacagcagacacatcctccaacacgggtctacgtgcaactca
gaagcctgacatctgaggacactgccgtctattactgtgcctatgatggg
tactggggccaagggactctgggtcactgtctctgcagccaaaacgacacc
cccatctgtctatccactggccctggatctgctgcccactaactcca
tggtgaccctgggatgcctgggtcaagggctatctccctgagccagtgaca
gtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacacctcccagc
tgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgactgtccct
ccagcacctggcccagcagaccgtcacctgcaacggtgcccacccggcc
agcagcaccaaggtcgac

图 53

3B3 - HC

gacgtccagctccagcagcctggagcagagcttgtgaagccaggggcctc 50
 PCR
 agtcaagttgtcctgcaccacttctggcgtcaacattaagacacatata 100
 CDR I
tgcatgatgaagcagaggcctgaacagggcctggagtggattggaaag 150
attgatcctccgaatggtaataactaaataagaccgaaattccggggcaa 200
 CDR II
 ggccactataacagcagacacatcctccaacacgggtctacgtgcaactca 250
 gaagcctgacatctgaggacactgccgtctattactgtgcctatgategc 300
 CDR III
tactggggccaagggactctggtcactgtctctgcagccaaaacgacacc 350
 恒定区
 cccatctgtctatccactggccctggatctgctgcccactaactcca 400
 tggtgaccctgggatgcttggtcaagggctatttcctgagccagtgaca 450
 gtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacacctcccagc 500
 tgtcctgcagctctgacctctacactctgagcagctcagtgactgtccct 550
 ccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacgttgcccacccggcc 600
 PCR 引物
agcagcaccaaggtcgac 618

图 54

3B3 - LC

```
aacattgtgatgacccaaactccagcctctttggctgtgtctctagggca  
gagggccaccatatcctgcagagccagtgaaagtgttgatagttatggca  
ataatTTTatgcactgggtaccagcagaaaccaggacagtcacccagactc  
ctcatctatcgtgcatccaacctagaatctgggatccctgccagggtcag  
tggcagtgggctctaggacagacttcaccctcaccactaatcctgtggagg  
ctgatgatggtgcaacctattactgtcagcaaagtcataaggatccgctc  
acgttcgggtgctgggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcacc  
aactgtatccatcttccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtg  
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc  
aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg  
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacctca  
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc  
actcacaagacatcaacttcaccattgtcaagagcttcaaggaacatga  
gtgt
```

图 55

3B3 - LC

50
 PCR 引物

gagggccaccatatcctgc agagccagtgaaagtgttgatagtcaggca 100
 CDR I

ataattttatgcac tggtaccagcagaaaccaggacagtcacccagactc 150

ctcatctat cgtagatccaaactagaatct gggatccctgccaggttcag 200
 CDR II

tggcagtgggtctaggacagacttcaccctcaccactaatcctgtggagg 250

ctgatgatggtgcaacctattactgt cagcaagtcataaggatccctctc 300
 CDR III

acg ttcggtgctgggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcacc 350
 恒定区

aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtg 400

cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc 450

aagtggaagattgatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg 500

gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacctca 550

cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc 600

actcacaagacatcaacttcaccattgtcaagagcttcaacaggaatga 650
 PCR 引物

gtgt 652

图 56

3C7 - HC

gacgtccagctgaagcatcaggacctgagctggtgaagcctggagcttca
atgaagatatcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaccat
gaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattggactta
ttaatccttacaatggtggtactagctacgaccagaagtcaagggcaag
gccacattaactgtagacaagtcatccagcacagcctacatggagctcct
cagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagagatggcc
tgatggactactggggtcaaggaacctcagtcaccgtctcctcagccaaa
acgacacccccatctgtctatccactggccctggatctgctgccaaac
taactccatggtgaccctgggatgcctggtcaagggctatctcctgagc
cagtgacagtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacacc
tcccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgac
tgtcccctccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacgctgccc
acccggccagcaagaccaaggtcgac

图 57

3C7 - HC

<u>gacgtccagctgaagcatcaggacctgagctggtgaagcctggagcttca</u>	50
PCR 引物	
atgaagatatcctgcaaggcttctggttactcattcact	100
ggcacaaca	
CDR I	
gaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattgga	150
ctca	
CDR II	
ctaatccttacaatggtegtactagctaggaacagaagtgaaggcc	200
aag	
gccacattaactgtagacaagtcattccagcacagcctacatggagctcct	250
cagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaaga	300
gatggcc	
CDR III	
tgatggactactgggggtcaaggaacctcagtcaccgtctcctcagccaaa	350
恒定区	
acgacacccccatctgtctatccaactggcccctggatctgctgcccAAC	400
taactccatgggtgacctgggatgcctgggtcaagggtatcttccctgagc	450
cagtgcagtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacacc	500
ttcccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgac	550
tgteccctccagcacctggcccagcagaccgtcacctgcaacggtgccc	600
<u>acccggccagcaagaccaaggtcgac</u>	626
PCR 引物	

图 58

3C7 - LC

```
gatattgtgatgacccaaactccagcttctttggctgtgtctctaggaca  
gagagccactatcttctgcagagccagccagagtgtcgattataatggaa  
ttagttatatgcactgggtccaacagaaaccaggacagccacccaaactc  
ctcatctatgctgcatccaacctagaatctgggatccctgccaggttcag  
tggcagtggttctgggacagacttcaccctcaacatccatcctgtggagg  
aggaagatgctgcaacctattactgtcagcaaagttttgaggatccgcac  
acgttcggaggggggaccaagctggaaataaaacgggctgatgctgcacc  
aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtg  
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc  
aagtggaagattgatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg  
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacctca  
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc  
actcacaagacatcaacttcaccattgtcaagagcttcaacaggaatga  
gtgt
```

图 59

3C7 - LC

<u>gatattgtgatgacccaaactccagcttctttggctgtgtctctaggaca</u>	50
PCR 引物	
<u>gagagccactatcttctgc</u> <u>gagagccagccagagtgtcgattataatggaa</u>	100
CDR I	
<u>ctagtatatatgca</u> tggttccaacagaaaccaggacagccacccaaactc	150
ctcatctat <u>gctggcaaccacccatagaatct</u> gggatccctgccaggttcag	200
CDR II	
tggcagtgggctctgggacagacttcaccctcaacatccatcctgtggagg	250
aggaagatgctgcaacctattactgt <u>caagcaagctctgaggatccgcac</u>	300
CDR III	
<u>acg</u> ttcggaggggggaccaagctggaaataaaaacgggctgatgctgcacc	350
恒定区	
aactgtatccatcttccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtg	400
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaagacatcaatgtc	450
aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg	500
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctca	550
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc	600
actcacaagacatcaacttcaccattgtcaagagcttcaacaggaatga	650
PCR 引物	
<u>gtgt</u>	654

图 60

2B4 - HC

```
gacgtccagctgcagcagtctgggactgtgctggcaaggcctggggcttc  
cgtgaggatgtcctgcaaggcttctggctacagctttaccaggtactgga  
tacctgggttaaaacagaggcctggacagggtctagaatggattggtgct  
atcttctctggaaatcgtgataccagttacaaccagaggttcaagggcaa  
ggccgaagtgactgcagtcacatccgccagcactgcctacttggacctca  
gtagcctgacaaaatgaggactctgcggtctattactgtacaagatggcct  
tactatgggttccatctacgttaactttgactactggggccaaggcaccac  
tctcacagtctcctcagccaaaacgacacccccatctgtctatccactgg  
cccctggatctgctgccaaaactaactccatgggtgaccctgggatgcctg  
gtcaagggctatctccctgagccagtgcagtgacctggaactctggatc  
cctgtccagcgggtgtgcacacctcccagctgtcctgcagtctgacctct  
acactctgagcagctcagtgactgtcccctccagcacctggcccagcgag  
accgtcacctgcaacgttgccaccagccagcagcaccacccaaggctcgac
```

图 61

2B4 - HC

gacgtccagctgcagcagctctgggactgtgctggcaaggcctggggcttc 50
 PCR 引物

cgtgaggatgtcctgcaaggcttctggctacagctttaccaggtactgga 100
 CDR I

tacacttggttaaaacagaggcctggacagggtctagaatggattgggtgct 150

atctttctcctggaaatcgtgataccagttacaaccagagcgtcgaaggga 200
 CDR II

ggccgaagtgactgcagtcacatccgccagcactgcctacttggacctca 250

gtagcctgacaaatgaggactctgcggtctattactgtacaagatgacct 300

tactatgggttccaatctacgtcaactctgactacttggggccaaggcaccac 350
 CDR III

tctcacagtctcctcagccaaaacgacacccccatctgtctatccactgg 400
 恒定区

ccctggatctgctgccaaactaactccatgggtgacctgggatgcctg 450

gtcaagggctatttccctgagccagtgacagtgacctggaactctggatc 500

cctgtccagcgggtgtgcacaccttcccagctgtcctgcagtctgacctct 550

acactctgagcagctcagtgactgtcccctccagcacctggcccagcgag 600

accgtcacctgcaacgttgccaccagccagcagcaccacaaaggtcgac 648
 PCR 引物

图 62

2B4 - LC

gatattgtgatgaccagtcctcctctctccctgcctgtcagtccttggaga
tcaagcctccatctcttgcagaactagtcagaaccttgtacacaggaatg
gaaacacctatttacattggtacctgcagaagccaggccagtcctcaaag
ctcctgatttacaaaatttccaaccgattttctgggggtcccagacaggtt
cagtggcagtggtcagggacagatttcacactcaagatcagcagagtgg
aggctgaggatctgggagtttatttctgctctcaaggtaacatgcttct
ccgacgcttcggtggaggcaccaagctggaaatcaaacgggctgatgctgc
accaactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggag
gtgcctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaat
gtcaagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacag
ttggactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacc
tcacgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgag
gccactcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaa
tgagtgt

图 63

2B4 - LC

gatattgtgatgaccagtcctcctctccctgacctgagtccttgaga 50
 PCR 引物

tcaagcctccatctcttgacagaactagtcgaaacacctgtacacaggaatg 100
 CDR I

gaaacacctatttaccattggtacctgcagaagccaggccagtcctccaag 150

ctctgatttacaaaatttccaacogatttctctgggggtcccagacaggtt 200
 CDR II

cagtggcagtgatcagggacagatttcacactcaagatcagcagagtgg 250

aggctgaggatctgggagtttatttctgcctcaagggtacacatgttctt 300
 CDR III

ccgacgttcgggtggaggcaccaagctggaaatcaaacgggctgatgctgc 350
 恒定区

accaactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggag 400

gtgectcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaat 450

gtcaagtggaagattgatggcagtgaaacgacaaaatggcgctcctgaacag 500

ttggactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacc 550

tcacgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctataacctgtgag 600

gccactcacaagacatcaacttcaccattgtcaagagcttcaacagga 650
 PCR 引物

tgagtgt 657

图 64

