



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108148137 B

(45) 授权公告日 2021.03.23

(21) 申请号 201711469501.4

A61K 51/10 (2006.01)

(22) 申请日 2017.12.29

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 108148137 A

(56) 对比文件

(43) 申请公布日 2018.06.12

CN 107106611 A, 2017.08.29

CN 103237901 B, 2016.08.03

(73) 专利权人 中国人民解放军第四军医大学
地址 710000 陕西省西安市长乐西路169号

CN 101951959 A, 2011.01.19

WO 2016070001 A1, 2016.05.06

(72) 发明人 董轲 张惠中 龙敏 左佳蕙

US 2014364585 A1, 2014.12.11

CN 101951959 A, 2011.01.19

(74) 专利代理机构 西安亿诺专利代理有限公司
61220

审查员 周洁

代理人 熊雁

(51) Int. Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

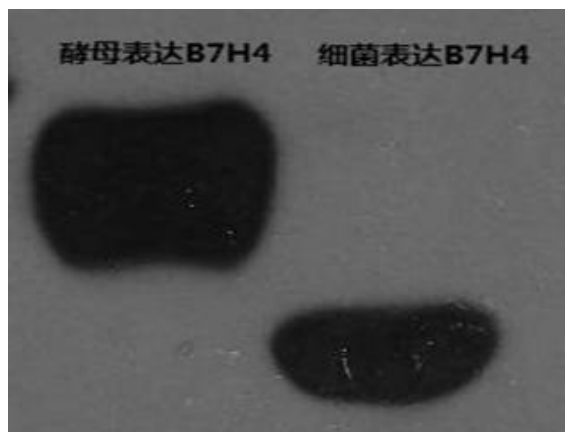
权利要求书1页 说明书5页
序列表2页 附图3页

(54) 发明名称

一种B7H4/1E10单克隆抗体及其应用

(57) 摘要

本发明公开一种B7H4/1E10单克隆抗体及其应用,该抗体的轻链可变区的3个互补决定区序列分别为:Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr;Leu Val Ser;Gln His Ile Arg Glu Leu Thr Arg;重链可变区的3个互补决定区序列分别为:Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Gly; Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr;Ala Arg Glu Arg Ala Arg Leu Leu Arg Ile Asn Ala Met Asp Tyr。该单克隆抗体效价可达 1×10^{-6} ,亲和力高。



1. 一种B7H4/1E10单克隆抗体,包括轻链和重链可变区,其特征在于:所述轻链可变区的3个互补决定区序列分别为:

CDR1:Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr;

CDR2:Leu Val Ser;

CDR3:Gln His Ile Arg Glu Leu Thr Arg;

所述重链可变区的3个互补决定区序列分别为:

CDR1:Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Gly ;

CDR2:Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr;

CDR3:Ala Arg Glu Arg Ala Arg Leu Leu Arg Ile Asn Ala Met Asp Tyr。

2. 根据权利要求1所述的B7H4/1E10单克隆抗体,其特征在于:所述轻链可变区的氨基酸序列如SEQ. ID. NO. 1所示,重链可变区的氨基酸序列如SEQ. ID. NO. 2所示。

3. 编码权利要求1所述单克隆抗体的基因,其特征在于:编码轻链可变区的基因序列如SEQ. ID. NO. 3所示,编码重链可变区的基因序列如SEQ. ID. NO. 4所示。

4. 权利要求1所述B7H4/1E10单克隆抗体用于诊断试剂的制备的应用,其特征在于:所述诊断试剂诊断的疾病为恶性肿瘤,所述恶性肿瘤为膀胱癌、卵巢癌、肝癌、胰腺癌、宫颈癌、肺癌、乳腺癌或胃癌。

5. 权利要求1所述B7H4/1E10单克隆抗体用于抗肿瘤药物的制备的应用,其特征在于:所述抗肿瘤药物适用的疾病为恶性肿瘤,所述恶性肿瘤为膀胱癌、卵巢癌、肝癌、胰腺癌、宫颈癌、肺癌、乳腺癌或胃癌。

一种B7H4/1E10单克隆抗体及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物医学技术领域,具体涉及一种高亲和力的B7H4/1E10单克隆抗体及其应用。

背景技术

[0002] 肿瘤是严重威胁人类健康的一类恶性疾病,在其发生发展过程中,T细胞活化和耐受的免疫调节具有至关重要作用。B7家族共刺激分子表达及功能失衡导致宿主免疫不应答在肿瘤免疫逃逸中发挥了重要且关键作用,因此B7家族共刺激因子已成为肿瘤免疫逃逸机制及肿瘤免疫治疗靶点研究的重点。人B7H4的 cDNA约1.8 kb,位于染色体1P 11.1,在基因组上跨越66 kb,含有6个外显子和5个内含子,第6个外显子存在两种可变剪切形式,由此产生两种不同的剪切本。B7H4的开放读码框由849个碱基对组成,编码由282个氨基酸组成的蛋白,其N端为一个信号肽、1个含数个N-糖基化位点的胞外区、1个大的跨膜疏水区和仅2个氨基酸组成的胞内区。

[0003] 研究显示,B7H4不但在专职抗原呈递细胞中高表达,并广泛分布在非淋巴组织上,新鲜分离的T细胞、B细胞、单核细胞、树突状细胞表面无B7H4,但在体外经刺激后,B7H4能被诱导表达;恶性肿瘤细胞中,包括膀胱癌、卵巢癌、肝癌、胰腺癌、宫颈癌、肺癌、乳腺癌、胃癌等,B7H4 mRNA表达水平高于正常组织,其蛋白表达水平同样上调,且被证实与肿瘤的发生、侵袭及迁移等密切相关。

[0004] 因此,B7H4作为靶点,在恶性肿瘤的治疗、诊断以及预后判断中,均具有较为广阔的应用前景,为了更好地研究B7H4在恶性肿瘤中的信号转导通路,以及为恶性肿瘤的诊断、生物治疗奠定物质基础,本专利制备了具有良好特异性、高亲和力的鼠源性抗体。

[0005] 中国专利(申请号99107586.2)中公开了一种可以高效广谱抑制肿瘤生长和转移的新型抗体,具体公开了该抗体的轻链可变区由112个氨基酸组成,包括Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr和Leu Val Ser。

发明内容

[0006] 本发明提供一种高亲和力的B7H4/1E10单克隆抗体及其应用,包括该单克隆抗体的氨基酸和核苷酸序列,可以为构建高亲和力、良好特异性的抗B7H4嵌合或人源化基因工程抗体提供支持,也为以B7H4靶点的药物研发及应用奠定基础。

[0007] 本发明是通过以下技术方案实现的:

[0008] 一种高亲和力的B7H4/1E10单克隆抗体,包括轻链和重链可变区,所述轻链可变区的3个互补决定区(CDR)序列分别为:

[0009] CDR1:Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr;

[0010] CDR2:Leu Val Ser;

[0011] CDR3:Gln His Ile Arg Glu Leu Thr Arg;

[0012] 所述重链可变区的3个互补决定区(CDR)序列分别为:

[0013] CDR1:Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Gly ;

- [0014] CDR2:Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr;
- [0015] CDR3:Ala Arg Glu Arg Ala Arg Leu Leu Arg Ile Asn Ala Met Asp Tyr。
- [0016] 所述轻链可变区的氨基酸序列如SEQ. ID.NO.1所示,重链可变区的氨基酸序列如SEQ. ID.NO.2所示。
- [0017] 编码所述轻链可变区的基因序列如SEQ. ID.NO.3,编码所述重链可变区的基因序列如SEQ. ID.NO.4。
- [0018] 所述B7H4/1E10单克隆抗体用于构建针对AEG-1的基因工程抗体或诊断试剂的制备的应用。
- [0019] 所述B7H4/1E10单克隆抗体用于抗肿瘤药物的制备。
- [0020] 所述B7H4/1E10单克隆抗体用于免疫治疗药物的制备。
- [0021] 本发明的优点:
- [0022] 1、本发明提供的B7H4/1E10单克隆抗体可识别B7H4抗原分子,并发生免疫结合;筛选出的高亲和力B7H4/1E10单克隆抗体,效价可达 1×10^{-6} ;克隆抗B7H4单克隆抗体B7H4/1E10的轻链、重链可变区基因和氨基酸序列,序列分析证实了该抗体序列的唯一性。
- [0023] 2、本发明提供的B7H4/1E10单克隆抗体,分析获得轻链、重链可变区的CDR区,在此基础上为构建高亲和力、具有中和活性的抗B7H4基因工程抗体提供支持。
- [0024] 3、本发明获得抗B7H4单克隆抗体B7H4/1E10的轻链、重链可变区,在此基础上为针对B7H4靶点药物的制备提供了支持。

附图说明

- [0025] 图1为应用Western Blot法检测单克隆抗体B7H4/1E10与B7H4抗原的反应结果图;
- [0026] 图2为应用免疫细胞化学法检测单克隆抗体B7H4/1E10与小细胞肺癌细胞株SBC-5中B7H4蛋白的反应结果图;
- [0027] 图3是B7H4/1E10轻链可变区基因同源性序列分析结果;
- [0028] 图4是B7H4/1E10重链可变区基因同源性序列分析结果;
- [0029] 图5是B7H4/1E10轻链可变区氨基酸同源性序列分析结果;
- [0030] 图6是B7H4/1E10重链可变区氨基酸同源性序列分析结果。

具体实施方式

[0031] 本发明用B7H4免疫BALB/c小鼠,制备了一组分泌小鼠抗人B7H4单克隆抗体的杂交瘤细胞株,从中筛选出能稳定分泌高亲和力抗B7H4的B7H4/1E10单克隆抗体杂交瘤细胞株,制备腹水获得高亲和力抗B7H4单克隆抗体;以该杂交瘤细胞提取细胞总RNA,反转录后以兼并引物扩增该抗体轻、重链可变区基因,并确认该基因序列和相应氨基酸序列的唯一性及其CDR序列。下面结合具体单克隆抗体的制备方法、抗体活性检测,以及序列的检测和唯一性的确定对本发明做详细说明,所述是对本发明的解释而不是限定。本发明具体按以下步骤实施:

- [0032] 1、小鼠抗人B7H4高亲和力抗体B7H4/1E10的制备
- [0033] 1.1单克隆抗体的制备、纯化
- [0034] 按单克隆抗体制备方法(细胞和分子免疫学实验技术第一版,P₉-P₁₇页),用B7H4免

疫BALB/c小鼠(购自第四军医大学实验动物中心),初次免疫,使用25 μ g纯化B7H4蛋白与等体积的福氏完全佐剂,背部皮下多点注射,四周后第二次免疫,使用福氏不完全佐剂加25 μ g纯化的B7H4蛋白,20天后通过间接ELISA方法检测小鼠血清抗体效价。间隔2~3周后,经腹腔注射50 μ g纯化的B7H4蛋白加强免疫,3天后处死动物取脾进行细胞融合。

[0035] 取对数生长的小鼠骨髓瘤细胞SP2/0计数,同时制备免疫鼠的脾细胞悬液。按常规方法用50% PEG使脾细胞与SP2/0细胞进行融合。融合后的细胞加入含有滋养细胞(6周龄BALB/c鼠胸腺细胞)的96孔板内,以含1% HAT、20%小牛血清的RPMI-1640筛选培养。当克隆长至1/3板底时,收集培养上清。以纯化的B7H4抗原包被ELISA板,间接ELISA法检测培养上清中抗B7H4抗体,筛选分泌抗人B7H4抗体的克隆,进一步利用有限稀释法进行单克隆化获得一株可稳定分泌高亲和活性的抗B7H4单克隆抗体的细胞株,标记为1E10,并对其分泌的抗体进行免疫球蛋白类型及亚类测定(结果为IgM亚类, κ 型轻链)。在获得能够稳定分泌抗体的杂交瘤细胞株后,常规方法(细胞和分子免疫学实验技术第一版,P₉-P₁₇页)制备包含单克隆抗体的小鼠腹水。腹水经45%饱和硫酸铵沉淀后,采用抗体纯化柱纯化。

[0036] 1.2 抗B7H4单克隆抗体B7H4/1E10效价测定

[0037] 用间接ELISA方法测定纯化前腹水以及纯化后mAb的相对亲和力。其中包被抗原为B7H4,待测样品为系列稀释的腹水以及纯化后mAb,检测抗体为山羊抗小鼠-HRP酶标记抗体,底物使用OPD。所筛选出的高亲和力B7H4/1E10 mAb,效价可达 1×10^6 。

[0038] 以酵母和原核细胞表达B7H4为抗原,Western Blot方法检测B7H4/1E10单抗与抗原蛋白的结合,结果如图1所示,出现较为特异的条带,说明B7H4/1E10可识别B7H4抗原分子,并发生免疫结合。

[0039] 以小细胞肺癌细胞株SBC-5制备细胞爬片,用B7H4/1E10单抗作为检测抗体,免疫细胞化学法检测B7H4/1E10单抗与肿瘤细胞表达的B7H4的结合,结果如图2所示,在SBC-5细胞中,可见明显的棕色阳性反应产物,结果表明:B7H4/1E10单抗可与肿瘤细胞B7H4分子识别并发生免疫结合。

[0040] 2、抗B7H4的B7H4/1E10 mAb轻链和重链可变区基因的克隆

[0041] 2.1 B7H4/1E10 mAb杂交瘤细胞的培养

[0042] 能稳定分泌B7H4/1E10 mAb的杂交瘤细胞,用含20%小牛血清的RPMI 1640培养基,37 $^{\circ}$ C,5% CO₂ 孵箱中培养至对数生长期。

[0043] 2.2 总RNA的提取和cDNA第一链的合成

[0044] 采用Invitrogen 公司的TRIZOL Reagent提取细胞总RNA,TaKaRa cDNA反转录试剂盒进行反转录,合成cDNA。

[0045] 2.3 PCR扩增B7H4/1E10 mAb的VL和VH基因

[0046] 利用小鼠抗体基因兼并引物,以反转录合成的cDNA为模板进行PCR反应;反应体积50 μ l,反应条件为:94 $^{\circ}$ C 5 min;35次循环(95 $^{\circ}$ C 90 s,50 $^{\circ}$ C 90s,72 $^{\circ}$ C 2 min);72 $^{\circ}$ C 10 min;引物序列为:

[0047] VL-F:ATG AAG TTG CCT GTT AGG CTG TTG GTG CTG 30bp;

[0048] VL-R:ACT GGA TGG TGG GAA GAT GGA 21 bp;

[0049] VH-F:ATG AAA TGC AGC TGG GTC ATS TTC TTC 27 bp;

[0050] VH-R:CCA GGG RCC ARK GGA TAR ACI GRT GG 26 bp;

[0051] (IUB标准兼并碱基代码:S:C/G;K:G/T; R:A/G; I:inosine)。

[0052] 2.4 PCR扩增产物的克隆和筛选

[0053] PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳,用小量胶回收试剂盒回收PCR扩增片段,插入pMD-18 T载体(购自TakaRa公司)中,连接产物转化*E. coli* JM109大肠杆菌,涂布LB/ X-gal /IPTG / Amp⁺ 琼脂培养板,37°C培养过夜。

[0054] 挑取LB琼脂培养皿中白色阳性克隆,在Amp⁺的LB培养基中37°C摇菌过夜,OMEGA公司质粒小量提取试剂盒提取质粒DNA,进行基因序列测定,轻链可变区的基因序列如SEQ.3所示,重链可变区的基因序列如SEQ.4所示。

[0055] 3 B7H4/1E10 mAb轻链和重链可变区的核苷酸序列及同源性分析

[0056] 3.1 确定测序无误后,在GenBank+EMBL+DDBJ+PDB数据库中,进行核苷酸序列同源性分析(Blastn)。

[0057] B7H4/1E10 mAb轻链可变区基因与C57BL/6J小鼠Igκv3-12基因同源性最高,达305/311(98%),如图3所示。

[0058] B7H4/1E10 mAb重链可变区基因与C57BL/6J小鼠Ighv2-9基因同源性最高,为297/300(99%),如图4所示。

[0059] 同源性分析表明,编码B7H4/1E10 mAb的轻、重链可变区的核苷酸序列,尽管与其它基因序列有一定同源性,但未发现与本发明完全相同的基因序列,表明本发明在基因序列上具有惟一性。

[0060] 3.2 可变区基因翻译后氨基酸序列及分析

[0061] B7H4/1E10 mAb轻链可变区的氨基酸序列如SEQ.1,重链可变区的氨基酸序列如SEQ.2所示。

[0062] 在non-redundant Genbank CDS translations+PDB+SwissProt+PIR+PRF蛋白质数据库中,进行氨基酸序列同源性分析(Blastp)。

[0063] 分析结果表明,B7H4/1E10 mAb轻链氨基酸序列与编号pir||S52448的小鼠Ig kappa chain V region同源性最高,达125/128(98%),如图5所示。

[0064] B7H4/1E10 mAb重链氨基酸序列与编号为AAT76200.1的小鼠immunoglobulin heavy chain variable region同源性最高,为134/146(91%),如图6所示。

[0065] 同源性分析表明,B7H4/1E10 mAb轻、重链可变区的氨基酸序列,尽管与其它蛋白氨基酸序列有一定同源性,但未发现与本发明完全相同的氨基酸序列,表明本发明在氨基酸序列上也具有惟一性。

[0066] 3.3 利用IMGT System分析可变区结构,确定CDR区。

[0067] 将测序所得B7H4/1E10 mAb轻链和重链可变区序列,在IgBLAST /IMGT中(网站<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/>)进行分析,得出其CDR区。

[0068] 轻链可变区的3个互补决定区(CDR)序列,如SEQ.1划线部分所示,具体为:

[0069] CDR1:Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr;

[0070] CDR2:Leu Val Ser;

[0071] CDR3:Gln His Ile Arg Glu Leu Thr Arg;

[0072] 所述重链可变区的3个互补决定区(CDR)序列,如SEQ.2划线部分所示,具体为:

[0073] CDR1:Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Gly;

[0074] CDR2:Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr;

[0075] CDR3:Ala Arg Glu Arg Ala Arg Leu Leu Arg Ile Asn Ala Met Asp Tyr 。

[0076] 4. 基因工程抗体设计

[0077] 基于B7H4/1E10的表达、纯化以及序列分析,设计构建以下生物制品

[0078] 1)单链抗体的构建:可将本发明的B7H4/1E10 mAb轻、重链可变区基因通过linker连接,插入原核或真核表达载体,转化宿主菌或转染真核细胞,用于恶性肿瘤细胞内信号转导特性研究;并应用于恶性肿瘤的细胞内抗体治疗;同时可制备针对B7H4的具有治疗作用的单链抗体,该单链抗体分子标记不同的同位素后,可用于恶性肿瘤影像学示踪诊断及恶性肿瘤靶向放射治疗中。

[0079] 2)人-鼠抗B7H4嵌合抗体的构建:可将本发明的B7H4/1E10 mAb轻、重链可变区基因插入通用型嵌合抗体表达载体中,获得含嵌合基因的载体转染真核细胞,用于制备针对B7H4的有治疗作用的嵌合抗体。

[0080] 3)可根据本发明的基因序列及其编码的氨基酸序列,制备针对B7H4功能表位的其它生物制品。

[0001]	SEQUENCE LISTING																			
[0002]	<110>中国人民解放军第四军医大学																			
[0003]	<120>一种高亲和力的B7H4/1E10单克隆抗体及其应用																			
[0004]	<160>4																			
[0005]	<210>1																			
[0006]	<211>100																			
[0007]	<212> PRT																			
[0008]	<213>人工合成																			
[0009]	<400>1																			
[0010]	Asp	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	Gly	Gln	Arg	Ala	Thr
[0011]				5						10					15					20
[0012]	Ile	Ser	Tyr	Arg	Ala	Ser	Lys	Ser	Val	Ser	Thr	Ser	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Met	His	Trp	Asn
[0013]				25						30					35					40
[0014]	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Asn	Leu	Glu	Ser
[0015]				45						50					55					60
[0016]	Gly	Val	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Asn	Ile	His
[0017]				65						70					75					80
[0018]	Pro	Val	Glu	Glu	Glu	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	His	Ile	Arg	Glu	Leu	Thr	Arg
[0019]				85						90					95					100
[0020]	<210>2																			
[0021]	<211>110																			
[0022]	<212> PRT																			
[0023]	<213>人工合成																			
[0024]	<400>2																			
[0025]	Gln	Val	Gln	Leu	Lys	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Gln	Ser	Leu	Ser	Ile
[0026]				5						10					15					20
[0027]	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Thr	Ser	Tyr	Gly	Val	His	Trp	Val	Arg	Gln	Pro
[0028]				25						30					35					40
[0029]	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Leu	Gly	Val	Ile	Trp	Ala	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn
[0030]				45						50					55					60
[0031]	Ser	Ala	Leu	Met	Ser	Arg	Leu	Ser	Ile	Ser	Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Ser	Gln	Val	Phe	Leu
[0032]				65						70					75					80
[0033]	Lys	Met	Asn	Ser	Leu	Gln	Thr	Asp	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Glu	Arg	Ala
[0034]				85						90					95					100
[0035]	Arg	Leu	Leu	Arg	Ile	Asn	Ala	Met	Asp	Tyr										
[0036]				105						110										
[0037]	<210>3																			
[0038]	<211>300																			

[0039]	<212> DNA	
[0040]	<213>人工合成	
[0041]	<400>3	
[0042]	gacattgtgc tgacacagtc tcctgcttcc ttagctgtat ctctggggca gagggccacc	60
[0043]	atctcataca gggccagcaa aagtgtcagt acatctggct atagttatat gcaactggaac	120
[0044]	caacagaaac caggacagcc acccagactc ctcattctatc ttgtatccaa cctagaatct	180
[0045]	ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggt tctgggacag acttcaccct caacatccat	240
[0046]	cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc acataaggga gcttacacgt	300
[0047]	<210>4	
[0048]	<211>330	
[0049]	<212> DNA	
[0050]	<213>人工合成	
[0051]	<400>4	
[0052]	caggtgcagc tgaaggagtc aggacctggc ctggtggcgc cctcacagag cctgtccatc	60
[0053]	acttgcaactg tctctgggtt ttcattaacc agctatggtg tacactgggt tcgccagcct	120
[0054]	ccaggaaagg gtctggagtg gctgggagta atatgggctg gtggaagcac aaattataat	180
[0055]	tcggctctca tgtccagact gagcatcagc aaagacaact ccaagagcca agttttctta	240
[0056]	aaaatgaaca gtctgcaaac tgatgacaca gccatgtact actgtgccag agagagggct	300
[0057]	cggctactcc ggataaatgc tatggactac	330

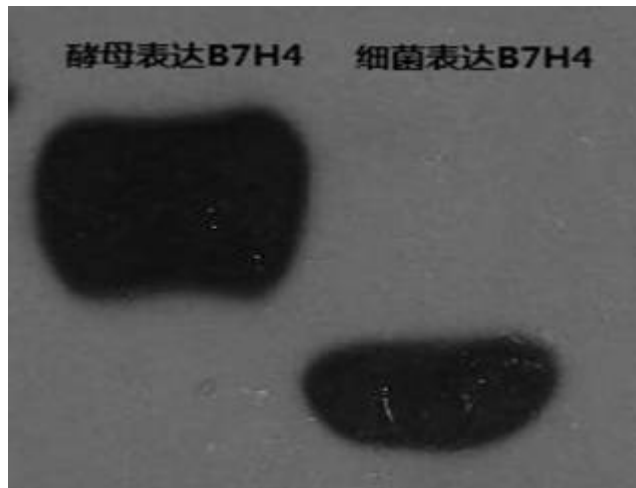


图1

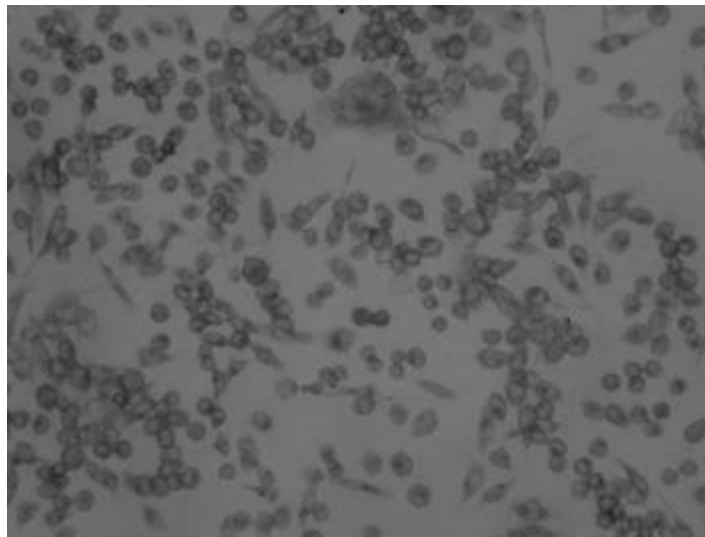


图2

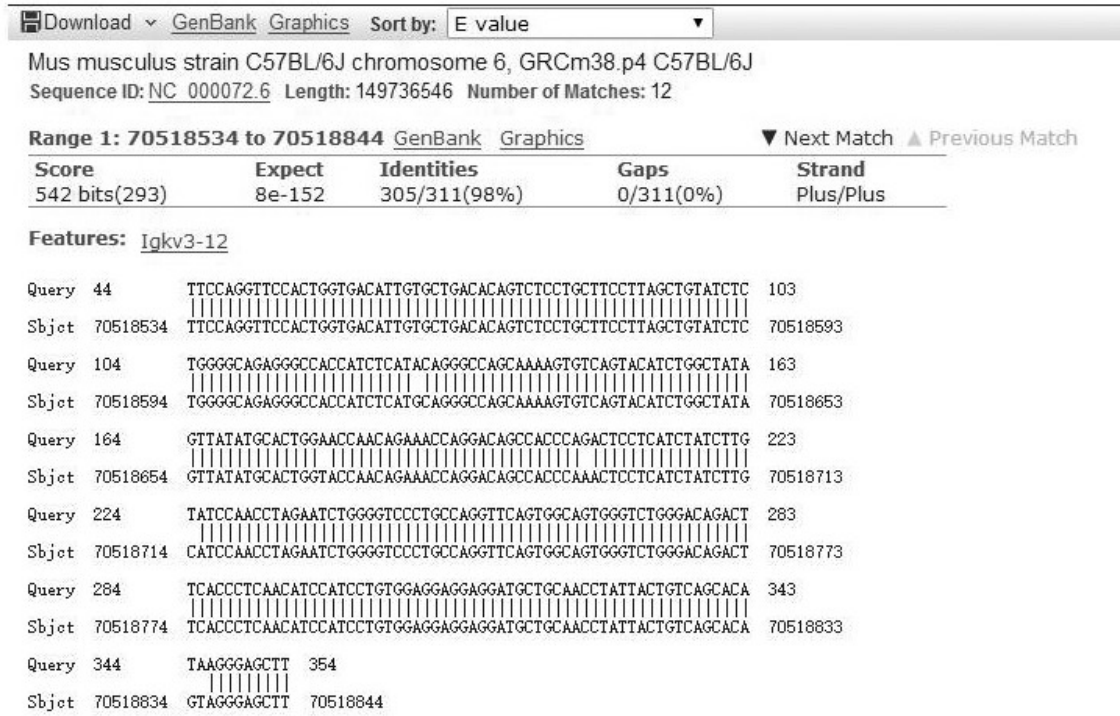


图3

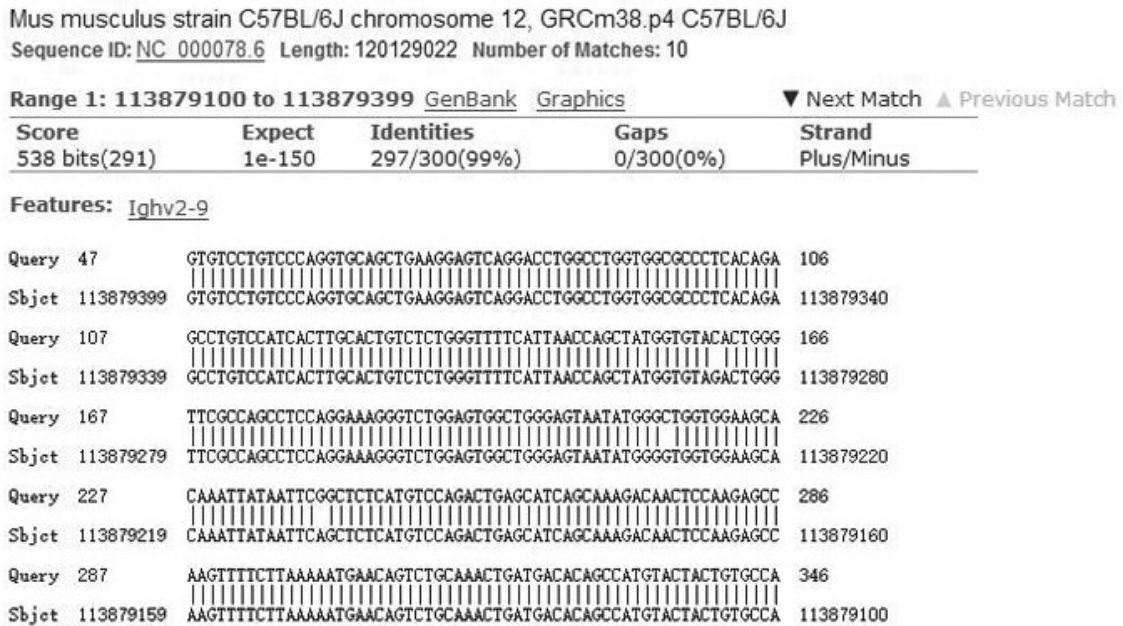


图4

Ig kappa chain V region - mouse

Sequence ID: [pir||S52448](#) Length: 128 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 128 [GenPept](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
253 bits(645)	9e-85	Compositional matrix adjust.	125/128(98%)	127/128(99%)	1/128(0%)
Query 1	METDTLLLWVLLWV-PGSTGDIWLTQSPASLAVSLGQRATISYRASKSVSTSGYSYMDHW		59		
Sbjct 1	METDTLLLWVLLWV++ PGSTGDIWLTQSPASLAVSLGQRATISYRASKSVSTSGYSYMDHW		60		
Query 60	NQQKPGQPPRLLIYLVSNLESGVFPARFSGSGGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQHIRELT		119		
Sbjct 61	NQQKPGQPPRLLIYLVSNLESGVFPARFSGSGGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQHIRELT		120		
Query 120	RSEGGPSW	127			
Sbjct 121	RSEGGPSW	128			

图5

immunoglobulin heavy chain variable region, partial [Mus musculus]

Sequence ID: [AAT76200.1](#) Length: 148 Number of Matches: 1

Range 1: 3 to 148 [GenPept](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
266 bits(681)	7e-90	Compositional matrix adjust.	130/146(89%)	134/146(91%)	0/146(0%)
Query 1	MAVVGLLFCVAFPPSCVLSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLTSGVHWVRQPP		60		
Sbjct 3	MAV+GLLFC FPSCVLSQVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLT+YGVHWVRQPP		62		
Query 61	GKGLEWLGVIWAGGSTNYNSALMSRLSISKDNSKSVFLKMNLSLQTDITAMYYCARERAR		120		
Sbjct 63	GKGLEWLGVIWAGGSTNY ISALMSRLSTRKDNSKSVFLKMNLSLQTDITAMYYCARDGDN		122		
Query 121	LLRINAMDYWGQTSVTVSSSESQSPF	146			
Sbjct 123	LR + MDYWGQTSVTVSSSESQSPF	148			

图6