



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115697489 A

(43) 申请公布日 2023. 02. 03

(21) 申请号 202180041028.8

(22) 申请日 2021.06.08

(30) 优先权数据

20305612.2 2020.06.08 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.12.07

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2021/065260 2021.06.08

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/249990 EN 2021.12.16

(71) 申请人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

申请人 巴斯德研究院

(72) 发明人 M·勃艮第 M·贝雷塔 H·穆克

V·海利 S·柏

H·斯特里克-马尚

M·阿伊特-顾歌德 N·裴利特

J·斐赛尔 G·乔治

T·斯克洛索尔

E·范-普伊恩布鲁克 W·德瑞森

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 封新琴

(51) Int.Cl.

A61P 31/00 (2006.01)

C07K 16/06 (2006.01)

C07K 16/08 (2006.01)

(54) 发明名称

抗HBV抗体及其使用方法

(57) 摘要

本发明提供抗S-HBs抗体及其使用方法。

权利要求书7页 说明书122页

序列表135页 附图48页

1. 一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体对SEQ ID NO:254至262的HBV蛋白中的每一种具有交叉反应性;和/或其中所述抗体具有在体外测量的 $\leq 1\text{ng/ml}$ 的针对HBV基因组D的中和IC50值。

2. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述抗体具有在体外测量的 $\leq 100\text{pg/ml}$ 的针对HBV基因组D的中和IC50值。

3. 一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含
重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的CDR-H3,以及
轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR-L3。

4. 根据权利要求3所述的抗体,其包含选自以下项组成的组的序列:

- (a) 与SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;
- (b) 与SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及
- (c) 如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

5. 根据权利要求3或权利要求4所述的抗体,其包含SEQ ID NO:16的VH序列和SEQ ID NO:15的VL序列。

6. 一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含
重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR-H3,以及

轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR-L3。

7. 根据权利要求6所述的抗体,其包含选自以下项组成的组的序列:

- (a) 与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;
- (b) 与SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及
- (c) 如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

8. 根据权利要求6或权利要求7所述的抗体,其包含SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:33的VL序列。

9. 一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含
重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的CDR-H3,以及

轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的CDR-L3。

10. 根据权利要求9所述的抗体,其包含选自以下项组成的组的序列:

- (a) 与SEQ ID NO:52的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;
- (b) 与SEQ ID NO:51的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及
- (c) 如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

11. 根据权利要求9或权利要求10所述的抗体,其包含SEQ ID NO:52的VH序列和SEQ ID

N0:51的VL序列。

12. 一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含

重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID N0:55的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有SEQ ID N0:56的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID N0:57的氨基酸序列的CDR-H3,以及

轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID N0:58的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有SEQ ID N0:59的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID N0:60的氨基酸序列的CDR-L3。

13. 根据权利要求12所述的抗体,其包含选自由以下项组成的组的序列:

(a) 与SEQ ID N0:70的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;

(b) 与SEQ ID N0:69的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及

(c) 如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

14. 根据权利要求12或权利要求13所述的抗体,其包含SEQ ID N0:70的VH序列和SEQ ID N0:69的VL序列。

15. 一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含

重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID N0:73的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有SEQ ID N0:74的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID N0:75的氨基酸序列的CDR-H3,以及

轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID N0:76的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有SEQ ID N0:77的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID N0:78的氨基酸序列的CDR-L3。

16. 根据权利要求15所述的抗体,其包含选自由以下项组成的组的序列:

(a) 与SEQ ID N0:88的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;

(b) 与SEQ ID N0:87的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及

(c) 如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

17. 根据权利要求15或权利要求16所述的抗体,其包含SEQ ID N0:88的VH序列和SEQ ID N0:87的VL序列。

18. 一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含

重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID N0:91的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有SEQ ID N0:92的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID N0:93的氨基酸序列的CDR-H3,以及

轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID N0:94的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有SEQ ID N0:95的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID N0:96的氨基酸序列的CDR-L3。

19. 根据权利要求18所述的抗体,其包含选自由以下项组成的组的序列:

(a) 与SEQ ID N0:106的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;

(b) 与SEQ ID N0:105的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及

(c) 如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

20. 根据权利要求18或权利要求19所述的抗体,其包含SEQ ID N0:106的VH序列和SEQ ID N0:105的VL序列。

21. 一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含

重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID N0:109的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有

SEQ ID NO:110的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的CDR-H3, 以及

轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID NO:114的氨基酸序列的CDR-L3。

22.根据权利要求21所述的抗体,其包含选自由以下项组成的组的序列:

(a)与SEQ ID NO:124的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;

(b)与SEQ ID NO:125的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及

(c)如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

23.根据权利要求21或权利要求22所述的抗体,其包含SEQ ID NO:124的VH序列和SEQ ID NO:123的VL序列。

24.一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含

重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR-H3, 以及

轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有SEQ ID NO:131的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID NO:132的氨基酸序列的CDR-L3。

25.根据权利要求24所述的抗体,其包含选自由以下项组成的组的序列:

(a)与SEQ ID NO:142的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;

(b)与SEQ ID NO:141的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及

(c)如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

26.根据权利要求24或权利要求25所述的抗体,其包含SEQ ID NO:142的VH序列和SEQ ID NO:141的VL序列。

27.一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含

重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有SEQ ID NO:146的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID NO:147的氨基酸序列的CDR-H3, 以及

轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID NO:148的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有SEQ ID NO:149的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID NO:150的氨基酸序列的CDR-L3。

28.根据权利要求27所述的抗体,其包含选自由以下项组成的组的序列:

(a)与SEQ ID NO:160的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;

(b)与SEQ ID NO:159的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及

(c)如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

29.根据权利要求27或权利要求28所述的抗体,其包含SEQ ID NO:160的VH序列和SEQ ID NO:159的VL序列。

30.一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含

重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID NO:163的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有SEQ ID NO:164的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID NO:165的氨基酸序列的CDR-H3, 以及

轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID NO:166的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有

SEQ ID NO:167的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID NO:168的氨基酸序列的CDR-L3。

31. 根据权利要求30所述的抗体,其包含选自以下项组成的组的序列:

- (a) 与SEQ ID NO:178的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;
- (b) 与SEQ ID NO:177的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及
- (c) 如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

32. 根据权利要求30或权利要求31所述的抗体,其包含SEQ ID NO:178的VH序列和SEQ ID NO:177的VL序列。

33. 一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含

重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID NO:181的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有SEQ ID NO:182的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID NO:183的氨基酸序列的CDR-H3,以及

轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID NO:184的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有SEQ ID NO:185的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID NO:186的氨基酸序列的CDR-L3。

34. 根据权利要求33所述的抗体,其包含选自以下项组成的组的序列:

- (a) 与SEQ ID NO:196的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;
- (b) 与SEQ ID NO:195的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及
- (c) 如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

35. 根据权利要求33或权利要求34所述的抗体,其包含SEQ ID NO:196的VH序列和SEQ ID NO:195的VL序列。

36. 一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID NO:199的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有SEQ ID NO:200的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID NO:201的氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID NO:202的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有SEQ ID NO:203的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID NO:204的氨基酸序列的CDR-L3。

37. 根据权利要求36所述的抗体,其包含选自以下项组成的组的序列:

- (a) 与SEQ ID NO:214的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;
- (b) 与SEQ ID NO:213的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及
- (c) 如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

38. 根据权利要求36或权利要求37所述的抗体,其包含SEQ ID NO:214的VH序列和SEQ ID NO:213的VL序列。

39. 一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有SEQ ID NO:218的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID NO:219的氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID NO:220的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有SEQ ID NO:221的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID NO:222的氨基酸序列的CDR-L3。

40. 根据权利要求39所述的抗体,其包含选自以下项组成的组的序列:

- (a) 与SEQ ID NO:232的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;
- (b) 与SEQ ID NO:231的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及
- (c) 如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

41. 根据权利要求39或权利要求40所述的抗体,其包含SEQ ID NO:232的VH序列和SEQ ID NO:231的VL序列。

42. 一种与S-HBs结合的抗体,其中所述抗体包含重链可变结构域(VH),其包含(a)含有SEQ ID NO:235的氨基酸序列的CDR-H1、(b)含有SEQ ID NO:236的氨基酸序列的CDR-H2和(c)含有SEQ ID NO:237的氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变结构域(VL),其包含(d)含有SEQ ID NO:238的氨基酸序列的CDR-L1、(e)含有SEQ ID NO:239的氨基酸序列的CDR-L2和(f)含有SEQ ID NO:240的氨基酸序列的CDR-L3。

43. 根据权利要求42所述的抗体,其包含选自以下项组成的组的序列:

- (a) 与SEQ ID NO:250的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VH序列;
- (b) 与SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的VL序列;以及
- (c) 如(a)中定义的VH序列和如(b)中定义的VL序列。

44. 根据权利要求42或权利要求43所述的抗体,其包含SEQ ID NO:250的VH序列和SEQ ID NO:249的VL序列。

45. 根据权利要求3至11、15至35或39-41中任一项所述的抗体,其对SEQ ID NO:254至262的HBV蛋白中的每一种具有交叉反应性。

46. 根据权利要求3至45中任一项所述的抗体,其在体内或体外具有针对基因组D HBV的中和活性。

47. 根据权利要求3至46中任一项所述的抗体,其具有在体外测量的 $\leq 1\text{ng/ml}$ 的针对HBV基因组D的中和IC₅₀值。

48. 根据权利要求1至47中任一项所述的抗体,其为单克隆抗体。

49. 根据权利要求1至48中任一项所述的抗体,其为人抗体或嵌合抗体。

50. 根据权利要求1至49中任一项所述的抗体,其为结合S-HBs的抗体片段。

51. 根据权利要求1至49中任一项所述的抗体,其为全长IgG抗体。

52. 根据权利要求3至5中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:18或263的重链和SEQ ID NO:17的轻链。

53. 根据权利要求6至8中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:36或264的重链和SEQ ID NO:35的轻链。

54. 根据权利要求9至11中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:54或265的重链和SEQ ID NO:53的轻链。

55. 根据权利要求12至14中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:72或266的重链和SEQ ID NO:71的轻链。

56. 根据权利要求15至17中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:90或267的重链和SEQ ID NO:89的轻链。

57. 根据权利要求18至20中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:108或268的重链和SEQ ID NO:107的轻链。

58. 根据权利要求21至23中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:126或269的重链和SEQ ID NO:125的轻链。

59. 根据权利要求24至26中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:144或270的重链和SEQ ID NO:143的轻链。

60. 根据权利要求27至29中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:162或271的重链和SEQ ID NO:161的轻链。

61. 根据权利要求30至32中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:180或272的重链和SEQ ID NO:179的轻链。

62. 根据权利要求33至35中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:198或273的重链和SEQ ID NO:197的轻链。

63. 根据权利要求36至38中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:216或274的重链和SEQ ID NO:215的轻链。

64. 根据权利要求39至41中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:234或275的重链和SEQ ID NO:233的轻链。

65. 根据权利要求42至44中任一项所述的抗体,其包含SEQ ID NO:252或276的重链和SEQ ID NO:251的轻链。

66. 根据权利要求51所述的抗体,其包含Fc区,所述Fc区中具有改善所述Fc区与FcRn的结合的一个或多个取代。

67. 根据权利要求66所述的抗体,其中所述取代选自以下项组成的组:

- i) M252Y、S254T和T256E;
- ii) M428L、N434A和Y436T;
- iii) N434A;以及
- iv) T307H和N434H。

68. 根据权利要求67所述的抗体,其包含通过选自以下项组成的组的取代修饰的SEQ ID NO:17的轻链和SEQ ID NO:18或263的重链:

- i) M252Y、S254T和T256E;
- ii) M428L、N434A和Y436T;
- iii) N434A;以及
- iv) T307H和N434H。

69. 根据权利要求67所述的抗体,其包含通过选自以下项组成的组的取代修饰的根据权利要求53至65中任一项中所阐述的轻链和根据权利要求53至65中任一项中所阐述的重链:

- i) M252Y、S254T和T256E;
- ii) M428L、N434A和Y436T;
- iii) N434A;以及
- iv) T307H和N434H。

70. 一种分离的核酸,其编码根据权利要求1至69中任一项所述的抗体。

71. 一种宿主细胞,其包含根据权利要求70所述的核酸。

72. 一种生产与S-HBs结合的抗体的方法,其包括在适合表达所述抗体的条件下培养根据权利要求71所述的宿主细胞。

73. 根据权利要求72所述的方法,其进一步包括从所述宿主细胞回收所述抗体。

74. 一种抗体,其通过根据权利要求73所述的方法生产。

75. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1至69或权利要求74中任一项所述的抗体,

以及药用载体。

76. 根据权利要求75所述的药物组合物,其进一步包含另外的治疗剂。

77. 根据权利要求76所述的药物组合物,其中所述另外的治疗剂选自:靶向HBV序列的siRNA;核苷酸类似物逆转录酶抑制剂或核苷类似物;INF α 或聚乙二醇化INF- α ;治疗性疫苗;TLR激动剂;和/或检查点抑制剂。

78. 根据权利要求1至69或权利要求74中任一项所述的抗体或根据权利要求75至77中任一项所述的药物组合物,其用作药物。

79. 根据权利要求1至69或权利要求74中任一项所述的抗体或根据权利要求75至77中任一项所述的药物组合物,其用于治疗乙型肝炎。

80. 根据权利要求1至69或权利要求74中任一项所述的抗体或根据权利要求75所述的药物组合物,其用于治疗乙型肝炎,其中所述治疗进一步包括施用另外的治疗剂。

81. 根据权利要求80所述使用的抗体或药物组合物,其中所述另外的治疗剂选自由以下项组成的组:靶向HBV序列的siRNA;核苷酸类似物逆转录酶抑制剂或核苷类似物;INF α 或聚乙二醇化INF- α ;治疗性疫苗;TLR激动剂;和/或检查点抑制剂。

82. 一种治疗剂,其选自INF α ;治疗性疫苗;TLR激动剂;和/或检查点抑制剂,用于治疗乙型肝炎,其中所述治疗进一步包括施用根据权利要求1至69或权利要求74中任一项所述的抗体或根据权利要求75所述的药物组合物。

83. 根据权利要求79至82中任一项所述使用的根据权利要求79至82中任一项所述的抗体、药物组合物或治疗剂,其中所述乙型肝炎为慢性乙型肝炎。

84. 根据权利要求1至69或权利要求74中任一项所述的抗体或根据权利要求75至77中任一项所述的药物组合物用于制备药物的用途,所述药物用于治疗乙型肝炎。

85. 根据权利要求84所述的用途,其中所述乙型肝炎为慢性乙型肝炎。

86. 一种治疗患有乙型肝炎的个体的方法,其包括向所述个体施用有效量的根据权利要求1至69中任一项所述的抗体或根据权利要求75所述的药物组合物。

87. 根据权利要求86所述的方法,其进一步包括向所述个体施用另外的治疗剂。

88. 根据权利要求87所述的方法,其中所述另外的治疗剂选自由以下项组成的组:靶向HBV序列的siRNA;核苷酸类似物逆转录酶抑制剂或核苷类似物;INF α 或聚乙二醇化INF- α ;治疗性疫苗;TLR激动剂;和/或检查点抑制剂。

89. 根据权利要求86至88中任一项所述的方法,其中所述乙型肝炎为慢性乙型肝炎。

抗HBV抗体及其使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及针对抗乙型肝炎病毒 (HBV) 的抗体及其使用方法。

背景技术

[0002] 尽管有有效的疫苗可供使用,但慢性乙型肝炎病毒 (HBV) 感染是影响全球超过2.5亿人的主要医疗保健问题 (WHO, 2017)。由于HBV相关的肝硬化、肝功能衰竭和肝细胞癌,感染导致每年大约100万人死亡 (WHO, 2017)。HBV是一种DNA病毒,属于嗜肝DNA病毒科 (Hepadnaviridae) 家族,它以传染性病毒粒子或Dane颗粒的形式产生,但也以非传染性亚病毒颗粒的形式产生 (Seeger等人, 2013)。病毒粒子和亚病毒颗粒在其表面展示三种形式的HBV包膜糖蛋白或HBV表面抗原 (HBsAg): L-HBs (大)、M-HBs (中) 和S-HBs (小)。因此,比传染性HBV病毒粒子数量多的缺陷颗粒充当免疫诱饵 (Seeger等人, 2013)。目前治疗慢性HBV的疗法很少能实现由HBsAg消失和抗HBs抗体血清转换所定义的功能性治愈。然而,在超过90%的成年感染患者和约1%的自发清除感染的慢性感染患者 (称为HBV血清转换者或自然控制者) 中,自然免疫应答可以成功控制HBV感染 (Bauer等人, 2011; Chu和Liaw, 2016; McMahon, 2009; Rehermann和Nascimbeni, 2005)。强大且多特异性的HBV特异性CD4⁺和CD8⁺T细胞应答是在控制感染中的关键免疫效应物 (Bauer等人, 2011)。然而, B细胞和抗体也有助于在功能性治愈后长期清除和防止病毒反弹 (Bertoletti和Ferrari, 2016; Corti等人, 2018; Rehermann和Nascimbeni, 2005)。例如, 尽管患者中的HBsAg⁻/抗HBs⁺抗体血清转换与无法检测到的HBV DNA水平相关 (McMahon, 2009), 但正在接受B细胞耗竭疗法以治疗非霍奇金淋巴瘤的功能性治愈的个体HBV再激活的风险较高, 这会迅速导致严重的肝功能障碍 (Kusumoto等人, 2019; Perrillo等人, 2015)。因此, 控制和最终消除HBV感染的关键免疫成分可能包括广泛而强大的抗原特异性T细胞应答, 以及介导HBsAg清除和终身保护性免疫的中和抗HBs抗体的开发 (Bertoletti和Ferrari, 2016; Corti等人, 2018)。

[0003] 为应答HBV感染而产生的中和抗体靶向所有3种HBsAg形式。它们识别S-HBs抗原环并干扰与肝细胞上的硫酸乙酰肝素蛋白多糖 (HS) 的预附着, 或识别L-HBs的preS1结构域并阻断与宿主细胞受体牛磺胆酸钠共转运多肽 (NTCP) 的结合 (Corti等人, 2018)。由HBV疫苗接种 (基于重组S-HBs免疫原) 诱导的针对S-HBs环的“决定因素”部分的IgG抗体, 或施用于存在暴露于多克隆HBV免疫球蛋白输注风险个体的IgG抗体可对HBV感染提供保护 (Samuel等人, 1993; West和Calandra, 1996)。已从免疫小鼠和少数人类免疫供体中分离出几种中和抗preS和抗S-HBs抗体 (Corti等人, 2018)。S-HBs中和抗体可能有助于HBV血清转换者的病毒清除和长期抑制, 就像它们保护疫苗接种者免受感染一样。然而, 尚未通过克隆和表征人HBsAg特异性抗体来研究功能性治愈的HBV感染个体对HBV的记忆B细胞应答。

发明内容

[0004] 本发明提供抗S-HBs抗体及其使用方法。

附图说明

[0005] 图1. 从HBV疫苗接种者和控制者中克隆的S-HBs记忆抗体

[0006] (A) 来自HBV疫苗接种者 (HBVv, n=6, 底部曲线) 和控制者 (HBVc, n=8, 顶部曲线) 的血清IgG的平均S-HBsAg反应性。阴影区域表示值范围。代表性的流式细胞术图显示了HBV疫苗接种者和控制者中的S-HBs结合IgG⁺记忆B细胞 (显示了Bv4和Bc3)。nS-HBsAg和rS-HBsAg分别是人源性天然S-HBs抗原和重组S-HBs抗原。

[0007] (B) S-HBsAg捕获的IgG⁺记忆B细胞抗体的S-HBsAg-ELISA反应性 (左) 和从HBVv和HBVc中分离出来的S-HBs特异性单克隆抗体的百分比 (%S-HBsAg⁺) (右)。显示了根据HBVc中S-HBs抗体滴度 (<150 IU/ml 和 >900 IU/ml) 的 %S-HBsAg⁺。capt-rHBsAg、rHBsAg捕获ELISA。

[0008] (C) 气泡图显示了根据S-HBs特异性IgG抗体的IgH和IgL链可变结构域中体细胞突变百分比的克隆扩增水平。每个供体的扩展大小如下面的条形图所示。

[0009] (D) 火山图分析比较了来自HBV免疫供体的S-HBsAg特异性B细胞和来自健康个体的IgG记忆B细胞的免疫球蛋白 (Ig) 基因谱 (上)。虚线上方的点表示两种Ig基因谱之间的统计学显著差异。显示了V_H(D_H)J_H重排频率的比较 (下)。pV, p值; FC, 倍数变化。

[0010] (E) S-HBs记忆IgG中构象依赖性与非构象抗体的分布。测试抗体的总数显示在饼图的中心。红外免疫印迹显示抗S-HBs IgG记忆B细胞抗体对变性S-HBs蛋白有反应 (右上)。显示了肽反应性S-HBs抗体的ELISA结合曲线 (右下, 四次重复的平均值±SD)。

[0011] 图2. 人S-HBs记忆抗体的中和活性

[0012] (A) S-HBs IgG抗体对基因型D HBV体外感染HepaRG细胞的中和活性。显示了每种抗体 (n=72) 的50%抑制浓度 (IC₅₀) 值 (左上), 以及中和抗体与非活性抗体的分布 (左下)。(B) 显示了根据结合的S-HBs抗原 (右上) 和体细胞超突变百分比 (%SHM) (右下) 的中和能力。

[0013] (C) 通过Northern印迹法在HepaRG细胞中使用HDV RNA定量, 所选S-HBs IgG抗体抗HDV的体外中和活性。ge, 基因组等价物。

[0014] (D) 人S-HBs抗体在AAV-HBV转导小鼠中的体内中和活性。在用0.5mg抗S-HBs抗体PIBv4.104 (n=9)、Bc1.187 (n=9)、Bc1.263 (n=6)、Bc4.204 (n=4) 或mG053同种型对照 (n=5) 静脉注射治疗一次的AAV-HBV转导小鼠中监测循环血液S-HBs水平。粗线代表平均值。

[0015] (E) 显示了在每只小鼠施用0.25mg (白色) 和0.5mg (黑色) 抗体后S-HBs滴度在最低点 (注射后第2天, dpi2) 的Log₁₀变化。用线表示平均值。

[0016] (F) 在静脉注射一次1mg抗S-HBs抗体Bc1.187的AAV-HBV转导小鼠 (n=6) 中监测循环血液S-HBs和HBV DNA水平。S-HBs和HBV DNA水平随时间变化的平均log₁₀显示在右侧。

[0017] 图3. 人HBV中和抗体的交叉反应性

[0018] (A) 热图比较了HBV中和抗体对Adw和Ayw基因型D S-HBs蛋白的ELISA反应性 (测量为图14中的AUC值)。右侧的代表性ELISA图显示了所选抗体对重组HBV疫苗Engerix-B (Ayw) 和GenHevac (Adw) 的反应性。误差条表示测定重复的SD。

[0019] (B) 热图比较了HBV中和抗体对来自系统发育树 (左上) 中描述的基因型的S-HBs抗原的反应性, 以流式细胞术确定的结合S-HBs表达细胞的百分比表示。数据代表两个独立实验之一。HB1和mG053分别是阳性和阴性对照。左下角的细胞图显示了HB1抗体的代表性反应

性谱。右侧的ELISA图显示了所选抗体对除G之外的所有基因型的重组S-HBs抗原的反应性。误差条表示测定重复的SD。

[0020] (C) 与(B)相同,但左上图描绘的S-HBs突变蛋白不同。

[0021] (D) 图表比较了Bc1.187对从A到D基因型的HBV病毒感染原代人肝细胞的中和活性。误差条表示测定一式三份的SEM。

[0022] (E) 图表显示了通过HepaRG中和测定确定的PIBv4.104和Bc1.187对来自基因型A、C和D的HBV病毒的中和曲线。误差条表示测定一式三份的SEM。

[0023] 图4. 人HBV中和抗体的结合特征

[0024] (A) 热图显示所选HBV中和抗体与重组HBsAg突变蛋白的ELISA结合。颜色值与反应水平成正比。

[0025] (B) 热图显示S-HBs与HBV中和抗体结合的竞争。较浅的颜色表示较强的抑制作用;黑色表示没有竞争。

[0026] (C) 图表比较了通过流式细胞术(上)和ELISA(下)测量的所选HBV中和抗体及其种系对应物与S-HBs结合。

[0027] (D) 通过HepaRG中和测定确定的Bc1.187、Bc4.204和PIBv4.104的种系版本对基因型D HBV病毒的中和活性。误差条表示测定一式三份的SD。

[0028] (E) 所选S-HBs人抗体在人蛋白质微阵列上的反应性谱。每个点对应于参考(Ref: mG053, y轴)和测试抗体(x轴)在单个蛋白质上给出的z分数。标签表示免疫反应蛋白($z > 5$)。

[0029] 图5. 使用有效的HBV交叉中和抗体Bc1.187进行体内治疗。

[0030] (A) 每2天用0.5mg抗S-HBs Bc1.187或同种型对照mG053嵌合抗体静脉注射治疗16天的AAV-HBV转导小鼠($n=7$ 每组)中HBV感染随时间的演变。示出了循环血液HBsAg、HBeAg和HBV DNA水平。粗线表示平均值。

[0031] (B) 每周接受腹腔内注射人抗S-HBs抗体Bc1.187(20mg/kg $\sim$ 0.4mg, $n=7$, 直线; 50mg/kg $\sim$ 1mg, $n=5$, 虚线)持续3周的HUHEP小鼠中HBV感染随时间的演变。显示了与基线(右)相比的循环血液HBsAg、HBeAg和HBV DNA水平(左)和 $\Delta \log_{10}$ 值。粗线表示平均值。

[0032] 图6. 表格示出了HBV免疫供体的临床和免疫病毒学特征。

[0033] 图7A和图7B. 表格示出了人抗S-HBs抗体的免疫球蛋白基因谱和中和活性。

[0034] 图8. 纯化的血清IgGs和血液IgG+记忆B细胞与S-HBs抗原的结合。

[0035] (A) 代表性ELISA图示出了来自HBV疫苗接种者(HBV_v)和控制者(HBV_c)的纯化血清IgG抗体对重组(rS-HBs)和人源性天然(nS-HBs)S-HBs颗粒的反应性。误差条表示重复值的SEM。(B) 流式细胞图示出了用于单细胞分选IgG+记忆B细胞与用作诱饵的荧光标记的rS-HBs和nS-HBs蛋白结合的门控策略。示出了所有供体的S-HBs反应性IgG+记忆B细胞群。

[0036] 图9. S-HBs捕获的IgG+记忆B细胞抗体的S-HBs反应性。

[0037] (A) 热图示出了从HBV疫苗接种者和血清转换者克隆的S-HBs结合记忆抗体对nS-HBs和rS-HBs(固定和捕获)的ELISA反应性。示出了三次重复的光密度值的平均值。(B) 小提琴图示出了(A)中所示结合的累积ELISA光密度(COD)值。示出了每个供体从S-HBs捕获的IgG+记忆B细胞克隆的S-HBs特异性抗体的比例(右)。

[0038] 图10. S-HBs特异性IgG+记忆B细胞的免疫球蛋白基因谱。

[0039] (A) 饼图比较了来自健康个体(IgG.mB)的血液S-HBs特异性IgG+记忆B细胞和IgG+

记忆B细胞的VH/JH基因使用分布(Prigent等人,2016)。分析的抗体序列数量显示在每个饼图的中心。(B)条形图比较了由S-HBs特异性和对照IgG+记忆B细胞表达的单一免疫球蛋白VH基因的分布。(C)表达VH1-69的S-HBs抗体的CDRH2区域(由Kabat定义)的氨基酸比对。灰色残基表示与种系VH基因(顶部)相比的取代。(D)与(B)相同,但IgG亚型(左)和 κ -vs λ -Ig链使用(右)不同。(E)与(B)相同,但CDRH3长度和正电荷数不同。CDRH3长度的平均值显示在每个直方图下方。(F)与(A)相同,但V κ /J κ 和V λ /J λ 基因使用不同。(G)小提琴图比较了S-HBs特异性和对照IgG+记忆B细胞中VH、V κ 和V λ 基因的突变数量。平均突变数量(mut.)显示在每个点图下方。使用未配对的学生t检验和Welch校正比较抗体组之间的突变数量。(H)图表示出了基于抗S-HBs IgH和IgL序列的抗原驱动选择的贝叶斯估计。使用 2×2 和 2×5 Fisher精确检验对组进行比较(在A、B、D、E和F中)。

[0040] 图11.人抗S-HBs抗体对变性的S-HBsAg和S-HBsAg肽的反应性。

[0041] (A)抗S-HBs抗体对跨膜结构域缺失的S-HBsAg蛋白(Δ TM-rS-HBsAg)的ELISA反应性。HB1和mG053分别是阳性和阴性对照。虚线表示正反应性的临界OD_{405nm}。(B)与(A)相同,但对应于推定的S-HBsAg环122-137和139-148的环肽不同。(C)抗S-HBs抗体对S-HBsAg重叠线性肽的热图反应性。显示了S-HBsAg肽的氨基酸序列(右)和总平均亲水性值(GRAVY)(下)。

[0042] 图12A和B.人S-HBs抗体对体外HBV的中和作用。

[0043] 图表显示了在体外HepaRG测定中测量的所选人S-HBs抗体对基因型D HBV病毒的中和曲线。水平虚线表示50%中和,从中可以得出IC50值来自x轴上的抗体浓度。

[0044] 图13.在HBV-AAV小鼠中被动施用人S-HBs抗体。

[0045] (A)人S-HBs抗体在AAV-HBV转导小鼠中的体内中和活性。在用0.25mg抗S-HBs抗体Bv4.104(n=6)、Bc1.187(n=6)、Bc1.263(n=6)、Bc4.204(n=6)或mG053同种型对照(n=5)静脉注射治疗一次的AAV-HBV转导小鼠中监测循环血液HBsAg水平。粗线表示平均值。显示每只小鼠静脉注射施用0.25mg抗体后,HBsAg滴度随时间改变的Log10(Δ log10 S-HBs)。(B)图表显示了用0.25mg(左)和0.5mg(右)S-HBs抗体处理一次的小鼠中人IgG滴度随时间的演变。粗线表示平均值。

[0046] 图14.HBV中和抗体与重组血清型特异性S-HBs蛋白的结合。

[0047] 代表性ELISA图显示了所选HBV中和抗体与纯化的重组Adw(直线)和Ayw(虚线)S-HBs蛋白的结合。HB1和mG053分别是阳性和阴性对照。显示了来自两个独立实验之一的测定重复的平均值 $\pm$ SEM。

[0048] 图15.HBV中和抗体对基因型特异性S-HBs蛋白的交叉反应性。

[0049] (A)(B)中使用的来自不同HBV基因型的共有S-HBs蛋白序列的氨基酸比对。残留变化以灰色突出显示。(B)细胞图比较了所选HBV中和抗体对基因型特异性S-HBs抗原的反应性谱。数据代表两个独立实验之一。HB1和mG053分别是阳性和阴性对照。Ctr,未转染的细胞对照(从底部开始);FI,荧光强度。

[0050] 图16.HBV中和抗体对S-HBs突变蛋白的反应性。(A)细胞图比较了所选HBV中和抗体对显示自然发生的逃逸突变(T126A、M133T、Y134V或G145R)或S-HBs N-糖基化位点中的突变(N126S)的基因型D S-HBs突变蛋白的反应性。数据代表两个独立实验之一。HB1和mG053分别是阳性和阴性对照。Ctr,未转染的细胞对照(从底部开始);FI,荧光强度。

[0051] 图17.强效HBV中和抗体的多反应性和自身反应性。(A)所选人S-HBs抗体(n=8)人

蛋白质微阵列的反应性谱。对于每个蛋白质点,由参考(Ref:mG053)和测试给出的平均荧光强度(MFI)分别描绘在y和x轴上。每个点代表重复阵列蛋白的平均值。对角线表示参考抗体和测试抗体的结合相等。标记的点表示z分数>5的免疫反应蛋白。(B)频率直方图显示了与非反应性抗体mG053相比,S-HBs抗体的MFI信号的log10蛋白质位移(σ)。多反应性指数(PI)对应于所有阵列蛋白质位移的高斯平均值。(C)通过IFA和ELISA测定所选S-HBs抗体与表达HEp2的自身抗原的结合。Ctr+,试剂盒的阳性对照。mG053和ED38分别是阴性和阳性对照抗体。比例尺代表40 μ M。右下角的条形图显示了通过ELISA测量的HEp-2反应性。显示了来自一式两份进行的两个独立实验的值的平均值 $\pm$ SD。

[0052] 图18.在慢性HBV感染的小鼠中被动施用中和抗体。

[0053] (A)每3-4天腹腔内注射0.5mg的人抗S-HBs抗体Bc1.187或mG053同种型对照治疗17天的AAV-HBV转导小鼠($n=7$)中随时间变化的循环血液HBsAg水平。示出了平均 $\Delta \log_{10}$ HBsAg值(右)。阴影区域表示抗体治疗期。(B)通过ELISA测量的(A)中所示的治疗小鼠中的鼠抗人IgG抗体水平。(C)B6小鼠($n=4$)中被动施用的嵌合Bc1.187抗体(0.5mg静脉注射)的IgG浓度。 μ Bc1.187抗体以天为单位的半衰期($t_{1/2}$)显示在右上角。(D)每周接受静脉注射(0.5mg)的嵌合抗S-HBs抗体Bc1.187和mG053同种型对照的C57BL/6J小鼠随时间变化的 $\Delta \log_{10}$ S-HBs水平。粗线表示平均值。(E)每2天用0.5mg的嵌合抗S-HBs抗体Bc1.187或mG053同种型对照静脉注射治疗16天的AAV-HBV转导小鼠($n=7$)中随时间变化的 $\Delta \log_{10}$ HBsAg和HBV DNA水平。粗线表示平均值。阴影区域表示抗体治疗期。

[0054] 图19.Bc1.187抗体治疗HBV感染的HUHEP小鼠。

[0055] (A)感染基因型D HBV并用抗HBs Bc1.187以20mg/kg或50mg/kg人抗体腹腔内注射治疗3周的每只HUHEP小鼠的随时间变化的血液HBsAg、HBeAg和HBV DNA水平。(B)每3-4天接受非HBV同种型对照mG053(20mg/kg腹腔内注射)或恩替卡韦(ETV)治疗3周的HUHEP小鼠中HBV感染随时间的演变。示出了HBsAg、HBeAg和HBV DNA的血液水平。(C)图表示出了受感染的HUHEP小鼠和用20mg/kg(直线)和50mg/kg(虚线)的Bc1.187腹腔内注射治疗17天(阴影区域)的小鼠中随时间变化的人血清白蛋白水平。

具体实施方式

[0056] I. 定义

[0057] 出于本文目的的“受体人框架”是这样的框架,其包含来源于如下所定义的人免疫球蛋白框架或人共有框架的轻链可变结构域(VL)框架或重链可变结构域(VH)框架的氨基酸序列。“来源于”人免疫球蛋白框架或人共有框架的受体人框架可包含与该人免疫球蛋白框架或人共有框架相同的氨基酸序列,或者其可以包含氨基酸序列变化。在一些方面,氨基酸变化的数量为10个或更少、9个或更少、8个或更少、7个或更少、6个或更少、5个或更少、4个或更少、3个或更少或2个或更少。在一些方面,VL受体人框架在序列上与VL人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列相同。

[0058] “亲和力”是指分子(例如,抗体)的单个结合位点与其结合配偶体(例如,抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另有说明,否则如本文所用,“结合亲和力”是指内在结合亲和力,其反映了结合对的成员(例如,抗体和抗原)之间的1:1相互作用。分子X对其配偶体Y的亲和力一般可由解离常数(K_D)表示。亲和力可以通过本领域已知的常规方法测

量,包括本文所述的那些方法。下文描述用于测量结合亲和力的具体的说明性和示例性方法。

[0059] “亲和力成熟的”抗体是指在一个或多个互补决定区(CDR)中具有一个或多个改变的抗体,与不具有此类改变的亲本抗体相比,此类改变导致了抗体对抗原的亲和力的改善。

[0060] 术语“抗S-HBs抗体”和“结合S-HBs的抗体”是指这样的抗体,其能够以足够的亲和力结合S-HBs,使得该抗体可用作靶向S-HBs的诊断剂和/或治疗剂。在一个方面,例如通过表面等离子体共振(SPR)或使用ELISA或本文公开的流式细胞术测量的,抗S-HBs抗体与不相关的、非S-HBs蛋白的结合程度小于抗体与S-HBs结合的约10%。在某些方面,与S-HBs结合的抗体的解离常数(K_D)为 $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$ 或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如, 10^{-8}M 或更小,例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M ,例如 10^{-9}M 至 10^{-13}M)。当抗体的 K_D 为 $1\mu\text{M}$ 或更小,和/或如果抗S-HBs抗体与不相关的非S-HBs蛋白的结合程度小于该抗体与上述S-HBs结合的约10%,例如,如通过表面等离子体共振(SPR)或通过如本文所述的流式细胞术或ELISA测定测量的,则该抗体被称为与S-HBs特异性结合。在某些方面,抗S-HBs抗体与S-HBs的表位结合,该表位在来自不同HBV基因型的S-HBs中是保守的。

[0061] 术语“抗体”在本文中以最广泛的含义使用并且涵盖各种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)、其他抗体形式(例如,包含VH结构域、VL结构域和任选地Fc结构域,以不同于常规IgG的形式)和抗体片段,只要它们表现出所期望的抗原结合活性即可。

[0062] “抗体片段”是指完整抗体以外的分子,其包含完整抗体的一部分,该部分结合完整抗体所结合的抗原。抗体片段的实例包括但不限于Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂;双体抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如,scFv和scFab);单结构域抗体(dAb);以及由抗体片段形成的多特异性抗体。关于某些抗体片段的综述,请参见Holliger和Hudson, *Nature Biotechnology* 23:1126-1136(2005)。

[0063] 术语“表位”表示与抗S-HBs抗体所结合的蛋白质或非蛋白质的抗原上的位点。表位既可以由连续的氨基酸伸长段(线性表位)形成,也可以通过包含非连续的氨基酸(构象表位)形成,例如由于抗原折叠,即由于蛋白质抗原的三级折叠而在空间上接近。在蛋白质抗原暴露于变性剂后,线性表位通常仍被抗S-HBs抗体结合,而构象表位通常在用变性剂处理后被破坏。表位包含独特的立体构象中的至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个或8至10个氨基酸。

[0064] 抗体结合的筛选可以使用本领域常规的方法进行,例如但不限于丙氨酸扫描、肽印迹(参见Meth.Mol.Biol.248(2004)443-463)、肽切割分析、表位切除,表位提取、抗原的化学修饰(参见Prot.Sci.9(2000)487-496)和交叉阻断(参见“Antibodies”,Harlow and Lane(Cold Spring Harbor Press,Cold Spring Harb.,NY))。

[0065] 基于抗原结构的抗体谱分析(ASAP)(也称为修饰辅助谱分析(MAP))允许基于来自与S-HBs特异性结合的大量单克隆抗体的每一种抗体与经化学修饰或酶修饰的抗原表面的结合谱来对该大量单克隆抗体进行分箱(参见例如US 2004/0101920)。每个组中的抗体结合相同的表位,该表位可以是独特的表位,该独特的表位与另一个组所代表的表位明显不同或部分重叠。

[0066] 竞争性结合也可用于容易地确定抗体是与S-HBs的相同表位结合还是与参考抗S-

HBs抗体竞争结合。例如,与参考S-HBs抗体“与相同表位结合的抗体”是指在竞争测定中阻断参考抗S-HBs抗体与其抗原的结合达50%或更高的抗体,反之,参考抗体在竞争测定中阻断该抗体与其抗原的结合达50%或更高。同样例如,为了确定抗体是否与参考抗S-HBs抗体结合相同表位,使参考抗体在饱和条件下与S-HBs结合。在去除过量的参考抗S-HBs抗体后,评定所讨论的抗S-HBs抗体与S-HBs结合的能力。如果在参考抗S-HBs抗体饱和结合后抗S-HBs抗体能够与S-HBs结合,则可以得出结论,所讨论的抗S-HBs抗体与和参考抗S-HBs抗体不同的表位结合。但是,如果所讨论的抗S-HBs抗体在参考抗S-HBs抗体饱和结合后不能与S-HBs结合,则所讨论的抗S-HBs抗体可能与和参考抗S-HBs抗体所结合的表位相同的表位结合。为了确认所讨论的抗体是结合于同一表位还是由于空间原因而使其受阻,可以使用常规实验(例如,使用ELISA、RIA、表面等离子体共振、流式细胞术或任何其他本领域可获得的定量或定性的抗体结合测定法进行的肽突变和结合分析)。该测定应以两种设置进行,即,两种抗体均为饱和抗体。如果在这两种设置中,只有第一(饱和)抗体能够与S-HBs结合,则可以得出结论,所讨论的抗S-HBs抗体和参考抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0067] 在一些方面,如在竞争性结合测定中测量的,如果一种抗体1、5、10、20或100倍过量抑制另一种抗体的结合至少50%、至少75%、至少90%或甚至99%或更高,则认为两种抗体结合相同或重叠的表位(参见例如Junghans等人,Cancer Res.50 (1990) 1495-1502)。

[0068] 在一些方面,如果抗原中减少或消除一种抗体的结合的基本上所有氨基酸突变也减少或消除另一种抗体的结合,则认为两种抗体结合相同的表位。如果只有一种减少或消除一种抗体结合的氨基酸突变的子集减少或消除另一种抗体的结合,则两种抗体被认为具有“重叠表位”。

[0069] 术语“嵌合”抗体是指这样的抗体,在该抗体中重链和/或轻链的一部分来源于特定来源或物种,而重链和/或轻链的其余部分来源于不同的来源或物种。

[0070] 抗体的“类别”是指抗体的重链所具有的恒定结构域或恒定区的类型。存在五大类抗体:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且这些抗体中的一些可以进一步分为亚类(同种型),例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁和IgA₂。在某些方面,抗体是IgG₁同种型。在某些方面,抗体是具有P329G、L234A和L235A突变以降低Fc区效应子功能的IgG₁同种型。在其他方面,抗体是IgG₂同种型。在某些方面,抗体是在铰链区具有S228P突变的IgG₄同种型,以改善IgG₄抗体的稳定性。对应于不同类别的免疫球蛋白的重链恒定结构域分别称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 。抗体的轻链基于其恒定结构域的氨基酸序列,可以归属于两种类型中的一种,这两种类型称为卡帕(κ)和兰姆达(λ)。

[0071] 如本申请中所用的术语“衍生自人源的恒定区”或“人恒定区”表示亚类IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的人抗体的恒定重链区和/或恒定轻链 κ 或 λ 区。此类恒定区在现有技术中是众所周知的并且例如,通过以下描述的:Kabat,E.A.,等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD (1991) (还参见,例如Johnson,G.,和Wu,T.T.,Nucleic Acids Res.28 (2000) 214-218;Kabat,E.A.,等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 72 (1975) 2785-2788)。除非本文另外规定,否则恒定区中氨基酸残基的编号是根据EU编号系统,EU编号系统也称为Kabat的EU索引,如在Kabat,E.A.等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,

MD(1991), NIH Publication 91-3242中所述。

[0072] “效应子功能”是指可归因于抗体的Fc区、随着抗体同种型的变化而变化的那些生物学活性。抗体效应子功能的实例包括: C1q结合和补体依赖性细胞毒性 (CDC); Fc受体结合; 抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC); 吞噬作用; 细胞表面受体 (例如, B细胞受体) 的下调; 以及B细胞活化。

[0073] 药剂 (例如, 药物组合物) 的“有效量”是指在必要的剂量下和必要的时段内, 有效实现期望的治疗或预防结果的量。

[0074] 本文的术语“Fc区”用于定义免疫球蛋白重链的C末端区, 该C末端区包含恒定区的至少一部分。该术语包括天然序列Fc区和变体Fc区。在一个方面, 人IgG重链Fc区从Cys226或从Pro230延伸至重链的羧基末端。然而, 由宿主细胞产生的抗体可以经历对来自重链C端的一个或更多个 (特别是一个或两个) 氨基酸的翻译后切割。因此, 由宿主细胞通过表达编码全长重链的特定核酸分子产生的抗体可以包括全长重链, 或者该抗体可以包括全长重链的切割变体。这可能是重链的最后两个C末端氨基酸为甘氨酸 (G446) 和赖氨酸 (K447, EU编号) 的情况。因此, Fc区的C末端赖氨酸 (Lys447) 或C末端甘氨酸 (Gly446) 和赖氨酸 (Lys447) 可以存在或可以不存在。如果没有另外指明, 则包含Fc区的重链的氨基酸序列在本文中被表示为具有C末端甘氨酸-赖氨酸二肽。在一个方面, 包括如本文所指定的Fc区的重链包含在根据本发明的抗体中, 该重链缺乏C末端甘氨酸-赖氨酸二肽 (G446和K447, EU编号系统)。在一个方面, 包括如本文所指定的Fc区的重链包含在根据本发明的抗体中, 该重链缺乏C末端甘氨酸残基 (K447, 根据EU索引编号)。除非本文另外规定, 否则Fc区或恒定区中氨基酸残基的编号是根据EU编号系统, EU编号系统也称为EU索引, 如在Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991中所述。

[0075] “框架”或“FR”是指除互补决定区 (CDR) 之外的可变结构域残基。可变结构域的FR通常由以下四个FR结构域组成: FR1、FR2、FR3和FR4。因此, CDR和FR序列通常在VH (或VL) 中以下列序列出现: FR1-CDR-H1 (CDR-L1) -FR2-CDR-H2 (CDR-L2) -FR3-CDR-H3 (CDR-L3) -FR4。

[0076] 术语“全长抗体”、“完整抗体”及“全抗体”在本文中可互换地用于指代具有基本上类似于天然抗体结构的结构或具有含有如本文所定义的Fc区的重链的抗体。

[0077] 术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用, 并且是指外源核酸已被引入其中的细胞, 包括此类细胞的子代。宿主细胞包括“转化体”和“转化细胞”, 其包括原代转化细胞和来源于该原代转化细胞的子代, 不考虑传代次数。子代可能不与亲本细胞的核酸内容物完全一致, 而是可能含有突变。本文包括如在原始转化细胞中筛选或选择的具有相同功能或生物活性的突变子代。

[0078] “人抗体”是这样的抗体, 其具有的氨基酸序列与由人或人细胞产生的或来源于利用人抗体谱或其他人抗体编码序列的非人来源的抗体的氨基酸序列相对应。人抗体的该定义特别地排除了包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

[0079] “人共有框架”是这样的框架, 其表示在人免疫球蛋白VL或VH框架序列的选择中最常存在的氨基酸残基。一般而言, 人免疫球蛋白VL或VH序列的选择来自于可变结构域序列的亚组。一般而言, 序列的亚组是如Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), 第1-3

卷中所述的亚组。在一个方面,对于VL,该亚组是如Kabat等人,出处同上中的亚组κI。在一个方面,对于VH,该亚组是如Kabat等人,出处同上中的亚组III。

[0080] “人源化”抗体是指这样的嵌合抗体,其包含来自非人CDR的氨基酸残基和来自人FR的氨基酸残基。在某些方面,人源化抗体将基本上包含所有的至少一个、通常两个可变结构域,其中所有或基本上所有CDR对应于非人抗体的CDR,并且所有或基本上所有的FR对应于人抗体的FR。人源化抗体任选地可以包含来源于人抗体的抗体恒定区的至少一部分。“人源化形式”的抗体,例如,非人抗体,是指已经进行过人源化的抗体。

[0081] 如本文所用,术语“高变区”或“HVR”是指抗体可变结构域的在序列上高变并确定抗原结合特异性的各个区域,例如“互补决定区”(“CDR”)。

[0082] 通常,抗体包含六个CDR;三个在VH中(CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3),并且三个在VL中的(CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3)。本文中的示例性CDR包括:

[0083] (a) 出现在以下氨基酸残基处的高可变环:26至32(L1)、50至52(L2)、91至96(L3)、26至32(H1)、53至55(H2)和96至101(H3)(Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987));

[0084] (b) 存在于氨基酸残基24-34(L1)、50-56(L2)、89-97(L3)、31-35b(H1)、50-65(H2)和95-102(H3)处的CDR(Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991));以及

[0085] (c) 出现在以下氨基酸残基处的抗原接触点:27c至36(L1)、46至55(L2)、89至96(L3)、30至35b(H1)、47至58(H2),以及93至101(H3)(MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996))。

[0086] 除非另外指明,否则CDR根据出处同上的Kabat等人所述的方法确定。本领域的技术人员将理解,CDR名称也可以根据出处同上的Chothia所述的方法、出处同上的McCallum所述的方法或者任何其他在科学上接受的命名系统来确定。

[0087] “免疫缀合物”是与一种或多种异源分子,包括但不限于细胞毒性剂缀合的抗体。

[0088] “个体”或“受试者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于驯养的动物(例如牛、绵羊、猫、犬和马)、灵长类动物(例如人和非人灵长类动物,诸如猴)、兔以及啮齿类动物(例如小鼠和大鼠)。在某些方面,个体或受试者是人。

[0089] “分离的”抗体为已从其自然环境的组分中分离的抗体。在一些方面,通过例如电泳(例如,SDS-PAGE、等电聚焦(IEF)、毛细管电泳)或色谱(例如,离子交换或反相HPLC)方法测定,将抗体纯化至大于95%或99%的纯度。关于评定抗体纯度的方法的综述,请参见例如Flatman等人,J.Chromatogr.B 848:79-87(2007)。本文所述的任何抗体都可以是分离的抗体。

[0090] 术语“核酸分子”或“多核苷酸”包括包含核苷酸聚合物的任何化合物和/或物质。每个核苷酸由碱基组成,特别是嘌呤或嘧啶碱基(即胞嘧啶(C)、鸟嘌呤(G)、腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)或尿嘧啶(U))、糖(即脱氧核糖或核糖)和磷酸酯基团。通常,核酸分子通过碱基序列进行描述,其中所述碱基代表核酸分子的一级结构(线性结构)。碱基序列通常表示为从5'至3'。在本文中,术语核酸分子涵盖脱氧核糖核酸(DNA)(包括例如互补DNA(cDNA)和基因组DNA)、核糖核酸(RNA)(特别是信使RNA(mRNA))、DNA或RNA的合成形式,以及包含这些分

子中的两种或更多种的混合聚合物。核酸分子可以是线性的或环状的。此外,术语核酸分子包括有义链和反义链,以及单链和双链形式。此外,本文所描述的核酸分子可含有天然存在的或非天然存在的核苷酸。非天然存在的核苷酸的示例包括具有衍生化的糖或磷酸主链键或经化学修饰的残基的经修饰的核苷酸碱基。核酸分子还涵盖适合作为用于本发明的抗体的体外和/或体内(例如,在宿主或患者体内)直接表达的载体的DNA和RNA分子。此类DNA(例如cDNA)或RNA(例如mRNA)载体可以是未修饰的或经修饰的。例如,可以对mRNA进行化学修饰以增强RNA载体的稳定性和/或编码分子的表达,使得可以将mRNA注射到受试者体内以产生体内抗体(参见例如Stadler等人,Nature Medicine 2017,在线发表于2017年6月12日,doi:10.1038/nm.4356或EP 2 101 823 B1)。

[0091] “分离的”核酸是指已自其自然环境的组分中分离的核酸分子。分离的核酸包括这样的核酸分子,其包含在通常含有核酸分子的细胞中,但该核酸分子存在于染色体外或与其天然染色体位置不同的染色体位置处。

[0092] “编码抗S-HBs抗体的分离的核酸”是指编码抗S-HBs抗体重链和轻链(或其片段)的一个或多个核酸分子,包括在单一载体或单独的载体中的此类核酸分子,以及存在于宿主细胞中一个或多个位置的此类核酸分子。

[0093] 如本文所用的术语“单克隆抗体”是指从基本上同质的抗体群体获得的抗体,即,除了可能的变异抗体(例如含有天然存在的突变或在单克隆抗体制剂的生产过程中产生,此类变体通常以少量存在)之外,包含该群体的各个抗体是相同的和/或结合相同的表位。与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相反,单克隆抗体制剂中的每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。因此,修饰语“单克隆”表示抗体的特征是从基本上同质的抗体群体获得的,并且不应解释为需要通过任何特定方法产生抗体。例如,根据本发明的单克隆抗体可以通过多种技术制备,包括但不限于杂交瘤方法、重组DNA方法、噬菌体展示方法,以及利用含有全部或部分人免疫球蛋白基因座的转基因动物的方法,在本文中描述了用于制备单克隆抗体的此类方法和其他示例性方法。

[0094] “裸抗体”是指不缀合至异源部分(例如,细胞毒性部分)或放射性标记的抗体。裸抗体可存在于药物组合物中。

[0095] “天然抗体”是指具有不同结构的天然免疫球蛋白分子。例如,天然IgG抗体是约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白,由经二硫键合的两条相同轻链和两条相同重链构成。从N端至C端,每条重链均具有可变结构域(VH),亦称为可变重链结构域或重链可变区,随后为三个恒定重链结构域(CH1、CH2和CH3)。类似地,从N端至C端,每条轻链均具有可变结构域(VL),亦称为可变轻链结构域或轻链可变区,随后为恒定轻链(CL)结构域。

[0096] 术语“包装插页”用于指治疗产品的商业包装中通常包括的说明书,其含有涉及此类治疗产品的使用的有关适应症、用法、剂量、施用、联合疗法、禁忌症和/或警告的信息。

[0097] 相对于参照多肽序列的“氨基酸序列同一性百分比(%)”被定义为在比对候选序列与参考多肽序列并引入空位(如果必要的话)以实现最大的序列同一性百分比之后,并且在出于比对的目的是不考虑将任何保守性取代作为序列同一性的组成部分的情况下,候选序列中的氨基酸残基与参考多肽序列中的氨基酸残基相同的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比的比对可以通过本领域技术范围内的各种方式实现,例如使用公众可获得的计算机软件,诸如BLAST、BLAST-2、Clustal W、Megalign(DNASTAR)软件或FASTA程序包。本

领域技术人员可确定用于比对序列的适当参数,包括在所比较的序列的全长上实现最大比对所需的任何算法。可替代地,可以使用序列比较计算机程序ALIGN-2来生成同一性百分比值。ALIGN-2序列比较计算机程序由基因泰克公司编写,并且源代码已经与用户文档一起提交到U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559,在那里以美国版权登记号TXU510087注册,并且在WO 2001/007611中有所描述。

[0098] 除非另外指明,否则出于本文的目的,使用FASTA包第36.3.8c版或更高版本的ggsearch程序,利用BLOSUM50比较矩阵生成氨基酸序列同一性百分比的值。FASTA程序包由W.R. Pearson和D.J. Lipman (1988), “Improved Tools for Biological Sequence Analysis”, PNAS 85:2444-2448; W.R. Pearson (1996) “Effective protein sequence comparison” Meth. Enzymol. 266:227-258; 以及Pearson等人, (1997) Genomics 46:24-36创作并且可从www.fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/fasta_down.shtml或www.ebi.ac.uk/Tools/sss/fasta公开获得。可替代地,可以使用可在fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/index.cgi处访问的公共服务器来比较序列,使用ggsearch(全局蛋白质:蛋白质)程序和默认选项(BLOSUM50; 开放:-10; ext:-2; Ktup=2)来确保执行全局而非局部比对。在输出比对标头中给出氨基酸同一性百分比。

[0099] 术语“药物组合物”或“药物配制物”是指处于允许包含在其中的活性成分的生物活性有效的形式,并且不含对于将被施用该药物组合物的受试者具有不可接受的毒性的附加组分的制剂。

[0100] “药用载体”是指药物组合物或配制物中除有效成分之外的成分,其对受试者是无毒的。药用载体包括但不限于缓冲剂、赋形剂、稳定剂,或防腐剂。

[0101] 如本文可互换使用的术语“S-HBs”或“S-HBsAg”(指小型乙型肝炎表面抗原)包括“全长”、未加工的S-HBs以及由在细胞中加工产生的任何形式的S-HBs。该术语还涵盖S-HBs的天然存在变体,例如剪接变体或等位基因变体。示例性S-HBs的氨基酸序列示出于SEQ ID NO:253中。本发明的抗体可以至少与SEQ ID NO:253的S-HBs结合,例如,以如本文所讨论的亲合力或结合活性。任选地,本发明的抗体可以另外地或可替代地与一种或多种蛋白质结合,该蛋白质包括或由选自SEQ ID NO:254-262的共有序列组成,例如与SEQ ID NO:257的蛋白质结合。

[0102] 如本文所用,“治疗”(及其语法变体)是指试图改变所治疗个体的疾病的自然病程,并且可以执行以用于预防或可以在临床病理学过程中执行的临床干预措施。治疗的期望效果包括但不限于预防疾病的发生或复发、减轻症状、削弱疾病的任何直接或间接病理学后果、降低疾病进展的速率、改善或减轻疾病状态,以及缓解或改善预后。在一些方面,本发明的抗体用于延迟疾病的发展或减缓疾病的进展。

[0103] 乙型肝炎可以是慢性的或急性的,并且本发明的抗体可以用于治疗任一种病况。急性肝炎通常是指在暴露于病毒后的头六个月内发生的感染。慢性肝炎通常是指六个月后持续的感染。在一些实施例中,肝炎的治疗可以指减少HBV病毒、消除HBV病毒、减少由于HBV感染引起的症状、预防或减少肝炎发展为肝病诸如肝硬化、肝纤维化、肝功能衰竭和/或肝癌,血清中可检测到的HBV表面抗原(HBsAg)减少,和/或HBV表面抗原(HBsAg)血清转换,即血清中没有可检测到的HBsAg。HBsAg的检测可以通过本领域公认的任何筛查测定进行,诸如Elecsys HBsAg II (Roche Diagnostics)、Auszyme Monoclonal[过夜孵育]版本B、IMx

HBsAg (Abbott) 或 Monolisa S-HBsAg ULTRA (Bio-Rad, 法国) ELISA。

[0104] 术语“可变区”或“可变结构域”是指抗体重链或轻链的参与抗体与抗原结合的结构域。天然抗体的重链和轻链的可变结构域(分别为VH和VL)通常具有相似的结构,其中每个结构域包含四个保守框架区(FR)和三个互补决定区(CDR)。(参见,例如,Kindt等人,Kuby Immunology,第6版,W.H.Freeman and Co.,第91页(2007)。)单个VH或VL结构域可足以赋予抗原结合特异性。此外,结合特定抗原的抗体可分别使用来自结合该抗原的抗体的VH或VL结构域来进行分离,以筛选互补VL或VH结构域的文库。参见,例如,Portolano等人,J.Immunol.150:880-887(1993);Clarkson等人,Nature 352:624-628(1991)。

[0105] 如本文所用的术语“载体”是指能够载运与其相连的另一核酸的核酸分子。该术语包括作为自我复制核酸结构的载体,以及并入其已被引入的宿主细胞的基因组中的载体。某些载体能够指导与其可操作地连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。

[0106] II. 组合物和方法

[0107] 一方面,本发明部分基于发明人对来自能够自然清除慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染并获得防止再感染的个体(“控制者”)和接种抗HBV疫苗的个体(“疫苗接种者”)的抗体的鉴定。本发明人已确定此类抗体可能具有有利的特性,诸如对S-HBs抗原的高亲和力和/或结合活性、有效的中和活性和/或跨基因型反应性。在某些方面,提供了与S-HBs结合的抗体。本发明的抗体可用于例如诊断或治疗乙型肝炎。

[0108] A. 示例性抗S-HBs抗体

[0109] 在一个方面,本发明提供了与S-HBs结合的抗体。在一个方面,提供了与S-HBs结合的分离的抗体。在一个方面,本发明提供了与S-HBs特异性结合的抗体。在某些方面,抗S-HBs抗体具有以下一个或多个特性:

[0110] • 与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)结合;和/或

[0111] • 与一种或多种具有SEQ ID NO:254至262的S-HBs蛋白(例如,至少SEQ ID NO:257)结合,任选地与两种或更多种所述蛋白(例如,至少SEQ ID NO:257和258)结合,任选地与三种、四种、五种、六种、七种、八种或更多种所述蛋白结合,任选地与所有所述蛋白结合;和/或

[0112] • 与亚型adw和/或ayw的S-HBs结合,例如基因型D的,优选地为adw和ayw亚型的S-HBs;

[0113] • 避免了对自身抗原诸如半乳糖凝集素(galectin)-3/-8和E3泛素-蛋白连接酶UBR2的显著的交叉反应性;和/或

[0114] • 具有针对HBV基因型D的中和活性(例如,如在体外或体内测量的);

[0115] • 对HBV基因型A至D中的每一种具有中和活性(例如,如在体外或体内测量的);和/或

[0116] • 可在体内抑制病毒血症。

[0117] 例如,在一些实施例中,抗体可具有在体外测量的 $\leq 1\text{ng/ml}$ 的针对HBV基因组D的中和IC₅₀值。

[0118] 在其他示例性实施例中,抗体可具有以下特性:

[0119] • 与SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种交叉反应;和

[0120] • 对HBV基因型D具有中和活性(例如,如在体外或体内测量的)。

[0121] 所述示例性抗体还可以优选地避免针对自身抗原诸如半乳糖凝集素-3/-8和E3泛素-蛋白连接酶UBR2的显著的交叉反应性。

[0122] 抗体可以以如本文所述的 K_D ,例如, $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$,或 $\leq 0.001\text{nM}$ 与S-HBs结合和/或与具有SEQ ID NO:254至262的一种或多种S-HBs蛋白结合。在一些实施例中,抗体可以以比针对相同抗原的参考抗体的 K_D 高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于该参考抗体的 K_D 的 K_D 值与S-HBs结合和/或与具有SEQ ID NO:254至262的一种或多种S-HBs蛋白结合,其中参考抗体选自由以下项组成的组:Bc1.187、Bv4.115、Bc8.159、Bv6.172、Bc1.229、Bc8.111、Bc1.128、Bc3.106、Bc1.180、Bv4.104、Bc8.104、Bc4.204、Bc1.263和Bv4.105。

[0123] 替代性地,抗体可以显示出针对S-HBs和/或具有SEQ ID NO:254至262的一种或多种S-HBs蛋白的结合活性,该结合活性至少是参考抗体针对相同抗原的结合活性的25%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%,其中参考抗体选自由以下项组成的组:Bc1.187、Bv4.115、Bc8.159、Bv6.172、Bc1.229、Bc8.111、Bc1.128、Bc3.106、Bc1.180、Bv4.104、Bc8.104、Bc4.204、Bc1.263和Bv4.105(在同一测定中评估时,例如,ELISA测定或流式细胞术测定)。在一些实施例中,优选活性可以为参考抗体活性的至少50%。任选地,参考抗体可以是Bc1.187,即当在同一测定中评估时,抗体可以显示出至少25%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的Bc1.187与参考抗原的结合活性。

[0124] 在其他方面,抗体可以以比参考抗体的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于的EC50与S-HBs结合和/或与具有SEQ ID NO:254至262的一种或多种S-HBs蛋白结合,其中EC50通过ELISA或流式细胞术测量,并且其中参考抗体选自由以下项组成的组:Bc1.187、Bv4.115、Bc8.159、Bv6.172、Bc1.229、Bc8.111、Bc1.128、Bc3.106、Bc1.180、Bv4.104、Bc8.104、Bc4.204、Bc1.263和Bv4.105。

[0125] “避免显著的交叉反应性”是指抗体不显示与参考蛋白的显著结合,例如具有大于 $1\mu\text{M}$ 的 K_D ,或例如在本文所述的测定中没有可检测的结合。

[0126] 在一些实施例中,中和针对HBV基因型例如基因型D的根据本发明的抗体可以例如具有 $\leq 50\text{ng/ml}$ 或 $\leq 10\text{ng/ml}$ 的体外病毒感染性IC50值。优选抗体可以具有 $\leq 1\text{ng/ml}$ 、 $\leq 500\text{pg/ml}$ 或在一些实施例中 $\leq 100\text{pg/ml}$ 、 $\leq 50\text{pg/ml}$ 或 $\leq 10\text{pg/ml}$ 的IC50。在一些实施例中,中和抗体可以具有 $\leq 1\text{pg/ml}$,任选地 $\leq 0.1\text{pg/ml}$ 的IC50值。任选地,IC50值可以大于 0.01pg/ml 或 0.005pg/ml 。在另一个实施例中,中和针对特定HBV基因型例如基因型D的抗体可以具有比参考抗体针对相同基因型的IC50值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍或小于或等于其的IC50值,其中参考抗体选自由以下项组成的组:Bc1.187、Bv4.115、Bc8.159、Bv6.172、Bc1.229、Bc8.111、Bc1.128、Bc3.106、Bc1.180、Bv4.104、Bc8.104、Bc4.204、Bc1.263和Bv4.105(当在同一测定中评估时)。

[0127] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,中和特定HBV基因型的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体对相同基因型的体内中和活性或病毒血症抑制活性,例如,参考抗体选自由以下项组成的组:Bc1.187、Bv4.115、Bc8.159、Bv6.172、Bc1.229、Bc8.111、Bc1.128、Bc3.106、Bc1.180、Bv4.104、Bc8.104、Bc4.204、Bc1.263和Bv4.105。

[0128] 在一些实施例中,抗体可以与SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种交叉反应

(例如,如上所述,对每种蛋白质具有结合活性)并且体外中和HBV-基因型D的 $IC_{50} \leq 100 \text{pg/ml}$ 。任选地, IC_{50} 值可以是 $\leq 50 \text{pg/ml}$ 或 $\leq 10 \text{pg/ml}$ 。在一些实施例中, IC_{50} 值可以是 $\leq 1 \text{pg/ml}$,任选地 $\leq 0.1 \text{pg/ml}$ 。

[0129] 根据本发明的特定抗体的各种实施例在下面的A-N部分中列出。

[0130] A

[0131] 在一个方面,本发明提供了包含VH结构域的抗体,该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的CDR-H1、(b)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR-H2、(c)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的CDR-H3。在另一方面,抗体包含VH结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0132] 在一个方面,VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:7的重链框架区1(HC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:8的重链框架区2(HC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:9的重链框架区3(HC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:10的重链框架区4(HC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VH结构域包含如(a)至(d)中定义每个重链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0133] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:16中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:16中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的CDR-H1,(b)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR-H2和(c)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的CDR-H3。

[0134] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:16的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:16的VH结构域的一个或多个(优选所有三个)重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:16的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0135] 在另一方面,本发明提供了包含VL结构域的抗体,该VL结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-L1、(b)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-L2、(c)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR-L3。在另一方面,抗体包含VL结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0136] 在一个方面,抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:11的轻链框架区1(LC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:12的轻链框架区2(LC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:13的轻链框架区3(LC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:14的轻链框架区4(LC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VL结构域包含如(a)至(d)中定义每个轻链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0137] 在另一方面,提供了抗S-HBs抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:15中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:15中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-L1,(b)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-L2和(c)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR-L3。

[0138] 在另一个实施例中,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:15的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:15的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:15的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0139] 在另一方面,提供一种抗S-HBs抗体,其中该抗体包含如在上文提供的任一方面中的VH序列以及如在上文提供的任一方面中的VL序列。

[0140] 例如,在一个示例性实施例中,抗体包含:包含SEQ ID NO:3的CDR-H3的VH结构域;和包含SEQ ID NO:6的CDR-L3的VL结构域。任选地,VH结构域进一步包含SEQ ID NO:2的CDR-H2。

[0141] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0142] i) 包含以下CDR的VH结构域:(a) 包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的CDR-H1;(b) 包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR-H2;和(c) 包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代;和

[0143] ii) VL结构域,该VL结构域包含以下CDR:(a) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-L1;(b) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-L2;和(c) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0144] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0145] i) 重链可变结构域(VH)序列,其与SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;以及

[0146] ii) 轻链可变结构域(VL)序列,其与SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0147] 在另一个示例性实施例中,抗S-HBs抗体包含:(a) 包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的CDR-H1;(b) 包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR-H2;(c) 包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的CDR-H3;(d) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR-L1;(e) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR-L2;和(f) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR-L3,和VH结构域,其与SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;和VL结构域,其与SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面,VH结构域与SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面,VL结构域与SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中,抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中,抗体与S-HBs结合,其解离常数(KD)与包含SEQ ID NO:16的VH序列和SEQ ID NO:15的VL序列的抗体的解离常数(KD)相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0148] 一方面,抗体分别包含SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:15中的VH序列和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0149] 在另一方面,抗体可以包含SEQ ID NO:17的全长轻链和/或SEQ ID NO:18或263的全长重链。

[0150] 在进一步方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的共同表位结合。例如,在某些方面中,提供了与抗S-HBs抗体所结合的共同表位结合的抗体,该抗体包含SEQ ID NO:16的VH序列以及SEQ ID NO:15的VL序列。在某些方面,提供了与SEQ ID NO:253的S-HBs的以下残基中的一个或多个结合的抗体:C137和任选地C138、K141、G145和/或C149。在一些实施例中,抗体可以进一步与I152、N146、C147和/或T148;和任选地W156中的一个或多个结合。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0151] 在另一方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0152] 在一些实施例中,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或

100%的参考抗体Bc1.187与S-HBs (例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)的结合活性。另外地或可替代地,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.187与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种的结合活性。

[0153] 参考抗体Bc1.187是一种抗S-HBs抗体,其包含SEQ ID NO:16的VH序列和SEQ ID NO:15的VL序列。它具有SEQ ID NO:18或263的全长重链和SEQ ID NO:17的全长轻链。SEQ ID NO:263包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区,如实例中所用。

[0154] 在一些实施例中,当在同一测定中评估时,本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc1.187对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与S-HBs (例如SEQ ID NO:253的S-HBs)结合。

[0155] 另外地或可替代地,当在同一测定中评估时,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc1.187对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种结合。

[0156] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc1.187的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与S-HBs (例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)结合,如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地,抗体可以以比参考抗体Bc1.187的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种结合,如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。

[0157] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地所有A、B、C和D的体外中和活性。例如,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性,IC50值 $\leq 1\text{pg/ml}$,任选地 $\leq 0.1\text{pg/ml}$ 。

[0158] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的体外中和测定)评估时,抗体可以具有用于中和HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的IC50值,其比参考抗体Bc1.187对相同基因型的IC50值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于参考抗体Bc1.187对相同基因型的IC50值。

[0159] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.187对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内中和活性。

[0160] 任选地,抗体可以例如在感染HBV基因型A、B、C或D,任选地D的个体中体内抑制病毒血症。任选地,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.187对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内病毒血症抑制活性。

[0161] B

[0162] 在一个方面,本发明提供了包含VH结构域的抗体,该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-H1、(b)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-H2、(c)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的

CDR-H3。在另一方面,抗体包含VH结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0163] 在一个方面,VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:25的重链框架区1(HC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:26的重链框架区2(HC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:27的重链框架区3(HC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:28的重链框架区4(HC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VH结构域包含如(a)至(d)中定义每个重链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0164] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:34中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:34中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-H1,(b)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-H2和(c)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR-H3。

[0165] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:34的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:34的VH结构域的一个或多个(优选所有三个)重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:34的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0166] 在另一方面,本发明提供了包含VL结构域的抗体,该VL结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR-L1、(b)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR-L2、(c)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR-L3。在另一方面,抗体包含VL结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0167] 在一个方面,抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列,该

序列选自以下各项：(a) SEQ ID NO:29的轻链框架区1 (LC-FR1) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b) SEQ ID NO:30的轻链框架区2 (LC-FR2) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体 (c) SEQ ID NO:31的轻链框架区3 (LC-FR3) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和 (d) SEQ ID NO:32的轻链框架区4 (LC-FR4) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地，VL结构域包含如(a)至(d)中定义每个轻链框架序列。任选地，百分比序列同一性是95%。任选地，百分比序列同一性是98%。

[0168] 在另一方面，提供了抗S-HBs抗体，其中该抗体包含与SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。一方面，抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。在某些方面，具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如，保守取代)、插入或缺失，但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面，在SEQ ID NO:33中，总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面，取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即，在FR中)。任选地，抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:33中的VL序列，包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面，VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR：(a) 包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR-L1，(b) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR-L2和(c) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR-L3。

[0169] 在另一个实施例中，抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:33的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面，抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:33的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:33的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地，序列同一性为95%或98%。

[0170] 在另一方面，提供一种抗S-HBs抗体，其中该抗体包含如在上文提供的任一方面的VH序列以及如在上文提供的任一方面的VL序列。

[0171] 例如，在一个示例性实施例中，抗体包含：包含SEQ ID NO:21的CDR-H3的VH结构域；和包含SEQ ID NO:24的CDR-L3的VL结构域。任选地，VH结构域进一步包含SEQ ID NO:20的CDR-H2。

[0172] 在另一示例性实施例中，抗体包含：

[0173] i) 包含以下CDR的VH结构域：(a) 包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-H1；(b) 包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-H2；和(c) 包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR-H3；或其变体，其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代；和

[0174] ii) VL结构域，该VL结构域包含以下CDR：(a) 包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR-L1；(b) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR-L2；和(c) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR-L3；或其变体，其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或

三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0175] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0176] i) 重链可变结构域 (VH) 序列,其与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;以及

[0177] ii) 轻链可变结构域 (VL) 序列,其与SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0178] 在另一个示例性实施例中,抗S-HBs抗体包含:(a) 包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-H1;(b) 包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-H2;(c) 包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR-H3;(d) 包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR-L1;(e) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR-L2;和(f) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR-L3,和VH结构域,其与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;和VL结构域,其与SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面,VH结构域与SEQ ID NO:34的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面,VL结构域与SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中,抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中,抗体与S-HBs结合,其解离常数(KD)与包含SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:33的VL序列的抗体的解离常数(KD)相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0179] 一方面,抗体分别包含SEQ ID NO:34和SEQ ID NO:33中的VH序列和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0180] 在另一方面,抗体可以包含SEQ ID NO:35的全长轻链和/或SEQ ID NO:36或264的全长重链。

[0181] 在进一步方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合。例如,在某些方面中,提供了与抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合的抗体,该抗体包含SEQ ID NO:34的VH序列以及SEQ ID NO:33的VL序列。在某些方面,提供了与SEQ ID NO:253的S-HBs的以下残基中的一个或多个结合的抗体:C138、C139和/或C149,以及任选地R169。任选地,抗体可以进一步与L109、R122、C147、T148、I152、W156、F161和/或W165中的一个或多个结合。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0182] 在另一方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0183] 在一些实施例中,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.180与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)的结合活性。

[0184] 另外地或可替代地,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.180与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种的结合活性。

[0185] 参考抗体Bc1.180具有SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:33的VL序列。它具有SEQ ID NO:36或264的全长重链和SEQ ID NO:35的全长轻链。SEQ ID NO:264包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区,如实例中所用。

[0186] 在一些实施例中,当在同一测定中评估时,本节中所述的抗体可以以比参考抗体 Bc1.180对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与 S-HBs (例如SEQ ID NO:253的S-HBs) 结合。

[0187] 另外地或可替代地,当在同一测定中评估时,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体 Bc1.180对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种结合。

[0188] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体 Bc1.180的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与S-HBs (例如,SEQ ID NO:253的S-HBs) 结合,如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地,抗体可以以比参考抗体 Bc1.180的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种结合,如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地所有A、B、C和D的体外中和活性。例如,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性,例如IC50值 $\leq 1\text{pg/ml}$,任选地 $\leq 0.1\text{pg/ml}$ 。

[0189] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的中和测定)进行评估时,抗体可以具有用于中和HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的IC₅₀值,其比参考抗体 Bc1.180对相同基因型的IC50值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于参考抗体 Bc1.180对相同基因型的IC50值。

[0190] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体 Bc1.180对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内中和活性。

[0191] 任选地,抗体可以例如在感染HBV基因型A、B、C或D,任选地D的个体中体内抑制病毒血症。任选地,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体 Bc1.180对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内病毒血症抑制活性。

[0192] C.

[0193] 在一个方面,本发明提供了包含VH结构域的抗体,该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a) 包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的CDR-H1、(b) 包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的CDR-H2、(c) 包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的CDR-H3。在另一方面,抗体包含VH结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a) 包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的CDR-H1;(b) 包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的CDR-H2;和(c) 包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0194] 在一个方面,VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列,该序列选自以下各项:(a) SEQ ID NO:43的重链框架区1(HC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b) SEQ ID NO:44的重链框架区2(HC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、

91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c) SEQ ID NO:45的重链框架区3(HC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d) SEQ ID NO:46的重链框架区4(HC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VH结构域包含如(a)至(d)中定义的所有重链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0195] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:52的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:52的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:52中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:52中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的CDR-H1,(b)包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的CDR-H2,以及(c)包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的CDR-H3。

[0196] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:52的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:52的VH结构域的一个或多个(优选所有三个)重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:52的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0197] 在另一方面,本发明提供了包含VL结构域的抗体,该VL结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的CDR-L1、(b)包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的CDR-L2、(c)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的CDR-L3。在另一方面,抗体包含VL结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0198] 在一个方面,抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列,该序列选自以下各项:(a) SEQ ID NO:47的轻链框架区1(LC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b) SEQ ID NO:48的轻链框架区2(LC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c) SEQ ID NO:49的轻链框架区3(LC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d) SEQ ID NO:50的轻链框架区4(LC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VL结构域包含如(a)

至 (d) 中定义的每个轻链框架序列。任选地, 百分比序列同一性是95%。任选地, 百分比序列同一性是98%。

[0199] 在另一方面, 提供了抗S-HBs抗体, 其中该抗体包含与SEQ ID NO:51的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。一方面, 抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:51的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。在某些方面, 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如, 保守取代)、插入或缺失, 但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面, 在SEQ ID NO:51中, 总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面, 取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即, 在FR中)。任选地, 抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:51中的VL序列, 包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面, VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR: (a) 包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的CDR-L1, (b) 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的CDR-L2和(c) 包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的CDR-L3。

[0200] 在另一个实施例中, 抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:51的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面, 抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:51的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:51的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地, 序列同一性为95%或98%。

[0201] 在另一方面, 提供一种抗S-HBs抗体, 其中该抗体包含如在上文提供的任一方面中的VH序列以及如在上文提供的任一方面中的VL序列。

[0202] 例如, 在一个示例性实施例中, 抗体包含: 包含SEQ ID NO:39的CDR-H3的VH结构域; 和包含SEQ ID NO:42的CDR-L3的VL结构域。任选地, VH结构域进一步包含SEQ ID NO:38的CDR-H2。

[0203] 在另一示例性实施例中, 抗体包含:

[0204] i) 包含以下CDR的VH结构域: (a) 包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的CDR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的CDR-H2; 和(c) 包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的CDR-H3; 或其变体, 其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代; 和

[0205] ii) VL结构域, 该VL结构域包含以下CDR: (a) 包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的CDR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的CDR-L2; 和(c) 包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的CDR-L3; 或其变体, 其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0206] 在另一示例性实施例中, 抗体包含:

[0207] i) 重链可变结构域(VH)序列, 其与SEQ ID NO:52的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性; 以及

[0208] ii) 轻链可变结构域(VL)序列, 其与SEQ ID NO:51的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0209] 在另一个示例性实施例中, 抗S-HBs抗体包含: (a) 包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的CDR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的CDR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:39的氨基

酸序列的CDR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的CDR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的CDR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的CDR-L3, 和VH结构域, 其与SEQ ID NO:52的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性; 和VL结构域, 其与SEQ ID NO:51的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面, VH结构域与SEQ ID NO:52的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面, VL结构域与SEQ ID NO:51的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中, 抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中, 抗体与S-HBs结合, 其解离常数(KD) 与包含SEQ ID NO:52的VH序列和SEQ ID NO:51的VL序列的抗体的解离常数(KD) 相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0210] 一方面, 抗体分别包含SEQ ID NO:52和SEQ ID NO:51中的VH序列和VL序列, 包括那些序列的翻译后修饰。

[0211] 在另一方面, 抗体可以包含SEQ ID NO:53的全长轻链和/或SEQ ID NO:54或265的全长重链。

[0212] 在进一步方面, 本发明提供一种抗体, 其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合。例如, 在某些方面中, 提供了与抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合的抗体, 该抗体包含SEQ ID NO:52的VH序列以及SEQ ID NO:51的VL序列。在某些方面, 提供了与SEQ ID NO:253的S-HBs的以下残基中的一个或多个结合的抗体: L109、C138、I152、W156和/或R169。任选地, 抗体进一步与P111和/或F161结合。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0213] 在另一方面, 本发明提供一种抗体, 其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0214] 在一些实施例中, 当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时, 如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc3.106与S-HBs(例如, SEQ ID NO:253的S-HBs)的结合活性。

[0215] 另外地或可替代地, 当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时, 如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc3.106与SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的一种或多种(例如, 至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种的结合活性。

[0216] 参考抗体Bc3.106具有SEQ ID NO:52的VH序列和SEQ ID NO:51的VL序列。它具有SEQ ID NO:54或265的全长重链和SEQ ID NO:53的全长轻链。SEQ ID NO:265包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区, 如实例中所用。

[0217] 在一些实施例中, 当在同一测定中评估时, 本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc3.106对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍, 或小于或等于其的 K_D 值与S-HBs(例如SEQ ID NO:253的S-HBs)结合。

[0218] 另外地或可替代地, 当在同一测定中评估时, 抗体可以以比参考抗体Bc3.106对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍, 或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如, 至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种结合。

[0219] 在一些实施例中, 如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc3.106的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍, 或小于或等于其的EC50与S-HBs(例如, SEQ ID NO:253的S-

HBs) 结合, 如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地, 抗体可以以比参考抗体 Bc3.106的EC₅₀高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍, 或小于或等于其的EC₅₀与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如, 至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种结合, 如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。

[0220] 在一些实施例中, 如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型A、B、C和/或D, 任选地所有A、B、C和D的体外中和活性。例如, 如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性, 例如IC₅₀值 $\leq 10\text{pg/ml}$, 任选地 $\leq 1\text{pg/ml}$ 。

[0221] 在另一个实施例中, 当使用同一测定(例如, 如本文所述的测定)评估时, 抗体可以具有用于中和HBV基因型A、B、C和/或D, 任选地至少D, 任选地所有A、B、C和D的IC₅₀值, 其比参考抗体Bc3.106对相同基因型的IC₅₀值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍, 或小于或等于参考抗体Bc3.106对相同基因型的IC₅₀值。

[0222] 在另一个实施例中, 当使用同一测定(例如, 如本文所述的测定)评估时, 抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc3.106对HBV基因型A、B、C和/或D, 任选地至少D, 任选地所有A、B、C和D的体内中和活性。

[0223] 任选地, 抗体可以例如在感染HBV基因型A、B、C或D, 任选地D的个体中体内抑制病毒血症。任选地, 当使用同一测定(例如, 如本文所述的测定)评估时, 抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc3.106对HBV基因型A、B、C和/或D, 任选地至少D, 任选地所有A、B、C和D的体内病毒血症抑制活性。

[0224] D.

[0225] 在一个方面, 本发明提供了包含VH结构域的抗体, 该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列: (a) 包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的CDR-H1、(b) 包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的CDR-H2、(c) 包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的CDR-H3。在另一方面, 抗体包含VH结构域, 该VH结构域包含以下CDR: (a) 包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的CDR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的CDR-H2; 和(c) 包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的CDR-H3; 或其变体, 其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0226] 在一个方面, VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列, 该序列选自以下各项: (a) SEQ ID NO:61的重链框架区1(HC-FR1) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b) SEQ ID NO:62的重链框架区2(HC-FR2) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c) SEQ ID NO:63的重链框架区3(HC-FR3) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d) SEQ ID NO:64的重链框架区4(HC-FR4) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地, VH结构域包含如(a)至(d)中定义每个重链框架序列。任选地, 百分比序列同一性是95%。任选地, 百分比序列同一性是98%。

[0227] 在另一方面, 抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域

(VH) 序列。一方面, 抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变结构域(VH) 序列。在某些方面, 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如, 保守取代)、插入或缺失, 但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面, 在SEQ ID NO:70中, 总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面, 取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即, 在FR中)。任选地, 抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:70中的VH序列, 包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面, VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR: (a) 包含SEQ ID NO:55所示的氨基酸序列的CDR-H1, (b) 包含SEQ ID NO:56所示的氨基酸序列的CDR-H2, 以及(c) 包含SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列的CDR-H3。

[0228] 在另一方面, 抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:70的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面, 抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:70的VH结构域的一个或多个(优选所有三个) 重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:70的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地, 序列同一性为95%或98%。

[0229] 在另一方面, 本发明提供了包含VL结构域的抗体, 该VL结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列: (a) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的CDR-L1、(b) 包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的CDR-L2、(c) 包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的CDR-L3。在另一方面, 抗体包含VL结构域, 该VH结构域包含以下CDR: (a) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的CDR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的CDR-L2; 和(c) 包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的CDR-L3; 或其变体, 其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0230] 在一个方面, 抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列, 该序列选自以下各项: (a) SEQ ID NO:65的轻链框架区1(LC-FR1) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b) SEQ ID NO:66的轻链框架区2(LC-FR2) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c) SEQ ID NO:67的轻链框架区3(LC-FR3) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d) SEQ ID NO:68的轻链框架区4(LC-FR4) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地, VL结构域包含如(a) 至(d) 中定义每个轻链框架序列。任选地, 百分比序列同一性是95%。任选地, 百分比序列同一性是98%。

[0231] 在另一方面, 提供了抗S-HBs抗体, 其中该抗体包含与SEQ ID NO:69的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL) 序列。一方面, 抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:69的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL) 序列。在某些方面, 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如, 保守取代)、插入或缺失, 但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面, 在SEQ ID NO:69中, 总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方

面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:69中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的CDR-L1,(b)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的CDR-L2和(c)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的CDR-L3。

[0232] 在另一个实施例中,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:69的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:69的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:69的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0233] 在另一方面,提供一种抗S-HBs抗体,其中该抗体包含如在上文提供的任一方面的VH序列以及如在上文提供的任一方面的VL序列。

[0234] 例如,在一个示例性实施例中,抗体包含:包含SEQ ID NO:57的CDR-H3的VH结构域;和包含SEQ ID NO:60的CDR-L3的VL结构域。任选地,VH结构域进一步包含SEQ ID NO:56的CDR-H2。

[0235] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0236] i) 包含以下CDR的VH结构域:(a)包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代;和

[0237] ii) VL结构域,该VL结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0238] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0239] i) 重链可变结构域(VH)序列,其与SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;以及

[0240] ii) 轻链可变结构域(VL)序列,其与SEQ ID NO:69的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0241] 在另一个示例性实施例中,抗S-HBs抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的CDR-H2;(c)包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的CDR-H3;(d)包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的CDR-L1;(e)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的CDR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的CDR-L3,和VH结构域,其与SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;和VL结构域,其与SEQ ID NO:69的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面,VH结构域与SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面,VL结构域与SEQ ID NO:69的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中,抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中,抗体与S-HBs结合,其解离常数(KD)与包含SEQ ID NO:70的VH序列和SEQ ID NO:69的VL序列的抗体的解离常数(KD)相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0242] 一方面,抗体分别包含SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:69中的VH序列和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0243] 在另一方面,抗体可以包含SEQ ID NO:71的全长轻链和/或SEQ ID NO:72或266的全长重链。

[0244] 在进一步方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合。例如,在某些方面中,提供了与抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合的抗体,该抗体包含SEQ ID NO:70的VH序列以及SEQ ID NO:69的VL序列。在某些方面,提供了与SEQ ID NO:253的S-HBs的以下残基中的一个或多个结合的抗体:C121、R122、C124、C137、C139、K141、N146、C147和/或C149。在一些实施例中,抗体还可以与I110、T118、P120、C138、P142、D144、T148和/或I152中的一个或多个结合。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0245] 在另一方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0246] 在一些实施例中,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv4.104与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)的结合活性。

[0247] 另外地或可替代地,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv4.104与SEQ ID NO:257和258中的一个或多个或SEQ ID NO:257和258的蛋白质中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257的蛋白质的结合活性。

[0248] 参考抗体Bv4.104具有SEQ ID NO:70的VH序列和SEQ ID NO:69的VL序列。它具有SEQ ID NO:72或266的全长重链和SEQ ID NO:71的全长轻链。SEQ ID NO:266包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区,如实例中所用。

[0249] 在一些实施例中,当在同一测定中评估时,本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bv4.104对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与S-HBs(例如SEQ ID NO:253的S-HBs)结合。

[0250] 另外地或可替代地,当在同一测定中评估时,抗体可以以比参考抗体Bv4.104对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:257和258中的一个或多个或SEQ ID NO:257和258的蛋白质中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257的蛋白质结合。

[0251] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bv4.104的EC₅₀高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC₅₀与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)结合,如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地,抗体可以以比参考抗体Bv4.104的EC₅₀高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC₅₀与SEQ ID NO:257和258中的一个或多个或SEQ ID NO:257和258的蛋白质中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257的蛋白质结合,如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。

[0252] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性,例如IC₅₀值 $\leq$ 100pg/ml、任选地 $\leq$ 10pg/ml。

[0253] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的体外中和测定)评估时,抗体可以具有用于中和HBV基因型D的IC₅₀值,其比参考抗体Bv4.104对相同基因型的IC₅₀值

高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于参考抗体Bv4.104对相同基因型的IC50值。

[0254] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv4.104对HBV基因型D的体内中和活性。

[0255] 任选地,抗体可以例如在感染HBV基因型D的个体中体内抑制病毒血症。任选地,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv4.104对HBV基因型D的体内病毒血症抑制活性。

[0256] E.

[0257] 在一个方面,本发明提供了包含VH结构域的抗体,该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的CDR-H1、(b)包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR-H2、(c)包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的CDR-H3。在另一方面,抗体包含VH结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0258] 在一个方面,VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:79的重链框架区1(HC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:80的重链框架区2(HC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:81的重链框架区3(HC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:82的重链框架区4(HC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VH结构域包含如(a)至(d)中定义每个重链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0259] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:88的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:88的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:88中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:88中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列的CDR-H1,(b)包含SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列的CDR-H2,以及(c)包含SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列的CDR-H3。

[0260] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:88的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:88的VH结构域的一个或多个(优选所有三个)重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:88的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0261] 在另一方面,本发明提供了包含VL结构域的抗体,该VL结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的CDR-L1、(b)包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的CDR-L2、(c)包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的CDR-L3。在另一方面,抗体包含VL结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0262] 在一个方面,抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:83的轻链框架区1(LC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:84的轻链框架区2(LC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:85的轻链框架区3(LC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:86的轻链框架区4(LC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VL结构域包含如(a)至(d)中定义每个轻链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0263] 在另一方面,提供了抗S-HBs抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:87中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:87中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的CDR-L1,(b)包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的CDR-L2和(c)包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的CDR-L3。

[0264] 在另一个实施例中,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:87的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:87的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:87的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0265] 在另一方面,提供一种抗S-HBs抗体,其中该抗体包含如在上文提供的任一方面中的VH序列以及如在上文提供的任一方面中的VL序列。

[0266] 例如,在一个示例性实施例中,抗体包含:包含SEQ ID NO:75的CDR-H3的VH结构域;和包含SEQ ID NO:78的CDR-L3的VL结构域。任选地,VH结构域进一步包含SEQ ID NO:74的CDR-H2。

[0267] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0268] i) 包含以下CDR的VH结构域:(a) 包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的CDR-H1;(b) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR-H2;和(c) 包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代;和

[0269] ii) VL结构域,该VL结构域包含以下CDR:(a) 包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的CDR-L1;(b) 包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的CDR-L2;和(c) 包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0270] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0271] i) 重链可变结构域(VH)序列,其与SEQ ID NO:88的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;以及

[0272] ii) 轻链可变结构域(VL)序列,其与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0273] 在另一个示例性实施例中,抗S-HBs抗体包含:(a) 包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的CDR-H1;(b) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR-H2;(c) 包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的CDR-H3;(d) 包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的CDR-L1;(e) 包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的CDR-L2;和(f) 包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的CDR-L3,和VH结构域,其与SEQ ID NO:88的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;和VL结构域,其与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面,VH结构域与SEQ ID NO:88的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面,VL结构域与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中,抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中,抗体与S-HBs结合,其解离常数(KD)与包含SEQ ID NO:88的VH序列和SEQ ID NO:87的VL序列的抗体的解离常数(KD)相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0274] 一方面,抗体分别包含SEQ ID NO:88和SEQ ID NO:87中的VH序列和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0275] 在另一方面,抗体可以包含SEQ ID NO:89的全长轻链和/或SEQ ID NO:90或267的全重重链。

[0276] 在进一步方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合。例如,在某些方面中,提供了与抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合的抗体,该抗体包含SEQ ID NO:88的VH序列以及SEQ ID NO:87的VL序列。在某些方面,提供了与SEQ ID NO:253的S-HBs的以下残基中的一个或多个结合的抗体:C121,和/或I110、P120、C124、C137、C139、C147、T148和/或C149中的一个或多个。任选地,抗体可以进一步与C138、K141、

P142、D144、G145、P150、I152和/或W156中的一个或多个结合。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0277] 在另一方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0278] 在一些实施例中,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc8.111与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)的结合活性。

[0279] 另外地或可替代地,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc8.111与SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的一种或多种(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种的结合活性。

[0280] 参考抗体Bc8.111具有SEQ ID NO:88的VH序列和SEQ ID NO:87的VL序列。它具有SEQ ID NO:90或267的全长重链和SEQ ID NO:89的全长轻链。SEQ ID NO:267包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区,如实例中所用。在一些实施例中,当在同一测定中评估时,本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc8.111对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与S-HBs(例如SEQ ID NO:253的S-HBs)结合。

[0281] 另外地或可替代地,当在同一测定中评估时,抗体可以以比参考抗体Bc8.111对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种结合。

[0282] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc8.111的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)结合,如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地,抗体可以以比参考抗体Bc8.111的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个或SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257的蛋白质结合,如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。

[0283] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地所有A、B、C和D的体外中和活性。例如,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性,例如 IC_{50} 值 ≤ 100 pg/ml,任选地 ≤ 10 pg/ml。

[0284] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的体外中和测定)进行评估时,抗体可以具有用于中和HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的 IC_{50} 值,其比参考抗体Bc8.111对相同基因型的 IC_{50} 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于参考抗体Bc8.111对相同基因型的 IC_{50} 值。

[0285] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc8.111对HBV基因型A、B、C和/或D的体内中和活性。

[0286] 任选地,抗体可以例如在感染HBV基因型A、B、C或D、任选地D的个体中体内抑制病毒血症。任选地,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc8.111对HBV基因

型A、B、C和/或D的体内病毒血症抑制活性。

[0287] F.

[0288] 在一个方面,本发明提供了包含VH结构域的抗体,该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的CDR-H1、(b)包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的CDR-H2、(c)包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的CDR-H3。在另一方面,抗体包含VH结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0289] 在一个方面,VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:97的重链框架区1(HC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:98的重链框架区2(HC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:99的重链框架区3(HC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:100的重链框架区4(HC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VH结构域包含如(a)至(d)中定义的每个重链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0290] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:106的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:106的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:106中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:106中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列的CDR-H1,(b)包含SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列的CDR-H2,以及(c)包含SEQ ID NO:93所示的氨基酸序列的CDR-H3。

[0291] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:106的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:106的VH结构域的一个或多个(优选所有三个)重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:106的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0292] 在另一方面,本发明提供了包含VL结构域的抗体,该VL结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的CDR-L1、(b)包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的CDR-L2、(c)包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的

CDR-L3。在另一方面,抗体包含VL结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0293] 在一个方面,抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:101的轻链框架区1(LC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:102的轻链框架区2(LC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:103的轻链框架区3(LC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:104的轻链框架区4(LC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VL结构域包含如(a)至(d)中定义每个轻链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0294] 在另一方面,提供了抗S-HBs抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:105的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:105的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:105中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:105中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的CDR-L1,(b)包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的CDR-L2和(c)包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR-L3。

[0295] 在另一个实施例中,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:105的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:105的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:105的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0296] 在另一方面,提供一种抗S-HBs抗体,其中该抗体包含如在上文提供的任一方面中的VH序列以及如在上文提供的任一方面中的VL序列。

[0297] 例如,在一个示例性实施例中,抗体包含:包含SEQ ID NO:93的CDR-H3的VH结构域;和包含SEQ ID NO:96的CDR-L3的VL结构域。任选地,VH结构域进一步包含SEQ ID NO:92的CDR-H2。

[0298] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0299] i)包含以下CDR的VH结构域:(a)包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的CDR-H3;

或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代;和

[0300] ii) VL结构域,该VL结构域包含以下CDR: (a) 包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的CDR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的CDR-L2;和 (c) 包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0301] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0302] i) 重链可变结构域 (VH) 序列,其与SEQ ID NO:106的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;以及

[0303] ii) 轻链可变结构域 (VL) 序列,其与SEQ ID NO:105的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0304] 在另一个示例性实施例中,抗S-HBs抗体包含: (a) 包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的CDR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的CDR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的CDR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的CDR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的CDR-L2;和 (f) 包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR-L3,和VH结构域,其与SEQ ID NO:106的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;和VL结构域,其与SEQ ID NO:105的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面,VH结构域与SEQ ID NO:106的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面,VL结构域与SEQ ID NO 105的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中,抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中,抗体与S-HBs结合,其解离常数(KD)与包含SEQ ID NO:106的VH序列和SEQ ID NO:105的VL序列的抗体的解离常数(KD)相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0305] 一方面,抗体分别包含SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:105中的VH序列和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0306] 在另一方面,抗体可以包含SEQ ID NO:107的全长轻链和/或SEQ ID NO:108或268的全长重链。

[0307] 在进一步方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合。例如,在某些方面中,提供了与抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合的抗体,该抗体包含SEQ ID NO:106的VH序列以及SEQ ID NO:105的VL序列。在某些方面,提供了与SEQ ID NO:253的S-HBs的以下残基中的一个或多个结合的抗体:W156和/或R169。任选地,抗体可以另外与I152和/或C138中的一个或多个结合。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0308] 在另一方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0309] 在一些实施例中,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc8.104与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)的结合活性。

[0310] 另外地或可替代地,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或

100%的参考抗体Bc8.104与SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的一种或多种(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种的结合活性。

[0311] 参考抗体Bc8.104具有SEQ ID NO:106的VH序列和SEQ ID NO:105的VL序列。它具有SEQ ID NO:108或268的全长重链和SEQ ID NO:107的全长轻链。SEQ ID NO:268包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区,如实例中所用。

[0312] 在一些实施例中,当在同一测定中评估时,本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc8.104对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与S-HBs(例如SEQ ID NO:253的S-HBs)结合。

[0313] 另外地或可替代地,当在同一测定中评估时,本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc8.104对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种结合。

[0314] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc8.104的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)结合,如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地,抗体可以以比参考抗体Bc8.104的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个或SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257的蛋白质结合,如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。

[0315] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地所有A、B、C和D的体外中和活性。例如,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性,例如IC50值 ≤ 100 pg/ml,任选地 ≤ 10 pg/ml。

[0316] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的体外中和测定)评估时,抗体可以具有用于中和HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的IC50值,其比参考抗体Bc8.104对相同基因型的IC50值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于参考抗体Bc8.104对相同基因型的IC50值。

[0317] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc8.104对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的中和活性。

[0318] 任选地,抗体可以例如在感染HBV基因型A、B、C或D,任选地D的个体中体内抑制病毒血症。任选地,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc8.104对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内病毒血症抑制活性。

[0319] G.

[0320] 在一个方面,本发明提供了包含VH结构域的抗体,该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的CDR-H1、(b)包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的CDR-H2、(c)包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的CDR-H3。在另一方面,抗体包含VH结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个

或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0321] 在一个方面, VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列, 该序列选自以下各项: (a) SEQ ID NO:115的重链框架区1 (HC-FR1) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b) SEQ ID NO:116的重链框架区2 (HC-FR2) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c) SEQ ID NO:117的重链框架区3 (HC-FR3) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d) SEQ ID NO:118的重链框架区4 (HC-FR4) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地, VH结构域包含如(a)至(d)中定义每个重链框架序列。任选地, 百分比序列同一性是95%。任选地, 百分比序列同一性是98%。

[0322] 在另一方面, 抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:124的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。一方面, 抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:124的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些方面, 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如, 保守取代)、插入或缺失, 但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面, 在SEQ ID NO:124中, 总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面, 取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即, 在FR中)。任选地, 抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:124中的VH序列, 包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面, VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR: (a) 包含SEQ ID NO:109所示的氨基酸序列的CDR-H1, (b) 包含SEQ ID NO:110所示的氨基酸序列的CDR-H2, 以及(c) 包含SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列的CDR-H3。

[0323] 在另一方面, 抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:124的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面, 抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:124的VH结构域的一个或多个(优选所有三个)重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:124的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地, 序列同一性为95%或98%。

[0324] 在另一方面, 本发明提供了包含VL结构域的抗体, 该VL结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列: (a) 包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的CDR-L1、(b) 包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的CDR-L2、(c) 包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的CDR-L3。在另一方面, 抗体包含VL结构域, 该VH结构域包含以下CDR: (a) 包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的CDR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的CDR-L2; 和(c) 包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的CDR-L3; 或其变体, 其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0325] 在一个方面, 抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列, 该序列选自以下各项: (a) SEQ ID NO:119的轻链框架区1 (LC-FR1) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b) SEQ ID NO:120的轻链框架区2 (LC-FR2) 或与其具有至少85%、86%、87%、

88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c) SEQ ID NO:121的轻链框架区3(LC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d) SEQ ID NO:122的轻链框架区4(LC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VL结构域包含如(a)至(d)中定义每个轻链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0326] 在另一方面,提供了抗S-HBs抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:123的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:123的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:123中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:123中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的CDR-L1,(b)包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的CDR-L2和(c)包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的CDR-L3。

[0327] 在另一个实施例中,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:123的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:123的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:123的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0328] 在另一方面,提供一种抗S-HBs抗体,其中该抗体包含如在上文提供的任一方面中的VH序列以及如在上文提供的任一方面中的VL序列。

[0329] 例如,在一个示例性实施例中,抗体包含:包含SEQ ID NO:111的CDR-H3的VH结构域;和包含SEQ ID NO:114的CDR-L3的VL结构域。任选地,VH结构域进一步包含SEQ ID NO:110的CDR-H2。

[0330] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0331] i) 包含以下CDR的VH结构域:(a)包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代;和

[0332] ii) VL结构域,该VL结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0333] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0334] i) 重链可变结构域(VH)序列,其与SEQ ID NO:124的氨基酸序列具有至少90%、

91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;以及

[0335] ii) 轻链可变结构域 (VL) 序列, 其与SEQ ID NO:123的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0336] 在另一个示例性实施例中, 抗S-HBs抗体包含: (a) 包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的CDR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的CDR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的CDR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的CDR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的CDR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的CDR-L3, 和VH结构域, 其与SEQ ID NO:124的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性; 和VL结构域, 其与SEQ ID NO:123的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面, VH结构域与SEQ ID NO:124的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面, VL结构域与SEQ ID NO 123的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中, 抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中, 抗体与S-HBs结合, 其解离常数 (KD) 与包含SEQ ID NO:124的VH序列和SEQ ID NO:123的VL序列的抗体的解离常数 (KD) 相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0337] 一方面, 抗体分别包含SEQ ID NO:124和SEQ ID NO:123中的VH序列和VL序列, 包括那些序列的翻译后修饰。

[0338] 在另一方面, 抗体可以包含SEQ ID NO:125的全长轻链和/或SEQ ID NO:126或269的全长重链。

[0339] 在进一步方面, 本发明提供一种抗体, 其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合。例如, 在某些方面中, 提供了与抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合的抗体, 该抗体包含SEQ ID NO:124的VH序列以及SEQ ID NO:123的VL序列。在某些方面, 提供了与SEQ ID NO:253的S-HBs的以下残基中的一个或多个结合的抗体: C137、C138和/或D144。任选地, 抗体可以进一步与P142、N146、T148、C149、I152和/或W156中的一个或多个结合。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0340] 在另一方面, 本发明提供一种抗体, 其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0341] 在一些实施例中, 当在同一测定 (例如ELISA测定或流式细胞术测定) 中评估时, 如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv6.172与S-HBs (例如, SEQ ID NO:253的S-HBs) 的结合活性。

[0342] 另外或可替代地, 当在同一测定 (例如ELISA测定或流式细胞术测定) 中评估时, 如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv6.172与SEQ ID NO:254-262 (例如, 至少SEQ ID NO:257) 的蛋白质中的一种或多种、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种的结合活性。

[0343] 参考抗体Bv6.172具有SEQ ID NO:124的VH序列和SEQ ID NO:123的VL序列。它具有SEQ ID NO:126或269的全长重链和SEQ ID NO:125的全长轻链。SEQ ID NO:269包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区, 如实例中所用。

[0344] 在一些实施例中, 当在同一测定中评估时, 本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bv6.172对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍, 或小于或等于其的 K_D 值与

S-HBs (例如SEQ ID NO:253的S-HBs) 结合。

[0345] 另外地或可替代地,当在同一测定中评估时,抗体可以以比参考抗体Bv6.172对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种结合。

[0346] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bv6.172的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与S-HBs (例如,SEQ ID NO:253的S-HBs) 结合,如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地,抗体可以以比参考抗体Bv6.172的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个或SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257的蛋白质结合,如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。

[0347] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性,例如 IC_{50} 值 ≤ 100 pg/ml、任选地 ≤ 10 pg/ml。

[0348] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的体外中和测定)评估时,抗体可以具有用于中和HBV基因型A、B、C和/或D的 IC_{50} 值,其比参考抗体Bv6.172对相同基因型的 IC_{50} 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于参考抗体Bv6.172对相同基因型的 IC_{50} 值。

[0349] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv6.172对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内中和活性。

[0350] 任选地,抗体可以例如在感染HBV基因型A、B、C或D,任选地D的个体中体内抑制病毒血症。任选地,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv6.172对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内病毒血症抑制活性。

[0351] H.

[0352] 在一个方面,本发明提供了包含VH结构域的抗体,该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a) 包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR-H1、(b) 包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR-H2、(c) 包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR-H3。在另一方面,抗体包含VH结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a) 包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR-H1;(b) 包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR-H2;和(c) 包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0353] 在一个方面,VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列,该序列选自以下各项:(a) SEQ ID NO:133的重链框架区1(HC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b) SEQ ID NO:134的重链框架区2(HC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c) SEQ ID NO:135的重链框架区3(HC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d) SEQ ID NO:136的

重链框架区4 (HC-FR4) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地, VH结构域包含如(a)至(d)中定义的重链框架序列。任选地, 百分比序列同一性是95%。任选地, 百分比序列同一性是98%。

[0354] 在另一方面, 抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:142的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。一方面, 抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:142的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些方面, 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如, 保守取代)、插入或缺失, 但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面, 在SEQ ID NO:142中, 总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面, 取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即, 在FR中)。任选地, 抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:142中的VH序列, 包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面, VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR: (a) 包含SEQ ID NO:127所示的氨基酸序列的CDR-H1, (b) 包含SEQ ID NO:128所示的氨基酸序列的CDR-H2, 以及(c) 包含SEQ ID NO:129所示的氨基酸序列的CDR-H3。

[0355] 在另一方面, 抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:142的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面, 抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:142的VH结构域的一个或多个(优选所有三个)重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:142的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地, 序列同一性为95%或98%。

[0356] 在另一方面, 本发明提供了包含VL结构域的抗体, 该VL结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列: (a) 包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR-L1、(b) 包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的CDR-L2、(c) 包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的CDR-L3。在另一方面, 抗体包含VL结构域, 该VH结构域包含以下CDR: (a) 包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的CDR-L2; 和(c) 包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的CDR-L3; 或其变体, 其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0357] 在一个方面, 抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列, 该序列选自以下各项: (a) SEQ ID NO:137的轻链框架区1 (LC-FR1) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b) SEQ ID NO:138的轻链框架区2 (LC-FR2) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(c) SEQ ID NO:139的轻链框架区3 (LC-FR3) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d) SEQ ID NO:140的轻链框架区4 (LC-FR4) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地, VL结构域包含如(a)至(d)中定义的重链框架序列。任选地, 百分比序列同一性是95%。任选地, 百分比序列同一性是98%。

[0358] 在另一方面, 提供了抗S-HBs抗体, 其中该抗体包含与SEQ ID NO:141的氨基酸序

列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:141的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:141中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:141中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR-L1,(b)包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的CDR-L2和(c)包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的CDR-L3。

[0359] 在另一个实施例中,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:141的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:141的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:141的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0360] 在另一方面,提供一种抗S-HBs抗体,其中该抗体包含如在上文提供的任一方面中的VH序列以及如在上文提供的任一方面中的VL序列。

[0361] 例如,在一个示例性实施例中,抗体包含:包含SEQ ID NO:129的CDR-H3的VH结构域;和包含SEQ ID NO:132的CDR-L3的VL结构域。任选地,VH结构域进一步包含SEQ ID NO:128的CDR-H2。

[0362] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0363] i) 包含以下CDR的VH结构域:(a)包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代;和

[0364] ii) VL结构域,该VL结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0365] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0366] i) 重链可变结构域(VH)序列,其与SEQ ID NO:142的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;以及

[0367] ii) 轻链可变结构域(VL)序列,其与SEQ ID NO:141的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0368] 在另一个示例性实施例中,抗S-HBs抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的CDR-H2;(c)包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的CDR-H3;(d)包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的CDR-L1;(e)包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的CDR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的CDR-L3,和VH结构域,其与SEQ ID NO:142的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、

97%、98%、99%或100%序列同一性；和VL结构域，其与SEQ ID NO:141的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面，VH结构域与SEQ ID NO:142的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面，VL结构域与SEQ ID NO:141的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中，抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中，抗体与S-HBs结合，其解离常数(KD)与包含SEQ ID NO:142的VH序列和SEQ ID NO:141的VL序列的抗体的解离常数(KD)相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0369] 一方面，抗体分别包含SEQ ID NO:142和SEQ ID NO:141中的VH序列和VL序列，包括那些序列的翻译后修饰。

[0370] 在另一方面，抗体可以包含SEQ ID NO:143的全长轻链和/或SEQ ID NO:144或270的全长重链。

[0371] 在进一步方面，本发明提供一种抗体，其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合。例如，在某些方面中，提供了与抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合的抗体，该抗体包含SEQ ID NO:142的VH序列以及SEQ ID NO:141的VL序列。在某些方面，提供了与SEQ ID NO:253的S-HBs的以下残基中的一个或多个结合的抗体：C137、C138和/或C139。任选地，抗体还与C124结合，任选地进一步与W156结合，并且任选地与N146、T148和/或I152中的一个或多个结合。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0372] 在另一方面，本发明提供一种抗体，其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0373] 在一些实施例中，当在同一测定（例如ELISA或流式细胞术测定）中评估时，如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv4.115与S-HBs（例如，SEQ ID NO:253的S-HBs）的结合活性。

[0374] 另外或可替代地，当在同一测定（例如ELISA或流式细胞术测定）中评估时，如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv4.115与SEQ ID NO:254-262（例如，至少SEQ ID NO:257）的蛋白质中的一种或多种、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种的结合活性。

[0375] 参考抗体Bv4.115具有SEQ ID NO:142的VH序列和SEQ ID NO:141的VL序列。它具有SEQ ID NO:144或270的全长重链和SEQ ID NO:143的全长轻链。SEQ ID NO:270包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区，如实例中所用。

[0376] 在一些实施例中，当在同一测定中评估时，本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bv4.115对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍，或小于或等于其的 K_D 值与S-HBs（例如SEQ ID NO:253的S-HBs）结合。

[0377] 另外地或可替代地，当在同一测定中评估时，抗体可以以比参考抗体Bv4.115对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍，或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个（例如，至少SEQ ID NO:257）、任选地SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种结合。

[0378] 在一些实施例中，如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bv4.115的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍，或小于或等于其的EC50与S-HBs（例如，SEQ ID NO:253的S-HBs）结合，如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地，抗体可以以比参考抗体

Bv4.115的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个或SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257的蛋白质结合,如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。

[0379] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地所有A、B、C和D的体外中和活性。例如,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性,例如IC50值 $\leq 100\text{pg/ml}$,任选地 $\leq 10\text{pg/ml}$ 。

[0380] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的体外中和测定)评估时,抗体可以具有用于中和HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的IC50值,其比参考抗体Bv4.115对相同基因型的IC50值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于参考抗体Bv4.115对相同基因型的IC50值。

[0381] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv4.115对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内中和活性。

[0382] 任选地,抗体可以例如在感染HBV基因型A、B、C或D,任选地D的个体中体内抑制病毒血症。任选地,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv4.115对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内病毒血症抑制活性。

[0383] I.

[0384] 在一个方面,本发明提供了包含VH结构域的抗体,该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列的CDR-H1、(b)包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的CDR-H2、(c)包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列的CDR-H3。在另一方面,抗体包含VH结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0385] 在一个方面,VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:151的重链框架区1(HC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:152的重链框架区2(HC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:153的重链框架区3(HC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:154的重链框架区4(HC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VH结构域包含如(a)至(d)中定义每个重链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0386] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:160的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:160的氨基酸序列具有至少95%序列同

一性的重链可变结构域 (VH) 序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:160中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:160中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:145所示的氨基酸序列的CDR-H1,(b)包含SEQ ID NO:146所示的氨基酸序列的CDR-H2,以及(c)包含SEQ ID NO:147所示的氨基酸序列的CDR-H3。

[0387] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:160的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:160的VH结构域的一个或多个(优选所有三个)重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:160的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0388] 在另一方面,本发明提供了包含VL结构域的抗体,该VL结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列的CDR-L1、(b)包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的CDR-L2、(c)包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的CDR-L3。在另一方面,抗体包含VL结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0389] 在一个方面,抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:155的轻链框架区1(LC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:156的轻链框架区2(LC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(c)SEQ ID NO:157的轻链框架区3(LC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:158的轻链框架区4(LC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VL结构域包含如(a)至(d)中定义每个轻链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0390] 在另一方面,提供了抗S-HBs抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:159的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:159的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:159中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含

SEQ ID NO:159中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列的CDR-L1,(b)包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的CDR-L2和(c)包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的CDR-L3。

[0391] 在另一个实施例中,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:159的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:159的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:159的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0392] 在另一方面,提供一种抗S-HBs抗体,其中该抗体包含如在上文提供的任一方面中的VH序列以及如在上文提供的任一方面中的VL序列。

[0393] 例如,在一个示例性实施例中,抗体包含:包含SEQ ID NO:147的CDR-H3的VH结构域;和包含SEQ ID NO:150的CDR-L3的VL结构域。任选地,VH结构域进一步包含SEQ ID NO:146的CDR-H2。

[0394] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0395] i) 包含以下CDR的VH结构域:(a)包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代;和

[0396] ii) VL结构域,该VL结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0397] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0398] i) 重链可变结构域(VH)序列,其与SEQ ID NO:160的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;以及

[0399] ii) 轻链可变结构域(VL)序列,其与SEQ ID NO:159的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0400] 在另一个示例性实施例中,抗S-HBs抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的CDR-H2;(c)包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列的CDR-H3;(d)包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列的CDR-L1;(e)包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的CDR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的CDR-L3,和VH结构域,其与SEQ ID NO:160的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;和VL结构域,其与SEQ ID NO:159的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面,VH结构域与SEQ ID NO:160的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面,VL结构域与SEQ ID NO:159的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中,抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中,抗体与S-HBs结合,其解离常数(KD)与包含SEQ ID NO:160的VH序列和SEQ ID NO:159的VL序列的抗体的解离常数(KD)相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0401] 一方面,抗体分别包含SEQ ID NO:160和SEQ ID NO:159中的VH序列和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0402] 在另一方面,抗体可以包含SEQ ID NO:161的全长轻链和/或SEQ ID NO:162或271的全长重链。

[0403] 在进一步方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合。例如,在某些方面中,提供了与抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合的抗体,该抗体包含SEQ ID NO:160的VH序列以及SEQ ID NO:159的VL序列。在某些方面,提供了与SEQ ID NO:253的S-HBs的以下残基中的一个或多个结合的抗体:C121、K141、D144和/或G145。任选地,抗体可以进一步与C139、C147、C149、I152和/或W156中的一个或多个结合。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0404] 在另一方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0405] 在一些实施例中,当在同一测定(例如ELISA或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.229与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)的结合活性。

[0406] 另外或可替代地,当在同一测定(例如ELISA或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.229与SEQ ID NO:254-262(例如,至少SEQ ID NO:257)的蛋白质中的一种或多种、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种的结合活性。

[0407] 参考抗体Bc1.229具有SEQ ID NO:160的VH序列和SEQ ID NO:159的VL序列。它具有SEQ ID NO:162或271的全长重链和SEQ ID NO:161的全长轻链。SEQ ID NO:271包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区,如实例中所用。

[0408] 在一些实施例中,当在同一测定中评估时,本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc1.229对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与S-HBs(例如SEQ ID NO:253的S-HBs)结合。

[0409] 另外地或可替代地,当在同一测定中评估时,抗体可以以比参考抗体Bc1.229对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种结合。

[0410] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc1.229的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)结合,如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地,抗体可以以比参考抗体Bc1.229的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个或SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257的蛋白质结合,如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。

[0411] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地所有A、B、C和D的体外中和活性。例如,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性,例如IC50值 $\leq 1\text{ng/ml}$,任选地 $\leq 100\text{pg/ml}$ 。

[0412] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的体外中和测定)评估时,

抗体可以具有用于中和HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的IC₅₀值,其比参考抗体Bc1.229对相同基因型的IC₅₀值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于参考抗体Bc1.229对相同基因型的IC₅₀值。

[0413] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.229对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内中和活性。

[0414] 任选地,抗体可以例如在感染HBV基因型A、B、C或D,任选地D的个体中体内抑制病毒血症。任选地,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.229对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内病毒血症抑制活性。

[0415] J.

[0416] 在一个方面,本发明提供了包含VH结构域的抗体,该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列的CDR-H1、(b)包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的CDR-H2、(c)包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列的CDR-H3。在另一方面,抗体包含VH结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0417] 在一个方面,VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:169的重链框架区1(HC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:170的重链框架区2(HC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:171的重链框架区3(HC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:172的重链框架区4(HC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VH结构域包含如(a)至(d)中定义的重链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0418] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:178的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:178的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:178中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:178中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:163所示的氨基酸序列的CDR-H1,(b)包含SEQ ID NO:164所示

的氨基酸序列的CDR-H2,以及(c)包含SEQ ID NO:165所示的氨基酸序列的CDR-H3。

[0419] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:178的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:178的VH结构域的一个或多个(优选所有三个)重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:178的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0420] 在另一方面,本发明提供了包含VL结构域的抗体,该VL结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列的CDR-L1、(b)包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列的CDR-L2、(c)包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列的CDR-L3。在另一方面,抗体包含VL结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0421] 在一个方面,抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:173的轻链框架区1(LC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:174的轻链框架区2(LC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:175的轻链框架区3(LC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:176的轻链框架区4(LC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VL结构域包含如(a)至(d)中定义的每个轻链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0422] 在另一方面,提供了抗S-HBs抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:177的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:177的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:177中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:177中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列的CDR-L1,(b)包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列的CDR-L2和(c)包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列的CDR-L3。

[0423] 在另一个实施例中,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:177的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:177的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:177的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的

框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0424] 在另一方面,提供一种抗S-HBs抗体,其中该抗体包含如在上文提供的任一方面中的VH序列以及如在上文提供的任一方面中的VL序列。

[0425] 例如,在一个示例性实施例中,抗体包含:包含SEQ ID NO:165的CDR-H3的VH结构域;和包含SEQ ID NO:168的CDR-L3的VL结构域。任选地,VH结构域进一步包含SEQ ID NO:164的CDR-H2。

[0426] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0427] i) 包含以下CDR的VH结构域:(a) 包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列的CDR-H1;(b) 包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的CDR-H2;和(c) 包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代;和

[0428] ii) VL结构域,该VL结构域包含以下CDR:(a) 包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列的CDR-L1;(b) 包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列的CDR-L2;和(c) 包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0429] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0430] i) 重链可变结构域(VH)序列,其与SEQ ID NO:178的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;以及

[0431] ii) 轻链可变结构域(VL)序列,其与SEQ ID NO:177的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0432] 在另一个示例性实施例中,抗S-HBs抗体包含:(a) 包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列的CDR-H1;(b) 包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的CDR-H2;(c) 包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列的CDR-H3;(d) 包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列的CDR-L1;(e) 包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列的CDR-L2;和(f) 包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列的CDR-L3,和VH结构域,其与SEQ ID NO:178的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;和VL结构域,其与SEQ ID NO:177的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面,VH结构域与SEQ ID NO:178的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面,VL结构域与SEQ ID NO 177的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中,抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中,抗体与S-HBs结合,其解离常数(KD)与包含SEQ ID NO:178的VH序列和SEQ ID NO:177的VL序列的抗体的解离常数(KD)相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0433] 一方面,抗体分别包含SEQ ID NO:178和SEQ ID NO:177中的VH序列和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0434] 在另一方面,抗体可以包含SEQ ID NO:179的全长轻链和/或SEQ ID NO:180或272的全长重链。

[0435] 在进一步方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合。例如,在某些方面中,提供了与抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合的抗体,该抗体包含SEQ ID NO:178的VH序列以及SEQ ID NO:177的VL序列。在某些方面,提供了与SEQ

ID NO:253的S-HBs的以下残基结合的抗体:C121、C138、C139、C147和/或C149。任选地,抗体可以另外与L109、R122、T123、C124、M133、Y134、S136、K141和/或I152中的一个或多个结合。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0436] 在另一方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0437] 在一些实施例中,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc8.159与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)的结合活性。

[0438] 另外或可替代地,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc8.159与SEQ ID NO:254-262(例如,至少SEQ ID NO:257)的蛋白质中的一种或多种、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种的结合活性。

[0439] 参考抗体Bc8.159具有SEQ ID NO:178的VH序列和SEQ ID NO:177的VL序列。它具有SEQ ID NO:180或272的全长重链和SEQ ID NO:179的全长轻链。SEQ ID NO:272包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区,如实例中所用。

[0440] 在一些实施例中,当在同一测定中评估时,本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc8.159对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与S-HBs(例如SEQ ID NO:253的S-HBs)结合。

[0441] 另外地或可替代地,当在同一测定中评估时,抗体可以以比参考抗体Bc8.159对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种结合。

[0442] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc8.159的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)结合,如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地,抗体可以以比参考抗体Bc8.159的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个或SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257的蛋白质结合,如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。

[0443] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地所有A、B、C和D的体外中和活性。例如,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性,例如IC50值 $\leq 1\text{ng/ml}$,任选地 $\leq 100\text{pg/ml}$ 。

[0444] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的体外中和测定)评估时,抗体可以具有用于中和HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的IC50值,其比参考抗体Bc8.159对相同基因型的IC50值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于参考抗体Bc1.187对相同基因型的IC50值。

[0445] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc8.159对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内中和活性。

[0446] 任选地,抗体可以例如在感染HBV基因型A、B、C或D,任选地D的个体中体内抑制病

毒血症。任选地,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc8.159对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内病毒血症抑制活性。

[0447] K.

[0448] 在一个方面,本发明提供了包含VH结构域的抗体,该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列的CDR-H1、(b)包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列的CDR-H2、(c)包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列的CDR-H3。在另一方面,抗体包含VH结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0449] 在一个方面,VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:187的重链框架区1(HC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:188的重链框架区2(HC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:189的重链框架区3(HC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:190的重链框架区4(HC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VH结构域包含如(a)至(d)中定义的重链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0450] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:196的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:196的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:196中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:196中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:181所示的氨基酸序列的CDR-H1,(b)包含SEQ ID NO:182所示的氨基酸序列的CDR-H2,以及(c)包含SEQ ID NO:183所示的氨基酸序列的CDR-H3。

[0451] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:196的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:196的VH结构域的一个或多个(优选所有三个)重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:196的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0452] 在另一方面,本发明提供了包含VL结构域的抗体,该VL结构域包含选自以下各项

的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列：(a) 包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列的CDR-L1、(b) 包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列的CDR-L2、(c) 包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的CDR-L3。在另一方面，抗体包含VL结构域，该VH结构域包含以下CDR：(a) 包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列的CDR-L1；(b) 包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列的CDR-L2；和(c) 包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的CDR-L3；或其变体，其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0453] 在一个方面，抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列，该序列选自以下各项：(a) SEQ ID NO:191的轻链框架区1 (LC-FR1) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b) SEQ ID NO:192的轻链框架区2 (LC-FR2) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(c) SEQ ID NO:193的轻链框架区3 (LC-FR3) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d) SEQ ID NO:194的轻链框架区4 (LC-FR4) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地，VL结构域包含如(a)至(d)中定义每个轻链框架序列。任选地，百分比序列同一性是95%。任选地，百分比序列同一性是98%。

[0454] 在另一方面，提供了抗S-HBs抗体，其中该抗体包含与SEQ ID NO:195的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。一方面，抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:195的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。在某些方面，具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如，保守取代)、插入或缺失，但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面，在SEQ ID NO:195中，总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面，取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即，在FR中)。任选地，抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:195中的VL序列，包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面，VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR：(a) 包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列的CDR-L1，(b) 包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列的CDR-L2和(c) 包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的CDR-L3。

[0455] 在另一个实施例中，抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:195的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面，抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:195的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:195的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地，序列同一性为95%或98%。

[0456] 在另一方面，提供一种抗S-HBs抗体，其中该抗体包含如在上文提供的任一方面中的VH序列以及如在上文提供的任一方面中的VL序列。

[0457] 例如，在一个示例性实施例中，抗体包含：包含SEQ ID NO:183的CDR-H3的VH结构域；和包含SEQ ID NO:186的CDR-L3的VL结构域。任选地，VH结构域进一步包含SEQ ID NO:182的CDR-H2。

[0458] 在另一示例性实施例中，抗体包含：

[0459] i) 包含以下CDR的VH结构域: (a) 包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列的CDR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列的CDR-H2; 和(c) 包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列的CDR-H3; 或其变体, 其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代; 和

[0460] ii) VL结构域, 该VL结构域包含以下CDR: (a) 包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列的CDR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列的CDR-L2; 和(c) 包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的CDR-L3; 或其变体, 其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0461] 在另一示例性实施例中, 抗体包含:

[0462] i) 重链可变结构域(VH) 序列, 其与SEQ ID NO:196的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性; 以及

[0463] ii) 轻链可变结构域(VL) 序列, 其与SEQ ID NO:195的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0464] 在另一个示例性实施例中, 抗S-HBs抗体包含: (a) 包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列的CDR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列的CDR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列的CDR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列的CDR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列的CDR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的CDR-L3, 和VH结构域, 其与SEQ ID NO:196的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性; 和VL结构域, 其与SEQ ID NO:195的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面, VH结构域与SEQ ID NO:196的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面, VL结构域与SEQ ID NO 195的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中, 抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中, 抗体与S-HBs结合, 其解离常数(KD) 与包含SEQ ID NO:196的VH序列和SEQ ID NO:195的VL序列的抗体的解离常数(KD) 相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0465] 一方面, 抗体分别包含SEQ ID NO:196和SEQ ID NO:195中的VH序列和VL序列, 包括那些序列的翻译后修饰。

[0466] 在另一方面, 抗体可以包含SEQ ID NO:197的全长轻链和/或SEQ ID NO:198或273的全长重链。

[0467] 在进一步方面, 本发明提供一种抗体, 其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的共同表位结合。例如, 在某些方面中, 提供了与抗S-HBs抗体所结合的共同表位结合的抗体, 该抗体包含SEQ ID NO:196的VH序列以及SEQ ID NO:195的VL序列。在某些方面, 提供了与SEQ ID NO:253的S-HBs的以下残基结合的抗体: C121、C124、C137、C138、C139、C147和/或C149, 也任选地I152。任选地, 抗体进一步与V106、P108、W156和/或F161中的一个或多个结合。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0468] 在另一方面, 本发明提供一种抗体, 其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0469] 在一些实施例中, 当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时, 如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或

100%的参考抗体Bc1.128与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)的结合活性。

[0470] 另外地或可替代地,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.128与SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的一种或多种(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种的结合活性。

[0471] 参考抗体Bc1.128具有SEQ ID NO:196的VH序列和SEQ ID NO:195的VL序列。它具有SEQ ID NO:198或273的全长重链和SEQ ID NO:197的全长轻链。SEQ ID NO:273包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区,如实例中所用。

[0472] 在一些实施例中,当在同一测定中评估时,本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc1.128对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与S-HBs(例如SEQ ID NO:253的S-HBs)结合。

[0473] 另外地或可替代地,当在同一测定中评估时,抗体可以以比参考抗体Bc1.128对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种结合。

[0474] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc1.128的EC₅₀高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC₅₀与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)结合,如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地,抗体可以以比参考抗体Bc1.128的EC₅₀高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC₅₀与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个或SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257的蛋白质结合,如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。

[0475] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地所有A、B、C和D的体外中和活性。例如,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性,例如IC₅₀值 ≤ 10 ng/ml,任选地 ≤ 1 ng/ml。

[0476] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的体外中和测定)评估时,抗体可以具有用于中和HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的IC₅₀值,其比参考抗体Bc1.128对相同基因型的IC₅₀值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于参考抗体Bc1.128对相同基因型的IC₅₀值。

[0477] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.128对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内中和活性。

[0478] 任选地,抗体可以例如在感染HBV基因型A、B、C或D,任选地D的个体中体内抑制病毒血症。任选地,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.128对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内病毒血症抑制活性。

[0479] L.

[0480] 在一个方面,本发明提供了包含VH结构域的抗体,该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列的CDR-H1、(b)包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的CDR-H2、(c)包含SEQ ID NO:201的氨基酸

序列的CDR-H3。在另一方面,抗体包含VH结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:201的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0481] 在一个方面,VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:205的重链框架区1(HC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:206的重链框架区2(HC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:207的重链框架区3(HC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:208的重链框架区4(HC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VH结构域包含如(a)至(d)中定义每个重链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0482] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:214的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:214的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:214中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:214中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:199所示的氨基酸序列的CDR-H1,(b)包含SEQ ID NO:200所示的氨基酸序列的CDR-H2,以及(c)包含SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列的CDR-H3。

[0483] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:214的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:214的VH结构域的一个或多个(优选所有三个)重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:214的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0484] 在另一方面,本发明提供了包含VL结构域的抗体,该VL结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列的CDR-L1、(b)包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列的CDR-L2、(c)包含SEQ ID NO:204的氨基酸序列的CDR-L3。在另一方面,抗体包含VL结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:204的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0485] 在一个方面,抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列,该

序列选自以下各项：(a) SEQ ID NO:209的轻链框架区1 (LC-FR1) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b) SEQ ID NO:210的轻链框架区2 (LC-FR2) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(c) SEQ ID NO:211的轻链框架区3 (LC-FR3) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d) SEQ ID NO:212的轻链框架区4 (LC-FR4) 或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地，VL结构域包含如(a)至(d)中定义每个轻链框架序列。任选地，百分比序列同一性是95%。任选地，百分比序列同一性是98%。

[0486] 在另一方面，提供了抗S-HBs抗体，其中该抗体包含与SEQ ID NO:213的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。一方面，抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:213的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。在某些方面，具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如，保守取代)、插入或缺失，但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面，在SEQ ID NO:213中，总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面，取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即，在FR中)。任选地，抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:213中的VL序列，包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面，VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR：(a) 包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列的CDR-L1，(b) 包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列的CDR-L2和(c) 包含SEQ ID NO:204的氨基酸序列的CDR-L3。

[0487] 在另一个实施例中，抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:213的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面，抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:213的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:213的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地，序列同一性为95%或98%。

[0488] 在另一方面，提供一种抗S-HBs抗体，其中该抗体包含如在上文提供的任一方面中的VH序列以及如在上文提供的任一方面中的VL序列。

[0489] 例如，在一个示例性实施例中，抗体包含：包含SEQ ID NO:201的CDR-H3的VH结构域；和包含SEQ ID NO:204的CDR-L3的VL结构域。任选地，VH结构域进一步包含SEQ ID NO:200的CDR-H2。

[0490] 在另一示例性实施例中，抗体包含：

[0491] i) 包含以下CDR的VH结构域：(a) 包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列的CDR-H1；(b) 包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的CDR-H2；和(c) 包含SEQ ID NO:201的氨基酸序列的CDR-H3；或其变体，其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代；和

[0492] ii) VL结构域，该VL结构域包含以下CDR：(a) 包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列的CDR-L1；(b) 包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列的CDR-L2；和(c) 包含SEQ ID NO:204的氨基酸序列的CDR-L3；或其变体，其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个

或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0493] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0494] i) 重链可变结构域(VH)序列,其与SEQ ID NO:214的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;以及

[0495] ii) 轻链可变结构域(VL)序列,其与SEQ ID NO:213的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0496] 在另一个示例性实施例中,抗S-HBs抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的CDR-H2;(c)包含SEQ ID NO:201的氨基酸序列的CDR-H3;(d)包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列的CDR-L1;(e)包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列的CDR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:204的氨基酸序列的CDR-L3,和VH结构域,其与SEQ ID NO:214的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;和VL结构域,其与SEQ ID NO:213的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面,VH结构域与SEQ ID NO:214的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面,VL结构域与SEQ ID NO:213的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中,抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中,抗体与S-HBs结合,其解离常数(KD)与包含SEQ ID NO:214的VH序列和SEQ ID NO:213的VL序列的抗体的解离常数(KD)相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0497] 一方面,抗体分别包含SEQ ID NO:214和SEQ ID NO:213中的VH序列和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0498] 在另一方面,抗体可以包含SEQ ID NO:215的全长轻链和/或SEQ ID NO:216或274的全长重链。

[0499] 在进一步方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的共同表位结合。例如,在某些方面中,提供了与抗S-HBs抗体所结合的共同表位结合的抗体,该抗体包含SEQ ID NO:214的VH序列以及SEQ ID NO:213的VL序列。在某些方面,提供了与SEQ ID NO:253的S-HBs的残基F179结合的抗体。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0500] 在另一方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0501] 在一些实施例中,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc4.204与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)的结合活性。另外地或可替代地,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc4.204与具有SEQ ID NO:254、255、256、257、258、260和/或262、任选地至少SEQ ID NO:257的序列的蛋白质的结合活性。

[0502] 参考抗体Bc4.204具有SEQ ID NO:214的VH序列和SEQ ID NO:213的VL序列。它具有SEQ ID NO:216或274的全长重链和SEQ ID NO:215的全长轻链。SEQ ID NO:274包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区,如实例中所用。

[0503] 在一些实施例中,当在同一测定中评估时,本节中所述的抗体可以以比参考抗体

Bc4.204对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与S-HBs(例如SEQ ID NO:253的S-HBs)结合。另外地或可替代地,当在同一测定中评估时,抗体可以以比参考抗体Bc4.204对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:254、255、256、257、258、260和/或262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种结合。

[0504] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc4.204的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)结合,如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地,抗体可以以比参考抗体Bc4.204的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与具有SEQ ID NO:254、255、256、257、258、260和/或262序列的蛋白质中的一种或多种或其中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257的蛋白质结合,如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。

[0505] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地所有A、B、C和D的体外中和活性。例如,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性,例如IC50值 $\leq 10\text{ng/ml}$,任选地 $\leq 1\text{ng/ml}$ 。

[0506] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的体外中和测定)评估时,抗体可以具有用于中和HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的IC50值,其比参考抗体Bc4.204对相同基因型的IC50值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于参考抗体Bc1.187对相同基因型的IC50值。

[0507] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc4.204对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内中和活性。

[0508] 任选地,抗体可以例如在感染HBV基因型A、B、C或D,任选地D的个体中体内抑制病毒血症。任选地,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc4.204对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内病毒血症抑制活性。

[0509] M.

[0510] 在一个方面,本发明提供了包含VH结构域的抗体,该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:217的氨基酸序列的CDR-H1、(b)包含SEQ ID NO:218的氨基酸序列的CDR-H2、(c)包含SEQ ID NO:219的氨基酸序列的CDR-H3。在另一方面,抗体包含VH结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:217的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:218的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:219的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0511] 在一个方面,VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:223的重链框架区1(HC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:224的重链框架区2(HC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:225的重链框架区3(HC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、

92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d) SEQ ID NO:226的重链框架区4(HC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VH结构域包含如(a)至(d)中定义的重链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0512] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:232的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:232的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:232中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:232中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:217所示的氨基酸序列的CDR-H1,(b)包含SEQ ID NO:218所示的氨基酸序列的CDR-H2,以及(c)包含SEQ ID NO:219所示的氨基酸序列的CDR-H3。

[0513] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:232的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:232的VH结构域的一个或多个(优选所有三个)重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:232的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0514] 在另一方面,本发明提供了包含VL结构域的抗体,该VL结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:220的氨基酸序列的CDR-L1、(b)包含SEQ ID NO:221的氨基酸序列的CDR-L2、(c)包含SEQ ID NO:222的氨基酸序列的CDR-L3。在另一方面,抗体包含VL结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:220的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:221的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:222的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0515] 在一个方面,抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:227的轻链框架区1(LC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:228的轻链框架区2(LC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(c)SEQ ID NO:229的轻链框架区3(LC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:230的轻链框架区4(LC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VL结构域包含如(a)至(d)中定义的重链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0516] 在另一方面,提供了抗S-HBs抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:231的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:231的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:231中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:231中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:220的氨基酸序列的CDR-L1,(b)包含SEQ ID NO:221的氨基酸序列的CDR-L2和(c)包含SEQ ID NO:222的氨基酸序列的CDR-L3。

[0517] 在另一个实施例中,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:231的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:231的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:231的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0518] 在另一方面,提供一种抗S-HBs抗体,其中该抗体包含如在上文提供的任一方面中的VH序列以及如在上文提供的任一方面中的VL序列。

[0519] 例如,在一个示例性实施例中,抗体包含:包含SEQ ID NO:219的CDR-H3的VH结构域;和包含SEQ ID NO:222的CDR-L3的VL结构域。任选地,VH结构域进一步包含SEQ ID NO:218的CDR-H2。

[0520] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0521] i) 包含以下CDR的VH结构域:(a)包含SEQ ID NO:217的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:218的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:219的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代;和

[0522] ii) VL结构域,该VL结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:220的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:221的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:222的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0523] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0524] i) 重链可变结构域(VH)序列,其与SEQ ID NO:232的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;以及

[0525] ii) 轻链可变结构域(VL)序列,其与SEQ ID NO:231的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0526] 在另一个示例性实施例中,抗S-HBs抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:217的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:218的氨基酸序列的CDR-H2;(c)包含SEQ ID NO:219的氨基酸序列的CDR-H3;(d)包含SEQ ID NO:220的氨基酸序列的CDR-L1;(e)包含SEQ ID NO:221的氨基酸序列的CDR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:222的氨基酸序列的CDR-L3,和VH结构

域,其与SEQ ID NO:232的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;和VL结构域,其与SEQ ID NO:231的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面,VH结构域与SEQ ID NO:232的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面,VL结构域与SEQ ID NO:231的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中,抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中,抗体与S-HBs结合,其解离常数(KD)与包含SEQ ID NO:232的VH序列和SEQ ID NO:231的VL序列的抗体的解离常数(KD)相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0527] 一方面,抗体分别包含SEQ ID NO:232和SEQ ID NO:231中的VH序列和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0528] 在另一方面,抗体可以包含SEQ ID NO:233的全长轻链和/或SEQ ID NO:234或275的全长重链。

[0529] 在进一步方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合。例如,在某些方面中,提供了与抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合的抗体,该抗体包含SEQ ID NO:232的VH序列以及SEQ ID NO:231的VL序列。在某些方面,提供了与SEQ ID NO:253的S-HBs的以下残基结合的抗体:W165和/或R169,以及任选地M103。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0530] 在另一方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0531] 在一些实施例中,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.263与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)的结合活性。

[0532] 另外地或可替代地,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.263与SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的一种或多种(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254至262的蛋白质中的每一种的结合活性。

[0533] 参考抗体Bc1.263具有SEQ ID NO:232的VH序列和SEQ ID NO:231的VL序列。它具有SEQ ID NO:234或275的全长重链和SEQ ID NO:233的全长轻链。SEQ ID NO:275包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区,如实例中所用。

[0534] 在一些实施例中,当在同一测定中评估时,本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc1.263对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与S-HBs(例如SEQ ID NO:253的S-HBs)结合。

[0535] 另外地或可替代地,当在同一测定中评估时,抗体可以以比参考抗体Bc1.263对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个(例如,至少SEQ ID NO:257)、任选地SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种结合。

[0536] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bc1.263的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)结合,如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地,抗体可以以比参考抗体

Bc1.263的EC₅₀高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC₅₀与SEQ ID NO:254-262中的一个或多个或SEQ ID NO:254-262的蛋白质中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257的蛋白质结合,如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。

[0537] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地所有A、B、C和D的体外中和活性。例如,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性,例如IC₅₀值 $\leq$ 100pg/ml,任选地 $\leq$ 10pg/ml。

[0538] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的体外中和测定)评估时,抗体可以具有用于中和HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的IC₅₀值,其比参考抗体Bc1.263对相同基因型的IC₅₀值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于参考抗体Bc1.263对相同基因型的IC₅₀值。

[0539] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.263对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的中和活性。

[0540] 任选地,抗体可以例如在感染HBV基因型A、B、C或D,任选地D的个体中体内抑制病毒血症。任选地,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bc1.263对HBV基因型A、B、C和/或D,任选地至少D,任选地所有A、B、C和D的体内病毒血症抑制活性。

[0541] N.

[0542] 在一个方面,本发明提供了包含VH结构域的抗体,该VH结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的CDR-H1、(b)包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的CDR-H2、(c)包含SEQ ID NO:237的氨基酸序列的CDR-H3。在另一方面,抗体包含VH结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:237的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0543] 在一个方面,VH结构域可以进一步包含一个或多个重链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:241的重链框架区1(HC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:242的重链框架区2(HC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体(c)SEQ ID NO:243的重链框架区3(HC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:244的重链框架区4(HC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VH结构域包含如(a)至(d)中定义的重链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0544] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:250的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:250的氨基酸序列具有至少95%序列同

一性的重链可变结构域 (VH) 序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VH序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:250中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:250中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VH包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:235所示的氨基酸序列的CDR-H1,(b)包含SEQ ID NO:236所示的氨基酸序列的CDR-H2,以及(c)包含SEQ ID NO:237所示的氨基酸序列的CDR-H3。

[0545] 在另一方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:250的VH的一个或多个重链CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:250的VH结构域的一个或多个(优选所有三个)重链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:250的VH结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0546] 在另一方面,本发明提供了包含VL结构域的抗体,该VL结构域包含选自以下各项的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)包含SEQ ID NO:238的氨基酸序列的CDR-L1、(b)包含SEQ ID NO:239的氨基酸序列的CDR-L2、(c)包含SEQ ID NO:240的氨基酸序列的CDR-L3。在另一方面,抗体包含VL结构域,该VH结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:238的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:239的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:240的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0547] 在一个方面,抗S-HBs抗体VL结构域可以进一步包含一个或多个轻链框架序列,该序列选自以下各项:(a)SEQ ID NO:245的轻链框架区1(LC-FR1)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(b)SEQ ID NO:246的轻链框架区2(LC-FR2)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体、(c)SEQ ID NO:247的轻链框架区3(LC-FR3)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体和(d)SEQ ID NO:248的轻链框架区4(LC-FR4)或与其具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的变体。任选地,VL结构域包含如(a)至(d)中定义每个轻链框架序列。任选地,百分比序列同一性是95%。任选地,百分比序列同一性是98%。

[0548] 在另一方面,提供了抗S-HBs抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。一方面,抗S-HBs抗体包含与SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变结构域(VL)序列。在某些方面,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的VL序列相对于参考序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但是包含该序列的抗S-HBs抗体保留了与S-HBs结合的能力。在某些方面,在SEQ ID NO:249中,总共有1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面,取代、插入或缺失发生在CDR之外的区域(即,在FR中)。任选地,抗S-HBs抗体包含

SEQ ID NO:249中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体方面,VL包含一、二或三个选自以下各项的CDR:(a)包含SEQ ID NO:238的氨基酸序列的CDR-L1,(b)包含SEQ ID NO:239的氨基酸序列的CDR-L2和(c)包含SEQ ID NO:240的氨基酸序列的CDR-L3。

[0549] 在另一个实施例中,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:249的VL的一个或多个CDR序列。在一个方面,抗S-HBs抗体包含SEQ ID NO:249的VL结构域的一个或多个(优选所有三个)轻链CDR氨基酸序列和与SEQ ID NO:249的VL结构域的框架氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的框架。任选地,序列同一性为95%或98%。

[0550] 在另一方面,提供一种抗S-HBs抗体,其中该抗体包含如在上文提供的任一方面中的VH序列以及如在上文提供的任一方面中的VL序列。

[0551] 例如,在一个示例性实施例中,抗体包含:包含SEQ ID NO:237的CDR-H3的VH结构域;和包含SEQ ID NO:240的CDR-L3的VL结构域。任选地,VH结构域进一步包含SEQ ID NO:236的CDR-H2。

[0552] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0553] i) 包含以下CDR的VH结构域:(a)包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的CDR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:237的氨基酸序列的CDR-H3;或其变体,其中CDR-H1、CDR-H2或CDR-H3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代;和

[0554] ii) VL结构域,该VL结构域包含以下CDR:(a)包含SEQ ID NO:238的氨基酸序列的CDR-L1;(b)包含SEQ ID NO:239的氨基酸序列的CDR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:240的氨基酸序列的CDR-L3;或其变体,其中CDR-L1、CDR-L2或CDR-L3中的一个或多个中的一个、两个或三个氨基酸被另一种氨基酸取代。

[0555] 在另一示例性实施例中,抗体包含:

[0556] i) 重链可变结构域(VH)序列,其与SEQ ID NO:250的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;以及

[0557] ii) 轻链可变结构域(VL)序列,其与SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。

[0558] 在另一个示例性实施例中,抗S-HBs抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的CDR-H1;(b)包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的CDR-H2;(c)包含SEQ ID NO:237的氨基酸序列的CDR-H3;(d)包含SEQ ID NO:238的氨基酸序列的CDR-L1;(e)包含SEQ ID NO:239的氨基酸序列的CDR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:240的氨基酸序列的CDR-L3,和VH结构域,其与SEQ ID NO:250的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性;和VL结构域,其与SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在一个方面,VH结构域与SEQ ID NO:250的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个方面,VL结构域与SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在一个实施例中,抗体与S-HBs特异性结合。在另一个实施例中,抗体与S-HBs结合,其解离常数(KD)与包含SEQ ID NO:250的VH序列和SEQ ID NO:249的VL序列的抗体的解离常数(KD)相比降低多达10倍或提高多达10倍。

[0559] 一方面,抗体分别包含SEQ ID NO:250和SEQ ID NO:249中的VH序列和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0560] 在另一方面,抗体可以包含SEQ ID NO:251的全长轻链和/或SEQ ID NO:252或276的全长重链。

[0561] 在进一步方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合。例如,在某些方面中,提供了与抗S-HBs抗体所结合的相同表位结合的抗体,该抗体包含SEQ ID NO:250的VH序列以及SEQ ID NO:249的VL序列。在某些方面,提供了与SEQ ID NO:253的S-HBs的以下残基结合的抗体:C124、C137、C138和/或C139;任选地R122、C149和/或I152;和任选地W156。抗体可以包含如上定义的任何序列。

[0562] 在另一方面,本发明提供一种抗体,其与本文所提供的抗S-HBs抗体竞争结合S-HBs。

[0563] 在一些实施例中,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv4.105与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)的结合活性。

[0564] 另外地或可替代地,当在同一测定(例如ELISA测定或流式细胞术测定)中评估时,如本节中所述的抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv4.105与SEQ ID NO:257、258、259、260和/或261的蛋白质中的一种或多种、任选地其中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257的结合活性。

[0565] 参考抗体Bv4.105具有SEQ ID NO:250的VH序列和SEQ ID NO:249的VL序列。它具有SEQ ID NO:252或276的全长重链和SEQ ID NO:251的全长轻链。SEQ ID NO:276包含由载体LT615368.1表达的IgG1恒定区,如实例中所用。

[0566] 在一些实施例中,当在同一测定中评估时,本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bv4.105对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与S-HBs(例如SEQ ID NO:253的S-HBs)结合。

[0567] 另外地或可替代地,当在同一测定中评估时,抗体可以以比参考抗体Bv4.105对相同抗原的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的 K_D 值与SEQ ID NO:257、258、259、260和/或261中的一个或多个、任选地SEQ ID NO:257、258、259、260和/或261的蛋白质中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257结合。

[0568] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以以比参考抗体Bv4.105的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与S-HBs(例如,SEQ ID NO:253的S-HBs)结合,如通过ELISA或流式细胞术测量的。可替代地或另外地,抗体可以以比参考抗体Bv4.105的EC50高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于其的EC50与SEQ ID NO:257、258、259、260和/或261的蛋白质中的一种或多种、任选地其中的每一种、任选地至少SEQ ID NO:257结合,如通过ELISA或通过流式细胞术测量的。

[0569] 在一些实施例中,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型D、E、F和/或H,任选地所有基因型D、E、F和H的体外中和活性。例如,如本节中所述的抗体可以具有或保留针对HBV基因型D的体外中和活性,例如IC50值 $\leq 100\text{pg/ml}$,任选地 $\leq 10\text{pg/ml}$ 。

[0570] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的体外中和测定)评估时,抗体可以具有用于中和HBV基因型D、E、F、G和/或H,任选地至少D,任选地所有D、E、F、G和H的

IC₅₀值,其比参考抗体Bv4.105对相同基因型的IC₅₀值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍,或小于或等于参考抗体Bv4.105对相同基因型的IC₅₀值。

[0571] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv4.105对HBV基因型D、E、F、G和/或H,任选地至少D,任选地所有D、E、F、G和H的中和活性。

[0572] 任选地,抗体可以例如在感染HBV基因型D、E、F、G或H,任选地D的个体中体内抑制病毒血症。任选地,当使用同一测定(例如,如本文所述的测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体Bv4.105对HBV基因型D、E、F、G和/或H,任选地至少D,任选地所有D、E、F、G和H的体内病毒血症抑制活性。

[0573] 一般而言,根据本发明任何方面(包括上述A-N中任何一个)的抗S-HBs抗体可以是单克隆抗体,包括嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。在一个方面,抗S-HBs抗体是抗体片段,例如,Fv、Fab、Fab'、scFv、双体抗体或F(ab')₂片段。

[0574] 在另一个一般方面,抗体可以为全长抗体,例如本文所定义的完整IgG1、IgG2、IgG3抗体或其他抗体类别或同种型。

[0575] 全长抗体的C末端赖氨酸(Lys447)可以存在或不存在。在另一方面,C末端甘氨酸(Gly446)和C末端赖氨酸(Lys447)可以存在或不存在。

[0576] 在进一步方面,根据任一上述方面所述的抗S-HBs抗体可单独或组合地纳入如以下1-7节所述的特征。

[0577] 1. 抗体亲和力

[0578] 在某些方面,本文提供的抗体针对靶蛋白的解离常数(K_D)为 $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$ 或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如, 10^{-8}M 或更小,例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M ,例如 10^{-9}M 至 10^{-13}M)。

[0579] 在其他方面,本文提供的抗体具有或保持比参考抗体针对靶蛋白的 K_D 值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍或小于或等于其的 K_D ,其中参考抗体选自由以下项组成的组:Bc1.187、Bv4.115、Bc8.159、Bv6.172、Bc1.229、Bc8.111、Bc1.128、Bc3.106、Bc1.180、Bv4.104、Bc8.104、Bc4.204、Bc1.263和Bv4.105。

[0580] 一方面,使用BIACORE®表面等离子体共振测定法测量 K_D 。例如,使用BIACORE®-2000或BIACORE®-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)在25°C下用固定的抗原CM5芯片以~10个响应单位(RU)进行测定。在一个方面,根据供应商说明书,用N-乙基-N'-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亚胺盐酸盐(EDC)及N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)活化羧甲基化的葡聚糖生物传感器芯片(CM5, BIAcore, Inc.)。将抗原用10mM醋酸钠pH 4.8稀释至5μg/ml(约0.2μM),之后以5μL/分钟的流量进行注射以获得大约10响应单位(RU)的偶联蛋白。注射抗原之后,注射1M乙醇胺以阻断未反应的基团。关于动力学测量,在25°C,以约25μL/min的流速注射在含有0.05%聚山梨酯20(TWEEN 20™)表面活性剂(PBST)的PBS中的Fab的两倍连续稀释液(0.78nM至500nM)。使用简单的一对一Langmuir结合模型(BIACORE® Evaluation Software 3.2版),通过同时拟合缔合与解离传感器图来计算缔合速率(k_{on})与解离速率(k_{off})。平衡解离常数(K_D)计算为比率 $k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ 。参加例如Chen等人, J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)。若通过上述表面等离子体共振测定得出缔合速率超过

$10^6 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$, 则可通过使用荧光淬灭技术测定缔合速率, 即如在分光计诸如配备止流装置的分光光度计(Aviv Instruments)或8000系列SLM-AMINCOTM分光光度计(ThermoSpectronic)中用搅拌比色杯所测得的, 在浓度渐增的抗原存在下, 测量在25℃下PBS pH 7.2中的20nM抗抗原抗体(Fab形式)的荧光发射强度(激发=295nm; 发射=340nm, 16nm带通)的增加或减少。

[0581] 在另一方面, ELISA可用于计算 K_D 值, 例如, 如Friguet等人J Immunol.Methods (1985) 77 (2):305-19所描述的。

[0582] 2. 抗体片段

[0583] 在某些方面, 本文提供的抗体是抗体片段。

[0584] 一方面, 抗体片段是Fab'、Fab'-SH或 $F(ab')_2$ 片段, 特别是Fab片段。木瓜蛋白酶消化完整抗体产生两个相同的抗原结合片段, 称为“Fab”片段, 其各自包含重链可变结构域和轻链可变结构域(分别为VH和VL)以及轻链的恒定结构域(CL)和重链的第一恒定结构域(CH1)。因此, 术语“Fab片段”是指包括VL结构域和CL结构域的轻链以及包括VH结构域和CH1结构域的重链片段的抗体片段。“Fab'片段”与Fab片段的不同之处在于Fab'片段在CH1结构域的羧基端添加残基, 这些残基包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸。Fab'-SH是Fab'片段, 其中恒定结构域的半胱氨酸残基带有游离巯基。胃蛋白酶处理产生 $F(ab')_2$ 片段, 该片段具有两个抗原结合位点(两个Fab片段)和Fc区的一部分。关于对包含补救受体结合表位残基并具有增加的体内半衰期的Fab和 $F(ab')_2$ 片段的讨论, 请参见美国专利号5, 869, 046。

[0585] 在另一方面, 抗体片段是双体抗体、三体抗体或四体抗体。“双体抗体”是具有两个抗原结合位点的抗体片段, 其可以是二价或双特异性的。参见, 例如, EP 404, 097; WO 1993/01161; Hudson等人, Nat.Med. 9:129-134 (2003); 和Hollinger等人, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448 (1993)。三体抗体和四体抗体也在Hudson等人, Nat.Med. 9:129-134 (2003)中进行了描述。

[0586] 在另一个方面, 抗体片段为单链Fab片段。“单链Fab片段”或“scFab”是由抗体重链可变结构域(VH)、抗体重链恒定结构域1(CH1)、抗体轻链可变结构域(VL)、抗体轻链恒定结构域(CL)和接头组成的多肽, 其中抗体结构域和接头在N末端至C末端方向上具有以下顺序中的一种:a) VH-CH1-接头-VL-CL、b) VL-CL-接头-VH-CH1、c) VH-CL-接头-VL-CH1, 或d) VL-CH1-接头-VH-CL。特别地, 所述接头是至少30个氨基酸, 优选地在32个与50个氨基酸之间的多肽。所述单链Fab片段经由CL结构域与CH1结构域之间的天然二硫键而稳定化。此外, 这些单链Fab片段可以通过经由插入半胱氨酸残基(例如, 根据Kabat编号的可变重链中的44位和可变轻链中的100位)生成链间二硫键, 而进一步稳定化。

[0587] 在另一方面, 抗体片段是单链可变片段(scFv)。“单链可变片段”或“scFv”是抗体的重链可变结构域(VH)和轻链可变结构域(VL)的融合蛋白, 是通过接头连接的。特别地, 接头是10个至约25个氨基酸的短多肽, 并且通常富含甘氨酸以获得柔性, 以及富含丝氨酸或苏氨酸以获得溶解性, 并且可以将VH的N-末端与VL的C-末端连接, 或反之亦然。尽管去除了恒定区并且引入了接头, 但该蛋白质仍保留了原始抗体的特异性。关于scFv片段的综述, 参见例如Plückthun, 载于The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 第113卷, Rosenberg和Moore编辑(Springer-Verlag, New York), 第269至第315页(1994); 还可参见

WO 93/16185;以及美国专利号5,571,894和5,587,458。

[0588] 在另一方面,抗体片段是单结构域抗体。“单结构域抗体”是包含抗体的全部或部分重链可变结构域或者抗体的全部或部分轻链可变结构域的抗体片段。在某些方面,单结构域抗体是人单结构域抗体(Domantis, Inc., Waltham, MA; 参见例如美国专利号6,248,516B1)。

[0589] 抗体片段可以通过各种技术制备,包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及由重组宿主细胞(例如大肠杆菌)重组产生,如本文所述。

[0590] 3. 嵌合抗体和人源化抗体

[0591] 在某些方面,本文提供的抗体是嵌合抗体。某些嵌合抗体描述于,例如,美国专利号4,816,567和Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984)中。在一个实例中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,源自小鼠、大鼠、仓鼠、兔或非人灵长类动物(诸如猴)的可变区)和人恒定区。在另一个实例中,嵌合抗体为其中类别或亚类已经与亲本抗体的类别或亚类改变的“类别转换”抗体。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0592] 在某些方面,嵌合抗体是人源化抗体。通常,将非人抗体人源化以减少对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。通常,人源化抗体包含一个或多个可变结构域,其中CDR(或其部分)源自非人抗体,并且FR(或其部分)源自人抗体序列。人源化抗体任选地还将包含人恒定区的至少一部分。在一些方面,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,CDR残基所来源的抗体)的相应残基取代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0593] 人源化抗体及其制备方法在例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008)中综述,并且进一步描述于例如Riechmann等人,Nature 332:323-329(1988); Queen等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 86:10029-10033(1989);美国专利号5,821,337、7,527,791、6,982,321和7,087,409;Kashmiri等人,Methods 36:25-34(2005)(描述了特异性决定区(SDR)移植);Padlan,Mol.Immunol.28:489-498(1991)(描述了“表面再塑”);Dall'Acqua等人,Methods 36:43-60(2005)(描述了“FR改组”);以及Osborn等人,Methods 36:61-68(2005)和Klimka等人,Br.J.Cancer,83:252-260(2000)(描述了用于FR改组的“指导选择”方法)中。

[0594] 可用于人源化的人框架区包括但不限于:使用“最佳拟合”方法选择的框架区(参见,例如,Sims等人J.Immunol.151:2296(1993));来源于轻链或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列的框架区(参见,例如,Carter等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);以及Presta等人J.Immunol.,151:2623(1993));人成熟(体细胞突变)框架区或人种系框架区(参见,例如,Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008));以及来源于筛选FR文库的框架区(参见,例如,Baca等人,J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997)和Rosok等人,J.Biol.Chem.271:22611-22618(1996))。

[0595] 4. 人抗体

[0596] 在某些方面,本文提供的抗体是人抗体。可以使用本领域已知的各种技术来产生人抗体。人抗体一般描述于van Dijk和van de Winkel,Curr Opin Pharmacol.5:368-74(2001)和Lonberg,Curr Opin Immunol.20:450-459(2008)中。

[0597] 可以通过以下方式来制备人抗体:将免疫原施用于转基因动物,该转基因动物已

被修饰以响应于抗原激发而产生具有人可变区的完整人抗体或完整抗体。此类动物通常含有全部或部分人免疫球蛋白基因座,该全部或部分人免疫球蛋白基因座替代内源性免疫球蛋白基因座,或者在动物的染色体外存在或随机整合至动物的染色体中。在此类转基因小鼠中,内源性免疫球蛋白基因座通常已被灭活。关于从转基因动物获得人抗体的方法的综述,参见Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)。还参见例如描述XENOMOUSE™技术的美国专利号6,075,181和6,150,584;描述HuMab®技术的美国专利号5,770,429;描述K-MOUSE®技术的美国专利号7,041,870,以及描述VelociMouse®技术的美国专利申请公开号US2007/0061900)。可以进一步修饰来自此类动物产生的完整抗体的人可变区,例如通过与不同的人恒定区组合。

[0598] 人抗体也可以通过基于杂交瘤的方法制备。已经描述了用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人杂交骨髓瘤细胞系。(参见例如Kozbor *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur等人, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, 第51-63页 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 以及Boerner等人, *J. Immunol.*, 147:86 (1991)。)经由人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体也如Li等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006) 所述。另外的方法包括例如在美国专利号7,189,826 (描述了从杂交瘤细胞系产生单克隆人IgM抗体) 和Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26 (4):265-268 (2006) (描述了人-人杂交瘤) 中描述的那些方法。人类杂交瘤技术 (Trioma技术) 也描述于Vollmers和Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20 (3):927-937 (2005) 和Vollmers和Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27 (3):185-91 (2005) 中。

[0599] 人抗体还可以通过分离选自人源噬菌体展示文库的可变结构域序列产生。然后将此类可变结构域序列与预期的人恒定结构域结合。从抗体文库中选择人抗体的技术描述如下。

[0600] 5. 源自文库的抗体

[0601] 在某些方面,本文提供的抗体衍生自文库。可以通过筛选组合文库中具有一个或多个所需活性的抗体来分离本发明的抗体。用于筛选组合文库的方法综述于例如Lerner等人, *Nature Reviews* 16:498-508 (2016) 中。例如,本领域已知多种方法用于产生噬菌体展示文库并筛选此类文库以获得具有所需结合特征的抗体。此类方法综述于例如Frenzel等人, *mAbs* 8:1177-1194 (2016); Bazan等人, *Human Vaccines and Immunotherapeutics* 8:1817-1828 (2012) 和Zhao等人, *Critical Reviews in Biotechnology* 36:276-289 (2016) 中,以及Hoogenboom等人, *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人编辑, Human Press, Totowa, NJ, 2001) 中和Marks和Bradbury, *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo编辑, Human Press, Totowa, NJ, 2003) 中。

[0602] 在某些噬菌体展示方法中,将VH和VL基因的所有组成成分通过聚合酶链式反应(PCR)单独克隆,并在噬菌体文库中随机重组,然后可以从所述噬菌体文库中筛选抗原结合噬菌体,如在Winter等人, *Annual Review of Immunology* 12:433-455 (1994) 中所描述的。噬菌体通常将抗体片段展示为单链Fv (scFv) 片段或Fab片段。来自经免疫的来源的文库提供针对免疫原的高亲和力抗体,而无需构建杂交瘤。可替代地,可以克隆所有天然组成成分(例如,来自人的所有天然组成成分)以提供针对广泛的非自身抗原和自身抗原的抗体的单

一来源,而无需任何免疫,如由Griffiths等人在EMBO Journal 12:725-734(1993)中所描述的。此外,还通过以下方式来合成天然文库:克隆来自干细胞的未重排的V基因区段;以及使用含有随机序列的PCR引物来编码高度可变的CDR3区并完成体外重排,如由Hoogenboom和Winter在Journal of Molecular Biology 227:381-388(1992)中所描述的。描述人抗体噬菌体文库的专利出版物包括,例如:美国专利号5,750,373;7,985,840;7,785,903和8,679,490以及美国专利公开号2005/0079574、2007/0117126、2007/0237764和2007/0292936。

[0603] 本领域已知用于筛选具有一种或多种所需活性的抗体的组合文库的方法的其他实例包括核糖体和mRNA展示,以及对细菌、哺乳动物细胞、昆虫细胞或酵母细胞进行抗体展示和选择的方法。用于酵母表面展示的方法综述于例如Scholler等人,Methods in Molecular Biology 503:135-56(2012)和Cherf等人,Methods in Molecular biology 1319:155-175(2015)以及Zhao等人,Methods in Molecular Biology 889:73-84(2012)中。用于核糖体展示的方法描述于例如He等人,Nucleic Acids Research 25:5132-5134(1997)和Hanes等人,PNAS 94:4937-4942(1997)中。

[0604] 在本文中从人抗体文库分离出的抗体或抗体片段被认为是人抗体或人抗体片段。

[0605] 6. 多特异性抗体

[0606] 在某些方面,本文提供的抗体是多特异性抗体,特别是双特异性抗体。“多特异性抗体”是对至少两个不同位点(即,不同抗原上的不同表位或相同抗原上的不同表位)具有结合特异性的单克隆抗体。在某些方面,多特异性抗体具有三种或更多种结合特异性。在某些方面,结合特异性中的一种是针对S-HBs的,并且另一种特异性是针对任何其他抗原的。在某些方面,双特异性抗体可以与S-HBs的两个(或更多个)不同的表位结合。多特异性(例如双特异性)抗体也可用于将细胞毒剂或细胞定位于表达S-HBs的细胞。可以将多特异性抗体制备为全长抗体或抗体片段。

[0607] 用于制备多特异性抗体的技术包括但不限于具有不同特异性的两种免疫球蛋白重链-轻链对的重组共表达(参见Milstein和Cuello,Nature 305:537(1983))及“杵臼结构”工程化(参见例如,美国专利5,731,168,以及Atwell等人,J.Mol.Biol.270:26(1997))。多特异性抗体还可以通过以下方式来制备:工程化用于制备抗体Fc-异二聚体分子的静电操纵效应(参见例如,WO 2009/089004);使两个或更多个抗体或片段交联(参见例如,美国专利号4,676,980,以及Brennan等人,Science,229:81(1985));使用亮氨酸拉链来产生双特异性抗体(参见例如,Kostelny等人,J.Immunol.,148(5):1547-1553(1992)和WO 2011/034605);使用用于避免轻链错配问题的常用轻链技术(参见例如,WO 98/50431);使用用于制备双特异性抗体片段的“双体抗体”技术(参见例如Hollinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90:6444-6448(1993));以及使用单链Fv(sFv)二聚体(参见例如Gruber等人,J.Immunol.,152:5368(1994));以及如Tutt等人J.Immunol.147:60(1991)中所述制备三特异性抗体。

[0608] 本文还包括具有三个或更多个抗原结合位点的工程化抗体,包括例如“章鱼抗体”或者DVD-Ig(参见例如,WO 2001/77342和WO 2008/024715)。具有三个或更多个抗原结合位点的多特异性抗体的其他示例可以在WO 2010/115589、WO 2010/112193、WO 2010/136172、WO 2010/145792和WO 2013/026831中找到。双特异性抗体或其抗原结合片段还包括“双重

作用Fab”或“DAF”，其包含与S-HBs以及另一种不同抗原结合或与S-HBs的两个不同表位结合的抗原结合位点(参见例如，US 2008/0069820和WO 2015/095539)。

[0609] 多特异性抗体也可以以不对称形式提供，其中在具有相同抗原特异性的一个或多个结合臂中有结构域互换，即通过交换VH/VL结构域(参见例如，WO 2009/080252和WO 2015/150447)、CH1/CL结构域(参见例如，WO 2009/080253)或完整的Fab臂(参见例如，WO 2009/080251、WO 2016/016299，还参见Schaefer等人，PNAS, 108 (2011) 1187-1191，以及Klein等人，MAbs 8 (2016) 1010-20)。在一方面，多特异性抗体包含交叉Fab片段。术语“交叉Fab片段”或“xFab片段”或“交换型Fab片段”是指这样的Fab片段，其中重链和轻链的可变区或恒定区被交换。交叉Fab片段包含由轻链可变区(VL)和重链恒定区1(CH1)组成的多肽链，以及由重链可变区(VH)和轻链恒定区(CL)组成的多肽链。还可以通过将荷电或非荷电的氨基酸突变引入结构域界面以指导正确的Fab配对，以对不对称Fab臂进行工程化。参见例如WO 2016/172485。

[0610] 多特异性抗体的各种其他分子形式是在本领域中已知的并且包括在本文中(参见例如Spiess等人，Mol Immunol 67 (2015) 95-106)。

[0611] 本文还包括的一种特定类型的多特异性抗体是这样的双特异性抗体，该双特异性抗体设计用于同时结合靶细胞(例如，感染细胞)上的表面抗原和T细胞受体(TCR)复合物的活化不变组分(诸如CD3)，以用于再靶向T细胞以杀伤靶细胞。因此，在某些方面中，本文提供的抗体是多特异性抗体，特别是双特异性抗体，其中结合特异性之一针对S-HBs而另一个针对CD3。

[0612] 可用于此目的双特异性抗体形式的实例包括但不限于：所谓“BiTE”(双特异性T细胞募召剂)分子，其中两个scFv分子通过柔性接头融合(参见例如WO 2004/106381；WO 2005/061547；WO 2007/042261；WO 2008/119567；Nagorsen和Bäuerle，Exp Cell Res 317, 1255-1260 (2011))；双体抗体(Holliger等人，Prot Eng 9, 299-305 (1996))及其衍生物，诸如串联双体抗体(“TandAb”；Kipriyanov等人，J Mol Biol 293, 41-56 (1999))；“DART”(双亲和性重新靶向)分子，其基于双体抗体形式，但具有C末端二硫键以实现额外的稳定化(Johnson等人，J Mol Biol 399, 436-449 (2010))；以及所谓的三功能抗体，其为完整的杂交小鼠/大鼠IgG分子(如Seimetz等人所综述：Cancer Treat Rev 36, 458-467 (2010))。本文所包含的特定的T细胞双特异性抗体形式描述于以下文献中：WO 2013/026833；WO 2013/026839；WO 2016/020309；Bacac等人，Oncoimmunology 5 (8) (2016) e1203498。

[0613] 7. 抗体变体

[0614] 在某些方面中，设想了本文提供的抗体的氨基酸序列变体。例如，可能期望改变抗体的结合亲和力和/或其他生物学特性。抗体的氨基酸序列变体可以通过向编码抗体的核苷酸序列中引入适当的修饰或通过肽合成来制备。此类修饰包括例如抗体氨基酸序列内残基的缺失、和/或插入和/或取代。可以进行缺失、插入和取代的任何组合以实现最终构建体，前提条件是最终构建体具有所需特征，例如抗原结合。

[0615] a) 取代、插入和删除性变体

[0616] 在某些方面，提供了具有一个或多个氨基酸取代的抗体变体。用于取代诱变的感兴趣的位点包括CDR和FR。保守取代在表1中的“优选取代”标题下示出。更多实质性改变提

供于表1的“示例性取代”标题下,并且在下文参考氨基酸侧链类别进行了进一步描述。可以将氨基酸取代引入目标抗体中,并对产物进行所需活性(例如保留/改善的抗原结合、降低的免疫原性,或改善的ADCC或CDC)筛选。

[0617] 表1

原始残基	示例性取代	优选的取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp、Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn

原始残基	示例性取代	优选的取代
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸	Leu

[0620] 可根据共同的侧链特性将氨基酸分组:

[0621] (1) 疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0622] (2) 中性亲水性:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

[0623] (3) 酸性:Asp、Glu;

[0624] (4) 碱性:His、Lys、Arg;

[0625] (5) 影响链取向的残基:Gly、Pro;

[0626] (6) 芳族:Trp、Tyr、Phe。

[0627] 非保守性取代将需要用这些类别中的一个的成员交换另一类别的成员。

[0628] 一种类型的取代变体涉及取代亲本抗体(例如,人源化抗体或人抗体)的一个或多

个高可变区残基。通常,相对于亲本抗体,选为用于进一步研究的一个或多个所得变体将在某些生物学特性方面(例如,亲和力增加、免疫原性降低)有改变(例如,改善)和/或将基本上保留亲本抗体的某些生物学特性。示例性取代变体是亲和力成熟抗体,其可例如使用诸如本文所述的那些基于噬菌体展示的亲和力成熟技术方便地生成。简要地说,对一个或多个CDR残基进行突变并且将变体抗体展示在噬菌体上并针对特定生物学活性(例如结合亲和力)进行筛选。

[0629] 例如,可在CDR中作出改变(例如,取代),以改善抗体亲和力。此类改变可发生于CDR“热点”中,即由体细胞成熟过程中发生高频突变的密码子编码的残基(参见例如,Chowdhury,Methods Mol.Biol.207:179-196(2008))和/或与抗原接触的残基(检测所得变体VH或VL的结合亲和力。通过构建并自二级文库重新选择而实现的亲和力成熟已被例如Hoogenboom等人在Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien等人编,Human Press,Totowa,NJ,(2001))中进行描述。在亲和力成熟的某些方面,通过多种方法(例如,易错PCR、链改组或寡核苷酸定向诱变)的任何一种将多样性引入选择用于成熟的可变基因中。然后创建一个二级文库。随后对该文库进行筛选以鉴别具有所需亲和力的任何抗体变体。引入多样性的另一种方法涉及CDR定向方法,其中将若干CDR残基(例如,每次4至6个残基)随机化。参与抗原结合的CDR残基可例如使用丙氨酸扫描突变或建模来特异性地鉴别。具体而言,常常靶向CDR-H3和CDR-L3。

[0630] 在某些方面,取代、插入或缺失可发生在一个或多个CDR内,只要此类改变基本上不降低抗原结合分子的抗原结合能力即可。例如,可在CDR中进行基本上不降低结合亲和力的保守性改变(例如,如本文提供的保守性取代)。这样的改变可以例如在CDR中的抗原接触残基的外部。在上文提供的某些变体VH和VL序列中,每个CDR要么保持不变,要么包含不超过一个、两个或三个氨基酸取代。

[0631] 可用于鉴别可被靶向诱变的抗体残基或区域的方法称作“丙氨酸扫描诱变”,如Cunningham和Wells(1989)Science,244:1081-1085所述。在此方法中,鉴别残基或一组靶残基(例如,带电残基,诸如arg、asp、his、lys和glu)并用中性或带负电的氨基酸(例如,丙氨酸或多丙氨酸)替换以确定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可在对初始取代展示功能敏感性的氨基酸位置引入其他取代。可替代地或另外地,可以使用抗原-抗体复合物的晶体结构鉴别抗体与抗原之间的接触点。可靶向或消除作为取代的候选的此类接触残基和相邻残基。可筛选变体以确定它们是否具备期望的特性。

[0632] 氨基酸序列插入包括长度范围为一个残基至含有一百个或更多个残基的多肽的氨基和/或羧基末端融合,以及一个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实例包括具有N末端甲硫氨酰残基的抗体。抗体分子的其他插入变体包括将抗体的N末端或C末端与增加抗体的血清半衰期的酶(例如,对于ADEPT(抗体定向酶前药治疗))或多肽融合。

[0633] b)糖基化变体

[0634] 在某些方面,改变本文提供的抗体以增加或降低抗体糖基化的程度。糖基化位点向抗体的添加或缺失可通过改变氨基酸序列以产生或去除一个或多个糖基化位点而方便地实现。

[0635] 当抗体包含Fc区时,与其相连的寡糖可以被改变。由哺乳动物细胞产生的天然抗体通常包含支链的、双触角寡糖,该双触角寡糖通常通过N-键结连接至Fc区的CH2结构域的

Asn297。参见,例如,Wright等人TIBTECH 15:26-32(1997)。寡糖可包括各种碳水化合物,例如,甘露糖、N-乙酰基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸,以及附接于双触角寡糖结构的“主干”中的GlcNAc的岩藻糖。在一些方面中,可对本发明的抗体中的寡糖进行修饰,以产生具有某些改善的特性的抗体变体。

[0636] 一方面,提供了具有非岩藻糖基化的寡糖的抗体变体,即缺少(直接或间接地)连接在Fc区的岩藻糖的寡糖结构。这样的非岩藻糖基化的寡糖(也称为“去岩藻糖基化”的寡糖)特别是N-连接的寡糖,其缺少在双触角寡糖结构的茎中连接第一GlcNAc的岩藻糖残基。一方面,提供了与天然或亲本抗体相比在Fc区中具有增加比例的非岩藻糖基化寡糖的抗体变体。例如,非岩藻糖基化寡糖的比例可以为至少约20%、至少约40%、至少约60%、至少约80%或甚至约100%(即不存在岩藻糖基化寡糖)。非岩藻糖基化寡糖的百分比,如例如WO 2006/082515中所述,如通过MALDI-TOF质谱法测量的,是缺少岩藻糖残基的寡糖的(平均)量相对于与Asn 297连接的所有寡糖(例如复杂、杂合和高甘露糖结构)之和。Asn297是指位于Fc区中约297位的天冬酰胺残基(Fc区残基的EU编号);然而,由于抗体中的微小序列变化,Asn297也可以位于297位上游或下游大约 ± 3 个氨基酸,即在294位和300位之间。在Fc区中具有非岩藻糖基化寡糖比例增加的此类抗体可具有改善的Fc γ RIIIa受体结合和/或改善的效应子功能,特别是改善的ADCC功能。参见例如US 2003/0157108和US 2004/0093621。

[0637] 能够产生岩藻糖基化减少的抗体的细胞系的实例包括缺乏蛋白质岩藻糖基化的Lec13 CHO细胞(Ripka等人,Arch.Biochem.Biophys.249:533-545(1986);US 2003/0157108;和WO 2004/056312,尤其是在实例11中),以及敲除细胞系,例如 α -1,6-岩藻糖基转移酶基因,FUT8,敲除CHO细胞(参见,例如,Yamane-Ohnuki等人,Biotech.Bioeng.87:614-622(2004);Kanda,Y.等人,Biotechnol.Bioeng.,94(4):680-688(2006);和WO 2003/085107),或具有降低或取消的GDP-岩藻糖合成或转运蛋白活性的细胞(参见,例如,US2004259150、US2005031613、US2004132140、US2004110282)。

[0638] 在另一方面,抗体变体提供了二等分的寡糖,例如,其中连接至抗体的Fc区的双触角寡糖被GlcNAc二等分。如上所述,这样的抗体变体可以具有减少的岩藻糖基化和/或改善的ADCC功能。此类抗体变体的实例描述于例如Umana等人,Nat Biotechnol 17,176-180(1999);Ferrara等人,Biotechn Bioeng 93,851-861(2006);WO 99/54342;WO 2004/065540,WO 2003/011878。

[0639] 还提供了在连接于Fc区的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的抗体变体。这样的抗体变体可以具有改善的CDC功能。此类抗体变体描述于例如WO 1997/30087、WO 1998/58964和WO 1999/22764中。

[0640] c) Fc区变体

[0641] 在某些方面,一个或多个氨基酸修饰可引入本文提供的抗体的Fc区中,从而生成Fc区变体。Fc区变体可包含人Fc区序列(例如人IgG₁、IgG₂、IgG₃或IgG₄ Fc区),其在一个或多个氨基酸位置上包含氨基酸修饰(例如取代)。

[0642] 在某些方面,本发明考虑具有一些但不是全部效应子功能的抗体变体,这使其成为其中抗体的体内半衰期很重要而某些效应子功能(例如补体依赖性细胞毒性(CDC)和抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC))不必要或有害的应用的理想候选者。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定,以确认CDC和/或ADCC活性的降低/耗尽。例如,可以进行Fc受体

(FcR) 结合测定以确保抗体缺乏Fc γ R结合(因此可能缺乏ADCC活性),但是保留FcRn结合能力。介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达Fc γ RIII,而单核细胞表达Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII。造血细胞上的FcR表达总结在Ravetch和Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991) 的第464页的表3中。用于评估目标分子的ADCC活性的体外测定的非限制性实例描述于美国专利号5,500,362(参见例如Hellstrom, I.等人 *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)) 和Hellstrom, I等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 5,821,337(参见Bruggemann, M.等人, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))。可替代地,可使用非放射性测定方法(参见例如,用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定(Cell Technology, Inc. Mountain View, CA); 以及CytoTox 96®非放射性细胞毒性测定(Promega, Madison, WI)。用于此类测定的有效效应物细胞包括外周血单核细胞(PBMC)和自然杀伤(NK)细胞。可替代地或另外地,可例如在诸如在Clynes等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998) 中公开的动物模型中体内评定感兴趣的分子的ADCC活性。也可以进行C1q结合测定以确认抗体不能结合C1q,因此缺乏CDC活性。参见例如WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体活化,可以执行CDC测定(参见例如Gazzano-Santoro等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M. S.等人, *Blood* 101:1045-1052 (2003); 以及Cragg, M. S. 和M. J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004))。FcRn结合和体内清除率/半衰期测定也可以使用本领域已知的方法执行(参见例如Petkova, S. B.等人, *Int'l Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006); WO 2013/120929 A1)。

[0643] 具有降低的效应子功能的抗体包括具有Fc区残基238、265、269、270、297、327和329中一个或多个的取代的那些(美国专利号6,737,056)。此类Fc突变体包括在第265、269、270、297和327位氨基酸中两个或更多个处具有取代的Fc突变体,包括所谓的“DANA”Fc突变体,其残基265和297被取代为丙氨酸(美国专利号7,332,581)。

[0644] 描述了具有改善的或降低的与FcR的结合的某些抗体变体。(参见例如美国专利号6,737,056; WO 2004/056312; 以及Shields等人, *J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604 (2001)。)

[0645] 在某些方面,抗体变体包含具有一个或多个改善ADCC的氨基酸取代的Fc区,例如,在Fc区的298、333和/或334位的取代(残基的EU编号)。

[0646] 在某些方面,抗体变体包含具有一个或多个减少Fc γ R结合的氨基酸取代的Fc区,例如Fc区的234位和235位的取代(残基的EU编号)。一方面,取代是L234A和L235A (LALA)。在某些方面,抗体变体进一步包含在衍生自人IgG₁ Fc区的Fc区中的D265A和/或P329G。一方面,在衍生自人IgG₁ Fc区的Fc区中,取代是L234A、L235A和P329G (LALA-PG)。(参见例如WO 2012/130831)。在另一方面,在衍生自人IgG₁ Fc区的Fc区中,取代是L234A、L235A和D265A (LALA-DA)。

[0647] 在一些方面,在Fc区中进行导致改变(即,改善或减少)C1q结合和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)的改变,例如,如美国专利号6,194,551、WO 99/51642以及Idusogie等人, *J. Immunol.* 164:4178-4184 (2000) 中所描述。

[0648] 具有延长的半衰期和改善的新生儿Fc受体(FcRn)结合、负责将母体IgG转移至胎儿(Guyer, R. L. 等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976), 以及Kim, J. K. 等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994))的抗体描述于US 2005/0014934 (Hinton等人)中。那些抗体包含这样的Fc区,该Fc区中具有改善Fc区与FcRn的结合的一个或多个取代。此类Fc变体包括在以下Fc区残基中的

一处或多处具有取代的Fc变体:238、252、254、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434,例如对Fc区残基434的取代(参见,例如美国专利号7,371,826;Dall'Acqua,W.F.等人,J.Biol.Chem.281(2006)23514-23524)。

[0649] 通过定点诱变已经鉴定了对小鼠Fc-小鼠FcRn相互作用至关重要的Fc区残基(参见例如Dall'Acqua,W.F.等人,J.Immunol.169(2002)5171-5180)。相互作用涉及残基I253、H310、H433、N434和H435(残基的EU编号)(Medesan,C.等人,Eur.J.Immunol.26(1996)2533;Firan,M.等人,Int.Immunol.13(2001)993;Kim,J.K.等人,Eur.J.Immunol.24(1994)542)。发现残基I253、H310和H435对于人Fc与鼠FcRn的相互作用至关重要(Kim,J.K.等人,Eur.J.Immunol.29(1999)2819)。对人Fc-人FcRn复合物的研究已表明,残基I253、S254、H435和Y436对于该相互作用至关重要(Firan,M.等人,Int.Immunol.13(2001)993;Shields,R.L.等人,J.Biol.Chem.276(2001)6591-6604)。在Yeung,Y.A.等人(J.Immunol.182(2009)7667-7671)中已经报道并且检查了残基248至259和301至317和376至382和424至437的各种突变体。

[0650] 在某些方面,抗体变体包含具有一个或多个减少FcRn结合的氨基酸取代的Fc区(在一些实施例中为IgG1的Fc区),例如,在Fc区的253、和/或310和/或435位的取代(残基的EU编号)。在某些方面,抗体变体包含在位置253、310和435位具有氨基酸取代的Fc区。一方面,在衍生自人IgG1 Fc区的Fc区中,取代是I253A、H310A和H435A。参见,例如Grevys,A.等人,J.Immunol.194(2015)5497-5508。

[0651] 在某些方面,抗体变体包含具有一个或多个减少FcRn结合的氨基酸取代的Fc区(在一些实施例中为IgG1的Fc区),例如,在Fc区的310、和/或433和/或436位的取代(残基的EU编号)。在某些方面,抗体变体包含在位置310、433和436位具有氨基酸取代的Fc区。一方面,在衍生自人IgG1 Fc区的Fc区中,取代是H310A、H433A和Y436A。(参见,例如,WO 2014/177460 A1)。

[0652] 在某些方面,抗体变体包含具有一个或多个增加FcRn结合的氨基酸取代的Fc区(在一些实施方案中为IgG1的Fc区),例如,在Fc区的252、和/或254和/或256位的取代(残基的EU编号)。在某些方面,抗体变体包含在位置252、254和256位具有氨基酸取代的Fc区。一方面,在衍生自人IgG₁ Fc区的Fc区中,取代是M252Y、S254T和T256E。有关Fc区变体的其他实例,另外参见:Duncan和Winter,Nature 322:738-40(1988);美国专利号5,648,260;美国专利号5,624,821;以及WO 94/29351。

[0653] 在某些方面,抗体变体包含具有一个或多个增加FcRn结合的氨基酸取代的Fc区(在一些实施方案中为IgG1的Fc区),例如,在Fc区的428、和/或434和/或436位的取代(残基的EU编号)。在某些方面,抗体变体包含在位置428、434和436位具有氨基酸取代的Fc区。一方面,在衍生自人IgG1 Fc区的Fc区中,取代是M428L、N434A和Y436T。在另一方面,抗体变体包含在位置434例如N434A具有氨基酸取代的Fc区。

[0654] 在某个进一步的方面,抗体变体包含具有一个或多个增加FcRn结合的氨基酸取代的Fc区(在一些实施例中为IgG1的Fc区),例如,在307和/或434位的取代,例如T307H和/或N434H,例如T307H和N434H。

[0655] 在某些具体实施例中,抗体变体包含如本文所阐述的重链,其通过以下取代修饰:

i) M252Y、S254T和T256E; ii) M428L、N434A和Y436T; iii) N434A; 或iv) T307H和N434H。

[0656] 例如, 抗体可以包含通过由选自以下各项组成的组的取代修饰的SEQ ID NO:17的轻链和SEQ ID NO:18或263的重链:i) M252Y、S254T和T256E; ii) M428L、N434A和Y436T; iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0657] 在另一个具体的实施例中, 抗体可以包含SEQ ID NO:35的轻链和SEQ ID NO:36或264的重链, 它们通过由选自以下各项组成的组的取代修饰:i) M252Y、S254T和T256E; ii) M428L、N434A和Y436T; iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0658] 在另一个具体的实施例中, 抗体可以包含SEQ ID NO:53的轻链和SEQ ID NO:54或265的重链, 它们通过选自由以下各项组成的组的取代修饰:i) M252Y、S254T和T256E; ii) M428L、N434A和Y436T; iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0659] 在另一个具体的实施例中, 抗体可以包含SEQ ID NO:71的轻链和SEQ ID NO:72或266的重链, 它们通过选自由以下各项组成的组的取代修饰:i) M252Y、S254T和T256E; ii) M428L、N434A和Y436T; iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0660] 在另一个具体的实施例中, 抗体可以包含SEQ ID NO:89的轻链和SEQ ID NO:90或267的重链, 它们通过选自由以下各项组成的组的取代修饰:i) M252Y、S254T和T256E; ii) M428L、N434A和Y436T; iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0661] 在另一个具体的实施例中, 抗体可以包含SEQ ID NO:107的轻链和SEQ ID NO:108或268的重链, 它们通过选自由以下各项组成的组的取代修饰:i) M252Y、S254T和T256E; ii) M428L、N434A和Y436T; iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0662] 在另一个具体的实施例中, 抗体可以包含SEQ ID NO:125的轻链和SEQ ID NO:126或269的重链, 它们通过选自由以下各项组成的组的取代修饰:i) M252Y、S254T和T256E; ii) M428L、N434A和Y436T; iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0663] 在另一个具体的实施例中, 抗体可以包含SEQ ID NO:143的轻链和SEQ ID NO:144或270的重链, 它们通过选自由以下各项组成的组的取代修饰:i) M252Y、S254T和T256E; ii) M428L、N434A和Y436T; iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0664] 在另一个具体的实施例中, 抗体可以包含SEQ ID NO:161的轻链和SEQ ID NO:162或271的重链, 它们通过选自由以下各项组成的组的取代修饰:i) M252Y、S254T和T256E; ii) M428L、N434A和Y436T; iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0665] 在另一个具体的实施例中, 抗体可以包含SEQ ID NO:179的轻链和SEQ ID NO:180或272的重链, 它们通过选自由以下各项组成的组的取代修饰:i) M252Y、S254T和T256E; ii) M428L、N434A和Y436T; iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0666] 在另一个具体的实施例中, 抗体可以包含SEQ ID NO:197的轻链和SEQ ID NO:198或273的重链, 它们通过选自由以下各项组成的组的取代修饰:i) M252Y、S254T和T256E; ii) M428L、N434A和Y436T; iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0667] 在另一个具体的实施例中, 抗体可以包含SEQ ID NO:215的轻链和SEQ ID NO:216或274的重链, 它们通过选自由以下各项组成的组的取代修饰:i) M252Y、S254T和T256E; ii) M428L、N434A和Y436T; iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0668] 在另一个具体的实施例中, 抗体可以包含SEQ ID NO:233的轻链和SEQ ID NO:234或275的重链, 它们通过选自由以下各项组成的组的取代修饰:i) M252Y、S254T和T256E; ii)

M428L、N434A和Y436T;iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0669] 在另一个具体的实施例中,抗体可以包含SEQ ID NO:251的轻链和SEQ ID NO:252或276的重链,它们通过选自以下各项组成的组的取代修饰:i) M252Y、S254T和T256E;ii) M428L、N434A和Y436T;iii) N434A以及iv) T307H和N434H。

[0670] 如本文报道的抗体的重链的C末端可以是以氨基酸残基PGK结束的完整C末端。重链的C末端可以是缩短的C末端,在所述缩短的C末端中已经去除了一个或两个C末端氨基酸残基。在一个优选的方面,重链的C末端是以PG结束的缩短的C末端。在本文报道的所有方面的一个方面,如本文所指定的包含包括C末端CH3结构域的重链的抗体,包含C末端甘氨酸-赖氨酸二肽(G446和K447,氨基酸位置的EU索引编号)。在本文报道的所有方面的一个方面中,如本文所指定的包含包括C末端CH3结构域的重链的抗体,包含C末端甘氨酸残基(G446,氨基酸位置的EU索引编号)。

[0671] d) 半胱氨酸工程化改造的抗体变体

[0672] 在某些方面,可能需要产生半胱氨酸工程化改造的抗体,例如THIOMABTM抗体,其中抗体的一个或多个残基被半胱氨酸残基取代。在特定实施例中,取代的残基存在于抗体的可接近位点。如本文进一步描述的,通过用半胱氨酸取代那些残基,从而将反应性巯基团定位于抗体的可接近位点,并且可用于将抗体与其他部分(诸如药物部分或接头-药物部分)缀合,以产生免疫缀合物。半胱氨酸工程化改造的抗体可以如例如在美国专利号7,521,541、8,30,930、7,855,275、9,000,130或WO 2016040856中所述产生。

[0673] e) 抗体衍生物

[0674] 在某些方面,本文提供的抗体可被进一步修饰以包含本领域已知的并且容易获得的附加非蛋白质部分。适合于抗体衍生化的部分包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性示例包括但不限于聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇的共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧戊环、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或随机共聚物)和葡聚糖或聚(n-乙烯吡咯烷酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇以及它们的混合物。由于其在水中的稳定性,聚乙二醇丙醛在制造中可具有优势。聚合物可具有任何分子量,并且可以具有支链或不具有支链。附接至抗体的聚合物的数目可变,并且如果附接了多于一个聚合物,那么它们可以为相同或不同的分子。通常,可基于以下考虑因素测定用于衍生化的聚合物的数目和/或类型,包括但不限于抗体待改善的特定特性或功能、抗体衍生物是否将用于限定条件下的疗法等。

[0675] B. 重组方法和组合物

[0676] 可以使用重组方法和组合物来产生抗体,例如,如在US 4,816,567中所述。对于这些方法,提供了编码抗体的一种或多种分离的核酸。

[0677] 在天然抗体或天然抗体片段的情况下,需要两种核酸,一种用于轻链或其片段,一种用于重链或其片段。此类核酸编码构成抗体的VL的氨基酸序列和/或构成抗体的VH的氨基酸序列(例如抗体的轻链和/或重链)。这些核酸可以在相同的表达载体上或不同的表达载体上。

[0678] 在具有异源二聚重链的某些双特异性抗体的情况下,需要四种核酸,一种用于第一轻链,一种用于包含第一异单体(heteromonomeric)Fc区多肽的第一重链,一种用于第二

轻链,并且一种用于包含第二异单体Fc区多肽的第二重链。四种核酸可包含在一种或多种核酸分子或表达载体中。此类核酸编码构成抗体的第一VL的氨基酸序列和/或构成抗体的包含第一异单体Fc区的第一VH的氨基酸序列和/或构成抗体的第二VL的氨基酸序列和/或构成抗体的包含第二异单体Fc区的第二VH的氨基酸序列(例如抗体的第一轻链和/或第二轻链和/或第一重链和/或第二重链)。这些核酸可以在相同的表达载体上或在不同的表达载体上,通常这些核酸位于两个或三个表达载体上,即一个载体可以包含这些核酸中的多于一种。这些双特异性抗体的示例是CrossMab(参见例如Schaefer,W.等人,PNAS,108(2011)11187-1191)。例如,该异单体重链中的一条包含所谓的“杵突变(knob mutation)”(T366W,以及任选地S354C或Y349C中的一者),并且该异单体重链中的另一条包含所谓的“臼突变(hole mutation)”(T366S、L368A和Y407V,以及任选地Y349C或S354C)(参见例如Carter,P.等人,Immunotechnol.2(1996)73),根据EU索引编号。

[0679] 在一个方面,提供了编码如在本文所报道的方法中使用的抗体的分离的核酸。

[0680] 在一方面,提供了一种制备抗S-HBs抗体的方法,其中该方法包括在适于表达抗体的条件下培养包括如上提供的编码抗体的核酸的宿主细胞,以及任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)中回收抗体。

[0681] 对于抗S-HBs抗体重组生产,将编码抗体的核酸(例如,如上所述)分离并插入至一个或多个载体中以用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。可以使用常规程序来容易地对此类核酸进行分离和测序(例如,通过使用能够与编码抗体的重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针),或通过重组方法产生或通过化学合成获得此类核酸。

[0682] 用于克隆或表达编码抗体的载体的合适宿主细胞包括本文所述的原核或真核细胞。例如,可以在细菌中产生抗体,特别是当不需要糖基化和Fc效应子功能时。关于在细菌中表达抗体片段和多肽,参见例如US 5,648,237、US 5,789,199和US 5,840,523(还参见Charlton,K.A.,在:Methods in Molecular Biology,第248卷,Lo,B.K.C.主编,Humana Press,Totowa,NJ(2003),第245-254页中,描述抗体片段在大肠杆菌中的表达。)抗体可在表达后在可溶性级分中从细菌细胞糊中分离,并且可以进一步纯化。

[0683] 除了原核生物外,诸如丝状真菌或酵母等真核微生物也是用于编码抗体的载体的合适克隆或表达宿主,该真核微生物包括真菌和酵母菌株,其糖基化途径已经“人源化”,从而导致产生具有部分或完全人糖基化模式的抗体。参见Gerngross,T.U.,Nat.Biotech.22(2004)1409-1414;以及Li,H.等人,Nat.Biotech.24(2006)210-215。

[0684] 用于表达糖基化抗体的合适宿主细胞也来源于多细胞生物(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物细胞和昆虫细胞。已经鉴定出了可以与昆虫细胞结合使用,特别是用于转染草地夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)细胞的许多杆状病毒株。

[0685] 植物细胞培养物也可用作宿主。参见例如US 5,959,177、US 6,040,498、US 6,420,548、US 7,125,978和US 6,417,429(描述了用于在转基因植物中产生抗体的PLANTIBODIESTM技术)。

[0686] 脊椎动物细胞也可用作宿主。例如,适于在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系可能是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其他实例是由SV40转化的猴肾CV1系(COS-7);人胚肾细胞系(如在例如Graham,F.L.等人,J.Gen Virol.36(1977)59-74中所述的293或293T细胞);小仓鼠肾细胞(BHK);小鼠塞尔托利氏细胞(例如在Mather,J.P.,Biol.Reprod.23

(1980) 243-252中描述的TM4细胞);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);布法罗大鼠肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞(如例如在Mather, J.P.等人, Annals N.Y.Acad.Sci.383(1982) 44-68中所述);MRC 5细胞;以及FS4细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR-CHO细胞(Urlaub, G.等人, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77(1980) 4216-4220);以及骨髓瘤细胞系,诸如Y0、NS0和Sp2/0。关于适用于抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,参见例如Yazaki, P.和Wu, A.M., Methods in Molecular Biology, 第248卷, Lo, B.K.C. (编辑), Humana Press, Totowa, NJ (2004), 第255-268页。

[0687] 一方面, 宿主细胞是真核细胞, 例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴细胞(例如Y0、NS0、Sp20细胞)。

[0688] C. 测定

[0689] 可通过本技术领域已知的各种测定, 对本文所提供的抗S-HBs抗体的物理/化学特性和/或生物活性来进行鉴别、筛选或表征。

[0690] 1. 结合测定和其他测定

[0691] 在一个方面, 本发明的抗体的抗原结合活性通过例如ELISA、流式细胞术、蛋白质印迹等已知方法进行测试。

[0692] 用于ELISA的S-HBs抗原可以是颗粒形式。可通过在宿主细胞中重组表达抗原(例如S-HBs)并将抗原自组装成颗粒来提供用于ELISA方案的颗粒。例如, 抗原可以在酵母宿主细胞(诸如毕赤酵母)或哺乳动物细胞(诸如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞)中表达。

[0693] ELISA测定可以包括以下步骤:i) 用S-HBs抗原包被ELISA板ii) 用BSA封闭板;iii) 洗涤;iv) 与连续稀释的IgG抗体一起孵育;v) 洗涤;vi) 与山羊抗人IgG-HRP抗体一起孵育;vii) 用HRP显色底物使板显影;viii) 测量405nm (OD405nm) 处的光密度。

[0694] 通过ELISA测量的结合活性可以量化为曲线下面积(AUC), 如从OD405nm-浓度曲线确定的。因此, 该方法可以包括ix) 从OD405nm-浓度曲线确定AUC。可以比较这些值以比较测试抗体与参考抗体的活性, 以百分比表示。或者, EC50值可以从ELISA测定中确定, 作为获得OD450nm的半最大值时的浓度。

[0695] 流式细胞术测定可以包括以下步骤:i) 在人细胞系中表达S-SBs;ii) 固定和透化细胞;iii) 使细胞与IgG抗体一起孵育;iv) 洗涤;v) 使细胞与AF647缀合的山羊抗人IgG抗体一起孵育;vi) 洗涤并在PBS中重悬;和vii) 通过流式细胞术确定结合的表达S-HBs的细胞的百分比或平均荧光强度(MFI)。

[0696] 抗体的连续稀释可用于确定流式细胞术测定中的EC50。可替代地, 当测试抗体和参考抗体以相同的浓度, 例如, 10ug/ml或替代地以参考抗体的EC50(如在流式细胞术测定中确定的)使用时, 可以比较结合的表达S-HBs的细胞的百分比或MFI获得的值, 以将测试抗体的活性表示为参考抗体活性的百分比。

[0697] 在评估相对结合活性时, 应使用相同的方法测试抗体。它们也可以以相同的形式进行评估, 例如, 都作为IgG。在此类实施例中, 参考抗体将具有本文提供的所述参考抗体的全长序列。包含如本文定义的VH和VL结构域(例如, 包含作为参考抗体的VH和/或VL结构域的变体的VH和/或VL结构域)的测试抗体的结合活性可以以包含参考抗体的恒定结构域和

铰链序列的IgG形式评估。

[0698] 示例性方案如下所述。

[0699] 方案1

[0700] 用经纯化的抗原(例如,PBS中125ng/孔)包被高结合96孔ELISA板(Costar, Corning)过夜。洗涤后(例如,用0.05% Tween 20-PBS(PBST)),用2% BSA、1mM EDTA-PBST(封闭溶液)封闭板2小时,洗涤,并与PBS中的连续稀释抗体一起孵育。洗涤后,通过添加山羊HRP缀合的抗人IgG(例如,封闭溶液中最终浓度为0.8μg/ml,Immunology Jackson ImmunoResearch)和HRP显色底物(例如,ABTS溶液,Euromedex)来使板显色。光密度测量在405nm(OD405nm)进行。结合可以量化为来自OD405nm-浓度曲线的曲线下面积(AUC),并且可以比较两种抗体的AUC,以百分比评估相对活性。可替代地,可以将抗体的EC₅₀确定为获得OD450nm的半最大值时的浓度。

[0701] 可以使用HydroSpeed™微孔板清洗机和Sunrise™微孔板吸光度读数器(Tecan Männedorf)进行实验。每个实验中可以包括阴性对照抗体mG053和合适的阳性对照(诸如HB1)(Kucinskaite-Kodze等人,2016)。

[0702] 方案2

[0703] 在使用流式细胞术来测量结合活性的示例性方案中,用编码S-HBs的载体(每10⁶个细胞0.65μg质粒DNA),例如,使用前面描述的PEI沉淀法(Lorin和Mouquet,2015)转染人细胞系(例如Freestyle™ 293-F)。转染后48小时,将转染和未转染的对照细胞固定和透化,例如使用Cytofix/Cytoperm™溶液试剂盒(BD Biosciences),然后在4℃使0.5x10⁶细胞与IgG抗体一起孵育45分钟(例如,在Perm/Wash™溶液中;BD Biosciences)。在一个实施例中,测试抗体和参考抗体以10ug/ml使用。在另一个实施例中,测试抗体和参考抗体可以以如在流式细胞术测定中所确定的参考抗体的EC₅₀使用。洗涤后,使细胞与AF647缀合的山羊抗人IgG抗体(1:1000稀释度;Thermo Fisher Scientific)在4℃下一起孵育20分钟,洗涤并重悬于PBS中。通过流式细胞术评估结合的表达S-HBs的细胞的百分比和/或信号的平均荧光强度(MFI),并比较两种抗体获得的值,以百分比评估相对值。可以使用CytoFLEX流式细胞仪(Beckman Coulter)获取数据,并使用FlowJo软件(v10.3;FlowJo LLC)进行分析。

[0704] 方案3

[0705] 在使用流式细胞术评估EC₅₀的示例性方案中,用编码Ss-HBs的载体(每10⁶个细胞0.65μg质粒DNA),例如,使用前面描述的PEI沉淀法(Lorin和Mouquet,2015)转染人细胞系(例如Freestyle™ 293-F)。转染后48小时,例如使用Cytofix/Cytoperm™溶液试剂盒(BD Biosciences)将转染和未转染的对照细胞固定和透化,然后在4℃使0.5x10⁶细胞与PBS中的连续稀释的IgG抗体一起孵育45分钟(例如在Perm/Wash™溶液中;BD Biosciences)。洗涤后,使细胞与AF647缀合的山羊抗人IgG抗体(1:1000稀释度;Thermo Fisher Scientific)在4℃下一起孵育20分钟,洗涤并重悬于PBS中。通过流式细胞术评估结合的表达S-HBs的细胞的百分比或信号的平均荧光强度(MFI),并将EC₅₀确定为获得结合细胞的半最大百分比或MFI时的浓度。

[0706] 另一方面,竞争测定可用于鉴定与选自由以下各项组成的组的用于结合S-HBs的参考抗体竞争的抗体:Bc1.187、Bv4.115、Bc8.159、Bv6.172、Bc1.229、Bc8.111、Bc1.128、Bc3.106、Bc1.180、Bv4.104、Bc8.104、Bc4.204、Bc1.263和Bv4.105。在某些方面,这种竞争

性抗体与选自由以下各项组成的组的参考抗体结合的共同表位(例如,线性表位或构象表位)结合:Bc1.187、Bv4.115、Bc8.159、Bv6.172、Bc1.229、Bc8.111、Bc1.128、Bc3.106、Bc1.180、Bv4.104、Bc8.104、Bc4.204、Bc1.263和Bv4.105。用于定位抗体与之结合的表位的详细示例性方法提供于:Morris(1996)，“Epitope Mapping Protocols”，收录于Methods in Molecular Biology第66卷(Humana Press, Totowa, NJ)。

[0707] 在示例性竞争测定中,将固定的S-HBs在包含与S-HBs结合的第一标记抗体(例如,选自由以下各项组成的组的参考抗体:Bc1.187、Bv4.115、Bc8.159、Bv6.172、Bc1.229、Bc8.111、Bc1.128、Bc3.106、Bc1.180、Bv4.104、Bc8.104、Bc4.204、Bc1.263和Bv4.105)和正在测试其与第一抗体竞争结合S-HBs的能力的第二未标记抗体的溶液中孵育。该第二抗体可存在于杂交瘤上清液中。作为对照,将固定化S-HBs在包含第一标记抗体而非包含第二未标记抗体的溶液中孵育。在容许第一抗体与S-HBs结合的条件下孵育之后,去除过量未结合的抗体,并且测量与固定化S-HBs缔合的标记的量。如果相对于对照样品,测试样品中与固定化的S-HBs缔合的标记的量大幅减少,则表明该第二抗体在与该第一抗体竞争以结合到S-HBs。参见Harlow和Lane(1988)Antibodies:A Laboratory Manual第14章(Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

[0708] 另一个示例性竞争测定是竞争ELISA。纯化抗体(例如,选自由以下各项组成的组的参考抗体:Bc1.187、Bv4.115、Bc8.159、Bv6.172、Bc1.229、Bc8.111、Bc1.128、Bc3.106、Bc1.180、Bv4.104、Bc8.104、Bc4.204、Bc1.263和Bv4.105)使用EZ-Link Sulfo-NHS-Biotin试剂盒(Thermo Fisher Scientific)进行生物素化。将抗原或抗原颗粒(例如,rS-HBs)包被的板封闭、洗涤、与生物素化抗体(浓度为0.33nM)在1:2连续稀释的PBS中的抗体竞争剂溶液(IgG浓度范围为0.83至106.7nM)中孵育2小时,并使用HRP缀合的链霉亲和素使其显色。使用HydroSpeed™微孔板清洗机和Sunrise™微孔板吸光度读数器(Tecan Männedorf)进行实验,在405nm(OD405nm)处进行光密度测量。

[0709] 2. 活性测定

[0710] 在一个方面,提供用于鉴定其具有生物活性的抗S-HBs抗体的测定。生物活性可以包括例如体外或体内的中和活性和/或减少体内病毒血症的能力。还提供了在体内和/或体外具有此类生物活性的抗体。

[0711] 体外中和活性可以是抑制HBV对原代人肝细胞或人肝细胞系的感染。这可以确定为与不存在抗体相比上清液S-HBs的减少。体内中和活性可以确定为感染HBV的循环S-HBs动物(例如小鼠或人)的减少。

[0712] 病毒性病毒血症的减少可以确定为HBV感染动物(例如小鼠或人)的血清中HBV DNA的减少。

[0713] 例如,抗体可具有 $\leq 50\mu\text{g/ml}$ 、 $\leq 10\mu\text{g/ml}$ 、 $\leq 1\mu\text{g/ml}$ 、 $\leq 500\text{ng/ml}$ 、 $\leq 100\text{ng/ml}$ 、 $\leq 50\text{ng/ml}$ 、 $\leq 10\text{ng/ml}$ 、 $\leq 1\text{ng/ml}$ 、 $\leq 500\text{pg/ml}$ 、 $\leq 100\text{pg/ml}$ 、 $\leq 50\text{pg/ml}$ 、 $\leq 10\text{pg/ml}$ 或 $\leq 1\text{pg/ml}$ 的用于体外抑制特定基因型(例如基因型D)的HBV感染性的IC₅₀值。在一些实施例中,优选的抗体可以具有 $\leq 50\text{ng/ml}$ 或 $\leq 10\text{ng/ml}$ 的IC₅₀。优选抗体可以具有 $\leq 1\text{ng/ml}$ 、 $\leq 500\text{pg/ml}$ 或在一些实施例中 $\leq 100\text{pg/ml}$ 、 $\leq 50\text{pg/ml}$ 或 $\leq 10\text{pg/ml}$ 的IC₅₀。在一些实施例中,中和抗体可以具有 $\leq 1\text{pg/ml}$,任选地 $\leq 0.1\text{pg/ml}$ 的IC₅₀值。

[0714] 在另一个实施例中,抗体可以具有针对特定基因型例如基因型D的IC₅₀值,其比参

考抗体针对相同基因型的IC₅₀值高不超过50、10、9、8、7、6、5、4、3或2倍或小于或等于参考抗体针对相同基因型的IC₅₀值,其中参考抗体选自由以下项组成的组:Bc1.187、Bv4.115、Bc8.159、Bv6.172、Bc1.229、Bc8.111、Bc1.128、Bc3.106、Bc1.180、Bv4.104、Bc8.104、Bc4.204、Bc1.263和Bv4.105(当在同一体外测定中评估时)。

[0715] 在另一个实施例中,当使用同一测定(例如,如本文所述的体内测定)评估时,抗体可以具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体对特定HBV基因型的中和活性。

[0716] 在一些实施例中,本发明的抗体具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体对HBV基因型A、B、C和/或D病毒的体内中和活性,其中参考抗体选自由以下项组成的组:Bc1.187、Bv4.115、Bc8.159、Bv6.172、Bc1.229、Bc8.111、Bc1.128、Bc3.106、Bc1.180、Bv4.104、Bc8.104、Bc4.204、Bc1.263和Bv4.105。在一些实施例中,本发明的抗体具有或保留至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的参考抗体针对HBV基因型A、B、C和/或D病毒的病毒血症抑制活性,其中参考抗体选自由以下项组成的组:Bc1.187、Bv4.115、Bc8.159、Bv6.172、Bc1.229、Bc8.111、Bc1.128、Bc3.106、Bc1.180、Bv4.104、Bc8.104、Bc4.204、Bc1.263和Bv4.105。

[0717] 在某些方面中,测试本发明的抗体的此类生物活性。

[0718] 下面将示例性的体外中和测定描述为方案4。下面将示例性的体内中和测定描述为方案5。方案6中描述了病毒血症抑制的示例性测定。

[0719] 在评估相对活性时,应使用相同的方法测试抗体。两种抗体都可以被评估为IgG:在这样的实施例中,参考抗体将具有本文提供的所述参考抗体的全长序列。包含如本文定义的VH和VL结构域(例如,包含作为参考抗体的VH和/或VL结构域的变体的VH和/或VL结构域)的测试抗体的结合活性可以以包含参考抗体的恒定结构域和铰链序列的IgG形式评估。

[0720] 方案4(用于评估体外中和的IC₅₀值)

[0721] 在示例性方案中,通过在室温下使HBV病毒粒子(MOI 20-30)与连续稀释的测试抗体孵育1小时来评估HBV抗体的体外中和活性。然后将HBV抗体混合物添加到96孔板中的肝细胞中,最终浓度为4% PEG 8000 (Sigma)。受感染的细胞在37℃下孵育20小时,然后用PBS洗涤4次以去除HBV接种物并重新填充完全培养基。感染后6天,例如,根据制造商的说明使用S-HBs CLIA试剂盒(Autobio)量化上清液中的S-HBs抗原含量。中和活性被确定为与不存在抗体的对照相比上清液S-HBs的减少。IC₅₀值是半数最大抑制浓度,测量感染性的抑制。

[0722] 细胞可以是原代人肝细胞或人肝细胞系。可用于方案的示例性肝细胞是可从PhoenixBio(Hiroshima,Japan)获得的、通过胶原酶灌注法(Tateno等人,2015)从具有人源化肝脏的嵌合uPA/SCID小鼠中分离的原代人肝细胞(PHH)。其他示例性肝细胞是可从Biopredic International(Saint-Gregoire,France)获得的HepaRG细胞系。

[0723] 方案5(用于评估体内中和活性)

[0724] 在用于评估体内中和活性的示例性方案中,在用0.5mg的测试抗体静脉内治疗一次的经AAV-HBV转导的小鼠中监测循环血液S-HBs水平。通过ELISA测量循环血液S-HBs。中和活性被确定为在最低点处循环血液S-HBs量的减少(最大减少)。

[0725] 方案6(用于评估体内病毒血症抑制)

[0726] 选择携带高水平的循环S-HBsAg(>10⁴IU/ml)的AAV-HBV小鼠作为受试者。以20mg/

kg单次静脉内(i.v.)注射测试抗体。使用QIAamp Blood Mini试剂盒(Qiagen,Germany)从小鼠血清中纯化HBV DNA,并如前所述通过定量PCR进行定量(Cougot等人,2012)。通过评估最低点(最大减少)处的HBV DNA的量来确定病毒血症抑制活性。

[0727] D.用于诊断和检测的方法和组合物

[0728] 在某些方面,本文提供的抗S-HBs抗体中的任一种可用于检测生物样品中S-HBs的存在。如本文所用的术语“检测”涵盖定量或定性检测。在某些方面,生物样品包括血液、血浆或血清样品。

[0729] 在一个方面,提供了用于诊断或检测方法中的抗S-HBs抗体。在另一方面,提供了检测生物样品中S-HBs的存在的方法。在某些方面中,该方法包括在允许抗S-HBs抗体和S-HBs两者结合的条件下使生物样品与抗S-HBs抗体接触,以及检测是否在抗S-HBs抗体与S-HBs之间形成了复合物。此类方法可以是体外或体内方法。在一个方面中,抗S-HBs抗体用于选择能够用抗S-HBs抗体进行治疗的受试者,例如其中S-HBs是用于选择患者的生物标志物。

[0730] 可以使用本发明的抗体诊断的示例性疾患包括乙型肝炎,例如慢性乙型肝炎。

[0731] 在某些方面中,提供了标记的抗S-HBs抗体。标记包括但不限于直接检测的标记或部分(诸如荧光标记、发色标记、电子致密标记、化学发光标记,以及放射性标记),以及间接(例如通过酶促反应或分子相互作用)检测的部分(诸如酶或配体)。示例性标记包括但不限于放射性同位素³²P、¹⁴C、¹²⁵I、³H和¹³¹I;荧光团,诸如稀土螯合物或荧光素及其衍生物、罗丹明及其衍生物、丹酰、伞形酮;荧光素酶(luciferase),例如萤火虫荧光素酶和细菌荧光素酶(美国专利号4,737,456);虫荧光素、2,3-二氢二氮杂萘二酮、辣根过氧化物酶(HRP)、碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶、葡糖淀粉酶、溶菌酶;糖氧化酶,例如葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶;杂环氧化酶,诸如尿酸氧化酶和黄嘌呤氧化酶;与采用过氧化氢来氧化染料前体的酶(诸如HRP、乳过氧化物酶,或微过氧化物酶)偶联;生物素/抗生物素蛋白、纺丝标记、噬菌体标记、稳定自由基,等等。

[0732] E.药物组合物

[0733] 在其他方面,提供了包含本文提供的任一种抗体的药物组合物,其例如用于以下任一种治疗方法中。在一个方面,药物组合物包含本文所提供的抗体中的任一者,以及药用载体。在另一方面,药物组合物包含任一种本文提供的抗体和例如如下所述的至少一种另外的治疗剂。

[0734] 本文所述的抗S-HBs抗体的药物组合物通过将此类具有所需纯度的抗体与一种或多种任选的药用载体混合(Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol,A.Ed.(1980)),制成冻干组合物或水溶液的形式。药用载体在所用的剂量和浓度下对受治疗者一般无毒,并且包括但不限于:缓冲剂,诸如组氨酸、磷酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和蛋氨酸;防腐剂(诸如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六甲双铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁醇或苄醇;对羟基苯甲酸烷基酯,诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,诸如EDTA;糖,诸如蔗糖、甘露醇、海藻

糖或山梨糖醇;成盐抗衡离子,诸如钠;金属络合物(例如锌蛋白络合物);和/或非离子表面活性剂,诸如聚乙二醇(PEG)。本文的示例性药用载体还包括间质药物分散剂,诸如可溶性活性透明质酸酶糖蛋白(sHASEGP),例如人可溶性PH-20透明质酸酶糖蛋白,诸如rHuPH20(HYLENEX[®], Halozyme, Inc.)。某些示例性sHASEGP和使用方法(包括rHuPH20)描述于美国专利公布号2005/0260186和2006/0104968中。在一个方面中,将sHASEGP与一种或多种另外的糖胺聚糖酶(诸如软骨素酶)组合。

[0735] 示例性的冻干抗体组合物描述于美国专利号6,267,958中。水性抗体组合物包括在美国专利号6,171,586和WO 2006/044908中描述的那些,后者中的组合物包含组氨酸-乙酸盐缓冲剂。

[0736] 本文的药物组合物还可以含有多于一种对于所治疗的特定适应症期望的活性成分,优选地是具有不会对彼此造成不利影响的互补活性的那些活性成分。例如,可能需要进一步提供一种或多种选自以下各项的另外的治疗剂:抗病毒药物,诸如核苷酸类似物逆转录酶抑制剂或核苷类似物,例如恩替卡韦、富马酸替诺福韦二吡呋酯、替诺福韦艾拉酚胺、拉米夫定、阿德福韦或替比夫定;靶向HBV序列的siRNA;旨在恢复宿主先天性和适应性免疫应答的药剂,例如,INF α 或聚乙二醇化的INF α ;治疗性疫苗,诸如GS-4774、ABX-203、TG-1050、INO-1800;TLR激动剂,诸如抗TLR抗体、脂肽、脂多糖、Poly I:C(聚肌胞苷酸)、Poly ICLC(Poly I:C-聚-L-赖氨酸)、咪喹莫特、GSK2245035、GSK2445053、R06864018、R07020531、GS-9620、GS-9688、852A(合成咪喹莫特模拟病毒ssRNA)、瑞喹莫德、VTX-2337(小分子选择性TLR8激动剂模拟病毒ssRNA)、Bacillus Calmette-Guérin(BCG)、MPL(单磷酸脂质A)和/或CpG寡核苷酸;和/或检查点抑制剂,诸如抗体(例如拮抗剂或阻断抗体),例如靶向CTLA4(例如伊匹木单抗、曲美木单抗)、PD-1(例如纳武单抗、匹利组单抗)、PD-L1(例如MPDL3280A、MEDI4736、MSB0010718C)、TIM-3、2B4、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、IDO、KIR、LAG3、NOX2、VISTA、SIGLEC7或SIGLEC9(Fanning等人,2019;Gehring和Protzer,2019;Maini和Burton,2019)。此类活性成分适当地以对预期目的有效的量组合存在。

[0737] 活性成分可以包埋在例如通过凝聚技术或通过界面聚合而制备的微胶囊(例如分别为羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊)中;包埋在胶体药物递送系统(例如,脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米粒子和纳米胶囊)中;或包埋在粗乳液中。此类技术公开于Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol,A.编(1980)中。

[0738] 可以制备用于缓释的药物组合物。缓释制剂的合适实例包括含有抗体的固态疏水聚合物的半透性基质,这些基质是例如膜或微胶囊等成型制品的形式。

[0739] 用于体内施用的药物组合物通常是无菌的。例如,无菌可以通过无菌过滤膜过滤而容易地实现。

[0740] F. 治疗方法和施用途径

[0741] 本文提供的任何S-HBs抗体可用于治疗方法。

[0742] 在一个方面,提供一种用作药物的抗S-HBs抗体。在其他方面,提供了用于治疗乙型肝炎的抗S-HBs抗体,例如用于治疗慢性乙型肝炎病毒感染。在某些方面中,提供一种用于治疗方法中的抗S-HBs抗体。在某些方面,本发明提供了抗S-HBs抗体以用于治疗患有乙型肝炎例如慢性乙型肝炎病毒感染的个体的方法中,该方法包括向该个体施用有效量的抗S-HBs抗体。在一个这样的方面,例如如下所描述的,该方法进一步包括向个体施用有效量

的至少一种另外的治疗剂(例如,一种、两种、三种、四种、五种或六种另外的治疗剂)。在另一方面,本发明提供了用于降低乙型肝炎病毒载量、降低可检测的血清HBsAg或提供HBV功能性治愈的抗S-HBs抗体。在某些方面,本发明提供了一种抗S-HBs抗体,用于在个体中降低乙型肝炎病毒载量、降低可检测的血清HBsAg或提供HBV功能性治愈的方法,包括向个体施用有效量的抗S-HBs抗体以降低病毒载量、降低可检测的血清HBsAg或提供HBV功能性治愈。HBV功能性治愈是指乙型肝炎表面抗原(HBsAg)的血清清除,即血清中没有可检测到的HBsAg。根据上述方面中的任一者的“个体”优选地是人。

[0743] 在另一方面,本发明提供抗S-HBs抗体在制造或制备药物中的用途。在一个方面,该药物用于治疗乙型肝炎,例如慢性乙型肝炎。在进一步的方面,该药物用于治疗乙型肝炎,例如慢性乙型肝炎的方法中,包括向患有所述病况的个体施用有效量的药物。在一个这样的方面,例如如下所描述的,该方法进一步包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂。在另一方面,该药物用于降低乙型肝炎病毒载量、降低可检测的血清HBsAg或提供HBV功能性治愈。在另一方面,该药物用于在个体中降低乙型肝炎病毒载量、降低可检测的血清HBsAg或提供HBV功能性治愈的方法,包括向个体施用有效量的药物以降低病毒载量、降低可检测血清HBsAg或提供HBV功能性治愈。根据上述方面中的任一方面的“个体”可以是人。

[0744] 在另一方面,本发明提供了一种治疗乙型肝炎,例如慢性乙型肝炎的方法。在一个方面,该方法包括向患有乙型肝炎,例如慢性乙型肝炎的个体施用有效量的抗S-HBs抗体。在一个这样的方面,如下所描述的,该方法进一步包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂。

[0745] 根据上述方面中的任一方面的“个体”可以是人。

[0746] 在另一方面,本发明提供一种用于降低乙型肝炎病毒载量、降低可检测的血清HBsAg或提供HBV功能性治愈的方法。一方面,该方法包括向个体施用有效量的抗S-HBs抗体以降低病毒载量/降低可检测的血清HBsAg/提供功能性治愈。在一个方面,“个体”是人。

[0747] 在另一方面,本发明提供了包含本文提供的任一种抗S-HBs抗体的药物组合物,其例如用于上述任一种治疗方法中。在一个方面中,药物组合物包含本文提供的任一种抗S-HBs抗体以及药用载体。在另一方面,药物组合物包含本文提供的任一种抗S-HBs抗体和例如如下所述的至少一种另外的治疗剂。

[0748] 本发明的抗体可以单独施用或用于组合疗法。例如,该组合疗法包括施用本发明的抗体并且施用至少一种另外的治疗剂(例如,一种、两种、三种、四种、五种或六种另外的治疗剂)。在某些方面,联合疗法包括施用本发明的抗体和施用至少一种另外的治疗剂,诸如:抗病毒药物,诸如核苷酸类似物逆转录酶抑制剂或核苷类似物,例如,恩替卡韦、富马酸替诺福韦二吡呋酯、替诺福韦艾拉酚胺、拉米夫定、阿德福韦或替比夫定;靶向HBV序列的siRNA;旨在恢复宿主先天性和适应性免疫应答的药剂,例如,INF α 或聚乙二醇化的INF α ;治疗性疫苗,诸如GS-4774、ABX-203、TG-1050、INO-1800;TLR激动剂,诸如抗TLR抗体、脂肽、脂多糖、Poly I:C(聚肌胞苷酸)、Poly ICLC(Poly I:C-聚-L-赖氨酸)、咪喹莫特、GSK2245035、GSK2445053、R06864018、R07020531、GS-9620、GS-9688、852A(合成咪喹莫特模拟病毒ssRNA)、瑞喹莫德、VTX-2337(小分子选择性TLR8激动剂模拟病毒ssRNA)、Bacillus Calmette-Guérin (BCG)、MPL(单磷酸脂质A)和/或CpG寡核苷酸;和/或检查点抑制剂,诸如抗体(例如拮抗剂或阻断抗体),例如靶向CTLA4(例如伊匹木单抗、曲美木单抗)、PD-1(例如

纳武单抗、匹利组单抗)、PD-L1 (例如MPDL3280A、MEDI4736、MSB0010718C)、TIM-3、2B4、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、IDO、KIR、LAG3、NOX2、VISTA、SIGLEC7或SIGLEC9 (Fanning等人, 2019; Gehring和Protzer, 2019; Maini和Burton, 2019)。

[0749] 上述此类组合疗法涵盖组合施用(其中两种或更多种治疗剂包括在相同或单独的藥物组合物中)和单独施用,在单独施用的情况下,本发明的抗体的施用可以在施用另外的治疗剂或药剂之前、同时和/或之后进行。在一个方面中,抗S-HBs抗体的施用和另外的治疗剂的施用在彼此相距约一个月内,或在约一周、两周或三周内,或在约一天、二天、三天、四天、五天或六天之内进行。在一个方面,在治疗的第1天将抗体和另外的治疗剂施用于患者。

[0750] 本发明的抗体(和任何另外的治疗剂)可以通过任何合适的方式施用,包括肠胃外、肺内和鼻内,并且如果需要的话用于局部治疗、病灶内施用。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。给药可以通过任何合适的途径进行,例如通过注射,诸如静脉内或皮下注射,部分取决于施用是短暂的还是长期的。本文考虑了各种给药时间安排,包括但不限于在各个时间点处的单次或多次施用、推注施用,以及脉冲输注。

[0751] 本发明的抗体将以符合良好医学实践的方式配制、给药和施用。在这种情况下需要考虑的因素包括所治疗的特定疾患、所治疗的特定哺乳动物、个体患者的临床病症、疾患的原因、药剂的递送部位、施用方法、施用的时间安排,以及执业医师已知的其他因素。该抗体不是必须的,而是任选地与一种或多种目前用于预防或治疗所讨论的疾患的制剂共同配制。这些其他制剂的有效量取决于药物组合物中存在的抗体的量、疾患或治疗的类型以及上面讨论的其他因素。这些通常以与本文所述相同的剂量和施用途径使用,或以本文所述剂量的约1%至99%使用,或以任何剂量且通过经验/临床上确定为合适的任何途径使用。

[0752] 为了预防或治疗疾病,本发明的抗体的适当剂量(当单独使用或与一种或多种其他另外治疗剂组合使用时)将取决于待治疗的疾病类型、抗体的类型、疾病的严重程度和病程、施用分子用于预防还是治疗目的、患者的病史和对抗体的应答以及主治医师的酌处权。抗体适当地一次或在一系列治疗中施用于患者。取决于疾病的类型和严重性,约1 μ g/kg至15mg/kg (例如0.1mg/kg--10mg/kg)的抗体可以是例如通过一次或多次单独施用或通过连续输注而施用于患者的初始候选剂量。取决于上述因素,一种典型的日剂量的范围可以为约1 μ g/kg至100mg/kg或更多。对于数天或更长时间的重复施用,取决于病症,治疗通常会持续直至发生期望的疾病症状抑制。抗体的一种示例性剂量的范围为约0.05mg/kg至约10mg/kg。因此,可以向患者施用约0.5mg/kg、2.0mg/kg、4.0mg/kg或10mg/kg (或它们的任何组合)的一种或多种剂量。此类剂量可以间歇施用,例如每周或每三周施用(例如,使得患者接受约两次至约二十次,或例如约六次剂量的抗体)。可施用初始更高负荷剂量,然后施用一次或多次更低剂量。这种疗法的进展易于通过常规的技术和测定法来监测。

[0753] G. 制品

[0754] 在本发明的另一个方面中,提供了一种制品,其含有可用于治疗、预防和/或诊断上述病症的物质。该制品包括容器和在该容器上或与该容器相关的标签或包装说明书。合适的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、IV溶液袋等。该容器可以由诸如玻璃或塑料等多种材料形成。该容器容纳组合物,该组合物本身或与另一种组合物组合能够有效地治疗、预防和/或诊断病症,并且该容器可以具有无菌入口(例如,该容器可以是静脉内溶液袋或具有可由皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。组合物中的至少一种活性剂是本发明的抗体。标签

或包装插页指示该组合物用于治疗所选择的病症。此外,该制品可包括(a)第一容器,该第一容器中含有包含本发明的抗体的组合物;以及(b)第二容器,该第二容器中含有包含另外的细胞毒性剂或其他治疗剂组合物。本发明该方面中的制品还可包含包装插页,该包装插页指示该组合物可用于治疗特定病症。可替代地或另外地,该制品还可包括第二(或第三)容器,该第二(或第三)容器包括药用缓冲液,诸如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液和葡萄糖溶液。该制品可以还包括从商业和用户角度来看所需的其他物质,包括其他缓冲剂、稀释剂、过滤器、针头和注射器。

[0755] 序列

[0756] 下表括号中显示的氨基酸可以存在或不存在。

[0757]

SEQ ID NO	说明	序列
1	Bc1.187 CDR-H1	NYGMQ
2	Bc1.187 CDR-H2	IIWADGTKQYYGDSVKG
3	Bc1.187 CDR-H3	DGLYASAPNDV
4	Bc1.187 CDR-L1	RASQRISTYLN
5	Bc1.187-CDR-L2	GASSLQS
6	Bc1.187 CDR-L3	QQTYTLPPN
7	Bc1.187 H-FW1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCEASGFTFS
8	Bc1.187 H-FW2	WVRQAPGKGLEWVA

[0758]

9	Bc1.187 H-FW3	FTISRDNFKNTLYLQMNSLRGEDTAMYFCAR
10	Bc1.187 H-FW4	WGQGLTVTVSS
11	Bc1.187 L-FW1	DIQMTQSPSSLSAYVGDRVITC
12	Bc1.187 L-FW2	WYHQRPGKSPSLIY
13	Bc1.187 L-FW3	GVPSRFSASASGTDFTLTISLRPEDLGTYYC
14	Bc1.187 L-FW4	SGGGTKVEIK
15	Bc1.187 VL	DIQMTQSPSSLSAYVGDRVITICRASQRISTYLNWYH QRPKGKPSLLIYGASSLQSGVPSRFSASASGTDFTLTIS SLRPEDLGTYYCQQTYTLPPNSGGGKVEIK
16	Bc1.187 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCEASGFTFSNYGMQ WVRQAPGKGLEWVAIIWADGTKQYYGDSVKGRFTI SRDNFKNTLYLQMNSLRGEDTAMYFCARDGLYASA PNDVWGQGLTVTVSS
17	Bc1.187 全长轻 链	DIQMTQSPSSLSAYVGDRVITICRASQRISTYLNWYH QRPKGKPSLLIYGASSLQSGVPSRFSASASGTDFTLTIS SLRPEDLGTYYCQQTYTLPPNSGGGKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
18	Bc1.187 全长重 链	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCEASGFTFSNYGMQ WVRQAPGKGLEWVAIIWADGTKQYYGDSVKGRFTI SRDNFKNTLYLQMNSLRGEDTAMYFCARDGLYASA PNDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAK(G)QPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
19	Bc1.180 CDR-H1	RSAVS
20	Bc1.180 CDR-H2	RTIPLLRIAEYSQTFQG
21	Bc1.180 CDR-H3	EGDGLDM
22	Bc1.180 CDR-L1	RASQSVTSNYFA
23	Bc1.180-CDR-L2	GASSRAT
24	Bc1.180 CDR-L3	QQFGSLPYT
25	Bc1.180 H-FW1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFG

[0759]

26	Bc1.180 H-FW2	WVRHAPGQRLEWMG
27	Bc1.180 H-FW3	RVTITADKFTNTVYMELRSLTYEDTAVYYCAR
28	Bc1.180 H-FW4	WGQGTMTVTVSS
29	Bc1.180 L-FW1	EIVLTQSPGTLSPGNRATLSC
30	Bc1.180 L-FW2	WYQHKPGQAPRVLIY
31	Bc1.180 L-FW3	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC
32	Bc1.180 L-FW4	FGQGTKLEIK
33	Bc1.180 VL	EIVLTQSPGTLSPGNRATLSCRASQSVTSNYFAWY QHKPGQAPRVLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQFGSLPYTFGGQGTKLEIK
34	Bc1.180 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFGRSAVS WVRHAPGQRLEWMGRITPLLRISAEYSQTFQGRVTIT ADKFTNTVYMELRSLTYEDTAVYYCAREGDGLDM WGQGTMTVTVSS
35	Bc1.180 全长轻 链	EIVLTQSPGTLSPGNRATLSCRASQSVTSNYFAWY QHKPGQAPRVLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQFGSLPYTFGGQGTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
36	Bc1.180 全长重 链	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFGRSAVS WVRHAPGQRLEWMGRITPLLRISAEYSQTFQGRVTIT ADKFTNTVYMELRSLTYEDTAVYYCAREGDGLDM WGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAK(G)QPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSGFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
37	Bc3.106 CDR-H1	SYAMS
38	Bc3.106 CDR-H2	AFSGTGGSTYYADSVKG
39	Bc3.106 CDR-H3	DPGHTSNWRDNYQYYQMDV
40	Bc3.106 CDR-L1	RASQGIRNDLG
41	Bc3.106-CDR-L2	AASSLQS
42	Bc3.106 CDR-L3	LQHNSYPRT

[0760]

43	Bc3.106 H-FW1	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFG
44	Bc3.106 H-FW2	WVRQAPGKGLKWVS
45	Bc3.106 H-FW3	RFTISRDN SKNTLYLQMNNLRAEDTAVYFCAK
46	Bc3.106 H-FW4	WGQGTTVTVSS
47	Bc3.106 L-FW1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
48	Bc3.106 L-FW2	WYQQKPGKAPKRLIY
49	Bc3.106 L-FW3	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC
50	Bc3.106 L-FW4	FGQGTKVEIK
51	Bc3.106 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQ QKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKVEIK
52	Bc3.106 VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFGSYAMSW VRQAPGKGLKWVSASFSGTGGSTYYADSVKGRFTISR DN SKNTLYLQMNNLRAEDTAVYFCAKDPGHTSNWR DNYQYYQMDVWGQGTTVTVSS
53	Bc3.106 全长轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQ QKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC
54	Bc3.106 全长重链	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFGSYAMSW VRQAPGKGLKWVSASFSGTGGSTYYADSVKGRFTISR DN SKNTLYLQMNNLRAEDTAVYFCAKDPGHTSNWR DNYQYYQMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK(G)QPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
55	Bv4.104 CDR-H1	GYGMH
56	Bv4.104 CDR-H2	FLWHDGTSKDYADSVKG
57	Bv4.104 CDR-H3	EDYYDSNAFDY
58	Bv4.104 CDR-L1	TGTSSDVGNYSVS
59	Bv4.104-CDR-L2	EGTQRPS

[0761]

60	Bv4.104 CDR-L3	CSYAGSSTWL
61	Bv4.104 H-FW1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS
62	Bv4.104 H-FW2	WVRQAPGKGLEWVA
63	Bv4.104 H-FW3	RFTISRDNSKNTLYMQMNSLRAEDTAVYYCAR
64	Bv4.104 H-FW4	WGQGTLLTVSS
65	Bv4.104 L-FW1	QSALTQPASVSGSPGQSITISC
66	Bv4.104 L-FW2	WYQHHPGKAPKFMIY
67	Bv4.104 L-FW3	GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAHYYC
68	Bv4.104 L-FW4	FGGGTKLTVL
69	Bv4.104 VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGNYSKSVSW YQHHPGKAPKFMIYEGTQRPSGVSNRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEAHYYCCSYAGSSTWLFGGGTKLTV L
70	Bv4.104 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSGYGMH WVRQAPGKGLEWVAFLWHDGTSKDYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYMQMNSLRAEDTAVYYCAREDDYDSN AFDYWGQGTLLTVSS
71	Bv4.104 全长轻 链	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGNYSKSVSW YQHHPGKAPKFMIYEGTQRPSGVSNRFSGSKSGNTA SLTISGLQAEDEAHYYCCSYAGSSTWLFGGGTKLTV LGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPG AVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSY LSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
72	Bv4.104 全长重 链	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSGYGMH WVRQAPGKGLEWVAFLWHDGTSKDYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYMQMNSLRAEDTAVYYCAREDDYDSN AFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAK(G)QPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
73	Bc8.111 CDR-H1	RYAMS
74	Bc8.111 CDR-H2	ATSGSGADTYADSVKG
75	Bc8.111 CDR-H3	PYMVA AVARTVDY

[0762]

76	Bc8.111 CDR-L1	TRSSGSIASNYVQ
77	Bc8.111-CDR-L2	EDNERPS
78	Bc8.111 CDR-L3	QSYESSNWV
79	Bc8.111 H-FW1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS
80	Bc8.111 H-FW2	WVRQAPGKGLEWVS
81	Bc8.111 H-FW3	RFTISRDN SKNTVYLQMNSLRADDTAFYYCAK
82	Bc8.111 H-FW4	WGQGTLVTVSS
83	Bc8.111 L-FW1	QSVLTQPHSVSESPGKTVTISC
84	Bc8.111 L-FW2	WYQQRPGSAPTTVIY
85	Bc8.111 L-FW3	GVPARFSGSIDSSNSASLTISGLKTEDEADYYC
86	Bc8.111 L-FW4	FGGGTKLTVL
87	Bc8.111 VL	QSVLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQWY QQRPGSAPTTVIYEDNERPSGVPARFSGSIDSSNSAS LTISGLKTEDEADYYCQSYESSNWVFGGGTKLTVL
88	Bc8.111 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSW VRQAPGKGLEWVSATSGSGADTYADSVKGRFTISR DN SKNTVYLQMNSLRADDTAFYYCAKDPYMVA AV ARTVDYWGQGTLVTVSS
89	Bc8.111 全长轻 链	QSVLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQWY QQRPGSAPTTVIYEDNERPSGVPARFSGSIDSSNSAS LTISGLKTEDEADYYCQSYESSNWVFGGGTKLTVLG QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAV TVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSL TPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
90	Bc8.111 全长重 链	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSW VRQAPGKGLEWVSATSGSGADTYADSVKGRFTISR DN SKNTVYLQMNSLRADDTAFYYCAKDPYMVA AV ARTVDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK(G)QPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
91	Bc8.104 CDR-H1	NYGVT
92	Bc8.104 CDR-H2	GIPIFGTTNYAQKFLG

[0763]

93	Bc8.104 CDR-H3	QGSSTWFATLYAFPI
94	Bc8.104 CDR-L1	RASQRVSGNYLA
95	Bc8.104-CDR-L2	GASSRAT
96	Bc8.104 CDR-L3	HQYGSSPPT
97	Bc8.104 H-FW1	QVQLVQSGAEVKKAGSSVKVSCAFAFGGTSN
98	Bc8.104 H-FW2	WVRQAPGQGLQWMG
99	Bc8.104 H-FW3	RVTITADKSTRTAYMELSSLRSEDTAVYYCAS
100	Bc8.104 H-FW4	WGQGTMTVTVSS
101	Bc8.104 L-FW1	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC
102	Bc8.104 L-FW2	WYQQKVGQAPRLLIY
103	Bc8.104 L-FW3	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLQPEDFAVYSC
104	Bc8.104 L-FW4	FGQGTKVEIK
105	Bc8.104 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSGNYLAWY QQKVGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLQPEDFAVYSCHQYGSSPPTFGQGTKVEIK
106	Bc8.104 VH	QVQLVQSGAEVKKAGSSVKVSCAFAFGGTSNNYGVT WVRQAPGQGLQWMGGIPIFGTTNYAQKFLGRVTIT ADKSTRTAYMELSSLRSEDTAVYYCASQGSSTWFAT LYAFPIWGQGTMTVTVSS
107	Bc8.104 全长轻 链	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSGNYLAWY QQKVGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLQPEDFAVYSCHQYGSSPPTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
108	Bc8.104 全长重 链	QVQLVQSGAEVKKAGSSVKVSCAFAFGGTSNNYGVT WVRQAPGQGLQWMGGIPIFGTTNYAQKFLGRVTIT ADKSTRTAYMELSSLRSEDTAVYYCASQGSSTWFAT LYAFPIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK(G)QPREPVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
109	Bv6.172 CDR-H1	NYWIT

[0764]

110	Bv6.172 CDR-H2	RIDTRDSYTNYSFSFQG
111	Bv6.172 CDR-H3	LSTTYPLNYYGMDV
112	Bv6.172 CDR-L1	TGSSSNIGANYDVN
113	Bv6.172-CDR-L2	GNTNRPS
114	Bv6.172 CDR-L3	QSYDTSLSGWV
115	Bv6.172 H-FW1	EVQLVQSGAAVRKPGESLRISCQASGFSFT
116	Bv6.172 H-FW2	WVRQRPKGKGLEWMG
117	Bv6.172 H-FW3	HVTISIDRSINTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR
118	Bv6.172 H-FW4	WGQGTTVTVSS
119	Bv6.172 L-FW1	QSVLTQPPSVSGTPGQRVTISC
120	Bv6.172 L-FW2	WYQQLPGTAPKVLII
121	Bv6.172 L-FW3	GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC
122	Bv6.172 L-FW4	FGGGTKLTVL
123	Bv6.172 VL	QSVLTQPPSVSGTPGQRVTISCTGSSSNIGANYDVNW YQQLPGTAPKVLIIYGNTNRPSGVPDRFSGSKSGTSAS LAITGLQAEDEADYYCQSYDTSLSGWVFGGGTKLTV L
124	Bv6.172 VH	EVQLVQSGAAVRKPGESLRISCQASGFSFTNYWITW VRQRPKGKGLEWMGRIDTRDSYTNYSFSFQGHVTISID RSINTAYLQWSSLKASDTAMYYCARLSTTYPLNYYG MDVWGQGTTVTVSS
125	Bv6.172 全长轻 链	QSVLTQPPSVSGTPGQRVTISCTGSSSNIGANYDVNW YQQLPGTAPKVLIIYGNTNRPSGVPDRFSGSKSGTSAS LAITGLQAEDEADYYCQSYDTSLSGWVFGGGTKLTV LGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPG AVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSY LSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
126	Bv6.172 全长重 链	EVQLVQSGAAVRKPGESLRISCQASGFSFTNYWITW VRQRPKGKGLEWMGRIDTRDSYTNYSFSFQGHVTISID RSINTAYLQWSSLKASDTAMYYCARLSTTYPLNYYG MDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAK(G)QPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV

[0765]

		MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
127	Bv4.115 CDR-H1	NYHIH
128	Bv4.115 CDR-H2	IINPRRLSTAYAPKFQG
129	Bv4.115 CDR-H3	DAGDDTSGPFDS
130	Bv4.115 CDR-L1	RASQSINTWLA
131	Bv4.115-CDR-L2	KASSLES
132	Bv4.115 CDR-L3	QQYNTFS
133	Bv4.115 H-FW1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCRSSGYRFT
134	Bv4.115 H-FW2	WVRQAPGQGLEWVG
135	Bv4.115 H-FW3	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSDDTAVYYCAR
136	Bv4.115 H-FW4	WGQGTLVTVSS
137	Bv4.115 L-FW1	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC
138	Bv4.115 L-FW2	WYQQKPGKAPKLLIS
139	Bv4.115 L-FW3	GVPSRFSGSGSGTEFTLSISLQPDDFATYYC
140	Bv4.115 L-FW4	FGQGTKLEIK
141	Bv4.115 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSINTWLAWYQ QKPGKAPKLLISKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLSIS SLQPDDFATYYCQQYNTFSFGQGTKLEIK
142	Bv4.115 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCRSSGYRFTNYHIHW VRQAPGQGLEWVGIIINPRRLSTAYAPKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSDDTAVYYCARDAGDDTSGPF DSWGQGTLVTVSS
143	Bv4.115 全长轻 链	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSINTWLAWYQ QKPGKAPKLLISKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLSIS SLQPDDFATYYCQQYNTFSFGQGTKLEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
144	Bv4.115 全长重 链	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCRSSGYRFTNYHIHW VRQAPGQGLEWVGIIINPRRLSTAYAPKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSDDTAVYYCARDAGDDTSGPF DSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAK(G)QPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT

[0766]

		PPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
145	Bc1.229 CDR-H1	NYGMH
146	Bc1.229 CDR-H2	VIWNDGSNKYYADSVKG
147	Bc1.229 CDR-H3	EGLTSVTMLDS
148	Bc1.229 CDR-L1	RASQYISSFLN
149	Bc1.229-CDR-L2	VASSLQS
150	Bc1.229 CDR-L3	QQSYSTPLFT
151	Bc1.229 H-FW1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRVSCAASGFTFS
152	Bc1.229 H-FW2	WVRQAPGKGLEWLA
153	Bc1.229 H-FW3	RFIISRDNSKNTLYLQMNSLGAEDTAMYYCAR
154	Bc1.229 H-FW4	WGQGALVTVSS
155	Bc1.229 L-FW1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
156	Bc1.229 L-FW2	WYQQKPGKAPKLLIH
157	Bc1.229 L-FW3	GVPSRFSGSGSGTHFTLTISLQPEDFATYYC
158	Bc1.229 L-FW4	FGPGTKVDIK
159	Bc1.229 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYISSFLNHWYQ QKPGKAPKLLIHVASSLQSGVPSRFSGSGSGTHFTLT ISLQPEDFATYYCQQSYSTPLFTFGPGTKVDIK
160	Bc1.229 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRVSCAASGFTFSNYGMH WVRQAPGKGLEWLAVIWNDGSNKYYADSVKGRFII SRDNSKNTLYLQMNSLGAEDTAMYYCAREGLTSVT MLDSWGQGALVTVSS
161	Bc1.229 全长轻 链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYISSFLNHWYQ QKPGKAPKLLIHVASSLQSGVPSRFSGSGSGTHFTLT ISLQPEDFATYYCQQSYSTPLFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
162	Bc1.229 全长重 链	QVQLVESGGGVVQPGRSLRVSCAASGFTFSNYGMH WVRQAPGKGLEWLAVIWNDGSNKYYADSVKGRFII SRDNSKNTLYLQMNSLGAEDTAMYYCAREGLTSVT MLDSWGQGALVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAK(G)QPREPQVYTLPPS

[0767]

		RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
163	Bc8.159 CDR-H1	TNNWWS
164	Bc8.159 CDR-H2	EHHIGSTNYPNPSLKS
165	Bc8.159 CDR-H3	GRLGITRDRYYFDS
166	Bc8.159 CDR-L1	QASQDISNYLN
167	Bc8.159-CDR-L2	DTSSLER
168	Bc8.159 CDR-L3	QQYYNLPHT
169	Bc8.159 H-FW1	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGTIR
170	Bc8.159 H-FW2	WVRQPPGKGLEWIG
171	Bc8.159 H-FW3	QVTISVDKSKNQFSLNLSSVTAADTALYYCVR
172	Bc8.159 H-FW4	WGRGTLVTVSS
173	Bc8.159 L-FW1	DIQMTQSPSPLSVSVGDRVTITC
174	Bc8.159 L-FW2	WYQQKPGQAPKLLIY
175	Bc8.159 L-FW3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDATYHC
176	Bc8.159 L-FW4	FGQGTKLEIK
177	Bc8.159 VL	DIQMTQSPSPLSVSVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQ QKPGQAPKLLIYDTSSLERGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISLQPEDATYHCQQYYNLPHTFGQGTKLEIK
178	Bc8.159 VH	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGTIRTNNWWS WVRQPPGKGLEWIGIEHHIGSTNYPNPSLKSQVTISVD KSKNQFSLNLSSVTAADTALYYCVRGRLGITRDRYY FDSWGRGTLVTVSS
179	Bc8.159 全长轻 链	DIQMTQSPSPLSVSVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQ QKPGQAPKLLIYDTSSLERGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISLQPEDATYHCQQYYNLPHTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
180	Bc8.159 全长重 链	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGTIRTNNWWS WVRQPPGKGLEWIGIEHHIGSTNYPNPSLKSQVTISVD KSKNQFSLNLSSVTAADTALYYCVRGRLGITRDRYY FDSWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC

[0768]

		KVSNKALPAPIEKTISKAK(G)QPREPVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
181	Bc1.128 CDR-H1	NYGMH
182	Bc1.128 CDR-H2	FTIYDGSHKYYADSVKG
183	Bc1.128 CDR-H3	DSNGFGVLS
184	Bc1.128 CDR-L1	RASQGIRSDLG
185	Bc1.128-CDR-L2	GASNLQR
186	Bc1.128 CDR-L3	LQHNSFPWT
187	Bc1.128 H-FW1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFS
188	Bc1.128 H-FW2	WVRQAPGKGGLEWVA
189	Bc1.128 H-FW3	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRYEDTAVYYCAT
190	Bc1.128 H-FW4	WGQGTLVTVSS
191	Bc1.128 L-FW1	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITC
192	Bc1.128 L-FW2	WYQQKPGKAPKRLIY
193	Bc1.128 L-FW3	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFASYC
194	Bc1.128 L-FW4	FGQGTKVEIK
195	Bc1.128 VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITCRASQGIRSDLGWYQ QKPGKAPKRLIYGASNLQRGVPSRFSGSGSGTEFTLT ISLQPEDFASYCCLQHNSFPWTFGQGTKVEIK
196	Bc1.128 VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSNYGMHW VRQAPGKGGLEWVAFTIYDGSHKYYADSVKGRFTISR DNKNTLYLQMNSLRYEDTAVYYCATDSNGFGVLS WGQGTLVTVSS
197	Bc1.128 全长轻 链	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITCRASQGIRSDLGWYQ QKPGKAPKRLIYGASNLQRGVPSRFSGSGSGTEFTLT ISLQPEDFASYCCLQHNSFPWTFGQGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
198	Bc1.128 全长重 链	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSNYGMHW VRQAPGKGGLEWVAFTIYDGSHKYYADSVKGRFTISR DNKNTLYLQMNSLRYEDTAVYYCATDSNGFGVLS WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT

[0769]

		KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK(G)QPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
199	Bc4.204 CDR-H1	SYGMN
200	Bc4.204 CDR-H2	IIWFDGSQTYYGDSVKG
201	Bc4.204 CDR-H3	GGAEESTNWRFLWVPRYYYYMDV
202	Bc4.204 CDR-L1	IGTNSDFGRYDYVS
203	Bc4.204-CDR-L2	DVSQRPS
204	Bc4.204 CDR-L3	CSYAGSFNLV
205	Bc4.204 H-FW1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFAFN
206	Bc4.204 H-FW2	WVRQAPGKGLEWVA
207	Bc4.204 H-FW3	RFTISRDRSTNTLFLQMNNLRADDTAMYYCAR
208	Bc4.204 H-FW4	WGKGTTVTVSS
209	Bc4.204 L-FW1	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISC
210	Bc4.204 L-FW2	WYQQHPDKAPKLLIY
211	Bc4.204 L-FW3	GVPDRFSGSKSGYTASLIISGLQADDEAEYFC
212	Bc4.204 L-FW4	FGGGTKVTVL
213	Bc4.204 VL	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCIGTNSDFGRYDYVSWYQQHPDKAPKLLIYDVSQRPSGVPDRFSGSKSGYTASLIISGLQADDEAEYFCCSYAGSFNLVFGGGTKVTVL
214	Bc4.204 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFAFN SYGMN WVRQAPGKGLEWVAIIWFDGSQTYYGDSVKGRFTISRDRSTNTLFLQMNNLRADDTAMYYCARGGAEESTNWRFLWVPRYYYYMDVWGKGTTVTVSS
215	Bc4.204 全长轻链	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCIGTNSDFGRYDYVSWYQQHPDKAPKLLIYDVSQRPSGVPDRFSGSKSGYTASLIISGLQADDEAEYFCCSYAGSFNLVFGGGTKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
216	Bc4.204 全长重链	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFAFN SYGMN WVRQAPGKGLEWVAIIWFDGSQTYYGDSVKGRFTISRDRSTNTLFLQMNNLRADDTAMYYCARGGAEESTNWRFLWVPRYYYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG

[0770]

		GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK(G)QP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
217	Bc1.263 CDR-H1	NYGVN
218	Bc1.263 CDR-H2	KIIPILGIVNYAQKFQG
219	Bc1.263 CDR-H3	DRGGKPLYSYGYGLDY
220	Bc1.263 CDR-L1	RASLSVSTYLA
221	Bc1.263-CDR-L2	DASKRAT
222	Bc1.263 CDR-L3	QQRSTT
223	Bc1.263 H-FW1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCRASGGTFS
224	Bc1.263 H-FW2	WVRQAPGQGLEWMG
225	Bc1.263 H-FW3	RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCAR
226	Bc1.263 H-FW4	WGQGTLVTVSS
227	Bc1.263 L-FW1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
228	Bc1.263 L-FW2	WYQKKPGQPPRLIY
229	Bc1.263 L-FW3	GIPARFSGSGGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC
230	Bc1.263 L-FW4	FGQGTKVEIK
231	Bc1.263 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASLSVSTYLAWYQ KKPGQPPRLIYDASKRATGIPARFSGSGGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSTTFGQGTKVEIK
232	Bc1.263 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCRASGGTFSNYGVN WVRQAPGQGLEWMGKIIPILGIVNYAQKFQGRVTIT ADKSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARDRGGKPLYS YGYGLDYWGQGTLVTVSS
233	Bc1.263 全长轻 链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASLSVSTYLAWYQ KKPGQPPRLIYDASKRATGIPARFSGSGGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSTTFGQGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
234	Bc1.263 全长重 链	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCRASGGTFSNYGVN WVRQAPGQGLEWMGKIIPILGIVNYAQKFQGRVTIT ADKSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARDRGGKPLYS YGYGLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN

[0771]

		TKVDDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK(G)QPREPVYTL PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
235	Bv4.105 CDR-H1	DYPIM
236	Bv4.105 CDR-H2	FIRSKAYGGTAEYAASVKG
237	Bv4.105 CDR-H3	EGGHSGFWSGFNKIPTFDY
238	Bv4.105 CDR-L1	RASETIRTYLN
239	Bv4.105-CDR-L2	AASSVQS
240	Bv4.105 CDR-L3	QQSYTSPWVT
241	Bv4.105 H-FW1	QVQLVESGGGLVQSGRSLRLSCSAFGFTFG
242	Bv4.105 H-FW2	WVRLAPGKGLEWVG
243	Bv4.105 H-FW3	RFTTSRDDSRSTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR
244	Bv4.105 H-FW4	WGQGSLVTVSS
245	Bv4.105 L-FW1	DIQMTQSPSSLSASIGDRVSITC
246	Bv4.105 L-FW2	WYQHKPGKAPQLLIY
247	Bv4.105 L-FW3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISNLQPEDFATYYC
248	Bv4.105 L-FW4	FGPGTKVDIK
249	Bv4.105 VL	DIQMTQSPSSLSASIGDRVSITCRASETIRTYLNWYQH KPGKAPQLLIYAASSVQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS NLQPEDFATYYCQQSYTSPWVTFGPGTKVDIK
250	Bv4.105 VH	QVQLVESGGGLVQSGRSLRLSCSAFGFTFGDYPIMW VRLAPGKGLEWVGFIIRSKAYGGTAEYAASVKGRTT SRDDSRSTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTREGGHSGF WSGFNKIPTFDYWGQGSLVTVSS
251	Bv4.105 全长轻 链	DIQMTQSPSSLSASIGDRVSITCRASETIRTYLNWYQH KPGKAPQLLIYAASSVQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS NLQPEDFATYYCQQSYTSPWVTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
252	Bv4.105 全长重 链	QVQLVESGGGLVQSGRSLRLSCSAFGFTFGDYPIMW VRLAPGKGLEWVGFIIRSKAYGGTAEYAASVKGRTT SRDDSRSTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTREGGHSGF WSGFNKIPTFDYWGQGSLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV

[0772]

		HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK(G)QPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0773]

SEQ ID	说明	序列
253	S-SHBs 基因库 AAA45488.1	MENITSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWT LNFLGGTTVCLGQNSQSPTSNH SPTSCPPTCPGYRWMCLRRFIIFLLCLIFLLVLLD YQGMLPVCPLIPGSSTTSTGP CRTCMTTAQGTSMYPSCCCTKPSDGNCTCIPISSWA FGKFLWEWASARFSWLSLLVPFV QWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPLL PIFFCLWVYI
254	ConsHBAg_A	MENITSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWT LNFLGGSPVCLGQNSQSPTSNHSPTSCPPI CPGYRWMCLRRFIIFLLCLIFLLVLLDYQGMLPV CPLIPGSTTTSTGPCKTCTTPAQGNSMFPSCCCTKPTD GNCTCIPISSWAFAYLWEWASVRFSWLSLLVPFV QWFVGLSPTVWLSAIWMMWYWGPSL YSIVSPFIPLPIFFCLWVYI
255	ConsHBAg_B	MENIASGLLGPLLVLQAGFFLLTKILTIPQSLDSWWT LNFLGGTPVCLGQNSQSQISSHSPTCCPICPGYRWM CLRRFIIFLCILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSST TSTGPCKTCTTPAQGTSMFPSCCCTKPTDGNCTCIPI SSWAFAYLWEWASVRFSWLSLLVPFVQWFVGLSP TVWLSVIWMMWFWGPSLYNILSPFMPLPIFFCLWV YI
256	ConsHBAg_C	MENITSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWT SLNFLGGAPTCPGQNSQSPTSNHSPT SCPPICPGYRWMCLRRFIIFLLCLIFLLVLLDYQG MLPVCPLLPGTSTTSTGPCKTCTTPAQGT SMFPSCCCTKPSDGNCTCIPISSWAFARFLWEWASV RFSWLSLLVPFVQWFVGLSPTVWLSVI WMMWYWGPSLYNILSPFLPLLPIFFCLWVYI

[0774]

SEQ ID	说明	序列
257	ConsHBAg_D	MENITSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTS LNFLGGTTVCLGQNSQSPTSNSHPTSCPPT CPGYRWMCLRRFIIFLIFLLCLIFLLVLLDYQGMLPV CPLIPGSSTTSTGPCRTCTTTAQGTSMYP SCCCTKPSDGNCTCIPISSWAFGKFLWEWASARFSW LSLLVPFVQWVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYS ILSPFLPLLPIFFCLWVYI
258	ConsHBAg_E	MESITSGFLGPLLVLQAGFFLLTKILTIPQSLDSWWTS LNFLGGAPVCLGQNSQSPTSNSHPTSCPPICPGYRWM CLRRFIIFLIFLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSST TSTGPCRTCTTLAQGTSMFPSCCCSKPSDGNCTCIPI SSWAFGKFLWEWASARFSWLSLLVPFVQWVAGLSPT VWLSVIWMMWYWGPSLYNILSPFIPLLPIFFCLWVYI
259	ConsHBAg_F	MDNITSGLLGPLLVLQAVCFLLTKILTIPQSLDSWWT SLNFLGGLPGCPGQNSQSPTSNSHLPTSCPPTCPGYRW MCLRRFIIFLIFLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLLPGS TTTSTGPCKTCTTLAQGTSMFPSCCCSKPSDGNCTCIP IPSSWALGKYLWEWASARFSWLSLLVQFVQWCVGL SPTVWLLVIWMIWYWGPNLCSILSPFIPLLPIFCYLWV SI
260	ConsHBAg_G	MENITSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTS LNFLGGVPVCPGLNSQSPTSNSHSPISCPPTCPGYRWM CLRRFIIFLIFLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSST TSTGPCKTCTTPAQGNSMYPSCCCTKPSDGNCTCIPI SSWAFKYLWEWASVRFSWLSLLVPFVQWVGLSP TVWLSAIWMMWYWGPNLYNILSPFIPLLPIFFCLWV YI
261	ConsHBAg_H	MENITSGLLGPLLVLQAVCFLLTKILTIPQSLDSWWTS LNFLGVPPGCPGQNSQSPISNHLPTSCPPTCPGYRWM CLRRFIIFLIFLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLLPGST TTSTGPCKTCTTLAQGTSMFPSCCCTKPSDGNCTCIPI PSSWAFGKYLWEWASARFSWLSLLVQFVQWCVGLS PTVWLLVIWMIWYWGPNLCSILSPFIPLLPIFCYLWAS I
262	ConsHBAg_I	MENITSGFLGPLLVLQAGFFLLTKILTIPQSLDSWWTS LNFLGGAPVCLGQNSQSPTSNSHPTSCPPICPGYRWM CLRRFIIFLIFLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSST TSTGPCKTCTTPAQGNSMYPSCCCTKPTDGNCTCIPI SSWAFKYLWEWASARFSWLSLLVPFVQWVGLSP

[0775]

SEQ ID	说明	序列
		TVWLSVI WMMWYWGPSLYNILSPFIPLPIFFCLWVYI
263	Bc1.187 全长重链	QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCEASGFTFSNYGMQ WVRQAPGKGLEWVAIIWADGTKQYYGDSVKGRFTI SRDNFKNTLYLQMNSLRGEDTAMYFCARDGLYASA PNDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
264	Bc1.180 全长重链	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFGRSAVS WVRHAPGQRLEWMGRTIPLLRIAEYSQTFQGRVTIT ADKFTNTVYMELRSLTYEDTAVYYCAREGDGLDM WGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
265	Bc3.106 全长重链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFGSYAMSW VRQAPGKGLKWVSFAFGTGGSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNNLRAEDTAVYFCAKDPGHTSNWR DNYQYYQMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN

[0776]

SEQ ID	说明	序列
		GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
266	Bv4.104 全长重链	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSGYGMH WVRQAPGKGLEWVAFLWHDGTSKDYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYMQMNSLRAEDTAVYYCAREDDYDSN AFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
267	Bc8.111 全长重链	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSW VRQAPGKGLEWVSATSGSGADTYADSVKGRFTISR DNSKNTVYLQMNSLRADDTAFYYCAKDPYMVA AV ARTVDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
268	Bc8.104 全长重链	QVQLVQSGAEVKKAGSSVKVSCAFGGTSNNYGV WVRQAPGQGLQWMGGIPIFGTTNYAQKFLGRVTIT ADKSTRTAYMELSSLRSED TAVYYCASQGSSTWFAT LYAFPIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN

[0777]

SEQ ID	说明	序列
		YKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
269	Bv6.172 全长重链	EVQLVQSGAAVRKPGESLRISCQASGFSFTNYWITW VRQRPKGKLEWMGRIDTRDSYTNYSFQGHVTISID RSINTAYLQWSSLKASDTAMYYCARLSTTYPLNYYG MDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
270	Bv4.115 全长重链	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCRSSGYRFTNYHIHW VRQAPGGKLEWVGIIINPRRLSTAYAPKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSDDTAVYYCARDAGDDTSGPF DSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
271	Bc1.229 全长重链	QVQLVESGGGVVQPGRSLRVSCAASGFTFSNYGMH WVRQAPGKGLEWLAVIWNWDSNKKYYADSVKGRFII SRDNSKNTLYLQMNSLGAEDTAMYYCAREGLTSVT MLDSWGQGALVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY

[0778]

SEQ ID	说明	序列
		KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
272	Bc8.159 全长重链	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGTIRTNNWWS WVRQPPGKGLEWIGEIIHHIGSTNYPNPSLKSQVTISVD KSKNQFSLNLSSVTAADTALYYCVRGRLGITRDRYY FDSWGRGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
273	Bc1.128 全长重链	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSNYGMHW VRQAPGKGLEWVAFTIYDGS HKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRYEDTAVYYCATDSNGFGVLS WGQGT LTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
274	Bc4.204 全长重链	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFAFNSYGMN WVRQAPGKGLEWVAIIWFDGSQTYYGDSVKGRFTIS RDRSTNTLFLQMNNLRADDTAMYVCARGGAEESTN WRFLWVPRYYYYMDVWGKGT TTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPR

[0779]

SEQ ID	说明	序列
		EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
275	Bc1.263 全长重链	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCRASGGTFSNYGVN WVRQAPGQGLEWMGKIIPILGIVNYAQKFQGRVTIT ADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDRGKPLYS YGYGLDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
276	Bv4.105 全长重链	QVQLVESGGGLVQSGRSLRLSCSAFGFTFGDYPIMW VRLAPGKGLEWVGFIIRSKAYGGTAEYAASVKGRFTT SRDDSRSTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTREGGHSGF WSGFNKIPTFDYWGQGSLLTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0780] IV. 实例

[0781] 以下是本发明的方法和组合物的实例。应当理解,在给出以上提供的一般描述的情况下,可以实践各种其他实施方案。

[0782] 材料和方法

[0783] 人体样品

[0784] HBV疫苗接种者和HBV血清转换者的血液样品获自ICAReB生物库平台(巴斯德研究所)的健康供体队列,符合法国国家药品安全局(ANSM)于2012年5月24日批准的CoSimmGen协议,以及人身保护委员会(CPP)于2014年1月17日批准的协议。图6总结了供体的主要临床生物学特征。所有来自HBV疫苗接种者和血清转换者的样品均作为临床研究协议RAPIVIB的一部分获得,该协议符合并在获得所有法国立法和监管机构的伦理批准后进行。RAPIVIB协议于2015年7月30日获得巴斯德研究所的临床研究委员会的批准(#2014-058)、于2015年4月29日获得ANSM的批准(#150457B-41)、于2015年6月10日获得CPP Ile-de-France III的

批准(#2015-100220-49/3267)。该协议遵循国家信息与自由委员会(CNIL)的MR-001参考方法。所有供体都书面同意参与这项研究,并使用受试者编码在伪匿名条件下收集数据。使用Ficoll® Plaque Plus (GE Healthcare) 从供体血液中分离外周血单个核细胞(PBMC),并使用蛋白G琼脂糖凝胶4快速流动珠 (GE Healthcare, Chicago, IL) 通过批次/重力流亲和层析纯化血浆或血清IgG抗体。

[0785] 抗原和抗体对照

[0786] 从感染的受试者中纯化的天然S-HBsAg和重组S-HBsAg颗粒(ayw亚型)由Roche制备和生物素化。重组HBsAg颗粒(ayw)在中国仓鼠卵巢细胞中产生(Aventis Pasteur, Val de Reuil, France) (Michel et al., 1984)。Adw亚型HBsAg颗粒(HBV基因型A)在酵母毕赤酵母表达系统中产生,并在基因工程和生物技术中心生产设施(CIGB, Havana, Cuba; J. Aguilar博士的善意馈赠)中纯化(<95%纯度)。通过使用CLC Main Workbench 7软件(v7.5.3, QIAGEN Aarhus A/S)对单个HBV基因型序列(A, n=205; B, n=495; C, n=1322; D, n=382; E, n=314; F, n=271; G, n=6; H, n=40; I, n=7)进行多重氨基酸比对,构建共有基因型特异性S-HBs片段。使用Anza 5和11限制酶(Thermo Fisher Scientific)将编码共有S-HBs、G₃S接头、10xHis-和Avi-标签的密码子优化的核苷酸片段克隆到pcDNATM3.1/Zeo⁽⁺⁾表达载体(Thermo Fisher Scientific)中。对于跨膜(TM)结构域缺失的S-HBs蛋白(Δ TM-S-HBs)的生产,生成相同的构建体,但其中S-HBs DNA片段缺少TM1、TM3、TM4结构域,并且TM2被替换为(G₃S)₅接头。合成和脱盐了二硫键桥接S-HBs/D 122-137(RTCTTTAQGTSMPSC)和139-148(CTKPSDGNCT)环肽和包括整个ConsD S-HBs区域但具有高疏水性一个跨膜结构域2肽(IFLFILLCLIF)除外的3个氨基酸重叠的12聚体肽(n=24) (GenScript HK Limited)。非HBV抗体mG053 (Wardemann和Nussenzweig, 2007)用作同种型对照。作为阳性对照,中和鼠HB1抗体对S-HBsAg的“a”决定簇的119-GPCRTCT-125线性表位具有特异性(Kucinskaite-Kodze等人, 2016),以具有人Fc的嵌合重组IgG1的形式使用下面描述的表达克隆系统生产。鼠抗前S2抗体1F6 (Kuttner等人, 1999)以嵌合人Fab片段的形式生产,用作下文描述的丙氨酸扫描图中的捕获分子。

[0787] 单B细胞FACS分选和抗体的表达克隆

[0788] 通过CD19 MACS (Miltenyi Biotec) 从供体的PBMC中分离外周血人B细胞,并用LIVE/DEAD可固定死细胞染色试剂盒(Thermo Fisher Scientific)将其染色。然后使纯化的B细胞在4℃下与生物素化的重组或天然S-HBs抗原一起孵育30分钟,用1% FBS-PBS (FACS缓冲液)洗涤,并在4℃下与小鼠抗人抗体(CD19 A700 (HIB19)、IgG BV786 (G18-145)、CD27 PE-CF594 (M-T271) (BD Biosciences)、IgA FITC (IS11-8E10, Miltenyi Biotec))和链霉亲和素R-PE缀合物(Thermo Fisher Scientific)的混合物一起孵育30分钟。洗涤染色的细胞并重新悬浮在1mM EDTA FACS缓冲液中。使用如前所述的FACS Aria III分选器(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)将单一S-HBs⁺CD19⁺IgG⁺B细胞分选至96孔PCR板中(Tiller等人, 2008)。如前所述,使用SuperScript IV逆转录酶(Thermo Fisher Scientific)合成单细胞cDNA,然后对IgH、Igκ和Igλ基因进行巢式PCR扩增,并对Ig基因特征进行序列分析(Tiller等人, 2008)。对于所选抗体的种系(GL)的还原,如前所述,通过将突变的V_H-(D_H)-J_H和V_L-J_L基因片段替换为GL对应物来构建序列(Mouquet等人, 2012)。如前所述,将纯化的消化PCR产物克隆到人Igγ1-、Igκ-或Igλ-表达载体(基因库号分别为

LT615368.1、LT615369.1和LT615370.1) (Tiller等人,2008)中。通过将编码人Ig γ 1/Ig κ 恒定区的DNA序列替换为小鼠Ig γ 2-和Ig κ (合成DNA片段, GeneArt, Thermo Fisher Scientific)的DNA序列,从原始IgG1表达载体 (Tiller等人,2008)生成鼠Ig γ 2和Ig κ 表达载体,然后用于克隆嵌合mG053和Bc1.187抗体。重组抗体是通过使用如前所述的PEI沉淀法 (Lorin和Mouquet,2015)对Freestyle™ 293-F悬浮细胞 (Thermo Fisher Scientific)进行瞬时共转染产生的。通过蛋白G亲和层析 (Protein G Sepharose® 4Fast Flow, GE Healthcare, Chicago, IL)纯化重组人IgG抗体。针对PBS透析纯化的抗体。体内输注的制剂经过微过滤 (Ultrafree®-CL装置-0.1 μ m PVDF膜, Merck-Millipore, Darmstadt, 德国),并使用ToxinSensor™显色LAL内毒素检测试剂盒 (GenScript)检查内毒素水平。

[0789] ELISA

[0790] 如前所述进行ELISA (Planchais等人,2019)。简而言之,用纯化的rS-HBs和nS-HBs (PBS中125ng/孔)包被高结合96孔ELISA板 (Costar, Corning)过夜。用0.05% Tween 20-PBS (PBST)洗涤后,将板用2% BSA、1mM EDTA-PBST (封闭溶液)封闭2小时,洗涤,并与PBS中的连续稀释的纯化血清IgG和重组单克隆抗体一起孵育。对于夹心ELISA,用纯化的IgG抗体 (PBS中250ng/孔)包被板过夜,并在与PBS中的生物素化rS-HBs (PBS中100ng/孔)一起孵育之前如上所述进行处理。洗涤后,通过添加山羊HRP缀合的抗人IgG或HRP缀合的链霉亲和素 (封闭溶液中的最终浓度为0.8 μ g/ml, Immunology Jackson ImmunoResearch)和HRP显色底物 (ABTS溶液, Euromedex)使板显色。对于竞争ELISA,使用EZ-Link Sulfo-NHS-Biotin试剂盒 (Thermo Fisher Scientific)对纯化抗体进行生物素化。将rS-HBs包被的板封闭、洗涤、与生物素化抗体 (浓度为0.33nM)在1:2连续稀释的PBS中的抗体竞争剂溶液 (IgG浓度范围为0.83至106.7nM)中孵育2小时,并使用HRP缀合的链霉亲和素使其显色。使用HydroSpeed™微孔板清洗机和Sunrise™微孔板吸光度读数器 (Tecan Männedorf)进行实验,在405nm (OD_{405nm})处进行光密度测量。使用与先前描述的相同程序测试抗S-HBs抗体与环状和重叠线性肽的结合 (Mouquet等人,2006)。在至少两个独立实验中对所有抗体进行两次重复或三次重复测试,其中包括mG053阴性和适当的阳性对照。

[0791] 丙氨酸扫描图

[0792] 如前所述 (Salisse和Sureau,2009),使用FuGENE 6试剂 (Roche)通过Huh-7细胞与psVLD3和pT7HB2.7质粒的共转染产生突变型HBV包膜蛋白。用纯化的人S-HBs抗体 (PBS中0.5 μ g/孔)包被高结合96孔ELISA板 (Costar, Corning)过夜。在PBST洗涤和2小时封闭步骤后,使板与含有HBsAg野生型和突变型蛋白的培养上清液一起孵育2小时。如上所述,洗涤后,使板与纯化的带His标签的1F6 Fab片段 (125ng/孔)一起孵育1小时,洗涤并通过添加兔HRP缀合的抗6xHis标签抗体 (在封闭溶液中以1:4,000稀释, ab1187, Abcam)和HRP显色底物 (ABTS溶液, Euromedex)使其显色。根据以下公式计算结合百分比: $([OD]^{突变型}/[OD]^{野生型}) \times 100$ 。

[0793] 流式细胞术结合测定

[0794] 使用如前所述的PEI沉淀法 (Lorin和Mouquet,2015),使用编码S-HBs的载体 (每 10^6 个细胞0.65 μ g质粒DNA)转染Freestyle™ 293-F。转染后48小时,使用Cytofix/Cytoperm™溶液试剂盒 (BD Biosciences)将转染和未转染的对照细胞固定和透化,然后在4

℃下使 0.5×10^6 细胞与IgG抗体一起孵育45分钟(10 μ g/ml,除非另有说明,在Perm/Wash™溶液中;BD Biosciences)。洗涤后,使细胞与AF647缀合的山羊抗人IgG抗体(1:1000稀释度;Thermo Fisher Scientific)在4℃下一起孵育20分钟,洗涤并重悬于PBS中。使用CytoFLEX流式细胞仪(Beckman Coulter)获取数据,并使用FlowJo软件(v10.3;FlowJo LLC)进行分析。

[0795] 蛋白质微阵列

[0796] 所有实验均在4℃下使用ProtoArray人蛋白质微阵列(Thermo Fisher Scientific)进行。如前所述(Planchais等人,2019),微阵列在封闭溶液(Thermo Fisher)中封闭1小时,洗涤并与2.5 μ g/ml的IgG抗体一起孵育1小时30分钟。如前所述(Planchais等人,2019),洗涤后,使阵列与AF647缀合的山羊抗人IgG抗体(PBS中1 μ g/ml;Thermo Fisher Scientific)一起孵育1小时30分钟,并使用GenePix 4000B微阵列扫描仪(Molecular Devices)和GenePix Pro 6.0软件(Molecular Devices)使其显色。使用Spotxcel®软件(SICASYS Software GmbH,Germany)对荧光强度进行量化,并使用GraphPad Prism软件(v8.1.2,GraphPad Prism Inc.)将每种抗体(来自重复的蛋白质点)的平均荧光强度(MFI)信号与参考抗体mG053(非多反应同种型对照)作图。对于每种抗体,使用ProtoArray®Prospector软件(v5.2.3,Thermo Fisher Scientific)计算Z分数,并如前所述计算对角线的偏差(σ)和多反应性指数(PI)值(Planchais等人,2019)。当PI>0.21时,抗体被定义为多反应性。

[0797] HEp-2细胞结合测定

[0798] 人抗S-HBs和对照IgG抗体(mG053和ED38(Meffre等人,2004;Wardemann等人,2003))与表达HEp-2细胞的自身抗原的结合在50 μ g/ml下按照制造商的说明通过ELISA(AESKULISA®ANA-HEp-2,Aesku.Diagnostics,Wendelsheim,Germany)和间接免疫荧光测定(IFA)(ANA HEp-2 AeskuSlides®,Aesku.Diagnostics)进行分析。使用荧光显微镜Axio Imager 2(Zeiss,Jena,Germany)检查IFA切片,并在Imagopole平台(巴斯德研究所)使用ZEN成像软件(Zen 2.0蓝色版,Zeiss)以40倍的放大倍率和5000ms采集下拍摄照片。

[0799] HBV中和测定

[0800] HepaRG和HepG2.2.15细胞系分别获自Biopredic International(Saint-Gregoire,France)和Dr.Michael Nassal(University Hospital Freiburg,Germany)。HepaRG细胞在添加10% HepaRG生长补充剂(Biopredic)的Williams E培养基(Gibco®,Thermo Fisher Scientific)中培养,并在感染前使用1.8% DMSO分化至少2周。通过胶原酶灌注法(Tateno等人,2015)从具有人源化肝脏的嵌合uPA/SCID小鼠中分离出的原代人肝细胞(PHH)获自PhoenixBio(Hiroshima,Japan)。在Phoenix Bio提供的培养基中,以每孔 7×10^4 细胞的浓度将PHH接种在I型胶原蛋白包被的96孔板上。HBV基因型D病毒在HepG2.2.15细胞培养上清液中产生,并使用聚乙二醇沉淀法浓缩(Hantz等人,2009)。通过梯度超速离心从含HBV的血清(美国红十字会)中纯化基因型A至C的HBV病毒。简而言之,将1.5ml血清应用到OptiPrep™梯度(10-50%,Sigma)上,并在4℃下以32,000rpm离心3小时。收集级分(2ml)并使用S-HBs CLIA试剂盒(Autobio)和qPCR定量分析HBs抗原表达。通过超深度测序(DDL诊断实验室,荷兰)获得所有纯化病毒分离物的全基因组序列,并使用乙型肝炎

炎病毒数据库HBVdb (<http://hbvdb.ibcp.fr>) 确定HBV基因型 (Hayer等人, 2013)。通过在HepaRG或PHH完全培养基中使HBV病毒粒子 (MOI 20-30) 与连续稀释的抗体在室温下孵育1小时来评估HBV抗体的中和活性。然后将HBV抗体混合物添加到96孔板中的细胞中, 最终浓度为4% PEG 8000 (Sigma)。感染的细胞在37℃下孵育20小时, 然后用PBS洗涤4次以去除HBV接种物并重新填充完全培养基。感染后6天, 根据制造商的说明, 使用S-HBs CLIA试剂盒 (Autobio) 量化上清液中的S-HBs抗原含量。

[0801] HDV中和测定

[0802] 使用如前所述的HDV模型 (Sureau, 2010) 进行体外中和测定, 除了表达NTCP的Huh-106细胞替代了HepaRG细胞 (Verrier等人, 2016)。在接种后第1天, 将Huh-106细胞 (1×10^5 细胞/20mm直径孔) 在4% 聚乙二醇 (PEG) 8000存在下暴露于 5×10^7 基因组当量 (ge) 的HDV病毒粒子16小时。为了测定中和作用, 将接种物与500ng/ml单克隆抗体的1:2稀释液混合, 并在接种前将混合物在37℃下孵育1小时。在接种后9天 (dpi) 收获细胞, 用于测量作为感染标志物的细胞内HDV RNA。使用 ^{32}P -标记的RNA探针通过Northern印迹分析检测HDV RNA信号, 并使用磷光成像仪 (BAS-1800II; Fuji) 进行量化。

[0803] 慢性HBV小鼠模型

[0804] 在6-8周龄C57BL/6小鼠 (Janvier Labs, Le Genest-Saint-Isle, France) 中, 通过单次静脉注射 (眶后静脉窦) 5×10^{10} 携带有复制能力的HBV-DNA基因组的血清型2/8腺相关病毒的病毒基因组, 建立了慢性HBV感染 (Dion等人, 2013)。病毒原液由Plateforme de Thérapie Génique (INSERM U1089, Nantes, France) 生产并滴定为病毒基因组当量 (GE Healthcare) 和每毫升病灶形成单位。转导后六周, 向携带HBV的小鼠静脉内施用抗体 (每只小鼠每次注射0.25、0.5或1mg)。收集血液样品并储存在-20℃。分别使用Monolisa S-HBsAg ULTRA (Bio-Rad, France) ELISA试剂盒和ETI-EBK Plus N0140 (Diasorin SA, Italy) 确定血清S-HBsAg和HBeAg水平。通过参考用已知浓度的S-HBsAg (Architect S-HBsAg Calibrators, Bio-Rad, France) 和Paul-Ehrlich-Institut标准建立的标准曲线计算浓度, 并分别以IU/mL和PEI U/mL表示。使用QIAamp Blood Mini试剂盒 (Qiagen, Germany) 从小鼠血清中纯化HBV DNA, 并如前所述通过定量PCR进行定量 (Cougot等人, 2012)。含有1.2个HBV基因组拷贝的payw1.2质粒的连续稀释液用作定量标准。结果以IU/ml表示, 检测阈值为1000IU/ml。所有的实验动物方案均经过巴斯德研究所动物护理委员会的审查和批准, 符合法国和欧洲的动物福利法规和公共卫生服务建议 (APAFIS#15408-2018060517005070v1)。所有HBV感染实验均在A3动物设施中进行。

[0805] HBV HUHEP小鼠模型

[0806] 为了生成HUHEP模型, BALB/c Rag2^{-/-} IL-2R γ c^{-/-} NOD.sirpa uPA^{tg/tg} (BRGS-uPA) 小鼠脾内注射 7×10^5 新鲜解冻的人肝细胞 (BD Biosciences, Corning) (Srick-Marchand等人, 2015)。用物种特异性人白蛋白 (hAlb) ELISA (Bethyl Laboratories) 确定血浆样品的肝嵌合性, 用 1×10^7 HBV基因组等价物腹膜内感染 ≥ 100 microg/ml hAlb的HUHEP小鼠 (Dusseaux等人, 2017)。具有 $> 10^6$ HBV DNA拷贝/ml的HBV感染的小鼠每3-4天以20mg/kg小鼠、或每周以1mg/小鼠腹腔注射bNab CH1-187或同种型对照 (mG053) IgG, 或在MediDrop Sucralose (Clear H20) 中口服递送恩替卡韦 (ETV) 0.3mg/kg/天 (Baraclude, BMS)。对于反弹阶段, 小鼠恢复饮水。动物被安置在无病原体条件下的隔离室中, 并受到人道的照顾。实验由巴斯德

研究所(法国巴黎)的机构伦理委员会批准,并由法国教育和研究部(MENESR#02162.02)验证。

[0807] 统计分析

[0808] 对于Ig基因谱分析,使用双侧 2×2 和 2×5 Fisher精确检验对各组进行比较。使用带有Welch校正的未配对学生t检验比较抗体组之间的 V_H 、 V_K 和 V_L 突变的数量。火山图分析是通过以下进行的:比较各组之间的206个个体抗体基因特征,并报告由双侧 2×2 Fisher精确检验给出的每个参数的 Δ 平均值(x轴)和 $-\log_{10}$ p值(y轴)。使用GraphPad Prism软件(v8.1.2, GraphPad Prism Inc.)和用于 2×5 Fisher检验的SISA在线工具(<http://www.quantitativeskills.com/sisa>)进行统计分析。

[0809] 实例1:来自HBV疫苗接种者和控制者的人S-HBs单克隆抗体

[0810] 为了表征记忆B细胞抗体对HBV表面糖蛋白的应答,用荧光标记的重组或天然S-HBs颗粒对来自具有高血清抗HBsAg IgG抗体滴度(图6)的六名疫苗接种者和八名血清转换者的外周血B细胞进行染色(图1A和图8)。从通过单细胞流式细胞仪分选捕获的3,452个S-HBs结合IgG+记忆B细胞中,我们通过重组表达克隆生产了总共170个独特的人单克隆抗体(见上文)。从HBV疫苗接种者和控制者克隆的S-HBs+记忆B细胞抗体与S-HBs颗粒的ELISA结合分析表明,分别只有21.1% (0-61.5%)和55.2% (33.3-90.9%)与HBsAg具有高亲和力($p=0.011$,图1B和图9)。在HBV控制者中,高滴度的循环HBsAg抗体与HBV特异性B细胞的更大恢复相关(35.2% vs 64.7%, $p=0.036$)。通过ELISA检测缺乏S-HBs反应性的旁观者B细胞几乎都是多反应性的(未显示),因此可能通过与病毒颗粒的非包膜成分相互作用而被捕获。HBV特异性记忆B细胞主要是克隆扩增的一部分,并表达体细胞突变的免疫球蛋白基因,显示抗原驱动的成熟标志(图1C、10F和10G)。免疫球蛋白基因特征与来自健康对照的IgG+记忆B细胞的比较显示,在HBV特异性B细胞谱中VH1(即VH1-69和VH1-18, $p=0.041$)、JH4 ($p=0.0017$)和重排VH1(DH) JH4 ($p=0.017$)基因,以及IgG1/IgG3亚类表达($p=0.019$)的使用增加(图1D、图7和图10)。在利用VH1-69基因的HBV抗体中(占总数的14%),60%在疏水CRDH2尖端的第54位具有种系编码的苯丙氨酸(图8C),这被证明是许多针对流感病毒、HCV和HIV-1的人类中和抗体所必需的(Chen等人,2019)。只有四种抗S-HBs IgG抗体($n=72$)通过免疫印迹识别变性的S-HBs抗原,没有一种与“a”决定簇肽结合,而两种与“a”区域两侧的线性表位反应(图11),表明大多数S-HBs记忆抗体靶向构象表位(图1E)。我们得出结论,大多数的人S-HBs IgG记忆B细胞表达富含VH1编码免疫球蛋白的构象依赖性IgG1和IgG3抗体。

[0811] 实例2:人S-HBs记忆B细胞抗体的体外和体内HBV中和作用

[0812] 为了确定S-HBs记忆B细胞抗体是否中和HBV,我们在基于HepaRG细胞的测定中测量了它们对基因型D病毒的体外中和活性。总体而言,61%的S-HBs抗体阻断了HBV感染,50%的抑制浓度(IC50)范围为 $50\mu\text{g/ml}$ 下降到 0.05pg/ml (图2A、图7和图12)。在HBV控制者中,69%的抗体具有中和作用,包括35%的IC50值低于 50ng/ml 的有效中和剂(图2A和图7)。具有较高超突变负荷和对S-HBs抗原更广泛反应性的S-HBs抗体更容易抑制HBV感染(图2B)。HBV中和剂同样表达VH1-69F54和L54等位基因。丁型肝炎病毒(HDV)是一种德尔塔病毒(Deltavirus)属的有缺陷的HBV卫星病毒,包被有HBV包膜蛋白(Sureau和Negro,2016)。因此,我们询问HBV中和抗体是否也可以在体外预防HDV感染。正如预期的那样,在Huh-106细

胞测定中,选定的抗体中和HDV的效率与HBV一样(图2C)。

[0813] 为了评估中和抗S-HBs抗体的体内活性,我们基于重组HBV编码腺相关病毒(AAV)的肝脏靶向转导生成了HBV持久性小鼠(Dion等人,2013)。选择了四种有效的HBV中和剂并将其被动转移到携带高水平循环S-HBsAg(>104 IU/ml)的AAV-HBV小鼠中。单次静脉内(i.v.)注射约20mg/kg的抗体导致注射后2天(dpi)的病毒血症显著下降,而用较低的抗体剂量治疗效果较温和,因为抗体的快速耗尽超过了HBV粒子(图2D、图2E和图13)。两种最有效的抗体Bc1.187和Bv4.104在最低点(dpi2)分别诱导1.7和2.1log₁₀的平均下降(图2E)。下降后2天病毒反弹伴随抗体衰减,循环HBsAg在dpi7时恢复到基线水平(图2D和图13B)。由于体内病毒血症的下降取决于所施用抗体的量,我们接下来考虑确定增加剂量的HBV交叉中和抗体Bc1.187的影响。接受单次注射约40mg/kg的Bc1.187(每只小鼠静脉注射1mg)的病毒血症AAV-HBV小鼠在dpi2时病毒血症平均最大减少2.8log₁₀(图2F),HBsAg水平持续低于基线至少12天(图2F)。在接受治疗的动物中,HBV DNA载量随着血清HBsAg滴度的变化而下降,平均下降3.6log₁₀,在病毒反弹前6只小鼠中有4只最后一次注射Bc1.187后长达一周内达到无法检测到的水平(图2F)。

[0814] 实例3:强效人HBV中和抗体的跨基因型活性

[0815] 根据“a”决定簇中的特定氨基酸变异(adr、adw、ayr、ayw)将HBV分为四种主要血清型,并根据基于病毒基因组的系统发育(A到J)分为10种基因型(Kato等人,2016)。结合分析表明,最有效的HBV中和抗体(71%)能够分别识别用于GenHevac-B和Engerix-B疫苗的adw和ayw HBsAg颗粒(图3A)。重要的是,大约一半的中和剂与来自9种不同基因型(A到I)的共有S-HBs蛋白发生同样的交叉反应(图3B)。其他显示出更多异质的结合特征,抗体不与F和H基因型反应(19%,全部来自供体Bc4),或与D-F和H结合,或仅与D和E结合(图3B)。为了验证跨基因型HBV结合反映了交叉中和潜力,我们测量了HBV交叉反应中和剂Bc1.187对来自基因型A、B、C和D的HBV病毒粒子感染原代人肝细胞的体外中和活性。正如预期的那样,Bc1.187中和了所有4种基因型的HBV病毒,尽管基因型A和C比B和D更有效(图3D)。在HepaRG细胞测定中,基因型A和C病毒粒子也对Bc1.187高度敏感,而Bv4.104与其反应性谱一致,仅有效中和基因型D HBV(图3E)。

[0816] 在人类中,已经描述了几种HBV逃逸突变,其中G145R是S蛋白区域中最普遍的替代(Chotiyaputta和Lok,2009;Huang等人,2012)。因此,我们评估了其中一些突变是否会影响强效中和剂对HBV的识别(图3E和图16)。对于大约一半的抗体,仅在G145R突变蛋白中检测到S-HBs结合的显著降低或丧失,表明已知破坏“a”决定簇的抗原性的G145R突变(Huang等人,2012;Salisse和Sureau,2009)可能不利于某些HBV抗体的中和活性。突变体结合分析还表明,没有一种中和抗体与在N146位发现的S-HBs上的独特N-聚糖相互作用(图3E和图16)。总的来说,这些数据表明,HBV控制者中的S-HBs特异性记忆B细胞可以产生有效的交叉中和抗体,能够消除循环HBsAg颗粒并抑制HBV病毒血症。

[0817] 实例4:强效人HBV中和抗体的结合特征

[0818] 为了绘制强效中和HBV抗体靶向的表位,我们使用了具有覆盖HBsAg的主要亲水区的取代的突变HBsAg蛋白文库进行了丙氨酸扫描ELISA实验。尽管所有测试的抗体都呈现出独特的识别模式,但可以根据突变敏感性识别常见的结合谱(图4A)。关键表位区域主要位于“a”决定簇内部,但也位于N末端和C末端S-HBs区域(分别为Bc8.109和Bc1.263)之外。其

他一些无法明确识别(Bc4.204、Bc4.194、Bc4.178、Bc3.106和Bc8.104)(图4A)。“a”决定簇中的中和表位非常复杂,包括以下各项中的主要相互作用残基):(i)“迷你”和第二个环(Bc8.159和Bc1.130),(ii)第一个环和第二个环(Bv4.105和Bv4.106)、所有3个环(Bv4.104、Bc8.111、Bc1.128和Bc1.156),或主要在第二个环(Bv4.115、Bv6.172、Bc1.187、Bc1.229和Bc1.180)(图4A)。接下来,我们进行了竞争性S-HBs结合ELISA分析,以评估中和表位之间的重叠程度。在上述每个抗体类别中,交叉竞争分子大多以独立的串联形式被发现:Bv4.104/Bc8.111、Bc8.128/Bv4.106、Bc1.180/Bc1.263和Bc3.106/Bc6.149(图4C)。三重中和剂Bc4.194/Bc4.204/Bc4.178识别出一个常见的非构象表位,该表位未通过图谱明确定义(图1E、图4A和图4B),但可能位于HBsAg N末端或C末端的最远端部分。在这方面,所有3种抗体都不能结合F和H基因型,这主要与预测为跨膜结构域3(Q178-Y225)的区域中的其他基因型不同(图11)。此外,Bc4.204的结合因F179A突变而降低,并且与C末端(191-200)中的线性肽的结合也较弱(图4A和图15)。较大的表位簇包含中和抗体,该中和抗体的表位更集中在第二个环(Bv4.115、Bv6.172、Bc1.187、Bc1.229),但也能够干扰其他中和剂的S-HBs结合(图4B)。

[0819] 为了检查体细胞突变是否有助于HBV中和抗体的活性,我们恢复了三种具有代表性的强效中和剂中的突变,以产生它们推定的种系前体(GL)。代表性的GL版本显示出异质的HBV识别谱:Bc4.204-GL未能与S-HBs反应,而Bc1.187-GL和Bv4.104-GL仍然结合,但与成熟的对应物相比,相对亲和力要低得多(图4C)。与突变抗体相比,GL IgG显示较弱,但对基因型D HBV特别是Bc1.187-GL的体外HepaRG细胞感染具有显著抑制活性,IC₅₀为0.08μg/ml(图4D)。这意味着尽管B细胞前体表达的某些种系抗体可以结合和中和高浓度的HBV,但它们的高亲和力HBsAg结合和有效的HBV中和需要体细胞突变。

[0820] 人类类别转换记忆B细胞,包括针对病毒抗原的高亲和力B细胞克隆,可以与自身抗原发生交叉反应(Andrews等人,2015;Prigent等人,2018;Prigent等人,2016;Tiller等人,2007)。因此,我们使用临床自身抗体测定(HEp-2细胞IFA和ELISA)和微阵列免疫印迹(>9,000种人类蛋白质)评估了10种选定的有效HBV中和剂的自身反应性。除了Bc1.263之外,没有一种HBV中和剂显示出多反应性,这是通过与同种型对照相比微阵列荧光信号的整体偏移来测量的(图18A)。只有Bc1.263和Bc4.204抗体分别显示出针对半乳糖凝集素-3/-8和E3泛素-蛋白连接酶UBR2的显著交叉反应性(Z分数>5)(图4D和图18B)。没有HBV中和剂显示阳性HEp-2 ELISA反应性(图18C),尽管通过IFA使用高抗体浓度检测到低(Bc1.187, Bc1.263)至中等(Bc4.194, Bc4.204)的与HEp-2细胞抗原的结合(图18C)。

[0821] 实例5:强效交叉中和抗体Bc1.187在体内抑制HBV

[0822] 为了确定来自自然控制者的强效HBV中和剂是否能在体内稳定抑制HBV病毒血症,用Bc1.187抗体(0.5mg静脉内注射,~20mg/kg,每周两次)治疗AAV-HBV小鼠17天(图19A)。病毒血症小鼠在用Bc1.187治疗时经历了循环HBsAg水平的降低,但在用同种型对照时没有(图19A)。然而,鼠抗人IgG抗体(称为ADA,抗药物抗体)的发展迅速改变了治疗效果(图19B)。为了克服或限制ADA的产生,我们通过将抗体的可变结构域与鼠Igγ2a和IgK恒定区相结合来生成Bc1.187的嵌合版本。嵌合Bc1.187抗体(c-Bc1.187)在未转导的野生型小鼠中具有3.9天的血清半衰期(图19C),并且在AAV-HBV小鼠中每周施用导致可重现的病毒血症下降(连续3周dpi2时平均 $0.88 \pm 0.07 \log_{10}$)(图19D)。每2天用0.5mg的c-Bc1.187而不

是对照抗体静脉内注射治疗16天导致从第4天开始所有AAV-HBV小鼠的循环HBsAg下降,与设定点相比平均下降 $2.5\log_{10}$ 倍(图5A)。在c-Bc1.187治疗期间,HBV病毒血症(以病毒DNA IU/ml计)也急剧减少了平均 $2.5\log_{10}$ 倍,到第21天,除一只小鼠外,其他所有小鼠均达到无法检测到的水平(图5A)。在最后一次注射抗体后,HBsAg和HBV病毒血症仍被抑制两周,然后回升至基线水平(图5A)。正如该模型所预期的那样,HBe抗原(病毒复制的替代标志物)的血清水平在治疗期间保持不变(图5A)。

[0823] 我们接下来想知道Bc1.187是否可以改变体内HBV感染的自然过程。稳定移植人肝细胞(HUHEP)的BALB/c Rag2^{-/-}SirpaNODAlb-uPA^{tg}/tg小鼠感染了基因型D HBV。一旦感染建立,小鼠接受每两周一次(每只小鼠20mg/kg)或每周一次(每只小鼠50mg/kg) Bc1.187注射3周。与AAV-HBV体内模型一致,对于20mg/kg和50mg/kg给药方案,用Bc1.187(而非非HBV抗体和核苷逆转录酶抑制剂对照)治疗,在病毒血症HUHEP小鼠中诱导循环HBsAg水平在dpi21下分别平均降低2.1和 $2\log_{10}$ 倍(图5B和图19A)。然而,HBV病毒血症在每周接受注射50mg/kg的Bc1.187的组中下降更有效(在dpi21下平均下降为 $1.76\log_{10}$,而20mg/kg为 $0.64\log_{10}$) (图5B)。在随访结束时,两只治疗前病毒血症低的小鼠对20mg/kg给药方案的应答显示出完全的病毒抑制(28.6%, n=7) (图5B和图19B)。在60%的小鼠(n=5)中最后一次注射50mg/kg Bc1.187后,循环HBsAg水平下降并在2周内无法检测到。在这些小鼠中,一只死亡,另一只经历病毒反弹,最后一只在治疗后在HBV病毒血症再次出现之前仍控制感染一个多月(图5B和图19B)。在Bc1.187抗体治疗后,HBeAg的循环水平也降低了,但与HBsAg相比程度较低(对于20mg/kg,在dpi21下的平均倍数变化为 $0.26\log_{10}$,对于50mg/kg的平均倍数变化为 $0.49\log_{10}$) (图5B)。人白蛋白的血清滴度在监测期间保持不变(图19C),表明植入是稳定的并且不受治疗影响。

[0824] 发明内容

[0825] 少数个体可以自然地清除慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染,并获得疫苗接种所赋予的免受再次感染的保护。为了检查对HBV的保护性体液应答,我们从HBV疫苗接种者和控制者的记忆B细胞中克隆了针对病毒表面糖蛋白S-SHBs的人抗体。我们发现来自自然控制者的S-SHBs记忆B细胞主要产生能够与几种病毒基因型交叉反应的中和抗体。人类中和HBV抗体由一组不同的免疫球蛋白基因编码,并识别S-SHBs抗原上的各种构象表位。引人注目的是,在HBV小鼠模型中,使用从控制者中分离出的强效交叉中和剂Bc1.187进行单一疗法可在体内抑制病毒血症,并导致治疗后控制某些动物的感染。因此,中和S-SHBs抗体可能在HBV的自发控制中发挥关键作用,并代表了有望在慢性感染人类中实现HBV功能性治愈的免疫疗法。

[0826] 本文所述的某些抗体的结果总结于下表2中。这总结了图3的结果。因此,“血清型”数据报告了HBV中和抗体对Adw和Ayw基因型D S-HBs蛋白的ELISA反应性(测量为图14中的AUC值)。“跨基因型结合”报告了HBV中和抗体对来自指定基因型的S-HBs抗原的反应性,以流式细胞术确定的结合S-HBs表达细胞的百分比表示。“突变型结合”与“跨基因型结合”相同,但不同的是描述的S-HBs突变型蛋白。IC₅₀值是针对来自基因型D的HBV病毒对原代人肝细胞感染的中和活性。表3提供了从ELISA图计算的EC₅₀值,显示所选抗体对重组HBV疫苗Engerix-B(Ayw)和GenHevac(Adw)的反应性(图3)。

[0827]

表 2

	血清型结合 (AUC)		跨基因型结合									突变型结合					HBV-gD 体外中和 (IC50 µg/ml)
	Adw	Ayw	A	B	C	D	E	F	G	H	I	T126A	M133T	Y134V	G145R	N146S	
Bv4.115	36	37	88	83	82	89	85	73	83	77	71	71	67	66	60	67	3.87E-06
Bc8.159	32	25	85	79	76	76	79	73	79	79	68	70	58	61	48	61	5.28E-05
Bv6.172	34	31	83	71	76	78	77	72	82	79	69	75	71	69	24	77	3.06E-06
Bc1.229	35	34	75	68	76	73	71	68	79	74	64	70	62	67	3	56	2.53E-05
Bc8.111	35	36	65	64	72	71	68	66	60	67	52	55	54	56	0	55	2.51E-06
Bc1.187	36	35	73	70	67	66	66	58	64	59	54	60	52	57	17	48	5.00E-08
Bc1.128	35	37	64	67	67	64	65	58	58	59	47	53	48	47	0	46	5.44E-04
Bc3.106	36	37	70	55	83	62	59	55	65	59	53	71	66	69	67	63	1.39E-07
Bc1.180	30	23	57	45	43	47	46	42	39	55	22	38	25	25	14	27	5.00E-08
Bv4.104	7	37	1	1	5	73	73	1	1	1	1	64	64	60	54	63	1.21E-06
Bc8.104	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.61E-06
Bc4-204	36	36	74	65	65	68	65	0	71	1	58	60	59	57	55	53	2.29E-04
Bc1.263	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.96E-06
Bv4.105	8	33	21	16	1	52	51	46	24	55	10	45	39	46	40	43	2.95E-06

[0828]

表 3

	血清型结合 (EC50 ug/ml)	
	Adw	Ayw
[0829]	Bv4.115	0.0277
	Bc8.159	0.0108
	Bv6.172	0.0065
	Bc1.229	0.0261
	Bc8.111	0.0089
	Bc1.187	0.0049
	Bc1.128	0.0072
	Bc3.106	0.0421
	Bc1.180	0.0653
	Bv4.104	6.5840
	Bc8.104	ND
	Bc4-204	0.0156
	Bc1.263	ND
	Bv4.105	8.9210
		0.0048

[0830] 讨论

[0831] 在慢性HBV感染中,大多数HBsAg特异性B细胞是非典型记忆淋巴细胞,表现出多种B细胞功能障碍,诸如分化为产生抗体的细胞的能力改变,从而可能产生HBV中和抗体(Burton等人,2018;Salimzadeh等人,2018)。相比之下,在急性期和慢性期治愈感染的个体的循环B细胞分泌可能参与血清转换的HBsAg抗体(Salimzadeh等人,2018;Xu等人,2015)。为了表征免疫供体中针对HBV表面抗原的记忆B细胞,我们研究了从HBV控制者和疫苗接种者的血液中循环的单一S-HBs特异性IgG⁺克隆的重组人抗体的分子和功能特性。我们的研究表明,尽管V_H1-J_H4编码克隆中度富集,但来自HBV控制者以及疫苗接种者的循环S-HBs特异性记忆B细胞,表达主要识别HBV表面糖蛋白上的构象表位的多种免疫球蛋白基因谱。从控制者克隆的大多数抗S-HBs IgG可以在体外中和HBV,其中一些在非常低的浓度下具有活性,包括针对抗HDV感染。在体内评估的强效中和剂还通过降低血清HBsAg水平和HBV病毒血症显示出抗病毒作用,这表明在受感染的人类中,这些抗体可能在功能上很重要。大多数HBV中和抗体对各种病毒基因型具有广泛反应性,并识别位于“a”决定簇中的表位,尽管其他抗体也位于该区域之外。鉴定了几个中和表位,包括涉及由有效的交叉中和抗体Bc1.187识别的S-HBs第二环的主要区域。在慢性HBV感染小鼠模型中,单次被动输注Bc1.187在体内特别有效,可在几天内完全抑制血清HBsAg和HBV病毒血症。有趣的是,我们在这里展示了Bc1.187的种系版本仍然可以结合和中和IC₅₀<0.1μg/ml的HBV。这表明表达这种免疫球蛋白的B细胞前体可以迅速亲和力成熟,因此很容易在中和HBV中发挥作用。

[0832] 目前治疗慢性HBV感染的疗法包括有效的直接抗病毒药物和PEG-IFNα。然而,抗病毒治疗对血清HBsAg水平没有显著影响,这主要是由于缺陷的亚病毒颗粒数量超过了传染性HBV病毒粒子。因此,绕过在慢性感染个体中观察到的免疫耐受,并诱导有效的抗HBV抗体应答仍然是一个重大挑战。一种有前途的策略是开发基于使用有效的HBV中和抗体的免疫疗法(Corti等人,2018;Gao等人,2017;Tu和Urban,2018)。小鼠和猴子的临床前模型,以及

慢性感染人类的几项I期临床试验表明中和HBV单克隆抗体的体内功效,当在受感染的受体中施用,通过抑制HBsAg并减少HBV DNA含量而改变感染过程(Eren等人,2000;Galun等人,2002;Lee等人,2019;Lever等人,1990;Li等人,2017;van Nunen等人,2001;张等人,2016;朱等人,2016)。在这项研究中,我们使用两种不同的小鼠模型表明,用有效的人类交叉中和抗体治疗病毒血症动物对HBV感染有深远的影响。Bc1.187疗法引起循环HBsAg和HBV DNA的快速丧失和/或显著减少,这种情况在治疗后在大多数小鼠中持续了数天至数周。体内实验还表明,低病毒血症小鼠可以在Bc1.187抗体治疗后清除HBV感染。抗体是多功能的免疫效应物。除了中和作用外,它们还可以发挥多种免疫效应子功能,诸如抗体依赖性细胞毒性(ADCC),它允许先天免疫细胞(诸如自然杀伤细胞(NK))杀伤受感染的细胞。ADCC活性是人类中和抗体对病毒诸如HIV-1和流感的治疗特性的关键组成部分(Bruel等人,2016;DiLillo等人,2014)。早期,补体依赖性裂解和ADCC参与了使用体外和体内系统对鼠抗S-HBs抗体的肝细胞杀伤活性(Shouval等人,1982a;Shouval等人,1982b)。最近,通过引发Fc依赖性效应子功能,已显示针对前S1区的人类中和HBV抗体具有部分持续病毒学抑制的治疗活性(Li等人,2017)。最后,通过利用宿主免疫系统进行抗体疗法可以刺激免疫应答,这是一种更好地理解并被称为疫苗样效应的特性(Pelegri等人,2015年),这种特性对于打破HBV诱导的免疫耐受方面可能是至关重要的。因此,我们建议除了阻断新发感染和可能通过Fc依赖性机制消除受感染的肝细胞外,还可以在慢性感染的患者中使用本文描述的一些有效的人类交叉中和HBV抗体来大大降低血清HBsAg水平。此类抗体确实可以充当强大的“抗原汇”,当与旨在恢复宿主先天性和适应性免疫应答的疗法,即,INF α 、治疗性疫苗、TLR激动剂、检查点抑制剂相结合时(Fanning等人,2019;Gehring和Protzer,2019;Maini和Burton,2019),可以促进病毒清除并最终导致对HBV感染的长期控制。

[0833] 实例6-Bc1.187和Bc1.187工程化改造的构建体的体外和体内药代动力学(PK)评估

[0834] 用于测量抗体回收和转胞吞作用(抗体回收和清除(ARC)测定)的体外脉冲追踪测定用于标记由两种已知机制驱动的潜在清除责任:1)非特异性清除-由非特异性结合/内化至细胞中驱动(pH=7.4时的ARC分数),以及2)FcRn介导的效应(pH=6时的ARC分数和ARC倍数偏移)。该测定提供了相对于已在人类中显示类似IgG的药代动力学的对照的这些参数的评估(有关该测定的进一步描述,请参阅MAbs.2017 7月;9(5):781-791.doi:10.1080/19420862.2017.1320008)。野生型IgG1 Bc1.187在pH 7.4和pH 6下分别显示0.28和4.97的ARC分数,导致17.8的ARC倍数偏移。这些值表明非特异性结合/内化到细胞中的可能性低,以及与IgG分子一致的FcRn循环。在测定中还评估了基于Bc1.187 IgG但具有额外FcRn修饰以增强FcRn结合(和再循环)的类似构建体,结果总结在表4中。数据显示,FcRn工程化改造可以增加ARC倍数偏移,这预示着较低的体内清除率。

[0835] 第二个体外测定,大分子非特异性清除测定(LUCA)用于评估人原代内皮细胞中的抗体清除率。该测定与表达内源性FcRn的量的内皮细胞吸收mAb的速率相关,并提供由非特异性吸收、FcRn循环和蛋白质降解产生的相对LUCA率。Bc1.187的相对LUCA率为0.05,表明标准化化合物motavizumab-YTE(相对LUCA率为0)和CD20-TCB(相对LUCA率为1)之间的细胞积累率。这也表明预测的人类Bc1.187的类似IgG特性。此外,在测定中测试了基于Bc1.187的FcRn工程化改造的构建体,结果总结在表4中。至于ARC测定,预计FcRn工程化改造的构建

体在体内具有较低的清除率。

[0836] 最后,在表达人类新生Fc受体的转基因小鼠(huFcRn-Tg小鼠)中评估了野生型Bc1.187 IgG和FcRn工程化改造的Bc1.187 IgG构建体的体内药代动力学,因为这些小鼠已被证明对人类PK具有预测性。(有关小鼠模型的进一步描述,请参阅28.Proetzel等人,Methods.2014;65:148-53;Roopenian等人,Methods Mol Biol.2016;1438:103-14;Avery LB等人,MAbs.2016;8:1064-78)。所有构建体均以5mg/kg的剂量静脉内施用,清除参数总结在表4中。对于所有测试的构建体,观察到这些小鼠中IgG在典型范围内的清除。综合这些体外和体内药代动力学基准研究表明,基于Bc1.187序列的中和抗体可能在人体中表现出类似IgG的药代动力学。蛋白质工程化改造可导致较低的预计清除率,这将为中和抗体带来显著优势,因为它有望转化为更长的HBsAg中和持续时间,或更长的临床给药间隔(即增加便利性和依从性)。

[0837] 表4:体外和体内测定的总结,以评估清除过程

	ARC-测定			Luca-测定	hFcRn-Tg小鼠
	ARC 分数 @pH = 6	ARC 分数 @pH = 7.4	ARC 倍数偏移	相对 LUCA 率	清除率 (mL/天/kg)
Bc1.187_huIgG1_wt	4.97	0.28	17.8	0.05	8.70
Bc1.187_huIgG1_YTE	28.2	0.55	51.1	-0.22	5.29
Bc1.187_huIgG1_HH	18.6	0.60	31.3	-0.14	8.30
Bc1.187_huIgG1_LAT	20.9	0.55	38.4	-0.25	6.24
Bc1.187_huIgG1_N434A	17.9	0.26	69.5	-0.14	9.08

[0839] 尽管为了清楚理解的目的先前已通过举例说明和实施方案相当详细地描述了本发明,但是这些描述和实施方案不应解释为限制本发明的范围。本文引用的所有专利和科学文献的公开内容均全文以引用方式明确地并入。

序列表

<110> 豪夫迈·罗氏有限公司

巴斯德研究院

<120> 抗 HBV 抗体及其使用方法

<130> 007935232

<160> 276

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 1

Asn Tyr Gly Met Gln

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 2

Ile Ile Trp Ala Asp Gly Thr Lys Gln Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 3

Asp Gly Leu Tyr Ala Ser Ala Pro Asn Asp Val

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Arg Ile Ser Thr Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 5

Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 6

Gln Gln Thr Tyr Thr Leu Pro Pro Asn

1 5

<210> 7

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 7

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 8

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 8

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala

1 5 10

<210> 9

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 9

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Phe Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met

1 5 10 15

Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 10

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 11

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 11

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 12

Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Lys Ser Pro Ser Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 13

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 13

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Ala Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Arg Pro Glu Asp Leu Gly Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 14

Ser Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 15

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 15

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Lys Ser Pro Ser Leu Leu Ile

35 40 45

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

<210> 16

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 16

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

<210> 17

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 17

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

1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Arg Ile Ser Thr Tyr			
	20	25	30
Leu Asn Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Lys Ser Pro Ser Leu Leu Ile			
	35	40	45
Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Ala			
	50	55	60
Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Arg Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Leu Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Thr Leu Pro Pro			
	85	90	95
Asn Ser Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala			
	100	105	110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly			
	115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala			
	130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln			
145	150	155	160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser			
	165	170	175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr			
	180	185	190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser			
	195	200	205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
210			
<210> 18			
<211> 450			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (344) .. (344)			
<223> Xaa = Gly 或不存在			
<400> 18			
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg			

1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr			
20	25	30	
Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ala Ile Ile Trp Ala Asp Gly Thr Lys Gln Tyr Tyr Gly Asp Ser Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Phe Lys Asn Thr Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys			
85	90	95	
Ala Arg Asp Gly Leu Tyr Ala Ser Ala Pro Asn Asp Val Trp Gly Gln			
100	105	110	
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val			
115	120	125	
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala			
130	135	140	
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
165	170	175	
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
180	185	190	
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys			
195	200	205	
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp			
210	215	220	
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly			
225	230	235	240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
245	250	255	
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu			
260	265	270	
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His			
275	280	285	
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg			
290	295	300	
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys			
305	310	315	320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Xaa Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
385	390	395
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
435	440	445
Gly Lys		
450		
<210> 19		
<211> 5		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 19		
Arg Ser Ala Val Ser		
1	5	
<210> 20		
<211> 17		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 20		
Arg Thr Ile Pro Leu Leu Arg Ile Ala Glu Tyr Ser Gln Thr Phe Gln		
1	5	10
15		
Gly		
<210> 21		
<211> 7		

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的构建体
<400> 21
Glu Gly Asp Gly Leu Asp Met
1 5
<210> 22
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的构建体
<400> 22
Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Asn Tyr Phe Ala
1 5 10
<210> 23
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的构建体
<400> 23
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5
<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的构建体
<400> 24
Gln Gln Phe Gly Ser Leu Pro Tyr Thr
1 5
<210> 25
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成的构建体

<400> 25

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Gly

20 25 30

<210> 26

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 26

Trp Val Arg His Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 27

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 27

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Phe Thr Asn Thr Val Tyr Met Glu

1 5 10 15

Leu Arg Ser Leu Thr Tyr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 28

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 28

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 29

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 29

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

1 5 10 15

Asn Arg Ala Thr Leu Ser Cys

20

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 30

Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Val Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 31

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 31

Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys

20

25

30

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 32

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 33

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 33

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

<210> 34

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 34

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

Thr Val Ser Ser

115

<210> 35

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 35

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

1 5 10 15

Asn Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Gly Ser Leu Pro

85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

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

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

180 185 190

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

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 36

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (340) .. (340)

<223> Xaa = Gly 或不存在

<400> 36

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Gly	Arg	Ser
			20					25						30	
Ala	Val	Ser	Trp	Val	Arg	His	Ala	Pro	Gly	Gln	Arg	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40						45	
Gly	Arg	Thr	Ile	Pro	Leu	Leu	Arg	Ile	Ala	Glu	Tyr	Ser	Gln	Thr	Phe
			50				55							60	
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Phe	Thr	Asn	Thr	Val	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Tyr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95
Ala	Arg	Glu	Gly	Asp	Gly	Leu	Asp	Met	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val
					100					105					110
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
					115					120					125
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
										135					140
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
145						150									160
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
						165									175
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
															185
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
															195
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
															210
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
															215
															220
															225
															230
															235
															240

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

<210> 37

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 37

Ser Tyr Ala Met Ser

1

5

<210> 38

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 38

Ala Phe Ser Gly Thr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 39

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 39

Asp Pro Gly His Thr Ser Asn Trp Arg Asp Asn Tyr Gln Tyr Tyr Gln

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 40

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly

1 5 10

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 41

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 42

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 43

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 43

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly

20 25 30

<210> 44

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 44

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Val Ser

1 5 10

<210> 45

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 45

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Lys

20 25 30

<210> 46

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 46

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 47

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 47

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 48

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 48

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

1 5 10 15

<210> 49

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 49

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr

1 5 10 15

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

20

25

30

<210> 50

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 50

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 51

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 51

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 52

<211> 128

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 52

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Ser Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Val

35	40	45
Ser Ala Phe Ser Gly Thr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		80
85	90	95
Ala Lys Asp Pro Gly His Thr Ser Asn Trp Arg Asp Asn Tyr Gln Tyr		
100	105	110
Tyr Gln Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser		
115	120	125
<210> 53		
<211> 214		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 53		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp		15
20	25	30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile		
35	40	45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Arg		80
85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala		
100	105	110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly		
115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		
130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
145	150	155
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser		160

	165		170		175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr					
	180		185		190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser					
	195		200		205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys					
210					
<210> 54					
<211> 458					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成的构建体					
<220>					
<221> MISC_FEATURE					
<222> (352) .. (352)					
<223> Xaa = Gly 或不存在					
<400> 54					
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly					
1 5 10 15					
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Ser Tyr					
20 25 30					
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Val					
35 40 45					
Ser Ala Phe Ser Gly Thr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val					
50 55 60					
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr					
65 70 75 80					
Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys					
85 90 95					
Ala Lys Asp Pro Gly His Thr Ser Asn Trp Arg Asp Asn Tyr Gln Tyr					
100 105 110					
Tyr Gln Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser					
115 120 125					
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys					
130 135 140					
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr					
145 150 155 160					
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser					

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 55

Gly Tyr Gly Met His

1 5

<210> 56

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 56

Phe Leu Trp His Asp Gly Thr Ser Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 57

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 57

Glu Asp Tyr Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 58

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 58

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Asn Tyr Lys Ser Val Ser

1 5 10

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 59

Glu Gly Thr Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 60

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 60

Cys Ser Tyr Ala Gly Ser Ser Thr Trp Leu

1 5 10

<210> 61

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 61

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 62

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 62

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala

1 5 10

<210> 63

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 63

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Met Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 64

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 65

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 65

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys

20

<210> 66

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 66

Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Met Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 67

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 67

Gly	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	His	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 68

Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu
1				5				10	

<210> 69

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 69

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

<210> 70

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 70

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

<210> 71

<211> 216

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 71

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

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

				85					90					95			
Ala	Arg	Glu	Asp	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Asn	Ala	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln		
				100					105					110			
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val		
				115					120					125			
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala		
				130					135					140			
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser		
145						150				155					160		
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val		
				165					170					175			
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro		
				180					185					190			
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys		
				195					200					205			
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp		
				210					215					220			
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly		
225						230				235					240		
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile		
				245					250					255			
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu		
				260					265					270			
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His		
				275					280					285			
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg		
				290					295					300			
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys		
305						310				315					320		
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu		
				325					330					335			
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Xaa	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr		
				340					345					350			
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu		
				355					360					365			
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp		
				370					375					380			
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val		
385						390				395					400		

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly Lys
 450

<210> 73

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 73

Arg Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 74

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 74

Ala Thr Ser Gly Ser Gly Ala Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 75

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 75

Pro Tyr Met Val Ala Ala Val Ala Arg Thr Val Asp Tyr

1 5 10

<210> 76

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 76

Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn Tyr Val Gln

1 5 10

<210> 77

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 77

Glu Asp Asn Glu Arg Pro Ser

1 5

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 78

Gln Ser Tyr Glu Ser Ser Asn Trp Val

1 5

<210> 79

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 79

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 80

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 80

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser

1 5 10

<210> 81

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 81

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

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys Ala Lys

20 25 30

<210> 82

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 82

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 83

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 83

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys

1 5 10 15

Thr Val Thr Ile Ser Cys

20

<210> 84

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 84

Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala Pro Thr Thr Val Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 85

<211> 34

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 85

Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser
1 5 10 15
Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr
20 25 30

Tyr Cys

<210> 86

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 86

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
1 5 10

<210> 87

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 87

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn
20 25 30

Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala Pro Thr Thr Val

<400> 89

Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	His	Ser	Val	Ser	Glu	Ser	Pro	Gly	Lys
1				5					10					15	
Thr	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly	Ser	Ile	Ala	Ser	Asn
			20					25					30		
Tyr	Val	Gln	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Ser	Ala	Pro	Thr	Thr	Val
		35					40					45			
Ile	Tyr	Glu	Asp	Asn	Glu	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser
	50					55					60				
Gly	Ser	Ile	Asp	Ser	Ser	Ser	Asn	Ser	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly
65					70					75					80
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Tyr	Glu	Ser
			85					90					95		
Ser	Asn	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gln
			100					105					110		
Pro	Lys	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu
		115					120					125			
Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr
	130					135					140				
Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro	Val	Lys
145					150					155					160
Ala	Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr
			165					170					175		
Ala	Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His
			180					185					190		
Arg	Ser	Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys
		195					200					205			
Thr	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser								
	210					215									

<210> 90

<211> 453

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (347) .. (347)

<223> Xaa = Gly 或不存在

<400> 90

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Arg	Tyr
			20						25					30	
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35						40					45	
Ser	Ala	Thr	Ser	Gly	Ser	Gly	Ala	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
			50						55					60	
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Asp	Asp	Thr	Ala	Phe	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95
Ala	Lys	Asp	Pro	Tyr	Met	Val	Ala	Ala	Val	Ala	Arg	Thr	Val	Asp	Tyr
					100					105					110
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
					115										125
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly
					130										140
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
145						150					155				160
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
					165						170				175
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
					180						185				190
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
					195										205
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys
					210										220
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu
225						230					235				240
Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
					245						250				255
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
					260						265				270
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
					275										285
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser
					290										300
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu

305	310	315	320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala			
	325	330	335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Xaa Gln Pro Arg Glu Pro			
	340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln			
	355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala			
	370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr			
385	390	395	400
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu			
	405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser			
	420	425	430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser			
	435	440	445

Leu Ser Pro Gly Lys

450

<210> 91

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 91

Asn Tyr Gly Val Thr

1 5

<210> 92

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 92

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Leu

1 5 10 15

Gly

<210> 93

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 93

Gln Gly Ser Ser Thr Trp Phe Ala Thr Leu Tyr Ala Phe Pro Ile

1 5 10 15

<210> 94

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 94

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

1 5 10

<210> 95

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 95

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 96

His Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Thr

1 5

<210> 97

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 97

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Ala	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Phe	Gly	Gly	Thr	Ser	Asn		
			20					25					30		

<210> 98

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 98

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

<210> 99

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 99

Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Arg	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ser
			20					25					30		

<210> 100

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 100

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

<210> 101

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 101

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys

20

<210> 102

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 102

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

1 5 10 15

<210> 103

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 103

Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Arg Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Ser Cys

20

25

30

<210> 104

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 104

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 105

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 105

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

<210> 106

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 106

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

	100		105		110
Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser					
	115		120		
<210> 107					
<211> 215					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成的构建体					
<400> 107					
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly					
1	5		10		15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Gly Asn					
	20		25		30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Val Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu					
	35		40		45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser					
	50		55		60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Gln					
65		70		75	80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Ser Cys His Gln Tyr Gly Ser Ser Pro					
	85		90		95
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala					
	100		105		110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser					
	115		120		125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu					
	130		135		140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser					
145		150		155	160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu					
	165		170		175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val					
	180		185		190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys					
	195		200		205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys					
	210		215		
<210> 108					

<211> 454

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (348) .. (348)

<223> Xaa = Gly 或不存在

<400> 108

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Ala	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Phe	Gly	Gly	Thr	Ser	Asn	Asn	Tyr
			20					25					30		
Gly	Val	Thr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Gln	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55				60					
Leu	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Arg	Thr	Ala	Tyr
65					70				75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85					90					95		
Ala	Ser	Gln	Gly	Ser	Ser	Thr	Trp	Phe	Ala	Thr	Leu	Tyr	Ala	Phe	Pro
		100						105					110		
Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
	115						120					125			
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly
	130					135					140				
Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
145				150					155					160	
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr
			165					170					175		
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
		180						185				190			
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn
	195						200					205			
Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro
	210					215				220					
Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu

225	230	235	240
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp			
	245	250	255
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp			
	260	265	270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly			
	275	280	285
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn			
	290	295	300
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp			
305	310	315	320
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro			
	325	330	335
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Xaa Gln Pro Arg Glu			
	340	345	350
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn			
	355	360	365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile			
	370	375	380
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr			
385	390	395	400
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys			
	405	410	415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys			
	420	425	430
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu			
	435	440	445
Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
450			
<210> 109			
<211> 5			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<400> 109			
Asn Tyr Trp Ile Thr			
1	5		
<210> 110			

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 110

Arg Ile Asp Thr Arg Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 111

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 111

Leu Ser Thr Thr Tyr Pro Leu Asn Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 112

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 112

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Asn Tyr Asp Val Asn

1 5 10

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 113

Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 114

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 114

Gln Ser Tyr Asp Thr Ser Leu Ser Gly Trp Val

1 5 10

<210> 115

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 115

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Ala Val Arg Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Gln Ala Ser Gly Phe Ser Phe Thr

20 25 30

<210> 116

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 116

Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 117

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 117

His Val Thr Ile Ser Ile Asp Arg Ser Ile Asn Thr Ala Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 118

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 118

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 119

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 119

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys

20

<210> 120

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 120

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

1 5 10 15

<210> 121

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 121

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser

1 5 10 15

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

20

25

30

<210> 122

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 122

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

1 5 10

<210> 123

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 123

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Asp Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Val

35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Thr Ser

85 90 95

Leu Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 124

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 124

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Ala Val Arg Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Gln Ala Ser Gly Phe Ser Phe Thr Asn Tyr

				20				25				30			
Trp	Ile	Thr	Trp	Val	Arg	Gln	Arg	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
				35				40				45			
Gly	Arg	Ile	Asp	Thr	Arg	Asp	Ser	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Ser	Pro	Ser	Phe
				50				55				60			
Gln	Gly	His	Val	Thr	Ile	Ser	Ile	Asp	Arg	Ser	Ile	Asn	Thr	Ala	Tyr
65				70				75				80			
Leu	Gln	Trp	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys
				85				90				95			
Ala	Arg	Leu	Ser	Thr	Thr	Tyr	Pro	Leu	Asn	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val
				100				105				110			
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser					
				115				120							
<210>				125											
<211>				217											
<212>				PRT											
<213>				人工序列											
<220>															
<223>				合成的构建体											
<400>				125											
Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	Gln
1				5				10				15			
Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ala	Asn
				20				25				30			
Tyr	Asp	Val	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Val
				35				40				45			
Leu	Ile	Tyr	Gly	Asn	Thr	Asn	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe
				50				55				60			
Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Thr	Gly	Leu
65				70				75				80			
Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Tyr	Asp	Thr	Ser
				85				90				95			
Leu	Ser	Gly	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly
				100				105				110			
Gln	Pro	Lys	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu
				115				120				125			
Glu	Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe
				130				135				140			
Tyr	Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro	Val

145	150	155	160
Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys			
	165	170	175
Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser			
	180	185	190
His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu			
	195	200	205
Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser			
210	215		
<210> 126			
<211> 453			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (347) .. (347)			
<223> Xaa = Gly 或不存在			
<400> 126			
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Ala Val Arg Lys Pro Gly Glu			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Gln Ala Ser Gly Phe Ser Phe Thr Asn Tyr			
	20	25	30
Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met			
	35	40	45
Gly Arg Ile Asp Thr Arg Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe			
	50	55	60
Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Arg Ser Ile Asn Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Leu Ser Thr Thr Tyr Pro Leu Asn Tyr Tyr Gly Met Asp Val			
	100	105	110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly			
	115	120	125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly			
	130	135	140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val			

145	150	155	160
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe			
	165	170	175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val			
	180	185	190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val			
	195	200	205
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys			
	210	215	220
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu			
225	230	235	240
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr			
	245	250	255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val			
	260	265	270
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val			
	275	280	285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser			
	290	295	300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu			
305	310	315	320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala			
	325	330	335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Xaa Gln Pro Arg Glu Pro			
	340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln			
	355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala			
	370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr			
385	390	395	400
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu			
	405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser			
	420	425	430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser			
	435	440	445
Leu Ser Pro Gly Lys			
450			

<210> 127

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 127

Asn Tyr His Ile His

1 5

<210> 128

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 128

Ile Ile Asn Pro Arg Arg Leu Ser Thr Ala Tyr Ala Pro Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 129

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 129

Asp Ala Gly Asp Asp Thr Ser Gly Pro Phe Asp Ser

1 5 10

<210> 130

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 130

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Thr Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 131

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 131

Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 132

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 132

Gln Gln Tyr Asn Thr Phe Ser

1 5

<210> 133

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 133

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Arg Ser Ser Gly Tyr Arg Phe Thr

20 25 30

<210> 134

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 134

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val Gly

1 5 10

<210> 135

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 135

Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr	Met	Glu
1				5				10					15		
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
			20					25					30		

<210> 136

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 136

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1			5				10			

<210> 137

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 137

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Thr	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1			5					10					15		
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys									
			20												

<210> 138

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 138

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Ser
1			5					10					15	

<210> 139

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 139

Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr
1				5				10					15		
Leu	Ser	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Asp	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 140

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 140

Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
1				5				10	

<210> 141

<211> 105

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 141

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

<210> 142

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 142

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

<210> 143

<211> 212

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 143

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

65	70	75	80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Phe Ser Phe			
	85	90	95
Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser			
	100	105	110
Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala			
	115	120	125
Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val			
	130	135	140
Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser			
145	150	155	160
Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr			
	165	170	175
Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys			
	180	185	190
Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn			
	195	200	205
Arg Gly Glu Cys			
210			
<210> 144			
<211> 451			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (345) .. (345)			
<223> Xaa = Gly 或不存在			
<400> 144			
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Arg Ser Ser Gly Tyr Arg Phe Thr Asn Tyr			
	20	25	30
His Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val			
	35	40	45
Gly Ile Ile Asn Pro Arg Arg Leu Ser Thr Ala Tyr Ala Pro Lys Phe			
	50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr			

65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asp Ala Gly Asp Asp Thr Ser Gly Pro Phe Asp Ser Trp Gly			
	100	105	110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser			
	115	120	125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala			
	130	135	140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val			
145	150	155	160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala			
	165	170	175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val			
	180	185	190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His			
	195	200	205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys			
	210	215	220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly			
225	230	235	240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met			
	245	250	255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His			
	260	265	270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val			
	275	280	285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr			
	290	295	300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly			
305	310	315	320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile			
	325	330	335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Xaa Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val			
	340	345	350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser			
	355	360	365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu			
	370	375	380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450

<210> 145

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 145

Asn Tyr Gly Met His

1 5

<210> 146

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 146

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

1 5 10 15

Gly

<210> 147

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 147

Glu Gly Leu Thr Ser Val Thr Met Leu Asp Ser

1 5 10

<210> 148

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 148

Arg Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Ser Phe Leu Asn

1 5 10

<210> 149

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 149

Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 150

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 150

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Phe Thr

1 5 10

<210> 151

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 151

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Val Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 152

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 152

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 153

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 153

Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Gly Ala Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 154

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 154

Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 155

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 155

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 156

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 156

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

1 5 10 15

<210> 157

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 157

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 158

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 158

Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

1 5 10

<210> 159

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 159

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

<210> 160

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 160

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

<210> 161

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 161

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Ser Phe
           20           25           30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
           35           40           45
His Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
           85           90           95
Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala
           100          105          110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
           115          120          125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
           130          135          140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145          150          155          160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
           165          170          175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
           180          185          190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
           195          200          205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
           210          215

```

<210> 162

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (344) .. (344)

<223> Xaa = Gly 或不存在

<400> 162

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Val	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asn	Tyr
			20					25					30		
Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Leu
		35					40					45			
Ala	Val	Ile	Trp	Asn	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55						60			
Lys	Gly	Arg	Phe	Ile	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70				75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Gly	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys
			85						90				95		
Ala	Arg	Glu	Gly	Leu	Thr	Ser	Val	Thr	Met	Leu	Asp	Ser	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		
Gly	Ala	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
		115					120					125			
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
		130					135					140			
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145					150				155					160	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
			165						170					175	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
		180						185					190		
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
		195					200					205			
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
		210				215					220				
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly
225					230					235				240	
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
			245						250					255	
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
		260						265					270		
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
		275					280					285			
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
	290					295						300			

Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
305					310					315					320
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu
				325					330					335	
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Xaa	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr
			340					345					350		
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
		355					360					365			
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp
370						375					380				
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val
385				390						395					400
Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp
				405					410					415	
Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His
			420					425					430		
Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro
		435					440						445		
Gly	Lys														
450															
<210>	163														
<211>	6														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	合成的构建体														
<400>	163														
Thr	Asn	Asn	Trp	Trp	Ser										
1				5											
<210>	164														
<211>	16														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	合成的构建体														
<400>	164														
Glu	Ile	His	His	Ile	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser
1				5				10					15		
<210>	165														

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 165

Gly Arg Leu Gly Ile Thr Arg Asp Arg Tyr Tyr Phe Asp Ser

1 5 10

<210> 166

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 166

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 167

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 167

Asp Thr Ser Ser Leu Glu Arg

1 5

<210> 168

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 168

Gln Gln Tyr Tyr Asn Leu Pro His Thr

1 5

<210> 169

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 169

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Gly
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Ser	Gly	Gly	Thr	Ile	Arg		
			20					25					30		

<210> 170

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 170

Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly
1			5					10					

<210> 171

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 171

Gln	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Lys	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Asn
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Leu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg
			20					25					30		

<210> 172

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 172

Trp	Gly	Arg	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5				10		

<210> 173

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 173

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 174

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 174

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

1 5 10 15

<210> 175

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 175

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr His Cys

20

25

30

<210> 176

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 176

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 177

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 177

```

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

```

<210> 178

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 178

```

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

```

	100		105		110
Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser					
115			120		
<210> 179					
<211> 214					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成的构建体					
<400> 179					
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Pro Leu Ser Val Ser Val Gly					
1	5		10		15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr					
20			25		30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile					
35			40		45
Tyr Asp Thr Ser Ser Leu Glu Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly					
50			55		60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro					
65			70		75
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr His Cys Gln Gln Tyr Tyr Asn Leu Pro His					
85			90		95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala					
100			105		110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly					
115			120		125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala					
130			135		140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln					
145			150		155
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser					
165			170		175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr					
180			185		190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser					
195			200		205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys					
210					
<210> 180					

<211> 453

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (347) .. (347)

<223> Xaa = Gly 或不存在

<400> 180

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Gly
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Ser	Gly	Gly	Thr	Ile	Arg	Thr	Asn
			20					25					30		
Asn	Trp	Trp	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
		35					40					45			
Ile	Gly	Glu	Ile	His	His	Ile	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu
	50					55				60					
Lys	Ser	Gln	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Lys	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser
65					70				75					80	
Leu	Asn	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Leu	Tyr	Tyr	Cys
			85					90					95		
Val	Arg	Gly	Arg	Leu	Gly	Ile	Thr	Arg	Asp	Arg	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Ser
		100						105					110		
Trp	Gly	Arg	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
		115					120					125			
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly
		130				135					140				
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
145					150				155					160	
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
			165					170					175		
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
		180						185					190		
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
		195					200					205			
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys
	210					215				220					
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu

225	230	235	240
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr			
	245	250	255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val			
	260	265	270
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val			
	275	280	285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser			
	290	295	300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu			
305	310	315	320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala			
	325	330	335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Xaa Gln Pro Arg Glu Pro			
	340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln			
	355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala			
	370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr			
385	390	395	400
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu			
	405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser			
	420	425	430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser			
	435	440	445
Leu Ser Pro Gly Lys			
450			
<210> 181			
<211> 5			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<400> 181			
Asn Tyr Gly Met His			
1	5		
<210> 182			

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的构建体
<400> 182
Phe Thr Ile Tyr Asp Gly Ser His Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 183
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的构建体
<400> 183
Asp Ser Asn Gly Phe Gly Val Leu Ser
1 5
<210> 184
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的构建体
<400> 184
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Asp Leu Gly
1 5 10
<210> 185
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的构建体
<400> 185
Gly Ala Ser Asn Leu Gln Arg
1 5
<210> 186
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 186

Leu Gln His Asn Ser Phe Pro Trp Thr

1 5

<210> 187

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 187

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser

20 25 30

<210> 188

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 188

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala

1 5 10

<210> 189

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 189

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Tyr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr

20 25 30

<210> 190

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 190

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 191

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 191

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 192

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 192

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

1 5 10 15

<210> 193

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 193

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 194

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 194

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 195

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 195

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ser Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Phe Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 196

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 196

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asn Tyr

			20				25				30					
Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
			35				40				45					
Ala	Phe	Thr	Ile	Tyr	Asp	Gly	Ser	His	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	
			50				55				60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
65					70				75				80			
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Tyr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
			85				90				95					
Ala	Thr	Asp	Ser	Asn	Gly	Phe	Gly	Val	Leu	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
			100				105				110					
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser											
			115													
<210>			197													
<211>			214													
<212>			PRT													
<213>			人工序列													
<220>																
<223>			合成的构建体													
<400>			197													
Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	
1				5				10				15				
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Arg	Ser	Asp	
			20				25				30					
Leu	Gly	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	
			35				40				45					
Tyr	Gly	Ala	Ser	Asn	Leu	Gln	Arg	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	
			50				55				60					
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	
65					70				75				80			
Glu	Asp	Phe	Ala	Ser	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	His	Asn	Ser	Phe	Pro	Trp	
			85				90				95					
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	
			100				105				110					
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	
			115				120				125					
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	
			130				135				140					
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	

145	150	155	160
Glu Ser Val Thr	Glu Gln Asp Ser Lys	Asp Ser Thr Tyr	Ser Leu Ser
	165	170	175
Ser Thr Leu Thr	Leu Ser Lys Ala Asp	Tyr Glu Lys His	Lys Val Tyr
	180	185	190
Ala Cys Glu Val Thr	His Gln Gly Leu Ser	Ser Pro Val Thr	Lys Ser
	195	200	205
Phe Asn Arg Gly	Glu Cys		
210			
<210> 198			
<211> 448			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (342) .. (342)			
<223> Xaa = Gly 或不存在			
<400> 198			
Glu Val Gln Leu Val	Glu Ser Gly Gly Gly	Val Val Gln Pro	Gly Arg
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser	Cys Ala Ala Ser	Gly Phe Ile Phe	Ser Asn Tyr
	20	25	30
Gly Met His Trp Val	Arg Gln Ala Pro	Gly Lys Gly Leu	Glu Trp Val
	35	40	45
Ala Phe Thr Ile Tyr	Asp Gly Ser His	Lys Tyr Tyr Ala	Asp Ser Val
	50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr	Ile Ser Arg Asp	Asn Ser Lys Asn	Thr Leu Tyr
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser	Leu Arg Tyr Glu	Asp Thr Ala Val	Tyr Tyr Cys
	85	90	95
Ala Thr Asp Ser Asn	Gly Phe Gly Val	Leu Ser Trp Gly	Gln Gly Thr
	100	105	110
Leu Val Thr Val Ser	Ser Ala Ser Thr	Lys Gly Pro Ser	Val Phe Pro
	115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser	Lys Ser Thr Ser	Gly Gly Thr Ala	Ala Leu Gly
	130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp	Tyr Phe Pro Glu	Pro Val Thr Val	Ser Trp Asn

145	150	155	160
Ser Gly Ala Leu Thr	Ser Gly Val His Thr	Phe Pro Ala Val	Leu Gln
165	170	175	
Ser Ser Gly Leu Tyr	Ser Leu Ser Ser	Val Val Thr Val	Pro Ser Ser
180	185	190	
Ser Leu Gly Thr Gln	Thr Tyr Ile Cys	Asn Val Asn His	Lys Pro Ser
195	200	205	
Asn Thr Lys Val Asp	Lys Lys Val Glu	Pro Lys Ser Cys	Asp Lys Thr
210	215	220	
His Thr Cys Pro Pro	Cys Pro Ala Pro	Glu Leu Leu Gly	Gly Pro Ser
225	230	235	240
Val Phe Leu Phe Pro	Pro Lys Pro Lys	Asp Thr Leu Met	Ile Ser Arg
245	250	255	
Thr Pro Glu Val Thr	Cys Val Val Val	Asp Val Ser His	Glu Asp Pro
260	265	270	
Glu Val Lys Phe Asn	Trp Tyr Val Asp	Gly Val Glu Val	His Asn Ala
275	280	285	
Lys Thr Lys Pro Arg	Glu Glu Gln Tyr	Asn Ser Thr Tyr	Arg Val Val
290	295	300	
Ser Val Leu Thr Val	Leu His Gln Asp	Trp Leu Asn Gly	Lys Glu Tyr
305	310	315	320
Lys Cys Lys Val Ser	Asn Lys Ala Leu	Pro Ala Pro Ile	Glu Lys Thr
325	330	335	
Ile Ser Lys Ala Lys	Xaa Gln Pro Arg	Glu Pro Gln Val	Tyr Thr Leu
340	345	350	
Pro Pro Ser Arg Asp	Glu Leu Thr Lys	Asn Gln Val Ser	Leu Thr Cys
355	360	365	
Leu Val Lys Gly Phe	Tyr Pro Ser Asp	Ile Ala Val Glu	Trp Glu Ser
370	375	380	
Asn Gly Gln Pro Glu	Asn Asn Tyr Lys	Thr Thr Pro Pro	Val Leu Asp
385	390	395	400
Ser Asp Gly Ser Phe	Phe Leu Tyr Ser	Lys Leu Thr Val	Asp Lys Ser
405	410	415	
Arg Trp Gln Gln Gly	Asn Val Phe Ser	Cys Ser Val Met	His Glu Ala
420	425	430	
Leu His Asn His Tyr	Thr Gln Lys Ser	Leu Ser Leu Ser	Pro Gly Lys
435	440	445	

<210> 199

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 199

Ser Tyr Gly Met Asn

1 5

<210> 200

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 200

Ile Ile Trp Phe Asp Gly Ser Gln Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 201

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 201

Gly Gly Ala Glu Glu Ser Thr Asn Trp Arg Phe Leu Trp Val Pro Arg

1 5 10 15

Tyr Tyr Tyr Tyr Met Asp Val

20

<210> 202

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 202

Ile Gly Thr Asn Ser Asp Phe Gly Arg Tyr Asp Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 203

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 203

Asp Val Ser Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 204

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 204

Cys Ser Tyr Ala Gly Ser Phe Asn Leu Val

1 5 10

<210> 205

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 205

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ala Phe Asn

20 25 30

<210> 206

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 206

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala

1 5 10

<210> 207

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 207

Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Arg	Ser	Thr	Asn	Thr	Leu	Phe	Leu	Gln
1				5				10					15		
Met	Asn	Asn	Leu	Arg	Ala	Asp	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
			20					25					30		

<210> 208

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 208

Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5				10		

<210> 209

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 209

Gln	Ser	Ala	Leu	Thr	Gln	Pro	Arg	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln
1				5				10					15		
Ser	Val	Thr	Ile	Ser	Cys										
			20												

<210> 210

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 210

Trp	Tyr	Gln	Gln	His	Pro	Asp	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5				10					15	

<210> 211

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 211

Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Tyr	Thr	Ala	Ser
1				5					10					15	
Leu	Ile	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln	Ala	Asp	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Phe	Cys
			20					25					30		

<210> 212

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 212

Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu
1				5					10

<210> 213

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 213

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

<210> 214

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 214

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ala Phe Asn Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Ile Ile Trp Phe Asp Gly Ser Gln Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Arg Ser Thr Asn Thr Leu Phe
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Ala Glu Glu Ser Thr Asn Trp Arg Phe Leu Trp Val
 100 105 110
 Pro Arg Tyr Tyr Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val
 115 120 125
 Thr Val Ser Ser
 130

<210> 215

<211> 216

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 215

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Ser Val Thr Ile Ser Cys Ile Gly Thr Asn Ser Asp Phe Gly Arg Tyr
 20 25 30
 Asp Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Asp Val Ser Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

<210> 216
 <211> 462
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的构建体
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (356) .. (356)
 <223> Xaa = Gly 或不存在
 <400> 216

50	55	60															
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Arg	Ser	Thr	Asn	Thr	Leu	Phe		
65					70					75				80			
Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Arg	Ala	Asp	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys		
			85						90					95			
Ala	Arg	Gly	Gly	Ala	Glu	Glu	Ser	Thr	Asn	Trp	Arg	Phe	Leu	Trp	Val		
			100						105				110				
Pro	Arg	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Thr	Val		
		115						120				125					
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala		
130							135				140						
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu		
145					150					155				160			
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly		
			165						170				175				
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser		
		180						185				190					
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu		
195							200				205						
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr		
210					215					220							
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr		
225					230					235				240			
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe		
			245							250				255			
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro		
		260						265					270				
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val		
		275					280					285					
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr		
290					295						300						
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val		
305					310					315				320			
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys		
			325						330				335				
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser		
		340						345				350					
Lys	Ala	Lys	Xaa	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro		
355							360					365					

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 370 375 380
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 385 390 395 400
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 405 410 415
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 420 425 430
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 435 440 445
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 217

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 217

Asn Tyr Gly Val Asn

1 5

<210> 218

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 218

Lys Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 219

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 219

Asp Arg Gly Gly Lys Pro Leu Tyr Ser Tyr Gly Tyr Gly Leu Asp Tyr

1	5	10	15
<210> 220			
<211> 11			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<400> 220			
Arg Ala Ser Leu Ser Val Ser Thr Tyr Leu Ala			
1	5	10	
<210> 221			
<211> 7			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<400> 221			
Asp Ala Ser Lys Arg Ala Thr			
1	5		
<210> 222			
<211> 6			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<400> 222			
Gln Gln Arg Ser Thr Thr			
1	5		
<210> 223			
<211> 30			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<400> 223			
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Arg Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser			
	20	25	30

<210> 224

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 224

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

<210> 225

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 225

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu

1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 226

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 226

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 227

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 227

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys

20

<210> 228

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 228

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

1 5 10 15

<210> 229

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 229

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 230

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 230

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 231

<211> 104

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 231

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

1 5 10 15

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

<210> 232

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 232

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

<210> 233

<211> 211

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 233

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Leu Ser Val Ser Thr Tyr
 20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Lys Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Thr Thr Phe Gly
 85 90 95
Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
 100 105 110
Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
115 120 125
Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
130 135 140
Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
145 150 155 160
Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
 165 170 175
Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
 180 185 190
Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
195 200 205
Gly Glu Cys
210

<210> 234

<211> 455

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (349) .. (349)

<223> Xaa = Gly 或不存在

<400> 234

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Asn	Tyr
			20					25						30	
Gly	Val	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Lys	Ile	Ile	Pro	Ile	Leu	Gly	Ile	Val	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55				60					
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90						95
Ala	Arg	Asp	Arg	Gly	Gly	Lys	Pro	Leu	Tyr	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Leu
			100					105						110	
Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr
		115					120						125		
Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser
	130					135						140			
Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu
145					150					155					160
Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His
				165					170					175	
Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser
			180						185					190	
Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys
		195					200					205			
Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu
	210					215					220				
Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
225					230					235					240
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
			245						250					255	
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
			260					265					270		
Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
	275						280						285		

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 290 295 300
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 305 310 315 320
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 325 330 335
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Xaa Gln Pro Arg
 340 345 350
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 355 360 365
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 370 375 380
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 385 390 395 400
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 405 410 415
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 420 425 430
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 435 440 445
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455
 <210> 235
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的构建体
 <400> 235
 Asp Tyr Pro Ile Met
 1 5
 <210> 236
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的构建体
 <400> 236
 Phe Ile Arg Ser Lys Ala Tyr Gly Gly Thr Ala Glu Tyr Ala Ala Ser

1	5	10	15
Val Lys Gly			
<210> 237			
<211> 19			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<400> 237			
Glu Gly Gly His Ser Gly Phe Trp Ser Gly Phe Asn Lys Ile Pro Thr			
1	5	10	15
Phe Asp Tyr			
<210> 238			
<211> 11			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<400> 238			
Arg Ala Ser Glu Thr Ile Arg Thr Tyr Leu Asn			
1	5	10	
<210> 239			
<211> 7			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<400> 239			
Ala Ala Ser Ser Val Gln Ser			
1	5		
<210> 240			
<211> 10			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<400> 240			
Gln Gln Ser Tyr Thr Ser Pro Trp Val Thr			
1	5	10	

<210> 241

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 241

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Phe Gly Phe Thr Phe Gly

20 25 30

<210> 242

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 242

Trp Val Arg Leu Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly

1 5 10

<210> 243

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 243

Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asp Ser Arg Ser Thr Ala Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg

20 25 30

<210> 244

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 244

Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser

1	5	10
<210> 245		
<211> 23		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 245		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly		
1	5	10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys		
20		
<210> 246		
<211> 15		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 246		
Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Ile Tyr		
1	5	10 15
<210> 247		
<211> 32		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 247		
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr		
1	5	10 15
Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys		
20 25 30		
<210> 248		
<211> 10		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 248		

Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

1 5 10

<210> 249

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 249

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Thr Ile Arg Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Thr Ser Pro Trp

85 90 95

Val Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 250

<211> 130

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 250

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Phe Gly Phe Thr Phe Gly Asp Tyr

20 25 30

Pro Ile Met Trp Val Arg Leu Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Phe Ile Arg Ser Lys Ala Tyr Gly Gly Thr Ala Glu Tyr Ala Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asp Ser Arg Ser Thr

65	70	75	80
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr			
	85	90	95
Tyr Cys Thr Arg Glu Gly Gly His Ser Gly Phe Trp Ser Gly Phe Asn			
	100	105	110
Lys Ile Pro Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val			
	115	120	125
Ser Ser			
130			
<210> 251			
<211> 215			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<400> 251			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Thr Ile Arg Thr Tyr			
	20	25	30
Leu Asn Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Ile			
	35	40	45
Tyr Ala Ala Ser Ser Val Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Thr Ser Pro Trp			
	85	90	95
Val Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala			
	100	105	110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser			
	115	120	125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu			
	130	135	140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser			
145	150	155	160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu			
	165	170	175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val			

180	185	190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys		
195	200	205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210	215	
<210> 252		
<211> 460		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (354) .. (354)		
<223> Xaa = Gly 或不存在		
<400> 252		
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Arg		
1 5 10 15		
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Phe Gly Phe Thr Phe Gly Asp Tyr		
20 25 30		
Pro Ile Met Trp Val Arg Leu Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35 40 45		
Gly Phe Ile Arg Ser Lys Ala Tyr Gly Gly Thr Ala Glu Tyr Ala Ala		
50 55 60		
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asp Ser Arg Ser Thr		
65 70 75 80		
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
85 90 95		
Tyr Cys Thr Arg Glu Gly Gly His Ser Gly Phe Trp Ser Gly Phe Asn		
100 105 110		
Lys Ile Pro Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val		
115 120 125		
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser		
130 135 140		
Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys		
145 150 155 160		
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu		
165 170 175		
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu		

	180		185		190
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr					
	195		200		205
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val					
	210		215		220
Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro					
225		230		235	240
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe					
	245		250		255
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val					
	260		265		270
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe					
	275		280		285
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro					
	290		295		300
Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr					
305		310		315	320
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val					
	325		330		335
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala					
	340		345		350
Lys Xaa Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg					
	355		360		365
Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly					
	370		375		380
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro					
385		390		395	400
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser					
	405		410		415
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln					
	420		425		430
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His					
	435		440		445
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
	450		455		460

<210> 253

<211> 226

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 253

```

Met Glu Asn Ile Thr Ser Gly Phe Leu Gly Pro Leu Leu Val Leu Gln
1           5           10           15
Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser Leu
           20           25           30
Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Thr Thr Val Cys
           35           40           45
Leu Gly Gln Asn Ser Gln Ser Pro Thr Ser Asn His Ser Pro Thr Ser
           50           55           60
Cys Pro Pro Thr Cys Pro Gly Tyr Arg Trp Met Cys Leu Arg Arg Phe
65           70           75           80
Ile Ile Phe Leu Phe Ile Leu Leu Leu Cys Leu Ile Phe Leu Leu Val
           85           90           95
Leu Leu Asp Tyr Gln Gly Met Leu Pro Val Cys Pro Leu Ile Pro Gly
           100          105          110
Ser Ser Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Arg Thr Cys Met Thr Thr Ala
           115          120          125
Gln Gly Thr Ser Met Tyr Pro Ser Cys Cys Cys Thr Lys Pro Ser Asp
           130          135          140
Gly Asn Cys Thr Cys Ile Pro Ile Pro Ser Ser Trp Ala Phe Gly Lys
145          150          155          160
Phe Leu Trp Glu Trp Ala Ser Ala Arg Phe Ser Trp Leu Ser Leu Leu
           165          170          175
Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu
           180          185          190
Ser Val Ile Trp Met Met Trp Tyr Trp Gly Pro Ser Leu Tyr Ser Ile
           195          200          205
Leu Ser Pro Phe Leu Pro Leu Leu Pro Ile Phe Phe Cys Leu Trp Val
           210          215          220

```

Tyr Ile

225

<210> 254

<211> 226

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 254

Met Glu Asn Ile Thr Ser Gly Phe Leu Gly Pro Leu Leu Val Leu Gln
 1 5 10 15
 Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser Leu
 20 25 30
 Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Ser Pro Val Cys
 35 40 45
 Leu Gly Gln Asn Ser Gln Ser Pro Thr Ser Asn His Ser Pro Thr Ser
 50 55 60
 Cys Pro Pro Ile Cys Pro Gly Tyr Arg Trp Met Cys Leu Arg Arg Phe
 65 70 75 80
 Ile Ile Phe Leu Phe Ile Leu Leu Leu Cys Leu Ile Phe Leu Leu Val
 85 90 95
 Leu Leu Asp Tyr Gln Gly Met Leu Pro Val Cys Pro Leu Ile Pro Gly
 100 105 110
 Ser Thr Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala
 115 120 125
 Gln Gly Asn Ser Met Phe Pro Ser Cys Cys Cys Thr Lys Pro Thr Asp
 130 135 140
 Gly Asn Cys Thr Cys Ile Pro Ile Pro Ser Ser Trp Ala Phe Ala Lys
 145 150 155 160
 Tyr Leu Trp Glu Trp Ala Ser Val Arg Phe Ser Trp Leu Ser Leu Leu
 165 170 175
 Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu
 180 185 190
 Ser Ala Ile Trp Met Met Trp Tyr Trp Gly Pro Ser Leu Tyr Ser Ile
 195 200 205
 Val Ser Pro Phe Ile Pro Leu Leu Pro Ile Phe Phe Cys Leu Trp Val
 210 215 220

Tyr Ile

225

<210> 255

<211> 226

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 255

Met Glu Asn Ile Ala Ser Gly Leu Leu Gly Pro Leu Leu Val Leu Gln

1	5	10	15
Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Lys Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser Leu			
20	25	30	
Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Thr Pro Val Cys			
35	40	45	
Leu Gly Gln Asn Ser Gln Ser Gln Ile Ser Ser His Ser Pro Thr Cys			
50	55	60	
Cys Pro Pro Ile Cys Pro Gly Tyr Arg Trp Met Cys Leu Arg Arg Phe			
65	70	75	80
Ile Ile Phe Leu Cys Ile Leu Leu Leu Cys Leu Ile Phe Leu Leu Val			
85	90	95	
Leu Leu Asp Tyr Gln Gly Met Leu Pro Val Cys Pro Leu Ile Pro Gly			
100	105	110	
Ser Ser Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Pro Ala			
115	120	125	
Gln Gly Thr Ser Met Phe Pro Ser Cys Cys Cys Thr Lys Pro Thr Asp			
130	135	140	
Gly Asn Cys Thr Cys Ile Pro Ile Pro Ser Ser Trp Ala Phe Ala Lys			
145	150	155	160
Tyr Leu Trp Glu Trp Ala Ser Val Arg Phe Ser Trp Leu Ser Leu Leu			
165	170	175	
Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu			
180	185	190	
Ser Val Ile Trp Met Met Trp Phe Trp Gly Pro Ser Leu Tyr Asn Ile			
195	200	205	
Leu Ser Pro Phe Met Pro Leu Leu Pro Ile Phe Phe Cys Leu Trp Val			
210	215	220	
Tyr Ile			
225			
<210> 256			
<211> 226			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<400> 256			
Met Glu Asn Thr Thr Ser Gly Phe Leu Gly Pro Leu Leu Val Leu Gln			
1	5	10	15
Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser Leu			

20	25	30
Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu	Asn Phe Leu Gly Gly Ala Pro Thr Cys	
35	40	45
Pro Gly Gln Asn Ser Gln Ser Pro Thr Ser Asn His Ser Pro Thr Ser		
50	55	60
Cys Pro Pro Ile Cys Pro Gly Tyr Arg Trp Met Cys Leu Arg Arg Phe		
65	70	75
Ile Ile Phe Leu Phe Ile Leu Leu Leu Cys Leu Ile Phe Leu Leu Val		
85	90	95
Leu Leu Asp Tyr Gln Gly Met Leu Pro Val Cys Pro Leu Leu Pro Gly		
100	105	110
Thr Ser Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Ile Pro Ala		
115	120	125
Gln Gly Thr Ser Met Phe Pro Ser Cys Cys Cys Thr Lys Pro Ser Asp		
130	135	140
Gly Asn Cys Thr Cys Ile Pro Ile Pro Ser Ser Trp Ala Phe Ala Arg		
145	150	155
Phe Leu Trp Glu Trp Ala Ser Val Arg Phe Ser Trp Leu Ser Leu Leu		
165	170	175
Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu		
180	185	190
Ser Val Ile Trp Met Met Trp Tyr Trp Gly Pro Ser Leu Tyr Asn Ile		
195	200	205
Leu Ser Pro Phe Leu Pro Leu Leu Pro Ile Phe Phe Cys Leu Trp Val		
210	215	220
Tyr Ile		
225		
<210> 257		
<211> 226		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 257		
Met Glu Asn Ile Thr Ser Gly Phe Leu Gly Pro Leu Leu Val Leu Gln		
1	5	10
Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser Leu		
20	25	30
Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Thr Thr Val Cys		

35	40	45
Leu Gly Gln Asn Ser Gln Ser Pro Thr Ser Asn His Ser Pro Thr Ser		
50	55	60
Cys Pro Pro Thr Cys Pro Gly Tyr Arg Trp Met Cys Leu Arg Arg Phe		
65	70	75
Ile Ile Phe Leu Phe Ile Leu Leu Leu Cys Leu Ile Phe Leu Leu Val		
85	90	95
Leu Leu Asp Tyr Gln Gly Met Leu Pro Val Cys Pro Leu Ile Pro Gly		
100	105	110
Ser Ser Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Arg Thr Cys Thr Thr Thr Ala		
115	120	125
Gln Gly Thr Ser Met Tyr Pro Ser Cys Cys Cys Thr Lys Pro Ser Asp		
130	135	140
Gly Asn Cys Thr Cys Ile Pro Ile Pro Ser Ser Trp Ala Phe Gly Lys		
145	150	155
Phe Leu Trp Glu Trp Ala Ser Ala Arg Phe Ser Trp Leu Ser Leu Leu		
165	170	175
Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu		
180	185	190
Ser Val Ile Trp Met Met Trp Tyr Trp Gly Pro Ser Leu Tyr Ser Ile		
195	200	205
Leu Ser Pro Phe Leu Pro Leu Leu Pro Ile Phe Phe Cys Leu Trp Val		
210	215	220
Tyr Ile		
225		
<210> 258		
<211> 226		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 258		
Met Glu Ser Ile Thr Ser Gly Phe Leu Gly Pro Leu Leu Val Leu Gln		
1	5	10
Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Lys Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser Leu		
20	25	30
Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Ala Pro Val Cys		
35	40	45
Leu Gly Gln Asn Ser Gln Ser Pro Thr Ser Asn His Ser Pro Thr Ser		

50	55	60
Cys Pro Pro Ile Cys	Pro Gly Tyr Arg Trp Met	Cys Leu Arg Arg Phe
65	70	75
Ile Ile Phe Leu Phe	Ile Leu Leu Leu Cys	Leu Ile Phe Leu Leu Val
85	90	95
Leu Leu Asp Tyr Gln Gly	Met Leu Pro Val Cys	Pro Leu Ile Pro Gly
100	105	110
Ser Ser Thr Thr Ser Thr	Gly Pro Cys Arg Thr	Cys Thr Thr Leu Ala
115	120	125
Gln Gly Thr Ser Met Phe	Pro Ser Cys Cys Cys	Ser Lys Pro Ser Asp
130	135	140
Gly Asn Cys Thr Cys Ile	Pro Ile Pro Ser Ser	Trp Ala Phe Gly Lys
145	150	155
Phe Leu Trp Glu Trp Ala	Ser Ala Arg Phe Ser	Trp Leu Ser Leu Leu
165	170	175
Val Pro Phe Val Gln Trp	Phe Ala Gly Leu Ser	Pro Thr Val Trp Leu
180	185	190
Ser Val Ile Trp Met Met	Trp Tyr Trp Gly Pro	Ser Leu Tyr Asn Ile
195	200	205
Leu Ser Pro Phe Ile Pro	Leu Leu Pro Ile Phe	Phe Cys Leu Trp Val
210	215	220
Tyr Ile		
225		
<210> 259		
<211> 226		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 259		
Met Asp Asn Ile Thr Ser	Gly Leu Leu Gly Pro	Leu Leu Val Leu Gln
1	5	10
Ala Val Cys Phe Leu Leu	Thr Lys Ile Leu Thr	Ile Pro Gln Ser Leu
20	25	30
Asp Ser Trp Trp Thr Ser	Leu Asn Phe Leu Gly	Gly Leu Pro Gly Cys
35	40	45
Pro Gly Gln Asn Ser Gln	Ser Pro Thr Ser Asn	His Leu Pro Thr Ser
50	55	60
Cys Pro Pro Thr Cys Pro	Gly Tyr Arg Trp Met	Cys Leu Arg Arg Phe

65	70	75	80
Ile Ile Phe Leu Phe	Ile Leu Leu Leu Cys	Leu Ile Phe Leu Leu Val	
	85	90	95
Leu Leu Asp Tyr Gln Gly Met Leu Pro Val Cys Pro Leu Leu Pro Gly			
100	105	110	
Ser Thr Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Lys Thr Cys Thr Thr Leu Ala			
115	120	125	
Gln Gly Thr Ser Met Phe Pro Ser Cys Cys Cys Ser Lys Pro Ser Asp			
130	135	140	
Gly Asn Cys Thr Cys Ile Pro Ile Pro Ser Ser Trp Ala Leu Gly Lys			
145	150	155	160
Tyr Leu Trp Glu Trp Ala Ser Ala Arg Phe Ser Trp Leu Ser Leu Leu			
165	170	175	
Val Gln Phe Val Gln Trp Cys Val Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu			
180	185	190	
Leu Val Ile Trp Met Ile Trp Tyr Trp Gly Pro Asn Leu Cys Ser Ile			
195	200	205	
Leu Ser Pro Phe Ile Pro Leu Leu Pro Ile Phe Cys Tyr Leu Trp Val			
210	215	220	
Ser Ile			
225			
<210> 260			
<211> 226			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的构建体			
<400> 260			
Met Glu Asn Ile Thr Ser Gly Phe Leu Gly Pro Leu Leu Val Leu Gln			
1	5	10	15
Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser Leu			
20	25	30	
Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Val Pro Val Cys			
35	40	45	
Pro Gly Leu Asn Ser Gln Ser Pro Thr Ser Asn His Ser Pro Ile Ser			
50	55	60	
Cys Pro Pro Thr Cys Pro Gly Tyr Arg Trp Met Cys Leu Arg Arg Phe			
65	70	75	80
Ile Ile Phe Leu Phe Ile Leu Leu Leu Cys Leu Ile Phe Leu Leu Val			

			85				90				95					
Leu	Leu	Asp	Tyr	Gln	Gly	Met	Leu	Pro	Val	Cys	Pro	Leu	Ile	Pro	Gly	
			100				105				110					
Ser	Ser	Thr	Thr	Ser	Thr	Gly	Pro	Cys	Lys	Thr	Cys	Thr	Thr	Pro	Ala	
			115				120				125					
Gln	Gly	Asn	Ser	Met	Tyr	Pro	Ser	Cys	Cys	Cys	Thr	Lys	Pro	Ser	Asp	
			130				135				140					
Gly	Asn	Cys	Thr	Cys	Ile	Pro	Ile	Pro	Ser	Ser	Trp	Ala	Phe	Ala	Lys	
145							150				155				160	
Tyr	Leu	Trp	Glu	Trp	Ala	Ser	Val	Arg	Phe	Ser	Trp	Leu	Ser	Leu	Leu	
			165				170				175					
Val	Pro	Phe	Val	Gln	Trp	Phe	Val	Gly	Leu	Ser	Pro	Thr	Val	Trp	Leu	
			180				185				190					
Ser	Ala	Ile	Trp	Met	Met	Trp	Tyr	Trp	Gly	Pro	Asn	Leu	Tyr	Asn	Ile	
			195				200				205					
Leu	Ser	Pro	Phe	Ile	Pro	Leu	Leu	Pro	Ile	Phe	Phe	Cys	Leu	Trp	Val	
210							215				220					
Tyr		Ile														
225																
<210>		261														
<211>		226														
<212>		PRT														
<213>		人工序列														
<220>																
<223>		合成的构建体														
<400>		261														
Met	Glu	Asn	Ile	Thr	Ser	Gly	Leu	Leu	Gly	Pro	Leu	Leu	Val	Leu	Gln	
1				5					10					15		
Ala	Val	Cys	Phe	Leu	Leu	Thr	Lys	Ile	Leu	Thr	Ile	Pro	Gln	Ser	Leu	
			20				25				30					
Asp	Ser	Trp	Trp	Thr	Ser	Leu	Asn	Phe	Leu	Gly	Val	Pro	Pro	Gly	Cys	
			35				40				45					
Pro	Gly	Gln	Asn	Ser	Gln	Ser	Pro	Ile	Ser	Asn	His	Leu	Pro	Thr	Ser	
50						55						60				
Cys	Pro	Pro	Thr	Cys	Pro	Gly	Tyr	Arg	Trp	Met	Cys	Leu	Arg	Arg	Phe	
65						70				75				80		
Ile	Ile	Phe	Leu	Phe	Ile	Leu	Leu	Leu	Cys	Leu	Ile	Phe	Leu	Leu	Val	
			85				90				95					
Leu	Leu	Asp	Tyr	Gln	Gly	Met	Leu	Pro	Val	Cys	Pro	Leu	Leu	Pro	Gly	

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

115	120	125
Gln Gly Asn Ser Met Tyr Pro	Ser Cys Cys Cys Thr Lys Pro Thr Asp	
130	135	140
Gly Asn Cys Thr Cys Ile Pro Ile Pro Ser Ser Trp Ala Phe Ala Lys		
145	150	155
Tyr Leu Trp Glu Trp Ala Ser Ala Arg Phe Ser Trp Leu Ser Leu Leu		
165	170	175
Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu		
180	185	190
Ser Val Ile Trp Met Met Trp Tyr Trp Gly Pro Ser Leu Tyr Asn Ile		
195	200	205
Leu Ser Pro Phe Ile Pro Leu Leu Pro Ile Phe Phe Cys Leu Trp Val		
210	215	220
Tyr Ile		
225		
<210> 263		
<211> 450		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 263		
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr		
20	25	30
Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ala Ile Ile Trp Ala Asp Gly Thr Lys Gln Tyr Tyr Gly Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Phe Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys		
85	90	95
Ala Arg Asp Gly Leu Tyr Ala Ser Ala Pro Asn Asp Val Trp Gly Gln		
100	105	110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val		
115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala		

130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser		
145	150	155
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val		
165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro		
180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys		
195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp		
210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly		
225	230	235
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		
245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu		
260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg		
290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
305	310	315
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
385	390	395
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
435	440	445

Gly Lys

450

<210> 264

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 264

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Gly Arg Ser

20 25 30

Ala Val Ser Trp Val Arg His Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Thr Ile Pro Leu Leu Arg Ile Ala Glu Tyr Ser Gln Thr Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Phe Thr Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Tyr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Asp Gly Leu Asp Met Trp Gly Gln Gly Thr Met Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro																	
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val																	
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr																	
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val																	
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys																	
305																	320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser																	
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro																	
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val																	
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly																	
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp																	
385																	400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp																	
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His																	
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys																	
<210> 265																	
<211> 458																	
<212> PRT																	
<213> 人工序列																	
<220>																	
<223> 合成的构建体																	
<400> 265																	
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly																	
1																	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Ser Tyr																	
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Val																	

Ser	Ala	Phe	Ser	Gly	Thr	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
50						55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70				75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
			85						90					95	
Ala	Lys	Asp	Pro	Gly	His	Thr	Ser	Asn	Trp	Arg	Asp	Asn	Tyr	Gln	Tyr
			100					105					110		
Tyr	Gln	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser
			115					120					125		
Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
			130				135				140				
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
145					150					155					160
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
					165					170				175	
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
			180						185					190	
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
			195					200						205	
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			210				215					220			
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
225					230					235					240
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
					245					250				255	
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
			260						265					270	
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
			275					280					285		
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			290				295						300		
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
305					310					315					320
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
					325					330				335	
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
			340						345					350	
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu

355	360	365
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
370	375	380
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
385	390	395
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		400
405	410	415
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
420	425	430
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
435	440	445
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
450	455	
<210> 266		
<211> 450		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 266		
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr		15
20	25	30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ala Phe Leu Trp His Asp Gly Thr Ser Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Met Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		80
85	90	95
Ala Arg Glu Asp Tyr Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln		
100	105	110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val		
115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala		
130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser		

145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
	165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
	180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys			
	195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp			
	210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly			
225	230	235	240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
	245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu			
	260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His			
	275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg			
	290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys			
305	310	315	320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu			
	325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr			
	340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu			
	355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp			
	370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val			
385	390	395	400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp			
	405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His			
	420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro			
	435	440	445
Gly Lys			
450			

<210> 267

<211> 453

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 267

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Arg	Tyr	20	25	30	
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	35	40	45	
Ser	Ala	Thr	Ser	Gly	Ser	Gly	Ala	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	50	55	60	
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	65	70	75	80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Asp	Asp	Thr	Ala	Phe	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ala	Lys	Asp	Pro	Tyr	Met	Val	Ala	Ala	Val	Ala	Arg	Thr	Val	Asp	Tyr	100	105	110	
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	115	120	125	
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	130	135	140	
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	145	150	155	160
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	165	170	175	
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	180	185	190	
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	195	200	205	
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	210	215	220	
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	225	230	235	240
Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	245	250	255	

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val																			
260																			
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val																			
275																			
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser																			
290																			
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu																			
305																			
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala																			
325																			
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro																			
340																			
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln																			
355																			
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala																			
370																			
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr																			
385																			
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu																			
405																			
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser																			
420																			
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser																			
435																			
Leu Ser Pro Gly Lys																			
450																			
<210> 268																			
<211> 454																			
<212> PRT																			
<213> 人工序列																			
<220>																			
<223> 合成的构建体																			
<400> 268																			
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Ala Gly Ser																			
1																			
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Gly Thr Ser Asn Asn Tyr																			
20																			
Gly Val Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Met																			
35																			
40																			
45																			

Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
50						55					60				
Leu	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Arg	Thr	Ala	Tyr
65					70				75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85					90					95		
Ala	Ser	Gln	Gly	Ser	Ser	Thr	Trp	Phe	Ala	Thr	Leu	Tyr	Ala	Phe	Pro
		100					105				110				
Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
	115					120					125				
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly
	130					135					140				
Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
145				150					155					160	
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr
			165					170					175		
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
		180						185					190		
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn
	195						200					205			
Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro
	210					215					220				
Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu
225				230					235					240	
Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp
			245					250					255		
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
		260						265					270		
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly
	275					280					285				
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn
	290					295					300				
Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp
305				310					315					320	
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro
			325					330					335		
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu
		340						345					350		
Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn

355	360	365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile		
370	375	380
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr		
385	390	395
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys		
405	410	415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys		
420	425	430
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu		
435	440	445
Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
450		
<210> 269		
<211> 453		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 269		
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Ala Val Arg Lys Pro Gly Glu		
1	5	10
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Gln Ala Ser Gly Phe Ser Phe Thr Asn Tyr		
20	25	30
Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met		
35	40	45
Gly Arg Ile Asp Thr Arg Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe		
50	55	60
Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Arg Ser Ile Asn Thr Ala Tyr		
65	70	75
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Leu Ser Thr Thr Tyr Pro Leu Asn Tyr Tyr Gly Met Asp Val		
100	105	110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly		
115	120	125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly		
130	135	140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val		

145	150	155	160
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe			
	165	170	175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val			
	180	185	190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val			
	195	200	205
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys			
	210	215	220
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu			
225	230	235	240
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr			
	245	250	255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val			
	260	265	270
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val			
	275	280	285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser			
	290	295	300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu			
305	310	315	320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala			
	325	330	335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro			
	340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln			
	355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala			
	370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr			
385	390	395	400
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu			
	405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser			
	420	425	430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser			
	435	440	445
Leu Ser Pro Gly Lys			
450			

<210> 270

<211> 451

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 270

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gly	Tyr	Arg	Phe	Thr	Asn	Tyr
			20					25						30	
His	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35				40					45			
Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Arg	Arg	Leu	Ser	Thr	Ala	Tyr	Ala	Pro	Lys	Phe
			50				55				60				
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr
65					70				75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85				90					95	
Ala	Arg	Asp	Ala	Gly	Asp	Asp	Thr	Ser	Gly	Pro	Phe	Asp	Ser	Trp	Gly
			100					105						110	
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
			115					120					125		
Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala
			130					135					140		
Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
145					150					155				160	
Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
				165					170					175	
Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
				180					185					190	
Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
				195				200						205	
Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
				210				215						220	
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
225					230					235				240	
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
				245						250				255	

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His																			
260																			
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val																			
275																			
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr																			
290																			
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly																			
305																			
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile																			
325																			
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val																			
340																			
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser																			
355																			
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu																			
370																			
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro																			
385																			
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val																			
405																			
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met																			
420																			
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser																			
435																			
Pro Gly Lys																			
450																			
<210> 271																			
<211> 450																			
<212> PRT																			
<213> 人工序列																			
<220>																			
<223> 合成的构建体																			
<400> 271																			
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg																			
1																			
Ser Leu Arg Val Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr																			
20																			
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu																			
35																			
40																			
45																			

Ala Val Ile Trp Asn Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
80		
Leu Gln Met Asn Ser Leu Gly Ala Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Glu Gly Leu Thr Ser Val Thr Met Leu Asp Ser Trp Gly Gln		
100	105	110
Gly Ala Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val		
115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala		
130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser		
145	150	155
160		
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val		
165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro		
180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys		
195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp		
210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly		
225	230	235
240		
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		
245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu		
260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg		
290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
305	310	315
320		
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		

355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
385	390	395
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
435	440	445
Gly Lys		
450		
<210> 272		
<211> 453		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 272		
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly		
1	5	10
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Thr Ile Arg Thr Asn		
20	25	30
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp		
35	40	45
Ile Gly Glu Ile His His Ile Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu		
50	55	60
Lys Ser Gln Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser		
65	70	75
Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Val Arg Gly Arg Leu Gly Ile Thr Arg Asp Arg Tyr Tyr Phe Asp Ser		
100	105	110
Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly		
115	120	125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly		
130	135	140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val		

145	150	155	160
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe			
	165	170	175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val			
	180	185	190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val			
	195	200	205
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys			
	210	215	220
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu			
225	230	235	240
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr			
	245	250	255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val			
	260	265	270
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val			
	275	280	285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser			
	290	295	300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu			
305	310	315	320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala			
	325	330	335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro			
	340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln			
	355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala			
	370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr			
385	390	395	400
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu			
	405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser			
	420	425	430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser			
	435	440	445
Leu Ser Pro Gly Lys			
450			

<210> 273

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 273

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Asn	Tyr
			20					25					30		
Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35				40						45			
Ala	Phe	Thr	Ile	Tyr	Asp	Gly	Ser	His	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70				75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Tyr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85					90					95		
Ala	Thr	Asp	Ser	Asn	Gly	Phe	Gly	Val	Leu	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
		100						105					110		
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
	115					120						125			
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
	130					135					140				
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
145				150					155					160	
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
			165					170					175		
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
		180						185					190		
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
	195					200						205			
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
	210					215					220				
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
225					230					235				240	
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
			245						250					255	

<210> 274
 <211> 462
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的构建体
 <400> 274
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ala Phe Asn Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Ile Ile Trp Phe Asp Gly Ser Gln Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Arg Ser Thr Asn Thr Leu Phe			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Gly Gly Ala Glu Glu Ser Thr Asn Trp Arg Phe Leu Trp Val			
	100	105	110
Pro Arg Tyr Tyr Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val			
	115	120	125
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala			
	130	135	140
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu			
145	150	155	160
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly			
	165	170	175
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser			
	180	185	190
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu			
	195	200	205
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr			
	210	215	220
Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr			
225	230	235	240
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe			
	245	250	255
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro			
	260	265	270
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val			
	275	280	285
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr			
	290	295	300
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val			
305	310	315	320
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys			
	325	330	335
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser			
	340	345	350
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro			
	355	360	365
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val			

370	375	380
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly		
385	390	395
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp		400
405	410	415
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp		
420	425	430
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His		
435	440	445
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
450	455	460
<210> 275		
<211> 455		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 275		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser		
1	5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Arg Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asn Tyr		15
20	25	30
Gly Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35	40	45
Gly Lys Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe		
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		80
85	90	95
Ala Arg Asp Arg Gly Gly Lys Pro Leu Tyr Ser Tyr Gly Tyr Gly Leu		
100	105	110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr		
115	120	125
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser		
130	135	140
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu		
145	150	155
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His		160

				165					170					175			
Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser		
				180					185					190			
Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys		
				195				200						205			
Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu		
				210				215						220			
Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro		
225						230				235				240			
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys		
				245					250					255			
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val		
				260					265					270			
Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp		
				275				280						285			
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr		
				290				295						300			
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp		
305						310				315				320			
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu		
				325					330					335			
Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg		
				340					345					350			
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys		
				355					360					365			
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp		
				370					375					380			
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys		
385						390				395				400			
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser		
				405					410					415			
Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser		
				420					425					430			
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser		
				435					440					445			
Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys											
				450					455								
<210>	276																
<211>	460																

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 276

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Arg
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ser	Ala	Phe	Gly	Phe	Thr	Phe	Gly	Asp	Tyr
			20					25					30		
Pro	Ile	Met	Trp	Val	Arg	Leu	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Gly	Phe	Ile	Arg	Ser	Lys	Ala	Tyr	Gly	Gly	Thr	Ala	Glu	Tyr	Ala	Ala
	50					55					60				
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Thr	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Arg	Ser	Thr
65				70					75					80	
Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
			85					90					95		
Tyr	Cys	Thr	Arg	Glu	Gly	Gly	His	Ser	Gly	Phe	Trp	Ser	Gly	Phe	Asn
		100						105					110		
Lys	Ile	Pro	Thr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Ser	Leu	Val	Thr	Val
	115						120					125			
Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser
	130					135				140					
Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys
145				150						155				160	
Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu
			165						170				175		
Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu
		180						185					190		
Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr
	195						200					205			
Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val
	210					215						220			
Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro
225				230						235				240	
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
			245						250				255		
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
		260						265					270		

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

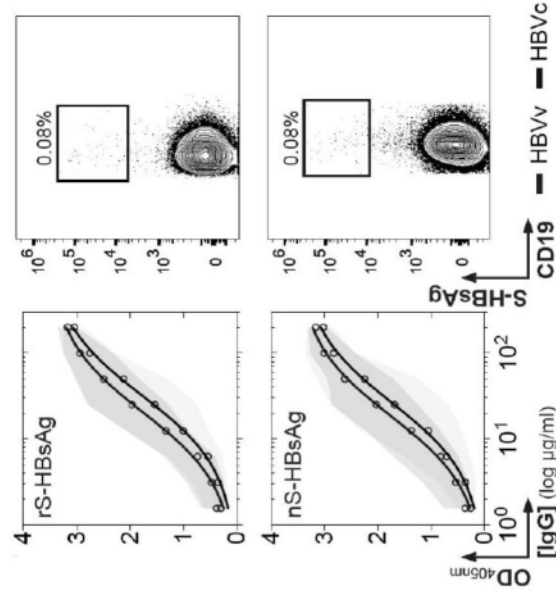


图1A

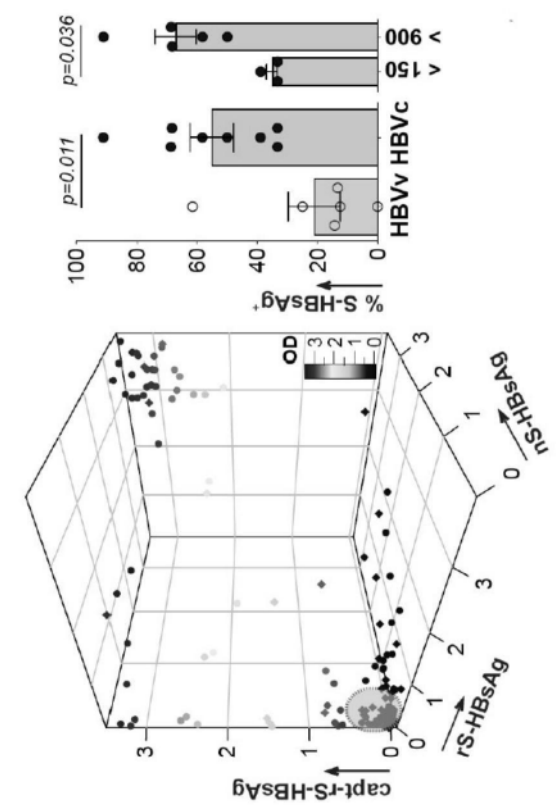


图1B

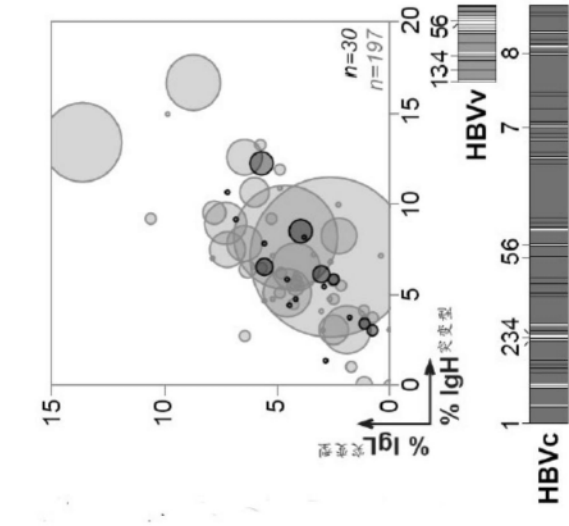


图1C

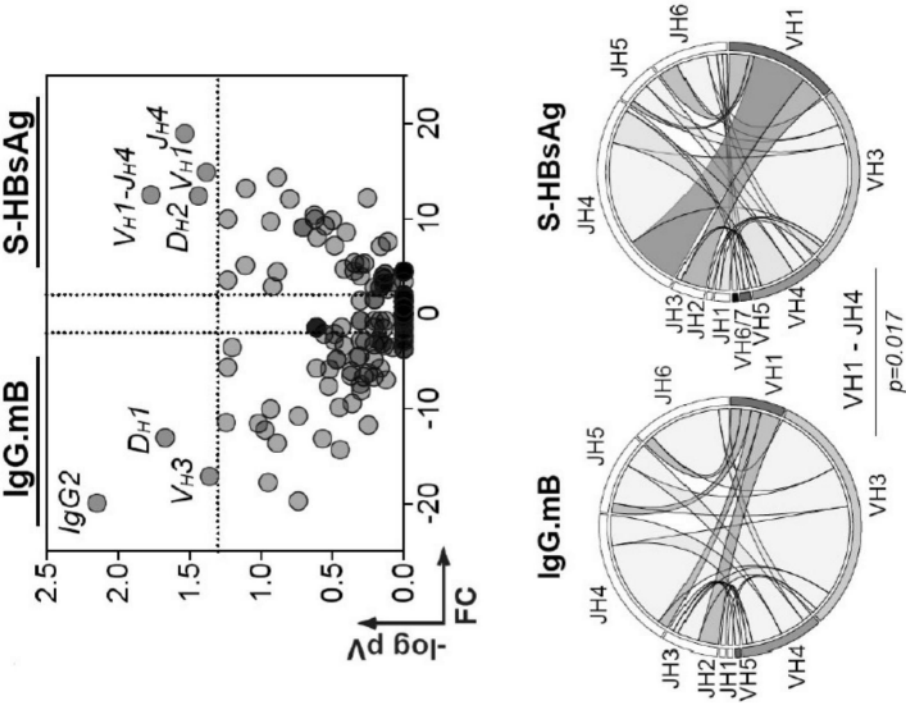


图1D

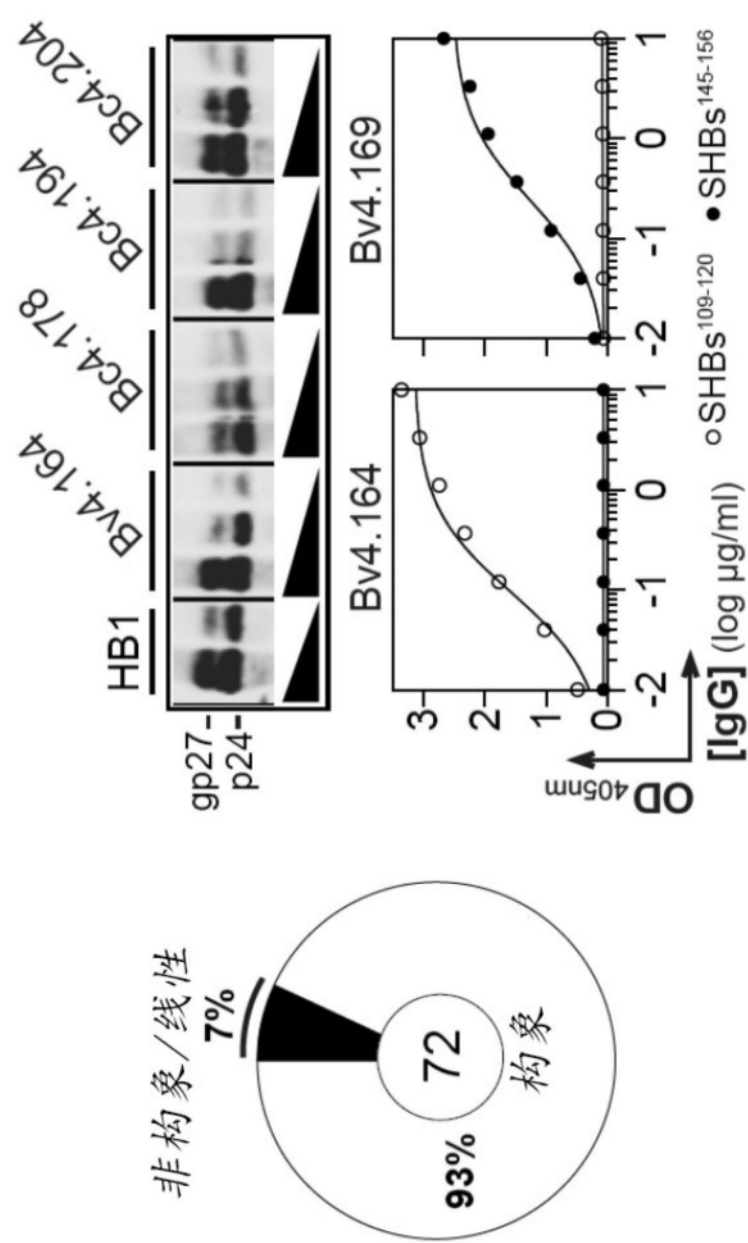


图1E

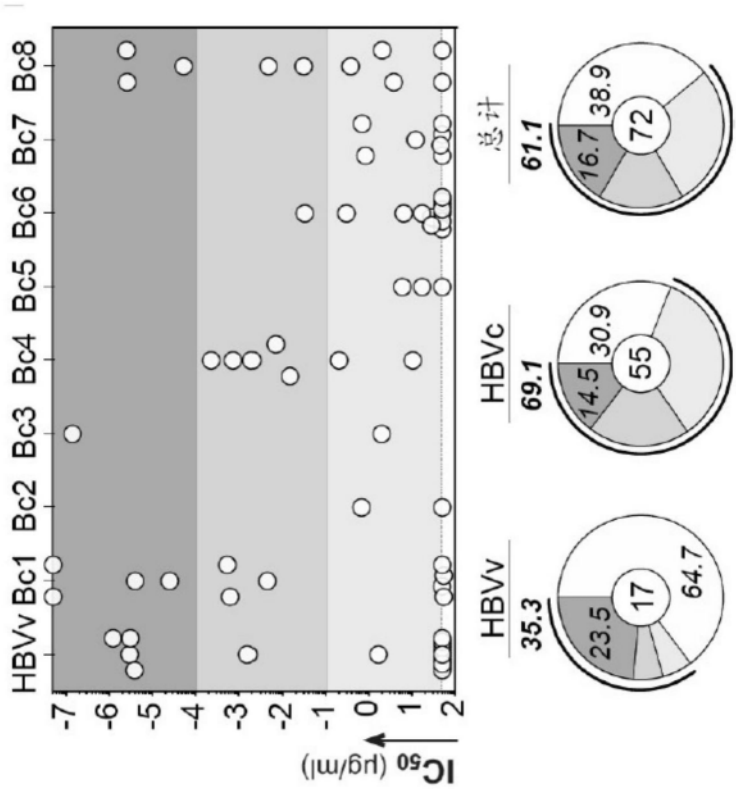


图2A

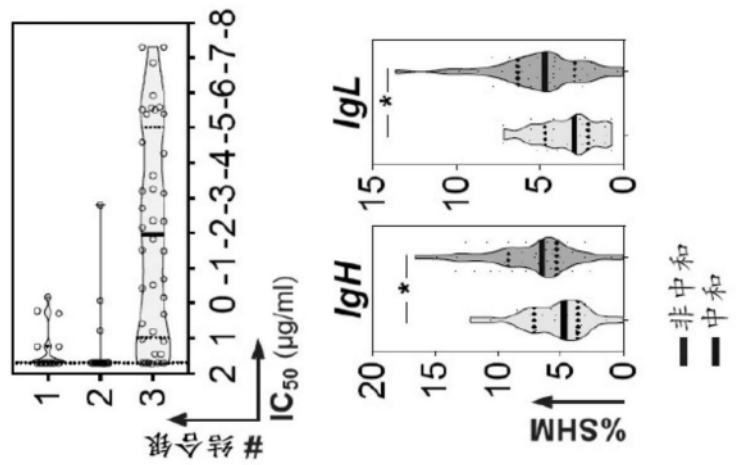


图2B

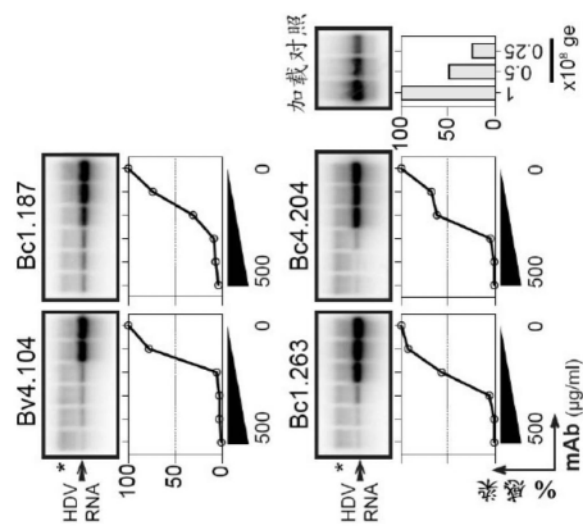


图2C

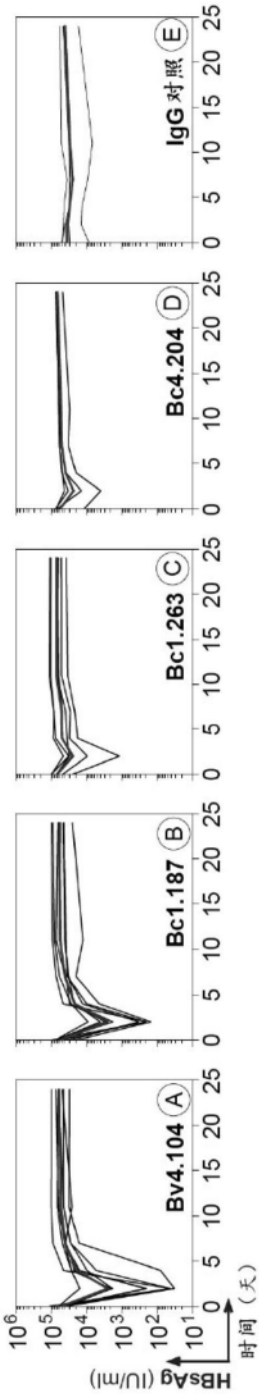


图2D

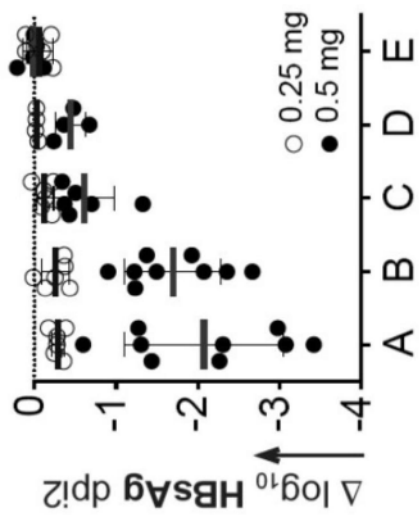


图2E

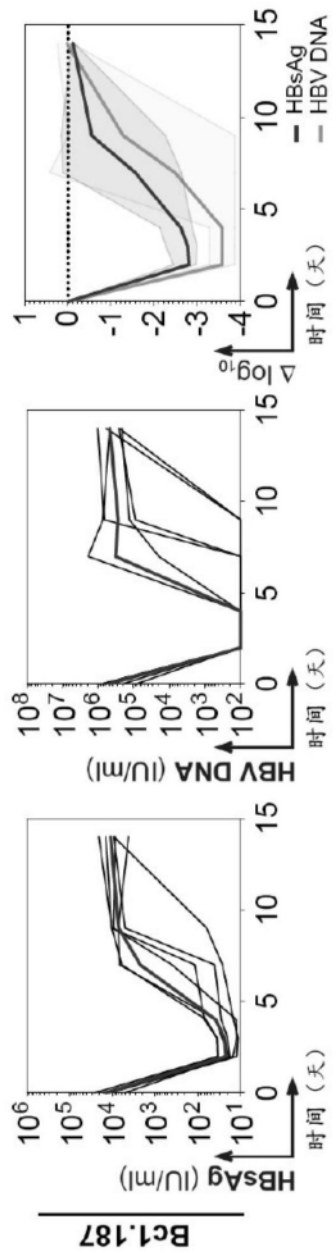


图2F

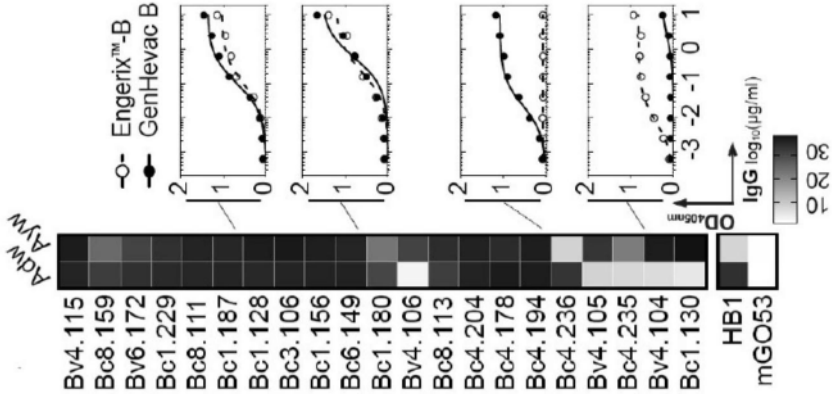


图3A

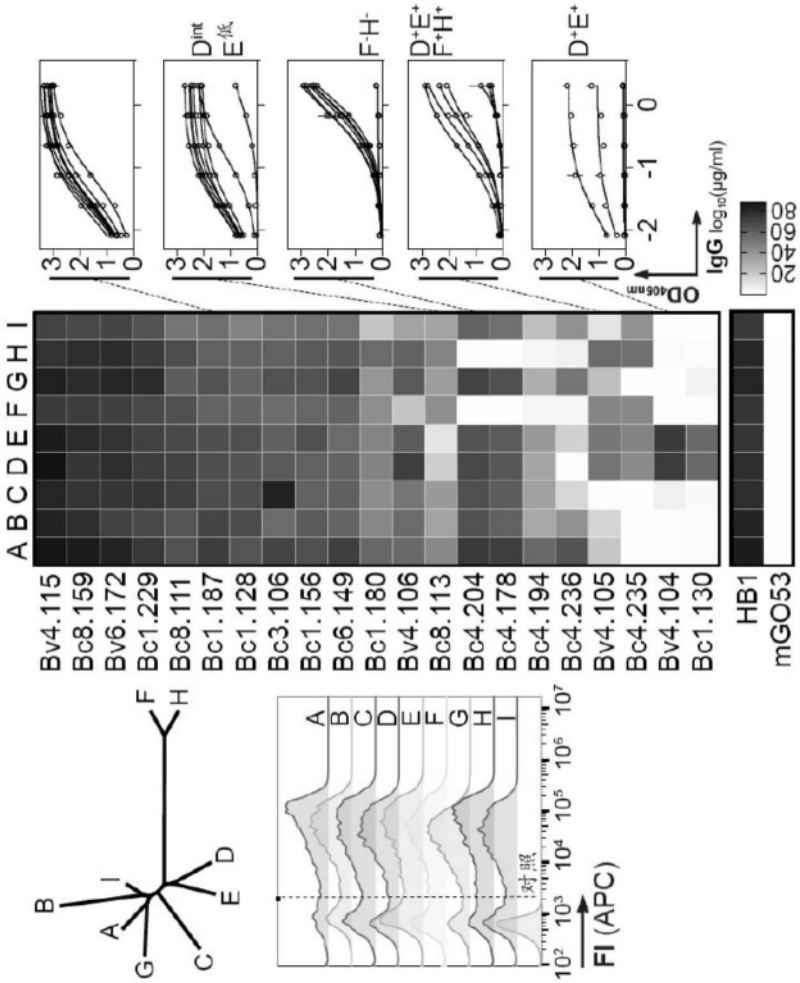


图3B

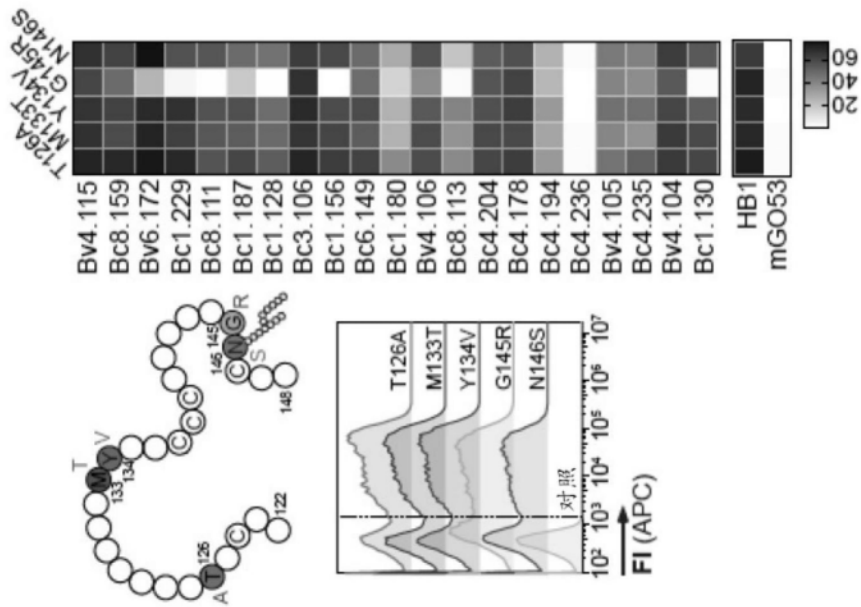


图3C

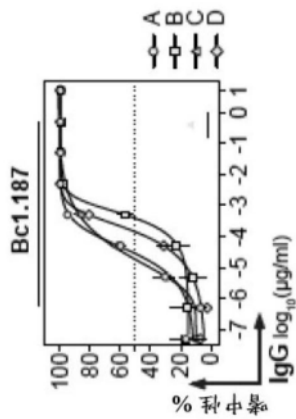


图3D

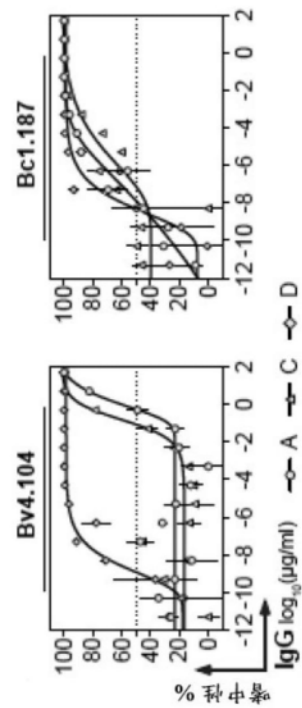


图3E

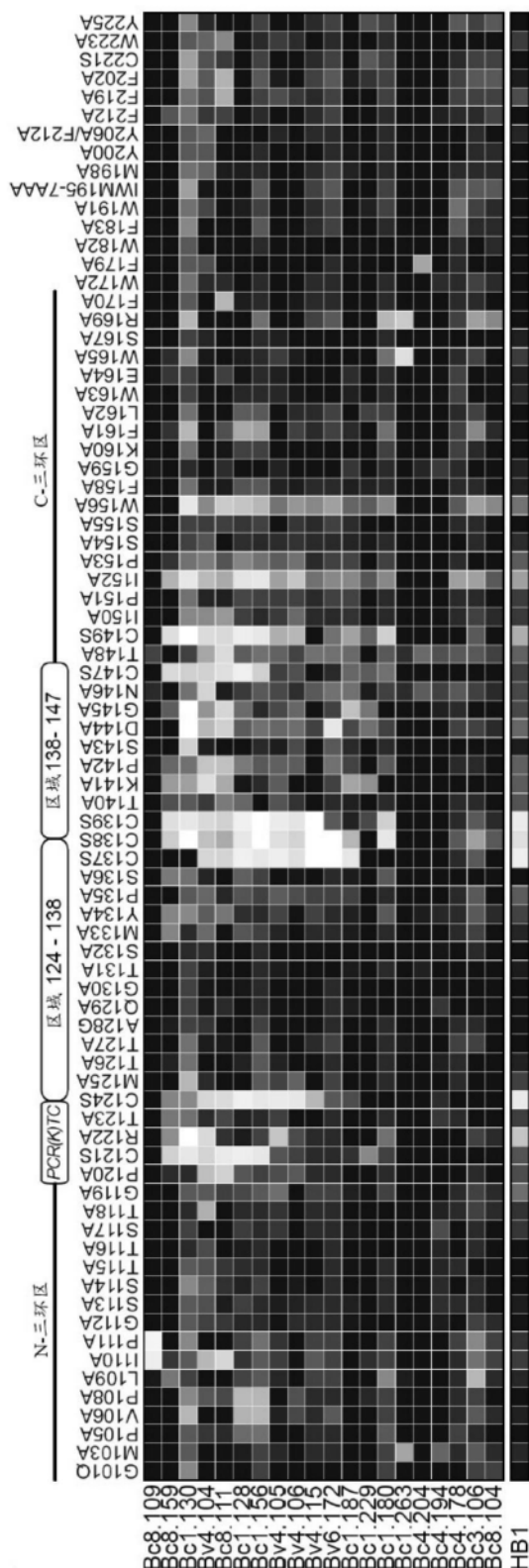


图4A

[illegible]

图4B

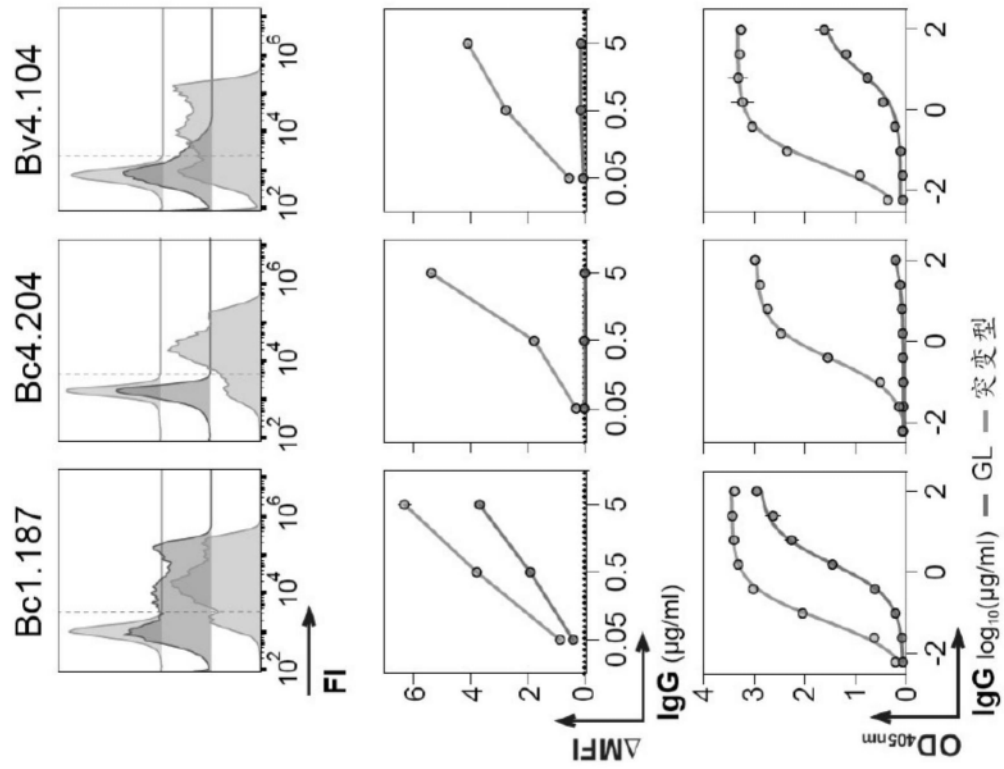


图4C

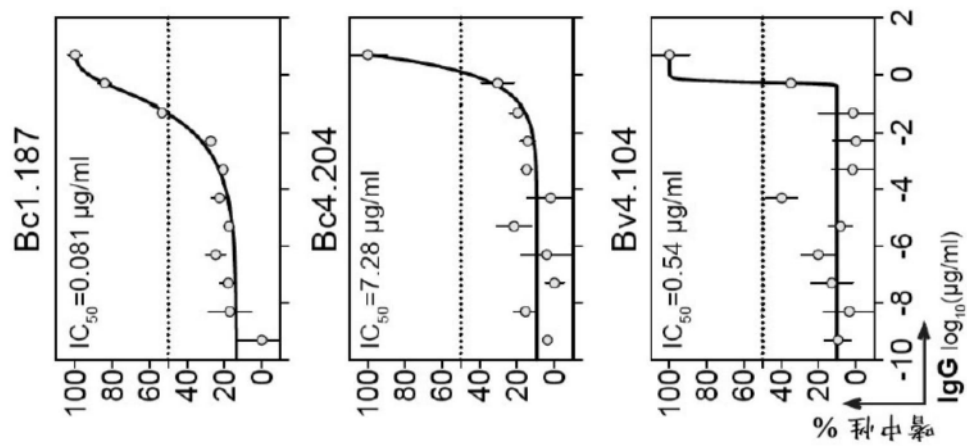


图4D

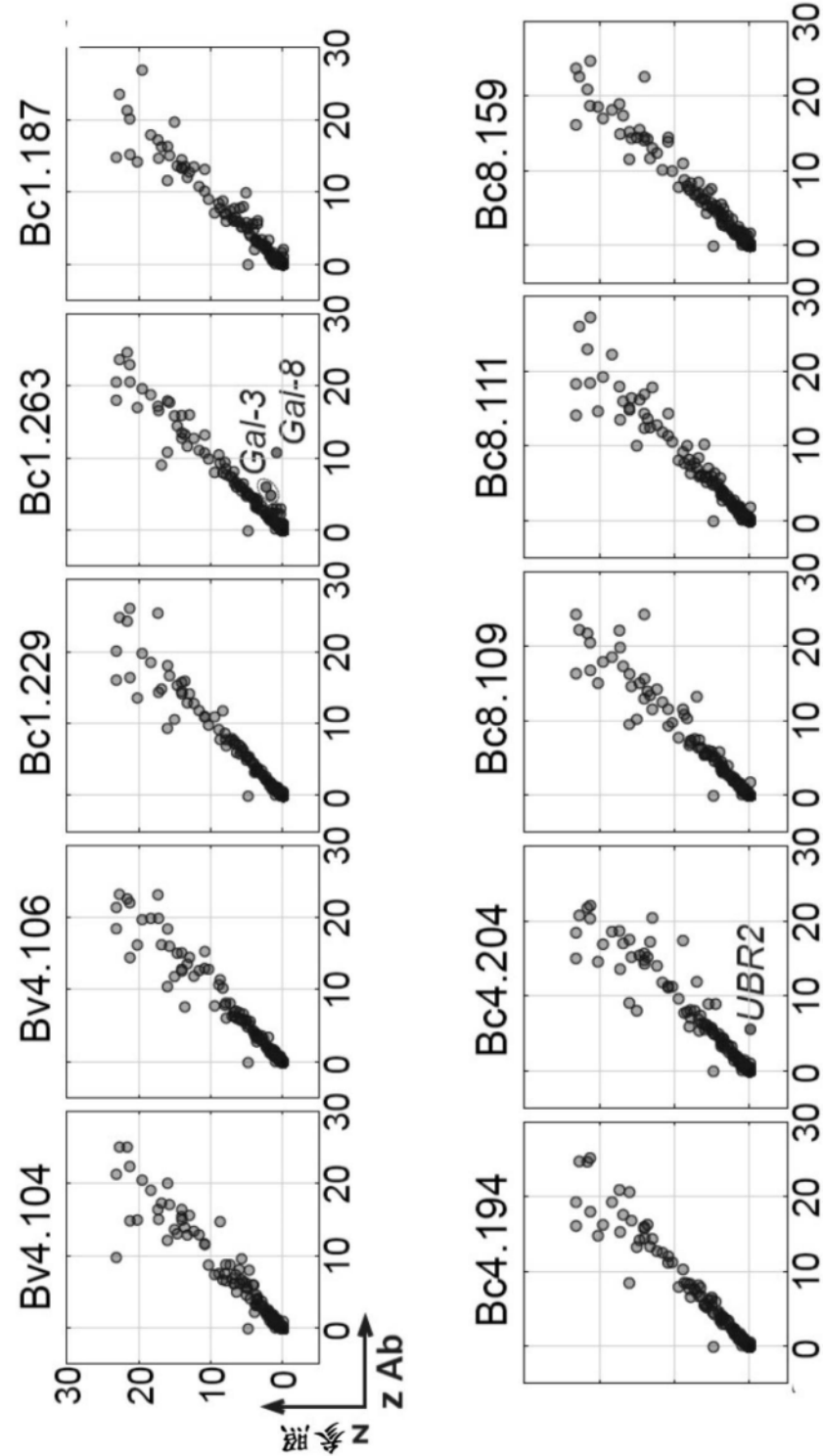


图4E

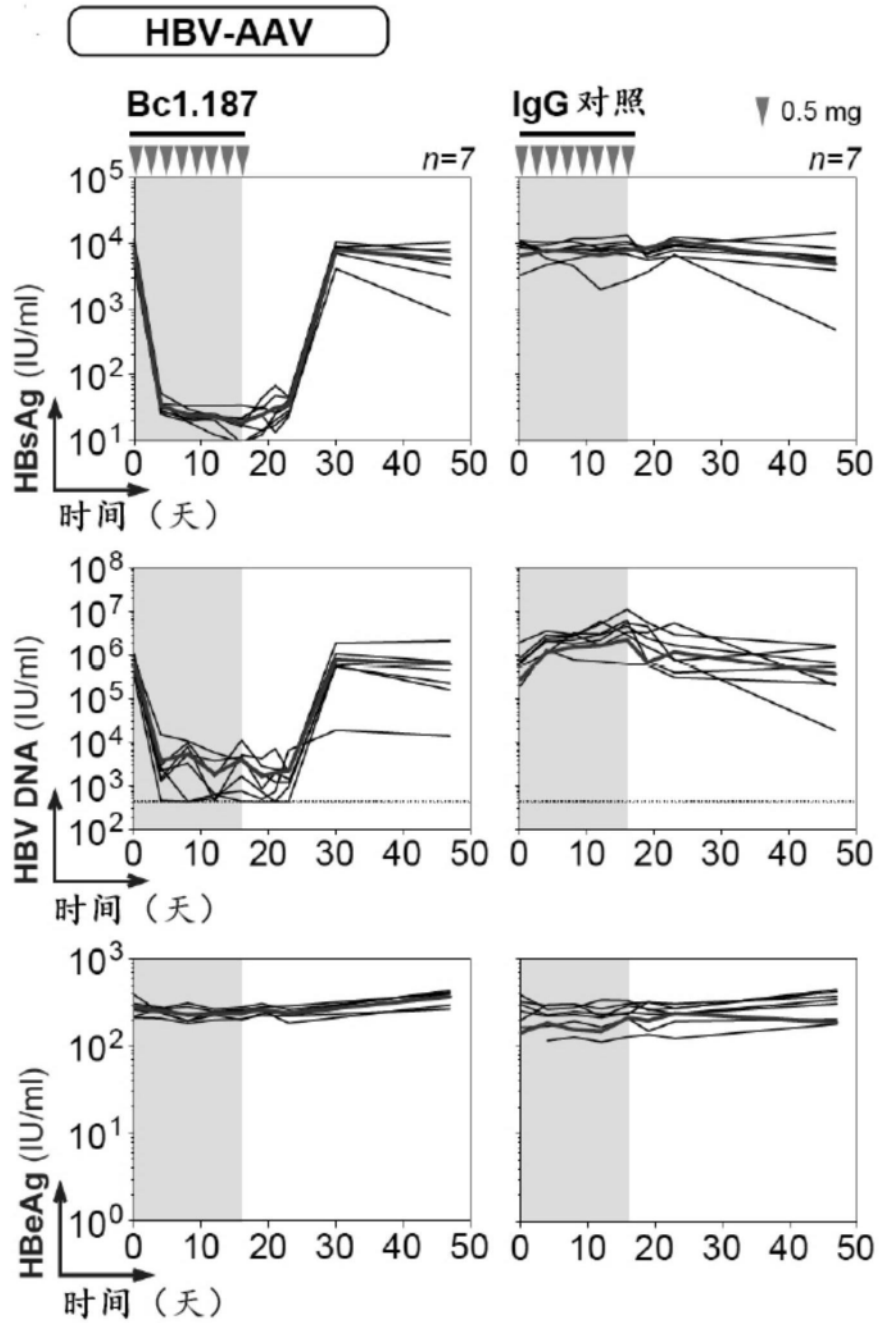


图5A

				年龄	性别	疫苗				
抗 HBs 滴度*		慢性期血清转换		HBV 载量	抗 HBeAg	抗 HBeAg	抗 HBeAg		抗 HBc	抗 HDV
年龄	性别	滴度*	疫苗	年龄	性别	慢性期血清转换	HBV 载量	抗 HBeAg	抗 HBeAg	抗 HDV
Bv1	22	F	564	HBVax-5	Bc1	46	F	-	-	-
Bv2	49	F	500	Genhevac B	Bc2	44	M	-	-	-
Bv3	64	F	602	Genhevac B	Bc3	45	M	-	-	-
Bv4	38	M	684	Genhevac B	Bc4	65	F	-	-	-
Bv5	28	M	>500	Genhevac B	Bc5	60	M	-	-	-
Bv6	28	F	473	Engerix B	Bc6	70	F	-	-	-
F, 女; M, 男。*以 IU/ml 给出。				Bc7	66	M	-	-	-	-
				Bc8	69	F	-	-	-	-

图6

mAb #	V _H	D _H	J _H	亚型	CDR _{H3}	长度	(+)	(-)	GRAVY	SHM #	SHM %	κ/λ	V _L	J _L	CDR _{L3}	长度	SHM #	SHM %	克隆 #	嗜中性
Bv1.116	1-18	5-5/18	6	V1	DRDIQLPFGDFFYYGMDV	17	1	4	-0.41	11	3.7	κ	4-1	1	QQYYSSPRT	9	5	1.8	1	>50
Bv1.188	3-11	6-19	1	V2	ATHYKGTGWYDENFQH	15	3	2	-1.67	19	6.5	λ	2-14	3/2	SSFRSAPISV	11	15	5.6	3	>50
Bv3.205	3-21	3-10	4	V3	ATYTRFGETLGYLDF	15	1	2	-0.13	36	12.2	κ	3-11	3	QHRSNWPP	8	15	5.7	4	>50
Bv3.219	3-30	1-26	4	V1	VKAEGATTHFFDH	13	3	2	-0.44	17	5.8	κ	4-1	2	QQYTTTPT	9	7	2.5	2	1.647
Bv4.104	3-33	3-22	4	V1	EDYDSDNAFDY	11	0	4	-1.60	13	4.4	λ	2-23	3	CSYAGSSTWL	10	12	4.4	1	1.21E-06
Bv4.105	3-49	3-3	4	V3	EGHSGFWGFGNKIPTFDY	19	2	2	-0.65	14	9.2	κ	1(D)-39	3	QQSYTSPWIT	10	18	6.8	1	2.95E-06
Bv4.106	1-46	3-10/2-21	3	V1	ERSIRDLAFDI	11	2	3	-0.26	18	6.1	κ	1-5	2	QQYNSLYT	8	8	3.0	3	1.58E-03
Bv4.108	3-23	6-19/3-16	4	V2	GWGGDFGY	8	0	1	-0.56	25	8.5	κ	2-30	4	LQGSHWPLT	9	11	3.9	4	>50
Bv4.115	1-46	3-22	4	V1	DAGDDTSGPFD	12	0	4	-1.18	24	8.2	κ	1-5	2	QQYNITS	7	10	3.8	1	3.87E-06
Bv4.164	1-2	3-22	4	V1	LYYDSSDERNYFDY	14	1	4	-1.59	4	1.4	κ	4-1	4	QQYGSRLS	9	8	2.8	1	>50
Bv4.169	1-18	2-2/21	4	V2	DCGTASCYTG	11	1	1	-0.38	14	4.8	κ	3-15	5	QQYNWPIIT	9	11	4.2	1	>50
Bv4.189	4-34	3-10	6	V3	IIVPGIWRWYFGMDV	15	1	1	0.87	31	10.7	κ	1-9	4	QQVKSPLYT	9	19	7.2	1	>50
Bv5.156	3-53	3-10	4	V3	GGTYYSASGSPK	12	1	0	-0.88	17	5.8	κ	1-5	2	QQYNSFPYT	9	12	4.5	1	>50
Bv6.117	1-69	3-10	4	V1	VSLVRGVTVDY	11	1	1	0.85	16	5.4	λ	4-60	3	ETWDSNTQV	9	8	2.9	1	>50
Bv6.172	5-10	2-8/3-22	6	V1	LSTTYPNLYYGMVDV	14	0	1	-0.10	23	7.8	λ	1-40	3	QSYDTSLSGWV	11	15	5.6	1	3.06E-06
Bv6.232	3-33	3-10	6	V3	PRGRSARGYHHYGMVDV	17	5	1	-1.35	10	3.4	λ	1-40	1	QSYDSSLSGSVY	12	3	1.1	2	>50
Bv6.250	4-30	3-3	5	V1	GGTIFGVIPWFDV	15	0	1	1.11	9	3.0	κ	3-11	2	QQRSNWPPMYT	11	2	0.8	2	>50
Bc1.119	4-4	3-10/6-25	4	V1	LGSSVHFYFDS	11	1	1	0.25	32	10.9	λ	1-44	1	AAWDDSLFAYA	11	13	4.9	1	4.92E+01
Bc1.128	3-30	3-22	1	V1	DSNGFGVLS	9	0	1	0.16	19	6.5	κ	1-17	1	LQHNSFPWT	9	11	4.2	8	5.44E-04
Bc1.130	4-4	6-13	4	V1	VRSPISASLYDF	12	1	1	0.32	16	5.4	λ	1-47	3	AAWDDRLSGRV	11	11	4.1	1	6.34E-04
Bc1.150	1-18	4-17	3	V1	DRNRVTTRHLHFAFV	16	6	2	-1.14	20	6.8	κ	3-20	1	QQYGSPPWT	9	7	2.6	1	5.42E+01
Bc1.156	3-30	3-10	5	V1	ANLPLWFGELDS	12	0	2	0.15	31	10.7	κ	3-20	5	QQYGSPLVT	10	16	6.0	5	4.33E-03
Bc1.180	1-69	2-21	3	V1	EGDGLDM	7	0	3	-0.80	35	11.9	κ	3-20	2	QQFGSLPYT	9	13	4.9	2	5.00E-08
Bc1.187	3-33	2-2	4	V1	DGLYASAPNDV	11	0	2	-0.27	27	9.2	κ	1(D)-39	4	QQYTLPPN	9	28	10.6	2	5.00E-08
Bc1.216	3-7	5-12/3-22	4	V2	GPSGSSGYWALDN	13	0	1	-0.68	14	4.8	κ	4-1	2	QQYTTTYYT	9	7	2.5	2	>50
Bc1.221	3-33	5-12/6-25	4	V1	DSNGYGLDS	9	0	2	-1.16	29	10.0	κ	1-17	1	LQHNSFPWT	9	6	2.3	1	5.38E+01
Bc1.229	3-33	4-17	4	V1	EGLTSVTMLDS	11	0	2	0.30	15	5.1	κ	1(D)-39	3	QQSYSTPLFT	10	12	4.5	8	2.53E-05
Bc1.263	1-69	5-5/18	4	V1	DRGGKPLYSGYGLDY	16	2	2	-1.06	9	3.1	κ	3-11	1	QQRSTT	6	5	1.9	8	3.96E-06
Bc2.150	3-15	2-2	5	V2	AFLSSSWPTDNWFHP	16	1	1	-0.21	14	4.7	λ	2-11	3/2	SSYAGSYTFV	11	15	5.6	1	>50
Bc2.296	1-2	3-10	3	V1	SQDNLWFGAFGGGSDI	17	0	2	0.02	21	7.1	κ	1-9	3	QOKRT	5	1	0.4	1	6.65E-01
Bc3.106	3-23	1-1	6	V3	DPGHTSNWRDNYQYYQMDV	19	2	3	-1.81	9	3.1	κ	1-17	1	LQHNSYPRT	9	0	0.0	1	1.39E-07
Bc3.136	3-48	2-2	2	V2	DLAMPWFNL	11	1	1	0.26	15	5.1	κ	3-20	4	QQYGSPLA	9	13	4.9	2	1.96E+00
Bc4.159	1-2	3-22	6	V1	VWRAVTNYYYYYMDV	17	1	1	-0.05	27	9.2	κ	3-20	4	HQYGYSSGS	9	14	5.2	2	2.03E-01
Bc4.178	1-69	7-27	4	V1	GHWGQFDS	8	1	1	-1.24	44	15.0	κ	3D-15	4	QYNNWPLG	9	26	9.8	1	1.94E-03
Bc4.194	3-11	3-3	4	V3	SPEAPRLRFLWLWYFDY	18	2	2	-0.24	39	13.4	κ	1(D)-39	5	QQSYSPIT	9	36	13.6	13	1.47E-02
Bc4.196	3-30	3-3	5	V1	DQAATFWSAFRNWFDV	17	1	2	-0.64	12	4.1	κ	3-15	1	QQYNNWPPSWT	11	3	1.1	2	1.04E+01
Bc4.204	3-33	2-2	6	V3	GGAEESTNWRFLWPRYYYMDV	23	2	3	-0.66	28	9.5	λ	2-11	3/2	CSYAGSFNLV	10	21	7.8	4	2.29E-04

图7A

mAb #	V _H	D _H	J _H	亚型	CDR ₃	长度	(+)	(-)	GRAVY	SHM #	SHM %	κ/λ	V _L	J _L	CDR ₃	长度	SHM #	SHM %	克隆 #	嗜中性
Bc4.235	4-31	6-19	4	V2	VKWLVTYYFDS	12	1	1	0.16	19	6.4	λ	2-11	3/2	CSYAGPYNLGL	11	17	6.3	3	6.90E-03
Bc4.236	1-18	5-24	6	V3	ESRRLQLWLRTYYNYMGV	20	3	1	-0.77	49	16.7	κ	1-27	4	QQYHSAPALS	10	23	8.7	9	7.43E-04
Bc5.108	3-15	3-3	4	V3	DGGRGFWEY	13	1	3	-1.14	21	7.0	λ	1-51	3/2	GTWDNSLRGVV	11	21	7.9	1	1.70E+01
Bc5.115	3-33	3-16	6	V1	DFGWGNYYNYGMDV	16	0	2	-0.51	9	3.1	κ	4-1	3	QQYYGAPLT	9	7	2.5	5	>50
Bc5.183	3-33	2-8	6	V1	DHAQTWNNHYHYGMDV	18	3	2	-1.32	14	4.8	λ	7-43	3	LLYYGGSWV	9	14	5.2	1	5.96E+00
Bc6.125	1-69	3-9	4	V1	ASQPGNNVRLYSDWLLRPLDY	22	2	2	-0.45	23	7.8	κ	1(D)-33	4	QQYAILPLT	9	17	6.4	6	2.8E+01
Bc6.132	3-43D	3-16	4	V1	DMGGSFRLMDY	11	1	2	-0.36	11	3.7	κ	1-16	4	QQYSSYPLT	9	3	1.1	1	>50
Bc6.149	4-59	3-3	5	V1	DKGTLWSGYQNWIDP	15	1	2	-1.11	19	6.5	κ	1(D)-39	4	QQSHSFPLT	9	16	6.1	1	3.2E-02
Bc6.162	1-69	3-10	5	V1	GYGSGSYFASGNWFDP	18	0	1	-0.75	11	3.7	λ	2-11	1	CSYAGSFTYV	10	2	0.7	2	>50
Bc6.176	4-59	2-8	5	V2	YTDCITTSFCFSNWFDP	16	0	2	-0.51	18	6.2	λ	2-11	3/2	CSYAGSDTFV	11	13	4.8	2	1.7E+01
Bc6.182	4-39	3-22	6	V1	DRRYDGGYPGGMDV	17	2	3	-1.30	21	7.1	κ	3-15	2	QQYNNWPRT	9	7	2.7	26	>50
Bc6.208	5-10	1-14/-20/-7	4	V1	RGYNTGWGQDY	11	1	1	-1.85	17	5.8	λ	1-44	3	VAWDDSLNVV	10	11	4.1	2	3.0E-01
Bc6.235	1-69	3-10	4	V1	TLVAGFDN	8	0	1	0.56	19	6.5	κ	4-1	2	QQFYSSPQT	9	16	5.7	2	6.4E+00
Bc6.259	3-30	5-12	6	V2	DRVDKVTTSHDAYGLDV	18	3	4	-0.70	16	5.5	κ	1-9	1	QQVNFYPPWP	10	11	4.2	2	>50
Bc6.286	4-59	5-19/-13/-2E	4	V1	GLYSFYDD	8	0	2	-0.53	24	8.2	λ	1-51	3	GTWDSLSSEPWW	12	6	2.2	6	>50
Bc6.295	7-4	3-9	6	V1	EGLPYFDSSTYYNGLDV	18	0	3	-0.52	21	7.2	λ	1-44	3/2	AAWDDSLNGRNVV	13	9	3.4	1	>50
Bc6.316	1-69	3-9	4	V1	SKAPDSTYVLRIDWYLPDF	21	2	3	-0.47	39	13.3	κ	4-1	1	QQYSTTPQT	9	17	5.7	2	2.8E+01
Bc6.356	4-39	2-2	4	V1	VGYCSSTSCHGPIFDY	16	1	1	0.11	0	0.0	λ	1-47	3	AAWDDSLSGWV	11	3	1.1	3	>50
Bc7.123	3-7	2-2/-15	4	V2	YCSYNCPLDY	12	0	1	-0.54	14	4.8	κ	3-15	1	QQYNQWPRT	9	7	2.7	1	>50
Bc7.169	1-69	3-9	4	V3	GLTSADY	7	0	1	-0.16	0	0.0	κ	1-5	1	QQYNSYSTWT	10	0	0.0	2	6.9E-01
Bc7.215	3-7	3-3	4	V3	DHRSRFLWLLHYHFDY	17	4	3	-0.85	22	7.5	κ	3-15	4	QQYNHWPLT	9	19	7.2	6	>50
Bc7.226	3-23	3-10/-3	4	V2	DVFAWSFDY	9	0	2	0.18	37	12.6	κ	3-11	4	QQGYSWPLS	9	17	6.4	6	8.29E-01
Bc7.263	1-8	3-10	4	V1	GRGGSGSYSPFDY	13	1	1	-1.03	3	1.0	κ	4-1	3	QQYRTPT	9	5	1.7	2	4.6E+01
Bc7.296	1-18	3-3	6	V4	GSGFWGSGIGYNYYSNMV	19	0	0	-0.12	24	8.2	κ	4-1	2	QQYSTLYT	9	13	4.6	17	1.2E+01
Bc7.323	4-39	3-9	3	V3	GAPRYFDWLFRAFDI	16	2	3	-0.21	9	3.0	λ	7-43	3/2	LLYYGGAQLV	10	8	3.0	1	>50
Bc8.104	1-69	6-13	3	V3	QGSSTWFATLYAFPI	15	0	0	0.45	16	5.4	κ	3-20	1	HQYGSSPPT	9	11	4.1	1	2.61E-06
Bc8.109	3-30	2-8	4	V1	LYCTGGTCYA	10	0	0	0.58	16	5.5	κ	2(D)-28	2	MQTLQMYT	8	6	2.2	2	4.64E-03
Bc8.111	3-23	6-6/-13	4	V1	DPYMAVAARTVDY	14	1	2	0.25	12	4.1	λ	6-57	3	QSYESSNWV	9	12	3.0	1	2.51E-06
Bc8.113	3-30	6-19	4	V1	KATLAGTDGGYFDY	14	1	2	-0.42	26	8.9	λ	3-21	3/2	QWWDSDSHV	11	19	7.3	7	3.04E-02
Bc8.128	3-21	4-11/-4	4	V1	GIEGYNYSRYDF	13	1	2	-0.80	21	7.1	λ	2-14	3	SSYTLTSDRKTTTLV	15	14	5.2	1	>50
Bc8.148	3-20	2-2	5	V1	DLDSTYWGWNWFDP	14	0	3	-1.06	17	5.8	κ	2(D)-28	5	MQALQTPIT	9	7	2.5	2	3.76E+00
Bc8.159	4-4	3-10/-22	4	V1	GRLGITRDYRFFDS	14	3	2	-1.02	16	5.4	κ	1(D)-33	2	QQYNNLPHIT	9	11	4.2	3	5.28E-05
Bc8.176	4-4	1-7	4	V1	NRLGTTDRYRFFDY	14	3	2	-1.65	18	6.1	κ	1(D)-33	1	QQYHSLPLT	9	11	4.2	1	2.03E+00
Bc8.186	3-33	5-5/-18	4	V1	EGHTAMATLDY	11	1	2	-0.36	8	2.7	κ	1(D)-39	4	QQYSMPKLT	10	20	6.4	2	3.75E-01
Bc8.260	4-34	5-12	1	V1	TGPPFSKWLHIMAGEKYHFH	19	4	1	-0.50	13	4.5	κ	4-1	2	QQYSTPYT	9	12	4.3	2	>50

(-) 和 (+) 分别指示 IgH 互补决定区 (CDR3) 中负电荷氨基酸和正电荷氨基酸的数量。
SHM 指示 VH 和 VL Ig 基因中超变区的总数和频率。* 以 μg/ml 给出。

图7B

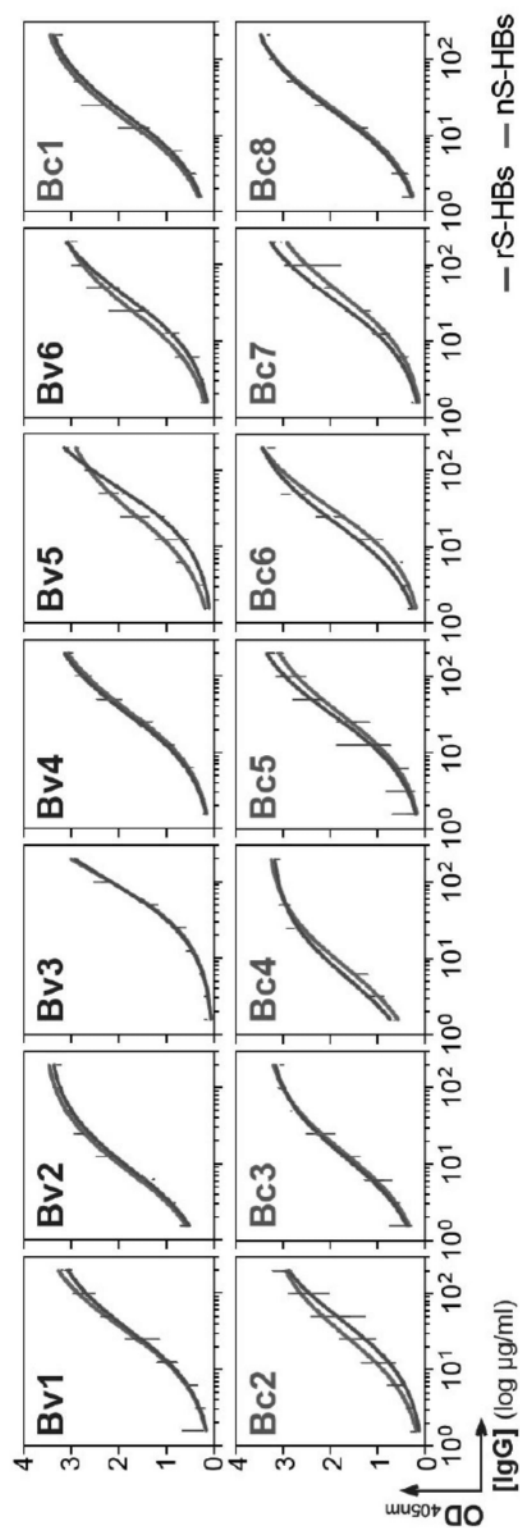


图8A

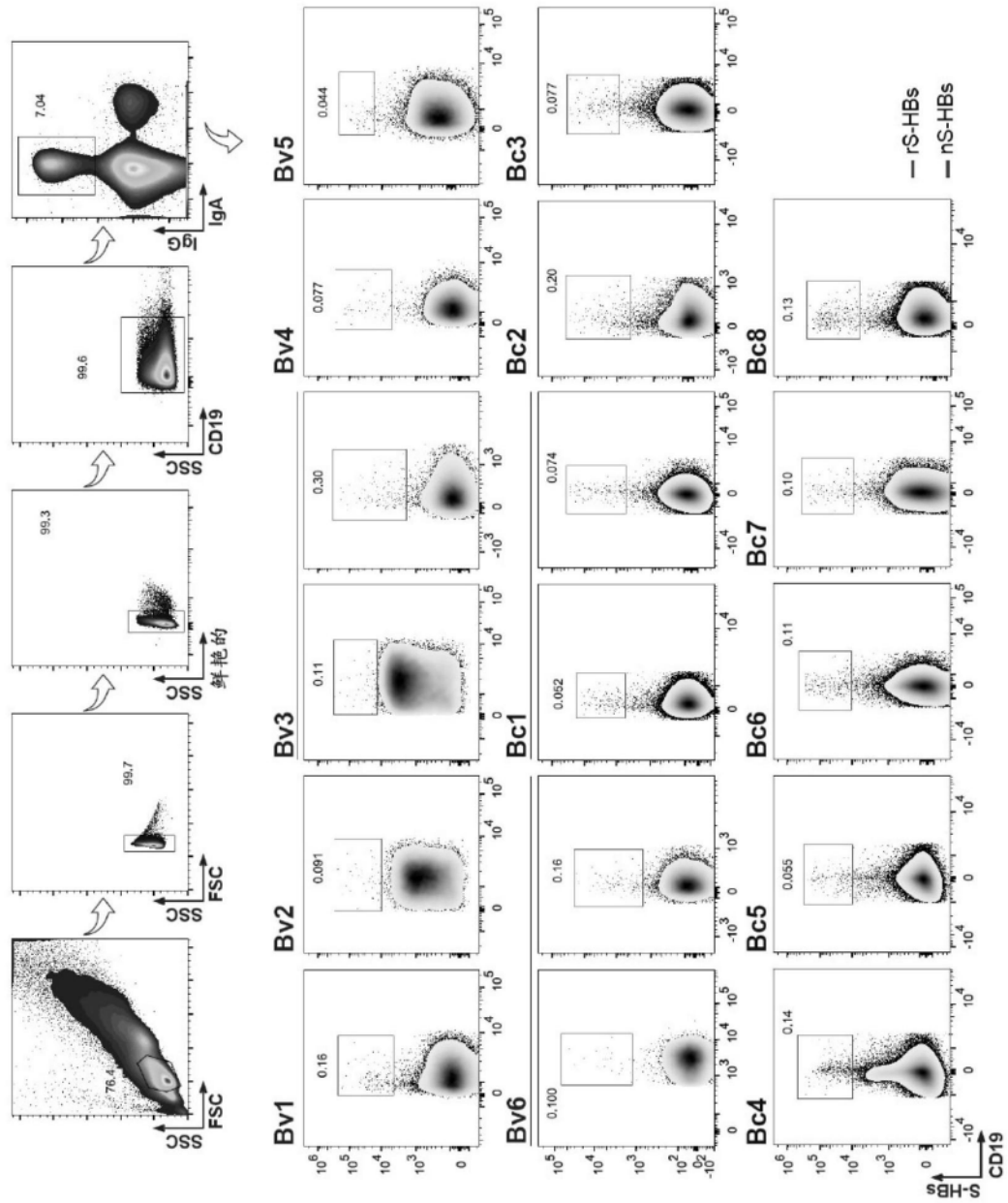


图8B

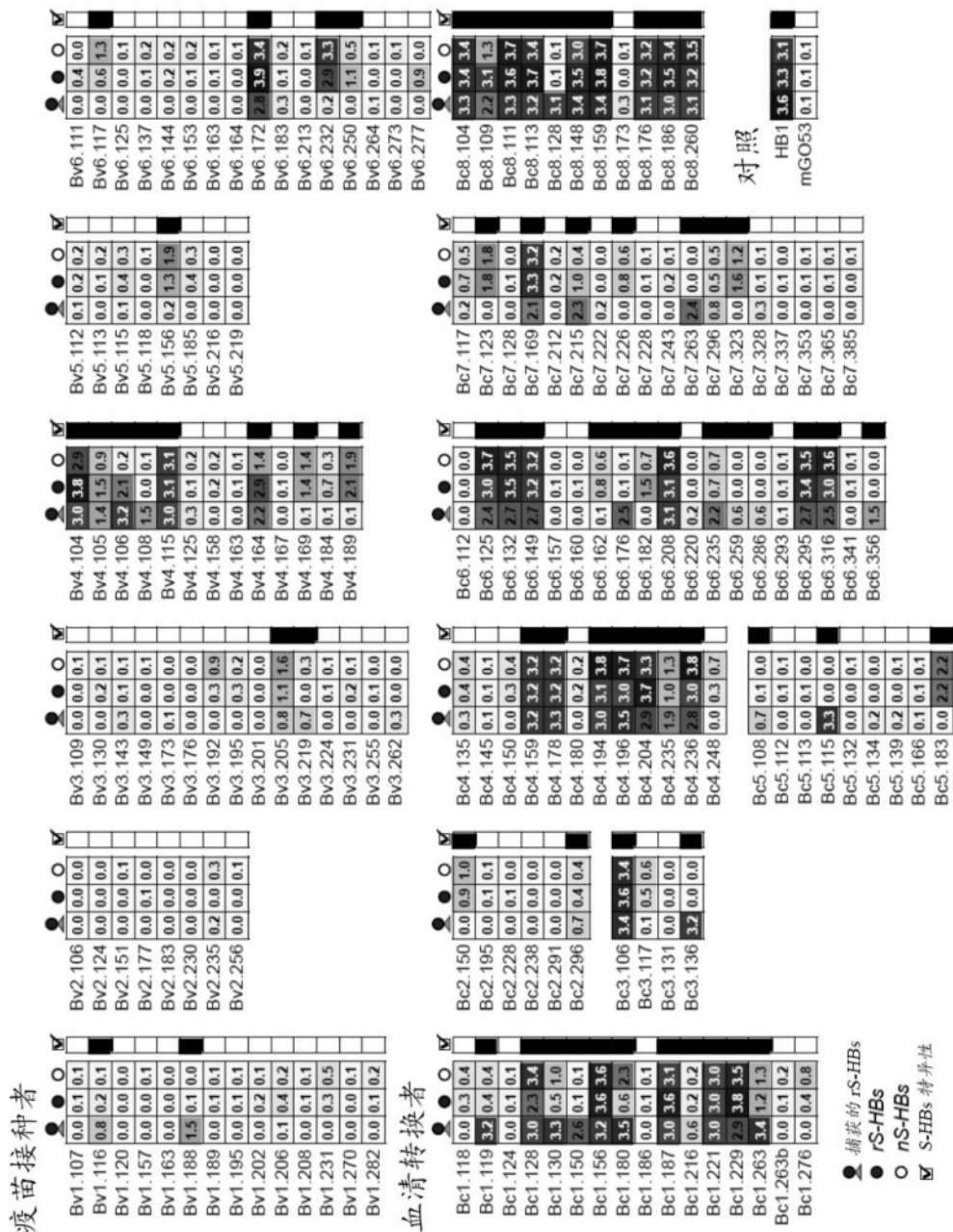


图9A

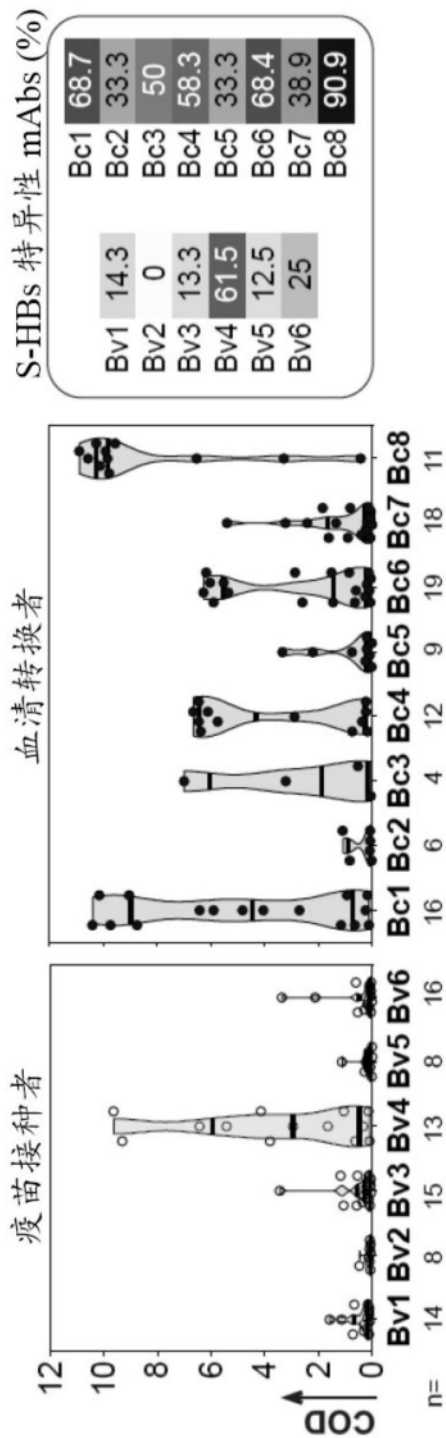


图9B

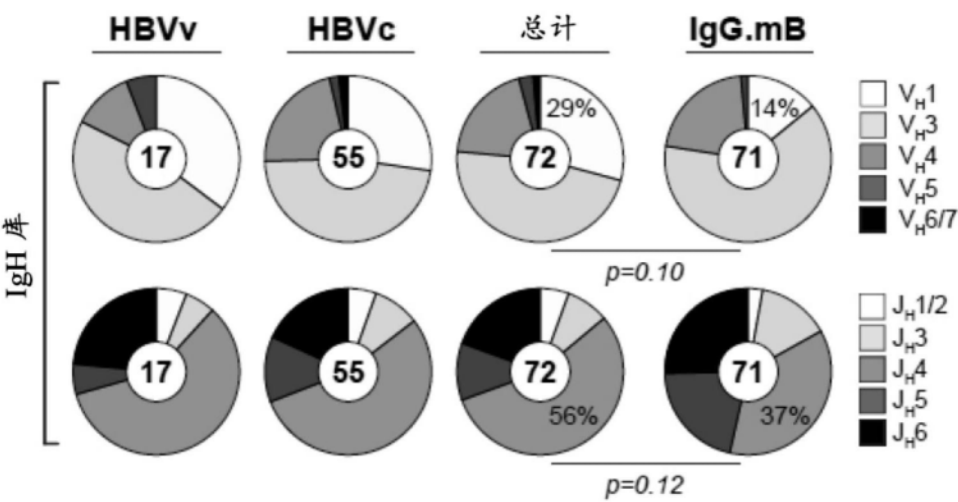


图10A

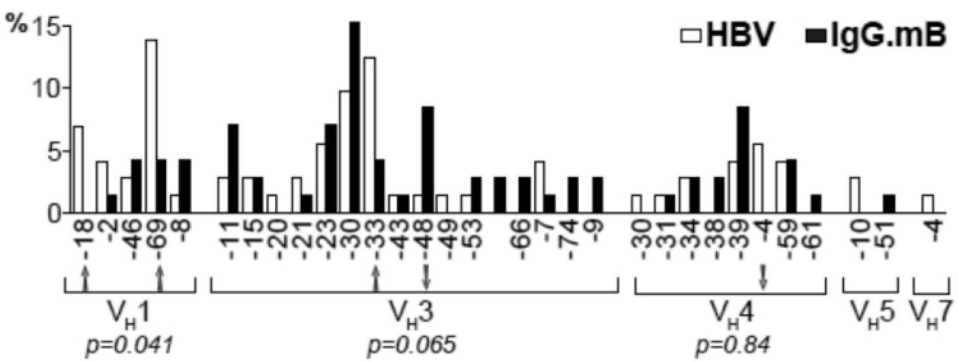


图10B

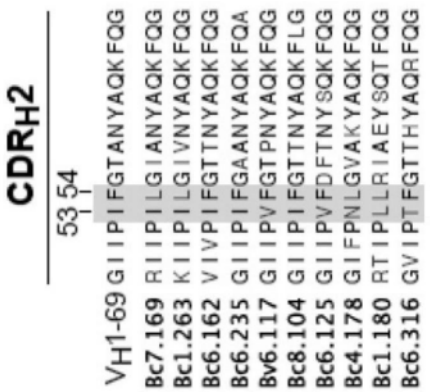


图10C

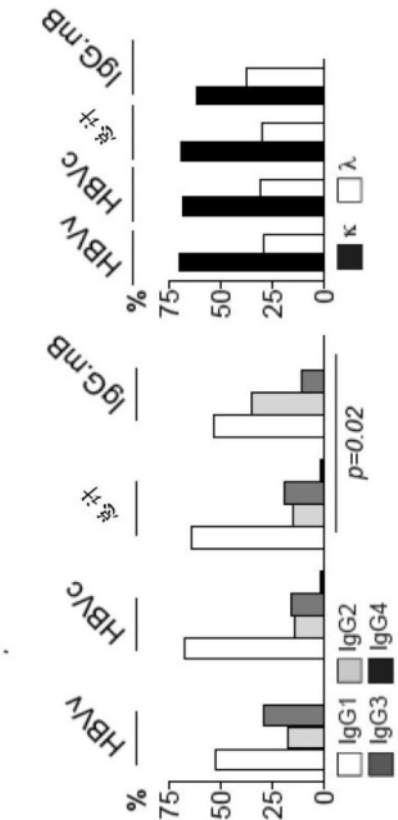


图10D

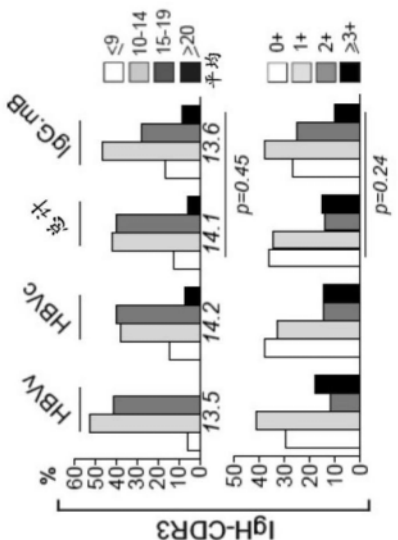


图10E

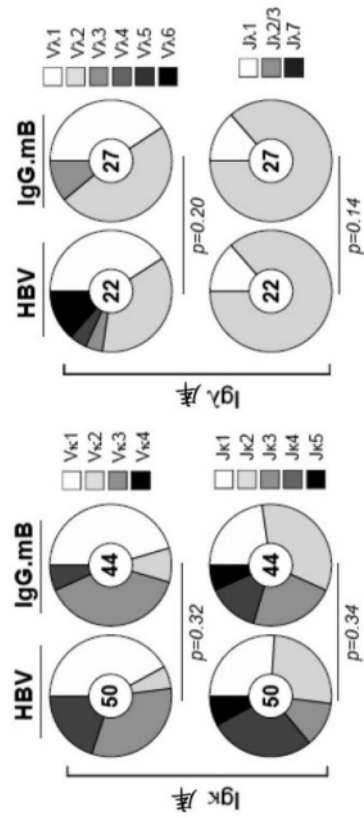


图10F

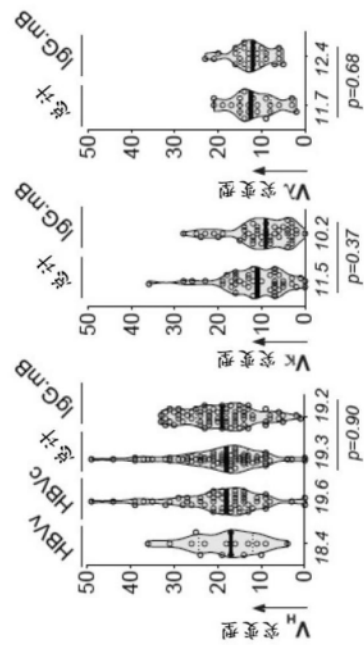


图10G

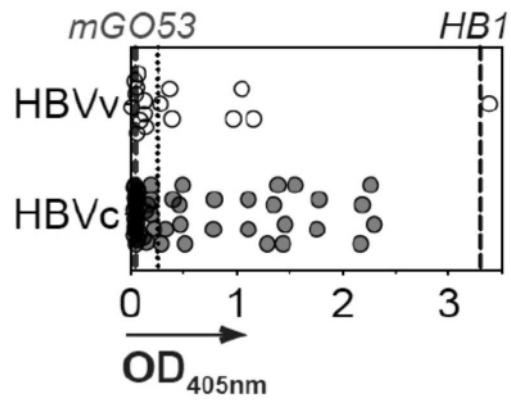


图11A

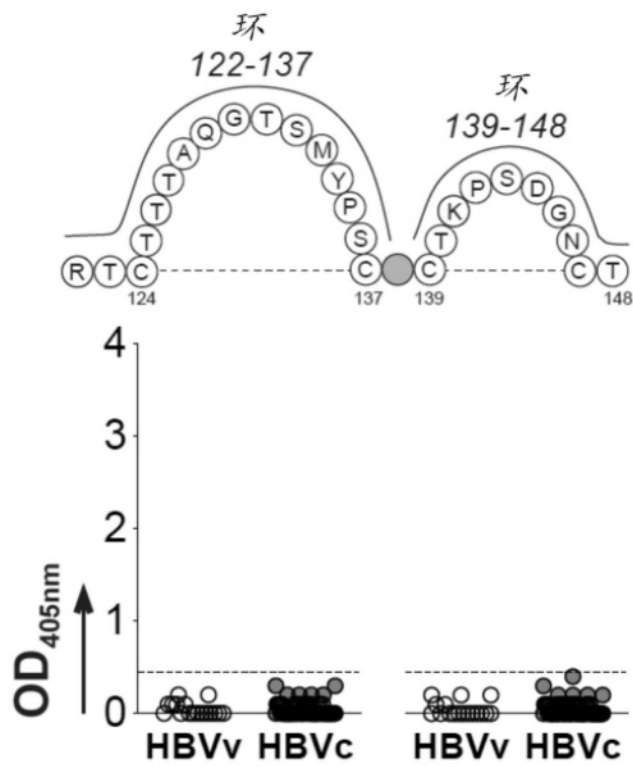


图11B

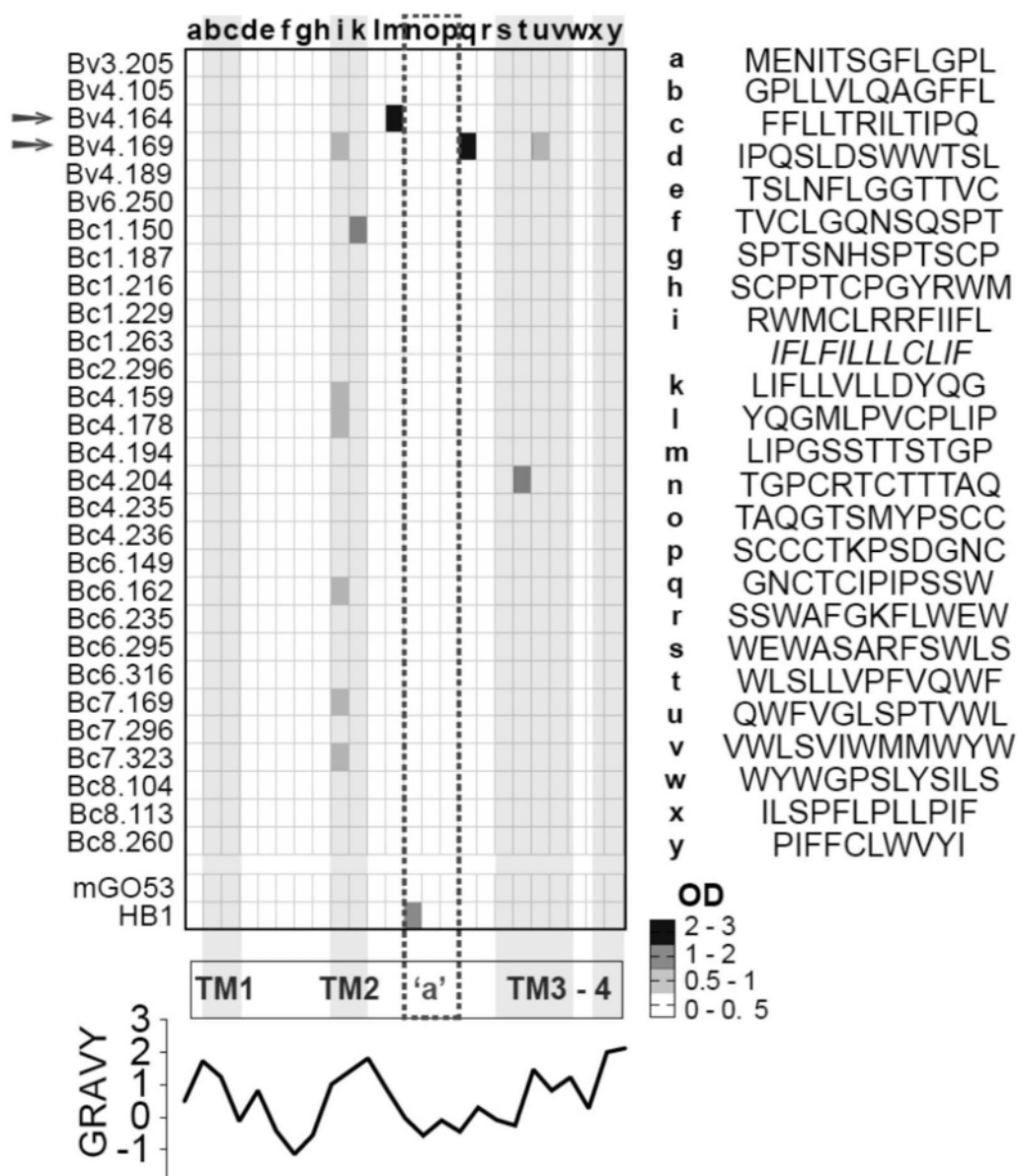


图11C

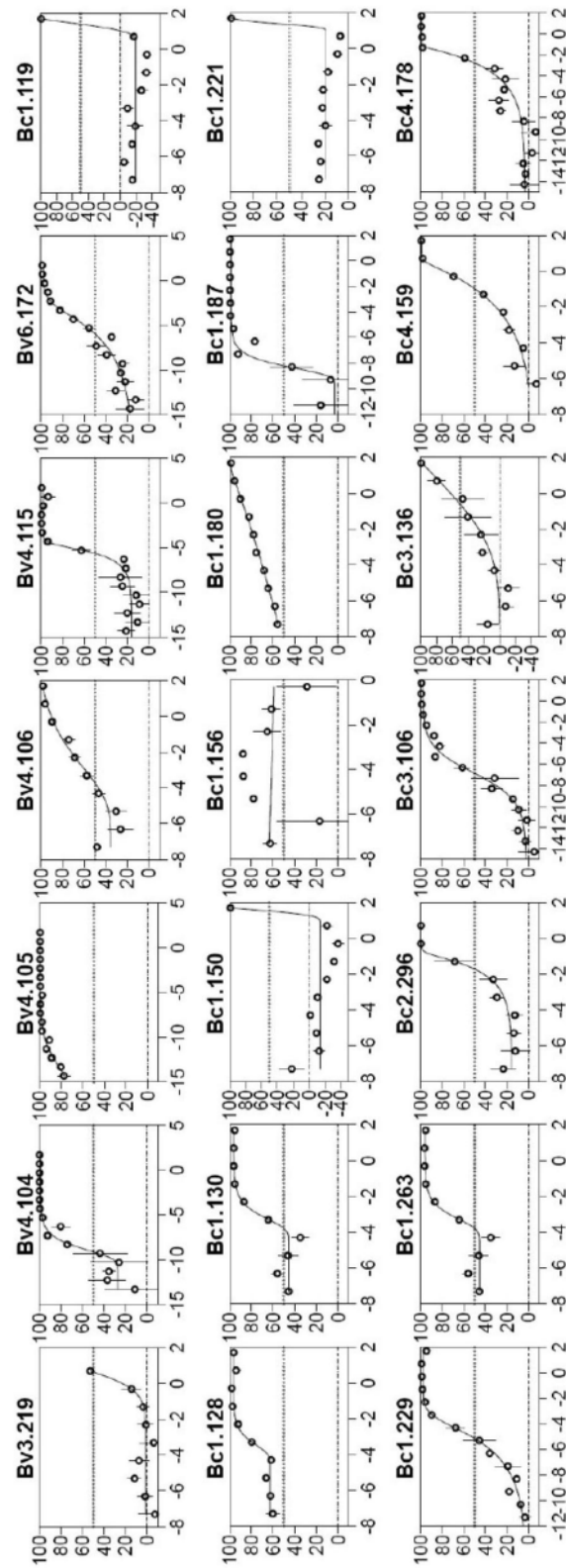


图12A

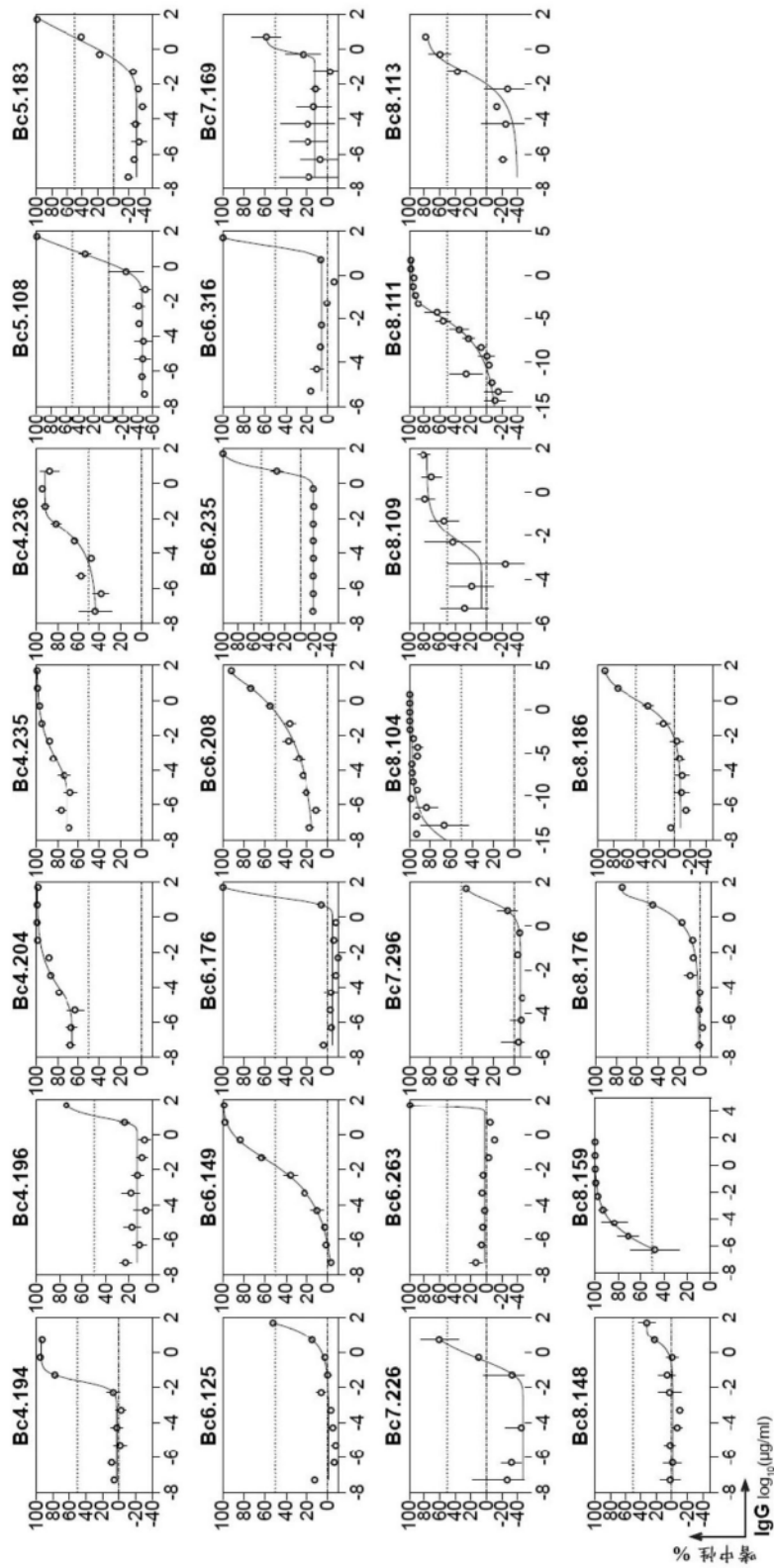


图12B

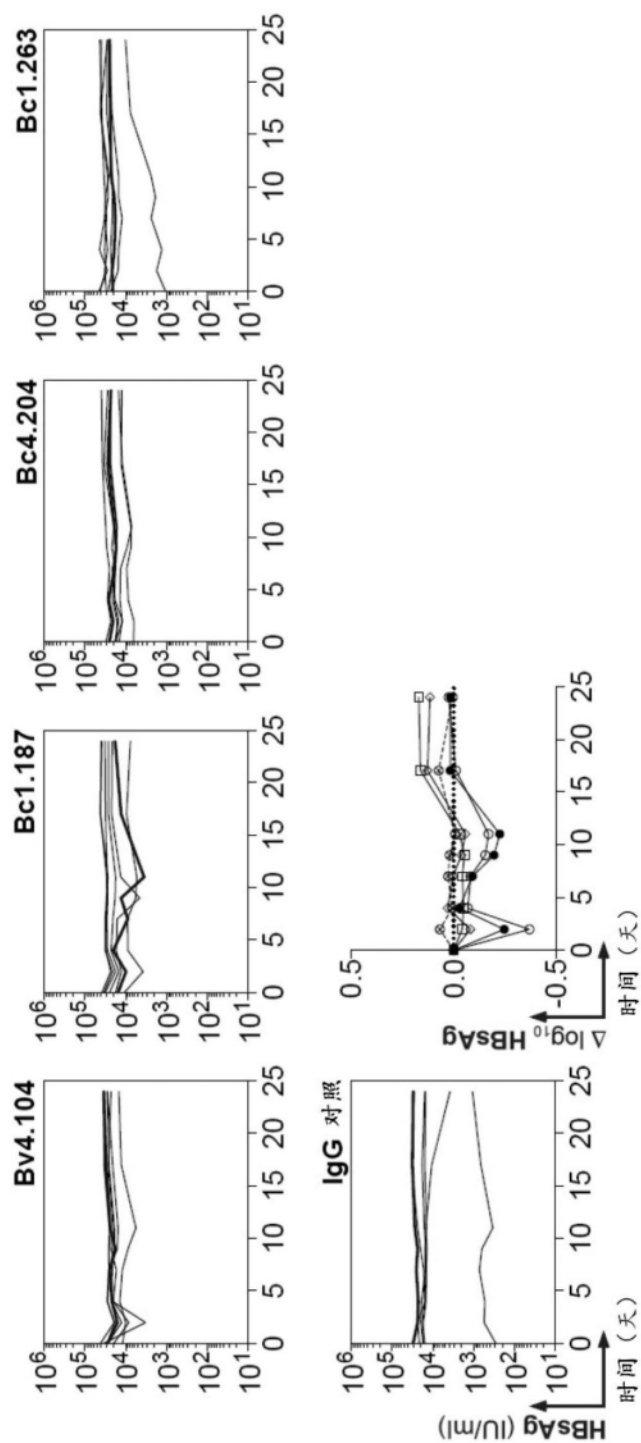


图13A

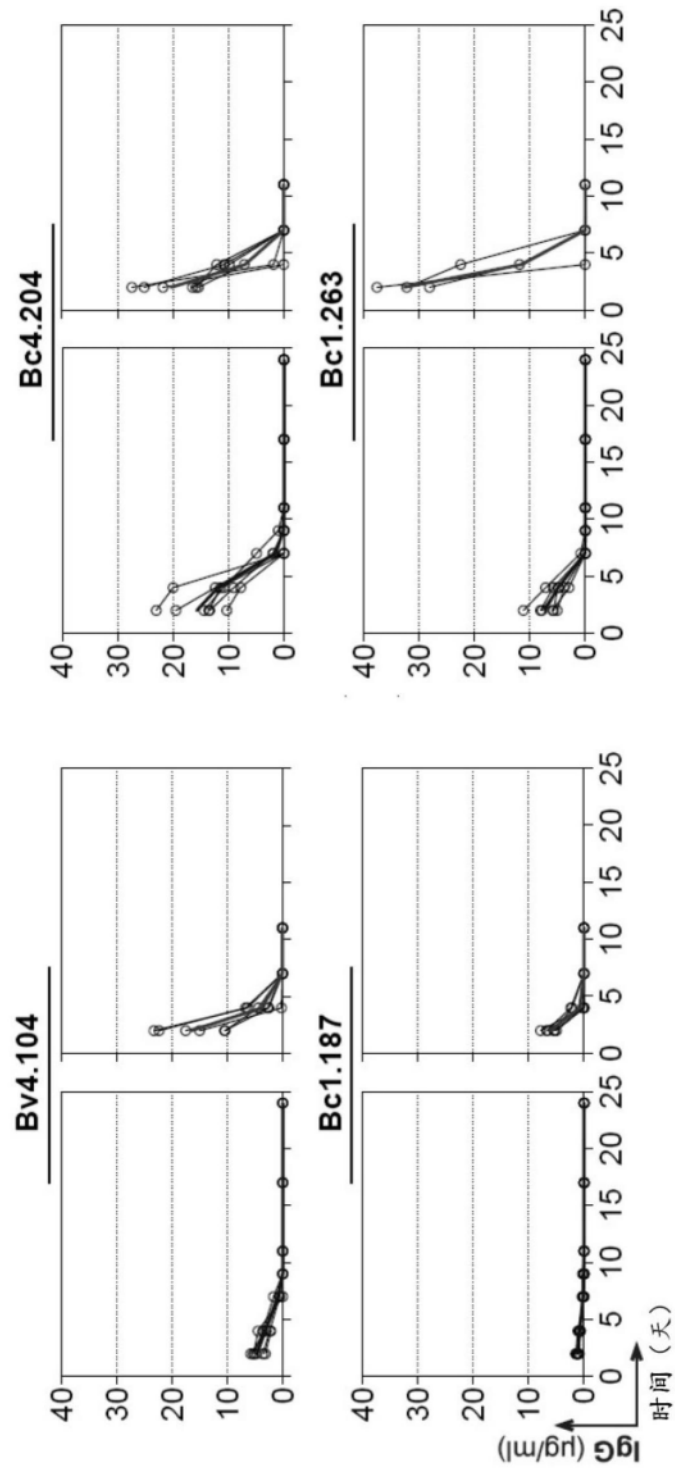


图13B

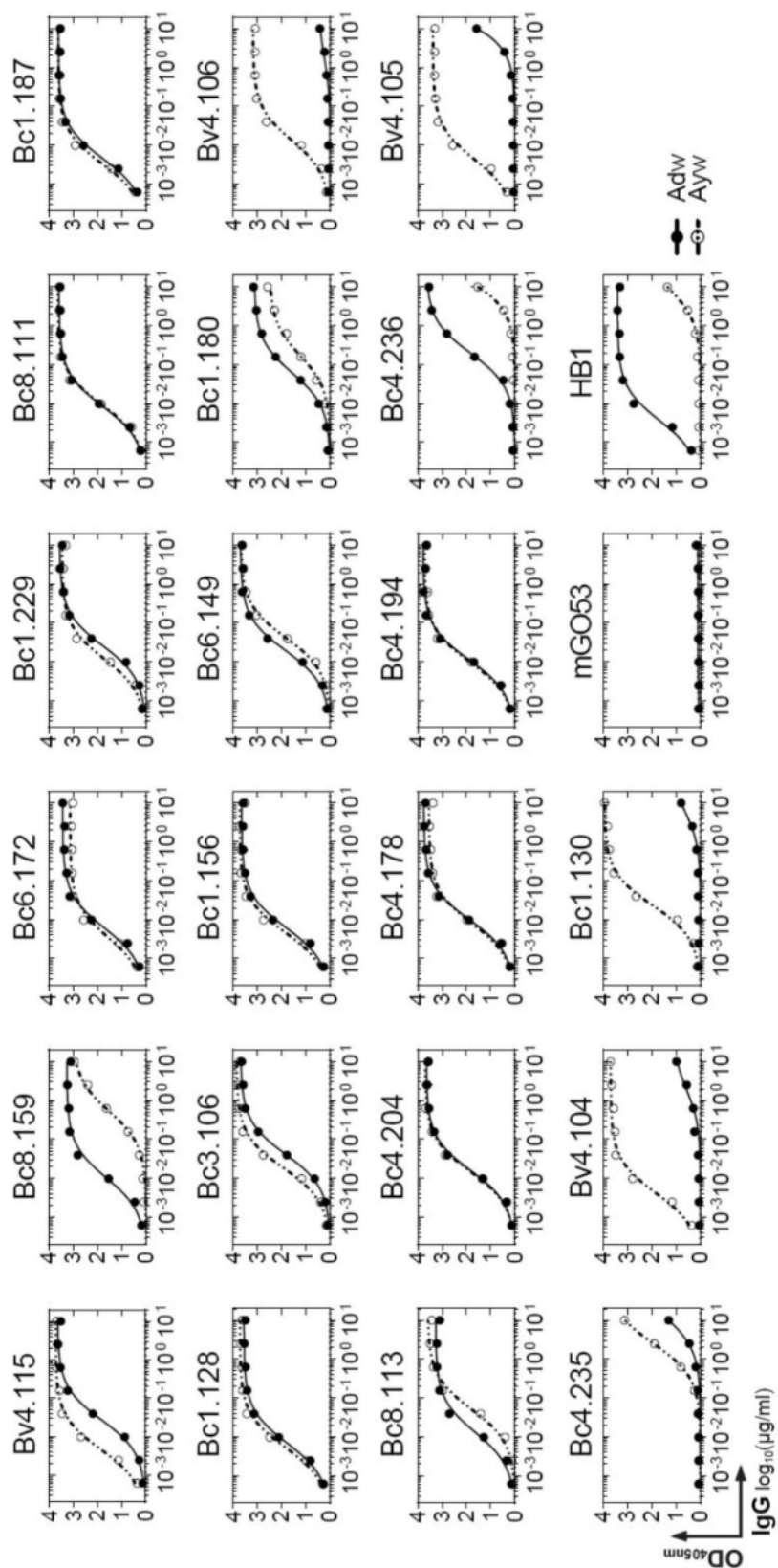


图14

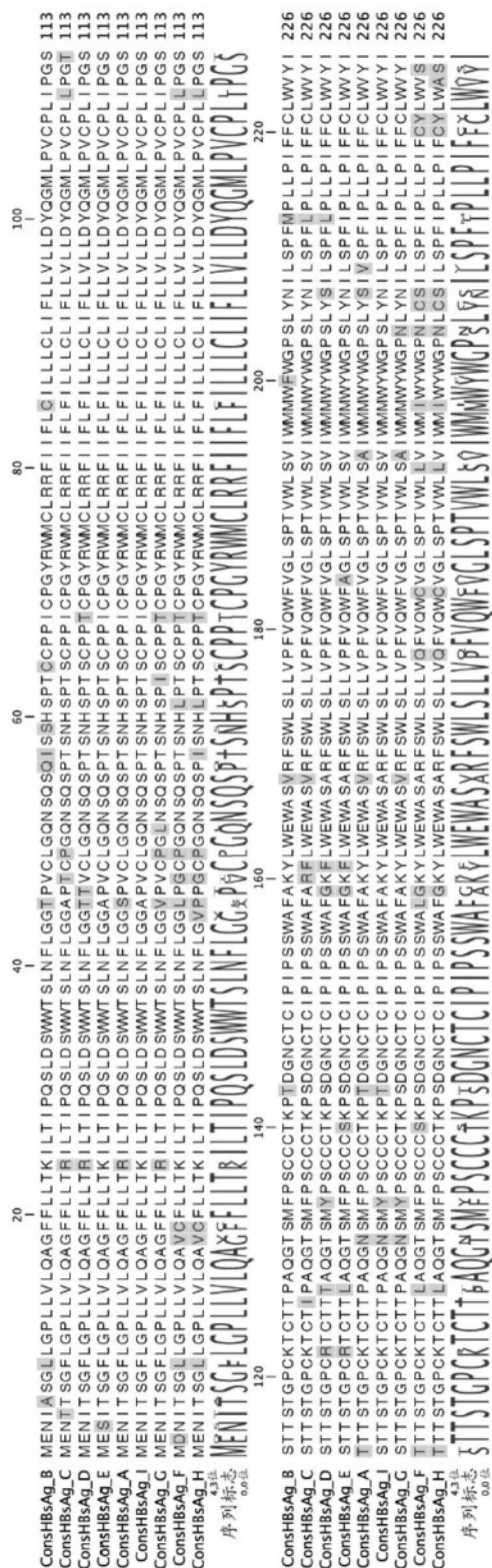


图15A

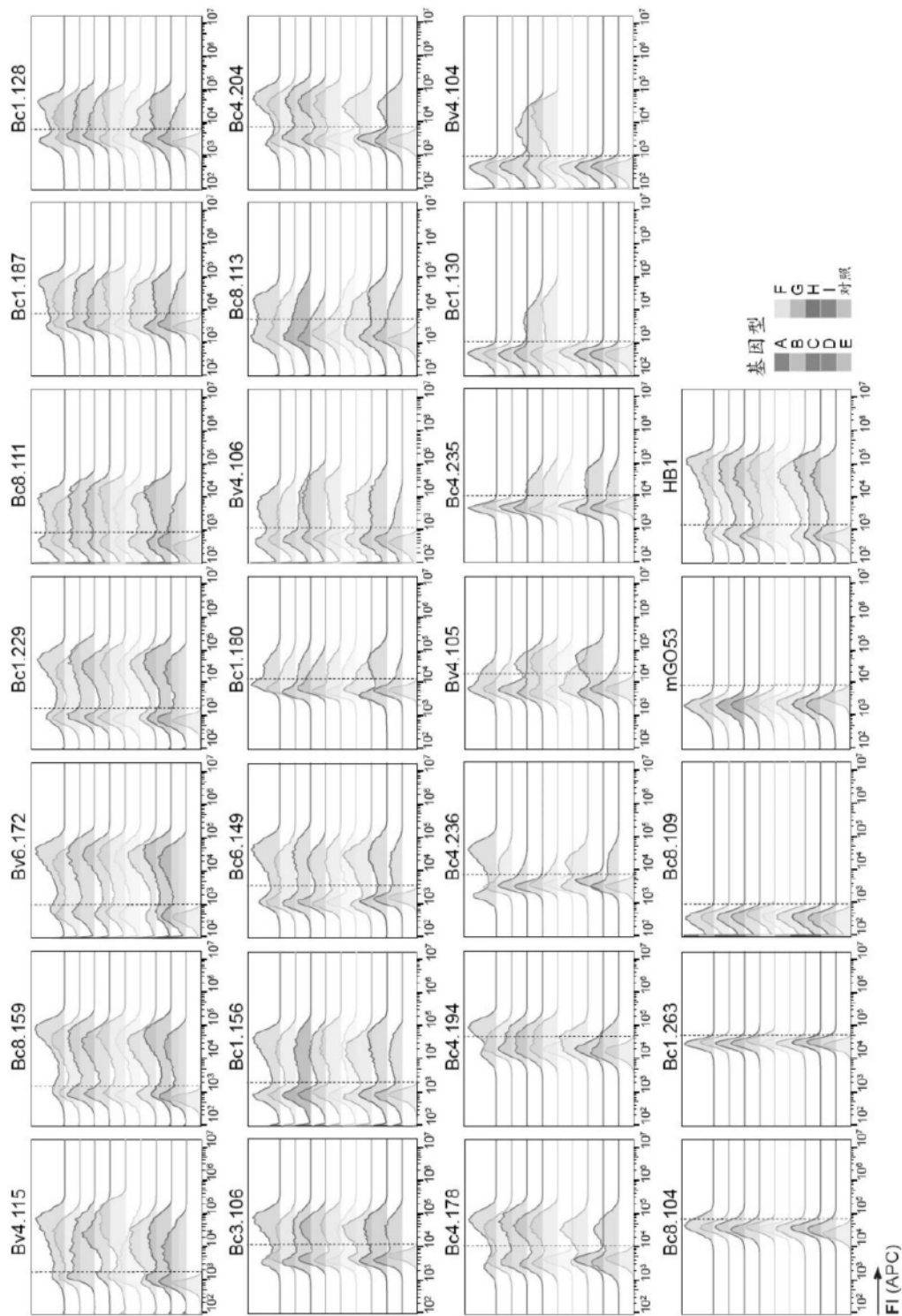


图15B

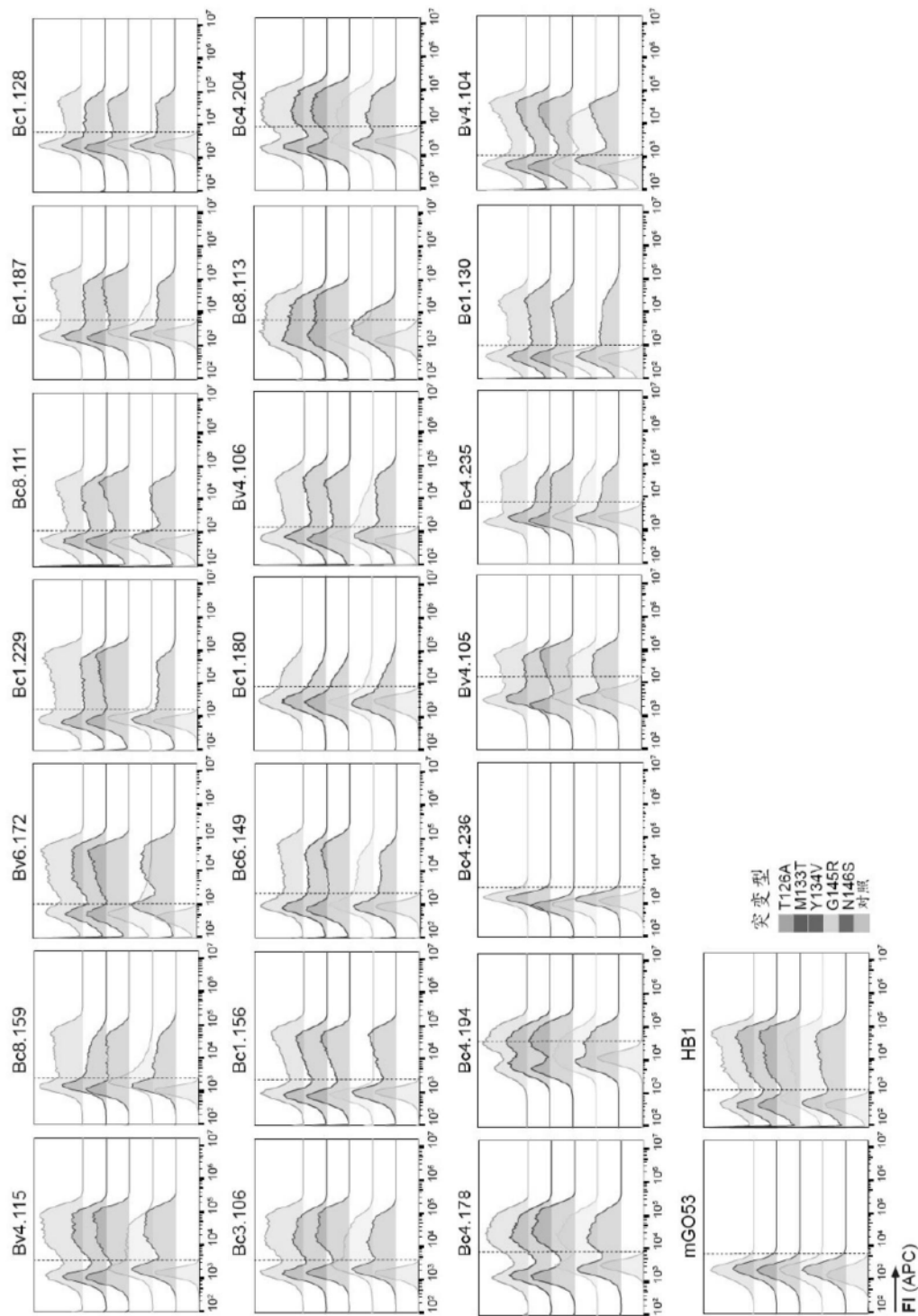


图16

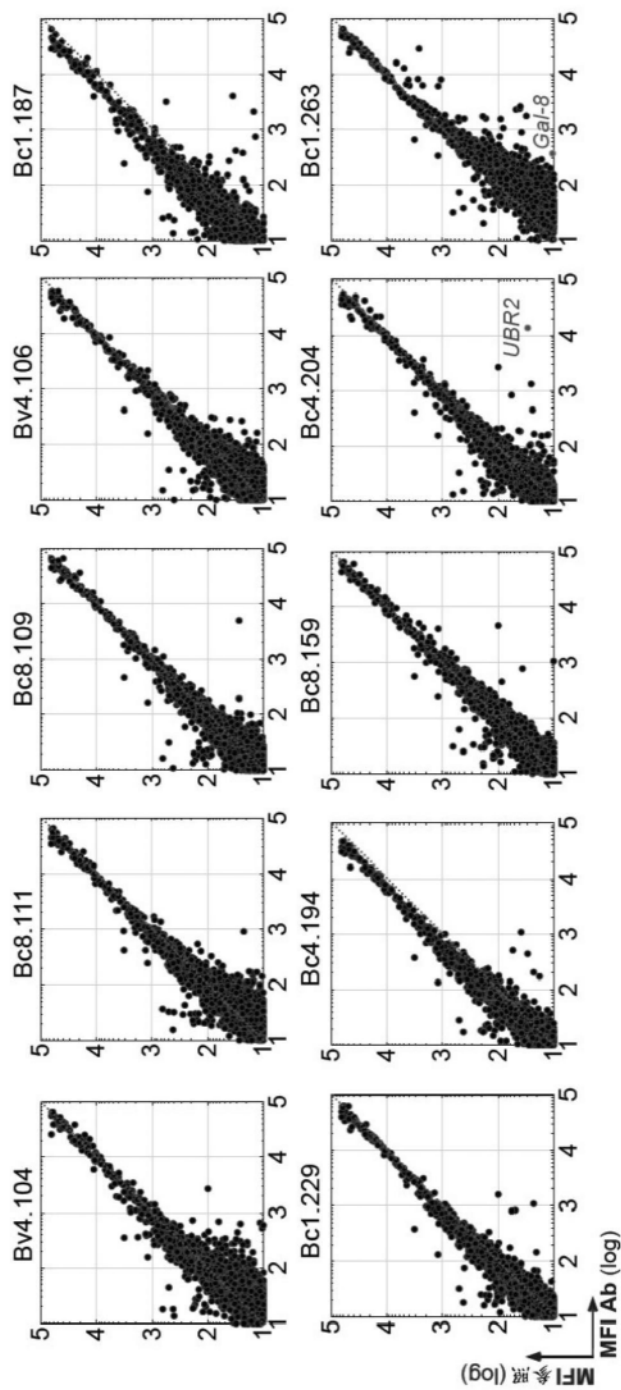


图17A

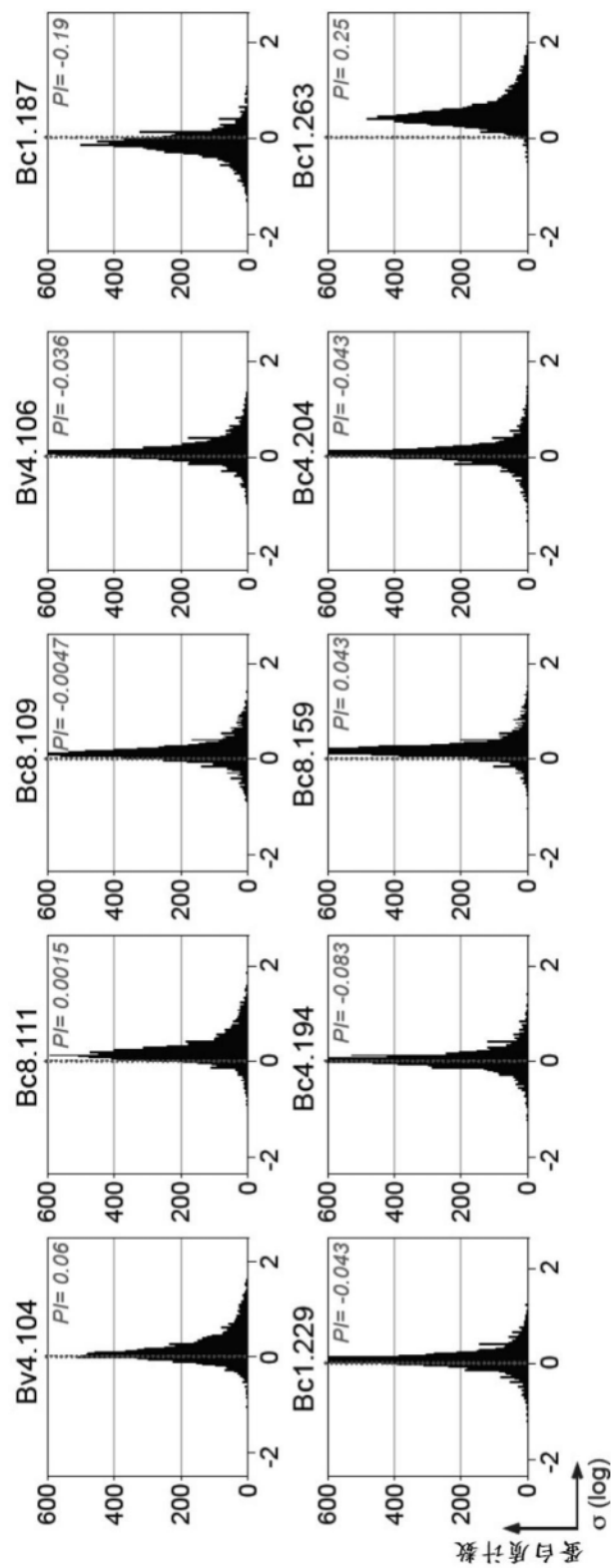


图17B

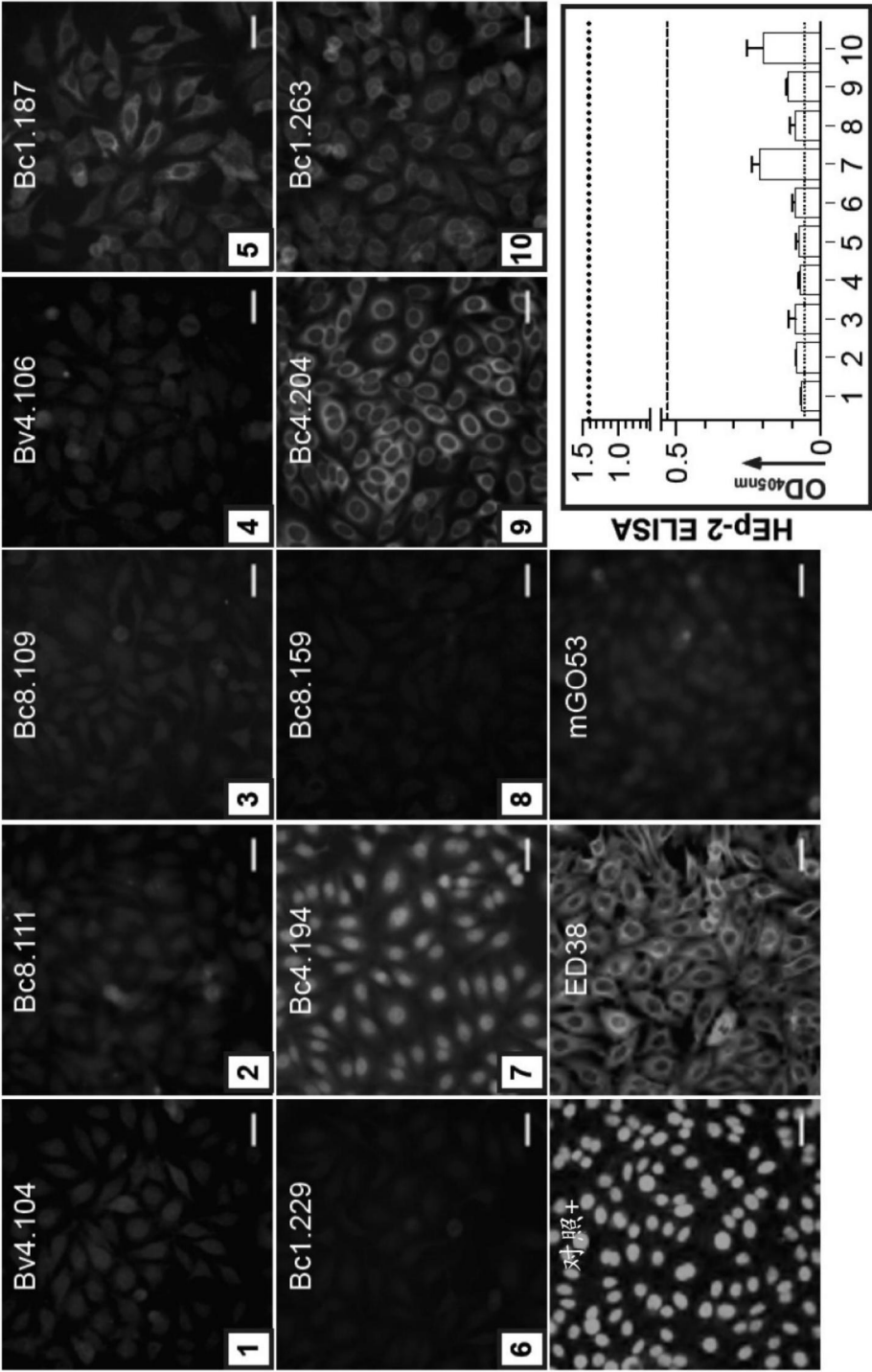


图17C

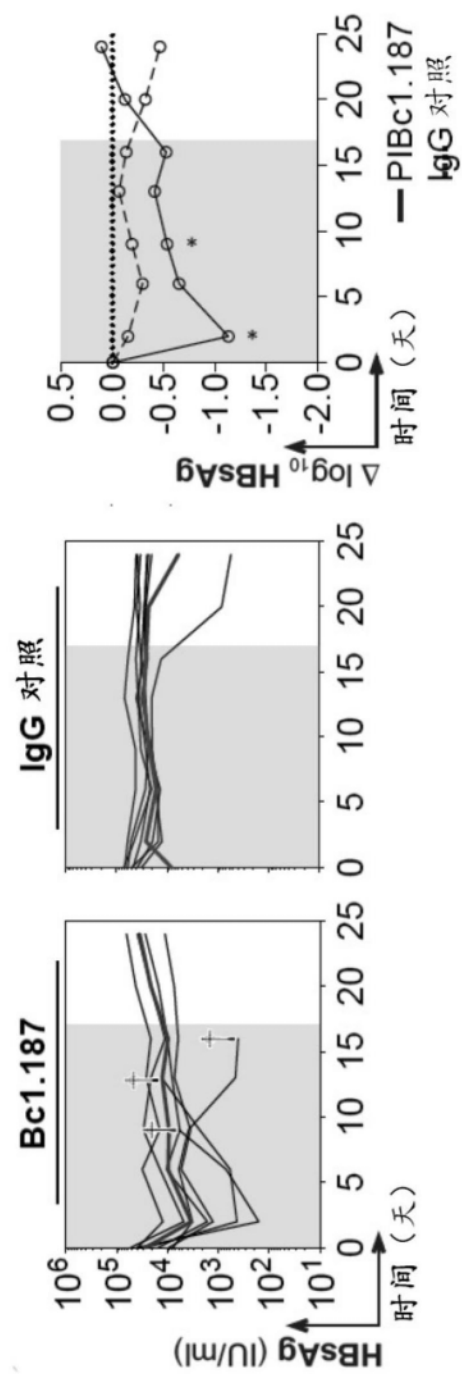


图18A

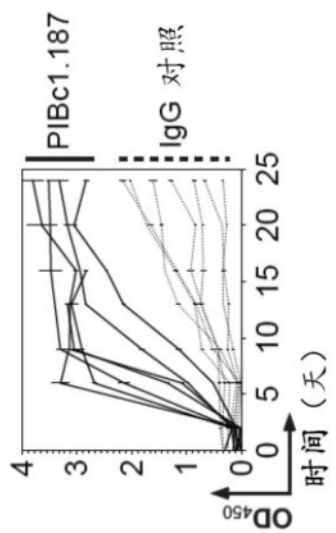


图18B

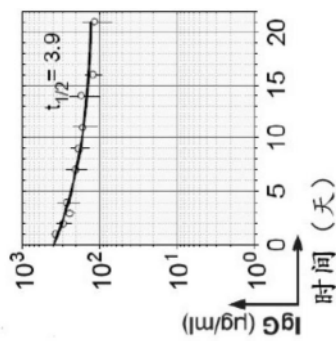


图18C

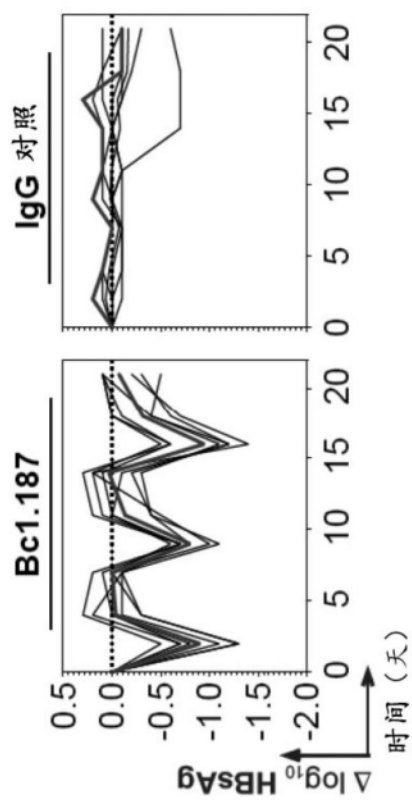


图18D

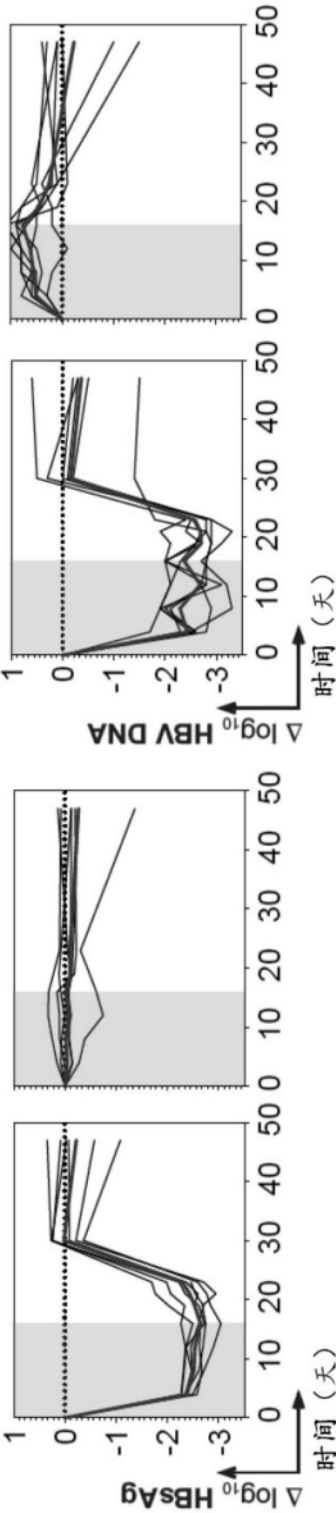


图18E

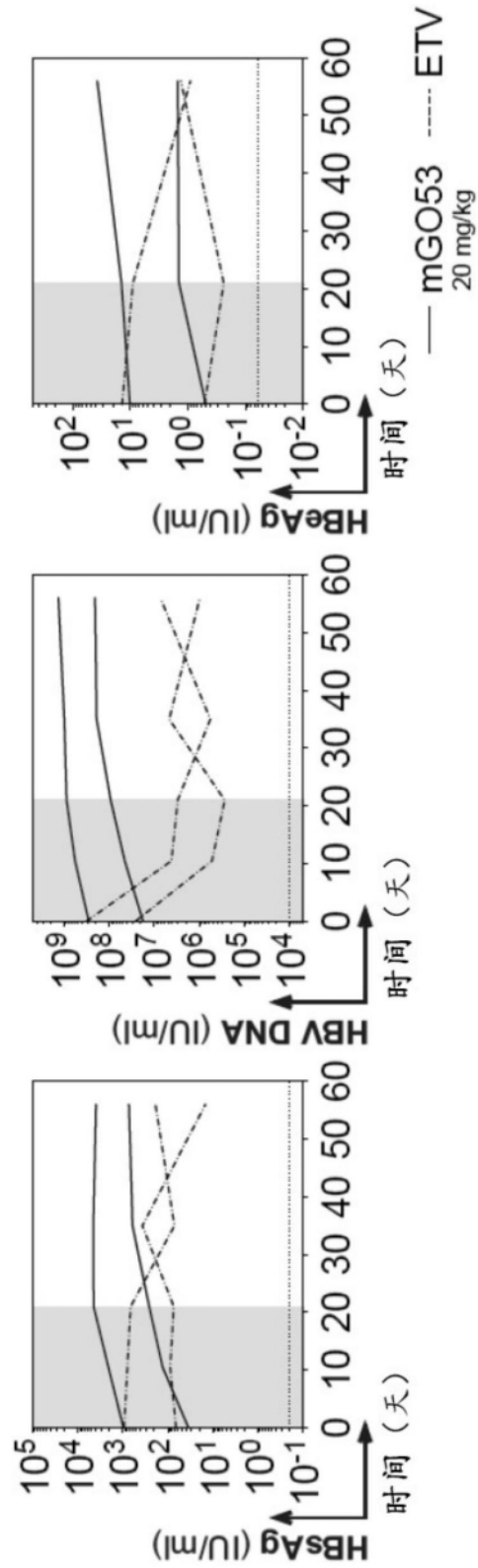


图19A

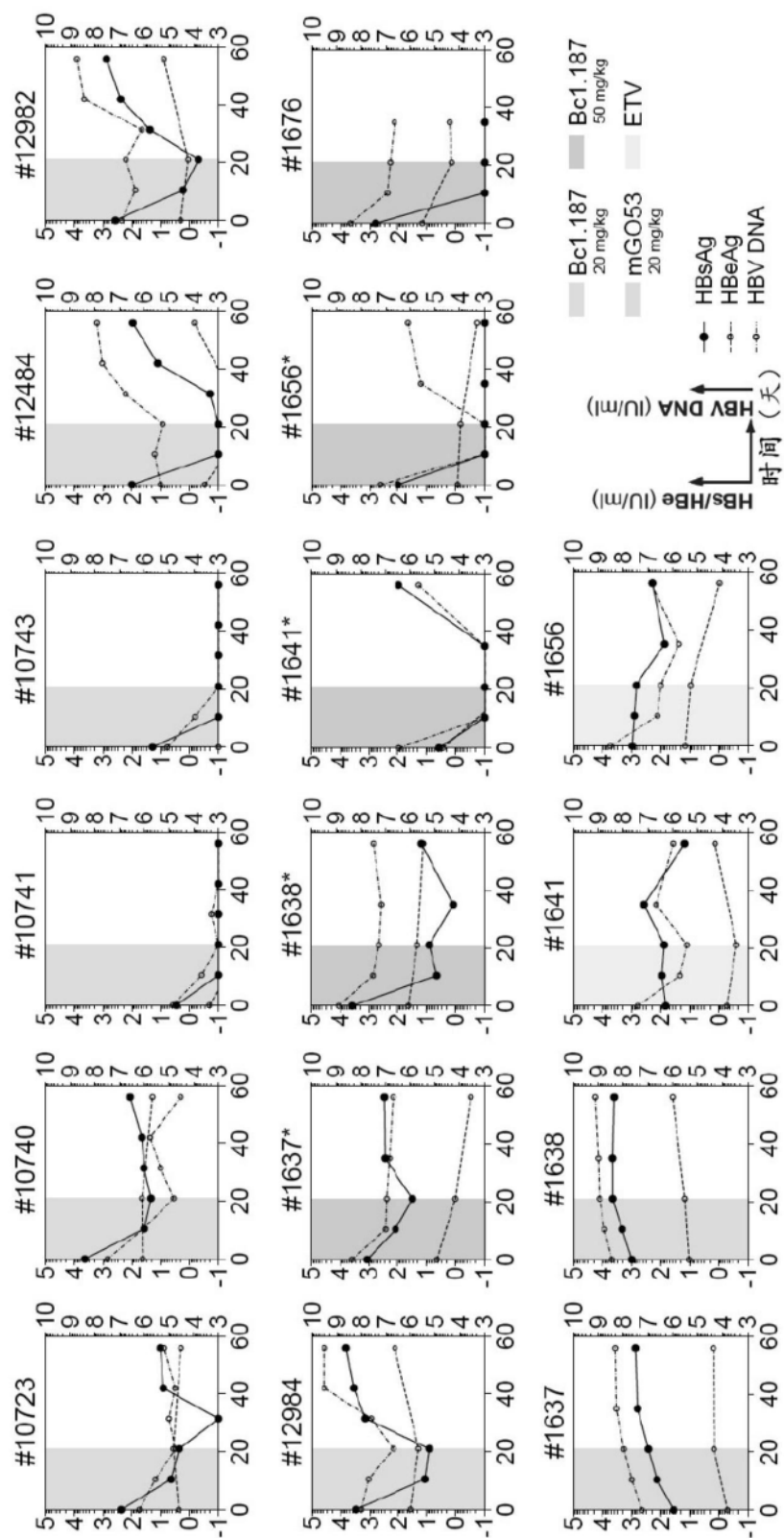


图19B

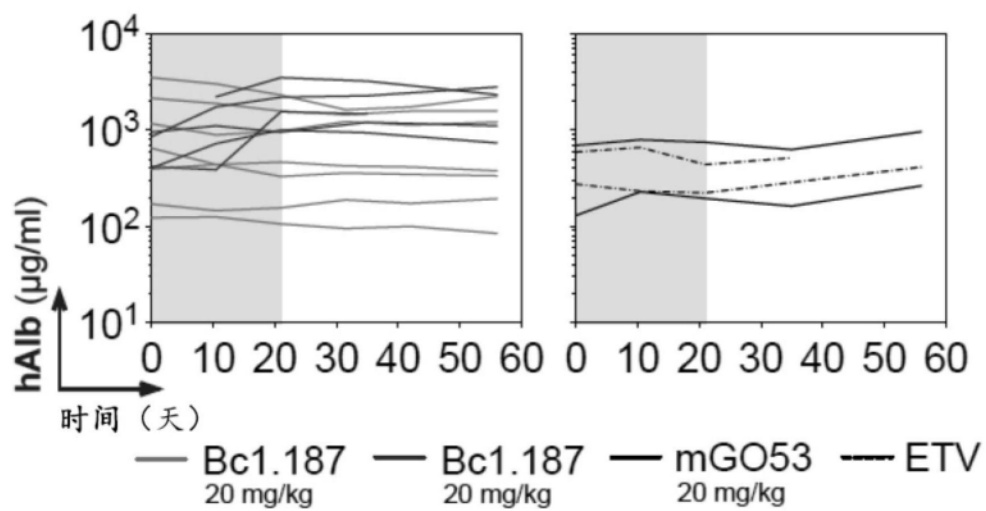


图19C