



(12) 发明专利

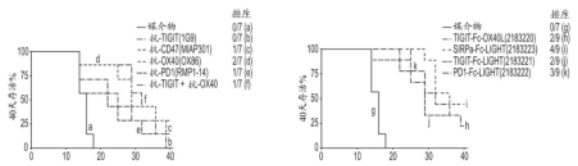
(10) 授权公告号 CN 110381983 B

(45) 授权公告日 2024. 07. 09

(21) 申请号 201880013956.1	(72) 发明人 T • 施赖伯 G • 弗罗姆 S • 达西瓦
(22) 申请日 2018.02.27	
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 110381983 A	(74) 专利代理机构 北京市铸成律师事务所 11313 专利代理师 郗名悦 刘文娜
(43) 申请公布日 2019.10.25	
(30) 优先权数据 62/464,002 2017.02.27 US	(51) Int.Cl. A61K 38/17 (2006.01) A61K 38/19 (2006.01) C07K 14/525 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2019.08.26	
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/US2018/020037 2018.02.27	(56) 对比文件 CN 102850458 A, 2013.01.02 US 2016340430 A1, 2016.11.24
(87) PCT国际申请的公布数据 W02018/157162 EN 2018.08.30	审查员 李黎
(73) 专利权人 沙塔克实验室有限公司 地址 美国德克萨斯州	权利要求书2页 说明书50页 序列表69页 附图60页

(54) 发明名称
基于TIGIT和LIGHT的嵌合蛋白

(57) 摘要
本发明尤其涉及组合物和方法,其包括可用于治疗疾病诸如癌症和炎症疾病的基于TIGIT和/或LIGHT的嵌合蛋白。



1. 一种嵌合蛋白,其具有以下一般结构:

N末端-(a)-(b)-(c)-C末端,

其中:

(a) 是第一结构域,其包含I型跨膜蛋白的细胞外结构域,所述跨膜蛋白选自PD-1、CD172a(SIRP α)和TIGIT,

(b) 是接头,其包含至少一个能够形成二硫键的半胱氨酸残基,包含铰链-CH2-CH3 Fc结构域和一个或多个连接接头,此类连接接头选自SEQ ID NO:49-63和65-95、GS、GGs和LE,并且

(c) 是第二结构域,其包含为TNF超家族成员的II型跨膜蛋白的细胞外结构域,其共刺激免疫活化信号,所述跨膜蛋白是LIGHT。

2. 如权利要求1所述的嵌合蛋白,其中所述I型跨膜蛋白是PD-1。

3. 如权利要求1所述的嵌合蛋白,其中所述I型跨膜蛋白是CD172a(SIRP α)。

4. 如权利要求1所述的嵌合蛋白,其中所述I型跨膜蛋白是TIGIT。

5. 如权利要求1至4中任一项所述的嵌合蛋白,其中铰链-CH2-CH3 Fc结构域衍生自IgG4。

6. 如权利要求5所述的嵌合蛋白,其中所述铰链-CH2-CH3 Fc结构域衍生自人IgG4。

7. 如权利要求5所述的嵌合蛋白,其中所述接头包含与SEQ ID NO:46或SEQ ID NO:47的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。

8. 如权利要求5所述的嵌合蛋白,其中所述接头包含与SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。

9. 如权利要求5所述的嵌合蛋白,其中所述接头包含两个或多个连接接头,此类连接接头独立地选自SEQ ID NO:49-63和65-95、GS、GGs和LE。

10. 如权利要求9所述的嵌合蛋白,其中一个连接接头在所述铰链-CH2-CH3 Fc结构域的N末端,并且另一个连接接头在所述铰链-CH2-CH3 Fc结构域的C末端。

11. 如权利要求1至4中任一项所述的嵌合蛋白,其中所述嵌合蛋白是重组融合蛋白。

12. 如权利要求1至4中任一项所述的嵌合蛋白,其中所述嵌合蛋白能够在细胞之间形成稳定突触。

13. 如权利要求12所述的嵌合蛋白,其中所述细胞之间的稳定突触提供有利于肿瘤减少的空间取向。

14. 如权利要求13所述的嵌合蛋白,其中所述空间取向定位T细胞以攻击肿瘤细胞和/或在空间上防止肿瘤细胞递送负信号,包括超出嵌合蛋白掩蔽的那些信号的负信号。

15. 如权利要求1至4中任一项所述的嵌合蛋白,其中所述细胞外结构域中的一者或两者与其各自的结合配偶体的结合以低解离速率发生,其提供受体与其配体的长相互作用。

16. 如权利要求15所述的嵌合蛋白,其中所述长相互作用提供持续的负信号掩蔽效果。

17. 如权利要求15所述的嵌合蛋白,其中所述长相互作用递送更长的正信号效果。

18. 如权利要求17所述的嵌合蛋白,其中所述更长的正信号效果允许效应细胞被足够地刺激以用于抗肿瘤效果。

19. 如权利要求15所述的嵌合蛋白,其中所述长相互作用提供T细胞增殖并允许抗肿瘤攻击。

20. 如权利要求15所述的嵌合蛋白,其中所述长相互作用允许足够的信号传递以提供刺激信号的释放。

21. 如权利要求20所述的嵌合蛋白,其中所述刺激信号是细胞因子。

22. 如权利要求1所述的嵌合蛋白,其中所述嵌合蛋白具有与SEQ ID NO:5、8或11的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。

23. 一种表达载体,其包含编码如权利要求1至22中任一项所述的嵌合蛋白的核酸。

24. 一种宿主细胞,其包含如权利要求23所述的表达载体。

25. 一种药物组合物,其包含治疗有效量的如权利要求1至22中任一项所述的嵌合蛋白。

26. 如权利要求1至22中任一项所述的嵌合蛋白用于制造用于治疗有需要的受试者中的表达PD-1、CD172a (SIRP α) 或TIGIT的配体的癌症的药物的用途。

27. 如权利要求26所述的用途,其中当与所述嵌合蛋白的所述第二结构域结合时,所述受试者的T细胞被活化,并且:

(a) 当与所述嵌合蛋白的所述第一结构域结合时,预防一种或多种肿瘤细胞传递免疫抑制信号,

(b) 所述受试者的外周血中的可定量的细胞因子应答被活化,并且/或者

(c) 与用针对所述I型跨膜蛋白或II型跨膜蛋白的抗体或其各自的配体或受体治疗的受试者相比,所述有需要的受试者中的肿瘤生长减少。

28. 如权利要求26所述的用途,其中所述嵌合蛋白能够刺激LIGHT的信号传导,并且活化抗原呈递细胞。

29. 如权利要求26至28中任一项所述的用途,其中与未治疗的受试者或用针对所述I型跨膜蛋白或II型跨膜蛋白的抗体或其各自的配体或受体治疗的受试者相比,所述嵌合蛋白能够减少调节T细胞 (Treg) 的量或活性。

30. 如权利要求26至28中任一项所述的用途,其中与未治疗的受试者或用针对所述I型跨膜蛋白或II型跨膜蛋白的抗体或其各自的配体或受体治疗的受试者相比,所述嵌合蛋白能够增加所述受试者的引流淋巴结中效应T细胞的引发。

31. 如权利要求26至28中任一项所述的用途,其中与未治疗的受试者或用针对所述I型跨膜蛋白或II型跨膜蛋白的抗体或其各自的配体或受体治疗的受试者相比,所述嵌合蛋白能够引起免疫抑制细胞的总体降低和朝向更具炎性的肿瘤环境的转移。

基于TIGIT和LIGHT的嵌合蛋白

[0001] 优先权

[0002] 本申请要求2017年2月27日提交的美国临时申请号62/464,002 的权益和优先权,所述临时申请的内容特此以引用的方式整体并入。

[0003] 电子提交的文本文件的描述

[0004] 本申请包含序列表。它已作为名称为“SHK-001PC1_SequenceListing_ST25”的ASCII文本文件通过 EFS-Web以电子方式提交。序列表的大小为141,613字节,并且创建于2018年2月27日左右。序列表特此以引用的方式整体并入。

技术领域

[0005] 本发明尤其涉及组合物和方法,包括可用于治疗疾病的嵌合蛋白,诸如癌症和自身免疫性疾病的免疫疗法。

背景技术

[0006] 免疫系统是身体对于可能导致疾病的外来物质的应答的中心。然而,许多癌症通过例如递送或传播免疫抑制信号而发展了避免免疫系统的机制。因此,仍然需要开发被赋予多种功能性的治疗剂-例如,逆转免疫抑制信号和刺激抗癌免疫应答。

发明内容

[0007] 因此,在各个方面,本发明提供了可用于癌症免疫疗法的组合物和方法。例如,本发明部分涉及特异性嵌合蛋白,其在提供免疫活化或共刺激信号的同时逆转或抑制免疫抑制信号。尤其重要的是,本发明提供了改进的嵌合蛋白,其可以在不希望受理论束缚的情况下基于包括一个或多个二硫键的接头区域中的稳定化来维持稳定且可产生的多聚体状态。因此,本发明的组合物和方法克服了产生双特异性剂的各种缺陷。

[0008] 在一些方面,嵌合蛋白具有以下一般结构:N末端-(a)-(b)-(c)-C末端,其中(a)是包含I型跨膜蛋白的细胞外结构域的第一结构域,(b)是包含至少一个能够形成二硫键的半胱氨酸残基的接头(包括但不限于衍生自人IgG4的铰链-CH2-CH3 Fc结构域),并且(c)是包含II型跨膜蛋白的细胞外结构域的第二结构域,其中所述接头连接第一结构域和第二结构域并任选地包含一个或多个如本文所述的连接接头。

[0009] 例如,在实施方案中,I型跨膜蛋白的细胞外结构域来自TIGIT (VSIG9,VSTM3)。

[0010] 在实施方案中,嵌合蛋白具有以下一般结构:N末端-(a)-(b)-(c)-C末端,其中(a)是包含I型跨膜蛋白的细胞外结构域的第一结构域,所述跨膜蛋白是TIGIT,(b)是包含至少一个能够形成二硫键的半胱氨酸残基的接头(包括但不限于衍生自人IgG4的铰链-CH2-CH3 Fc 结构域),并且(c)是包含II型跨膜蛋白的细胞外结构域的第二结构域,所述跨膜蛋白选自4-1BBL(TNFSF9)、GITRL(TNFSF18)、TL1A (TNFSF15)和LIGHT(TNFSF14),其中所述接头连接第一结构域和第二结构域并任选地包含一个或多个如本文所述的连接接头。

[0011] 例如,在实施方案中,II型跨膜蛋白的细胞外结构域来自LIGHT。

[0012] 在实施方案中,嵌合蛋白具有以下一般结构:N末端-(a)-(b)-(c)-C末端,其中(a)是包含I型跨膜蛋白的细胞外结构域的第一结构域,所述跨膜蛋白选自PD-1、CD172a (SIRP α)和TIGIT, (b)是包含至少一个能够形成二硫键的半胱氨酸残基的接头(包括但不限于衍生自人IgG4的铰链-CH2-CH3 Fc结构域),并且(c)是包含II型跨膜蛋白的细胞外结构域的第二结构域,所述跨膜蛋白是LIGHT,其中所述接头连接第一结构域和第二结构域并任选地包含一个或多个如本文所述的连接接头。

[0013] 在一些方面,提供了一种用于治疗癌症或炎性疾病的方法,其包括施用有效量的前述嵌合蛋白的药物组合物。在实施方案中,当与嵌合蛋白的第二结构域结合时,受试者的T细胞被活化,并且(a)当与嵌合蛋白的第一结构域结合时,预防一种或多种肿瘤细胞传递免疫抑制信号,(b)受试者的外周血中的可定量的细胞因子应答被活化,并且/或者(c)与用针对I型或II型蛋白的抗体或其各自的配体或受体治疗的受试者相比,有需要的受试者中的肿瘤生长减少。在实施方案中,所述方法刺激LIGHT、4-1BBL、GITRL和TL1A中的一种或多种的信号传导,并且活化抗原呈递细胞。在实施方案中,与未治疗的受试者或用针对I型或II型蛋白的抗体或其各自的配体或受体治疗的受试者相比,所述方法减少调节T细胞(Treg)的量或活性。在实施方案中,与未治疗的受试者或用针对I型或II型蛋白的抗体或其各自的配体或受体治疗的受试者相比,所述方法增加受试者的引流淋巴结中效应T细胞的引发。在实施方案中,与未治疗的受试者或用针对I型或II型蛋白的抗体或其各自的配体或受体治疗的受试者相比,所述方法引起免疫抑制细胞的总体降低和朝向更具炎性的肿瘤环境的转移。

[0014] 本文描述的任何方面或实施方案都可以与如本文所公开的任何其他方面或实施方案结合。

附图说明

[0015] 图1A至图1D示出了I型膜蛋白和II型膜蛋白(图1A和图1C)如何可以进行工程化的示意图,其中跨膜结构域和细胞内结构域被去除并使用接头序列连接(图1B)以产生单一嵌合蛋白,其中I型膜蛋白和II型膜蛋白的细胞外结构域各自在单一嵌合蛋白中面向外。图1B描绘了通过去除每种蛋白质的跨膜结构域和细胞内结构域进行的I型膜蛋白和II型膜蛋白的连接,并且其中来自每种蛋白质的释放的细胞外结构域(ECD)已经通过接头序列连接。本描述中的ECD可以包括通常位于细胞膜外的候选I型蛋白或II型蛋白的完整氨基酸序列,或其保留与预期受体或配体结合的任何部分。图1D描绘了线性构建体中的连接的细胞外结构域,其中I型膜蛋白的细胞外结构域面向构建体的“左”侧,并且II型膜蛋白的细胞外结构域面向构建体的“右”侧。

[0016] 图2A,使用PD-1-Fc-OX40L嵌合蛋白作为实例,示出了肿瘤细胞可以在细胞表面表达PD-L1,其可以结合由T细胞表达的PD-1(图2B)。此相互作用抑制T细胞的活化。包含与OX40L的细胞外结构域连接的PD-1的细胞外结构域的嵌合蛋白可以与肿瘤细胞表面上的PD-L1结合,从而防止与T细胞表面上的PD-1结合(图2C)。然后嵌合蛋白可以“悬挂”在肿瘤细胞表面,并且然后嵌合蛋白的OX40L部分可以与T细胞表面上表达的OX40结合。这将导致用共刺激OX40L信号替换抑制性PD-L1信号,以增强T细胞的抗肿瘤活性。图2D示出了由肿瘤细胞与T细胞之间的嵌合蛋白形成的突触。图2A至图2C示出了PD-1-Fc-OX40L嵌合蛋白

与其靶分子结合以在细胞之间产生突触的机制;因此,PD-1-Fc-OX40L说明了本发明的嵌合蛋白操作的机制。

[0017] 图3A示出了在还原条件下,用N+O去糖基化酶处理后,和/或在煮沸之后在SDS-PAGE上运行的鼠TIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白的蛋白质印迹。

[0018] 图3B示出了在还原条件下,用N+O去糖基化酶处理后,和/或在煮沸之后在SDS-PAGE上运行的人TIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白的蛋白质印迹。在两种情况下,每个结构域的特异性检测由抗TIGIT、抗Fc和抗OX40L印迹指示。

[0019] 图4A是示出在以下条件下进行的鼠TIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白的ELISA的图:重+轻链捕获并用Fc-HRP检测(顶部左侧),CD155/PVR-His捕获并用IgG检测(顶部右侧),OX40-His捕获并用针对mOX40L的抗体检测(底部左侧),以及OX40-Fc捕获并用重组CD155检测(底部右侧)。图4B是示出在以下条件下进行的人TIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白的ELISA的图:重+轻链捕获并用Fc-HRP检测(顶部左侧),CD155/PVR-His捕获并用IgG检测(顶部右侧),OX40-His捕获并用针对mOX40L的抗体检测(底部左侧),以及OX40-Fc捕获并用重组CD155、CD112或CD113蛋白检测(底部右侧)。

[0020] 图5A示出了生成以过表达人PVR(CHOK1/PVR)的细胞系,其可以用于检测通过含有TIGIT的构建体进行的结合(在图5A中,未染色的和同种型是重叠的)。

[0021] 图5B示出了生成以过表达结合素-2(CHOK1/结合素2)的细胞系,其可以用于检测通过含有TIGIT的构建体进行的结合。

[0022] 图5C示出了生成以过表达结合素-3(CHOK1/结合素3)的细胞系,其可以用于检测通过含有TIGIT的构建体进行的结合(在图5C中,未染色的、同种型和检测Ab是重叠的)。

[0023] 图6是示出小鼠TIGIT-Fc-OX40L与表达小鼠PVR的CHO-K1细胞(顶部左侧)、缺乏PVR的亲本CHO-K1细胞(底部左侧)或表达小鼠OX40的CHO-K1细胞(右侧)的结合的图。

[0024] 图7是示出来自含有大约6,000个人膜蛋白的微阵列的人TIGIT-Fc-OX40L的鉴定的结合配偶体的结果的表。在每种情况下,每种候选分子的预期的结合配偶体通过筛选鉴定。没有证据显示与其他人蛋白的非特异性结合,并且在所有含有Fc的融合蛋白的筛选中看到与Galectin-1的结合。

[0025] 图8A示出了在还原条件下,用N+O去糖基化酶处理后,和/或在煮沸之后在SDS-PAGE上运行的鼠mCD172a(SIRP α)-Fc-LIGHT嵌合蛋白的蛋白质印迹。

[0026] 图8B示出了在还原条件下,用N+O去糖基化酶处理后,和/或在煮沸之后在SDS-PAGE上运行的人CD172a(SIRP α)-Fc-LIGHT嵌合蛋白的蛋白质印迹。

[0027] 图9A是示出在以下条件下进行的鼠mCD172a(SIRP α)-Fc-LIGHT嵌合蛋白的ELISA的图:重+轻链捕获并用Fc-HRP检测(顶部左侧),CD47-His捕获并用IgG检测(顶部右侧),mLTBR-His捕获并用针对mLIGHT的抗体检测(底部左侧),以及LTBR His+GST捕获并用针对SIRP α 的抗体检测(底部右侧)。图9B是示出在以下条件下进行的人CD172a(SIRP α)-Fc-LIGHT嵌合蛋白的ELISA的图:重+轻链捕获并用Fc-HRP检测(顶部左侧),CD47-His捕获并用IgG检测(顶部右侧),人LTBR-His捕获并用针对人LIGHT的抗体检测(底部左侧),以及LTBR His+GST捕获并用针对SIRP α 的抗体检测(底部右侧)。

[0028] 图10A是示出小鼠CD172a(SIRP α)-Fc-LIGHT与表达小鼠CD47的CHO-K1细胞(左侧)或表达小鼠LTbR的CHO-K1细胞(右侧)的结合的图。图10B是示出人CD172a(SIRP α)-Fc-

LIGHT与表达小鼠CD47 的CHO-K1细胞的结合的图(仅检测Ab对照峰在最左侧,剩下的峰以增加的浓度从左向右分布(即,250在最右侧))。

[0029] 图11A是示出与CD47特异性抗体(克隆CC2C6或CC900002) 相比人CD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT和CD172a (SIRP α) -Fc-CD40L与食蟹猴红细胞的结合的图,顶部左侧。每种处理后食蟹猴红细胞的裂解在底部左侧以滴定曲线示出,并且示例性平板在右侧示出。Triton-X用作引起食蟹猴红细胞的裂解的阳性对照(针对参考,在顶部图中,在X轴点2nM处,从上到下的曲线是抗CD47/IgG-APC、抗 CD47-FITC、SIRP α -Fc-LIGHT和SIRP α -Fc-CD40L,而在底部图中,在X轴点2处,从上到下的曲线是Triton-X100、抗CD47 (CC2C6) 和抗CD47 (CC9002)、SIRP α -Fc-LIGHT和SIRP α -Fc-CD40L,全部覆盖)。图11B是示出与CD47特异性抗体(克隆CC2C6或CC900002) 相比人CD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT和CD172a (SIRP α) -Fc-CD40L与人红细胞的结合的图,来自3种不同人血供体中的每个。图11C,每种处理后人红细胞的裂解在左侧以滴定曲线示出,并且示例性平板在右侧示出。Triton-X用作引起食蟹猴红细胞的裂解的阳性对照。示出3 种人红细胞供体的数据。

[0030] 图12A示出了在还原条件下,用N+0去糖基化酶处理后,和/ 或在煮沸之后在SDS-PAGE上运行的鼠PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白的蛋白质印迹。图12B示出了在还原条件下,用N+0去糖基化酶处理后,和/或在煮沸之后在SDS-PAGE上运行的人PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白的蛋白质印迹。

[0031] 图13A是示出在以下条件下进行的鼠PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白的ELISA的图:重+轻链捕获并用Fc-HRP检测(左侧),mLTBR-His 捕获并用针对mLIGHT的抗体检测(中部),以及mPD-L1捕获并用针对mLIGHT的抗体检测(右侧)。图13B是示出在以下条件下进行的人 PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白的ELISA的图:重+轻链捕获并用Fc-HRP 检测(左侧),hLTBR-Fc His捕获并用针对生物素酰化的hLIGHT检测 (中部),以及hPDL1-Fc捕获并用hLTBR-His/6x His-HRP检测(右侧)。

[0032] 图14A是示出小鼠PD-1-Fc-LIGHT与表达小鼠PD-L1的 CHO-K1细胞(左侧)或表达小鼠LTbR的CHO-K1细胞(右侧)的结合的图。图14B是示出人PD-1-Fc-LIGHT与表达人PD-L1的CHO-K1 细胞的结合的图。

[0033] 图15A示出了在还原条件下,用N+0去糖基化酶处理后,和/ 或在煮沸之后在SDS-PAGE上运行的鼠TIGIT-Fc-LIGHT嵌合蛋白的蛋白质印迹。图15B示出了在还原条件下,用N+0去糖基化酶处理后,和/或在煮沸之后在SDS-PAGE上运行的人TIGIT-Fc-LIGHT嵌合蛋白的蛋白质印迹。

[0034] 图16A是示出在以下条件下进行的鼠TIGIT-Fc-LIGHT嵌合蛋白的ELISA的图:重+轻链捕获并用Fc-HRP检测(左侧),CD155/PVR 捕获并用Fc-HRP检测(中部),以及mLTBR-His捕获并用针对 mLIGHT的抗体检测(右侧)。图16B是示出在以下条件下进行的人 TIGIT-Fc-LIGHT嵌合蛋白的ELISA的图:重+轻链捕获并用Fc-HRP 检测(左侧),CD155-His捕获并用IgG检测(中部),以及hCD155-Fc 捕获并用hLTBR-His/6x His-HRP检测(右侧)。

[0035] 图17是示出小鼠TIGIT-Fc-LIGHT与表达小鼠PVR的CHO-K1 细胞(左侧)或表达小鼠LTbR的CHO-K1细胞(右侧)的结合的图。

[0036] 图18A是示出使用八隅体系统通过生物膜干涉技术采集的结合亲和力测量值的图,其证明人TIGIT-Fc-LIGHT、CD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT和PD-1-Fc-LIGHT与人LTbR的结

合(从上到下的所有图:30,10,3.3,0)。图18B是使用八隅体系统通过生物膜干涉技术采集的结合亲和力测量值,其证明在一系列浓度下人 PD-1-Fc-LIGHT与重组人PD-L1和PD-L2的结合(从上到下:500nM ARC x PD-L1,500nM ARC x PD-L2,166nM ARC x PD-L1,166nM ARC x PD-L2,56nM ARC x PD-L1,56nM ARC x PD-L2,无ARC)。

[0037] 图19A是示出使用八隅体系统通过生物膜干涉技术采集的结合亲和力测量值的图,其证明与一侧TIGIT-Fc融合蛋白对照相比人 TIGIT-Fc-0X40L和TIGIT-Fc-LIGHT与重组人CD155/PVR的结合(从上到下:TIGIT-Fc-LIGHT,TIGIT-Fc-0x40L,TIGIT-Fc)。图19B是使用八隅体系统通过生物膜干涉技术采集的结合亲和力测量值,其证明与单侧CD172a (SIRP α)-Fc对照或两种CD47特异性抗体对照中的一种相比人CD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT与重组人CD47的结合(从上到下:SIRP α -Fc-LIGHT,抗CD47,抗CD47 CC2C6和SIRP-Fc)。图 19C是使用八隅体系统通过生物膜干涉技术采集的结合亲和力测量值,其证明与单侧PD-1-Fc对照或抗PD-L1对照(阿特珠单抗(Atezolizumab))相比人PD-1-Fc-LIGHT与重组人PD-L1的结合(从上到下:PD-1-Fc-LIGHT,抗PDL1和PD-1-Fc)。图19D是使用八隅体系统通过生物膜干涉技术采集的结合亲和力测量值,其证明与单侧 LIGHT-Fc融合蛋白对照或抗LTbR抗体相比人 CD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT、TIGIT-Fc-LIGHT或PD-1-Fc-LIGHT与重组人LTbR的结合(从上到下:TIGIT-Fc-LIGHT,Sirp1 α -Fc-LIGHT,抗LTbR,PD-1-Fc-LIGHT和LIGHT-Fc)。

[0038] 图20A和图20B示出了超抗原细胞因子释放测定,其证明各种抗体小鼠TIGIT-Fc-0X40L、小鼠CD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT、小鼠 TIGIT-Fc-LIGHT和小鼠PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白对于通过葡萄球菌肠毒素B(SEB)活化的小鼠外周血白细胞的影响。图20A测定IL2分泌,并且图20B测定TNF α 分泌。对于图20A和图20B,每个SEB 浓度的条件的顺序从左向右反映,在图例中列出的条件从上到下反映(例如, α -PD-1(RMP1-14)在图例中是从上数第三个,并且因此在图中是从左数第三个,PD-1-Fc-LIGHT(10nM)在图例中是从下数第三个,并且因此在图中是从右数第三个等等)。图20C示出了在多个超抗原(SEB)浓度上数据的编译(同样,每个SEB浓度的条件的顺序从左向右反映,图例中列出的条件从上向下反映)。

[0039] 图21A至图21C示出了超抗原细胞因子释放测定,其证明各种抗体人TIGIT-Fc-LIGHT(图21A)、人TIGIT-Fc-0X40L(图21B)、人 PD-1-Fc-LIGHT和人CD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT(图21C)嵌合蛋白对于通过葡萄球菌肠毒素B(SEB)活化的人外周血白细胞的影响。

[0040] 图22A至图22B示出了来自体内肿瘤研究的结果,其证明与单克隆抗体TIGIT、CD47、0X40、PD-1或TIGIT和0X40的组合相比, mTIGIT-Fc-0X40L、mCD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT、mTIGIT-Fc-LIGHT和mPD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白的抗肿瘤功效。将CT26肿瘤植入到Balb/c小鼠中,之后用指示的方案处理。图22A示出了在肿瘤接种之后40天内每组的肿瘤大小的演变。图22B示出了在肿瘤接种之后40 天内小鼠的总体存活百分比,并且完全肿瘤排斥者的数量在嵌入的表中指示。在图22A和图22B中,处理条件通过字母识别。

[0041] 图23不希望受理论束缚地示出了PD-1-Fc-0X40L嵌合蛋白的四种潜在构型。

[0042] 图24示出了在非还原条件下、在还原条件下以及在还原条件下并用肽-N-糖苷酶F(PNGaseF)处理的在SDS-PAGE上运行的 PD-1-Fc-0X40L嵌合蛋白的蛋白质印迹。

[0043] 图25示出了在尺寸排阻色谱(SEC)上运行的PD-1-Fc-0X40L嵌合蛋白的色谱图。

[0044] 图26示出了在非还原条件(“-”)或还原条件(“+”)下运行的 PD-1-Fc-0X40L嵌合蛋白的SDS-PAGE凝胶和天然(非SDS)PAGE 凝胶。

[0045] 图27示出了缺乏Fc结构域的PD-1-No Fc-0X40L嵌合蛋白的天然(非SDS)PAGE凝胶。

[0046] 图28不希望受理论束缚地示出了六聚体和多联体如何由本发明的嵌合蛋白形成的模型。

[0047] 图29A至图29Q示出了通过蛋白质印迹分析进行的具有不同连接接头序列的PD-1-Fc-0X40L嵌合蛋白的表征。在下文实施例部分中提供了不同连接接头的序列。具体地,使用 α -PD-1、 α -Fc或 α -0X40L 抗体探测融合构建体的每个个体结构域。在每个图中,将所有印迹中未处理的PD-1-Fc-0X40L嵌合蛋白样品(例如对照)加载到泳道1中(无 β -巯基乙醇或PNGase)。将泳道2中的样品用还原剂 β -巯基乙醇处理,而将泳道3中的样品用PNGase处理。

[0048] 图30示出了通过针对蛋白质的中心Fc区的基于ELISA的捕获和检测测定进行的具有不同连接接头序列的PD-1-Fc-0X40L嵌合蛋白的表征。确定具有不同连接接头序列(#1至#17)的每种 PD-1-Fc-0X40L嵌合蛋白的蛋白质浓度。

[0049] 图31A至图31P示出了通过对PD-L1或0X40的FACS分析进行的具有不同连接接头序列的PD-1-Fc-0X40L嵌合蛋白的流式细胞术曲线。计算具有不同连接接头序列(#2至#17-参见以下实施例中接头身份的X轴标记和图表)的每种PD-1-Fc-0X40L嵌合蛋白的EC₅₀值。

[0050] 图32是示出可以组合成例示性模块接头的连接接头和Fc接头的表。所示的例示性模块接头可以与本文所述的I型蛋白和II型蛋白和/或本文所述的I型蛋白和II型蛋白的细胞外结构域组合,以形成本发明的嵌合蛋白。

具体实施方式

[0051] 本发明部分基于以下发现:嵌合蛋白可以利用这些蛋白质的取向(例如,I型相对于II型的取向)的方式由免疫调节跨膜蛋白的细胞外区域或效应子区域进行工程化,因此允许递送免疫刺激信号和/或免疫抑制信号,所述递送包括例如在癌症治疗中掩蔽免疫抑制信号并用免疫刺激信号替换免疫抑制信号,具体地,基于LIGHT和/或TIGIT 的嵌合蛋白具有医疗用途。

[0052] 嵌合蛋白

[0053] 在一些方面,嵌合蛋白具有以下一般结构:N末端-(a)-(b)-(c)-C末端,其中(a)是包含I型跨膜蛋白的细胞外结构域的第一结构域,(b)是具有至少一个能够形成二硫键的半胱氨酸残基的接头(包括但不限于衍生自人IgG4的铰链-CH2-CH3 Fc结构域),并且(c)是包含II型跨膜蛋白的细胞外结构域的第二结构域,其中所述接头连接第一结构域和第二结构域并任选地包含一个或多个如本文所述的连接接头,其中所述第一细胞外结构域和第二细胞外结构域中的一个免疫抑制信号,并且所述第一细胞外结构域和第二细胞外结构域中的一个免疫刺激信号。

[0054] 在实施方案中,嵌合蛋白是指重组融合蛋白,例如具有本文所述的细胞外结构域的单一多肽。例如,在实施方案中,嵌合蛋白在细胞中被翻译为单个单元。在实施方案中,嵌合蛋白是指多个多肽的重组蛋白,所述多个多肽例如是本文所述的多个细胞外结构域,其例如在体外(例如,用本文所述的一个或多个合成接头)连接以产生单个单元。

[0055] 在实施方案中,嵌合蛋白作为一个多肽进行化学合成,或者可以单独化学合成每个结构域,然后组合。在实施方案中,翻译嵌合蛋白的一部分,并化学合成一部分。

[0056] 在实施方案中,细胞外结构域是指能够与细胞外环境相互作用的跨膜蛋白的一部分。在实施方案中,细胞外结构域是指足以与配体或受体结合并将信号有效传递到细胞的跨膜蛋白的一部分。在实施方案中,细胞外结构域是在细胞或细胞膜外部的跨膜蛋白的整个氨基酸序列。在实施方案中,细胞外结构域是在细胞或细胞膜外部的跨膜蛋白的氨基酸序列的一部分,并且对于信号转导和/或配体结合是所需的,如可以使用本领域已知的方法测定(例如,体外配体结合和/或细胞活化测定)。

[0057] 在实施方案中,免疫抑制信号是指减弱或消除免疫应答的信号。例如,在肿瘤学的背景下,此类信号可以减弱或消除抗肿瘤免疫。在正常生理条件下,抑制信号可用于维持自身耐受性(例如,预防自身免疫性疾病),并且还可在免疫系统对病原性感染作出应答时保护组织免受损伤。例如但不限于,当阻断这种抑制信号时,可以通过检测细胞增殖、细胞因子产生、细胞杀伤活性或吞噬活性的增加来鉴定免疫抑制信号。

[0058] 在实施方案中,免疫刺激信号是指增强免疫应答的信号。例如,在肿瘤学的背景下,此类信号可以增强抗肿瘤免疫。例如但不限于,可以通过直接刺激白细胞的增殖、细胞因子产生、杀伤活性或吞噬活性来鉴定免疫刺激信号。具体实例包括使用受体激动剂抗体或使用编码TNF超家族受体的配体(分别为OX40L、LIGHT、4-1BBL、TL1A)的嵌合蛋白直接刺激TNF超家族受体,诸如OX40、LTbR、4-1BB或TNFRSF25。来自这些受体中的任一种的刺激都可以直接刺激个体T细胞亚群的增殖和细胞因子产生。另一个实例包括通过抑制免疫抑制细胞活性的受体直接刺激这种免疫抑制细胞。这将包括,例如,用GITR激动剂抗体或含有GITRL的嵌合蛋白刺激CD4⁺FoxP3⁺调节T细胞,这将降低那些调节T细胞抑制常规CD4⁺或CD8⁺T细胞增殖的能力。在另一个实例中,这将包括使用CD40激动剂抗体或含有CD40L的嵌合蛋白刺激抗原呈递细胞表面上的CD40,从而引起抗原呈递细胞的活化,包括增强这些细胞在适当的天然共刺激分子(包括B7或TNF超家族中的那些)的情况下呈递抗原的能力。在另一个实例中,这将包括使用含有LIGHT的嵌合蛋白刺激淋巴细胞或基质细胞表面上的LTBR,从而引起淋巴细胞的活化和/或产生促炎细胞因子或趋化因子以进一步刺激任选地在肿瘤内的免疫应答。

[0059] 膜蛋白通常由细胞外结构域、一个或一系列跨膜结构域和细胞内结构域组成。不希望受理论束缚,膜蛋白的细胞外结构域负责与可溶性或膜结合受体或配体相互作用。不希望受理论束缚,一个或多个跨膜结构域负责将蛋白质定位于质膜。不希望受理论束缚,膜蛋白的细胞内结构域负责协调与细胞信号分子的相互作用以协调对细胞外环境的细胞内应答(或反之亦然)。存在两种类型的单通膜蛋白,即具有细胞外氨基末端和细胞内羧基末端的那些蛋白质(I型)以及具有细胞外羧基末端和细胞内氨基末端的那些蛋白质(II型)。I型和II型膜蛋白二者都可以是受体或配体。对于I型膜蛋白,蛋白质的氨基末端面向细胞外,因此含有负责与细胞外环境中的其他结合配偶体(配体或受体)相互作用的功能性结构域。对于II型膜蛋白,蛋白质的羧基末端面向细胞外,因此含有负责与细胞外环境中的其他结合配偶体(配体或受体)相互作用的功能性结构域。因此,这两种类型的蛋白质具有彼此相反的取向。

[0060] 因为I型和II型膜蛋白的面向外的结构域是相反的,所以可以连接I型膜蛋白和II型膜蛋白的细胞外结构域,使得分子的‘面向外’结构域的取向也彼此相反(图1D)。因此,所得构建体将由使用接头序列连接到分子‘右’侧的II型膜蛋白的细胞外结构域的分子‘左’

侧的I型膜蛋白的细胞外结构域组成。此构建体可以通过将这三个片段(I型蛋白的细胞外结构域,接着是接头序列,接着是II型蛋白的细胞外结构域)克隆到载体(质粒、病毒或其他)中来产生,其中完整序列的氨基末端对应于含有I型蛋白的分子的‘左’侧,并且完整序列的羧基末端对应于含有II型蛋白的分子的‘右’侧。因此,在实施方案中,本发明的嵌合蛋白如此进行工程化。

[0061] 在实施方案中,细胞外结构域可以用于产生可溶性蛋白质,以竞争性地抑制所述受体的配体的信号传导。在实施方案中,细胞外结构域可以用于提供人工信号传导。

[0062] 在实施方案中,I型跨膜蛋白的细胞外结构域是免疫抑制信号。在实施方案中,II型跨膜蛋白的细胞外结构域是免疫刺激信号。

[0063] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含I型跨膜蛋白的细胞外结构域或其功能性片段。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含II型跨膜蛋白的细胞外结构域或其功能性片段。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含I型跨膜蛋白的细胞外结构域或其功能性片段,以及II型跨膜蛋白的细胞外结构域或其功能性片段。

[0064] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以被工程化以靶向驻留在人白细胞上的一种或多种分子,其包括但不限于以下的细胞外结构域(如果适用的话):SLAMF4、IL-2R α 、4-1BB/TNFRSF9、IL-2R β 、ALCAM、BTLA、B7-1、IL-4R、B7-H3、BLAME/SLAMFS、CEACAM1、IL-6R、IL-7R α 、IL-10R α 、IL-10R β 、IL-12R β 1、IL-12R β 2、CD2、IL-13R α 1、IL-13、CD3、CD4、ILT2/CDS5j、ILT3/CDS5k、ILT4/CDS5d、ILT5/CDS5a、lutegrin α 4/CD49d、CDS、整联蛋白 α E/CD103、CD6、整联蛋白 α M/CD11b、CDS、整联蛋白 α X/CD11c、整联蛋白 β 2/CDIS、KIR/CD15S、CD27/TNFRSF7、KIR2DL1、CD2S、KIR2DL3、CD30/TNFRSF8、KIR2DL4/CD15Sd、CD31/PECAM-1、KIR2DS4、CD40配体/TNFSF5、CD43、LAIR1、CD45、LAIR2、CDS3、白三烯B4-R1、CDS4/SLAMF5、NCAM-L1、CD94、NKG2A、CD97、NKG2C、CD229/SLAMF3、NKG2D、CD2F-10/SLAMF9、NT-4、CD69、NTB-A/SLAMF6、共用 γ 链/IL-2R γ 、骨桥蛋白、CRACC/SLAMF7、PD-1、CRTAM、PSGL-1、CTLA-4、RANK/TNFRSF11A、CX3CR1、CX3CL1、L-选择素、SIRPB1、SLAM、TCCR/WSX-1、DNAM-1、胸腺生成素、EMMPRIN/CD147、TIM-1、EphB6、TIM-2、Fas/TNFRSF6、TIM-3、Fas配体/TNFSF6、TIM-4、Fc γ RIII/CD16、TIM-6、TNFR1/TNFRSF1A、颗粒溶解素、TNFRIII/TNFRSF1B、TRAILRI/TNFRSF10A、ICAM-1/CD54、TRAILR2/TNFRSF10B、ICAM-2/CD102、TRAILR3/TNFRSF10C、IFN- γ R1、TRAILR4/TNFRSF10D、IFN- γ R2、TSLP、IL-1R1、LIGHT、LTBR(TNFRSF3)和TSLP R。

[0065] 调节T细胞的活化受到共刺激和共抑制信号的严重影响。两种主要的共刺激分子家族包括B7和肿瘤坏死因子(TNF)家族。这些分子分别与属于CD28或TNF受体家族的T细胞上的受体结合。许多明确定义的共抑制因子及其受体属于B7和CD28家族。

[0066] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以被工程化以靶向参与免疫抑制的一种或多种分子,包括例如TIGIT。

[0067] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含免疫抑制剂的细胞外结构域,包括例如TIGIT。

[0068] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含具有免疫抑制特性的I型膜蛋白的细胞外结构域。在实施方案中,嵌合蛋白被工程化以破坏、阻断、减少和/或抑制免疫抑制信号的传递。

[0069] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含免疫刺激信号的细胞外结构域,其是LIGHT

(CD258)。

[0070] 在实施方案中,嵌合蛋白模拟抑制信号配体与其同源受体(例如,TIGIT与CD155/PVR、结合素-2、结合素-3和/或结合素-4)的结合但抑制抑制信号传递到免疫细胞(例如,T细胞、巨噬细胞或其他白细胞)。

[0071] 在实施方案中,嵌合蛋白包含免疫抑制受体细胞外结构域和免疫刺激配体细胞外结构域,其可以但不限于在掩蔽肿瘤细胞的免疫抑制信号的同时向T细胞递送免疫刺激。在实施方案中,嵌合蛋白递送具有T细胞活化的最终结果的信号。

[0072] 在实施方案中,嵌合蛋白包含免疫抑制信号,其是免疫抑制信号的受体的ECD,并且免疫抑制信号作用于携带免疫抑制信号的同源配体的肿瘤细胞。在实施方案中,嵌合蛋白包含免疫刺激信号,其是免疫刺激信号的配体的ECD,并且免疫刺激信号作用于携带免疫刺激信号的同源受体的T细胞。在实施方案中,嵌合蛋白包含以下两者:(i)免疫抑制信号,其是免疫抑制信号的受体,并且免疫抑制信号作用于携带免疫抑制信号的同源配体的肿瘤细胞和(ii)免疫刺激信号,其是免疫刺激信号的配体,并且免疫刺激信号作用于携带免疫刺激信号的同源受体的T细胞。

[0073] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含Mahoney,Nature Reviews Drug Discovery 2015:14;561-585中描述的一种或多种免疫调节剂的细胞外结构域,所述文献的全部内容特此以引用的方式并入。

[0074] 在实施方案中,嵌合蛋白能够结合一种或多种鼠配体/受体。

[0075] 在实施方案中,嵌合蛋白能够结合一种或多种人配体/受体

[0076] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含具有免疫刺激特性的II型膜蛋白的细胞外结构域。在实施方案中,嵌合蛋白被工程化以增强、增加和/或刺激免疫刺激信号的传递。

[0077] 例如,在实施方案中,I型跨膜蛋白的细胞外结构域来自TIGIT。

[0078] TIGIT是脊髓灰质炎病毒受体(PVR)样蛋白,一种在T细胞上表达的含有免疫球蛋白和基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(ITIM)结构域的免疫受体。由此,TIGIT充当T细胞和自然杀伤(NK)细胞两者上的抑制免疫检查点,从而提供靶向免疫系统的适应性臂和先天臂两者的机会。

[0079] TIGIT在NK细胞和活化、记忆和调节T细胞的子组上表达,并且具体地在第二淋巴样器官内在滤泡辅助T细胞上表达。CD155/PVR 在内皮细胞上通过IFN- γ 上调,并且在未成熟胸腺细胞、淋巴结树突细胞以及上皮和神经元来源的肿瘤细胞上高度表达。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白(例如,包含TIGIT ECD)调节以上刚刚描述的任何细胞(例如,在免疫突触的环境下)。

[0080] TIGIT结合CD155/PVR、结合素-2、结合素-3和结合素-4。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白(例如,包含TIGIT ECD)调节TIGIT与CD155/PVR的结合(例如,减少或破坏结合或信号传递)。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白(例如,包含TIGIT ECD)调节TIGIT与结合素-2的结合(例如,减少或破坏结合或信号传递)。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白(例如,包含TIGIT ECD)调节TIGIT与结合素-3的结合(例如,减少或破坏结合或信号传递)。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白(例如,包含TIGIT ECD)调节TIGIT与结合素-4的结合(例如,减少或破坏结合或信号传递)。

[0081] 在实施方案中,嵌合蛋白具有以下一般结构:N末端-(a)-(b)-(c)-C末端,其中

(a) 是包含I型跨膜蛋白的细胞外结构域的第一结构域,所述跨膜蛋白是TIGIT, (b) 是包含至少一个能够形成二硫键的半胱氨酸残基的接头 (包括但不限于衍生自人IgG4的铰链-CH2-CH3 Fc 结构域), 并且 (c) 是包含II型跨膜蛋白的细胞外结构域的第二结构域,所述跨膜蛋白选自4-1BBL、GITRL、TL1A和LIGHT,其中所述接头连接第一结构域和第二结构域并任选地包含一个或多个如本文所述的连接接头。

[0082] 在实施方案中,嵌合蛋白包含免疫抑制剂TIGIT的细胞外结构域,并且如下与免疫刺激剂配对:TIGIT/OX-40L;TIGIT/4-1BBL, TIGIT/LIGHT;TIGIT/GITRL;TIGIT/CD70;TIGIT/CD30L; TIGIT/CD40L;TIGIT/CD137L;TIGIT/TL1A;和TIGIT/OX40L。在实施方案中,嵌合蛋白是TIGIT-Fc-4-1BBL、TIGIT-Fc-GITRL、TIGIT-Fc-LIGHT、TIGIT-Fc-OX40L或TIGIT-Fc-TL1A,其中Fc代表包含抗体的Fc结构域的至少一部分并且包含至少一个能够形成二硫键的半胱氨酸残基的接头。

[0083] 例如,在实施方案中,II型跨膜蛋白的细胞外结构域来自LIGHT。

[0084] LIGHT (HVEM-L、TNFSF14或CD258) 是TNF超家族的成员,是与淋巴毒素同源的实体,具有可诱导性质,并且能够与单纯疱疹病毒糖蛋白D竞争疱疹病毒侵入介体 (HVEM) /肿瘤坏死因子 (TNF) 相关 2。它是29-kDa II型跨膜蛋白,作为同源三聚体在活化T细胞以及 DC上表达,并且具有三种受体,即HVEM、LT- β 受体 (LT β R, TNFRSF3) 和诱骗受体3 (DcR3)。不希望受理论束缚,已知具有不同的细胞表达模式的三种受体与LIGHT相互作用:HVEM (TNFRSF14, CD270),在活化DC细胞、T细胞和B细胞、NK细胞、单核细胞和内皮细胞上检测到;LT β R,存在于滤泡DC和基质细胞上并且结合LIGHT;可溶性实体诱骗受体3 (DcR3),在多样的癌细胞诸如多种骨髓瘤和弥漫性大B细胞淋巴瘤上检测到。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以破坏或降低LIGHT与这三种受体中的一种或多种的相互作用。

[0085] LIGHT结合LTBR,并且潜在地结合HVEM以及DcR3。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白 (例如,包含LIGHT ECD) 调节LIGHT与 LTBR的结合 (例如,增加或促进结合或信号传递)。LTBR由内脏、淋巴样和其他基质、上皮和髓样细胞表达,但是不由淋巴细胞表达在实施方案,本发明的嵌合蛋白 (例如,包含LIGHT ECD) 调节内脏、淋巴样和其他基质、上皮和髓样细胞中的一种或多种。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白 (例如,包含LIGHT ECD) 调节LIGHT与HVEM的结合 (例如,增加或促进结合或信号传递)。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白 (例如,包含LIGHT ECD) 调节LIGHT与DcR3的结合 (例如,增加或促进结合或信号传递)。

[0086] 在实施方案中,嵌合蛋白具有以下一般结构:N末端- (a) - (b) - (c) -C末端,其中 (a) 是包含I型跨膜蛋白的细胞外结构域的第一结构域,所述跨膜蛋白选自PD-1、CD172a (SIRP α) 和TIGIT, (b) 是包含至少一个能够形成二硫键的半胱氨酸残基的接头 (包括但不限于衍生自人IgG4的铰链-CH2-CH3 Fc结构域), 并且 (c) 是包含II型跨膜蛋白的细胞外结构域的第二结构域,所述跨膜蛋白是LIGHT,其中所述接头连接第一结构域和第二结构域并任选地包含一个或多个如本文所述的连接接头。

[0087] 在实施方案中,嵌合蛋白包含免疫刺激剂LIGHT的细胞外结构域,并且如下与免疫抑制剂配对:PD-1/LIGHT, CD172a (SIRP α) /LIGHT,和TIGIT/LIGHT。在实施方案中,嵌合蛋白是PD-1-Fc-LIGHT、CD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT和TIGIT-Fc-LIGHT,其中Fc代表包含抗体的Fc结构域的至少一部分并且包含至少一个能够形成二硫键的半胱氨酸残基的接头。

[0088] 在实施方案中,嵌合蛋白包含免疫抑制剂的细胞外结构域,并且与免疫刺激剂配

对。在实施方案中,嵌合蛋白与同源受体或配体结合,其中 K_D 为约1nM至约5nM,例如约1nM、约1.5nM、约2nM、约2.5nM、约3nM、约3.5nM、约4nM、约4.5nM或约5nM。在实施方案中,嵌合蛋白与同源受体或配体结合,其中 K_D 为约5nM至约15nM,例如约5nM、约5.5nM、约6nM、约6.5nM、约7nM、约7.5nM、约8nM、约8.5nM、约9nM、约9.5nM、约10nM、约10.5nM、约11nM、约11.5nM、约12nM、约12.5nM、约13nM、约13.5nM、约14nM、约14.5nM或约15nM。

[0089] 在实施方案中,嵌合蛋白表现出增强的稳定性和蛋白质半衰期。在实施方案中,嵌合蛋白以高亲和力与FcRn结合。在实施方案中,嵌合蛋白可以与FcRn结合,其中 K_D 为约1nM至约80nM。例如,嵌合蛋白可以与FcRn结合,其中 K_D 为约1nM、约2nM、约3nM、约4nM、约5nM、约6nM、约7nM、约8nM、约9nM、约10nM、约15nM、约20nM、约25nM、约30nM、约35nM、约40nM、约45nM、约50nM、约55nM、约60nM、约65nM、约70nM、约71nM、约72nM、约73nM、约74nM、约75nM、约76nM、约77nM、约78nM、约79nM或约80nM。在实施方案中,嵌合蛋白可以与FcRn结合,其中 K_D 为约9nM。在实施方案中,嵌合蛋白基本上不与具有效应子功能的其他Fc受体(即,除FcRn之外的受体)结合。

[0090] 在实施方案中,提供了一种通过向受试者施用PD-1-Fc-LIGHT、CD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT和TIGIT-Fc-LIGHT嵌合蛋白中的一种或多种来治疗癌症和/或炎症性疾病(例如,本文其他地方所述的那些中的任一种)的方法,其中代表包含抗体的Fc结构域的至少一部分并且包含至少一个能够形成二硫键的半胱氨酸残基的接头。在实施方案中,所述方法产生记忆应答,其例如能够预防复发。在实施方案中,所述方法包括PD-1-Fc-LIGHT、CD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT和TIGIT-Fc-LIGHT中的一种或多种的持续治疗效果,例如,由于细胞外结构域组分以缓慢的解离速率(K_d 或 K_{off})与其各自的结合配偶体的结合,以任选地提供持续的负信号掩蔽效果和/或更长的正信号效果,例如,以使效应细胞被充分刺激用于抗肿瘤效果。

[0091] 在实施方案中,提供了一种通过向受试者施用TIGIT-Fc-4-1BBL、TIGIT-Fc-GITRL、TIGIT-Fc-TL1A和TIGIT-Fc-LIGHT嵌合蛋白中的一种或多种来治疗癌症或炎症性疾病(例如,本文其他地方所述的那些中的任一种)的方法,其中代表包含抗体的Fc结构域的至少一部分并且包含至少一个能够形成二硫键的半胱氨酸残基的接头。在实施方案中,所述方法产生记忆应答,其例如能够预防复发。在实施方案中,所述方法包括TIGIT-Fc-4-1BBL、TIGIT-Fc-GITRL、TIGIT-Fc-TL1A 和TIGIT-Fc-LIGHT中的一种或多种的持续治疗效果,例如,由于细胞外结构域组分以缓慢的解离速率(K_d 或 K_{off})与其各自的结合配偶体的结合,以任选地提供持续的负信号掩蔽效果和/或更长的正信号效果,例如,以使效应细胞被充分刺激用于抗肿瘤效果。

[0092] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以包含本文所述的细胞外结构域的变体,例如,与所公开的细胞外结构域中的任一种的已知氨基酸或核酸序列具有至少约60%、或至少约61%、或至少约62%、或至少约63%、或至少约64%、或至少约65%、或至少约66%、或至少约67%、或至少约68%、或至少约69%、或至少约70%、或至少约71%、或至少约72%、或至少约73%、或至少约74%、或至少约75%、或至少约76%、或至少约77%、或至少约78%、或至少约79%、或至少约80%、或至少约81%、或至少约82%、或至少约83%、或至少约84%、或至少约85%、或至少约86%、或至少约87%、或至少约88%、或至少约89%、或至少约90%、或至少约91%、或至少约92%、或至少约93%、或至少约94%、或至少约95%、或

至少约 96%、或至少约97%、或至少约98%、或至少约99%) 序列同一性的序列,所述细胞外结构域例如人细胞外结构域,例如SEQ ID NO:2、4、7、10、13、16、19、22、25、27、29、31、37或41中的一个或多个。

[0093] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含LIGHT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:2)。

[0094] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含PD-1的细胞外结构域 (SEQ ID NO:4)。

[0095] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含TIGIT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:10)。

[0096] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含CD172a (SIRP α) 的细胞外结构域 (SEQ ID NO:7)。

[0097] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含LIGHT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:2) 和PD-1的细胞外结构域 (SEQ ID NO:4)。

[0098] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含LIGHT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:2) 和TIGIT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:10)。

[0099] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含LIGHT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:2) 和CD172a (SIRP α) 的细胞外结构域 (SEQ ID NO:7)。

[0100] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含来自人IgG4抗体序列的铰链-CH2-CH3结构域 (SEQ ID NO:46、47或48)。

[0101] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含来自人IgG4抗体序列的铰链-CH2-CH3结构域 (SEQ ID NO:46、47或48),并且此序列由选自以下的至少一种连接接头侧接: SKYGPPCPSCP (SEQ ID NO:49)、SKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:50)、IEGRMD SEQ ID NO:52 (任选地SKYGPPCPSCP (SEQ ID NO:49) 或SKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:50) 是N末端,并且IEGRMD SEQ ID NO:52中的一个C末端)。

[0102] 在实施方案中,嵌合蛋白包含模块接头,如图32所示。

[0103] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含LIGHT的细胞外结构域和PD-1的细胞外结构域,使用来自人IgG4抗体序列的铰链-CH2-CH3 结构域作为接头 (此PD-1-Fc-LIGHT嵌合体是SEQ ID NO:5)。

[0104] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含LIGHT的细胞外结构域和TIGIT的细胞外结构域,使用来自人IgG4抗体序列的铰链-CH2-CH3结构域作为接头 (此TIGIT-Fc-LIGHT嵌合体是SEQ ID NO: 11)。

[0105] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含LIGHT的细胞外结构域和CD172a (SIRP α) 的细胞外结构域,使用来自人IgG4抗体序列的铰链-CH2-CH3结构域作为接头 (此CD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT嵌合体是 SEQ ID NO:8)。

[0106] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含TIGIT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:10)。

[0107] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含4-1BBL的细胞外结构域 (SEQ ID NO:13)。

[0108] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含GITRL的细胞外结构域 (SEQ ID NO:16)。

[0109] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含TL1A的细胞外结构域 (SEQ ID NO:19)。

[0110] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含LIGHT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:2)。

[0111] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含OX40L的细胞外结构域 (SEQ ID NO:22)。

[0112] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含TIGIT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:10) 和4-1BBL的细胞外结构域 (SEQ ID NO:13)。

[0113] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含TIGIT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:10) 和 GITRL的细胞外结构域 (SEQ ID NO:16)。

[0114] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含TIGIT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:10) 和 TL1A的细胞外结构域 (SEQ ID NO:19)。

[0115] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含TIGIT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:10) 和 LIGHT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:2)。

[0116] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含TIGIT的细胞外结构域 (SEQ ID NO:10) 和 OX40L的细胞外结构域 (SEQ ID NO:22)。

[0117] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含来自人IgG4抗体序列的铰链-CH2-CH3结构域 (SEQ ID NO:46、47或48)。

[0118] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含来自人IgG4抗体序列的铰链-CH2-CH3结构域 (SEQ ID NO:46、47或48),并且此序列由选自以下的至少一种连接接头侧接: SKYGPPCPSCP (SEQ ID NO:49)、SKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:50)、IEGRMD SEQ ID NO:52 (任选地SKYGPPCPSCP (SEQ ID NO:49) 或SKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:50) 是N末端,并且IEGRMD SEQ ID NO:52中的一个C末端)。

[0119] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含TIGIT的细胞外结构域和 4-1BBL的细胞外结构域,使用来自人IgG4抗体序列的铰链-CH2-CH3 结构域作为接头 (此TIGIT-Fc-4-1BBL嵌合体是SEQ ID NO:14)。

[0120] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含TIGIT的细胞外结构域和 GITRL的细胞外结构域,使用来自人IgG4抗体序列的铰链-CH2-CH3 结构域作为接头 (此TIGIT-Fc-GITRL嵌合体是SEQ ID NO:17)。

[0121] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含TIGIT的细胞外结构域和 TL1A的细胞外结构域,使用来自人IgG4抗体序列的铰链-CH2-CH3 结构域作为接头 (此TIGIT-Fc-TL1A嵌合体是SEQ ID NO:20)。

[0122] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含TIGIT的细胞外结构域和 LIGHT的细胞外结构域,使用来自人IgG4抗体序列的铰链-CH2-CH3 结构域作为接头 (此TIGIT-Fc-LIGHT嵌合体是SEQ ID NO:11)。

[0123] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含TIGIT的细胞外结构域和 OX40L的细胞外结构域,使用来自人IgG4抗体序列的铰链-CH2-CH3 结构域作为接头 (此TIGIT-Fc-OX40L嵌合体是SEQ ID NO:23)。

[0124] 在实施方案中,嵌合蛋白可以包含来自本文鉴定的序列的细胞外结构域,其与来自本文鉴定的另一个序列的细胞外结构域组合。例如, TIGIT-Fc-TL1A嵌合蛋白的序列可以包含如以上公开的在SEQ ID NO:10中的TIGIT的细胞外结构域和如以上公开的在SEQ ID NO:19 中的TL1A的细胞外结构域。

[0125] 在实施方案中,另外的嵌合蛋白和使用另外的嵌合蛋白的方法 (例如,在治疗癌症和/或治疗炎症性疾病中): TIGIT-Fc-4-1BBL、TIGIT-Fc-CD30L、TIGIT-Fc-FasL、TIGIT-Fc-GITRL、TIGIT-Fc-TL1A 和TIGIT-Fc-TRAIL。4-1BBL、CD30L、FasL、GITRL、TL1A和TRAIL的氨基酸序列分别包括SEQ ID NO:12、26、30、15、18和40。4-1BBL、CD30L、FasL、GITRL、TL1A和TRAIL的细胞外结构域的氨基酸序列分别是SEQ ID NO:13、27、31、16、19和41。

[0126] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以是本文所述的变体,例如,本发明的嵌合蛋白可以具有与本发明的嵌合蛋白的氨基酸序列具有至少约60%、或至少约61%、或至少约62%、或至少约63%、或至少约64%、或至少约65%、或至少约66%、或至少约67%、或至少约68%、或至少约69%、或至少约70%、或至少约71%、或至少约72%、或至少约73%、或至少约74%、或至少约75%、或至少约76%、或至少约77%、或至少约78%、或至少约79%、或至少约80%、或至少约81%、或至少约82%、或至少约83%、或至少约84%、或至少约85%、或至少约86%、或至少约87%、或至少约88%、或至少约89%、或至少约90%、或至少约91%、或至少约92%、或至少约93%、或至少约94%、或至少约95%、或至少约96%、或至少约97%、或至少约98%、或至少约99%)序列同一性的序列,所述本发明的嵌合蛋白的氨基酸序列例如SEQ ID NO:5、8、11、14、17、20、23、42、43、44或45中的一个或多个。

[0127] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含如PCT/US2016/054598的表1中所述的人I型跨膜蛋白的细胞外结构域或其功能性片段。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含如PCT/US2016/054598的表2中所述的人II型跨膜蛋白的细胞外结构域或其功能性片段。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白包含如PCT/US2016/054598的表1中所述的I型跨膜蛋白的细胞外结构域或其功能性片段,以及如PCT/US2016/054598的表2中所述的II型跨膜蛋白的细胞外结构域或其功能性片段。PCT/US2016/054598的全部内容特此以引用的方式并入。

[0128] 在实施方案中,嵌合蛋白可以包含相对于本文所述的任何蛋白质序列具有一个或多个氨基酸突变的氨基酸序列。在实施方案中,一个或多个氨基酸突变可以独立地选自取代、插入、缺失和截短。

[0129] 在实施方案中,氨基酸突变是氨基酸取代,并且可以包括保守取代和/或非保守取代。

[0130] 例如,“保守取代”可以基于所涉及的氨基酸残基的极性、电荷、大小、溶解度、疏水性、亲水性和/或两亲性质的相似性来完成。20种天然存在的氨基酸可以分为以下六个标准氨基酸组:(1)疏水性:Met、Ala、Val、Leu、Ile;(2)中性亲水的:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;(3)酸性的:Asp、Glu;(4)碱性的:His、Lys、Arg;(5)影响链取向的残基:Gly、Pro;和(6)芳族的:Trp、Tyr、Phe。

[0131] 如本文所用,“保守取代”定义为氨基酸被上文所示的六个标准氨基酸组的相同组中列出的另一种氨基酸交换。例如,由Glu交换Asp在如此修饰的多肽中保留一个负电荷。此外,甘氨酸和脯氨酸可以基于它们破坏 α -螺旋的能力而彼此取代。

[0132] 如本文所用,“非保守取代”定义为氨基酸被上文所示的六个标准氨基酸组(1)至(6)的不同组中列出的另一种氨基酸交换。

[0133] 在实施方案中,取代还可以包括非经典氨基酸(一般例如,硒代半胱氨酸、吡咯赖氨酸、N-甲酰甲硫氨酸 β -丙氨酸、GABA和 δ -氨基乙酰丙酸、4-氨基苯甲酸(PABA)、常见氨基酸的D型异构体、2,4-二氨基丁酸、 α -氨基异丁酸、4-氨基丁酸、Abu、2-氨基丁酸、 γ -Abu、 ϵ -Ahx、6-氨基己酸、Aib、2-氨基异丁酸、3-氨基丙酸、鸟氨酸、正亮氨酸、正缬氨酸、羟基脯氨酸、肌氨酸(sarcosine)、瓜氨酸、高瓜氨酸、磺丙氨酸、叔丁基甘氨酸、叔丁基丙氨酸、苯基甘氨酸、环己基丙氨酸、 β -丙氨酸、氟代氨基酸、设计产生氨基酸(designer amino acids)(诸如 β 甲基氨基酸、 $\text{C}\alpha$ -甲基氨基酸、 $\text{N}\alpha$ -甲基氨基酸)以及氨基酸类似物)。

[0134] 还可以通过参考遗传密码(包括考虑密码子简并性)对嵌合蛋白的核苷酸序列进

行突变。

[0135] 在实施方案中,嵌合蛋白包含接头。在实施方案中,接头包含至少一个能够形成二硫键的半胱氨酸残基。如本文其他地方所述,不希望受理论束缚,这种至少一个能够形成二硫键的半胱氨酸残基负责维持嵌合蛋白的适当多聚体状态并允许有效生产。

[0136] 在实施方案中,接头可以衍生自天然存在的多结构域蛋白或者是经验接头,如例如在Chichili等,(2013),Protein Sci.22(2):153-167,Chen等,(2013),Adv Drug Deliv Rev.65(10):1357-1369中所述,所述文献的全部内容特此以引用的方式并入。在实施方案中,接头可以使用接头设计数据库和计算机程序来设计,诸如Chen等,(2013),Adv Drug Deliv Rev.65(10):1357-1369和Crasto等,(2000),Protein Eng. 13(5):309-312中所述的那些数据库和计算机程序,所述文献的全部内容特此以引用的方式并入。

[0137] 在实施方案中,接头是合成接头,诸如PEG。

[0138] 在实施方案中,接头是多肽。在实施方案中,接头长度小于约 500个氨基酸、长约450个氨基酸、长约400个氨基酸、长约350个氨基酸、长约300个氨基酸、长约250个氨基酸、长约200个氨基酸、长约150个氨基酸或长约100个氨基酸。例如,接头长度可以小于约 100、约95、约90、约85、约80、约75、约70、约65、约60、约 55、约50、约45、约40、约35、约30、约25、约20、约19、约 18、约17、约16、约15、约14、约13、约12、约11、约10、约9、约8、约7、约6、约5、约4、约3或约2个氨基酸。在实施方案中,接头是柔性的。在另一个实施方案中,接头是刚性的。

[0139] 在实施方案中,接头基本上包含甘氨酸和丝氨酸残基(例如,约 30%、或约40%、或约50%、或约60%、或约70%、或约80%、或约90%、或约95%、或约97%、或约98%、或约99%、或约100%的甘氨酸和丝氨酸)。

[0140] 在实施方案中,接头是抗体的铰链区(例如IgG、IgA、IgD和IgE 的铰链区,包括亚类(例如,IgG1、IgG2、IgG3和IgG4以及IgA1和IgA2))。存在于IgG、IgA、IgD和IgE类抗体中的铰链区充当柔性间隔区,从而允许Fab部分在空间中自由移动。与恒定区相反,铰链结构域在结构上是多样的,在免疫球蛋白类和亚类中在序列和长度二者方面均变化。例如,铰链区的长度和柔性在IgG亚类中变化。IgG1 的铰链区包含氨基酸216-231,并且因为它是自由柔性的,所以Fab 片段可以围绕它们的对称轴旋转并在以两个重链间二硫桥中的第一个为中心的球内移动。IgG2具有比IgG1更短的铰链,具有12个氨基酸残基和4个二硫桥。IgG2的铰链区缺少甘氨酸残基,相对较短,并含有通过额外的重链间二硫桥稳定的刚性聚脯氨酸双螺旋。这些特性限制了IgG2分子的柔性。IgG3与其他亚类的不同之处在于其独特的延伸铰链区(IgG1铰链的约4倍),含有62个氨基酸(包括21个脯氨酸和11个半胱氨酸),形成非柔性的聚脯氨酸双螺旋。在IgG3中,Fab片段离Fc片段相对较远,从而使分子具有更大的柔性。与其他亚类相比,IgG3中的细长铰链也是其较高分子量的原因。IgG4的铰链区比IgG1的铰链区更短,并且其柔性介于IgG1与IgG2之间。据报道,铰链区的柔性按IgG3>IgG1>IgG4>IgG2的顺序降低。在实施方案中,接头可以衍生自人IgG4并含有一个或多个突变以增强二聚化(包括S228P)或FcRn结合。

[0141] 根据晶体学研究,免疫球蛋白铰链区可以进一步在功能上细分为三个区域:上铰链区、核心区和下铰链区。参见Shin等,1992 Immunological Reviews 130:87。上铰链区包括从C_{H1}的羧基末端到限制运动的铰链中的第一个残基(通常是在两个重链之间形成链间二

硫键的第一个半胱氨酸残基)的氨基酸。上铰链区的长度与抗体的节段柔性相关。核心铰链区含有重链间二硫键,并且下铰链区连接C_{H2}结构域的氨基末端并包括C_{H2}中的残基。同上。野生型人IgG1的核心铰链区含有序列Cys-Pro-Pro-Cys,当通过二硫键形成二聚化时,其产生被认为充当枢轴的环状八肽,从而赋予柔性。在实施方案中,本发明的接头包含任何抗体(例如IgG、IgA、IgD和IgE,包括亚类(例如,IgG1、IgG2、IgG3和IgG4以及IgA1和IgA2))的上铰链区、核心区和下铰链区中的一个或两个或三个。铰链区还可以含有一个或多个糖基化位点,其包括许多结构上不同类型的碳水化合物附着位点。例如,IgA1在铰链区的17个氨基酸的区段内含有五个糖基化位点,从而赋予铰链区多肽对肠蛋白酶的抗性,被认为是分泌型免疫球蛋白的有利特性。在实施方案中,本发明的接头包含一个或多个糖基化位点。

[0142] 在实施方案中,接头包含抗体的Fc结构域(例如IgG、IgA、IgD和IgE的铰链区,包括亚类(例如,IgG1、IgG2、IgG3和IgG4以及IgA1和IgA2))。在实施方案中,接头包含衍生自人IgG4抗体的铰链-CH2-CH3 Fc结构域。在实施方案中,接头包含衍生自人IgG1抗体的铰链-CH2-CH3 Fc结构域。在实施方案中,Fc结构域表现出对新生儿Fc受体(FcRn)的增加的亲和力和增强的结合。在实施方案中,Fc结构域包括一个或多个突变,其增加与FcRn的亲和力并增强与FcRn的结合。不希望受理论束缚,据信与FcRn的增加的亲和力和增强的结合增加了本发明的嵌合蛋白的体内半衰期。

[0143] 在实施方案中,Fc结构域接头在氨基酸残基250、252、254、256、308、309、311、416、428、433或434(根据Kabat编号,如在Kabat,等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1991)中所述,其以引用的方式明确并入本文)或其等效物处含有一个或多个氨基酸取代。在一个实施方案中,氨基酸残基250处的氨基酸取代是用谷氨酰胺进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基252处的氨基酸取代是用酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸或苏氨酸进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基254处的氨基酸取代是用苏氨酸进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基256处的氨基酸取代是用丝氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、天冬氨酸或苏氨酸进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基308处的氨基酸取代是用苏氨酸进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基309处的氨基酸取代是用脯氨酸进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基311处的氨基酸取代是用丝氨酸进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基385处的氨基酸取代是用精氨酸、天冬氨酸、丝氨酸、苏氨酸、组氨酸、赖氨酸、丙氨酸或甘氨酸进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基386处的氨基酸取代是用苏氨酸、脯氨酸、天冬氨酸、丝氨酸、赖氨酸、精氨酸、异亮氨酸或甲硫氨酸进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基387处的氨基酸取代是用精氨酸、脯氨酸、组氨酸、丝氨酸、苏氨酸或丙氨酸进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基389处的氨基酸取代是用脯氨酸、丝氨酸或天冬酰胺进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基416处的氨基酸取代是用亮氨酸进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基428处的氨基酸取代是用丝氨酸进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基433处的氨基酸取代是用精氨酸、丝氨酸、异亮氨酸、脯氨酸或谷氨酰胺进行的取代。在一个实施方案中,氨基酸残基434处的氨基酸取代是用组氨酸、苯丙氨酸或酪氨酸进行的取代。

[0144] 在实施方案中,Fc结构域接头(例如,包含IgG恒定区)包含一个或多个突变,诸如在氨基酸残基252、254、256、433、434或436(根据Kabat编号,如在Kabat,等,Sequences of

Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md. (1991)中所述,其以引用的方式明确并入本文)处的一个或多个突变。在一个实施方案中,IgG恒定区包括三重 M252Y/S254T/T256E突变或YTE突变。在另一个实施方案中,IgG 恒定区包括三重H433K/N434F/Y436H突变或KFH突变。在又一个实施方案中,IgG恒定区包括组合的YTE和KFH突变。

[0145] 在实施方案中,本发明的修饰的人源化抗体包含IgG恒定区,其含有在氨基酸残基250、253、307、310、380、416、428、433、434 和435处的一个或多个突变。例示性突变包括T250Q、M428L、T307A、E380A、I253A、H310A、R416S、M428L、H433K、N434A、N434F、N434S和H435A。在一个实施方案中,IgG恒定区包括M428L/N434S 突变或LS突变。在另一个实施方案中,IgG恒定区包括T250Q/M428L 突变或QL突变。在另一个实施方案中,IgG恒定区包括N434A突变。在另一个实施方案中,IgG恒定区包括T307A/E380A/N434A突变或 AAA突变。在另一个实施方案中,IgG恒定区包括 I253A/H310A/H435A突变或IHH突变。在另一个实施方案中,IgG 恒定区包括H433K/N434F突变。在另一个实施方案中,IgG恒定区包括组合的M252Y/S254T/T256E和H433K/N434F突变。

[0146] IgG恒定区中的另外的例示性突变描述于以下中:例如,Robbie,等, Antimicrobial Agents and Chemotherapy (2013),57(12):6147-6153,Dall'Acqua等, JBC (2006),281(33):23514-24,Dall'Acqua等,Journal of Immunology (2002),169:5171-80,Ko等Nature (2014)514:642-645,Grevys等Journal of Immunology. (2015),194(11):5497-508,和美国专利号7,083,784,其全部内容特此以引用的方式并入。

[0147] 在实施方案中,接头包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列,或与其具有至少90%、或93%、或95%、或97%、或98%、或99%同一性的氨基酸序列。在实施方案中,对SEQ ID NO:46进行突变以增加稳定性和/或半衰期。例如,在实施方案中,接头具有SEQ ID NO:47 的氨基酸序列,或与其具有至少90%、或93%、或95%、或97%、或98%、或99%同一性的氨基酸序列。在实施方案中,接头包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列,或与其具有至少90%、或93%、或95%、或97%、或98%、或99%同一性的氨基酸序列。

[0148] 不希望受理论束缚,在嵌合蛋白中包括包含至少一部分Fc结构域的接头,有助于避免形成不可溶的并且可能是非功能性的蛋白质多联体和/或聚集体。这部分地是由于Fc结构域中存在能够在嵌合蛋白之间形成二硫键的半胱氨酸。

[0149] 例示性Fc稳定化突变体是S228P。例示性Fc半衰期延长突变体是T250Q、M428L、V308T、L309P和Q311S,并且本发明的接头可以包含这些突变体中的1个、或2个、或3个、或4个、或5个。

[0150] 此外,可以采用一个或多个连接接头来连接接头中的Fc结构域(例如,SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47或SEQ ID NO:48中的一个,或与其具有至少90%、或93%、或95%、或97%、或98%、或99%同一性的结构域)和细胞外结构域。例如,SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54中的任一个或其变体可以连接如本文所述的细胞外结构域和如本文所述的接头。任选地,SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54中的任一个或其变体在如本文所述的细胞外结构域与如本文所述的接头之间置换。任选地,SEQ ID NO:49至95中的任一个或其变体位于如本文所述的细胞外结构域与如本文所述的Fc结构域之间。在实施方

案中,嵌合蛋白包含Fc结构域之前的一个连接接头以及Fc结构域之后的第二连接接头;因此,嵌合蛋白可以具有以下结构:

[0151] ECD 1-连接接头1-Fc结构域-连接接头2-ECD 2。

[0152] 在实施方案中,第一连接接头和第二连接接头可以是不同的或者它们可以是相同的。

[0153] 例示性接头的氨基酸序列在以下表1中提供:

[0154] 表1:例示性接头 (Fc结构域接头和连接接头)

[0155]

SEQ ID NO.	序列
46	APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLSGKEYKCKVSSKGLPSSIEKTISNATGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSSWQEGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSLGK
47	APEFLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTPHSDWLSGKEYKCKVSSKGLPSSIEKTISNATGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSSWQEGNVFSCSVLHEALHNHY TQKSLSLSLGK
48	APEFLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLSGKEYKCKVSSKGLPSSIEKTISNATGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEALHNHY TQKSLSLSLGK
49	SKYGPPCPSCP
50	SKYGPPCPPCP
51	SKYGPP
52	IEGRMD
53	GGGVPRDCG
54	IEGRMDGGGGAGGGG
55	GGSGGGGS
56	GGSGGGGSGGGG
57	EGKSSGSGSESKST
58	GGSG
59	GGSGGGSGGGSG
60	EAAAKEAAAKEAAAK
61	EAAAREAAAREAAAREAAAR
62	GGGGSGGGSGGGGSAS
63	GGGGAGGGG
64	GS 或 GGS 或 LE
65	GSGSGS
66	GSGSGSGSGS
67	GGGGSAS

[0156]	68	APAPAPAPAPAPAPAPAP
	69	CPPC
	70	GGGS
	71	GGGSGGGGS
	72	GGGSGGGGSGGGGS
	73	GGGSGGGGSGGGGSGGGGS
	74	GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
	75	GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
	76	GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
	77	GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS S
	78	GSGGSGGGGSGGGGS
	79	GGGGGGGG
	80	GGGGGG
	81	EAAAK
	82	EAAAKEEAAK
	83	EAAAKEAAAKEAAK
	84	AEEAAKEEAAKA
	85	AEEAAKEAAAKEEAAKA
	86	AEEAAKEAAAKEAAAKEEAAKA
	87	AEEAAKEAAAKEAAAKEAAAKEEAAKA
	88	AEEAAKEAAAKEAAAKEAAAKALEAEEAAKEAAAKEAAA KEAAKA
	89	PAPAP
	90	KESGSVSSEQLAQFRSLD
	91	GSAGSAAGSGEF
	92	GGGSE
	93	GSESG
	94	GSEGS
	95	GEGGSGEGSSGEGSSSEGGSSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGS

[0157] 另外的例示性连接接头包括但不限于具有以下序列的接头:LE、GGGGS (SEQ ID NO:70)、(GGGGS)_n (n=1-4) (SEQ ID NO:70-73)、(Gly)₈ (SEQ ID NO:79)、(Gly)₆ (SEQ ID NO:80)、(EAAAK)_n (n=1-3) (SEQ ID NO:81-83)、A(EAAAK)_n A (n=2-5) (SEQ ID NO:84-87)、AEAAAKEAAAKA (SEQ ID NO:84)、A(EAAAK)₄LEA(EAAAK)₄A (SEQ ID NO:88)、PAPAP (SEQ ID NO:89)、KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO:90)、EGKSSGSGSESKST (SEQ ID NO:57)、GSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO:91) 和 (XP)_n, 其中 X 表示任何氨基酸, 例如Ala、Lys或Glu。

[0158] 在实施方案中,连接接头基本上包含甘氨酸和丝氨酸残基(例如,约30%、或约40%、或约50%、或约60%、或约70%、或约80%、或约90%、或约95%、或约97%、或约98%、或约99%、或约100%甘氨酸和丝氨酸)。例如,在实施方案中,连接接头是(Gly₄Ser)_n,其中n为约1至约8,例如1、2、3、4、5、6、7或8(分别为SEQ ID NO: 70至SEQ ID NO:77)。在实施方案中,连接接头序列是GGSGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:78)。另外的例示性连接接头包括但不限于具有以下序列的接头:LE、(Gly)₈(SEQ ID NO:79)、(Gly)₆(SEQ ID NO:80)、(EAAK)_n(n=1-3)(SEQ ID NO:81-SEQ ID NO:83)、A(EAAK)_nA(n=2-5)(SEQ ID NO:84-SEQ ID NO:87)、A(EAAK)₄ALEA(EAAK)₄A(SEQ ID NO:88)、PAPAP(SEQ ID NO: 89)、

KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO:90)、GSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO:91) 和 (XP)_n, 其中X表示任何氨基酸, 例如Ala、Lys 或Glu。在实施方案中, 连接接头是GGS。

[0159] 在实施方案中,连接接头是以下中的一个或多个:GGGSE (SEQ ID NO:92)、GSESG (SEQ ID NO:93)、GSEGS (SEQ ID NO:94)、GEGSGEGSSGEGSSSEGSGEGSGEGSGEGSGS (SEQ ID NO: 95) 以及每4个氨基酸间隔随机放置G、S和E的连接接头。

[0160] 在实施方案中,嵌合蛋白包含模块接头,如图32所示。

[0161] 在实施方案中,接头可以是柔性的,包括但不限于高度柔性的。在实施方案中,接头可以是刚性的,包括但不限于刚性 α 螺旋。

[0162] 在实施方案中,接头可以是功能性的。例如但不限于,接头可以起到改善本发明的嵌合蛋白的折叠和/或稳定性、改善表达、改善药代动力学和/或改善其生物活性的作用。在另一个实例中,接头可以起到将嵌合蛋白靶向特定细胞类型或位置的作用。

[0163] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够促进免疫活化(例如,针对肿瘤)并且可以用于包括促进免疫活化(例如,针对肿瘤)的方法。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够抑制免疫抑制(例如,允许肿瘤存活)并且可以用于包括抑制免疫抑制(例如,允许肿瘤存活)的方法。本发明的嵌合蛋白由于构建体的嵌合性质提供的信号传导的近似性而提供改善的免疫活化和/或改善的对免疫抑制的抑制。

[0164] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够或可以用于包括调节免疫应答的幅度的方法中,例如,调节效应子输出的水平。在实施方案中,例如,当用于治疗癌症时,与免疫抑制相比,本发明的嵌合蛋白改变免疫刺激的程度以增加T细胞应答的幅度,其包括但不限于刺激细胞因子产生、增殖或靶向杀伤潜力的水平增加。

[1065] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白在实施方案中能够或可用于涉及在肿瘤细胞表面上掩蔽抑制配体以及用免疫刺激配体替换所述免疫抑制配体的方法中。因此,本发明的嵌合蛋白在实施方案中能够或可用于涉及降低或消除抑制免疫信号和/或增加或活化免疫刺激信号的方法中。例如,携带抑制信号(并因此逃避免疫应答)的肿瘤细胞可以被结合在T细胞上的正信号取代,然后T细胞可以攻击肿瘤细胞。因此,在实施方案中,本发明的构建体掩蔽抑制免疫信号并活化刺激免疫信号。通过本发明的嵌合蛋白的单一构建方法增强了此类有益特性。例如,信号替换可以几乎同时实现,并且信号替换被定制为在临床重要部位(例如,肿瘤微环境)处是局部的。另外的实施方案将相同的原理应用于其他嵌合蛋白构建体,例如像,(i)TIGIT的细胞外结构域和(ii)4-1BBL的细胞外结构域;(i)TIGIT的细胞外结构域和(ii)GITRL的细胞外结构域;(i)TIGIT的细胞外结构域和(ii)TL1A的细胞外结构域;(i)TIGIT的细胞外结构域和(ii)LIGHT的细胞外结构域;以及(i)PD-1的细胞外结构域和(ii)LIGHT的细胞外结构域;以及(i)CD172a(SIRPα)的细胞外结构域和(ii)LIGHT的细胞外结构域;以及(i)TIGIT的细胞外结构域和(ii)LIGHT的细胞外结构域;等等。

[0166] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够或可用于包括刺激或增强免疫刺激受体/配体对的结合的方法中。例示性T细胞共刺激受体及其配体包括OX-40:OX40-L、CD27:CD70、CD30:CD30-L、CD40:CD40-L、CD137:CD137-L、HVEM:LIGHT、GITR:GITR-L、TNFRSF25:TL1A、DR5:TRAIL和BTLA:HVEM。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够或可用于包括抑制或降低免疫抑制受体/配体对的结合的方法中。例示性T细胞共抑制受体及其配体包括,例如,CTLA-4:CD80/CD86、PD-1:PD-L1/PD-L2、BTLA:HVEM、TIM-3:半乳凝素-9/磷脂酰丝氨酸、

TIGIT/CD155或CD112、VISTA/VSIG8、CD172a (SIRP α) /CD47、B7H3R/B7H3、B7H4R/B7H4、CD244/CD48、TMIGD2/HLA2等等。

[0167] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白阻断、降低和/或抑制PD-1以及PD-L1或PD-L2和/或PD-1与PD-L1或PD-L2的结合。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白阻断、降低和/或抑制CTLA-4的活性和/或CTLA-4与AP2M1、CD80、CD86、SHP-2和PPP2R5A中的一种或多种的结合。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白增加和/或刺激GITR和/或GITR与GITR配体中的一种或多种的结合。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白增加和/或刺激OX40和/或OX40与OX40配体中的一种或多种的结合。

[0168] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够或可用于涉及增强、恢复、促进和/或刺激免疫调节的方法中。在实施方案中,本文所述的本发明的嵌合蛋白恢复、促进和/或刺激一种或多种针对肿瘤细胞的免疫细胞的活性或活化,所述免疫细胞包括但不限于:T细胞、细胞毒性T淋巴细胞、T辅助细胞、自然杀伤(NK)细胞、自然杀伤T(NKT)细胞、抗肿瘤巨噬细胞(例如M1巨噬细胞)、B细胞和树突细胞。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白增强、恢复、促进和/或刺激T细胞的活性和/或活化,作为非限制性实例,包括活化和/或刺激一种或多种T细胞固有信号,其包括促存活信号;自分泌或旁分泌生长信号;p38 MAPK-、ERK-、STAT-、JAK-、AKT-或PI3K-介导的信号;抗细胞凋亡信号;和/或促进以下中的一种或多种和/或以下中的一种或多种必需的信号:促炎细胞因子产生、或T细胞迁移、或T细胞肿瘤浸润。

[0169] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够或可用于涉及引起进入肿瘤或肿瘤微环境内的一种或多种T细胞(包括但不限于细胞毒性T淋巴细胞、T辅助细胞、自然杀伤T(NKT)细胞)、B细胞、自然杀伤(NK)细胞、自然杀伤T(NKT)细胞、树突细胞、单核细胞和巨噬细胞(例如,M1和M2中的一种或多种)增加的方法中。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够或可用于涉及抑制和/或致使降低免疫抑制细胞(例如,髓样抑制细胞(MDSC)、调节T细胞(Treg)、肿瘤相关嗜中性粒细胞(TAN)、M2巨噬细胞和肿瘤相关巨噬细胞(TAM))到肿瘤和/或肿瘤微环境(TME)中的募集的方法中。在实施方案中,本发明的疗法可以改变肿瘤部位和/或TME中M1巨噬细胞相对于M2巨噬细胞的比例,以有利于M1巨噬细胞。

[0170] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够并且可以用于包括抑制和/或降低T细胞失活和/或对肿瘤的免疫耐受性的方法中,所述方法包括向受试者施用有效量的本文所述的嵌合蛋白。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够增加各种细胞因子的血清水平,所述细胞因子包括但不限于IFN γ 、TNF α 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10、IL-13、IL-17A、IL-17F和IL-22中的一种或多种。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够增强治疗的受试者血清中的IL-2、IL-4、IL-5、IL-10、IL-13、IL-17A、IL-22、TNF α 或IFN γ 。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白的施用能够增强TNF α 分泌。在一个具体实施方案中,本发明的嵌合蛋白的施用能够增强白细胞的超抗原介导的TNF α 分泌。检测这种细胞因子应答可以提供确定所指示的嵌合蛋白的最佳给药方案的方法。

[0171] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白抑制、阻断和/或减少抗肿瘤CD8+和/或CD4+T细胞的细胞死亡;或者刺激、诱导和/或增加促肿瘤T细胞的细胞死亡。T细胞耗竭是T细胞功能障碍的一种状态,其特征在于增殖和效应子功能的进行性丧失,从而最终导致克隆缺失。因此,促肿瘤T细胞是指在许多慢性感染和癌症期间出现的T细胞功能障碍的一种状态。这种功能障碍被定义为较差的增殖和/或效应子功能、抑制受体的持续表达以及与功能效应T

细胞或记忆T细胞的转录状态不同的转录状态。耗竭防止感染和肿瘤的最佳控制。此外,抗肿瘤CD8⁺和/或CD4⁺T细胞是指可以对肿瘤产生免疫应答的T细胞。例示性促肿瘤T细胞包括但不限于Treg、表达一种或多种检查点抑制受体的CD4⁺和/或CD8⁺T细胞、Th2细胞和Th17细胞。检查点抑制受体是指在免疫细胞上表达的预防或抑制非受控免疫应答的受体。

[0172] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够并且可以用于包括增加效应T细胞与调节T细胞的比例的方法中。例示性效应T细胞包括 ICOS⁺效应T细胞;细胞毒性T细胞(例如, $\alpha\beta$ TCR、CD3⁺、CD8⁺、CD45RO⁺);CD4⁺效应T细胞(例如, $\alpha\beta$ TCR、CD3⁺、CD4⁺、CCR7⁺、CD62Lhi、IL-7R/CD127⁺);CD8⁺效应T细胞(例如, $\alpha\beta$ TCR、CD3⁺、CD8⁺、CCR7⁺、CD62Lhi、IL-7R/CD127⁺);效应记忆T细胞(例如,CD62L低、CD44⁺、TCR、CD3⁺、IL-7R/CD127⁺、IL-15R⁺、CCR7 低);中枢记忆T细胞(例如,CCR7⁺、CD62L⁺、CD27⁺;或CCR7hi、CD44⁺、CD62Lhi、TCR、CD3⁺、IL-7R/CD127⁺、IL-15R⁺);CD62L⁺效应T细胞;CD8⁺效应记忆T细胞(TEM),包括早期效应记忆T细胞(CD27⁺CD62L⁺)和晚期效应记忆T细胞(CD27⁻CD62L⁻)(分别为 TemE和TemL);CD127⁽⁺⁾CD25(低/-)效应T细胞;CD127⁽⁻⁾CD25⁽⁻⁾效应T细胞;CD8⁺干细胞记忆效应细胞(TSCM)(例如,CD44(低)CD62L(高)CD122(高)sca⁽⁺⁾);TH1效应T细胞(例如,CXCR3⁺、CXCR6⁺和CCR5⁺;或 $\alpha\beta$ TCR、CD3⁺、CD4⁺、IL-12R⁺、IFN γ R⁺、CXCR3⁺);TH2效应T细胞(例如,CCR3⁺、CCR4⁺和CCR8⁺;或 $\alpha\beta$ TCR、CD3⁺、CD4⁺、IL-4R⁺、IL-33R⁺、CCR4⁺、IL-17RB⁺、CRTH2⁺);TH9效应T细胞(例如, $\alpha\beta$ TCR、CD3⁺、CD4⁺);TH17效应T细胞(例如, $\alpha\beta$ TCR、CD3⁺、CD4⁺、IL-23R⁺、CCR6⁺、IL-1R⁺);CD4⁺CD45RO⁺CCR7⁺效应T细胞,CD4⁺CD45RO⁺CCR7⁽⁻⁾效应T细胞;以及分泌IL-2、IL-4和/或IFN- γ 的效应T细胞。例示性调节T细胞包括ICOS⁺调节T细胞、CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺调节T细胞、CD4⁺CD25⁺调节T细胞、CD4⁺CD25⁻调节T细胞、CD4⁺CD25高调节T细胞、TIM-3⁺PD-1⁺调节T细胞、淋巴细胞活化基因-3(LAG-3)⁺调节T细胞、CTLA-4/CD152⁺调节T细胞、神经纤毛蛋白-1(Nrp-1)⁺调节T细胞、CCR4⁺CCR8⁺调节T细胞、CD62L(L-选择素)⁺调节T细胞、CD45RB低调节T细胞、CD127低调节T细胞、LRRC32/GARP⁺调节T细胞、CD39⁺调节T细胞、GITR⁺调节T细胞、LAP⁺调节T细胞、1B11⁺调节T细胞、BTLA⁺调节T细胞、1型调节T细胞(Tr1细胞)、T辅助3型(Th3)细胞、自然杀伤T细胞表型的调节细胞(NKTreg)、CD8⁺调节T细胞、CD8⁺CD28⁻调节T细胞和/或分泌IL-10、IL-35、TGF- β 、TNF- α 、半乳凝素-1、IFN- γ 和/或MCP1的调节T细胞。

[0173] 在实施方案中,嵌合蛋白产生记忆应答,其可以例如能够预防复发,或保护动物免于再次攻击。因此,用嵌合蛋白处理的动物稍后能够在用嵌合蛋白初始处理之后被再次攻击时攻击肿瘤细胞和/或预防肿瘤发展。因此,本发明的嵌合蛋白刺激活性肿瘤破坏,也刺激肿瘤抗原的免疫识别,这对于设计能够预防复发的记忆应答是必需的。

[0174] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够并且可以用于包括瞬时刺激效应T细胞不超过约12小时、约24小时、约48小时、约72小时或约96小时或者约1周或约2周的方法中。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白能够并且可以用于包括瞬时消耗或抑制调节T细胞不超过约12小时、约24小时、约48小时、约72小时或约96小时或者约1周或约2周的方法中。在实施方案中,效应T细胞的瞬时刺激和/或调节T细胞的瞬时消耗或抑制基本上发生在患者的血液或特定组织/位置(包括淋巴组织,例如像骨髓、淋巴结、脾脏、胸腺、粘膜相关淋巴组织(MALT),非淋巴组织)中或肿瘤微环境中。

[0175] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白质提供包括但不限于易于施用和易于生产的优点。这是因为将两种不同的免疫治疗剂组合成了单一产品,这允许单一制造过程代替两个

独立的制造过程。此外,施用单一剂代替两种单独的剂允许更容易的施用和更大的患者依从性。此外,与例如单克隆抗体相比,所述单克隆抗体是含有许多二硫键和翻译后修饰(诸如糖基化)的大型多聚体蛋白质,本发明的嵌合蛋白更容易制造并且更具成本效益。

[0176] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可作为可分泌的和完全功能的单一多肽链在哺乳动物宿主细胞中产生。

[0177] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白意外地提供细胞外结构域组分以缓慢的解离速率(K_d 或 K_{off})与其各自的结合配偶体的结合。在实施方案中,这提供了受体与配体(并且反之亦然)的意外长的相互作用。这种效果允许持续的负信号掩蔽效果。此外,在实施方案中,这提供了更长的正信号效果,例如,以允许效应细胞被充分刺激用于抗肿瘤效果。例如,本发明的嵌合蛋白,例如通过长解离速率结合,允许足够的信号传递以提供T细胞增殖并允许抗肿瘤攻击。作为另一实例,本发明的嵌合蛋白,例如通过长解离速率结合,允许足够的信号传递以提供刺激信号(例如像细胞因子)的释放。

[0178] 由本发明的剂促进的细胞的稳定突触(例如,具有负信号的肿瘤细胞和可以攻击肿瘤的T细胞)提供空间取向以有利于肿瘤减少-诸如定位T细胞以攻击肿瘤细胞和/或在空间上防止肿瘤细胞递送负信号,其包括超出本发明的嵌合蛋白掩蔽的那些信号的负信号。

[0179] 在实施方案中,与嵌合蛋白的血清 $t_{1/2}$ 相比,这提供了更长的靶上(例如,肿瘤内)半衰期($t_{1/2}$)。此类特性可以具有降低脱靶毒性的组合优点,这可能与嵌合蛋白的全身分布有关。

[0180] 在实施方案中,本发明的剂允许某些免疫细胞例如以抗肿瘤方式通过TIGIT阻断信号来预防和/或破坏NK细胞和/或活化、记忆和/或调节T细胞和/或辅助T细胞的子组来起作用,并且任选地通过基于4-1BBL和/或GITRL和/或TL1A-和/或LIGHT的刺激信号传导产生进一步的免疫应答。

[0181] 在实施方案中,本发明的剂允许某些免疫细胞例如以抗肿瘤方式通过刺激和/或增加例如内脏和/或淋巴样和/或其他基质和/或上皮和/或髓样细胞上的刺激性的基于LIGHT的信号传导来起作用,并且任选地通过阻断或减少基于PD-1和/或CD172a (SIRP α)和/或TIGIT的抑制性信号传导来产生进一步的免疫应答。

[0182] 此外,在实施方案中,本发明的嵌合蛋白提供协同治疗效果,因为它允许改善两种免疫治疗剂的位点特异性相互作用。

[0183] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白提供用于降低位点外毒性和/或全身毒性的潜力。

[0184] 在实施方案中,相对于目前的免疫疗法,例如如本文所述的针对检查点分子的抗体,本发明的嵌合蛋白提供减少的副作用,例如GI 并发症。例示性GI并发症包括腹痛、食欲减退、自身免疫效应、便秘、痉挛、脱水、腹泻、进食问题、疲劳、胃肠胀气、腹腔积液或腹水、胃肠道(GI)生态失调、GI粘膜炎、炎性肠病、肠易激综合征(IBS-D 和IBS-C)、恶心、疼痛、粪便或尿液变化、溃疡性结肠炎、呕吐、保留液重量增加和/或虚弱。

[0185] 疾病;治疗方法和患者选择

[0186] 在实施方案中,本发明涉及癌症和/或肿瘤;例如,癌症和/或肿瘤的治疗或预防。如本文其他地方所述,在实施方案中,癌症的治疗可以涉及用本发明的嵌合蛋白调节免疫系统以相对于免疫抑制有利于免疫刺激。

[0187] 癌症或肿瘤是指不受控制的细胞生长和/或异常增加的细胞存活和/或细胞凋亡的抑制,这干扰身体器官和系统的正常功能。包括良性和恶性肿瘤、息肉、增生、以及休眠肿瘤或微转移。还包括具有不受免疫系统阻碍的异常增殖的细胞(例如,病毒感染的细胞)。癌症可以是原发性癌症或转移性癌症。原发性癌症可以是在临床上可检测的起源部位的癌细胞区域,并且可以是原发性肿瘤。相比之下,转移性癌症可以是疾病从一个器官或部分到另一个非相邻器官或部分的扩散。转移性癌症可能由癌细胞引起,所述癌细胞获得穿透并浸润局部区域中的周围正常组织的能力,从而形成新肿瘤,其可以是局部转移。癌症还可能由癌细胞引起,所述癌细胞获得穿透淋巴管和/或血管壁的能力,之后癌细胞能够通过血液(由此成为循环肿瘤细胞)循环到身体的其他部位和组织。癌症可能是由于诸如淋巴或血液扩散等的过程。癌症还可能由肿瘤细胞引起,所述肿瘤细胞到达以停留在另一个部位,再次穿透血管或壁,继续繁殖,并最终形成另一个临床上可检测的肿瘤。癌症可以是这种新的肿瘤,其可以是转移性(或继发性)肿瘤。

[0188] 癌症还可能由已经转移的肿瘤细胞引起,其可以是继发性或转移性肿瘤。肿瘤细胞可以与原始肿瘤中的细胞相似。例如,如果乳腺癌或结肠癌转移到肝脏,则存在于肝脏中的继发性肿瘤由异常的乳腺细胞或结肠细胞组成,而不是由异常的肝细胞组成。因此,肝脏中的肿瘤可以是转移性乳腺癌或转移性结肠癌,而不是肝癌。

[0189] 癌症可能来源于任何组织。癌症可能来源于黑色素瘤、结肠、乳腺或前列腺,并因此可能分别由最初是皮肤、结肠、乳腺或前列腺的细胞组成。癌症也可以是血液恶性肿瘤,其可以是白血病或淋巴瘤。癌症可能侵入诸如肝脏、肺、膀胱或肠道等组织。

[0190] 本发明的代表性癌症和/或肿瘤包括但不限于基底细胞癌,胆道癌;膀胱癌;骨癌;脑和中枢神经系统癌症;乳腺癌;腹膜癌;宫颈癌;绒毛膜癌;结直肠癌;结缔组织癌;消化系统的癌症;子宫内膜癌;食道癌;眼癌;头颈癌;胃癌(包括胃肠癌);胶质母细胞瘤;肝癌;肝细胞癌;上皮内肿瘤;肾癌;喉癌;白血病;肝癌;肺癌(例如,小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞癌);黑色素瘤;骨髓瘤;神经母细胞瘤;口腔癌(唇、舌、口和咽);卵巢癌;胰腺癌;前列腺癌;视网膜母细胞瘤;横纹肌肉瘤;直肠癌;呼吸系统癌症;唾液腺癌;肉瘤;皮肤癌;鳞状细胞癌;胃癌;睾丸癌;甲状腺癌;子宫或子宫内膜癌;泌尿系统癌症;外阴癌;淋巴瘤包括霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤以及B细胞淋巴瘤(包括低级/滤泡性非霍奇金淋巴瘤(NHL)、小淋巴细胞(SL)NHL;中级/滤泡性NHL;中级弥漫性 NHL;高级免疫母细胞NHL;高级淋巴细胞NHL;高级小非裂解细胞NHL;巨大肿块NHL;套细胞淋巴瘤;艾滋病相关淋巴瘤;和华氏巨球蛋白血症;慢性淋巴细胞白血病(CLL);急性淋巴细胞白血病(ALL);毛细胞白血病;慢性髓细胞白血病;以及其他癌和肉瘤;和移植后淋巴组织增生性障碍(PTLD)以及与癍痣病、水肿(诸如与脑肿瘤相关的水肿)和麦格综合征相关的异常血管增生。

[0191] 在实施方案中,嵌合蛋白用于治疗患有治疗难治性癌症的受试者。在实施方案中,嵌合蛋白用于治疗用一种或多种免疫调节剂难以治疗的受试者。例如,在实施方案中,嵌合蛋白用于治疗在治疗12周左右之后对治疗没有应答或甚至进展的受试者。例如,在实施方案中,受试者用PD-1和/或PD-L1和/或PD-L2剂难以治疗,包括例如纳武单抗(ONO-4538/BMS-936558、MDX1106、OPDIVO, BRISTOL MYERS SQUIBB)、派姆单抗(KEYTRUDA, MERCK)、匹地利珠单抗(pidilizumab)(CT-011, CURE TECH)、MK-3475(MERCK)、BMS936559(BRISTOL MYERS SQUIBB)、依鲁替尼(PHARMACYCLICS/ABBVIE)、阿特珠单抗(TECENTRIQ,

GENENTECH) 和/或MPDL3280A (ROCHE) 难治性患者。例如,在实施方案中,受试者用抗CTLA-4 剂难以治疗,例如易普利姆玛 (YERVOY) 难治性患者(例如,黑色素瘤患者)。因此,在实施方案中,本发明提供了癌症治疗方法,其拯救对各种疗法(包括一种或多种免疫调节剂的单一疗法)无应答的患者。

[0192] 在实施方案中,本发明提供了靶向肿瘤微环境内的细胞或组织的嵌合蛋白。在实施方案中,肿瘤微环境内的细胞或组织表达嵌合蛋白的一种或多种靶标或者结合配偶体。肿瘤微环境是指细胞环境,包括细胞、分泌蛋白、生理小分子和肿瘤存在的血管。在实施方案中,肿瘤微环境内的细胞或组织是以下中的一种或多种:肿瘤脉管系统;肿瘤浸润淋巴细胞;成纤维细胞网状细胞;内皮祖细胞(EPC);癌症相关成纤维细胞;周细胞;其他基质细胞;细胞外基质(ECM)的组分;树突细胞;抗原呈递细胞;T细胞;调节T细胞;巨噬细胞;嗜中性粒细胞;和位于肿瘤附近的其他免疫细胞。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白靶向癌细胞。在实施方案中,癌细胞表达嵌合蛋白的靶标或者结合配偶体中的一种或多种。

[0193] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以靶向表达TIGIT的细胞(例如,癌细胞或免疫细胞)。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以靶向表达CD155/PVR的细胞(例如,癌细胞或免疫细胞)。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以靶向表达结合素-2的细胞(例如,癌细胞或免疫细胞)。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以靶向表达结合素-3的细胞(例如,癌细胞或免疫细胞)。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以靶向表达结合素-4的细胞(例如,癌细胞或免疫细胞)。

[0194] 在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以靶向表达LIGHT的细胞(例如,癌细胞或免疫细胞)。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以靶向表达LTBR的细胞(例如,癌细胞或免疫细胞)。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以靶向表达HVEM的细胞(例如,癌细胞或免疫细胞)。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白可以靶向表达DcR3的细胞(例如,癌细胞或免疫细胞)。

[0195] 在实施方案中,本发明的方法提供了在另外的剂难以治疗的患者中使用嵌合蛋白的治疗,此类在本文其他地方描述的“另外的剂”包括但不限于本文所述的各种化学治疗剂。

[0196] 在实施方案中,嵌合蛋白用于治疗、控制或预防一种或多种炎性疾病或病状。炎性疾病的非限制性实例包括寻常痤疮、急性炎症、过敏性鼻炎、哮喘、动脉粥样硬化、特应性皮炎、自身免疫性疾病、自身炎症性疾病、常染色体隐性痉挛性共济失调、支气管扩张、乳糜泻、慢性胆囊炎、慢性炎症、慢性前列腺炎、结肠炎、憩室炎、家族性嗜酸性粒细胞增多症(fe)、肾小球肾炎、甘油激酶缺乏症、化脓性汗腺炎、过敏、炎症、炎性肠病、炎性盆腔疾病、间质性膀胱炎、喉炎性疾病、Leigh综合征、扁平苔癣、肥大细胞活化综合征、肥大细胞增多症、眼部炎性疾病、中耳炎、疼痛、盆腔炎性疾病、再灌注损伤、呼吸系统疾病、再狭窄、风湿热、类风湿性关节炎、鼻炎、结节病、感染性休克、矽肺病和其他尘肺病、移植排斥、肺结核和血管炎。

[0197] 在实施方案中,炎性疾病是自身免疫性疾病或病状,诸如多发性硬化、糖尿病、狼疮、乳糜泻、克罗恩病、溃疡性结肠炎、格林-巴利综合征、硬皮病、古德帕斯彻氏综合征、韦格纳肉芽肿病、自身免疫性癫痫、拉斯穆森脑炎、原发性胆汁硬化、硬化性胆管炎、自身免疫性肝炎、艾迪生病、桥本氏甲状腺炎、纤维肌痛、梅尼尔综合征、移植排斥(例如,预防同种异

体移植物排斥)、恶性贫血、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、皮炎、干燥综合征、红斑狼疮、多发性硬化症、重症肌无力、赖特氏综合症、格雷夫氏病和其他自身免疫性疾病。

[0198] 在一些方面,本发明的嵌合剂用于消除细胞内病原体。在一些方面,本发明的嵌合剂用于治疗一种或多种感染。在实施方案中,本发明的嵌合蛋白用于治疗病毒感染(包括例如HIV和HCV)、寄生虫感染(包括例如疟疾)和细菌感染的方法中。在实施方案中,感染诱导免疫抑制。例如,HIV感染经常在受感染的受试者中导致免疫抑制。因此,如本文其他地方所述,在实施方案中,此类感染的治疗可以涉及用本发明的嵌合蛋白调节免疫系统以相对于免疫抑制有利于免疫刺激。或者,本发明提供了用于治疗诱导免疫活化的感染的方法。例如,肠蠕虫感染与慢性免疫活化相关。在这些实施方案中,此类感染的治疗可以涉及用本发明的嵌合蛋白调节免疫系统以相对于免疫刺激有利于免疫抑制。

[0199] 在实施方案中,本发明提供了治疗病毒感染的方法,所述病毒感染包括但不限于急性或慢性病毒感染,例如呼吸道感染、乳头瘤病毒感染、单纯疱疹病毒(HSV)感染、人免疫缺陷病毒(HIV)感染以及内脏器官的病毒感染,诸如肝炎病毒感染。在实施方案中,病毒感染由黄病毒科(Flaviviridae)的病毒引起。在实施方案中,黄病毒科的病毒选自黄热病病毒、西尼罗河病毒、登革热病毒、日本脑炎病毒、圣路易斯脑炎病毒和丙型肝炎病毒。在实施方案中,病毒感染由小核糖核酸病毒科(Picornaviridae)的病毒(例如,脊髓灰质炎病毒、鼻病毒、柯萨奇病毒)引起。在实施方案中,病毒感染由正粘病毒科(Orthomyxoviridae)的成员(例如,流感病毒)引起。在实施方案中,病毒感染由逆转录病毒科(Retroviridae)的成员(例如,慢病毒)引起。在实施方案中,病毒感染是由副粘病毒科(Paramyxoviridae)的成员(例如呼吸道合胞病毒、人副流感病毒、腮腺炎病毒属(例如腮腺炎病毒)、麻疹病毒和人偏肺病毒)引起。在实施方案中,病毒感染由本扬病毒科(Bunyaviridae)的成员(例如,汉坦病毒)引起。在实施方案中,病毒感染由呼肠孤病毒科(Reoviridae)的成员(例如,轮状病毒)引起。

[0200] 在实施方案中,本发明提供了治疗寄生虫感染(诸如原生动物或蠕虫感染)的方法。在实施方案中,寄生虫感染由原生动物寄生虫引起。在实施方案中,寄生虫选自肠原生动物、组织原生动物或血液原生动物。示例性原生动物寄生虫包括但不限于溶组织内阿米巴(*Entamoeba histolytica*)、蓝氏贾第鞭毛虫(*Giardia lamblia*)、小鼠隐孢子虫(*Cryptosporidium muris*)、Trypanosomatida gambiense、Trypanosomatida rhodesiense、克氏锥虫(*Trypanosomatida cruzi*)、墨西哥利什曼虫(*Leishmania mexicana*)、巴西利什曼原虫(*Leishmania braziliensis*)、热带利什曼虫(*Leishmania tropica*)、杜氏利什曼虫(*Leishmania donovani*)、刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)、间日疟原虫(*Plasmodium vivax*)、卵形疟原虫(*Plasmodium ovale*)、三日疟原虫(*Plasmodium malariae*)、恶性疟原虫(*Plasmodium falciparum*)、阴道毛滴虫(*Trichomonas vaginalis*)和黑头组织滴虫(*Histomonas meleagridis*)。在实施方案中,寄生虫感染是通过蠕虫寄生虫,诸如线虫(例如,有腺纲(Adenophorea))。在实施方案中,寄生虫选自侧尾腺口纲(例如,毛首鞭形线虫(*Trichuris trichiura*)、似蚓蛔线虫(*Ascaris lumbricoides*)、蠕形住肠线虫(*Enterobius vermicularis*)、十二指肠钩虫(*Ancylostoma duodenale*)、美洲板口线虫(*Necator americanus*)、粪类圆线虫(*Strongyloides stercoralis*)、班氏吴策线虫(*Wuchereria bancrofti*)、麦地那龙线虫(*Dracunculus*

medinensis))。在实施方案中,寄生虫选自吸虫(例如,血吸虫、肝吸虫、肠吸虫和肺吸虫)。在实施方案中,寄生虫选自:曼氏血吸虫(*Schistosoma mansoni*)、埃及血吸虫(*Schistosoma haematobium*)、日本血吸虫(*Schistosoma japonicum*)、牛羊肝吸虫(*Fasciola hepatica*)、巨片吸虫(*Fasciola gigantica*)、异形吸虫(*Heterophyes*)、卫氏肺吸虫(*Paragonimus westermani*)。在实施方案中,寄生虫选自绦虫(例如,猪肉绦虫(*Taenia solium*)、牛肉绦虫(*Taenia saginata*)、短膜壳绦虫(*Hymenolepis nana*)、细粒棘球绦虫(*Echinococcus granulosus*))。

[0201] 在实施方案中,本发明提供了治疗细菌感染的方法。在实施方案中,细菌感染是通过革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌、好氧细菌和 / 或厌氧细菌。在实施方案中,细菌选自但不限于葡萄球菌属 (*Staphylococcus*)、乳杆菌 (*Lactobacillus*)、链球菌 (*Streptococcus*)、八联球菌属 (*Sarcina*)、埃希氏菌属 (*Escherichia*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*)、克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、分枝杆菌 (*Mycobacterium*)、变形杆菌属 (*Proteus*)、弯曲杆菌 (*Campylobacter*)、柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter*)、奈瑟氏菌属 (*Nisseria*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*)、消化球菌属 (*Peptococcus*)、梭菌属 (*Clostridium*)、沙门氏菌属 (*Salmonella*)、志贺氏菌属 (*Shigella*)、沙雷氏菌属 (*Serratia*)、嗜血杆菌属 (*Haemophilus*)、布鲁氏菌属 (*Brucella*) 以及其他生物体。在实施方案中,细菌选自但不限于铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*)、食酸假单胞菌 (*Pseudomonas acidovorans*)、产碱假单胞菌 (*Pseudomonas alcaligenes*)、恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*)、嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)、洋葱伯克霍尔德菌 (*Burkholderia cepacia*)、嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophilia*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、弗氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter freundii*)、鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*)、伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhi*)、甲型副伤寒沙门氏菌 (*Salmonella paratyphi*)、肠炎沙门氏菌 (*Salmonella enteritidis*)、痢疾志贺氏菌 (*Shigella dysenteriae*)、福氏志贺氏菌 (*Shigella flexneri*)、宋内氏志贺菌 (*Shigella sonnei*)、阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*)、产气肠杆菌 (*Enterobacter aerogenes*)、肺炎克雷伯氏菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、产酸克雷伯氏菌 (*Klebsiella oxytoca*)、粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*)、土拉弗朗西斯菌 (*Francisella tularensis*)、摩氏摩根菌 (*Morganella morganii*)、奇异变形杆菌 (*Proteus mirabilis*)、普通变形杆菌 (*Proteus vulgaris*)、产碱普罗威登斯菌 (*Providencia alcalifaciens*)、雷氏普罗威登斯菌 (*Providencia rettgeri*)、斯氏普罗威登斯菌 (*Providencia stuartii*)、鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*)、醋酸钙不动杆菌 (*Acinetobacter calcoaceticus*)、溶血不动杆菌 (*Acinetobacter haemolyticus*)、小肠结肠炎耶尔森菌 (*Yersinia enterocolitica*)、鼠疫耶尔森菌 (*Yersinia pestis*)、假结核耶尔森菌 (*Yersinia pseudotuberculosis*)、中间耶尔森菌 (*Yersinia intermedia*)、百日咳博代氏杆菌 (*Bordetella pertussis*)、副百日咳博代氏杆菌 (*Bordetella parapertussis*)、支气管炎博代氏杆菌 (*Bordetella bronchiseptica*)、流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenzae*)、副流感嗜血杆菌 (*Haemophilus parainfluenzae*)、溶血嗜血杆菌 (*Haemophilus haemolyticus*)、副溶血嗜

血杆菌 (*Haemophilus parahaemolyticus*)、杜克嗜血杆菌 (*Haemophilus ducreyi*)、多杀巴斯德菌 (*Pasteurella multocida*)、溶血巴斯德菌 (*Pasteurella haemolytica*)、粘膜炎布兰汉菌 (*Branhamella catarrhalis*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*)、胎儿弯曲杆菌 (*Campylobacter fetus*)、空肠弯曲杆菌 (*Campylobacter jejuni*)、大肠弯曲杆菌 (*Campylobacter coli*)、伯氏疏螺旋体 (*Borrelia burgdorferi*)、霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*)、副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*)、嗜肺军团菌 (*Legionella pneumophila*)、单核细胞增生李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*)、淋病奈瑟菌 (*Neisseria gonorrhoeae*)、脑膜炎奈瑟菌 (*Neisseria meningitidis*)、金氏菌属 (*Kingella*)、莫拉氏菌属 (*Moraxella*)、阴道加德菌 (*Gardnerella vaginalis*)、脆弱拟杆菌 (*Bacteroides fragilis*)、狄氏拟杆菌 (*Bacteroides distasonis*)、拟杆菌属3452A同源组、普通拟杆菌 (*Bacteroides vulgatus*)、卵形拟杆菌 (*Bacteroides ovalus*)、多形拟杆菌 (*Bacteroides thetaiotaomicron*)、单形拟杆菌 (*Bacteroides uniformis*)、埃氏拟杆菌 (*Bacteroides eggerthii*)、内脏拟杆菌 (*Bacteroides splanchnicus*)、艰难梭菌 (*Clostridium difficile*)、结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)、鸟分枝杆菌 (*Mycobacterium avium*)、胞内分枝杆菌 (*Mycobacterium intracellulare*)、麻风分枝杆菌 (*Mycobacterium leprae*)、白喉棒状杆菌 (*Corynebacterium diphtheriae*)、溃疡棒状杆菌 (*Corynebacterium ulcerans*)、肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、无乳链球菌 (*Streptococcus agalactiae*)、酿脓链球菌 (*Streptococcus pyogenes*)、粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*)、屎肠球菌 (*Enterococcus faecium*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、腐生葡萄球菌 (*Staphylococcus saprophyticus*)、中间葡萄球菌 (*Staphylococcus intermedius*)、猪葡萄球菌亚种 *hyicus* (*Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus*)、溶血葡萄球菌 (*Staphylococcus haemolyticus*)、人葡萄球菌 (*Staphylococcus hominis*) 或解糖葡萄球菌 (*Staphylococcus saccharolyticus*)。

[0202] 在一些方面,本发明的嵌合剂用于治疗一种或多种自身免疫性疾病或病症。在实施方案中,自身免疫性疾病或病症的治疗可以涉及用本发明的嵌合蛋白调节免疫系统以相对于免疫刺激有利于免疫抑制。可用本发明的嵌合蛋白治疗的例示性自身免疫性疾病或病症包括身体自身抗原成为免疫应答的靶标的那些疾病或病症,例如像类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、糖尿病、强直性脊柱炎、干燥综合征、炎性肠病 (例如溃疡性结肠炎、克罗恩病)、多发性硬化症、结节病、牛皮癣、格雷夫氏病、桥本氏甲状腺炎、牛皮癣、过敏反应 (例如过敏、花粉症、哮喘和急性水肿引起I型过敏反应) 和血管炎。

[0203] 在再一其他方面,本发明涉及治疗和预防T细胞介导的疾病和病症的方法,所述疾病和病症诸如但不限于本文其他地方描述的疾病或病症以及炎性疾病或病症、移植物抗宿主病 (GVHD)、移植排斥和T 细胞增殖性障碍。

[0204] 在一些方面,本发明的嵌合剂用于例如通过具有免疫刺激信号的细胞外结构域活化T细胞的方法中。

[0205] 在一些方面,本发明的嵌合剂用于防止免疫抑制信号的细胞传递的方法中。

[0206] 组合疗法和缀合

[0207] 在实施方案中,本发明提供了嵌合蛋白和方法,所述方法还包括向受试者施用另

外的剂。在实施方案中,本发明涉及共同施用和/或共制剂。本文所述的任何组合物可以共同配制和/或共同施用。

[0208] 在实施方案中,本文所述的任何嵌合蛋白在与另一种剂共同施用或以协同方式起作用,并且以低于在此类剂用作单一疗法时通常采用的剂量进行施用。在实施方案中,本文提及的任何剂都可以与本文所述的任何嵌合蛋白组合使用。

[0209] 在包括但不限于癌症应用的实施方案中,本发明涉及化学治疗剂作为另外的剂。化学治疗剂的实例包括但不限于烷化剂,诸如噻替哌和CYTOXAN环磷酰胺;烷基磺酸盐,诸如白消安、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan);氮丙啶,诸如苯佐替哌(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、美妥替哌(meturedopa)和乌瑞替哌(uredopa);乙烯亚胺和甲基三聚氰胺,包括六甲蜜胺、三乙烯三聚氰胺、三乙烯磷酰胺、三乙烯硫代磷酰胺和三羟甲基三聚氰胺;多聚乙酰(例如,布拉它辛(bullatacin)和布拉它辛酮(bullatacinone));喜树碱(包括合成类似物拓扑替康);苔藓抑素;卡莉他汀(callystatin);CC-1065(包括其阿多来新(adozelesin)、卡折来新(carzelesin)和比折来新(bizelesin)合成类似物);念珠藻素(例如,念珠藻素1和念珠藻素8);尾海兔素;多卡霉素(duocarmycin)(包括合成类似物KW-2189和CB 1-TM1);艾榴塞洛素(eleutherobin);水鬼蕉碱(pancratistatin);匍枝珊瑚醇(sarcodictyin);海绵抑制素(spongistatin);氮芥,诸如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺、雌氮芥、异环磷酰胺、盐酸氮芥(mechlorethamine)、盐酸甲氧氮芥、美法仑、新恩比兴、苯芥胆甾醇(phenesterine)、泼尼氮芥、三芥环磷酰胺、乌拉莫司汀;亚硝基脲类,诸如卡莫司汀、氯脲霉素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀;抗生素,诸如烯二炔抗生素(例如,加利车霉素,特别是加利车霉素 γ 和加利车霉素 ω (参见例如,Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33:183-186(1994)));达内霉素,包括达内霉素A;二膦酸盐,诸如氯膦酸盐;拉霉素;以及新制癌菌素生色团和有关色蛋白烯二炔抗生素生色团)、阿克拉霉素、放射菌素、氨基霉素、重氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素C、卡柔比星、洋红霉素、嗜癌素、色霉素、放线菌素D、柔红霉素、地托比星、6-重氮-5-氧代-L-正亮氨酸、ADRIAMYCIN阿霉素(包括吗啉-阿霉素、氰基吗啉-阿霉素、2-吡咯啉-阿霉素和脱氧阿霉素)、表阿霉素、依索比星、去甲氧基柔红霉素、麻西罗霉素、丝裂霉素(诸如丝裂霉素C)、霉酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链佐星、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁、佐柔比星;抗代谢物,诸如甲氨喋呤和5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物,诸如二甲叶酸、甲氨喋呤、蝶罗呤、曲美沙特;嘌呤类似物,诸如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤;嘧啶类似物,诸如环胞苷、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他宾、氟尿苷;雄激素,诸如卡鲁睾酮、屈他雄酮丙酸酯、环硫雄醇、美雄烷、睾内脂;抗肾上腺素,诸如氨鲁米特(minoglutethimide)、米托坦、曲洛司坦;叶酸补充物,诸如亚叶酸(frolic acid);醋葡萄糖醛内酯;醛磷酰胺糖苷;氨基乙酰丙酸;恩尿嘧啶;安吡啶;倍思塔布(bestrabucil);比山群;依达曲沙(edatraxate);地美可辛;地吡醌(diaziquone);依氟鸟氨酸;依利醋铵;埃博霉素;依托格鲁;硝酸镓;羟基脲;香菇多糖;氯尼达明;美登素类化合物,诸如美登素和安丝菌素;米托胍脲;米托蒽醌;莫哌达醇;硝胺;喷司他丁;苯来美特;吡柔比星;洛索蒽醌;鬼臼酸;2-乙基酞肼;甲基苄肼;PSK多糖复合物(JHS Natural Products, Eugene, Oreg.);雷佐生;根霉菌素;西佐喃(sizofuran);锗螺胺;细交链孢菌酮酸;三亚胺醌;2,2',2''-三氯三乙

胺;单端孢霉烯(例如,T-2毒素、疣孢菌素A (verracurin A)、漆斑菌素A和蛇形毒素(anguidine));尿烷;长春地辛;达卡巴嗪;甘露醇氮芥;二溴甘露醇;二溴卫矛醇;哌泊溴烷;加西托新(gacytosine);阿拉伯糖苷(“Ara-C”);环磷酰胺;噻替派;紫杉烷类,例如TAXOL紫杉醇(Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、无氢化蓖麻油的ABRAXANE、紫杉醇的白蛋白工程化的纳米颗粒制剂(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.)和 TAXOTERE多烯紫杉醇(Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France);苯丁酸氮芥;GEMZAR吉西他滨;6-硫鸟嘌呤;巯基嘌呤;甲氨嘌呤;铂类似物,诸如顺铂、奥沙利铂和卡铂;长春碱;铂;依托泊苷(VP-16);异环磷酰胺;米托蒽醌;长春新碱;NAVELBINE长春瑞滨;盐酸米托恩醌;替尼泊苷;依达曲沙;道诺霉素;氨基蝶呤;希罗达;伊班膦酸盐;伊立替康(Camptosar, CPT-11)(包括伊立替康与5-FU和甲酰四氢叶酸的治疗方案);拓扑异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸(DMFO);类维生素A,诸如视黄酸;卡培他滨;康普瑞汀;甲酰四氢叶酸(LV);奥沙利铂,包括奥沙利铂治疗方案(FOLFOX);拉帕替尼(TYKERB);降低细胞增殖的PKC- α 、Raf、H-Ras、EGFR(例如厄洛替尼(Tarceva))和VEGF-A的抑制剂以及以上任一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物。此外,治疗方法还可以包括使用放射。此外,治疗方法还可以包括使用光动力治疗。

[0210] 在包括但不限于癌症应用的实施方案中,本发明的另外的剂是一种或多种免疫调节剂,其选自阻断、降低和/或抑制PD-1和PD-L1或PD-L2和/或PD-1与PD-L1或PD-L2的结合的剂(非限制性地例如以下中的一种或多种:纳武单抗(ONO-4538/BMS-936558、MDX1106、OPDIVO, BRISTOL MYERS SQUIBB)、派姆单抗(KEYTRUDA, Merck)、MK-3475(MERCK)、BMS 936559(BRISTOL MYERS SQUIBB)、阿特珠单抗(TECENTRIQ, GENENTECH)、MPDL3280A(ROCHE)),增加和/或刺激CD137(4-1BB)和/或CD137(4-1BB)与一种或多种4-1BB配体的结合的剂(非限制性地例如,urelumab (BMS-663513和抗4-1BB抗体),以及阻断、降低和/或抑制CTLA-4的活性和/或CTLA-4与AP2M1、CD80、CD86、SHP-2和PPP2R5A中的一种或多种的结合和/或OX40与OX40L的结合的剂(非限制性地例如,GBR 830(GLENMARK)、MEDI6469(MEDIMMUNE))。

[0211] 在包括但不限于感染性疾病应用的实施方案中,本发明涉及抗感染药物作为另外的剂。在实施方案中,抗感染药物是抗病毒剂,包括但不限于阿巴卡韦、阿昔洛韦、阿德福韦、安普那韦、阿扎那韦、西多福韦、地瑞那韦、地拉夫定、地达诺新、二十二烷醇、依法韦仑、埃替格韦、恩曲他滨、恩夫韦肽、依曲韦林、泛昔洛韦和膦甲酸。在实施方案中,抗感染药物是抗菌剂,包括但不限于,头孢菌素类抗生素(头孢氨苄、头孢呋辛、头孢羟氨苄、头孢唑啉、头孢噻吩、头孢克罗、头孢孟多、头孢西丁、头孢丙烯和头孢托罗);氟喹诺酮类抗生素(环丙沙星、左氟沙星、氧氟沙星、加替沙星、莫西沙星和诺氟沙星);四环素类抗生素(四环素、米诺环素、土霉素和多西环素);青霉素类抗生素(阿莫西林、氨苄西林、青霉素V、双氯青霉素、羧苄西林、万古霉素和甲氧西林);单环类抗生素(氨基糖苷);和碳青霉烯类抗生素(厄他培南、多利培南、亚胺培南/西司他丁和美罗培南)。在实施方案中,抗感染药物包括抗疟疾剂(例如氯喹、奎宁、甲氟喹、伯氨喹、多西环素、蒿甲醚/苯芴醇、阿托夸酮/氯胍和磺胺多辛/乙胺嘧啶)、甲硝唑、替硝唑、伊维菌素、双羟萘酸噻嘧啶和阿苯达唑。

[0212] 在包括但不限于自身免疫性疾病应用的实施方案中,另外的剂是免疫抑制剂。在实施方案中,免疫抑制剂是抗炎剂,诸如甾体抗炎剂或非甾体抗炎剂(NSAID)。类固醇,特别

是肾上腺皮质类固醇及其合成类似物,是本领域熟知的。可用于本发明的皮质类固醇的实例包括但不限于羟基曲安西龙、 α -甲基地塞米松、 β -甲基倍他米松、二丙酸倍氯米松、苯甲酸倍他米松、二丙酸倍他米松、戊酸倍他米松、戊酸氯倍他索、羟泼尼缩松、去羟米松、地塞米松、双乙酸双氟拉松、戊酸双氟可龙、氟雄诺龙(fludrenolone)、氟氯缩松、特戊酸氟米松、氟轻松缩丙酮(flucortolone acetonide)、氟轻松乙酸酯、氟可丁酯(flucortone butylesters)、氟可龙(flucortolone)、乙酸氟泼尼定(fluprednidene/fluprednylidene)、氟氢缩松(flurandrenolone)、哈西奈德、乙酸氢化可的松、丁酸氢化可的松、甲基泼尼松龙、曲安奈德、可的松、可托多松、肤轻松(flucetone)、氟氢可的松、双乙酸双氟若松(difluorosone diacetate)、氟若卓龙缩丙酮(fluradrenolone acetonide)、甲羟松、安西那飞、安西非特、倍他米松以及其平衡酯、氯泼尼松、可洛替龙(clocortelone)、可洛西龙(clescinalone)、双氯松、二氟泼尼酯、氟氯奈德(flucoronide)、氟尼缩松、氟米龙、氟培龙、氟泼尼龙、氢化可的松、甲泼尼松、帕拉米松、泼尼松龙、泼尼松、二丙酸倍氯米松。可用于本发明的(NSAIDs)包括但不限于水杨酸、乙酰水杨酸、水杨酸甲酯、水杨酸乙二醇酯、水杨酰胺、苄基-2,5-二乙酰氧基苯甲酸、布洛芬、富林酸、萘普生、酮洛芬、依托芬那酯、保泰松和吲哚美辛。在实施方案中,免疫抑制剂可以是细胞抑制剂,诸如烷化剂、抗代谢物(例如,咪唑硫嘌呤、甲氨蝶呤)、细胞毒性抗生素、抗体(例如巴利昔单抗、达克珠单抗和莫罗单抗(muromonab))、抗免疫亲和素(例如环孢菌素、他克莫司、西罗莫司)、干扰素、阿片类药物、TNF 结合蛋白、霉酚酸酯和小生物剂(例如,芬戈莫德、多球壳菌素(myriocin))。

[0213] 在实施方案中,本文所述的嵌合蛋白(和/或另外的剂)包括经修饰的衍生物,即通过任何类型的分子与组合物的共价连接,使得共价连接不会妨碍组合物的活性。例如但不限于,衍生物包括通过尤其是糖基化、脂化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、通过已知保护/封闭基团的衍生化、蛋白水解性裂解、与细胞配体或其他蛋白质的连接等进行修饰的组合物。可以通过已知技术进行许多化学修饰中的任一种,所述技术包括但不限于特定的化学裂解、乙酰化、甲酰化、衣霉素(turicamycin)的代谢合成等。另外,衍生物可以含有一种或多种非经典氨基酸。在再其他实施方案中,本文所述的嵌合蛋白(和/或另外的剂)还包括细胞毒性剂,在例示性实施方案中,其包括毒素、化学治疗剂、放射性同位素以及引起细胞凋亡或细胞死亡的剂。此类剂可以与本文所述的组合物缀合。

[0214] 因此本文所述的嵌合蛋白(和/或另外的剂)可以经翻译后修饰以添加效应子部分(诸如化学接头)、可检测部分(例如像荧光染料、酶、底物、生物发光物质、放射性物质和化学发光部分)、或功能性部分(例如像抗生蛋白链菌素、抗生物素蛋白、生物素、细胞毒素、细胞毒性剂和放射性物质)。

[0215] 制剂

[0216] 本文所述的嵌合蛋白(和/或另外的剂)可以具有足够的可以与无机酸或有机酸反应以形成药学上可接受的盐的碱性官能团,或者可以与无机碱或有机碱反应以形成药学上可接受的盐的羧基基团。药学上可接受的酸加成盐由药学上可接受的酸形成,如本领域已熟知的。此类盐包括例如以下中列出的药学上可接受的盐:Journal of Pharmaceutical Science,66,2-19(1977)和The Handbook of Pharmaceutical Salts;Properties, Selection,and Use.P.H.Stahl和C.G. Wermuth(编),Verlag,Zurich(Switzerland)2002,

其特此以引用的方式整体并入。

[0217] 在某些实施方案中,本文所述的组合物呈药学上可接受的盐的形式。

[0218] 此外,本文所述的任何嵌合蛋白(和/或另外的剂)可以作为包含药学上可接受的载体或媒介物的组合物的组分向受试者施用。此类组合物可以任选地包含合适量的药学上可接受的赋形剂以便提供用于适当施用的形式。药物赋形剂可以是液体,诸如水和油,包括石油、动物、植物或者合成来源的那些,诸如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等等。药物赋形剂可以是例如盐水、阿拉伯树胶、明胶、淀粉糊、滑石、角蛋白、硅胶、尿素等等。此外,可以使用助剂、稳定剂、增稠剂、润滑剂以及着色剂。在一个实施方案中,当向受试者施用时,药学上可接受的赋形剂是无菌的。当静脉内施用本文所述的任何剂时,水是可用的赋形剂。盐溶液和葡萄糖水溶液以及甘油溶液也可以用作液体赋形剂,特别是对于可注射的溶液而言。合适的药物赋形剂还包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂乳粉、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等等。如果需要,本文所述的任何剂还可以包含少量的润湿剂或乳化剂或pH缓冲剂。

[0219] 在实施方案中,本文所述的组合物重悬浮在盐水缓冲液(包括但不限于TBS、PBS等)中。

[0220] 在实施方案中,嵌合蛋白可以通过与另一种剂缀合和/或融合来延长半衰期或以其他方式改善药效动力学和药代动力学特性。在实施方案中,嵌合蛋白可以与PEG、XTEN(例如,作为rPEG)、聚唾液酸(POLYXEN)、白蛋白(例如,人血清白蛋白或HAS)、弹性蛋白样蛋白(ELP)、PAS、HAP、GLK、CTP、转铁蛋白等等中的一种或多种融合或缀合。在实施方案中,每个个体嵌合蛋白与BioDrugs(2015)29:215-239中描述的一种或多种剂融合,所述文献的全部内容特此以引用的方式并入。

[0221] 施用、给药和治疗方案

[0222] 本发明包括呈各种制剂形式的所述嵌合蛋白(和/或另外的剂)。本文所述的任何嵌合蛋白(和/或另外的剂)可以采取以下形式:溶液、悬浮剂、乳剂、滴剂、片剂、丸剂、微丸剂、胶囊、含有液体的胶囊、散剂、缓释制剂、栓剂、乳剂、气雾剂、喷雾剂、悬浮剂或适合使用的任何其他形式。也可以使用编码蛋白质序列的DNA或RNA构建体。在一个实施方案中,所述组合物呈胶囊的形式(参见例如,美国专利号5,698,155)。合适的药物赋形剂的其他实例描述于Remington's Pharmaceutical Sciences 1447-1676(Alfonso R.Gennaro编,第19版,1995)中,其以引用的方式并入本文。

[0223] 必要时,包含嵌合蛋白(和/或另外的剂)的制剂还可以包含增溶剂。另外,可以用本领域已知的合适的媒介物或递送装置来递送所述剂。本文概述的组合疗法可以在单个递送媒介物或递送装置中共同递送。用于施用的组合物可以任选地包含局部麻醉剂,例如像利多卡因,以减轻注射部位的疼痛。

[0224] 包含本发明的嵌合蛋白(和/或另外的剂)的制剂可以方便地以单位剂量的形式提供并且可以通过制药领域所熟知的任何方法进行制备。此类方法一般包括使治疗剂与由一种或多种附加成分所构成的载体缔合的步骤。通常,通过将治疗剂均一旦紧密地与液态载体、细化的固态载体或两者缔合,然后在必要时将产品成型为所需制剂的剂量形式(例如,湿法或干法制粒、粉末共混等,然后使用本领域已知的常规方法压片),来制备所述制剂。

[0225] 在一个实施方案中,本文所述的任何嵌合蛋白(和/或另外的剂)根据常规程序作

为适合于本文所述的施用模式的组合物进行配制。

[0226] 施用路径包括例如：皮内、肌肉内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外、口服、舌下、鼻内、脑内、阴道内、经皮、直肠、通过吸入、或局部，特别是施用到耳、鼻、眼、或皮肤。在实施方案中，所述施用通过口服或通过肠胃外注射实现。在大多数情况下，施用导致本文所述的任何剂释放到血液中。

[0227] 本文所述的任何嵌合蛋白（和/或另外的剂）可以通过口服施用。此类嵌合蛋白（和/或另外的剂）也可以通过任何其他常规途径施用，例如通过静脉内输注或推注、通过经上皮或粘膜皮肤衬层（例如口腔粘膜、直肠和肠粘膜等）吸收，并且可以与另一种生物活性剂一起施用。施用可为全身性或局部的。不同递送系统为已知的，例如脂质体、微粒、微胶囊、胶囊等中的包囊化，并且可以用于施用。

[0228] 在具体实施方案中，可能希望向需要治疗的区域局部施用。在一个实施方案中，例如在癌症的治疗中，嵌合蛋白（和/或另外的剂）在肿瘤微环境（例如，围绕肿瘤细胞和/或为肿瘤细胞提供营养的细胞、分子、细胞外基质和/或血管，其包括例如肿瘤脉管系统；肿瘤浸润淋巴细胞；成纤维细胞网状细胞；内皮祖细胞（EPC）；癌症相关成纤维细胞；周细胞；其他基质细胞；细胞外基质（ECM）的组分；树突细胞；抗原呈递细胞；T细胞；调节T细胞；巨噬细胞；嗜中性粒细胞；和位于肿瘤附近的其他免疫细胞）或淋巴结中进行施用并且/或者靶向肿瘤微环境或淋巴结。在实施方案中，例如在癌症的治疗中，嵌合蛋白（和/或另外的剂）在肿瘤内施用。

[0229] 在各种实施方案中，本发明的嵌合蛋白允许双重效果，其提供的副作用比常规免疫疗法（例如，使用OPDIVO、KEYTRUDA、YERVOY 和TECENTRIQ中的一种或多种的治疗）中所见的更少。例如，本发明的嵌合蛋白降低或预防通常观察到的影响各种组织和器官的免疫相关不良事件，所述组织和器官包括皮肤、胃肠道、肾脏、外周和中枢神经系统、肝脏、淋巴结、眼睛、胰腺和内分泌系统；所述免疫相关不良事件诸如垂体炎、结肠炎、肝炎、肺炎、皮疹和风湿性疾病。此外，本发明的局部施用，例如肿瘤内施用，避免了与常规免疫疗法（例如，使用OPDIVO、KEYTRUDA、YERVOY和TECENTRIQ中的一种或多种的治疗）一起使用时标准全身施用（例如静脉内输注）中所见的不良事件。

[0230] 适用于肠胃外施用（例如，静脉内、肌肉内、腹膜内、皮下和关节内注射和输注）的剂型包括例如溶液、悬浮剂、分散体、乳剂等。它们也可以制造成无菌固体组合物（例如，冻干组合物）的形式，其可以在即将使用前溶解或悬浮在无菌可注射介质中。它们可以含有例如本领域已知的悬浮剂或分散剂。

[0231] 本文所述的任何嵌合蛋白（和/或另外的剂）的剂量以及给药方案可以取决于各种参数，其包括但不限于所治疗的疾病、受试者的一般健康状况和施用医师的判断。可以在向有需要的受试者施用另外的剂之前（例如，之前5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周）、同时、或之后（例如，之后5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周）施用本文所述的任何嵌合蛋白。在实施方案中，本文所述的任何嵌合蛋白和另外的剂的施用间隔1分钟、间隔10分钟、间隔30分钟、间隔小于1小时、间隔1 小时、间隔1小时至2小时、间隔2小时至3小时、间隔3小时至4 小时、间隔4小时至5小时、间隔5小时至6小时、间隔6小时

至7 小时、间隔7小时至8小时、间隔8小时至9小时、间隔9小时至 10小时、间隔10小时至11小时、间隔11小时至12小时、间隔1 天、间隔2天、间隔3天、间隔4天、间隔5天、间隔6天、间隔1 周、间隔2周、间隔3周、或间隔4周。

[0232] 在实施方案中,本发明涉及诱导先天免疫应答的嵌合蛋白以及诱导适应性免疫应答的另一种嵌合蛋白的共同施用。在此类实施方案中,诱导先天免疫应答的嵌合蛋白可以在施用诱导适应性免疫应答的嵌合蛋白之前、同时或之后施用。例如,嵌合蛋白的施用可以间隔1 分钟、间隔10分钟、间隔30分钟、间隔小于1小时、间隔1小时、间隔1小时至2小时、间隔2小时至3小时、间隔3小时至4小时、间隔4小时至5小时、间隔5小时至6小时、间隔6小时至7小时、间隔7小时至8小时、间隔8小时至9小时、间隔9小时至10小时、间隔10小时至11小时、间隔11小时至12小时、间隔1天、间隔2 天、间隔3天、间隔4天、间隔5天、间隔6天、间隔1周、间隔2 周、间隔3周、或间隔4周。在例示性实施方案中,诱导先天免疫应答的嵌合蛋白和诱导适应性应答的嵌合蛋白间隔1周施用,或者在隔周施用(即,施用诱导先天免疫应答的嵌合蛋白1周后施用诱导适应性免疫应答的嵌合蛋白,等等)。

[0233] 本文所述的任何嵌合蛋白(和/或另外的剂)的剂量可以取决于若干种因素,其包括病状的严重性,病状是否被治疗或预防以及待治疗的受试者的年龄、体重和健康。另外,关于具体受试者的药物基因组(基因型对治疗剂的药代动力学、药效动力学或功效的曲线的作用)信息可以影响所使用的剂量。此外,精确的个体剂量可以根据多种因素稍微调整,所述因素包括正在施用的剂的特定组合、施用的时间、施用的路径、制剂的性质、排泄的速率、所治疗的特定疾病、病症的严重性以及病症的解剖学位置。可以预期一些剂量变化。

[0234] 对于通过肠胃外注射施用本文所述的任何嵌合蛋白(和/或另外的剂),剂量可以是每天约0.1mg至约250mg、每天约1mg至约20mg、或每天约3mg至约5mg。一般来讲,当通过口服或肠胃外施用时,本文所述的任何剂的剂量可以是每天约0.1mg至约1500mg、或每天约0.5mg至约10mg、或每天约0.5mg至约5mg、或每天约200至约1,200mg(例如,每天约200mg、约300mg、约400mg、约500mg、约600mg、约700mg、约800mg、约900mg、约1,000mg、约1,100 mg、约1,200mg)。

[0235] 在实施方案中,本文所述的嵌合蛋白(和/或另外的剂)的施用是通过肠胃外注射,其剂量为每次治疗约0.1mg至约1500mg、或每次治疗约0.5mg至约10mg、或每次治疗约0.5mg至约5mg、或每次治疗约200至约1,200mg(例如,每次治疗约200mg、约300mg、约 400mg、约500mg、约600mg、约700mg、约800mg、约900mg、约1,000mg、约1,100mg、约1,200mg)。

[0236] 在实施方案中,嵌合蛋白(和/或另外的剂)的合适剂量在约0.01 mg/kg至约100mg/kg体重、或约0.01mg/kg至约10mg/kg受试者体重的范围内,例如,约0.01mg/kg、约0.02mg/kg、约0.03mg/kg、约0.04mg/kg、约0.05mg/kg、约0.06mg/kg、约0.07mg/kg、约0.08 mg/kg、约0.09mg/kg、约0.1mg/kg、约0.2mg/kg、约0.3mg/kg、约0.4mg/kg、约0.5mg/kg、约0.6mg/kg、约0.7mg/kg、约0.8mg/kg、约0.9mg/kg、约1mg/kg、约1.1mg/kg、约1.2mg/kg、约1.3mg/kg、约1.4mg/kg、约1.5mg/kg、约1.6mg/kg、约1.7mg/kg、约1.8mg/kg、1.9mg/kg、约2mg/kg、约3mg/kg、约4mg/kg、约5mg/kg、约6mg/kg、约7mg/kg、约8mg/kg、约9mg/kg、约10mg/kg体重,包括它们之间的所有值和范围。

[0237] 在另一个实施方案中,递送可以是在囊泡中,具体地是在脂质体中(参见,Langer, 1990,Science 249:1527-1533;Treat等,in Liposomes in therapy of Infectious

Disease and Cancer, Lopez-Berestein和Fidler(编), Liss, New York, 第353-365页(1989)。

[0238] 本文所述的任何嵌合蛋白(和/或另外的剂)可以通过控释或缓释方式或者通过本领域普通技术人员熟知的递送装置进行施用。实例包括但不限于美国专利号:3,845,770; 3,916,899; 3,536,809; 3,598,123; 4,008,719; 5,674,533; 5,059,595; 5,591,767; 5,120,548; 5,073,543; 5,639,476; 5,354,556; 和5,733,556中所述的那些; 所述专利中各自以引用的方式并入本文。此类剂型可以适用于使用例如羟丙基甲基纤维素、其他聚合物基质、凝胶、可渗透性膜、渗透系统、多层包衣、微粒、脂质体、微球体或其组合来提供一种或多种活性成分的控释或缓释,从而以不同比例提供所需的释放曲线。活性成分的控释或缓释可以通过各种条件来刺激,所述条件包括但不限于pH的变化、温度的变化、通过适当波长的光的刺激、酶的浓度或利用度、水的浓度或利用度或者其他生理学条件或化合物。

[0239] 在另一个实施方案中,可以使用聚合材料(参见Medical Applications of Controlled Release, Langer和Wise(编), CRC Pres., Boca Raton, Florida(1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen和Ball(编), Wiley, New York(1984); Ranger和Peppas, 1983, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61; 还参见Levy等, 1985, Science 228:190; During等, 1989, Ann. Neurol. 25:351; Howard等, 1989, J. Neurosurg. 71:105)。

[0240] 在另一个实施方案中,控释系统可以放置在待治疗的靶标区域附近,由此仅需要全身剂量的一部分(参见例如, Goodson, 在 Medical Applications of Controlled Release中, 同上, 第2卷, 第 115-138页(1984))。可以使用在综述Langer, 1990, Science 249:1527-1533)中讨论的其他控释系统。

[0241] 本文所述的任何嵌合蛋白(和/或另外的剂)的施用可以独立地为每天一至四次,或每月一至四次,或每年一至六次,或者每两年、三年、四年或五年一次。施用可以持续一天或一个月、两个月、三个月、六个月、一年、两年、三年的持续时间,并且可以甚至持续受试者的一生。

[0242] 利用本文所述的任何嵌合蛋白(和/或另外的剂)的给药方案可以根据多种因素进行选择,所述因素包括受试者的类型、种族、年龄、体重、性别以及医学病状;待治疗的病状的严重性;施用的路径;受试者的肾功能或肝功能;个体的药物基因组组成;以及所采用的本发明的特定化合物。本文所述的任何嵌合蛋白(和/或另外的剂)可以单一日剂量进行施用,或者总日剂量可以每日两次、三次或四次的分剂量进行施用。此外,本文所述的任何嵌合蛋白(和/或另外的剂)可以贯穿剂量方案连续地而不是间歇地进行施用。

[0243] 细胞和核酸

[0244] 在实施方案中,本发明提供了一种表达载体,其包含编码本文所述的嵌合蛋白的核酸。在实施方案中,表达载体包含DNA或RNA。在实施方案中,表达载体是哺乳动物表达载体。

[0245] 原核载体和真核载体均可以用于表达嵌合蛋白。原核载体包括基于大肠杆菌序列的构建体(参见例如, Makrides, Microbiol Rev 1996, 60:512-538)。可以用于在大肠杆菌中表达的调节区的非限制性实例包括lac、trp、lpp、phoA、recA、tac、T3、T7和 λ P_L。原核表达载体的非限制性实例可以包括 λ gt载体系列诸如如 λ gt11(Huynh等, 在“DNA Cloning

Techniques, Vol. I: A Practical Approach,” 中1984, (D. Glover编), 第49-78页, IRL Press, Oxford), 以及pET载体系列(Studier 等, Methods Enzymol 1990, 185:60-89)。然而, 原核宿主-载体体系不能对哺乳动物细胞进行大量的翻译后加工。因此, 真核宿主-载体体系可能特别有用。多种调节区可以用于在哺乳动物宿主细胞中表达嵌合蛋白。例如, 可以使用SV40早期和晚期启动子、巨细胞病毒(CMV) 立即早期启动子和劳斯肉瘤病毒长末端重复序列(RSV-LTR) 启动子。可以用于哺乳动物细胞的诱导型启动子包括但不限于与金属硫蛋白 II 基因、小鼠乳腺肿瘤病毒糖皮质激素反应性长末端重复序列(MMTV-LTR)、 β -干扰素基因和hsp70基因相关的启动子(参见, Williams等, Cancer Res 1989, 49:2735-42; 和Taylor等, Mol Cell Biol 1990, 10:165-75)。热休克启动子或应激启动子也可能有利于驱动重组宿主细胞中嵌合蛋白的表达。

[0246] 在实施方案中, 本发明的表达载体包含编码嵌合蛋白(和/或另外的剂)的核酸或其互补物, 其可操作地连接到在哺乳动物细胞中是功能性的表达控制区或其互补物。表达控制区能够驱动可操作地连接的阻断剂和/或刺激剂编码核酸的表达, 使得在经所述表达载体转化的人细胞中产生所述阻断剂和/或刺激剂。

[0247] 表达控制区是影响可操作地连接的核酸的表达的调节聚核苷酸(在本文中有时称为元件), 诸如启动子和增强子。本发明的表达载体的表达控制区能够使可操作地连接的编码核酸在人细胞中表达。在一个实施方案中, 细胞是肿瘤细胞。在另一个实施方案中, 细胞是非肿瘤细胞。在实施方案中, 表达控制区使得可操作地连接的核酸的表达可调节。信号(有时称为刺激物)可以增加或减少可操作地连接到这种表达控制区的核酸的表达。响应于信号而增加表达的此类表达控制区通常称为诱导性。响应于信号而减少表达的此类表达控制区通常称为阻遏性。通常, 由此类元件所赋予的增加或减少的量与所存在信号的量成比例; 信号量越大, 表达的增加或减少越大。

[0248] 在实施方案中, 本发明考虑使用能够响应于提示瞬时实现高水平表达的诱导型启动子。例如, 当与肿瘤细胞接近时, 通过将转化细胞暴露于适当的提示, 诱导经包含这种表达控制序列的嵌合蛋白(和/或另外的剂)的表达载体转化的细胞, 以瞬时产生高水平的剂。例示性诱导型表达控制区包括包含用提示(诸如小分子化合物)刺激的诱导型启动子的诱导型表达控制区。具体的实例可以见于, 例如, 美国专利号5,989,910、5,935,934、6,015,709和6,004,941中, 所述专利各自以引用的方式整体并入本文。

[0249] 表达控制区和基因座控制区包括全长启动子序列(诸如天然启动子和增强子元件), 以及保留全部或部分全长或非变异型功能的子序列或聚核苷酸变体。如本文所用, 术语“功能性”和其语法变体当在提及核酸序列、子序列或片段的情况下使用时, 意指所述序列具有天然核酸序列(例如非变异型或未修饰序列)的一种或多种功能。

[0250] 如本文所用, “可操作的连接”是指所述组分的实体并置关系允许其以预定方式起作用。在表达控制元件与核酸可操作地连接的实例中, 所述关系使得控制元件调节所述核酸的表达。通常, 调节转录的表达控制区并置于所转录核酸的5'端附近(即“上游”)。表达控制区还可以位于所转录序列的3'端(即“下游”)或在转录物内(例如在内含子中)。表达控制元件可以位于离所转录序列一定距离处(例如离所述核酸100至500、500至1000、2000至5000或更多个核苷酸)。表达控制元件的特定实例是启动子, 其通常位于所转录序列的5'。表达控制元件的另一个实例是增强子, 其可以位于所转录序列的5'或3', 或在所转录序列

的内部。

[0251] 在人细胞中具功能性的表达体系在本领域中是熟知的,并且包括病毒体系。一般来讲,在人细胞中具功能性的启动子是能够结合哺乳动物RNA聚合酶并起始下游(3')编码序列转录成mRNA的任何DNA序列。启动子将具有转录起始区,其通常置于编码序列5'端附近,并且TATA盒通常位于转录起始位点上游25-30个碱基对处。认为TATA盒引导RNA聚合酶II在正确位点开始RNA合成。启动子通常还含有上游启动子元件(增强子元件),其通常位于TATA盒上游100至200个碱基对内。上游启动子元件决定转录起始速率并且可以任何取向起作用。来自哺乳动物病毒基因的启动子特别适合用作启动子,因为病毒基因通常是高表达的并且具有广泛的宿主范围。实例包括SV40早期启动子、小鼠哺乳动物肿瘤病毒LTR启动子、腺病毒主要晚期启动子、单纯疱疹病毒启动子和CMV启动子。

[0252] 通常,由哺乳动物细胞识别的转录终止和聚腺苷酸化序列是位于转录终止密码子3'的调节区,并且因此连同启动子元件一起侧接编码序列。成熟mRNA的3'末端由位点特异性翻译后裂解和聚腺苷酸化形成。转录终止子和聚腺苷酸化信号的实例包括来源于SV40的那些。表达构建体中还可以包括内含子。

[0253] 存在多种可用于将核酸引入活细胞中的技术。适用于在体外将核酸转移至哺乳动物细胞中的技术包括使用脂质体、电穿孔、微注射、细胞融合、基于聚合物的体系、DEAE-葡聚糖、病毒转导、磷酸钙沉淀法等。对于体内基因转移,也可以使用多种技术和试剂,包括脂质体;基于天然聚合物的递送媒介物,诸如壳聚糖和明胶;病毒载体也适用于体内转导。在一些情况下,希望提供靶向剂,诸如对于肿瘤细胞表面膜蛋白具有特异性的抗体或配体。在采用脂质体的情况下,结合与内吞作用相关联的细胞表面膜蛋白的蛋白质可以用于靶向和/或促进摄取,例如亲近特定细胞类型的衣壳蛋白或其片段、在循环中进行内化的蛋白质的抗体、靶向细胞内定位并增强细胞内半衰期的蛋白质。例如,受体介导的内吞作用的技术描述于,例如,Wu等,J. Biol. Chem. 262, 4429-4432 (1987);和Wagner等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 3410-3414 (1990)。

[0254] 适当时,还可以采用基因递送剂,例如像整合序列。许多整合序列在本领域中是已知的(参见例如,Nunes-Duby等, Nucleic Acids Res. 26:391-406, 1998; Sadwoski, J. Bacteriol., 165:341-357, 1986; Bestor, Cell, 122(3):322-325, 2005; Plasterk等, TIG 15:326-332, 1999; Kootstra等, Ann. Rev. Pharm. Toxicol., 43:413-439, 2003)。这些包括重组酶和转座酶。实例包括Cre (Sternberg和Hamilton, J. Mol. Biol., 150:467-486, 1981)、 λ (lambda) (Nash, Nature, 247, 543-545, 1974)、Flp (Broach, 等, Cell, 29:227-234, 1982)、R (Matsuzaki, 等, J. Bacteriology, 172:610-618, 1990)、cpC31 (参见例如, Groth等, J. Mol. Biol. 335:667-678, 2004)、mariner家族的转座子睡美人(sleeping beauty) (Plasterk等, 同上)以及用于整合病毒(诸如AAV、逆转录病毒和抗病毒)的部件,其具有提供病毒整合的部件,诸如逆转录病毒或慢病毒的LTR序列和AAV的ITR序列(Kootstra等, Ann. Rev. Pharm. Toxicol., 43:413-439, 2003)。此外,可以使用直接和靶向遗传整合策略来插入编码嵌合蛋白的核酸序列,所述策略包括CRISPR/CAS9、锌指、TALEN和大范围核酸酶基因编辑技术。

[0255] 在一方面,本发明提供用于表达嵌合蛋白(和/或另外的剂)的表达载体,其为病毒载体。许多可用于基因疗法的病毒载体是已知的(参见例如, Lundstrom, Trends

Biotechnol., 21:1 17, 122, 2003。例示性病毒载体包括选自抗病毒 (LV)、逆转录病毒 (RV)、腺病毒 (AV)、腺相关病毒 (AAV) 和 α 病毒的载体,但是也可以使用其他病毒载体。对于体内用途,适合使用不整合到宿主基因组中的病毒载体,诸如 α 病毒和腺病毒。 α 病毒的例示性类型包括辛德毕斯病毒 (Sindbis virus)、委内瑞拉马脑炎 (Venezuelan equine encephalitis; VEE) 病毒和塞姆利基森林病毒 (Semliki Forest virus; SFV)。对于体外使用,整合到宿主基因组中的病毒载体是合适的,诸如逆转录病毒、AAV和抗病毒。在一个实施方案中,本发明提供体内转导细胞的方法,其包括在体内使实体肿瘤与本发明的病毒载体接触。

[0256] 在实施方案中,本发明提供一种宿主细胞,其包含表达载体,所述表达载体包含本文所述的嵌合蛋白。

[0257] 可以将表达载体引入宿主细胞中,用于产生本发明的嵌合蛋白。例如,可以在体外培养细胞或对细胞进行遗传工程化。可用的哺乳动物宿主细胞包括但不限于衍生自人、猴和啮齿动物的细胞 (参见例如, Kriegler在“Gene Transfer and Expression: A Laboratory Manual,”中 1990, New York, Freeman & Co.)。这些包括由SV40转化的猴肾细胞系 (例如, COS-7、ATCC CRL 1651); 人胚胎肾细胞系 (例如, 293、293-EBNA或用于悬浮培养生长的亚克隆的293细胞, Graham等, J Gen Virol 1977, 36:59); 幼仓鼠肾细胞 (例如, BHK、ATCC CCL 10); 中国仓鼠卵巢细胞-DHFR (例如, CHO, Urlaub和Chasin, Proc Natl Acad Sci USA 1980, 77:4216); DG44 CHO细胞、CHO-K1细胞、小鼠塞托利细胞 (Mather, Biol Reprod 1980, 23:243-251); 小鼠成纤维细胞 (例如, NIH-3T3)、猴肾细胞 (例如, CV1 ATCC CCL 70); 非洲绿猴肾细胞 (例如, VERO-76、ATCC CRL-1587); 人宫颈癌细胞 (例如, HELA、ATCC CCL 2); 犬肾细胞 (例如, MDCK、ATCC CCL 34); 布法罗大鼠肝细胞 (例如, BRL 3A、ATCC CRL 1442); 人肺细胞 (例如, W138、ATCC CCL 75); 人肝细胞 (例如, Hep G2、HB 8065); 和小鼠乳腺肿瘤细胞 (例如, MMT 060562、ATCC CCL51)。用于表达本文所述的嵌合蛋白的例示性癌细胞类型包括小鼠成纤维细胞系 NIH3T3、小鼠Lewis肺癌细胞系LLC、小鼠肥大细胞瘤细胞系P815、小鼠淋巴瘤细胞系EL4及其卵清蛋白转染子E.G7、小鼠黑色素瘤细胞系B16F10、小鼠纤维肉瘤细胞系MC57以及人小细胞肺癌细胞系 SCLC#2和SCLC#7。

[0258] 宿主细胞可以从正常受试者或受影响的受试者 (包括健康人、癌症患者以及患有感染性疾病的患者)、私人实验室存储物、诸如美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection) 的公共培养物收集物、或商业供应商获得。

[0259] 可以用于体外、离体和/或体内产生本发明的嵌合蛋白的细胞包括但不限于上皮细胞、内皮细胞、角质细胞、成纤维细胞、肌细胞、肝细胞; 血细胞诸如T淋巴细胞、B淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、巨核细胞、粒细胞; 各种干细胞或祖细胞, 特别是造血干细胞或祖细胞 (例如, 从骨髓、脐带血、外周血、胎肝等获得)。细胞类型的选择取决于所治疗或预防的肿瘤或感染性疾病的类型, 并且可以由本领域技术人员确定。

[0260] 含Fc的大分子 (诸如单克隆抗体) 的产生和纯化已成为标准化过程, 其中产物之间具有微小修改。例如, 许多含Fc的大分子由人胚胎肾 (HEK) 细胞 (或其变体) 或者中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞 (或其变体) 产生, 或者在某些情况下通过细菌或合成方法产生。产生之后, 由HEK或CHO细胞分泌的含Fc的大分子通过与蛋白A柱结合进行纯化, 并且随后使用各种方法

‘抛光’。一般来讲,纯化的含Fc的大分子以液体形式储存一段时间、冷冻较长时间或在一些情况下冻干。在实施方案中,与传统的含Fc的大分子相比,本文考虑的嵌合蛋白的产生可以具有独特的特征。在某些实例中,可以使用特定的色谱树脂或使用不依赖于蛋白A捕获的色谱方法来纯化嵌合蛋白。在实施方案中,嵌合蛋白可以寡聚状态或多种寡聚状态进行纯化,并使用特定方法富集特定的寡聚状态。不受理论束缚,这些方法可以包括用特定缓冲液处理,其包括指定的盐浓度、pH和添加剂组成。在其他实例中,此类方法可以包括相对于一种寡聚状态有利于另一种寡聚状态的处理。可以使用本领域指定的方法另外‘抛光’本文获得的嵌合蛋白。在实施方案中,嵌合蛋白是高度稳定的并且能够耐受广泛的pH暴露(在 pH 3-12之间),能够耐受大量的冻/融应力(大于3个冷冻/解冻循环)并且能够耐受在高温下的延长温育(在40摄氏度下长于2周)。在实施方案中,示出嵌合蛋白在此类应力条件下保持完整,没有降解、脱酰胺等迹象。

[0261] 受试者和/或动物

[0262] 在实施方案中,受试者和/或动物是哺乳动物,例如人、小鼠、大鼠、豚鼠、狗、猫、马、牛、猪、兔、绵羊或非人灵长类动物,诸如猴、黑猩猩或狒狒。在实施方案中,受试者和/或动物是非哺乳动物,例如像斑马鱼。在实施方案中,受试者和/或动物可以包含荧光标记的细胞(例如用GFP)。在实施方案中,受试者和/或动物是包含荧光细胞的转基因动物。

[0263] 在实施方案中,受试者和/或动物是人。在实施方案中,人是幼儿。在实施方案中,人是成人。在实施方案中,人是老年人。在实施方案中,人可以称为患者。

[0264] 在某些实施方案中,人的年龄范围为约0个月至约6个月、约6 至约12个月、约6至约18个月、约18至约36个月、约1至约5岁、约5至约10岁、约10至约15岁、约15至约20岁、约20至约25 岁、约25至约30岁、约30至约35岁、约35至约40岁、约40至约45岁、约45至约50岁、约50至约55岁、约55至约60岁、约 60至约65岁、约65至约70岁、约70至约75岁、约75至约80岁、约80至约85岁、约85至约90岁、约90至约95岁或约95至约100 岁。

[0265] 在实施方案中,受试者是非人动物,并且因此本发明涉及兽医用途。在一个具体实施方案中,非人动物是家庭宠物。在另一个具体实施方案中,非人动物是家畜动物。

[0266] 试剂盒

[0267] 本发明提供了可以简化本文所述的任何剂的施用的试剂盒。本发明的例示性试剂盒包含单位剂型的本文所述的任何组合物。在一个实施方案中,单位剂型是容器,诸如预填充注射器,其可以是无菌的,含有本文所述的任何剂和药学上可接受的载体、稀释剂、赋形剂或媒介物。试剂盒可以进一步包含指示本文所述的任何剂的使用的标签或印刷说明书。试剂盒还可以包含开睑器、局部麻醉剂和用于施用位置的清洁剂。试剂盒还可以进一步包含一种或多种本文所述的另外的剂。在一个实施方案中,试剂盒包含容器,其含有有效量的本发明的组合物和有效量的另一种组合物,诸如本文所述的那些组合物。

[0268] 本文描述的任何方面或实施方案都可以与如本文所公开的任何其他方面或实施方案结合

[0269] 本发明将在以下实施例中进一步描述,这些实施例不限制权利要求书中所述的本发明范围。

[0270] 实施例

[0271] 实施例1:TIGIT-Fc-0X40L嵌合蛋白的表征

[0272] 在此实施例中,以生物化学和功能性方式表征包含TIGIT和 OX40L结构域的嵌合蛋白。

[0273] 制备鼠TIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白和人TIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白;其示意图在图3A和图3B的顶部示出。在还原条件下,用N+O 去糖基化酶处理后,和/或在煮沸之后在SDS-PAGE上分离 mTIGIT-Fc-OX40L和hTIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白。mTIGIT-Fc-OX40L和hTIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白的蛋白质印迹指示在非还原泳道中存在占优势的二聚体条带(图3A和图3B,每个印迹中的泳道2),其在还原剂 β -巯基乙醇的存在下被还原为糖基化的单体条带(图3A和图3B,每个印迹中的泳道3)。如图3A和图3B每个印迹中的泳道3所示,在还原剂(β -巯基乙醇)和内切糖苷酶(PNGase)两者的存在下,嵌合蛋白作为单体分离。

[0274] 然后测定mTIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白和hTIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白的结合亲和力。对于每种嵌合蛋白,在以下条件下进行ELISA:重+轻链捕获并用Fc-HRP检测(图4A和图4B,顶部左侧), CD155/PVR-His捕获并用IgG检测(图4A和图4B,顶部右侧),以及 OX40-His捕获并用针对mOX40L的抗体检测(图4A和图4B,底部左侧)。将mTIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白用OX40-Fc捕获并用重组 CD155检测(图4A,底部右侧,“双重ELISA”),并且将 hTIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白用OX40-Fc捕获并用重组CD155、CD112 或CD113蛋白检测(图4A,底部右侧,“双重ELISA”)。这些数据指示mTIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白和hTIGIT-Fc-OX40L嵌合结合其靶标中的每个,并且可以同时结合两个靶标。

[0275] 实施另外的分析以确定mTIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白是否可以结合其在活细胞表面上的靶标。生成细胞系以过表达人PVR(即, CHOK1/PVR);这些细胞可用于检测含有TIGIT的构建体与细胞膜相关PVR的结合。参见图5A。生成细胞系以过表达结合素-2(即, CHOK1/结合素2);这些细胞可用于检测含有TIGIT的构建体与细胞膜相关结合素-2的结合。参见图5B。生成细胞系以过表达结合素-3(即,CHOK1/结合素3);这些细胞可用于检测含有TIGIT的构建体与细胞膜相关结合素-3的结合。参见图5C。制备过表达mOX40(即, CHOK1-mOX40)的另一种细胞系。每种细胞系基于中国仓鼠卵巢K1 (CHOK1)。

[0276] 将mTIGIT-Fc-OX40L嵌合蛋白或mPD-1-Fc-OX40L嵌合蛋白与亲本和过表达细胞系一起温育2小时。将细胞收集,洗涤并用抗体染色,用于通过流式细胞术检测嵌合蛋白结合。如图6所示(底部左侧和右侧),并且如所预期,嵌合蛋白不以嵌合蛋白的任何浓度结合亲本细胞系。然而,mTIGIT-Fc-OX40L以浓度依赖性方式结合 CHOK1/PVR工程化细胞系;基于此数据,计算的 EC_{50} 值为4.634nM。参见图6(顶部左侧)。相比之下,mPD-1-Fc-OX40L不与任何工程化细胞系结合。与CHOK1/PVR工程化细胞系一样,mTIGIT-Fc-OX40L 嵌合蛋白也以浓度依赖性方式结合CHOK1-mOX40工程化细胞系;基于此数据,计算的 EC_{50} 值为1.7nM。参见图6(右侧)。这些数据指示嵌合蛋白的不同组分各自能够结合其各自在活细胞上的受体/配体。

[0277] 接下来实施微阵列筛选以进一步鉴定hTIGIT-Fc-OX40L的结合配偶体。图7是示出来自微阵列(含有约6,000个人膜蛋白)的 hTIGIT-Fc-OX40L的鉴定的结合配偶体的结果的表。通过筛选鉴定 hTIGIT-Fc-OX40L的每个预期的结合配偶体。没有证据显示与其他人蛋白的非特异性结合,并且在所有含有Fc的融合蛋白的筛选中看到与Galectin-1的结合。

[0278] 实施例2:CD172a(SIRP α)-Fc-LIGHT嵌合蛋白的表征

[0279] 在此实施例中,以生物化学和功能性方式表征包含LIGHT和 CD172a(SIRP α)结构域的嵌合蛋白。

[0280] 制备鼠CD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT嵌合蛋白和人 CD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT嵌合蛋白;其示意图在图8A和图8B的顶部示出。在还原条件下,用N+O去糖基化酶处理后,和/或在煮沸之后在SDS-PAGE上分离mCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT和 hCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT嵌合蛋白。mCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT 和hCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT嵌合蛋白的蛋白质印迹指示在非还原泳道中存在占优势的二聚体条带(图8A和图8B,每个印迹中的泳道 2),其在还原剂 β -巯基乙醇的存在下被还原为糖基化的单体条带(图 8A和图8B,每个印迹中的泳道 3)。如图8A和图8B每个印迹中的泳道3所示,在还原剂(β -巯基乙醇)和内切糖苷酶(PNGase)两者的存在下,嵌合蛋白作为单体分离。

[0281] 然后测定mCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT嵌合蛋白和 hCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT嵌合蛋白的结合亲和力。对于每种嵌合蛋白,在以下条件下进行ELISA:重+轻链捕获并用Fc-HRP检测(图9A 和图9B,顶部左侧),CD47-His捕获并用IgG检测(图9A和图9B,顶部右侧),鼠LTBR-His捕获并用针对鼠LIGHT的抗体检测(图9A,底部左侧)或人LTBR-His捕获并用针对人LIGHT的抗体检测(图9B,底部左侧),以及LTBR His+GST捕获并用针对SIRP α 的抗体检测(图9A和图9B,底部右侧,“双重ELISA”)。这些数据指示 mCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT嵌合蛋白和hCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT 嵌合结合其靶标中的每个,并且可以同时结合两个靶标。

[0282] 实施另外的分析以确定mCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT嵌合蛋白是否可以结合其在活细胞表面上的靶标。制备表达鼠CD47的CHO-K1 细胞(图10A,左侧)或表达鼠LTbR的CHO-K1细胞(图10A,右侧)。

[0283] 将mCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT嵌合蛋白与亲本和过表达细胞系一起温育2小时。将细胞收集,洗涤并用抗体染色,用于通过流式细胞术检测嵌合蛋白结合。如图10A所示(左侧),并且如所预期,嵌合蛋白不以嵌合蛋白的任何浓度结合亲本细胞系。然而, mCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT以浓度依赖性方式结合mCD47工程化细胞系(图10A,左侧)和mLTbR工程化细胞系(图10A,右侧);基于此数据,计算的CD47的EC₅₀值为18nM,并且mCD172a (SIRP α)的EC₅₀值为24nM。另外,将hCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT嵌合蛋白与mCD47 过表达细胞系一起温育。hCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT以浓度依赖性方式结合mCD47工程化细胞系(图10B);基于此数据,计算的EC₅₀值为57nM。这些数据指示嵌合蛋白的不同组分各自能够结合其各自在活细胞上的受体/配体。

[0284] 然后测试人TIGIT-Fc-0X40L嵌合蛋白不与红细胞结合并由此引起溶血的能力。在此,使hCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT、hCD172a (SIRP α) -Fc-CD40或CD47特异性抗体(克隆CC2C6或 CC900002)与食蟹猴红细胞(RBC,图11A,左侧顶部和底部)或人RBC(图11B和图11C,所有图)接触。当与用Triton-X的处理(作为阳性对照)相比时,hCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT和 hCD172a (SIRP α) -Fc-CD40均不引起食蟹猴RBC的显著裂解(图11A,底部左侧);示出示例性平板(图11A,右侧)。hCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT和hCD172a (SIRP α) -Fc-CD40均不与人 RBC显著结合(图11B,所有图)。当与用Triton-X的处理(作为阳性对照)相比时,hCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT或 hCD172a (SIRP α) -Fc-CD40引起几乎不可检测水平的人RBC裂解(图 11C,所有图);示出示例性平板(图11C,右侧)。这些数据指示 hCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT和hCD172a (SIRP α) -Fc-CD40不会引起人 RBC的溶血作为不希望的副作用。

[0285] 实施例3:PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白的表征

[0286] 在此实施例中,以生物化学和功能性方式表征包含LIGHT和 PD-1结构域的嵌合蛋

白。

[0287] 制备鼠PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白和人PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白;其示意图在图12A和图12B的顶部示出。在还原条件下,用N+O去糖基化酶处理后,和/或在煮沸之后在SDS-PAGE上分离 mPD-1-Fc-LIGHT和hPD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白。mPD-1-Fc-LIGHT 和hPD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白的蛋白质印迹指示在非还原泳道中存在占优势的二聚体条带(图12A和图12B,每个印迹中的泳道2),其在还原剂 β -巯基乙醇的存在下被还原为糖基化的单体条带(图12A和图12B,每个印迹中的泳道3)。如图12A和图12B每个印迹中的泳道3所示,在还原剂(β -巯基乙醇)和内切糖苷酶(PNGase)两者的存在下,嵌合蛋白作为单体分离。

[0288] 然后测定mPD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白和hPD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白的结合亲和力。对于每种嵌合蛋白,在以下条件下进行ELISA:重+轻链捕获并用Fc-HRP检测(图13A和图13B,顶部左侧),鼠LTBR-His捕获并用针对鼠LIGHT检测(图13A,顶部右侧)或人LTBR-His捕获并用生物素酰化人LIGHT的抗体检测(图13B,顶部右侧),以及mPD-L1捕获并用针对mLIGHT的抗体检测(图13A,底部左侧,“双重ELISA”)或hPDL1-Fc捕获并用hLTBR-His/6x His-HRP检测(图13A,底部左侧,“双重ELISA”)。这些数据指示mPD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白和hPD-1-Fc-LIGHT嵌合结合其靶标中的每个,并且可以同时结合两个靶标。

[0289] 实施另外的分析以确定鼠PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白(图14A)或人PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白(图14A)是否可以结合其在活细胞表面上的靶标。制备表达鼠mPD-L1的CHO-K1细胞(图14A,左侧)、表达鼠LTbR的CHO-K1细胞(图14A,右侧)和表达人mPD-L1的CHO-K1细胞(图14B,左侧)。将mPD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白与亲本和过表达细胞系一起温育2小时。将细胞收集,洗涤并用抗体染色,用于通过流式细胞术检测嵌合蛋白结合。如图14A所示(左侧和右侧),并且如所预期,mPD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白不以嵌合蛋白的任何浓度结合亲本细胞系。然而,mPD-1-Fc-LIGHT以浓度依赖性方式结合mPD-L1工程化细胞系(图14A,左侧)和mLTbR工程化细胞系(图14A,右侧)。另外,将hPD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白与hPD-L1过表达细胞系一起温育。hPD-1-Fc-LIGHT以浓度依赖性方式结合hPD-L1工程化细胞系(图14B);基于此数据,计算的EC₅₀值为48nM。这些数据指示嵌合蛋白的不同组分各自能够结合其各自在活细胞上的受体/配体。

[0290] 实施例4:TIGIT-Fc-LIGHT嵌合蛋白的表征

[0291] 在此实施例中,以生物化学和功能性方式表征包含TIGIT和LIGHT结构域的嵌合蛋白。

[0292] 制备鼠TIGIT-Fc-LIGHT嵌合蛋白和人TIGIT-Fc-LIGHT嵌合蛋白;其示意图在图15A和图15B的顶部示出。在还原条件下,用N+O去糖基化酶处理后,和/或在煮沸之后在SDS-PAGE上分离 mTIGIT-Fc-LIGHT和hTIGIT-Fc-LIGHT嵌合蛋白。mTIGIT-Fc-LIGHT和hTIGIT-Fc-LIGHT嵌合蛋白的蛋白质印迹指示在非还原泳道中存在占优势的二聚体条带(图15A和图15B,每个印迹中的泳道2),其在还原剂 β -巯基乙醇的存在下被还原为糖基化的单体条带(图15A和图15B,每个印迹中的泳道3)。如图15A和图15B每个印迹中的泳道3所示,在还原剂(β -巯基乙醇)和内切糖苷酶(PNGase)两者的存在下,嵌合蛋白作为单体分离。

[0293] 然后测定mTIGIT-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白和hTIGIT-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白的结合亲和力。对于每种嵌合蛋白,在以下条件下进行ELISA:重+轻链捕获并用Fc-HRP检测(图16A和图16B,顶部左侧),CD155/PVR捕获并用Fc-HRP检测(图16A,顶部右侧)或CD155-His捕

获并用检测(图16B,顶部右侧),以及mLTBR-His捕获并用针对 mLIGHT的抗体检测(图16A,底部左侧)或hCD155-Fc捕获并用hLTBR-His/6x His-HRP检测(图16B,底部左侧,“双重ELISA”)。这些数据指示mTIGIT-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白和hTIGIT-1-Fc-LIGHT嵌合结合其靶标中的每个,并且至少hTIGIT-1-Fc-LIGHT可以同时结合两个靶标。

[0294] 实施另外的分析以确定鼠TIGIT-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白(图17)是否可以结合其在活细胞表面上的靶标。

[0295] 将mTIGIT-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白或mPD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白与表达鼠PVR或表达鼠结合素-2的CHO-K1细胞(图17,左侧顶部)、表达鼠LTbR的CHO-K1细胞(图17A,右侧)或亲本CHO-K1细胞(图17,右侧和左侧底部)一起温育。

[0296] 如图17(底部左侧)所示,并且如所预期,mTIGIT-1-Fc-LIGHT 嵌合蛋白和mPD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白均不结合亲本细胞系,除非以最高浓度的嵌合蛋白结合。然而,mTIGIT-1-Fc-LIGHT以浓度依赖性方式结合mPVR工程化细胞系;基于此数据,计算的 EC_{50} 值为214.9 nM(图17,左侧顶部)。mTIGIT-1-Fc-LIGHT也以浓度依赖性方式结合mLTbR工程化细胞系;基于此数据,计算的 EC_{50} 值为11nM(图17,右侧)。这些数据指示嵌合蛋白的不同组分各自能够结合其各自在活细胞上的受体/配体。

[0297] 实施例5:嵌合蛋白的进一步表征

[0298] 在此实施例中,用人TIGIT-Fc-LIGHT、人 CD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT、人PD-1-Fc-LIGHT、鼠PD-1-Fc-LIGHT、人TIGIT-Fc-OX40L、人TIGIT-Fc-LIGHT、人 CD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT嵌合蛋白进行进一步实验。

[0299] 使用八隅体系统通过生物膜干涉技术采集人TIGIT-Fc-LIGHT、CD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT或PD-1-Fc-LIGHT与人LTbR的结合亲和力测量值(参见,图18A,所有图)。使用八隅体系统通过生物膜干涉技术采集在一系列浓度下人PD-1-Fc-LIGHT与重组人PD-L1或 PD-L2的结合亲和力测量值(参见,图18B)。

[0300] 使用八隅体系统通过生物膜干涉技术采集人TIGIT-Fc-OX40L和 TIGIT-Fc-LIGHT与重组人CD155/PVR(与一侧TIGIT-Fc融合蛋白对照相比)的结合亲和力测量值(参见,图19A)。使用八隅体系统通过生物膜干涉技术采集人CD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT与重组人CD47(与一侧CD172a (SIRP α)-Fc对照或两种CD47特异性抗体对照中的一种相比相比)的结合亲和力测量值(参见,图19B)。使用八隅体系统通过生物膜干涉技术采集人PD-1-Fc-LIGHT与重组人PD-L1(与单侧 PD-1-Fc对照或抗PD-L1对照;阿特殊单抗相比)的结合亲和力测量值(参见,图19C)。使用八隅体系统通过生物膜干涉技术采集人 CD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT、TIGIT-Fc-LIGHT或PD-1-Fc-LIGHT与重组人LTbR(与单侧LIGHT-Fc融合蛋白对照或抗LTbR抗体相比)的结合亲和力测量值(参见,图19D)。

[0301] 在超抗原细胞因子释放测定中确定含有LIGHT结构域的嵌合蛋白或含有TIGIT结构域的嵌合蛋白的功能性能力。在此,增加浓度的葡萄球菌肠毒素B(SEB)用于在各种测试剂的存在下活化人外周血白细胞。监测分泌到培养上清液中的IL-2(图20A)或TNF α (图20B)的量作为测试剂阻断抑制性信号传导事件或共刺激免疫活化信号的功能性读数。

[0302] 图20A和图20B示出了超抗原细胞因子释放测定,其证明各种抗体鼠TIGIT-Fc-OX40L、鼠CD172a (SIRP α)-Fc-LIGHT、鼠 TIGIT-Fc-LIGHT或鼠PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白对于通过SEB活化的鼠外周血白细胞的影响。图20C示出了在多个超抗原(SEB)浓度下数据的编

译。如图20A和图20C所示,当施用50和200ng/ml SEB时,对于mCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT和mPD-1-Fc-LIGHT,三种浓度(10 nM,100nM和250nM)中的每一种比所有的抗体对照均提供显著更大的IL2分泌。如图20B所示,当施用50和200ng/ml SEB时,在100nm或250nm浓度下,mPD-1-Fc-LIGHT比所有抗体对照均提供显著更大的TNF α 分泌;当施用200ng/ml SEB时,所有三种浓度的 mCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT比所有抗体对照均提供显著更大的 TNF α 分泌。

[0303] 此外,图21A至图21C示出了超抗原细胞因子释放测定,其证明各种抗体人TIGIT-Fc-LIGHT(图21A)、人TIGIT-Fc-OX40L(图 21B)、人PD-1-Fc-LIGHT和人CD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT(图21C)嵌合蛋白对于通过SEB活化的人外周血白细胞的影响。

[0304] 因此,以上数据证明如本文所述的含有LIGHT结构域的嵌合蛋白和含有TIGIT结构域的嵌合蛋白能够结合其三种结合配偶体中的每一种;它们在体外功能性地活化原代人白细胞。

[0305] 实施例6:改善的肿瘤杀死和增加的来自用嵌合蛋白进行的处理的存活

[0306] 使用CT26小鼠结肠直肠癌模型分析鼠TIGIT-Fc-OX40L、鼠 CD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT、鼠TIGIT-Fc-LIGHT和鼠PD-1-Fc-LIGHT 嵌合蛋白的体内抗肿瘤活性。在一组实验中,用CT26肿瘤接种Balb/c 小鼠。当肿瘤直径达到4至5mm时,用mTIGIT-Fc-OX40L、mCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT、mTIGIT-Fc-LIGHT和mPD-1-Fc-LIGHT 嵌合蛋白或抗TIGIT、抗CD47、抗OX40或抗PD-1抗体或抗TIGIT 和抗OX40抗体的组合处理小鼠。

[0307] 评估每个处理组的肿瘤生长,如图22A所示(左图和右图)。具体地,未处理小鼠快速发展肿瘤,并且用一种或多种抗体进行的处理似乎稍微延迟肿瘤的发展。相比之下,用mTIGIT-Fc-OX40L、mCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT、mTIGIT-Fc-LIGHT或mPD-1-Fc-LIGHT 嵌合蛋白处理小鼠显著抑制肿瘤生长和/或延迟肿瘤发展。

[0308] 还评估了在肿瘤接种之后的40天内小鼠的总存活百分比。所有未处理小鼠均在肿瘤接种之后20天内死亡,并且用一种或多种抗体处理的小鼠均不具有大于25%的40天存活百分比;参见图22B,左图。显著地,所有用mTIGIT-Fc-OX40L、mCD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT、mTIGIT-Fc-LIGHT或mPD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白处理的小鼠在肿瘤接种后存活超过40天;参见图22B,右图。

[0309] 这些数据指示用TIGIT-Fc-OX40L、CD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT、TIGIT-Fc-LIGHT或PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白进行的体内处理抑制肿瘤生长并改善存活。

[0310] 实施例7:接头中Fc结构域对嵌合蛋白功能性的贡献的表征

[0311] 在此实施例中,测定了接头中的Fc结构域对本发明的嵌合蛋白功能性的贡献。在此,PD-1-Fc-OX40L用作含Fc的嵌合蛋白的模型。因此,下文呈现的数据与本发明的嵌合蛋白有关。

[0312] 在其天然状态下,PD-1作为单体存在,而OX40L由于OX40L 结构域之间的静电相互作用而倾向于二聚化;Fc结构域通过二硫键(例如通过它们的一个或多个半胱氨酸残基)彼此缔合。总之,若干种分子间相互作用可能有助于PD-1-Fc-OX40L的四级结构。存在至少四种PD-1-Fc-OX40L的潜在构型,其中嵌合蛋白作为单体、二聚体、三聚体或六聚体存在。参见图23。

[0313] 通过将嵌合蛋白暴露于还原条件和非还原条件,然后在SDS-PAGE上分离蛋白质,来测试嵌合蛋白的单体和二聚体构型的存在。在非还原条件下(还原的:“-”),嵌合蛋白在

SDS-PAGE中迁移到约200kDa处。在此,分别用针对PD-1、Fc或OX40L的抗体探测蛋白质印迹,如图24中所示的左、中和右印迹。由于嵌合蛋白的预测单体分子量为57.6kDa,预计200kDa的物质是至少二聚体。但是,在还原条件下(还原的:“+”),其还原二硫键(例如,位于Fc结构域之间),嵌合蛋白在SDS-PAGE中迁移到约100kDa处。由于100kDa的物质比预期重,因此预测额外质量是由于糖基化。最后,用肽-N-糖苷酶F(PNGaseF“+”)处理嵌合蛋白,并在还原条件下在SDS-PAGE上分离。在这些条件下,嵌合蛋白迁移到约57.6kDa处。这些数据表明嵌合蛋白是糖基化的并且至少作为二聚体天然存在;其中二聚化可能是由于Fc结构域之间的二硫键,例如通过它们的一个或多个半胱氨酸残基。

[0314] SDS-PAGE凝胶方法不能准确预测高电荷和/或大分子量的蛋白质的分子量。因此,接下来使用尺寸排阻色谱法(SEC)表征嵌合蛋白。与其中带负电荷的SDS降低肽之间基于电荷的相互作用的SDS-PAGE不同,SEC不使用去污剂或还原剂。当PD-1-Fc-OX40L嵌合蛋白在SEC上分离时,在约200kDa处没有峰。这表明,嵌合蛋白不作为二聚体天然存在。相反,检测到大小大于670kDa的峰。参见图25。此数据和先前数据表明PD-1-Fc-OX40L嵌合蛋白作为六聚体以其天然状态存在。

[0315] 如上所示,当在非还原条件下或在还原条件下在SDS-PAGE上分离时,样品和/或运行缓冲液中的SDS分别在不存在和存在还原剂的情况下将六聚体PD-1-Fc-OX40L嵌合蛋白转化为主要的二聚体或单体。参见图26(左侧凝胶)。当在缺乏SDS的天然PAGE上分离,并且不存在还原剂的情况下,嵌合蛋白作为六聚体存在。然而,当在天然PAGE上分离,并且在还原剂(其还原二硫键)的存在下,嵌合蛋白迁移比预期的更重;如图26所示(右侧凝胶,泳道2),其中嵌合蛋白质基本上不能从加样孔中迁移出来。此数据表明嵌合蛋白寡聚化成更高级的蛋白质。因此,在嵌合蛋白中,二硫键似乎对于控制高级寡聚化是很重要的。

[0316] 为了进一步证实这一点,构建了缺乏Fc结构域的嵌合蛋白,例如“PD-1-No Fc-OX40L”。此类嵌合蛋白不会具有在前述嵌合蛋白中的Fc结构域之间出现的二硫键。如图27所示,当缺乏Fc结构域的嵌合蛋白在天然PAGE上分离时,基本上没有一种蛋白质从其加样孔中迁移出来;再次表明“无Fc”嵌合蛋白已经形成了包含许多蛋白质的多联体样复合物。因此,在嵌合蛋白中省略Fc结构域导致蛋白质聚集体的形成。这些数据指示,例如,在不同嵌合蛋白上的Fc结构域之间的二硫键使嵌合蛋白稳定并确保它们各自作为六聚体存在而不是作为更高级的蛋白质/多联体存在。换句话说,Fc结构域令人惊讶地将次序置于嵌合蛋白复合物上。泳道#1至#4分别包括2.5μg的PD-1-No Fc-OX40L、5μg的PD-1-No Fc-OX40L、2.5μg的PD-1-No Fc-OX40L和5μg的PD-1-No Fc-OX40L

[0317] 图28中示出的是总结上述数据的模型,并且示出了如何由本发明的嵌合蛋白形成六聚体和多联体。例示性嵌合蛋白(PD-1-Fc-OX40L)天然形成六聚体(由于OX40L结构域之间的静电相互作用和Fc结构域的二聚化)。然而,在不存在对Fc结构域之间的二硫键的控制作用的情况下,在PD-1-Fc-OX40L蛋白的还原条件下并且由于PD-1-No Fc-OX40L中不存在Fc结构域,这些后者的嵌合蛋白形成多联体。

[0318] 另外,构建嵌合蛋白,其中Fc结构域(如本文所述)被纤维胶凝蛋白(Ficolin)(其缺乏嵌合蛋白之间的二硫键必需的半胱氨酸残基)替换。与无Fc嵌合蛋白和包含Fc的嵌合蛋白一样,并且在天然PAGE上分离且在还原剂的存在下(其两者都形成不迁移到凝胶中的聚集体),包含Ficolin的嵌合蛋白似乎也形成更高级的晶格,其不会迁移到凝胶中。这些数

据强化了以下结论,即二硫键对于本发明的嵌合蛋白的正确折叠和功能是很重要的。

[0319] 最后,使用卷曲的Fc结构域 (CCDFc) 制备嵌合蛋白。在功能性评估下递送非常少的纯化蛋白。

[0320] 因此,在嵌合蛋白的接头中包含Fc结构域(其能够在嵌合蛋白之间形成二硫键),有助于避免形成不可溶的并且可能是非功能性的蛋白质多联体和/或聚集体。

[0321] 实施例8:嵌合蛋白的不同连接接头序列的表征

[0322] 鉴定了具有不同特征(长度、溶解度、电荷和柔性)的不同的独特连接接头序列(17个接头)。然后将这17个连接接头序列中的每一个并入“接头2”位置来合成构建体,其中嵌合蛋白的构型:

[0323] ECD 1-连接接头1-Fc-连接接头2-ECD 2

[0324] 在CHO细胞中测试了这17种构建体的产生水平。下表提供了不同连接接头序列、这些连接接头的特征、产生水平(通过A280)以及基于对PD-L1或OX40的FACS分析的结合值(EC_{50})的总结。确定了某些连接接头序列之间的产生水平和活性的一些变化。

[0325] 表2:任选的连接接头序列的总结

[0326]

蛋白质名称	蛋白质浓度 A280	CHO-PD-L1 EC_{50} (nM)	HeLa-OX40 EC_{50} (nM)	连接接头 2 序列	特征
PD-1_IgG4_OX40L (1)	0.17	27	6	IEGRMD (SEQ ID NO: 52)	接头
PD-1_IgG4_OX40L (2)	0.12	23	67	SKYGPPCPPCP (SEQ ID NO: 50)	IgG4 铰链区
PD-1_IgG4_OX40L (3)	0.15	25	140	GGGSGGGGS (SEQ ID NO: 55)	柔性
PD-1_IgG4_OX40L (4)	0.11	36	125	GGGSGGGGGSGG (SEQ ID NO: 56)	柔性
PD-1_IgG4_OX40L (5)	0.22	25	41	EGKSSGSGSES KST (SEQ ID NO: 57)	柔性+可溶性

[0327]

蛋白质名称	蛋白质浓度 A280	CHO-PD-L1 EC50 (nM)	HeLa-OX40 EC50 (nM)	连接接头 2 序列	特征
PD-1_IgG4_OX40L (6)	0.12	26	171	GGSG (SEQ ID NO: 58)	柔性
PD-1_IgG4_OX40L (7)	0.11	27	195	GGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO: 59)	柔性
PD-1_IgG4_OX40L (8)	0.21	20	48	EAAAKEAAAKEAAAK (SEQ ID NO: 60)	刚性 α 螺旋
PD-1_IgG4_OX40L (9)	0.23	45	87	EAAAREAAAREAAAREAAAR (SEQ ID NO: 61)	刚性 α 螺旋
PD-1_IgG4_OX40L (10)	0.13	52	62	GGGGSGGGGSGGGGSAS (SEQ ID NO: 62)	柔性
PD-1_IgG4_OX40L (11)	0.07	25	100	GGGVPRDCG (SEQ ID NO: 53)	柔性
PD-1_IgG4_OX40L (12)	0.11	33	70	GGGGAGGGG (SEQ ID NO: 63)	柔性
PD-1_IgG4_OX40L (13)	0.12	38	60	GS (SEQ ID NO: 64)	高度柔性
PD-1_IgG4_OX40L (14)	0.18	25	70	GSGSGS (SEQ ID NO: 65)	高度柔性
PD-1_IgG4_OX40L (15)	0.19	24	67	GSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 66)	高度柔性
PD-1_IgG4_OX40L (16)	0.11	34	77	GGGGSAS (SEQ ID NO: 67)	柔性
PD-1_IgG4_OX40L (17)	0.19	32	44	APAPAPAPAPAPAPAPAPAP (SEQ ID NO: 68)	刚性

[0328] 图29A至图29Q中示出通过蛋白质印迹分析进行的具有不同连接接头序列(17个接头)的PD-1-IgG4-OX40L嵌合蛋白的表征。具体地,使用抗PD-1、抗Fc或抗OX40L抗体探测融合构建体的每个个体结构域。结果显示每种嵌合蛋白具有相似的性能,从而表明所有的候选连接接头序列是功能性的。

[0329] 另外,具有不同接头序列的每种纯化蛋白还通过在ELISA测定中结合PD-L1或OX40(图30)以及基于细胞的流式细胞术测定(图 31A至图31P)来表征。

[0330] 实施例9:包含其他II型蛋白的细胞外结构域的另外的含有TIGIT 的嵌合蛋白的产生

[0331] 在此实施例中,描述了本发明的另外的嵌合蛋白。以与制备 TIGIT-Fc-OX40L、TIGIT-Fc-CD40L或TIGIT-Fc-LIGHT嵌合蛋白相似的方式制备此类另外的嵌合蛋白,例如,如以上具体实施方式和本申请的优先权文献:U.S.62/464,002中所述。

[0332] 这些另外的嵌合蛋白将具有以下通式:ECD 1-连接接头1-Fc 结构域-连接接头2-ECD 2,其中ECD 1是TIGIT的细胞外结构域,并且ECD 2是除了CD40L、OX40L或LIGHT以外的II型蛋白的细胞外结构域。示例性II型蛋白包括4-1BBL、CD30L、FasL、GITRL、TL1A和TRAIL。这些嵌合蛋白可能缺乏连接接头中的一个或两个。示例性连接接头1、Fc结构域和连接接头2在以上表1中描述;用于形成嵌合蛋白并包含特异性连接接头1、Fc结构域和连接接头2的模块接头在图32中示出。

[0333] 可替代地,另外的嵌合蛋白是具有以下通式的融合蛋白:N末端-(a)-(b)-(c)-C末端,其中(a)是TIGIT,(b)是包含Fc结构域的至少一部分的接头,并且(c)是除了CD40L、OX40L或LIGHT以外的II型蛋白的细胞外结构域。示例性II型蛋白包括4-1BBL、CD30L、FasL、GITRL、TL1A和TRAIL。示例性接头在以上表1中描述;用于形成嵌合蛋白并包含特异性连接接头1、Fc结构域和连接接头2的模块接头在图32中示出。

[0334] 4-1BBL、CD30L、FasL、GITRL、TL1A和TRAIL的氨基酸序列分别包括SEQ ID NO:12、26、30、15、18和40。4-1BBL、CD30L、FasL、GITRL、TL1A和TRAIL的细胞外结构域的氨基酸序列分别包括SEQ ID NO:13、27、31、16、19和41。TIGIT的氨基酸序列包括 SEQ ID NO:9,并且TIGIT的细胞外结构域包括SEQ ID NO:10。嵌合蛋白可以包含以上提及的序列的变体,例如与以上提及的序列具有至少约95%同一性。

[0335] 因此,本发明还包括以下另外的嵌合蛋白和使用另外的嵌合蛋白的方法(例如,在治疗癌症和/或治疗炎症性疾病中):TIGIT-Fc-4-1BBL、TIGIT-Fc-CD30L、TIGIT-Fc-FasL、TIGIT-Fc-GITRL、TIGIT-Fc-TL1A 和TIGIT-Fc-TRAIL。

[0336] 另外的嵌合蛋白将如上所述在实施例1至8中针对 TIGIT-Fc-OX40L、TIGIT-Fc-CD40L或TIGIT-Fc-LIGHT进行表征,不同的是用对另外的嵌合蛋白特异性的并非对于表征TIGIT-Fc-OX40L、TIGIT-Fc-CD40L或TIGIT-Fc-LIGHT所需要的试剂(例如,结合配偶体、重组靶细胞和癌细胞/肿瘤类型)。因此,使用 TIGIT-Fc-4-1BBL和TIGIT-Fc-CD40L作为实例,可以使用除了对于TIGIT-Fc-CD40L所需要的抗TIGIT、抗Fc和抗CD40L抗体以外的抗TIGIT、抗Fc和抗4-1BBL抗体进行类似于实施例1的 TIGIT-Fc-4-1BBL的表征。

[0337] 与TIGIT-Fc-OX40L、TIGIT-Fc-CD40L或TIGIT-Fc-LIGHT嵌合蛋白一样,另外的嵌合蛋白通过阻断TIGIT(其抑制免疫抑制信号的传递)并且通过活化4-1BBL、CD30L、FasL、GITRL、TL1A和TRAIL 中的一个的受体/配体增强、增加和/或刺激免疫抑制信号的传递来有效治疗癌症和/或治疗炎症性疾病。此外,另外的嵌合蛋白有效治疗癌症和/或炎症性疾病,但是没有由包括多种抗体(例如,阻断抗体以及 4-1BBL、CD30L、FasL、GITRL和TRAIL中的一个的受体/配体的激动剂抗体)的治疗引起的毒性和不想要的副作用,例如GI并发症。

[0338] 实施例10:包含其他I型蛋白的细胞外结构域的另外的含有 LIGHT的嵌合蛋白的产生

[0339] 在此实施例中,描述了本发明的另外的嵌合蛋白。以与制备 CD172a(SIRP α)-Fc-LIGHT、TIGIT-Fc-LIGHT或PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白相似的方式制备此类另外的嵌合蛋白,例如,如以上具体实施方式和本申请的优先权文献:U.S.62/464,002中所述。

[0340] 这些另外的嵌合蛋白将具有以下通式: ECD 1-连接接头1-Fc 结构域-连接接头2-ECD 2, 其中ECD 1是除了CD172a (SIRP α)、TIGIT或PD-1以外的I型蛋白的细胞外结构域, 并且ECD 2是LIGHT 的细胞外结构域。示例性I型蛋白包括TIM3和BTLA。这些嵌合蛋白可能缺乏连接接头中的一个或两个。示例性连接接头1、Fc结构域和连接接头2在以上表1中描述; 用于形成嵌合蛋白并包含特异性连接接头1、Fc结构域和连接接头2的模块接头在图32中示出。

[0341] 可替代地, 另外的嵌合蛋白是具有以下通式的融合蛋白: N末端- (a) - (b) - (c) -C末端, 其中 (a) 是除了CD172a (SIRP α)、TIGIT或 PD-1以外的I型蛋白的细胞外结构域, (b) 是包含Fc结构域的至少一部分的接头, 并且 (c) 是LIGHT的细胞外结构域。示例性I型蛋白包括TIM3和BTLA。示例性接头在以上表1中描述; 用于形成嵌合蛋白并包含特异性连接接头1、Fc结构域和连接接头2的模块接头在图 32中示出。

[0342] TIM3和BTLA的氨基酸序列分别包括SEQ ID NO: 36和24。TIM3和BTLA的细胞外结构域的氨基酸序列分别包括SEQ ID NO: 37和25。LIGHT的氨基酸序列包括SEQ ID NO: 1, 并且LIGHT的细胞外结构域包括SEQ ID NO: 2。嵌合蛋白可以包含以上提及的序列的变体, 例如与以上提及的序列具有至少约95%同一性。

[0343] 因此, 本发明还包括以下另外的嵌合蛋白和使用另外的嵌合蛋白的方法 (例如, 在治疗癌症和/或治疗炎症性疾病中): IM3-Fc-LIGHT和 BTLA-Fc-LIGHT。另外的嵌合蛋白将如上所述在实施例1至8中针对CD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT、TIGIT-Fc-LIGHT或PD-1-Fc-LIGHT进行表征, 不同的是用对另外的嵌合蛋白特异性的并非对于表征 TIM3-Fc-LIGHT和BTLA-Fc-LIGHT所需要的试剂 (例如, 结合配偶体、重组靶细胞和癌细胞/肿瘤类型); 作为实例, 可以使用除了对于 CD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT所需要的抗TIGIT、抗Fc和抗 CD172a (SIRP α) 抗体以外的抗TIGIT、抗Fc和抗TIM3抗体进行类似于实施例2的TIM3-Fc-LIGHT的表征。

[0344] 与CD172a (SIRP α) -Fc-LIGHT、TIGIT-Fc-LIGHT或 PD-1-Fc-LIGHT嵌合蛋白一样, 另外的嵌合蛋白通过阻断TIM3和 LIGHT (其抑制免疫抑制信号的传递) 并且通过LIGHT活化受体/配体增强、增加和/或刺激免疫抑制信号的传递来有效治疗癌症和/或治疗炎症性疾病。此外, 另外的嵌合蛋白有效治疗癌症和/或炎症性疾病, 但是没有由包括多种抗体 (例如, 阻断抗体以及TIM3和LIGHT中的一个的受体/配体的激动剂抗体) 的治疗引起的毒性和不想要的副作用, 例如GI并发症。

[0345] 等效物

[0346] 尽管本发明已结合其具体实施方案进行描述, 但应了解可对其进行进一步修改并且本申请旨在涵盖任何通常根据本发明的原理而对本发明进行的任何变动、使用或适应性调整, 并且包括虽然不属于本公开内容但属于本发明所属领域的已知或习用实施手段的和属于上文所述的实质特征的以及符合所附权利要求范围的变更。

[0347] 仅使用常规实验, 本领域技术人员将认识到或能够确定本文确切描述的具体实施方案的许多等效方案。这些等效方案意图涵盖在以下权利要求书的范围中。

[0348] 以引用的方式并入

[0349] 本文引用的所有专利和出版物以引用的方式整体并入本文。

[0350] 本文中讨论的公布仅提供它们在本申请的提交日期之前的公开内容。本文中的任何内容均不应解释为承认由于先前发明而使本发明无权先于这些出版物。

[0351] 如本文所用的,所有标题仅用于组织,并不意图以任何方式限制本公开。任何单个部分的内容可同样适用于所有部分。

[0352] 等效物

[0353] 尽管本发明已结合其具体实施方案进行描述,但应了解可对其进行进一步修改并且本申请旨在涵盖任何通常根据本发明的原理而对本发明进行的任何变动、使用或适应性调整,并且包括虽然不属于本公开内容但属于本发明所属领域的已知或习用实施手段的和属于上文所述的实质特征的以及符合所附权利要求范围的变更。

[0354] 仅使用常规实验,本领域技术人员将认识到或能够确定本文确切描述的具体实施方案的许多等效方案。这些等效方案意图涵盖在以下权利要求书的范围中。

[0001] 序列表
 [0002] <110> 夏塔克实验室公司 (SHATTUCK LABS, INC.)
 [0003] <120> 基于TIGIT和LIGHT的嵌合蛋白
 [0004] <130> SHK-001PC1
 [0005] <150> US 62/464,002
 [0006] <151> 2017-02-27
 [0007] <160> 101
 [0008] <170> PatentIn version 3.5
 [0009] <210> 1
 [0010] <211> 240
 [0011] <212> PRT
 [0012] <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 [0013] <220>
 [0014] <223> 合成多肽
 [0015] <400> 1
 [0016] Met Glu Glu Ser Val Val Arg Pro Ser Val Phe Val Val Asp Gly Gln
 [0017] 1 5 10 15
 [0018] Thr Asp Ile Pro Phe Thr Arg Leu Gly Arg Ser His Arg Arg Gln Ser
 [0019] 20 25 30
 [0020] Cys Ser Val Ala Arg Val Gly Leu Gly Leu Leu Leu Leu Leu Met Gly
 [0021] 35 40 45
 [0022] Ala Gly Leu Ala Val Gln Gly Trp Phe Leu Leu Gln Leu His Trp Arg
 [0023] 50 55 60
 [0024] Leu Gly Glu Met Val Thr Arg Leu Pro Asp Gly Pro Ala Gly Ser Trp
 [0025] 65 70 75 80
 [0026] Glu Gln Leu Ile Gln Glu Arg Arg Ser His Glu Val Asn Pro Ala Ala
 [0027] 85 90 95
 [0028] His Leu Thr Gly Ala Asn Ser Ser Leu Thr Gly Ser Gly Gly Pro Leu
 [0029] 100 105 110
 [0030] Leu Trp Glu Thr Gln Leu Gly Leu Ala Phe Leu Arg Gly Leu Ser Tyr
 [0031] 115 120 125
 [0032] His Asp Gly Ala Leu Val Val Thr Lys Ala Gly Tyr Tyr Tyr Ile Tyr
 [0033] 130 135 140
 [0034] Ser Lys Val Gln Leu Gly Gly Val Gly Cys Pro Leu Gly Leu Ala Ser
 [0035] 145 150 155 160
 [0036] Thr Ile Thr His Gly Leu Tyr Lys Arg Thr Pro Arg Tyr Pro Glu Glu
 [0037] 165 170 175
 [0038] Leu Glu Leu Leu Val Ser Gln Gln Ser Pro Cys Gly Arg Ala Thr Ser

[0039]	180	185	190
[0040]	Ser Ser Arg Val Trp Trp Asp Ser Ser Phe Leu Gly Gly Val Val His		
[0041]	195	200	205
[0042]	Leu Glu Ala Gly Glu Lys Val Val Val Arg Val Leu Asp Glu Arg Leu		
[0043]	210	215	220
[0044]	Val Arg Leu Arg Asp Gly Thr Arg Ser Tyr Phe Gly Ala Phe Met Val		
[0045]	225	230	235
[0046]	<210> 2		
[0047]	<211> 182		
[0048]	<212> PRT		
[0049]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0050]	<220>		
[0051]	<223> 合成多肽		
[0052]	<400> 2		
[0053]	Leu Gln Leu His Trp Arg Leu Gly Glu Met Val Thr Arg Leu Pro Asp		
[0054]	1	5	10
[0055]	Gly Pro Ala Gly Ser Trp Glu Gln Leu Ile Gln Glu Arg Arg Ser His		
[0056]	20	25	30
[0057]	Glu Val Asn Pro Ala Ala His Leu Thr Gly Ala Asn Ser Ser Leu Thr		
[0058]	35	40	45
[0059]	Gly Ser Gly Gly Pro Leu Leu Trp Glu Thr Gln Leu Gly Leu Ala Phe		
[0060]	50	55	60
[0061]	Leu Arg Gly Leu Ser Tyr His Asp Gly Ala Leu Val Val Thr Lys Ala		
[0062]	65	70	75
[0063]	Gly Tyr Tyr Tyr Ile Tyr Ser Lys Val Gln Leu Gly Gly Val Gly Cys		
[0064]	85	90	95
[0065]	Pro Leu Gly Leu Ala Ser Thr Ile Thr His Gly Leu Tyr Lys Arg Thr		
[0066]	100	105	110
[0067]	Pro Arg Tyr Pro Glu Glu Leu Glu Leu Leu Val Ser Gln Gln Ser Pro		
[0068]	115	120	125
[0069]	Cys Gly Arg Ala Thr Ser Ser Ser Arg Val Trp Trp Asp Ser Ser Phe		
[0070]	130	135	140
[0071]	Leu Gly Gly Val Val His Leu Glu Ala Gly Glu Lys Val Val Val Arg		
[0072]	145	150	155
[0073]	Val Leu Asp Glu Arg Leu Val Arg Leu Arg Asp Gly Thr Arg Ser Tyr		
[0074]	165	170	175
[0075]	Phe Gly Ala Phe Met Val		
[0076]	180		
[0077]	<210> 3		

[0078]	<211> 167
[0079]	<212> PRT
[0080]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0081]	<220>
[0082]	<223> 合成多肽
[0083]	<400> 3
[0084]	Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
[0085]	1 5 10 15
[0086]	Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
[0087]	20 25 30
[0088]	Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
[0089]	35 40 45
[0090]	Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
[0091]	50 55 60
[0092]	Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
[0093]	65 70 75 80
[0094]	Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
[0095]	85 90 95
[0096]	Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
[0097]	100 105 110
[0098]	Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
[0099]	115 120 125
[0100]	Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
[0101]	130 135 140
[0102]	Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
[0103]	145 150 155 160
[0104]	Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln
[0105]	165
[0106]	<210> 4
[0107]	<211> 147
[0108]	<212> PRT
[0109]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0110]	<220>
[0111]	<223> 合成多肽
[0112]	<400> 4
[0113]	Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr
[0114]	1 5 10 15
[0115]	Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe
[0116]	20 25 30

[0117]	Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr
[0118]	35 40 45
[0119]	Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu
[0120]	50 55 60
[0121]	Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu
[0122]	65 70 75 80
[0123]	Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn
[0124]	85 90 95
[0125]	Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala
[0126]	100 105 110
[0127]	Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg
[0128]	115 120 125
[0129]	Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly
[0130]	130 135 140
[0131]	Gln Phe Gln
[0132]	145
[0133]	<210> 5
[0134]	<211> 559
[0135]	<212> PRT
[0136]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0137]	<220>
[0138]	<223> 合成多肽
[0139]	<400> 5
[0140]	Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala
[0141]	1 5 10 15
[0142]	Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe
[0143]	20 25 30
[0144]	Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro
[0145]	35 40 45
[0146]	Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln
[0147]	50 55 60
[0148]	Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg
[0149]	65 70 75 80
[0150]	Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr
[0151]	85 90 95
[0152]	Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu
[0153]	100 105 110
[0154]	Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro
[0155]	115 120 125

[0156]	Thr	Ala	His	Pro	Ser	Pro	Ser	Pro	Arg	Pro	Ala	Gly	Gln	Phe	Gln	Ser
[0157]	130						135					140				
[0158]	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly
[0159]	145					150					155					160
[0160]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Gln	Leu	Met
[0161]					165					170					175	
[0162]	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln
[0163]				180					185					190		
[0164]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
[0165]			195					200					205			
[0166]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr
[0167]	210						215					220				
[0168]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Ser	Gly
[0169]	225					230					235					240
[0170]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Ser	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile
[0171]					245					250					255	
[0172]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Asn	Ala	Thr	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
[0173]				260					265						270	
[0174]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
[0175]			275					280					285			
[0176]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
[0177]	290						295					300				
[0178]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
[0179]	305					310					315					320
[0180]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val
[0181]					325					330					335	
[0182]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu
[0183]				340					345				350			
[0184]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
[0185]			355					360					365			
[0186]	Leu	Gly	Lys	Ile	Glu	Gly	Arg	Met	Asp	Leu	Gln	Leu	His	Trp	Arg	Leu
[0187]	370						375					380				
[0188]	Gly	Glu	Met	Val	Thr	Arg	Leu	Pro	Asp	Gly	Pro	Ala	Gly	Ser	Trp	Glu
[0189]	385					390					395					400
[0190]	Gln	Leu	Ile	Gln	Glu	Arg	Arg	Ser	His	Glu	Val	Asn	Pro	Ala	Ala	His
[0191]					405					410					415	
[0192]	Leu	Thr	Gly	Ala	Asn	Ser	Ser	Leu	Thr	Gly	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	Leu
[0193]				420						425				430		
[0194]	Trp	Glu	Thr	Gln	Leu	Gly	Leu	Ala	Phe	Leu	Arg	Gly	Leu	Ser	Tyr	His

[0195]	435	440	445
[0196]	Asp Gly Ala Leu Val Val Thr Lys Ala Gly Tyr Tyr Tyr Ile Tyr Ser		
[0197]	450	455	460
[0198]	Lys Val Gln Leu Gly Gly Val Gly Cys Pro Leu Gly Leu Ala Ser Thr		
[0199]	465	470	475
[0200]	Ile Thr His Gly Leu Tyr Lys Arg Thr Pro Arg Tyr Pro Glu Glu Leu		
[0201]	485	490	495
[0202]	Glu Leu Leu Val Ser Gln Gln Ser Pro Cys Gly Arg Ala Thr Ser Ser		
[0203]	500	505	510
[0204]	Ser Arg Val Trp Trp Asp Ser Ser Phe Leu Gly Gly Val Val His Leu		
[0205]	515	520	525
[0206]	Glu Ala Gly Glu Lys Val Val Val Arg Val Leu Asp Glu Arg Leu Val		
[0207]	530	535	540
[0208]	Arg Leu Arg Asp Gly Thr Arg Ser Tyr Phe Gly Ala Phe Met Val		
[0209]	545	550	555
[0210]	<210> 6		
[0211]	<211> 373		
[0212]	<212> PRT		
[0213]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0214]	<220>		
[0215]	<223> 合成多肽		
[0216]	<400> 6		
[0217]	Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys		
[0218]	1	5	10
[0219]	Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu		15
[0220]	20	25	30
[0221]	Glu Leu Gln Val Ile Gln Pro Asp Lys Ser Val Leu Val Ala Ala Gly		
[0222]	35	40	45
[0223]	Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly		
[0224]	50	55	60
[0225]	Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr		
[0226]	65	70	75
[0227]	Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu		
[0228]	85	90	95
[0229]	Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr		
[0230]	100	105	110
[0231]	Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys Gly Ser		
[0232]	115	120	125
[0233]	Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu Ser Val		

[0234]	130	135	140
[0235]	Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala		
[0236]	145	150	155
[0237]	Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser		
[0238]		165	170
[0239]	Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser		
[0240]		180	185
[0241]	Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser		
[0242]		195	200
[0243]	Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser		
[0244]	210	215	220
[0245]	Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu		
[0246]	225	230	235
[0247]	Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu		
[0248]		245	250
[0249]	Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr		
[0250]		260	265
[0251]	Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu		
[0252]		275	280
[0253]	Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu		
[0254]	290	295	300
[0255]	Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val		
[0256]	305	310	315
[0257]	Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp		
[0258]		325	330
[0259]	Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His		
[0260]		340	345
[0261]	Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly Ser Asn		
[0262]		355	360
[0263]	Glu Arg Asn Ile Tyr		
[0264]	370		
[0265]	<210> 7		
[0266]	<211> 343		
[0267]	<212> PRT		
[0268]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0269]	<220>		
[0270]	<223> 合成多肽		
[0271]	<400> 7		
[0272]	Glu Glu Glu Leu Gln Val Ile Gln Pro Asp Lys Ser Val Leu Val Ala		

[0273]	1	5	10	15
[0274]	Ala Gly Glu Thr	Ala Thr Leu Arg Cys Thr	Ala Thr Ser Leu	Ile Pro
[0275]	20	25	30	
[0276]	Val Gly Pro Ile	Gln Trp Phe Arg Gly Ala	Gly Pro Gly Arg	Glu Leu
[0277]	35	40	45	
[0278]	Ile Tyr Asn Gln	Lys Glu Gly His Phe Pro	Arg Val Thr Thr	Val Ser
[0279]	50	55	60	
[0280]	Asp Leu Thr Lys	Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser	Ile Arg Ile Gly	Asn
[0281]	65	70	75	80
[0282]	Ile Thr Pro Ala	Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr	Cys Val Lys Phe	Arg Lys
[0283]	85	90	95	
[0284]	Gly Ser Pro Asp	Asp Val Glu Phe Lys Ser	Gly Ala Gly Thr	Glu Leu
[0285]	100	105	110	
[0286]	Ser Val Arg Ala	Lys Pro Ser Ala Pro Val	Val Ser Gly Pro	Ala Ala
[0287]	115	120	125	
[0288]	Arg Ala Thr Pro	Gln His Thr Val Ser Phe Thr	Cys Glu Ser His	Gly
[0289]	130	135	140	
[0290]	Phe Ser Pro Arg	Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe	Lys Asn Gly Asn	Glu
[0291]	145	150	155	160
[0292]	Leu Ser Asp Phe	Gln Thr Asn Val Asp Pro Val	Gly Glu Ser Val	Ser
[0293]	165	170	175	
[0294]	Tyr Ser Ile His	Ser Thr Ala Lys Val Val	Leu Thr Arg Glu	Asp Val
[0295]	180	185	190	
[0296]	His Ser Gln Val	Ile Cys Glu Val Ala His	Val Thr Leu Gln	Gly Asp
[0297]	195	200	205	
[0298]	Pro Leu Arg Gly	Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr	Ile Arg Val Pro	Pro
[0299]	210	215	220	
[0300]	Thr Leu Glu Val	Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala	Glu Asn Gln Val	Asn
[0301]	225	230	235	240
[0302]	Val Thr Cys Gln	Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln	Arg Leu Gln Leu	Thr
[0303]	245	250	255	
[0304]	Trp Leu Glu Asn	Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu	Thr Ala Ser Thr	Val
[0305]	260	265	270	
[0306]	Thr Glu Asn Lys	Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met	Ser Trp Leu Leu	Val
[0307]	275	280	285	
[0308]	Asn Val Ser Ala	His Arg Asp Asp Val Lys Leu	Thr Cys Gln Val	Glu
[0309]	290	295	300	
[0310]	His Asp Gly Gln	Pro Ala Val Ser Lys Ser His	Asp Leu Lys Val	Ser
[0311]	305	310	315	320

[0312]	Ala His Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly
[0313]	325 330 335
[0314]	Ser Asn Glu Arg Asn Ile Tyr
[0315]	340
[0316]	<210> 8
[0317]	<211> 759
[0318]	<212> PRT
[0319]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0320]	<220>
[0321]	<223> 合成多肽
[0322]	<400> 8
[0323]	Glu Glu Glu Leu Gln Val Ile Gln Pro Asp Lys Ser Val Leu Val Ala
[0324]	1 5 10 15
[0325]	Ala Gly Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro
[0326]	20 25 30
[0327]	Val Gly Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu
[0328]	35 40 45
[0329]	Ile Tyr Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser
[0330]	50 55 60
[0331]	Asp Leu Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn
[0332]	65 70 75 80
[0333]	Ile Thr Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys
[0334]	85 90 95
[0335]	Gly Ser Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu
[0336]	100 105 110
[0337]	Ser Val Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala
[0338]	115 120 125
[0339]	Arg Ala Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly
[0340]	130 135 140
[0341]	Phe Ser Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu
[0342]	145 150 155 160
[0343]	Leu Ser Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser
[0344]	165 170 175
[0345]	Tyr Ser Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val
[0346]	180 185 190
[0347]	His Ser Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp
[0348]	195 200 205
[0349]	Pro Leu Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro
[0350]	210 215 220

[0351]	Thr	Leu	Glu	Val	Thr	Gln	Gln	Pro	Val	Arg	Ala	Glu	Asn	Gln	Val	Asn
[0352]	225					230					235					240
[0353]	Val	Thr	Cys	Gln	Val	Arg	Lys	Phe	Tyr	Pro	Gln	Arg	Leu	Gln	Leu	Thr
[0354]						245					250					255
[0355]	Trp	Leu	Glu	Asn	Gly	Asn	Val	Ser	Arg	Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Thr	Val
[0356]						260					265					270
[0357]	Thr	Glu	Asn	Lys	Asp	Gly	Thr	Tyr	Asn	Trp	Met	Ser	Trp	Leu	Leu	Val
[0358]						275					280					285
[0359]	Asn	Val	Ser	Ala	His	Arg	Asp	Asp	Val	Lys	Leu	Thr	Cys	Gln	Val	Glu
[0360]						290					295					300
[0361]	His	Asp	Gly	Gln	Pro	Ala	Val	Ser	Lys	Ser	His	Asp	Leu	Lys	Val	Ser
[0362]	305										310					315
[0363]	Ala	His	Pro	Lys	Glu	Gln	Gly	Ser	Asn	Thr	Ala	Ala	Glu	Asn	Thr	Gly
[0364]						325					330					335
[0365]	Ser	Asn	Glu	Arg	Asn	Ile	Tyr	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro
[0366]						340					345					350
[0367]	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro
[0368]						355					360					365
[0369]	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Gln	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr
[0370]						370					375					380
[0371]	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn
[0372]	385										390					395
[0373]	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg
[0374]						405					410					415
[0375]	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val
[0376]						420					425					430
[0377]	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Ser	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser
[0378]						435					440					445
[0379]	Ser	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Asn	Ala	Thr
[0380]						450					455					460
[0381]	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu
[0382]	465										470					475
[0383]	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe
[0384]						485					490					495
[0385]	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu
[0386]						500					505					510
[0387]	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe
[0388]						515					520					525
[0389]	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly

[0390]	530	535	540
[0391]	Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr		
[0392]	545	550	555 560
[0393]	Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ile Glu Gly Arg Met		
[0394]	565	570	575
[0395]	Asp Leu Gln Leu His Trp Arg Leu Gly Glu Met Val Thr Arg Leu Pro		
[0396]	580	585	590
[0397]	Asp Gly Pro Ala Gly Ser Trp Glu Gln Leu Ile Gln Glu Arg Arg Ser		
[0398]	595	600	605
[0399]	His Glu Val Asn Pro Ala Ala His Leu Thr Gly Ala Asn Ser Ser Leu		
[0400]	610	615	620
[0401]	Thr Gly Ser Gly Gly Pro Leu Leu Trp Glu Thr Gln Leu Gly Leu Ala		
[0402]	625	630	635 640
[0403]	Phe Leu Arg Gly Leu Ser Tyr His Asp Gly Ala Leu Val Val Thr Lys		
[0404]	645	650	655
[0405]	Ala Gly Tyr Tyr Tyr Ile Tyr Ser Lys Val Gln Leu Gly Gly Val Gly		
[0406]	660	665	670
[0407]	Cys Pro Leu Gly Leu Ala Ser Thr Ile Thr His Gly Leu Tyr Lys Arg		
[0408]	675	680	685
[0409]	Thr Pro Arg Tyr Pro Glu Glu Leu Glu Leu Leu Val Ser Gln Gln Ser		
[0410]	690	695	700
[0411]	Pro Cys Gly Arg Ala Thr Ser Ser Ser Arg Val Trp Trp Asp Ser Ser		
[0412]	705	710	715 720
[0413]	Phe Leu Gly Gly Val Val His Leu Glu Ala Gly Glu Lys Val Val Val		
[0414]	725	730	735
[0415]	Arg Val Leu Asp Glu Arg Leu Val Arg Leu Arg Asp Gly Thr Arg Ser		
[0416]	740	745	750
[0417]	Tyr Phe Gly Ala Phe Met Val		
[0418]	755		
[0419]	<210> 9		
[0420]	<211> 141		
[0421]	<212> PRT		
[0422]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0423]	<220>		
[0424]	<223> 合成多肽		
[0425]	<400> 9		
[0426]	Met Arg Trp Cys Leu Leu Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala		
[0427]	1	5	10 15
[0428]	Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn		

[0429]		20		25		30											
[0430]	Ile	Ser	Ala	Glu	Lys	Gly	Gly	Ser	Ile	Ile	Leu	Gln	Cys	His	Leu	Ser	
[0431]		35						40					45				
[0432]	Ser	Thr	Thr	Ala	Gln	Val	Thr	Gln	Val	Asn	Trp	Glu	Gln	Gln	Asp	Gln	
[0433]		50						55					60				
[0434]	Leu	Leu	Ala	Ile	Cys	Asn	Ala	Asp	Leu	Gly	Trp	His	Ile	Ser	Pro	Ser	
[0435]	65					70					75					80	
[0436]	Phe	Lys	Asp	Arg	Val	Ala	Pro	Gly	Pro	Gly	Leu	Gly	Leu	Thr	Leu	Gln	
[0437]					85					90						95	
[0438]	Ser	Leu	Thr	Val	Asn	Asp	Thr	Gly	Glu	Tyr	Phe	Cys	Ile	Tyr	His	Thr	
[0439]				100					105					110			
[0440]	Tyr	Pro	Asp	Gly	Thr	Tyr	Thr	Gly	Arg	Ile	Phe	Leu	Glu	Val	Leu	Glu	
[0441]				115					120					125			
[0442]	Ser	Ser	Val	Ala	Glu	His	Gly	Ala	Arg	Phe	Gln	Ile	Pro				
[0443]		130						135					140				
[0444]	<210>	10															
[0445]	<211>	120															
[0446]	<212>	PRT															
[0447]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)															
[0448]	<220>																
[0449]	<223>	合成多肽															
[0450]	<400>	10															
[0451]	Met	Met	Thr	Gly	Thr	Ile	Glu	Thr	Thr	Gly	Asn	Ile	Ser	Ala	Glu	Lys	
[0452]	1				5					10					15		
[0453]	Gly	Gly	Ser	Ile	Ile	Leu	Gln	Cys	His	Leu	Ser	Ser	Thr	Thr	Ala	Gln	
[0454]				20						25					30		
[0455]	Val	Thr	Gln	Val	Asn	Trp	Glu	Gln	Gln	Asp	Gln	Leu	Leu	Ala	Ile	Cys	
[0456]			35							40					45		
[0457]	Asn	Ala	Asp	Leu	Gly	Trp	His	Ile	Ser	Pro	Ser	Phe	Lys	Asp	Arg	Val	
[0458]		50								55					60		
[0459]	Ala	Pro	Gly	Pro	Gly	Leu	Gly	Leu	Thr	Leu	Gln	Ser	Leu	Thr	Val	Asn	
[0460]	65					70					75					80	
[0461]	Asp	Thr	Gly	Glu	Tyr	Phe	Cys	Ile	Tyr	His	Thr	Tyr	Pro	Asp	Gly	Thr	
[0462]					85						90					95	
[0463]	Tyr	Thr	Gly	Arg	Ile	Phe	Leu	Glu	Val	Leu	Glu	Ser	Ser	Val	Ala	Glu	
[0464]				100						105						110	
[0465]	His	Gly	Ala	Arg	Phe	Gln	Ile	Pro									
[0466]				115						120							
[0467]	<210>	11															

[0468]	<211>	536
[0469]	<212>	PRT
[0470]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0471]	<220>	
[0472]	<223>	合成多肽
[0473]	<400>	11
[0474]	Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys	
[0475]	1 5 10 15	
[0476]	Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln	
[0477]	20 25 30	
[0478]	Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys	
[0479]	35 40 45	
[0480]	Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val	
[0481]	50 55 60	
[0482]	Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn	
[0483]	65 70 75 80	
[0484]	Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr	
[0485]	85 90 95	
[0486]	Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu	
[0487]	100 105 110	
[0488]	His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro	
[0489]	115 120 125	
[0490]	Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe	
[0491]	130 135 140	
[0492]	Pro Pro Lys Pro Lys Asp Gln Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val	
[0493]	145 150 155 160	
[0494]	Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe	
[0495]	165 170 175	
[0496]	Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro	
[0497]	180 185 190	
[0498]	Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr	
[0499]	195 200 205	
[0500]	Val Leu His Gln Asp Trp Leu Ser Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val	
[0501]	210 215 220	
[0502]	Ser Ser Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Asn Ala	
[0503]	225 230 235 240	
[0504]	Thr Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln	
[0505]	245 250 255	
[0506]	Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly	

[0507]		260		265		270
[0508]	Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro					
[0509]		275		280		285
[0510]	Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser					
[0511]		290		295		300
[0512]	Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu					
[0513]	305		310		315	320
[0514]	Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His					
[0515]		325		330		335
[0516]	Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ile Glu Gly Arg					
[0517]		340		345		350
[0518]	Met Asp Leu Gln Leu His Trp Arg Leu Gly Glu Met Val Thr Arg Leu					
[0519]		355		360		365
[0520]	Pro Asp Gly Pro Ala Gly Ser Trp Glu Gln Leu Ile Gln Glu Arg Arg					
[0521]		370		375		380
[0522]	Ser His Glu Val Asn Pro Ala Ala His Leu Thr Gly Ala Asn Ser Ser					
[0523]	385		390		395	400
[0524]	Leu Thr Gly Ser Gly Gly Pro Leu Leu Trp Glu Thr Gln Leu Gly Leu					
[0525]		405		410		415
[0526]	Ala Phe Leu Arg Gly Leu Ser Tyr His Asp Gly Ala Leu Val Val Thr					
[0527]		420		425		430
[0528]	Lys Ala Gly Tyr Tyr Tyr Ile Tyr Ser Lys Val Gln Leu Gly Gly Val					
[0529]		435		440		445
[0530]	Gly Cys Pro Leu Gly Leu Ala Ser Thr Ile Thr His Gly Leu Tyr Lys					
[0531]		450		455		460
[0532]	Arg Thr Pro Arg Tyr Pro Glu Glu Leu Glu Leu Leu Val Ser Gln Gln					
[0533]	465		470		475	480
[0534]	Ser Pro Cys Gly Arg Ala Thr Ser Ser Ser Arg Val Trp Trp Asp Ser					
[0535]		485		490		495
[0536]	Ser Phe Leu Gly Gly Val Val His Leu Glu Ala Gly Glu Lys Val Val					
[0537]		500		505		510
[0538]	Val Arg Val Leu Asp Glu Arg Leu Val Arg Leu Arg Asp Gly Thr Arg					
[0539]		515		520		525
[0540]	Ser Tyr Phe Gly Ala Phe Met Val					
[0541]		530		535		
[0542]	<210> 12					
[0543]	<211> 254					
[0544]	<212> PRT					
[0545]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)					

[0546]	<220>
[0547]	<223> 合成多肽
[0548]	<400> 12
[0549]	Met Glu Tyr Ala Ser Asp Ala Ser Leu Asp Pro Glu Ala Pro Trp Pro
[0550]	1 5 10 15
[0551]	Pro Ala Pro Arg Ala Arg Ala Cys Arg Val Leu Pro Trp Ala Leu Val
[0552]	20 25 30
[0553]	Ala Gly Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala Cys Ala Val Phe
[0554]	35 40 45
[0555]	Leu Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser
[0556]	50 55 60
[0557]	Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp
[0558]	65 70 75 80
[0559]	Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val
[0560]	85 90 95
[0561]	Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp
[0562]	100 105 110
[0563]	Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu
[0564]	115 120 125
[0565]	Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe
[0566]	130 135 140
[0567]	Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser
[0568]	145 150 155 160
[0569]	Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala
[0570]	165 170 175
[0571]	Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala
[0572]	180 185 190
[0573]	Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala
[0574]	195 200 205
[0575]	Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His
[0576]	210 215 220
[0577]	Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val
[0578]	225 230 235 240
[0579]	Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
[0580]	245 250
[0581]	<210> 13
[0582]	<211> 205
[0583]	<212> PRT
[0584]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0585]	<220>
[0586]	<223> 合成多肽
[0587]	<400> 13
[0588]	Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala
[0589]	1 5 10 15
[0590]	Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro
[0591]	20 25 30
[0592]	Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala
[0593]	35 40 45
[0594]	Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro
[0595]	50 55 60
[0596]	Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp
[0597]	65 70 75 80
[0598]	Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe
[0599]	85 90 95
[0600]	Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val
[0601]	100 105 110
[0602]	Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala
[0603]	115 120 125
[0604]	Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg
[0605]	130 135 140
[0606]	Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly
[0607]	145 150 155 160
[0608]	Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala
[0609]	165 170 175
[0610]	Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr
[0611]	180 185 190
[0612]	Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
[0613]	195 200 205
[0614]	<210> 14
[0615]	<211> 559
[0616]	<212> PRT
[0617]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0618]	<220>
[0619]	<223> 合成多肽
[0620]	<400> 14
[0621]	Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
[0622]	1 5 10 15
[0623]	Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln

[0624]		20		25		30											
[0625]	Val	Thr	Gln	Val	Asn	Trp	Glu	Gln	Gln	Asp	Gln	Leu	Leu	Ala	Ile	Cys	
[0626]			35					40					45				
[0627]	Asn	Ala	Asp	Leu	Gly	Trp	His	Ile	Ser	Pro	Ser	Phe	Lys	Asp	Arg	Val	
[0628]			50					55					60				
[0629]	Ala	Pro	Gly	Pro	Gly	Leu	Gly	Leu	Thr	Leu	Gln	Ser	Leu	Thr	Val	Asn	
[0630]	65						70				75					80	
[0631]	Asp	Thr	Gly	Glu	Tyr	Phe	Cys	Ile	Tyr	His	Thr	Tyr	Pro	Asp	Gly	Thr	
[0632]					85					90					95		
[0633]	Tyr	Thr	Gly	Arg	Ile	Phe	Leu	Glu	Val	Leu	Glu	Ser	Ser	Val	Ala	Glu	
[0634]				100					105					110			
[0635]	His	Gly	Ala	Arg	Phe	Gln	Ile	Pro	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	
[0636]				115					120				125				
[0637]	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	
[0638]				130					135				140				
[0639]	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Gln	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	
[0640]	145						150				155					160	
[0641]	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	
[0642]					165					170					175		
[0643]	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	
[0644]				180						185				190			
[0645]	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	
[0646]				195					200				205				
[0647]	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Ser	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	
[0648]			210						215				220				
[0649]	Ser	Ser	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Asn	Ala	
[0650]	225						230				235					240	
[0651]	Thr	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	
[0652]					245					250					255		
[0653]	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	
[0654]				260						265					270		
[0655]	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	
[0656]				275						280				285			
[0657]	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	
[0658]				290						295				300			
[0659]	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	
[0660]	305						310				315					320	
[0661]	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	
[0662]					325						330					335	

[0663]	Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ile Glu Gly Arg
[0664]	340 345 350
[0665]	Met Asp Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly
[0666]	355 360 365
[0667]	Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp
[0668]	370 375 380
[0669]	Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu
[0670]	385 390 395 400
[0671]	Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser
[0672]	405 410 415
[0673]	Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys
[0674]	420 425 430
[0675]	Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val
[0676]	435 440 445
[0677]	Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly
[0678]	450 455 460
[0679]	Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly
[0680]	465 470 475 480
[0681]	Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu
[0682]	485 490 495
[0683]	Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser
[0684]	500 505 510
[0685]	Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg
[0686]	515 520 525
[0687]	His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg
[0688]	530 535 540
[0689]	Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
[0690]	545 550 555
[0691]	<210> 15
[0692]	<211> 199
[0693]	<212> PRT
[0694]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0695]	<220>
[0696]	<223> 合成多肽
[0697]	<400> 15
[0698]	Met Thr Leu His Pro Ser Pro Ile Thr Cys Glu Phe Leu Phe Ser Thr
[0699]	1 5 10 15
[0700]	Ala Leu Ile Ser Pro Lys Met Cys Leu Ser His Leu Glu Asn Met Pro
[0701]	20 25 30

[0702]	Leu Ser His Ser Arg Thr Gln Gly Ala Gln Arg Ser Ser Trp Lys Leu
[0703]	35 40 45
[0704]	Trp Leu Phe Cys Ser Ile Val Met Leu Leu Phe Leu Cys Ser Phe Ser
[0705]	50 55 60
[0706]	Trp Leu Ile Phe Ile Phe Leu Gln Leu Glu Thr Ala Lys Glu Pro Cys
[0707]	65 70 75 80
[0708]	Met Ala Lys Phe Gly Pro Leu Pro Ser Lys Trp Gln Met Ala Ser Ser
[0709]	85 90 95
[0710]	Glu Pro Pro Cys Val Asn Lys Val Ser Asp Trp Lys Leu Glu Ile Leu
[0711]	100 105 110
[0712]	Gln Asn Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Gly Gln Val Ala Pro Asn Ala Asn
[0713]	115 120 125
[0714]	Tyr Asn Asp Val Ala Pro Phe Glu Val Arg Leu Tyr Lys Asn Lys Asp
[0715]	130 135 140
[0716]	Met Ile Gln Thr Leu Thr Asn Lys Ser Lys Ile Gln Asn Val Gly Gly
[0717]	145 150 155 160
[0718]	Thr Tyr Glu Leu His Val Gly Asp Thr Ile Asp Leu Ile Phe Asn Ser
[0719]	165 170 175
[0720]	Glu His Gln Val Leu Lys Asn Asn Thr Tyr Trp Gly Ile Ile Leu Leu
[0721]	180 185 190
[0722]	Ala Asn Pro Gln Phe Ile Ser
[0723]	195
[0724]	<210> 16
[0725]	<211> 128
[0726]	<212> PRT
[0727]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0728]	<220>
[0729]	<223> 合成多肽
[0730]	<400> 16
[0731]	Gln Leu Glu Thr Ala Lys Glu Pro Cys Met Ala Lys Phe Gly Pro Leu
[0732]	1 5 10 15
[0733]	Pro Ser Lys Trp Gln Met Ala Ser Ser Glu Pro Pro Cys Val Asn Lys
[0734]	20 25 30
[0735]	Val Ser Asp Trp Lys Leu Glu Ile Leu Gln Asn Gly Leu Tyr Leu Ile
[0736]	35 40 45
[0737]	Tyr Gly Gln Val Ala Pro Asn Ala Asn Tyr Asn Asp Val Ala Pro Phe
[0738]	50 55 60
[0739]	Glu Val Arg Leu Tyr Lys Asn Lys Asp Met Ile Gln Thr Leu Thr Asn
[0740]	65 70 75 80

[0741]	Lys Ser Lys Ile Gln Asn Val Gly Gly Thr Tyr Glu Leu His Val Gly
[0742]	85 90 95
[0743]	Asp Thr Ile Asp Leu Ile Phe Asn Ser Glu His Gln Val Leu Lys Asn
[0744]	100 105 110
[0745]	Asn Thr Tyr Trp Gly Ile Ile Leu Leu Ala Asn Pro Gln Phe Ile Ser
[0746]	115 120 125
[0747]	<210> 17
[0748]	<211> 482
[0749]	<212> PRT
[0750]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0751]	<220>
[0752]	<223> 合成多肽
[0753]	<400> 17
[0754]	Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
[0755]	1 5 10 15
[0756]	Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
[0757]	20 25 30
[0758]	Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
[0759]	35 40 45
[0760]	Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
[0761]	50 55 60
[0762]	Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
[0763]	65 70 75 80
[0764]	Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
[0765]	85 90 95
[0766]	Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
[0767]	100 105 110
[0768]	His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
[0769]	115 120 125
[0770]	Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
[0771]	130 135 140
[0772]	Pro Pro Lys Pro Lys Asp Gln Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
[0773]	145 150 155 160
[0774]	Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
[0775]	165 170 175
[0776]	Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
[0777]	180 185 190
[0778]	Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
[0779]	195 200 205

[0780]	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Ser	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
[0781]	210						215					220				
[0782]	Ser	Ser	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Asn	Ala
[0783]	225					230					235					240
[0784]	Thr	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln
[0785]					245					250					255	
[0786]	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
[0787]				260					265						270	
[0788]	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
[0789]			275					280					285			
[0790]	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
[0791]		290					295					300				
[0792]	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu
[0793]	305					310					315					320
[0794]	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
[0795]					325					330					335	
[0796]	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Ile	Glu	Gly	Arg
[0797]			340						345					350		
[0798]	Met	Asp	Gln	Leu	Glu	Thr	Ala	Lys	Glu	Pro	Cys	Met	Ala	Lys	Phe	Gly
[0799]			355					360					365			
[0800]	Pro	Leu	Pro	Ser	Lys	Trp	Gln	Met	Ala	Ser	Ser	Glu	Pro	Pro	Cys	Val
[0801]		370					375					380				
[0802]	Asn	Lys	Val	Ser	Asp	Trp	Lys	Leu	Glu	Ile	Leu	Gln	Asn	Gly	Leu	Tyr
[0803]	385					390					395					400
[0804]	Leu	Ile	Tyr	Gly	Gln	Val	Ala	Pro	Asn	Ala	Asn	Tyr	Asn	Asp	Val	Ala
[0805]					405					410					415	
[0806]	Pro	Phe	Glu	Val	Arg	Leu	Tyr	Lys	Asn	Lys	Asp	Met	Ile	Gln	Thr	Leu
[0807]				420					425					430		
[0808]	Thr	Asp	Lys	Ser	Lys	Ile	Gln	Asn	Val	Gly	Gly	Thr	Tyr	Glu	Leu	His
[0809]			435					440					445			
[0810]	Val	Gly	Asp	Thr	Ile	Asp	Leu	Ile	Phe	Asn	Ser	Glu	His	Gln	Val	Leu
[0811]		450					455					460				
[0812]	Lys	Asn	Asn	Thr	Tyr	Trp	Gly	Ile	Ile	Leu	Leu	Ala	Asn	Pro	Gln	Phe
[0813]	465					470					475					480
[0814]	Ile	Ser														
[0815]	<210>	18														
[0816]	<211>	251														
[0817]	<212>	PRT														
[0818]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)														

[0819]	<220>															
[0820]	<223> 合成多肽															
[0821]	<400> 18															
[0822]	Met	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Leu	Ser	Phe	Gly	Glu	Thr	Ala	Ser	Val	Glu
[0823]	1				5					10					15	
[0824]	Met	Leu	Pro	Glu	His	Gly	Ser	Cys	Arg	Pro	Lys	Ala	Arg	Ser	Ser	Ser
[0825]				20					25					30		
[0826]	Ala	Arg	Trp	Ala	Leu	Thr	Cys	Cys	Leu	Val	Leu	Leu	Pro	Phe	Leu	Ala
[0827]			35					40					45			
[0828]	Gly	Leu	Thr	Thr	Tyr	Leu	Leu	Val	Ser	Gln	Leu	Arg	Ala	Gln	Gly	Glu
[0829]		50					55				60					
[0830]	Ala	Cys	Val	Gln	Phe	Gln	Ala	Leu	Lys	Gly	Gln	Glu	Phe	Ala	Pro	Ser
[0831]	65					70					75					80
[0832]	His	Gln	Gln	Val	Tyr	Ala	Pro	Leu	Arg	Ala	Asp	Gly	Asp	Lys	Pro	Arg
[0833]				85						90					95	
[0834]	Ala	His	Leu	Thr	Val	Val	Arg	Gln	Thr	Pro	Thr	Gln	His	Phe	Lys	Asn
[0835]				100					105					110		
[0836]	Gln	Phe	Pro	Ala	Leu	His	Trp	Glu	His	Glu	Leu	Gly	Leu	Ala	Phe	Thr
[0837]			115					120					125			
[0838]	Lys	Asn	Arg	Met	Asn	Tyr	Thr	Asn	Lys	Phe	Leu	Leu	Ile	Pro	Glu	Ser
[0839]		130					135				140					
[0840]	Gly	Asp	Tyr	Phe	Ile	Tyr	Ser	Gln	Val	Thr	Phe	Arg	Gly	Met	Thr	Ser
[0841]	145					150					155					160
[0842]	Glu	Cys	Ser	Glu	Ile	Arg	Gln	Ala	Gly	Arg	Pro	Asn	Lys	Pro	Asp	Ser
[0843]				165						170					175	
[0844]	Ile	Thr	Val	Val	Ile	Thr	Lys	Val	Thr	Asp	Ser	Tyr	Pro	Glu	Pro	Thr
[0845]				180					185					190		
[0846]	Gln	Leu	Leu	Met	Gly	Thr	Lys	Ser	Val	Cys	Glu	Val	Gly	Ser	Asn	Trp
[0847]			195					200					205			
[0848]	Phe	Gln	Pro	Ile	Tyr	Leu	Gly	Ala	Met	Phe	Ser	Leu	Gln	Glu	Gly	Asp
[0849]		210					215					220				
[0850]	Lys	Leu	Met	Val	Asn	Val	Ser	Asp	Ile	Ser	Leu	Val	Asp	Tyr	Thr	Lys
[0851]	225					230					235					240
[0852]	Glu	Asp	Lys	Thr	Phe	Phe	Gly	Ala	Phe	Leu	Leu					
[0853]				245						250						
[0854]	<210> 19															
[0855]	<211> 192															
[0856]	<212> PRT															
[0857]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															

[0858]	<220>															
[0859]	<223> 合成多肽															
[0860]	<400> 19															
[0861]	Arg	Ala	Gln	Gly	Glu	Ala	Cys	Val	Gln	Phe	Gln	Ala	Leu	Lys	Gly	Gln
[0862]	1				5					10					15	
[0863]	Glu	Phe	Ala	Pro	Ser	His	Gln	Gln	Val	Tyr	Ala	Pro	Leu	Arg	Ala	Asp
[0864]				20					25					30		
[0865]	Gly	Asp	Lys	Pro	Arg	Ala	His	Leu	Thr	Val	Val	Arg	Gln	Thr	Pro	Thr
[0866]			35					40					45			
[0867]	Gln	His	Phe	Lys	Asn	Gln	Phe	Pro	Ala	Leu	His	Trp	Glu	His	Glu	Leu
[0868]		50					55					60				
[0869]	Gly	Leu	Ala	Phe	Thr	Lys	Asn	Arg	Met	Asn	Tyr	Thr	Asn	Lys	Phe	Leu
[0870]	65					70				75					80	
[0871]	Leu	Ile	Pro	Glu	Ser	Gly	Asp	Tyr	Phe	Ile	Tyr	Ser	Gln	Val	Thr	Phe
[0872]					85					90					95	
[0873]	Arg	Gly	Met	Thr	Ser	Glu	Cys	Ser	Glu	Ile	Arg	Gln	Ala	Gly	Arg	Pro
[0874]				100					105					110		
[0875]	Asn	Lys	Pro	Asp	Ser	Ile	Thr	Val	Val	Ile	Thr	Lys	Val	Thr	Asp	Ser
[0876]			115					120					125			
[0877]	Tyr	Pro	Glu	Pro	Thr	Gln	Leu	Leu	Met	Gly	Thr	Lys	Ser	Val	Cys	Glu
[0878]		130					135					140				
[0879]	Val	Gly	Ser	Asn	Trp	Phe	Gln	Pro	Ile	Tyr	Leu	Gly	Ala	Met	Phe	Ser
[0880]	145					150				155					160	
[0881]	Leu	Gln	Glu	Gly	Asp	Lys	Leu	Met	Val	Asn	Val	Ser	Asp	Ile	Ser	Leu
[0882]					165					170					175	
[0883]	Val	Asp	Tyr	Thr	Lys	Glu	Asp	Lys	Thr	Phe	Phe	Gly	Ala	Phe	Leu	Leu
[0884]				180					185					190		
[0885]	<210> 20															
[0886]	<211> 549															
[0887]	<212> PRT															
[0888]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[0889]	<220>															
[0890]	<223> 合成多肽															
[0891]	<400> 20															
[0892]	Met	Met	Thr	Gly	Thr	Ile	Glu	Thr	Thr	Gly	Asn	Ile	Ser	Ala	Glu	Lys
[0893]	1				5					10					15	
[0894]	Gly	Gly	Ser	Ile	Ile	Leu	Gln	Cys	His	Leu	Ser	Ser	Thr	Thr	Ala	Gln
[0895]				20					25					30		
[0896]	Val	Thr	Gln	Val	Asn	Trp	Glu	Gln	Gln	Asp	Gln	Leu	Leu	Ala	Ile	Cys

[0897]	35	40	45
[0898]	Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val		
[0899]	50	55	60
[0900]	Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn		
[0901]	65	70	75
[0902]	Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr		
[0903]	85	90	95
[0904]	Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu		
[0905]	100	105	110
[0906]	His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro		
[0907]	115	120	125
[0908]	Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe		
[0909]	130	135	140
[0910]	Pro Pro Lys Pro Lys Asp Gln Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val		
[0911]	145	150	155
[0912]	Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe		
[0913]	165	170	175
[0914]	Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro		
[0915]	180	185	190
[0916]	Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr		
[0917]	195	200	205
[0918]	Val Leu His Gln Asp Trp Leu Ser Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val		
[0919]	210	215	220
[0920]	Ser Ser Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Asn Ala		
[0921]	225	230	235
[0922]	Thr Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln		
[0923]	245	250	255
[0924]	Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly		
[0925]	260	265	270
[0926]	Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro		
[0927]	275	280	285
[0928]	Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser		
[0929]	290	295	300
[0930]	Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu		
[0931]	305	310	315
[0932]	Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His		
[0933]	325	330	335
[0934]	Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ile Glu Gly Arg		
[0935]	340	345	350

[0936]	Met Asp Ser Gln Leu Arg Ala Gln Gly Glu Ala Cys Val Gln Phe Gln		
[0937]	355	360	365
[0938]	Ala Leu Lys Gly Gln Glu Phe Ala Pro Ser His Gln Gln Val Tyr Ala		
[0939]	370	375	380
[0940]	Pro Leu Arg Ala Asp Gly Asp Lys Pro Arg Ala His Leu Thr Val Val		
[0941]	385	390	395
[0942]	Arg Gln Thr Pro Thr Gln His Phe Lys Asn Gln Phe Pro Ala Leu His		
[0943]	405	410	415
[0944]	Trp Glu His Glu Leu Gly Leu Ala Phe Thr Lys Asn Arg Met Asn Tyr		
[0945]	420	425	430
[0946]	Thr Asn Lys Phe Leu Leu Ile Pro Glu Ser Gly Asp Tyr Phe Ile Tyr		
[0947]	435	440	445
[0948]	Ser Gln Val Thr Phe Arg Gly Met Thr Ser Glu Cys Ser Glu Ile Arg		
[0949]	450	455	460
[0950]	Gln Ala Gly Arg Pro Asn Lys Pro Asp Ser Ile Thr Val Val Ile Thr		
[0951]	465	470	475
[0952]	Lys Val Thr Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Thr Gln Leu Leu Met Gly Thr		
[0953]	485	490	495
[0954]	Lys Ser Val Cys Glu Val Gly Ser Asn Trp Phe Gln Pro Ile Tyr Leu		
[0955]	500	505	510
[0956]	Gly Ala Met Phe Ser Leu Gln Glu Gly Asp Lys Leu Met Val Asn Val		
[0957]	515	520	525
[0958]	Ser Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe		
[0959]	530	535	540
[0960]	Gly Ala Phe Leu Leu		
[0961]	545		
[0962]	<210> 21		
[0963]	<211> 183		
[0964]	<212> PRT		
[0965]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0966]	<220>		
[0967]	<223> 合成多肽		
[0968]	<400> 21		
[0969]	Met Glu Arg Val Gln Pro Leu Glu Glu Asn Val Gly Asn Ala Ala Arg		
[0970]	1	5	10
[0971]	Pro Arg Phe Glu Arg Asn Lys Leu Leu Leu Val Ala Ser Val Ile Gln		
[0972]	20	25	30
[0973]	Gly Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Thr Tyr Ile Cys Leu His Phe Ser		
[0974]	35	40	45

[0975]	Ala	Leu	Gln	Val	Ser	His	Arg	Tyr	Pro	Arg	Ile	Gln	Ser	Ile	Lys	Val
[0976]	50						55					60				
[0977]	Gln	Phe	Thr	Glu	Tyr	Lys	Lys	Glu	Lys	Gly	Phe	Ile	Leu	Thr	Ser	Gln
[0978]	65					70					75					80
[0979]	Lys	Glu	Asp	Glu	Ile	Met	Lys	Val	Gln	Asn	Asn	Ser	Val	Ile	Ile	Asn
[0980]					85					90					95	
[0981]	Cys	Asp	Gly	Phe	Tyr	Leu	Ile	Ser	Leu	Lys	Gly	Tyr	Phe	Ser	Gln	Glu
[0982]				100						105					110	
[0983]	Val	Asn	Ile	Ser	Leu	His	Tyr	Gln	Lys	Asp	Glu	Glu	Pro	Leu	Phe	Gln
[0984]				115						120					125	
[0985]	Leu	Lys	Lys	Val	Arg	Ser	Val	Asn	Ser	Leu	Met	Val	Ala	Ser	Leu	Thr
[0986]		130						135					140			
[0987]	Tyr	Lys	Asp	Lys	Val	Tyr	Leu	Asn	Val	Thr	Thr	Asp	Asn	Thr	Ser	Leu
[0988]	145					150						155				160
[0989]	Asp	Asp	Phe	His	Val	Asn	Gly	Gly	Glu	Leu	Ile	Leu	Ile	His	Gln	Asn
[0990]					165					170						175
[0991]	Pro	Gly	Glu	Phe	Cys	Val	Leu									
[0992]					180											
[0993]	<210> 22															
[0994]	<211> 133															
[0995]	<212> PRT															
[0996]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[0997]	<220>															
[0998]	<223> 合成多肽															
[0999]	<400> 22															
[1000]	Gln	Val	Ser	His	Arg	Tyr	Pro	Arg	Ile	Gln	Ser	Ile	Lys	Val	Gln	Phe
[1001]	1				5					10					15	
[1002]	Thr	Glu	Tyr	Lys	Lys	Glu	Lys	Gly	Phe	Ile	Leu	Thr	Ser	Gln	Lys	Glu
[1003]				20					25					30		
[1004]	Asp	Glu	Ile	Met	Lys	Val	Gln	Asn	Asn	Ser	Val	Ile	Ile	Asn	Cys	Asp
[1005]				35					40					45		
[1006]	Gly	Phe	Tyr	Leu	Ile	Ser	Leu	Lys	Gly	Tyr	Phe	Ser	Gln	Glu	Val	Asn
[1007]		50						55					60			
[1008]	Ile	Ser	Leu	His	Tyr	Gln	Lys	Asp	Glu	Glu	Pro	Leu	Phe	Gln	Leu	Lys
[1009]	65					70					75					80
[1010]	Lys	Val	Arg	Ser	Val	Asn	Ser	Leu	Met	Val	Ala	Ser	Leu	Thr	Tyr	Lys
[1011]					85					90					95	
[1012]	Asp	Lys	Val	Tyr	Leu	Asn	Val	Thr	Thr	Asp	Asn	Thr	Ser	Leu	Asp	Asp
[1013]					100					105					110	

[1014]	Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn Pro Gly
[1015]	115 120 125
[1016]	Glu Phe Cys Val Leu
[1017]	130
[1018]	<210> 23
[1019]	<211> 487
[1020]	<212> PRT
[1021]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1022]	<220>
[1023]	<223> 合成多肽
[1024]	<400> 23
[1025]	Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
[1026]	1 5 10 15
[1027]	Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
[1028]	20 25 30
[1029]	Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
[1030]	35 40 45
[1031]	Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
[1032]	50 55 60
[1033]	Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
[1034]	65 70 75 80
[1035]	Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
[1036]	85 90 95
[1037]	Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
[1038]	100 105 110
[1039]	His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
[1040]	115 120 125
[1041]	Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
[1042]	130 135 140
[1043]	Pro Pro Lys Pro Lys Asp Gln Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
[1044]	145 150 155 160
[1045]	Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
[1046]	165 170 175
[1047]	Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
[1048]	180 185 190
[1049]	Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
[1050]	195 200 205
[1051]	Val Leu His Gln Asp Trp Leu Ser Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
[1052]	210 215 220

[1053]	Ser Ser Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Asn Ala		
[1054]	225	230	235 240
[1055]	Thr Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln		
[1056]		245	250 255
[1057]	Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly		
[1058]		260	265 270
[1059]	Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro		
[1060]		275	280 285
[1061]	Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser		
[1062]		290	295 300
[1063]	Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu		
[1064]	305	310	315 320
[1065]	Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His		
[1066]		325	330 335
[1067]	Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ile Glu Gly Arg		
[1068]		340	345 350
[1069]	Met Asp Gln Val Ser His Arg Tyr Pro Arg Ile Gln Ser Ile Lys Val		
[1070]		355	360 365
[1071]	Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser Gln		
[1072]		370	375 380
[1073]	Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn Asn Ser Val Ile Ile Asn		
[1074]	385	390	395 400
[1075]	Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys Gly Tyr Phe Ser Gln Glu		
[1076]		405	410 415
[1077]	Val Asn Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp Glu Glu Pro Leu Phe Gln		
[1078]		420	425 430
[1079]	Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr		
[1080]		435	440 445
[1081]	Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu		
[1082]		450	455 460
[1083]	Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn		
[1084]	465	470	475 480
[1085]	Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu		
[1086]		485	
[1087]	<210> 24		
[1088]	<211> 150		
[1089]	<212> PRT		
[1090]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1091]	<220>		

[1092]	<223> 合成多肽															
[1093]	<400> 24															
[1094]	Met	Lys	Thr	Leu	Pro	Ala	Met	Leu	Gly	Thr	Gly	Lys	Leu	Phe	Trp	Val
[1095]	1				5					10					15	
[1096]	Phe	Phe	Leu	Ile	Pro	Tyr	Leu	Asp	Ile	Trp	Asn	Ile	His	Gly	Lys	Glu
[1097]					20					25					30	
[1098]	Ser	Cys	Asp	Val	Gln	Leu	Tyr	Ile	Lys	Arg	Gln	Ser	Glu	His	Ser	Ile
[1099]					35					40					45	
[1100]	Leu	Ala	Gly	Asp	Pro	Phe	Glu	Leu	Glu	Cys	Pro	Val	Lys	Tyr	Cys	Ala
[1101]					50					55					60	
[1102]	Asn	Arg	Pro	His	Val	Thr	Trp	Cys	Lys	Leu	Asn	Gly	Thr	Thr	Cys	Val
[1103]	65						70					75				80
[1104]	Lys	Leu	Glu	Asp	Arg	Gln	Thr	Ser	Trp	Lys	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile	Ser
[1105]							85					90				95
[1106]	Phe	Phe	Ile	Leu	His	Phe	Glu	Pro	Val	Leu	Pro	Asn	Asp	Asn	Gly	Ser
[1107]							100					105				110
[1108]	Tyr	Arg	Cys	Ser	Ala	Asn	Phe	Gln	Ser	Asn	Leu	Ile	Glu	Ser	His	Ser
[1109]							115					120				125
[1110]	Thr	Thr	Leu	Tyr	Val	Thr	Asp	Val	Lys	Ser	Ala	Ser	Glu	Arg	Pro	Ser
[1111]							130					135				140
[1112]	Lys	Asp	Glu	Met	Ala	Ser										
[1113]	145															150
[1114]	<210> 25															
[1115]	<211> 127															
[1116]	<212> PRT															
[1117]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[1118]	<220>															
[1119]	<223> 合成多肽															
[1120]	<400> 25															
[1121]	Lys	Glu	Ser	Cys	Asp	Val	Gln	Leu	Tyr	Ile	Lys	Arg	Gln	Ser	Glu	His
[1122]	1					5					10				15	
[1123]	Ser	Ile	Leu	Ala	Gly	Asp	Pro	Phe	Glu	Leu	Glu	Cys	Pro	Val	Lys	Tyr
[1124]						20					25				30	
[1125]	Cys	Ala	Asn	Arg	Pro	His	Val	Thr	Trp	Cys	Lys	Leu	Asn	Gly	Thr	Thr
[1126]						35					40				45	
[1127]	Cys	Val	Lys	Leu	Glu	Asp	Arg	Gln	Thr	Ser	Trp	Lys	Glu	Glu	Lys	Asn
[1128]						50					55				60	
[1129]	Ile	Ser	Phe	Phe	Ile	Leu	His	Phe	Glu	Pro	Val	Leu	Pro	Asn	Asp	Asn
[1130]	65						70					75				80

[1131]	Gly Ser Tyr Arg Cys Ser Ala Asn Phe Gln Ser Asn Leu Ile Glu Ser
[1132]	85 90 95
[1133]	His Ser Thr Thr Leu Tyr Val Thr Asp Val Lys Ser Ala Ser Glu Arg
[1134]	100 105 110
[1135]	Pro Ser Lys Asp Glu Met Ala Ser Arg Pro Trp Leu Leu Tyr Arg
[1136]	115 120 125
[1137]	<210> 26
[1138]	<211> 234
[1139]	<212> PRT
[1140]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1141]	<220>
[1142]	<223> 合成多肽
[1143]	<400> 26
[1144]	Met Asp Pro Gly Leu Gln Gln Ala Leu Asn Gly Met Ala Pro Pro Gly
[1145]	1 5 10 15
[1146]	Asp Thr Ala Met His Val Pro Ala Gly Ser Val Ala Ser His Leu Gly
[1147]	20 25 30
[1148]	Thr Thr Ser Arg Ser Tyr Phe Tyr Leu Thr Thr Ala Thr Leu Ala Leu
[1149]	35 40 45
[1150]	Cys Leu Val Phe Thr Val Ala Thr Ile Met Val Leu Val Val Gln Arg
[1151]	50 55 60
[1152]	Thr Asp Ser Ile Pro Asn Ser Pro Asp Asn Val Pro Leu Lys Gly Gly
[1153]	65 70 75 80
[1154]	Asn Cys Ser Glu Asp Leu Leu Cys Ile Leu Lys Arg Ala Pro Phe Lys
[1155]	85 90 95
[1156]	Lys Ser Trp Ala Tyr Leu Gln Val Ala Lys His Leu Asn Lys Thr Lys
[1157]	100 105 110
[1158]	Leu Ser Trp Asn Lys Asp Gly Ile Leu His Gly Val Arg Tyr Gln Asp
[1159]	115 120 125
[1160]	Gly Asn Leu Val Ile Gln Phe Pro Gly Leu Tyr Phe Ile Ile Cys Gln
[1161]	130 135 140
[1162]	Leu Gln Phe Leu Val Gln Cys Pro Asn Asn Ser Val Asp Leu Lys Leu
[1163]	145 150 155 160
[1164]	Glu Leu Leu Ile Asn Lys His Ile Lys Lys Gln Ala Leu Val Thr Val
[1165]	165 170 175
[1166]	Cys Glu Ser Gly Met Gln Thr Lys His Val Tyr Gln Asn Leu Ser Gln
[1167]	180 185 190
[1168]	Phe Leu Leu Asp Tyr Leu Gln Val Asn Thr Thr Ile Ser Val Asn Val
[1169]	195 200 205

[1170]	Asp Thr Phe Gln Tyr Ile Asp Thr Ser Thr Phe Pro Leu Glu Asn Val
[1171]	210 215 220
[1172]	Leu Ser Ile Phe Leu Tyr Ser Asn Ser Asp
[1173]	225 230
[1174]	<210> 27
[1175]	<211> 172
[1176]	<212> PRT
[1177]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1178]	<220>
[1179]	<223> 合成多肽
[1180]	<400> 27
[1181]	Gln Arg Thr Asp Ser Ile Pro Asn Ser Pro Asp Asn Val Pro Leu Lys
[1182]	1 5 10 15
[1183]	Gly Gly Asn Cys Ser Glu Asp Leu Leu Cys Ile Leu Lys Arg Ala Pro
[1184]	20 25 30
[1185]	Phe Lys Lys Ser Trp Ala Tyr Leu Gln Val Ala Lys His Leu Asn Lys
[1186]	35 40 45
[1187]	Thr Lys Leu Ser Trp Asn Lys Asp Gly Ile Leu His Gly Val Arg Tyr
[1188]	50 55 60
[1189]	Gln Asp Gly Asn Leu Val Ile Gln Phe Pro Gly Leu Tyr Phe Ile Ile
[1190]	65 70 75 80
[1191]	Cys Gln Leu Gln Phe Leu Val Gln Cys Pro Asn Asn Ser Val Asp Leu
[1192]	85 90 95
[1193]	Lys Leu Glu Leu Leu Ile Asn Lys His Ile Lys Lys Gln Ala Leu Val
[1194]	100 105 110
[1195]	Thr Val Cys Glu Ser Gly Met Gln Thr Lys His Val Tyr Gln Asn Leu
[1196]	115 120 125
[1197]	Ser Gln Phe Leu Leu Asp Tyr Leu Gln Val Asn Thr Thr Ile Ser Val
[1198]	130 135 140
[1199]	Asn Val Asp Thr Phe Gln Tyr Ile Asp Thr Ser Thr Phe Pro Leu Glu
[1200]	145 150 155 160
[1201]	Asn Val Leu Ser Ile Phe Leu Tyr Ser Asn Ser Asp
[1202]	165 170
[1203]	<210> 28
[1204]	<211> 261
[1205]	<212> PRT
[1206]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1207]	<220>
[1208]	<223> 合成多肽

[1209]	<400> 28
[1210]	Met Ile Glu Thr Tyr Asn Gln Thr Ser Pro Arg Ser Ala Ala Thr Gly
[1211]	1 5 10 15
[1212]	Leu Pro Ile Ser Met Lys Ile Phe Met Tyr Leu Leu Thr Val Phe Leu
[1213]	20 25 30
[1214]	Ile Thr Gln Met Ile Gly Ser Ala Leu Phe Ala Val Tyr Leu His Arg
[1215]	35 40 45
[1216]	Arg Leu Asp Lys Ile Glu Asp Glu Arg Asn Leu His Glu Asp Phe Val
[1217]	50 55 60
[1218]	Phe Met Lys Thr Ile Gln Arg Cys Asn Thr Gly Glu Arg Ser Leu Ser
[1219]	65 70 75 80
[1220]	Leu Leu Asn Cys Glu Glu Ile Lys Ser Gln Phe Glu Gly Phe Val Lys
[1221]	85 90 95
[1222]	Asp Ile Met Leu Asn Lys Glu Glu Thr Lys Lys Glu Asn Ser Phe Glu
[1223]	100 105 110
[1224]	Met Gln Lys Gly Asp Gln Asn Pro Gln Ile Ala Ala His Val Ile Ser
[1225]	115 120 125
[1226]	Glu Ala Ser Ser Lys Thr Thr Ser Val Leu Gln Trp Ala Glu Lys Gly
[1227]	130 135 140
[1228]	Tyr Tyr Thr Met Ser Asn Asn Leu Val Thr Leu Glu Asn Gly Lys Gln
[1229]	145 150 155 160
[1230]	Leu Thr Val Lys Arg Gln Gly Leu Tyr Tyr Ile Tyr Ala Gln Val Thr
[1231]	165 170 175
[1232]	Phe Cys Ser Asn Arg Glu Ala Ser Ser Gln Ala Pro Phe Ile Ala Ser
[1233]	180 185 190
[1234]	Leu Cys Leu Lys Ser Pro Gly Arg Phe Glu Arg Ile Leu Leu Arg Ala
[1235]	195 200 205
[1236]	Ala Asn Thr His Ser Ser Ala Lys Pro Cys Gly Gln Gln Ser Ile His
[1237]	210 215 220
[1238]	Leu Gly Gly Val Phe Glu Leu Gln Pro Gly Ala Ser Val Phe Val Asn
[1239]	225 230 235 240
[1240]	Val Thr Asp Pro Ser Gln Val Ser His Gly Thr Gly Phe Thr Ser Phe
[1241]	245 250 255
[1242]	Gly Leu Leu Lys Leu
[1243]	260
[1244]	<210> 29
[1245]	<211> 215
[1246]	<212> PRT
[1247]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1248]	<220>
[1249]	<223> 合成多肽
[1250]	<400> 29
[1251]	His Arg Arg Leu Asp Lys Ile Glu Asp Glu Arg Asn Leu His Glu Asp
[1252]	1 5 10 15
[1253]	Phe Val Phe Met Lys Thr Ile Gln Arg Cys Asn Thr Gly Glu Arg Ser
[1254]	20 25 30
[1255]	Leu Ser Leu Leu Asn Cys Glu Glu Ile Lys Ser Gln Phe Glu Gly Phe
[1256]	35 40 45
[1257]	Val Lys Asp Ile Met Leu Asn Lys Glu Glu Thr Lys Lys Glu Asn Ser
[1258]	50 55 60
[1259]	Phe Glu Met Gln Lys Gly Asp Gln Asn Pro Gln Ile Ala Ala His Val
[1260]	65 70 75 80
[1261]	Ile Ser Glu Ala Ser Ser Lys Thr Thr Ser Val Leu Gln Trp Ala Glu
[1262]	85 90 95
[1263]	Lys Gly Tyr Tyr Thr Met Ser Asn Asn Leu Val Thr Leu Glu Asn Gly
[1264]	100 105 110
[1265]	Lys Gln Leu Thr Val Lys Arg Gln Gly Leu Tyr Tyr Ile Tyr Ala Gln
[1266]	115 120 125
[1267]	Val Thr Phe Cys Ser Asn Arg Glu Ala Ser Ser Gln Ala Pro Phe Ile
[1268]	130 135 140
[1269]	Ala Ser Leu Cys Leu Lys Ser Pro Gly Arg Phe Glu Arg Ile Leu Leu
[1270]	145 150 155 160
[1271]	Arg Ala Ala Asn Thr His Ser Ser Ala Lys Pro Cys Gly Gln Gln Ser
[1272]	165 170 175
[1273]	Ile His Leu Gly Gly Val Phe Glu Leu Gln Pro Gly Ala Ser Val Phe
[1274]	180 185 190
[1275]	Val Asn Val Thr Asp Pro Ser Gln Val Ser His Gly Thr Gly Phe Thr
[1276]	195 200 205
[1277]	Ser Phe Gly Leu Leu Lys Leu
[1278]	210 215
[1279]	<210> 30
[1280]	<211> 281
[1281]	<212> PRT
[1282]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1283]	<220>
[1284]	<223> 合成多肽
[1285]	<400> 30
[1286]	Met Gln Gln Pro Phe Asn Tyr Pro Tyr Pro Gln Ile Tyr Trp Val Asp

[1287]	1	5	10	15
[1288]	Ser Ser Ala Ser Ser Pro Trp Ala Pro Pro Gly Thr Val Leu Pro Cys			
[1289]	20	25	30	
[1290]	Pro Thr Ser Val Pro Arg Arg Pro Gly Gln Arg Arg Pro Pro Pro Pro			
[1291]	35	40	45	
[1292]	Pro Pro Pro Pro Pro Leu Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Leu Pro			
[1293]	50	55	60	
[1294]	Pro Leu Pro Leu Pro Pro Leu Lys Lys Arg Gly Asn His Ser Thr Gly			
[1295]	65	70	75	80
[1296]	Leu Cys Leu Leu Val Met Phe Phe Met Val Leu Val Ala Leu Val Gly			
[1297]	85	90	95	
[1298]	Leu Gly Leu Gly Met Phe Gln Leu Phe His Leu Gln Lys Glu Leu Ala			
[1299]	100	105	110	
[1300]	Glu Leu Arg Glu Ser Thr Ser Gln Met His Thr Ala Ser Ser Leu Glu			
[1301]	115	120	125	
[1302]	Lys Gln Ile Gly His Pro Ser Pro Pro Pro Glu Lys Lys Glu Leu Arg			
[1303]	130	135	140	
[1304]	Lys Val Ala His Leu Thr Gly Lys Ser Asn Ser Arg Ser Met Pro Leu			
[1305]	145	150	155	160
[1306]	Glu Trp Glu Asp Thr Tyr Gly Ile Val Leu Leu Ser Gly Val Lys Tyr			
[1307]	165	170	175	
[1308]	Lys Lys Gly Gly Leu Val Ile Asn Glu Thr Gly Leu Tyr Phe Val Tyr			
[1309]	180	185	190	
[1310]	Ser Lys Val Tyr Phe Arg Gly Gln Ser Cys Asn Asn Leu Pro Leu Ser			
[1311]	195	200	205	
[1312]	His Lys Val Tyr Met Arg Asn Ser Lys Tyr Pro Gln Asp Leu Val Met			
[1313]	210	215	220	
[1314]	Met Glu Gly Lys Met Met Ser Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Met Trp Ala			
[1315]	225	230	235	240
[1316]	Arg Ser Ser Tyr Leu Gly Ala Val Phe Asn Leu Thr Ser Ala Asp His			
[1317]	245	250	255	
[1318]	Leu Tyr Val Asn Val Ser Glu Leu Ser Leu Val Asn Phe Glu Glu Ser			
[1319]	260	265	270	
[1320]	Gln Thr Phe Phe Gly Leu Tyr Lys Leu			
[1321]	275	280		
[1322]	<210> 31			
[1323]	<211> 179			
[1324]	<212> PRT			
[1325]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			

[1326]	<220>
[1327]	<223> 合成多肽
[1328]	<400> 31
[1329]	Gln Leu Phe His Leu Gln Lys Glu Leu Ala Glu Leu Arg Glu Ser Thr
[1330]	1 5 10 15
[1331]	Ser Gln Met His Thr Ala Ser Ser Leu Glu Lys Gln Ile Gly His Pro
[1332]	20 25 30
[1333]	Ser Pro Pro Pro Glu Lys Lys Glu Leu Arg Lys Val Ala His Leu Thr
[1334]	35 40 45
[1335]	Gly Lys Ser Asn Ser Arg Ser Met Pro Leu Glu Trp Glu Asp Thr Tyr
[1336]	50 55 60
[1337]	Gly Ile Val Leu Leu Ser Gly Val Lys Tyr Lys Lys Gly Gly Leu Val
[1338]	65 70 75 80
[1339]	Ile Asn Glu Thr Gly Leu Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Val Tyr Phe Arg
[1340]	85 90 95
[1341]	Gly Gln Ser Cys Asn Asn Leu Pro Leu Ser His Lys Val Tyr Met Arg
[1342]	100 105 110
[1343]	Asn Ser Lys Tyr Pro Gln Asp Leu Val Met Met Glu Gly Lys Met Met
[1344]	115 120 125
[1345]	Ser Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Met Trp Ala Arg Ser Ser Tyr Leu Gly
[1346]	130 135 140
[1347]	Ala Val Phe Asn Leu Thr Ser Ala Asp His Leu Tyr Val Asn Val Ser
[1348]	145 150 155 160
[1349]	Glu Leu Ser Leu Val Asn Phe Glu Glu Ser Gln Thr Phe Phe Gly Leu
[1350]	165 170 175
[1351]	Tyr Lys Leu
[1352]	<210> 32
[1353]	<400> 32
[1354]	000
[1355]	<210> 33
[1356]	<400> 33
[1357]	000
[1358]	<210> 34
[1359]	<400> 34
[1360]	000
[1361]	<210> 35
[1362]	<400> 35
[1363]	000
[1364]	<210> 36

[1365]	<211>	202
[1366]	<212>	PRT
[1367]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1368]	<220>	
[1369]	<223>	合成多肽
[1370]	<400>	36
[1371]	Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu	
[1372]	1 5 10 15	
[1373]	Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln	
[1374]	20 25 30	
[1375]	Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu	
[1376]	35 40 45	
[1377]	Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly	
[1378]	50 55 60	
[1379]	Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser	
[1380]	65 70 75 80	
[1381]	Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr	
[1382]	85 90 95	
[1383]	Ile Glu Asn Val Thr Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile	
[1384]	100 105 110	
[1385]	Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val	
[1386]	115 120 125	
[1387]	Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe	
[1388]	130 135 140	
[1389]	Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala	
[1390]	145 150 155 160	
[1391]	Glu Thr Gln Thr Leu Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile	
[1392]	165 170 175	
[1393]	Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu	
[1394]	180 185 190	
[1395]	Arg Asp Ser Gly Ala Thr Ile Arg Ile Gly	
[1396]	195 200	
[1397]	<210>	37
[1398]	<211>	181
[1399]	<212>	PRT
[1400]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1401]	<220>	
[1402]	<223>	合成多肽
[1403]	<400>	37

[1404]	Ser	Glu	Val	Glu	Tyr	Arg	Ala	Glu	Val	Gly	Gln	Asn	Ala	Tyr	Leu	Pro
[1405]	1				5					10					15	
[1406]	Cys	Phe	Tyr	Thr	Pro	Ala	Ala	Pro	Gly	Asn	Leu	Val	Pro	Val	Cys	Trp
[1407]				20					25					30		
[1408]	Gly	Lys	Gly	Ala	Cys	Pro	Val	Phe	Glu	Cys	Gly	Asn	Val	Val	Leu	Arg
[1409]			35					40					45			
[1410]	Thr	Asp	Glu	Arg	Asp	Val	Asn	Tyr	Trp	Thr	Ser	Arg	Tyr	Trp	Leu	Asn
[1411]		50					55					60				
[1412]	Gly	Asp	Phe	Arg	Lys	Gly	Asp	Val	Ser	Leu	Thr	Ile	Glu	Asn	Val	Thr
[1413]	65					70					75				80	
[1414]	Leu	Ala	Asp	Ser	Gly	Ile	Tyr	Cys	Cys	Arg	Ile	Gln	Ile	Pro	Gly	Ile
[1415]					85					90					95	
[1416]	Met	Asn	Asp	Glu	Lys	Phe	Asn	Leu	Lys	Leu	Val	Ile	Lys	Pro	Ala	Lys
[1417]				100						105					110	
[1418]	Val	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Arg	Gln	Arg	Asp	Phe	Thr	Ala	Ala	Phe	Pro
[1419]			115					120					125			
[1420]	Arg	Met	Leu	Thr	Thr	Arg	Gly	His	Gly	Pro	Ala	Glu	Thr	Gln	Thr	Leu
[1421]		130					135						140			
[1422]	Gly	Ser	Leu	Pro	Asp	Ile	Asn	Leu	Thr	Gln	Ile	Ser	Thr	Leu	Ala	Asn
[1423]	145					150					155				160	
[1424]	Glu	Leu	Arg	Asp	Ser	Arg	Leu	Ala	Asn	Asp	Leu	Arg	Asp	Ser	Gly	Ala
[1425]					165					170					175	
[1426]	Thr	Ile	Arg	Ile	Gly											
[1427]				180												
[1428]	<210>	38														
[1429]	<211>	150														
[1430]	<212>	PRT														
[1431]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)														
[1432]	<220>															
[1433]	<223>	合成多肽														
[1434]	<400>	38														
[1435]	Met	Gly	Ser	Pro	Gly	Met	Val	Leu	Gly	Leu	Leu	Val	Gln	Ile	Trp	Ala
[1436]	1				5					10					15	
[1437]	Leu	Gln	Glu	Ala	Ser	Ser	Leu	Ser	Val	Gln	Gln	Gly	Pro	Asn	Leu	Leu
[1438]				20						25				30		
[1439]	Gln	Val	Arg	Gln	Gly	Ser	Gln	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Gln	Val	Asp	Gln
[1440]			35					40					45			
[1441]	Ala	Thr	Ala	Trp	Glu	Arg	Leu	Arg	Val	Lys	Trp	Thr	Lys	Asp	Gly	Ala
[1442]		50					55						60			

[1443]	Ile Leu Cys Gln Pro Tyr Ile Thr Asn Gly Ser Leu Ser Leu Gly Val
[1444]	65 70 75 80
[1445]	Cys Gly Pro Gln Gly Arg Leu Ser Trp Gln Ala Pro Ser His Leu Thr
[1446]	85 90 95
[1447]	Leu Gln Leu Asp Pro Val Ser Leu Asn His Ser Gly Ala Tyr Val Cys
[1448]	100 105 110
[1449]	Trp Ala Ala Val Glu Ile Pro Glu Leu Glu Glu Ala Glu Gly Asn Ile
[1450]	115 120 125
[1451]	Thr Arg Leu Phe Val Asp Pro Asp Asp Pro Thr Gln Asn Arg Asn Arg
[1452]	130 135 140
[1453]	Ile Ala Ser Phe Pro Gly
[1454]	145 150
[1455]	<210> 39
[1456]	<211> 128
[1457]	<212> PRT
[1458]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1459]	<220>
[1460]	<223> 合成多肽
[1461]	<400> 39
[1462]	Leu Ser Val Gln Gln Gly Pro Asn Leu Leu Gln Val Arg Gln Gly Ser
[1463]	1 5 10 15
[1464]	Gln Ala Thr Leu Val Cys Gln Val Asp Gln Ala Thr Ala Trp Glu Arg
[1465]	20 25 30
[1466]	Leu Arg Val Lys Trp Thr Lys Asp Gly Ala Ile Leu Cys Gln Pro Tyr
[1467]	35 40 45
[1468]	Ile Thr Asn Gly Ser Leu Ser Leu Gly Val Cys Gly Pro Gln Gly Arg
[1469]	50 55 60
[1470]	Leu Ser Trp Gln Ala Pro Ser His Leu Thr Leu Gln Leu Asp Pro Val
[1471]	65 70 75 80
[1472]	Ser Leu Asn His Ser Gly Ala Tyr Val Cys Trp Ala Ala Val Glu Ile
[1473]	85 90 95
[1474]	Pro Glu Leu Glu Glu Ala Glu Gly Asn Ile Thr Arg Leu Phe Val Asp
[1475]	100 105 110
[1476]	Pro Asp Asp Pro Thr Gln Asn Arg Asn Arg Ile Ala Ser Phe Pro Gly
[1477]	115 120 125
[1478]	<210> 40
[1479]	<211> 281
[1480]	<212> PRT
[1481]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1482]	<220>
[1483]	<223> 合成多肽
[1484]	<400> 40
[1485]	Met Ala Met Met Glu Val Gln Gly Gly Pro Ser Leu Gly Gln Thr Cys
[1486]	1 5 10 15
[1487]	Val Leu Ile Val Ile Phe Thr Val Leu Leu Gln Ser Leu Cys Val Ala
[1488]	20 25 30
[1489]	Val Thr Tyr Val Tyr Phe Thr Asn Glu Leu Lys Gln Met Gln Asp Lys
[1490]	35 40 45
[1491]	Tyr Ser Lys Ser Gly Ile Ala Cys Phe Leu Lys Glu Asp Asp Ser Tyr
[1492]	50 55 60
[1493]	Trp Asp Pro Asn Asp Glu Glu Ser Met Asn Ser Pro Cys Trp Gln Val
[1494]	65 70 75 80
[1495]	Lys Trp Gln Leu Arg Gln Leu Val Arg Lys Met Ile Leu Arg Thr Ser
[1496]	85 90 95
[1497]	Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro
[1498]	100 105 110
[1499]	Leu Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly
[1500]	115 120 125
[1501]	Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu
[1502]	130 135 140
[1503]	Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly
[1504]	145 150 155 160
[1505]	His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile
[1506]	165 170 175
[1507]	His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe
[1508]	180 185 190
[1509]	Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln
[1510]	195 200 205
[1511]	Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys
[1512]	210 215 220
[1513]	Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr
[1514]	225 230 235 240
[1515]	Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile
[1516]	245 250 255
[1517]	Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala
[1518]	260 265 270
[1519]	Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
[1520]	275 280

[1521]	<210>	41
[1522]	<211>	243
[1523]	<212>	PRT
[1524]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1525]	<220>	
[1526]	<223>	合成多肽
[1527]	<400>	41
[1528]	Thr Asn Glu Leu Lys Gln Met Gln Asp Lys Tyr Ser Lys Ser Gly Ile	
[1529]	1	5 10 15
[1530]	Ala Cys Phe Leu Lys Glu Asp Asp Ser Tyr Trp Asp Pro Asn Asp Glu	
[1531]	20	25 30
[1532]	Glu Ser Met Asn Ser Pro Cys Trp Gln Val Lys Trp Gln Leu Arg Gln	
[1533]	35	40 45
[1534]	Leu Val Arg Lys Met Ile Leu Arg Thr Ser Glu Glu Thr Ile Ser Thr	
[1535]	50	55 60
[1536]	Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro Leu Val Arg Glu Arg Gly	
[1537]	65	70 75 80
[1538]	Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn	
[1539]	85	90 95
[1540]	Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys	
[1541]	100	105 110
[1542]	Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn	
[1543]	115	120 125
[1544]	Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr	
[1545]	130	135 140
[1546]	Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu	
[1547]	145	150 155 160
[1548]	Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr	
[1549]	165	170 175
[1550]	Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys	
[1551]	180	185 190
[1552]	Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly	
[1553]	195	200 205
[1554]	Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn	
[1555]	210	215 220
[1556]	Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe	
[1557]	225	230 235 240
[1558]	Leu Val Gly	
[1559]	<210>	42

[1599]	260							265							270								
[1600]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu							
[1601]	275							280							285								
[1602]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro							
[1603]	290							295							300								
[1604]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val							
[1605]	305							310							315							320	
[1606]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu							
[1607]	325							330							335								
[1608]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser							
[1609]	340							345							350								
[1610]	Leu	Gly	Lys	Ile	Glu	Gly	Arg	Met	Asp	Leu	Gln	Leu	His	Trp	Arg	Leu							
[1611]	355							360							365								
[1612]	Gly	Glu	Met	Val	Thr	Arg	Leu	Pro	Asp	Gly	Pro	Ala	Gly	Ser	Trp	Glu							
[1613]	370							375							380								
[1614]	Gln	Leu	Ile	Gln	Glu	Arg	Arg	Ser	His	Glu	Val	Asn	Pro	Ala	Ala	His							
[1615]	385							390							395							400	
[1616]	Leu	Thr	Gly	Ala	Asn	Ser	Ser	Leu	Thr	Gly	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	Leu							
[1617]	405							410							415								
[1618]	Trp	Glu	Thr	Gln	Leu	Gly	Leu	Ala	Phe	Leu	Arg	Gly	Leu	Ser	Tyr	His							
[1619]	420							425							430								
[1620]	Asp	Gly	Ala	Leu	Val	Val	Thr	Lys	Ala	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ile	Tyr	Ser							
[1621]	435							440							445								
[1622]	Lys	Val	Gln	Leu	Gly	Gly	Val	Gly	Cys	Pro	Leu	Gly	Leu	Ala	Ser	Thr							
[1623]	450							455							460								
[1624]	Ile	Thr	His	Gly	Leu	Tyr	Lys	Arg	Thr	Pro	Arg	Tyr	Pro	Glu	Glu	Leu							
[1625]	465							470							475							480	
[1626]	Glu	Leu	Leu	Val	Ser	Gln	Gln	Ser	Pro	Cys	Gly	Arg	Ala	Thr	Ser	Ser							
[1627]	485							490							495								
[1628]	Ser	Arg	Val	Trp	Trp	Asp	Ser	Ser	Phe	Leu	Gly	Gly	Val	Val	His	Leu							
[1629]	500							505							510								
[1630]	Glu	Ala	Gly	Glu	Lys	Val	Val	Val	Arg	Val	Leu	Asp	Glu	Arg	Leu	Val							
[1631]	515							520							525								
[1632]	Arg	Leu	Arg	Asp	Gly	Thr	Arg	Ser	Tyr	Phe	Gly	Ala	Phe	Met	Val								
[1633]	530							535							540								
[1634]	<210>	43																					
[1635]	<211>	838																					
[1636]	<212>	PRT																					
[1637]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																					

[1638]	<220>																		
[1639]	<223>	合成多肽																	
[1640]	<400>	43																	
[1641]	Val	Pro	Val	Val	Trp	Ala	Gln	Glu	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Leu	Pro	Cys			
[1642]	1				5					10					15				
[1643]	Ser	Pro	Thr	Ile	Pro	Leu	Gln	Asp	Leu	Ser	Leu	Leu	Arg	Arg	Ala	Gly			
[1644]				20					25					30					
[1645]	Val	Thr	Trp	Gln	His	Gln	Pro	Asp	Ser	Gly	Pro	Pro	Ala	Ala	Ala	Pro			
[1646]			35					40					45						
[1647]	Gly	His	Pro	Leu	Ala	Pro	Gly	Pro	His	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Ser	Trp			
[1648]		50					55					60							
[1649]	Gly	Pro	Arg	Pro	Arg	Arg	Tyr	Thr	Val	Leu	Ser	Val	Gly	Pro	Gly	Gly			
[1650]	65					70					75				80				
[1651]	Leu	Arg	Ser	Gly	Arg	Leu	Pro	Leu	Gln	Pro	Arg	Val	Gln	Leu	Asp	Glu			
[1652]				85					90					95					
[1653]	Arg	Gly	Arg	Gln	Arg	Gly	Asp	Phe	Ser	Leu	Trp	Leu	Arg	Pro	Ala	Arg			
[1654]			100					105					110						
[1655]	Arg	Ala	Asp	Ala	Gly	Glu	Tyr	Arg	Ala	Ala	Val	His	Leu	Arg	Asp	Arg			
[1656]			115					120					125						
[1657]	Ala	Leu	Ser	Cys	Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Gly	Gln	Ala	Ser	Met	Thr			
[1658]		130					135					140							
[1659]	Ala	Ser	Pro	Pro	Gly	Ser	Leu	Arg	Ala	Ser	Asp	Trp	Val	Ile	Leu	Asn			
[1660]	145					150					155				160				
[1661]	Cys	Ser	Phe	Ser	Arg	Pro	Asp	Arg	Pro	Ala	Ser	Val	His	Trp	Phe	Arg			
[1662]				165					170					175					
[1663]	Asn	Arg	Gly	Gln	Gly	Arg	Val	Pro	Val	Arg	Glu	Ser	Pro	His	His	His			
[1664]			180						185					190					
[1665]	Leu	Ala	Glu	Ser	Phe	Leu	Phe	Leu	Pro	Gln	Val	Ser	Pro	Met	Asp	Ser			
[1666]			195					200					205						
[1667]	Gly	Pro	Trp	Gly	Cys	Ile	Leu	Thr	Tyr	Arg	Asp	Gly	Phe	Asn	Val	Ser			
[1668]		210					215					220							
[1669]	Ile	Met	Tyr	Asn	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Glu	Pro	Pro	Thr	Pro	Leu			
[1670]	225					230					235				240				
[1671]	Thr	Val	Tyr	Ala	Gly	Ala	Gly	Ser	Arg	Val	Gly	Leu	Pro	Cys	Arg	Leu			
[1672]				245					250					255					
[1673]	Pro	Ala	Gly	Val	Gly	Thr	Arg	Ser	Phe	Leu	Thr	Ala	Lys	Trp	Thr	Pro			
[1674]			260						265					270					
[1675]	Pro	Gly	Gly	Gly	Pro	Asp	Leu	Leu	Val	Thr	Gly	Asp	Asn	Gly	Asp	Phe			
[1676]			275					280					285						

[1677]	Thr	Leu	Arg	Leu	Glu	Asp	Val	Ser	Gln	Ala	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr
[1678]		290					295				300					
[1679]	Cys	His	Ile	His	Leu	Gln	Glu	Gln	Gln	Leu	Asn	Ala	Thr	Val	Thr	Leu
[1680]	305					310				315						320
[1681]	Ala	Ile	Ile	Thr	Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Phe	Gly	Ser	Pro	Gly	Ser	Leu
[1682]					325					330					335	
[1683]	Gly	Lys	Leu	Leu	Cys	Glu	Val	Thr	Pro	Val	Ser	Gly	Gln	Glu	Arg	Phe
[1684]				340					345					350		
[1685]	Val	Trp	Ser	Ser	Leu	Asp	Thr	Pro	Ser	Gln	Arg	Ser	Phe	Ser	Gly	Pro
[1686]			355					360					365			
[1687]	Trp	Leu	Glu	Ala	Gln	Glu	Ala	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln	Pro	Trp	Gln	Cys
[1688]	370					375					380					
[1689]	Gln	Leu	Tyr	Gln	Gly	Glu	Arg	Leu	Leu	Gly	Ala	Ala	Val	Tyr	Phe	Thr
[1690]	385					390					395					400
[1691]	Glu	Leu	Ser	Ser	Pro	Gly	Ala	Gln	Arg	Ser	Gly	Arg	Ala	Pro	Gly	Ala
[1692]					405					410					415	
[1693]	Leu	Pro	Ala	Gly	His	Leu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys
[1694]			420						425				430			
[1695]	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
[1696]			435					440					445			
[1697]	Lys	Pro	Lys	Asp	Gln	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
[1698]	450					455					460					
[1699]	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp
[1700]	465					470					475					480
[1701]	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
[1702]				485					490						495	
[1703]	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
[1704]				500					505				510			
[1705]	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Ser	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Ser
[1706]			515					520				525				
[1707]	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Asn	Ala	Thr	Gly
[1708]	530						535					540				
[1709]	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu
[1710]	545					550					555					560
[1711]	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
[1712]				565						570					575	
[1713]	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
[1714]				580						585				590		
[1715]	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe

[1716]	595	600	605
[1717]	Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn		
[1718]	610	615	620
[1719]	Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
[1720]	625	630	635
[1721]	Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ile Glu Gly Arg Met Asp		
[1722]	645	650	655
[1723]	Leu Gln Leu His Trp Arg Leu Gly Glu Met Val Thr Arg Leu Pro Asp		
[1724]	660	665	670
[1725]	Gly Pro Ala Gly Ser Trp Glu Gln Leu Ile Gln Glu Arg Arg Ser His		
[1726]	675	680	685
[1727]	Glu Val Asn Pro Ala Ala His Leu Thr Gly Ala Asn Ser Ser Leu Thr		
[1728]	690	695	700
[1729]	Gly Ser Gly Gly Pro Leu Leu Trp Glu Thr Gln Leu Gly Leu Ala Phe		
[1730]	705	710	715
[1731]	Leu Arg Gly Leu Ser Tyr His Asp Gly Ala Leu Val Val Thr Lys Ala		
[1732]	725	730	735
[1733]	Gly Tyr Tyr Tyr Ile Tyr Ser Lys Val Gln Leu Gly Gly Val Gly Cys		
[1734]	740	745	750
[1735]	Pro Leu Gly Leu Ala Ser Thr Ile Thr His Gly Leu Tyr Lys Arg Thr		
[1736]	755	760	765
[1737]	Pro Arg Tyr Pro Glu Glu Leu Glu Leu Val Ser Gln Gln Ser Pro		
[1738]	770	775	780
[1739]	Cys Gly Arg Ala Thr Ser Ser Ser Arg Val Trp Trp Asp Ser Ser Phe		
[1740]	785	790	795
[1741]	Leu Gly Gly Val Val His Leu Glu Ala Gly Glu Lys Val Val Val Arg		
[1742]	805	810	815
[1743]	Val Leu Asp Glu Arg Leu Val Arg Leu Arg Asp Gly Thr Arg Ser Tyr		
[1744]	820	825	830
[1745]	Phe Gly Ala Phe Met Val		
[1746]	835		
[1747]	<210> 44		
[1748]	<211> 597		
[1749]	<212> PRT		
[1750]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1751]	<220>		
[1752]	<223> 合成多肽		
[1753]	<400> 44		
[1754]	Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln Asn Ala Tyr Leu Pro		

[1755]	1	5	10	15
[1756]	Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu Val Pro Val Cys Trp			
[1757]	20	25	30	
[1758]	Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly Asn Val Val Leu Arg			
[1759]	35	40	45	
[1760]	Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser Arg Tyr Trp Leu Asn			
[1761]	50	55	60	
[1762]	Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Val Thr			
[1763]	65	70	75	80
[1764]	Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile			
[1765]	85	90	95	
[1766]	Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val Ile Lys Pro Ala Lys			
[1767]	100	105	110	
[1768]	Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe Thr Ala Ala Phe Pro			
[1769]	115	120	125	
[1770]	Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala Glu Thr Gln Thr Leu			
[1771]	130	135	140	
[1772]	Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile Ser Thr Leu Ala Asn			
[1773]	145	150	155	160
[1774]	Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu Arg Asp Ser Gly Ala			
[1775]	165	170	175	
[1776]	Thr Ile Arg Ile Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro			
[1777]	180	185	190	
[1778]	Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys			
[1779]	195	200	205	
[1780]	Pro Lys Asp Gln Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val			
[1781]	210	215	220	
[1782]	Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr			
[1783]	225	230	235	240
[1784]	Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu			
[1785]	245	250	255	
[1786]	Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His			
[1787]	260	265	270	
[1788]	Gln Asp Trp Leu Ser Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Ser Lys			
[1789]	275	280	285	
[1790]	Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Asn Ala Thr Gly Gln			
[1791]	290	295	300	
[1792]	Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met			
[1793]	305	310	315	320

[1794]	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
[1795]					325					330					335	
[1796]	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
[1797]					340					345					350	
[1798]	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
[1799]					355					360					365	
[1800]	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val
[1801]					370					375					380	
[1802]	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
[1803]																
[1804]	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Ile	Glu	Gly	Arg	Met	Asp	Leu
[1805]																
[1806]	Gln	Leu	His	Trp	Arg	Leu	Gly	Glu	Met	Val	Thr	Arg	Leu	Pro	Asp	Gly
[1807]																
[1808]	Pro	Ala	Gly	Ser	Trp	Glu	Gln	Leu	Ile	Gln	Glu	Arg	Arg	Ser	His	Glu
[1809]																
[1810]	Val	Asn	Pro	Ala	Ala	His	Leu	Thr	Gly	Ala	Asn	Ser	Ser	Leu	Thr	Gly
[1811]																
[1812]	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	Leu	Trp	Glu	Thr	Gln	Leu	Gly	Leu	Ala	Phe	Leu
[1813]																
[1814]	Arg	Gly	Leu	Ser	Tyr	His	Asp	Gly	Ala	Leu	Val	Val	Thr	Lys	Ala	Gly
[1815]																
[1816]	Tyr	Tyr	Tyr	Ile	Tyr	Ser	Lys	Val	Gln	Leu	Gly	Gly	Val	Gly	Cys	Pro
[1817]																
[1818]	Leu	Gly	Leu	Ala	Ser	Thr	Ile	Thr	His	Gly	Leu	Tyr	Lys	Arg	Thr	Pro
[1819]																
[1820]	Arg	Tyr	Pro	Glu	Glu	Leu	Glu	Leu	Leu	Val	Ser	Gln	Gln	Ser	Pro	Cys
[1821]																
[1822]	Gly	Arg	Ala	Thr	Ser	Ser	Ser	Arg	Val	Trp	Trp	Asp	Ser	Ser	Phe	Leu
[1823]																
[1824]	Gly	Gly	Val	Val	His	Leu	Glu	Ala	Gly	Glu	Lys	Val	Val	Val	Arg	Val
[1825]																
[1826]	Leu	Asp	Glu	Arg	Leu	Val	Arg	Leu	Arg	Asp	Gly	Thr	Arg	Ser	Tyr	Phe
[1827]																
[1828]	Gly	Ala	Phe	Met	Val											
[1829]																
[1830]	<210>	45														
[1831]	<211>	569														
[1832]	<212>	PRT														

[1833]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[1834]	<220>															
[1835]	<223> 合成多肽															
[1836]	<400> 45															
[1837]	Met	Met	Thr	Gly	Thr	Ile	Glu	Thr	Thr	Gly	Asn	Ile	Ser	Ala	Glu	Lys
[1838]	1				5					10					15	
[1839]	Gly	Gly	Ser	Ile	Ile	Leu	Gln	Cys	His	Leu	Ser	Ser	Thr	Thr	Ala	Gln
[1840]					20					25					30	
[1841]	Val	Thr	Gln	Val	Asn	Trp	Glu	Gln	Gln	Asp	Gln	Leu	Leu	Ala	Ile	Cys
[1842]					35					40					45	
[1843]	Asn	Ala	Asp	Leu	Gly	Trp	His	Ile	Ser	Pro	Ser	Phe	Lys	Asp	Arg	Val
[1844]					50					55					60	
[1845]	Ala	Pro	Gly	Pro	Gly	Leu	Gly	Leu	Thr	Leu	Gln	Ser	Leu	Thr	Val	Asn
[1846]	65					70					75					80
[1847]	Asp	Thr	Gly	Glu	Tyr	Phe	Cys	Ile	Tyr	His	Thr	Tyr	Pro	Asp	Gly	Thr
[1848]					85					90						95
[1849]	Tyr	Thr	Gly	Arg	Ile	Phe	Leu	Glu	Val	Leu	Glu	Ser	Ser	Val	Ala	Glu
[1850]					100					105					110	
[1851]	His	Gly	Ala	Arg	Phe	Gln	Ile	Pro	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro
[1852]					115					120					125	
[1853]	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
[1854]					130					135					140	
[1855]	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Gln	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
[1856]	145					150					155					160
[1857]	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe
[1858]					165					170					175	
[1859]	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
[1860]					180					185					190	
[1861]	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
[1862]					195					200					205	
[1863]	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Ser	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
[1864]					210					215					220	
[1865]	Ser	Ser	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Asn	Ala
[1866]	225					230					235					240
[1867]	Thr	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln
[1868]					245					250					255	
[1869]	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
[1870]					260					265					270	
[1871]	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro

[1872]	275	280	285
[1873]	Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser		
[1874]	290	295	300
[1875]	Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu		
[1876]	305	310	315
[1877]	Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His		
[1878]	325	330	335
[1879]	Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ile Glu Gly Arg		
[1880]	340	345	350
[1881]	Met Asp His Arg Arg Leu Asp Lys Ile Glu Asp Glu Arg Asn Leu His		
[1882]	355	360	365
[1883]	Glu Asp Phe Val Phe Met Lys Thr Ile Gln Arg Cys Asn Thr Gly Glu		
[1884]	370	375	380
[1885]	Arg Ser Leu Ser Leu Leu Asn Cys Glu Glu Ile Lys Ser Gln Phe Glu		
[1886]	385	390	395
[1887]	Gly Phe Val Lys Asp Ile Met Leu Asn Lys Glu Glu Thr Lys Lys Glu		
[1888]	405	410	415
[1889]	Asn Ser Phe Glu Met Gln Lys Gly Asp Gln Asn Pro Gln Ile Ala Ala		
[1890]	420	425	430
[1891]	His Val Ile Ser Glu Ala Ser Ser Lys Thr Thr Ser Val Leu Gln Trp		
[1892]	435	440	445
[1893]	Ala Glu Lys Gly Tyr Tyr Thr Met Ser Asn Asn Leu Val Thr Leu Glu		
[1894]	450	455	460
[1895]	Asn Gly Lys Gln Leu Thr Val Lys Arg Gln Gly Leu Tyr Tyr Ile Tyr		
[1896]	465	470	475
[1897]	Ala Gln Val Thr Phe Cys Ser Asn Arg Glu Ala Ser Ser Gln Ala Pro		
[1898]	485	490	495
[1899]	Phe Ile Ala Ser Leu Cys Leu Lys Ser Pro Gly Arg Phe Glu Arg Ile		
[1900]	500	505	510
[1901]	Leu Leu Arg Ala Ala Asn Thr His Ser Ser Ala Lys Pro Cys Gly Gln		
[1902]	515	520	525
[1903]	Gln Ser Ile His Leu Gly Gly Val Phe Glu Leu Gln Pro Gly Ala Ser		
[1904]	530	535	540
[1905]	Val Phe Val Asn Val Thr Asp Pro Ser Gln Val Ser His Gly Thr Gly		
[1906]	545	550	555
[1907]	Phe Thr Ser Phe Gly Leu Leu Lys Leu		
[1908]	565		
[1909]	<210> 46		
[1910]	<211> 217		

[1911]	<212>	PRT
[1912]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1913]	<220>	
[1914]	<223>	合成多肽
[1915]	<400>	46
[1916]	Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys	
[1917]	1 5 10 15	
[1918]	Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val	
[1919]	20 25 30	
[1920]	Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr	
[1921]	35 40 45	
[1922]	Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu	
[1923]	50 55 60	
[1924]	Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His	
[1925]	65 70 75 80	
[1926]	Gln Asp Trp Leu Ser Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Ser Lys	
[1927]	85 90 95	
[1928]	Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Asn Ala Thr Gly Gln	
[1929]	100 105 110	
[1930]	Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met	
[1931]	115 120 125	
[1932]	Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro	
[1933]	130 135 140	
[1934]	Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn	
[1935]	145 150 155 160	
[1936]	Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu	
[1937]	165 170 175	
[1938]	Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Trp Gln Glu Gly Asn Val	
[1939]	180 185 190	
[1940]	Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln	
[1941]	195 200 205	
[1942]	Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys	
[1943]	210 215	
[1944]	<210>	47
[1945]	<211>	217
[1946]	<212>	PRT
[1947]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1948]	<220>	
[1949]	<223>	合成多肽

[1950]	<400> 47
[1951]	Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
[1952]	1 5 10 15
[1953]	Pro Lys Asp Gln Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
[1954]	20 25 30
[1955]	Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
[1956]	35 40 45
[1957]	Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
[1958]	50 55 60
[1959]	Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Thr Pro His
[1960]	65 70 75 80
[1961]	Ser Asp Trp Leu Ser Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Ser Lys
[1962]	85 90 95
[1963]	Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Asn Ala Thr Gly Gln
[1964]	100 105 110
[1965]	Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
[1966]	115 120 125
[1967]	Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
[1968]	130 135 140
[1969]	Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
[1970]	145 150 155 160
[1971]	Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
[1972]	165 170 175
[1973]	Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Trp Gln Glu Gly Asn Val
[1974]	180 185 190
[1975]	Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
[1976]	195 200 205
[1977]	Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
[1978]	210 215
[1979]	<210> 48
[1980]	<211> 217
[1981]	<212> PRT
[1982]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1983]	<220>
[1984]	<223> 合成多肽
[1985]	<400> 48
[1986]	Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
[1987]	1 5 10 15
[1988]	Pro Lys Asp Gln Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

[1989]	20	25	30
[1990]	Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr		
[1991]	35	40	45
[1992]	Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		
[1993]	50	55	60
[1994]	Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
[1995]	65	70	75
[1996]	Gln Asp Trp Leu Ser Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Ser Lys		
[1997]	85	90	95
[1998]	Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Asn Ala Thr Gly Gln		
[1999]	100	105	110
[2000]	Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met		
[2001]	115	120	125
[2002]	Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
[2003]	130	135	140
[2004]	Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
[2005]	145	150	155
[2006]	Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
[2007]	165	170	175
[2008]	Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val		
[2009]	180	185	190
[2010]	Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln		
[2011]	195	200	205
[2012]	Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		
[2013]	210	215	
[2014]	<210> 49		
[2015]	<211> 11		
[2016]	<212> PRT		
[2017]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2018]	<220>		
[2019]	<223> 合成多肽		
[2020]	<400> 49		
[2021]	Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro		
[2022]	1	5	10
[2023]	<210> 50		
[2024]	<211> 11		
[2025]	<212> PRT		
[2026]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2027]	<220>		

[2028]	<223> 合成多肽
[2029]	<400> 50
[2030]	Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
[2031]	1 5 10
[2032]	<210> 51
[2033]	<211> 6
[2034]	<212> PRT
[2035]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2036]	<220>
[2037]	<223> 合成多肽
[2038]	<400> 51
[2039]	Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
[2040]	1 5
[2041]	<210> 52
[2042]	<211> 6
[2043]	<212> PRT
[2044]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2045]	<220>
[2046]	<223> 合成多肽
[2047]	<400> 52
[2048]	Ile Glu Gly Arg Met Asp
[2049]	1 5
[2050]	<210> 53
[2051]	<211> 9
[2052]	<212> PRT
[2053]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2054]	<220>
[2055]	<223> 合成多肽
[2056]	<400> 53
[2057]	Gly Gly Gly Val Pro Arg Asp Cys Gly
[2058]	1 5
[2059]	<210> 54
[2060]	<211> 15
[2061]	<212> PRT
[2062]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2063]	<220>
[2064]	<223> 合成多肽
[2065]	<400> 54
[2066]	Ile Glu Gly Arg Met Asp Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly

[2067]	1	5	10	15
[2068]	<210> 55			
[2069]	<211> 8			
[2070]	<212> PRT			
[2071]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[2072]	<220>			
[2073]	<223> 合成多肽			
[2074]	<400> 55			
[2075]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser			
[2076]	1	5		
[2077]	<210> 56			
[2078]	<211> 12			
[2079]	<212> PRT			
[2080]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[2081]	<220>			
[2082]	<223> 合成多肽			
[2083]	<400> 56			
[2084]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly			
[2085]	1	5	10	
[2086]	<210> 57			
[2087]	<211> 14			
[2088]	<212> PRT			
[2089]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[2090]	<220>			
[2091]	<223> 合成多肽			
[2092]	<400> 57			
[2093]	Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr			
[2094]	1	5	10	
[2095]	<210> 58			
[2096]	<211> 4			
[2097]	<212> PRT			
[2098]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[2099]	<220>			
[2100]	<223> 合成多肽			
[2101]	<400> 58			
[2102]	Gly Gly Ser Gly			
[2103]	1			
[2104]	<210> 59			
[2105]	<211> 12			

[2106]	<212>	PRT
[2107]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2108]	<220>	
[2109]	<223>	合成多肽
[2110]	<400>	59
[2111]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly	
[2112]	1	5 10
[2113]	<210>	60
[2114]	<211>	15
[2115]	<212>	PRT
[2116]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2117]	<220>	
[2118]	<223>	合成多肽
[2119]	<400>	60
[2120]	Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys	
[2121]	1	5 10 15
[2122]	<210>	61
[2123]	<211>	20
[2124]	<212>	PRT
[2125]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2126]	<220>	
[2127]	<223>	合成多肽
[2128]	<400>	61
[2129]	Glu Ala Ala Ala Arg Glu Ala Ala Ala Arg Glu Ala Ala Ala Arg Glu	
[2130]	1	5 10 15
[2131]	Ala Ala Ala Arg	
[2132]		20
[2133]	<210>	62
[2134]	<211>	17
[2135]	<212>	PRT
[2136]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2137]	<220>	
[2138]	<223>	合成多肽
[2139]	<400>	62
[2140]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala	
[2141]	1	5 10 15
[2142]	Ser	
[2143]	<210>	63
[2144]	<211>	9

[2145] <212> PRT
[2146] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2147] <220>
[2148] <223> 合成多肽
[2149] <400> 63
[2150] Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly
[2151] 1 5
[2152] <210> 64
[2153] <400> 64
[2154] 000
[2155] <210> 65
[2156] <211> 6
[2157] <212> PRT
[2158] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2159] <220>
[2160] <223> 合成多肽
[2161] <400> 65
[2162] Gly Ser Gly Ser Gly Ser
[2163] 1 5
[2164] <210> 66
[2165] <211> 10
[2166] <212> PRT
[2167] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2168] <220>
[2169] <223> 合成多肽
[2170] <400> 66
[2171] Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
[2172] 1 5 10
[2173] <210> 67
[2174] <211> 7
[2175] <212> PRT
[2176] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2177] <220>
[2178] <223> 合成多肽
[2179] <400> 67
[2180] Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser
[2181] 1 5
[2182] <210> 68
[2183] <211> 20

[2184]	<212> PRT
[2185]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2186]	<220>
[2187]	<223> 合成多肽
[2188]	<400> 68
[2189]	Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
[2190]	1 5 10 15
[2191]	Ala Pro Ala Pro
[2192]	20
[2193]	<210> 69
[2194]	<211> 4
[2195]	<212> PRT
[2196]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2197]	<220>
[2198]	<223> 合成多肽
[2199]	<400> 69
[2200]	Cys Pro Pro Cys
[2201]	1
[2202]	<210> 70
[2203]	<211> 5
[2204]	<212> PRT
[2205]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2206]	<220>
[2207]	<223> 合成多肽
[2208]	<400> 70
[2209]	Gly Gly Gly Gly Ser
[2210]	1 5
[2211]	<210> 71
[2212]	<211> 10
[2213]	<212> PRT
[2214]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2215]	<220>
[2216]	<223> 合成多肽
[2217]	<400> 71
[2218]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[2219]	1 5 10
[2220]	<210> 72
[2221]	<211> 15
[2222]	<212> PRT

[2223]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2224]	<220>	
[2225]	<223>	合成多肽
[2226]	<400>	72
[2227]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser	
[2228]	1	5 10 15
[2229]	<210>	73
[2230]	<211>	20
[2231]	<212>	PRT
[2232]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2233]	<220>	
[2234]	<223>	合成多肽
[2235]	<400>	73
[2236]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly	
[2237]	1	5 10 15
[2238]	Gly Gly Gly Ser	
[2239]		20
[2240]	<210>	74
[2241]	<211>	25
[2242]	<212>	PRT
[2243]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2244]	<220>	
[2245]	<223>	合成多肽
[2246]	<400>	74
[2247]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly	
[2248]	1	5 10 15
[2249]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser	
[2250]		20 25
[2251]	<210>	75
[2252]	<211>	30
[2253]	<212>	PRT
[2254]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2255]	<220>	
[2256]	<223>	合成多肽
[2257]	<400>	75
[2258]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly	
[2259]	1	5 10 15
[2260]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser	
[2261]		20 25 30

[2262]	<210> 76
[2263]	<211> 35
[2264]	<212> PRT
[2265]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2266]	<220>
[2267]	<223> 合成多肽
[2268]	<400> 76
[2269]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[2270]	1 5 10 15
[2271]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[2272]	20 25 30
[2273]	Gly Gly Ser
[2274]	35
[2275]	<210> 77
[2276]	<211> 40
[2277]	<212> PRT
[2278]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2279]	<220>
[2280]	<223> 合成多肽
[2281]	<400> 77
[2282]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[2283]	1 5 10 15
[2284]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[2285]	20 25 30
[2286]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[2287]	35 40
[2288]	<210> 78
[2289]	<211> 16
[2290]	<212> PRT
[2291]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2292]	<220>
[2293]	<223> 合成多肽
[2294]	<400> 78
[2295]	Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[2296]	1 5 10 15
[2297]	<210> 79
[2298]	<211> 8
[2299]	<212> PRT
[2300]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2301]	<220>
[2302]	<223> 合成多肽
[2303]	<400> 79
[2304]	Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
[2305]	1 5
[2306]	<210> 80
[2307]	<211> 6
[2308]	<212> PRT
[2309]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2310]	<220>
[2311]	<223> 合成多肽
[2312]	<400> 80
[2313]	Gly Gly Gly Gly Gly Gly
[2314]	1 5
[2315]	<210> 81
[2316]	<211> 5
[2317]	<212> PRT
[2318]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2319]	<220>
[2320]	<223> 合成多肽
[2321]	<400> 81
[2322]	Glu Ala Ala Ala Lys
[2323]	1 5
[2324]	<210> 82
[2325]	<211> 10
[2326]	<212> PRT
[2327]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2328]	<220>
[2329]	<223> 合成多肽
[2330]	<400> 82
[2331]	Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
[2332]	1 5 10
[2333]	<210> 83
[2334]	<211> 15
[2335]	<212> PRT
[2336]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2337]	<220>
[2338]	<223> 合成多肽
[2339]	<400> 83

[2340]	Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
[2341]	1 5 10 15
[2342]	<210> 84
[2343]	<211> 12
[2344]	<212> PRT
[2345]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2346]	<220>
[2347]	<223> 合成多肽
[2348]	<400> 84
[2349]	Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala
[2350]	1 5 10
[2351]	<210> 85
[2352]	<211> 17
[2353]	<212> PRT
[2354]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2355]	<220>
[2356]	<223> 合成多肽
[2357]	<400> 85
[2358]	Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
[2359]	1 5 10 15
[2360]	Ala
[2361]	<210> 86
[2362]	<211> 22
[2363]	<212> PRT
[2364]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2365]	<220>
[2366]	<223> 合成多肽
[2367]	<400> 86
[2368]	Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
[2369]	1 5 10 15
[2370]	Glu Ala Ala Ala Lys Ala
[2371]	20
[2372]	<210> 87
[2373]	<211> 27
[2374]	<212> PRT
[2375]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2376]	<220>
[2377]	<223> 合成多肽
[2378]	<400> 87

[2379]	Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
[2380]	1 5 10 15
[2381]	Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala
[2382]	20 25
[2383]	<210> 88
[2384]	<211> 46
[2385]	<212> PRT
[2386]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2387]	<220>
[2388]	<223> 合成多肽
[2389]	<400> 88
[2390]	Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
[2391]	1 5 10 15
[2392]	Glu Ala Ala Ala Lys Ala Leu Glu Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala
[2393]	20 25 30
[2394]	Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala
[2395]	35 40 45
[2396]	<210> 89
[2397]	<211> 5
[2398]	<212> PRT
[2399]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2400]	<220>
[2401]	<223> 合成多肽
[2402]	<400> 89
[2403]	Pro Ala Pro Ala Pro
[2404]	1 5
[2405]	<210> 90
[2406]	<211> 18
[2407]	<212> PRT
[2408]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2409]	<220>
[2410]	<223> 合成多肽
[2411]	<400> 90
[2412]	Lys Glu Ser Gly Ser Val Ser Ser Glu Gln Leu Ala Gln Phe Arg Ser
[2413]	1 5 10 15
[2414]	Leu Asp
[2415]	<210> 91
[2416]	<211> 12
[2417]	<212> PRT

- [2418] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2419] <220>
[2420] <223> 合成多肽
[2421] <400> 91
[2422] Gly Ser Ala Gly Ser Ala Ala Gly Ser Gly Glu Phe
[2423] 1 5 10
[2424] <210> 92
[2425] <211> 5
[2426] <212> PRT
[2427] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2428] <220>
[2429] <223> 合成多肽
[2430] <400> 92
[2431] Gly Gly Gly Ser Glu
[2432] 1 5
[2433] <210> 93
[2434] <211> 5
[2435] <212> PRT
[2436] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2437] <220>
[2438] <223> 合成多肽
[2439] <400> 93
[2440] Gly Ser Glu Ser Gly
[2441] 1 5
[2442] <210> 94
[2443] <211> 5
[2444] <212> PRT
[2445] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2446] <220>
[2447] <223> 合成多肽
[2448] <400> 94
[2449] Gly Ser Glu Gly Ser
[2450] 1 5
[2451] <210> 95
[2452] <211> 35
[2453] <212> PRT
[2454] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2455] <220>
[2456] <223> 合成多肽

[2457]	<400> 95
[2458]	Gly Glu Gly Gly Ser Gly Glu Gly Ser Ser Gly Glu Gly Ser Ser Ser
[2459]	1 5 10 15
[2460]	Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu
[2461]	20 25 30
[2462]	Gly Gly Ser
[2463]	35
[2464]	<210> 96
[2465]	<211> 234
[2466]	<212> PRT
[2467]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2468]	<220>
[2469]	<223> 合成多肽
[2470]	<400> 96
[2471]	Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
[2472]	1 5 10 15
[2473]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
[2474]	20 25 30
[2475]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
[2476]	35 40 45
[2477]	Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
[2478]	50 55 60
[2479]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
[2480]	65 70 75 80
[2481]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Ser
[2482]	85 90 95
[2483]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Ser Lys Gly Leu Pro Ser Ser
[2484]	100 105 110
[2485]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Asn Ala Thr Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
[2486]	115 120 125
[2487]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
[2488]	130 135 140
[2489]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
[2490]	145 150 155 160
[2491]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
[2492]	165 170 175
[2493]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
[2494]	180 185 190
[2495]	Val Asp Lys Ser Ser Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

[2496]	195	200	205
[2497]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
[2498]	210	215	220
[2499]	Ser Leu Gly Lys Ile Glu Gly Arg Met Asp		
[2500]	225	230	
[2501]	<210> 97		
[2502]	<211> 234		
[2503]	<212> PRT		
[2504]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2505]	<220>		
[2506]	<223> 合成多肽		
[2507]	<400> 97		
[2508]	Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu		
[2509]	1	5	10
[2510]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Gln Leu		
[2511]	20	25	30
[2512]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
[2513]	35	40	45
[2514]	Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
[2515]	50	55	60
[2516]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		
[2517]	65	70	75
[2518]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Thr Pro His Ser Asp Trp Leu Ser		
[2519]	85	90	95
[2520]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Ser Lys Gly Leu Pro Ser Ser		
[2521]	100	105	110
[2522]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Asn Ala Thr Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
[2523]	115	120	125
[2524]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		
[2525]	130	135	140
[2526]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
[2527]	145	150	155
[2528]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
[2529]	165	170	175
[2530]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr		
[2531]	180	185	190
[2532]	Val Asp Lys Ser Ser Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
[2533]	195	200	205
[2534]	Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		

[2535]	210	215	220
[2536]	Ser Leu Gly Lys Ile Glu Gly Arg Met Asp		
[2537]	225	230	
[2538]	<210> 98		
[2539]	<211> 234		
[2540]	<212> PRT		
[2541]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2542]	<220>		
[2543]	<223> 合成多肽		
[2544]	<400> 98		
[2545]	Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu		
[2546]	1	5	10 15
[2547]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Gln Leu		
[2548]	20	25	30
[2549]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
[2550]	35	40	45
[2551]	Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
[2552]	50	55	60
[2553]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		
[2554]	65	70	75 80
[2555]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Ser		
[2556]	85	90	95
[2557]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Ser Lys Gly Leu Pro Ser Ser		
[2558]	100	105	110
[2559]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Asn Ala Thr Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
[2560]	115	120	125
[2561]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		
[2562]	130	135	140
[2563]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
[2564]	145	150	155 160
[2565]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
[2566]	165	170	175
[2567]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr		
[2568]	180	185	190
[2569]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
[2570]	195	200	205
[2571]	Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
[2572]	210	215	220
[2573]	Ser Leu Gly Lys Ile Glu Gly Arg Met Asp		

[2574]	225	230
[2575]	<210> 99	
[2576]	<211> 234	
[2577]	<212> PRT	
[2578]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
[2579]	<220>	
[2580]	<223> 合成多肽	
[2581]	<400> 99	
[2582]	Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu	
[2583]	1 5 10 15	
[2584]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu	
[2585]	20 25 30	
[2586]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser	
[2587]	35 40 45	
[2588]	Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu	
[2589]	50 55 60	
[2590]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr	
[2591]	65 70 75 80	
[2592]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Ser	
[2593]	85 90 95	
[2594]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Ser Lys Gly Leu Pro Ser Ser	
[2595]	100 105 110	
[2596]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Asn Ala Thr Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln	
[2597]	115 120 125	
[2598]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val	
[2599]	130 135 140	
[2600]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val	
[2601]	145 150 155 160	
[2602]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro	
[2603]	165 170 175	
[2604]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr	
[2605]	180 185 190	
[2606]	Val Asp Lys Ser Ser Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val	
[2607]	195 200 205	
[2608]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu	
[2609]	210 215 220	
[2610]	Ser Leu Gly Lys Ile Glu Gly Arg Met Asp	
[2611]	225 230	
[2612]	<210> 100	

[2613]	<211> 234
[2614]	<212> PRT
[2615]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2616]	<220>
[2617]	<223> 合成多肽
[2618]	<400> 100
[2619]	Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
[2620]	1 5 10 15
[2621]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Gln Leu
[2622]	20 25 30
[2623]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
[2624]	35 40 45
[2625]	Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
[2626]	50 55 60
[2627]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
[2628]	65 70 75 80
[2629]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Thr Pro His Ser Asp Trp Leu Ser
[2630]	85 90 95
[2631]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Ser Lys Gly Leu Pro Ser Ser
[2632]	100 105 110
[2633]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Asn Ala Thr Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
[2634]	115 120 125
[2635]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
[2636]	130 135 140
[2637]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
[2638]	145 150 155 160
[2639]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
[2640]	165 170 175
[2641]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
[2642]	180 185 190
[2643]	Val Asp Lys Ser Ser Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
[2644]	195 200 205
[2645]	Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
[2646]	210 215 220
[2647]	Ser Leu Gly Lys Ile Glu Gly Arg Met Asp
[2648]	225 230
[2649]	<210> 101
[2650]	<211> 234
[2651]	<212> PRT

[2652]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[2653]	<220>															
[2654]	<223> 合成多肽															
[2655]	<400> 101															
[2656]	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu
[2657]	1				5					10					15	
[2658]	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Gln	Leu
[2659]					20					25					30	
[2660]	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser
[2661]					35					40					45	
[2662]	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu
[2663]					50					55					60	
[2664]	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr
[2665]	65						70					75				80
[2666]	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Ser
[2667]						85					90					95
[2668]	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Ser	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser
[2669]						100					105				110	
[2670]	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Asn	Ala	Thr	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln
[2671]						115					120				125	
[2672]	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val
[2673]						130					135				140	
[2674]	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val
[2675]	145						150					155				160
[2676]	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro
[2677]						165					170					175
[2678]	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr
[2679]						180					185				190	
[2680]	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val
[2681]						195					200				205	
[2682]	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu
[2683]						210					215				220	
[2684]	Ser	Leu	Gly	Lys	Ile	Glu	Gly	Arg	Met	Asp						
[2685]	225															230

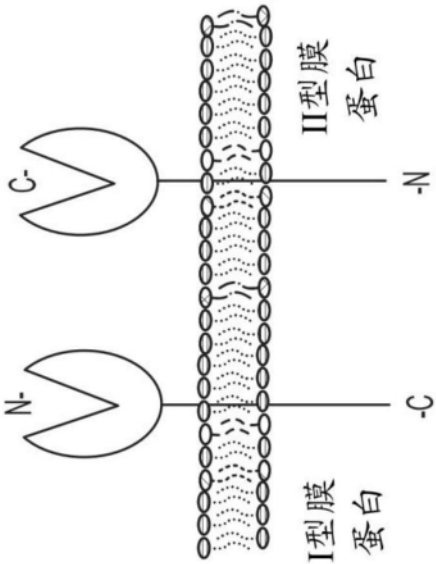


图1A

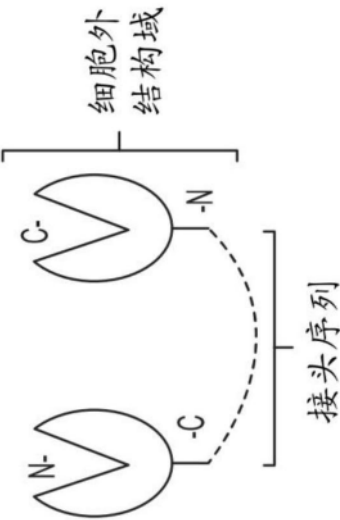


图1B

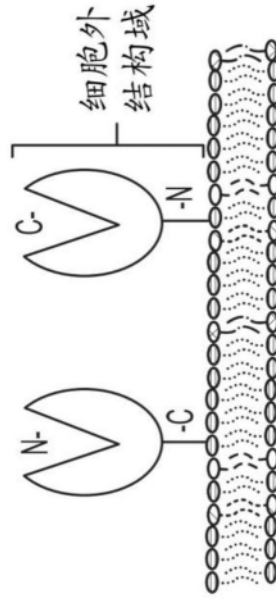


图1C

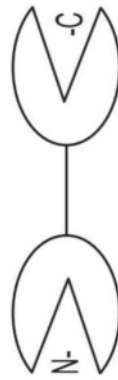


图1D

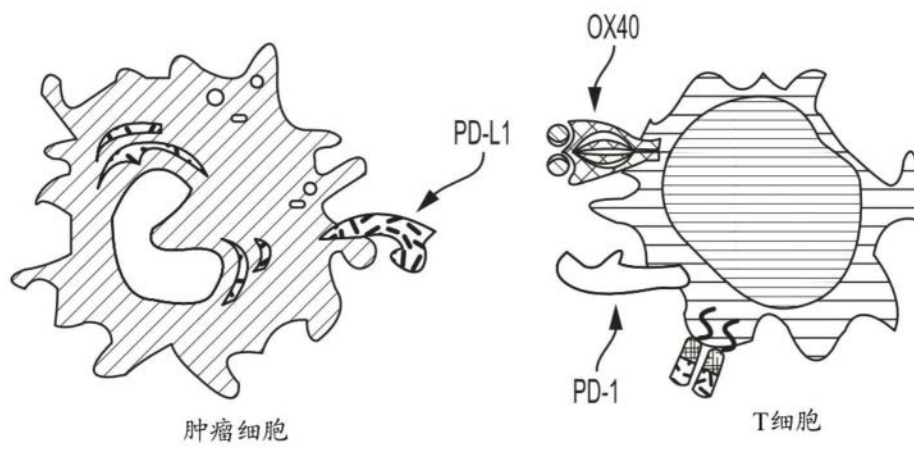


图2A

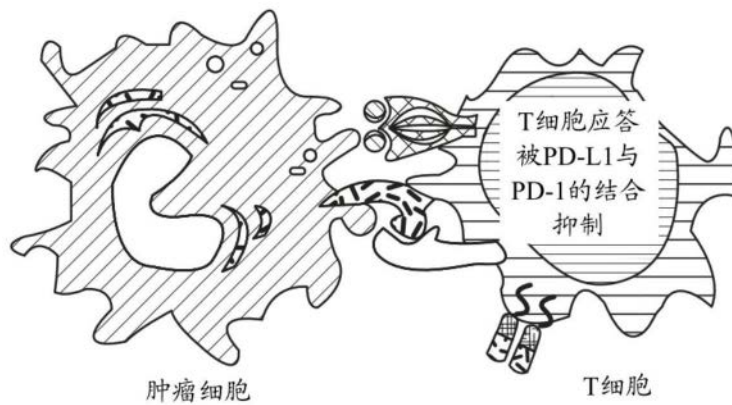


图2B

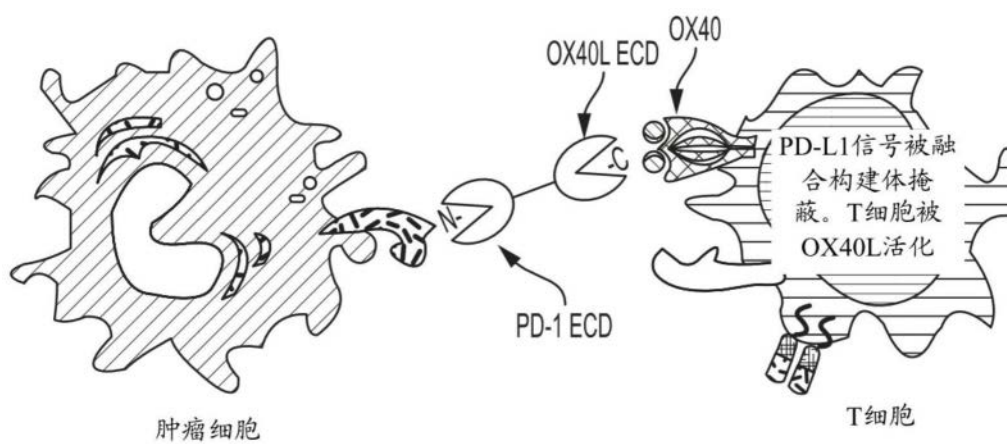


图2C

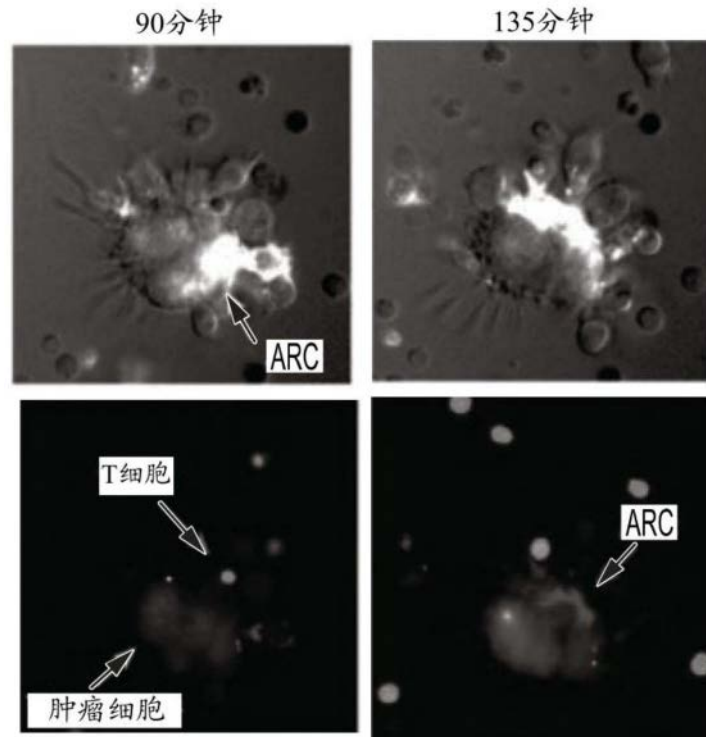


图2D

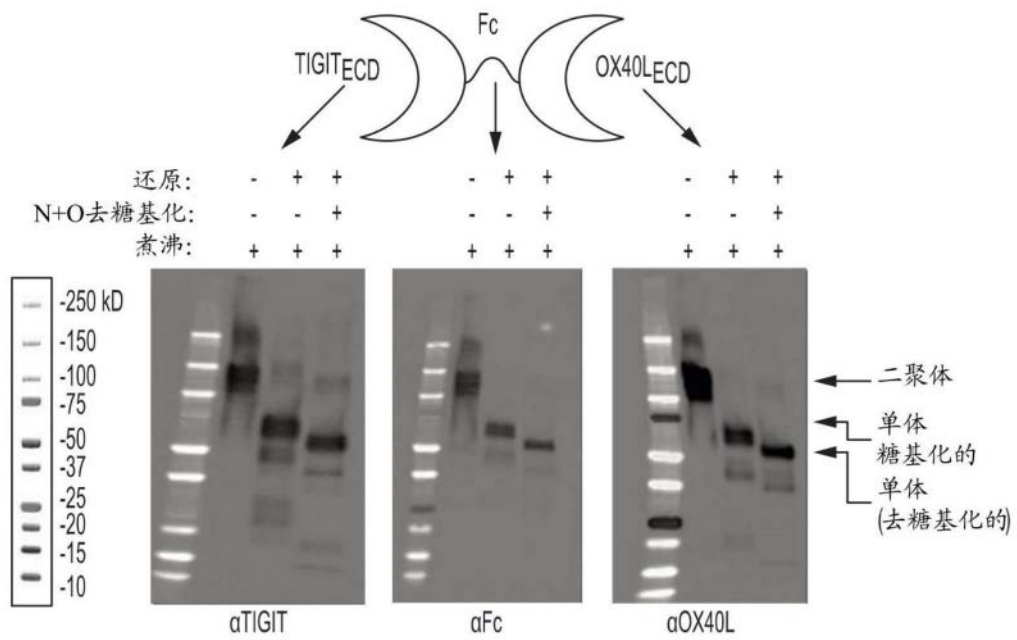


图3A

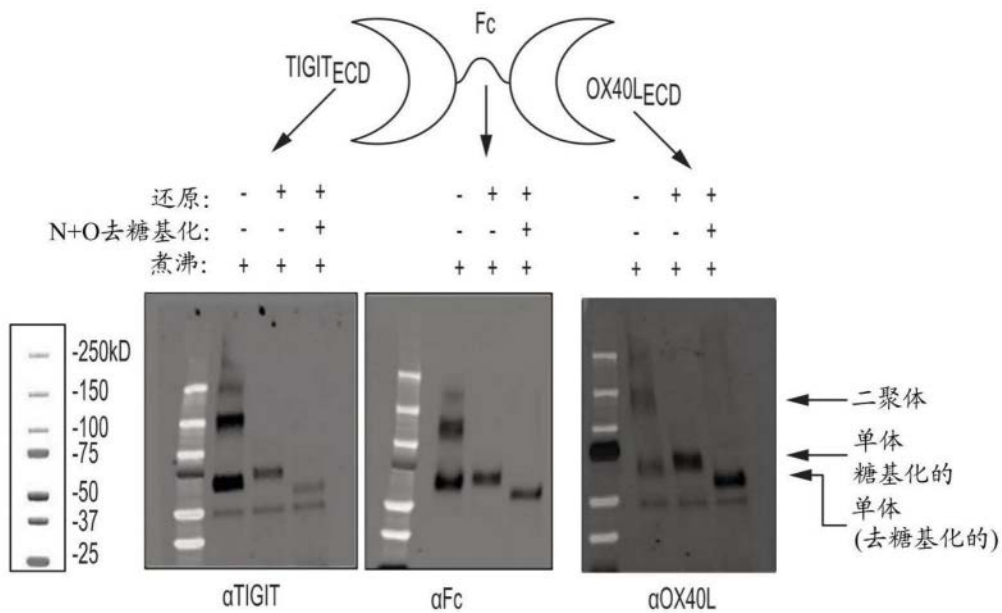


图3B

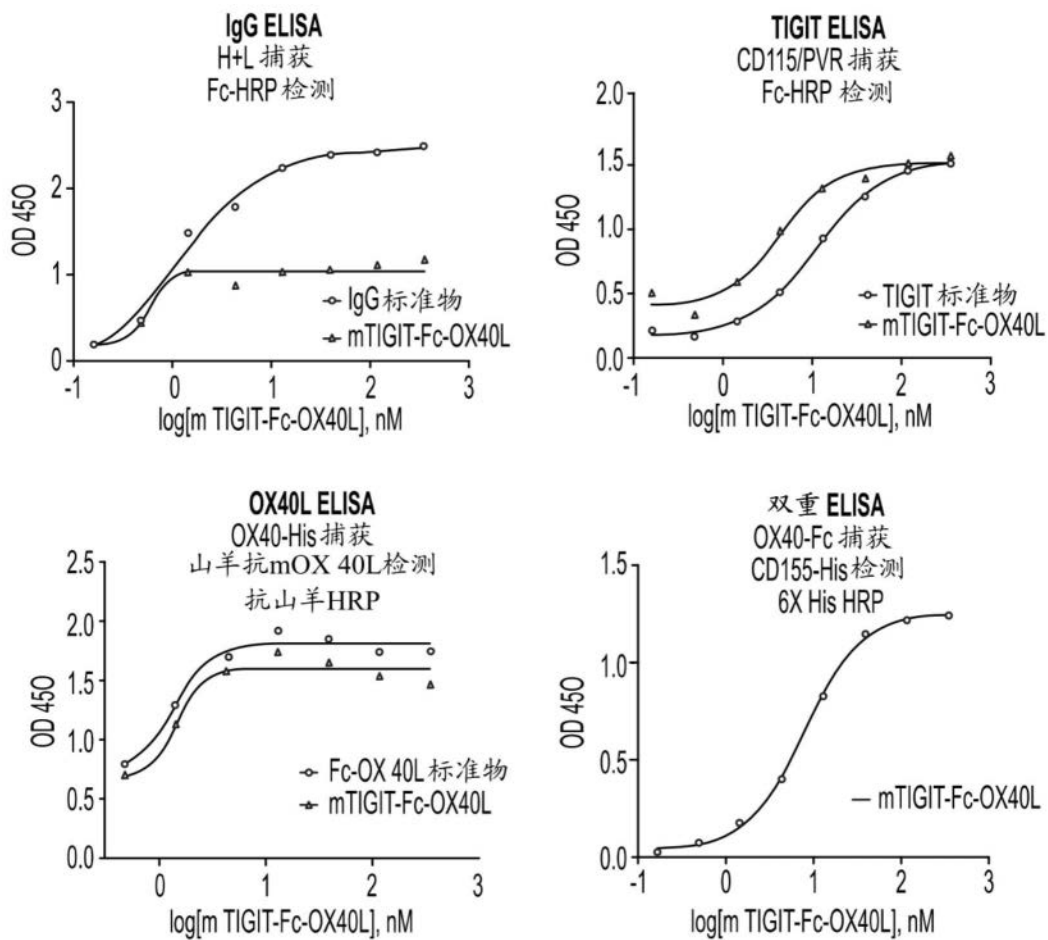


图4A

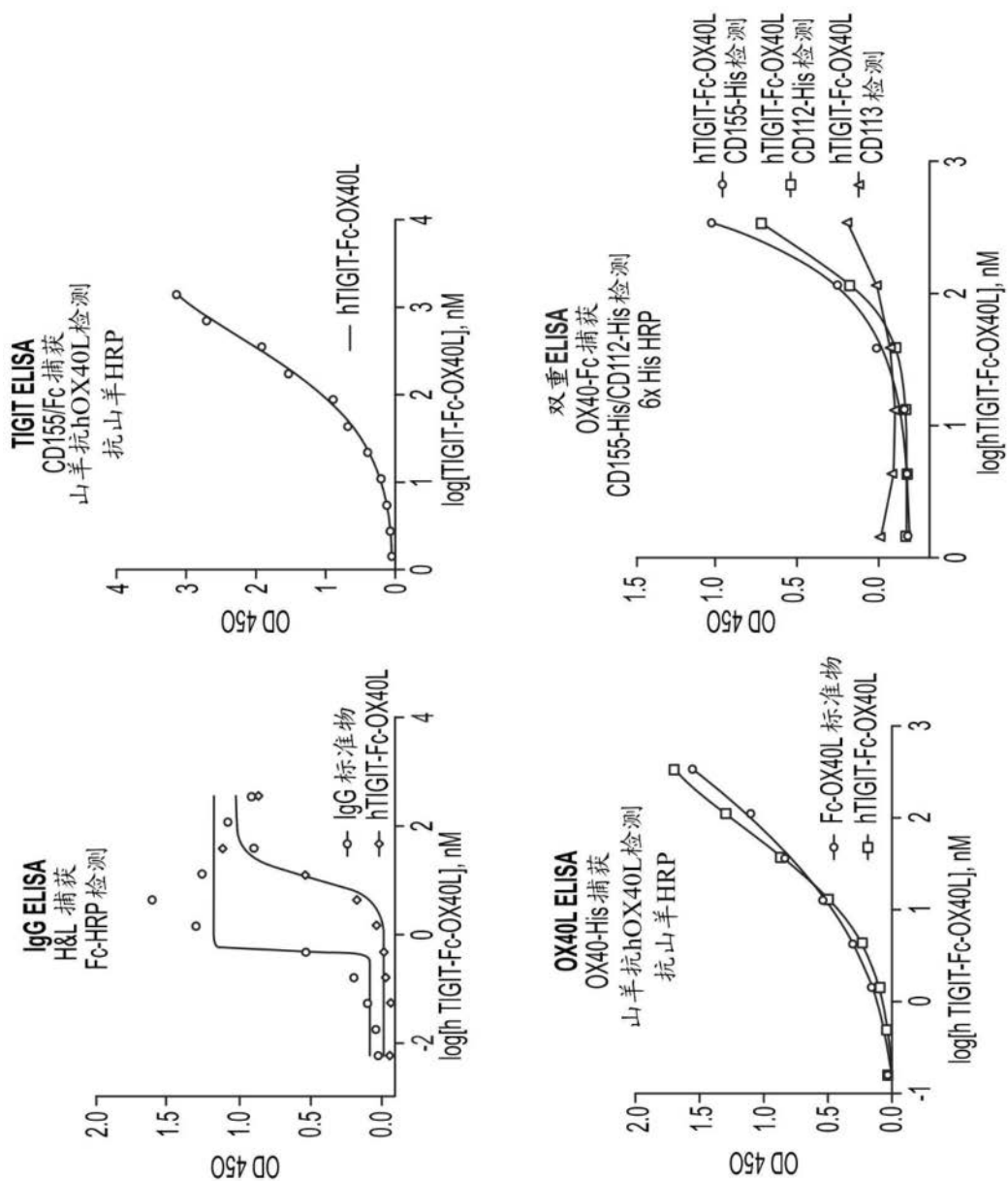


图4B

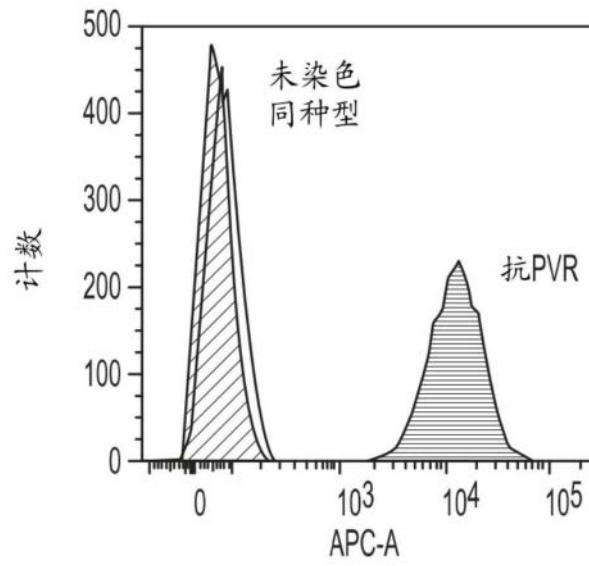


图5A

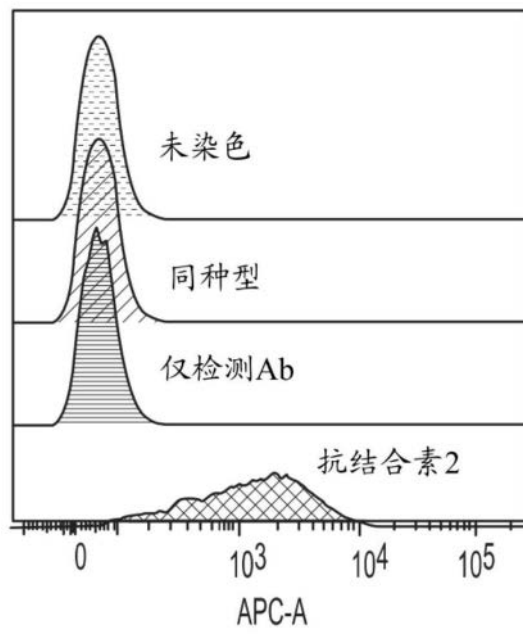


图5B

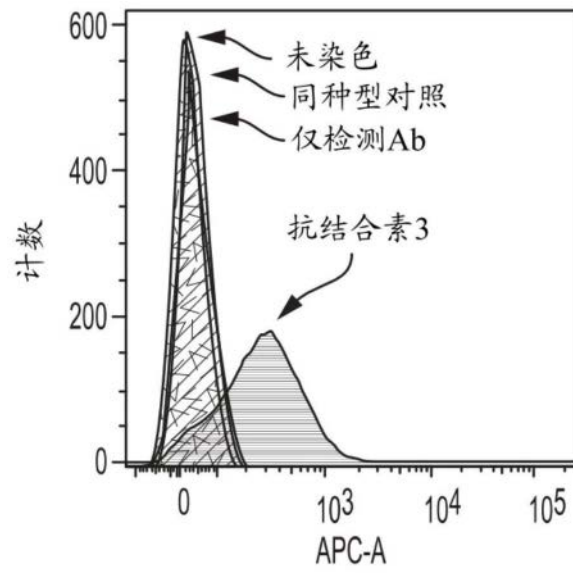


图5C

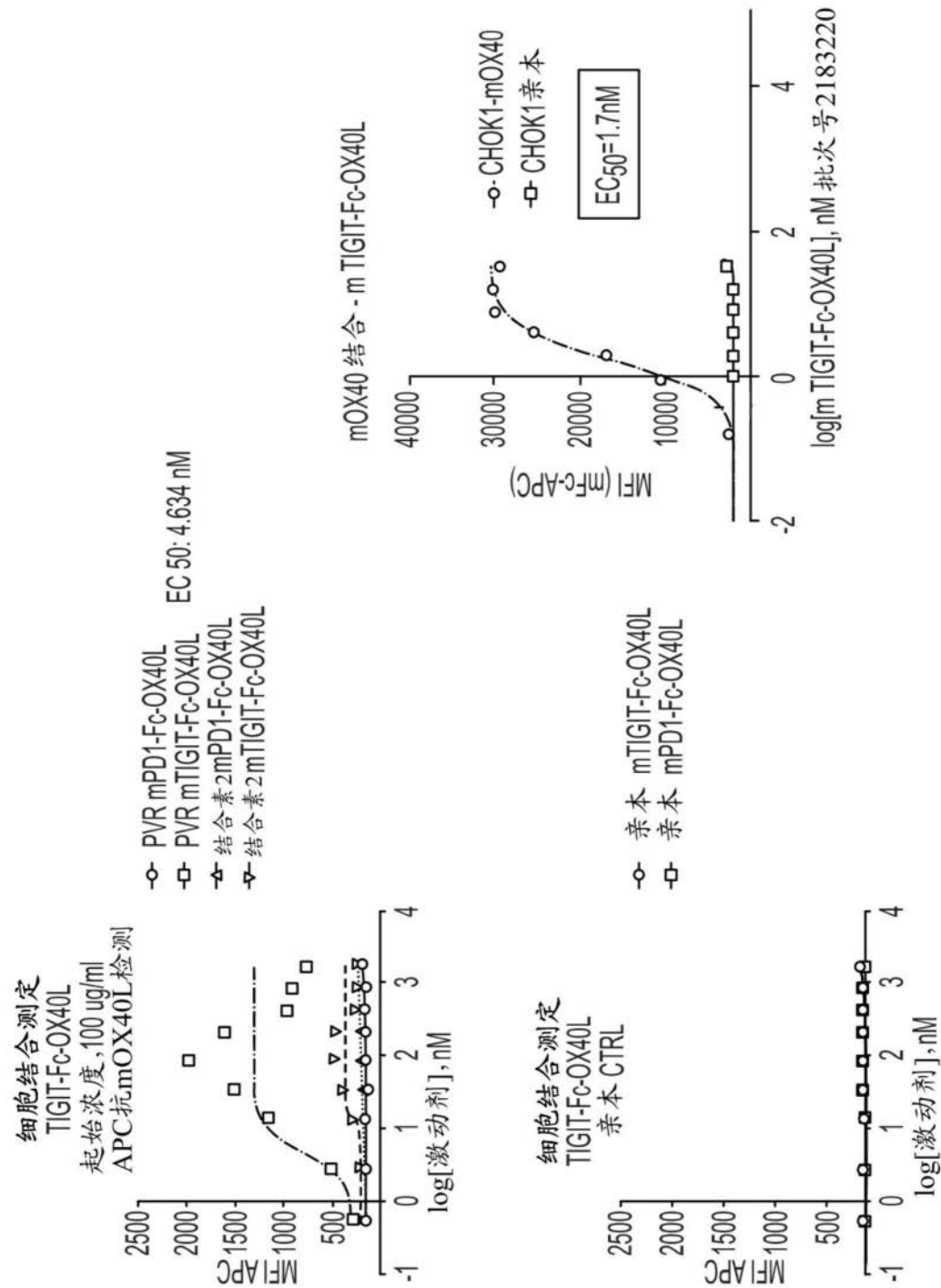


图6

基因Id	蛋白质名称	登录号	初级筛选		确认筛选		注释
			非常弱	非常弱	弱	弱	
结合素4	结合素细胞粘附分子4	BC010293				弱	
PVR	脊髓灰质炎病毒受体	BC015529	强	强	强	强	
OX40	TNF受体超家族成员4		n/a	n/a	强	强	
TNFRSF4	TNF受体超家族成员4	NM_003327.3	n/a	n/a	中	中/强	规范同种型
LGALS1	半乳凝素1	BC001693	中/强	中/强	弱	弱	可溶性的；发现与其他Fc融合蛋白一起

图7

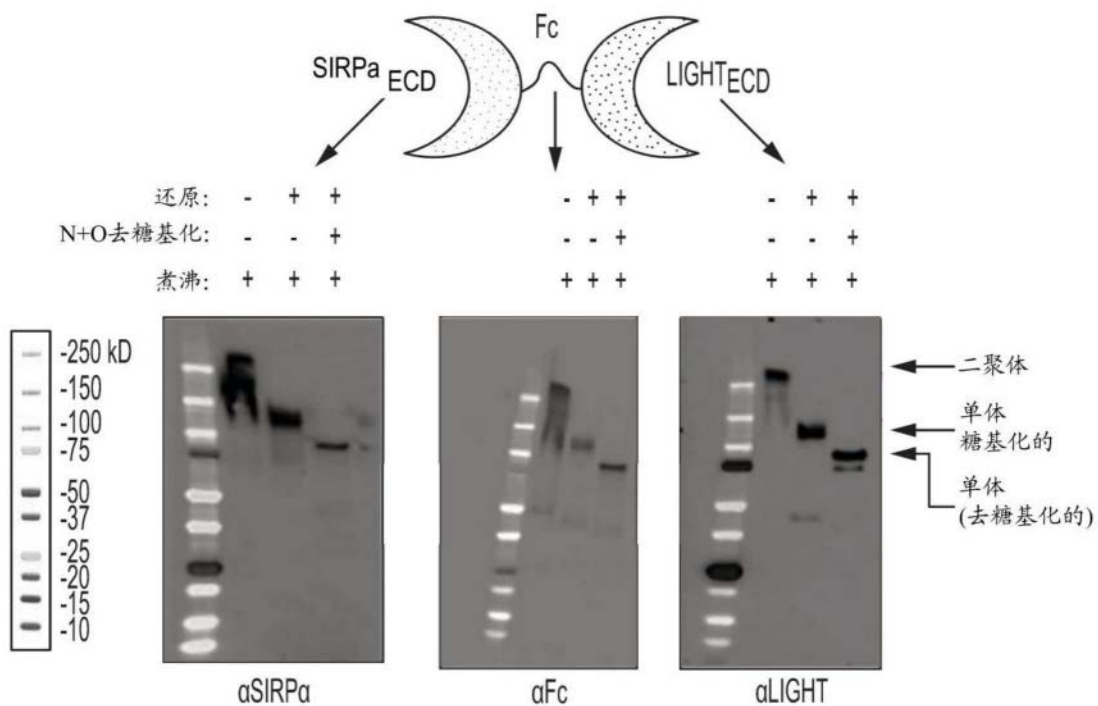


图8A

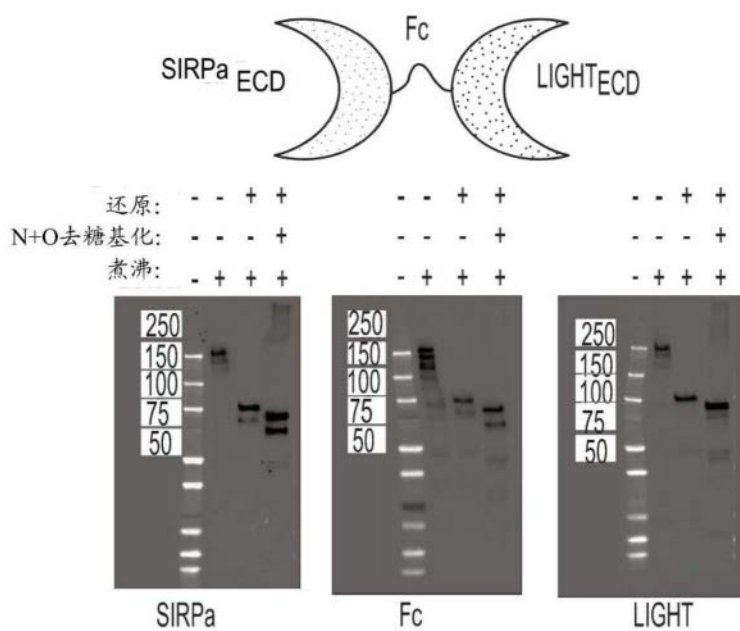


图8B

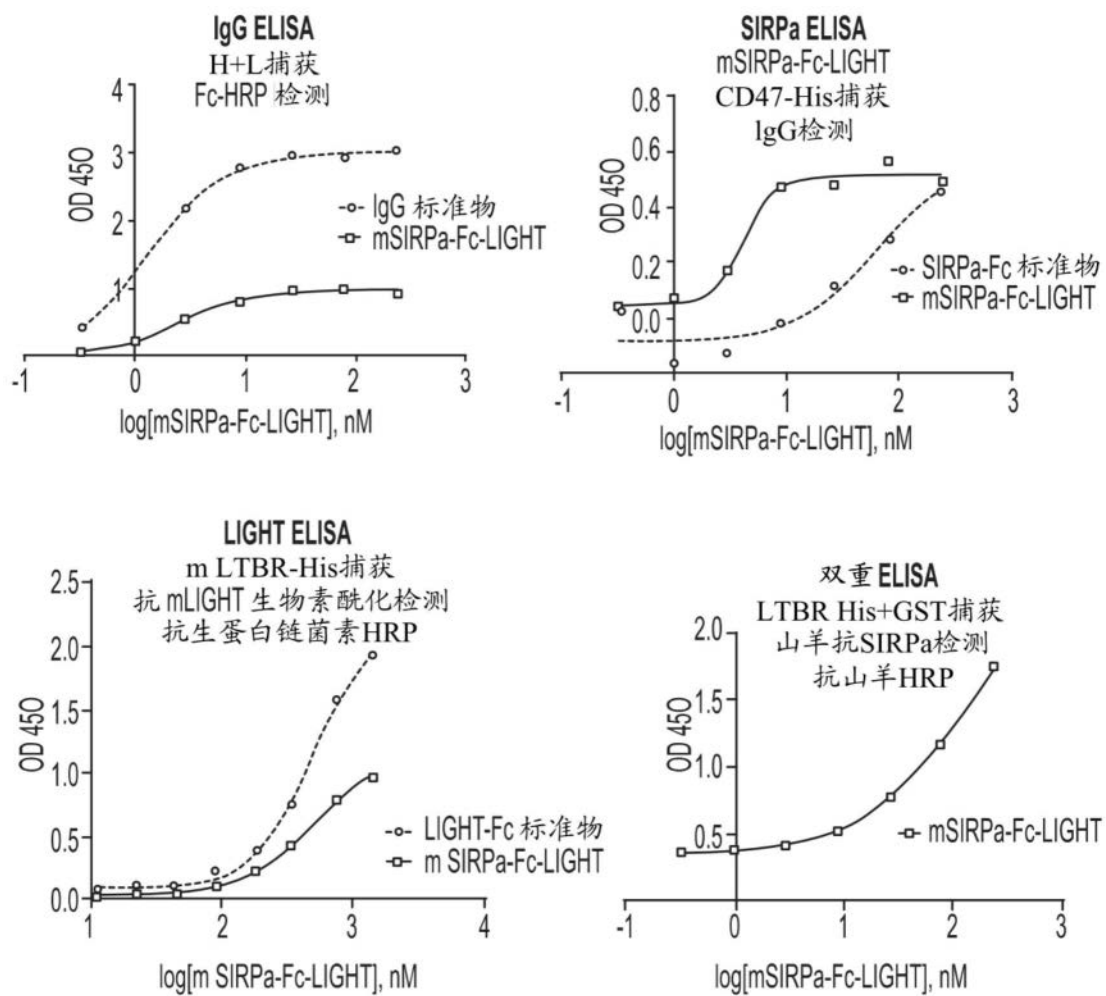


图9A

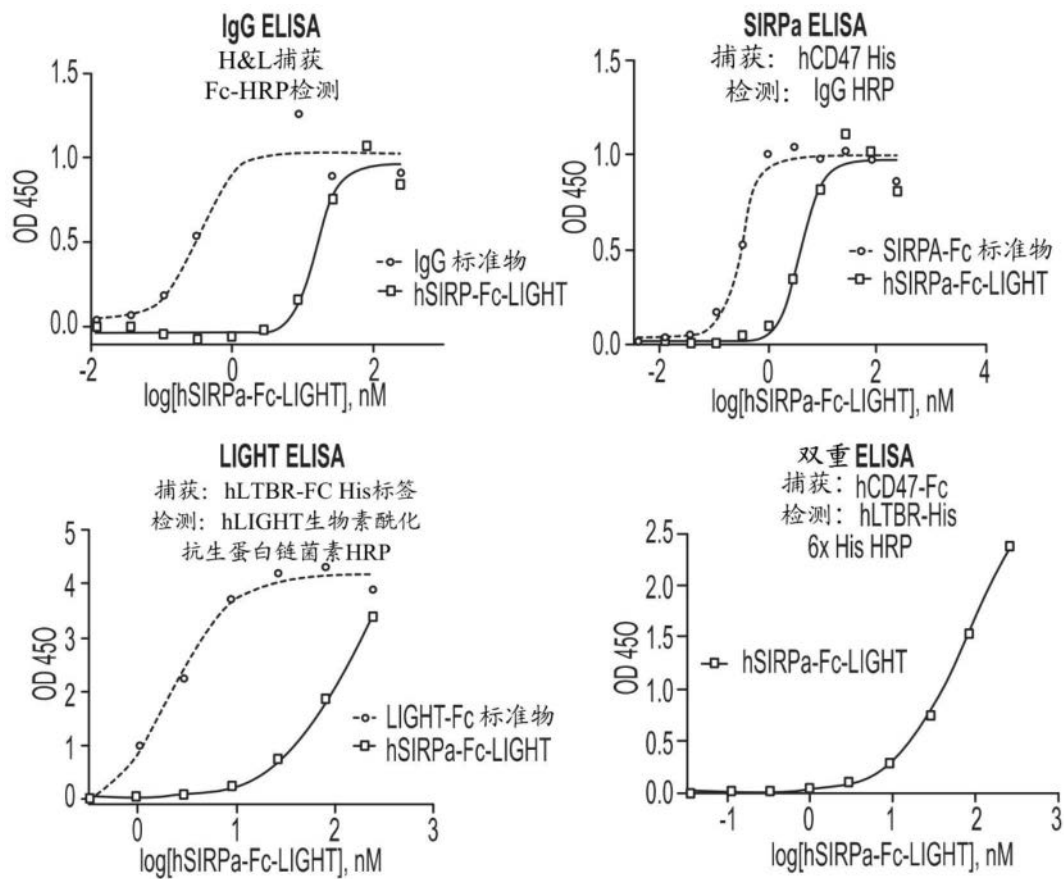


图9B

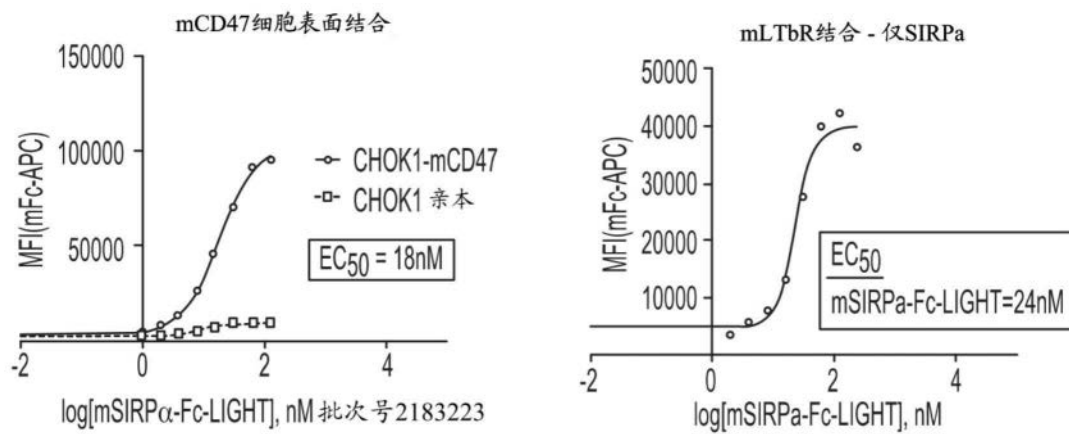


图10A

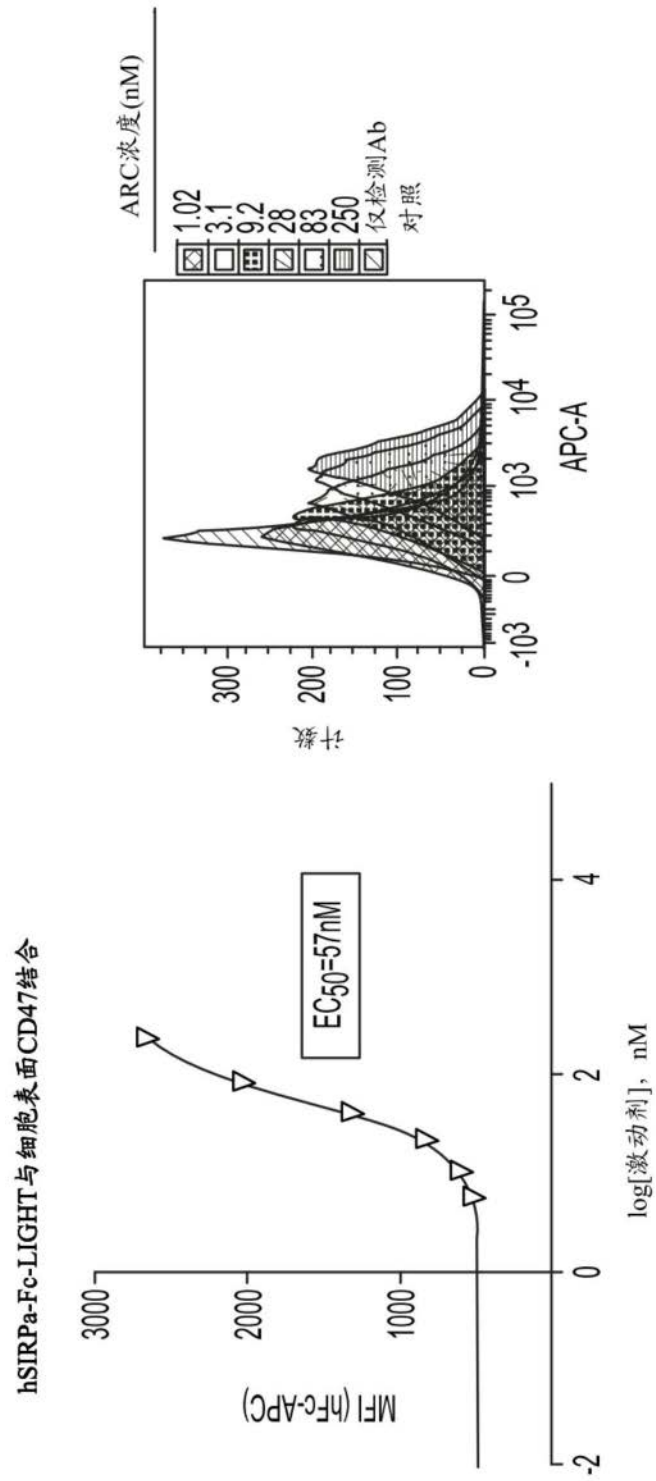


图10B

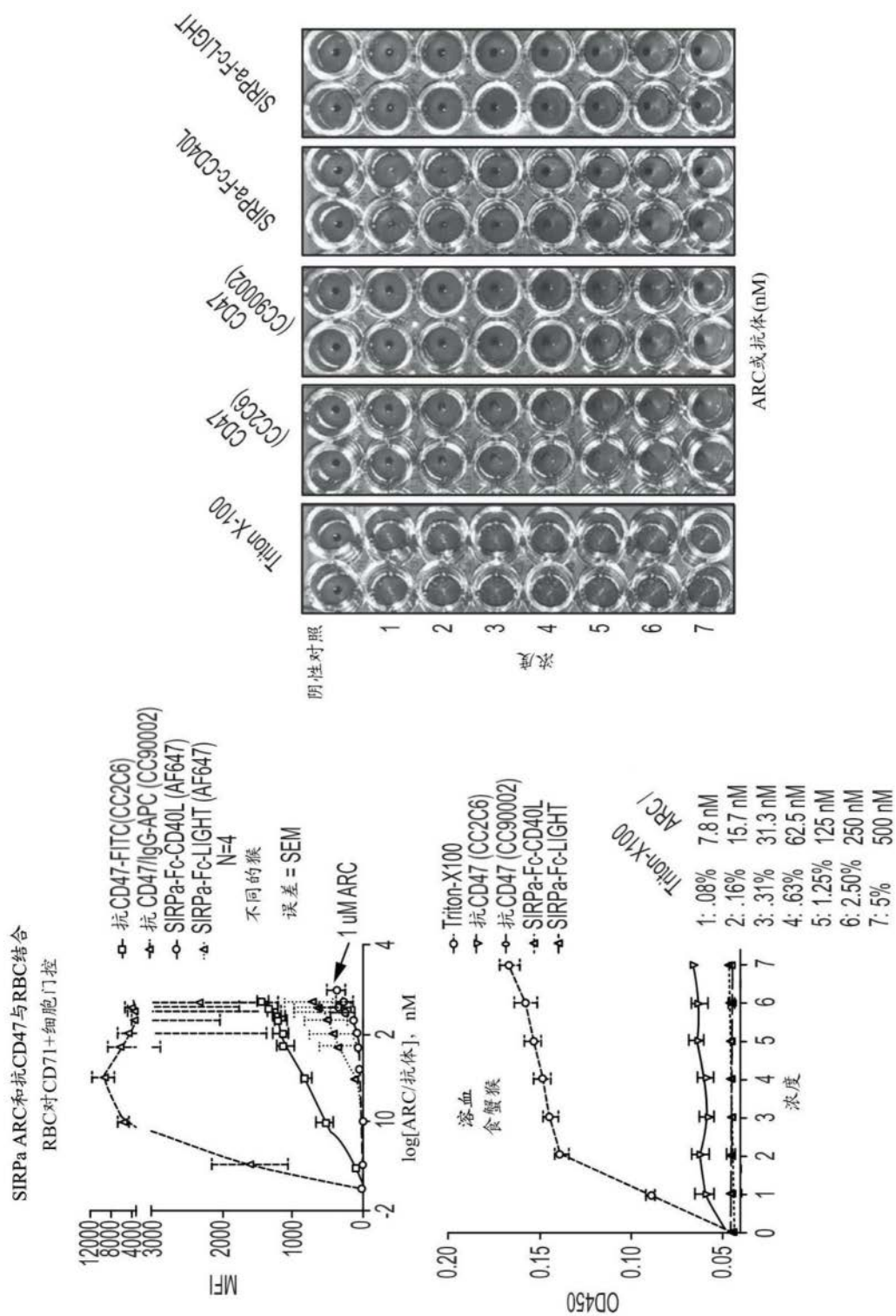


图11A

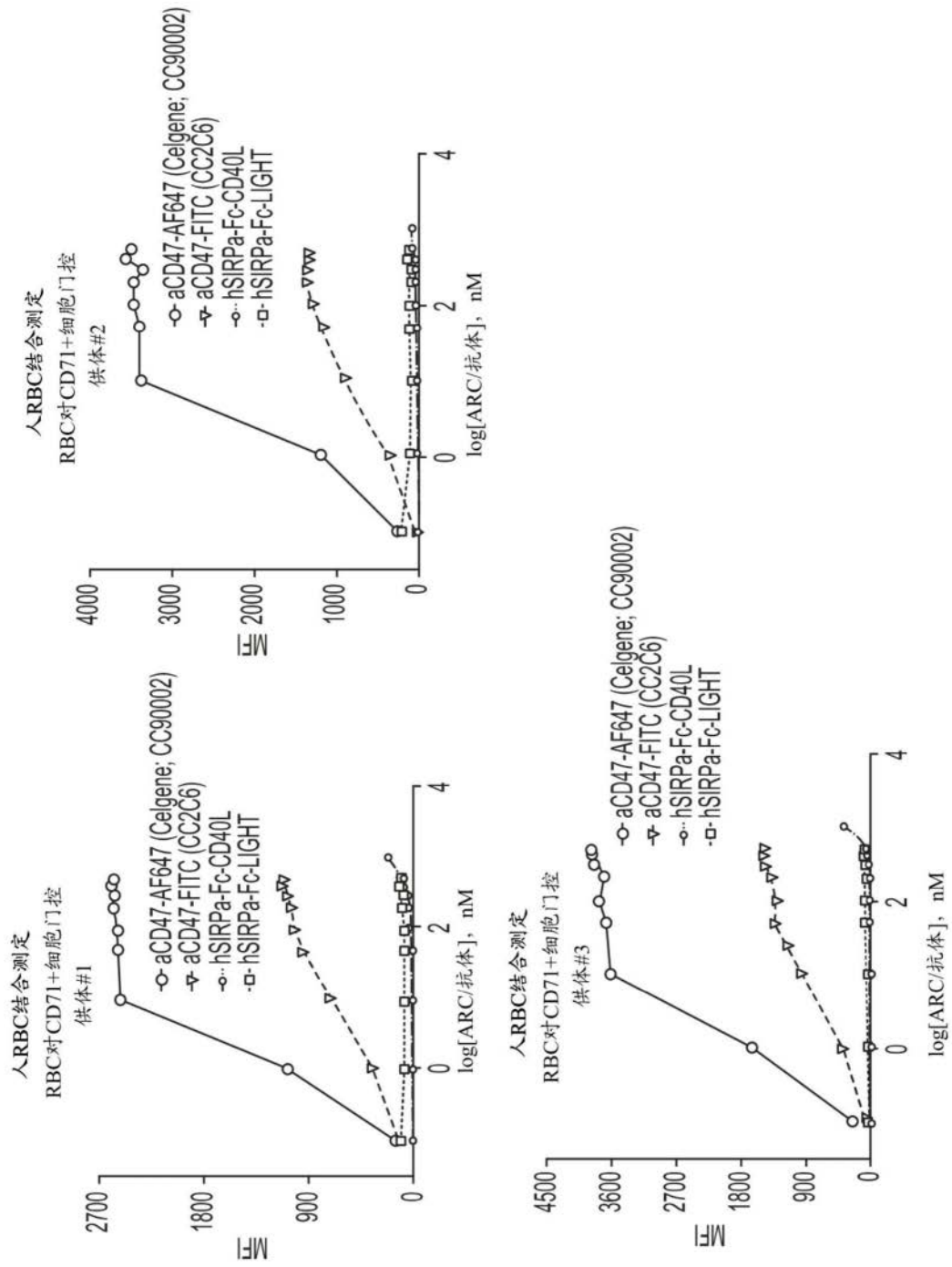


图11B

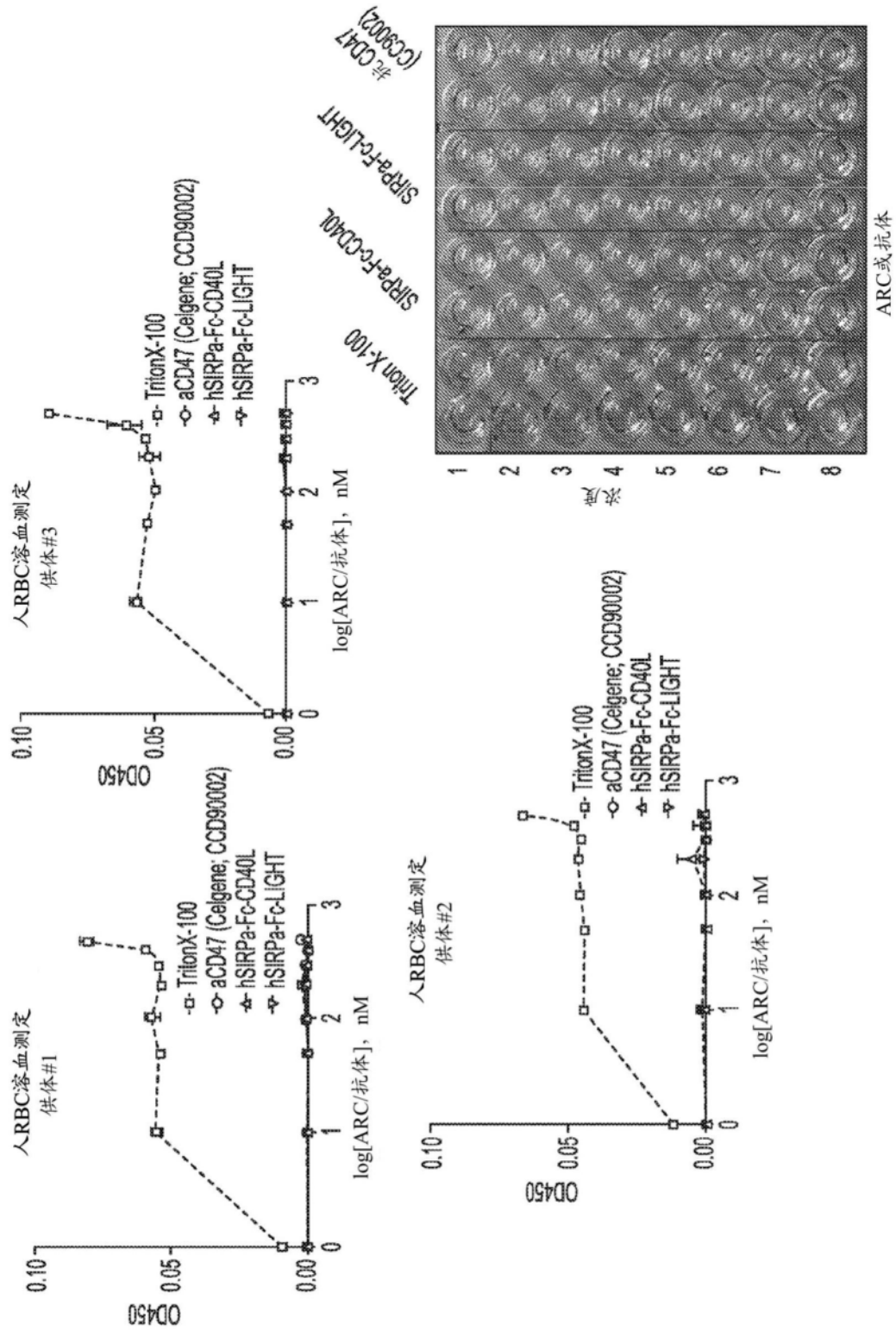


图11C

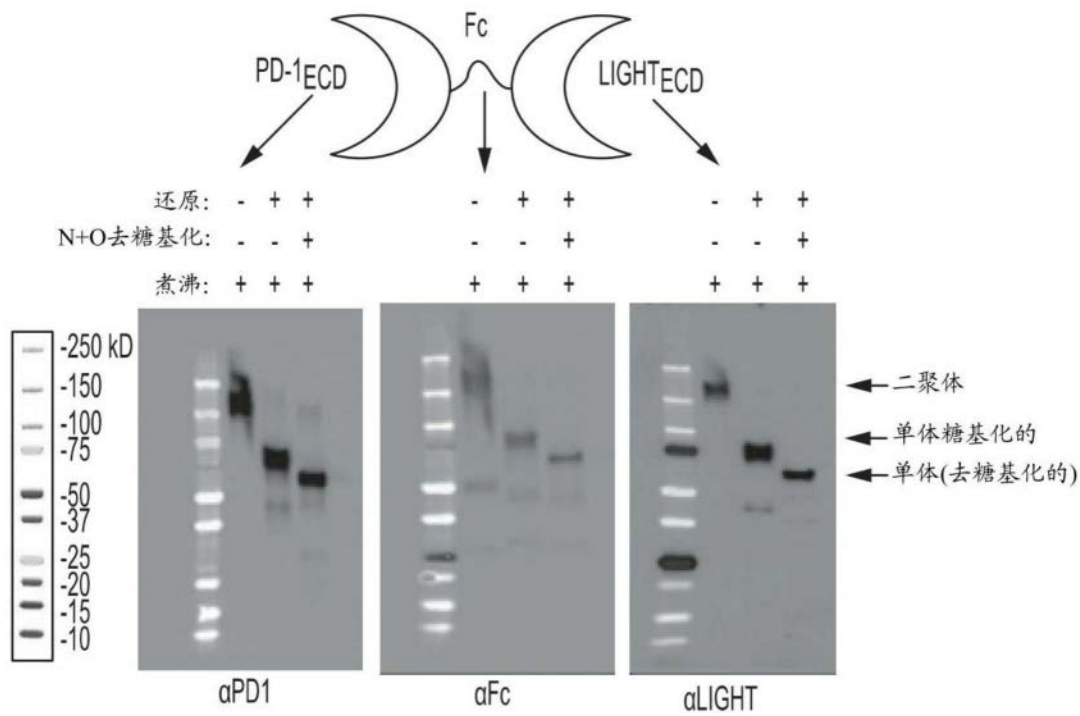


图12A

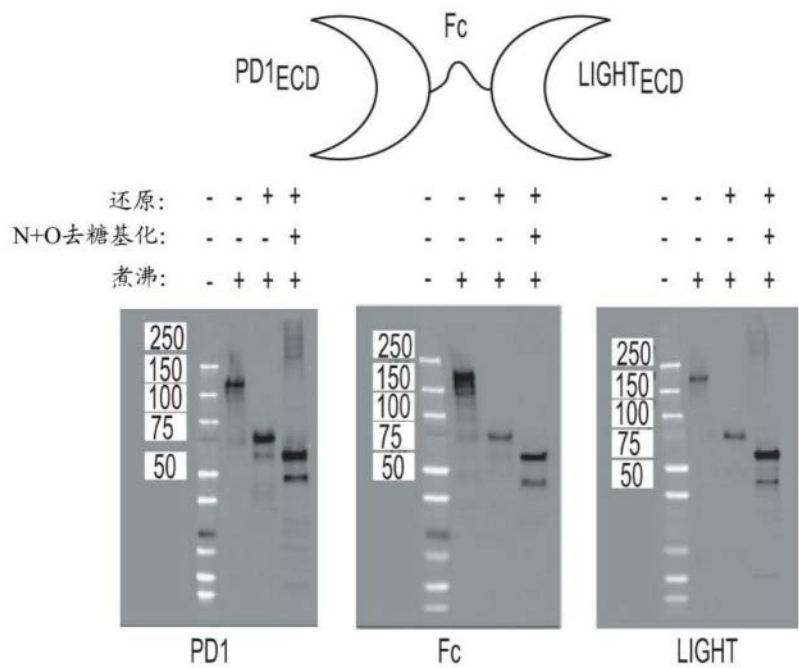


图12B

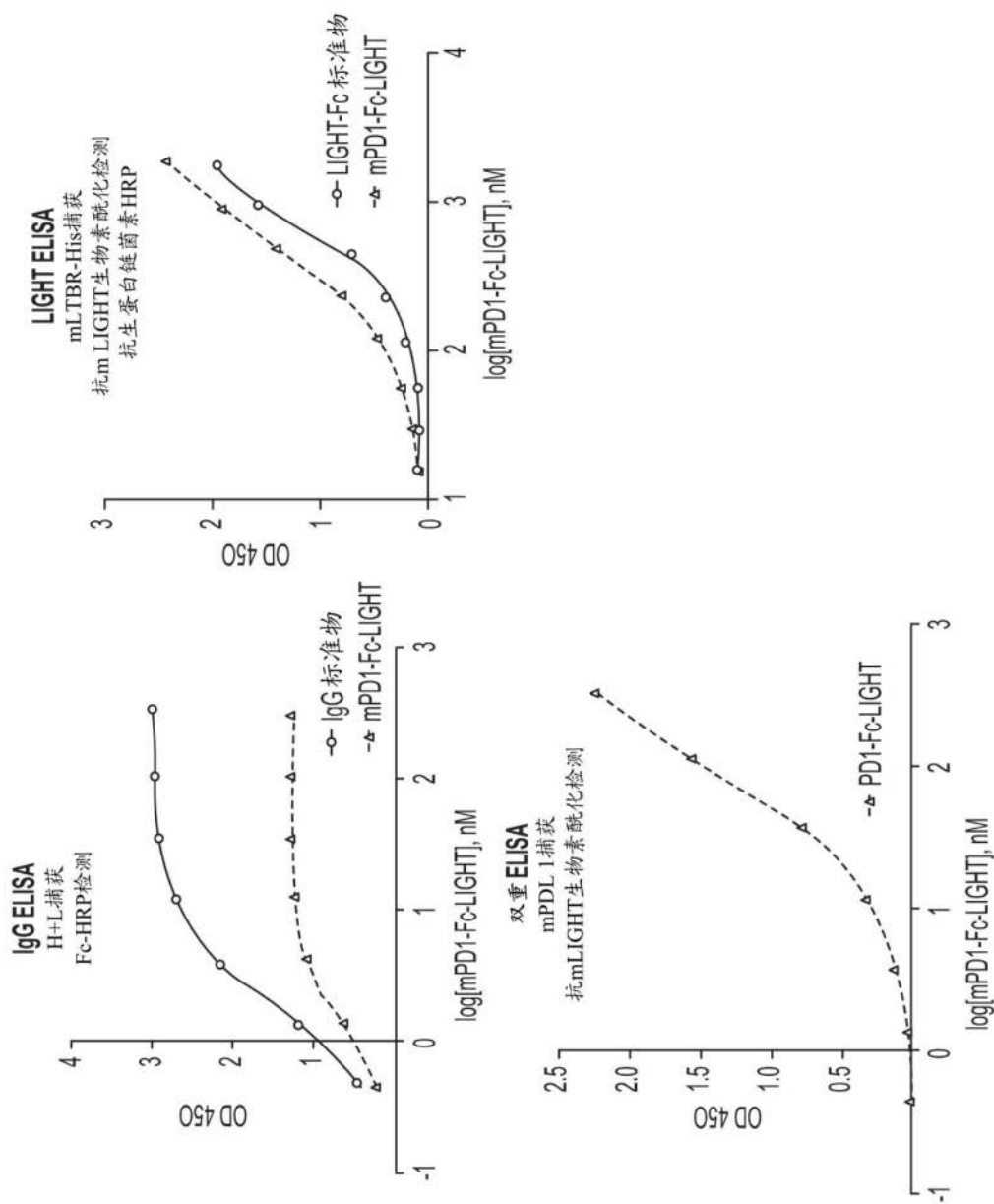


图13A

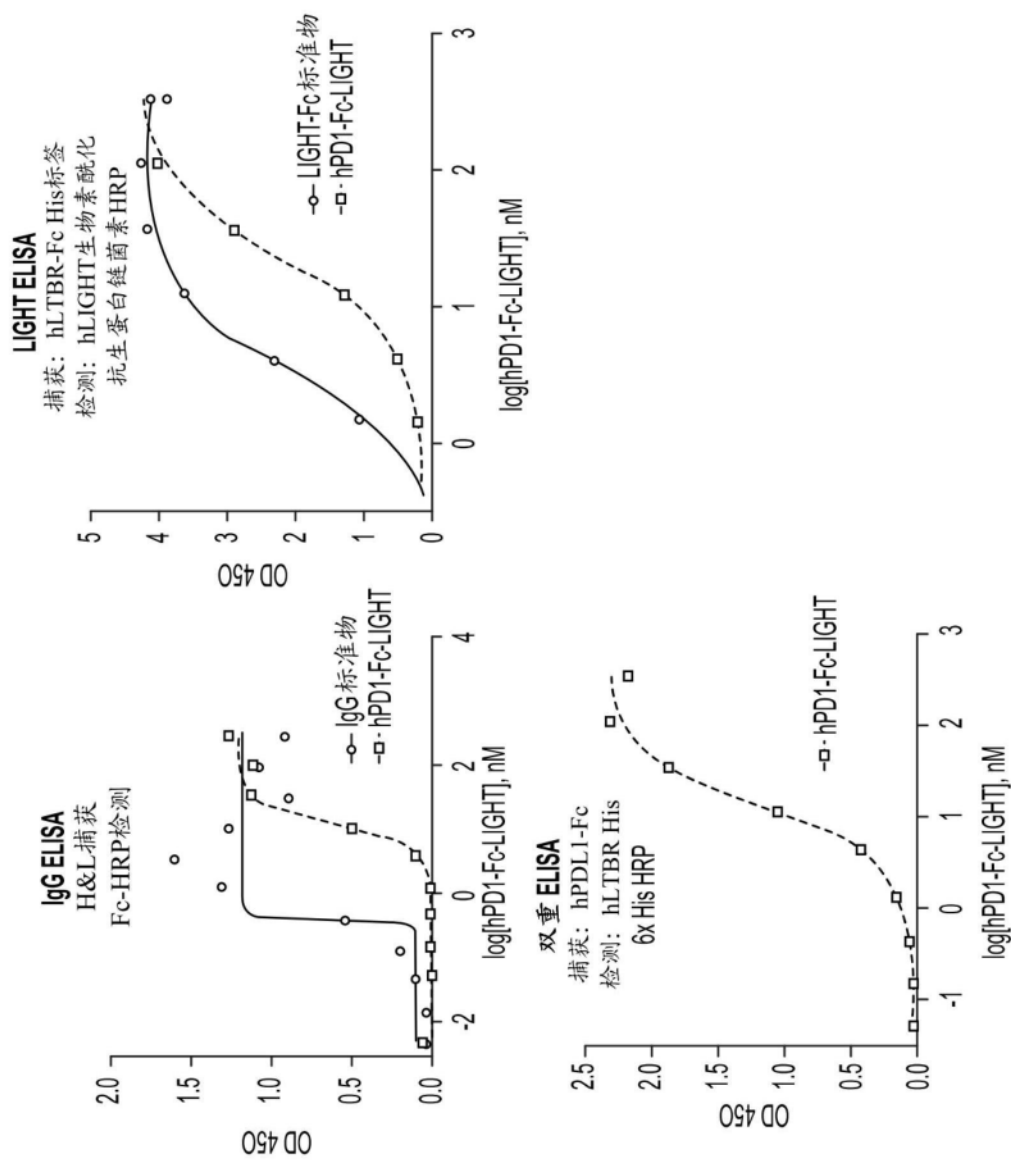


图13B

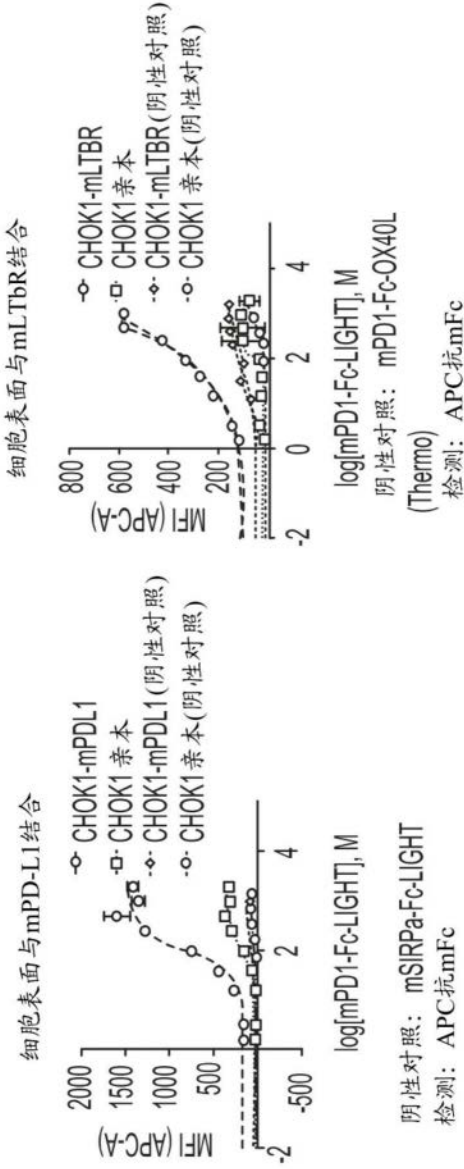


图14A

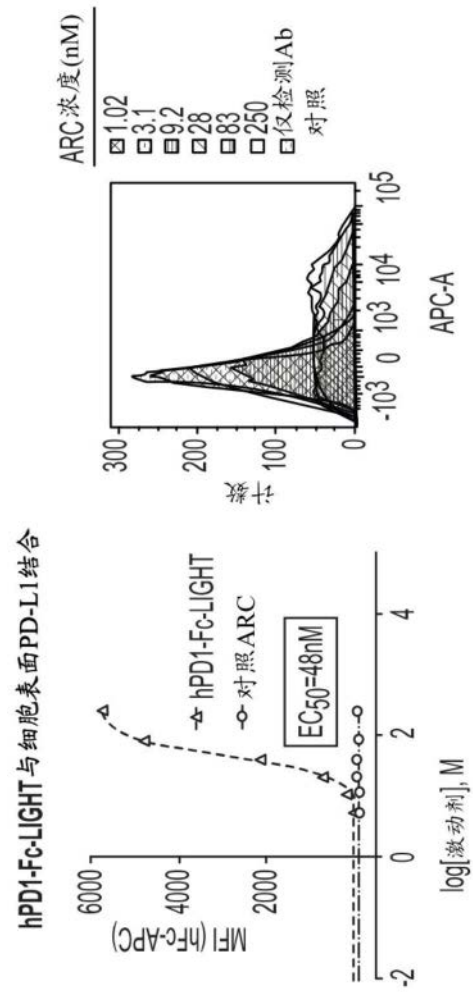


图14B

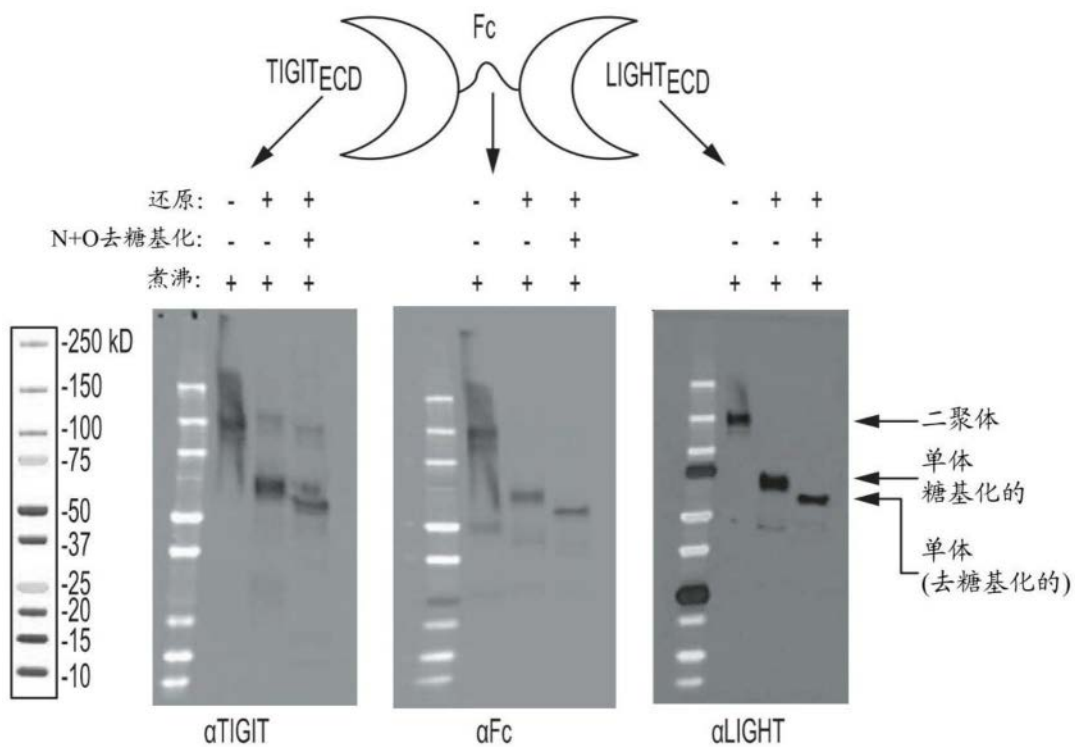


图15A

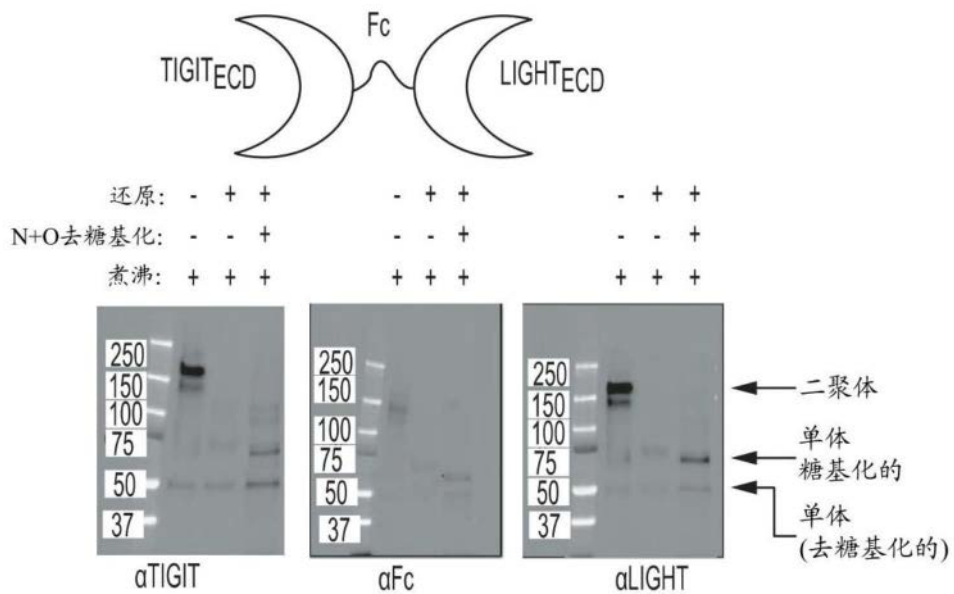


图15B

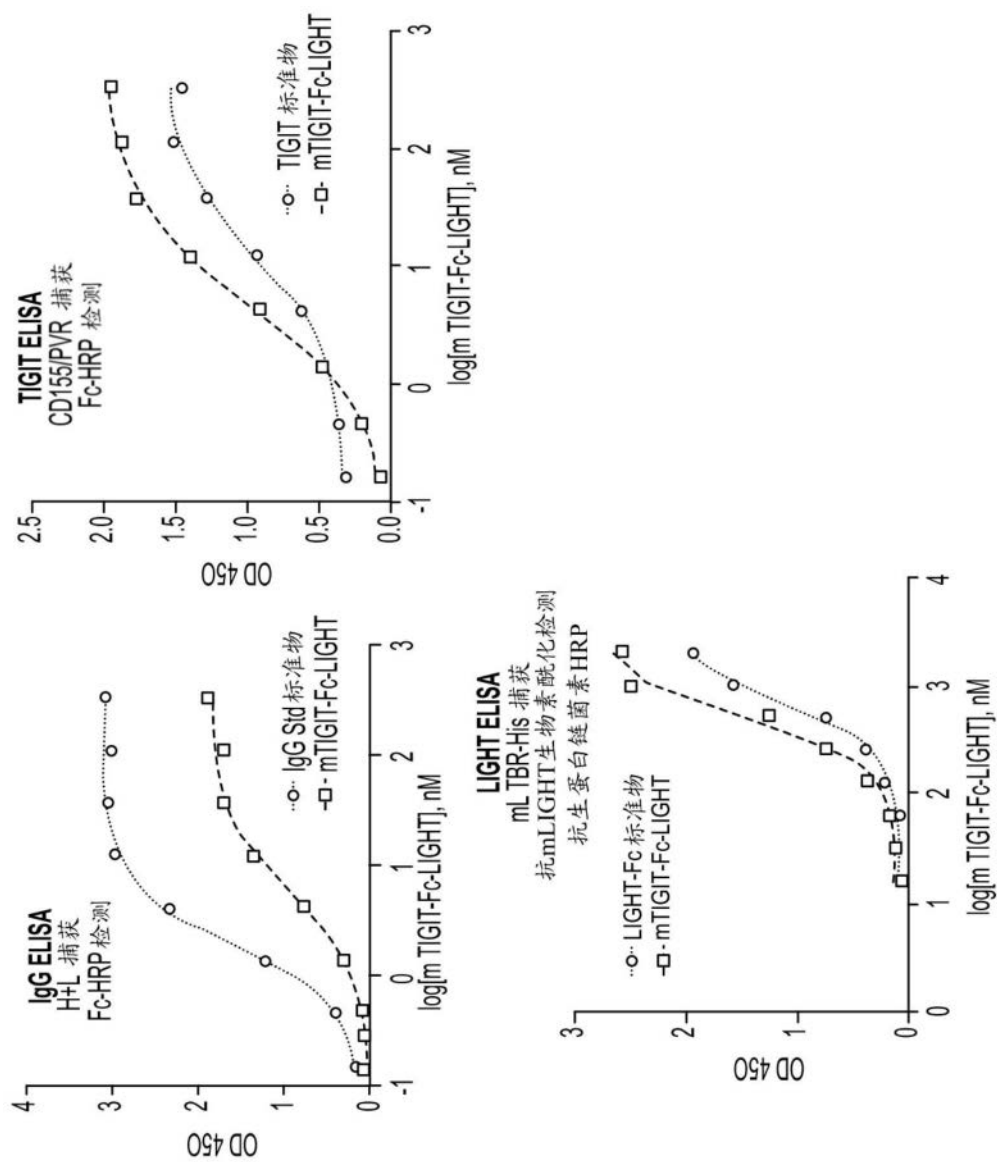


图16A

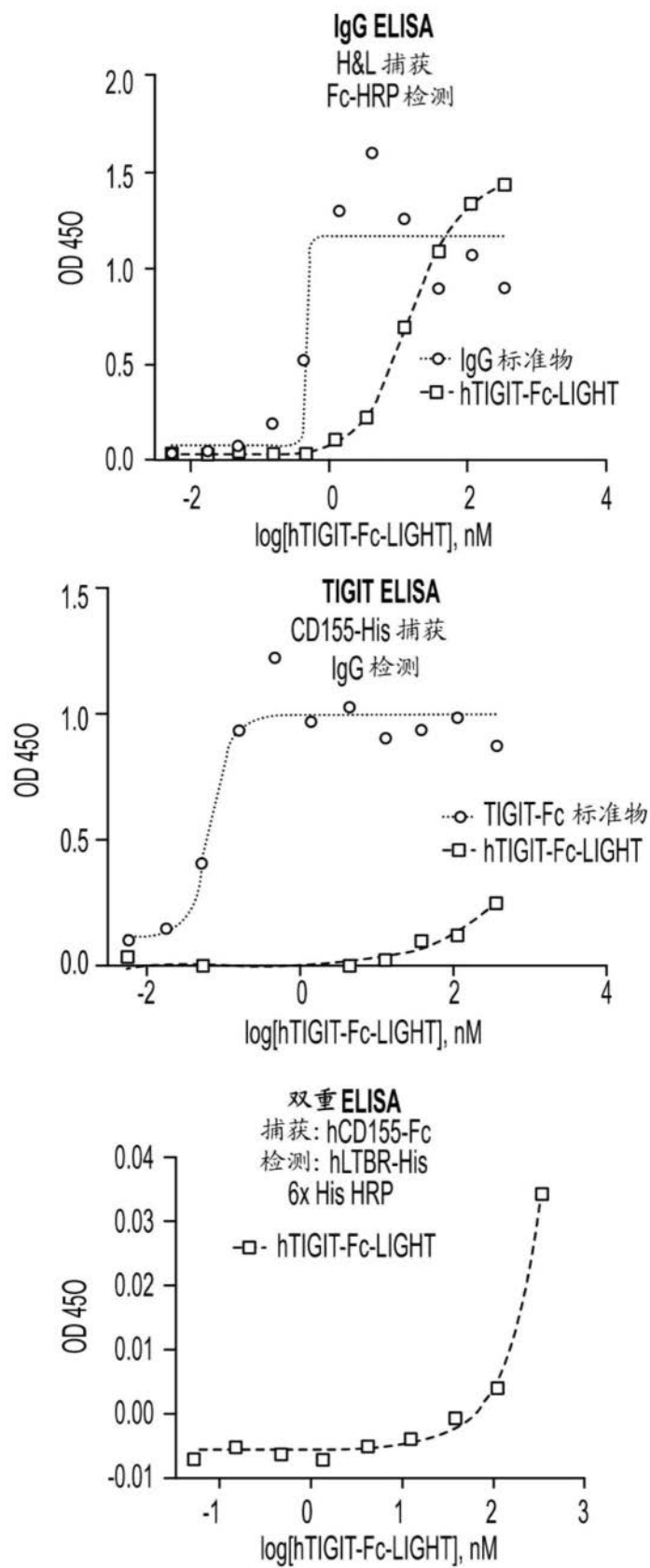


图16B

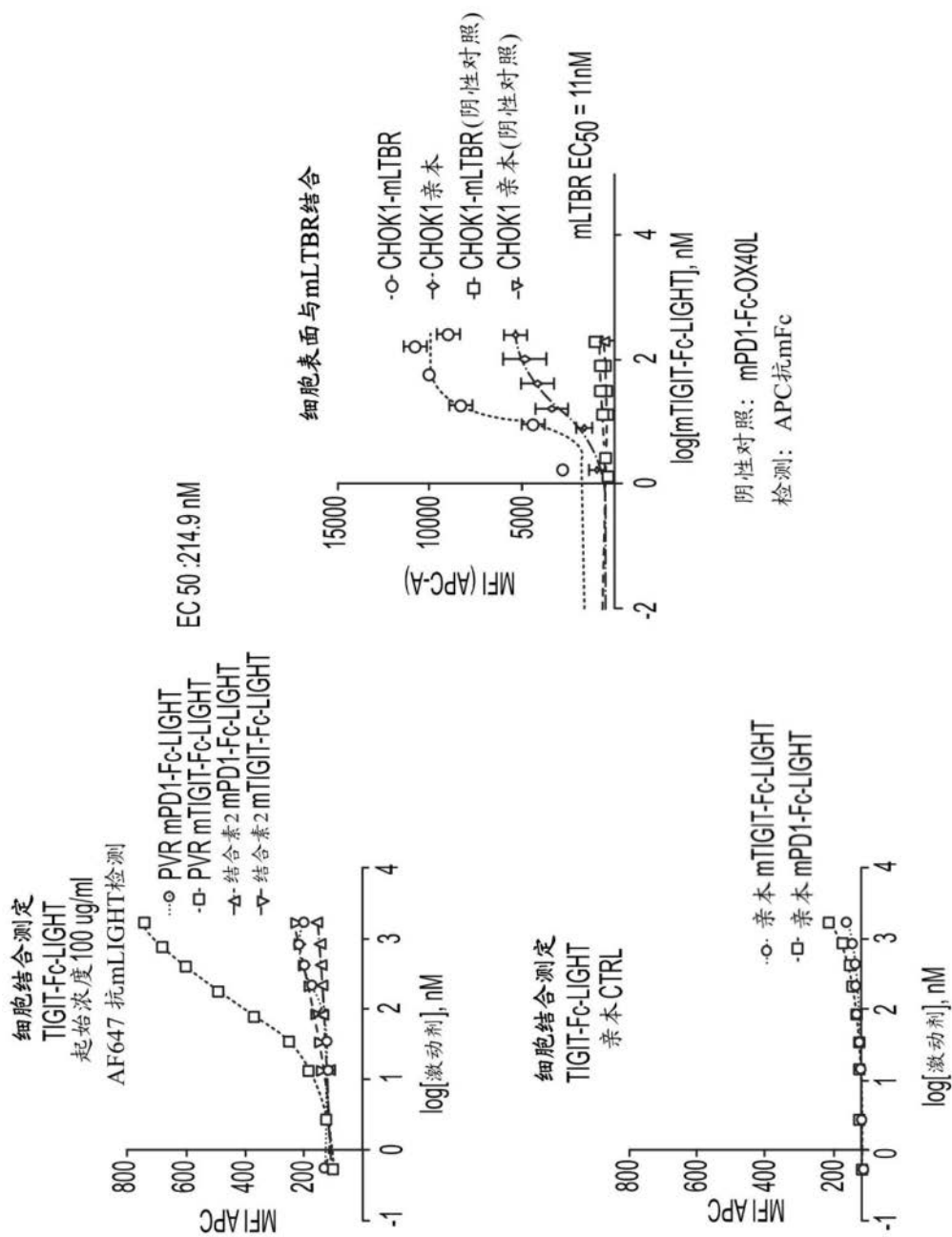


图17

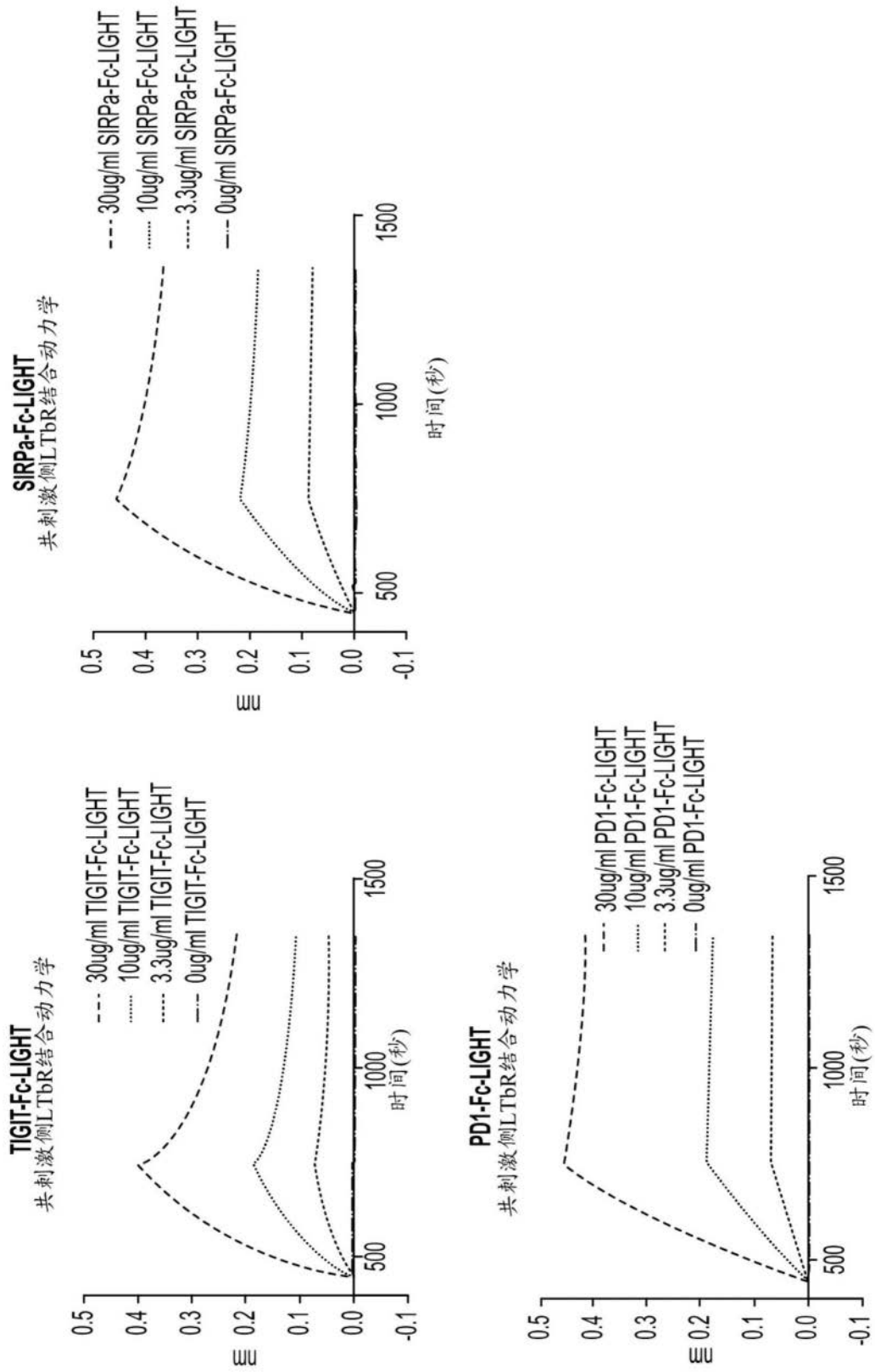


图18A

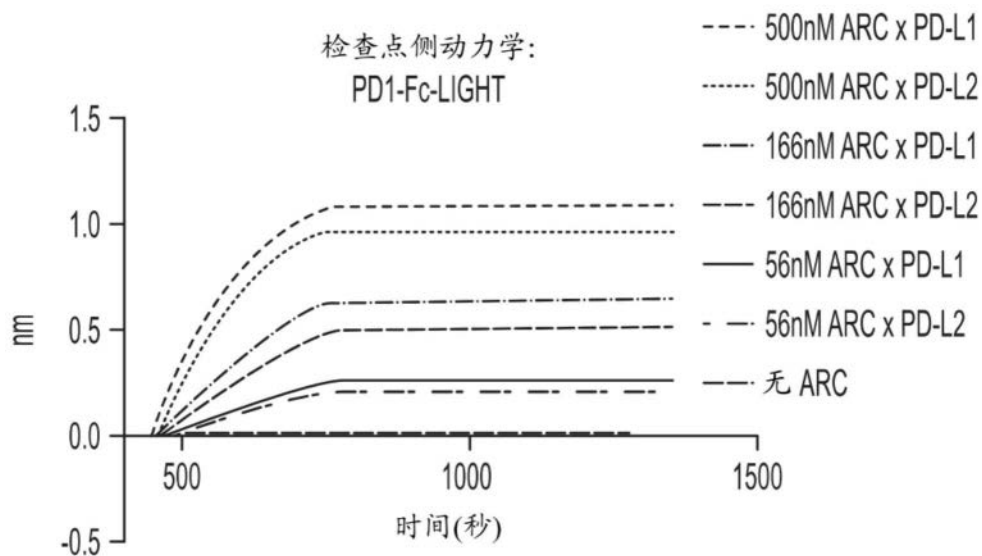


图18B

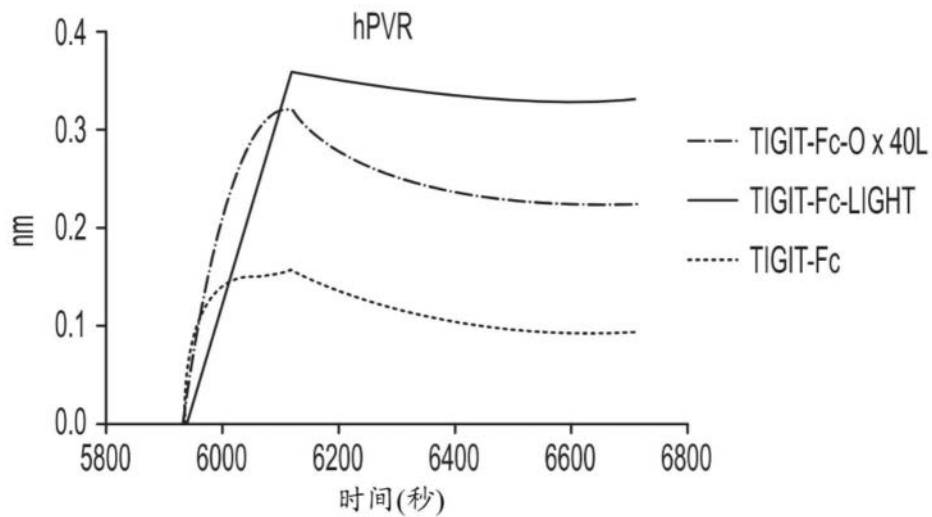


图19A

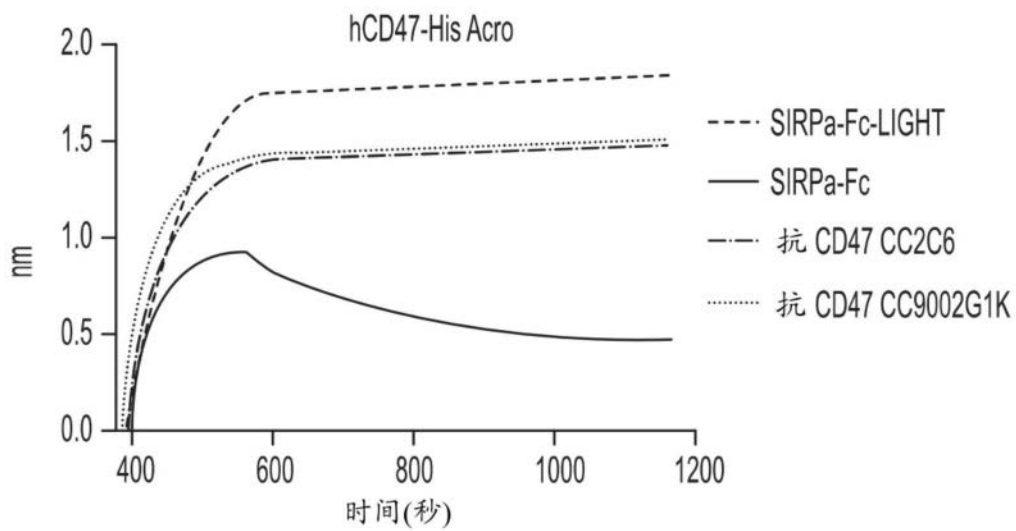


图19B

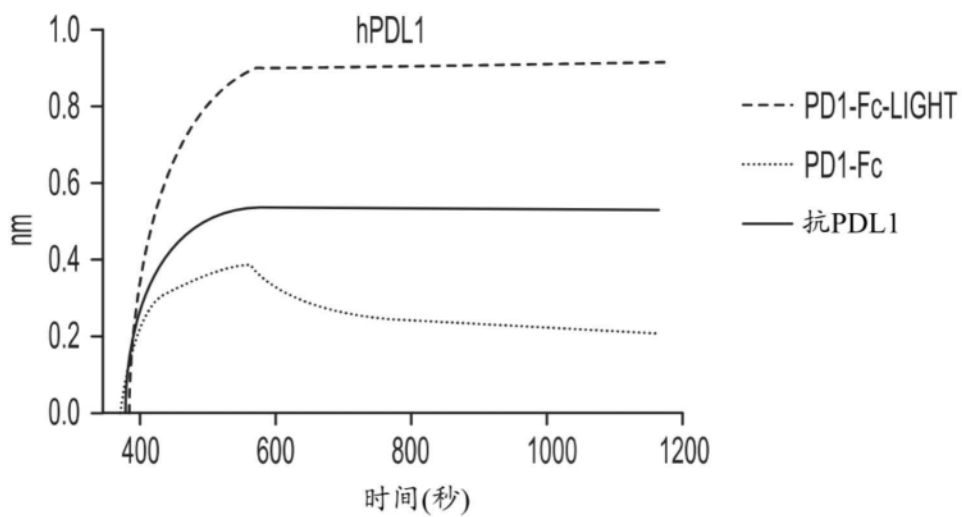


图19C

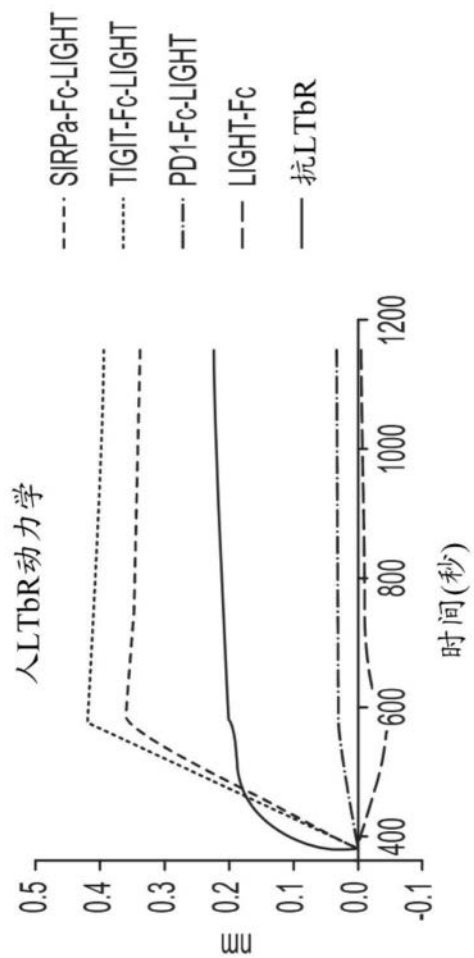


图19D

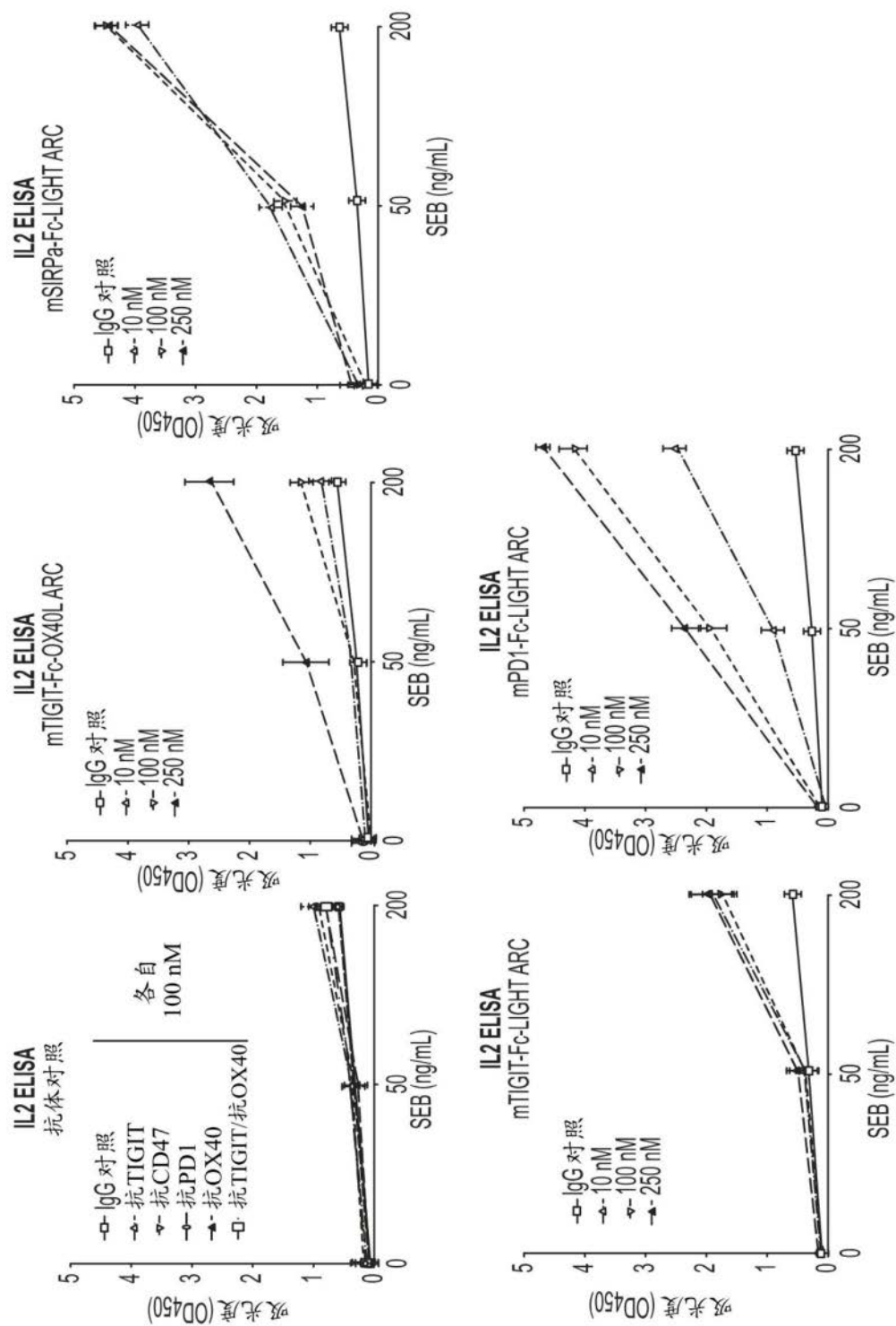


图20A

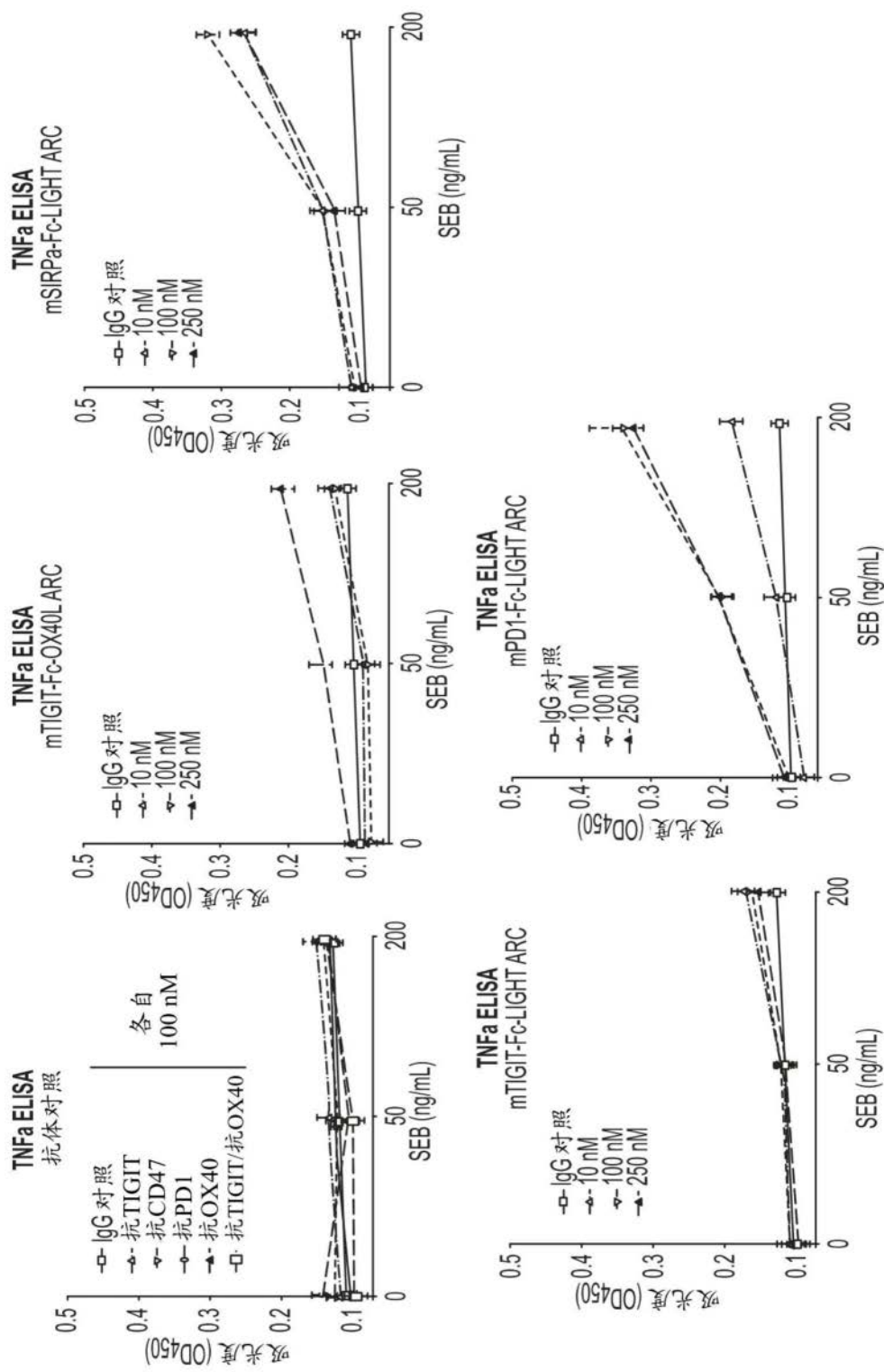


图20B

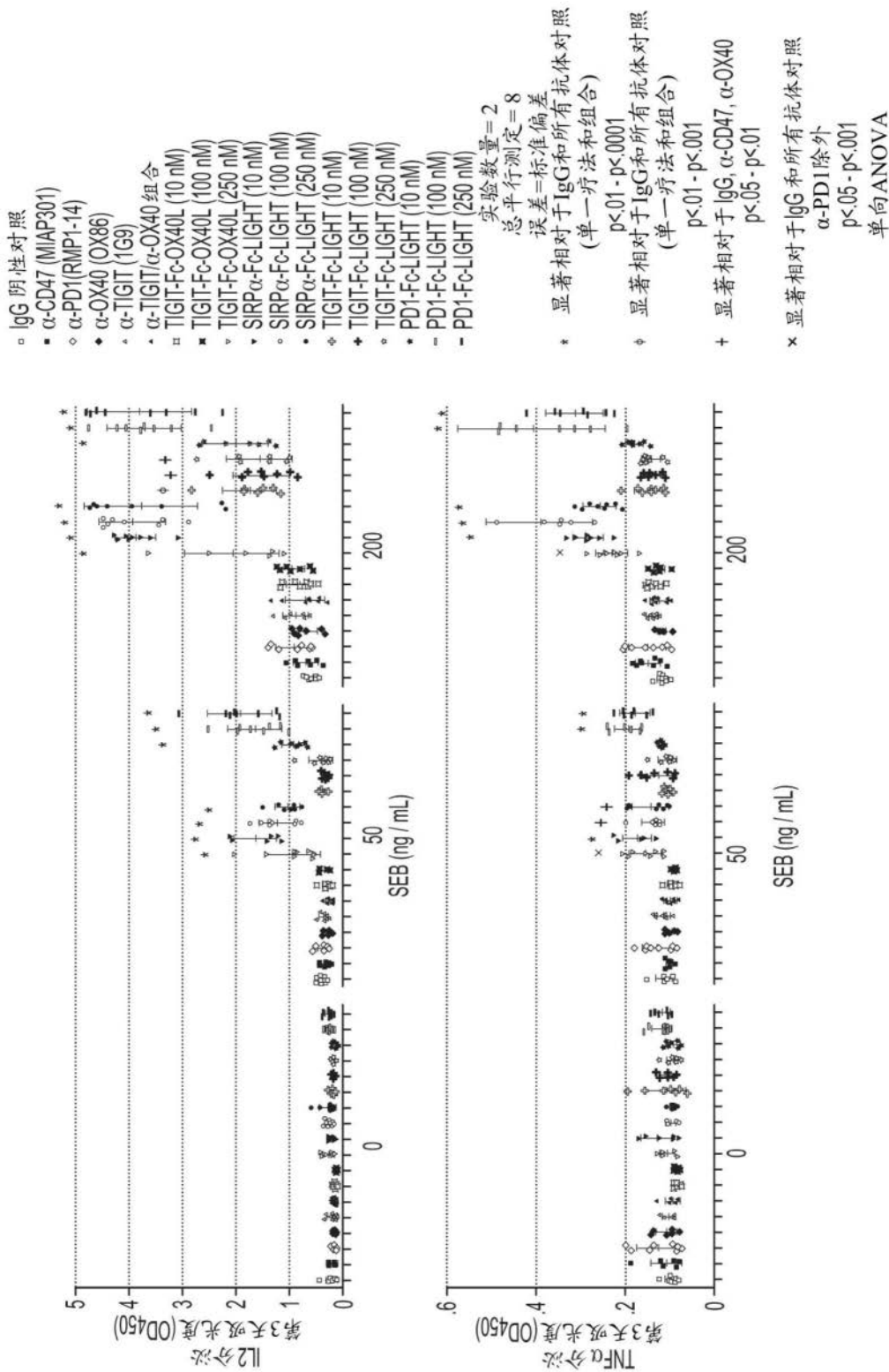


图20C

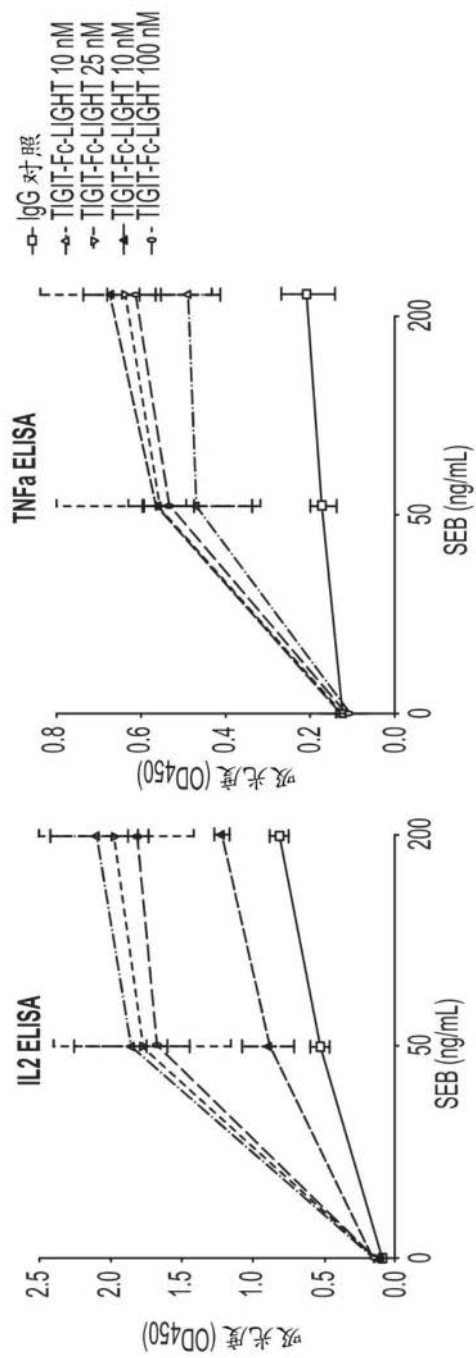


图21A

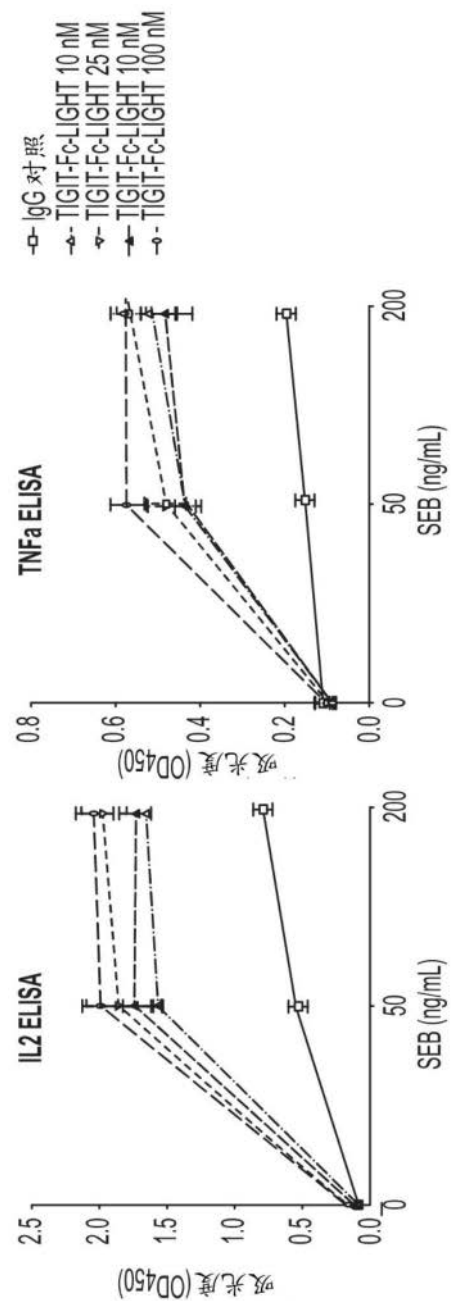


图21B

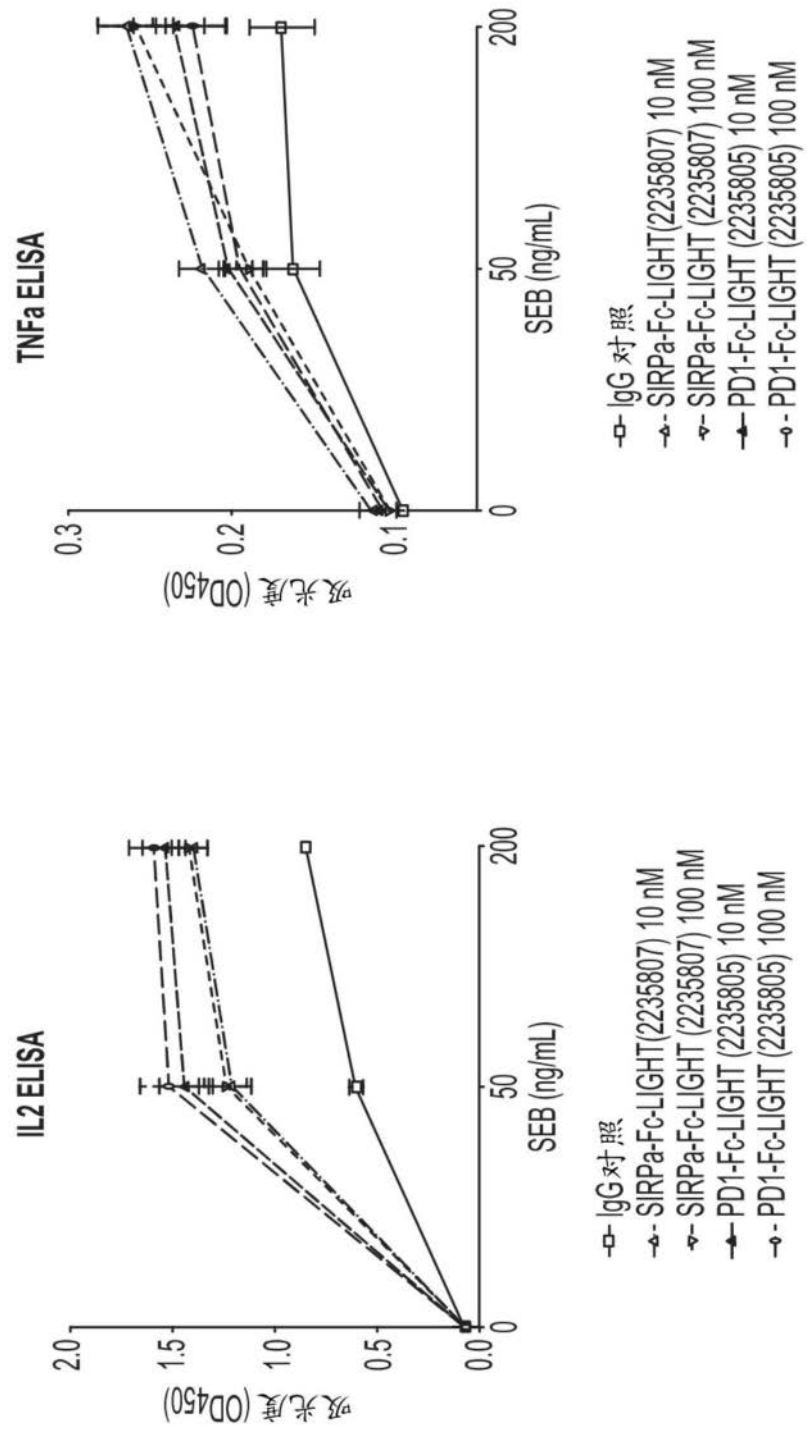


图21C

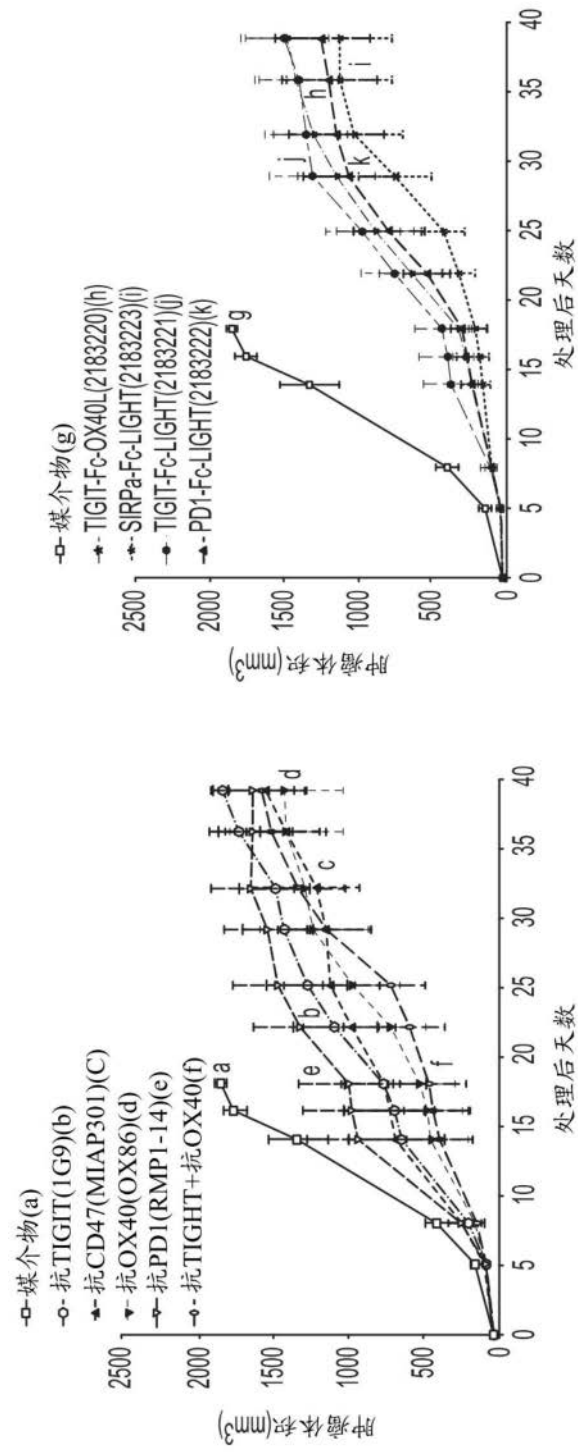


图22A

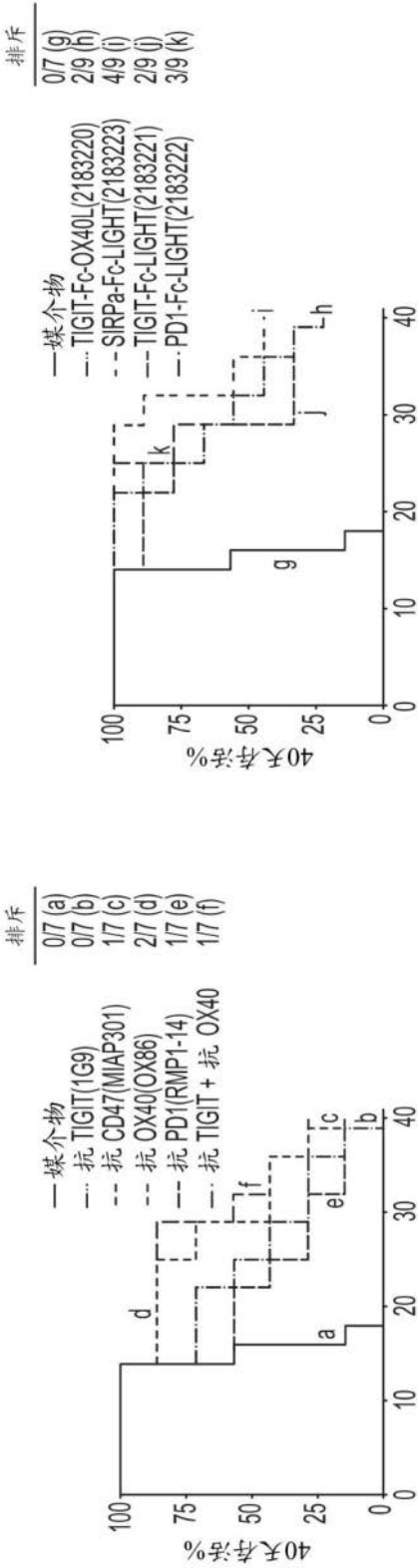


图22B

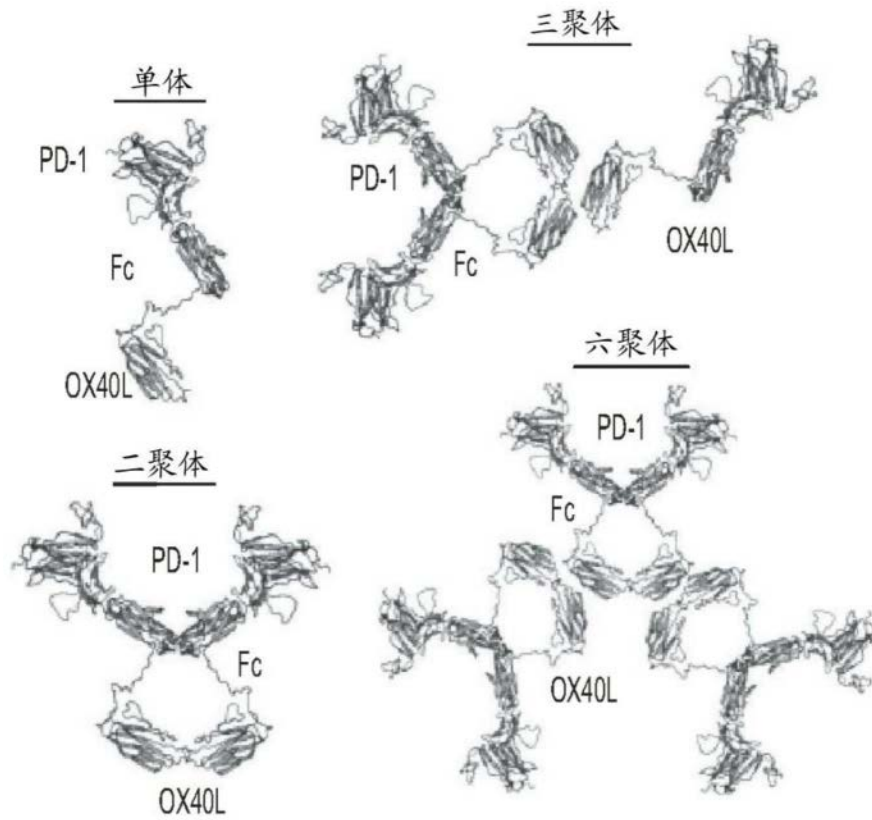


图23

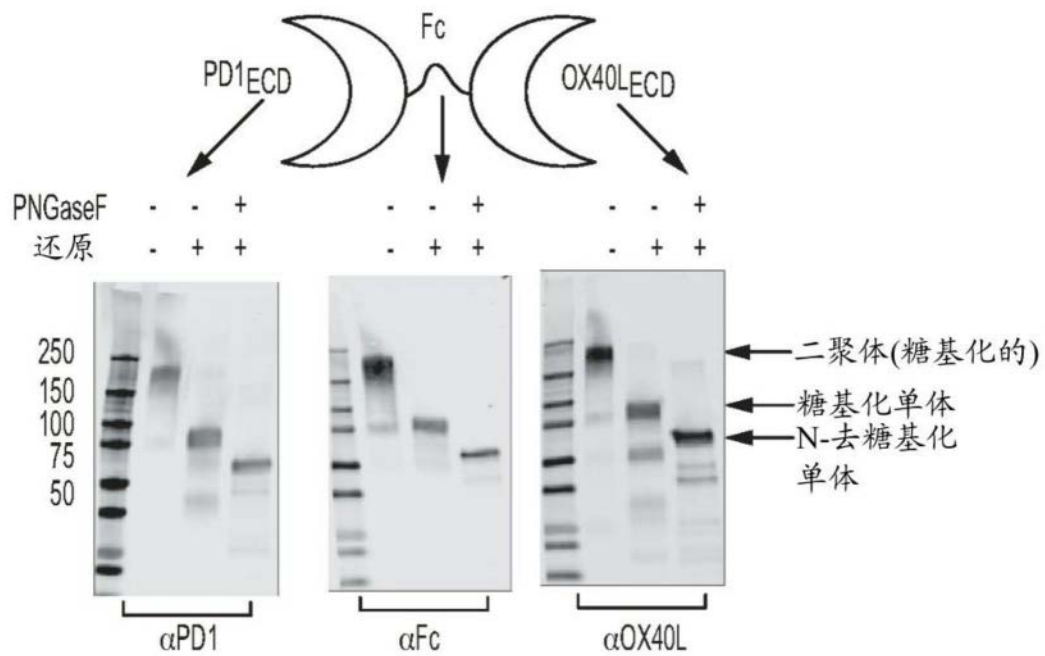


图24

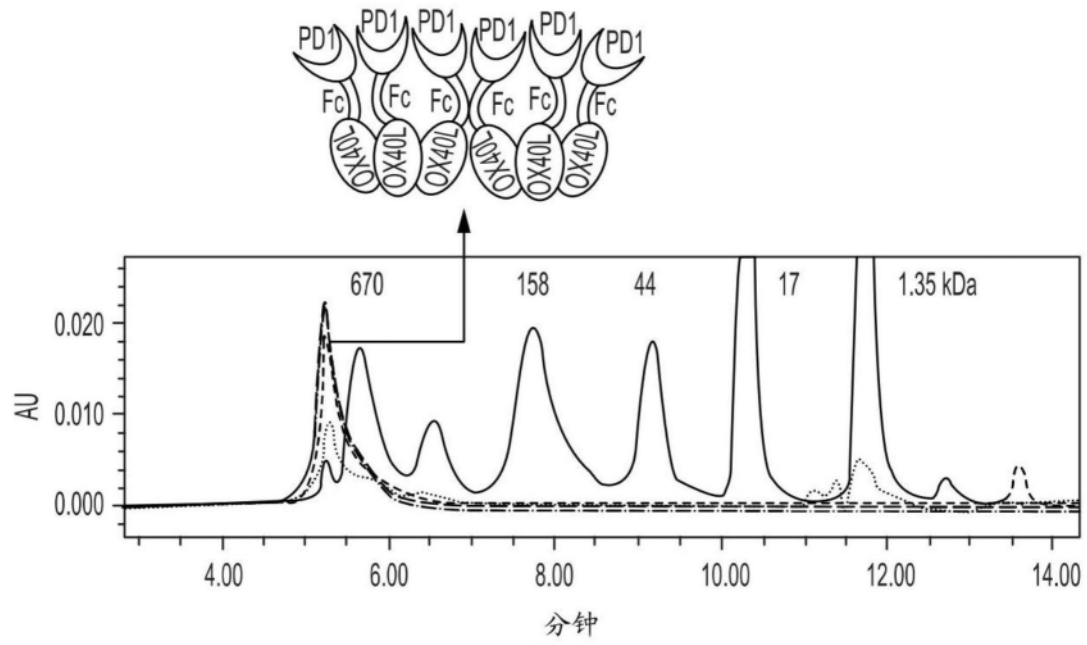


图25

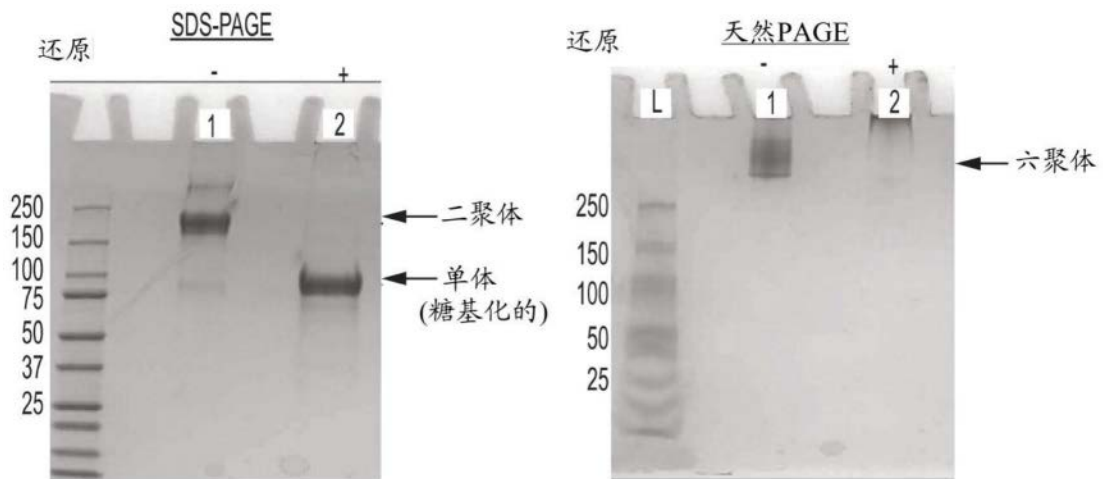


图26

天然Page

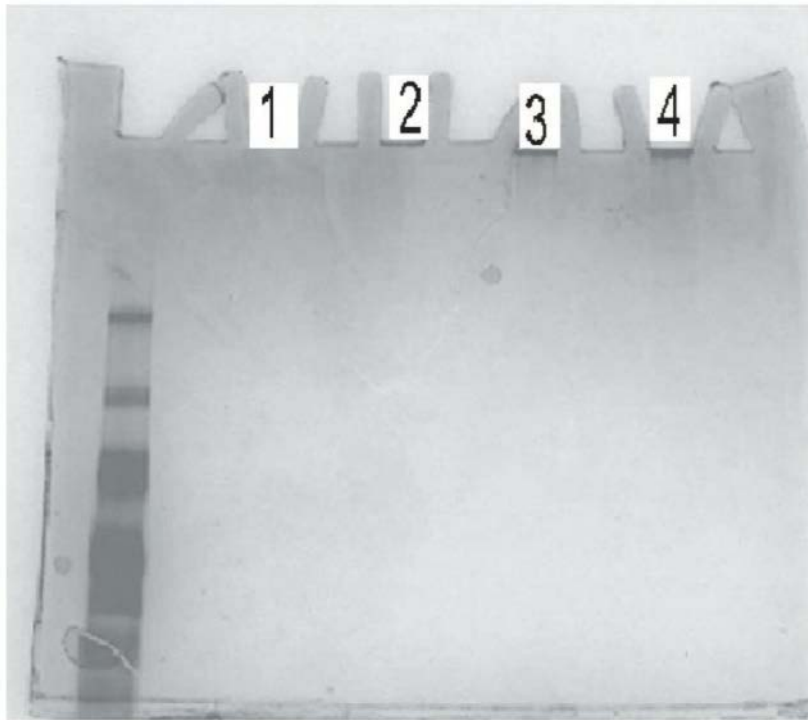


图27

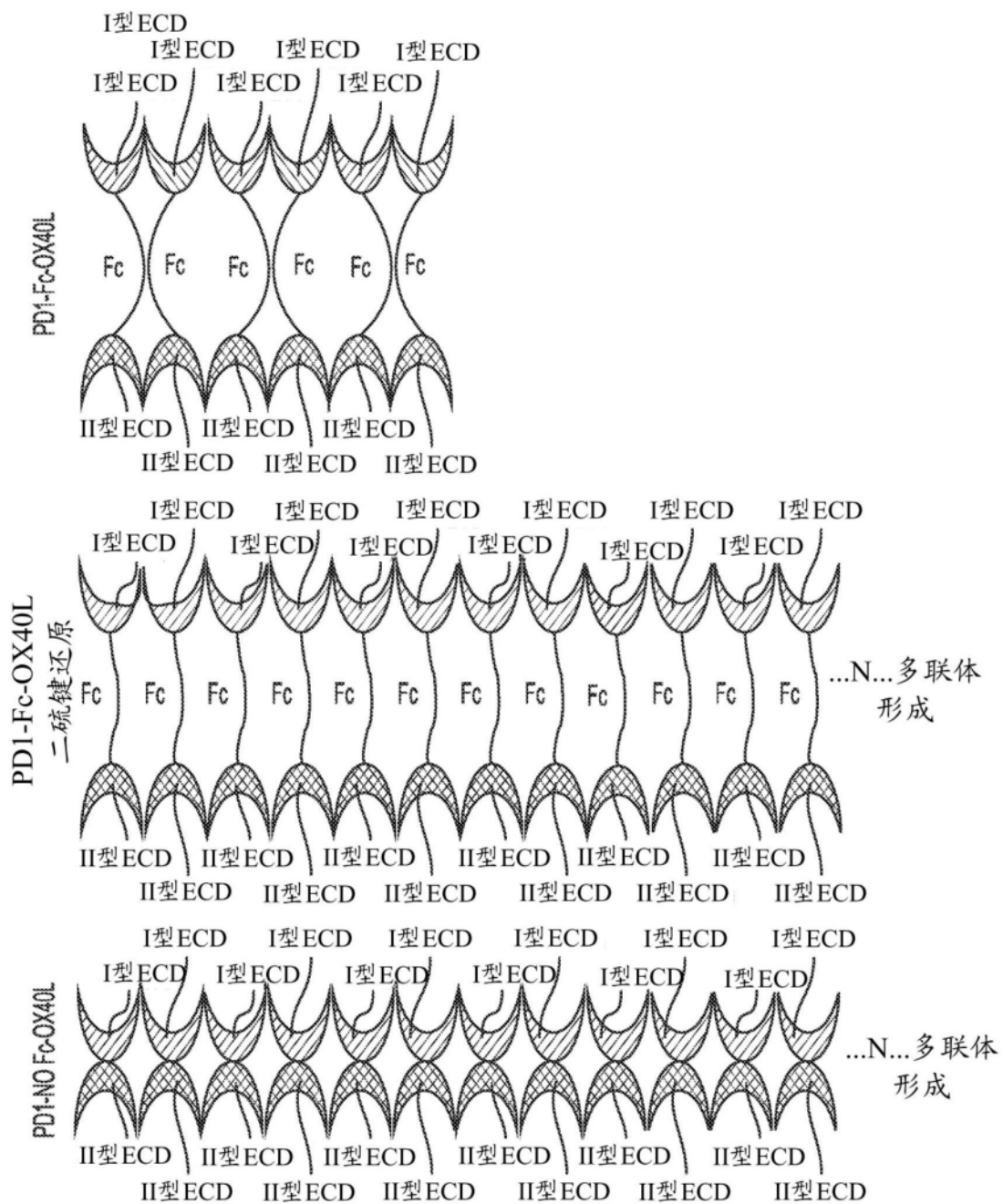


图28

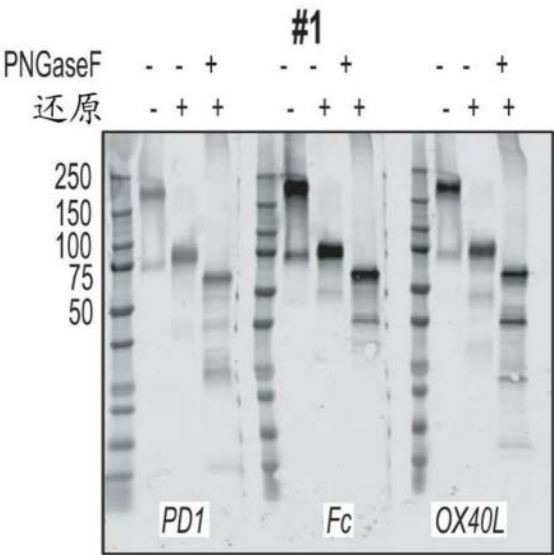


图29A

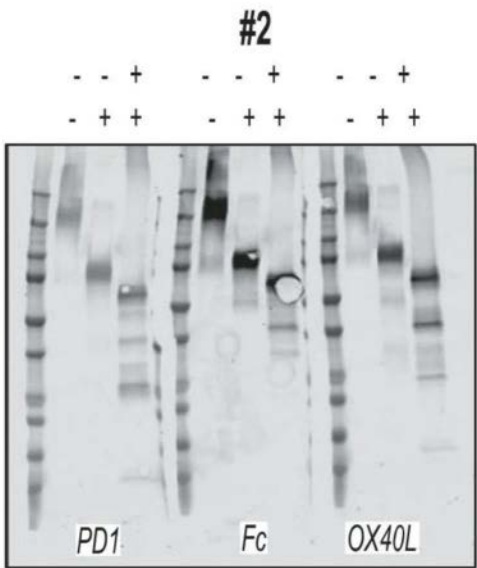


图29B

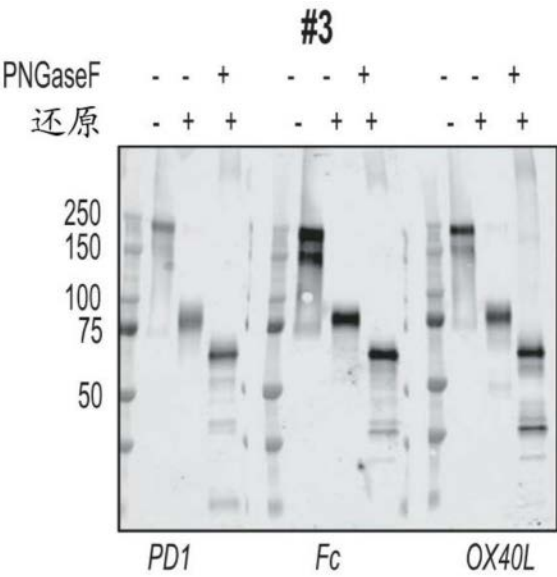


图29C

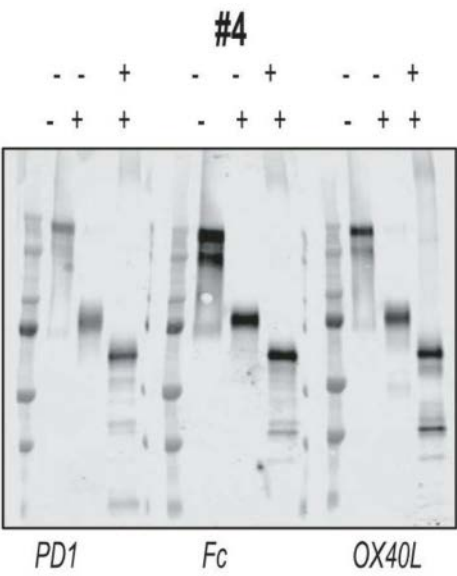


图29D

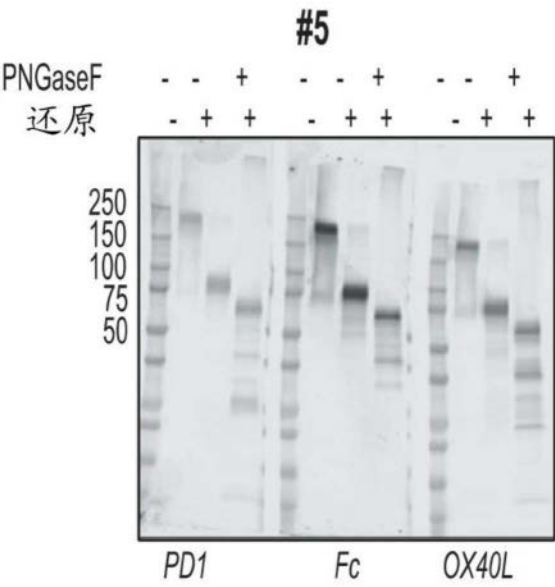


图29E

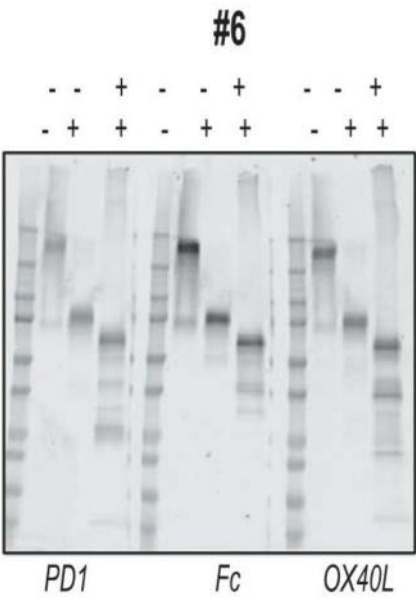


图29F

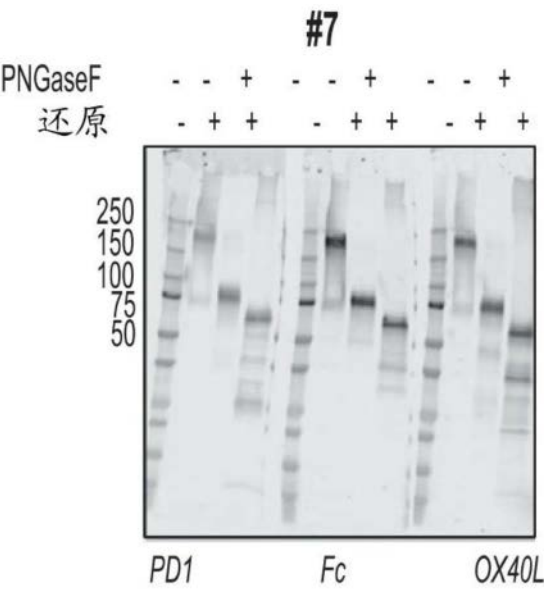


图29G

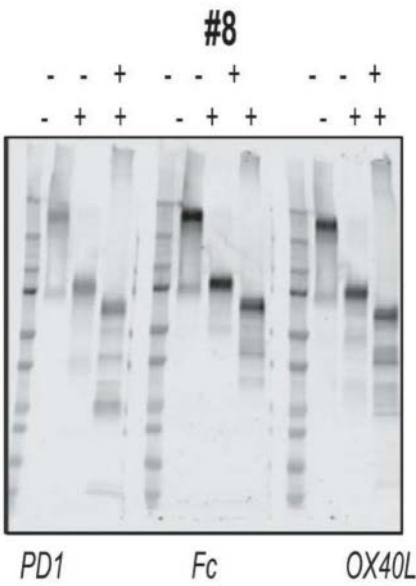


图29H

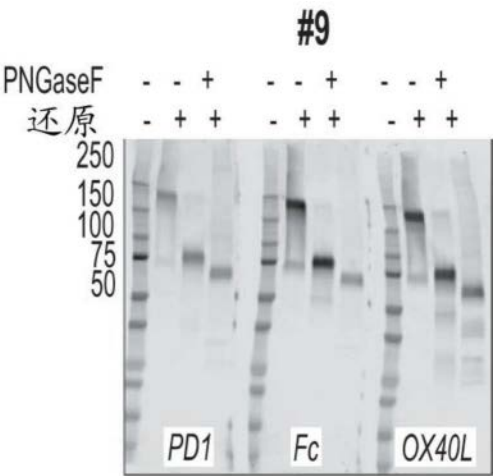


图29I

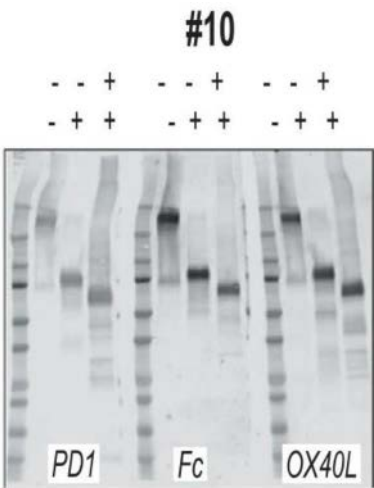


图29J

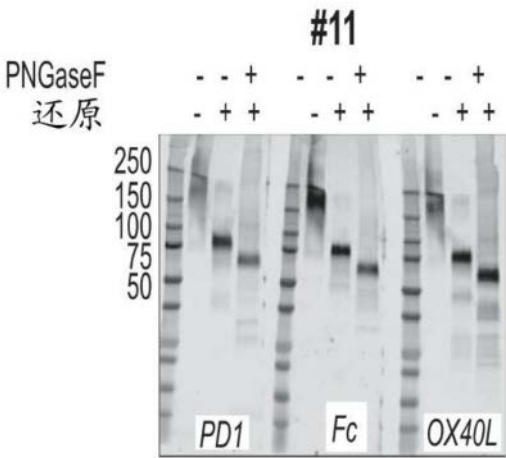


图29K

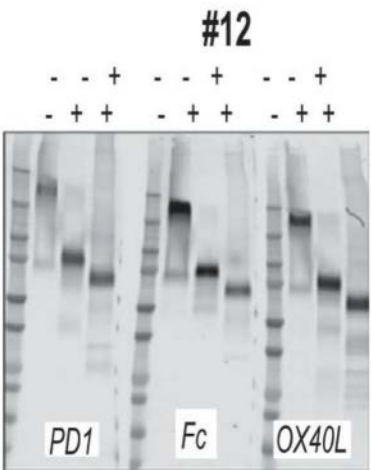


图29L

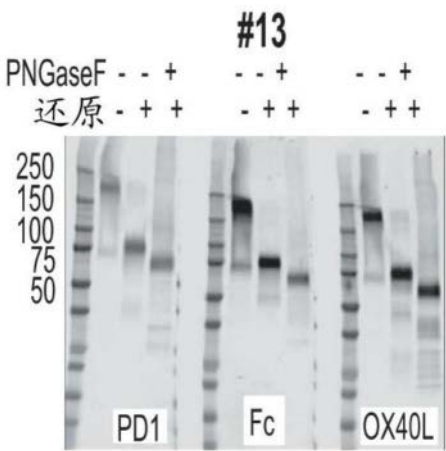


图29M

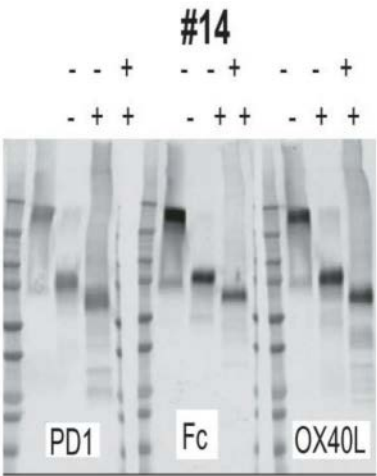


图29N

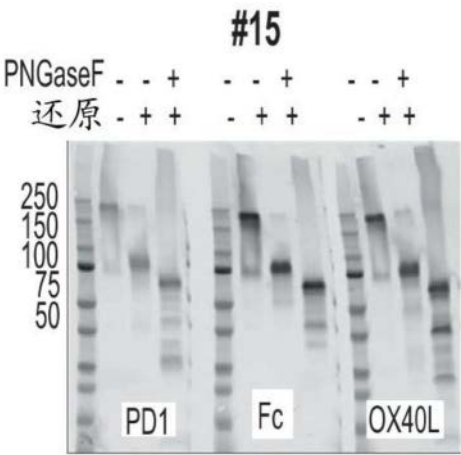


图29O

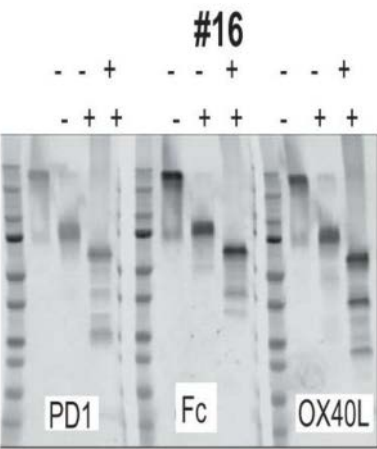


图29P

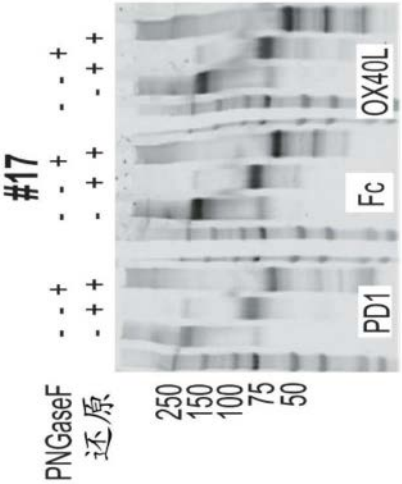


图29Q

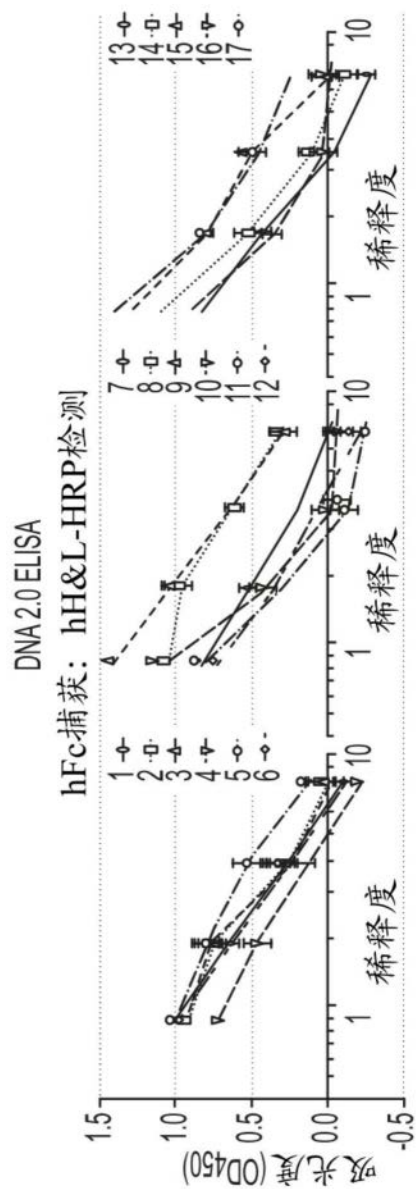


图30

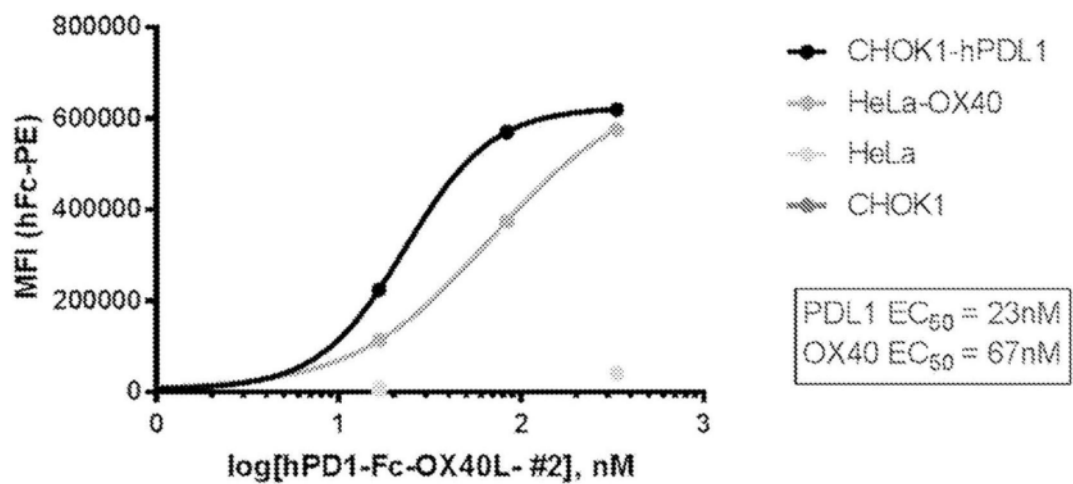


图31A

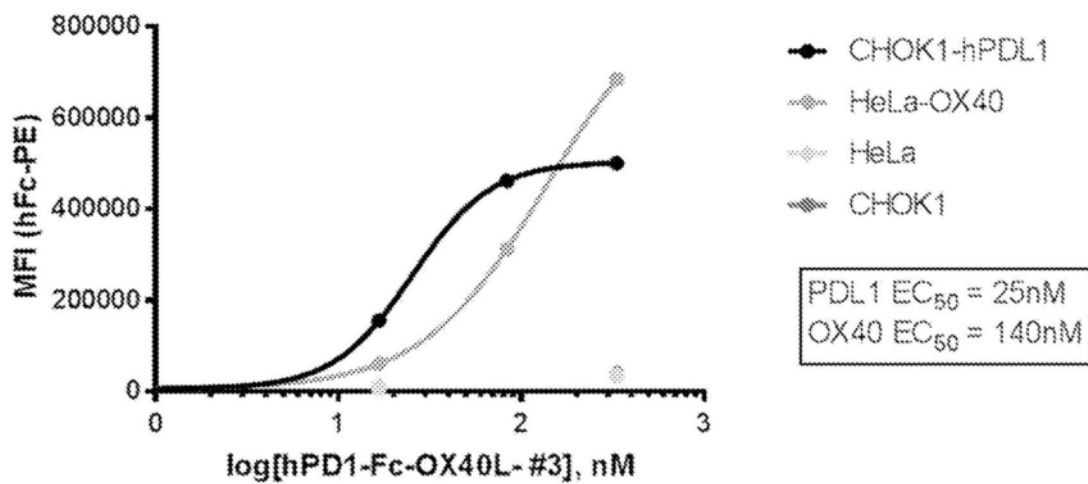


图31B

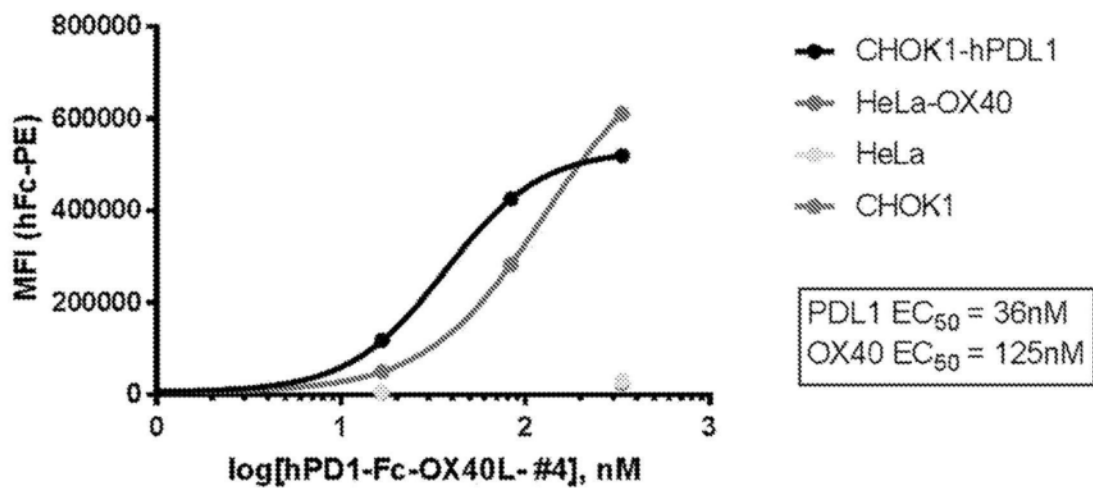


图31C

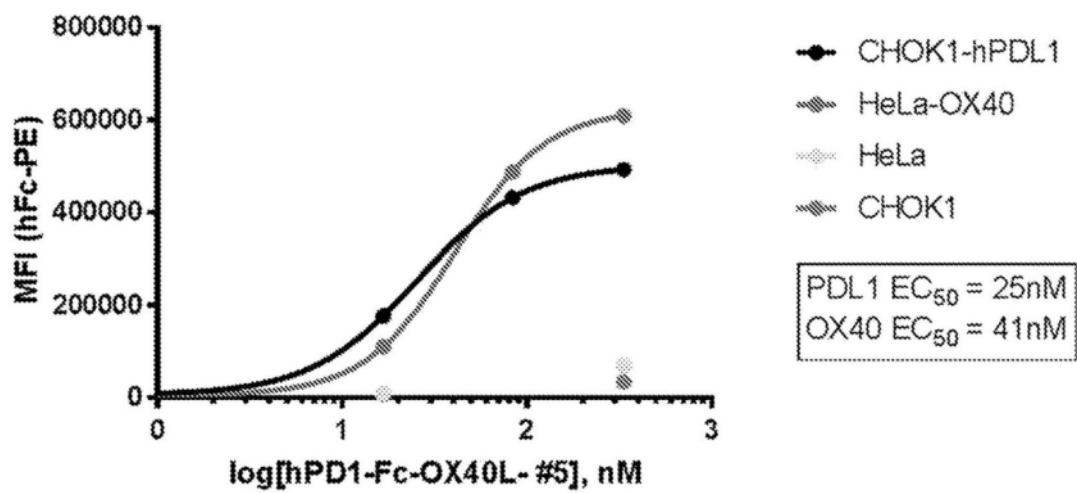


图31D

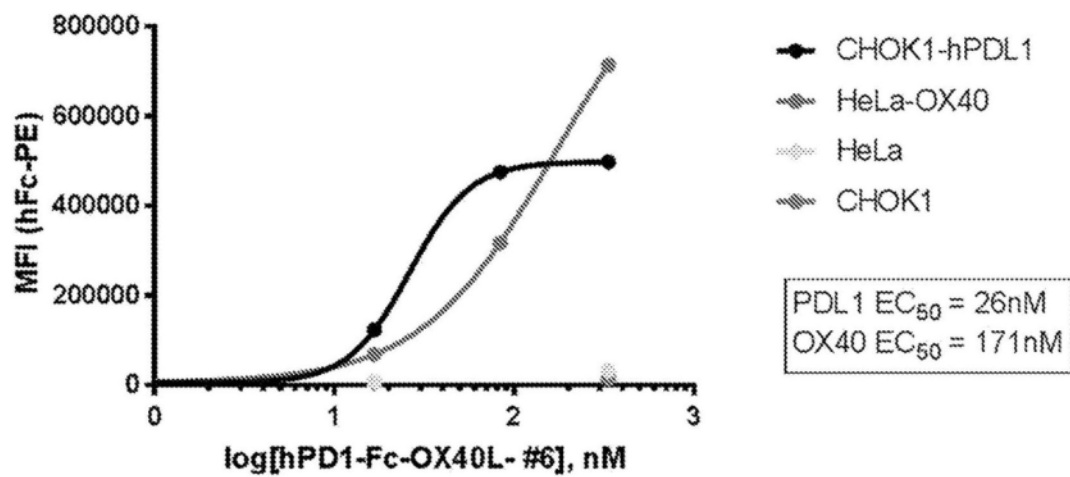


图31E

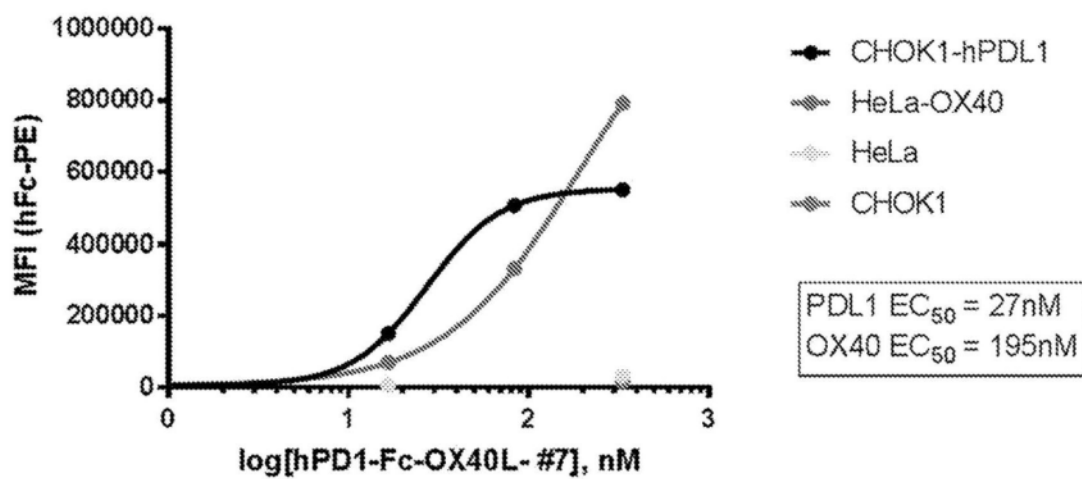


图31F

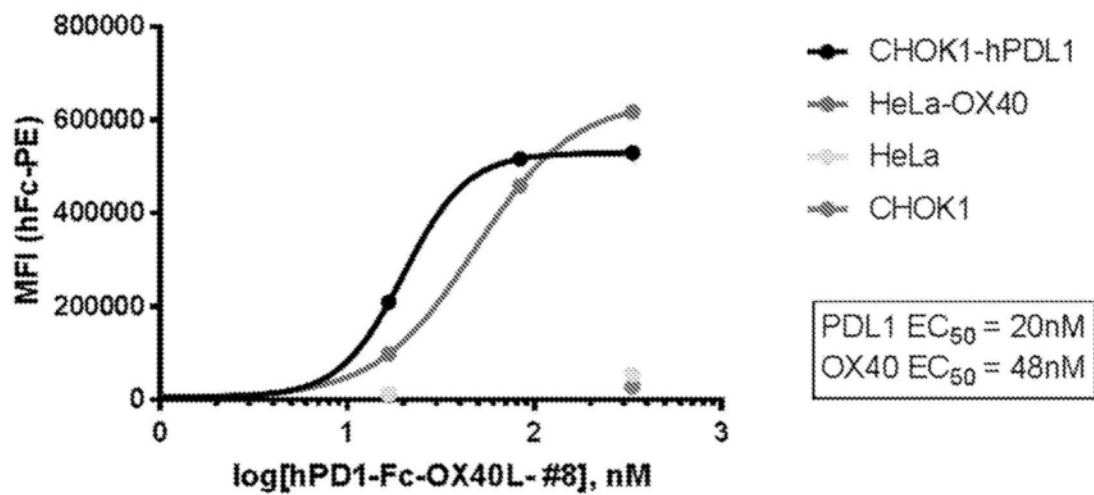


图31G

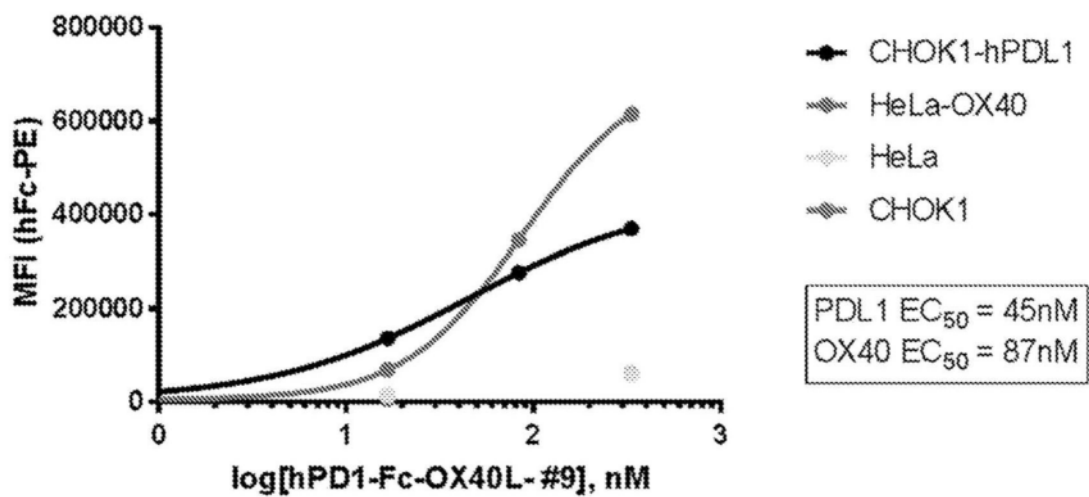


图31H

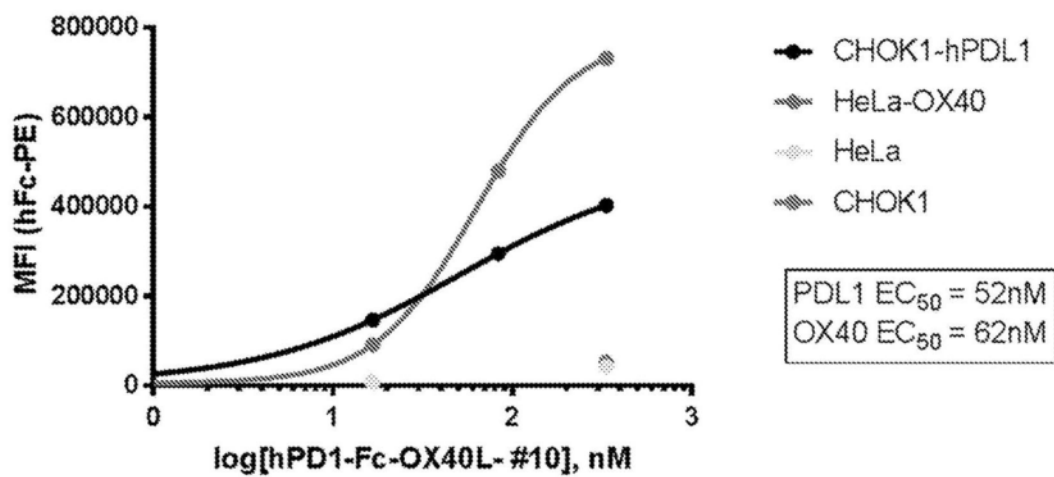


图31I

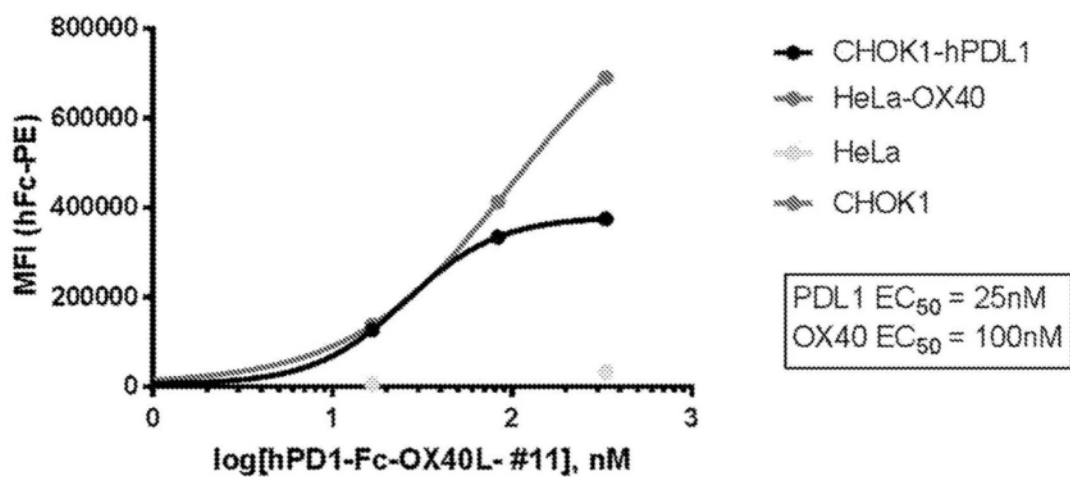


图31J

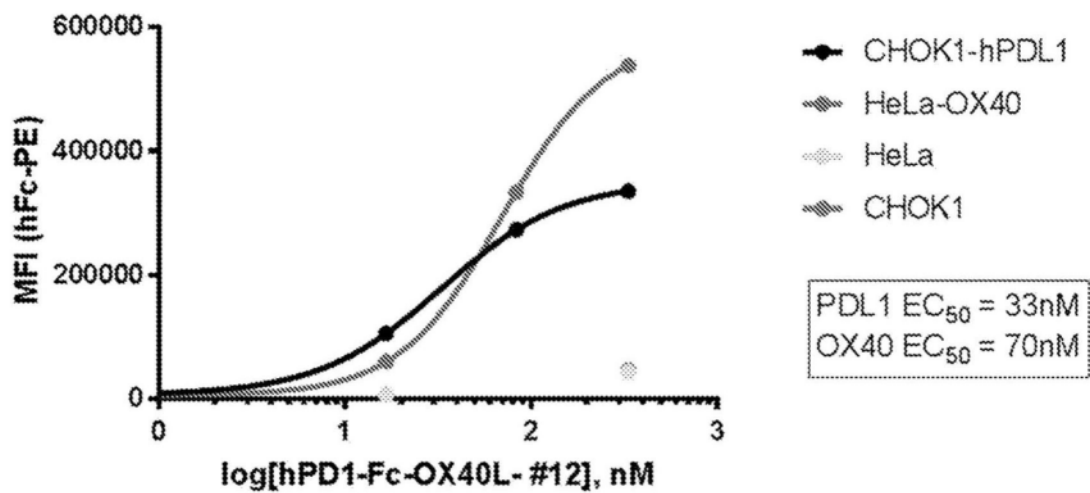


图31K

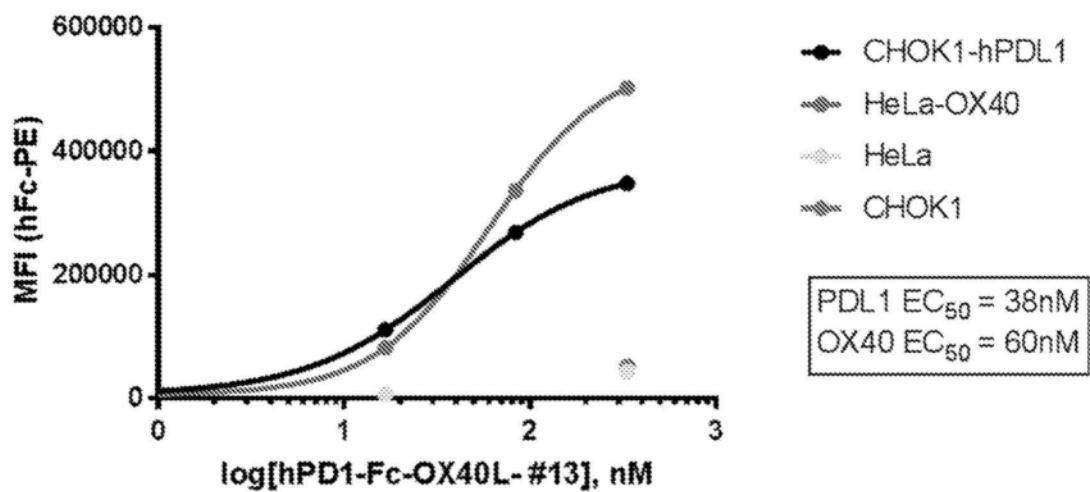


图31L

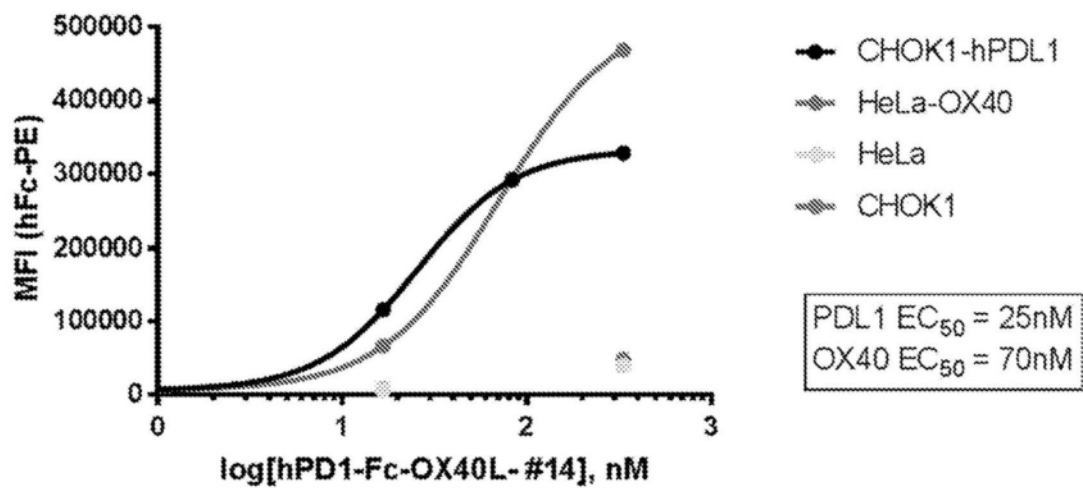


图31M

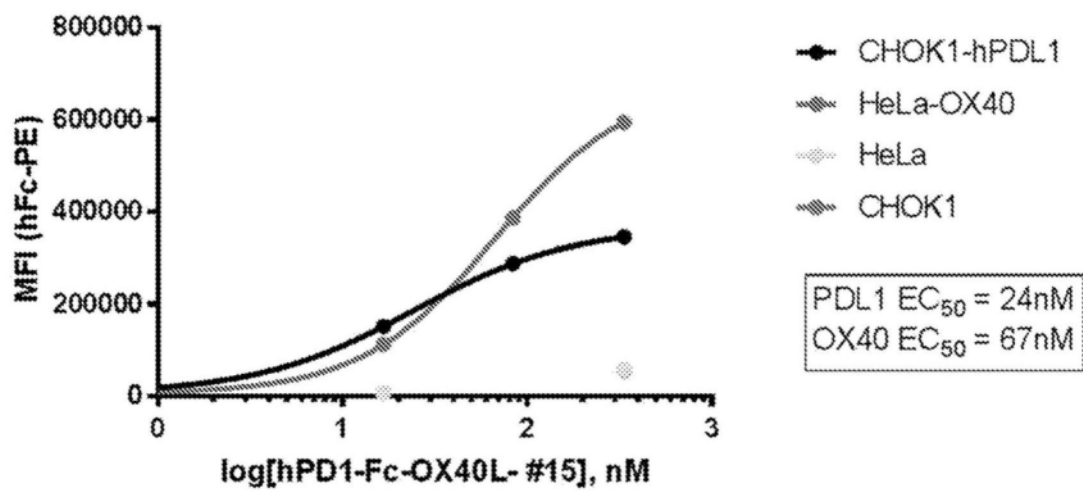


图31N

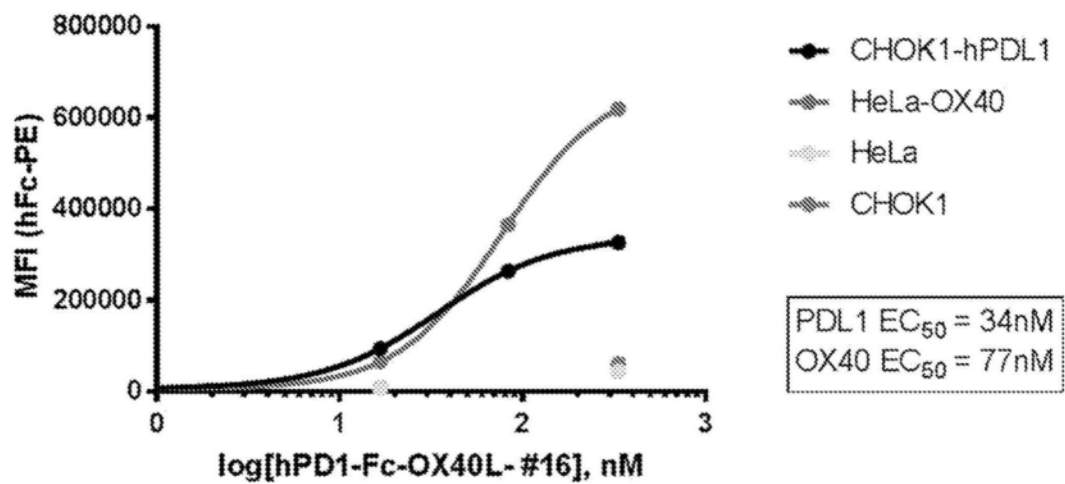


图310

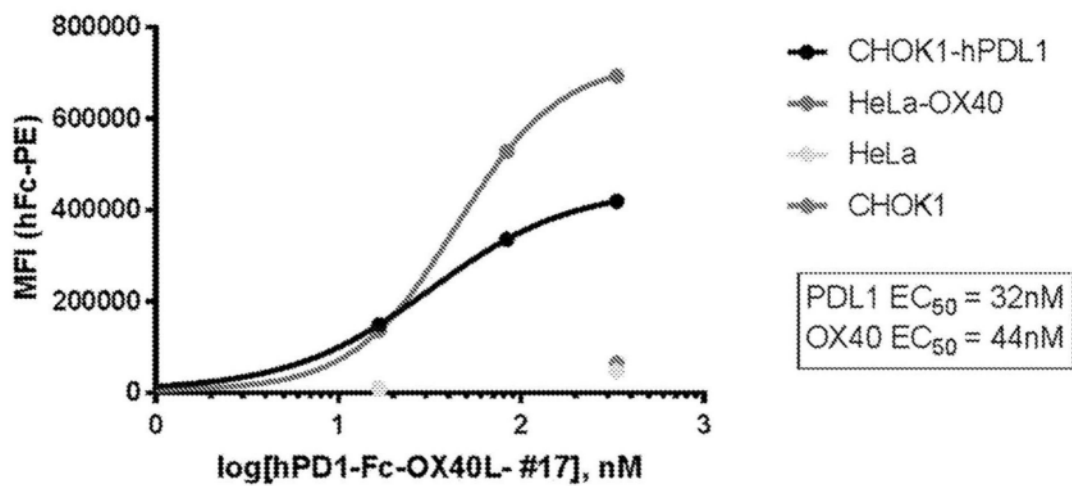


图31P

连接接头1	Fc	连接接头2	接头分子 = 连接接头1 + Fc + 连接接头2
SKYGPCPCP (SEQ ID NO: 49)	APEFLGGPSVFLPPKPKDQIMISRTPEVTCVVVDVDSQ DPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLT LHQDWLSGKEYCKVSKGLPSSIEKTIISNATGQPREPQ VYTLPSQEEETKNQVSLTCLVKGFYPSDIAEVESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSRLLTVDKSSWQEGNVFSC SVLHEALHNHYTQKSLSLGLK (SEQ ID NO: 46)	IEGRMD (SEQ ID NO: 52)	SKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLPPKPKDQIMISRTPEVTCVVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLT LHQDWLSGKEYCKVSKGLPSSIEKTIISNATGQPREPQVYTLPSQEEETKNQV SLTCLVKGFYPSDIAEVESNGQPENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSRLLT VDKSSWQEGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLGLKIEGRMD (SEQ ID NO: 96)
SKYGPCPCP (SEQ ID NO: 49)	APEFLGGPSVFLPPKPKDQIMISRTPEVTCVVVDVDSQ DPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLT PHSDWLSGKEYCKVSKGLPSSIEKTIISNATGQPREPQ VYTLPSQEEETKNQVSLTCLVKGFYPSDIAEVESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSRLLTVDKSSWQEGNVFSC SVLHEALHNHYTQKSLSLGLK (SEQ ID NO: 47)	IEGRMD (SEQ ID NO: 52)	SKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLPPKPKDQIMISRTPEVTCVVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLT LHQDWLSGKEYCKVSKGLPSSIEKTIISNATGQPREPQVYTLPSQEEETKNQV SLTCLVKGFYPSDIAEVESNGQPENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSRLLT VDKSSWQEGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLGLKIEGRMD (SEQ ID NO: 97)
SKYGPCPCP (SEQ ID NO: 49)	APEFLGGPSVFLPPKPKDQIMISRTPEVTCVVVDVDSQ DPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLT LHQDWLSGKEYCKVSKGLPSSIEKTIISNATGQPREPQ VYTLPSQEEETKNQVSLTCLVKGFYPSDIAEVESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSRLLTVDKSSWQEGNVFSC SVLHEALHNHYTQKSLSLGLK (SEQ ID NO: 48)	IEGRMD (SEQ ID NO: 52)	SKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLPPKPKDQIMISRTPEVTCVVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLT LHQDWLSGKEYCKVSKGLPSSIEKTIISNATGQPREPQVYTLPSQEEETKNQV SLTCLVKGFYPSDIAEVESNGQPENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSRLLT VDKSSWQEGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLGLKIEGRMD (SEQ ID NO: 98)
SKYGPCPCP (SEQ ID NO: 50)	APEFLGGPSVFLPPKPKDQIMISRTPEVTCVVVDVDSQ DPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLT LHQDWLSGKEYCKVSKGLPSSIEKTIISNATGQPREPQ VYTLPSQEEETKNQVSLTCLVKGFYPSDIAEVESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSRLLTVDKSSWQEGNVFSC SVLHEALHNHYTQKSLSLGLK (SEQ ID NO: 46)	IEGRMD (SEQ ID NO: 52)	SKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLPPKPKDQIMISRTPEVTCVVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLT LHQDWLSGKEYCKVSKGLPSSIEKTIISNATGQPREPQVYTLPSQEEETKNQV SLTCLVKGFYPSDIAEVESNGQPENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSRLLT VDKSSWQEGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLGLKIEGRMD (SEQ ID NO: 99)
SKYGPCPCP (SEQ ID NO: 50)	APEFLGGPSVFLPPKPKDQIMISRTPEVTCVVVDVDSQ DPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLT PHSDWLSGKEYCKVSKGLPSSIEKTIISNATGQPREPQ VYTLPSQEEETKNQVSLTCLVKGFYPSDIAEVESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSRLLTVDKSSWQEGNVFSC SVLHEALHNHYTQKSLSLGLK (SEQ ID NO: 47)	IEGRMD (SEQ ID NO: 52)	SKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLPPKPKDQIMISRTPEVTCVVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLT LHQDWLSGKEYCKVSKGLPSSIEKTIISNATGQPREPQVYTLPSQEEETKNQV SLTCLVKGFYPSDIAEVESNGQPENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSRLLT VDKSSWQEGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLGLKIEGRMD (SEQ ID NO: 100)
SKYGPCPCP (SEQ ID NO: 50)	APEFLGGPSVFLPPKPKDQIMISRTPEVTCVVVDVDSQ DPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLT LHQDWLSGKEYCKVSKGLPSSIEKTIISNATGQPREPQ VYTLPSQEEETKNQVSLTCLVKGFYPSDIAEVESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSRLLTVDKSSWQEGNVFSC SVLHEALHNHYTQKSLSLGLK (SEQ ID NO: 48)	IEGRMD (SEQ ID NO: 52)	SKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLPPKPKDQIMISRTPEVTCVVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLT LHQDWLSGKEYCKVSKGLPSSIEKTIISNATGQPREPQVYTLPSQEEETKNQV SLTCLVKGFYPSDIAEVESNGQPENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSRLLT VDKSSWQEGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLGLKIEGRMD (SEQ ID NO: 101)

图32