



(10) 授权公告号 CN 111918879 B

(45) 授权公告日 2024.10.15

(21) 申请号 201980012636.9

(22) 申请日 2019.02.20

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 111918879 A

(43) 申请公布日 2020.11.10

(30) 优先权数据  
2018900534 2018.02.20 AU

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2020.08.10

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/AU2019/050137 2019.02.20

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02019/161443 EN 2019.08.29

(73) 专利权人 哈马罗吉科斯股份有限公司  
地址 澳大利亚新南威尔士

(72) 发明人 R·邓恩

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所  
有限公司 11038  
专利代理师 张小勇

(51) Int.Cl.  
C07K 16/42 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)  
A61P 37/00 (2006.01)

(56) 对比文件  
CN 102802667 A, 2012.11.28  
CN 1946425 A, 2007.04.11

审查员 王浩铭

权利要求书2页 说明书30页  
序列表35页 附图7页

(54) 发明名称

用于治疗表达LMA的癌症和自身免疫疾病的  
抗λ骨髓瘤抗原(LMA)结合蛋白

(57) 摘要

本申请涉及抗λ骨髓瘤抗原(LMA)结合蛋白,其中所述结合蛋白为抗体。还公开了包含这些抗体和编码这些抗体的核酸的组合物。这些抗体、组合物和核酸可用于治疗表达LMA的病状。

1. 一种具有抗原结合结构域的抗 $\lambda$ 骨髓瘤抗原结合蛋白,其中所述抗原结合结构域相对于游离 $\lambda$ 轻链优先结合 $\lambda$ 骨髓瘤抗原并且包括重链可变区( $V_H$ )和轻链可变区( $V_L$ ),其中所述 $V_H$ 包括如SEQ ID NO:1所示的互补决定区(CDR)1、如SEQ ID NO:2所示的CDR2和如SEQ ID NO:3所示的CDR3,并且所述 $V_L$ 包括如SEQ ID NO:6所示的CDR1、如SEQ ID NO:7所示的CDR2和如SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:13所示的CDR3。

2. 根据权利要求1所述的结合蛋白,其中所述 $V_H$ 包括SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列。

3. 根据权利要求1或2所述的结合蛋白,其中所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列。

4. 根据权利要求1或2所述的结合蛋白,其中所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列。

5. 一种具有抗原结合结构域的抗 $\lambda$ 骨髓瘤抗原结合蛋白,其中所述抗原结合结构域结合 $\lambda$ 骨髓瘤抗原并且包括 $V_H$ 和 $V_L$ ,其中:

所述 $V_H$ 包括如SEQ ID NO:61所示的CDR1、如SEQ ID NO:62所示的CDR2和如SEQ ID NO:63所示的CDR3;并且

所述 $V_L$ 包括:

如SEQ ID NO:66所示的CDR1、如SEQ ID NO:67所示的CDR2和如SEQ ID NO:68所示的CDR3,或

如SEQ ID NO:71所示的CDR1、如SEQ ID NO:72所示的CDR2和如SEQ ID NO:73所示的CDR3。

6. 根据权利要求5所述的结合蛋白,其中所述 $V_H$ 包括SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列。

7. 根据权利要求5或权利要求6所述的结合蛋白,其中所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:70或75所示的氨基酸序列。

8. 一种具有抗原结合结构域的抗 $\lambda$ 骨髓瘤抗原结合蛋白,其中所述抗原结合结构域结合 $\lambda$ 骨髓瘤抗原并且包括重链可变区( $V_H$ )和轻链可变区( $V_L$ ),所述 $V_H$ 包括SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列并且所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列,其中所述 $V_H$ 包括如SEQ ID NO:1所示的互补决定区(CDR)1、如SEQ ID NO:2所示的CDR2和如SEQ ID NO:3所示的CDR3,并且所述 $V_L$ 包括如SEQ ID NO:6所示的CDR1、如SEQ ID NO:7所示的CDR2和如SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:13所示的CDR3。

9. 一种具有抗原结合结构域的抗 $\lambda$ 骨髓瘤抗原结合蛋白,其中所述抗原结合结构域结合 $\lambda$ 骨髓瘤抗原并且包括重链可变区( $V_H$ )和轻链可变区( $V_L$ ),所述 $V_H$ 包括SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列并且所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列,其中:

所述 $V_H$ 包括如SEQ ID NO:61所示的CDR1、如SEQ ID NO:62所示的CDR2和如SEQ ID NO:63所示的CDR3;并且

所述 $V_L$ 包括:

如SEQ ID NO:66所示的CDR1、如SEQ ID NO:67所示的CDR2和如SEQ ID NO:68所示的CDR3,或

如SEQ ID NO:71所示的CDR1、如SEQ ID NO:72所示的CDR2和如SEQ ID NO:73所示的CDR3。

10. 根据权利要求1、5、8或9中任一项所述的结合蛋白,其中所述结合蛋白特异性结合 $\lambda$

骨髓瘤抗原。

11. 根据权利要求1、5、8或9中任一项所述的结合蛋白,其为抗体。

12. 根据权利要求1、5、8或9中任一项所述的结合蛋白,其中所述 $V_H$ 和 $V_L$ 在单一多肽链中。

13. 根据权利要求12所述的结合蛋白,其为:

(i) 单链Fv片段;

(ii) 二聚体scFv;

(iii) 三聚体scFv;或者

(iv) 与抗体的恒定区、Fc或重链恒定结构域 $C_H2$ 和/或 $C_H3$ 连接的(i)、(ii)或(iii)中的任一个。

14. 根据权利要求1、5、8或9中任一项所述的结合蛋白,其中所述 $V_H$ 和 $V_L$ 在分开的多肽链中。

15. 根据权利要求14所述的结合蛋白,其为:

(i) 双链抗体;

(ii) 三链抗体;

(iii) 四链抗体;

(iv) Fab;

(v)  $F(ab')_2$ ;

(vi) Fv;

(vii) 与抗体的恒定区、Fc或重链恒定结构域 $C_H2$ 和/或 $C_H3$ 连接的(i)至(vi)中的一个;  
或者

(viii) 完整抗体。

16. 根据权利要求1、5、8或9中任一项所述的结合蛋白,其为人结合蛋白。

17. 一种编码根据权利要求1、5、8或9中任一项所述的结合蛋白的核酸。

18. 一种表达根据权利要求1、5、8或9中任一项所述的结合蛋白的分离或重组细胞。

19. 一种组合物,其包括药物载体和根据权利要求1、5、8或9中任一项所述的结合蛋白。

20. 根据权利要求1、5、8或9中任一项所述的结合蛋白在制备用于治疗多发性骨髓瘤的药物中的用途。

## 用于治疗表达LMA的癌症和自身免疫疾病的抗 $\lambda$ 骨髓瘤抗原(LMA)结合蛋白

### 技术领域

[0001] 本发明涉及抗LMA结合蛋白。此类结合蛋白可用于治疗与浆细胞和/或其前体的异常增殖相关的病症。

### 背景技术

[0002] 浆细胞和/或其前体的异常增殖是各种人类病症的标志。一个实施例是多发性骨髓瘤(MM),其是骨髓浆细胞的恶性肿瘤。该疾病的特征是恶性浆细胞分泌 $\lambda$ 或 $\lambda$ 轻链限制性单克隆副蛋白。约40%的骨髓瘤患者存在 $\lambda$ 限制, $\lambda$ 骨髓瘤抗原(LMA)的表达高度局限于恶性效应细胞。尽管最近在治疗方面取得了进展,多发性骨髓瘤仍然是无法治愈的。其临床过程的特征在于最初对治疗有反应,随后反复复发,最终对所有形式的治疗产生抗性。由于疾病本身和现有治疗的毒性,它还与显着的发病率和残疾有关。

[0003] 因此,需要用于治疗浆细胞和/或其前体的异常增殖的新方法。

### 发明内容

[0004] 当产生本发明的人结合蛋白时,本发明人鉴定了结合并杀死LMA阳性细胞系的人源抗体的选择。本发明人还鉴定了具有重链修饰的人源抗体,其引导优先结合LMA(即细胞表面抗原)而不是游离 $\lambda$ 轻链(例如血清抗原)。这些修饰可以掺入各种结合蛋白以优先靶向表达LMA的细胞。这种结合蛋白在介导表达LMA的细胞如表达LMA的癌细胞的靶向杀伤方面特别有效。

[0005] 因此,在第一方面,本发明涉及具有抗原结合结构域的抗 $\lambda$ 骨髓瘤抗原(LMA)结合蛋白,其中抗原结合结构域相对于游离 $\lambda$ 轻链优先结合LMA并且包括重链可变区( $V_H$ )和轻链可变区( $V_L$ ),其中 $V_H$ 包括如SEQ ID NO:1所示的互补决定区(CDR)1、如SEQ ID NO:2所示的CDR2和如SEQ ID NO:3所示的CDR3。在另一个实施例中, $V_H$ 包括SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列。在另一个实施例中, $V_L$ 包括如SEQ ID NO:6所示的CDR1,如SEQ ID NO:7所示的CDR2和如SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:13所示的CDR3。在另一个实施例中, $V_L$ 包括SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列。在另一个实施例中, $V_L$ 包括SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列。在一个实施例中,上述引用的结合蛋白结合 $\lambda$ 同种型2型和3型。在一个实施例中,上述引用的抗体不结合 $\lambda$ 同种型1型。在另一个实施例中,如通过表面等离子共振(SPR)所测量,上述引用的抗体以小于 $1 \times 10^{10}$ 的 $K_D$ 结合游离 $\lambda$ 轻链。在另一个实施例中,如通过SPR所测量,上述引用的抗体以小于 $5 \times 10^9$ 的 $K_D$ 结合游离 $\lambda$ 轻链。在另一个实施例中,如通过SPR所测量,上述引用的抗体以小于 $1 \times 10^9$ 的 $K_D$ 结合游离 $\lambda$ 轻链。在另一个实施例中,如通过SPR所测量,上述引用的抗体以小于 $5 \times 10^8$ 的 $K_D$ 结合游离 $\lambda$ 轻链。在另一个实施例中,如通过SPR所测量,上述引用的抗体以小于 $5 \times 10^7$ 的 $K_D$ 结合游离 $\lambda$ 轻链。

[0006] 在另一个实施例中,本发明涵盖具有抗原结合结构域的抗LMA结合蛋白,其中抗原结合结构域结合LMA并且包括 $V_H$ 和 $V_L$ ,其中:

[0007] —— $V_H$ 包括如SEQ ID NO:31所示的CDR1,如SEQ ID NO:32所示的CDR2和如SEQ ID NO:33所示的CDR3,并且 $V_L$ 包括如SEQ ID NO:36或SEQ ID NO:41所示的CDR1,如SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:42所示的CDR2和如SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:43所示的CDR3;或者,

[0008] —— $V_H$ 包括如SEQ ID NO:61所示的CDR1,如SEQ ID NO:62所示的CDR2和如SEQ ID NO:63所示的CDR3,并且 $V_L$ 包括如SEQ ID NO:66或SEQ ID NO:71所示的CDR1,如SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:72所示的CDR2和如SEQ ID NO:68或SEQ ID NO:73所示的CDR3。在一个实施例中, $V_H$ 包括SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列。在另一个实施例中, $V_L$ 包括SEQ ID NO:39、44、69或74中任一者所示的氨基酸序列。

[0009] 在另一个实施例中,本发明涵盖具有抗原结合结构域的抗LMA结合蛋白,其中抗原结合结构域结合LMA并且包括重链可变区( $V_H$ )和轻链可变区( $V_L$ ),其中:

[0010] ——所述 $V_H$ 包括SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列并且所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列;

[0011] ——所述 $V_H$ 包括SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列并且所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:40或SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列;

[0012] ——所述 $V_H$ 包括SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列并且所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列。

[0013] 在另一个实施例中,本发明涵盖具有抗原结合结构域的抗LMA结合蛋白,其中抗原结合结构域结合LMA并且包括重链可变区( $V_H$ )和轻链可变区( $V_L$ ),其中:

[0014] —— $V_H$ 包括来自SEQ ID NO:5所示氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3,并且 $V_L$ 包括来自SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;

[0015] —— $V_H$ 包括来自SEQ ID NO:34所示氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3,并且 $V_L$ 包括来自SEQ ID NO:40或SEQ ID NO:45所示氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;

[0016] —— $V_H$ 包括来自SEQ ID NO:65所示氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3,并且 $V_L$ 包括来自SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:75所示氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;

[0017] 其中使用Kabat指定CDR。

[0018] 在另一个实施例中,本发明涵盖具有抗原结合结构域的抗LMA结合蛋白,其中抗原结合结构域结合LMA并且包括重链可变区( $V_H$ )和轻链可变区( $V_L$ ),其中:

[0019] —— $V_H$ 包括来自SEQ ID NO:5所示氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3,并且 $V_L$ 包括来自SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:15所示氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;

[0020] —— $V_H$ 包括来自SEQ ID NO:34所示氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3,并且 $V_L$ 包括来自SEQ ID NO:40或SEQ ID NO:45所示氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;

[0021] —— $V_H$ 包括来自SEQ ID NO:65所示氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3,并且 $V_L$ 包括来自SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:75所示氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3;

[0022] 其中使用IMGT指定CDR。

[0023] 在另一个实施例中,本文公开的结合蛋白特异性结合LMA。在另一个实施例中,本文公开的结合蛋白是抗体。在一个实施例中,抗体特异性结合LMA。在一个实施例中,抗体是人源抗体。在一个实施例中,本文公开的结合蛋白的 $V_H$ 和 $V_L$ 在单一多肽链中。例如,所述结合蛋白可以是:

[0024] (i) 单链Fv片段(scFv);

[0025] (ii) 二聚体scFv(di-scFv)；

[0026] (iii) 三聚体scFv(tri-scFv)；

[0027] (iv) 与抗体的恒定区、Fc或重链恒定结构域 $C_{H2}$ 和/或 $C_{H3}$ 连接的(i)、(ii)或(iii)中的任一个。

[0028] 在另一个实施例中,本文公开的结合蛋白的 $V_H$ 和 $V_L$ 在分开的多肽链中。例如,所述结合蛋白可以是:

[0029] (i) 双链抗体;

[0030] (ii) 三链抗体;

[0031] (iii) 四链抗体;

[0032] (iv) Fab;

[0033] (v)  $F(ab')_2$ ;

[0034] (vi) Fv;

[0035] (vii) 与抗体的恒定区、Fc或重链恒定结构域 $C_{H2}$ 和/或 $C_{H3}$ 连接的(i)至(vi)中的一个;或者,

[0036] (viii) 完整抗体。

[0037] 在另一个实施例中,本发明涵盖编码本文公开的结合蛋白的核酸。在另一个实施例中,本发明涵盖包括编码本文公开的结合蛋白的核酸的载体(vector)。在一个实施例中,可以在宿主细胞中提供这种载体(vector)用于核酸的表达。因此,在一个实施例中,本发明涵盖表达本文定义的结合蛋白的分离的或重组的细胞。

[0038] 在另一个实施例中,本发明涵盖包括药物载体(carrier)和本文定义的结合蛋白的组合物。

[0039] 在另一个实施例中,本发明涵盖治疗受试者中表达LMA的癌症的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的本文定义的结合蛋白。在另一个实施例中,本发明包括本文定义的结合蛋白在制备用于治疗表达LMA的癌症的药物中的用途。在另一个实施例中,本发明涵盖用于治疗表达LMA的癌症的本文定义的结合蛋白。在一个实施例中,表达LMA的癌症是多发性骨髓瘤、Waldenstroms巨球蛋白血症、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、POEMS综合征或淀粉样变性。

[0040] 在另一个实施例中,本发明涵盖治疗受试者中自身免疫性疾病的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的本文定义的结合蛋白。在另一个实施例中,本发明包括本文定义的结合蛋白在制备用于治疗自身免疫性疾病的药物中的用途。在另一个实施例中,本发明涵盖用于治疗自身免疫性疾病的本文定义的结合蛋白。在一个实施例中,所述自身免疫性疾病选自类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、糖尿病和多发性硬化。

[0041] 除非另外具体说明,否则本文中的任何实施例应被理解为比照适用于任何其他实施例。

[0042] 本发明不限于本文描述的特定实施例的范围,这些实施例仅用于示例性目的。如本文所述,功能等同的产品、组合物和方法显然在本发明的范围内。

[0043] 在整个说明书中,除非另有特别说明或上下文另有要求,引用单个步骤、物质组成、步骤组或物质组成组应被认为包括一个和多个(即一个或更多个)那些步骤、物质组成、步骤组或物质组成组。

[0044] 以下通过以下非限制性实施例并参考附图描述本发明。

### 附图说明

[0045] 图1λ游离轻链上的4G7单克隆抗体表位。左边的组显示了λ游离轻链1、2和3同种型的氨基酸序列的比对,其中λ同种型2型和3型构成表达的λ轻链所有组成成分的95%。星号表示序列同一性。突出显示了不同的氨基酸。右图显示了在λ轻链二聚体(MCG二聚体)和MCG Ig的3D结构中鉴定的肽,表明在折叠的轻链蛋白内,这两个肽形成传染,创建了非独特型构象表位。

[0046] 图2人抗LMA抗体对纯化的λ轻链的亲合力。(A) 该图描述了SPR值4G7。

[0047] 抗纯化的λ轻链BJP(LAM034MD、LAM134MD、MAL788MD、LAM885D、LAM893D)(20μg/mL)的人抗LMA抗体克隆(1A11、7F11、10B3、18E8、18E11和18F9)(20ng/mL)。以抗-κBJP单克隆抗体MDX-1097和κBJP(20ng/mL)(KAP960M)作为阴性对照。人抗LMA抗体克隆,除了7F11之外,显示对纯化的λ轻链BJP的高的和相当的选择性亲合力;7F11表现出较低的亲合力。λ轻链末端的缩写BJP:M:单体;MD:单体和二聚体形式的混合物;D:二聚体。(B) 该图描述了人抗LMA抗体克隆(18E8、7F11和18F9)(700ng/mL)对市售λ轻链(Bethyl)的SPR值。与克隆18E8和18F9相比,人抗LMA抗体7F11与市售λ轻链(Bethyl)弱结合。

[0048] 图3人抗LMA抗体对HEK细胞的重组λ轻链分离物的亲合力。该图描绘了针对食蟹猴λ轻链(CYN01、CYN03),来自λ轻链转染的HEK细胞的上清液、LP-1λ轻链分离物(LP-1ISO)和RPMI-8226λ轻链分离物(RPMI-8226ISO)的人抗LMA抗体候选物(1A11、7F11、10B3、18E8、18E11、18F9)(20μg/mL)的SPR值。以抗κBJP单克隆抗体MDX-1097作为阴性对照。除了7F11之外,人抗LMA抗体克隆对来自HEK、LP-1和RPMI-8226的食蟹猴λ轻链和λ轻链分离物显示出高的和相当的选择性亲合力;7F11表现出低亲合力。

[0049] 图4人抗LMA抗体对人多发性骨髓瘤细胞系的亲合力。该图描绘了针对来自人多发性骨髓瘤细胞系(RPMI-8226(λ同种型2型)、LP-1(λ同种型1型)、JJN3(κ)、OPM-2(λ同种型3型))的上清液的人抗LMA抗体候选物(6A1、13H3和4A1)(20μg/mL)的SPR值。人抗LMA抗体克隆显示对人多发性骨髓瘤细胞系表达的可溶性λ轻链同种型具有高的和选择性的亲合力,而对JJN3细胞系表达的κ轻链没有亲合力。

[0050] 图5人抗LMA抗体与LMA阳性人骨髓瘤细胞系的结合。(A) 该图描绘了与流式细胞仪分析确定的无一抗对照相比,人抗LMA抗体候选细胞(1A11、7F11、10B3、18E8、18E11和18F9)对LMA阳性的人骨髓瘤细胞系(RPMI-8226(λ同种型2型)、U266(λ同种型2型)、JJN3(κ)、OPM-2(λ同种型3型))的相对染色(几何均值)。人抗LMA抗体显示对所有测试的人骨髓瘤细胞系的选择性染色,但对JJN3(κ)细胞系没有(或弱)染色。(B) 该图描绘了与流式细胞仪分析确定的无一抗对照相比,人抗LMA抗体候选细胞(1A11、7F11、10B3、18E8、18E11、18F9、6A1、4A1和13H3)对LMA阳性的人骨髓瘤细胞系(U266(λ同种型2型)、OPM-2(λ同种型3型)和KMS-18(λ同种型1型))的相对染色(几何均值)。

[0051] 图6骨髓瘤细胞的抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。

[0052] 图7骨髓瘤细胞的补体介导的细胞毒性(CDC)。

[0053] 图8序列比对,比较7F11与10B3、18E11和18E8。重链CDR加下划线。星号表示序列同一性。

- [0054] 图9人扁桃体的冰冻切片 (HT2449-1) 以10 $\mu$ g/mL的10B3染色。40 $\times$ 物镜
- [0055] 图10人扁桃体的冰冻切片 (HT2449-1) 以10 $\mu$ g/mL的7F11染色。40 $\times$ 物镜。
- [0056] 序列表的关键字
- [0057] NB:Kabat编号系统,用于指定CDR和框架序列
- [0058] SEQ ID NO:1-7F11重链CDR1氨基酸序列
- [0059] SEQ ID NO:2-7F11重链CDR2氨基酸序列
- [0060] SEQ ID NO:3-7F11重链CDR3氨基酸序列
- [0061] SEQ ID NO:4-7F11重链框架氨基酸序列
- [0062] SEQ ID NO:5-7F11重链全长氨基酸序列
- [0063] SEQ ID NO:6-7F11轻链1-CDR1氨基酸序列
- [0064] SEQ ID NO:7-7F11轻链1-CDR2氨基酸序列
- [0065] SEQ ID NO:8-7F11轻链1-CDR3氨基酸序列
- [0066] SEQ ID NO:9-7F11轻链1-框架氨基酸序列
- [0067] SEQ ID NO:10-7F11轻链1-全长氨基酸序列
- [0068] SEQ ID NO:11-7F11轻链2-CDR1氨基酸序列
- [0069] SEQ ID NO:12-7F11轻链2-CDR2氨基酸序列
- [0070] SEQ ID NO:13-7F11轻链2-CDR3氨基酸序列
- [0071] SEQ ID NO:14-7F11轻链2-框架氨基酸序列
- [0072] SEQ ID NO:15-7F11轻链2-全长氨基酸序列
- [0073] SEQ ID NO:16-7F11重链CDR1 DNA序列
- [0074] SEQ ID NO:17-7F11重链CDR2 DNA序列
- [0075] SEQ ID NO:18-7F11重链CDR3 DNA序列
- [0076] SEQ ID NO:19-7F11重链框架DNA序列
- [0077] SEQ ID NO:20-7F11重链全长DNA序列
- [0078] SEQ ID NO:21-7F11轻链1-CDR1 DNA序列
- [0079] SEQ ID NO:22-7F11轻链1-CDR2 DNA序列
- [0080] SEQ ID NO:23-7F11轻链1-CDR3 DNA序列
- [0081] SEQ ID NO:24-7F11轻链1-框架DNA序列
- [0082] SEQ ID NO:25-7F11轻链1-全长DNA序列
- [0083] SEQ ID NO:26-7F11轻链2-CDR1 DNA序列
- [0084] SEQ ID NO:27-7F11轻链2-CDR2 DNA序列
- [0085] SEQ ID NO:28-7F11轻链2-CDR3 DNA序列
- [0086] SEQ ID NO:29-7F11轻链2-框架DNA序列
- [0087] SEQ ID NO:30-7F11轻链2-全长DNA序列
- [0088] SEQ ID NO:31-18E8重链CDR1氨基酸序列
- [0089] SEQ ID NO:32-18E8重链CDR2氨基酸序列
- [0090] SEQ ID NO:33-18E8重链CDR3氨基酸序列
- [0091] SEQ ID NO:34-18E8重链框架氨基酸序列
- [0092] SEQ ID NO:35-18E8重链全长氨基酸序列

- [0093] SEQ ID NO:36-18E8轻链1-CDR1氨基酸序列
- [0094] SEQ ID NO:37-18E8轻链1-CDR2氨基酸序列
- [0095] SEQ ID NO:38-18E8轻链1-CDR3氨基酸序列
- [0096] SEQ ID NO:39-18E8轻链1-框架氨基酸序列
- [0097] SEQ ID NO:40-18E8轻链1-全长氨基酸序列
- [0098] SEQ ID NO:41-18E8轻链2-CDR1氨基酸序列
- [0099] SEQ ID NO:42-18E8轻链2-CDR2氨基酸序列
- [0100] SEQ ID NO:43-18E8轻链2-CDR3氨基酸序列
- [0101] SEQ ID NO:44-18E8轻链2-框架氨基酸序列
- [0102] SEQ ID NO:45-18E8轻链2-全长氨基酸序列
- [0103] SEQ ID NO:46-18E8重链CDR1 DNA序列
- [0104] SEQ ID NO:47-18E8重链CDR2 DNA序列
- [0105] SEQ ID NO:48-18E8重链CDR3 DNA序列
- [0106] SEQ ID NO:49-18E8重链框架DNA序列
- [0107] SEQ ID NO:50-18E8重链全长DNA序列
- [0108] SEQ ID NO:51-18E8轻链1-CDR1 DNA序列
- [0109] SEQ ID NO:52-18E8轻链1-CDR2 DNA序列
- [0110] SEQ ID NO:53-18E8轻链1-CDR3 DNA序列
- [0111] SEQ ID NO:54-18E8轻链1-框架DNA序列
- [0112] SEQ ID NO:55-18E8轻链1-全长DNA序列
- [0113] SEQ ID NO:56-18E8轻链2-CDR1 DNA序列
- [0114] SEQ ID NO:57-18E8轻链2-CDR2 DNA序列
- [0115] SEQ ID NO:58-18E8轻链2-CDR3 DNA序列
- [0116] SEQ ID NO:59-18E8轻链2-框架DNA序列
- [0117] SEQ ID NO:60-18E8轻链2-全长DNA序列
- [0118] SEQ ID NO:61-10B3重链CDR1氨基酸序列
- [0119] SEQ ID NO:62-10B3重链CDR2氨基酸序列
- [0120] SEQ ID NO:63-10B3重链CDR3氨基酸序列
- [0121] SEQ ID NO:64-10B3重链框架氨基酸序列
- [0122] SEQ ID NO:65-10B3重链全长氨基酸序列
- [0123] SEQ ID NO:66-10B3轻链1-CDR1氨基酸序列
- [0124] SEQ ID NO:67-10B3轻链1-CDR2氨基酸序列
- [0125] SEQ ID NO:68-10B3轻链1-CDR3氨基酸序列
- [0126] SEQ ID NO:69-10B3轻链1-框架氨基酸序列
- [0127] SEQ ID NO:70-10B3轻链1-全长氨基酸序列
- [0128] SEQ ID NO:71-10B3轻链2-CDR1氨基酸序列
- [0129] SEQ ID NO:72-10B3轻链2-CDR2氨基酸序列
- [0130] SEQ ID NO:73-10B3轻链2-CDR3氨基酸序列
- [0131] SEQ ID NO:74-10B3轻链2-框架氨基酸序列

- [0132] SEQ ID NO:75-10B3轻链2-全长氨基酸序列
- [0133] SEQ ID NO:76-10B3重链CDR1 DNA序列
- [0134] SEQ ID NO:77-10B3重链CDR2 DNA序列
- [0135] SEQ ID NO:78-10B3重链CDR3 DNA序列
- [0136] SEQ ID NO:79-10B3重链框架DNA序列
- [0137] SEQ ID NO:80-10B3重链全长DNA序列
- [0138] SEQ ID NO:81-10B3轻链1-CDR1 DNA序列
- [0139] SEQ ID NO:82-10B3轻链1-CDR2 DNA序列
- [0140] SEQ ID NO:83-10B3轻链1-CDR3 DNA序列
- [0141] SEQ ID NO:84-10B3轻链1-框架DNA序列
- [0142] SEQ ID NO:85-10B3轻链1-全长DNA序列
- [0143] SEQ ID NO:86-10B3轻链2-CDR1 DNA序列
- [0144] SEQ ID NO:87-10B3轻链2-CDR2 DNA序列
- [0145] SEQ ID NO:88-10B3轻链2-CDR3 DNA序列
- [0146] SEQ ID NO:89-10B3轻链2-框架DNA序列
- [0147] SEQ ID NO:90-10B3轻链2-全长DNA序列
- [0148] SEQ ID NO:91-4G7表位 ( $\lambda$ 同种型2型和3型) 表位1
- [0149] SEQ ID NO:92-4G7表位 ( $\lambda$ 同种型2型和3型) 表位2
- [0150] SEQ ID NO:93-4G7表位 ( $\lambda$ 同种型1型) 表位1
- [0151] SEQ ID NO:94-4G7表位 ( $\lambda$ 同种型1型) 表位2

## 具体实施方式

### [0152] 一般技术和选择的定义

[0153] 除非另有明确定义,否则本文使用的所有技术和科学术语均应被视为具有与本领域(例如,分子生物学、生物化学、抗体、抗体片段和临床研究)普通技术人员通常理解相同含义。

[0154] “ $\lambda$ 骨髓瘤抗原”(LMA)是在浆细胞例如恶性骨髓瘤细胞和在一些情况下非恶性浆细胞前体例如成浆细胞的表面上发现的细胞膜抗原。具体地,LMA由在细胞膜上表达的游离 $\lambda$ 轻链组成。本发明涵盖的抗LMA结合蛋白特异性地识别 $\lambda$ 轻链上的构象表位,该构象表位仅在 $\lambda$ 轻链不与重链结合时才可用于结合。因此,本发明所涵盖的抗LMA结合蛋白不结合含有完整 $\lambda$ 链的IgG、IgM、IgE或IgA。

[0155] 如本文所用,引用本文所述的结合蛋白与LMA的相互作用的术语“结合”意指所述相互作用取决于LMA上特定结构(例如,抗原决定簇或表位)的存在。例如,结合蛋白识别并结合特异性抗原结构,而不是而不是一般的抗原。例如,如果结合蛋白结合表位“A”,则在包括标记的“A”和结合蛋白的反应中,包括表位“A”(或游离的,未标记的“A”)的分子的存在将减少结合至结合蛋白的标记的“A”的量。在一个实施例中,本文公开的LMA结合蛋白相对于游离 $\lambda$ 轻链(例如血清抗原)优先结合LMA(即细胞表面抗原)。本文公开的优先结合LMA而不是游离的 $\lambda$ 轻链的结合蛋白与LMA的反应或结合比其与游离轻链的反应或结合更频繁、更快、持续时间更长和/或亲和力更强。

[0156] 如本文所用,术语“特异性结合”应理解为意指结合蛋白与LMA之间的结合相互作用取决于结合蛋白对LMA的检测。因此,结合蛋白特异性结合或识别LMA,即使当存在于其它分子、细胞或生物体的混合物中时。在一个实施例中,结合蛋白与LMA的反应或结合比其与替代抗原或细胞相的反应或结合更频繁、更迅速、持续时间更长和/或亲和力更强。在一个实施例中,与游离轻链相比,本文公开的特异性结合LMA的结合蛋白也可以优先结合或识别LMA。通过阅读该定义还可以理解,例如,特异性结合LMA的结合蛋白可以或不特异性结合第二抗原。因此,“特异性结合”不一定要求另一种抗原的排他结合或不可检测结合。术语“特异性结合”在本文中可与“选择性结合”互换使用。一般而言,本文中对结合的引用意指特异性结合,并且每个术语应被理解为对另一术语提供明确的支持。测定特异性结合的方法对于本领域技术人员是显而易见的。例如,本发明的结合蛋白与LMA或替代抗原接触。然后测定结合蛋白与LMA或替代抗原的结合,并认为如上述结合LMA而不是替代抗原的结合蛋白特异性结合LMA。类似的方法可用于鉴定优先结合。在这种情况下,替代抗原将是游离轻链。

[0157] 术语“免疫球蛋白”应理解为包括包括免疫球蛋白结构域的抗LMA结合蛋白。示例性免疫球蛋白是抗体。术语“免疫球蛋白”包括的另外的蛋白包括结构域抗体、骆驼科抗体和来自软骨鱼类(即,免疫球蛋白新抗原受体(IgNAR))的抗体。通常,骆驼抗体和IgNAR包括 $V_H$ ,然而缺少 $V_L$ 并且通常被称为重链免疫球蛋白。其他“免疫球蛋白”包括T细胞受体。

[0158] 术语“结合蛋白”在本发明的上下文中用于指与特定抗原免疫反应的人免疫球蛋白分子,并且包括多克隆和单克隆抗体。术语“结合蛋白”还包括抗体的抗原结合形式,包括具有抗原结合能力的片段(例如, $Fab'$ 、 $F(ab')_2$ 、 $Fab$ 、 $Fv$ 和《皮尔斯目录和手册》(Pierce Catalogue and Handbook),1994-1995(皮尔斯化学公司(Pierce Chemical Co.),罗克福德,I11.);Kuby,J.,《免疫学》(Immunology),第3版,W.H.Freeman&Co.,纽约(1998)中描述的rIgG。该术语还用于指重组单链Fv片段(scFv)及其二价(di-scFv)和三价(tri-scFv)形式。术语抗体还包括双抗体(diabodies)、三抗体(triabodies)和四抗体(tetrabodies)。

[0159] 抗体的“抗原结合片段”包括完整抗体的一个或多个可变区。抗体片段的实施例包括 $Fab$ 、 $Fab'$ 、 $F(ab')_2$ 和 $Fv$ 片段;双抗体;线性抗体和由抗体片段形成的单链抗体分子。例如,术语抗原结合片段可用于指重组单链Fv片段(scFv)及其二价(di-scFv)和三价(tri-scFv)形式。

[0160] 这样的片段可以通过本领域已知的各种方法产生。

[0161] 术语“全长抗体”、“完整抗体”或“全抗体”可互换使用,是指相对于抗体的抗原结合片段,基本上完整形式的抗体。具体地,全抗体包括包括具有重链和轻链的那些包括Fc区。恒定结构域可以是野生型序列恒定结构域(例如,人野生型序列恒定结构域)或其氨基酸序列变体。

[0162] 术语“互补决定区”或“CDR”在本发明的上下文中用于指识别并结合特定抗原的抗体的两条可变链(重链和轻链)的部分。CDR是可变链的最易变部分,并提供具有特异性的结合蛋白。通常在可变重链( $V_H$ )和可变轻链( $V_L$ )链的每一者上存在三个CDR。

[0163] 如本文所用,“可变区”是指如本文定义的抗体的轻链和/或重链的特异性结合抗原的部分,并且例如包括CDR(例如CDR1、CDR2和CDR3)的氨基酸序列以及框架区(FRs)。例如,可变区包括三个或四个FR(例如,FR1、FR2、FR3和任选的FR4)以及三个CDR。 $V_H$ 指重链的

可变区。 $V_L$ 指轻链的可变区。

[0164] 在一个实施例中,根据具有免疫学意义的Kabat蛋白序列(Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest),国立卫生研究院(National Institutes of Health),贝塞斯达(Bethesda),马里兰州(Md.)1987和1991定义分配给CDR和FR的氨基酸位置(在本文中也称为“Kabat编号系统”或“Kabat”。

[0165] 包括用于可变结构域的校正或替代编号系统的其它约定包括IMGT(Lefranc等人(2003),《发展与比较免疫学》(Dev Comp Immunol)27:55-77)、Chothia(Chothia C,Lesk AM(1987),J Mol Biol 196:901-917;Chothia等人(1989),《自然》(Nature)342:877-883)和AHo(Honegger A,Plückthun A(2001)《分子生物学杂志》(J Mol Biol)309:657-670)。为方便起见,本发明的结合蛋白的实施例也可根据IMGT标记。

[0166] 本文所用的术语“恒定区”是指除可变区之外的抗体的重链或轻链的一部分。在重链中,恒定区通常包括多个恒定结构域和铰链区,例如,IgG恒定区包括以下连接组分,恒定重链 $C_H1$ 、接头、 $C_H2$ 和 $C_H3$ 。在重链中,恒定区包括Fc。在轻链中,恒定区通常包括一个恒定结构域(CL1)。

[0167] 术语“可结晶片段”或“Fc”或“Fc区”或“Fc部分”(其可在本文中互换使用)是指包括至少一个恒定结构域且通常(但不一定)糖基化且能够结合至一个或多个Fc受体和/或补体级联的组分的抗体的区域。重链恒定区可以选自以下五种同种型中的任一种: $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 或 $\mu$ 。示例性的重链恒定区是 $\gamma 1$ (IgG1)、 $\gamma 2$ (IgG2)和 $\gamma 3$ (IgG3)或其杂交体。

[0168] “恒定结构域”是抗体中的结构域,其序列在抗体/相同类型的抗体中高度相似,例如,IgG或IgM或IgE。抗体的恒定区通常包括多个恒定结构域,例如, $\gamma$ 、 $\alpha$ 或 $\delta$ 重链的恒定区包括两个恒定结构域。

[0169] 术语“抗体重链”在本文中用于指存在于所有抗体分子的天然存在的构型中的两种类型多肽链中的较大者。本文所用的“抗体轻链”是指存在于所有抗体分子的天然构型中的两种类型多肽链中的较小者。 $\kappa$ 和 $\lambda$ 轻链是指两个主要抗体轻链同种型。

[0170] 术语“裸露的”用于指未与另一种化合物(例如,有毒化合物或放射性标记)缀合的本发明的结合蛋白。例如,术语“裸露的”可用于指不与另一种化合物缀合的结合蛋白。因此,在一个实施例中,本发明的结合蛋白是“裸露的”。在另一种方式中,本发明的结合蛋白可以是未缀合的。

[0171] 相反,术语“缀合的”在本发明的上下文中用于指与另一种化合物(例如,毒性化合物,诸如细胞毒类药物或放射性标记)缀合的本文所述的结合蛋白。因此,在一个实施例中,本发明的结合蛋白是“缀合的”。

[0172] 本文所用的术语“细胞毒类药物”是指抑制或防止细胞功能和/或引起细胞死亡或破坏的物质。细胞毒性剂包括但不限于放射性同位素(例如, $At^{211}$ 、 $I^{131}$ 、 $I^{125}$ 、 $Y^{90}$ 、 $Re^{186}$ 、 $Re^{188}$ 、 $Sm^{153}$ 、Bi、P、Pb和Lu的放射性同位素)、化疗剂或药物(例如,例如甲氨蝶呤(methotrexate)、阿霉素(adriamicin)、长春花生物碱类(vincaalkaloids)(长春新碱(vincristine)、长春碱(vinblastine)、依托泊苷(etoposide)、(多柔比星(doxorubicin)、美法仑(melphalan)、丝裂霉素(mitomycin)C、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、柔红霉素(daunorubicin)或其它嵌入剂);生长抑制剂;酶及其片段,例如溶核酶;抗生素;毒素例如细菌、真菌、植物或动物来源的小分子毒素或酶活性毒素,包括其片段和/或变体;和以下公开的各种抗肿瘤或抗癌

剂。

[0173] 术语例如“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可在本发明的上下文中互换使用,指已经引入外源核酸的细胞,包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化子”和“已转化的细胞”,其包括原代转化细胞和从其衍生的后代而不考虑传代次数。子代的核酸含量可能与亲代细胞不完全相同,但可能含有突变。本文包括在最初转化的细胞中筛选或选择的具有相同功能或生物活性的突变后代。

[0174] 根据本发明的“分离的核酸”是已经从其天然环境的组分中分离的核酸分子。分离的核酸包括包括在细胞中的核酸分子,细胞通常包括核酸分子,但核酸分子存在于染色体外或存在于与其天然染色体位置不同的染色体位置。

[0175] 本文所用的术语“表达载体(vector)”是指包括重组核酸序列的载体(vector),所述重组核酸序列包括与待表达的核酸序列有效连接的至少一个表达控制序列。表达载体(vector)包括表达所需的所有必需的顺式作用元件。表达载体的实施例包括但不限于编码待表达的重组多核苷酸的质粒、粘粒和病毒。在其他实施例中,表达载体(vector)包括能够整合到基因组中的转座因子,例如PiggyBac表达系统。在另一个实施例中,表达载体(vector)是允许表达载体(vector)内容物整合到宿主基因组中的病毒载体,例如逆转录病毒和慢病毒载体(vector)。

[0176] 相对于参考多肽序列的“百分比(%)氨基酸序列同一性”定义为候选序列中与参考多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比,在序列比对和引入缺口(如果需要)以实现最大百分比序列同一性之后,并且不考虑任何保守取代作为序列同一性的一部分。用于确定氨基酸序列同一性百分比的比对可通过本领域技术人员已知的各种方法实现,例如使用公众可获得的计算机软件如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以确定用于比对序列的适当参数,包括在所比较的全长序列上实现最大比对所需的任何算法。

[0177] 根据本发明的结合蛋白和包括所述结合蛋白的组合物可以施用于受试者以治疗各种适应症。术语例如“受试者”、“患者”或“个体”是在上下文中可以在本发明中互换使用的术语。在一个实施例中,受试者是哺乳动物。该哺乳动物可以是宠物如狗或猫,或家畜如马或牛。在一个实施例中,受试者是人。例如,受试者可以是成人。在另一个实施例中,受试者可以是孩子。在另一个实施例中,受试者可以是青少年。

[0178] 如本文所用,术语“治疗”是指设计用于在临床病理过程中改变所治疗的个体或细胞的自然过程的临床干预。治疗的期望效果包括降低疾病进展速率、改善或减轻疾病状态以及缓解或改善预后。例如,如果与疾病相关的一个或多个症状减轻或消除,则个体“治疗”成功。

[0179] 如本文所用,术语“预防”包括提供关于个体中疾病的发生或复发的预防。个体可能有发病或复发的倾向,或有发病或复发的风险,但尚未被诊断出患有该疾病或复发。

[0180] “有效剂量”是指达到预期的治疗或预防效果所需的剂量和时间段内至少有效的用量。有效量可以一次或多次给药。在本发明的一些实施例中,术语“有效量”是指实现下述疾病或病症的治疗所必需的量。有效量可以根据待治疗的疾病或病症并且还根据体重、年龄、种族背景、性别、健康和/或身体状况以及与待治疗的受试者相关的其他因素而变化。典型地,有效量将落在相对宽的范围内(例如,“剂量”范围),其可由执业医师通过常规试验和

实验确定。

[0181] “治疗有效量”至少是实现特定病症(例如癌症)的可测量改善所需的最小浓度。本文中的治疗有效量可根据诸如患者的疾病状态、年龄、性别和体重以及结合蛋白在个体中引发所需反应的能力等因素而变化。治疗有效量也是其中治疗有益作用超过结合蛋白的任何毒性或有害作用的量。在癌症的情况下,治疗有效量的结合蛋白可以减少癌细胞的数量;减小原发性肿瘤大小;抑制(即,在一定程度上,并且在一些实施例中,停止)癌细胞浸润到周围器官中;抑制(即,在一定程度上,并且在一些实施例中,停止)肿瘤转移;在一定程度上抑制或延迟肿瘤生长或肿瘤进展;和/或在一定程度上减轻与癌症相关的一个或多个症状。在结合蛋白可以阻止生长和/或杀死现有癌细胞的范围内,其可以是细胞抑制性的和/或细胞毒性的。对于癌症疗法,体内效力可例如通过评估存活持续时间、疾病进展时间(TTP)、应答率(RR)、应答持续时间和/或生活质量来测量。

#### [0182] 人结合蛋白

[0183] 本发明涉及“人”结合蛋白。在一个实施例中,本发明的“人”结合蛋白可以包括不是由人序列编码的氨基酸残基,例如通过随机或体外定点突变引入的突变(特别是涉及保守取代的突变或在少量的蛋白残基中的突变,例如在蛋白的残基的1、2、3、4或5中的突变)。这些“人结合蛋白”不一定需要作为人类免疫反应的结果而产生,相反,它们可以使用重组手段(例如,筛选噬菌体展示文库)和/或通过包括编码人类抗体恒定和/或可变区的核酸的转基因动物(例如,小鼠)和/或使用引导选择(例如,如或美国专利5,565,332号中所描述的)来产生。该术语还包括这些抗体的亲和力成熟形式。在一个实施例中,该术语包括人源抗体。

[0184] 单克隆抗体是本发明考虑的结合蛋白的另一示例性形式。术语“单克隆抗体”或“MAb”是指能够结合相同抗原(例如结合抗原内的相同表位)的均相抗体群。该术语不旨在限制抗体的来源或其制备方式。

[0185] 本发明还考虑去免疫抗体或其抗原结合片段,例如参见WO 2000/34317和WO 2004/108158中所述。去免疫抗体和片段具有一个或多个表位,例如,去除(即,突变)的B细胞表位或T细胞表位,从而降低受试者产生针对抗体或蛋白的免疫应答的可能性。例如,分析本发明的抗体以鉴定一个或多个B或T细胞表位,并且突变该表位内的一个或多个氨基酸残基,从而降低抗体的免疫原性。

#### [0186] 抗体片段

##### [0187] 单结构域抗体

[0188] 在一些实施例中,本发明的结合蛋白是或包括单结构域抗体(其可与术语“结构域抗体”或“dAb”互换使用)。单结构域抗体是包括抗体重链可变结构域的全部或部分的单多肽链。

##### [0189] 单链Fv(scFv)片段

[0190] 本领域技术人员将意识到scFv包括单一多肽链中的 $V_H$ 和 $V_L$ 区以及 $V_H$ 和 $V_L$ 之间的多肽接头,所述多肽接头使scFv能够形成抗原结合所需的结构(即,使单一多肽链的 $V_H$ 和 $V_L$ 彼此缔合以形成Fv)。单链可变片段缺乏在完整抗体分子中发现的恒定Fc区,因此可以具有降低的免疫原性。示例性接头包括超过12个氨基酸残基,其中 $(Gly_4Ser)_3$ 是scFv的更有利接头之一。

[0191] 本发明还考虑了二硫化物稳定的Fv(或diFv或dsFv),其中单个半胱氨酸残基被引入V<sub>H</sub>的FR和V<sub>L</sub>的FR中,并且半胱氨酸残基通过二硫键连接以产生稳定的Fv。

[0192] 在另一个实施例中,本发明包括二聚体scFv(di-scFv),即,包括两个scFv分子的蛋白,所述两个scFv分子通过非共价或共价连接,例如,通过亮氨酸拉链结构域(例如,衍生自Fos或Jun)或三聚体scFv(tri-scFv)连接。在另一个实施例中,两个scFv通过足够长度的肽接头连接,以允许两个scFv形成并结合抗原,例如,如美国公开申请20060263367号中所述。

[0193] 双链抗体、三链抗体、四链抗体

[0194] 在一些实施例中,本发明的抗原结合片段是或包括双链抗体、三链抗体、四链抗体或更高级蛋白复合物,例如WO 98/044001和/或WO 94/007921中描述的那些。

[0195] 例如,双抗体是包括两条关联的多肽链的蛋白,每条多肽链包括结构V<sub>L</sub>-X-V<sub>H</sub>或V<sub>H</sub>-X-V<sub>L</sub>,其中X是包含不足以允许单一多肽链中的V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>缔合或不存在的残基的接头,并且其中一条多肽链的V<sub>H</sub>与另一条多肽链的V<sub>L</sub>结合形成抗原结合位点,即,而形成能够特异性结合一个或多个抗原的Fv分子。

[0196] 免疫球蛋白和免疫球蛋白片段

[0197] 本发明的结合蛋白的实施例是包括免疫球蛋白的可变区的蛋白(例如,抗体模拟物),所述免疫球蛋白例如T细胞受体或重链免疫球蛋白(例如,IgNAR、骆驼抗体)。

[0198] V-样蛋白

[0199] 本发明的结合蛋白的实施例是T细胞受体。T细胞受体具有结合成类似于抗体Fv模块的结构两个V结构域。Novotny等人,美国科学院学报(Proc Natl Acad Sci USA)88:8646-8650,1991描述了如何将T细胞受体的两个V结构域(称为 $\alpha$ 和 $\beta$ )融合并表达为单链多肽,以及如何改变表面残基以降低直接类似于抗体scFv的疏水性。描述包括两个V- $\alpha$ 和V- $\beta$ 结构域的单链T细胞受体或多聚体T细胞受体的生产的其他公开包括WO 1999/045110或WO 2011/107595。

[0200] 包括抗原结合结构域的其他非抗体蛋白包括具有V-样结构域的蛋白,其通常是单体的。包括此类V-样结构域的蛋白的实施例包括CTLA-4、CD28和ICOS。包括此类V-样结构域的蛋白的进一步公开内容包括在WO 1999/045110中。

[0201] 亲和体(affibody)

[0202] 在另一个实施例中,本发明的结合蛋白是亲和体。亲和体是来源于金黄色葡萄球菌的蛋白A的Z结构域(抗原结合结构域)的支架,其可以被工程化以结合抗原。Z结构域由大约58个氨基酸的三螺旋束组成。已经通过表面残基的随机化产生了文库。更多细节参见EP 1641818。

[0203] 高亲和性多聚体(Avimers)

[0204] 在另一个实施例中,本发明的结合蛋白是高亲和性多聚体。高亲和性多聚体是衍生自A-结构域支架家族的多结构域蛋白。约35个氨基酸的天然结构域采用限定的二硫键合结构。多样性是通过改组A-结构域家族所显示的天然变异而产生的。更多细节参见WO 2002/088171。

[0205] 其他结合蛋白

[0206] 本发明所涵盖的结合蛋白的其他实施例包括:

[0207] (i) 肽展示支架如affimers和adhiro(WO 2009136182;Tiede等人(2014)Protein Eng Des Sel 27,145-155);和,

[0208] (ii)centyrin(Jacobs等人(2012)Protein Eng Des Sel.25,107-117;Diem等人(2014)Protein Eng Des sel.27,49-429)。

[0209] λ骨髓瘤抗原(LMA)结合蛋白

[0210] 本文定义的结合蛋白具有与λ骨髓瘤抗原(LMA)结合或特异性结合的抗原结合结构域。在一个实施例中,本文定义的结合蛋白具有相对于游离轻链优先结合LMA的抗原结合结构域。在一个实施例中,根据本发明的抗LMA结合蛋白包括具有如SEQ ID NO:1所示的CDR1,如SEQ ID NO:2所示的CDR2和如SEQ ID NO:3所示的CDR3的重链可变区( $V_H$ )。在另一个实施例中,抗LMA结合蛋白包括具有SEQ ID NO:6中所示的CDR1、SEQ ID NO:7中所示的CDR2和SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:13中所示的CDR3的轻链可变区( $V_L$ )。在另一个实施例中,抗LMA结合蛋白包括具有如SEQ ID NO:6所示的CDR1、如SEQ ID NO:7所示的CDR2和如SEQ ID NO:8所示的CDR3的轻链可变区( $V_L$ )。在另一个实施例中,抗LMA结合蛋白包括具有如SEQ ID NO:6所示的CDR1、如SEQ ID NO:7所示的CDR2和如SEQ ID NO:13所示的CDR3的轻链可变区( $V_L$ )。因此,在另一个实施例中,抗LMA结合蛋白包括具有如SEQ ID NO:1所示的CDR1、如SEQ ID NO:2所示的CDR2和如SEQ ID NO:3所示的CDR3的 $V_H$ 和具有如SEQ ID NO:6所示的CDR1、如SEQ ID NO:7所示的CDR2和如SEQ ID NO:8所示的CDR3的 $V_L$ 。在另一个实施例中,抗LMA结合蛋白包括具有如SEQ ID NO:1所示的CDR1、如SEQ ID NO:2所示的CDR2和如SEQ ID NO:3所示的CDR3的 $V_H$ 和具有如SEQ ID NO:6所示的CDR1、如SEQ ID NO:7所示的CDR2和如SEQ ID NO:13所示的CDR3的 $V_L$ 。在这些实施例的一个实施方案中,LMA结合蛋白结合LMA同种型2型和同种型3型。

[0211] 在另一个实施例中,抗LMA结合蛋白包括 $V_H$ ,所述 $V_H$ 包括与SEQ ID NO:4所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,抗LMA结合蛋白包括 $V_L$ ,所述 $V_L$ 包括与SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:14所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。例如, $V_L$ 可以包括与SEQ ID NO:9所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中, $V_L$ 可以包括与SEQ ID NO:14所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中, $V_H$ 包括与SEQ ID NO:5所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中, $V_L$ 包括与SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:15所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。例如, $V_L$ 可以包括与SEQ ID NO:10所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中, $V_L$ 包括与SEQ ID NO:15所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。因此,在另一个实施例中,抗LMA结合蛋白包括 $V_H$ 和 $V_L$ ,所述 $V_H$ 包括与SEQ ID NO:4所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列,所述 $V_L$ 包括与SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:15所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。例如, $V_H$ 可以包括与SEQ ID NO:4所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列,并且 $V_L$ 可以包括与SEQ ID NO:10所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。例如, $V_H$ 可以包括与SEQ ID NO:4所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列并且 $V_L$ 可以包括SEQ ID NO:15所示氨基酸序列。在这些实施例中, $V_H$ 和/或 $V_L$ 可以与所列举的SEQ ID NO具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的同一性。

[0212] 在另一个实施例中,抗LMA结合蛋白包括 $V_H$ ,所述 $V_H$ 包括SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列。在另一个实施例中,抗LMA结合蛋白包括 $V_L$ ,所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:14

所示的氨基酸序列。例如,  $V_L$  可以包括SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_L$  可以包括SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  包括SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_L$  包括SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列。例如,  $V_L$  可以包括SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_L$  包括SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列。因此, 在另一个实施例中, 抗LMA结合蛋白包括 $V_H$ 和 $V_L$ , 所述 $V_H$ 包括SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列, 所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列。例如,  $V_H$ 可以包括SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列并且 $V_L$ 可以包括SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列。例如,  $V_H$ 可以包括SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列并且 $V_L$ 可以包括SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列。在这些实施例中, 结合蛋白特异性结合LMA。例如, 结合蛋白可以优先结合LMA而不是游离 $\lambda$ 轻链。

[0213] 在另一个实施例中, 抗LMA结合蛋白包括具有如SEQ ID NO:31所示的CDR1、如SEQ ID NO:32所示的CDR2和如SEQ ID NO:33所示的CDR3的重链可变区( $V_H$ )。在另一个实施例中, 抗LMA结合蛋白包括具有如SEQ ID NO:61所示的CDR1、如SEQ ID NO:62所示的CDR2和如SEQ ID NO:63所示的CDR3的重链可变区( $V_H$ )。在另一个实施例中, 抗LMA结合蛋白包括具有SEQ ID NO:36或SEQ ID NO:41中所示的CDR1、SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:42中所示的CDR2和SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:43中所示的CDR3的轻链可变区( $V_L$ )。例如, 抗LMA结合蛋白可以包括具有如SEQ ID NO:36所示的CDR1、如SEQ ID NO:37所示的CDR2和如SEQ ID NO:38所示的CDR3的 $V_L$ 。在另一个实施例, 抗LMA结合蛋白可以包括具有如SEQ ID NO:41所示的CDR1、如SEQ ID NO:42所示的CDR2和如SEQ ID NO:43所示的CDR3的 $V_L$ 。因此, 在一个实施例中, 抗LMA结合蛋白可包括具有SEQ ID NO:31所示的CDR1、SEQ ID NO:32所示的CDR2和SEQ ID NO:33所示的CDR3的重链可变区( $V_H$ )和包括SEQ ID NO:36或SEQ ID NO:41所示的CDR1、SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:42所示的CDR2和SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:43所示的CDR3的 $V_L$ 。例如, 抗LMA结合蛋白可以包括具有如SEQ ID NO:31所示的CDR1、如SEQ ID NO:32所示的CDR2和如SEQ ID NO:33所示的CDR3的重链可变区( $V_H$ )和包括如SEQ ID NO:36所示的CDR1、如SEQ ID NO:37所示的CDR2和如SEQ ID NO:38所示的CDR3的 $V_L$ 。在另一个实施例中, 抗LMA结合蛋白可以包括具有如SEQ ID NO:31所示的CDR1、如SEQ ID NO:32所示的CDR2和如SEQ ID NO:33所示的CDR3的重链可变区( $V_H$ )和包括如SEQ ID NO:41所示的CDR1、如SEQ ID NO:42所示的CDR2和如SEQ ID NO:43所示的CDR3的 $V_L$ 。

[0214] 在另一个实施例中, 抗LMA结合蛋白可包括具有SEQ ID NO:61所示的CDR1、SEQ ID NO:62所示的CDR2和SEQ ID NO:63所示的CDR3的重链可变区( $V_H$ )和包括SEQ ID NO:66或SEQ ID NO:71所示的CDR1、SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:72所示的CDR2和SEQ ID NO:68或SEQ ID NO:73所示的CDR3的 $V_L$ 。例如, 抗LMA结合蛋白可以包括具有如SEQ ID NO:61所示的CDR1、如SEQ ID NO:62所示的CDR2和如SEQ ID NO:63所示的CDR3的重链可变区( $V_H$ )和包括如SEQ ID NO:66所示的CDR1、如SEQ ID NO:67所示的CDR2和如SEQ ID NO:68所示的CDR3的 $V_L$ 。在另一个实施例中, 抗LMA结合蛋白可以包括具有如SEQ ID NO:61所示的CDR1、如SEQ ID NO:62所示的CDR2和如SEQ ID NO:63所示的CDR3的重链可变区( $V_H$ )和包括如SEQ ID NO:71所示的CDR1、如SEQ ID NO:72所示的CDR2和如SEQ ID NO:73所示的CDR3的 $V_L$ 。在这些实施例的一个实施方案中, LMA结合蛋白结合LMA同种型1型、2型和同种型3型。

[0215] 在另一个实施例中,  $V_H$ 包括与SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:64所示序列具有至少

95%同一性的氨基酸序列。例如,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:34所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:64所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_L$  包括与SEQ ID NO:39、44、69或74的任一个中所示的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  包括与SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:64中所示的序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  包括与SEQ ID NO:39、44、69或74中的任一个中所示的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。例如,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:34所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与SEQ ID NO:39所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:34所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与SEQ ID NO:44所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:64所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与SEQ ID NO:39所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:64所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与SEQ ID NO:44所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:64所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与SEQ ID NO:69所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:64所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与SEQ ID NO:74所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:5所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:15所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:5所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与SEQ ID NO:10所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:5所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与或SEQ ID NO:15所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:34所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与SEQ ID NO:40或SEQ ID NO:45所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:34所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与或SEQ ID NO:40所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:34所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:45所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:65所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:75所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:65所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与SEQ ID NO:70所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  可以包括与SEQ ID NO:65所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列, 并且 $V_L$  可以包括与或SEQ ID NO:75所示序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在这些实施例中,  $V_H$  和/或 $V_L$  可以与所列举的SEQ ID NO具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的同一性。在另一个实施例中,  $V_H$  包括SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列。例如,  $V_H$  包括SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_H$  包括SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列。在另一个实施例中,  $V_L$  包括

SEQ ID NO:39、44、69或74中任一者所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:64中所示的氨基酸序列，并且 $V_L$ 包括SEQ ID NO:39、44、69或74中的一个中所示的氨基酸序列。例如， $V_H$ 可以包括SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列并且 $V_L$ 可以包括SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列并且 $V_L$ 包括SEQ ID NO:44所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列并且 $V_L$ 包括SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列并且 $V_L$ 包括SEQ ID NO:44所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列并且 $V_L$ 包括SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列并且 $V_L$ 包括SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列并且所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列并且 $V_L$ 包括SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列并且 $V_L$ 包括SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列并且所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:40或SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列并且 $V_L$ 包括SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列并且所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列并且所述 $V_L$ 包括SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列并且 $V_L$ 包括SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列。在另一个实施例中， $V_H$ 包括SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列并且 $V_L$ 包括SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列。

[0216] 在一个实施例中，上述引用的结合蛋白是抗体。例如，本发明涵盖具有以上引用的CDR组合的抗体。例如，本发明的抗体可包括具有如SEQ ID NO:1所示的CDR1、如SEQ ID NO:2所示的CDR2和如SEQ ID NO:3所示的CDR3的重链可变区( $V_H$ )。在另一个实施例中，抗体包括具有如SEQ ID NO:6所示的CDR1、如SEQ ID NO:7所示的CDR2和如SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:13所示的CDR3的轻链可变区( $V_L$ )。在另一个实施例中，抗体包括具有SEQ ID NO:6所示的CDR1、SEQ ID NO:7所示的CDR2和SEQ ID NO:8所示的CDR3的轻链可变区( $V_L$ )。在另一个实施例中，抗体包括具有SEQ ID NO:6所示的CDR1、SEQ ID NO:7所示的CDR2和SEQ ID NO:13所示的CDR3的轻链可变区( $V_L$ )。因此，在另一个实施例中，抗体包括具有如SEQ ID NO:1所示的CDR1、如SEQ ID NO:2所示的CDR2和如SEQ ID NO:3所示的CDR3的 $V_H$ 和具有如SEQ ID NO:6所示的CDR1、如SEQ ID NO:7所示的CDR2和如SEQ ID NO:8所示的CDR3的 $V_L$ 。在另一个实施例中，抗体包括具有SEQ ID NO:1所示的CDR1、SEQ ID NO:2所示的CDR2和SEQ ID NO:3所示的CDR3的 $V_H$ ，和具有SEQ ID NO:6所示的CDR1、SEQ ID NO:7所示的CDR2和SEQ ID NO:13所示的CDR3的 $V_L$ 。在这些实施例的一个实施方案中，抗体结合LMA同种型2型和同种型3型。

[0217] 在另一个实施例中，本发明所涵盖的结合蛋白可以包括以上例示的 $V_H$ 和 $V_L$ 组合的CDR。在一个实施例中，使用Kabat定义CDR。在另一个实施例中，使用IMGT定义CDR。

[0218] 关于具有以上参考的%序列同一性的结合蛋白，在各种实施例中，与参考的序列标识符编号相比，本发明所涵盖的结合蛋白可以包括至少1个、至少2个、至少3个、至少4个

或至少5个氨基酸取代。示例性取代包括保守氨基酸取代,如下表A中所述。

[0219] 表A. 示例性取代。

原始残基	示例性的取代
Arg (R)	Lys (K)
Glu (E)	Asp (D)
Ile (I)	Leu (L); Val (V); Ala (A)
Leu (L)	Ile (I); Val (V); Met (M); Ala (A); Phe (F)
Lys (K)	Arg (R)

[0221] 在本发明的上下文中使用的术语“4G7”是指人游离 $\lambda$ 轻链的单克隆抗体,其结合包括以下中所示的氨基酸序列的表位:

[0222] ——SEQ ID NO:91 (KADGSPVK) 和93 (SHR) (同种型1型);

[0223] ——SEQ ID NO:92 (KADSSPVK) 和93 (SHR) (同种型2型);或

[0224] ——SEQ ID NO:92 (KADSSPVK) 和94 (SHK) (同种型3型),

[0225] 4G7可从各供应商商购获得(例如Abcam, 剑桥, 英国, #ab54380; Yamasa Corporation, 铈子, 日本, #7642)。

[0226] 在一个实施例中,本发明所涵盖的抗LMA结合蛋白可以结合与4G7相同的表位。例如,本发明所涵盖的抗LMA结合蛋白可以结合包括以下中所示的氨基酸序列的表位:

[0227] ——SEQ ID NO:91和93 ( $\lambda$ 同种型1型);

[0228] ——SEQ ID NO:92和93 ( $\lambda$ 同种型2型);或

[0229] ——SEQ ID NO:92和94 ( $\lambda$ 同种型3型)。

[0230] 在另一个实施例中,本发明所涵盖的抗LMA结合蛋白可以结合包括以下中所示的氨基酸序列的表位:

[0231] ——SEQ ID NO:91和93 ( $\lambda$ 同种型1型);

[0232] ——SEQ ID NO:92和93 ( $\lambda$ 同种型2型);或

[0233] ——SEQ ID NO:92和94 ( $\lambda$ 同种型3型);和

[0234] 不与可溶性 $\lambda$ 轻链结合。

[0235] 在另一个实施例中,结合蛋白结合SEQ ID NO:92和93 ( $\lambda$ 同种型2型)以及SEQ ID NO:92和94 ( $\lambda$ 同种型3型)。

[0236] 已经报道了各种 $\lambda$ 轻链同种型,并且这些同种型通过分子恒定区中的氨基酸变化来定义。

[0237]  $\lambda$ 轻链同种型以不同的频率表达。例如,在患有多发性骨髓瘤的受试者中,约14%表达同种型1型,约64%表达同种型2型和约23%表达同种型3型。因此,在一些实施例中,可能需要施用结合一个或多个或所有 $\lambda$ 轻链同种型的根据本发明的抗体。在一个实施例中,结合蛋白结合 $\lambda$ 同种型2型和同种型3型。在一个实施例中,结合蛋白不结合同种型1型。

[0238] 在另一个实施例中,与4G7相比,结合蛋白具有改善的可制造性。

[0239] 改善的可制造性包括翻译后修饰或增加的化学稳定性,涉及脱酰胺位点、天冬氨

酸异构化位点、氧化位点如甲硫氨酸和色氨酸、游离半胱氨酸硫醇基团、N&O-糖基化位点、C端赖氨酸的存在和/或等电点的减少。

[0240] 在一个实施例中,与4G7相比,结合蛋白在 $V_H$ 和/或 $V_L$ 中包括更少的天冬酰胺。

[0241] 在一个实施例中,与4G7相比,结合蛋白在 $V_H$ 和/或 $V_L$ 中包括更少的甲硫氨酸。

[0242] 在一个实施例中,与4G7相比,结合蛋白在 $V_H$ 和/或 $V_L$ 中包括更少的色氨酸。

[0243] 在一个实施例中,与4G7相比,结合蛋白在 $V_H$ 和/或 $V_L$ 中包括更少的天冬氨酸。

[0244] 在一个实施例中,结合蛋白的物理稳定性大于4G7。

[0245] 物理稳定性可以包括在溶液中聚集的倾向。术语“聚集”在本发明的上下文中用于指蛋白自缔合,其可在多种环境中发生,从细胞培养和发酵到分离、纯化和配制过程。例如,当描述夹杂物的形成时,可以使用术语“聚集”;细胞分级分离后“不溶性”级分中蛋白的累积;样品中出现浊度,蛋白沉淀或形成颗粒;或形成小的可溶性低聚物等。

[0246] 因此,在以上引用的实施例中,结合蛋白的物理稳定性可基于其在溶液中的物理稳定性,其中结合蛋白从溶液中的沉淀指示结合蛋白已变得不稳定。为了评估物理稳定性,可以在2周,4周,12周,6个月和12个月时将包括根据本发明内容的结合蛋白或4G7的溶液在4°C下孵育并目测评估沉淀。

[0247] 在另一个实施例中,与4G7相比,结合蛋白降低了人受试者的免疫原性。例如,当通过酶联免疫吸附测定(ELISA)测量免疫原性时,结合蛋白可以具有与4G7相比降低的免疫原性。在另一个实施例中,当通过表面等离子共振测量免疫原性时,结合蛋白可以具有与4G7相比降低的免疫原性。

[0248] 在另一个实施例中,结合蛋白对LMA的特异性高于对4G7的特异性。

[0249] 在另一个实施例中,与4G7相比,结合蛋白具有较低的交叉反应性(即结合蛋白与不同蛋白上的相似抗原位点反应的能力)。在该实施例中,可以使用各种方法测量结合蛋白的交叉反应性。在一个实施例中,通过ELISA评估交叉反应性。

[0250] 在另一个实施例中,结合蛋白对LMA的结合亲和力高于对4G7的结合亲和力。

[0251] 在另一个实施例中,结合蛋白相对于轻链对LMA的结合亲和力比对4G7的结合亲和力高。

[0252] 在以上引用的实施例中,结合蛋白对LMA的亲和力可以使用各种方法测量。在一个实施例中,测定LMA结合蛋白的解离常数( $K_D$ )或缔合常数( $K_A$ )或平衡常数( $K_D$ )。在一个实施例中,通过放射性标记的或荧光标记的LMA结合测定来测量结合蛋白的这些常数。该测定在滴定系列未标记的LMA的存在下用最小浓度的标记的LMA平衡结合蛋白。洗涤除去未结合的LMA后,测定标记的量。

[0253] 亲和力测量可通过抗体反应的标准方法测定,例如免疫测定,表面等离子共振(SPR)(Rich和Myszka《生物技术当前述评》(Curr. Opin. Biotechnol) 11:54,2000; Englebienne《分析师》(Analyst) .123:1599,1998);等温滴定量热法(ITC)或本领域已知的其他动力学相互作用测定。

[0254] 在一个实施例中,通过使用表面等离子共振测定来测量常数,例如,使用具有固定化LMA的BIAcore表面等离子共振(BIAcore, Inc.制,Piscataway, NJ)。在美国专利No. 7, 229, 619中描述了示例性SPR方法。

[0255] 在其他实施例中,结合蛋白对LMA的亲和力可以使用等温滴定微量热法测量。

[0256] 结合蛋白生产

[0257] 重组表达

[0258] 在一个实施例中,如本文描述的结合蛋白是肽或多肽(例如,是抗体或其抗原结合片段)。在一个实施例中,结合蛋白是重组的。

[0259] 在重组肽或多肽的情况下,可以将编码其的核酸克隆到表达载体中,然后将其转染到宿主细胞如不产生免疫球蛋白或抗体蛋白的大肠杆菌(E.coli)细胞、酵母细胞、昆虫细胞或哺乳动物细胞、如猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、人胚肾(HEK)细胞或骨髓瘤细胞中。

[0260] 合适的分子克隆技术是本领域已知的,并且描述于例如Ausubel等人,(编)《分子生物学最新研究》(Current Protocols in Molecular Biology),格林出版协会和威利跨学科出版社(Greene Pub.Associates and Wiley-Interscience)(1988,包括到目前为止的所有更新)或Sambrook等人,《分子克隆:实验室手册》(Molecular Cloning:A Laboratory Manual),冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press)(1989)。多种克隆和体外扩增方法适于构建重组核酸。生产重组抗体的方法也是本领域已知的。参见美国专利4,816,567号或美国专利5,530,101号。

[0261] 分离后,插入核酸可操作连接到表达构建体或表达载体(vector)中的启动子,用于进一步克隆(DNA扩增)或用于在无细胞系统或细胞中表达。因此,本发明的另一个实施例提供了包括本发明的分离的核酸和一个或多个另外的核苷酸序列的表达构建体。合适地,表达构建体是本领域所理解的质粒、噬菌体、粘粒、酵母或细菌人工染色体的形式或包括其遗传成分。表达构建体可适于在细菌或其他宿主细胞中维持和增殖分离的核酸,适于通过重组DNA技术操作和/或适于表达本发明的核酸或结合蛋白。

[0262] 许多用于在细胞中表达的载体是可用的。载体(vector)组分通常包括但不限于以下的一个或多个:信号序列、编码结合蛋白的序列(例如,来源于本文提供的信息)、增强子元件、启动子和转录终止序列。示例性的信号序列包括原核分泌信号(例如,pe1B、碱性磷酸酶、青霉素酶、Ipp或热稳定肠毒素II)、酵母分泌信号(例如,转化酶前导序列、 $\alpha$ 因子前导序列或酸性磷酸酶前导序列)或哺乳动物分泌信号(例如,单纯疱疹gD信号)。

[0263] 在哺乳动物细胞中有活性的示例性启动子包括巨细胞病毒极早期启动子(CMV-IE启动),人延长因子1- $\alpha$ 启动子(EF1),小核RNA启动子(U1a和U1b), $\alpha$ -肌球蛋白重链启动子,猿猴病毒40启动子(SV40),劳斯肉瘤病毒启动子(RSV),腺病毒主要晚期启动子, $\beta$ -肌动蛋白启动子;包括CMV增强子/ $\beta$ -肌动蛋白启动子或免疫球蛋白或抗体启动子或其活性片段的杂合调节元件。有用的哺乳动物宿主细胞系的实施例是用SV40(COS-7、ATCC CRL 1651)转化的猴肾CV1系;人胚肾细胞系(293或293个细胞亚克隆以在悬浮培养中生长;幼仓鼠肾细胞(BHK、ATCC CCL 10);或中国仓鼠卵巢细胞(CHO)。

[0264] 适用于在酵母细胞中表达的典型启动子,酵母细胞例如选自包括毕赤酵母、酿酒酵母和裂殖酵母(S.pombe)的组,包括但不限于ADH1启动子、GAL1启动子、GAL4启动子、CUP1启动子、PH05启动子、nmt启动子、RPR1启动子或TEF1启动子。

[0265] 用于将分离的核酸或包括该核酸的表达构建体导入细胞用于表达的方法是本领域技术人员已知的。用于给定细胞的技术取决于已知的成功技术。将重组DNA导入细胞的方法包括显微注射、DEAE-葡聚糖介导的转染、脂质体介导的转染,例如使用lipofectamine

(Gibco,MD,USA)和/或Cellfectin(Gibco,MD,USA)、PEG介导的DNA摄取、电穿孔和微粒轰击,例如使用DNA包覆的钨或金颗粒(Agracetus Inc.,WI,USA)等。

[0266] 根据所使用的细胞类型,用于产生结合蛋白(例如,抗体或抗原结合片段)的宿主细胞可以在多种培养基中培养。市售培养基如Ham's F10(Sigma)、最小必需培养基(MEM),(Sigma),RPMI-1640(Sigma)和杜尔贝科改良伊格尔培养基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)(DMEM,Sigma))适用于培养哺乳动物细胞。用于培养本文讨论的其他细胞类型的培养基是本领域已知的。

[0267] 本领域技术人员从前面的描述将理解,本发明还提供了编码本发明的结合蛋白(例如,肽或多肽结合蛋白或其抗体或抗原结合片段)的分离的核酸。

[0268] 本发明还提供了一种表达构建体,其包括与启动子可操作地连接的本发明的分离的核酸。在一个实施例中,表达构建体是表达载体(vector)。

[0269] 在一个实施例中,本发明的表达构建体包括编码可操作地连接至启动子的多肽(例如,包括 $V_H$ )的核酸和编码可操作地连接至启动子的另一多肽(例如,包括 $V_L$ )的核酸。

[0270] 本发明还提供了包括根据本发明的表达构建体的宿主细胞。

[0271] 本发明还提供了表达本发明的结合蛋白的分离的细胞或遗传修饰以表达结合蛋白的重组细胞。

#### [0272] 蛋白的分离

[0273] 根据本发明的纯化结合蛋白的方法是本领域已知的。在肽或多肽分泌到培养基中的情况下,可首先使用市售蛋白浓缩过滤器(例如Amicon或Millipore Pellicon超滤单元)浓缩来自此类表达系统的上清液。蛋白酶抑制剂如PMSF可以包括在任何前述步骤中以抑制蛋白水解,并且可以包括抗生素以防止外来污染物的生长。

[0274] 可以使用例如离子交换、羟磷灰石层析、疏水作用层析、凝胶电泳、透析、亲和层析(例如,蛋白A亲和层析或蛋白G层析)或前述的任何组合纯化从细胞制备的结合蛋白。这些方法是本领域已知的并且描述于例如WO 99/57134或Ed Harlow和David Lane(编)《抗体:实验室手册》(Antibodies:A Laboratory Manual),冷泉港实验室(Cold Spring Harbor Laboratory),(1988)。

#### [0275] 缀合物

[0276] 在一个实施例中,本发明的结合蛋白与另一种化合物缀合。结合蛋白可以直接或间接地结合至化合物(例如,在间接结合的情况下,结合蛋白可以包括接头)。化合物的实施例包括放射性同位素(例如,碘-131、钷-90或铟-111)、可检测标记(例如,荧光团或荧光纳米晶体或量子点)、治疗化合物(例如,化学治疗剂或抗炎药)、胶体(例如,金)、毒素(例如,蓖麻毒素或破伤风类毒素)、核酸,增加化合物在受试者中的半衰期的试剂(例如,聚乙二醇或其他具有该活性的水溶性聚合物)及其混合物。

[0277] 将药物或其他小分子药物与抗体连接的方法是熟知的,并且可以包括使用双功能化学接头,例如N-琥珀酰亚胺基(4-碘乙酰基异)-氨基苯甲酸酯;磺基琥珀酰亚胺基(4-碘乙酰基异)-氨基苯甲酸酯;4-琥珀酰亚胺基-氧基羰基-(2-吡啶基二硫基)甲苯;磺基琥珀酰亚胺基-6-[ $\alpha$ -甲基- $\nu$ -(吡啶基二硫醇)-甲苯胺基]己酸酯;N-琥珀酰亚胺基-3-(-2-吡啶基二硫基)-丙酸酯;琥珀酰亚胺基-6-[3-(-2-吡啶基二硫基)-丙酰胺基]己酸酯;磺基琥珀酰亚胺基-6-[3-(-2-吡啶基二硫基)-丙酰胺基]己酸酯;3-(2-吡啶基二硫基)-丙酰酰

胍、埃尔曼氏试剂(Ellman's reagent)、二氯三叠氮酸、S-(2-硫代吡啶基)-L-半胱氨酸等。在例如美国专利5,349,066、5,618,528、4,569,789、4,952,394和5,137,877号中讨论了其他双官能连接分子。

[0278] 接头可以是可切割的或不可切割的。高度稳定的接头可以减少循环中脱落的有效负载的量,从而改善安全性,并且确保更多的有效负载到达靶细胞。接头可以基于化学基序,包括二硫化物,腙(hydrazone)或肽(可反复裂解的)或硫醚(不可裂解的),并且控制活性剂向靶细胞的分布和递送。已证明可裂解和不可裂解类型的接头在临床前和临床试验中是安全的(参见,例如,本妥昔单抗(Brentuximab vedotin),其包括可被组织蛋白酶裂解的酶敏感性接头;和曲妥珠单抗-emtansine偶联物(Trastuzumab emtansine),其包括稳定的,不可裂解的接头)。在一个实施例中,接头是可通过埃德曼降解(Edman degradation)裂解的肽接头(Bachor等人,《分子多样性》(Molecular diversity),17(3):605-11(2013))。

[0279] 在一个实施例中,结合蛋白缀合至纳米颗粒或微米颗粒(例如如在Kogan等人,《纳米医学》(伦敦)(Nanomedicine(Lond))2:287-306,2007中综述的)。纳米粒子可以是金属纳米粒子。颗粒可以是聚合颗粒、脂质体、胶束、微泡以及本领域已知的其他载体和递送载体(vehicle)。

[0280] 可与本发明的结合蛋白缀合的一些示例性化合物列于表B中。

[0281] 表B. 用于缀合的化合物。

组	详情
放射性同位素 (直接或间接)	• <sup>123</sup> I、 <sup>125</sup> I、 <sup>130</sup> I、 <sup>133</sup> I、 <sup>135</sup> I、 <sup>47</sup> Sc、 <sup>72</sup> As、 <sup>72</sup> Sc、 <sup>90</sup> Y、 <sup>88</sup> Y、 <sup>97</sup> Ru、 <sup>100</sup> Pd、 <sup>101m</sup> Rh、 <sup>101m</sup> Rh、 <sup>119</sup> Sb、 <sup>128</sup> Ba、 <sup>197</sup> Hg、 <sup>211</sup> At、 <sup>212</sup> Bi、 <sup>153</sup> Sm、 <sup>169</sup> Eu、 <sup>212</sup> Pb、 <sup>109</sup> Pd、 <sup>111</sup> In、 <sup>67</sup> Gu、 <sup>68</sup> Gu、 <sup>67</sup> Cu、 <sup>75</sup> Br、 <sup>76</sup> Br、 <sup>77</sup> Br、 <sup>99m</sup> Tc、 <sup>11</sup> C、 <sup>13</sup> N、 <sup>15</sup> O、 <sup>18</sup> I、 <sup>188</sup> Rc、 <sup>203</sup> Pb、 <sup>64</sup> Cu、 <sup>105</sup> Rh、 <sup>198</sup> Au、 <sup>199</sup> Ag或 <sup>177</sup> Lu
半衰期延长剂	• 聚乙二醇 • 甘油 • 葡萄糖
荧光探针	• 藻红蛋白(PE) • 别藻蓝蛋白(APC) • Alexa Fluor 488 • Cy5.5
化疗剂	• 紫杉醇 • 5-FU • 多柔比星 • 伊达比星

[0282] 在一个实施例中,本发明的结合蛋白与化学治疗剂缀合。

[0284] 组合物

[0285] 合适地,在用于向受试者施用根据本发明的结合蛋白的组合物或方法中,所述结合蛋白与本领域中理解的药学上可接受的载体(carrier)组合。在一个实施例中,本发明提供了包括本发明的结合蛋白与药学上可接受的载体(carrier)组合的组合物(例如,药物组合物)。在另一个实施例中,本发明提供了试剂盒,其包括适于在给药至受试者之前与本文公开的结合蛋白组合或混合的药学上可接受的载体(carrier)。在该实施例中,试剂盒可进

一步包括使用说明。

[0286] 一般而言,“载体(carrier)”用于指可以安全施用于受试者例如人受试者的固体或液体填料、粘合剂、稀释剂、包封物质、乳化剂、润湿剂、溶剂、悬浮剂、包衣或润滑剂。根据具体的给药途径,可以使用本领域已知的各种可接受的载体,例如在《雷明顿药物科学》Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack出版公司,美国新泽西州,1991)中描述的。

[0287] 例如,合适的载体可以选自糖类(例如蔗糖、麦芽糖、海藻糖、葡萄糖)、淀粉、纤维素及其衍生物、麦芽、明胶、滑石、硫酸钙、包括植物油在内的油、合成油和合成的单-或二-甘油酯、低级醇、多元醇、藻酸、磷酸盐缓冲液、润滑剂如硬脂酸钠或硬脂酸镁、等渗盐水和无热原的水。在一个实施例中,载体(carrier)不是H<sub>2</sub>O。

[0288] 在一个实施例中,载体(carrier)与肠胃外施用相容或适于肠胃外给药。肠胃外给药包括不通过消化道的任何给药途径。肠胃外给药的实施例包括注射、输注等。注射给药的实施例包括静脉内、动脉内、肌内和皮下注射。在另一个实施例中,组合物可以通过可以皮内,肌内或皮下递送的库或缓释制剂递送。

[0289] 在一个实施例中,本文公开的LMA结合蛋白用于检测癌症的一个或多个位点。方法通常包括向有需要的受试者施用有效量的可使用诊断成像或核医学技术检测的试剂,并检测该试剂。在这样的方法中,试剂通常与LMA结合蛋白缀合或包封在与LMA结合蛋白缀合的递送载体(vehicle)中。诊断成像或核医学技术可以是例如PET-CT、骨扫描、MRI、CT、超声心动描记术、超声和X射线。

[0290] 在一个实施例中,结合蛋白和包括该结合蛋白的组合物可用于制备用于治疗以表达LMA的细胞的异常增殖为特征的病症如表达LMA的癌症的药物。在另一个实施例中,本发明涉及用于治疗病症的结合蛋白或包括其的组合物。下面讨论要治疗的病症的实施例。

[0291] 要治疗的病症

[0292] 在一个实施例中,本发明包括治疗表达LMA的癌症的方法,所述方法包括施用本文定义的抗LMA结合蛋白。例如,本发明涵盖治疗B细胞恶性肿瘤的方法,其中恶性B细胞表达LMA。在另一个实施例中,本发明包括治疗多发性骨髓瘤和相关病理的方法。术语“多发性骨髓瘤”或“骨髓瘤”在本发明的上下文中用于指浆细胞的癌症。在本发明的上下文中,这些术语包括分泌性骨髓瘤、非分泌性骨髓瘤、仅轻链骨髓瘤、冒烟型骨髓瘤(smouldering myeloma)和相关病理。示例性的相关病理包括浆细胞瘤、淀粉样变性、意义不明的单克隆丙种球蛋白病。在一个实施例中,多发性骨髓瘤是λ型多发性骨髓瘤。

[0293] 因此,在一个实施例中,本发明包括治疗淀粉样变性的方法。在一个实施例中,这样的方法包括施用对游离λ轻链具有高亲和力的本文公开的结合蛋白。例如,结合蛋白包括具有如SEQ ID NO:31所示的CDR1,如SEQ ID NO:32所示的CDR2和如SEQ ID NO:33所示的CDR3的V<sub>H</sub>和具有如SEQ ID NO:36所示的CDR1,可以施用如SEQ ID NO:37所示的CDR2和如SEQ ID NO:38所示的CDR3的V<sub>L</sub>。在另一个实施例中,可以施用具有包括SEQ ID NO:34所示氨基酸序列的V<sub>H</sub>和具有SEQ ID NO:39所示氨基酸序列的V<sub>L</sub>的结合蛋白。在另一个实施例中,结合蛋白包括具有如SEQ ID NO:66所示的CDR1、如SEQ ID NO:67所示的CDR2和如SEQ ID NO:68所示的CDR3的V<sub>H</sub>和具有如SEQ ID NO:71所示的CDR1、可以施用如SEQ ID NO:72所示的CDR2和如SEQ ID NO:73所示的CDR3的V<sub>L</sub>。在另一个实施例中,可以施用具有包括SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的V<sub>H</sub>和具有SEQ ID NO:74所示氨基酸序列的V<sub>L</sub>的结合蛋白。在另一个

实施例中,结合蛋白包括具有如SEQ ID NO:61所示的CDR1、如SEQ ID NO:62所示的CDR2和如SEQ ID NO:63所示的CDR3的 $V_H$ 和具有如SEQ ID NO:66所示的CDR1、可以施用如SEQ ID NO:67所示的CDR2和如SEQ ID NO:68所示的CDR3的 $V_L$ 。

[0294] 患有多发性骨髓瘤的受试者可以被描述为各种受试者群体。示例性群体描述于(Rajkumar等人,2011)。

[0295] 在一个实施例中,受试者多发性骨髓瘤特征为进行性疾病(Rajkumar等人,2011)。在另一种方式中,本发明的方法涉及治疗受试者的进行性多发性骨髓瘤。“进行性疾病”的示例性指标包括在以下任一项中从最低响应值增加约25%:血清M-组分(绝对增加 $\geq$ 或等于0.5g/dL)和/或尿M-组分(绝对增加必须 $\geq$ 或等于200mg/24hr。其他示例性指标包括新的骨损伤或软组织浆细胞瘤的明确发展,或现有骨损伤或软组织浆细胞瘤的大小明确增加;仅可归因于多发性骨髓瘤的高钙血症(校正后的血清钙 $>11.5$ mg/dL)的发展。在一个实施例中,受试者多发性骨髓瘤已经复发并且特征为进行性疾病。在该实施例中,受试者多发性骨髓瘤也可能难以治疗。

[0296] 在一个实施例中,受试者多发性骨髓瘤已经复发。“复发骨髓瘤”用于指先前治疗的骨髓瘤,其进展并需要开始挽救治疗,但不符合任一种“原发性难治性骨髓瘤”的标准。

[0297] 在另一个实施例中,受试者患有原发性难治性骨髓瘤。“原发性难治性骨髓瘤”用于指在用任何疗法从未达到最小反应或更好反应的患者中无反应的疾病。

[0298] 在另一个实施例中,受试者患有难治性骨髓瘤。术语“难治性骨髓瘤”用于指在初次或挽救治疗时无反应或在最后疗法的60天内进展的疾病。在一个实施例中,受试者多发性骨髓瘤对抗癌治疗而言难以治疗。在本文中使用的术语“难治性”是指对受试者的多发性骨髓瘤不再治疗有效的抗癌治疗线。例如,通过本发明的方法治疗的受试者可能对至少一种蛋白酶体抑制剂而言难以治疗。“治疗线”被定义为计划的治疗计划的一个或多个周期。这可以包括单药剂治疗或组合治疗的一个或多个计划周期,以及以计划方式施用的治疗序列。例如,诱导疗法,然后是体干细胞移植,然后是维持被认为是治疗的一个系列的计划治疗方法。

[0299] 在另一个实施例中,受试者对至少两种先前疗法而言难以治疗。在另一个实施例中,受试者可能对至少3种、至少4种、至少5种、至少6种先前的治疗线而言难以治疗。

[0300] 在另一个实施例中,受试者患有复发性难治性骨髓瘤。“复发性难治性骨髓瘤”是指在挽救治疗过程中无反应的疾病,或患者中在上次治疗后60天内进展的疾病,这些患者在病程进展之前的某个时候达到了最小的反应(MR)或更好的状态。

[0301] 在一个实施例中,根据本发明治疗的多发性骨髓瘤在第一次给药时特征为稳定疾病。换言之,受试者可以在第一次给药时处于平台期。稳定疾病的示例性标准可以包括M-蛋白的稳定而没有进一步的肿瘤退化,尽管持续治疗,很少或没有来自骨髓瘤的症状和/或没有输血需求(Blade等人,1998)。

[0302] 在另一个实施例中,本发明的方法可用于治疗B细胞淋巴瘤和巨球蛋白血症。

[0303] 在另一个实施例中,本发明的方法可用于治疗POEMS。如本文所用,“POEMS综合征”是一种罕见的血液病,其损害神经并影响身体的许多其他部分。“POEMS”代表这些体征和症状:多发性神经病:腿部麻木、刺痛和无力,随着时间的推移,出现手部症状和呼吸困难;器官肿大:脾脏、肝脏或淋巴结肿大;内分泌疾病:激素水平异常,可导致甲状腺功能减退(甲

状腺机能亢进症)、糖尿病、性问题、疲劳、四肢肿胀以及代谢和其他基本功能问题;单克隆血浆增殖性疾病:异常的骨髓细胞(浆细胞),产生一种可在血液中发现的蛋白质;皮肤变化:皮肤颜色比正常更深,可能皮肤更厚、面部和/或腿部毛发增多。

[0304] 在另一个实施例中,可将本文定义的结合蛋白给予受试者以治疗自身免疫性疾病。在一个实施例中,自身免疫性疾病的特征在于表达LMA作为膜游离轻链(mFLC)的浆细胞前体的异常增殖。例如,可将本文定义的结合蛋白给予受试者以治疗自身免疫性疾病,例如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、糖尿病、多发性硬化、克罗恩氏病、免疫性血小板减少性紫癜、寻常型天疱疮(pemphigus vulgaris)、自身免疫性荨麻疹、乳糜泻、疱疹性皮炎、急性风湿热(acute rheumatic fever)、格雷夫氏症、重症肌无力(myasthenic gravis)、干燥综合征(Sjogren's syndrome)、古德帕斯特综合征(Goodpasture's syndrome)、链球菌感染后的肾小球肾炎、接触性皮炎、自身免疫性甲状腺炎、桥本甲状腺炎、艾迪生氏病(Addison's disease)、自身免疫性溶血性贫血、恶性贫血、抗嗜中性粒细胞胞质抗体引起的血管炎(ANCA)、结节性多动脉炎、自身免疫性肝炎和原发性胆汁性肝硬化。例如,本发明的方法可用于治疗类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、糖尿病和多发性硬化。因此,在一个实施例中,本发明的方法可用于治疗类风湿性关节炎。在另一个实施例中,本发明可用于治疗系统性红斑狼疮。在另一个实施例中,根据本发明的结合蛋白可用于治疗糖尿病。在另一个实施例中,根据本发明的结合蛋白可用于治疗多发性硬化。

[0305] 在另一个实施例中,根据本发明的结合蛋白可用于降低受试者中的 $\lambda$ 游离轻链水平(即降低受试者中未在细胞膜上表达的 $\lambda$ 轻链的量,例如血清中的 $\lambda$ 轻链)。这类方法包括给予对游离 $\lambda$ 轻链具有高亲和力的本文公开的结合蛋白。例如,结合蛋白包括具有如SEQ ID NO:31所示的CDR1,如SEQ ID NO:32所示的CDR2和如SEQ ID NO:33所示的CDR3的 $V_H$ 和具有如SEQ ID NO:36所示的CDR1,可以施用如SEQ ID NO:37所示的CDR2和如SEQ ID NO:38所示的CDR3的 $V_L$ 。在另一个实施例中,可以施用具有包括SEQ ID NO:34所示氨基酸序列的 $V_H$ 和具有SEQ ID NO:39所示氨基酸序列的 $V_L$ 的结合蛋白。在另一个实施例中,结合蛋白包括具有如SEQ ID NO:66所示的CDR1、如SEQ ID NO:67所示的CDR2和如SEQ ID NO:68所示的CDR3的 $V_H$ 和具有如SEQ ID NO:71所示的CDR1、可以施用如SEQ ID NO:72所示的CDR2和如SEQ ID NO:73所示的CDR3的 $V_L$ 。在另一个实施例中,可以施用具有包括SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的 $V_H$ 和具有SEQ ID NO:74所示氨基酸序列的 $V_L$ 的结合蛋白。在另一个实施例中,结合蛋白包括具有如SEQ ID NO:61所示的CDR1、如SEQ ID NO:62所示的CDR2和如SEQ ID NO:63所示的CDR3的 $V_H$ 和具有如SEQ ID NO:66所示的CDR1、可以施用如SEQ ID NO:67所示的CDR2和如SEQ ID NO:68所示的CDR3的 $V_L$ 。

[0306] 在另一个实施例中,本发明的方法包括通过施用对游离 $\lambda$ 轻链具有高亲和力的本发明的结合蛋白与对游离 $\lambda$ 轻链具有低亲和力的本发明的结合蛋白的组合来治疗表达LMA的癌症或本文公开的其他病症。例如,具有包括SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的 $V_H$ 和具有SEQ ID NO:74所示氨基酸序列的 $V_L$ 的结合蛋白可以与具有包括SEQ ID NO:4所示氨基酸序列的 $V_H$ 和具有SEQ ID NO:9所示氨基酸序列的 $V_L$ 的结合蛋白组合施用。在另一个实施例中,具有包括SEQ ID NO:64所示氨基酸序列的 $V_H$ 和具有SEQ ID NO:74所示氨基酸序列的 $V_L$ 的结合蛋白可以与具有包括SEQ ID NO:4所示氨基酸序列的 $V_H$ 和具有SEQ ID NO:9所示氨基酸序列的 $V_L$ 的结合蛋白组合施用。

[0307] 作为实施本发明的方法的一部分组合施用的抗体可以同时或依次施用。

[0308] 实施例

[0309] 实施例1:λ多发性骨髓瘤细胞上的λ骨髓瘤抗原 (LMA)

[0310] 为了测定λ多发性骨髓瘤细胞表面λ骨髓瘤抗原 (LMA) 的存在,在ELISA、表面等离子共振 (SPR) 和蛋白印迹 (WesternBlot) 测定中使用针对λ本周氏蛋白 (BJP) 的鼠单克隆抗体4G7。小鼠单克隆抗体4G7显示了针对所有游离λ轻链BJP和一定范围的λ人多发性骨髓瘤细胞系的泛反应性,与小鼠单克隆抗体3D12相比,λ人多发性骨髓瘤细胞系涵盖3种显性λ轻链同种型(表1和表2)。其相互作用可被λ游离轻链而不是IgG/λ抑制,表明λ轻链存在于λ人多发性骨髓瘤细胞系RPMI8226的细胞表面。4G7在λ-多发性骨髓瘤患者来源的骨髓单核细胞群上也检测到了LMA,如流式细胞分析所测定,其CD38和CD138为阳性(表3)。表位切除实验发现,在λ多发性骨髓瘤细胞系上,有两个肽是4G7单克隆抗体表位的组分(图1)。

[0311] 表1.鼠单克隆抗体4G7在SPR测定中结合所有λ轻链

λBJP	Biocore 反应 (RU)			
	4G7		3D12	
Lam034	298	+++	16	-
Lam134c	161	++	11	-
Lam788a	49	+	15	-
Lam885	243	+++	350	+++
Lam893c	110	++	150	++
MOS	-5	-	14	-
IgGλ	30	-/+	13	-

[0313] 表2.鼠单克隆抗体4G7在ELISA测定中结合所有λ轻链

λBJP	ELISA 反应			
	4G7		3D12	
Lam034	1.416	+++	-0.016	-
Lam134c	1.328	+++	-0.024	-
Lam788a	1.399	+++	-0.027	-
Lam885	1.326	+++	0.890	++
Lam893c	1.327	+++	0.509	+
MOS	1.277	+++	0.001	-
IgGλ	0.532	+	0.117	-/+
κBJP	0.000	-	-0.011	-

[0315] 表3.鼠单克隆抗体4G7检测到来自λ型多发性骨髓瘤患者的原代骨髓细胞上的LMA。缩写.NA:不可用;ND:未检测到;FLC:游离轻链;%PC:骨髓血浆百分比。

患者	同种型	游离轻链 (mg/L)	%PC	LMA	注释
[0316] 1	NA	NA	6	ND	检测到 CD45+CD38+细胞
2	NA	142	30	+	仅对 LMA 染色
3	LCMM	1372.5	18	+	检测到 CD45-CD38+细胞
4	G	NA	6	ND	检测到 CD45-CD38+CD138+细胞
5	A	61.6	13	+	检测到 CD45-CD38+CD138+细胞

[0317] 实施例2:人抗LMA抗体的产生

[0318] 用Ig游离λ轻链和λ骨髓瘤抗原(LMA)阳性细胞系免疫HuMAb-小鼠(Medarex)。使用ELISA筛选人抗LMA抗体以与Ig游离λ轻链和Ig相关的λ轻链的结合,以鉴定LMA特异性候选物。纯化人抗LMA抗体并通过使用流式细胞术结合LMA阳性细胞系和使用表面等离子共振(SPR)分析对Ig游离λ轻链的亲合力来表征。鉴定的人抗LMA抗体候选物是1A11、7F11、10B3、18E8、18E11、18F9。

[0319] 实施例3:人抗LMA抗体结合λ轻链

[0320] 为了测定抗LMA抗体对λ轻链的结合亲合力,进行了表面等离子共振(SPR)实验。将抗人Ig轻链固定在BIACore CM5芯片上并用于捕获人抗LMA抗体候选物(20μg/mL)。在候选捕获后注射测试的λ轻链(20μL/min)并测定SPR(相对单位:RU)。

[0321] 人抗LMA抗体(克隆1A11、7F11、10B3、18E8、18E11和18F9)对纯化的λ轻链BJP显示出高的和选择性的亲合力,但对κBJP(KAP960M)(图2)、食蟹猴λ轻链(CYN01、CYN03)和来自λ轻链转染的HEK细胞、LP-1λ轻链分离物(LP-1ISO)和RPMI-8226λ轻链分离物(RPMI-8226 ISO)的上清液不显示高的和选择性的亲合力(图3)。类似地,人抗LMA抗体(6A1、13H3和4A1)显示对表达λ轻链同种型的人多发性骨髓瘤细胞系的高和选择性亲合力但对表达κ-轻链的JJN3细胞系不显示高的和选择性的亲合力(图4),而克隆18E8、7F11和18F9显示对市售λ轻链(Bethyl)的选择性亲合力(图2B)。

[0322] 人抗LMA抗体7F11对纯化的λ轻链BJP的选择性亲合力低于其他被测克隆(图2A、2B),对食蟹猴的λ轻链(CYN01、CYN03;图3)和转染λ轻链的HEK细胞、LP-1λ轻链分离株(LP-1ISO)和RPMI-8226λ轻链分离株(RPMI-8226 ISO)的上清液表现出较低的亲合力(图4)。

[0323] 实施例4:人抗LMA抗体结合LMA阳性人骨髓瘤细胞系

[0324] 为确定人抗LMA抗体与表达不同λ亚型LMA的人骨髓瘤细胞系的结合,采用流式细胞术进行分析。

[0325] 用人抗LMA抗体(50μg/mL)或小鼠抗LMA抗体4G7的溶液将人骨髓瘤细胞系( $5 \times 10^5$ 细胞)染色。人抗LMA抗体(1A11、7F11、10B3、18E8、18E11和18F9)对所有受试人骨髓瘤细胞系(RPMI-8226(λ同种型2型)、U266(λ同种型2型)、JJN3(κ)、OPM-2(λ同种型3型))均有选择性染色, JJN3(κ)细胞系不(或弱)染色(图5A)和对KMS-18(λ同种型1型)染色较弱(图5B)。人抗LMA抗体(6A1、4A1和13H3)在所有测试的LMA阳性的人骨髓瘤细胞系中均呈低染色。

[0326] 实施例5:抗体依赖性细胞毒性(ADCC)

[0327] ADCC测定分析外周血单个核细胞(PMBC)制剂或PMBC制剂中含有的自然杀伤(NK)细胞或单核细胞等特定细胞群。将血液覆盖在淋巴细胞分离液(Ficoll)上,离心梯度,从梯度界面收集PBMC。

[0328] 从使用磁性标记抗体制剂 (Miltenyi Biotec, 德国) 产生的 PMBC 制剂中分离出特定的细胞群, 以耗尽不需要的细胞。将效应细胞和靶细胞混合, 在 37°C 添加 10% 胎牛血清的 RPMI 中孵育 16h。通过测定释放的细胞内乳酸脱氢酶 (LDH) 水平 (CytoTox-ONE 均质膜完整性分析试剂盒, Promega, 美国) 来测定细胞裂解程度。

[0329] 人类抗 LMA 抗体表现出不同程度的效应子功能, 克隆 10B3 在测试的抗体中表现出最强的 ADCC (图 6)。

[0330] 实施例 6: 补体依赖性细胞毒性 (CDC)

[0331] 将靶细胞在补体 (纯化或含补体的人血清) 和抗体的存在下, 在含 10% 胎牛血清的 RPMI 中, 37°C 孵育 30 分钟至 12 小时。通过测定释放的细胞内乳酸脱氢酶 (LDH) 水平 (CytoTox-ONE 均质膜完整性分析试剂盒, Promega, 美国) 来测定细胞裂解程度。使用 Alamar blue (Invitrogen, USA) 测量细胞的代谢状态。

[0332] 人类抗 LMA 抗体表现出不同程度的效应子功能, 克隆 10B3 在测试的抗体中表现出最强的 CDC 活性 (图 7)。

[0333] 实施例 7: 人抗 LMA 抗体 7F11 对 LMA 而不是游离的  $\lambda$  轻链的选择性

[0334] 人抗 LMA 抗体 10B3 和 18E8 与可溶性  $\lambda$  轻链和 LMA 阳性细胞结合, 当用于靶向表达  $\lambda$  的 RPMI8226 细胞时可以促进 ADCC 和 CDC (表 5)。有趣的是, 人抗 LMA 抗体 7F11 对 LMA (膜结合轻链) 具有选择性, 当用于靶向表达  $\lambda$  的 RPMI8226 细胞时, 可以促进 ADCC 和 CDC, 但不与可溶性  $\lambda$  轻链结合 (表 5)。对 7F11 序列的分析显示, 与其他测试的结合游离轻链的人抗体相比, 重链 CDR 是独特的 (图 8)。人抗 LMA 抗体 7F11 与 10B3 和 18E8 不同的结合特性允许选择性地使用它们来耗尽游离的  $\lambda$  轻链和/或靶 LMA 阳性细胞。

[0335] 表 5. 人抗 LMA 抗体对  $\lambda$  轻链或 LMA 阳性细胞的亲和力。

克隆名称	结合 LP-1 ( $\lambda$ 同种型 1 型)	ADCC RPMI8226 ( $\lambda$ 同种型 2 型)	CDC RPMI8226 ( $\lambda$ 同种型 2 型)	结合可溶性 $\lambda$ 轻链	结合 LMA+细胞 系
10B3	Y	Y	Y	Y	Y
1A11	Y	Y	Y	Y	Y
18E8	Y	N	Y	Y	Y
18E11	Y	Y	P	Y	Y
18F9	Y	N	Y	Y	Y
7F11	N	Y	Y	N	Y
4A1	N	P	Y	N	N
6A1	N	P	Y	N	N
13H3	N	Y	Y	Y	N
13B5	N	P	P	P	P

[0336] 缩写: Y: 是, 强亲和力; N: 否, 弱亲和力; P: 可能, 需进一步评估。

[0337] 表 5 指出, 7F11 不与表达  $\lambda$  轻链同种型 1 型的细胞结合, 而 4G7、18E8 和 10B3 则与其结合。

[0339] 实施例8:人组织中人的抗LMA抗体染色

[0340] 用10B3和7F11抗体分别与人LP-1(多发性骨髓瘤)细胞、JJN3(浆细胞白血病)、扁桃腺标本和小脑标本接触,并与HuIgG1- $\lambda$ 染色对照抗体进行比较。

[0341] LP-1细胞表达LMA同种型1型。10B3染色LP-1细胞,7F11不染色LP-1细胞。这些结果与上述结果一致,表明10B3与 $\lambda$ 同种型1结合,而7F11则不结合。10B3和7F11均未见JJN3细胞染色。

[0342] 扁桃腺是微生物和环境抗原在体内管理的第一个部位,因此存有淋巴细胞(大约55%的淋巴细胞是B细胞)。10B3和7F11在滤泡生发中心、滤泡间生发中心和滤泡间区观察到稀有单核细胞的弱到强染色(图9和图10;10B3染色的人扁桃腺比7F11亲和力更强)。这些结果证实了10B3和7F11都能与人类表达LMA的细胞结合。

[0343] 重要的是,没有观察到10B3或7F11对人小脑的染色。人类小脑被认为是评估非特异性结合的有效对照。10B3和7F11都没有染色,这突出了这些抗体对LMA的特异性,并降低了体内非特异性结合的风险。

[0344] 实施例9:抗LMA抗体亲和力

[0345] 将抗人Fc IgG固定在CM5传感器芯片上(蛋白A,Fc2用抗体捕获,Fc1设为空白)。抗LMA抗体(7F11-VL1;10B3-VL1;10B3-VL2)在25°C下流过芯片表面(运行缓冲液:1x HBS-EP+(10mM HEPES,150mM NaCl,3mM EDTA,0.05%P20,pH 7.4),并使用Biacore 8k记录结合特性。测定特性总结如表6。亲和力测量值如表7。

[0346] 10B3-VL1与所有 $\lambda$ 游离轻链抗原高亲和力结合。7F11只与Sigma、134c和788a $\lambda$ 游离轻链抗原结合,但亲和力较低。这些发现与实施例7一致,其表明7F11对LMA,而不是游离的 $\lambda$ -轻链是有选择性的。10B3-VL2不与任何 $\lambda$ 轻链结合,提示该抗体J基因的改变取消了对 $\lambda$ 游离轻链的亲和力。

[0347] 重要的是,没有观察到任何抗体与 $\kappa$ 轻链结合,进一步证实了这些抗体对 $\lambda$ 轻链的特异性。

[0348] 综上所述,7F11与可溶性 $\lambda$ 轻链无/低亲和力结合,但与具有同种型2型和3型的LMA+细胞系结合。相反,10B3-VL1以高亲和力与所有可溶性 $\lambda$ 轻链结合,并与所有LMA+细胞系(同种型1、2和3型)结合。10B3-VL2具有与10B3-VL1不同的J基因,不与可溶性 $\lambda$ 轻链结合。

[0349] 表6:测定特性

	<b>捕获</b>	
	<b>配体</b>	<b>抗体</b>
	<b>浓度 (ug/mL)</b>	<b>2</b>
	<b>捕获时间 (s)</b>	<b>30</b>
	<b>流速 (<math>\mu</math>/min)</b>	<b>10</b>
[0350]	<b>缔合和解离</b>	
	<b>缔合接触时间 (s)</b>	<b>180</b>
	<b>解离接触时间 (s)</b>	<b>600</b>
	<b>流速 (<math>\mu</math>/min)</b>	<b>30</b>
	<b>样本浓度 (nM)</b>	<b>3.125、6.25、12.5、25、50、100</b>
	<b>再生</b>	<b>10 mM 甘氨酸 pH 1.5, 30 s</b>

[0351] 表7:亲和力测量值

杂交瘤克隆	与 $\lambda$ 游离轻链结合- $K_D$ (M)						
	MyBio	Sigma	134c	885	893c	788a	$\kappa$ LC
[0352] 7F11-VL1	无	$1.44 \times 10^{-7}$	$3.2 \times 10^{-7}$	无	无	$3.63 \times 10^{-7}$	无
10B3-VL1	$4.37 \times 10^{-11}$	$5.22 \times 10^{-10}$	$4.53 \times 10^{-11}$	$7.07 \times 10^{-11}$	$4.01 \times 10^{-11}$	$1.1 \times 10^{-10}$	无
10B3-VL2	无	无	无	无	无	无	无

[0353] 本领域技术人员将理解,在不脱离如广泛描述的本发明的精神或范围的情况下,可以对如具体实施例中所示的本发明做出许多变化和/或修改。因此,本实施例在所有方面都被认为是说明性的而不是限制性的。

[0354] 以上讨论的所有出版物以其整体并入本文。

[0355] 已经包括在本说明书中的对文献、法案、材料、设备、文章等的任何讨论仅出于提供本发明的上下文的目的。因为在本申请的每个权利要求的优先权日之前存在这些物质中的任一个或全部形成现有技术基础的一部分或者是与本发明相关的领域中的公知常识,所以不应认为这些物质中的任一个或全部形成现有技术基础的一部分或者是与本发明相关的领域中的公知常识。

[0356] 本申请要求2018年2月20日提交的AU 2018900534的优先权,其全部内容通过引用并入本文。

[0357] 参考文献

[0358] Adams等人(1993)《癌症研究》(Cancer Res.) 53:4026

[0359] Airoidi,等人(2008)《血液》(Blood),112(3):750-759

[0360] Ausubel等人,(编),《分子生物学最新研究》(Current Protocols in Molecular Biology),格林出版协会和威利跨学科出版社(Greene Pub.Associates and Wiley-Interscience)(1988,包括到目前为止的所有更新)

[0361] AHo(Honegger A,Plückthun A(2001)《分子生物学杂志》(J Mol Biol)309:657-670

[0362] Bachor,等人,《分子多样性》(Molecular diversity),17(3):605-11(2013)

[0363] Blade等人1998

[0364] Chothia(Chothia C,Lesk AM(1987),《分子生物学杂志》(J Mol Biol)196:901-917

[0365] Chothia,等人(1989),《自然》(Nature)342:877-883

[0366] Gruber等人(1994)《免疫学杂志》(J.Immunol.):5368

[0367] Ed Harlow和David Lane(编)《抗体:实验室手册》(Antibodies:A Laboratory Manual),冷泉港实验室(Cold Spring Harbor Laboratory),(1988)

[0368] Hollinger等人,1993, supra

[0369] Hu等人(1996)《癌症研究》(Cancer Res.) 56:3055

- [0370] Kogan等人,《纳米医学》(伦敦) (Nanomedicine(Lond)) .2:287-306,2007
- [0371] Kostelny等人(1992)《免疫学杂志》(J Immunol)148:1547
- [0372] Kuby,J.,《免疫学》(Immunology),第3版,W.H.Freeman&Co.,纽约(1998)
- [0373] Lefranc,等人(2003),《发展与比较免疫学》(Dev Comp Immunol)27:55-77
- [0374] McCartney,等人(1995)《蛋白质工程》(Protein Eng.)8:301
- [0375] Novotny等人,《美国科学院学报》(Proc Natl Acad Sci USA)88:8646-8650,1991
- [0376] Pack和Pluckthun(1992)《生物化学》(Biochemistry)31:1579
- [0377] 《皮尔斯目录和手册》(Pierce Catalogue and Handbook),1994-1995(皮尔斯化学公司(Pierce Chemical Co.),罗克福德,Ill.)
- [0378] Rajkumar等人2011
- [0379] 雷明顿药物科学》Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack出版公司,美国新泽西州,1991)
- [0380] Rich and Myszka《生物技术当前述评》(Curr.Opin.Biotechnol)11:54,2000; Englebienne《分析师》(Analyst).123:1599,1998
- [0381] Sambrook等人,《分子克隆:实验室手册》(Molecular Cloning:A Laboratory Manual),冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press)(1989)
- [0382] Wang,等人(2014)《抗癌药物》(Anticancer Drugs),25(3):282-288
- [0383] Zhu等人(1997)《蛋白质科学》(Protein Sci)6:781

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 哈马罗吉科斯股份有限公司
- [0003] <120> 组合物和方法
- [0004] <130> 525221
- [0005] <160> 94
- [0006] <170> PatentIn版本3.5
- [0007] <210> 1
- [0008] <211> 5
- [0009] <212> PRT
- [0010] <213> 人工序列
- [0011] <220>
- [0012] <223> 人工序列
- [0013] <400> 1
- [0014] Ser Tyr Ala Met Ser
- [0015] 1 5
- [0016] <210> 2
- [0017] <211> 17
- [0018] <212> PRT
- [0019] <213> 人工序列
- [0020] <220>
- [0021] <223> 人工序列
- [0022] <400> 2
- [0023] Ala Ile Asn Asn Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
- [0024] 1 5 10 15
- [0025] Gly
- [0026] <210> 3
- [0027] <211> 12
- [0028] <212> PRT
- [0029] <213> 人工序列
- [0030] <220>
- [0031] <223> 人工序列
- [0032] <400> 3
- [0033] Asp Gln Gly Trp Gly Pro Leu Asn Trp Phe Asp Pro
- [0034] 1 5 10
- [0035] <210> 4
- [0036] <211> 121
- [0037] <212> PRT
- [0038] <213> 人工序列
- [0039] <220>
- [0040] <223> 人工序列
- [0041] <400> 4



[0084]	145	150	155	160
[0085]	Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro			
[0086]		165	170	175
[0087]	Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr			
[0088]		180	185	190
[0089]	Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val			
[0090]		195	200	205
[0091]	Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn			
[0092]		210	215	220
[0093]	Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro			
[0094]		225	230	235
[0095]	Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu			
[0096]		245	250	255
[0097]	Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp			
[0098]		260	265	270
[0099]	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp			
[0100]		275	280	285
[0101]	Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly			
[0102]		290	295	300
[0103]	Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn			
[0104]		305	310	315
[0105]	Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp			
[0106]		325	330	335
[0107]	Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro			
[0108]		340	345	350
[0109]	Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu			
[0110]		355	360	365
[0111]	Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn			
[0112]		370	375	380
[0113]	Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile			
[0114]		385	390	395
[0115]	Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr			
[0116]		405	410	415
[0117]	Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys			
[0118]		420	425	430
[0119]	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys			
[0120]		435	440	445
[0121]	Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu			
[0122]		450	455	460
[0123]	Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
[0124]		465	470	
[0125]	<210> 6			

[0126] <211> 11  
 [0127] <212> PRT  
 [0128] <213> 人工序列  
 [0129] <220>  
 [0130] <223> 人工序列  
 [0131] <400> 6  
 [0132] Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala  
 [0133] 1 5 10  
 [0134] <210> 7  
 [0135] <211> 7  
 [0136] <212> PRT  
 [0137] <213> 人工序列  
 [0138] <220>  
 [0139] <223> 人工序列  
 [0140] <400> 7  
 [0141] Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser  
 [0142] 1 5  
 [0143] <210> 8  
 [0144] <211> 9  
 [0145] <212> PRT  
 [0146] <213> 人工序列  
 [0147] <220>  
 [0148] <223> 人工序列  
 [0149] <400> 8  
 [0150] Gln Gln Tyr Asn Ser His Pro Arg Thr  
 [0151] 1 5  
 [0152] <210> 9  
 [0153] <211> 107  
 [0154] <212> PRT  
 [0155] <213> 人工序列  
 [0156] <220>  
 [0157] <223> 人工序列  
 [0158] <400> 9  
 [0159] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 [0160] 1 5 10 15  
 [0161] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp  
 [0162] 20 25 30  
 [0163] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile  
 [0164] 35 40 45  
 [0165] Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 [0166] 50 55 60  
 [0167] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

[0168]	65	70	75	80
[0169]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser His Pro Arg			
[0170]		85	90	95
[0171]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
[0172]		100	105	
[0173]	<210> 10			
[0174]	<211> 236			
[0175]	<212> PRT			
[0176]	<213> 人工序列			
[0177]	<220>			
[0178]	<223> 人工序列			
[0179]	<400> 10			
[0180]	Met Asp Met Arg Val Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys			
[0181]	1	5	10	15
[0182]	Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser			
[0183]		20	25	30
[0184]	Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser			
[0185]		35	40	45
[0186]	Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys			
[0187]		50	55	60
[0188]	Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val			
[0189]	65	70	75	80
[0190]	Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr			
[0191]		85	90	95
[0192]	Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln			
[0193]		100	105	110
[0194]	Tyr Asn Ser His Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile			
[0195]		115	120	125
[0196]	Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp			
[0197]		130	135	140
[0198]	Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn			
[0199]	145	150	155	160
[0200]	Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu			
[0201]		165	170	175
[0202]	Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp			
[0203]		180	185	190
[0204]	Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr			
[0205]		195	200	205
[0206]	Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser			
[0207]		210	215	220
[0208]	Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
[0209]	225	230	235	



[0252]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0253]	65 70 75 80
[0254]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Phe
[0255]	85 90 95
[0256]	Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[0257]	100 105
[0258]	<210> 15
[0259]	<211> 234
[0260]	<212> PRT
[0261]	<213> 人工序列
[0262]	<220>
[0263]	<223> 人工序列
[0264]	<400> 15
[0265]	Met Asp Met Arg Val Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys
[0266]	1 5 10 15
[0267]	Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
[0268]	20 25 30
[0269]	Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
[0270]	35 40 45
[0271]	Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys
[0272]	50 55 60
[0273]	Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
[0274]	65 70 75 80
[0275]	Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
[0276]	85 90 95
[0277]	Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
[0278]	100 105 110
[0279]	Tyr Asn Ser Tyr Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[0280]	115 120 125
[0281]	Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
[0282]	130 135 140
[0283]	Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
[0284]	145 150 155 160
[0285]	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
[0286]	165 170 175
[0287]	Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
[0288]	180 185 190
[0289]	Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
[0290]	195 200 205
[0291]	His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
[0292]	210 215 220
[0293]	Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

[0294]	225	230
[0295]	<210> 16	
[0296]	<211> 30	
[0297]	<212> DNA	
[0298]	<213> 人工序列	
[0299]	<220>	
[0300]	<223> 人工序列	
[0301]	<400> 16	
[0302]	ggattcacct ttagcagcta tgccatgagc	30
[0303]	<210> 17	
[0304]	<211> 51	
[0305]	<212> DNA	
[0306]	<213> 人工序列	
[0307]	<220>	
[0308]	<223> 人工序列	
[0309]	<400> 17	
[0310]	gctattaata atagtgggtg tagcacatac tacgcagact ccgtgaagg c	51
[0311]	<210> 18	
[0312]	<211> 36	
[0313]	<212> DNA	
[0314]	<213> 人工序列	
[0315]	<220>	
[0316]	<223> 人工序列	
[0317]	<400> 18	
[0318]	gatcagggct ggggaccct caactggttc gacccc	36
[0319]	<210> 19	
[0320]	<211> 363	
[0321]	<212> DNA	
[0322]	<213> 人工序列	
[0323]	<220>	
[0324]	<223> 人工序列	
[0325]	<400> 19	
[0326]	gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc	60
[0327]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccagget	120
[0328]	ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attaataata gtggtggtag cacatactac	180
[0329]	gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
[0330]	ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcag	300
[0331]	ggctggggac ccctcaactg gttcgacccc tggggccagg gaacctggt caccgtctcc	360
[0332]	tca	363
[0333]	<210> 20	
[0334]	<211> 1410	
[0335]	<212> DNA	

- [0336] <213> 人工序列  
 [0337] <220>  
 [0338] <223> 人工序列  
 [0339] <400> 20  
 [0340] atggagtttg ggctgagctg gctttttctt gtggctattt taaaagggtg ccagtgtgag 60  
 [0341] gtgcagctgt tggagtctgg gggaggcttg gtacagcctg gggggtccct gagactctcc 120  
 [0342] tgtgcagcct ctggattcac ctttagcagc tatgccatga gctgggtccg ccaggctcca 180  
 [0343] gggaaggggc tggagtgggt ctgagctatt aataatagtg gtggtagcac atactacgca 240  
 [0344] gactccgtga agggccggtt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300  
 [0345] caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatatt actgtgcgaa agatcagggc 360  
 [0346] tggggacccc tcaactggtt cgacccttg ggccagggaa ccctgggtcac cgtctctca 420  
 [0347] gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 480  
 [0348] ggcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgctg 540  
 [0349] tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtctca 600  
 [0350] ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 660  
 [0351] tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720  
 [0352] aatcttgtg acaaaactca cacatgcca ccgtgccag cacctgaact cctgggggga 780  
 [0353] ccgtcagtct tcctctccc cccaaaacc aaggacacc tcatgatctc ccggaccct 840  
 [0354] gagtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtaa gttcaactgg 900  
 [0355] tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 960  
 [0356] agcacgtacc gtgtggctcag cgtctcacc gtctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020  
 [0357] gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080  
 [0358] aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacacc tgccccatc ccgggatgag 1140  
 [0359] ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtaaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200  
 [0360] gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1260  
 [0361] ctggactccg acggctcctt cttctctac agcaagctca ccgtggacaa gacgaggtgg 1320  
 [0362] cagcagggga acgtctctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa cactacacg 1380  
 [0363] cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1410  
 [0364] <210> 21  
 [0365] <211> 33  
 [0366] <212> DNA  
 [0367] <213> 人工序列  
 [0368] <220>  
 [0369] <223> 人工序列  
 [0370] <400> 21  
 [0371] cgggcgagtc agggattag cagctggtta gcc 33  
 [0372] <210> 22  
 [0373] <211> 21  
 [0374] <212> DNA  
 [0375] <213> 人工序列  
 [0376] <220>  
 [0377] <223> 人工序列

- [0378] <400> 22  
[0379] gctgcatcca gtttgcaaag t 21  
[0380] <210> 23  
[0381] <211> 27  
[0382] <212> DNA  
[0383] <213> 人工序列  
[0384] <220>  
[0385] <223> 人工序列  
[0386] <400> 23  
[0387] caacagtata atagtcaccc tcggacg 27  
[0388] <210> 24  
[0389] <211> 321  
[0390] <212> DNA  
[0391] <213> 人工序列  
[0392] <220>  
[0393] <223> 人工序列  
[0394] <400> 24  
[0395] gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
[0396] atcacttgtc gggcgagtc gggattagc agctggtag cctggatca gcagaaacca 120  
[0397] gagaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
[0398] aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
[0399] gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtc accctcggac gttcggccaa 300  
[0400] gggaccaagg tggaaatcaa a 321  
[0401] <210> 25  
[0402] <211> 708  
[0403] <212> DNA  
[0404] <213> 人工序列  
[0405] <220>  
[0406] <223> 人工序列  
[0407] <400> 25  
[0408] atggacatga gggctcctgc tcagctcctg gggctcctgc tgctctgttt cccaggtgcc 60  
[0409] agatgtgaca tccagatgac ccagctcctca tcctcactgt ctgcatctgt aggagacaga 120  
[0410] gtcaccatca cttgtcgggc gagtcagggt attagcagct ggtagcctg gtatcagcag 180  
[0411] aaaccagaga aagcccctaa gtcctgatc tatgctgcat ccagtttgca aagtggggtc 240  
[0412] ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 300  
[0413] cagcctgaag attttgcaac ttattactgc caacagtata atagtcaccc tcggacgttc 360  
[0414] ggccaaggga ccaaggtgga aatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc 420  
[0415] ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480  
[0416] ttctatccca gagaggcaa agtacagtgg aaggtgata acgccctcca atcgggtaac 540  
[0417] tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600  
[0418] ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660  
[0419] cagggcctga gctcgcctgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgt 708

- [0420] <210> 26  
[0421] <211> 33  
[0422] <212> DNA  
[0423] <213> 人工序列  
[0424] <220>  
[0425] <223> 人工序列  
[0426] <400> 26  
[0427] cgggcgagtc aggtattag cagctggtta gcc 33  
[0428] <210> 27  
[0429] <211> 21  
[0430] <212> DNA  
[0431] <213> 人工序列  
[0432] <220>  
[0433] <223> 人工序列  
[0434] <400> 27  
[0435] gctgcatcca gtttgcaaag t 21  
[0436] <210> 28  
[0437] <211> 21  
[0438] <212> DNA  
[0439] <213> 人工序列  
[0440] <220>  
[0441] <223> 人工序列  
[0442] <400> 28  
[0443] caacagtata atagttaccc t 21  
[0444] <210> 29  
[0445] <211> 315  
[0446] <212> DNA  
[0447] <213> 人工序列  
[0448] <220>  
[0449] <223> 人工序列  
[0450] <400> 29  
[0451] gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
[0452] atcaactgtc gggcgagtca ggtattagc agctggttag cctggatca gcagaaacca 120  
[0453] gagaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
[0454] aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
[0455] gaagattttg caactatta ctgccaacag tataatagtt accctttcgg cggaggacc 300  
[0456] aaggtggaga tcaaa 315  
[0457] <210> 30  
[0458] <211> 702  
[0459] <212> DNA  
[0460] <213> 人工序列  
[0461] <220>

- [0462] <223> 人工序列
- [0463] <400> 30
- [0464] atggacatga gggctcctgc tcagctcctg gggctcctgc tgctctgttt cccaggtgcc 60
- [0465] agatgtgaca tccagatgac ccagctcca tcctcactgt ctgcatctgt aggagacaga 120
- [0466] gtcaccatca cttgtcgggc gagtcagggt attagcagct ggtagcctg gtatcagcag 180
- [0467] aaaccagaga aagcccctaa gtcctgatc tatgctgcat ccagtttgca aagtggggtc 240
- [0468] ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagcctg 300
- [0469] cagcctgaag attttgcaac ttattactgc caacagtata atagttacc tttcggcgga 360
- [0470] gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcc 420
- [0471] tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
- [0472] cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgcc tccaatcggg taactcccag 540
- [0473] gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
- [0474] ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtca ccatcagggc 660
- [0475] ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 702
- [0476] <210> 31
- [0477] <211> 5
- [0478] <212> PRT
- [0479] <213> 人工序列
- [0480] <220>
- [0481] <223> 人工序列
- [0482] <400> 31
- [0483] Ser Tyr Ser Met Asn
- [0484] 1 5
- [0485] <210> 32
- [0486] <211> 17
- [0487] <212> PRT
- [0488] <213> 人工序列
- [0489] <220>
- [0490] <223> 人工序列
- [0491] <400> 32
- [0492] Phe Ile Ser Ser Trp Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
- [0493] 1 5 10 15
- [0494] Gly
- [0495] <210> 33
- [0496] <211> 10
- [0497] <212> PRT
- [0498] <213> 人工序列
- [0499] <220>
- [0500] <223> 人工序列
- [0501] <400> 33
- [0502] Leu Ala Asn Trp Gly Thr Tyr Phe Asp Cys
- [0503] 1 5 10

[0504] <210> 34  
 [0505] <211> 119  
 [0506] <212> PRT  
 [0507] <213> 人工序列  
 [0508] <220>  
 [0509] <223> 人工序列  
 [0510] <400> 34  
 [0511] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly  
 [0512] 1 5 10 15  
 [0513] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 [0514] 20 25 30  
 [0515] Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [0516] 35 40 45  
 [0517] Ser Phe Ile Ser Ser Trp Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 [0518] 50 55 60  
 [0519] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 [0520] 65 70 75 80  
 [0521] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [0522] 85 90 95  
 [0523] Ala Ser Leu Ala Asn Trp Gly Thr Tyr Phe Asp Cys Trp Gly Gln Gly  
 [0524] 100 105 110  
 [0525] Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 [0526] 115  
 [0527] <210> 35  
 [0528] <211> 468  
 [0529] <212> PRT  
 [0530] <213> 人工序列  
 [0531] <220>  
 [0532] <223> 人工序列  
 [0533] <400> 35  
 [0534] Met Glu Leu Gly Leu Arg Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly  
 [0535] 1 5 10 15  
 [0536] Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys  
 [0537] 20 25 30  
 [0538] Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
 [0539] 35 40 45  
 [0540] Ser Ser Tyr Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
 [0541] 50 55 60  
 [0542] Glu Trp Val Ser Phe Ile Ser Ser Trp Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala  
 [0543] 65 70 75 80  
 [0544] Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn  
 [0545] 85 90 95

[0546]	Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
[0547]	100 105 110
[0548]	Tyr Tyr Cys Ala Ser Leu Ala Asn Trp Gly Thr Tyr Phe Asp Cys Trp
[0549]	115 120 125
[0550]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
[0551]	130 135 140
[0552]	Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
[0553]	145 150 155 160
[0554]	Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
[0555]	165 170 175
[0556]	Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
[0557]	180 185 190
[0558]	Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
[0559]	195 200 205
[0560]	Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
[0561]	210 215 220
[0562]	His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
[0563]	225 230 235 240
[0564]	Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
[0565]	245 250 255
[0566]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
[0567]	260 265 270
[0568]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
[0569]	275 280 285
[0570]	His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
[0571]	290 295 300
[0572]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
[0573]	305 310 315 320
[0574]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
[0575]	325 330 335
[0576]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
[0577]	340 345 350
[0578]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
[0579]	355 360 365
[0580]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
[0581]	370 375 380
[0582]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
[0583]	385 390 395 400
[0584]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
[0585]	405 410 415
[0586]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
[0587]	420 425 430

[0588] Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 [0589] 435 440 445  
 [0590] Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
 [0591] 450 455 460  
 [0592] Ser Pro Gly Lys  
 [0593] 465  
 [0594] <210> 36  
 [0595] <211> 11  
 [0596] <212> PRT  
 [0597] <213> 人工序列  
 [0598] <220>  
 [0599] <223> 人工序列  
 [0600] <400> 36  
 [0601] Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala  
 [0602] 1 5 10  
 [0603] <210> 37  
 [0604] <211> 7  
 [0605] <212> PRT  
 [0606] <213> 人工序列  
 [0607] <220>  
 [0608] <223> 人工序列  
 [0609] <400> 37  
 [0610] Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser  
 [0611] 1 5  
 [0612] <210> 38  
 [0613] <211> 9  
 [0614] <212> PRT  
 [0615] <213> 人工序列  
 [0616] <220>  
 [0617] <223> 人工序列  
 [0618] <400> 38  
 [0619] Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr  
 [0620] 1 5  
 [0621] <210> 39  
 [0622] <211> 107  
 [0623] <212> PRT  
 [0624] <213> 人工序列  
 [0625] <220>  
 [0626] <223> 人工序列  
 [0627] <400> 39  
 [0628] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 [0629] 1 5 10 15

[0630]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
[0631]	20 25 30
[0632]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
[0633]	35 40 45
[0634]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0635]	50 55 60
[0636]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0637]	65 70 75 80
[0638]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
[0639]	85 90 95
[0640]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[0641]	100 105
[0642]	<210> 40
[0643]	<211> 236
[0644]	<212> PRT
[0645]	<213> 人工序列
[0646]	<220>
[0647]	<223> 人工序列
[0648]	<400> 40
[0649]	Met Asp Met Arg Val Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys
[0650]	1 5 10 15
[0651]	Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
[0652]	20 25 30
[0653]	Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
[0654]	35 40 45
[0655]	Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys
[0656]	50 55 60
[0657]	Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
[0658]	65 70 75 80
[0659]	Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
[0660]	85 90 95
[0661]	Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
[0662]	100 105 110
[0663]	Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
[0664]	115 120 125
[0665]	Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
[0666]	130 135 140
[0667]	Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
[0668]	145 150 155 160
[0669]	Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
[0670]	165 170 175
[0671]	Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

[0672]	180	185	190
[0673]	Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr		
[0674]	195	200	205
[0675]	Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser		
[0676]	210	215	220
[0677]	Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
[0678]	225	230	235
[0679]	<210> 41		
[0680]	<211> 11		
[0681]	<212> PRT		
[0682]	<213> 人工序列		
[0683]	<220>		
[0684]	<223> 人工序列		
[0685]	<400> 41		
[0686]	Trp Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala		
[0687]	1	5	10
[0688]	<210> 42		
[0689]	<211> 7		
[0690]	<212> PRT		
[0691]	<213> 人工序列		
[0692]	<220>		
[0693]	<223> 人工序列		
[0694]	<400> 42		
[0695]	Phe Ala Ser Ser Leu Gln Ser		
[0696]	1	5	
[0697]	<210> 43		
[0698]	<211> 9		
[0699]	<212> PRT		
[0700]	<213> 人工序列		
[0701]	<220>		
[0702]	<223> 人工序列		
[0703]	<400> 43		
[0704]	Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr		
[0705]	1	5	
[0706]	<210> 44		
[0707]	<211> 107		
[0708]	<212> PRT		
[0709]	<213> 人工序列		
[0710]	<220>		
[0711]	<223> 人工序列		
[0712]	<400> 44		
[0713]	Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Phe Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		

[0714]	1	5	10	15
[0715]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr			
[0716]	20	25	30	
[0717]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Ala Lys Ala Pro Lys Leu Phe Ile			
[0718]	35	40	45	
[0719]	Tyr Phe Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
[0720]	50	55	60	
[0721]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
[0722]	65	70	75	80
[0723]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Ser Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu			
[0724]	85	90	95	
[0725]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
[0726]	100	105		
[0727]	<210> 45			
[0728]	<211> 236			
[0729]	<212> PRT			
[0730]	<213> 人工序列			
[0731]	<220>			
[0732]	<223> 人工序列			
[0733]	<400> 45			
[0734]	Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Arg Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp			
[0735]	1	5	10	15
[0736]	Phe Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Phe Ser			
[0737]	20	25	30	
[0738]	Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser			
[0739]	35	40	45	
[0740]	Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Ala Lys			
[0741]	50	55	60	
[0742]	Ala Pro Lys Leu Phe Ile Tyr Phe Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val			
[0743]	65	70	75	80
[0744]	Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr			
[0745]	85	90	95	
[0746]	Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Ser Cys Gln Gln			
[0747]	100	105	110	
[0748]	Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile			
[0749]	115	120	125	
[0750]	Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp			
[0751]	130	135	140	
[0752]	Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn			
[0753]	145	150	155	160
[0754]	Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu			
[0755]	165	170	175	

[0756] Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp  
 [0757] 180 185 190  
 [0758] Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr  
 [0759] 195 200 205  
 [0760] Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser  
 [0761] 210 215 220  
 [0762] Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 [0763] 225 230 235  
 [0764] <210> 46  
 [0765] <211> 15  
 [0766] <212> DNA  
 [0767] <213> 人工序列  
 [0768] <220>  
 [0769] <223> 人工序列  
 [0770] <400> 46  
 [0771] agctatagca tgaac 15  
 [0772] <210> 47  
 [0773] <211> 51  
 [0774] <212> DNA  
 [0775] <213> 人工序列  
 [0776] <220>  
 [0777] <223> 人工序列  
 [0778] <400> 47  
 [0779] ttcattagta gttggagtaa ttacatatac tacgcagact cagtgaaggg c 51  
 [0780] <210> 48  
 [0781] <211> 30  
 [0782] <212> DNA  
 [0783] <213> 人工序列  
 [0784] <220>  
 [0785] <223> 人工序列  
 [0786] <400> 48  
 [0787] ctagctaact ggggaaccta ctttgactgc 30  
 [0788] <210> 49  
 [0789] <211> 357  
 [0790] <212> DNA  
 [0791] <213> 人工序列  
 [0792] <220>  
 [0793] <223> 人工序列  
 [0794] <400> 49  
 [0795] gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ctggtcaagc ctggggggtc cctgaaactc 60  
 [0796] tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatagca tgaactgggt ccgccaggt 120  
 [0797] ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcattc attagtagtt ggagtaatta catatactac 180

[0798] gcagactcag tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccactgtat 240  
[0799] ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gacccatgct 300  
[0800] aactggggaa cctactttga ctgctggggc caggaaccc tggtcaccgt ctctgca 357  
[0801] <210> 50  
[0802] <211> 1404  
[0803] <212> DNA  
[0804] <213> 人工序列  
[0805] <220>  
[0806] <223> 人工序列  
[0807] <400> 50  
[0808] atggaactgg ggctccgctg ggttttccct gttgctattt tagaagggtg ccagtgtgag 60  
[0809] gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcctg gtcaagcctg gggggtccct gaaactctcc 120  
[0810] tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagc tatagcatga actgggtccg ccaggctcca 180  
[0811] gggaaggggc tggagtgggt ctattcatt agtagttgga gtaattacat atactacgca 240  
[0812] gactcagtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaactc actgtatctg 300  
[0813] caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag cctagctaac 360  
[0814] tggggaacct actttgactg ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc gtcagcctcc 420  
[0815] accaagggcc catcggtctt cccctggca ccctctcca agagcacctc tgggggcaca 480  
[0816] gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 540  
[0817] tcaggcgcct tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcttacagtc ctccaggactc 600  
[0818] tactccctca gcagcgtggt gaccgtgcc tccagcagct tgggcacca gacctacatc 660  
[0819] tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagtga gcccaaatct 720  
[0820] tgtgacaaaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 780  
[0821] gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 840  
[0822] acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 900  
[0823] gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgctgg aggagcagta caacagcacg 960  
[0824] taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 1020  
[0825] aagtgaagg tctccaacaa agccctcca gccccatcg agaaaacat ctccaagcc 1080  
[0826] aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc 1140  
[0827] aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggttct atcccagcga catgcccgtg 1200  
[0828] gagggggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1260  
[0829] tccgacggct ctttcttct ctacagcaag ctaccctgg acaagagcag gtggcagcag 1320  
[0830] gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1380  
[0831] agcctctccc tgtctccgg taaa 1404  
[0832] <210> 51  
[0833] <211> 33  
[0834] <212> DNA  
[0835] <213> 人工序列  
[0836] <220>  
[0837] <223> 人工序列  
[0838] <400> 51  
[0839] cgggcgagtc aggtattag cagctggtta gcc 33

[0840] <210> 52  
 [0841] <211> 21  
 [0842] <212> DNA  
 [0843] <213> 人工序列  
 [0844] <220>  
 [0845] <223> 人工序列  
 [0846] <400> 52  
 [0847] gctgcatcca gtttgcaaag t 21  
 [0848] <210> 53  
 [0849] <211> 27  
 [0850] <212> DNA  
 [0851] <213> 人工序列  
 [0852] <220>  
 [0853] <223> 人工序列  
 [0854] <400> 53  
 [0855] caacagtata atagttaccc gctcaact 27  
 [0856] <210> 54  
 [0857] <211> 321  
 [0858] <212> DNA  
 [0859] <213> 人工序列  
 [0860] <220>  
 [0861] <223> 人工序列  
 [0862] <400> 54  
 [0863] gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 [0864] atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc agctggtag cctggatca gcagaaacca 120  
 [0865] gagaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 [0866] aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
 [0867] gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgctcac tttcggcgga 300  
 [0868] gggaccaagg tggagatcaa a 321  
 [0869] <210> 55  
 [0870] <211> 708  
 [0871] <212> DNA  
 [0872] <213> 人工序列  
 [0873] <220>  
 [0874] <223> 人工序列  
 [0875] <400> 55  
 [0876] atggacatga gggctctcgc tcagctcctg gggctcctgc tgctctgttt cccaggtgcc 60  
 [0877] agatgtgaca tccagatgac ccagctcca tctcactgt ctgcatctgt aggagacaga 120  
 [0878] gtcaccatca cttgtcgggc gagtccagggt attagcagct ggtagcctg gtatcagcag 180  
 [0879] aaaccagaga aagcccctaa gtcctgatc tatgctgcat ccagtttgca aagtggggtc 240  
 [0880] ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctacat cagcagcctg 300  
 [0881] cagcctgaag attttgcaac ttattaactgc caacagtata atagttaccc gctcacttcc 360

[0882] ggcggagggga ccaaggtgga gatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc 420  
[0883] ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480  
[0884] ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aagggtgata acgccctcca atcgggtaac 540  
[0885] tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600  
[0886] ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660  
[0887] cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgt 708  
[0888] <210> 56  
[0889] <211> 33  
[0890] <212> DNA  
[0891] <213> 人工序列  
[0892] <220>  
[0893] <223> 人工序列  
[0894] <400> 56  
[0895] tgggccagtc agggcattag cagttattta gcc 33  
[0896] <210> 57  
[0897] <211> 21  
[0898] <212> DNA  
[0899] <213> 人工序列  
[0900] <220>  
[0901] <223> 人工序列  
[0902] <400> 57  
[0903] tttgcatcca gtttgcaaag t 21  
[0904] <210> 58  
[0905] <211> 27  
[0906] <212> DNA  
[0907] <213> 人工序列  
[0908] <220>  
[0909] <223> 人工序列  
[0910] <400> 58  
[0911] caacagtatt atagtacccc gctcact 27  
[0912] <210> 59  
[0913] <211> 321  
[0914] <212> DNA  
[0915] <213> 人工序列  
[0916] <220>  
[0917] <223> 人工序列  
[0918] <400> 59  
[0919] gccatccgga tgaccagtc tccattctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
[0920] atcacttgct gggccagtc gggcattagc agttatttag cctggtatca gcaaaatcca 120  
[0921] gcaaaagccc ctaagctctt catctatctt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
[0922] aggttcagcg gcagtggatc tgggacggat tacactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
[0923] gaagattttg caacttattc ctgtcaacag tattatagta ccccgctcac tttcggcgga 300

- [0924] gggaccaagg tggagatcaa a 321
- [0925] <210> 60
- [0926] <211> 708
- [0927] <212> DNA
- [0928] <213> 人工序列
- [0929] <220>
- [0930] <223> 人工序列
- [0931] <400> 60
- [0932] atggacatga gggtgcccgc tcagcgctg gggctcctgc tgctctggtt cccaggtgcc 60
- [0933] agatgtgcca tccggatgac ccagtcacca ttctcctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
- [0934] gtcaccatca cttgctgggc cagtcagggc attagcagtt atttagcctg gtatcagcaa 180
- [0935] aatccagcaa aagcccctaa gctcttcac tttttgcat ccagtttga aagtggggtc 240
- [0936] ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acggattaca ctctcaccat cagcagcctg 300
- [0937] cagcctgaag attttgcaac ttattcctgt caacagtatt atagtacccc gctcactttc 360
- [0938] ggcggaggga ccaagtgga gatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc 420
- [0939] ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480
- [0940] ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac 540
- [0941] tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600
- [0942] ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660
- [0943] cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgt 708
- [0944] <210> 61
- [0945] <211> 5
- [0946] <212> PRT
- [0947] <213> 人工序列
- [0948] <220>
- [0949] <223> 人工序列
- [0950] <400> 61
- [0951] Ser Tyr Ser Met Asn
- [0952] 1 5
- [0953] <210> 62
- [0954] <211> 17
- [0955] <212> PRT
- [0956] <213> 人工序列
- [0957] <220>
- [0958] <223> 人工序列
- [0959] <400> 62
- [0960] Phe Ile Ser Ser Asn Arg Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
- [0961] 1 5 10 15
- [0962] Gly
- [0963] <210> 63
- [0964] <211> 10
- [0965] <212> PRT

[0966]	<213>	人工序列
[0967]	<220>	
[0968]	<223>	人工序列
[0969]	<400>	63
[0970]	Leu Ala Asn Trp Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr	
[0971]	1	5 10
[0972]	<210>	64
[0973]	<211>	119
[0974]	<212>	PRT
[0975]	<213>	人工序列
[0976]	<220>	
[0977]	<223>	人工序列
[0978]	<400>	64
[0979]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly	
[0980]	1	5 10 15
[0981]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr	
[0982]		20 25 30
[0983]	Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[0984]		35 40 45
[0985]	Ser Phe Ile Ser Ser Asn Arg Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
[0986]		50 55 60
[0987]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr	
[0988]		65 70 75 80
[0989]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[0990]		85 90 95
[0991]	Ala Ser Leu Ala Asn Trp Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly	
[0992]		100 105 110
[0993]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[0994]		115
[0995]	<210>	65
[0996]	<211>	468
[0997]	<212>	PRT
[0998]	<213>	人工序列
[0999]	<220>	
[1000]	<223>	人工序列
[1001]	<400>	65
[1002]	Met Glu Leu Gly Leu Arg Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly	
[1003]	1	5 10 15
[1004]	Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys	
[1005]		20 25 30
[1006]	Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe	
[1007]		35 40 45

[1008]	Ser Ser Tyr Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[1009]	50 55 60
[1010]	Glu Trp Val Ser Phe Ile Ser Ser Asn Arg Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala
[1011]	65 70 75 80
[1012]	Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
[1013]	85 90 95
[1014]	Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
[1015]	100 105 110
[1016]	Tyr Tyr Cys Ala Ser Leu Ala Asn Trp Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp
[1017]	115 120 125
[1018]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
[1019]	130 135 140
[1020]	Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
[1021]	145 150 155 160
[1022]	Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
[1023]	165 170 175
[1024]	Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
[1025]	180 185 190
[1026]	Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
[1027]	195 200 205
[1028]	Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
[1029]	210 215 220
[1030]	His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
[1031]	225 230 235 240
[1032]	Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
[1033]	245 250 255
[1034]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
[1035]	260 265 270
[1036]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
[1037]	275 280 285
[1038]	His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
[1039]	290 295 300
[1040]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
[1041]	305 310 315 320
[1042]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
[1043]	325 330 335
[1044]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
[1045]	340 345 350
[1046]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
[1047]	355 360 365
[1048]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
[1049]	370 375 380



[1092]	<213>	人工序列
[1093]	<220>	
[1094]	<223>	人工序列
[1095]	<400>	69
[1096]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[1097]	1	5 10 15
[1098]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp	
[1099]		20 25 30
[1100]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile	
[1101]		35 40 45
[1102]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[1103]		50 55 60
[1104]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[1105]		65 70 75 80
[1106]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Arg Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu	
[1107]		85 90 95
[1108]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Arg	
[1109]		100 105
[1110]	<210>	70
[1111]	<211>	236
[1112]	<212>	PRT
[1113]	<213>	人工序列
[1114]	<220>	
[1115]	<223>	人工序列
[1116]	<400>	70
[1117]	Met Asp Met Arg Val Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys	
[1118]	1	5 10 15
[1119]	Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser	
[1120]		20 25 30
[1121]	Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser	
[1122]		35 40 45
[1123]	Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys	
[1124]		50 55 60
[1125]	Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val	
[1126]		65 70 75 80
[1127]	Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr	
[1128]		85 90 95
[1129]	Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Arg Gln	
[1130]		100 105 110
[1131]	Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile	
[1132]		115 120 125
[1133]	Arg Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp	

[1134]	130	135	140
[1135]	Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn		
[1136]	145	150	155 160
[1137]	Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu		
[1138]		165	170 175
[1139]	Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp		
[1140]		180	185 190
[1141]	Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr		
[1142]		195	200 205
[1143]	Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser		
[1144]	210	215	220
[1145]	Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
[1146]	225	230	235
[1147]	<210> 71		
[1148]	<211> 11		
[1149]	<212> PRT		
[1150]	<213> 人工序列		
[1151]	<220>		
[1152]	<223> 人工序列		
[1153]	<400> 71		
[1154]	Trp Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala		
[1155]	1	5	10
[1156]	<210> 72		
[1157]	<211> 7		
[1158]	<212> PRT		
[1159]	<213> 人工序列		
[1160]	<220>		
[1161]	<223> 人工序列		
[1162]	<400> 72		
[1163]	Tyr Ala Ser Ser Leu Gln Ser		
[1164]	1	5	
[1165]	<210> 73		
[1166]	<211> 9		
[1167]	<212> PRT		
[1168]	<213> 人工序列		
[1169]	<220>		
[1170]	<223> 人工序列		
[1171]	<400> 73		
[1172]	Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr		
[1173]	1	5	
[1174]	<210> 74		
[1175]	<211> 107		

[1176] <212> PRT  
 [1177] <213> 人工序列  
 [1178] <220>  
 [1179] <223> 人工序列  
 [1180] <400> 74  
 [1181] Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Phe Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 [1182] 1 5 10 15  
 [1183] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr  
 [1184] 20 25 30  
 [1185] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Lys Ala Pro Asn Leu Phe Ile  
 [1186] 35 40 45  
 [1187] Tyr Tyr Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 [1188] 50 55 60  
 [1189] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 [1190] 65 70 75 80  
 [1191] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu  
 [1192] 85 90 95  
 [1193] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 [1194] 100 105  
 [1195] <210> 75  
 [1196] <211> 236  
 [1197] <212> PRT  
 [1198] <213> 人工序列  
 [1199] <220>  
 [1200] <223> 人工序列  
 [1201] <400> 75  
 [1202] Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Arg Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
 [1203] 1 5 10 15  
 [1204] Phe Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Phe Ser  
 [1205] 20 25 30  
 [1206] Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser  
 [1207] 35 40 45  
 [1208] Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Lys  
 [1209] 50 55 60  
 [1210] Ala Pro Asn Leu Phe Ile Tyr Tyr Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val  
 [1211] 65 70 75 80  
 [1212] Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr  
 [1213] 85 90 95  
 [1214] Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 [1215] 100 105 110  
 [1216] Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile  
 [1217] 115 120 125

[1218]	Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
[1219]	130 135 140
[1220]	Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
[1221]	145 150 155 160
[1222]	Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
[1223]	165 170 175
[1224]	Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
[1225]	180 185 190
[1226]	Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
[1227]	195 200 205
[1228]	Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
[1229]	210 215 220
[1230]	Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[1231]	225 230 235
[1232]	<210> 76
[1233]	<211> 15
[1234]	<212> DNA
[1235]	<213> 人工序列
[1236]	<220>
[1237]	<223> 人工序列
[1238]	<400> 76
[1239]	agctatagca tgaac 15
[1240]	<210> 77
[1241]	<211> 51
[1242]	<212> DNA
[1243]	<213> 人工序列
[1244]	<220>
[1245]	<223> 人工序列
[1246]	<400> 77
[1247]	ttcattagta gtaatcgtaa ttacatatac tacgcagaact cagtgaaggg c 51
[1248]	<210> 78
[1249]	<211> 30
[1250]	<212> DNA
[1251]	<213> 人工序列
[1252]	<220>
[1253]	<223> 人工序列
[1254]	<400> 78
[1255]	ctagetaact ggggaacctta ctttgactac 30
[1256]	<210> 79
[1257]	<211> 357
[1258]	<212> DNA
[1259]	<213> 人工序列

[1260]	<220>	
[1261]	<223>	人工序列
[1262]	<400>	79
[1263]		gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ctggtcaagc ctggggggtc cctgagactc 60
[1264]		tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatagca tgaactgggt cgcaggct 120
[1265]		ccagggaagg ggctggagtg ggtctcattc attagtagta atcgtaatta catatactac 180
[1266]		gcagactcag tgaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctactgtat 240
[1267]		ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc ggcctagct 300
[1268]		aactggggaa cctactttga ctactggggc cagggaacc tggtcacctc ctctca 357
[1269]	<210>	80
[1270]	<211>	1404
[1271]	<212>	DNA
[1272]	<213>	人工序列
[1273]	<220>	
[1274]	<223>	人工序列
[1275]	<400>	80
[1276]		atggaactgg ggctccgctg ggttttcctt gttgctattt tagaaggtgt ccagtgtgag 60
[1277]		gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcctg gtcaagcctg gggggtcctc gagactctcc 120
[1278]		tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagc tatagcatga actgggtccg ccaggctcca 180
[1279]		gggaaggggc tggagtgggt ctattcatt agtagtaac gtaattacat atactacga 240
[1280]		gactcagtga agggccgatt caccatctcc agagacaac ccaagaactc actgtatctg 300
[1281]		caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag cctagctaac 360
[1282]		tggggaacct actttgacta ctggggccag ggaacctgg tcaccgtctc ctacgcctcc 420
[1283]		accaagggcc catcggtctt ccccctggca ccctctcca agagcacctc tgggggcaca 480
[1284]		gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 540
[1285]		tcaggcggcc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctacggactc 600
[1286]		tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcacca gacctacatc 660
[1287]		tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagttga gcccaaatct 720
[1288]		tgtgacaaaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactctctgg gggaccgtca 780
[1289]		gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac cctgaggtc 840
[1290]		acatgcgtgg tgggtggactg gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 900
[1291]		gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 960
[1292]		taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtctc caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 1020
[1293]		aagtcaagg tctccaaca agccctccca gccccatcg agaaaacct ctccaagcc 1080
[1294]		aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgccc catcccggga tgagctgacc 1140
[1295]		aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagca catcgccgtg 1200
[1296]		gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctc cgtgctggac 1260
[1297]		tccgacggct ctttctct ctacagcaag ctaccctgg acaagagcag gtggcagcag 1320
[1298]		gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cagcagaag 1380
[1299]		agcctctccc tgtctccggg taaa 1404
[1300]	<210>	81
[1301]	<211>	33

- [1302] <212> DNA  
[1303] <213> 人工序列  
[1304] <220>  
[1305] <223> 人工序列  
[1306] <400> 81  
[1307] cgggcgagtc agggatttag cagctggta gcc 33  
[1308] <210> 82  
[1309] <211> 21  
[1310] <212> DNA  
[1311] <213> 人工序列  
[1312] <220>  
[1313] <223> 人工序列  
[1314] <400> 82  
[1315] gctgcatcca gtttgcaaag t 21  
[1316] <210> 83  
[1317] <211> 27  
[1318] <212> DNA  
[1319] <213> 人工序列  
[1320] <220>  
[1321] <223> 人工序列  
[1322] <400> 83  
[1323] cgacagtata atagttacc actcact 27  
[1324] <210> 84  
[1325] <211> 321  
[1326] <212> DNA  
[1327] <213> 人工序列  
[1328] <220>  
[1329] <223> 人工序列  
[1330] <400> 84  
[1331] gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
[1332] atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc agctggtag cctggatca gcagaaacca 120  
[1333] gagaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtccatca 180  
[1334] aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
[1335] gaagattttg caacttatta ctgccgacag tataatagtt acccactcac tttcgcgga 300  
[1336] gggaccaagg tggagatcag a 321  
[1337] <210> 85  
[1338] <211> 708  
[1339] <212> DNA  
[1340] <213> 人工序列  
[1341] <220>  
[1342] <223> 人工序列  
[1343] <400> 85

- [1344] atggacatga gggctcctgc tcagctcctg gggctcctgc tgctctgttt cccaggtgcc 60
- [1345] agatgtgaca tccagatgac ccagtcctca tcctcactgt ctgcatctgt aggagacaga 120
- [1346] gtcaccatca cttgtcgggc gagtcagggt attagcagct ggtagcctg gtatcagcag 180
- [1347] aaaccagaga aagcccctaa gtcctgata tatgctgcat ccagtttga aagtggggtc 240
- [1348] ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctacatc cagcagcctg 300
- [1349] cagcctgaag attttgcaac ttattactgc cgacagtata atagttacc actcactttc 360
- [1350] ggcggaggga ccaaggtgga gatcagacga actgtggetg caccatctgt cttcatcttc 420
- [1351] ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480
- [1352] ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac 540
- [1353] tcccagagaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600
- [1354] ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660
- [1355] cagggcctga gctcgcctgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgt 708
- [1356] <210> 86
- [1357] <211> 33
- [1358] <212> DNA
- [1359] <213> 人工序列
- [1360] <220>
- [1361] <223> 人工序列
- [1362] <400> 86
- [1363] tgggccagtc agggcattag cagttattta gcc 33
- [1364] <210> 87
- [1365] <211> 21
- [1366] <212> DNA
- [1367] <213> 人工序列
- [1368] <220>
- [1369] <223> 人工序列
- [1370] <400> 87
- [1371] tatgcatcca gtttgcaaag t 21
- [1372] <210> 88
- [1373] <211> 27
- [1374] <212> DNA
- [1375] <213> 人工序列
- [1376] <220>
- [1377] <223> 人工序列
- [1378] <400> 88
- [1379] caacagtatt atagtacccc gctcact 27
- [1380] <210> 89
- [1381] <211> 321
- [1382] <212> DNA
- [1383] <213> 人工序列
- [1384] <220>
- [1385] <223> 人工序列

- [1386] <400> 89  
[1387] gccatccgga tgaccagtc tccattctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
[1388] atcaacttgct gggccagtc gggcattagc agttatttag cctggatca gcaaaaacca 120  
[1389] gcaaaagccc ctaacctctt catctattat gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
[1390] aggttcagcg gcagtgatc tgggacggat tacactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
[1391] gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tattatagta ccccgctcac tttcggcgga 300  
[1392] gggaccaagg tggagatcaa a 321  
[1393] <210> 90  
[1394] <211> 708  
[1395] <212> DNA  
[1396] <213> 人工序列  
[1397] <220>  
[1398] <223> 人工序列  
[1399] <400> 90  
[1400] atggacatga gggtgcccgc tcagcgctg gggctcctgc tgctctggtt cccaggtgcc 60  
[1401] agatgtgcca tccggatgac ccagtcctca ttctcctgt ctgcatctgt aggagacaga 120  
[1402] gtcaccatca cttgctgggc cagtcagggc attagcagtt atttagcctg gtatcagcaa 180  
[1403] aaaccagcaa aagcccctaa cctcttcac tttatgcat ccagtttgca aagtggggtc 240  
[1404] ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acggattaca ctctcacat cagcagcctg 300  
[1405] cagcctgaag attttgcaac ttattactgt caacagtatt atagtacccc gctcactttc 360  
[1406] gggggaggga ccaagtgga gatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc 420  
[1407] ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480  
[1408] ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac 540  
[1409] tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600  
[1410] ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660  
[1411] caggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgt 708  
[1412] <210> 91  
[1413] <211> 8  
[1414] <212> PRT  
[1415] <213> 人工序列  
[1416] <220>  
[1417] <223> 人工序列  
[1418] <400> 91  
[1419] Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys  
[1420] 1 5  
[1421] <210> 92  
[1422] <211> 8  
[1423] <212> PRT  
[1424] <213> 人工序列  
[1425] <220>  
[1426] <223> 人工序列  
[1427] <400> 92

- [1428] Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys  
[1429] 1 5  
[1430] <210> 93  
[1431] <211> 4  
[1432] <212> PRT  
[1433] <213> 人工序列  
[1434] <220>  
[1435] <223> 人工序列  
[1436] <220>  
[1437] <221> 未归类特征  
[1438] <222> (1) .. (1)  
[1439] <223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸  
[1440] <400> 93  
[1441] Xaa Ser His Arg  
[1442] 1  
[1443] <210> 94  
[1444] <211> 4  
[1445] <212> PRT  
[1446] <213> 人工序列  
[1447] <220>  
[1448] <223> 人工序列  
[1449] <220>  
[1450] <221> 未归类特征  
[1451] <222> (1) .. (1)  
[1452] <223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸  
[1453] <400> 94  
[1454] Xaa Ser His Lys  
[1455] 1

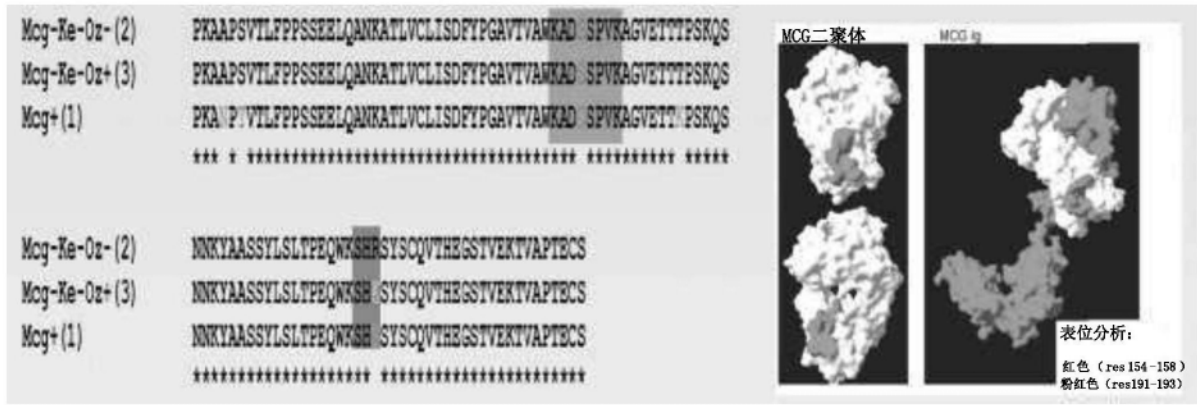


图1

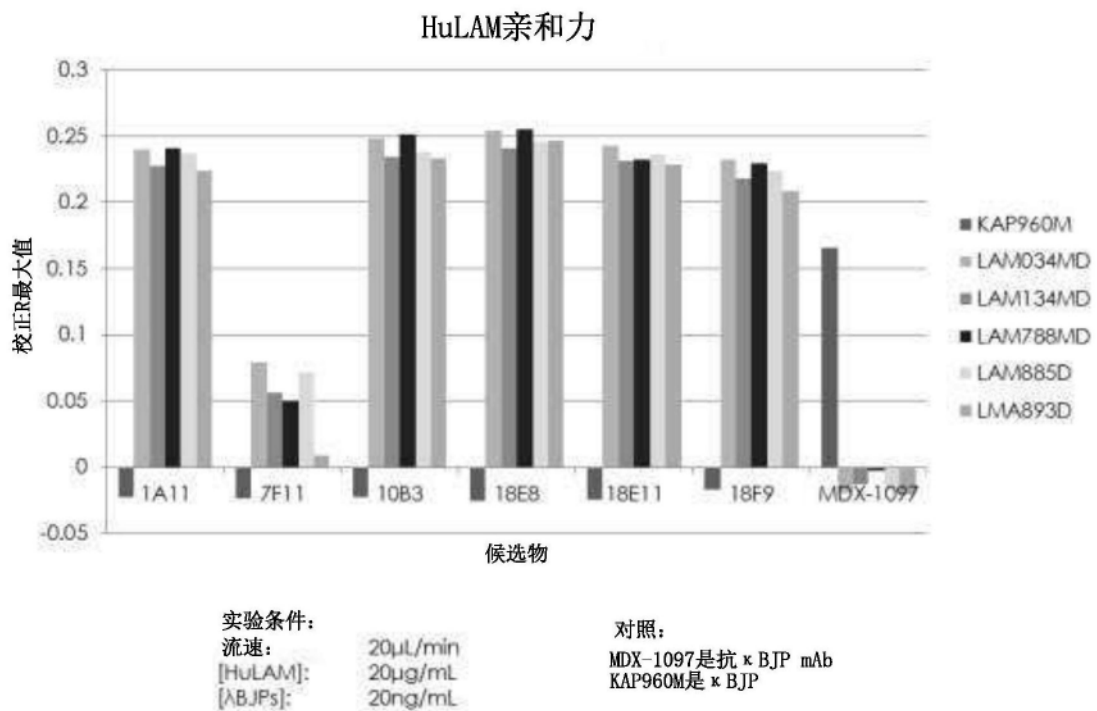


图2A

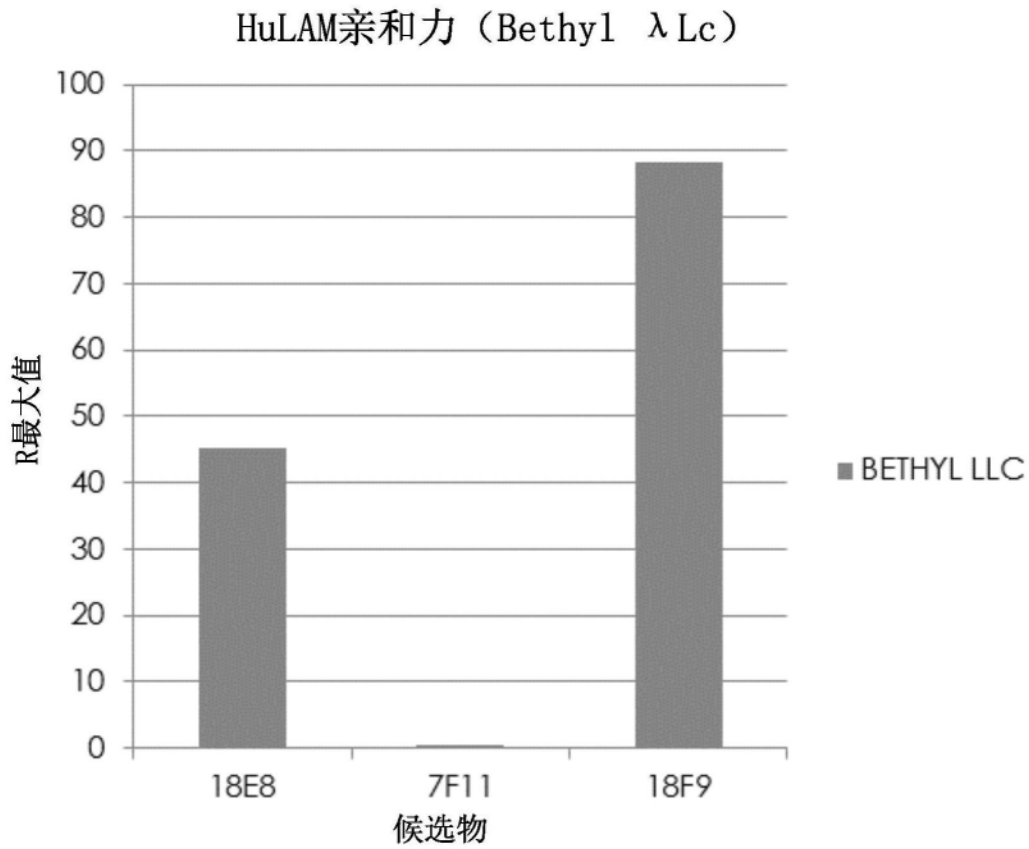
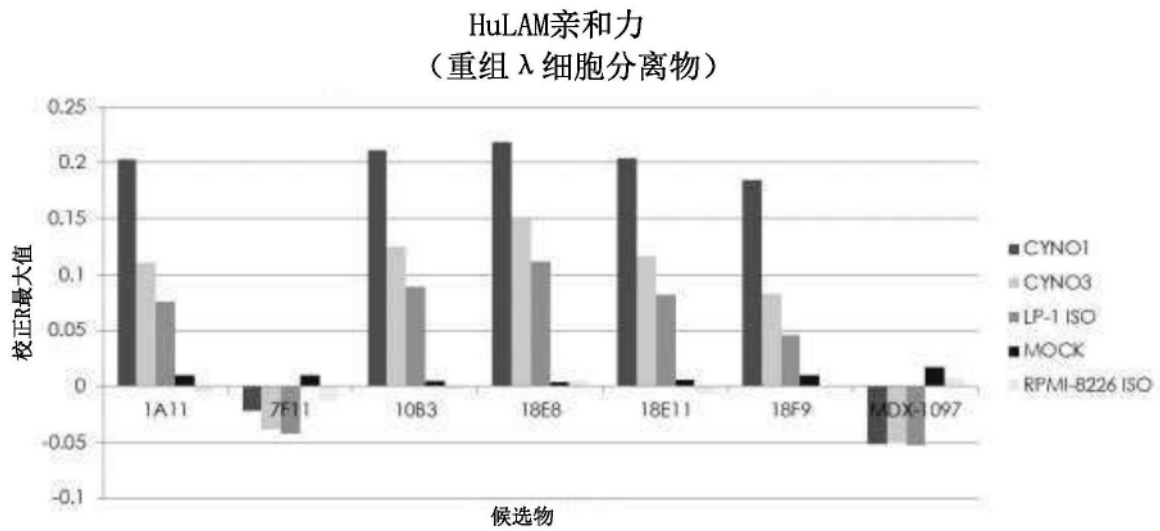


图2B



实验条件:  
流速: 20μL/min  
[HuLAM]: 20μg/mL

λ LC的来源是来自重组HEK细胞的纯的上清液 (分离物)

MOCK-对照HEK转染

“CYN0”是指食蟹猴 λ LC

图3

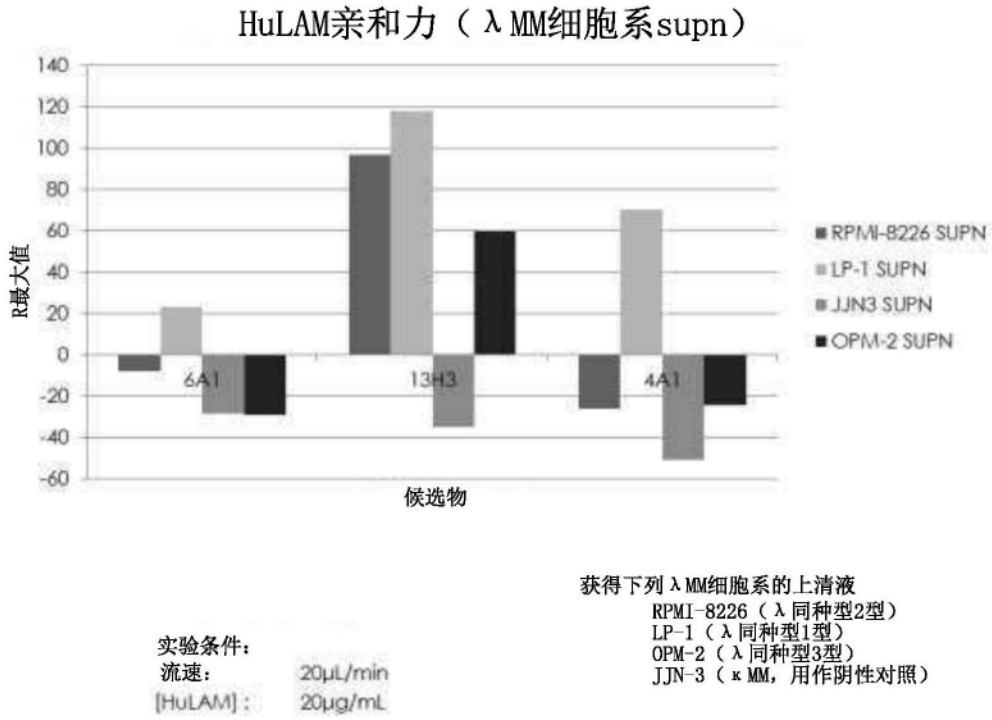


图4

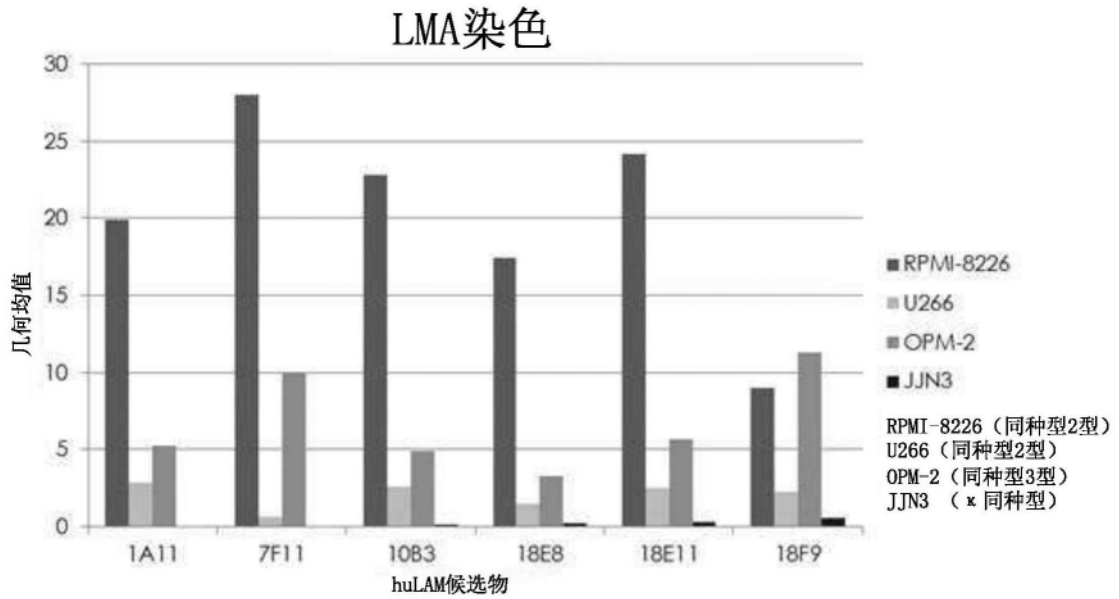


图5A



通过与无原代Ab对照比较来校正

图5B

抗人  $\lambda$  Ab对RPMI8226细胞的ADCC  
效应子/靶标=50/1  
10 ug/ml的Ab

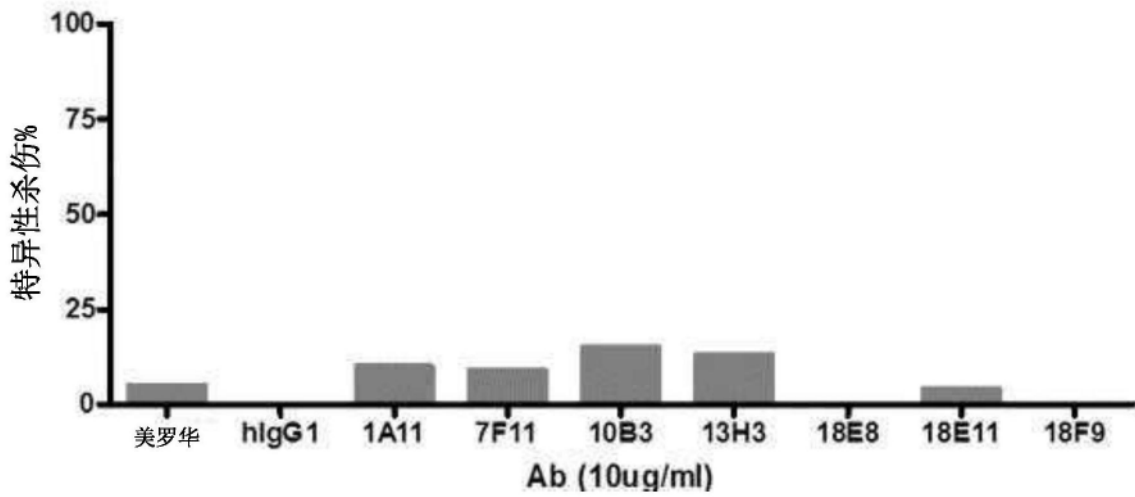


图6

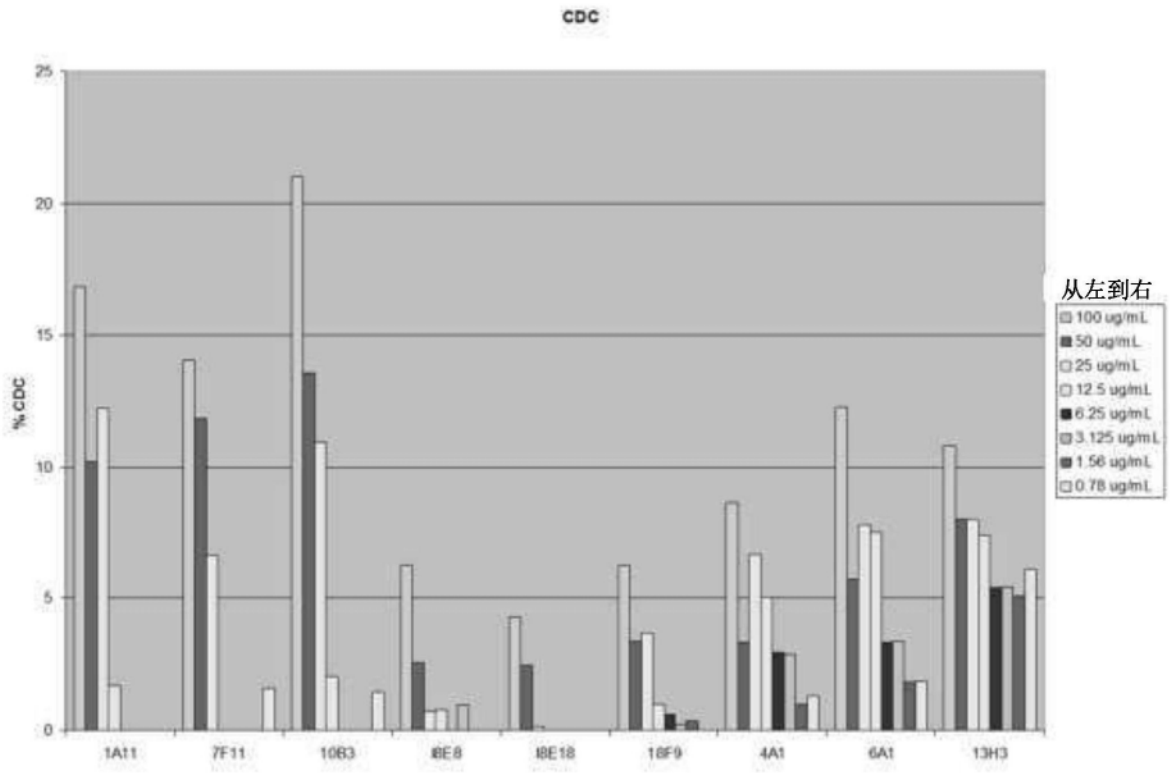


图7



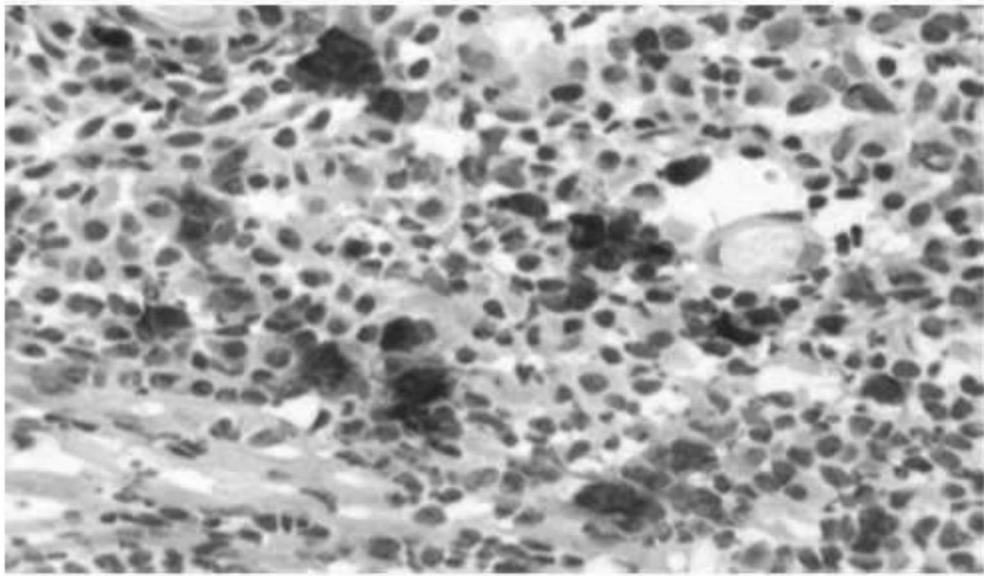


图9

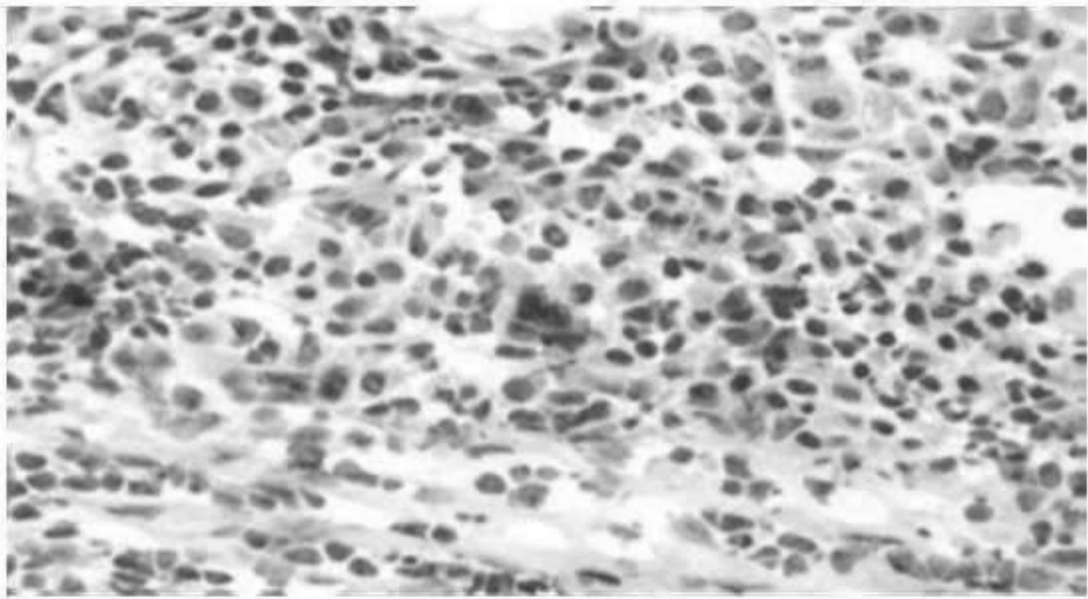


图10