(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117279951 A
(43)申请公布日 2023.12.22

(21)申请号 202280032428.7
(22)申请日 2022.05.02
(30)优先权数据
63/183,636 2021.05.04 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.11.01
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/IL2022/050451 2022.05.02
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/234570 EN 2022.11.10
(71)申请人 免疫里森公司
地址 以色列雷霍沃特
(72)发明人 O·博金 L·达萨
(74)专利代理机构 北京汉智嘉成知识产权代理有限公司 11682
专利代理师 金洁 郭丹
(51)Int.Cl.
C07K 16/30(2006.01)

权利要求书3页 说明书29页
序列表73页 附图44页

(54)发明名称

抗5T4抗体及其用途

(57)摘要

本公开描述了多种抗5T4抗体。在某些实施方案中,公开了包含特定互补决定区(CDR)的抗5T4抗体。本文公开的抗5T4抗体可用于治疗各种疾病例如癌症。

CN 117279951 A

1.一种分离的抗5T4抗体,其包含重链上的三个互补决定区(CDR)(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和轻链上的三个CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中

(i)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:2-4的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:6-8的氨基酸序列;或

(ii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:10-12的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:14-16的氨基酸序列;或

(iii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:18-20的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:22-24的氨基酸序列;或

(iv)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:26-28的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:30-32的氨基酸序列;或

(v)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:34-36的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:38-40的氨基酸序列;或

(vi)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:42-44的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:46-48的氨基酸序列;或

(vii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:54-56的氨基酸序列;或

(viii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:58-60的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:62-64的氨基酸序列。

2.根据权利要求1所述的抗5T4抗体,其中所述抗体包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区和轻链可变区包含下述氨基酸序列:SEQ ID NO:1和5;SEQ ID NO:9和13;SEQ ID NO:17和21;SEQ ID NO:25和29;SEQ ID NO:33和37;SEQ ID NO:41和45;SEQ ID NO:49和53;或SEQ ID NO:57和61;SEQ ID NO:65-66;SEQ ID NO:67-68;SEQ ID NO:69-70;SEQ ID NO:71-72;SEQ ID NO:73-74;SEQ ID NO:75-76;SEQ ID NO:77-78;SEQ ID NO:79-80;SEQ ID NO:81-82;SEQ ID NO:83-84;SEQ ID NO:85-86;SEQ ID NO:87-88;SEQ ID NO:89-90;SEQ ID NO:91-92;SEQ ID NO:93-94;SEQ ID NO:95-96;SEQ ID NO:97-98;SEQ ID NO:99-100;SEQ ID NO:101-102;SEQ ID NO:103-104;SEQ ID NO:105-106;SEQ ID NO:107-108;SEQ ID NO:109-110;SEQ ID NO:111-112;SEQ ID NO:113-114;SEQ ID NO:115-116;SEQ ID NO:117-118;SEQ ID NO:119-120;SEQ ID NO:121-122;SEQ ID NO:123-124;SEQ ID NO:125-126;SEQ ID NO:127-128;SEQ ID NO:129-130;SEQ ID NO:131-132;SEQ ID NO:133-134;SEQ ID NO:135-136;SEQ ID NO:137-138;SEQ ID NO:139-140;SEQ ID NO:141-142;SEQ ID NO:143-144;SEQ ID NO:145-146;SEQ ID NO:147-148;SEQ ID NO:149-150;或SEQ ID NO:151-152。

3.根据权利要求1或2所述的抗5T4抗体,其中所述抗体是IgG、Fv、scFv、Fab、$F(ab')_2$、微抗体、双体抗体、三体抗体、纳米抗体、双特异性抗体、三特异性抗体、多特异性抗体或单域抗体。

4.根据权利要求3所述的抗5T4抗体,其中所述IgG是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。

5.一种组合物,其包含根据权利要求1-4中任一项所述的抗5T4抗体和药学上可接受的载体。

6.根据权利要求5所述的组合物,其中所述抗5T4抗体包含重链上的三个互补决定区

(CDR)(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和轻链上的三个CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中

(i)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:2-4的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:6-8的氨基酸序列;或

(ii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:10-12的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:14-16的氨基酸序列;或

(iii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:18-20的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:22-24的氨基酸序列;或

(iv)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:26-28的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:30-32的氨基酸序列;或

(v)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:34-36的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:38-40的氨基酸序列;或

(vi)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:42-44的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:46-48的氨基酸序列;或

(vii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:54-56的氨基酸序列;或

(viii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:58-60的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:62-64的氨基酸序列。

7.根据权利要求6所述的组合物,其中所述抗5T4抗体包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区和轻链可变区包含下述氨基酸序列:SEQ ID NO:1和5;SEQ ID NO:9和13;SEQ ID NO:17和21;SEQ ID NO:25和29;SEQ ID NO:33和37;SEQ ID NO:41和45;SEQ ID NO:49和53;或SEQ ID NO:57和61;SEQ ID NO:65-66;SEQ ID NO:67-68;SEQ ID NO:69-70;SEQ ID NO:71-72;SEQ ID NO:73-74;SEQ ID NO:75-76;SEQ ID NO:77-78;SEQ ID NO:79-80;SEQ ID NO:81-82;SEQ ID NO:83-84;SEQ ID NO:85-86;SEQ ID NO:87-88;SEQ ID NO:89-90;SEQ ID NO:91-92;SEQ ID NO:93-94;SEQ ID NO:95-96;SEQ ID NO:97-98;SEQ ID NO:99-100;SEQ ID NO:101-102;SEQ ID NO:103-104;SEQ ID NO:105-106;SEQ ID NO:107-108;SEQ ID NO:109-110;SEQ ID NO:111-112;SEQ ID NO:113-114;SEQ ID NO:115-116;SEQ ID NO:117-118;SEQ ID NO:119-120;SEQ ID NO:121-122;SEQ ID NO:123-124;SEQ ID NO:125-126;SEQ ID NO:127-128;SEQ ID NO:129-130;SEQ ID NO:131-132;SEQ ID NO:133-134;SEQ ID NO:135-136;SEQ ID NO:137-138;SEQ ID NO:139-140;SEQ ID NO:141-142;SEQ ID NO:143-144;SEQ ID NO:145-146;SEQ ID NO:147-148;SEQ ID NO:149-150;或SEQ ID NO:151-152。

8.一种分离的多核苷酸序列,其编码根据权利要求1或2所述的抗5T4抗体。

9.一种载体,其包含根据权利要求8所述的多核苷酸序列。

10.一种宿主细胞,其包含根据权利要求9所述的载体。

11.一种在受试者中治疗疾病的方法,所述方法包括向所述受试者给药包含有效量的根据权利要求1-4中任一项所述的抗5T4抗体的组合物的步骤。

12.根据权利要求11所述的方法,其中所述疾病是癌症、自身免疫疾病、GvHD、病毒感染或细菌感染。

13.根据权利要求11所述的方法,其中所述抗5T4抗体包含重链上的三个互补决定区

(CDR)(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和轻链上的三个CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中

(i)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:2-4的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:6-8的氨基酸序列;或

(ii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:10-12的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:14-16的氨基酸序列;或

(iii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:18-20的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:22-24的氨基酸序列;或

(iv)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:26-28的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:30-32的氨基酸序列;或

(v)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:34-36的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:38-40的氨基酸序列;或

(vi)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:42-44的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:46-48的氨基酸序列;或

(vii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:54-56的氨基酸序列;或

(viii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:58-60的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:62-64的氨基酸序列。

14.根据权利要求13所述的方法,其中所述抗5T4抗体包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区和轻链可变区包含下述氨基酸序列:SEQ ID NO:1和5;SEQ ID NO:9和13;SEQ ID NO:17和21;SEQ ID NO:25和29;SEQ ID NO:33和37;SEQ ID NO:41和45;SEQ ID NO:49和53;或SEQ ID NO:57和61;SEQ ID NO:65-66;SEQ ID NO:67-68;SEQ ID NO:69-70;SEQ ID NO:71-72;SEQ ID NO:73-74;SEQ ID NO:75-76;SEQ ID NO:77-78;SEQ ID NO:79-80;SEQ ID NO:81-82;SEQ ID NO:83-84;SEQ ID NO:85-86;SEQ ID NO:87-88;SEQ ID NO:89-90;SEQ ID NO:91-92;SEQ ID NO:93-94;SEQ ID NO:95-96;SEQ ID NO:97-98;SEQ ID NO:99-100;SEQ ID NO:101-102;SEQ ID NO:103-104;SEQ ID NO:105-106;SEQ ID NO:107-108;SEQ ID NO:109-110;SEQ ID NO:111-112;SEQ ID NO:113-114;SEQ ID NO:115-116;SEQ ID NO:117-118;SEQ ID NO:119-120;SEQ ID NO:121-122;SEQ ID NO:123-124;SEQ ID NO:125-126;SEQ ID NO:127-128;SEQ ID NO:129-130;SEQ ID NO:131-132;SEQ ID NO:133-134;SEQ ID NO:135-136;SEQ ID NO:137-138;SEQ ID NO:139-140;SEQ ID NO:141-142;SEQ ID NO:143-144;SEQ ID NO:145-146;SEQ ID NO:147-148;SEQ ID NO:149-150;或SEQ ID NO:151-152。

抗5T4抗体及其用途

[0001] 序列表声明

[0002] 本申请含有以ASCII形式电子提交并整体通过引用并入本文的序列表。所述于2022年5月2日生成的ASCII副本名为P-604133-PC_SL.txt,大小为130千字节。

技术领域

[0003] 本公开总的来说涉及抗体。在一个实施方案中,本公开描述了抗5T4抗体及其抗5T4抗原结合片段的制备和用途。

背景技术

[0004] 针对用于治疗癌症的免疫治疗方法的开发已做出了相当大的努力;其中许多依赖于靶向肿瘤相关的抗原(TAA)。尽管已经鉴定到大量TAA,但并非所有TAA都具有能够实现安全有效的免疫靶向的适合特性。此类特性包括在正常组织上的高度受限的表达谱,但在许多不同癌症类型中广泛表达。此外,细胞表面表达是抗体靶向疗法的重要特性。

[0005] 也被称为滋养层糖蛋白的5T4是一种快速内化的细胞表面抗原。5T4是在试图鉴定共享细胞表面分子的背景中发现,所述共享细胞表面分子可能起到允许作为半同种异体移植物的胎儿在母体中存活或肿瘤在宿主中存活的作用。针对从来自足月人胎盘的滋养层膜制备物纯化的糖蛋白产生鼠类单克隆抗体,并针对不同的癌细胞系和人外周血单核细胞进行初步筛选。

[0006] 已在各种实体肿瘤(即肺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、膀胱癌、胰腺癌、食道癌和胃癌)中观察到由免疫组织化学定义的5T4的表达,然而发现在正常成人组织中的表达有限。已将5T4表达与患有非小细胞肺癌、结肠直肠癌、卵巢癌或胃癌和前B急性成淋巴细胞白血病的患者中的晚期疾病和/或更差的临床结果相关联。

[0007] 越来越多的证据表明,反映正常组织更新特性的诱发肿瘤的细胞的关键亚群通过发展癌症被保留下来,并且获得利用优势。已将NSCLC中的低分化肿瘤与较短的患者生存期和较短的治疗后复发时间相关联。使用多种实验模型和患者肿瘤的临床病理分析来描绘NSCLC中的细胞层次结构,已表明5T4在诱发肿瘤的细胞上表达,并与较差的临床结果相关。尽管5T4在NSCLC患者来源的异种移植物中存在异源表达,但用抗5T4抗体-药物偶联物治疗导致完全且持续的肿瘤消退。因此,非均质实体瘤的侵袭性生长可以被靶向表达5T4的细胞亚群的治疗剂阻断。

[0008] 已显示在某些胚胎和肿瘤细胞中5T4分子参与CXCR4在细胞表面上的功能性表达。在许多癌症中,已将CXCL12和CXCR4两者的表达与肿瘤发生相关联,并且据信CXCR4表达促进了向高表达CXCL12的组织包括肺、肝、淋巴结和骨髓的扩散。在BCP-ALL中5T4被假定的白血病诱发细胞表达,并且这些细胞显示出CXCL12/CXCR4趋化性的相关特性。5T4阳性白血病诱发细胞可能被由髓外部位产生的CXCL12吸引,在髓外部位处治疗剂的生物可利用度降低,导致治疗后疾病复发。

[0009] Wnt蛋白细胞内信号传导是细胞调控的许多方面的核心组分,对正常发育、稳态和

再生至关重要,而失调可导致疾病,包括癌症。存在两种途径,研究得最清楚的是经典的Wnt/β-连环蛋白途径,而通过细胞自主的平面细胞极性(PCP)类型途径的非经典Wnt信号传导可以驱动肌动蛋白和微管骨架的调节,促进癌症发展中的细胞运动。已显示5T4干扰Wnt/β-连环蛋白信号传导并同时激活非经典Wnt途径。

[0010] 鉴于5T4的选择性表达模式及其与诱发肿瘤表型的关联加上对癌症扩散的机制性参与,已开发了涉及5T4的几种不同免疫治疗策略。在临床前和临床研究中,5T4疫苗、5T4抗体、5T4抗体靶向的超抗原以及5T4抗体-药物和5T4抗体-嵌合抗原受体均已被探索用于癌症治疗。尽管已经产生了几种针对5T4分子的特定肽或序列制备的"5T4特异性"抗体,但它们的表位通常尚未被鉴定,并且可能包括5T4分子的含有富含亮氨酸重复序列的部分,这些重复序列被大量具有多样的功能和表达的蛋白质共享。因此,需要进一步开发用于免疫治疗用途的抗5T4抗体。

发明内容

[0011] 在一个实施方案中,本公开提供了多种抗5T4抗体。在一个实施方案中,所述抗5T4抗体中的每一者包含重链上的三个互补决定区(CDR)(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和轻链上的三个CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中

[0012] 所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:2-4的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:6-8的氨基酸序列;或

[0013] 所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:10-12的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:14-16的氨基酸序列;或

[0014] 所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:18-20的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:22-24的氨基酸序列;或

[0015] 所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:26-28的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:30-32的氨基酸序列;或

[0016] 所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:34-36的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:38-40的氨基酸序列;或

[0017] 所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:42-44的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:46-48的氨基酸序列;或

[0018] 所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:54-56的氨基酸序列;或

[0019] 所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:58-60的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:62-64的氨基酸序列。

[0020] 在一个实施方案中,所述抗5T4抗体中的每一者包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区和轻链可变区的氨基酸序列可以是下述对之一:SEQ ID NO:1和5;SEQ ID NO:9和13;SEQ ID NO:17和21;SEQ ID NO:25和29;SEQ ID NO:33和37;SEQ ID NO:41和45;SEQ ID NO:49和53;或SEQ ID NO:57和61;SEQ ID NO:65-66;SEQ ID NO:67-68;SEQ ID NO:69-70;SEQ ID NO:71-72;SEQ ID NO:73-74;SEQ ID NO:75-76;SEQ ID NO:77-78;SEQ ID NO:79-80;SEQ ID NO:81-82;SEQ ID NO:83-84;SEQ ID NO:85-86;SEQ ID NO:87-88;SEQ ID NO:89-90;SEQ ID NO:91-92;SEQ ID NO:93-94;SEQ ID NO:95-96;SEQ ID NO:97-

98;SEQ ID NO:99-100;SEQ ID NO:101-102;SEQ ID NO:103-104;SEQ ID NO:105-106;SEQ ID NO:107-108;SEQ ID NO:109-110;SEQ ID NO:111-112;SEQ ID NO:113-114;SEQ ID NO:115-116;SEQ ID NO:117-118;SEQ ID NO:119-120;SEQ ID NO:121-122;SEQ ID NO:123-124;SEQ ID NO:125-126;SEQ ID NO:127-128;SEQ ID NO:129-130;SEQ ID NO:131-132;SEQ ID NO:133-134;SEQ ID NO:135-136;SEQ ID NO:137-138;SEQ ID NO:139-140;SEQ ID NO:141-142;SEQ ID NO:143-144;SEQ ID NO:145-146;SEQ ID NO:147-148;SEQ ID NO:149-150;或SEQ ID NO:151-152。

[0021] 在一个实施方案中,本公开提供了一种组合物,其包含药学上可接受的载体和本文公开的抗5T4抗体。

[0022] 本公开还提供了编码本文公开的抗5T4抗体的多核苷酸序列,以及包含此类多核苷酸序列的载体和宿主细胞。

[0023] 在一个实施方案中,本文公开的抗5T4抗体可用于治疗疾病,例如癌症、自身免疫疾病、GvHD、病毒感染或细菌感染。

[0024] 所述抗5T4抗体的这些和其他方面将从随后的附图描述和抗5T4抗体的详细描述中得到理解。

附图说明

[0025] 在本文中仅仅以实例的方式参考附图描述了所述抗5T4抗体及其用途的某些实施方案。现在具体参考详细的附图,应该强调的是,所示出的细节仅仅是示例性的,其目的是说明性讨论所述抗5T4抗体及其用途的实施方案。就此而言,结合附图进行的描述使本领域技术人员清楚地知道可以如何实践所述抗5T4抗体及其用途的实施方案。

[0026] 图1A-1D显示了使用ELISA(图1A-1B)和FACS(图1C-1D)检测的融合到人Fc的重组人5T4 ECD蛋白的结合。图1A-1B示出了在皮下(s.c.)免疫(图1A)或腹膜内(i.p)免疫(图1B)后,通过ELISA检测的血清与融合到人Fc的重组人5T4 ECD蛋白的结合。图1C-1D示出了通过FACS检测的血清与过表达5T4的CHO细胞(图1C)或CHO亲代细胞(图1D)的结合.TB2-测试采血2。提供了不同小鼠的参考编号。hIgG1-阴性结合对照。抗TPBG(抗滋养层糖蛋白)抗体被用作阳性对照。

[0027] 图2提供了所选的小鼠杂交瘤克隆体的身份表。

[0028] 图3A-3B显示了在还原条件下纯化的mAb克隆体的SDS-PAGE。

[0029] 图4A-P显示了典型纯化mAb克隆体1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、13、15、16、17、18和19的SEC-HPLC分析。

[0030] 图5A-5D显示了典型纯化mAb克隆体的ELISA结合曲线。

[0031] 图6A-6H显示了典型纯化mAb克隆体与过表达人5T4的CHO细胞(图6A-6C)、过表达犬类5T4的CHO(图6D-6F)和MCF-7乳腺癌细胞系(图6G-6H)的FACS结合。Tab是阳性对照抗体。mIgG(小鼠IgG)是阴性对照小鼠IgG。hIgG(人IgG)是阴性对照人IgG。抗5T4 Ab是阳性对照hIgG抗体。

[0032] 图7A-7G显示了所选纯化mAb的Octet分析,其中图7A-7F提供了典型mAb克隆体的Octet测试分析结果,并且图7G总结了排序的KD值。

[0033] 图8显示了通过ELISA进行的表位分箱分析,鉴定到在其表位中分化的三个主要

组。第1组(圆形实线),第2组(正方形虚线)和第3组(圆形虚线)。

[0034] 图9A-9C显示了通过ELISA测试的纯化的嵌合5T4 mAb的一些实施方案的结合(图9A),通过FACS测试的与CHO细胞的结合(图9B)和通过FACS测试的与MCF-7细胞的结合(图9C)。Tab是阳性对照抗体。hIgG是阴性对照人IgG。

[0035] 图10A-10B显示了三体抗体结构的实施方案(图10A)和前三体抗体结构的实施方案(图10B)。VL-抗CD3抗体Fab的轻链可变区,VH-抗CD3抗体Fab的重链可变区,HSA-人血清白蛋白,抗NK-抗自然杀伤细胞抗原抗体,抗TAA-抗肿瘤相关抗原抗体。CD3CAP-阻断抗CD3抗体与Cd3抗原的结合的掩蔽部分。在这两个实施方案中显示的接头(具有或不具有蛋白酶切割)可以相同或不同,或者在某些实施方案中可以不存在于任何给定的位置。

[0036] 图11显示了通过SDS-PAGE分析的表达的三体抗体构建体的实施方案。每种构建体的SEQ ID NO:的鉴定参见表1。R-在还原条件下。NR-在非还原条件下。

[0037] 图12A-12B显示了包括抗5T4结合结构域(5T4_IM53)的三体抗体构建体(IM-1222)的SDS-PAGE(图12A)和SEC-HPLC(图12B)分析。

[0038] 图13A-13B显示了包括抗5T4结合结构域(5T4_IM53)的三体抗体构建体(IM-1222)在还原条件下(图13A)和完整时(图13B)的MS分析。

[0039] 图14A-14B显示了包括抗5T4结合结构域(5T4_IM24)的三体抗体构建体(IM-1178)的SDS-PAGE(图14A)和SEC-HPLC(图14B)分析。

[0040] 图15A-15B显示了包括抗5T4结合结构域(5T4_IM24)的三体抗体构建体在还原条件下(图15A)和完整时(图15B)的MS分析。

[0041] 图16A-16H显示了纯化的包含不同抗5T4结合结构域的人源化三体抗体构建体的不同实施方案的结合的ELISA筛选结果。

[0042] 图17A-17O显示了纯化的包含不同抗5T4结合结构域的人源化三体抗体构建体与过表达人5T4的CHO细胞(图17A-17H)或NCI-H226肺癌细胞系(图17I-17O)的结合的FACS筛选。

[0043] 图18A和18B显示了由人源化三体抗体构建体的不同实施方案介导的对NCI-H226肺癌细胞(图18A)和MDA-MB-231人乳腺腺癌细胞(图18B)体外细胞毒性。三体抗体IM1222包含5T4_IM53抗5T4结合结构域。三体抗体IM1062包含阳性对照抗5T4结合结构域,并且三体抗体IM1184包含阴性对照具有CD3 CAP部分的抗5T4结合结构域。

[0044] 图19显示了三体抗体构建体在异种移植物小鼠模型中的体内功效。所使用的三体抗体构建体各自含有单个5T4结合结构域。

具体实施方式

[0045] 本公开提供分离的抗5T4抗体,其中在人源化构架(嵌合抗体;人源化抗体)内提供抗5T4 mAb的独特CDR序列。此外,证实了这些抗5T4抗体的5T4抗原结合区在多价抗体构建体中的并入。本文公开的抗5T4抗体可以潜在地作为免疫治疗性治疗用于医学病症例如癌症。

[0046] 本文所使用的术语“抗体”可以与术语“免疫球蛋白”互换使用,它们都具有相同的性质和含义。抗体结合结构域或抗原结合位点可以是抗体的片段或抗体的一个或多个片段的遗传工程产物,所述片段参与与靶抗原的特异性结合。“特异性结合”意味着所述结合对

目标抗原是选择性的,并且可以与不想要的或非特异性的相互作用区分开来。例如,当平衡解离常数≤10^{-5}、10^{-6}或10^{-7}M时,抗体被称为特异性结合5T4表位。在某些实施方案中,所述平衡解离常数可以≤10^{-8}M或10^{-9}M。在某些其他实施方案中,所述平衡解离常数可以≤10^{-10}M、10^{-11}M或10^{-12}M。在某些实施方案中,所述平衡解离常数可以在≤10^{-5}M至10^{-12}M的范围内。

[0047] 半最大有效浓度(EC_{50})是指在特定暴露时间后,药物、抗体或毒物诱导基线与最大响应之间的一半的响应时的浓度。在某些实施方案中,所述响应包括合亲和性。在某些实施方案中,所述响应包括功能性响应例如激动性响应。专业技术人员将会理解,在某些实施方案中,本文所使用的本文公开的抗5T4抗体的EC_{50}测量值提供了抗5T4抗体与5T4抗原的半最大结合(EC_{50}结合)的度量。专业技术人员将会理解,在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体的EC_{50}测量值提供了抗5T4抗体诱导激动剂响应的半最大有效浓度(EC_{50}功能性激动作用)的度量。

[0048] 在某些实施方案中,EC_{50}包含为了获得在抗体结合后观察到的50%激动剂响应所需的抗体浓度。在某些实施方案中,EC_{50}的度量通常用作药物效力的度量,并且在某些实施方案中可以反映抗体与受体的结合。在某些实施方案中,具有纳摩尔EC_{50}结合浓度测量值的抗5T4抗体包括紧密结合的抗5T4抗体。在某些实施方案中,具有纳摩尔EC_{50}功能性激动作用浓度测量值的抗5T4抗体包括功能上有效的激动性抗体。在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体包括5T4分子的紧密结合物。在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体包括5T4分子的激动剂。在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体包括5T4分子的紧密结合激动剂。

[0049] 在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}在纳摩尔范围内。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.05-100nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.05-50nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.05-20nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.05-10nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.1-100nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}抗体包括约0.1-50nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.1-20nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.1-10nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约1-100nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约1-20nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约20-40nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约40-60nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约60-80nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约80-100nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约1-40nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约1-60nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约1-80nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约1-50nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.05-5nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.1-5nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.05-20nM的范围。

[0050] 在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.05-5nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.1-5nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约1-5nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.05-10nM的范

围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.1-10nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约1-10nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约5-10nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.05-15nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约0.01-15nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的结合EC_{50}包括约1-15nM的范围。

[0051] 在某些实施方案中,度量功能性激动作用的EC_{50}在本文中被称为功能EC_{50},它们具有完全相同的性质。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}在纳摩尔范围内。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.05-100nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.05-50nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.05-20nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.05-10nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.1-100nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.1-50nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.1-20nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.1-10nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约1-100nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约1-20nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约20-40nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约40-60nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约60-80nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约80-100nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约1-40nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括1-60nM的范围约。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约1-80nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约1-50nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.05-5nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.1-5nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.05-20nM的范围。

[0052] 在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.05-5nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.1-5nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约1-5nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.05-10nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.1-10nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约1-10nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约5-10nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.05-15nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约0.01-15nM的范围。在某些实施方案中,抗5T4抗体的功能EC_{50}包括约1-15nM的范围。

[0053] 本文所使用的术语“抗体”涵盖保持结合特异性的一种或多种抗体片段,包括但不限于IgG、重链可变区(VH)、轻链可变区(VL)、Fab片段、$F(ab')_2$片段、scFv片段、Fv片段、纳米抗体、微抗体、双体抗体、三体抗体、四体抗体和单域抗体(参见例如Hudson和Souriau,Nature Med.9:129-134(2003))。还涵盖了人源化、灵长动物源化和嵌合抗体,这些术语在本领域中是公知的。在某些实施方案中,本文公开的抗体包括前体构建体,其中抗原结合位点可以被调控结构域阻断,其中结合位点的暴露包括基于环境条件的受调控的暴露,例如但不限于暴露于肿瘤微环境。

[0054] 本文所使用的术语“重链可变区”可以与术语“VH结构域”或术语“VH”互换使用,它

们具有完全相同的含义和特性。本文所使用的术语“轻链可变区”可以与术语“VL结构域”或术语“VL”互换使用,它们具有完全相同的含义和特性。专业技术人员将会认识到,对于抗体而言,“重链可变区”或“VH”包含重链的含有插入在被称为构架区的侧翼延伸区段之间的三个互补决定区(CDR)的片段。构架区与CDR相比更高度保守,并形成支架以支持CDR。类似地,专业技术人员也将会认识到对于抗体来说,“轻链可变区”或“VL”包含轻链的含有插入在构架区之间的三个CDR的片段。

[0055] 本文所使用的术语“互补决定区”或“CDR”是指重链或轻链可变区的高变区。从N-端开始,重链或轻链多肽中的每一者均具有三个CDR,被称为“CDR1”、“CDR2”和“CDR3”。大量抗原-抗体复合物的晶体学分析证明,CDR的氨基酸残基与结合的抗原形成广泛接触。因此,CDR区主要负责抗原结合位点的特异性。在一个实施方案中,抗原结合位点包括6个CDR,包含来自于重链和轻链可变区中的每一者的CDR。

[0056] 本文所使用的术语“构架区”或“FR”是指重链或轻链可变区的构成CDR的框架的四个侧翼氨基酸序列。某些FR残基可能接触结合的抗原;然而,FR残基主要负责可变区折叠成抗原结合位点。在某些实施方案中,负责折叠可变区的FR残基包括与CDR直接相邻的残基。在FR内,某些氨基酸残基和某些结构特点是非常高度保守的。就此而言,所有可变区序列都含有90个氨基酸残基左右的内部二硫环。当可变区折叠成抗原结合位点时,CDR被呈递为形成抗原结合表面的投射环基序。通常认为FR存在保守的结构区,其影响CDR环变成某些“经典”结构的折叠形状,而与精确的CDR氨基酸序列无关。此外,已知某些FR残基参与使抗体重链和轻链的相互作用稳定的非共价结构域间接触。

[0057] 抗体可能以各种形式存在或具有各种结构域,包括但不限于互补决定区(CDR)、可变区(Fv)、VH结构域、VL结构域、单链可变区(scFv)和Fab片段。

[0058] 本领域普通技术人员将会认识到,scFv是包含通过短的接头肽相连的免疫球蛋白的可变重链(VH)和可变轻链(VL)区的融合多肽。所述接头可以具有例如10至约25个氨基酸。

[0059] 专业技术人员还将认识到,对于抗体来说,术语“Fab”通常包含抗体的由通过二硫键结合到单个重链的可变区和第一恒定区的单个轻链(可变和恒定区两者)组成的部分,而$F(ab')_2$包含含有VH结构域的重链和含有VL结构域的轻链的片段。

[0060] 在某些实施方案中,抗体涵盖完整抗体分子,包括单克隆和多克隆抗体。在某些实施方案中,抗体涵盖保留结合特异性的一种或多种抗体片段,包括但不限于可变重链(VH)片段、可变轻链(VL)片段、Fab片段、$F(ab')_2$片段、scFv片段、Fv片段、微抗体、双体抗体、三体抗体和四体抗体。

[0061] 在一个实施方案中,本文公开的抗5T4抗体可以作为双特异性抗体的一部分并入。在一个实施方案中,本文公开的抗5T4抗体可以作为多特异性抗体的一部分并入。正如本领域中公知的,双特异性抗体是包括两种不同单克隆抗体的抗原结合片段的重组蛋白,因此能够结合两种不同抗原。在一个实施方案中,本文公开的抗5T4抗体可以作为三特异性抗体的一部分并入。在一个实施方案中,本文公开的抗5T4抗体可以作为多特异性抗体的一部分并入。类似地,多特异性抗体是包括至少两种不同单克隆抗体,例如2、3、或4种不同单克隆抗体的抗原结合片段的重组蛋白。

[0062] 在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体对于5T4来说是二价的。在某些实施方

案中,本文公开的抗5T4抗体对于结合5T4来说是单价的。

[0063] 在某些实施方案中,双特异性、三特异性或多特异性抗体通过同时靶向超过一种抗原靶例如细胞毒性T细胞(CTL)以及肿瘤相关抗原(TAA),或同时靶向超过一种CTL,例如靶向CTL受体组分例如CD3、效应自然杀伤(NK)细胞和肿瘤相关抗原(TAA)(其中例如所述TAA包含5T4),被用于癌症免疫疗法。

[0064] 抗5T4抗体

[0065] 本公开提供了多种抗5T4抗体。在一个实施方案中,所述抗5T4抗体中的每一者包含重链上的一组三个互补决定区(CDR)(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和轻链上的一组三个CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0066] 在一个实施方案中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:2-4的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:6-8的氨基酸序列。

[0067] 在一个实施方案中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:10-12的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:14-16的氨基酸序列。

[0068] 在一个实施方案中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:18-20的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:22-24的氨基酸序列。

[0069] 在一个实施方案中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:26-28的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:30-32的氨基酸序列。

[0070] 在一个实施方案中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:34-36的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:38-40的氨基酸序列。

[0071] 在一个实施方案中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:42-44的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:46-48的氨基酸序列。

[0072] 在一个实施方案中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:54-56的氨基酸序列。

[0073] 在一个实施方案中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:58-60的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:62-64的氨基酸序列。

[0074] 在一个实施方案中,包含重链上的三个互补决定区(CDR)(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和轻链上的三个CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)的分离的抗5T4抗体包括抗体,其中

[0075] (i)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:2-4的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:6-8的氨基酸序列;或

[0076] (ii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:10-12的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:14-16的氨基酸序列;或

[0077] (iii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:18-20的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:22-24的氨基酸序列;或

[0078] (iv)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:26-28的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:30-32的氨基酸序列;或

[0079] (v)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:34-36的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:38-40的氨基酸序列;或

[0080] (vi)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:42-44的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:46-48的氨基酸序列;或

[0081] (vii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:54-56的氨基酸序列;或

[0082] (viii)所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:58-60的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:62-64的氨基酸序列。

[0083] 在另一个实施方案中,所述抗5T4抗体包含与上面阐述的氨基酸序列具有至少80%(例如至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性的重链和轻链CDR序列。

[0084] 在一个实施方案中,本文提出的抗5T4抗体中的每一者包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),其中所述重链可变区和轻链可变区的氨基酸序列可以是下述对之一:SEQ ID NO:1和5;SEQ ID NO:9和13;SEQ ID NO:17和21;SEQ ID NO:25和29;SEQ ID NO:33和37;SEQ ID NO:41和45;SEQ ID NO:49和53;或SEQ ID NO:57和61;SEQ ID NO:65-66;SEQ ID NO:67-68;SEQ ID NO:69-70;SEQ ID NO:71-72;SEQ ID NO:73-74;SEQ ID NO:75-76;SEQ ID NO:77-78;SEQ ID NO:79-80;SEQ ID NO:81-82;SEQ ID NO:83-84;SEQ ID NO:85-86;SEQ ID NO:87-88;SEQ ID NO:89-90;SEQ ID NO:91-92;SEQ ID NO:93-94;SEQ ID NO:95-96;SEQ ID NO:97-98;SEQ ID NO:99-100;SEQ ID NO:101-102;SEQ ID NO:103-104;SEQ ID NO:105-106;SEQ ID NO:107-108;SEQ ID NO:109-110;SEQ ID NO:111-112;SEQ ID NO:113-114;SEQ ID NO:115-116;SEQ ID NO:117-118;SEQ ID NO:119-120;SEQ ID NO:121-122;SEQ ID NO:123-124;SEQ ID NO:125-126;SEQ ID NO:127-128;SEQ ID NO:129-130;SEQ ID NO:131-132;SEQ ID NO:133-134;SEQ ID NO:135-136;SEQ ID NO:137-138;SEQ ID NO:139-140;SEQ ID NO:141-142;SEQ ID NO:143-144;SEQ ID NO:145-146;SEQ ID NO:147-148;SEQ ID NO:149-150;或SEQ ID NO:151-152。在另一个实施方案中,所述抗5T4抗体包含与上面阐述的氨基酸序列具有至少80%(例如至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性的VH和VL序列。

[0085] 在一个实施方案中,根据本文公开的重链可变区和轻链可变区的序列,本领域普通技术人员将会容易地使用本领域中已知的标准技术来构建抗5T4 scFv。

[0086] 在某些实施方案中,本公开提供了包含在适合条件下二聚化的VH和VL结构域的多肽。例如,所述VH和VL结构域可以被结合在适合的缓冲液中,并通过适合的相互作用例如疏水相互作用二聚化。在另一个实施方案中,所述VH和VL结构域可以被结合在适合的缓冲液中,所述缓冲液含有可以促进所述VH和VL结构域的二聚化的酶和/或辅因子。在另一个实施方案中,所述VH和VL结构域可以被结合在适合的媒介物中,所述媒介物允许它们在适合的试剂和/或催化剂存在下相互反应。

[0087] 在某些实施方案中,所述VH和VL结构域可以被包含在较长的多肽序列内,所述多肽序列可以包括例如但不限于恒定区、铰链区、接头区、Fc区或二硫键结合区或其任何组合。恒定结构域是免疫球蛋白分子的恒定部分的免疫球蛋白折叠单元,也被称为恒定区的结构域(例如CH1、CH2、CH3、CH4、Ck、Cl)。在某些实施方案中,所述较长的多肽可以包含按照本文公开的方法产生的VH和VL结构域中的一者或两者的多个拷贝;例如当本文产生的多肽被用于形成双体抗体或三体抗体时。

[0088] 在一个实施方案中,本文所述的抗5T4抗体可以是IgG、Fv、scFv,a Fab、F(ab')2、微抗体、双体抗体、三体抗体、纳米抗体、双特异性抗体、三特异性抗体、多特异性抗体或单域抗体。例如,所述抗5T4抗体可以是IgG,例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在某些实施方案中,

所述抗5T4抗体包括IgG1。在某些实施方案中,所述抗5T4抗体包括IgG2。在某些实施方案中,所述抗5T4抗体包括IgG3。在某些实施方案中,所述抗5T4抗体包括IgG4。

[0089] 在一个实施方案中,本公开内容提供以高亲和性与5T4结合的抗体。在一个实施方案中,结合亲和性通过Frankel等人所描述的Scatchard方法的改良版(Mol.Immunol.,16:101-106,1979)来计算。在另一个实施方案中,结合亲和性通过抗原/抗体解离速率来测量。在另一个实施方案中,结合亲和性通过竞争放射免疫测定来测量。在另一个实施方案中,结合亲和性通过ELISA来测量。在另一个实施方案中,抗体亲和性通过流式细胞术来测量。

[0090] 在一个实施方案中,本公开内容还提供分离的多核苷酸序列,其编码本文所描述的重链和轻链CDR。在另一个实施方案中,本公开内容还提供一种包含此类多核苷酸序列的载体。根据本文公开的氨基酸序列,本领域普通技术人员将会容易地构建载体或质粒以编码所述氨基酸序列。在另一个实施方案中,本公开还提供了一种宿主细胞,其包含本文提供的载体。取决于用途和实验条件,本领域技术人员将会容易地利用适合的宿主细胞来携带和/或表达上面提到的多核苷酸序列。

[0091] 在一个实施方案中,本公开还提供了分离的多核苷酸序列,其编码本文所描述的重链和轻链可变区。在另一个实施方案中,本公开还提供了一种包含此类多核苷酸序列的载体。根据本文公开的氨基酸序列,本领域普通技术人员将会容易地构建载体或质粒以编码所述氨基酸序列。在另一个实施方案中,本公开还提供了一种宿主细胞,其包含本文提供的载体。根据用途和实验条件,本领域技术人员将会容易地利用适合的宿主细胞来携带和/或表达上文提到的多核苷酸序列。

[0092] 使用的组合物

[0093] 在一个实施方案中,本公开还提供了一种组合物,其包含本文公开的抗5T4抗体和药学上可接受的载体。使用的药学上可接受的载体在本领域中是公知的。例如,《Remington's制药学》(Remington's Pharmaceutical Sciences,E.W.Martin,Mack Publishing Co.,Easton,PA,第15版,1975)描述了适用于本文公开的抗体的药物递送的组合物和制剂。在一个实施方案中,所述组合物包含抗5T4抗体,所述抗体包含重链上的一组三个互补决定区(CDR)重链(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和轻链上的一组三个CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0094] 在组合物的某些实施方式中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:2-4的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:6-8的氨基酸序列。

[0095] 在组合物的某些实施方式中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:10-12的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:14-16的氨基酸序列。

[0096] 在组合物的某些实施方式中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:18-20的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:22-24的氨基酸序列。

[0097] 在组合物的某些实施方式中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:26-28的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:30-32的氨基酸序列。

[0098] 在组合物的某些实施方式中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:34-36的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:38-40的氨基酸序列。

[0099] 在组合物的某些实施方式中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:42-44的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:46-48的氨基酸序列。

[0100] 在组合物的某些实施方式中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:54-56的氨基酸序列。

[0101] 在组合物的某些实施方式中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:58-60的氨基酸序列,并且所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含SEQ ID NO:62-64的氨基酸序列。

[0102] 在其他实施方案中,所述组合物包含抗5T4抗体,所述抗体具有与上面阐述的氨基酸序列具有至少80%(例如至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性的重链和轻链CDR序列。

[0103] 在另一个实施方案中,所述组合物包含抗5T4抗体,所述抗体具有下述成对的重链可变区和轻链可变区之一:SEQ ID NO:1和5;SEQ ID NO:9和13;SEQ ID NO:17和21;SEQ ID NO:25和29;SEQ ID NO:33和37;SEQ ID NO:41和45;SEQ ID NO:49和53;或SEQ ID NO:57和61;SEQ ID NO:65-66;SEQ ID NO:67-68;SEQ ID NO:69-70;SEQ ID NO:71-72;SEQ ID NO:73-74;SEQ ID NO:75-76;SEQ ID NO:77-78;SEQ ID NO:79-80;SEQ ID NO:81-82;SEQ ID NO:83-84;SEQ ID NO:85-86;SEQ ID NO:87-88;SEQ ID NO:89-90;SEQ ID NO:91-92;SEQ ID NO:93-94;SEQ ID NO:95-96;SEQ ID NO:97-98;SEQ ID NO:99-100;SEQ ID NO:101-102;SEQ ID NO:103-104;SEQ ID NO:105-106;SEQ ID NO:107-108;SEQ ID NO:109-110;SEQ ID NO:111-112;SEQ ID NO:113-114;SEQ ID NO:115-116;SEQ ID NO:117-118;SEQ ID NO:119-120;SEQ ID NO:121-122;SEQ ID NO:123-124;SEQ ID NO:125-126;SEQ ID NO:127-128;SEQ ID NO:129-130;SEQ ID NO:131-132;SEQ ID NO:133-134;SEQ ID NO:135-136;SEQ ID NO:137-138;SEQ ID NO:139-140;SEQ ID NO:141-142;SEQ ID NO:143-144;SEQ ID NO:145-146;SEQ ID NO:147-148;SEQ ID NO:149-150;或SEQ ID NO:151-152。在另一个实施方案中,所述组合物包含抗5T4抗体,所述抗体具有与上面阐述的氨基酸序列具有至少80%(例如至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性的VH和VL序列。

[0104] 在组合物的某些实施方案中,本文公开的抗体可以采取偶联物的形式。本文所使用的“偶联物”是与效应分子或第二蛋白(例如第二抗体)共价连接的抗体或抗体片段(例如抗原结合片段)。所述效应分子可以是例如药物、毒素、治疗剂、可检测标记物、蛋白质、核酸、脂质、纳米粒子、糖类或重组病毒。抗体偶联物也可被称为“免疫偶联物”。当偶联物包含与药物(例如细胞毒性药剂)连接的抗体时,所述偶联物可以被称为“抗体-药物偶联物”。其他抗体偶联物包括例如多特异性(例如双特异性或三特异性)抗体和嵌合抗原受体(CAR)。

[0105] 包含抗5T4抗体或其抗原结合片段的组合物可以被单独地或与载体即药学上可接受的载体组合给药到受试者(例如人或动物)。药学上可接受意指材料在生物学上或其他方面不是不合乎需要的,即所述材料可以给药到受试者,而不引起任何不想要的生物效应或以有害方式与它所包含的药物组合物的任何其他组分相互作用。正如本领域普通技术人员公知的,载体被选择成使本文公开的多肽的任何降解降至最低并使受试者中的任何不良副作用降至最低。药物组合物可以通过制药领域中公知的方法来制备。

[0106] 包含本文公开的抗体或其抗原结合片段的药物组合物可以根据需要的是局部还是全身治疗,以任何适合的方式给药(例如给药到哺乳动物、细胞或组织)。例如,所述组合物可以局部(例如眼、阴道、直肠、鼻内、经皮等)、口服、吸入或肠胃外给药(包括静脉内滴注或皮下、腔内、腹膜内、真皮内或肌肉内注射)。局部鼻内给药是指通过一个或两个鼻孔将组

合物递送到鼻和鼻腔中。所述组合物可以通过喷雾机制或液滴机制或通过雾化来递送。或者,给药可以是肿瘤内给药,例如局部或静脉内注射。

[0107] 如果所述组合物将要肠胃外给药,则给药通常通过注射来进行。注射剂可以以常规形式制备成液体溶液或悬液、适合在注射前悬浮在液体中的固体形式或乳液。此外,肠胃外给药可以包括制备缓慢释放或持续释放系统,以便维持恒定的剂量。

[0108] 使用方法

[0109] 在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体可用于治疗疾病或病症。在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体可用于治疗疾病例如癌症。在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体可用作疫苗的组分。在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体可用作抗体-药物偶联物(ADC)的一部分。在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体可用于治疗癌症的方法,例如但不限于治疗非小细胞肺癌(NSCLC)、乳腺癌、间皮瘤、胰腺癌、肾癌、前列腺癌、卵巢癌或结肠癌。

[0110] 在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体可用于治疗与5T4相关的疾病。在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体可用于治疗与5T4的过表达相关的疾病。

[0111] 在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体包含细胞毒性活性。在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体对癌或肿瘤细胞具有细胞毒性。

[0112] 在某些实施方案中,本文公开的抗5T4抗体可用于针对癌症或肿瘤的方法中。在某些实施方案中,所述癌症或肿瘤包括实体癌症或肿瘤。在某些实施方案中,所述癌症或肿瘤包括非实体(弥漫性)癌症或肿瘤。在某些实施方案中,所述癌症或肿瘤包括癌症或肿瘤的转移。

[0113] 本文所使用的术语“方法”是指用于完成给定任务的方式、手段、技术和程序,包括但不限于化学、药理学、生物学、生物化学和医学领域的从业者已知的或容易从已知的方式、手段、技术和程序开发而来的那些方式、手段、技术和程序。

[0114] 本文所使用的术语“治疗”(及其不同形式)是指治疗性治疗,包括预防性措施,其中目的是预防或减缓(减轻)与疾病或病症相关的不想要的生理变化。有益或所需临床结果包括但不限于症状的缓解、疾病或病症的程度的减轻、疾病或病症的稳定(即在疾病或病症没有恶化的情况下)、疾病或病症的进展的延迟或减缓、疾病或病症的改善或减轻,以及疾病或病症的缓解(无论是部分还是全部),无论是可检测还是不可检测的。需要治疗的人包括那些已经患有所述疾病或病症的人,以及那些容易患有所述疾病和病症的人或那些需要预防所述疾病或病症的人。

[0115] 术语“受试者”、“个体”和“患者”在本文中可互换使用,并且是指使用根据本发明的抗5T4抗体的组合物或制剂的治疗所提供到的人或非人动物。术语“非人动物”和“非人哺乳动物”在本文中可互换使用,并包括所有脊椎动物,例如哺乳动物如非人灵长类动物(例如高等灵长类动物)、绵羊、狗、啮齿动物(例如小鼠或大鼠)、豚鼠、山羊、猪、猫、兔、奶牛、马,或非哺乳动物例如爬行动物、两栖动物、鸡和火鸡。本文描述的组合物可用于治疗任何合适的哺乳动物,包括灵长类动物如猴和人、马、奶牛、猫、狗、兔和啮齿类动物例如大鼠和小鼠。在一个实施方案中,所述待治疗的哺乳动物是人。所述人可以是任何年龄的人。在一个实施例中,所述人是成年人。在另一个实施方案中,所述人是儿童。所述人可以是男性、女性、孕妇、中年人、青少年或老年人。

[0116] 适合用于本文公开的方法的药物组合物包括其中以有效实现预期目的量包含活性成分的组合物。在一个实施方案中,治疗有效量意味着活性成分的有效预防、减轻或改善疾病症状或延长所治疗的受试者的生存期的量。治疗有效量的确定完全在本领域技术人员的能力范围内。

[0117] 本文所使用的“调节”是指“刺激”或“抑制”分子靶或途径的活性。例如,如果组合物将分子靶或途径的活性相对于在相同条件但仅缺乏所述组合物的存在下所述分子靶或途径的活性刺激或抑制至少10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、或约99%或更多,则所述组合物调节所述分子靶或途径的活性。在另一个实例中,如果组合物将分子靶或途径的活性相对于在相同条件但仅缺乏所述组合物的存在下所述分子靶或途径的活性刺激或抑制至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少20倍、至少50倍、至少100倍,则所述组合物调节所述分子靶或途径的活性。分子靶或途径的活性可以通过任何可重复的手段来测量。分子靶或途径的活性可以在体外或体内测量。例如,分子靶或途径的活性可以通过本领域已知的测量活性的适合测定法在体外或体内测量。对照样品(未用所述组合物处理)可以被赋予100%的相对活性值。

[0118] 在一个实施方案中,所述方法包括向所述受试者给药包含有效量的本文公开的抗5T4抗体的组合物的步骤。在一个实施方案中,所述组合物包含具有本文所描述的重链和轻链CDR序列的抗5T4抗体。在另一个实施方案中,所述组合物包含具有本文所描述的VH和VL序列的抗5T4抗体。

[0119] 本领域技术人员将会认识到,在某些实施方案中,免疫应答的调节包括在不使用本文描述的抗5T4抗体时的预期结果将是炎症的情况下减轻炎症或消除炎症。本领域技术人员还将认识到,在某些实施方案中,治疗肿瘤或癌症包括与不使用本文描述的抗5T4抗体时的结果相比,肿瘤尺寸、生长和/或肿瘤或癌症扩散的减小。

[0120] 在一个实施方案中,本公开提供了一种在受试者中治疗疾病的方法,所述方法包括向所述受试者给药包含有效量的本文公开的抗5T4抗体的组合物的步骤。在一个实施方案中,所述组合物包含本文描述的具有重链和轻链CDR序列的抗5T4抗体。在另一个实施方案中,所述组合物包含本文描述的具有VH和VL序列的抗5T4抗体。

[0121] 在一个实施方案中,本公开还提供了包含抗5T4抗体的组合物用于在受试者中治疗疾病的用途。在一个实施方案中,所述组合物包含本文描述的具有重链和轻链CDR序列的抗5T4抗体。在另一个实施方案中,所述组合物包含本文描述的具有VH和VL序列的抗5T4抗体。

[0122] 在一个实施方案中,引发所需效果所需的本发明多肽或其组合物的确切量将因受试者而异,取决于受试者的物种、年龄、性别、体重和总体状况、特定多肽、给药途径以及方案中是否包括其他药物。因此,不可能为每种组合物指定确切的量。然而,适合的量可以由本领域普通技术人员使用常规实验来确定。剂量可以变化,并且多肽可以每天一剂或多剂(例如两剂或更多剂、三剂或更多剂、四剂或更多剂或五剂或更多剂)给药,持续一天或多天。在文献中可以容易地发现选择抗体的适合剂量的指导。

[0123] 在另一个实施方案中,所述疾病是癌症,其可以是但不限于癌、肉瘤、淋巴瘤、白血病、生殖细胞瘤、母细胞瘤、软骨肉瘤、尤因肉瘤、骨恶性纤维组织细胞瘤、骨肉瘤、横纹肌肉

瘤、心脏癌症、脑癌、星形细胞瘤、神经胶质瘤、髓母细胞瘤、神经母细胞瘤、乳腺癌、髓样癌、肾上腺皮质癌、甲状腺癌、默克尔细胞癌、眼癌、胃肠癌、结肠癌、胆囊癌、胃癌、胃肠类癌瘤、肝细胞癌、胰腺癌、直肠癌、膀胱癌、宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌、肾细胞癌、前列腺癌、睾丸癌、尿道癌,子宫肉瘤、阴道癌、头部癌症、颈部癌症、鼻咽癌、造血性癌症、非霍奇金淋巴瘤、皮肤癌、基底细胞癌、黑素瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌或其任何组合。

[0124] 在另一个实施方案中,所述疾病是自身免疫疾病,其可以是但不限于失弛缓症、淀粉样变性、强直性脊柱炎、抗gbm/抗tbm肾炎、抗磷脂综合征、关节炎、自身免疫性血管性水肿、自身免疫性脑脊髓炎、自身免疫性肝炎、自身免疫性心肌炎、自身免疫性卵巢炎、自身免疫性睾丸炎、自身免疫性胰腺炎、自身免疫性视网膜病变、自身免疫性荨麻疹、白塞氏病(Behcet's disease)、乳糜泻(celiac disease)、恰加斯病(chagas disease)、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病、Cogan's综合征、先天性心脏传导阻滞、克罗恩病(Crohn's disease)、皮炎、皮肌炎、盘状狼疮、Dressler's综合征、子宫内膜异位症、纤维肌痛、纤维性肺泡炎、肉芽肿伴多血管炎、Graves'病、Guillain-Barre综合征、妊娠疱疹、免疫性血小板减少性紫癜、间质性膀胱炎、青少年关节炎、青少年糖尿病(1型糖尿病)、青少年肌炎、川崎病、Lambert-Eaton综合征、扁平苔藓、狼疮、莱姆病、多发性硬化症、重症肌无力、肌炎、新生儿狼疮、中性粒细胞减少症、复发性风湿病、周围神经病变、结节性多动脉炎、风湿性多肌痛、多发性肌炎、心肌梗死后综合征、心包切开术后综合征、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎、黄体酮皮炎、银屑病、银屑病关节炎、反应性关节炎、腹膜后纤维化、风湿热、类风湿性关节炎、结节病、施密特综合征、巩膜炎、硬皮病、干燥综合征(Sjögren's syndrome)、血小板减少性紫癜、1型糖尿病、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎和白癜风。

[0125] 在某些实施方案中,所述疾病是移植相关疾病如移植物抗宿主疾病(GvHD)。根据一个实施方案,所述GVHD是急性GVHD。根据另一个实施方案,所述GVHD是慢性GVHD。

[0126] 在另一个实施方案中,本公开提供了一种使用多核苷酸治疗如上所述的疾病或病症的方法,其中所述多核苷酸编码本文描述的抗5T4抗体。

[0127] 本文所使用的术语"包含"("comprise","comprises","comprising")、"包括"("includes","including")、"具有"("having")及其词形变化形式意味着"包括但不限于"。

[0128] 本文所用的单数形式"一种/一个"("a"、"an"和"the")包括复数,除非上下文另有明确规定。例如,术语"一种抗体"或"至少一中抗体"可以包括多个抗体。

[0129] 在整个本申请中,本公开的各种实施方案可以以范围形式呈现。应当理解,范围形式的描述仅仅是为了方便和简洁,并且不应被解释为对抗5T4抗体及其用途的范围的硬性限制。因此,对范围的描述应该被认为已经具体公开了该范围内所有可能的子范围以及各个数值。例如,对诸如1至6的范围的描述应当被认为已经具体公开了诸如1至3、1至4、1至5、2至4、2至6、3至6等的子范围,以及该范围内的各个数字例如1、2、3、4、5和6。无论范围的宽度如何,这均适用。

[0130] 无论何时在本文中指示数值范围时,都意味着包括所指示范围内的任何引用数字(分数或整数)。短语"在第一指示数字与第二指示数字之间的范围/范围"和"从第一指示数字至第二指示数字的范围/范围"在本文中可互换使用,并且意味着包括所述第一指示数字和第二指示数字以及它们之间的所有分数和整数。

[0131] 当使用先行词"约"将值表示为近似值时,可以理解所述特定值形成了另一个实施

方案。所有范围都是包容性和可组合的。在一个实施方案中,术语“约”是指与所指示的数字或数字范围0.1-5%之间的偏差。在另一个实施方案中,术语“约”是指与所指示的数字或数字范围1-10%之间的偏差。在另一个实施方案中,术语“约”是指与所指示的数字或数字范围高达20%的偏差。在一个实施方案中,术语“约”是指与所指示的数字或数字范围±10%的偏差。在另一个实施方案中,术语“约”是指与所指示的数字或数字范围±5%的偏差。

[0132] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和/或科学术语均具有与抗5T4抗体及其用途所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。尽管同样本文描述的方法和材料类似或等效的方法和材料可用于抗5T4抗体及其用途的实施方案的实践或测试,但下文描述了方法和/或材料。在有冲突的情况下,以包括定义在内的本专利说明书为准。此外,所述材料、方法和实施例仅为说明性的,并非旨在是必然限制性的。本文中提到的每个文献参考或其他引文整体通过引用并入本文。

[0133] 在本文呈现的描述中,描述了制备和使用抗5T4抗体及其变化形式的每个步骤。本说明书并非旨在限制,并且应该理解组分、步骤顺序和其他变化形式的变化将在本发明的抗5T4抗体及其用途的范围之内。

[0134] 应当理解,为清楚起见在分开的实施方案中描述的抗5T4抗体及其用途的某些特点也可以组合提供在单个实施方案中。相反,为简洁起见在单个实施方案的上下文中描述的抗5T4抗体及其用途的各种特点也可以分开地或以任何适合的子组合提供,或者在适合时提供在抗5T4抗体及其用途的任何其他描述的实施方案中。在各种实施方案的上下文中描述的某些特点不被认为是那些实施方案的基本特点,除非所述实施方案在没有这些要素的情况下不起作用。

[0135] 如上文所述和下文权利要求部分中所要求的本发明的抗5T4抗体的各种实施方案和方面,在下述实施例中找到了实验支持。

[0136] 实施例

[0137] 实施例1

[0138] 用于5T4的小鼠杂交瘤单克隆抗体产生

[0139] 目的:使用小鼠杂交瘤技术产生抗5T4的单克隆抗体。

[0140] 方法:小鼠杂交瘤抗5T4抗体的产生。通过用5T4-ECD-hFc i.p/s.c免疫SJL小鼠,开发了抗5T4抗体。从动物取血并使用ELISA测试抗体滴度(测试采血1和测试采血-2)。从具有高滴度的免疫小鼠分离脾细胞并通过标准融合程序融合,产生生产特异性抗体的杂交瘤。将含有由这些细胞的结合物产生的抗体的上清液通过ELISA初筛与融合到人Fc的5T4-ECD蛋白(5T4-ECD-hFc)的反应性,并通过FACS二次筛选与过表达5T4蛋白的细胞的反应性。为了筛选,通过FACS测试了大量杂交瘤上清液的靶抗体活性。

[0141] 将过表达靶的细胞置于96孔圆底聚苯乙烯板中,并与来自杂交瘤培养物的纯上清液温育。然后将细胞清洗,用荧光标记的次级抗体温育。作为阴性参比,使用非靶蛋白基因转染的亲代细胞来测试上清液(并发现是阴性的),以确认反应性抗体特异性识别靶蛋白。鉴定阳性结合物并通过有限稀释法进行克隆。在1-2次融合后,通过ELISA和FACS鉴定并选择产生特异性抗体的阳性克隆体。

[0142] 结果:在动物免疫后,通过ELISA和FACS测试血清与融合到人Fc的重组人5T4 ECD蛋白的结合。如图1A-1B中所示,与采血前样品相比,s.c.(图1A)或i.p(图1B)免疫的动物的

测试采血2在各种稀释度下通过ELISA显示出针对人5T4的阳性滴度。图1C-1D证实了测试采血2的连续稀释液针对在CHO细胞中过表达的人5T4的阳性滴度(图1C),而对CHO亲代细胞没有观察到结合(图1D),这表明了5T4特异性。在测试采血分析后,选择动物SJL#7211和#7215用于融合。在电融合后获得用于初筛的96孔板和用于二次筛选的24孔板,以通过ELISA并使用人Fc作为阴性对照鉴定针对重组人5T4-ECD-Fc的阳性克隆,并使用CHO亲代细胞作为阴性对照鉴定针对过表达人5T4或犬类5T4的CHO细胞的阳性克隆,以鉴定交叉反应性克隆。在初筛中选择了200个克隆体用于二次筛选。二次筛选示出30个克隆体,其被进一步亚克隆,并对19个克隆体进行200ml表达和蛋白A纯化。图2呈现了所选克隆体的身份。5T4抗体的完整列表和图2呈现了所选克隆体的身份。本文公开的5T4抗体及其组分的列表以及相应的SEQ ID NO提供在下面的表1中。

[0143] 总结:针对人5T4蛋白的小鼠单克隆杂交瘤的生成产生了19个克隆体,所述克隆体在通过ELISA和FACS进行的初筛和二次筛选后被鉴定为是人和犬类5T4的特异性结合物。这些克隆体被进一步表达、纯化,通过SDS-PAGE和SEC-HPLC进行分析,并表征结合效力。

[0144] 实施例2

[0145] 针对人5T4的小鼠杂交瘤单克隆抗体的结合特征

[0146] 目的:通过结合,表达、纯化并表征针对5T4的小鼠单克隆Ab。

[0147] 方法:杂交瘤克隆的表达和纯化。简言之,将约(0.25-0.5)×10^7个细胞接种到预先装有100mL抗体生产培养基(杂交瘤-SFM+2.5% FBS(低IgG))的滚瓶中,并在37℃、无CO_2条件下,在滚瓶培养装置中以300r/h的速度温育14-16天。然后,将细胞悬液转移到350mL离心瓶中,并在3,220g、4℃下离心15min,然后用0.45μm过滤盒过滤以除去细胞和细胞碎片。然后将培养上清液装载在预先平衡的蛋白A亲和柱上进行亲和纯化。用5CV的洗脱缓冲液(0.1M柠檬酸钠缓冲液,pH 3.0)从柱上洗脱抗体,并用Trizma碱中和至最终pH 7.0,然后用100倍洗脱体积的pH 7.4的PBS,在2-8℃下透析过夜,并在生物安全柜中使用0.22μm注射式滤器除菌过滤。然后将纯化的抗体分成等分试样,并在-20℃或-80℃下储存直至使用。

[0148] 与靶蛋白的结合的ELISA。简言之,将靶蛋白h5T4-His(目录号19845-H08H,供应商Sino Biological)稀释在PBS中,直至终浓度为0.3μg/mL h5T4-His,并以100μL/孔分别包被在ELISA板(目录号:9018,供应商Corning)上。在4℃下温育过夜。将板用250μL PBST中的1% BSA在37℃下阻断1hr。用PBST清洗四次。所有清洗均使用Biotek(Elx 405)进行。将所有Ab连续稀释,并向板添加100μL/孔的稀释抗体,在37℃下温育1hr。用PBST清洗4次。添加100μL/孔的1:10000稀释的山羊抗小鼠IgG抗体(Fab特异性)-HRP(SIGMA A3682),在37℃下温育0.5hr。用PBST清洗4次。添加100μL/孔的TMB底物并在室温下温育5min。添加100μL/孔的1N HCl以终止反应。使用ELISA读板器在450nm波长处读板(仪器SpectraMax M5e)。使用Graphpad prism 5软件,使用非线性回归(曲线拟合):log(激动剂)相对于响应进行数据分析,激动剂是抗体浓度(nM),响应是OD值。

[0149] 与细胞的结合的FACS。简而言之,直接收获悬浮培养的细胞或在收获前用TrypLE Express酶(目录号12604-013,供应商Life technologies)消化黏附细胞。以1000rpm离心5min并舍弃上清液。将细胞以2×10^6/mL的浓度悬浮在FACS缓冲液(PBS中的2% FBS)中,并向板(目录号3799,供应商Corning)添加100μL/孔的细胞悬液。将板以2000rpm离心5min,并舍弃上清液。将细胞重悬浮在100μL/孔的三体抗体组抗体中(400nM起始,4倍稀释,包括0点

在内8个点),并将板在4℃下温育60min。将板在2000rpm、4℃下离心5min并舍弃上清液。然后将细胞用170μL FACS缓冲液清洗3次。用次级抗体以100μL/孔重悬浮细胞,并将板在4℃下在黑暗处温育30min。将板在2000rpm、4℃下离心5min并舍弃上清液。然后将细胞用FACS缓冲液清洗3次,并使用FACS verse分析样品。

[0150] 通过Octet测试检测结合亲和性。简言之,通过Octet RED 384仪器分析mAb,其中将200nM和100nM的人5T4-ECD Fc用作分析物,并将5ug/ml的纯化mAb用作配体,结合到AMC传感器(抗小鼠Fc抗体),固定期为180s,缔合期为300s,解离期为180s。

[0151] 通过ELISA进行表位分箱。简言之,将靶抗体人5T4在PBS中稀释至终浓度为1μg/ml,并以100μL/孔包被在ELISA板(目录号:9018,供应商Corning)上。在4℃下温育过夜。在用250μL于PBST中的1% BSA在37℃下阻断1hr后,添加一系列浓度的生物素化的抗原h5T4-His(批号1906191701,CP)。在37℃下温育1.5小时后用PBST将板清洗3次,然后向每个孔添加100μL链霉亲和素-HRP(目录号S5512,供应商Sigma,1:10000)。在37℃下温育1hr后,用PBST将板清洗4次。添加100μL/孔的TMB底物,并在室温下温育5min。添加100μL/孔的1N HCL以终止反应。使用ELISA读板器在450nm波长处读板。使用Graphpad prism5软件发现抗原的EC80。

[0152] 结果:图3A-3B显示了19种所选的纯化抗体在还原条件下的SDS-PAGE分析,表明16个孔产生的克隆体各自在HC和LC的预期谱带尺寸(分别为50kDa和25kDa)处具有两个谱带。图4A-4P呈现了所选纯化克隆体的SEC-HPLC分析,表明在SEC-HPLC中在～8至～13min的保留时间范围内具有单个尖锐且均匀的峰。这些结果与基于质量校准曲线的预测Mw的预测保留时间相符。

[0153] 图5A-D呈现了通过ELISA检测的纯化的mAb与5T4-ECD-Fc抗原的结合。排除mAb 2、4、6、7、11和12之外,这些抗体的EC50值在0.13nM至0.42nM的范围内。

[0154] 图6A-6H呈现了所选纯化mAb与过表达人5T4(图6A-6C)和犬类5T4(图6D-F)的CHO以及内源表达人5T4抗原的乳腺癌细胞系MCF-7(图6G-6H)的结合的FACS。如图6A-6H中所示,除了mAb 001和017之外,所有测试的mAb对过表达人或犬类5T4的CHO细胞均具有～1-4.9nM的EC50值范围,而当使用内源表达人5T4蛋白的MCF-7细胞时观察到更宽的EC50值范围。对CHO亲代细胞未观察到结合(数据未示出)。

[0155] 图7A-7G呈现了确定所选mAb的KD亲和性的Octet数据。图7A-7F示出了Octet测试分析,图7G总结了下述mAb的排序的KD值:mAb008>mAb016/mAb018>mAb010>mAb005/mAb006,分别为2.088E-10M、2.321E-10M、2.688E-10M、4.634E-10M、2.691E-09M和5.674E-09M。

[0156] 图8总结了通过ELISA进行的表位分箱分析。ELISA分析表明了如下所述在其表位箱中分化的3个主要组:第1组(圆形实线)包括mAb001、mAb003、mAb008、mAb009、mAb010、mAb014、mAb015和mAb017。第2组(正方形虚线)包括mAb004、mAb005和mAb006,并且第3组(圆形虚线)包括mAb013、mAb016、mAb018和mAb019。

[0157] 总结:使用杂交瘤技术成功地产生了针对人5T4的单克隆抗体(mAb)。鉴定并表征了19个克隆体。将mAb通过杂交瘤克隆进一步表达和生产,并进一步纯化,通过ELISA表征与5T4抗原的结合,通过FACS表征与表达人和犬类5T4的细胞的结合,通过Octet测试表征亲和性,并最后通过ELISA进行表位分箱。进一步选择了两种mAb用于进一步处理。

[0158] 实施例3

[0159] 源自针对人5T4的小鼠杂交瘤克隆体的抗人5T4嵌合Mab的重组生产

[0160] 目的:将小鼠抗人5T4 mAb的CDR序列引入到人IgG1构建体形式或三体抗体构建体形式中,以产生嵌合Ab。

[0161] 方法:简言之,收集所选的阳性单克隆杂交瘤细胞(~1×10^7个),按照NucleoZOL试剂(MACHEREY-NAGEL,740404.200)的方案进行总RNA分离。将总RNA用于按照SMARTer®RACE 5'/3'的试剂盒手册进行cDNA合成,并将随机引物用于第一链cDNA的合成。为了使用PCR扩增重链和轻链可变区,使用合成的cDNA作为模板,并使用来自小鼠Ig引物集(Novagen,69831-3)的引物作为基因特异性引物(GSP)。收集具有正确尺寸的PCR产物,使用NucleoSpin®凝胶和PCR净化试剂盒(Macherey-Nagel,740609.250)按照试剂盒的手册进行纯化,并进行TA克隆和测序。

[0162] 将5T4-mAb的重链和轻链可变区(VH和VL)克隆到人IgG1中以制造嵌合IgG1,通过ELISA和FACS重新筛选其结合。类似地,将5T4-mAb的VH和VL克隆到三体抗体中,并通过ELISA和FACS表征与5T4的结合。

[0163] 结果:如上面的方法中所述对所选的杂交瘤克隆(mAb003、mAb006、mAb008、mAb10、mAb014、mAb016和mAb018)进行测序,并得到每个克隆的可变重链(HC)和可变轻链(LC)序列。将mAb008和mAb0016的可变重链(HC)和轻链(LC)序列引入到hIgG1表达载体或三体抗体表达载体中,共转染,并对于hIgG1形式来说通过蛋白A柱或对于三体抗体形式来说通过亲和层析进行纯化。Octet分析证实了mAb0016-IgG1的亲和性为1.47E-08M和4.52E-10M(数据未示出)。

[0164] 表1提供了在整个所分析的5T4抗体的不同实施方案的实施例中提供的数据的参考。

[0165] 表1:SEQ ID NO、克隆名称及其Ab组分。

[0166]

SEQ ID NO:	名称	Ab 组分
1	IM，5T4 小鼠杂交瘤 cl-16	VH
2		CDR1
3		CDR2
4		CDR3
5		VL
6		CDR1
7		CDR2
8		CDR3
9	IM，5T4 小鼠杂交瘤 cl-8	VH
10		CDR1
11		CDR2
12		CDR3
13		VL
14		CDR1
15		CDR2
16		CDR3
17	IM，5T4 小鼠杂交瘤 cl-3	VH
18		CDR1
19		CDR2
20		CDR3
21		VL
22		CDR1
23		CDR2
24		CDR3
25	IM，5T4 小鼠杂交瘤 cl-5	VH
26		CDR1

[0167]

27		CDR2
28		CDR3
29		VL
30		CDR1
31		CDR2
32		CDR3
33	IM，5T4 小鼠杂交瘤 cl-6	VH
34		CDR1
35		CDR2
36		CDR3
37		VL
38		CDR1
39		CDR2
40		CDR3
41	IM，5T4 小鼠杂交瘤 cl-10	VH
42		CDR1
43		CDR2
44		CDR3
45		VL
46		CDR1
47		CDR2
48		CDR3
49	IM，5T4 小鼠杂交瘤 cl-14	VH
50		CDR1
51		CDR2
52		CDR3
53		VL
54		CDR1
55		CDR2
56		CDR3
57	IM，5T4 小鼠杂交瘤 cl-18	VH

[0168]

58		CDR1
59		CDR2
60		CDR3
61		VL
62		CDR1
63		CDR2
64		CDR3
IM，5T4 人源化序列（基于 cl-8 和 cl-16 CDR）		
65	5T4_IM_11	VH
66		VL
67	5T4_IM_12	VH
68		VL
69	5T4_IM_13	VH
70		VL
71	5T4_IM_14	VH
72		VL
73	5T4_IM_15	VH
74		VL
75	5T4_IM_16	VH
76		VL
77	5T4_IM_17	VH
78		VL
79	5T4_IM_18	VH
80		VL
81	5T4_IM_19	VH
82		VL
83	5T4_IM_20	VH
84		VL
85	5T4_IM_21；5T4_IM_22	VH
86		VL
87	5T4_IM_23；5T4_IM_24	VH

[0169]

88		VL
89	5T4_IM_25；5T4_IM_26	VH
90		VL
91	5T4_IM_27；5T4_IM_28	VH
92		VL
93	5T4_IM_29	VH
94		VL
95	5T4_IM_30	VH
96		VL
97	5T4_IM_31	VH
98		VL
99	5T4_IM_32	VH
100		VL
101	5T4_IM_33	VH
102		VL
103	5T4_IM_34	VH
104		VL
105	5T4_IM_35	VH
106		VL
107	5T4_IM_36	VH
108		VL
109	5T4_IM_37	VH
110		VL
111	5T4_IM_38	VH
112		VL
113	5T4_IM_39	VH
114		VL
115	5T4_IM_40	VH
116		VL
117	5T4_IM_41	VH
118		VL

[0170]

119	5T4_IM_42	VH
120		VL
121	5T4_IM_43	VH
122		VL
123	5T4_IM_44	VH
124		VL
125	5T4_IM_45	VH
126		VL
127	5T4_IM_46	VH
128		VL
129	5T4_IM_47	VH
130		VL
131	5T4_IM_48	VH
132		VL
133	5T4_IM_49	VH
134		VL
135	5T4_IM_50	VH
136		VL
137	5T4_IM_51	VH
138		VL
139	5T4_IM_52	VH
140		VL
141	5T4_IM_53	VH
142		VL
143	5T4_IM_54	VH
144		VL
145	5T4_IM_55	VH
146		VL
147	5T4_IM_56	VH
148		VL
149	5T4_IM_57	VH

[0171]

150		VL
151	5T4_IM_58	VH
152		VL
153	5T4 ScFv	VH
154		CDR1
155		CDR2
156		CDR3
157		VL
158		CDR1
159		CDR2
160		CDR3

[0172] 测试了嵌合hIgG1Ab的ELISA和FACS结合。当通过ELISA进行与重组5T4蛋白的结合时,观察到mAb008-hIgG1和mAb016-hIgG1嵌合Ab的EC50分别为0.4nM和0.3nM(图9A)。当通过FACS进行与过表达人5T4蛋白的CHO的结合时,mAb008-hIgG1和mAb016-hIgG1嵌合Ab的EC50分别为5nM和1.1nM(图9B)。当在内源表达5T4蛋白的MCF-7细胞系上进行FACS结合时,观察到类似的结合数据,mAb008-hIgG1和mAb016-hIgG1嵌合Ab的EC50分别为4.4nM和0.9nM(图9C)。当在过表达犬类5T4蛋白的CHO上进行结合时观察到类似的FACS结合数据,mAb008-hIgG1和mAb016-hIgG1嵌合Ab的EC50分别为5.7nM和2.2nM(数据未示出)。

[0173] 类似地,对于嵌合三体抗体形式,也验证了ELISA和FACS结合(数据未示出)。

[0174] 总结:对来自所选杂交瘤克隆体的小鼠轻链可变结构域(VL)和重链可变结构域(VH)进行了测序,将其转变成scFv,并合成其作为hIgG或三体抗体构建体的组分,以形成嵌合分子。将这些分子表达、纯化并通过结合测定法进一步表征,示出与人5T4的结合特征得以保持。

[0175] 实施例4

[0176] 全人源化三体抗体构建体的人源化、表达、纯化和表征

[0177] 目的:在将小鼠抗人5T4抗体序列人源化之后,表达、纯化和选择全人源化三体抗体三特异性抗体构建体。

[0178] 方法:人源化:简言之,通过Kabat编号系统确定并注释mAb016的重链和轻链可变区内的CDR残基(VH/VL CDR)。在分析后,在CDR H2区中鉴定到脱酰胺基序的危险热点(NG),对NG进行设计以突变成QG、SG、NA。

[0179] 对mAb016的VH和VL进行两个独立的Ig BLAST搜索。选择与mAb016具有构架序列高度同一性的人种系IGHV-2*02和IGKV3-11*01作为受体人种系构架,分别用于嫁接VH和VL CDR。同时,基于最佳序列同源性,选择JH6和JK4作为VH和VL的J-区。

[0180] 使用Schrodinger软件套装的BioLuminate建模软件包用于建立同源性模型。选择抗体结构2W9D(PDB代码)作为重链和轻链建模的模板。对由BioLuminate产生的模型进行进一步分析,以便鉴定构架区中潜在支持CDR环结构和VH/VL界面的残基。将那些可能对CDR环

构象和VH/VL界面有影响的残基回复突变。最后,设计了mAb016的一组人源化变体,并将其构建到三体抗体形式中。

[0181] 还进行了另一种人源化策略。简言之,使用mabHuman技术将mAb008和mAb016的CDR嫁接到新抗体的构架中。基于序列比对后的NGS实验,在人类抗体构架序列数据库中已发现了各种VH和VL序列。

[0182] 基因合成和质粒构建。通过DNA合成和PCR产生三特异性抗体的重链(HC)和轻链(LC)的编码序列,然后亚克隆到基于pCDNA3.4的质粒(Invitrogen)中,用于在哺乳动物细胞系统中进行蛋白质表达。最后,通过DNA测序确认表达载体中的基因序列。

[0183] 三特异性抗体构建体的表达。通过使用PEI方法将成对的HC和LC构建体(对于三体抗体形式来说以1:1的HC/LC比例或对于前三体抗体形式来说以2.5:1的HC/LC比例)共转染到CHO细胞中,进行三体抗体/前三体抗体的瞬时表达。简言之,使用3L摇瓶中的1L CHO细胞(约5.5×10^6/ml)作为宿主,通过向细胞添加1mg总DNA和4mg PEI在100ml OptiMEM培养基(Invitrogen)中的混合物并轻柔混合,开始转染。然后将细胞在振荡培养箱中,在120rpm、37℃和8% CO_2下培养8-10天。在24小时后以及随后每2-3天,根据细胞密度和存活率进行蛋白胨和葡萄糖的进料。在第8-10天,当细胞存活率降低到<80%时,终止细胞培养。收获调制的培养基用于蛋白质纯化。

[0184] 三特异性抗体构建体的纯化。使用AKTA纯化仪器(GE Lifesciences)通过亲和层析和SEC进行蛋白质纯化。通过将收获的上清液通过CaptureSelect™ CH1-XL亲和基质(Thermo Scientific)的柱,实现三体抗体的亲和捕获。在用缓冲液A(25mM Tris,150mM NaCl,5mM EDTA,pH 7.5)清洗柱后,用缓冲液B(50mM柠檬酸钠,150mM NaCl,pH 3.0)洗脱蛋白质,并立即用1/6体积的缓冲液D(1M精氨酸,400mM琥珀酸,pH 9.0)中和。然后使用Amicon 30kD浓缩管(Merck Millipore)将亲和纯化的蛋白质浓缩至5-10mg/ml,并在用SEC缓冲液(200mM精氨酸,137mM琥珀酸,0.05%Tween-80,150mM NaCl,pH5.0)平衡的Superdex200柱(GE Lifesciences)上进行SEC纯化。收集靶三体抗体级分,然后添加5%海藻糖(146mM)。使用SDS-PAGE和HPLC-SEC分析三体抗体产物。

[0185] 三特异性抗体构建体的SDS-PAGE分析。在预制聚丙烯酰胺凝胶中,在还原和非还原条件下进行三体抗体的SDS-PAGE分析。简言之,将2ug三体抗体样品与添加或不添加70mM DTT的NuPAGE™ LDS样品缓冲液(thermofisher-NP0008)混合。在25℃或90℃下温育10min后,将样品和未染色的蛋白质标准品(BIO RAD-161-0363)负载到凝胶上。在120V的恒定电压下使用1×Tris-甘氨酸-SDS电泳缓冲液进行电泳。在电泳后,使用考马斯蓝(Coomassie blue)将凝胶染色过夜,并使用脱色液(10%乙酸、40%甲醇和50%水)脱色。用凝胶成像系统(Tanon-2500R)对脱色的凝胶进行扫描。

[0186] 前体三特异性抗体构建体的SEC-HPLC分析。使用Shimadzu LC-10HPLC仪器(Shimadzu Corp.)进行分析SEC-HPLC。将20μl 1mg/ml的样品负载到Superdex 200Increase 5/150GL柱(GE Lifesciences)上。流动相是2*PB,流速为0.3ml/min,15min。

[0187] 三体抗体构建体的LC-MS分析。使用ACQUITY UPLC BEH200 Å SEC柱(Waters 1.7μm,4.6×300mm)在室温下分离三体抗体,并通过ESI-MS(Thermo,MS-B20-03)进行检测。流动相是0.1%甲酸:乙腈(75:25,v/v),流速为0.2mL/min。在阳离子中进行质谱分析。质谱分析的其他参数是:分辨率为17500,扫描范围为1000-5000m/z,源内CID为60eV,鞘气流速

为30L/min,毛细管温度为350℃,喷雾电压为2.5KV。

[0188] 结果:来自两种策略的5T4 mAb的人源化方法产生如下所述的新的三体抗体序列:对应于5T4_IM11-20序列的IM-1100-1109分子,对应于5T4_IM29-58序列的IM-1198-1227分子,和对应于5T4_IM21-28序列的IM-1175-1182分子,其中三体抗体分子的HC由融合到抗NK衔接物抗体(scFv)的抗CD3抗体重链(VH-CH)组成,并且三体抗体分子的LC有融合到抗5T4抗体(VH-VL/VL-VH)的抗CD3抗体轻链(VL-CL)组成,如图10A中示意显示的(5T4克隆体的名称和相关SEQ ID NO参见上面的表1)。在图10B中,示出了具有额外的调控结构域例如CAP掩蔽结构域、HAS部分和蛋白酶切割接头的前三体抗体结构,以产生以前所描述的有条件地激活的分子,例如参见全部纳入本文中的WO 2020/225805。

[0189] 图11显示了各种构建体的各种SDS-PAGE分析,证实了所表达的蛋白质的广泛特性。

[0190] 三体抗体IM-1222构建体的表达的HC和LC缔合以形成单个分子,正如由在SDS-PAGE中(非还原条件下)观察到的单个～100kDA的谱带和在SEC-HPLC中～5.8min的保留时间处的单个主峰所指示的(分别为图12A和12B)。这些结果与基于质量校准曲线的预测MW的预测保留时间相符。

[0191] 三体抗体IM-1222构建体的MS分析确认了在还原条件下LC的50kDa峰和HC的52kD峰(图13A)以及完整蛋白的102kDa(图13B)。

[0192] 三体抗体IM-1178构建体的表达的HC和LC缔合以形成单个分子,正如由在SDS-PAGE中(非还原条件下)观察到的单个～100kDA的谱带和在SEC-HPLC中～5.8min的保留时间处的主峰所指示的(分别为图14A和14B)。这些结果与基于质量校准曲线的预测Mw的预测保留时间相符。

[0193] 三体抗体IM-1178构建体的MS分析确认了在还原条件下LC的49kDa峰和HC的51kD峰(图15A)以及完整蛋白的100kDa(图15B)。

[0194] 总结:三体抗体结构中的5T4人源化序列的多个分子被表达、纯化,并通过SDS-PAGE、SEC-HPLC和Mass-Spec进行分析。各种产物在纯度和产率方面具有各种性质。图13A-13B示出了所选构建体的一个实例IM-1222三体抗体,其对应于源自mAb016的5T4_IM53序列。图14A-14B示出了所选构建体的一个实例IM-1178三体抗体,其对应于源自mAb008的5T4_IM24序列,其包含CD3x5T4_IM24xNKG2D。

[0195] 实施例5

[0196] 通过ELISA检测全人源化三体抗体构建体与重组蛋白的结合

[0197] 目的:通过ELISA研究人源化三体抗体构建体与5T4的结合效力。这些构建体由抗TAA ScFv结构域(人源化抗5T4抗体)、T细胞衔接物结构域(抗CD3ε抗体Fab)和NK衔接物结构域(抗NKG2A抗体/抗NKG2D抗体)组成。其他变体可以由CAP掩蔽序列、可切割接头、不可切割接头以及点突变的衔接物序列组成,所述点突变的衔接物序列缺乏与特定衔接物的结合活性并充当三体抗体/前三体抗体变体的阴性对照。

[0198] 方法:三体抗体构建体与抗原的ELISA结合:将靶蛋白h5T4-His(目录号19845-H08H,供应商Sino Biological)在PBS中稀释至终浓度为0.3μg/mL,并以100μL/孔包被在ELISA板(目录号:9018,供应商Corning)上。在4℃下温育过夜。将板用250μL PBST中的1%BSA在37℃下阻断1hr。用PBST清洗四次。所有清洗均使用Biotek(Elx 405)进行。将所有三

体抗体组抗体稀释至400nM并制备4倍连续稀释液(包括0点在内12个点)。向板添加100μL/孔的稀释抗体构建体,在37℃下温育1hr。用PBST清洗4次。添加100μL/孔的抗人κ轻链抗体-HRP(1:10000),在37℃下温育0.5hr。用PBST清洗4次。添加100μL/孔的TMB底物,并在室温下温育5min。添加100μL/孔的1N HCl以终止反应。使用ELISA读板器在450nm波长处读板(仪器SpectraMax M5e)。使用Graphpad prism5软件,使用非线性回归(曲线拟合):log(激动剂)相对于响应进行数据分析,激动剂是抗体浓度(nM),响应是OD值。

[0199] 结果:分析了包含人源化5T4序列的表达的三特异性构建体与5T4蛋白的结合效力。观察到人源化5T4序列(5T4_IM11-20或5T4_IM29-58)对人5T4蛋白的广范围的EC50值(图16)。与原始的非人源化克隆相比,大多数变体表现出较低的EC50值。

[0200] 结论:如图16A-16H中所示,在某些人源化构建体中确认了带有人源化5T4序列的三体抗体的结合,而其他构建体具有低EC50值,并且某些构建体缺少与5T4重组抗原蛋白的结合。不同构架导致对h5T4的不同结合亲和性这一事实可能是CDR与特定构架的相容性的结果,所述相容性可能导致结构扰乱,阻碍CDR的正确取向。

[0201] 实施例6

[0202] 通过FACS检测全人源化三特异性抗体构建体与细胞的结合

[0203] 目的:通过FACS研究人源化三体抗体构建体与表达膜结合内源5T4的细胞(NCI-H226)或表达异位5T4的细胞(过表达5T4的CHO细胞)的结合效力。这些构建体包含抗TAA ScFv结构域(人源化抗5T4抗体)、T细胞衔接物结构域(抗CD3ε抗体Fab)和NK衔接物结构域(抗NKG2A抗体/抗NKG2D抗体)。其他变体可以包含CAP掩蔽序列、可切割接头、不可切割接头以及点突变的衔接物序列,所述点突变的衔接物序列缺乏与特定衔接物的结合活性并充当三体抗体/前三体抗体变体的阴性对照。

[0204] 方法:三体抗体构建体与细胞的FACS结合。直接收获悬浮培养的细胞,并使用TrypLE Express酶(目录号:12604-013,供应商Life technologies)消化黏附细胞。以1000rpm离心5min并舍弃上清液。将细胞以2×10^6/mL的浓度悬浮在FACS缓冲液(PBS中的2% FBS)中,并向板(目录号3799,供应商Corning)添加100μL/孔的细胞悬液。将板以2000rpm离心5min,并舍弃上清液。将细胞重悬浮在100μL/孔的三体抗体组抗体中(400nM起始,4倍稀释,包括0点在内8个点),并将板在4℃下温育60min。将板在2000rpm、4℃下离心5min并舍弃上清液。然后将细胞用170μL FACS缓冲液清洗3次,将细胞用1:400稀释的第二抗体(山羊抗人Ig Fab-FITC,目录号2085-02,Southern biotech)以100μL/孔重悬浮,并将板在4℃下在黑暗处温育30min。将板在2000rpm、4℃下离心5min并舍弃上清液。然后将细胞用FACS缓冲液清洗3次,并使用FACS verse分析样品。使用流式细胞仪(BD,FACSVerse)测量染色的荧光强度。计算(BD FACSuite软件)组抗体染色的几何平均荧光强度(GMFI;中值荧光强度(MFI))。产生剂量响应曲线,并使用GraphPad Prism软件计算三特异性变体结合的EC50。

[0205] 结果:分析了包含人源化5T4的表达的三特异性构建体,并确认了它们与过表达5T4的CHO细胞的结合效力(图17A-17H),而对CHO亲代细胞没有观察到结合(数据未示出)。在表达内源5T4的NCI-H226细胞上也确认了结合(图17I-17O)。数据表明在各种变体中观察到广范围的EC50值。具体来说,在过表达5T4的CHO细胞上测定IM-1178的EC50是1.4nM,IM-1222三体抗体变体的EC50是2.3nM,并且在NCI-H226细胞上确定了IM-1178的EC50是

1.24nM,IM-1222三体抗体变体的EC50是3.9nM。也评估了所选构建体与过表达NKG2A的细胞的结合,并确认5T4人源化序列不影响与NKG2A的结合(数据未示出)。

[0206] 结论:如图17A-17O中所示,在某些人源化构建体中确认了带有人源化5T4序列的三体抗体变体与表达5T4细胞的结合,而其他构建体具有低EC50值,并且某些构建体缺少结合。将对应于5T4_IM53序列的所选构建体三体抗体IM-1222进一步表征体外和体内效力。

[0207] 实施例7

[0208] 全人源化三体抗体构建体的体外功能评估

[0209] 目的:为了评估三体抗体/前三体抗体变体对乳腺癌和肺癌细胞(分别为MDA-MB-231和NCI-H226)的体外剂量依赖性T细胞介导的细胞毒性。

[0210] 方法:乳酸脱氢酶(LDH)细胞毒性测定。分析了三体抗体和前三体抗体变体在表达5T4的癌细胞中诱导T细胞介导的细胞毒性的潜力。简言之,使用EasySep人T细胞分离试剂盒(STEMCELL,目录号:17951)分离T细胞。在测定缓冲液(空白RPMI 1640,Gibco目录号10491,添加5%FBS)中将靶细胞浓度调整到2×10^5/mL,并向圆底96孔板(目录号3799,Corning)的孔添加50μL。在测定缓冲液中将效应细胞(分离的T细胞或来自ALLCELLS的PBMC)的浓度调整到2E6/mL,并向孔添加50μL,ET比例为10:1。然后添加100μL/孔的2倍稀释的抗体,充分混合。在37℃、5% CO_2下温育24hr。将板以300g离心5min并收集上清液。通过CytoTox 96非放射活性细胞毒性测定试剂盒(Promega,G1780)检测LDH释放。向最大孔添加20μL裂解溶液(10*),充分混合并在37℃下温育45min。然后将来自所有测试和对照孔的50μL等分试样转移到新鲜的96孔透明平底板(目录号3599,Corning)。向每个孔添加50μL CytoTox试剂。将板避光并在室温下温育30min。最后向96孔板的每个孔添加50μL终止溶液。在添加终止溶液后1hr内记录490nm或492nm处的吸光值。计算结果是细胞毒性的%=(实验-仅仅E-仅仅T)/(T最大值-仅仅T)×100)。

[0211] 结果:使用乳酸脱氢酶测定法,NCI-H226(图18A)或MDA-MB-231(图18B)分别获得了T细胞介导的细胞毒性,IM-1222三体抗体(正方形)的EC50是0.02nM,IM-1062三体抗体(圆圈)的EC50是0.38nM。

[0212] 结论:在T细胞介导的细胞毒性测定中,在三体抗体IM-1062和IM222存在下两种癌细胞系经历细胞灭杀,代表源自先前描述的mAb 016的5T4_IM-53IM-1222人源化序列具有较高效力。

[0213] 实施例8

[0214] 在异种移植NSG小鼠模型中的体内效力

[0215] 目的:研究IM-1222三体抗体5T4_IM53-CD3-NKG2A对NCG小鼠中的hPBMC移植的NCI-H226模型的效力,并研究人源化小鼠模型中由IM-1222三体抗体诱导的肿瘤生长的抑制。

[0216] 方法:体内异种移植物测定。将NCI-H226(人肺癌,ATCC,目录号CRL-5826,批号58094746)细胞在体外作为单层培养物维持在增补有10% FBS、100U/ml青霉素和100μg/ml链霉素的RPMI 1640中,在37℃和含有5% CO_2的空气气氛中维持。收获在指数生长期生长的细胞并计数,用于肿瘤接种。体重约19-21g的6-7周雌性NCG小鼠购自GemPharmatech Co.,LTD。在第0天将小鼠用0.2ml混合物(基础培养基:基质胶=100ul:100ul)中的5x 10^6NCI-H226细胞在右胁皮下接种,用于肿瘤发展。在第7天,将小鼠用来自两位健康供体的1x

10^7hPBMC i.v.注射。对于每一组来说,一半的动物用来自一位供体的PBMC注射,另一半动物用来自第二位供体的PBMC注射。在细胞接种后一周左右当肿瘤达到~150mm^3的平均尺寸时开始治疗,此时基质胶被完全吸收,用于肿瘤功效研究。小鼠每日用药(I.p)20ug/Kg。每周两次使用卡尺在两个维度上测量肿瘤尺寸,并使用下述公式以mm^3为单位表示体积:V=0.5a x b^2,其中a和b分别是肿瘤的最长和最短直径。然后将肿瘤尺寸用于肿瘤生长抑制(TGI)的计算。具体来说,研究包括用作载体组的10只动物,其中仅仅注射TT2缓冲液(200mM精氨酸,137mM琥珀酸,5%海藻糖,0.05% Tween-80,pH5.0,150mM NaCl),以及各6只小鼠的另外两个组,其中注射IM-1062或IM-1222。

[0217] 结果:图19呈现了用三体抗体IM-1222治疗的小鼠(圆圈)、用三体抗体IM-1062(正方形)和TT2缓冲液对照(三角形)治疗的小鼠的肿瘤体积(mm^3)。如图19中所示,与对照样品相比三体抗体的给药极大减小了肿瘤尺寸,并具有显著的TGI,对于IM-1222来说在第11天为84%,在第18天为44%。

[0218] 结论:在体内异种移植物模型中证实了代表源自mAb016的人源化5T4_IM53序列的三体抗体IM-1222的效力,具有~40-84% TGI的响应范围。

序列表

<110> 免疫里森公司

<120> 抗5T4抗体及其用途

<130> P-604133-PC

<150> 63/183,636

<151> 2021-05-04

<160> 160

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 1

```
Ala Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Val Arg Val Lys Pro Gly Ala
1               5                  10                  15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Arg Ser Leu Asp Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
            100                 105                 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 2

Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asn
1 5

<210> 3
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 3

Trp Ile Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr
1 5 10 15

<210> 4
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 4

Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 5
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 5

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Asn Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80
Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 6
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 6
Ser Ser Val Asn Tyr Met His
1 5

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 7
Leu Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1 5 10

<210> 8
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 8
Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr
1 5

<210> 9
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 9
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ala Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr

20 25 30
Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Arg Gly Ser Thr Asn Ser Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Thr Glu Asp Ser Ala Ile Phe Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Tyr Arg Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 10
Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr Trp Ile Glu
1 5

<210> 11
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 11
Trp Ile Gly Glu Ile Leu Pro Gly Arg Gly Ser Thr Asn Ser
1 5 10

<210> 12
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 12
Arg Gly Tyr Arg Asp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 13
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 13

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Thr Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Ile Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Met Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 14
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 14

Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala
1 5

<210> 15
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 15

Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5 10

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 16

Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Arg
1 5

<210> 17

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 17

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Arg Asp Ser Thr Asn Ser Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Thr Glu Asp Ser Ala Ile Phe Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Tyr Arg Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 18
Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Trp Ile Glu
1 5
<210> 19
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 19
Trp Ile Gly Glu Ile Leu Pro Gly Arg Asp Ser Thr Asn Ser
1 5 10
<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 20
Arg Gly Tyr Arg Asp Phe Asp Tyr
1 5
<210> 21
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 21
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Thr Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Ile Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Met Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 22

Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala

1 5

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 23

Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5 10

<210> 24

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 24

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Arg

1 5

<210> 25

<211> 128

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 25

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly

1 5 10 15

Ser Leu Gln Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Met
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95
Tyr Cys Val Arg Asp Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Pro Ser Tyr
100 105 110
Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 26
Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met His
1 5

<210> 27
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 27
Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr
1 5 10 15

<210> 28
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 28

Arg Asp Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Pro Ser Tyr Trp Tyr Phe
1 5 10 15
Asp Val
<210> 29
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 29
Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn
20 25 30
Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Asn Val Glu Ser
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Thr Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Asp Leu Lys
100 105
<210> 30
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 30
Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His
1 5
<210> 31
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 31
Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
1 5 10
<210> 32
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 32
Gln Gln Thr Asn Thr Trp Pro Leu
1 5
<210> 33
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 33
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Thr Ile Ser Asp Arg Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Tyr Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Asn Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ser His Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ala Ser Tyr Tyr Ser Asn Leu Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120
<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 34
Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Val Met Ser
1 5
<210> 35
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 35
Trp Val Ala Thr Ile Ser Asp Arg Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr
1 5 10
<210> 36
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 36
Arg Ala Ser Tyr Tyr Ser Asn Leu Gly Phe Ala Tyr
1 5 10
<210> 37
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 37
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80
Ile Ser Ser Met Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys
<210> 38
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 38
Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala
1 5 10
<210> 39
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 39
Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5 10
<210> 40
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 40
Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro
1 5
<210> 41
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 41

Gln Val Gln Leu Arg Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Arg Gly Ser Ser Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ile Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Arg Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 42

Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Trp Ile Glu
1 5

<210> 43
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 43

Trp Ile Gly Glu Ile Leu Pro Gly Arg Gly Ser Ser Asn Tyr
1 5 10

<210> 44
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 44
Arg Gly Gly Arg Asp Phe Asp Tyr
1 5
<210> 45
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 45
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ile Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Gly Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Asn
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Val
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Ile Lys Leu Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 46
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 46
Gln Gly Ile Asn Asn Asn Leu Asn
1 5
<210> 47
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 47
Leu Leu Val Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser
1 5 10
<210> 48
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 48
Gln Gln Phe Ile Lys Leu Pro Tyr
1 5
<210> 49
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 49
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Gly Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Lys Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Thr Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Arg Asp Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Ser Thr Leu
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115
<210> 50
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 50
Tyr Lys Phe Thr Gly Tyr Trp Ile Glu
1 5
<210> 51
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 51
Trp Ile Gly Glu Ile Leu Pro Gly Arg Gly Ser Thr Asn Tyr
1 5 10
<210> 52
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 52
Arg Gly Gly Arg Asp Phe Asp Phe
1 5
<210> 53
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 53
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Asn Ser Asn
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Lys Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 54
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 54
Gln Gly Ile Asn Ser Asn Leu Asn
1 5

<210> 55
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 55
Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser
1 5 10

<210> 56
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 56
Gln Gln Tyr Asn Lys Leu Pro Tyr
1 5

<210> 57
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 57
Glu Val Gln Leu Arg Gln Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Leu Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ala Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Thr Trp Val Thr Gln Ser His Gly Gln Ser Leu Asp Trp Ile
35 40 45
Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Ser Gly Glu Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Ser Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Asp Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Trp Arg Leu Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Arg Gly
100 105 110
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115
<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 58
Phe Thr Ile Ala Asp Tyr Tyr Met Thr
1 5
<210> 59
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 59
Trp Ile Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Ser Gly Glu Thr Thr Tyr
1 5 10
<210> 60
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 60
Arg Trp Arg Leu Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10
<210> 61
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 61
Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Val Trp Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80
Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ile Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 62
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 62
Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1 5
<210> 63
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 63
Val Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1 5 10
<210> 64
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 64
Phe Gln Gly Ile Gly Tyr Pro Tyr
1 5
<210> 65
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 65
Gln Val Leu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
20 25 30
His Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Leu Pro Gly Arg Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Tyr Arg Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Thr
115
<210> 66

<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 66

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 67
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 67

Gln Val Leu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
20 25 30
His Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Leu Pro Gly Arg Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Arg Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Thr
115
<210> 68
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 68
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Thr Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 69
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 69
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Lys Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
Gly Arg Ile Leu Pro Gly Arg Gly Ser Thr Met Tyr Ala Glu Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Asp Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Tyr Arg Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 70
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 70

Glu Lys Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ser Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 71
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 71

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Arg Val Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Arg Ile Leu Pro Gly Arg Gly Ser Thr Met Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Asp Tyr
65 70 75 80
Met Asp Leu Ser Ser Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Gly Tyr Arg Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 72
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 72

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 73
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 73

Gln Met His Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Pro Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Trp Ile Leu Pro Gly Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ala Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Tyr Arg Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Ile Ser Ser
115

<210> 74
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 74

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Thr Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 75
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 75

Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Val Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 76
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 76

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Pro Lys Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Arg Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 77
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 77

Gln Val Gln Leu Leu Ala Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60
His Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 78
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 78

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met

20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Pro Lys Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Arg Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 79
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 79

Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 80
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 80

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Pro Lys Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Arg Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 81

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 81

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Asn Phe Ala Val Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Trp Val Thr Val Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Gly Leu Arg Gly Leu Gly Ser Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Pro Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 82
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 82

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Pro Lys Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Arg Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 83
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 83

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ser Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Ile Tyr Asp Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Lys Gly Asp Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 84
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 84
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Pro Lys Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Arg Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 85
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 85
Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Val Lys Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15
Ser Gly Lys Val Ser Cys Lys Ser Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
20 25 30
Ala Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Leu Pro Gly Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Ile Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asn Met Ser Thr Ser Thr Ser Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Lys Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Gly Tyr Arg Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Val Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 86
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 86

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 87
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 87

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Val Leu Pro Gly Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Val Thr Arg Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Gly Tyr Arg Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 88
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 88

Glu Leu Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr Ser Tyr Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 89
<211> 124
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 89

Gln Val Gln Leu Leu Ala Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60
His Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 90
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 90

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Arg Leu Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile His
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Gly
50 55 60
Ala Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Asp Gly Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Asn Val Glu Ile Gln
100 105

<210> 91
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 91

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr His Tyr Ala Gln Arg Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Ala Met Thr Thr Asp Thr Ser Met Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Arg Ser Leu Lys Ser Asp Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 92
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 92

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Pro Lys Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Arg Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 93
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 93

Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 94
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 94

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 95
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 95

Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Val Thr Met Thr Ile Asp Lys Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 96
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 96

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 97
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 97

Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Val Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 98
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 98

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 99
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 99

Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 100
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 100

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 101
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 101

Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 102
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 102

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Asn Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 103
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 103

Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Val Thr Met Thr Ile Asp Lys Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 104
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 104

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Asn Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 105
<211> 124

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 105

Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Val Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 106
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 106

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Asn Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr

85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 107
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 107

Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 108
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 108

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Asn Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 109
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 109
Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 110
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 110
Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Asn Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 111
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 111
Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Val Thr Met Thr Ile Asp Lys Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 112
<211> 106
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 112

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Asn Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 113
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 113

Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Val Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 114
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 114

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Asn Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 115
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 115

Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 116
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 116
Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Asn Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 117
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 117
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 118
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 118

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 119
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 119

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Ile Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 120

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 120

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 121

<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 121

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Ile Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 122
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 122

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 123
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 123
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 124
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 124
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 125
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 125

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 126
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 126

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 127
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 127

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 128
<211> 106

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 128

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 129
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 129

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Ile Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 130
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 130

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 131
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 131

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Ile Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 132
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 132

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 133
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 133

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120

<210> 134
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 134
Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 135
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 135

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 136

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 136

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 137
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 137

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 138
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 138

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu

65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 139
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 139
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Ile Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 140
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 140
Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 141
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 141
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Ile Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 142
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 142

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 143

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 143

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 144

<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 144

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 145
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 145

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 146
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 146

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 147
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 147

Ala Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Val Arg Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Arg Ser Leu Asp Trp Ile
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Gln Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 148
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 148

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Asn Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 149
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 149

Ala Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Val Arg Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Arg Ser Leu Asp Trp Ile
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 150
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 150

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Asn Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80
Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 151
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 151

Ala Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Val Arg Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Arg Ser Leu Asp Trp Ile
35 40 45
Gly Val Phe Asn Pro Tyr Asn Ala Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Arg Leu Leu Tyr Asp Thr Ser Glu Tyr Tyr Val Met Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
115 120

<210> 152
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 152

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Asn Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80
Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 153
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 153

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Phe
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Asn Arg Gly Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Ala
50 55 60
Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 154
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 154

Tyr Thr Phe Thr Ser Phe Trp Met His
1 5

<210> 155
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 155
Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Asn Arg Gly Gly Thr Glu Tyr
1 5 10
<210> 156
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 156
Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Pro Met Asp Tyr
1 5 10
<210> 157
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 157
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 158
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 158
Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5
<210> 159
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 159
Ser Leu Ile Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Gln Ser
1 5 10
<210> 160
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 160
Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Trp
1 5

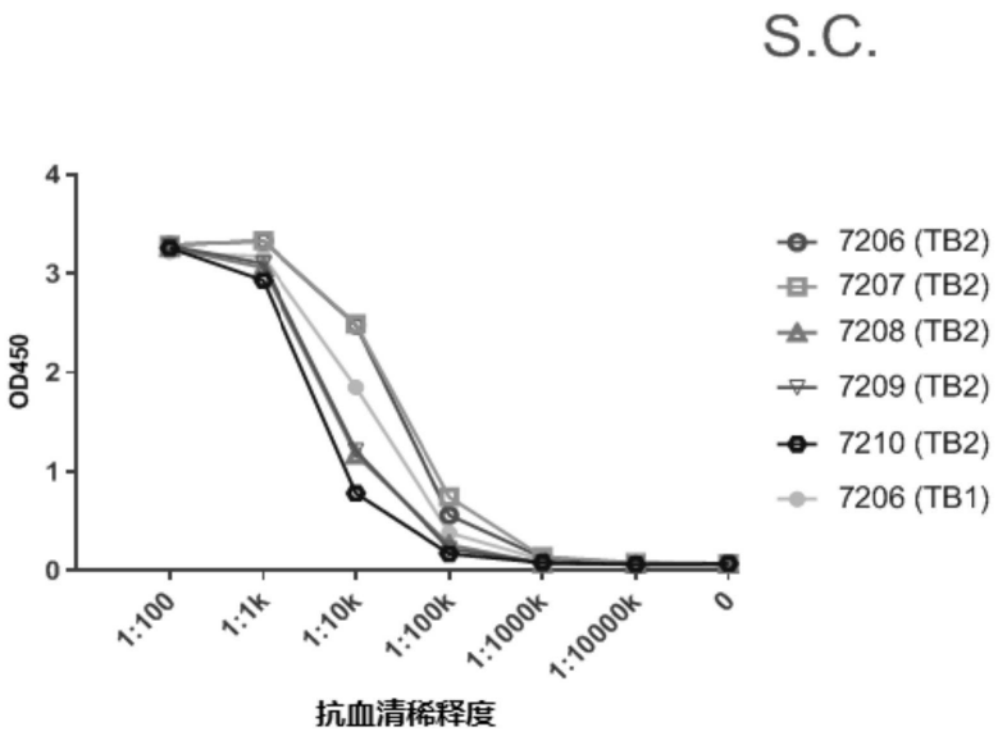

S.C.
OD450
4
3
2
1
0
1:100
1:1k
1:10k
1:100k
1:1000k
1:10000k
0
抗血清稀释度
7206 (TB2)
7207 (TB2)
7208 (TB2)
7209 (TB2)
7210 (TB2)
7206 (TB1)

图1A

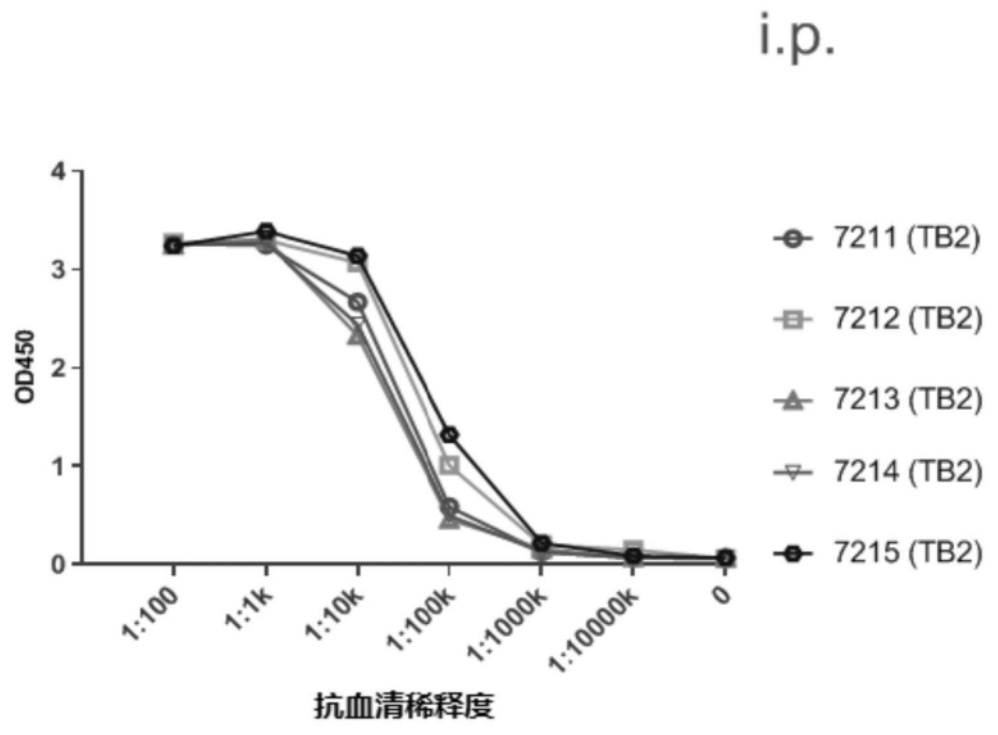

i.p.
OD450
4
3
2
1
0
1:100
1:1k
1:10k
1:100k
1:1000k
1:10000k
0
抗血清稀释度
7211 (TB2)
7212 (TB2)
7213 (TB2)
7214 (TB2)
7215 (TB2)

图1B

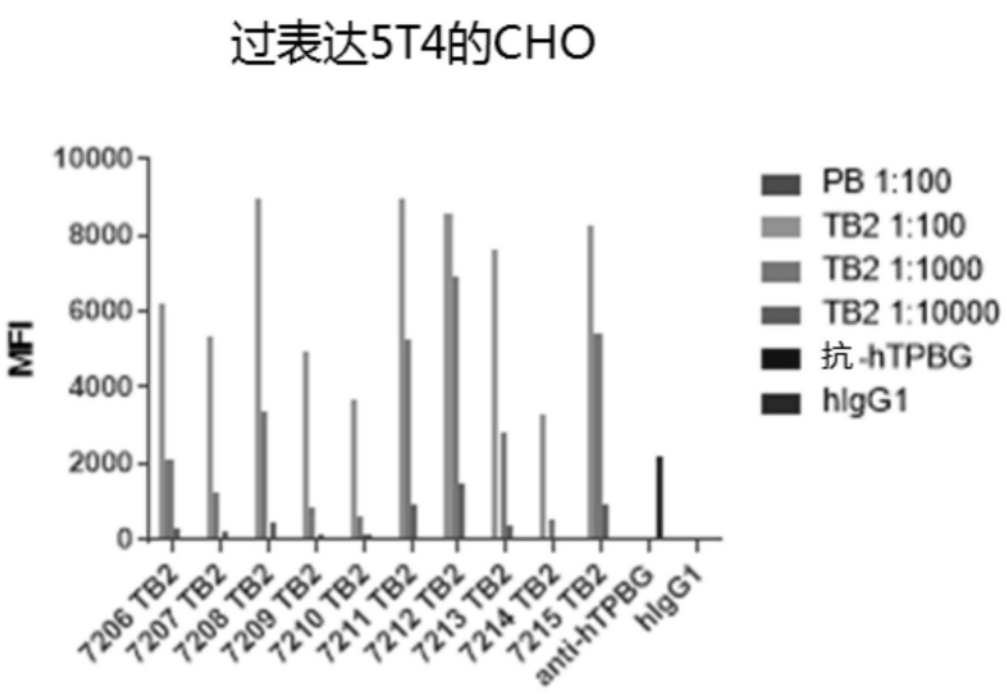

过表达5T4的CHO
MFI
10000
8000
6000
4000
2000
0
7206 TB2
7207 TB2
7208 TB2
7209 TB2
7210 TB2
7211 TB2
7212 TB2
7213 TB2
7214 TB2
7215 TB2
anti-hTPBG
hIgG1
PB 1:100
TB2 1:100
TB2 1:1000
TB2 1:10000
抗-hTPBG
hIgG1

图1C

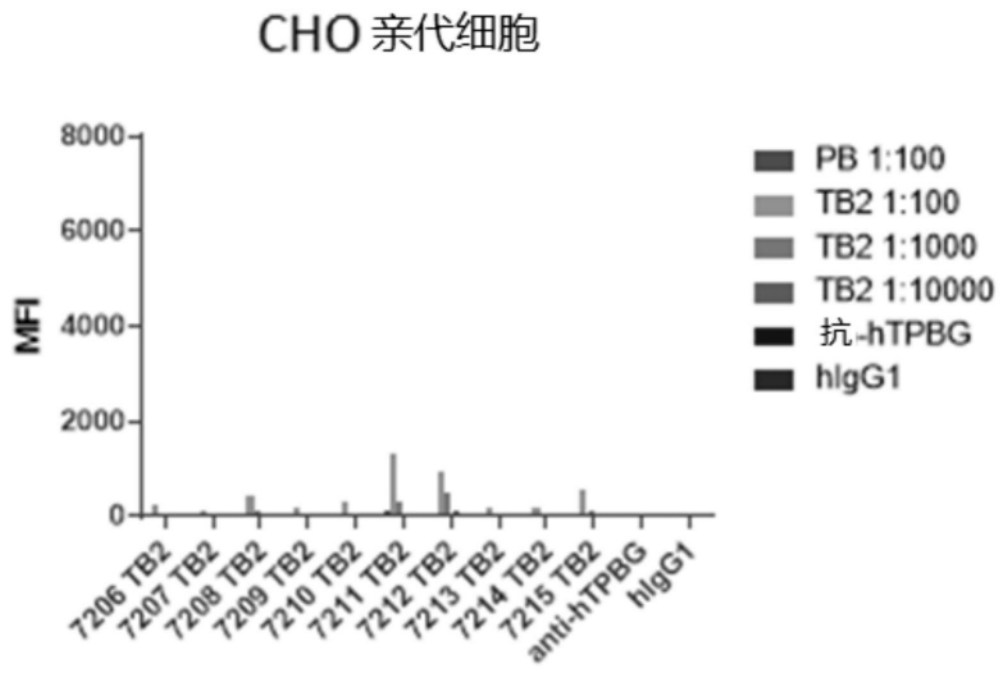

CHO 亲代细胞
MFI
8000
6000
4000
2000
0
7206 TB2
7207 TB2
7208 TB2
7209 TB2
7210 TB2
7211 TB2
7212 TB2
7213 TB2
7214 TB2
7215 TB2
anti-hTPBG
hIgG1
PB 1:100
TB2 1:100
TB2 1:1000
TB2 1:10000
抗-hTPBG
hIgG1

图1D

mAb No.	克隆体性能
1	2F1G12
2	6H6D3
3	15C12F10
4	16G3B1
5	24A10B7
6	30G2F11
7	33D3C7
8	37F3G3
9	38C3H3
10	38F10D10
11	38G8D5
12	38G10G3
13	23D2E9C6
14	33H6C3E7
15	37E7G4G2
16	20E12E6
17	19G10H2C6
18	20B11D7D6
19	40F9D10A3

图2

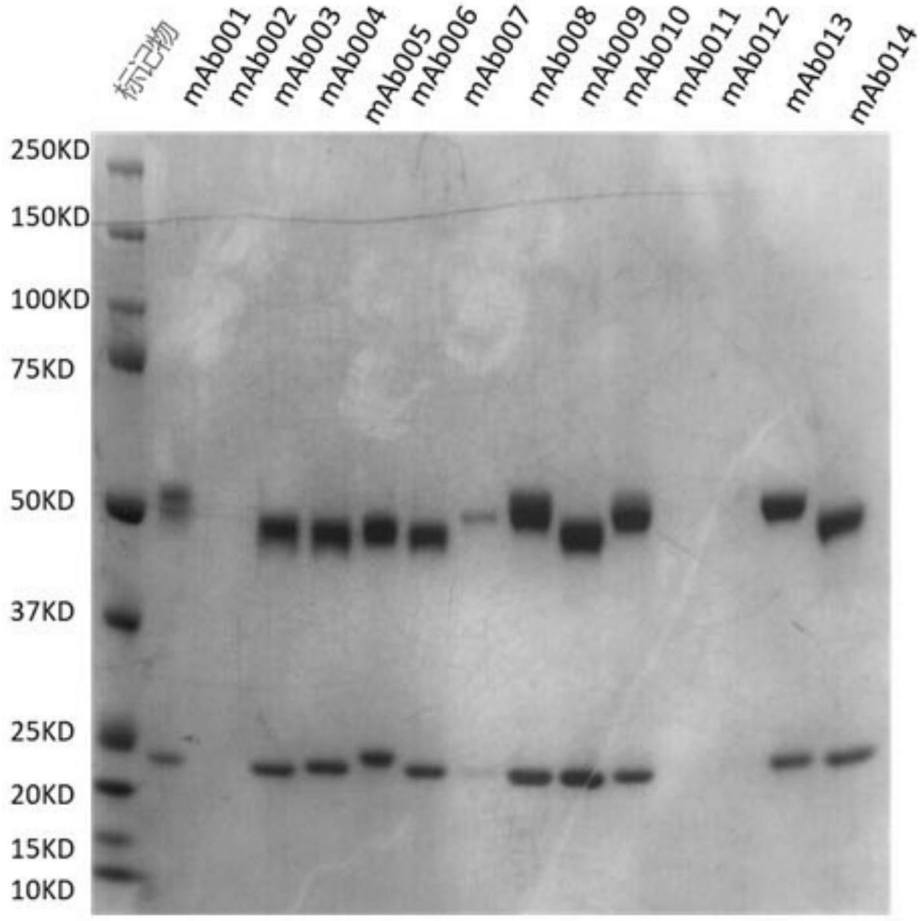

标记物
mAb001
mAb002
mAb003
mAb004
mAb005
mAb006
mAb007
mAb008
mAb009
mAb010
mAb011
mAb012
mAb013
mAb014
250KD
150KD
100KD
75KD
50KD
37KD
25KD
20KD
15KD
10KD

图3A

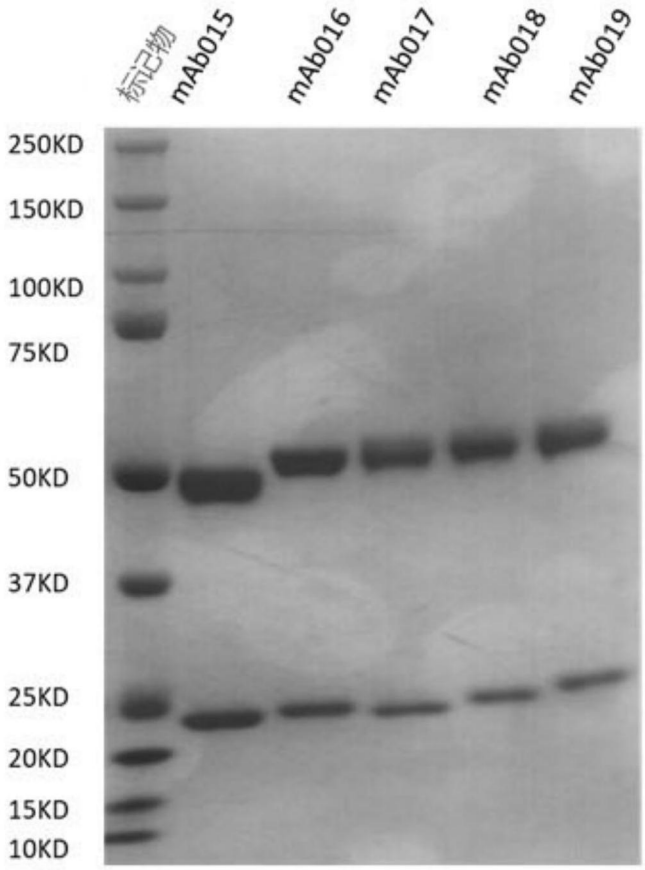
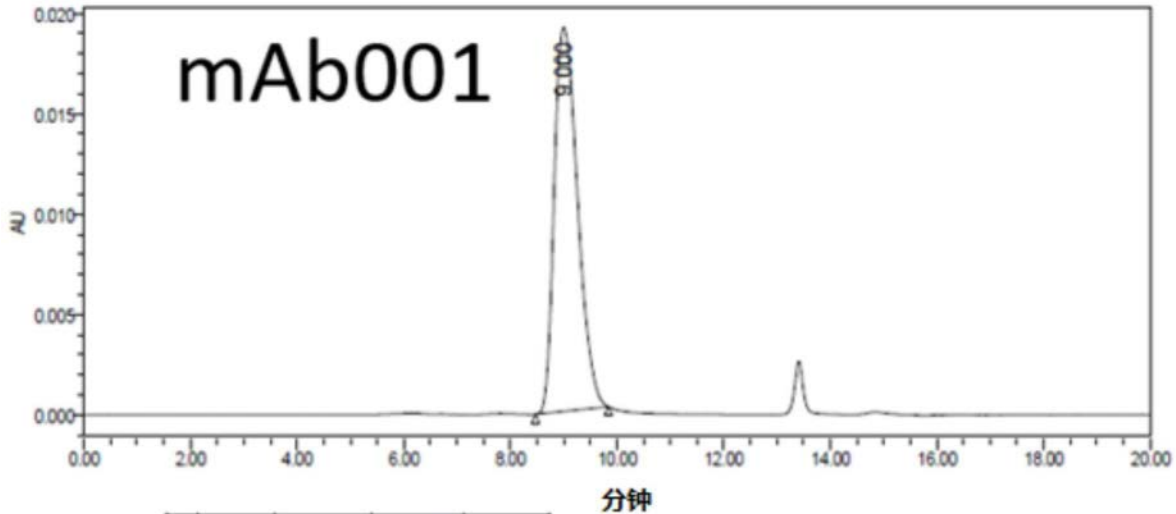
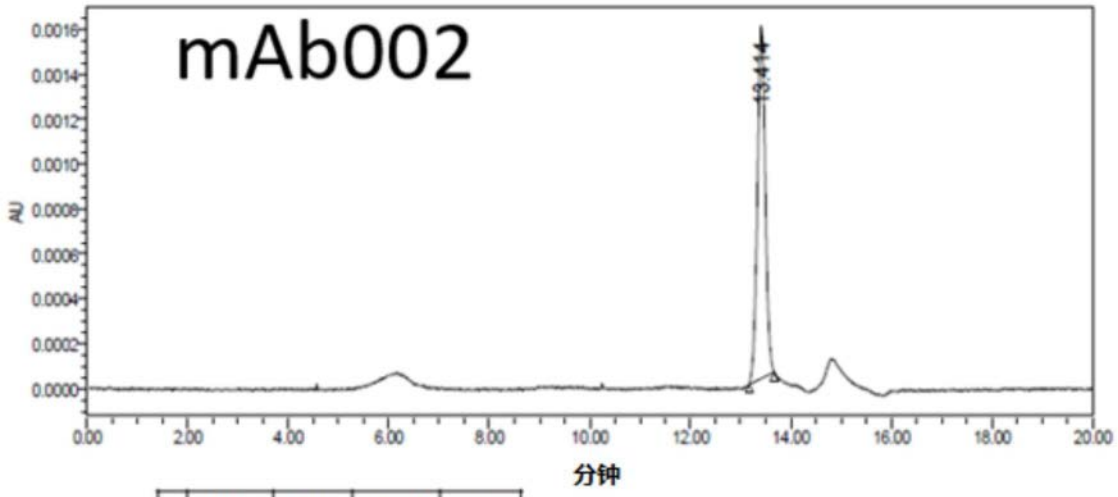


图3B



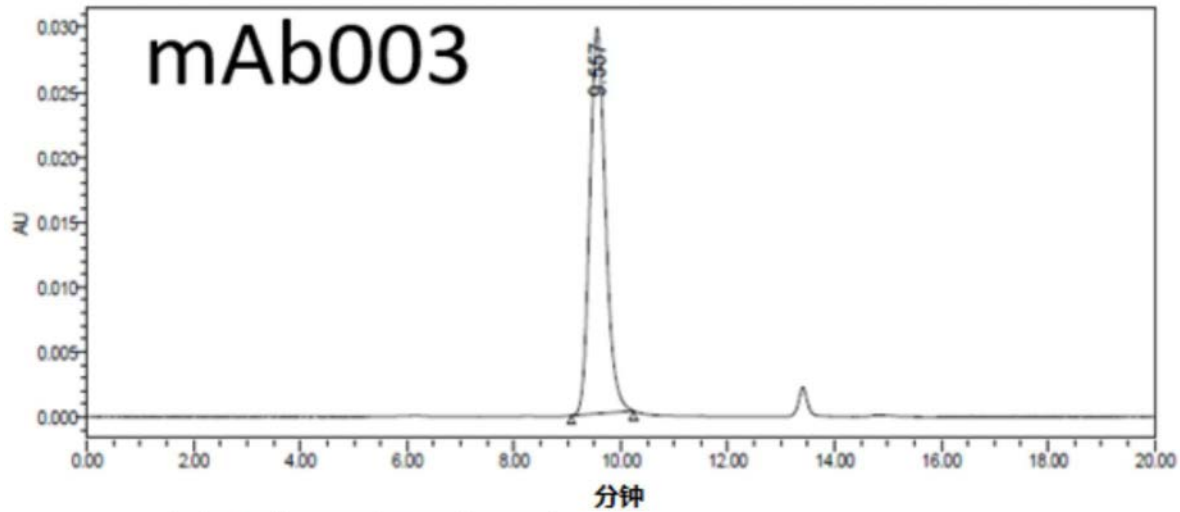
	RT	面积	%面积	高度
1	9.000	581198	100.00	19117

图4A



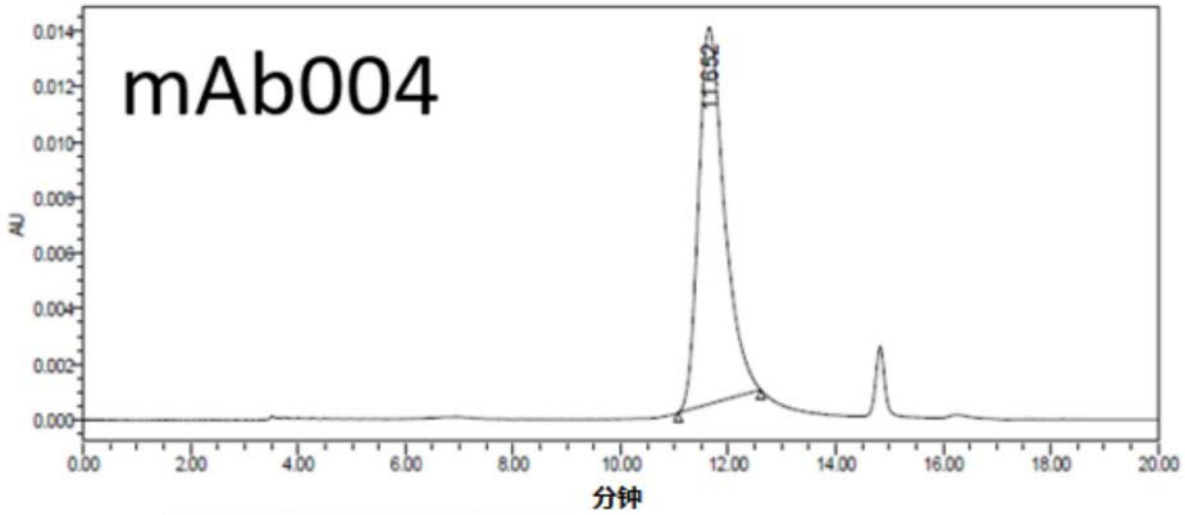
	RT	面积	%面积	高度
1	13.414	16875	100.00	1569

图4B



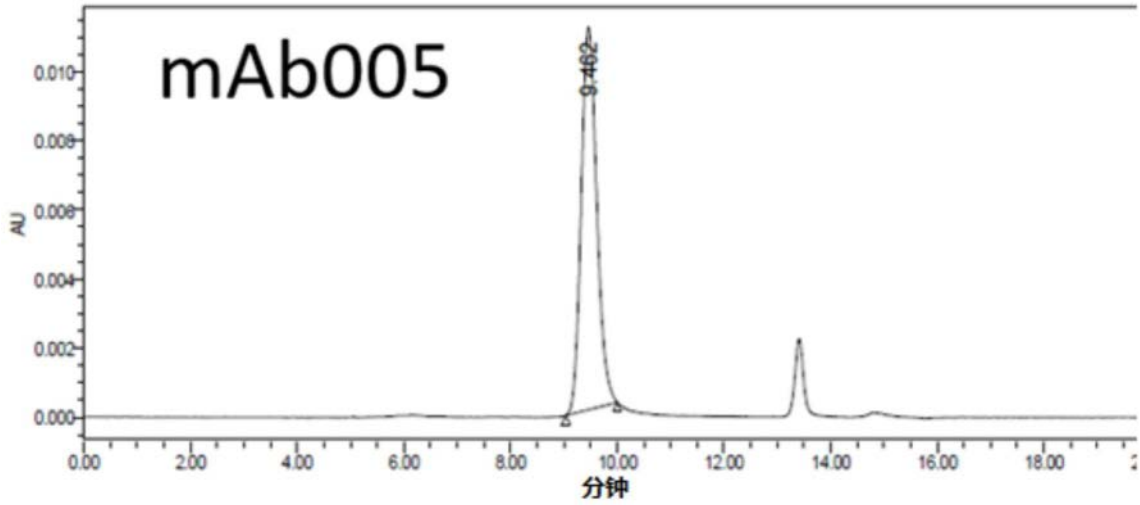
	RT	面积	%面积	高度
1	9.557	607274	100.00	29695

图4C



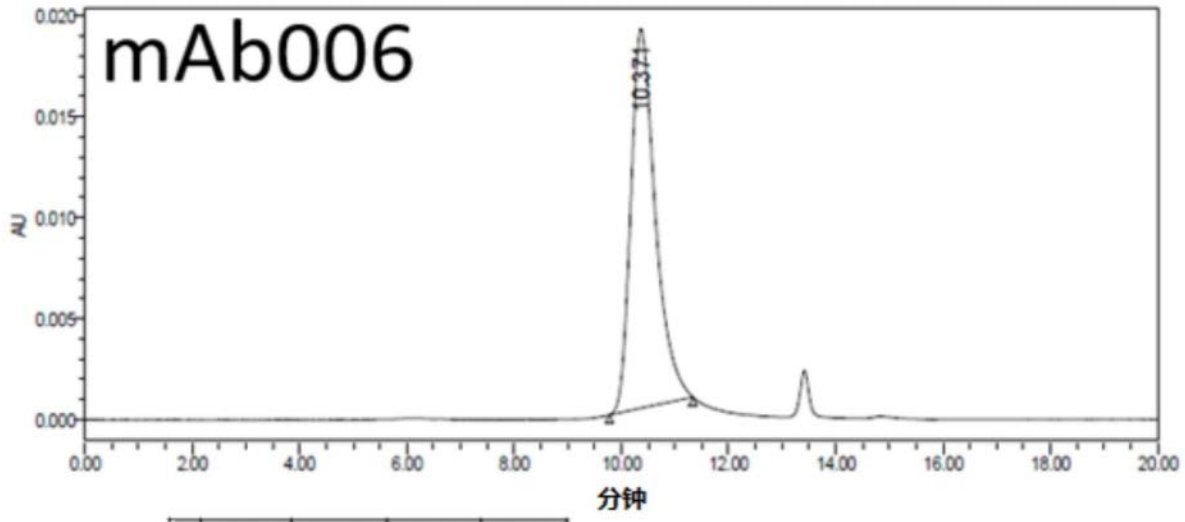
	RT	面积	%面积	高度
1	11.652	453314	100.00	13554

图4D



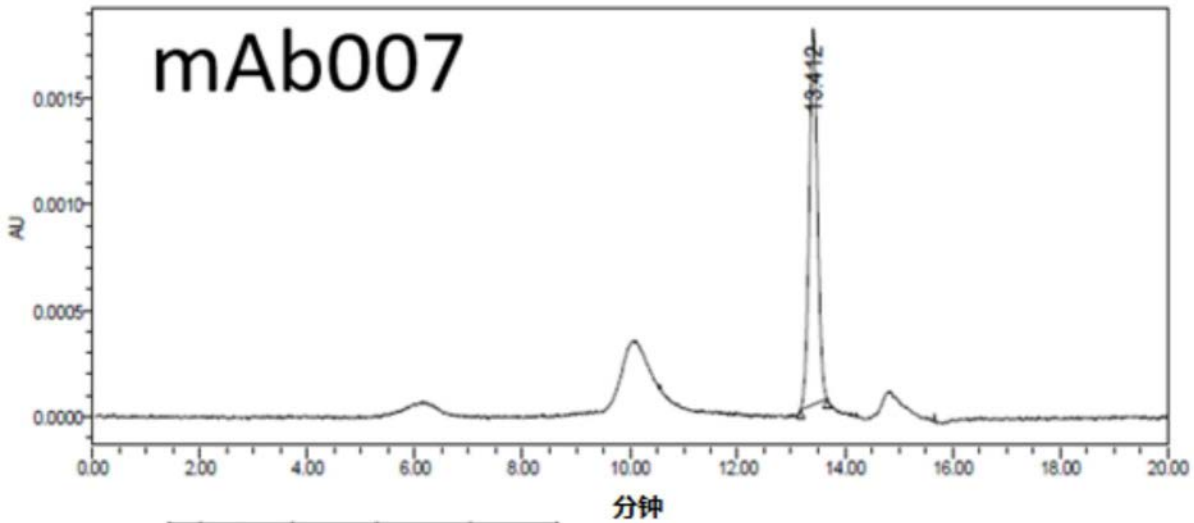
	RT	面积	%面积	高度
1	9.462	222216	100.00	11064

图4E



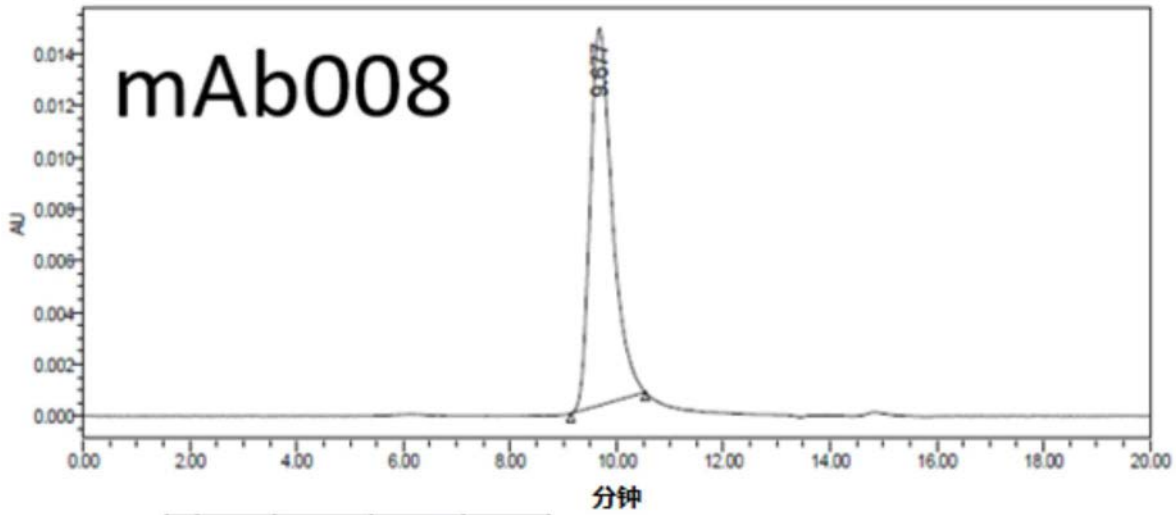
	RT	面积	%面积	高度
1	10.371	596739	100.00	18768

图4F



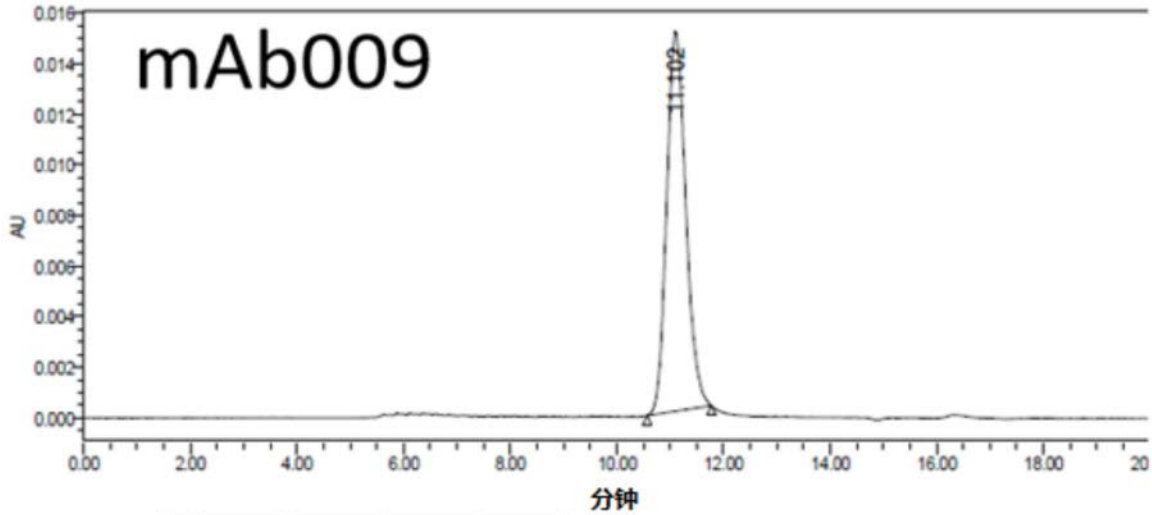
	RT	面积	%面积	高度
1	13.412	19087	100.00	1769

图4G



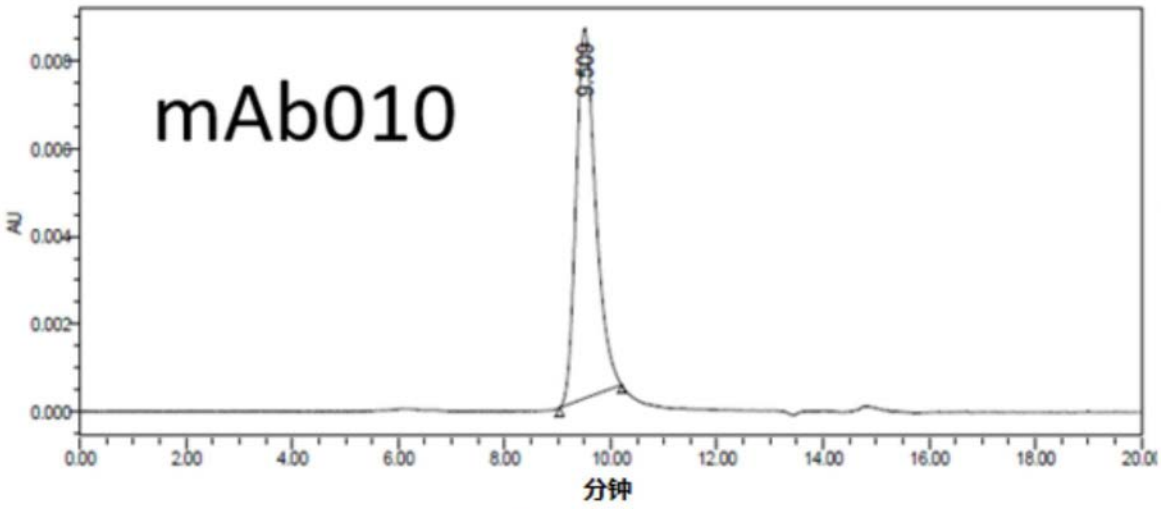
	RT	面积	%面积	高度
1	9.677	419514	100.00	14556

图4H



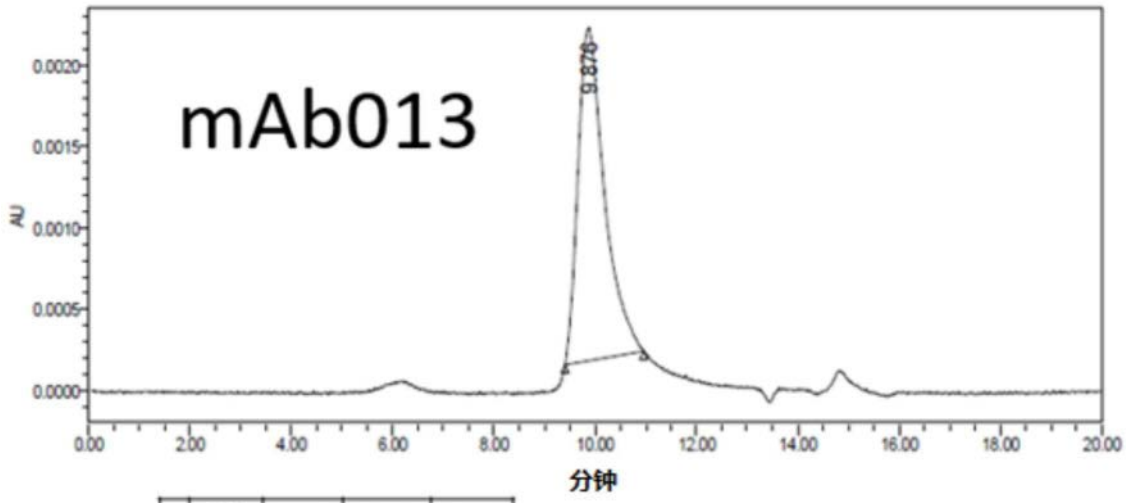
	RT	面积	%面积	高度
1	11.102	373264	100.00	15010

图4I



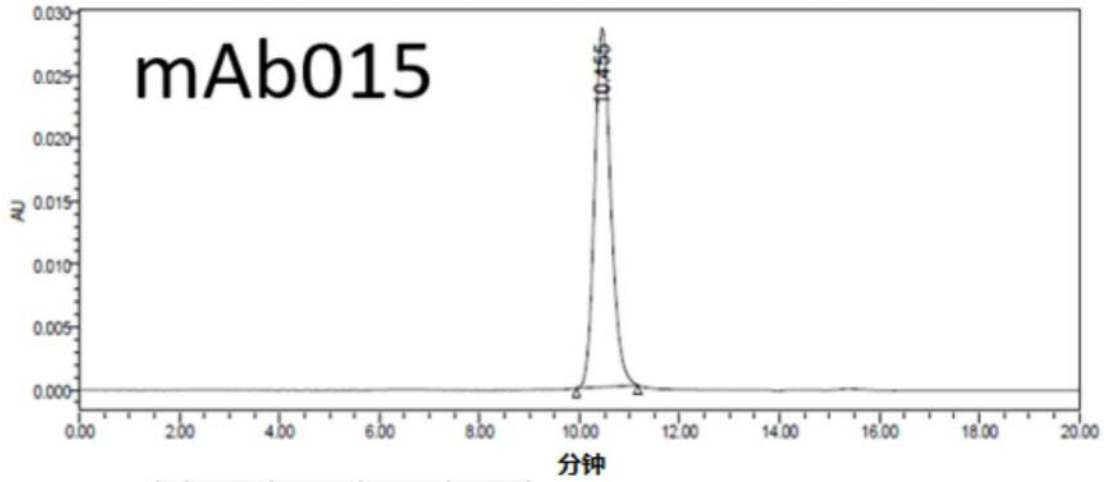
	RT	面积	%面积	高度
1	9.509	216934	100.00	8438

图4J



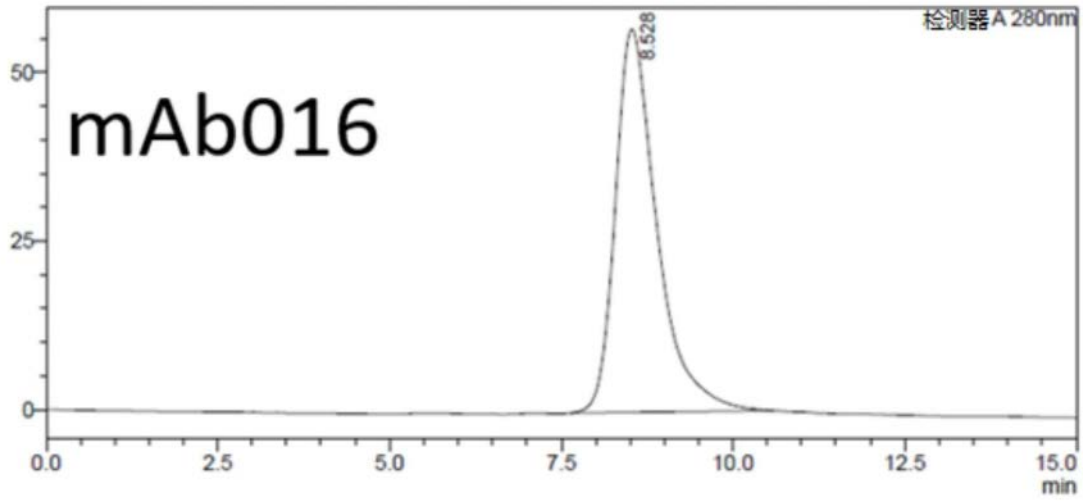
	RT	面积	%面积	高度
1	9.876	74498	100.00	2048

图4K



	RT	面积	%面积	高度
1	10.455	647074	100.00	28499

图4L

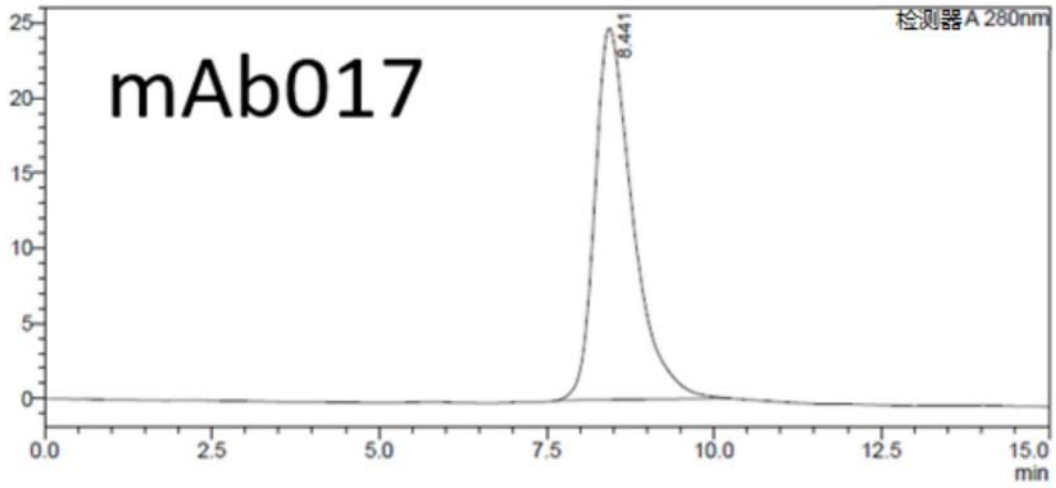


<峰表>

检测器 A 280nm

峰编号	保留时间	面积	面积%	高度	高度%
1	8.528	2400659	100.000	56807	100.000
Total		2400659	100.000	56807	100.000

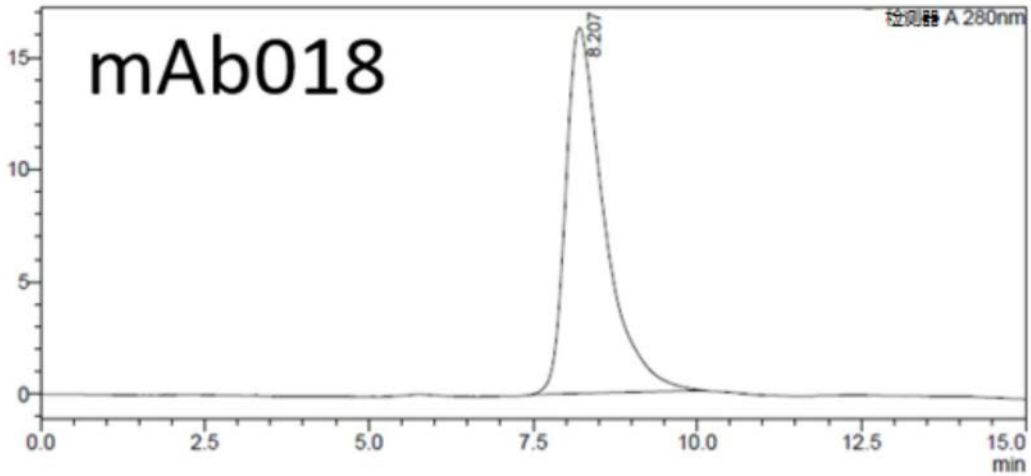
图4M



<峰表>
检测器 A 280nm

峰编号	保留时间	面积	面积%	高度	高度%
1	8.441	975895	100.000	24708	100.000
Total		975895	100.000	24708	100.000

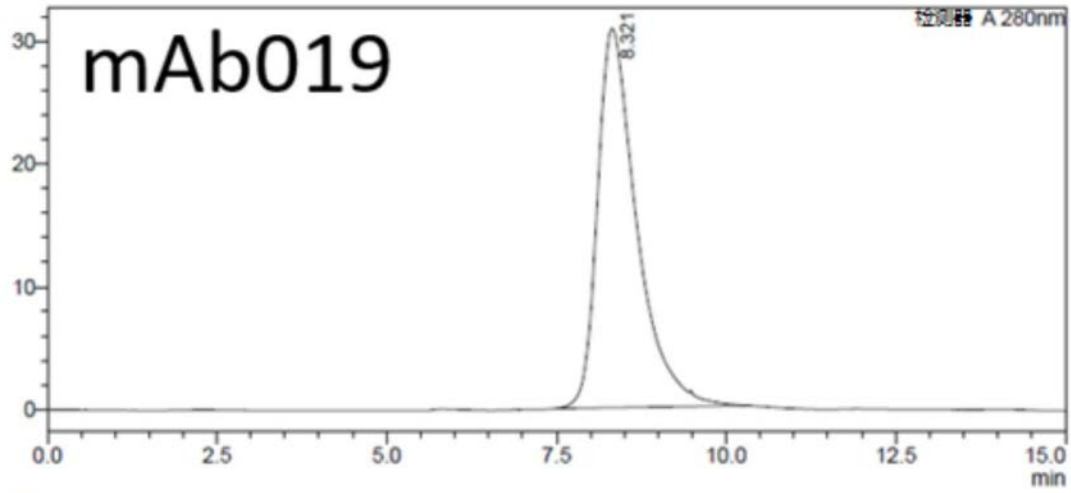
图4N



<峰表>
检测器 A 280nm

峰编号	保留时间	面积	面积%	高度	高度%
1	8.207	665723	100.000	16293	100.000
Total		665723	100.000	16293	100.000

图40



<峰表>
检测器 A 280nm

峰编号	保留时间	面积	面积%	高度	高度%
1	8.321	1244619	100.000	30902	100.000
Total		1244619	100.000	30902	100.000

图4P

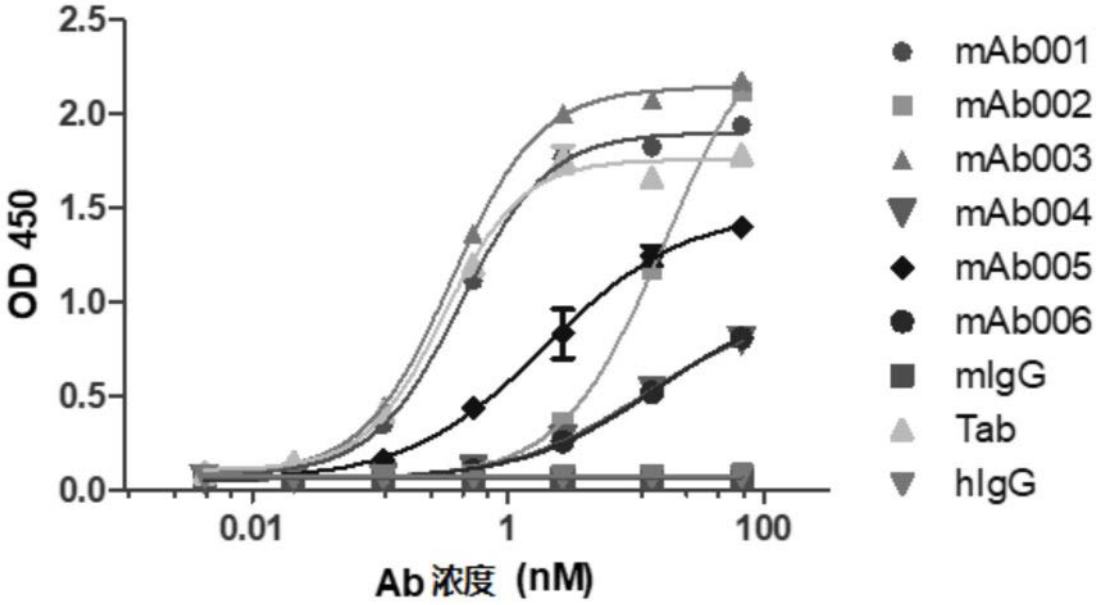


图5A

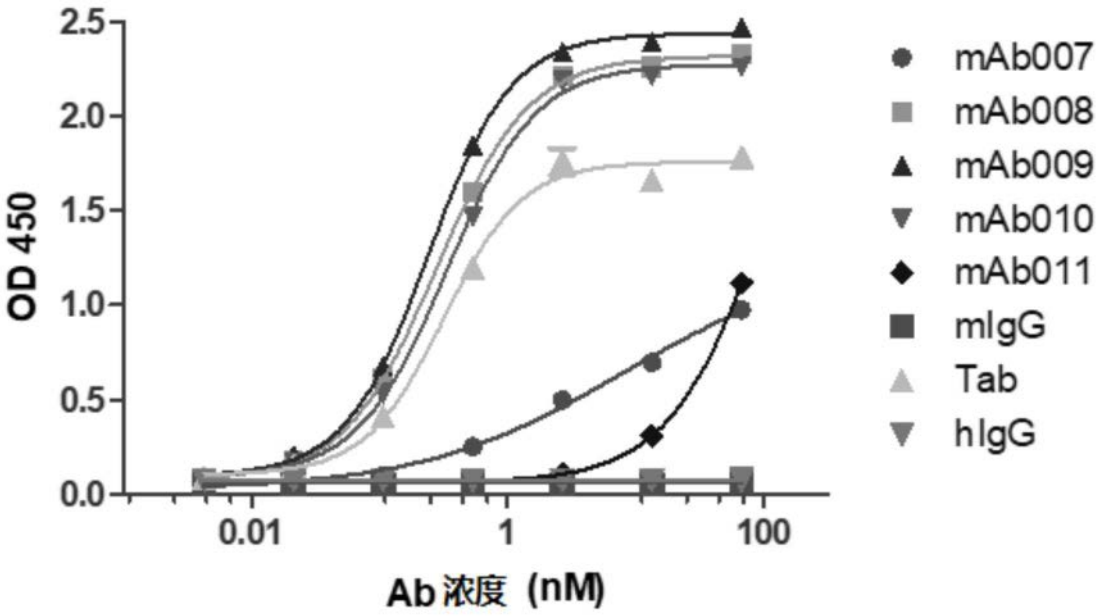

2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD 450
0.01
1
100
Ab浓度 (nM)
mAb007
mAb008
mAb009
mAb010
mAb011
mIgG
Tab
hIgG

图5B

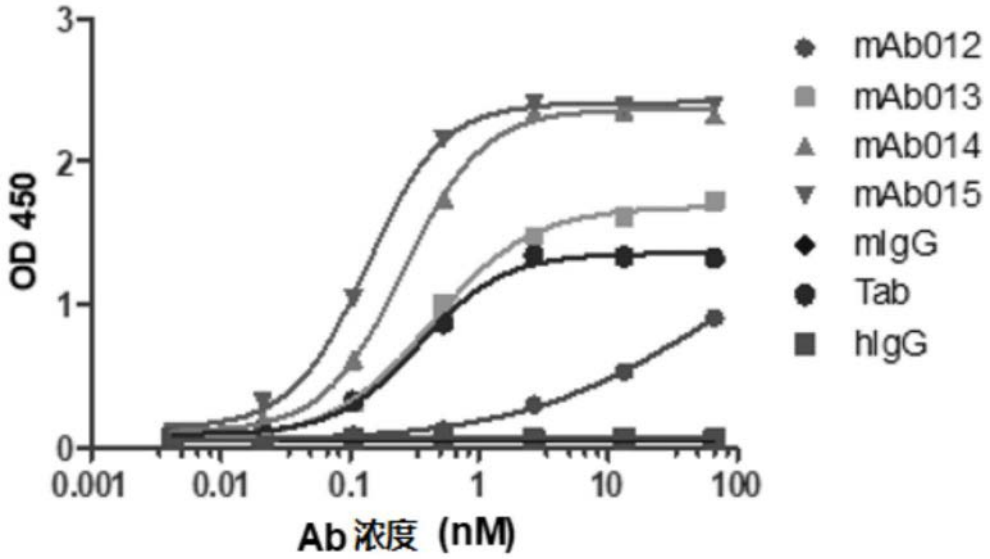

3
2
1
0
OD 450
0.001
0.01
0.1
1
10
100
Ab浓度 (nM)
mAb012
mAb013
mAb014
mAb015
mIgG
Tab
hIgG

图5C

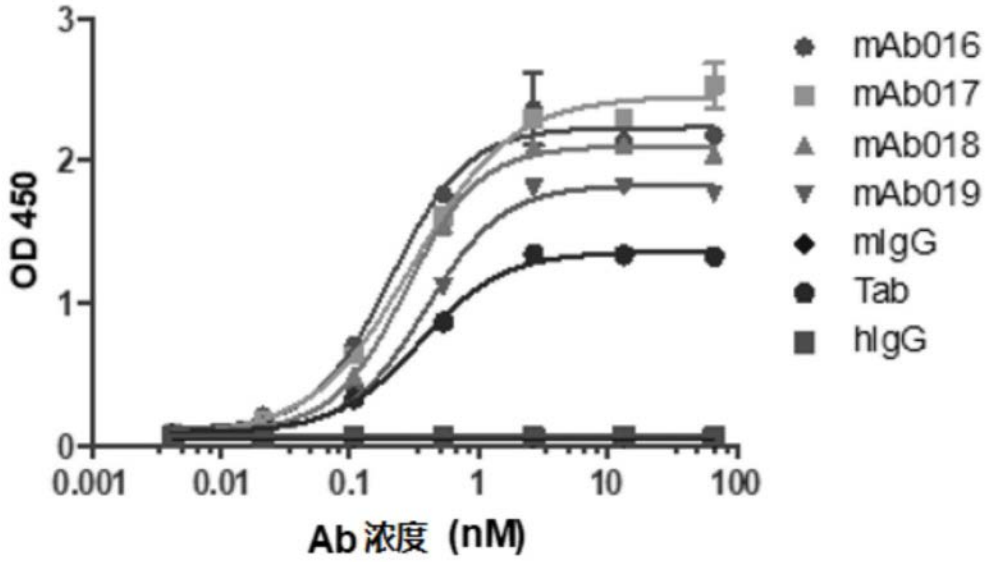

OD 450
3
2
1
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
Ab 浓度 (nM)
mAb016
mAb017
mAb018
mAb019
mIgG
Tab
hIgG

图5D

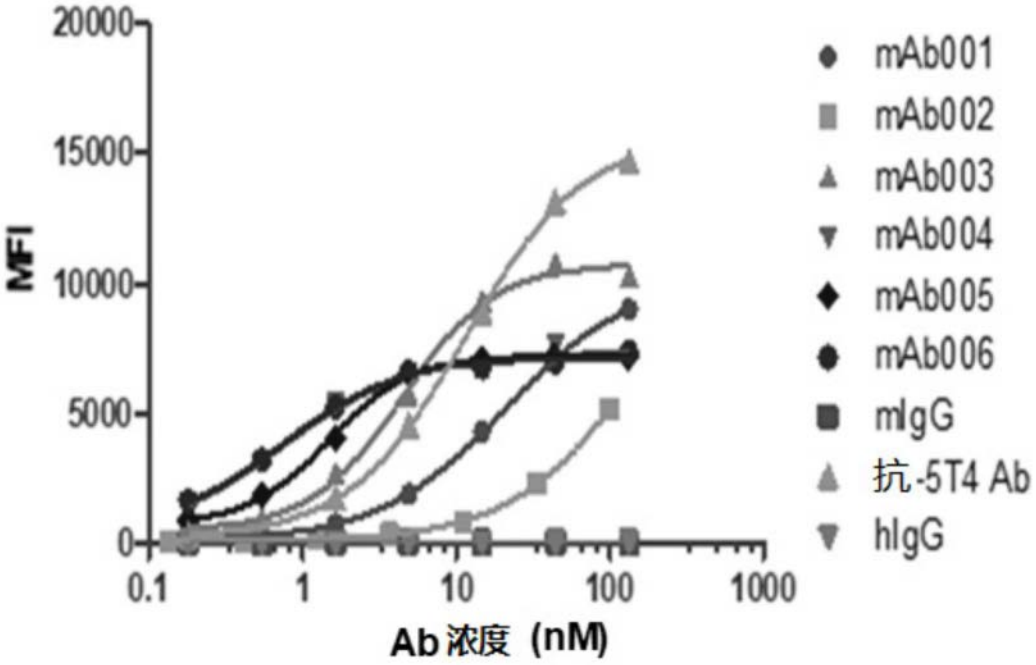

MFI
20000
15000
10000
5000
0
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度 (nM)
mAb001
mAb002
mAb003
mAb004
mAb005
mAb006
mIgG
抗-5T4 Ab
hIgG

图6A

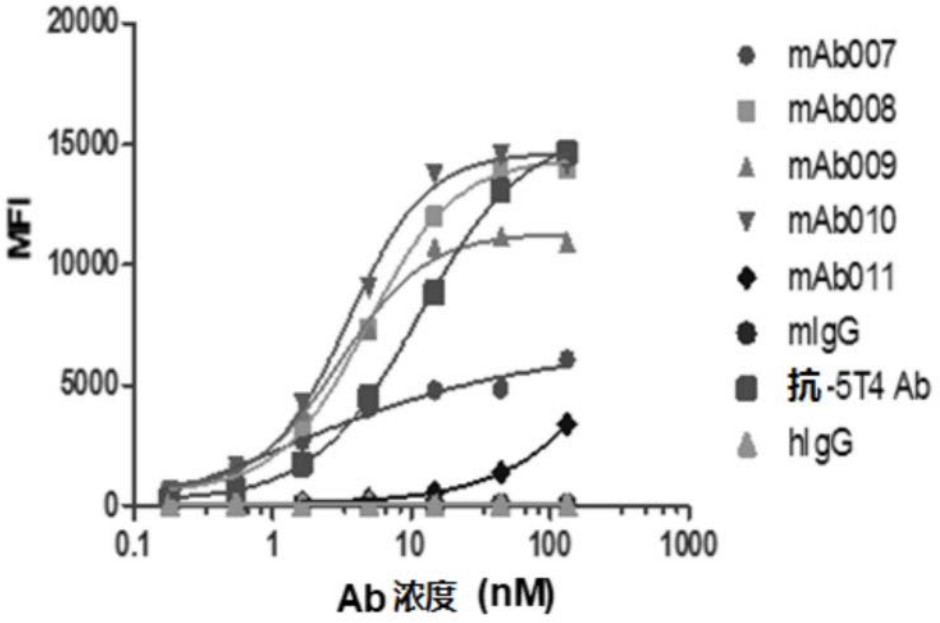

20000
15000
10000
5000
0
MFI
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度 (nM)
mAb007
mAb008
mAb009
mAb010
mAb011
mIgG
抗-5T4 Ab
hIgG

图6B

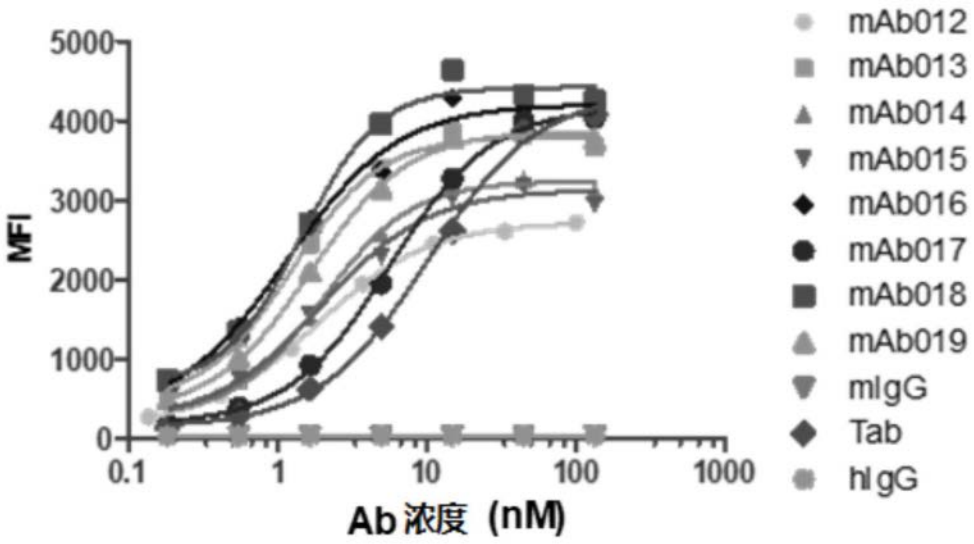

5000
4000
3000
2000
1000
0
MFI
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度 (nM)
mAb012
mAb013
mAb014
mAb015
mAb016
mAb017
mAb018
mAb019
mIgG
Tab
hIgG

图6C

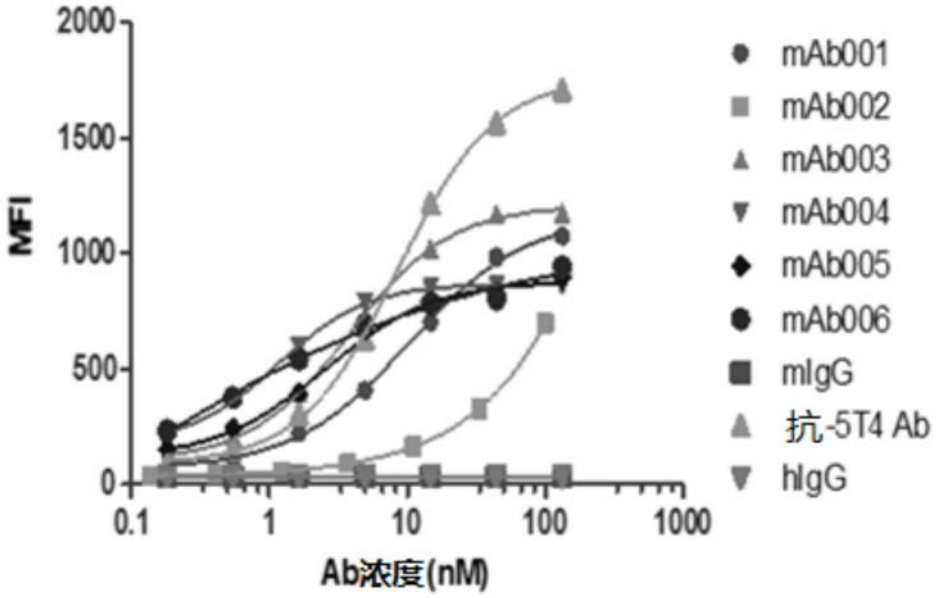

2000
1500
1000
500
0
MFI
0.1
1
10
100
1000
Ab浓度(nM)
mAb001
mAb002
mAb003
mAb004
mAb005
mAb006
mIgG
抗-5T4 Ab
hIgG

图6D

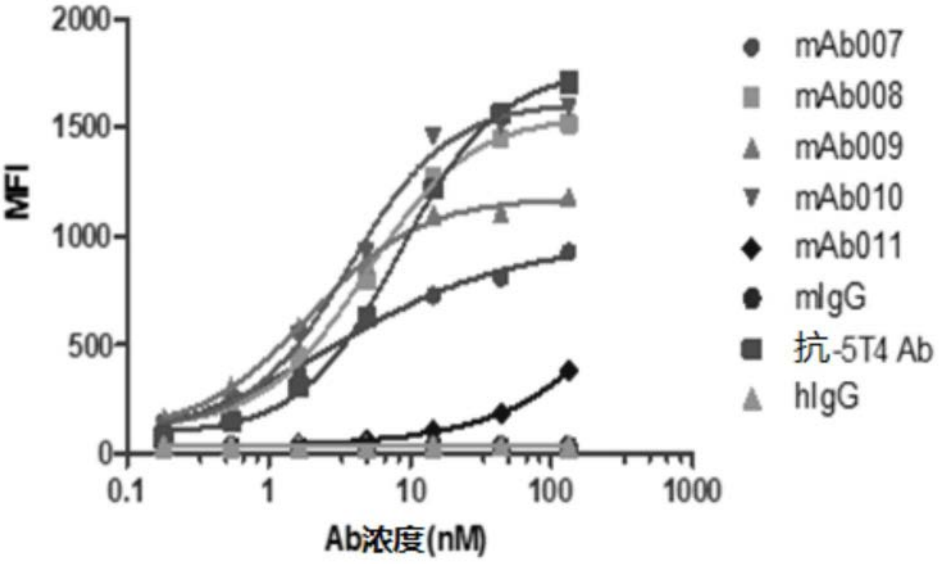

2000
1500
1000
500
0
MFI
0.1
1
10
100
1000
Ab浓度(nM)
mAb007
mAb008
mAb009
mAb010
mAb011
mIgG
抗-5T4 Ab
hIgG

图6E

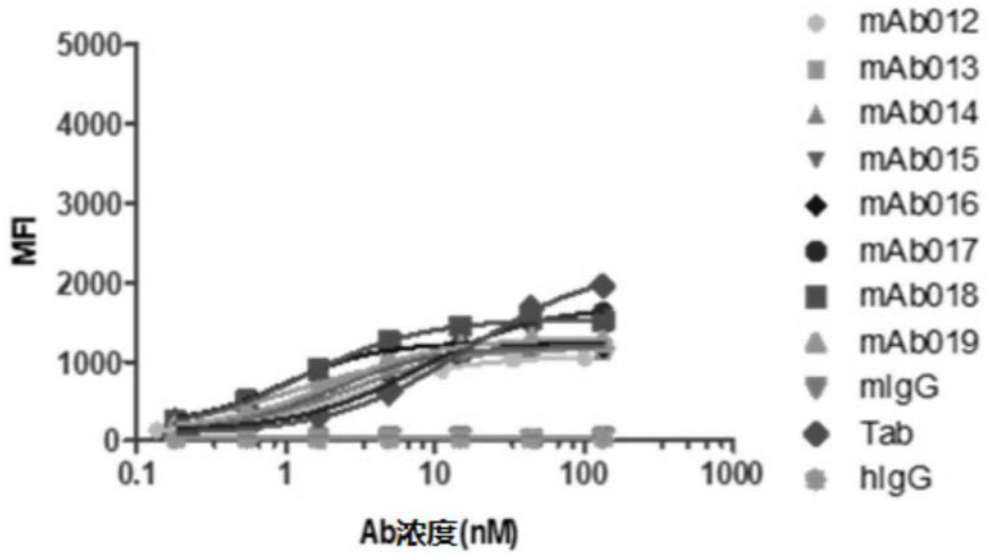

5000
4000
3000
2000
1000
0
MFI
0.1
1
10
100
1000
Ab浓度(nM)
mAb012
mAb013
mAb014
mAb015
mAb016
mAb017
mAb018
mAb019
mIgG
Tab
hIgG

图6F

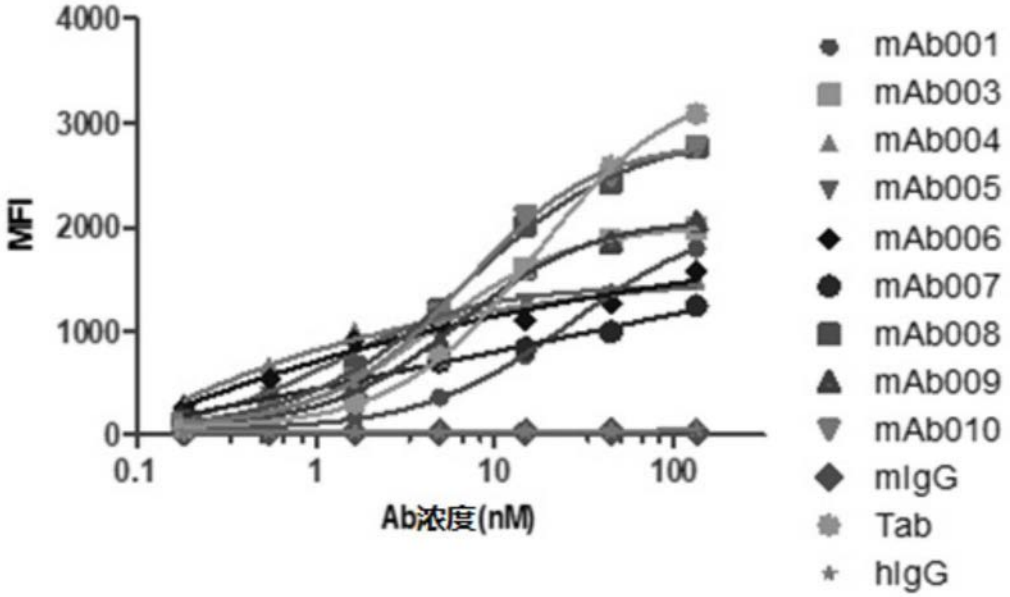

4000
3000
2000
1000
0
MFI
0.1
1
10
100
Ab浓度(nM)
mAb001
mAb003
mAb004
mAb005
mAb006
mAb007
mAb008
mAb009
mAb010
mIgG
Tab
hIgG

图6G

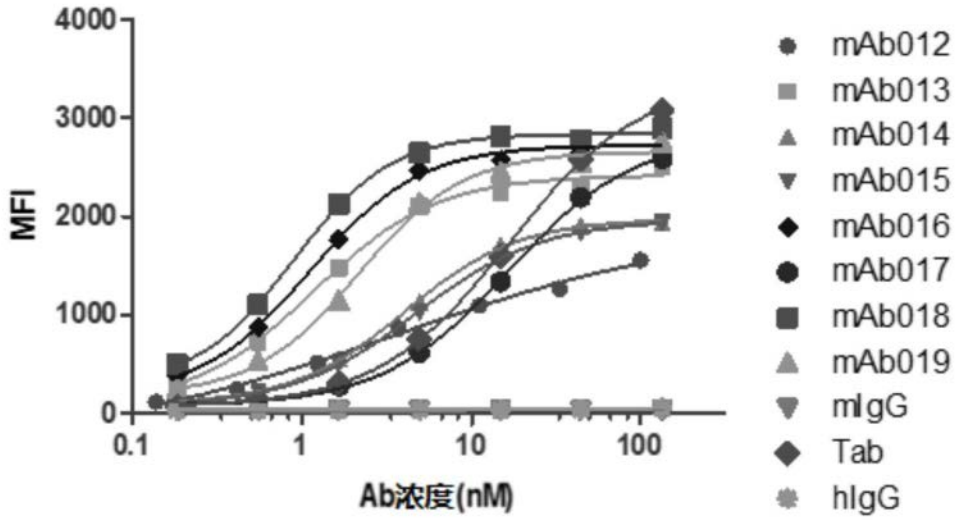

4000
3000
2000
1000
0
MFI
0.1
1
10
100
Ab浓度(nM)
mAb012
mAb013
mAb014
mAb015
mAb016
mAb017
mAb018
mAb019
mIgG
Tab
hIgG

图6H

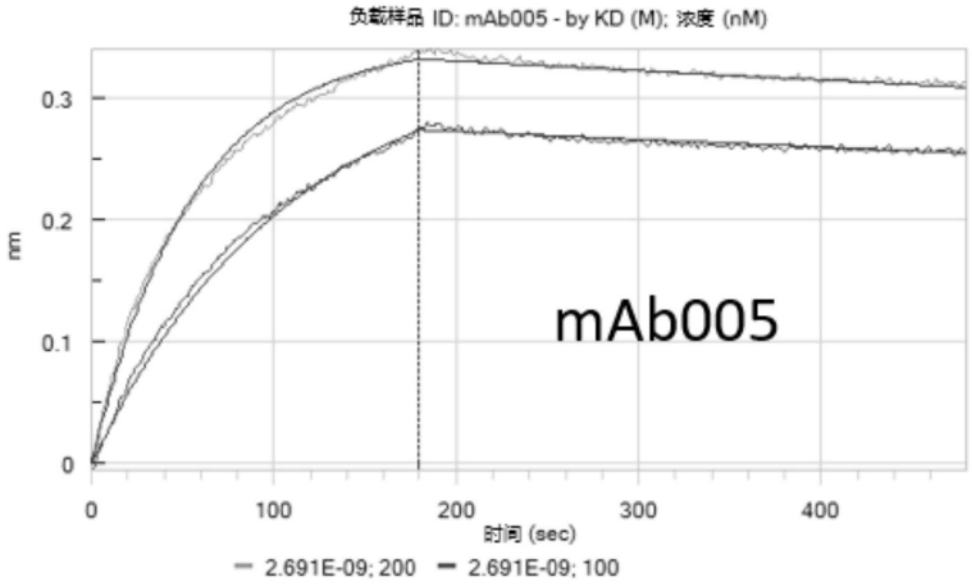

负载样品 ID: mAb005 - by KD (M); 浓度 (nM)
0.3
0.2
0.1
0
nm
mAb005
0
100
200
300
400
时间 (sec)
2.691E-09; 200
2.691E-09; 100

图7A

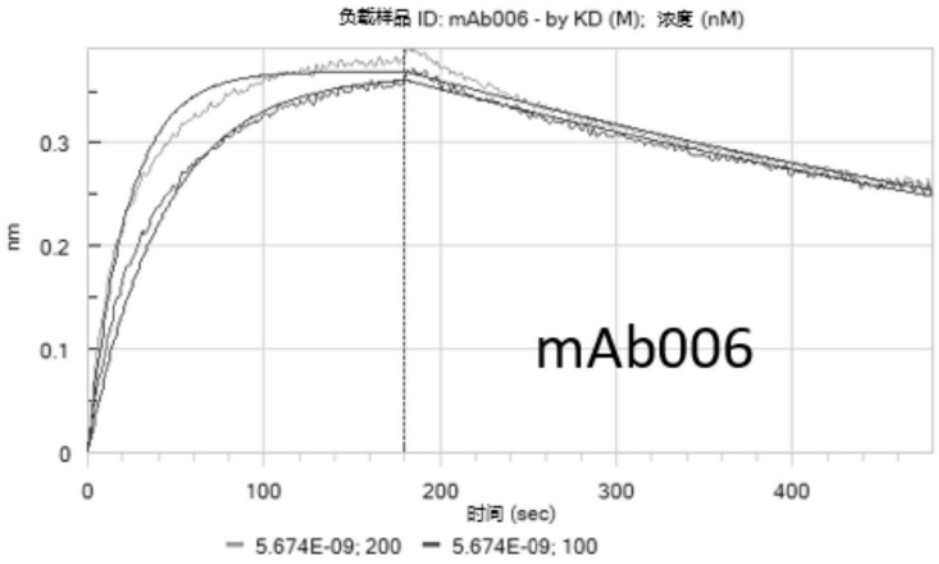

负载样品 ID: mAb006 - by KD (M); 浓度 (nM)
nm
0
0.1
0.2
0.3
0
100
200
300
400
时间 (sec)
mAb006
5.674E-09; 200
5.674E-09; 100

图7B

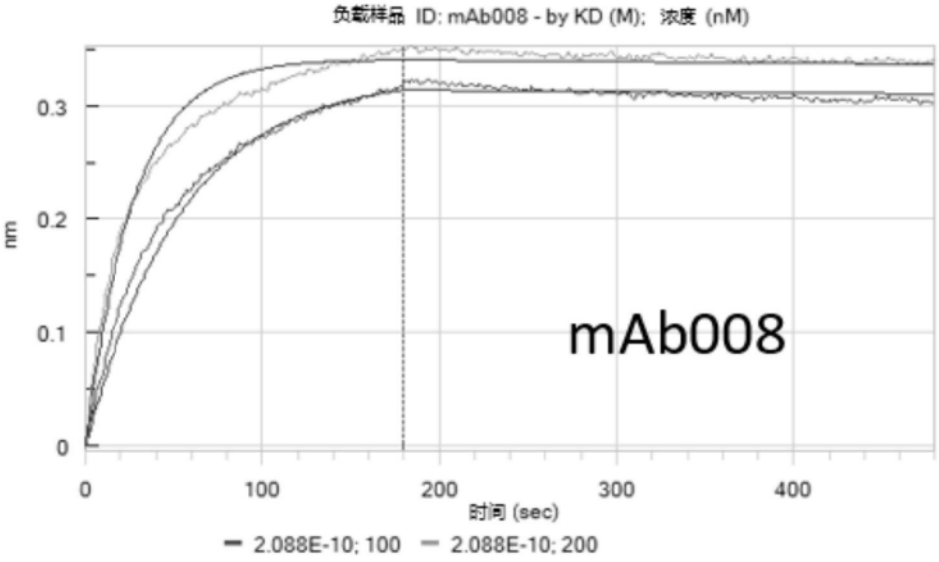

负载样品 ID: mAb008 - by KD (M); 浓度 (nM)
nm
0
0.1
0.2
0.3
0
100
200
300
400
时间 (sec)
mAb008
2.088E-10; 100
2.088E-10; 200

图7C

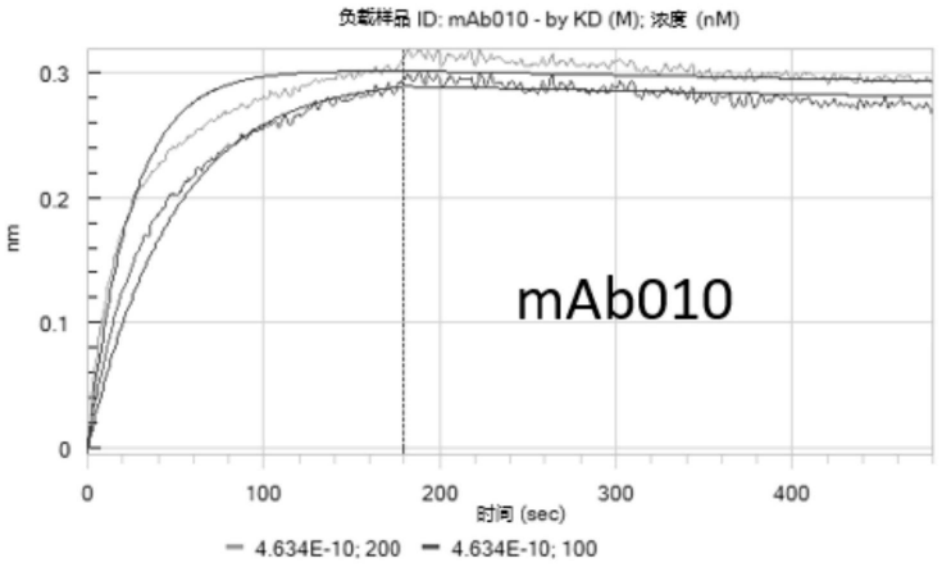

负载样品 ID: mAb010 - by KD (M); 浓度 (nM)
0.3
0.2
0.1
0
nm
mAb010
0
100
200
300
400
时间 (sec)
4.634E-10; 200
4.634E-10; 100

图7D

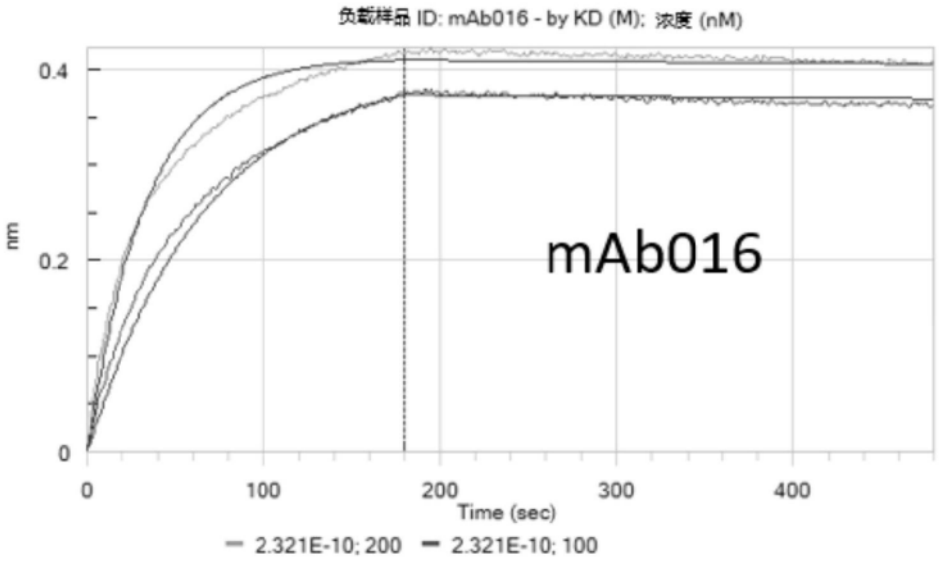

负载样品 ID: mAb016 - by KD (M); 浓度 (nM)
0.4
0.2
0
nm
mAb016
0
100
200
300
400
Time (sec)
2.321E-10; 200
2.321E-10; 100

图7E

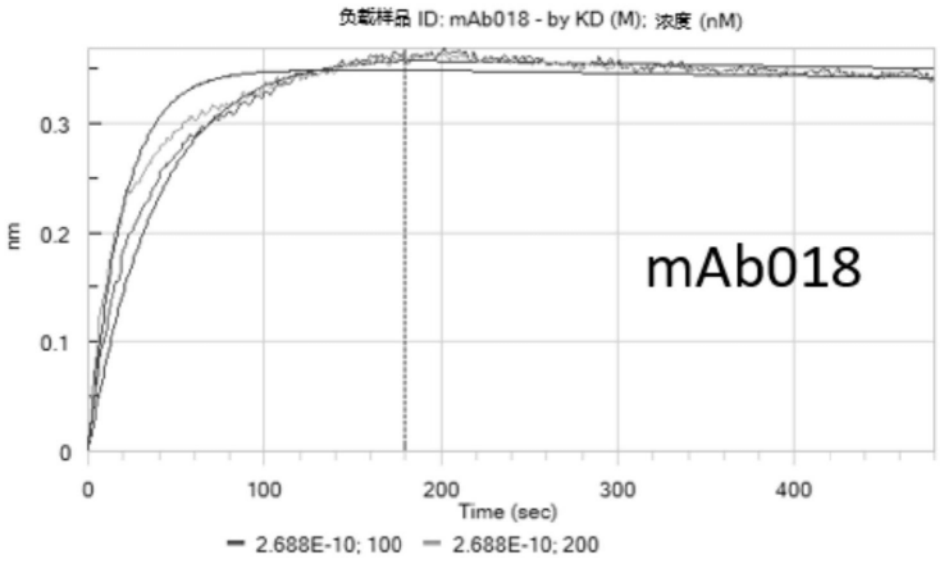
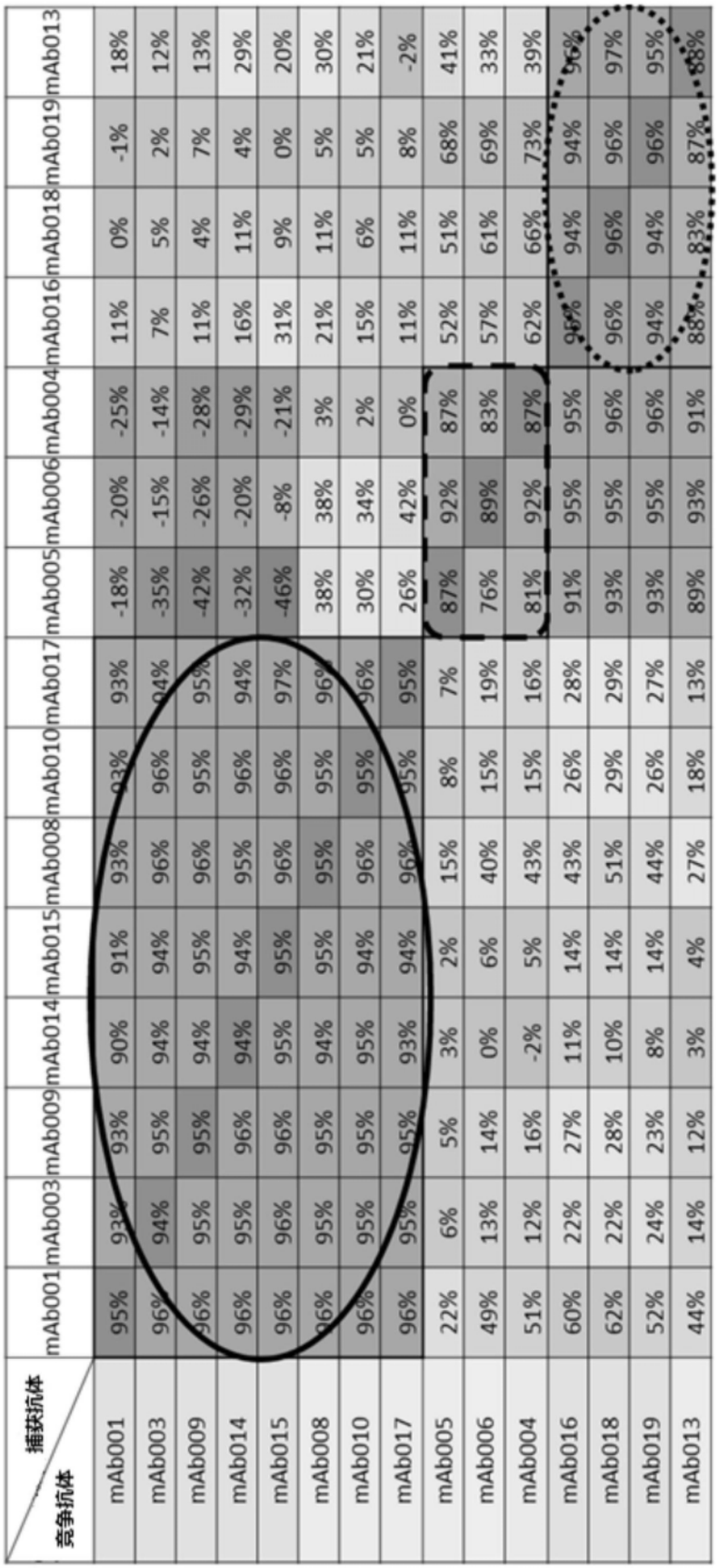


图7F

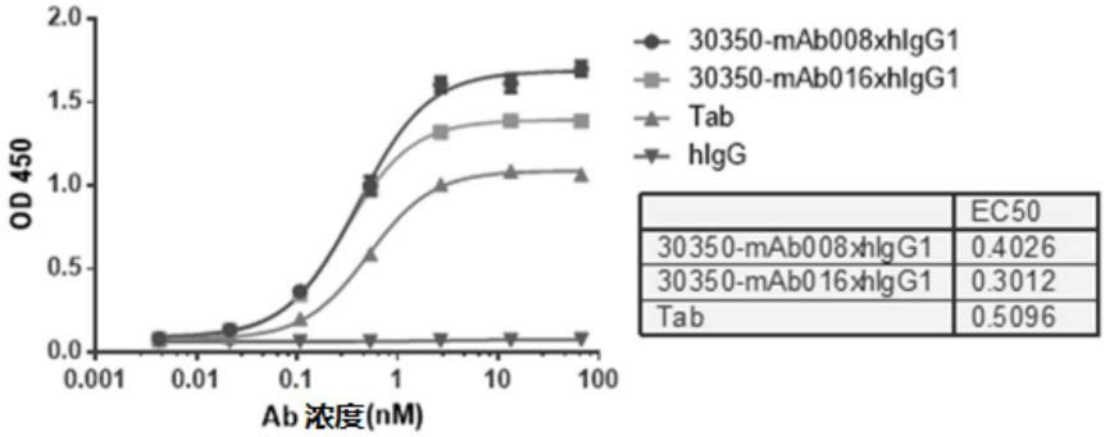
抗原	抗体	Full R^2	kon(1/Ms)	kd(1/s)	KD (M)
5T4-Fc	mAb005	0.9966	8.93E+04	2.40E-04	2.691E-09
	mAb006	0.9782	2.20E+05	1.25E-03	5.674E-09
	mAb008	0.9804	1.85E+05	3.87E-05	2.088E-10
	mAb010	0.9629	2.06E+05	9.53E-05	4.634E-10
	mAb016	0.9841	1.50E+05	3.48E-05	2.321E-10
	mAb018	0.9607	2.59E+05	6.97E-05	2.688E-10

图7G



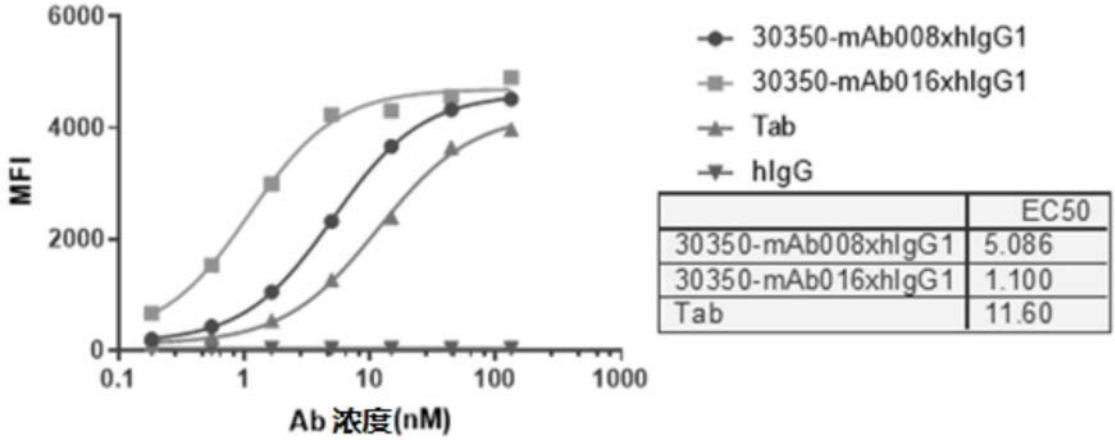
竞争抗体 \ 捕获抗体	mAb001	mAb003	mAb009	mAb014	mAb015	mAb008	mAb010	mAb017	mAb005	mAb006	mAb004	mAb016	mAb018	mAb019	mAb013
mAb001	95%	93%	93%	90%	91%	93%	93%	93%	-18%	-20%	-25%	11%	0%	-1%	18%
mAb003	96%	94%	95%	94%	94%	96%	96%	94%	-35%	-15%	-14%	7%	5%	2%	12%
mAb009	96%	95%	95%	94%	95%	96%	95%	95%	-42%	-26%	-28%	11%	4%	7%	13%
mAb014	96%	95%	96%	94%	94%	95%	96%	94%	-32%	-20%	-29%	16%	11%	4%	29%
mAb015	96%	96%	96%	95%	95%	96%	96%	97%	-46%	-8%	-21%	31%	9%	0%	20%
mAb008	96%	95%	95%	94%	95%	95%	95%	96%	38%	38%	3%	21%	11%	5%	30%
mAb010	96%	95%	95%	95%	94%	96%	95%	96%	30%	34%	2%	15%	6%	5%	21%
mAb017	96%	95%	95%	93%	94%	96%	95%	95%	26%	42%	0%	11%	11%	8%	-2%
mAb005	22%	6%	5%	3%	2%	15%	8%	7%	87%	92%	87%	52%	51%	68%	41%
mAb006	49%	13%	14%	0%	6%	40%	15%	19%	76%	89%	83%	57%	61%	69%	33%
mAb004	51%	12%	16%	-2%	5%	43%	15%	16%	81%	92%	87%	62%	66%	73%	39%
mAb016	60%	22%	27%	11%	14%	43%	26%	28%	91%	95%	95%	96%	94%	94%	96%
mAb018	62%	22%	28%	10%	14%	51%	29%	29%	93%	95%	96%	96%	96%	96%	97%
mAb019	52%	24%	23%	8%	14%	44%	26%	27%	93%	95%	96%	94%	94%	96%	95%
mAb013	44%	14%	12%	3%	4%	27%	18%	13%	89%	93%	91%	88%	83%	87%	88%

图8



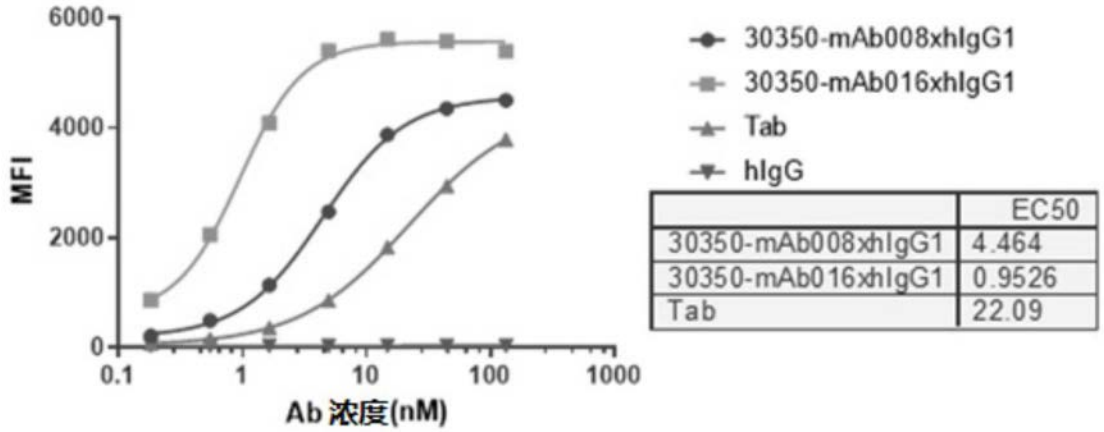
	EC50
30350-mAb008xhIgG1	0.4026
30350-mAb016xhIgG1	0.3012
Tab	0.5096

图9A



	EC50
30350-mAb008xhIgG1	5.086
30350-mAb016xhIgG1	1.100
Tab	11.60

图9B



	EC50
30350-mAb008xhIgG1	4.464
30350-mAb016xhIgG1	0.9526
Tab	22.09

图9C

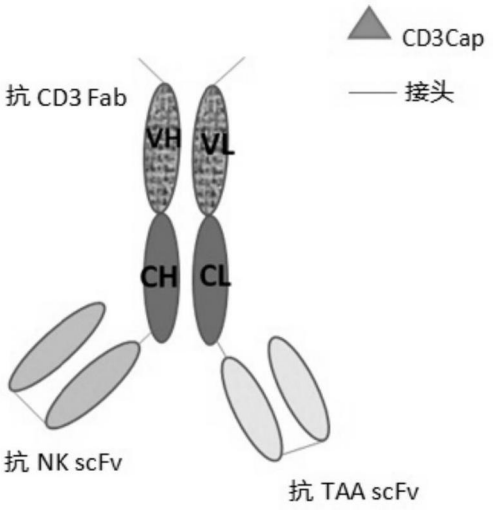

CD3Cap
接头
抗 CD3 Fab
VH
VL
CH
CL
抗 NK scFv
抗 TAA scFv

图10A

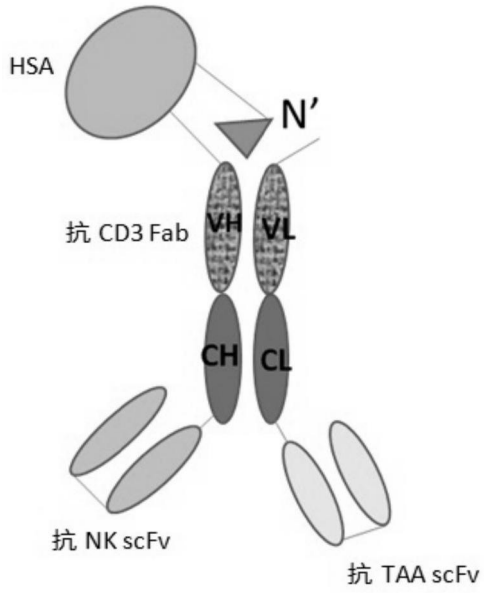

HSA
N'
抗 CD3 Fab
VH
VL
CH
CL
抗 NK scFv
抗 TAA scFv

图10B

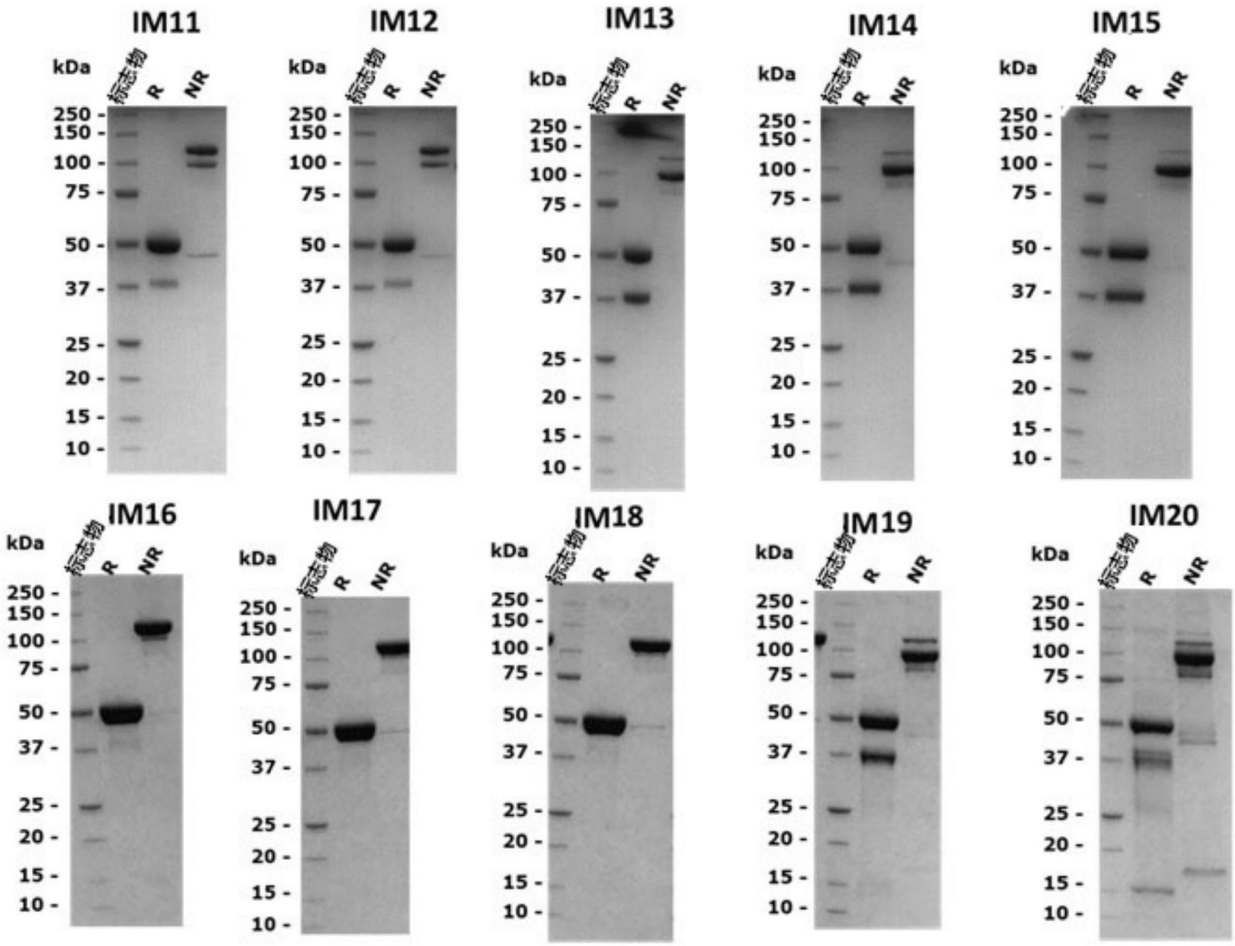

IM11
IM12
IM13
IM14
IM15
IM16
IM17
IM18
IM19
IM20
kDa
标志物
R
NR
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10

图11

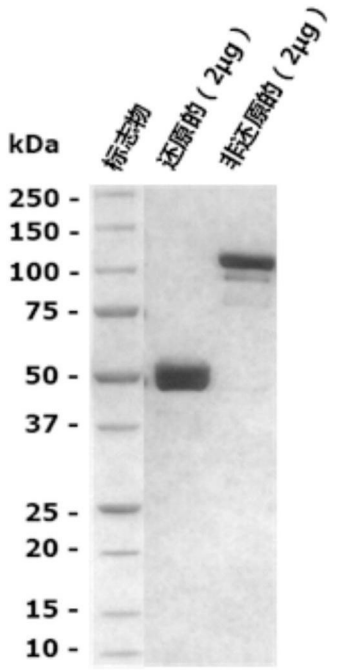
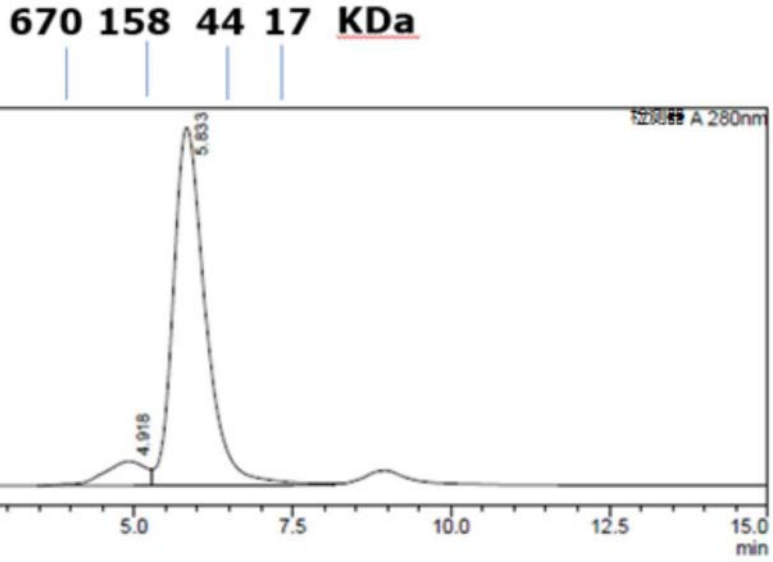


图12A



<峰表>

检测器 A280nm

保留时间	面积	面积%	高度	高度%
4.918	707454	8.048	15376	6.294
5.833	8083379	91.952	228917	93.706
	8790833	100.000	244293	100.000

图12B

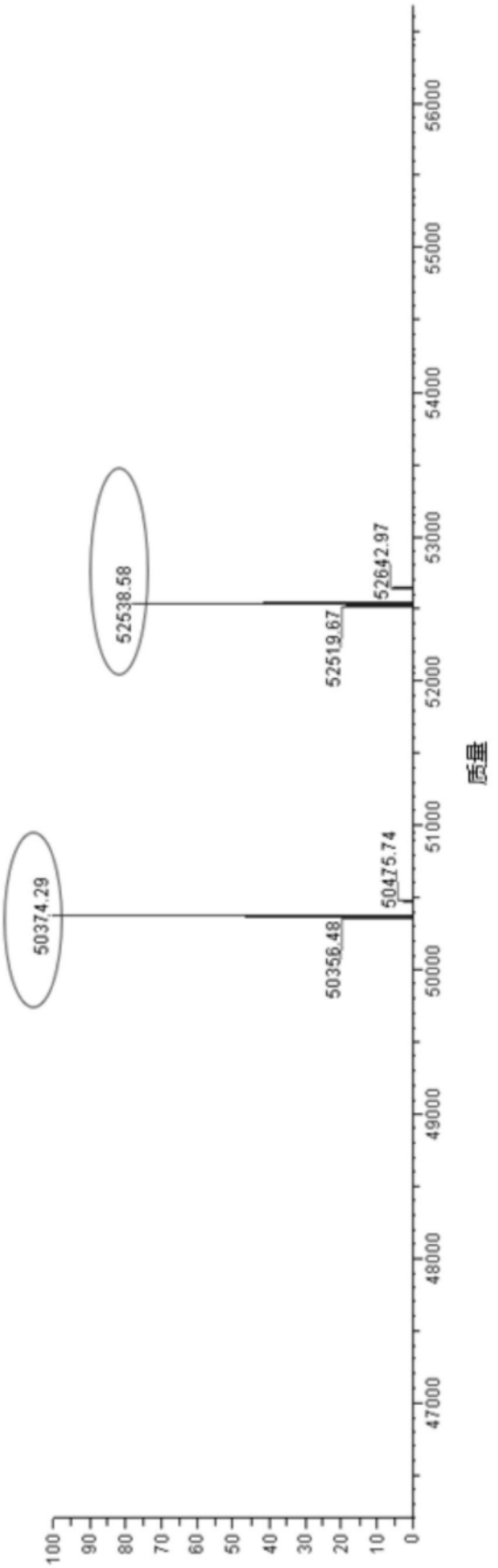

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
47000
48000
49000
50000
51000
52000
53000
54000
55000
56000
质量
50374.29
50356.48
50475.74
52538.58
52519.67
52642.97

图13A

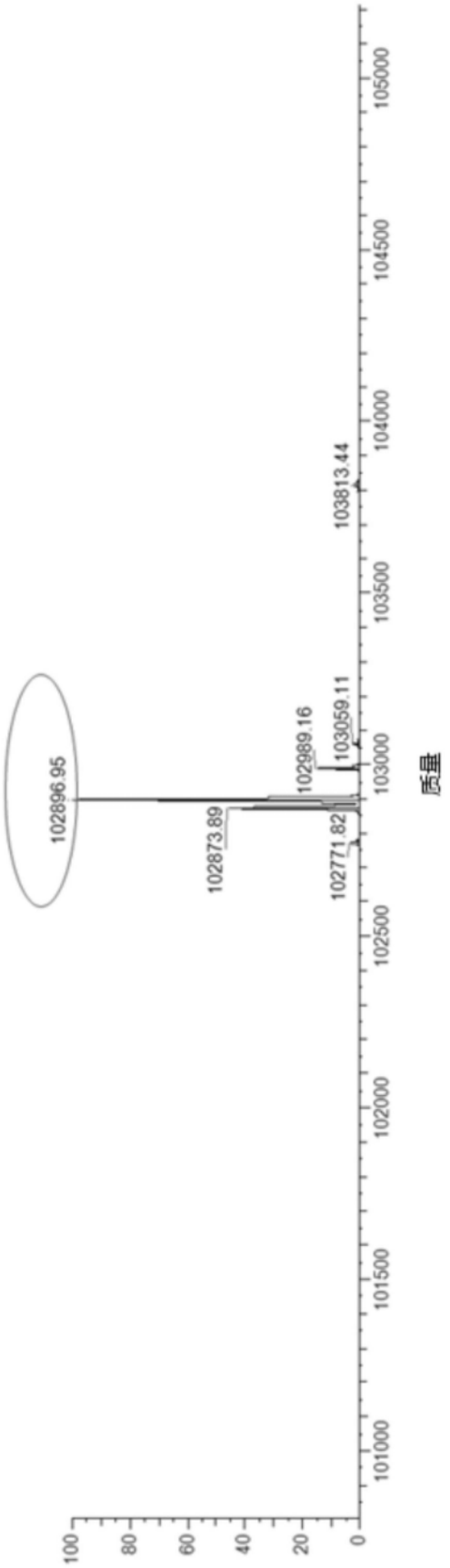

102896.95
102873.89
102989.16
103059.11
102771.82
103813.44
质量
100
80
60
40
20
0
101000
101500
102000
102500
103000
103500
104000
104500
105000

图13B

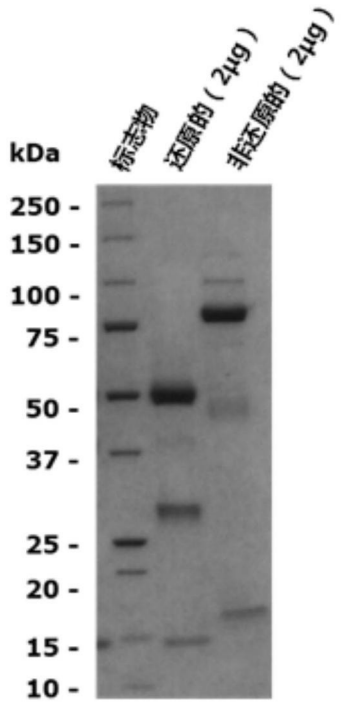
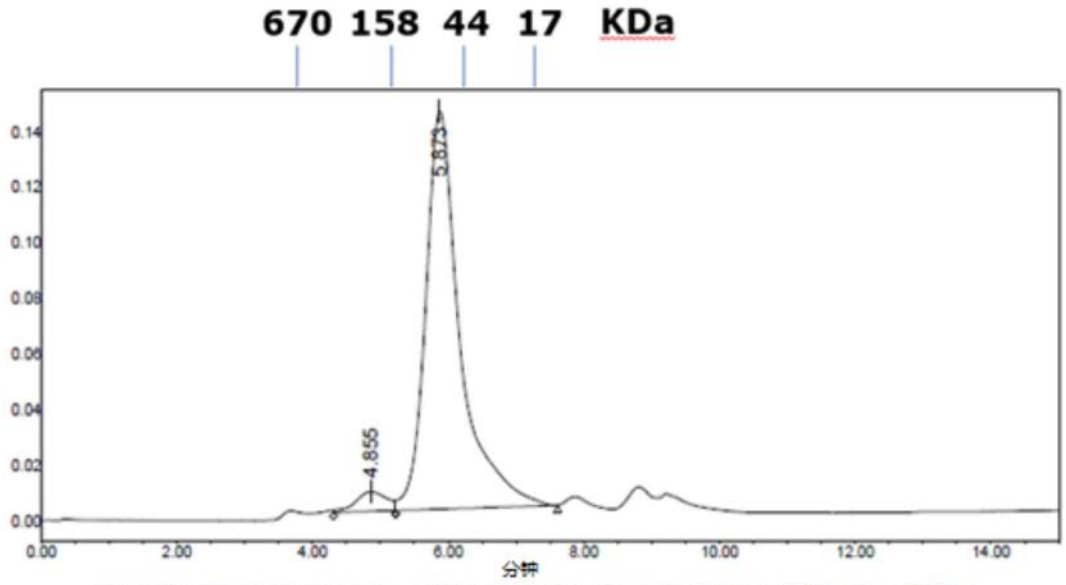


图14A



	RT(min)	面积	%面积	高度	%高度
1	4.855	225051.299	4.26	7020	4.68
2	5.873	5055350.911	95.74	143066	95.32

图14B

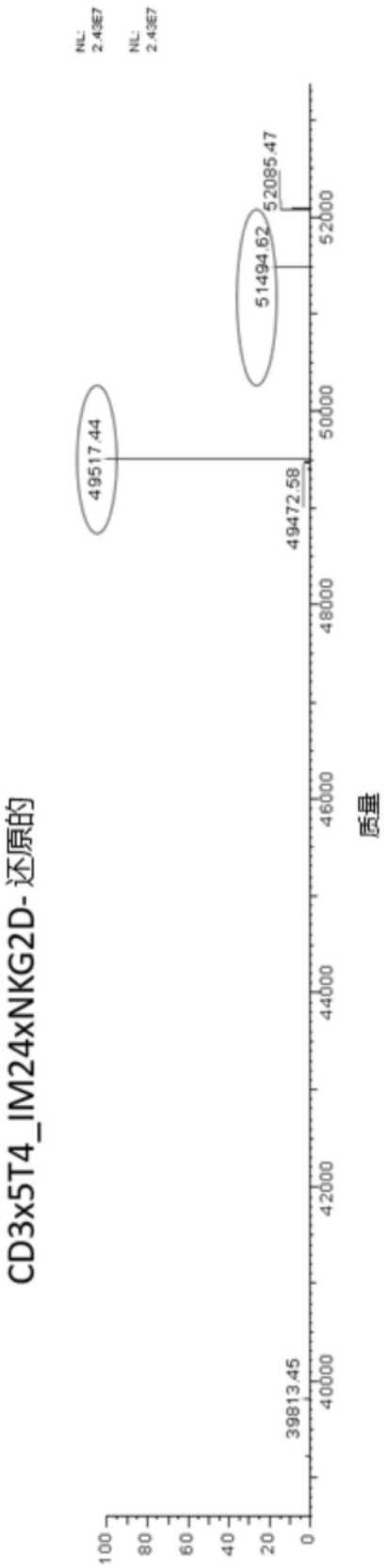

CD3x5T4_IM24xNKG2D-还原的
NL:
2.43E7
NL:
2.43E7
49517.44
49472.58
51494.62
52085.47
39813.45
质量
100
80
60
40
20
0
40000
42000
44000
46000
48000
50000
52000

图15A

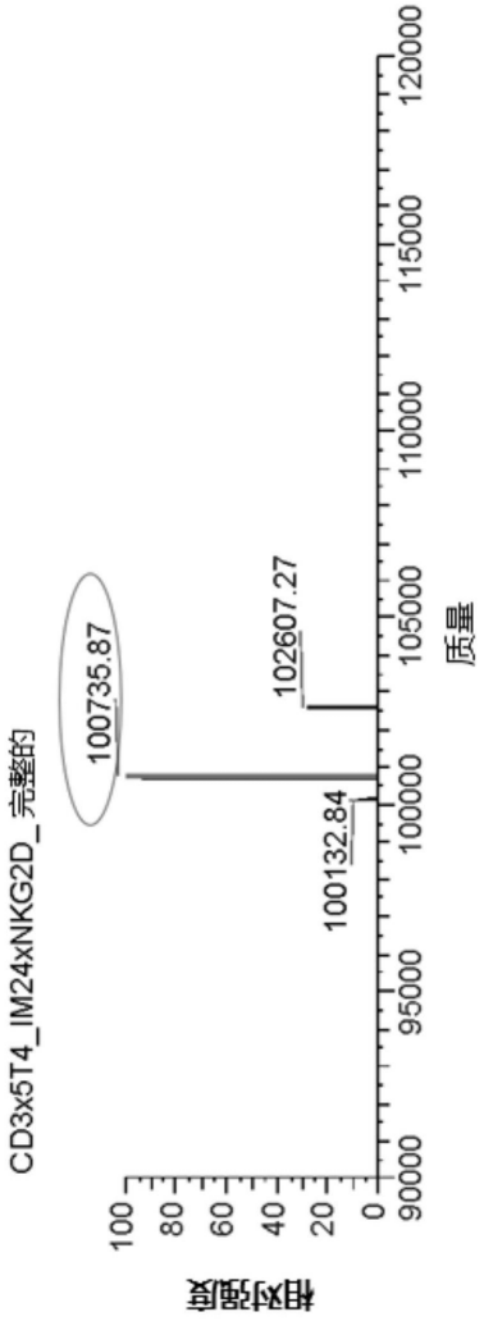

CD3x5T4_IM24xNKG2D_完整的
100735.87
102607.27
100132.84
相对强度
质量
100
80
60
40
20
0
90000
95000
100000
105000
110000
115000
120000

图15B

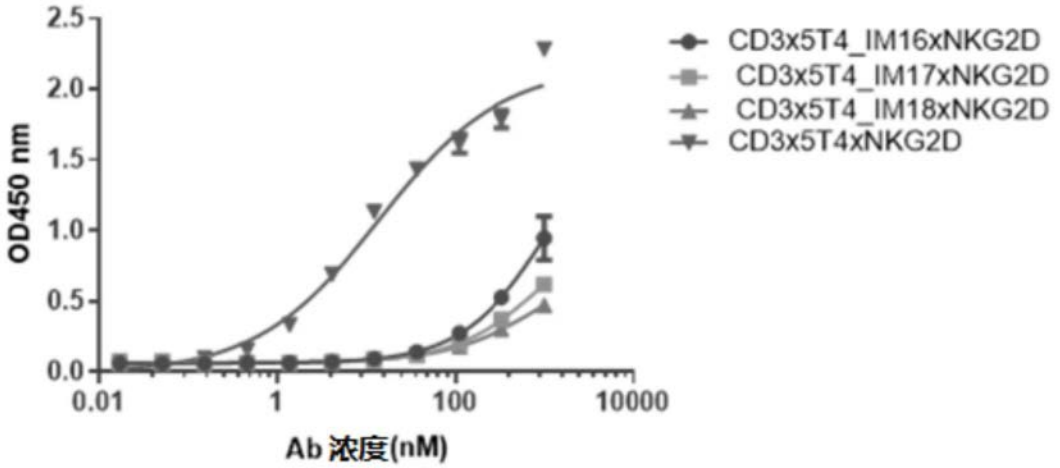


图16A

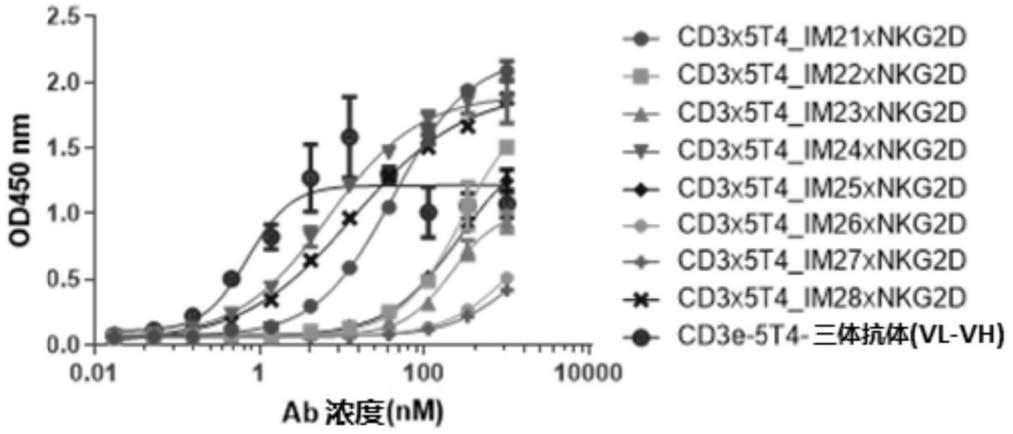


图16B

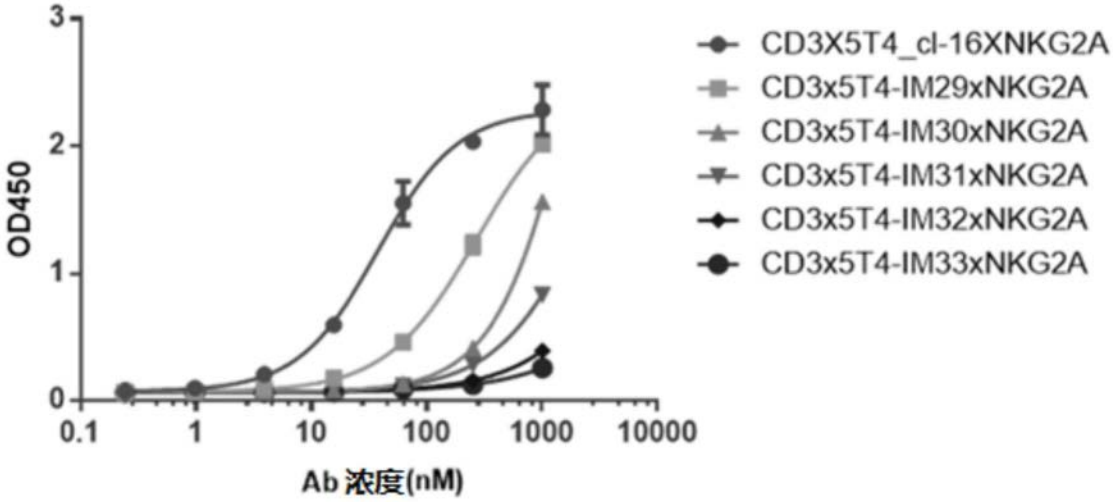


图16C

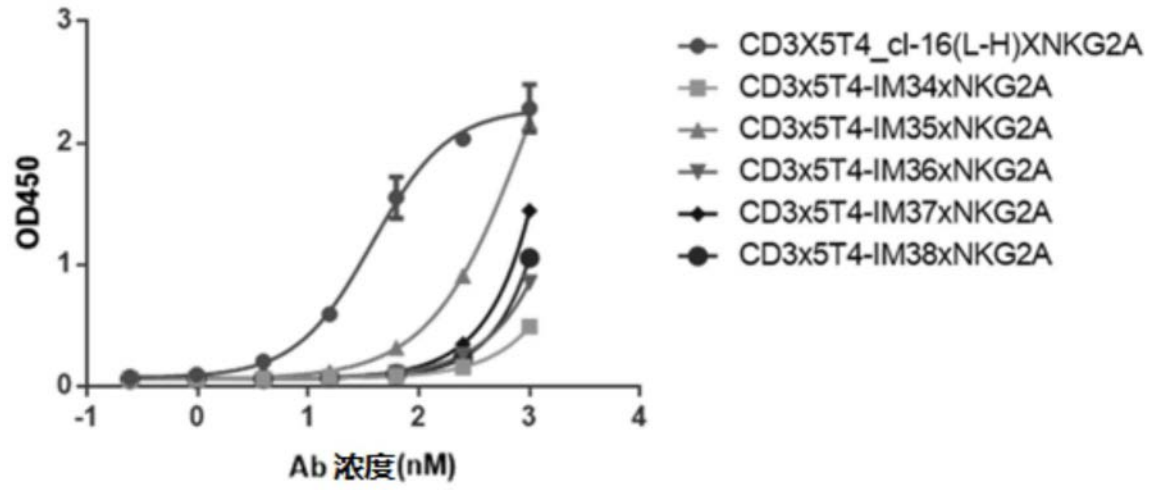

OD450
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16(L-H)XNKG2A
CD3x5T4-IM34xNKG2A
CD3x5T4-IM35xNKG2A
CD3x5T4-IM36xNKG2A
CD3x5T4-IM37xNKG2A
CD3x5T4-IM38xNKG2A

图16D

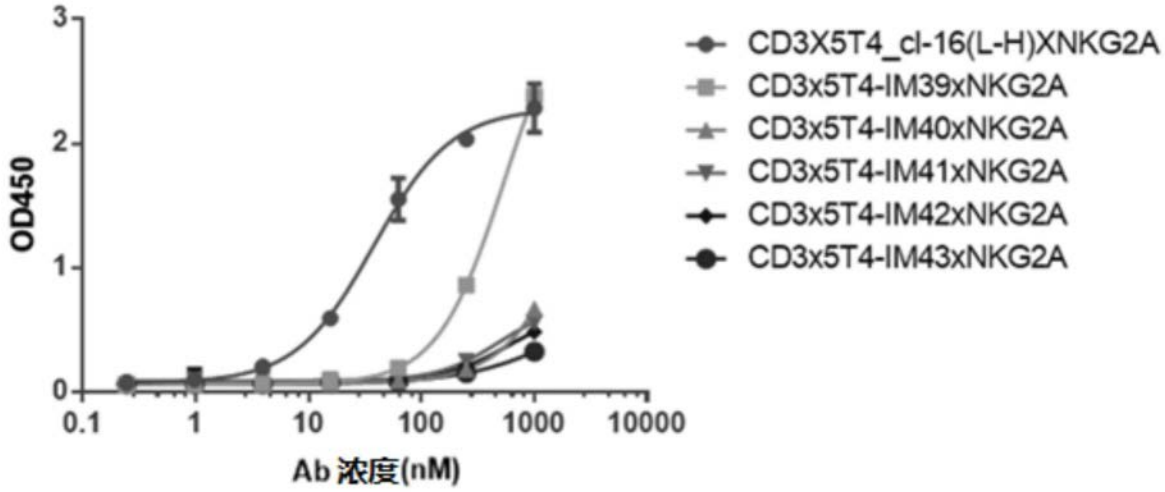

OD450
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16(L-H)XNKG2A
CD3x5T4-IM39xNKG2A
CD3x5T4-IM40xNKG2A
CD3x5T4-IM41xNKG2A
CD3x5T4-IM42xNKG2A
CD3x5T4-IM43xNKG2A

图16E

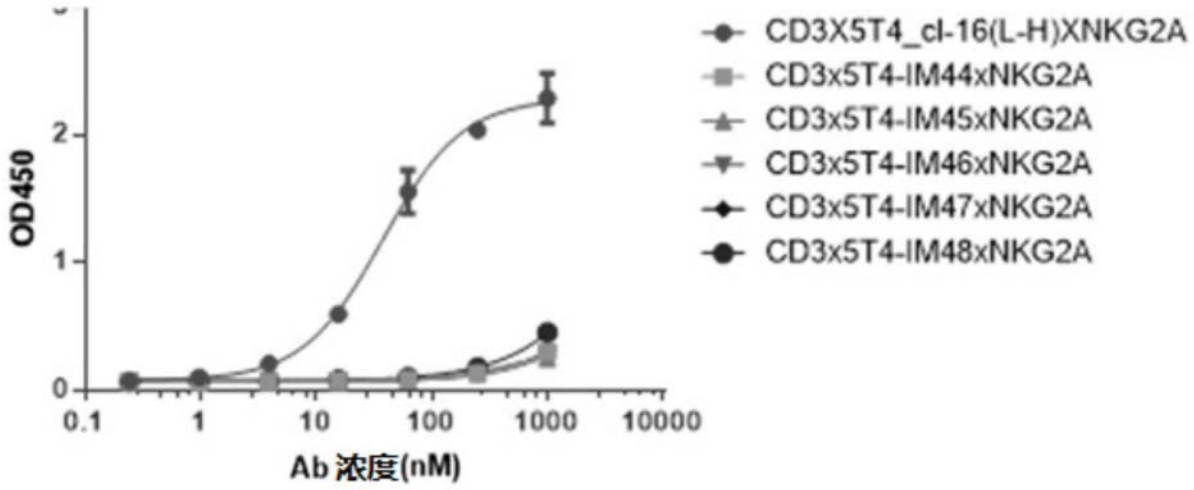

CD3X5T4_cl-16(L-H)XNKG2A
CD3x5T4-IM44xNKG2A
CD3x5T4-IM45xNKG2A
CD3x5T4-IM46xNKG2A
CD3x5T4-IM47xNKG2A
CD3x5T4-IM48xNKG2A
OD450
0
1
2
0.1
1
10
100
1000
10000
Ab 浓度(nM)

图16F

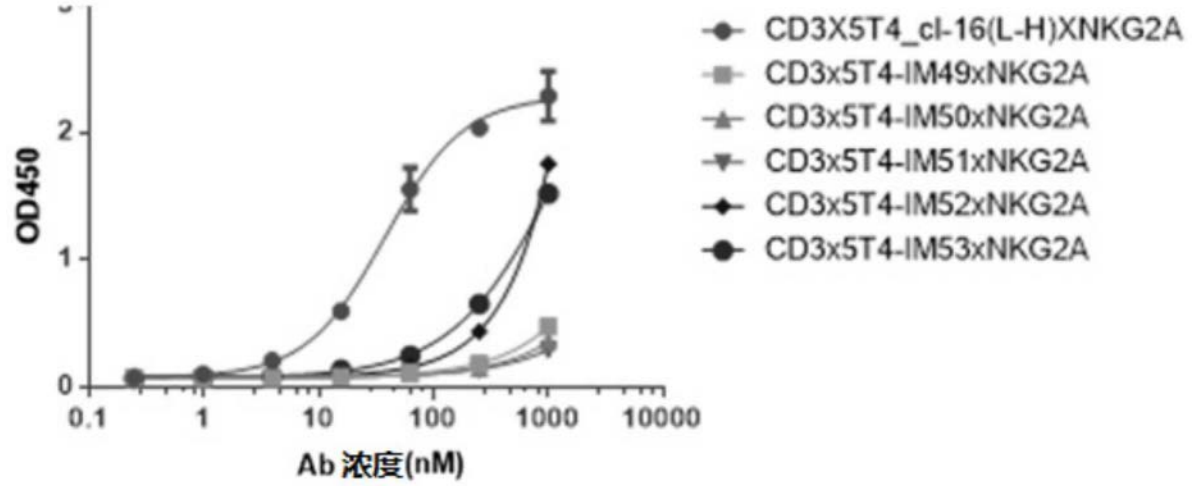

CD3X5T4_cl-16(L-H)XNKG2A
CD3x5T4-IM49xNKG2A
CD3x5T4-IM50xNKG2A
CD3x5T4-IM51xNKG2A
CD3x5T4-IM52xNKG2A
CD3x5T4-IM53xNKG2A
OD450
0
1
2
0.1
1
10
100
1000
10000
Ab 浓度(nM)

图16G

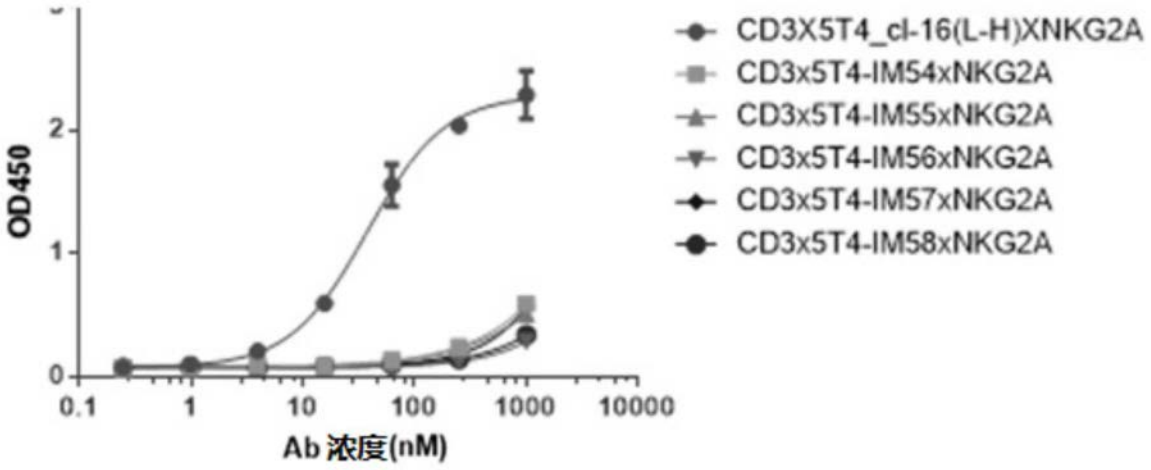


图16H

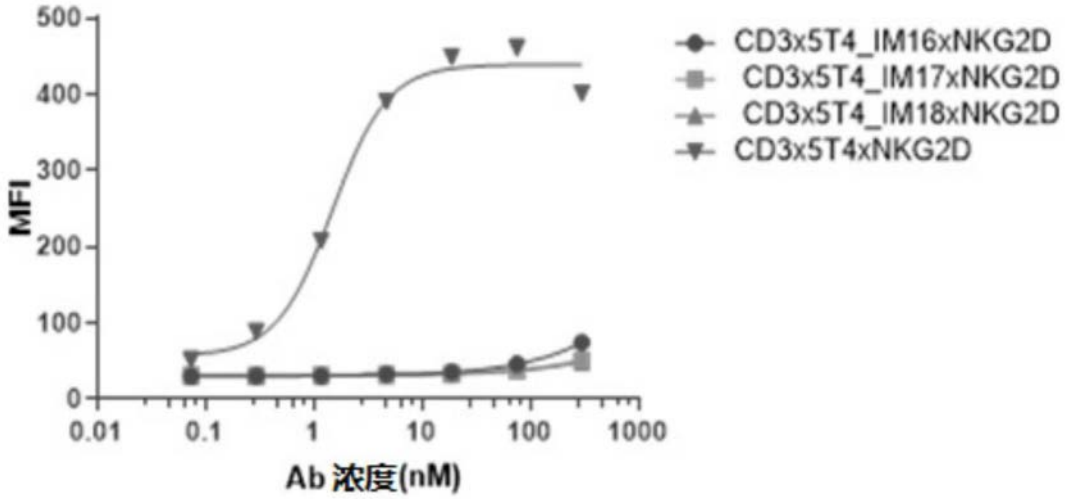


图17A

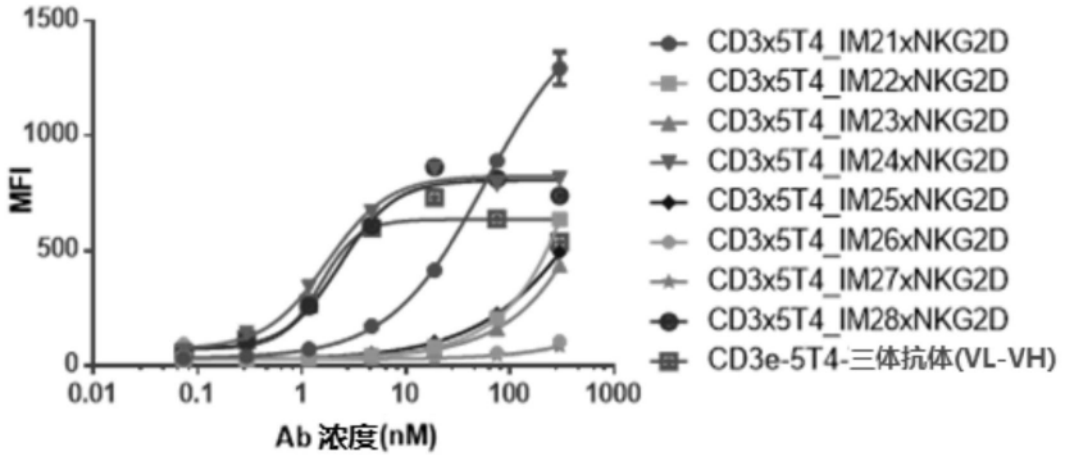


图17B

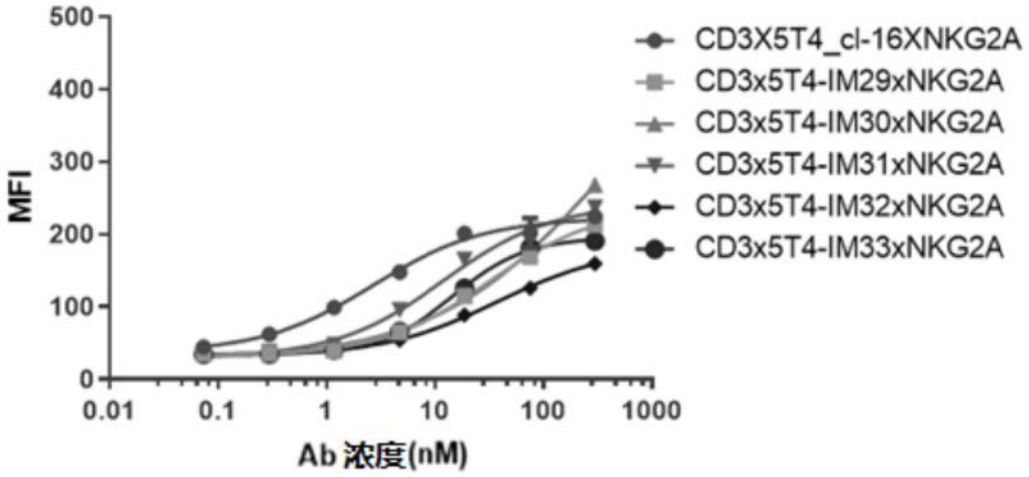

500
400
300
200
100
0
MFI
0.01
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16XNKG2A
CD3x5T4-IM29xNKG2A
CD3x5T4-IM30xNKG2A
CD3x5T4-IM31xNKG2A
CD3x5T4-IM32xNKG2A
CD3x5T4-IM33xNKG2A

图17C

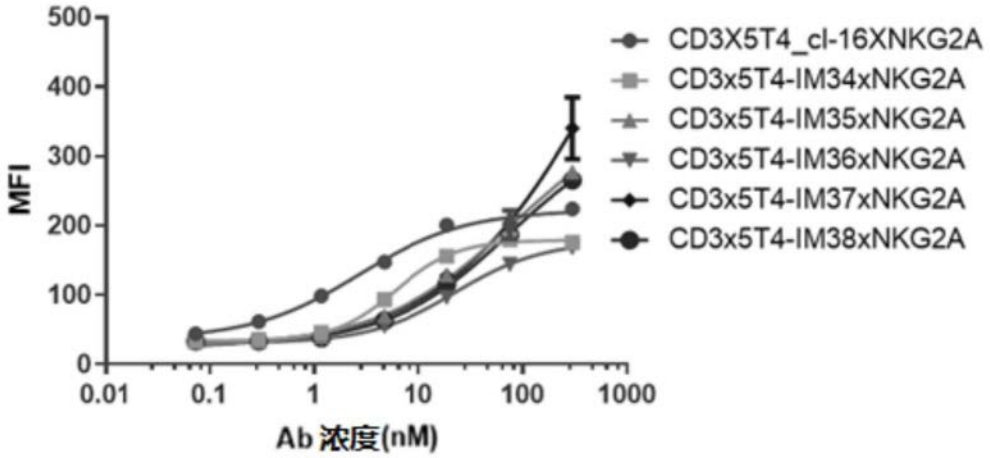

500
400
300
200
100
0
MFI
0.01
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16XNKG2A
CD3x5T4-IM34xNKG2A
CD3x5T4-IM35xNKG2A
CD3x5T4-IM36xNKG2A
CD3x5T4-IM37xNKG2A
CD3x5T4-IM38xNKG2A

图17D

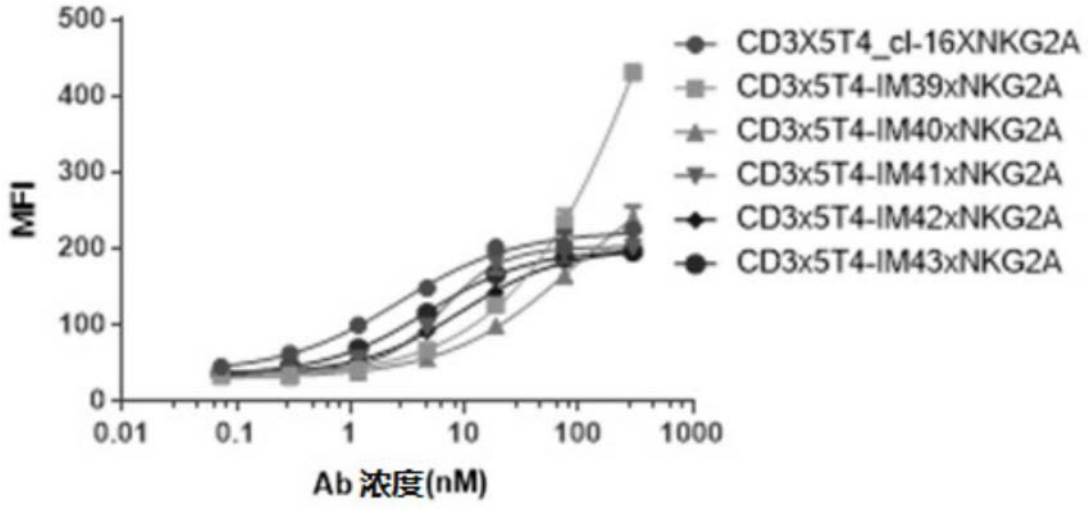

500
400
300
200
100
0
MFI
0.01
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16XNKG2A
CD3x5T4-IM39xNKG2A
CD3x5T4-IM40xNKG2A
CD3x5T4-IM41xNKG2A
CD3x5T4-IM42xNKG2A
CD3x5T4-IM43xNKG2A

图17E

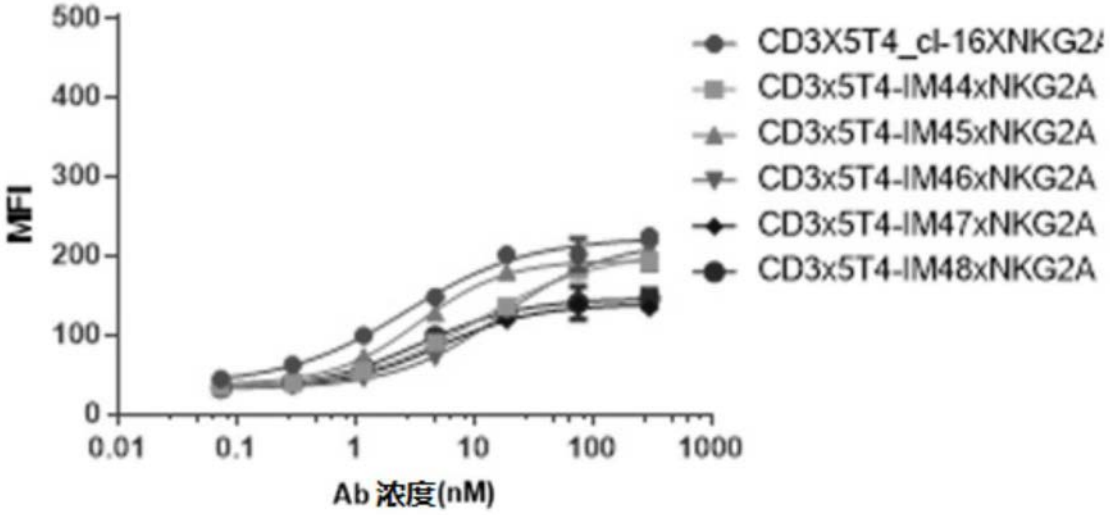

500
400
300
200
100
0
MFI
0.01
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16XNKG2A
CD3x5T4-IM44xNKG2A
CD3x5T4-IM45xNKG2A
CD3x5T4-IM46xNKG2A
CD3x5T4-IM47xNKG2A
CD3x5T4-IM48xNKG2A

图17F

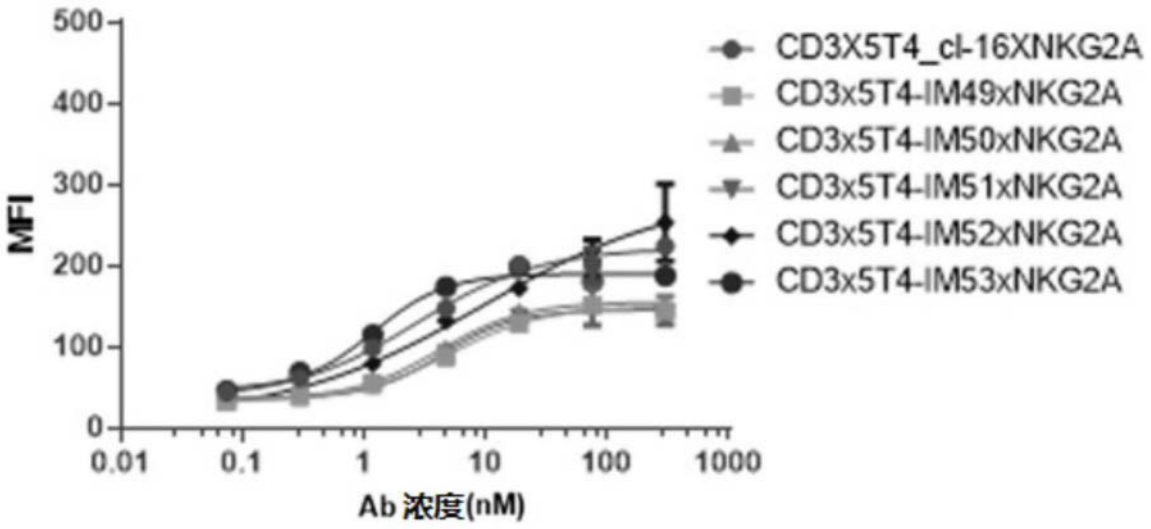

500
400
300
200
100
0
MFI
0.01
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16XNKG2A
CD3x5T4-IM49xNKG2A
CD3x5T4-IM50xNKG2A
CD3x5T4-IM51xNKG2A
CD3x5T4-IM52xNKG2A
CD3x5T4-IM53xNKG2A

图17G

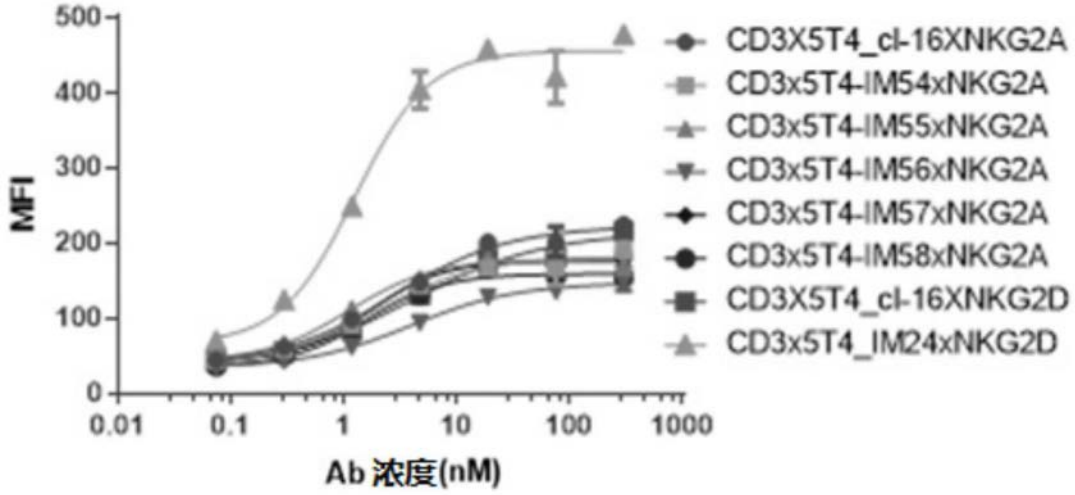

500
400
300
200
100
0
MFI
0.01
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16XNKG2A
CD3x5T4-IM54xNKG2A
CD3x5T4-IM55xNKG2A
CD3x5T4-IM56xNKG2A
CD3x5T4-IM57xNKG2A
CD3x5T4-IM58xNKG2A
CD3X5T4_cl-16XNKG2D
CD3x5T4_IM24xNKG2D

图17H

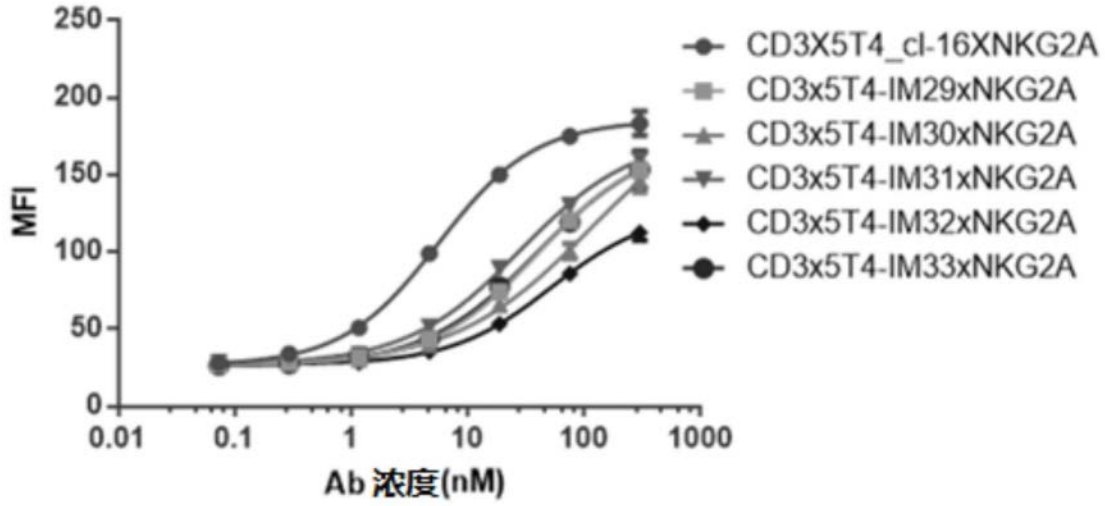

250
200
150
100
50
0
MFI
0.01
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16XNKG2A
CD3x5T4-IM29xNKG2A
CD3x5T4-IM30xNKG2A
CD3x5T4-IM31xNKG2A
CD3x5T4-IM32xNKG2A
CD3x5T4-IM33xNKG2A

图17I

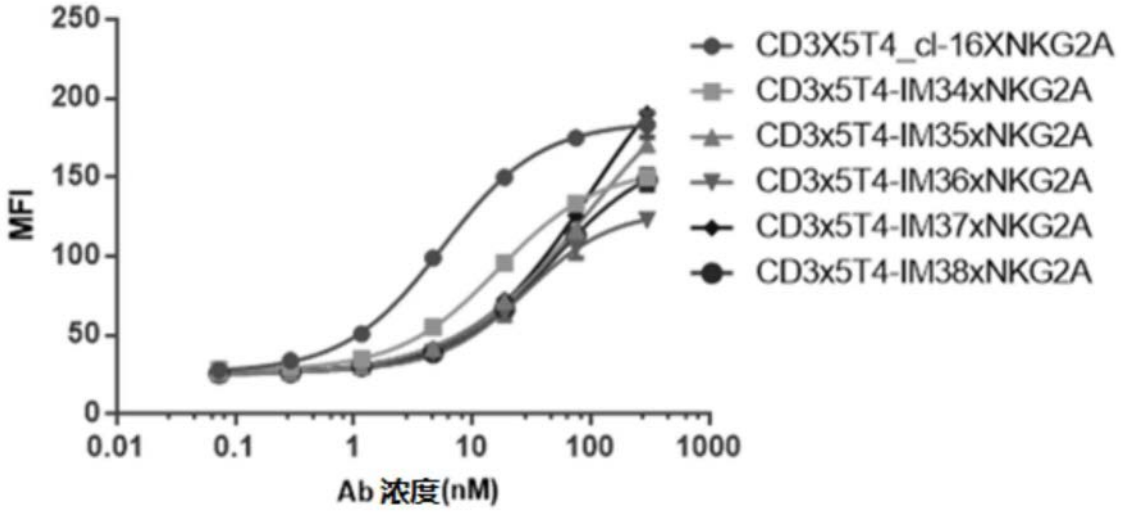

250
200
150
100
50
0
MFI
0.01
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16XNKG2A
CD3x5T4-IM34xNKG2A
CD3x5T4-IM35xNKG2A
CD3x5T4-IM36xNKG2A
CD3x5T4-IM37xNKG2A
CD3x5T4-IM38xNKG2A

图17J

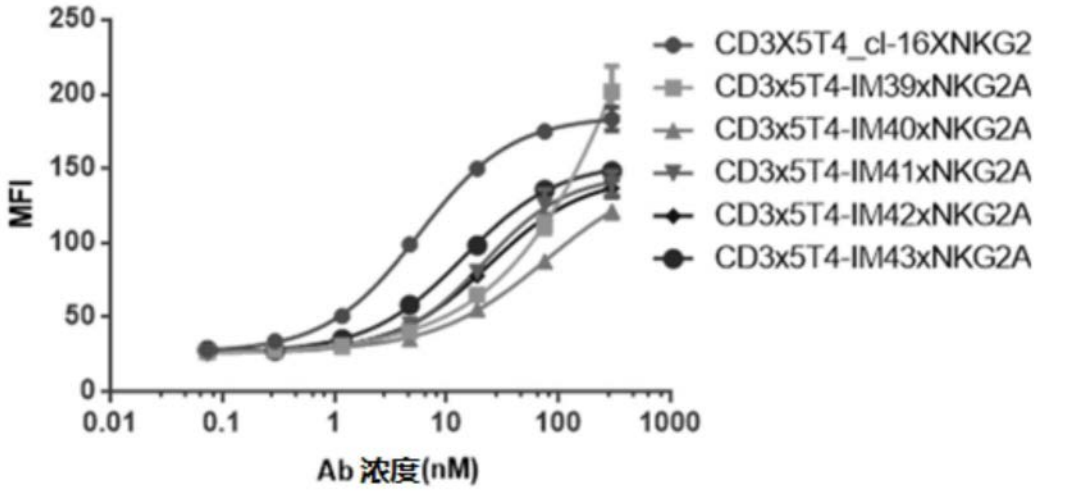

250
200
150
100
50
0
MFI
0.01
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16XNKG2
CD3x5T4-IM39xNKG2A
CD3x5T4-IM40xNKG2A
CD3x5T4-IM41xNKG2A
CD3x5T4-IM42xNKG2A
CD3x5T4-IM43xNKG2A

图17K

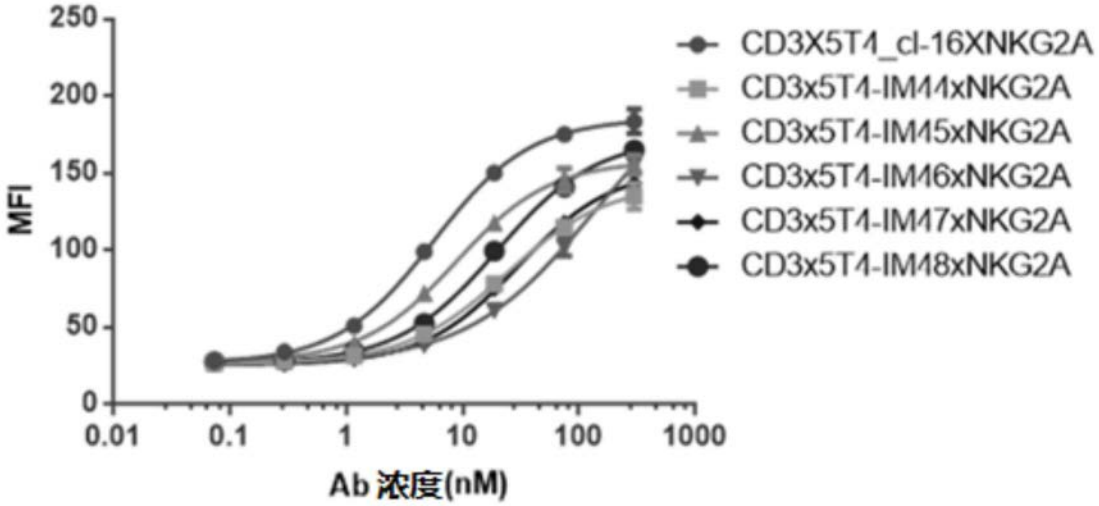

250
200
150
100
50
0
MFI
0.01
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16XNKG2A
CD3x5T4-IM44xNKG2A
CD3x5T4-IM45xNKG2A
CD3x5T4-IM46xNKG2A
CD3x5T4-IM47xNKG2A
CD3x5T4-IM48xNKG2A

图17L

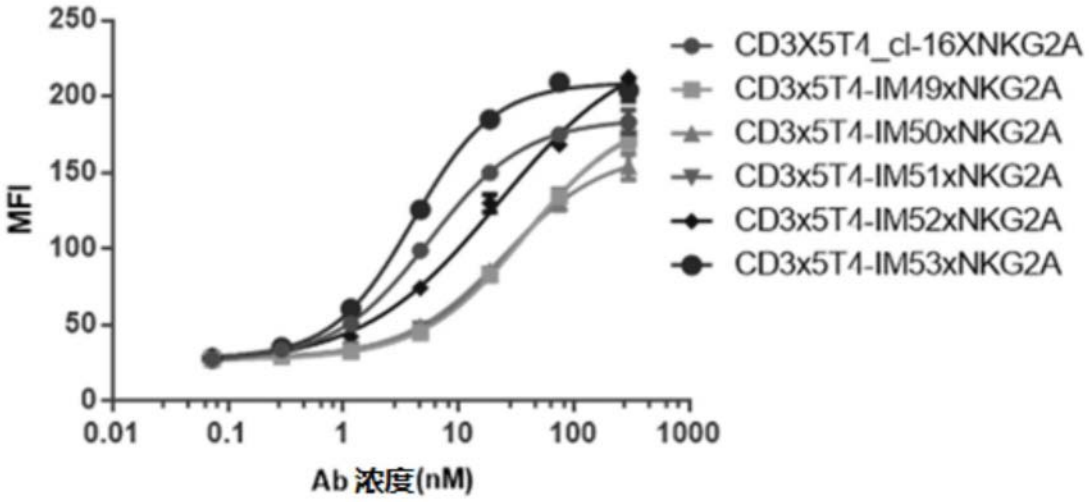

250
200
150
100
50
0
MFI
0.01
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16XNKG2A
CD3x5T4-IM49xNKG2A
CD3x5T4-IM50xNKG2A
CD3x5T4-IM51xNKG2A
CD3x5T4-IM52xNKG2A
CD3x5T4-IM53xNKG2A

图17M

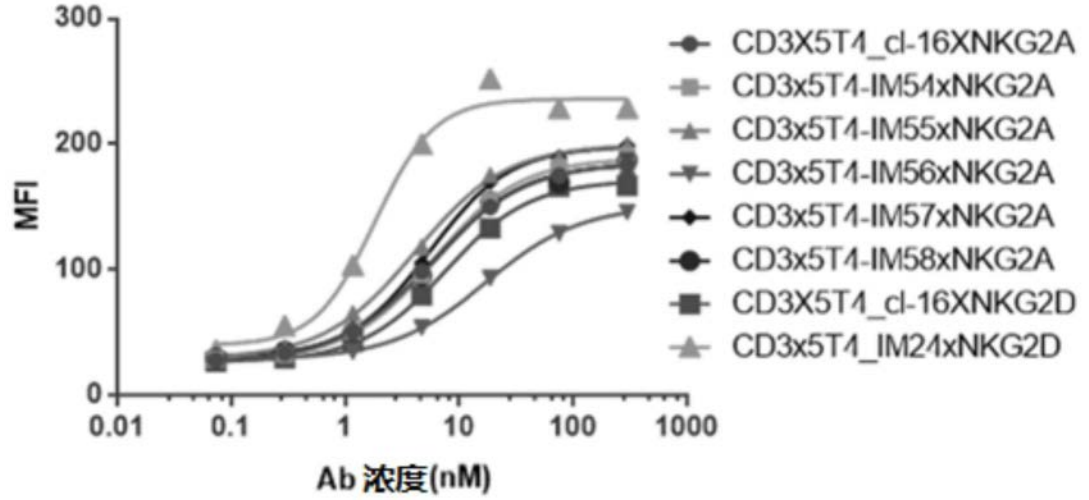

300
200
100
0
MFI
0.01
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度(nM)
CD3X5T4_cl-16XNKG2A
CD3x5T4-IM54xNKG2A
CD3x5T4-IM55xNKG2A
CD3x5T4-IM56xNKG2A
CD3x5T4-IM57xNKG2A
CD3x5T4-IM58xNKG2A
CD3X5T4_cl-16XNKG2D
CD3x5T4_IM24xNKG2D

图17N

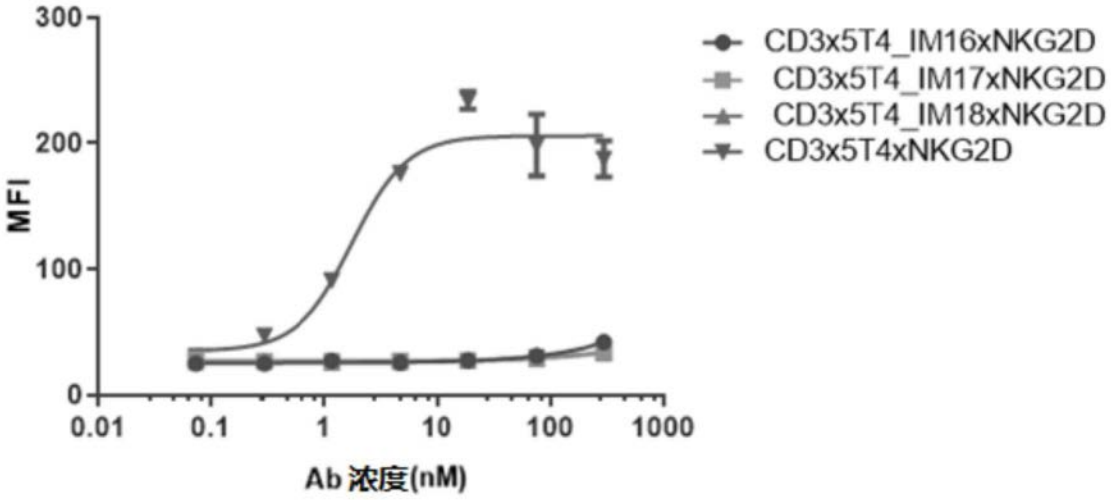

300
200
100
0
MFI
0.01
0.1
1
10
100
1000
Ab 浓度(nM)
CD3x5T4_IM16xNKG2D
CD3x5T4_IM17xNKG2D
CD3x5T4_IM18xNKG2D
CD3x5T4xNKG2D

图170

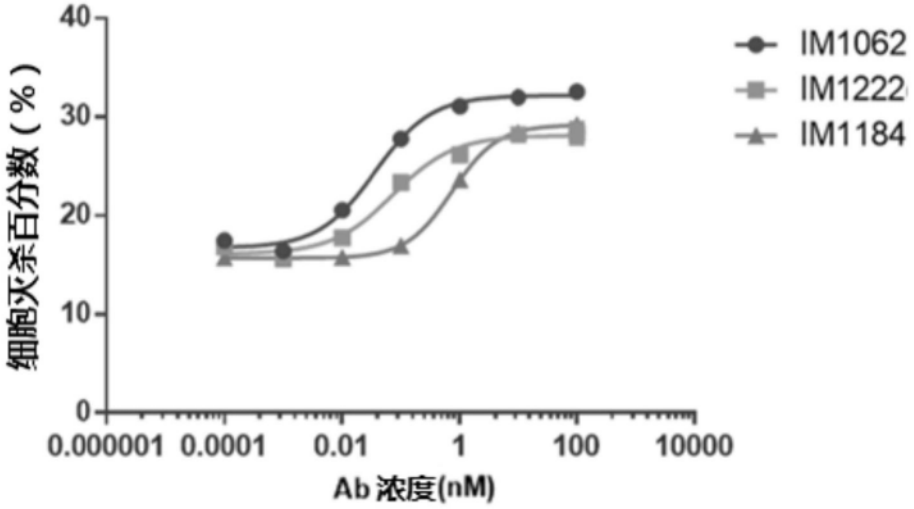

40
30
20
10
0
细胞灭杀百分数（%）
0.000001
0.0001
0.01
1
100
10000
Ab 浓度(nM)
IM1062
IM1222
IM1184

图18A

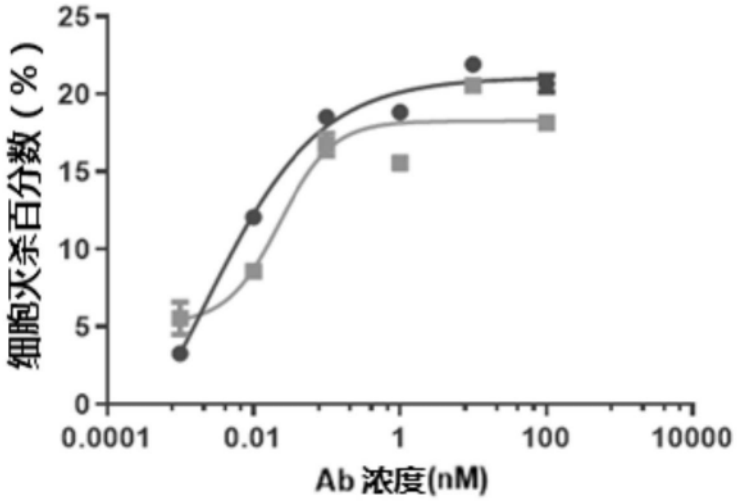

细胞灭杀百分数（%）
25
20
15
10
5
0
0.0001
0.01
1
100
10000
Ab 浓度(nM)

图18B

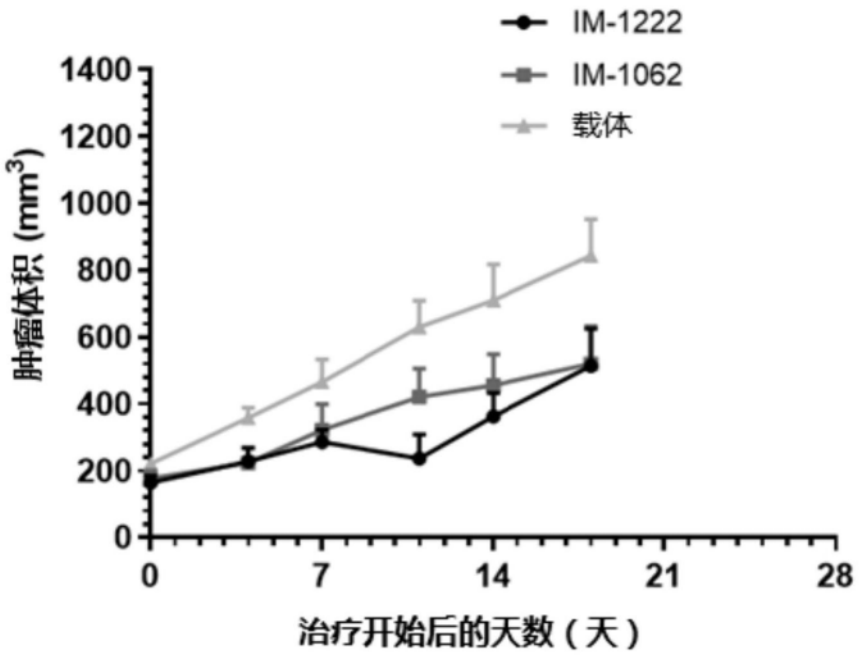

IM-1222
IM-1062
载体
肿瘤体积 (mm3)
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
7
14
21
28
治疗开始后的天数（天）

图19