



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101675074 B

(45) 授权公告日 2016. 02. 24

(21) 申请号 200780051557. 6

C07K 16/30(2006. 01)

(22) 申请日 2007. 09. 14

A61K 39/395(2006. 01)

(30) 优先权数据

60/871, 069 2006. 12. 20 US

(56) 对比文件

CN 1867586 A, 2006. 11. 22,

WO 2004106380 A2, 2004. 12. 09,

WO 03068821 A2, 2003. 08. 21,

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2009. 08. 20

审查员 唐慧

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2007/078568 2007. 09. 14

(87) PCT国际申请的公布数据

W02008/079466 EN 2008. 07. 03

(73) 专利权人 MMR 全球公司

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 G·弗赖 B·E·基梅尔 A·安德松

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 康健 林晓红

(51) Int. Cl.

C07K 16/18(2006. 01)

C07K 16/28(2006. 01)

权利要求书2页 说明书63页

序列表165页 附图10页

(54) 发明名称

抗体及其制备和使用方法

(57) 摘要

本发明提供了抗体,包括嵌合人抗体、重组抗体、合成抗体,以及编码它们的核酸,制备和使用这些免疫球蛋白的方法。本发明提供了重组和合成的多肽及这些多肽和 / 或抗体的核酸的实施方案。本发明还提供了包含或由共有人构架区或“独立共有构架(ICF)”组成的多肽,编码它们的核酸,以及包含这些 ICF 和 / 或本发明抗体的文库和试剂盒,它们是单独的形式及在组合文库和组合中的形式。

1. 抗体或其抗原结合片段, 包含具有如下组合的可变区:

轻链 BD22092 (SEQ ID NO: 235) 和

重链 BD20337 (SEQ ID NO: 148)。

2. 抗体或其抗原结合片段, 包含如下组合的重链可变区和轻链可变区:

轻链 BD22092 (SEQ ID NO: 235) 和

重链 BD20337 (SEQ ID NO: 148);

并且其中所述轻链, 所述重链, 或两者由如下方法制备, 所述方法包括:

(1) 提供独立共有构架 1 (ICF1) 结构域, 其包含来自多个氨基酸序列的氨基酸共有序列, 所述多个氨基酸序列每个均包含来自 Kabat 构架区 1 (KF1) 结构域的氨基酸, 其中所述多个氨基酸序列从免疫球蛋白可变区基因的种系序列翻译而来或者得自成熟免疫球蛋白;

(2) 提供互补决定区 1 (CDR1), 其来自 1F5 抗体的可变区;

(3) 提供独立共有构架 2 (ICF2) 结构域, 其包含来自多个氨基酸序列的氨基酸共有序列, 所述多个氨基酸序列每个均包含来自 Kabat 构架区 2 (KF2) 结构域的氨基酸, 其中所述多个氨基酸序列从免疫球蛋白可变区基因的种系序列翻译而来或者得自成熟免疫球蛋白;

(4) 提供互补决定区 2 (CDR2), 其来自 1F5 抗体的可变区;

(5) 提供独立共有构架 3 (ICF3) 结构域, 其包含来自多个氨基酸序列的氨基酸共有序列, 所述多个氨基酸序列每个均包含来自 Kabat 构架区 3 (KF3) 结构域的氨基酸, 其中所述多个氨基酸序列从免疫球蛋白可变区基因的种系序列翻译而来或者得自成熟免疫球蛋白;

(6) 提供互补决定区 3 (CDR3), 其来自 1F5 抗体的可变区; 和

(7) 任选地提供独立共有构架 4 (ICF4) 结构域, 其包含来自多个氨基酸序列的氨基酸共有序列, 所述多个氨基酸序列每个均包含来自 Kabat 构架区 4 (KF4) 结构域的氨基酸, 其中所述多个氨基酸序列从免疫球蛋白可变区基因的种系序列翻译而来或者得自成熟免疫球蛋白;

其中至少一个 ICF 来自基因组核酸序列;

(8) 以 5' 至 3' 方向连接编码 ICF1-CDR1-ICF2-CDR2-ICF3-CDR3 和任选地 ICF4 结构域的核酸。

3. 权利要求 2 的抗原结合片段, 其中所述抗原结合片段是 Fab 片段、Fab' 片段、F(ab')₂ 片段、单链抗体、Fv 片段、scFv 片段、抗体模拟物、Fd 片段或 Fd' 片段。

4. 权利要求 3 的抗原结合片段, 其中所述抗原结合片段与 Fc 融合。

5. 重组、合成或分离的抗体, 其具有包含权利要求 2 的至少一种可变区组合的结构。

6. 嵌合抗体或其抗原结合片段, 其包含权利要求 2 的至少一种可变区组合。

7. 权利要求 6 的嵌合抗原结合片段, 其中所述嵌合抗原结合片段是嵌合 Fab、嵌合 Fab'、嵌合 F(ab')₂、嵌合单链抗体、嵌合 Fv、嵌合 scFv、抗体模拟物、嵌合 Fd 或嵌合 Fd'。

8. 特异结合 CD20 抗原的抗体或其抗原结合片段, 其包含:

(i) 轻链可变区, 其包含 (a) ICF1, 其包含 SEQ ID NO: 43 的氨基酸序列; (b) CDR1, 其包含 SEQ ID NO: 163 的氨基酸序列; (c) ICF2, 其包含 SEQ ID NO: 61 的氨基酸序列; (d) CDR2,

其包含 SEQ ID NO:164 的氨基酸序列 ;(e) ICF3,其包含 SEQ ID NO:73 的氨基酸序列 ;(f) CDR3,其包含 SEQ ID NO:165 的氨基酸序列 ;和 (g) ICF4,其包含 SEQ ID NO:83 的氨基酸序列 ;以及

(ii) 重链可变区,其包含 (a) ICF1,其包含 SEQ ID NO:7 的氨基酸序列 ;(b) CDR1,其包含 SEQ ID NO:151 的氨基酸序列 ;(c) ICF2,其包含 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列 ;(d) CDR2,其包含 SEQ ID NO:152 的氨基酸序列 ;(e) ICF3,其包含 SEQ ID NO:19 的氨基酸序列 ;(f) CDR3,其包含 SEQ ID NO:153 的氨基酸序列 ;和 (g) ICF4,其包含 SEQ ID NO:21 的氨基酸序列。

9. 药物组合物或配制品,其包含 : (a) 权利要求 2 的抗体或其抗原结合片段。

10. 权利要求 9 的药物组合物或配制品,进一步包含药物学可接受载体或赋形剂。

11. 权利要求 2 的抗体或其抗原结合片段在制备用于治疗或改善疾病、感染、病症或毒性暴露的药物中的应用。

12. 权利要求 2 的抗体或其抗原结合片段在制备用于抑制或消除免疫应答的药物中的应用。

13. 权利要求 2 的抗体或其抗原结合片段在制备用于抑制或消除 B 细胞介导的免疫应答的药物中的应用。

14. 权利要求 2 的抗体或其抗原结合片段在制备用于治疗具有 B 细胞介导的疾病的对象的药物组合物中的用途,所述的治疗通过包括将有效量的所述抗体或其抗原结合片段给予所述对象的方法来进行。

15. 权利要求 14 的用途,其中所述疾病是 B 细胞淋巴瘤。

抗体及其制备和使用方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请根据 35U. S. C. §119(e) 要求 2006 年 12 月 20 日申请的美国临时申请系列号 (USSN) 60/871, 069 的优先权。上述申请全文并入本文用于所有目的。

[0003] 经 EFS-WEB 提交的序列表的参考

[0004] 本申请如 MPEP §1730II. B. 2. (a) (A) 规定那样通过 USPTO EFS-WEB 服务器电子提交, 该电子提交包括电子提交的序列 (SEQ ID) 表, 序列表的全文包含在此作为参考。电子提交的序列表是如下的文本文件:

[0005]

文件名	创建日期	大小
564462015840. txt	2007 年 9 月 7 日	212, 659 比特

技术领域

[0006] 本发明一般地涉及遗传工程、分子生物学和医学。在一个方面中, 本发明提供了抗体如嵌合人抗体 (具有人成分的嵌合抗体)、编码它们的核酸及制备和使用这些免疫球蛋白的方法。本发明提供了重组和合成多肽及这些多肽的核酸实施方案。本发明还提供了包含或由共有人构架区或“独立共有构架区 (Independently Consensused Framework regions) (ICF)”组成的多肽, 编码它们的核酸, 及包含这些 ICF 和 / 或本发明的抗体的文库和试剂盒, 它们是单独的形式或在组合文库和组合中的形式。

背景技术

[0007] 抗体 (或免疫球蛋白, Ig) 是由免疫系统应答身体中存在外来物质而产生的蛋白质。免疫球蛋白还实施和介导免疫系统的其它功能。编码免疫球蛋白的核酸序列最初衍生自基因组 (种系) 中的若干基因, 这些基因随后在成熟过程中重排和突变以进一步增加最终成熟形式的免疫球蛋白的多样性。一种典型的免疫球蛋白 IgG 具有由 4 条链形成的 Y 形结构: 两条重链和两条轻链, 每条链具有可变区和恒定区。可变区可以进一步分成各种亚区, 如构架 (FR) 和互补决定区 (CDR)。

[0008] 免疫球蛋白已被用于治疗许多疾病和病症, 例如变态反应、移植物排斥、癌症和宿主抗移植物疾病。但是, 当将治疗性抗体制剂给予人类患者时, 抗体有时会引起不希望的潜在危险的免疫应答, 是患者针对抗体本身 (“免疫原性”), 特别是在重复给药后。当抗体来自非人来源如来自动物时, 免疫原性可引起特别的问题。当抗体衍生自小鼠时 (这经常在治疗模型中使用), 患者可发生人抗小鼠抗体 (HAMA) 应答。为降低不希望的免疫原性如 HAMA, 动物抗体的一些区域可以用人抗体的相应区域置换, 实质上是“人源化”所述抗体。修饰的抗体, 如“嵌合”抗体和 CDR 移植抗体, 已被开发以降低免疫原性应答。但是, 这种置换策略可能不足以使免疫原性最小化并且可降低免疫球蛋白的治疗效果。因此, 需要修饰的免疫球蛋白, 其降低或消除免疫原性同时保持或甚至改良治疗效果。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明提供了具有衍生自一个物种的构架及衍生自另一物种的负责结合抗原的序列的抗体。在可选的方面中,这些抗体是分离的、重组的或合成的形式。在可选的实施方案中,本发明抗体的至少一个、一些或全部构架片段(或“构架区”或FR)由衍生自种系序列的核酸序列编码;及在一个方面中,至少一个、一些或全部构架片段是“共有序列”,如本文所述。在一个方面,所述抗体构架片段衍生自动物,例如人,本发明抗体给予该人,例如作为体内免疫治疗剂或免疫诊断试剂。负责结合抗原的抗体序列片段,也称为“互补决定区”(或CDR)衍生自用于产生希望的抗原特异性抗体的非人动物;在可选的方面,抗原可以人工给予这一动物,或者抗原可以是天然或偶然环境暴露的结果,如感染或毒素或毒物暴露(toxin or poison exposure),或者通过有目的给予抗原。在可选的实施方案中,FR由衍生自人基因组多核苷酸的“共有序列”编码,CDR来自鼠源,如小鼠。

[0011] 本发明提供了用于设计和提供本发明抗体的方法(“人构架重组装(HumanFramework Reassembly 或HuFR)”,所述抗体包括重组抗体,例如本发明的重组人源化抗体,其在性质上更类似于待治疗对象天然抗体。所述方法可以从重链(HC)的构架亚区(如FR1, FR2, FR3 和FR4)和轻链(LC)可变区推导共有序列,其中独立于其它构架亚区获得和选择每一亚区的所述共有序列。因此,可以从每一构架亚区的独立选择的共有序列的组合文库产生核酸或多肽的多样性集合,其随后可以用于制备重组抗体,包括本发明的重组人源化抗体。这些共有序列可以衍生自成熟免疫球蛋白的序列或特定生物体如人、非人灵长类、狗、猫和马的种系序列,由此产生具有在该特定生物体、动物和/或人中降低的免疫原性的抗体。

[0012] 本发明提供了重组重链或轻链可变区多肽,以及编码它们的核酸,其中所述可变区可包括至少三个“独立共有构架”结构域(ICF):ICF1, ICF2 和 ICF3。重组可变区多肽可进一步包括独立共有构架 4 结构域(ICF4)。

[0013] 在一个实施方案中,每个 ICF 结构域包含从多个氨基酸序列确定的氨基酸共有序列,所述多个氨基酸序列从种系核酸序列翻译而来,所述种系核酸序列每个编码至少一部分相应的 Kabat 构架区(KF)结构域,如KF1、KF2 或KF3。在一个实施方案中,每个 ICF 结构域包含从成熟KF结构域氨基酸序列确定的氨基酸共有序列。在一个实施方案中,获得这种共有序列的方法(“共有(consensusing)”)包括:通过检查或使用本领域的序列对比程序对比编码一种Kabat构架亚区(如KF1、KF2、KF3 或KF4)的至少一部分的氨基酸或核酸序列集合;确定残基(如核苷酸或氨基酸)在该特定亚区的每个位置出现的频率;及合成高频残基成为该亚区的共有序列集合,由此产生 ICF1、ICF2、ICF3 或 ICF4 共有序列。提供了举例的 ICF,重链 ICF(见表 1 和 2),轻链 ICF(见表 3 和 4)。

[0014] 本发明还提供了 Ig 多肽,其包含本发明的重链和轻链可变区,如全长抗体,单链抗体,二价抗体,Fab 片段,或单链 Fv。ICF1,2 和 3 结构域可以衍生自第一动物物种,CDR1, 2 和 3 结构域可以衍生自第二动物物种。提供了结合抗原如 CD20 或 CD3 的举例的抗体。

[0015] 本发明进一步提供了产生本发明的多肽和核酸及其组合文库的方法。本发明多肽的组合文库可以以不同组合方式组合不同的 ICF1, ICF2, 和 ICF3。重链和轻链文库各个成员配对的进一步结合可以产生大于 30000 种抗体的文库。组合文库可以针对希望性质进行筛选,如结合希望的抗原或降低的免疫原性。

- [0016] 本发明提供了抗体或其抗原结合片段,其包含至少一种具有如下组合的可变区:
- [0017] (1) 轻链 BD22084 (SEQ ID NO :225) 和
- [0018] 重链 BD20332 (SEQ ID NO :138) ;
- [0019] (2) 轻链 BD22085 (SEQ ID NO :232) 和
- [0020] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143) ;
- [0021] (3) 轻链 BD22086 (SEQ ID NO :227) 和
- [0022] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143) ;
- [0023] (4) 轻链 BD22088 (SEQ ID NO :229) 和
- [0024] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0025] (5) 轻链 BD22087 (SEQ ID NO :240) 和
- [0026] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143) ;
- [0027] (6) 轻链 BD22089 (SEQ ID NO :243) 和
- [0028] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143) ;
- [0029] (7) 轻链 BD22090 (SEQ ID NO :234) 和
- [0030] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0031] (8) 轻链 BD22095 (SEQ ID NO :244) 和
- [0032] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0033] (9) 轻链 BD22091 (SEQ ID NO :242) 和
- [0034] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0035] (10) 轻链 BD22108 (SEQ ID NO :230) 和
- [0036] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0037] (11) 轻链 BD22092 (SEQ ID NO :235) 和
- [0038] 重链 BD20338 (SEQ ID NO :149) ;
- [0039] (12) 轻链 BD22094 (SEQ ID NO :231) 和
- [0040] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0041] (13) 轻链 BD22096 (SEQ ID NO :241) 和
- [0042] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0043] (14) 轻链 BD22092 (SEQ ID NO :235) 和
- [0044] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0045] (15) 轻链 BD22102 (SEQ ID NO :248) 和
- [0046] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0047] (16) 轻链 BD22097 (SEQ ID NO :246) 和
- [0048] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143)
- [0049] (17) 轻链 BD22104 (SEQ ID NO :239) 和
- [0050] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0051] (18) 轻链 BD22085 (SEQ ID NO :232) 和
- [0052] 重链 BD20339 (SEQ ID NO :150) ;
- [0053] (19) 轻链 BD22107 (SEQ ID NO :226) 和
- [0054] 重链 BD20339 (SEQ ID NO :150) ;

- [0055] (20) 轻链 BD22100 (SEQ ID NO :236) 和
[0056] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143) ;
[0057] (21) 轻链 BD22103 (SEQ ID NO :228) 和
[0058] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
[0059] (22) 轻链 BD22105 (SEQ ID NO :237) 和
[0060] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
[0061] (23) 轻链 BD22101 (SEQ ID NO :247) 和
[0062] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143) ;
[0063] (24) 轻链 BD22106 (SEQ ID NO :245) 和
[0064] 重链 BD20333 (SEQ ID NO :142) ;
[0065] (25) 轻链 BD22108 (SEQ ID NO :230) 和
[0066] 重链 BD20338 (SEQ ID NO :149) ;
[0067] (26) 轻链 BD22109 (SEQ ID NO :233) 和
[0068] 重链 BD20341 (SEQ ID NO :154) ;或者
[0069] (27) 轻链 BD22111 (SEQ ID NO :238) 和
[0070] 重链 BD20336 (SEQ ID NO :144) 。

[0071] 本发明提供了抗体或其抗原结合片段, 包含至少一部分重链可变区和至少一部分轻链可变区, 其中所述轻链部分和所述重链部分与至少一种如下组合的各自轻链和重链具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 或完全的序列相同性:

- [0072] (1) 轻链 BD22084 (SEQ ID NO :225) 和
[0073] 重链 BD20332 (SEQ ID NO :138) ;
[0074] (2) 轻链 BD22085 (SEQ ID NO :232) 和
[0075] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143) ;
[0076] (3) 轻链 BD22086 (SEQ ID NO :227) 和
[0077] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143) ;
[0078] (4) 轻链 BD22088 (SEQ ID NO :229) 和
[0079] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
[0080] (5) 轻链 BD22087 (SEQ ID NO :240) 和
[0081] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143) ;
[0082] (6) 轻链 BD22089 (SEQ ID NO :243) 和
[0083] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143) ;
[0084] (7) 轻链 BD22090 (SEQ ID NO :234) 和
[0085] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
[0086] (8) 轻链 BD22095 (SEQ ID NO :244) 和
[0087] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
[0088] (9) 轻链 BD22091 (SEQ ID NO :242) 和
[0089] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
[0090] (10) 轻链 BD22108 (SEQ ID NO :230) 和
[0091] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;

- [0092] (11) 轻链 BD22092 (SEQ ID NO :235) 和
- [0093] 重链 BD20338 (SEQ ID NO :149) ;
- [0094] (12) 轻链 BD22094 (SEQ ID NO :231) 和
- [0095] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0096] (13) 轻链 BD22096 (SEQ ID NO :241) 和
- [0097] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0098] (14) 轻链 BD22092 (SEQ ID NO :235) 和
- [0099] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0100] (15) 轻链 BD22102 (SEQ ID NO :248) 和
- [0101] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0102] (16) 轻链 BD22097 (SEQ ID NO :246) 和
- [0103] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143) .
- [0104] (17) 轻链 BD22104 (SEQ ID NO :239) 和
- [0105] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0106] (18) 轻链 BD22085 (SEQ ID NO :232) 和
- [0107] 重链 BD20339 (SEQ ID NO :150) ;
- [0108] (19) 轻链 BD22107 (SEQ ID NO :226) 和
- [0109] 重链 BD20339 (SEQ ID NO :150) ;
- [0110] (20) 轻链 BD22100 (SEQ ID NO :236) 和
- [0111] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143) ;
- [0112] (21) 轻链 BD22103 (SEQ ID NO :228) 和
- [0113] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0114] (22) 轻链 BD22105 (SEQ ID NO :237) 和
- [0115] 重链 BD20337 (SEQ ID NO :148) ;
- [0116] (23) 轻链 BD22101 (SEQ ID NO :247) 和
- [0117] 重链 BD20335 (SEQ ID NO :143) ;
- [0118] (24) 轻链 BD22106 (SEQ ID NO :245) 和
- [0119] 重链 BD20333 (SEQ ID NO :142) ;
- [0120] (25) 轻链 BD22108 (SEQ ID NO :230) 和
- [0121] 重链 BD20338 (SEQ ID NO :149) ;
- [0122] (26) 轻链 BD22109 (SEQ ID NO :233) 和
- [0123] 重链 BD20341 (SEQ ID NO :154) ;或者
- [0124] (27) 轻链 BD22111 (SEQ ID NO :238) 和
- [0125] 重链 BD20336 (SEQ ID NO :144)
- [0126] 并且其中所述至少一部分轻链,所述至少一部分重链,或两者至少部分衍生自由如下方法制备的序列,所述方法包括:
- [0127] (1) 提供独立共有构架 1 (ICF1) 结构域,其包含衍生自多个氨基酸序列的氨基酸共有序列,所述多个氨基酸序列每个均包含衍生自至少一部分 Kabat 构架区 1 (KF1) 结构域的氨基酸,其中所述多个氨基酸序列从免疫球蛋白可变区基因的种系序列翻译而来或者得

自成熟免疫球蛋白；

[0128] (2) 提供至少一部分互补决定区 1(CDR1)，其衍生自 1F5 抗体的可变区；

[0129] (3) 提供独立共有构架 2(ICF2) 结构域，其包含衍生自多个氨基酸序列的氨基酸共有序列，所述多个氨基酸序列每个均包含衍生自至少一部分 Kabat 构架区 2(KF2) 结构域的氨基酸，其中所述多个氨基酸序列从免疫球蛋白可变区基因的种系序列翻译而来或者得自成熟免疫球蛋白；

[0130] (4) 提供至少一部分互补决定区 2(CDR2)，其衍生自 1F5 抗体的可变区；

[0131] (5) 提供独立共有构架 3(ICF3) 结构域，其包含衍生自多个氨基酸序列的氨基酸共有序列，所述多个氨基酸序列每个均包含衍生自至少一部分 Kabat 构架区 3(KF3) 结构域的氨基酸，其中所述多个氨基酸序列从免疫球蛋白可变区基因的种系序列翻译而来或者得自成熟免疫球蛋白；

[0132] (6) 提供至少一部分互补决定区 3(CDR3)，其衍生自 1F5 抗体的可变区；和

[0133] (7) 任选地提供独立共有构架 4(ICF4) 结构域，其包含衍生自多个氨基酸序列的氨基酸共有序列，所述多个氨基酸序列每个均包含衍生自至少一部分 Kabat 构架区 4(KF4) 结构域的氨基酸，其中所述多个氨基酸序列从免疫球蛋白可变区基因的种系序列翻译而来或者得自成熟免疫球蛋白；

[0134] 其中至少一个 ICF 衍生自基因组核酸序列；

[0135] (8) 以 5' 至 3' 方向连接编码 ICF1-CDR1-ICF2-CDR2-ICF3-CDR3 和任选地 ICF4 结构域的核酸。

[0136] 本发明提供了本发明的抗原结合抗体片段，其中所述抗体片段是 Fab 片段、Fab' 片段、F(ab')₂ 片段、单链抗体、Fv 片段、scFv 片段、抗体模拟物、Fd 片段或 Fd' 片段；或者，本发明的抗原结合抗体片段是或包含与 Fc 融合的抗体片段。

[0137] 本发明提供了重组、合成或分离的抗体，其具有包含本发明的至少一种可变区组合的结构。

[0138] 本发明提供了嵌合抗体或其抗原结合片段，其包含本发明的至少一种可变区组合。

[0139] 本发明提供了本发明的嵌合抗原结合抗体片段，其中所述嵌合抗体片段是嵌合 Fab、嵌合 Fab'、嵌合 F(ab')₂、嵌合单链抗体、嵌合 Fv、嵌合 scFv、抗体模拟物、嵌合 Fd 或嵌合 Fd'。

[0140] 本发明提供了特异结合 CD20 抗原并包含如下轻链可变区的抗体或其抗原结合片段，所述轻链可变区包含 (a) ICF1，其包含 SEQ ID NO:43-49 的氨基酸序列；(b) CDR1，其包含 SEQ ID NO:163 的氨基酸序列；(c) ICF2，其包含 SEQ ID NO:58-61 的氨基酸序列；(d) CDR2，其包含 SEQ ID NO:164 的氨基酸序列；(e) ICF3，其包含 SEQ ID NO:67-71, 73 或 74 的氨基酸序列；(f) CDR3，其包含 SEQ ID NO:165 的氨基酸序列；和 / 或 (g) ICF4，其包含 SEQ ID NO:83 的氨基酸序列。

[0141] 本发明提供了特异结合 CD20 抗原并包含如下重链可变区的抗体或其抗原结合片段，所述重链可变区包含 (a) ICF1，其包含 SEQ ID NO:6 或 7 的氨基酸序列；(b) CDR1，其包含 SEQ ID NO:151 的氨基酸序列；(c) ICF2，其包含 SEQ ID NO:9, 10 或 11 的氨基酸序列；(d) CDR2，其包含 SEQ ID NO:152 的氨基酸序列；(e) ICF3，其包含 SEQ ID NOS:13, 17, 19 或

20 的氨基酸序列 ; (f) CDR3, 其包含 SEQ ID NO : 153 的氨基酸序列 ; 和 / 或 (g) ICF4, 其包含 SEQ ID NO : 21 的氨基酸序列。

[0142] 本发明提供了药物组合物或配制品, 其包含 : (a) 本发明的抗体或其抗原结合片段 ; 在一个方面, 所述药物组合物或配制品进一步包含药理学可接受载体或赋形剂。

[0143] 本发明提供了治疗或改善疾病、感染、病症或毒性暴露的方法, 包括 : (a) 提供包含本发明的抗体或其抗原结合片段的组合物 ; 和 (b) 将足够量的所述抗体或其抗原结合片段给予需要的个体。

[0144] 本发明提供了抑制或消除免疫应答的方法, 包括 : (a) 提供本发明的抗体或其抗原结合片段 ; 和 (b) 将足够量的所述抗体或其抗原结合片段给予需要的个体。

[0145] 本发明提供了抑制或消除 B 细胞介导的免疫应答的方法, 包括 : (a) 提供本发明的抗体或其抗原结合片段 ; 和 (b) 将足够量的所述抗体或其抗原结合片段给予需要的个体。

[0146] 本发明提供了治疗 B 细胞淋巴瘤的方法, 包括 : (a) 提供本发明的抗体或其抗原结合片段 ; 和 (b) 将足够量的所述抗体或其抗原结合片段给予需要的个体 (例如人) 。

[0147] 本发明利用本发明的抗体或其抗原结合片段制备用于通过将有效量的所述抗体或其片段给予对象而治疗具有 B 细胞介导的疾病对象 (例如人) 的药物组合物 ; 在一个方面中, 其中所述疾病是 B 细胞淋巴瘤。

[0148] 本发明的一或多个方面的细节见所述附图和如下描述。本发明的其它特征、目的和优点从说明书和附图及权利要求书中显而易见。

[0149] 本文引用的所有出版物、专利、专利申请、GenBank 序列及 ATCC 保藏物明确并入本文用于所有目的。

[0150] 附图简述

[0151] 图 1 是举例的重链或轻链 (氨基酸序列或编码它们的核酸) 的成分示意图, 示出了人构架重组。示出了起始鼠链, 从其获得三个 CDR (下划线) 的序列。针对相应于 FR1、FR2、FR3 和任选地 FR4 的每一个位置提供了各种独立共有构架结构域 (ICF)。优选的 ICF 针对每一位位置独立选择并与鼠 CDR 组装, 任选地与恒定结构域 (双下划线) 组装, 获得重组 HuFR 免疫球蛋白链。

[0152] 图 2 示出衍生自人种系 κ 轻链可变区的基因的氨基酸序列。

[0153] 图 3 示出衍生自人种系 λ 轻链可变区的基因的氨基酸序列。

[0154] 图 4 示出来自抗 CD20ELISA 的数据图, 其证实抗 CD20HuFR 克隆在抗 CD20 细胞 ELISA 中的比活性, 如以下实施例 3 讨论。

[0155] 图 5 示出数据条形图, 其比较了最高的 (top) 抗 CD20HuFR 克隆在抗 CD20ELISA 中的比活性, 如以下实施例 3 讨论。

[0156] 图 6 是凋亡测定条形图, 其证实若干最高 HuFR hit 具有等于或优于参考抗体和 DVSA-CD20 的活性, 如以下实施例 3 讨论。

[0157] 图 7 是细胞周期测定, 其示出 HuFR 抗 CD20hit 在体外人 PBMC 中不诱导细胞增殖, 如以下实施例 3 讨论。

[0158] 图 8 是 CDC 测定条形图, 如以下实施例 3 讨论。

[0159] 图 9 是 ADCC 测定条形图, 如以下实施例 3 讨论。

[0160] 图 10 示出 DVSA-CD3 的轻链 (上部) 和重链 (下部) 核酸序列, 如以下实施例 4

讨论。

[0161] 图 11 示出 DVSA-CD3 的重链（上部）和轻链（中部）氨基酸序列，以及 DVSA-CD3 的轻链（下部），如以下实施例 4 讨论。

[0162] 图 12 提供了最高 9 个抗 CD3hit 的重链和轻链序列对比。

[0163] 各附图中相似标号代表相似元件。

[0164] 发明详述

[0165] 本发明提供了抗体，如嵌合人抗体（具有人成分的嵌合抗体）、重组抗体、合成抗体，编码它们的核酸，及用于制备和使用这些免疫球蛋白的方法。本发明提供了设计抗体包括嵌合抗体和 / 或重组或合成抗体的新方法。所述方法至少部分基于产生免疫球蛋白可变区构架亚区的共有序列，其中所述每个亚区的共有序列独立于其它亚区而获得。

[0166] 在一个方面中，共有序列衍生自（相比于）种系序列；因此，在种系中最高表现的序列可以优先用于抗体设计。使用针对每个构架亚区独立选择的共有序列的文库，可以产生抗体组合文库。例如，保留（与已知抗原特异结合的）已知抗体的 CDR 区，所述 CDR 区可以重组装成不同的构架亚区组合，由此产生具有相同 CDR 区但不同构架序列的抗体的大集合。可以随后测试这种抗体集合以确定哪些构架序列提供最小的免疫原性同时保持对靶抗原的足够的亲和性和亲合力。

[0167] 本发明提供了组合物和文库，其包含重链可变区多肽，包括嵌合和 / 或重组重链可变区多肽，以及编码它们的核酸（例如编码本发明的嵌合重链可变区多肽的核酸）。本发明还提供了轻链可变区多肽的组合物和文库，包括嵌合和 / 或重组轻链可变区多肽，编码它们的核酸（例如编码嵌合重链可变区多肽的核酸）。本发明的重链可变区多肽，包括嵌合和 / 或重组重链可变区多肽，可以与轻链可变区多肽（例如本发明的轻链可变区多肽）结合以产生二价免疫球蛋白（Ig）。

[0168] 本发明还提供了从包含 ICF 的重链和轻链可变区产生的抗体组合物。在可选的实施方案中，来自任何已知抗体（例如表 5-6 示出的举例抗体）的任何 CDR 可以与例如表 1-4 所示的 ICF 组合或连接。另外，它们可以进一步与恒定结构域（CD）（例如表 7-8 所示的那些）组合或连接以产生全长重链可变区多肽或全长轻链可变区多肽。在组合多肽产生免疫球蛋白后，所述 Ig 可以作为功能单位以用于如下非限制性例子：单链抗体，二价抗体（如二硫键连接抗体），Fab 片段和单链 Fv。

[0169] 另外，本发明提供了产生编码含 ICF 的重链和轻链可变区的核酸的组合文库的方法。本发明还提供了用于产生特异于抗原并具有降低的免疫原性的抗体的方法。另外，本发明提供了用于产生编码包含 ICF 的重链和轻链可变区的核酸的组合文库的方法。本发明还提供了用于产生特异于抗原并具有降低的免疫原性的抗体的方法。

[0170] 在可选的实施方案中，本发明的抗体（例如本发明的嵌合和 / 或重组抗体）无限制地包括并包含（是指），单克隆抗体、多特异性抗体、人抗体、多克隆抗体、嵌合抗体、单链 Fv（scFv）、单链抗体、单域抗体、Fab 片段、F(ab) 片段、二硫键连接的 Fv（sdFv）、抗独特型抗体（anti-Id），以及上述任一的表位结合片段。在可选的实施方案中，本发明的抗体（例如例如本发明的嵌合和 / 或重组抗体）包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性片段，即含有抗原结合位点的分子。抗体片段也可以包括但不限于小“抗体模拟物”，其由至少一种来自重链或轻链的 CDR3、至少一种来自不提供所述 CDR3 的免疫球蛋白链的 CDR1 或

CDR2 以及至少一种基于其模拟亲代分子（亲代抗体）的 CDR 连接的能力而选自重链或轻链的构架区组成。免疫球蛋白分子可以是任何类型（例如 IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 和 IgY），任何类别（例如 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 和 IgA₂）或亚类。

[0171] 在可选的实施方案中，本发明的抗体（例如本发明的嵌合和 / 或重组抗体）可以包含天然全长抗体的等价物，例如包含与两条轻链配对的两条重链。在可选的实施方案中，本发明的抗体（例如本发明的嵌合和 / 或重组抗体）可以包含大小约为 50kD 的全长重链（长度为大约 446 个氨基酸），其在一个方面中可以由重链可变区基因（大约 116 个氨基酸）和恒定区基因编码。在可选的实施方案中，使用编码不同同种型的重链恒定区的不同恒定区基因如 α 、 γ (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4)、 δ 、 ϵ 和 μ 序列。在可选的实施方案中，使用由轻链可变区基因和恒定区基因编码的大小约为 25kD 的全长轻链（长度大约 214 个氨基酸）。轻链和 / 或重链可变区参与与抗原的结合，恒定区通常负责抗体的效应子功能。

[0172] 在可选的实施方案中，本发明的抗体（例如本发明的嵌合和 / 或重组抗体）可以包含抗体重链和 / 或轻链的“可变区”（其是抗体链的 N 末端成熟结构域）。所有结构域、CDR 和残基编号均基于序列对比和结构知识进行指定。在可选的实施方案中，本发明的抗体（例如本发明的嵌合和 / 或重组抗体）可以包含 V_H ，其是抗体重链的可变结构域；或 V_L ，其是抗体轻链的可变结构域，并且可以是 κ 或 λ 同种型。

[0173] 在可选的实施方案中，本发明的抗体（例如本发明的嵌合和 / 或重组抗体）可以包含免疫球蛋白轻链和 / 或重链可变区；其在一个方面中可以包含或由构架区 (FR) 组成，所述构架区接届并包含 3 个或 4 个独立的超变区，也称为互补决定区或 CDR。在可选的实施方案中，如在自然界一样，FR 和 CDR 之间的边界可以不总是确定的，并且可以取决于特定抗体及其相对于其它类似抗体的可变性程度和位置。不同轻链或重链的构架区序列在物种内是相对保守的。抗体的构架区即组成成分轻链和重链的组合构架区定位并排列 CDR。CDR 主要负责与抗原表位的结合。

[0174] 在可选的实施方案中，使用 Kabat 系统（一种熟知并广泛使用的指南）鉴别本发明的构架区和 CDR，参见 Sequences of Proteins of Immunological Interest, E. Kabat et al., U.S. Department of Health and Human Services, (1987) and (1991)。鉴别 Kabat 构架序列是本领域熟知的并因此是常规方法，参见例如 U. S. Patent No. 5, 840, 299 ; U. S. Pat. App. Pub. No. 20050261480。Kabat et al. 列出了许多针对每一亚类的抗体氨基酸序列并列出了在该亚类每个残基位置的最常发生的氨基酸。Kabat et al. 使用一种方法将残基编号赋予所列序列的每个氨基酸，这一赋予残基编号的方法已成为本领域标准。通过将被讨论的抗体与 Kabat et al 中的共有序列之一对比，Kabat et al. 的方案可延及一览表中未包括的其它抗体。Kabat et al. 编号系列的应用能够容易地鉴别在不同抗体的等价位置的氨基酸。例如，在人抗体的 L50 位的氨基酸占据小鼠抗体的氨基酸位置 L50 的等价位置。

[0175] 如本领域所用，术语“CDR”是指抗体可变序列内的互补决定区。在每个重链和轻链可变区中有 3 个 CDR，它们针对每个可变区被称为 CDR1, CDR2 和 CDR3。因为 CDR 代表（相对于类似序列区域）增加的可变性区域，所以这些 CDR 的精确边界可以根据不同系统不同地定义。广泛使用的由 Kabat (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) and (1991))) 所述系统提供了适用于任何抗体可变区的残基编号系统，并提供了限定 3 个 CDR 的残基边界。这些

CDR 可被称作“Kabat CDR”。Chothia et al. (Nature(1989)342:877-883; Chothia and Lesk, (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917) 发现 Kabat CDR 内的一些亚部分采取几乎相同的肽骨架构象,而无论氨基酸序列水平差异有多大。这些亚部分被称为 L1, L2 和 L3 或者 H1, H2 和 H3, 其中“L”和“H”表示轻链和重链区域。这些区域可以被称为 Chothia CDR, 其具有与 Kabat CDR 重叠的边界。

[0176] 术语“构架”、“构架区”或“构架序列”是指可变区减去 CDR 所剩的序列。因为 CDR 序列的精确限定可以由不同系统确定,所有构架序列的含义有相应不同的解释。在一个实施方案中,6 个 CDR (轻链的 CDR1, 2 和 3 及重链的 CDR1, 2 和 3) 在构架区内的定位有效地将每条链的构架区分成 4 个亚区,称为 FR1, FR2, FR3 和 FR4。CDR1 位于 FR1 和 FR2 之间; CDR2 位于 FR2 和 FR3 之间; CDR3 位于 FR3 和 FR4 之间。不指明特定的亚区域如 FR1, FR2, FR3 或 FR4, 则其它指代的构架区代表在天然发生的免疫球蛋白单链的可变区之内的组合的亚区 FR1, FR2, FR3 和 FR4。在可选的实施方案中,本发明的构架区 (FR) 包含或由完整构架序列的任何部分组成 (代表), 包括由 4 个亚区之一组成的序列。在可选的实施方案中,本发明的构架区 (FR) 包含或由衍生自 Kabat 构架区 (KF) 结构域的氨基酸组成,其中所述氨基酸序列衍生自种系免疫球蛋白序列。

[0177] 在一个实施方案中,术语“种系序列”对于免疫球蛋白序列是指未经历成熟过程的 (含有免疫球蛋白编码序列的) 基因组序列,所述成熟过程导致基因重排和体细胞超变而用于表达特定免疫球蛋白 (参见例如 Shapiro et al., (2002) Crit. Rev. Immunol. 22(3): 183-200; Marchalonis et al., (2001) Adv. Exp. Med. Biol. 484:13-30)。“种系”可以包括产生配子的细胞谱系并且连续经过许多世代。

[0178] 在一个实施方案中,术语“成熟”例如对于成熟的免疫球蛋白、成熟的 (Ab) 序列和 / 或成熟的 (Ab) 形式等等而言,可以包括任何非种系免疫球蛋白序列;例如任何 V 区域重排的任何同种型的任何重排的或修饰的种系序列,包括亲和性成熟的序列 (例如,在体内或体外亲和性成熟过程之后)。

[0179] 在一个实施方案中,术语“共有序列”包含这样的氨基酸序列或由这样的氨基酸序列组成 (是指这样的氨基酸序列),所述氨基酸序列包含在一系列相关蛋白质 (例如任何特定亚类 (例如轻链,如 κ 或 λ 或同种型) 或亚基结构的免疫球蛋白) 的每一个位置更经常发生的氨基酸残基。共有序列可以基于一特定物种或许多物种的免疫球蛋白。在可选的实施方案中,“更经常”是指在一系列相关蛋白质 (例如任何特定亚类 (例如轻链,如 κ 或 λ 或同种型) 或亚基结构的免疫球蛋白) 的每一残基位置至少大约 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 或 99% 更经常发生的氨基酸残基。

[0180] 术语“衍生物”是指可以从另一分子形成的分子。在核苷酸 (例如核酸序列) 或蛋白质物质 (如蛋白质、多肽、肽等;例如抗体) 的上下文中,衍生物可以指包含原始核酸序列 (如种系序列) 的物质,或者包含氨基酸序列的蛋白质物质,所述氨基酸序列得自原始来源或通过导入氨基酸残基取代、缺失和 / 或添加而改变。这种物质的衍生物具有与其所衍生的物质相似或相同的序列。

[0181] 如本文所用,“占位子 (placeholder)”是指一种核酸序列,其编码包含已知免疫球蛋白的 Kabat 构架区 1、2 和 3 及 CDR 1、2 和 3 的免疫球蛋白可变区 (例如轻链可变区)。占位子是基于与加工的成熟抗体的序列相比的种系可变区核酸序列相同性 (例如与成熟抗体的核酸序列最相似的那些轻链可变区种系序列) 而确定的。一旦鉴别了占位子,其可以随后用作临时单链分子与例如本发明的重链可变区分子结合,用于评估与第二条链结合时重链的功能性质。在一个实施方案中,占位子是轻链可变区 (例如 κ 链或 λ 链)。

[0182] 如本文所用,“Kabat 构架区” (KF) 是相应于标准 Kabat 方案的可变链构架区 (亚区),所述标准 Kabat 方案用于编号免疫球蛋白的氨基酸残基并指定 FR 和 CDR 的位置 (Kabat, et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition. NIH Publication No. 91-3242)。例如,根据这一方案,下述 Kabat 编号可以用于辨别可变重链构架亚区: Kabat 构架区 1 (KF1, 其可以相应于 FR1) 包含从残基 1 至大约残基 29; Kabat 构架区 2 (KF2, 其可以相应于 FR2) 包含从大约残基 36 至大约残基 49; Kabat 构架区 3 (KF3, 其可以相应于 FR3) 包含从大约残基 66 至大约残基 94; 及 Kabat 构架区 4 (KF4, 其可以相应于 FR4) 包含从大约残基 103 至大约残基 113。

[0183] 另外,根据这一方案,在可选的实施方案中,下述 Kabat 编号用于辨别可变轻链构架区: Kabat 构架区 1 (KF1, 其可以相应于 FR1) 包含从残基 1 至大约残基 23; Kabat 构架区 2 (KF2, 其可以相应于 FR2) 包含从大约残基 35 至大约残基 49; Kabat 构架区 3 包含从大约残基 57 至大约残基 88 (KF3, 其可以相应于 FR3); 及 Kabat 构架区 4 包含从大约残基 96 至大约残基 109 (KF4, 其可以相应于 FR4)。

[0184] 如本文所用,“独立共有构架” (ICF) 是指一种构架区 (例如 FR1, FR2, FR3, FR4, 并因此可相应于 KF1, KF2, KF3 或 KF4), 其具有这样的氨基酸或核酸编码序列,所述序列是一种共有序列,得自例如: (1) 种系 V 或 J 基因, (2) 重排的 VDJ 基因, (3) 重排的 VJ 基因, 及 (4) 已知免疫球蛋白的氨基酸序列 (和 / 或编码相同或基本上相同氨基酸序列的核酸序列)。由于遗传密码的简并性,大量功能相同的核酸编码任何给定多肽。例如,密码子 CGU, CGC, CGA, CGG, AGA 和 AGG 均编码氨基酸精氨酸。因此,在精氨酸由一密码子限定的每一位置,该密码子可以被改变为所述的任一相应密码子而不改变所编码的多肽。这种核酸变异是“沉默变异”。本领域技术人员理解核酸序列中的每一密码子 (除了 AUG; 其通常是甲硫氨酸的唯一密码子) 可以根据标准技术被修饰以产生功能相同的分子。

[0185] 在一个实施方案中,每个 ICF 包含一共有序列,其独立地选自可变区的其它 ICF。换句话说,在一个方面中,ICF 共有序列得自分析独立于其它构架亚区的一特定构架亚区 (与这样的方法相反,即通过检查完整构架区而分析构架共有序列,而非独立分析单独的构架亚区)。独立选择可以排列得自多个编码至少一些部分的可变链构架区的种系核酸序列的 ICF 种系核酸序列库,然后根据序列相似性聚类序列,其中来自每一构架聚簇的序列然后用于形成共有序列。在翻译后,所述共有序列证实在每一残基位置最经常发生的氨基酸序列。结构域可以是 ICF1、ICF2、ICF3 或 ICF4。可变构架区氨基酸残基可以相应于标准 Kabat 编号系统。ICF 序列可以与用于确定 ICF 结构域的原始种系序列相同。共有序列还包括核酸共有序列中的任何摆动变化,其中所述核苷酸变化仍编码相同氨基酸序列。例如,可以基于人种系序列确定针对人的共有序列。也可以使用合适的种系序列针对如下非限制性例子而确定共有序列,例如犬、猫、绵羊、马、牛、猪、家禽、山羊、鲑鱼和杂交瘤细胞系。

[0186] 免疫球蛋白结构

[0187] 免疫球蛋白 (Ig) 是作为抗体起作用并由浆细胞应答抗原 (即通过感染或免疫接种) 而产生的分子。免疫球蛋白可以特异性结合一或几种密切相关的抗原。免疫球蛋白的主要功能是结合抗原, 其介导各种效应子功能, 可以最终导致对动物的保护。Ig 基于重链恒定区中的氨基酸序列差异被分成 5 个不同类别, 例如 γ 重链 (IgG)、 μ 重链 (IgM)、 α 重链 (IgA)、 δ 重链 (IgD) 和 ϵ 重链 (IgE)。属于一给定类别的所有 Ig 均具有相似的重链恒定区。Ig 类别可以基于重链恒定区中的氨基酸序列中的小差异被进一步分成亚类。属于一个亚类的 Ig 可以具有相似的重链恒定区氨基酸序列, 其中差异通过血清学手段检测。例如, IgG 亚类包括 IgG1, IgG2, IgG3, 和 IgG4, 其中所述重链根据氨基酸差异被分成是 $\gamma 1$ 重链、 $\gamma 2$ 重链等等。在另一个例子中, IgA 亚类包括 IgA1 和 IgA2, 其中所述重链根据氨基酸差异被分成是 $\alpha 1$ 重链、 $\alpha 2$ 重链。

[0188] 免疫球蛋白还包含轻链如 κ 轻链或 λ 轻链。轻链类型的差别是基于轻链恒定区氨基酸序列中的差异, 其也可以被血清学手段检测。轻链也可以基于轻链恒定区氨基酸序列中的差异被分成亚型。例如 λ 亚型被分为 $\lambda 1$ 、 $\lambda 2$ 、 $\lambda 3$ 和 $\lambda 4$ 。

[0189] 免疫球蛋白包括一群异质分子, 因为它们由不同类别和亚类的重链组成。每个重链可以随后与不同类型和亚型的轻链结合。其结果是, 不同的免疫球蛋白分子由于不同的 V_H 和 V_L 区而可以具有不同的抗原结合性质。通常, 免疫球蛋白包括 4-链结构作为它们的基础单位。全长 Ig 包括共价连接的两条重链 (~ 50 – 70 kD) 和两条轻链 (每条 ~ 23 kD, 如 λ 或 κ 链)。每条轻链也与一条重链共价连接。例如, 两条重链以及重链和轻链通过链间二硫键和非共价相互作用而结合在一起。链间二硫键的数量可以在不同免疫球蛋白分子间变化。每条链具有 N 末端可变结构域 (V_H 或 V_L , 其中每个长度为 ~ 110 个氨基酸) 以及在 C 末端的一或多个恒定结构域。轻链的恒定结构域 (C_L , 其长度为 ~ 110 个氨基酸) 结合并与重链的第一个恒定结构域 (C_H , 其长度为 ~ 330 – 440 个氨基酸) 二硫键相连。轻链可变结构域与重链的可变结构域相结合。Ig 重链可以包括 2 个或更多个额外的 CH 结构域 (如 C_{H2} 、 C_{H3} 等等)。例如, 可以在 C_{H1} 和 C_{H2} 恒定结构域之间鉴别一铰链区。这是其中抗体分子的臂形成 Y 形并使得分子有一些柔性的区域。

[0190] 如上述讨论和限定的, 重链和轻链的可变结构域包括构架区 (FR) 和称为互补决定区 (CDR) 的超变区及链间二硫键 (参见例如 Chothia et al., (1985) J. Mol. Biol. 186 : 651–663 ; Novotny and Haber, (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82 : 4592–4596 ; Padlar et al., (1986) Mol. Immunol., 23 (9) : 951–960 ; and S. Miller, J. (1990) Mol. Biol., 216 : 965–973)。

[0191] Ig 重链和轻链可变区可以基于它们在构架区内的相似性和差异分成组和亚组。所述可变性是不同可变区基因 (如 V、D 和 J 基因) 产物的结果。

[0192] VDJ 重组、种系序列和免疫球蛋白多样性

[0193] Ig 分子的重链和轻链可变区包括 V 片段 (可变基因片段) 和 J 片段 (连接基因片段)。V 基因编码 V 片段, J 片段是指由 J 基因编码的区域。另外, 重链可变区包括 D 片段 (多样性基因片段), 其由 D 基因编码。重链和轻链可变区的 V 片段由 FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3 及 CDR3 的几个氨基酸组成。轻链可变区的 J 片段包括其余的 CDR3 及完整的 FR4。在重链可变区, J 片段包括 CDR3 的一部分及 FR4 的全部, 其中 D 片段包括 CDR3 的其余部分。

例如,为产生轻链可变区,作为在 B 细胞分化期间轻链可变区基因的重排结果, J 片段被加入到 V 片段。在重链情况中, D 片段与 J 片段被加入到 V 片段,产生重链可变区。

[0194] 免疫球蛋白多样性是各种过程的结果,如组合组装(例如 V(D)J 重组)、连接组装(junctional assembly)、轻链偶联(例如 κ 和 λ 轻链的不同组合可以被使用但是不是所有重链均与 κ 和 λ 同等好配对),及体细胞超变。

[0195] 多种系基因的组合组装涉及编码可变区和各种体细胞事件。V(D)J 重组从发育 B 细胞中的组分 V、D 和 J 基因片段组装 Ig 基因。体细胞事件包括可变(V)基因片段与多样性(D)和连接(J)基因片段的随机重组以产生完整 V_H 区-重链可变区的 V(D)J 结构域。简而言之,第一次重组事件发生在发育 B 细胞的重链基因座的一个 D 和一个 J 基因片段之间,形成 DJ 复合物。这两个基因之间的 DNA 被缺失。D-J 重组事件随后为来自新形成的 DJ 复合物的上游区的一个 V 基因的连接,导致形成重排的 VDJ 基因。该新 VDJ 基因的 V 和 D 片段之间的其它基因现在被缺失。免疫球蛋白轻链基因座的 κ 和 λ 链类似于重链可变区而重组,除了轻链缺少 Δ 片段,其中所述事件也可以引起可变(V)和连接(J)基因片段之间的随机重组,产生完整 V_L 区-轻链可变区的 VJ 结构域。

[0196] 连接多样性还有助于重组过程中实现的 Ig 多样性。当 D 基因片段被连接至 J 基因片段, V 基因片段随后连接至 DJ 区时,该过程本身是不精确的,并且可以导致编码 V(D)J 结构域连接处的各种氨基酸的核苷酸的丧失或添加。这些参与产生多样性的机制发生在暴露于抗原之前的发育 B 细胞中。

[0197] 在抗原刺激后, B 细胞中表达的 Ig 基因经历体细胞突变或超变(参见 Maizels(2005) Ann. Rev. Genet. 39:23-46),其进一步有助于 Ig 可变性。成熟的 B 细胞在遭遇抗原活化后,具有将点突变导入免疫球蛋白基因的可变区中的能力(也称作亲和性成熟);这发生在专门的淋巴样结构生发中心中。一些突变可导致 Ig 具有对抗原更高的亲和性。与抗原强结合的抗体被选择进行增殖,因为它们比与其抗原弱结合的抗体更经常被刺激。

[0198] 除了上述产生 Ig 多样性的机制外,可以使用完全或部分衍生自编码表达的免疫球蛋白的序列的核苷酸的遗传学差异集合。例如,序列可以通过体外刺激从细胞系产生,应答这而发生重排。或者,部分或全部序列可以得自组合例如未重排的 V 片段与 D 和 J 片段,使用核苷酸合成、随机诱变和其它方法,如美国专利 5,565,332 所述的方法。基于估计数目的种系基因片段(如重链和轻链可变区的 V、D 和 J 片段)、这些片段的随机重组及重链和轻链可变区的随机配对(V_H-V_L),大约 1.6×10^7 种不同抗体可以被产生(Fundamental Immunology(3rd ed), ed. Paul, RavenPress, New York, N. Y., 1993; Immunobiology: the immune system in health and disease, 4th ed., Janeway et al., Elsevier Science/Garland Publishing, York, N. Y., 1999)。当考虑其它有助于抗体多样性的方法(如体细胞超变)时,大约 10^{10} 种不同 Ig 可以被产生(Immunoglobulin Genes, 2nd ed., eds. Jonio et al., Academic Press, San Diego, Calif., 1995; Immunology, 3rd ed., Kuby, J., W. H. Freeman and Co., New York, NY., 1997)。

[0199] 多肽

[0200] 除了编码重链可变区多肽的核酸之外,本发明还提供了重组重链可变区多肽的组合物。本发明还提供了重组轻链可变区多肽的组合物以及编码重链可变区多肽的核酸。所

述重组重链可变区多肽可以与轻链可变区多肽偶联以产生免疫球蛋白。用于本发明方法中的核酸序列之外的核酸组合物,即至少部分编码个体轻链或重链可变区肽、多肽或蛋白质的那些,可以是天然发生的、合成的或其组合。它们可以是 mRNA、DNA 或 cDNA。在本发明的一些实施方案中,所述核酸编码抗体。在进一步的实施方案中,所述核酸编码单链抗体、二价抗体、Fab 片段或单链 Fv。

[0201] 在一个实施方案中,编码独立共有构架(ICF)的氨基酸序列被提供以产生重组重链可变区(见表1)。在另一个实施方案中,编码相应于ICF的氨基酸序列的核酸被提供以产生重组重链可变区多肽(表2)。在其它实施方案中,编码独立共有构架的氨基酸序列被提供以产生重组轻链可变区(见表3)。在进一步实施方案中,编码相应于ICF的氨基酸序列的核酸被提供以产生重组轻链可变区多肽(表4)。ICF(例如ICF1,ICF2,ICF3或ICF4)可以是Kabat构架(KF)区(即KF1,KF2,KF3或KF4),其包含这样的氨基酸或核酸编码序列,所述序列是共有序列,得自例如(1)种系V或J基因,(2)重排的VDJ基因,(3)重排的VJ基因,或(4)已知Ig的氨基酸序列(和/或编码相同或基本上相同的氨基酸序列的核酸序列)。

[0202] 表1可变重(V_H)链ICF的示例性氨基酸序列

[0203] 重链ICF1s:

[0204]

名称:	氨基酸序列	SEQ ID NO:
GL1_8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	1
GL2	QVQLVESGGGVVQPGSLRLSCAAS	2
GL3	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVS	3
GL4	QVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFS	4
GL5	QVQLQESGPGLVKPSQTLTLTCTVS	5
GL6	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGS	6
GL7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS	7
GL1a	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAS	186
GL2a	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFS	187
GL4a	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVS	188
GL6a	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLTCAIS	189

GL7a	QVQLVESGAIEVKKPGASVKVCKAS	181
GL2b	QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCAAS	199

[0205] 重链 ICF2s

[0206]

		SEQ ID NO :
GL1_7_8	WVRQAPGKGLEWVS	8
GL2_3	WVRQAPGKGLEWVG	9
GL4	WVRQAPGQGLEWMG	10
GL5	WVRQAPGKGLEWMG	11

[0207]

GL 6	WIRQPPGKGLEWIG	12
GL2a	WIRQPPGKALEWLG	190
GL5a	WVRQMPGKGLEWMG	191
GL6a	WIRQSPSRGLEWLG	192

[0208] 重链 ICF3s

[0209]

		SEQ ID NO :
GL1	RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	13
GL2	RFTISRDNKNTLHLQMNSLRAEDTAVYYCKR	14
GL3	RFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR	15
GL4	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	16
GL5	RLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATVYYCAR	17
GL6	RFVFSLDTSVSTAYLQMSSLKAEDTAVYYCAR	18

GL7	RVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR	19
GL8	RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCAR	20
GL1a	RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKD	180
GL1b	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCAR	193
GL1c	RVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDТАVYYCAR	194
GL2a	RFTISRDNKNTLHLQMNSLRAEDTAVYYCKK	182
GL3a	RFTISRDNKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKD	195
GL3b	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	196
GL5a	RLTISKDTSKNQVLTMTNMDPVDТАVYYCARI	183
GL6a	RFVFSLDTSVSTAYLQICSLKAEDTAVYYCAR	197
GL6b	RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAR	198
GL7a	HVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR	184
GL8a	RVTMTTRDTSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCAR	185

[0210] 重链 ICF4s

[0211]

		SEQ ID NO :
GL1	VTVSSASTKGPS	21
	VTVSASTKGPS	206
	WGQGTVTVSASTKGPS	207

[0212] 表 2 可变重 (V_H) 链 ICF 的示例性核酸序列

[0213] 重链 ICF1s :

[0214]

		SEQ ID NO :
--	--	-------------------

GL1	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCGGGTCCCTG AGACTCTCCTGTGCAGCCTCT	22
GL2	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTG AGACTCTCCTGTGCAGCCTCT	23
GL3	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTG TCCCTCACCTGCGCTGTCTCT	24
GL4	CAGGTACACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGCGCTGGTGAAACCCACACAGACCCTC ACACTGACCTGCACCTTCTCT	25
GL5	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTG TCCCTCACCTGCACTGTCTCT	26
GL6	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGGGAGTCTCTG AAGATCTCCTGTAAGGGTTCT	27
GL7	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTTCGGTG AAGGTCTCCTGCAAGGCTTCT	28

[0215] 重链 ICF2s :

[0216]

		SEQ ID NO :
GL1_7_8	TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCA	29
GL2_3	TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGGCTAGAGTGGGTGGCA	30
GL4	TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC	31
GL5	TGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGA	32
GL6	TGGGTGCGACAGGCTCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGA	33

[0217] 重链 ICF3s :

[0218]

		SEQ ID NO :

GL1	CGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAAC AGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA	34
GL2	CGATTACCATCTCCAGAGACAACAGCAAAAACCTCCCTGTATCTGCAAATGAAC	35

[0219]

	AGTCTGAGAACTGAGGACACCGCCTTGTATTACTGTGCAAGA	
GL3	AGGTTACCATCTCCAGAGATGATTCAAAGAACACGGCGTATCTGCAAATGAAC AGCCTGAAAACCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTACTAGA	36
GL4	CGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGC TCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGA	37
GL5	AGGCTCACCATCTCCAAGGACACCTCCAAAAACCAGGTGGTCCTTACAATGACC AACATGGACCCTGTGGACACAGCCACGTATTACTGTGCACGG	38
GL6	CGATTTGTCTTCTCCCTCGACACGTCTGTCAGCACGGCGTATCTTCAGATGTCT AGCCTAAAGGCTGAGGACACGGCCGTCTATTACTGTGCGCGA	39
GL7	CGCGTCACCATCTCAGCTGACAAGTCCATCAGCACTGCCTACCTGCAGTGGAGC AGCCTGAAGGCTCGGACACCGCCATGTATTACTGTGCGAGA	40
GL8	AGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGC AGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGA	41

[0220] 重链 ICF4s :

[0221]

		SEQ ID NO :
GL1	GTCACCGTCTCCTCCGCTCCACCAAGGGCCCATCG	42

[0222] 表 3 可变轻链 (V_k 或 V_λ) ICFs 的示例性氨基酸序列

[0223]

ICF1kappa	氨基酸序列	SEQ ID NO :
VK1_2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	43
VK3	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC	44

VK4	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC	45
VK5	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC	46
VK6	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC	47
VK7	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC	48
VK8	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISIC	49
VK1_2a	DIVMTQSPSSLSASVGDRVITIC	200
VK4a 或 VK5a	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSC	201
VK7a	DIQMTQSPDFLAVSLGERATINC	202
VKa	EIVLTQSPSSLSASVGDRVITIC	203
	DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISIC	261
	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISIC	262
	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC	263
	ETTLTQSPAFMSATPGDKVNISC	264

[0224]

	AIRMTQSPFSLASVGDRVITIC	265
	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITIC	266
	NIQMTQSPSAMSASVGDRVITIC	267
	DVVMQSPSLPVTLGQPASISIC	268
	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISIC	269
	DVVMQSPAFLSVTPGEKVTITC	270
	VIWMTQSPSLLSASTGDRVITIC	271
	AIRMTQSPSSFASASTGDRVITIC	272
ICF1 λ	氨基酸序列	
VL1	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC	50

VL2	QSVLTQPPSASGTPGQRTISC	51
VL3	QSALTQPASVSGSPGQSITISC	52
VL4	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISC	53
VL5	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITC	54
VL6	SSELTQDPAVSVALGQTVRITC	55
VL7	SYELTQPPSVSVSPGQTASITC	56
VL8	QLVLTQSPSASASLGASVKLTC	57

[0225]

ICF2 kappa	氨基酸序列	SEQ ID NO :
VK1_2_3	WYQQKPGKAPKLLIY	58
VK4_5_6	WYQQKPGQAPRLIY	59
VK7	WYQQKPGQPPKLLIY	60
VK8	WYLQKPGQSPQLLIY	61
VK4_5_6a	WYQQKPCQAPRLIY	204
	WFQQKPGKAPKSLIY	273
	WYQQKPAKAPKLFY	274
	WYLQKPGQPPQLLIY	275
	WYQQKPGKAPELLIY	276
	WYQQKPGKVPKLLIY	277
	WYQQKPEKAPKSLIY	278
	WFQQRPGQSPRRLIY	279
	WYQQKPDQSPKLLIK	280

	WFQQKPGKVPKHLIY	281
	WYQQKPGKAPKRLIY	282
	WLQQRPGQPPRLIY	283
	WYQQKPGEAIFLIQ	284

[0226]

ICF2 lambda	氨基酸序列	SEQ ID NO :
VL1_2	WYQQLPGTAPKLLIY	62
VL3_4	WYQQHPGKAPKLMY	63
VL5_6	WYQQKPGQAPVLVIY	64
VL7	WYQQKPGQSPVLVIY	65
VL8	WHQQQPEKGPRYLMY	66

[0227]

ICF3 kappa	氨基酸序列	SEQ ID NO :
VK1	GVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	67
VK2	GVPSRFGSGSGTDFTFTISSLQPEDFATYYC	68
VK3	GVPSRFGSGSGTEFTLTISSLQPDFATYYC	69
VK4	GIPARFGSGSGTEFTLTISSLQSEDFATYYC	70
VK5	GIPARFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	71
VK6	GIPDRFGSGSGTDFTLTISRLEPEDFATYYC	72
VK7	GVPDRFGSGSGTDFTLTISSLQAEDVATYYC	73
VK8	GVPDRFGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	74
	GVPSRFGSGSGTDFTLTISCLQSEDFATYYC	253

	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC	254
	GIPARFSGSGPGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC	255
	GVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYC	256
	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYC	257
	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYC	258
	GIPPRFSGSGYGTDFTLTINNIESEDAAYYFC	259
	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYC	260

[0228] 表 4 :可变轻链 ICFs 的示例性核酸序列

[0229]

ICF1 kappa	核酸序列	SEQ ID NO :
VK1_2	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG ACAGAGTCACCATCACTTGC	85
VK3	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAG ACAGAGTCACCATCACTTGC	86
VK4	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGG AAAGAGCCACCCTCTCCTGC	87

[0230]

VK5	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGG AAAGAGCCACCCTCTCCTGC	88
VK6	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGG AAAGAGCCACCCTCTCCTGC	89
VK7	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCG AGAGGGCCACCATCAACTGC	90
VK8	GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAG AGCCGGCCTCCATCTCCTGC	91

[0231]

ICF1 lambda	核酸序列	SEQ ID NO :
VL1	CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGA AGGTCACCATCTCCTGC	92
VL2	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGA GGGTCACCATCTCTTGT	93
VL3	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGT CGATCACCATCTCCTGC	94
VL4	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTCGCTCAGTGTCCGGGTCTCCTGGACAGT CAGTCACCATCTCCTGC	95
VL5	TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTGAGTGGCCCCAGGAAAGA CGGCCAGGATTACCTGT	96
VL6	TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAGA CAGTCAGGATCACATGC	97
VL7	TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGA CAGCCAGCATCACCTGC	98

[0232]

ICF2 kappa	核酸序列	SEQ ID NO :
VK1_2_3	TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTAT	100
VK4_5_6	TGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTAT	101
VK7	TGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTAC	102
VK8	TGGTATCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTAT	103

[0233]

ICF2 lambda	核酸序列	
VL1_2	TGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCATCTAT	104
VL3_4	TGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCCCCAAACCTCATGATTAT	105

VL5_6	TGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCATCTAT	106
-------	--	-----

[0234]

VL7	TGGTATCAGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCTGTGCTGGTCATCTAT	107
-----	---	-----

[0235]

ICF3 kappa	核酸序列	SEQ ID NO :
VK1	GGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCTACTC TCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGT	109
VK2	GGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCTACTT TCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGT	110
VK3	GGGGTCCCATCAAGGTTCAAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAACTCACTC TCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATTACTGC	111
VK4	GGCATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACTC TCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGCAAGTTTATTACTGT	112
VK5	GGCATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTC TCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAAGTTTATTACTGT	113
VK6	GGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTC TCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAAGTGTATTACTGT	114
VK7	GGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTGAGCCACCC TGGGCATCACCAGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGC	115
VK8	GGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACAC TGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGT	116

[0236]

ICF3 lambda	核酸序列	SEQ ID NO :
VL1	GGGATTCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTGAGCCACCC TGGGCATCACCAGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGC	117
VL2	GGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCC TGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGT	118

VL3	GGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCC TGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGC	119
VL4	GGGGTCCCTGATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCC TGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGC	120
VL5	GGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGGAACACGGCCACCC TGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGT	121
VL6	GGGATCCCAGACCGATTCTCTGGCTCCAGCTCAGGAAACACAGCTTCCT TGACCATCACTGGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGCTGACTATTACTGT	122
VL7	GGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGGAACACAGCCACTC TGACCATCAGCGGGACCCAGGCTATGGATGAGGCTGACTATTACTGT	123

[0237]

ICF4 kappa	核酸序列	SEQ ID NO :
VK1	TTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA	125

[0238]

ICF4 lambda	核酸序列	SEQ ID NO :
VL1	TTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA	126

[0239] 除了表 1-4 列出的序列之外,可以用于本发明的其它 ICF 在图 24、32、33、34、38、39 中和在实施例 3 和 4 公开的组装的 HuFR 序列中提供(有颜色的或非下划线亚序列)。

[0240] 例如,每个 ICF 包含独立选择的共有序列,其中独立选择可涉及序列对比 ICF 种系核酸序列库,随后根据序列相似性聚类(clustering)序列,所述 ICF 种系核酸序列得自多个编码可变链 Kabat 构架区的至少一些部分的种系核酸序列。例如,来自每个构架聚簇的序列然后被用于建立重链可变区的共有序列。在一个非限制性实施例中,可以汇编所有种系人 V_H 外显子的序列,每个外显子序列可以随后被分成构架亚区 FR1, 2, 3 和 4, 如 Kabat et al. 所述(见上述)。

[0241] 然后对比 FR 亚区序列集合(如 Kabat FR1 序列库)而非包含构架亚区 1-4 的完整构架序列,并经序列相似性聚类。来自每个 FR 亚区聚簇的序列(例如 FR1, FR2, FR3 或 FR4)可以然后用于产生共有序列(例如 ICF1, ICF2, ICF3 和 ICF4),其独立地衍生自完整构架区,其包含在每个序列位置最频繁发生的氨基酸(见表 1 和 2)。这一共有方法也可以针对 V_L 外显子进行以鉴别每个构架亚区内的共有序列(表 3-4;还见实施例 1-2)。例如,用于组

装重链可变区的 ICF 序列产生总共 336 种重链可变区组合（即 7 个 IFC1 序列 x 6 个 ICF2 序列 x 8 个 ICF3 序列 x 1 个 ICF4 序列）。在另一个使用 ICF 序列组装轻链可变区（例如 κ 轻链）的例子中，总共可能有 224 种轻链可变区组合（即 7 个 IFC1 序列 x 4 个 ICF2 序列 x 8 个 ICF3 序列 x 1 个 ICF4 序列）。当重链和轻链可变区组合互相结合时，总共可以产生 75264 种重链-轻链复合物（例如，更人样的（more human-like）免疫球蛋白分子）。

[0242] 在一个实施方案中，重链可变区 ICF1 核酸序列包含 SEQ ID NO :22, 23, 24, 25, 26, 27 或 28 任一序列。在另一个实施方案中，重链可变区 ICF2 核酸序列包含 SEQ ID NO :29, 30, 31, 32 或 33。在进一步的实施方中，重链可变区 ICF3 核酸序列包含 SEQ ID NO :34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 或 41。在本发明的另一个实施方案中，重链可变区 ICF4 核酸序列是 SEQ ID NO :42。

[0243] 在另一个实施例中，来自每个构架聚簇的序列也可以用于建立轻链可变区的共有序列。在一个实施方案中，轻链可变区 ICF1 核酸序列包含 SEQ ID NO :85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97 或 98。在另一个实施方案中，轻链可变区 ICF2 核酸序列包含 SEQ ID NO :100, 101, 102, 103, 104, 105, 106 或 107。在进一步的实施方案中，轻链可变区 ICF3 核酸序列包含 SEQ ID NO :109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 或 123。在本发明的另一个实施方案中，轻链可变区 ICF4 核酸序列是 SEQ ID NO :125 或 126。

[0244] 来自每个构架聚簇的氨基酸序列也可以用于建立重链可变区的共有序列。在一个实施方案中，重链可变区 ICF1 氨基酸序列包含 SEQ ID NO :1-7, 186, 187, 188, 189, 181, 199 任一序列。在另一个实施方案中，重链可变区 ICF2 氨基酸序列包含 SEQ ID NO :8-12 或 190-192 任一序列。在进一步的实施方案中，重链可变区 ICF3 氨基酸序列包含 SEQ ID NO :13-20, 180, 182-185 或 193-198。在本发明的另一个实施方案中，重链可变区 ICF4 氨基酸序列是 SEQ ID NO :21, 206 或 207。

[0245] 另外，来自每个构架聚簇的氨基酸序列也可以用于建立轻链可变区的共有序列。在一个实施方案中，轻链可变区 ICF1 氨基酸序列包含 SEQ ID NO :43-57 或 200-204 任一序列。在另一个实施方案中，轻链可变区 ICF2 氨基酸序列包含 SEQ ID NO :58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66 或 204。在进一步的实施方案中，轻链可变区 ICF3 氨基酸序列包含 SEQ ID NO :67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81 或 82。在本发明的另一个实施方案中，轻链可变区 ICF4 氨基酸序列是 SEQ ID NO :83 或 84。

[0246] 在翻译后，ICF1, ICF2, ICF3 或 ICF4 共有序列证实在每个残基位置发生的最频繁的氨基酸序列。ICF 序列可以与用于确定 ICF 结构域的原始种系序列相同。在一个实施方案中，包含重链可变区的 ICF 序列与种系 Kabat 构架区（KFR）至少 80% 相同。在另一个实施方案中，ICF 序列与种系 KFR 至少 85%, 90%, 93%, 95%, 99% 或 100% 相同。

[0247] 本发明的轻链可变区多肽的 ICF 序列也可以与用于确定 ICF 结构域的原始种系序列相同。在另一个实施方案中，包含轻链可变区的 ICF 序列与种系 KFR 至少 70% 相同。在另一个实施方案中，ICF 序列与种系 KFR 至少 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 93%, 95%, 99% 或 100% 相同。

[0248] 在翻译后，ICF1, ICF2, ICF3 或 ICF4 共有序列证实在每个残基位置发生的最频繁的氨基酸序列。在一个实施方案中，包含重链可变区的 ICF 序列与成熟抗体 KFR 至少 80%, 85%, 90%, 93%, 95%, 99% 或 100% 相同。

[0249] 本发明的轻链可变区多肽的 ICF 序列也可以与用于确定 ICF 结构域的原始成熟抗体序列相同。在一个实施方案中,包含轻链可变区的 ICF 序列与成熟抗体 KFR 至少 50% 相同。在其它实施方案中,包含轻链可变区的 ICF 与成熟抗体 KFR 至少 60%,70%,80%,85%,90%,93%,95%,99% 或 100% 相同。

[0250] 可变构架区氨基酸残基可以相应于上述标准 Kabat 编号系统。Kabat 编号系统可以相应于本发明的 ICF 氨基酸序列。例如,重链可变区的 ICF1 可以包含 Kabat 构架 (KF)1 的大约 25 个残基。在一个实施方案中,重链可变区的 ICF1 包含 KF1 的至少 20、25 或至少 29 个连续残基。

[0251] 在一个实施方案中,重链可变区的 ICF2 可以包含大约 14 个 KF2 的残基。在一个实施方案中,重链可变区的 ICF2 包含至少 10、12 或 14 个连续的 KF2 残基。

[0252] 重链可变区的 ICF3 可以包含大约 32 个 KF3 的残基。在一个实施方案中,重链可变区的 ICF3 包含至少 25、30 或 32 个连续的 KF3 残基。

[0253] 重链可变区的 ICF4 可以包含大约 12 个 KF4 的残基。在一个实施方案中,重链可变区的 ICF4 包含至少 8、10 或 12 个连续的 KF4 残基。

[0254] Kabat 编号系统也可以相应于本发明的轻链可变区多肽的 ICF 氨基酸序列。例如,轻链 (例如 V_L 或 V_H) 可变区的 ICF1 可以包含 Kabat 构架 (KF)1 的大约 25 个残基。在一个实施方案中,轻链可变区的 ICF1 包含 KF1 的至少 15、20 或 23 个连续残基。

[0255] 轻链可变区的 ICF2 可以包含大约 15 个 KF2 的残基。在一个实施方案中,轻链可变区的 ICF2 包含至少 10 个连续的 KF2 残基。在另一个实施方案中,ICF2 包含至少 12 个连续的 KF2 残基。在进一步的实施方案中,ICF2 包含至少 14 个连续的 KF2 残基。

[0256] 轻链可变区的 ICF3 可以包含大约 32 个 KF3 的残基。在一个实施方案中,轻链可变区的 ICF3 包含至少 25、30 或 32 个连续的 KF3 残基。

[0257] 轻链可变区的 ICF4 可以包含大约 10 个 KF4 的残基。在一个实施方案中,轻链可变区的 ICF4 包含至少 8、10、13 个连续的 KF4 残基。

[0258] ICF 核酸共有序列可以包括核酸共有序列中的任何摆动位点变化,其中所述核苷酸变化仍编码相同氨基酸序列。因为遗传密码的简并性,大量的功能相同核酸编码任何给定多肽。例如,密码子 CGU, CGC, CGA, CGG, AGA 和 AGG 均编码氨基酸精氨酸。因此,在精氨酸由一密码子限定的每个位置,该密码子可以改变为所述的任一相应密码子而不改变编码的多肽。

[0259] 在一些实施方案中,编码重链可变区 ICF1 的核酸序列与 SEQ ID NO:22,23,24,25,26,27 或 28 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98% 或 99% 相同。在其它实施方案中,编码重链可变区 ICF2 的核酸序列与 SEQ ID NO:29,30,31,32 或 33 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98% 或 99% 相同。在一些实施方案中,编码重链可变区 ICF3 的核酸序列与 SEQ ID NO:34,35,36,37,38,39,40 或 41 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98% 或 99% 相同。在进一步的实施方案中,编码重链可变区 ICF4 的核酸序列与 SEQ ID NO:42 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98% 或 99% 相同。

[0260] 在其它实施方案中,编码轻链可变区 ICF1 的核酸序列与 SEQ ID NO:85,86,87,88,89,90,91,92,93,94,95,96,97 或 98 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,

97%,98%或99%相同。在一些实施方案中,编码轻链可变区 ICF2 的核酸序列与 SEQ ID NO:100,101,102,103,104,105,106 或 107 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%相同。在一些实施方案中,编码轻链可变区 ICF3 的核酸序列与 SEQ ID NO:109,110,111,112,113,114,115,116,117,118,119,120,121,122 或 123 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%相同。在其它实施方案中,编码轻链可变区 ICF4 的核酸序列与 SEQ ID NO:125 或 126 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%相同。

[0261] 保守氨基酸变化是指具有相似侧链变化的氨基酸残基的互换性。例如,一组具有碱性侧链的氨基酸是赖氨酸、精氨酸和组氨酸;一组具有脂羟基侧链的氨基酸是丝氨酸和苏氨酸;一组具有含酰胺侧链的氨基酸是天冬酰胺和谷氨酰胺;一组具有脂族侧链的氨基酸是甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;一组具有芳香侧链的氨基酸是酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸;一组具有含硫侧链的氨基酸是半胱氨酸和甲硫氨酸。

[0262] 在一些实施方案中,编码重链可变区 ICF1 的氨基酸序列与 SEQ ID NO:1,2,3,4,5,6 或 7 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%相同。在其它实施方案中,编码重链可变区 ICF2 的氨基酸序列与 SEQ ID NO:8,9,10,11 或 12 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%相同。在一些实施方案中,编码重链可变区 ICF3 的氨基酸序列与 SEQ ID NO:13,14,15,16,17,18,19 或 20 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%相同。在进一步的实施方案中,编码重链可变区 ICF4 的氨基酸序列与 SEQ ID NO:21 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%相同。

[0263] 在其它实施方案中,编码轻链可变区 ICF1 的氨基酸序列与 SEQ ID NO:43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56 或 57 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%相同。在一些实施方案中,编码轻链可变区 ICF2 的氨基酸序列与 SEQ ID NO:58,59,60,61,62,63,64,65 或 66 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%相同。在一些实施方案中,编码轻链可变区 ICF3 的氨基酸序列与 SEQ ID NO:67,68,69,70,71,72,73,74,75,76,77,78,79,80,81 或 82 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%相同。在其它实施方案中,编码轻链可变区 ICF4 的氨基酸序列与 SEQ ID NO:83 或 84 至少 70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%相同。

[0264] 可以基于人种系序列或成熟(即重排的)抗体序列确定针对人的 ICF 核酸或氨基酸共有序列(例如相应于 ICF1, ICF2, ICF3 或 ICF4 的序列)。ICF 核酸或氨基酸共有序列也可以使用合适的种系序列针对如下非限制性例子而确定,例如犬、猫、绵羊、马、牛、猪、家禽、山羊、鲑鱼和杂交瘤细胞系。

[0265] 本发明提供了从上述重链和轻链可变区产生的抗体组合物。根据本发明,来自已知抗体的 CDR(如表 5-6 所示的那些)可以与如表 1-4 所示的那些 ICF 组合。另外,它们可以进一步组合恒定结构域(CD)(例如表 7-8 所示那些)以产生全长重链可变区多肽或全长轻链可变区多肽。这些多肽可以随后组合产生 Ig,其中所述 Ig 可以作为功能单位用于下述非限制性抗体例子:单链抗体、二价抗体(如二硫键连接抗体)、Fab 片段和单链 Fv。

[0266] 免疫球蛋白片段可以通过蛋白酶消化产生并已证明在阐述免疫球蛋白的结构 /

功能关系中非常有用。Ig 片段可以包括重链和轻链可变区的组合以形成抗原结合位点。抗体片段包括例如 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, Fd 和 Fd' 片段。

[0267] 例如, Fab 片段可以通过用木瓜蛋白酶消化产生, 其中所述酶在 H-H 链间二硫键之前在铰链区断裂免疫球蛋白分子。这导致形成两个相同片段, 它们含有轻链和重链的 V_H 和 C_{H1} 结构域并额外包含抗体的抗原结合位点。每个 Fab 片段是单价的, 但是原始分子是二价的。Fc 片段例如也可以通过用木瓜蛋白酶消化产生。所述酶能产生含有两条重链其余部分的片段, 各自含有 C_{H2} 和 C_{H3} 结构域。

[0268] 用胃蛋白酶处理免疫球蛋白导致在 H-H 链间二硫键之后重链裂解, 产生含有两个抗原结合位点的片段。由胃蛋白酶消化产生的这一二价片段被称为 F(ab')₂。分子的 Fc 区被胃蛋白酶消化成小肽。F(ab')₂ 片段可以结合其抗原但是通常不介导抗体的效应子功能。

[0269] 组合物

[0270] 本发明的每种化合物 (例如本文描述的化合物) 当与可接受载体或赋形剂组合时可以用作组合物 (例如药物组合物)。本发明的这些组合物 (例如药物组合物) 可以用于体外或体内分析或体内或离体给予对象 (例如人) 以用于治疗对象。

[0271] 因此, 本发明的药物组合物除了活性成分之外还可以包括药理学可接受赋形剂、载体、缓冲剂、稳定剂或本领域技术人员熟知的其它材料。在一个方面中, 这些材料是无毒的并且不干扰活性成分的功效。载体或其它材料的精确性质可取决于配方和给药途径。

[0272] 包含本发明的蛋白质例如本发明的抗体或其抗原结合片段 (例如由本发明方法鉴别的那些) 的本发明的药物配制品可以制备用于储存, 所述制备通过例如将具有希望纯度的蛋白质与任选的生理学可接受载体、赋形剂或稳定剂 (参见例如 Remington's Pharmaceutical Sciences 最新版或第 16 版, Osol, A. Ed. (1980)) 混合而进行, 例如呈冻干配制品或水溶液形式。在可选的实施方案中, 可接受载体、赋形剂或稳定剂是在采用的剂量和浓度下对受体 (例如人类患者) 无毒的, 并可以包括缓冲剂如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸; 抗氧化剂, 包括抗坏血酸和甲硫氨酸; 防腐剂 (如十八烷基二甲基苄基氯化铵; 氯化六甲铵 (hexamethonium chloride); benzalkonium chloride, benzethonium chloride; 酚, 丁醇或苄基醇; 烷基 parabens 如甲基或丙基 paraben; 儿茶酚; 间苯二酚; 环己醇; 3-戊醇; 和 m-甲酚); 低分子量 (小于大约 10 个残基) 多肽; 蛋白质, 如血清白蛋白, 明胶或免疫球蛋白; 亲水性聚合物如聚乙烯吡咯烷酮; 氨基酸如甘氨酸, 谷氨酰胺, 天冬酰胺, 组氨酸, 精氨酸或赖氨酸; 单糖, 二糖, 和其它碳水化合物包括葡萄糖, 甘露糖或糊精; 螯合剂如 EDTA; 糖如蔗糖, 甘露醇, 海藻糖或山梨糖醇; 成盐反荷离子如钠; 金属复合物 (例如 Zn-蛋白质复合物); 和 / 或非离子型表面活性剂如 TWEEN®, PLURONICS® 或聚乙二醇 (PEG)。

[0273] 在可选的实施方案中, 可接受载体是针对给予个体 (例如人类患者) 生理学可接受的并保留了其所给予的化合物的治疗性质。可接受载体及其配制品一般性地在例如 Remington's pharmaceutical Sciences 最新版 (也参见第 18 版, ed. A. Gennaro, Mack Publishing Co., Easton, PA 1990) 中描述。在一个方面中, 举例的载体是生理盐水。

[0274] 用于实施本发明的“药理学可接受载体”可以包括药理学可接受材料、组合物或运载体, 如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包囊材料, 参与携带或转运化合物从一个器官的给药部位或机体部分到另一器官或机体的另一部分, 或者在离体或体外测定系统

中。在可选的实施方案中,每个载体是可接受的是指其与配制品的其它成分是相容的并且对于其所给药的对象是无伤害的。在替代实施方案中,可接受载体不改变对象化合物的比活性。

[0275] 本发明的药物组合物或药物配制品包括适于在对象中的药物学用途的组合物。本发明的药物组合物和配制品可以包括一定量的本发明化合物和药物学或生理学可接受载体。

[0276] 本发明的组合物(例如药物组合物或药物配制品)可以配制与特定给药途径(即全身或局部给药)相容。因此,本发明的组合物可以包括适于各种途径给药的载体、稀释剂或赋形剂。

[0277] 在另一个实施方案中,如果需要,组合物可进一步包含可接受添加剂以改良组合物中的化合物的稳定性和/或控制组合物的释放速率。可接受添加剂不改变对象化合物的比活性。举例的可接受添加剂包括但不限于糖,如甘露醇、山梨糖醇、葡萄糖、木糖醇、海藻糖、山梨糖、蔗糖、半乳糖、葡聚糖、右旋糖、果糖、乳糖及其混合物。可接受添加剂可与可接受载体和/或赋形剂如右旋糖组合。或者,举例的可接受添加剂包括但不限于表面活性剂如 polysorbate 20 或 polysorbate 80 以增加肽稳定性和降低溶液的胶凝。表面活性剂可以以 0.01% -5% 溶液的量加入到组合物中。加入这种可接受添加剂增加组合物储存稳定性和半衰期。

[0278] 本发明的药物组合物可以例如通过注射给药。在可选的实施方案中,用于注射的组合物包括水溶液(当是水溶性时)或分散液和用于即时制备无菌注射溶液或分散液的无菌粉末。在可选的实施方案中,对于静脉内给药,合适的载体包括生理盐水、抑菌水、CREMOPHOR EL™(BASF, Parsippany, NJ.) 或磷酸缓冲盐水(PBS)。载体可以是溶剂或者含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)的分散介质,及其合适的混合物。可以例如通过使用包衣如卵磷脂,在分散液情况中通过保持所需颗粒大小以及通过使用表面活性剂而保持流动性。

[0279] 抗菌剂和抗真菌剂可以包括例如对羟苯甲酸酯、三氯叔丁醇、酚、抗坏血酸和硫柳汞。等渗剂例如糖、多元醇如甘露醇、山梨糖醇及氯化钠可以包括在组合物中。所得溶液可以原样包装或者冻干;冻干制剂可以稍后与无菌溶液在给药前组合。

[0280] 对于静脉内注射或者在受影响部位注射,活性成分可以呈胃肠外可接受水溶液形式,其是无热原的并具有合适的 pH、等渗性和稳定性。本发明的组合物可以包含(以及本领域技术人员完全能够制备)合适的溶液,使用例如等渗运载体如氯化钠注射液、Ringer 注射液、乳酸 Ringer 注射液。如果需要,防腐剂、稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂和/或其它添加剂可以包括进来。无菌注射溶液可以通过将活性成分以所需量掺入具有一种或者如果需要上述成分组合的合适的溶剂,随后过滤灭菌。在一个方面中,分散液是通过将活性成分掺入无菌运载体中而制备,所述运载体含有碱性分散介质和所需的来自上述的其它成分。在用于制备无菌注射溶液的无菌粉末情况中,可选的制备方法是真空干燥和冻干,其产生活性成分加来自先前无菌过滤的溶液的任何额外所需成分的粉末。

[0281] 组合物可以常规地静脉内给药,如通过注射单位剂量而进行。为了注射,活性成分可以是胃肠外可接受水溶液形式,其基本上是无热原的并具有合适的 pH、等渗性和稳定性。可以使用例如等渗运载体如氯化钠注射液、Ringer 注射液、乳酸 Ringer 注射液制备

合适的溶液。如果需要,防腐剂、稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂和 / 或其它添加剂可以包括进来。另外,组合物可以经气溶胶化 (aerosolization) 给药 (Lahn et al., Aerosolized Anti-T-cell-Receptor Antibodies Are Effective against Airway Inflammation and Hyperreactivity, Int. Arch. Allergy Immune, 134 :49-55 (2004))。

[0282] 一个实施方案涉及使用本文描述的组合物制备用于治疗本文描述的病症、疾病或失调的药物。药物可以基于需要治疗的患者 / 对象的身体特征配制,并且可以基于病症、疾病或失调的阶段而配制成单或多个配制品。药物可以合适包装,贴上合适标签,以配送到医院和临床医生,其中标签是用于指示治疗具有本文描述疾病的对象。

[0283] 治疗

[0284] 在一个方面中,本发明的多肽可以特异性结合 CD20, CD20 是一种在 B 细胞前体和成熟 B 细胞上的跨膜表面抗原,其在结合后不内在化,也不从细胞表面脱落。CD20 还在参与各种疾病的大部分 B 细胞上表达。本发明的抗体或抗原结合片段可以用于治疗具有肿瘤发生疾病的对象,例如特征在于存在表达 CD20 的肿瘤细胞的疾病,包括例如 B 细胞淋巴瘤,例如 NHL。

[0285] 在可选的方面中,本发明的组合物和本发明的方法用于“抑制”、“改善”、“治疗”和 / 或“治疗”疾病或病症,这些术语可以互换使用,并可以指例如症状的停滞、生存延长、症状部分或完全改善以及病症、疾病或失调的完全或部分根除。本发明的抗体或抗原结合片段可以用于治疗 B 细胞介导的疾病。在一个方面中,本发明的“治疗”可以包括免疫应答的抑制或废除。本发明的抗体或抗原结合片段可以用于抑制或废除 B 细胞介导的免疫应答。本发明的抗体或抗原结合片段可以用于癌症治疗中,包括癌细胞、生长或肿瘤的停滞、部分或完全消除。在可选的方面中,治疗或部分消除包括例如细胞、生长或肿瘤大小和 / 或体积成倍降低,如降低大约 2 倍、大约 3 倍、大约 4 倍、大约 5 倍、大约 10 倍、大约 20 倍、大约 50 倍或之间的任何倍数。在可选方面中,治疗或部分消除可以包括细胞、生长或肿瘤大小和 / 或体积降低百分比大约为 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 或之间的任何百分比降低。

[0286] 可以用本发明组合物或方法治疗和 / 或预防的肿瘤发生疾病的例子包括 B 细胞淋巴瘤,例如 NHL,包括前体 B 细胞淋巴瘤母细胞白血病 / 淋巴瘤和成熟 B 细胞新生物,如 B 细胞慢性淋巴细胞白血病 (CLL) / 小淋巴细胞淋巴瘤 (SLL), B 细胞幼淋巴细胞白血病,淋巴浆细胞淋巴瘤 (lymphoplasmacytic lymphoma), 外套细胞淋巴瘤 (MCL), 滤泡淋巴瘤 (FL), 包括低度、中度和高度 FL, 皮肤滤泡中心淋巴瘤 (cutaneous follicle center lymphoma), 边缘区 B 细胞淋巴瘤 (MALT 型, 结节和脾型), 多毛细胞白血病, 弥漫性大 B 细胞淋巴瘤, Burkitt' s 淋巴瘤, 浆细胞瘤, 浆细胞骨髓瘤, 移植后淋巴增生性障碍, Waldenstrom' s 巨球蛋白血症和间变性大细胞淋巴瘤 (ALCL)。

[0287] 可以用本发明组合物或方法治疗和 / 或预防的 B 细胞非 Hodgkin' s 淋巴瘤的进一步例子是淋巴瘤样肉芽肿病, 原发性渗出性淋巴瘤, 血管内大 B 细胞淋巴瘤, 纵膈大 B 细胞淋巴瘤, 重链疾病 (包括 γ 、 μ 和 α 疾病), 由使用免疫抑制剂治疗诱导的淋巴瘤, 如环孢菌素诱导的淋巴瘤和氨甲喋呤诱导的淋巴瘤。

[0288] 可以用本发明的组合物或方法治疗和 / 或预防的其中涉及 CD20 表达 B 细胞的免疫疾病包括自身免疫疾病, 如银屑病, 银屑病性关节炎, 皮炎, 系统性硬皮病和硬化, 炎症性

肠病 (IBD), 克隆氏病, 溃疡性结肠炎, 呼吸窘迫综合征, 脑膜炎, 脑炎, 葡萄膜炎, 肾小球肾炎, 湿疹, 哮喘, 动脉粥样硬化, 白细胞粘附缺陷, 多发性硬化, 雷诺综合征, 干燥综合征, 青少年糖尿病, Reiter' s 病, 白塞病, 免疫复合物肾炎, IgA 肾病, IgM 多神经病, 免疫介导的血小板减少, 如急性特发性血小板减少性紫癜和慢性特发性血小板减少性紫癜, 溶血性贫血, 重症肌无力, 狼疮肾炎, 系统性红斑狼疮, 类风湿性关节炎 (RA), 特应性皮炎, 天疱疮, Graves' 病, 桥本甲状腺炎, 韦格纳肉芽肿病, Omenn' s 综合征, 慢性肾衰竭, 急性传染性单核细胞增多症, HIV, 疱疹病毒相关疾病。进一步的例子是重症急性呼吸窘迫综合征和脉络膜视网膜炎 (choreoretinitis)。

[0289] 在可选的方面, 可以用本发明的组合物或方法治疗和 / 或预防的其它疾病或失调包括由 B 细胞被病毒如 Epstein-Barr 病毒 (EBV) 感染所导致或介导的那些疾病或失调。

[0290] 表 5. 所列抗体的可变重链 (V_H) 和可变轻链 (V_K 或 V_L) 的 CDR 片段的示例性核酸序列

[0291]

		SEQ ID NO :
VH CDR	核酸序列	
CD20 IgG		
1	GGCTACACATTTACCAGTTACAATATGCAC	127
2	GCTATTTATCCAGGAAATGGTGATACTTCCTACAATCAGAAGTTCAAAGGC	128
3	TCGCACTACGGTAGTAACCTACGTAGACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTG	129
CD3 IgG		
1	GGCTACACCTTTACTAGGTACACGATGCAC	133
2	TACATTAATCCTAGCCGTGGTTATACTAATTACAATCAGAAGTTCAAGGAC	134
3	TATTATGATGATCATTACTGCCTTGACTAC	135
LC CDR	核酸序列	
CD20 IgG		
1	AGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCAC	139
2	GCCACATCCAACCTGGCTTCT	140
3	CATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACG	141
CD3IgG		
1	AGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGAAC	145
2	GACACATCCAACTGGCTTCT	146
3	CAGCAGTGGAGTAGTAACCCATTCACG	147

[0292] 表 6 所列抗体的可变重链 (V_H) 和可变轻链 (V_K 或 V_L) 的 CDR 片段的示例性氨基酸序列

[0293]

			SEQ
			ID
VH CDR	氨基酸序列		NO :
CD20 IgG			
1	GYTFTSYNMH		151
2	AIYPGNGDTSYNQKFKG		152
3	SHYGSNYVDYFDYWGQGT		153
CD3IgG			
1	GYTFTRYTMH		157
2	YINPSRGYTNYNQKFKD		158
3	YYDDHYCLDY		159
LC CDR	氨基酸序列		
CD20 IgG			
1	RASSSLSFMH		163
2	ATSNLAS		164
3	HQWSSNPLT		165
CD3 IgG			
1	SASSSVSYMN		169
2	DTSKLAS		170
3	QQWSSNPFT		171

[0294] 表 7Ig 重链和 κ 轻链的示例性恒定结构域 (CD) 的氨基酸序列

[0295]

		SEQ ID
HC CD	氨基酸序列	NO :
抗 -	VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWSNGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR	175
	EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
CD20	VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ	208

[0296]

	KSLSLSPGK	
κ CD	氨基酸序列	
	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV	176
	TEQDSKDSTY	
抗 -	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT	209
CD20	EQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	

[0297] 表 8 编码 Ig 重链和 κ 轻链的示例性恒定结构域 (CD) 的核酸序列

[0298]

		SEQ
		ID
HC CD	核酸序列	NO :
	GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG	
	CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAACTCAGGCG	
	CCCTGACCAGCGCGGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTAC	
	TCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT	
	CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCA	
	AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGG	
	GGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCG	
	GACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCA	
	AGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGG	178
	GAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCA	
	GGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAG	
	CCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTG	
	TACACCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTG	
	CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGC	
	AGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC	
	TTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTT	
	CTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCT	
	CCCTGTCTCCGGGTAAATGA	
κ CD	核酸序列	
	CGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAA	179
	ATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCA	
	AAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTC	
	ACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTAC	

[0299] 除了表 5-8 列出的序列之外,其它 CDR(下划线)和恒定区(双下划线或黄色高亮)在图 24、32、33、34、36、38、39、42 中以及在实施例 3-6 公开的原始和组装的 HuFR 序列中提供。

[0300] 示例性抗体

[0301] 可选的实施方案中,本发明的组合物,例如本发明的嵌合和 / 或重组抗体特异结合 CD20,CD20 是在 B 细胞表面上表达的未糖基化磷酸蛋白并作为 B 细胞标记。CD20 是跨膜

钙传导的调节物并在 B 细胞活化和增殖中起作用。在本发明的一个方面中,可以产生含有更人样的可变区的抗体,其针对真核细胞(例如 B 细胞)的表面蛋白。在一个实施方案中,含有抗 CD20 抗体的 CDR 的本发明的重组重链可变区多肽和重组轻链可变区多肽被用于形成具有特征更人类的可变区的抗体。例如,所述抗体结合 CD20 抗原。在一个实施方案中,抗体的轻链可变区包含 ICF1,其包含 SEQ ID NO:43,44,45,46,47,38,或 49 的氨基酸序列;CDR1,其包含 SEQ ID NO:163 的氨基酸序列;ICF2,其包含 SEQ ID NO:58,59,60 或 61 的氨基酸序列;CDR2,其包含 SEQ ID NO:164 的氨基酸序列;ICF3,其包含 SEQ ID NO:67-71,73 或 74 的氨基酸序列;CDR3,其包含 SEQ ID NO:165 的氨基酸序列;以及 ICF4,其包含 SEQ ID NO:83 的氨基酸序列。在其它实施方案中,抗体的重链可变区包含 ICF1,其包含 SEQ ID NO:6 或 7 的氨基酸序列;CDR1,其包含 SEQ ID NO:151 的氨基酸序列;ICF2,其包含 SEQ ID NO:9,10 或 11 的氨基酸序列;CDR2,其包含 SEQ ID NO:152 的氨基酸序列;ICF3,其包含 SEQ ID NO:13,17,19 或 20 的氨基酸序列;CDR3,其包含 SEQ ID NO:153 的氨基酸序列;以及 ICF4,其包含 SEQ ID NO:21 的氨基酸序列。

[0302] CD3 是 T 细胞受体复合物的成分。其是特异于 T 细胞的表面标记,因此可用于特异性鉴别 T 细胞。根据本发明,可以产生含有更人样的可变区的抗体,其针对真核细胞(例如 T 细胞)的表面蛋白。在一个实施方案中,含有抗 CD3 抗体的 CDR 的本发明的重组重链可变区多肽和重组轻链可变区多肽被用于形成具有特征更人类的可变区的抗体。例如,所述抗体结合 CD3 抗原。在一个实施方案中,抗体的轻链可变区包含 ICF1,其包含 SEQ ID NO:43-46 或 49 的氨基酸序列;CDR1,其包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列;ICF2,其包含 SEQ ID NO:58,59 或 60 的氨基酸序列;CDR2,其包含 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列;ICF3,其包含 SEQ ID NO:68-69,72,73 或 74 的氨基酸序列;CDR3,其包含 SEQ ID NO:171;以及 ICF4,其包含 SEQ ID NO:83 的氨基酸序列。在进一步的实施方案中,抗体的重链可变区包含 ICF1,其包含 SEQ ID NO:3,7 或 181 的氨基酸序列;CDR1,其包含 SEQ ID NO:157 的氨基酸序列;ICF2,其包含 SEQ ID NO:9 或 11;CDR2,其包含 SEQ ID NO:158 的氨基酸序列;ICF3,其包含 SEQ ID NO:15,16 或 17 的氨基酸序列;CDR3,其包含 SEQ ID NO:159 的氨基酸序列;以及 ICF4,其包含 SEQ ID NO:21 的氨基酸序列。

[0303] 核酸

[0304] 在一个实施方案中,除了编码已知免疫球蛋白重链可变区的互补决定区 1、2 和 3 的序列(如抗 CD20、抗 CD3 的那些)之外,还提供了本发明的独立编码共有的重链可变区结构域 ICF 1、2 和 3 的核酸序列。在另一个实施方案中,除了编码已知免疫球蛋白重链可变区的互补决定区 1、2 和 3 的序列(如抗 CD20、抗 CD3 的那些)之外,还提供了本发明的独立编码共有的轻链可变区结构域 ICF 1、2 和 3 的核酸序列。在进一步的实施方案中,额外提供了独立编码共有的重链和轻链可变区结构域 ICF4 的核酸序列。例如,本发明的重链可变区 ICF 1、2、3 和 4 结构域以及轻链可变区 ICF 1、2、3 和 4 结构域具有表 2 和表 4 列出的 SEQ ID NO。相应于已知免疫球蛋白重链可变区的 CDR 1、2 和 3 的核酸序列见表 5。

[0305] 以上提供的编码重链或轻链可变区 ICF 结构域和 CDR 的核酸以 5' 至 3' 方向融合,形成这样的核酸,所述核酸产生单核酸分子的异质群体。在一个实施方案中,编码重链可变区 ICF 结构域和 CDR 的核酸以 5' 至 3' 方向以如下顺序融合:编码 ICF1 的核酸;编码 CDR1 的核酸;编码 ICF2 的核酸;编码 CDR2 的核酸;编码 ICF3 的核酸;和编码 CDR3 的核酸。在

另一个实施方案中,编码轻链可变区 ICF 结构域和 CDR 的核酸以 5' 至 3' 方向以如下顺序融合:编码 ICF1 的核酸;编码 CDR1 的核酸;编码 ICF2 的核酸;编码 CDR2 的核酸;编码 ICF3 的核酸;和编码 CDR3 的核酸。在进一步的实施方案中,编码重链和轻链可变区结构域 ICF4 的核酸序列以 5' 至 3' 方向融合至重链或轻链 CDR3 的 C 末端。例如,本发明的重链可变区 ICF1,2,3 和 4 结构域以及轻链可变区 ICF 1,2,3 和 4 结构域具有表 2 和表 4 列出的 SEQID NO。相应于已知免疫球蛋白重链可变区的 CDR 1,2 和 3 的核酸序列见表 5。

[0306] 通过 HuFR 获得的 Ig 链可针对希望的性质用 Gene Site Saturation Mutagenesis(GSSM™) 或 Synthetic Ligation Reassembly(SLR 或 GeneReassembly™) 进化方法进一步修饰,如美国专利 6,171,820, No. 6,537,776, No. 6,562,594, No. 6,605,449 和 No. 6,764,835 所述。

[0307] 载体

[0308] 一旦产生重链或轻链可变区分子,随后可以将其克隆进质粒并转化进细胞中以表达所述重链或轻链可变区多肽。在一个实施方案中,携带重链或轻链可变区多肽基因的质粒在大肠杆菌中扩增并转染进哺乳动物细胞以产生全长免疫球蛋白。

[0309] 适于培养的细胞可携带导入的表达载体(构建体)如质粒。表达载体构建体可以通过转染、脂染、转化、注射、电穿孔或感染导入。表达载体可以含有编码用于在培养方法中表达和生产的蛋白质的编码序列或其部分。这种表达载体可以包括插入的编码序列的转录和翻译所需的成分。含有编码产生的蛋白质和多肽的序列以及合适的转录和翻译控制元件的表达载体可用本领域技术人员熟知和使用的方法产生。这些方法包括体外重组 DNA 技术、合成技术和体内基因重组,其描述见 J. Sambrook et al., (1989)Molecular Cloning, A Laboratory Manual, ColdSpring Harbor Press, Plainview, N. Y. and in F. M. Ausubel et al., 1989, CurrentProtocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, N. Y.。可使用的的方法和工具类型的更详细描述如下提供。

[0310] 通过标准分子生物学方案获得的克隆可以转染进合适的宿主细胞如哺乳动物细胞以表达希望的产物。转染技术用本领域建立的适于被使用的宿主细胞的标准技术进行。例如,哺乳动物细胞转染可用脂染、原生质体融合、DEAE-葡聚糖介导的转染、CaPO₄ 共沉淀、电穿孔、直接显微注射以及本领域已知的其它方法实现,所述其它方法包括刮擦(scraping)、直接摄取、渗透压或蔗糖休克、溶菌酶融合或红细胞融合、间接显微注射如红细胞介导技术和/或将宿主细胞通电。

[0311] 表达

[0312] 编码感兴趣蛋白质(例如重链或轻链可变区多肽、糖蛋白如 Ig)的 DNA 在衍生自多细胞生物体(例如哺乳动物来源的)的真核宿主细胞中的表达可以用于本发明(Tissue Cultures, (1973)Academic Press, Cruz and Patterson, Eds.)。衍生自多细胞生物体的宿主细胞具有剪接去掉内含子的能力,因此可直接用于表达基因组 DNA 片段。能携带、表达和分泌感兴趣蛋白质的有用的宿主细胞系包括中华仓鼠卵巢细胞(CHO),如 CHO-K1(ATCC CCL-61), DG44(Chasin et al., 1986, Som. CellMolec. Genet, 12:555-556;Kolkekar et al., 1997, Biochemistry, 36:10901-10909;andWO 01/92337 A2), 二氢叶酸还原酶阴性 CHO 细胞(CHO/dhfr-, Urlaub and Chasin, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci USA, 77:4216), 和 dp12. CHO 细胞(U. S. Pat. No. 5,721,121);由 SV40 转化的猴肾 CV1 细胞(COS 细胞, COS-7,

ATCC CRL-1651);人胚胎肾细胞(例如293细胞或被亚克隆以悬浮培养生长的293细胞,Graham et al.,1977,J.Gen.Virol.,36:59);幼仓鼠肾细胞(BHK,ATCC CCL-10);猴肾细胞(CV1,ATCC CCL-70);非洲绿猴肾细胞(VERO-76,ATCC CRL-1587;VERO,ATCC CCL-81);小鼠Sertoli细胞(TM4,Mather,1980,Biol.Reprod.,23:243-251);人宫颈癌细胞(HELA,ATCC CCL-2);犬肾细胞(MDCK,ATCC CCL-34);人肺细胞(W138,ATCC CCL-75);人肝细胞瘤细胞(HEP-G2,HB 8065);小鼠乳房肿瘤细胞(MMT060562,ATCC CCL-51);水牛鼠肝细胞(BRL 3A,ATCC CRL-1442);TRI细胞(Mather,1982,Annals NY Acad.Sci,383:44-68);MCR 5细胞;FS4细胞。

[0313] 用于真核细胞如哺乳动物细胞的表达载体可包括与哺乳动物细胞相容的启动子和控制序列,其是本领域熟知的。一些调节元件可以是例如在各种表达载体这发现的CMV启动子或禽肉瘤病毒(ASV)启动子。其它常用的早期和晚期启动子包括来自猴病毒40的那些(SV 40)(Fiers,et al.,(1973)Nature 273:113),或其它病毒启动子如衍生自牛乳头状瘤、多瘤和腺病毒2病毒的那些启动子。也可以使用可调节启动子hMTII(Karin,et al.,1982,Nature 299:797-802),及其它本领域已知的启动子。对于在培养的昆虫细胞(例如SF 9细胞)中表达重组蛋白,可利用的一些杆状病毒载体包括pVL系列(Lucklow, V. A., and Summers, M. D., 1989, Virology 170:31-39)和pAc系列(Smith et al., 1983, Mol. Cell Biol. 3:2156-2165)。本领域技术人员还了解增强子区(在非编码DNA区域中启动子区上游或下游发现的那些序列)对于改善表达也是重要的。如果需要可以采用来自病毒来源的复制起点,例如如果使用原核宿主导入质粒DNA。

[0314] 宿主细胞

[0315] 在可选的实施方案中,除了哺乳动物宿主细胞之外,还可以使用其它真核生物体作为宿主以表达感兴趣蛋白质(例如本发明的多肽,例如本发明的重链或轻链可变区多肽,包括糖蛋白如Ig)。在可选的实施方案中,可以使用芽殖酵母酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)的实验室菌株以及其它酵母菌株,如裂殖酵母粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)。携带编码感兴趣蛋白质(例如本发明多肽)的DNA的酵母载体可以使用2 μ 复制起点(Broach et al., (1983)Meth.Enz. 101:307),或其它与酵母相容的复制起点(例如Stinchcomb et al., 1979, Nature 282:39;Tschempe et al., 1980, Gene 10:157;and Clarke et al., 1983, Meth.Enz. 101:300)。酵母载体中所含的调节元件可以是用于合成糖酵解酶的启动子(Hess et al., 1968, J. Adv. Enzyme Reg. 7:149;Holland et al., 1978, Biochemistry 17:4900)。本领域技术人员也可以使用其它启动子,其中生长条件可以调节可调节基因的转录。与哺乳动物表达系统类似,酵母表达载体中的终止子序列位于编码序列的3'末端也是希望的并且在酵母衍生基因的开放读框后的3'非翻译区中发现。本发明的重组蛋白例如本发明的重链或轻链可变区多肽,糖蛋白如Ig也可以在昆虫细胞中表达(例如使用杆状病毒载体)。

[0316] 可以使用针对被培养的宿主细胞的各种培养参数。哺乳动物的合适培养条件是本领域熟知的(Cleveland et al., (1983)J. Immunol. Methods, 56:221-234)或者可以由本领域技术人员确定(参见例如Animal Cell Culture:A Practical Approach 2nd Ed., (1992)Rickwood, D. and Hames, B. D., eds. (Oxford University Press:New York,)),并根据所选择的特定宿主细胞变化。可以使用商购培养基,包括例如最小基本培养基(MEM,

Sigma, St. Louis, Mo.) ;Dulbecco' s Modified Eagles Medium(DMEM, Sigma) ;Ham' s F10 Medium(Sigma) ;HyClone 细胞培养基 (HyClone, Logan, Utah) ;RPMI-1640 培养基 (Sigma) ;和化学限定 (CD) 培养基,其针对特定细胞类型配制,例如 CD-CHO 培养基 (Invitrogen, Carlsbad, Calif.)。任何这些培养基如果需要可以补加合适浓度或量的先前限定的补充组分或成分,包括任选组分。

[0317] 感兴趣蛋白质(如本发明多肽),包括糖蛋白、免疫球蛋白,可以通过在各种细胞培养条件下生长表达希望的蛋白质产物的细胞而产生。本领域技术人员理解用于蛋白质生产的细胞培养物和培养运转可以包括三种一般类型:连续培养、分批培养和补料分批培养。在一个方面中,连续培养方法,新鲜培养基补充物(例如饲养培养基)在培养期间被供应给细胞,而旧培养基被除去。在连续培养期间产生的产物也可以例如以每日为基础或连续收获。只要细胞保持存活,以及环境和培养条件被保持,则细胞可以在连续培养方法中保持培养希望长时间。

[0318] 产生感兴趣蛋白质(例如本发明多肽)的培养细胞可以根据最适合特定哺乳动物宿主细胞和特定生产计划的任何方案或程序进行繁殖。可以开发细胞培养条件以增强细胞培养物生长期的哺乳动物细胞群的扩增或生长,增强的时间是这种扩增和生长最大化的时间。另外,可以开发细胞培养条件以增强细胞生产期的蛋白质生产一段时间。可以使用的培养条件如温度、pH、溶解氧(DO₂)是培养哺乳动物宿主细胞中使用的那些条件,它们为本领域技术人员所了解。培养哺乳动物宿主细胞如 CHO 细胞的合适温度范围是在 30-40℃ 之间,在一个实施方案中是大约 37℃。pH 通常用酸或碱调节至大约 6.5 至 7.5 之间的水平。合适的 DO₂是在 5-90% 空气饱和度之间。这些培养条件可用于促进培养产生希望的感兴趣蛋白质的哺乳动物细胞。

[0319] 制备抗体的方法

[0320] 本发明还提供了产生特异于抗原并具有降低的免疫原性的抗体的方法,其中所述抗体包括含 ICF 的重链和轻链可变区。产生这一集合的方法包括提供在细胞中表达的重链和轻链核酸(来自上述)的组合文库,其产生重链或轻链可变区多肽,其中所述可变区包含 ICF,以及筛选结合抗原并具有降低的免疫原性的抗体。在一个实施方案中,轻链和重链可变区核酸的组合文库可以根据本领域方法转染进细胞中,因此使这两个集合由细胞表达。这会使得轻链和重链在细胞内重组,产生可以用本领域已知方法筛选结合亲和性和/或降低的免疫原性的抗体。

[0321] 在另一个实施方案中,重链组合文库可以在第一细胞群中,轻链组合文库可以在第二细胞群中。适于分开表达和筛选的方法如 2006 年 10 月 4 日申请的美国临时申请 60/849,597 所述,其完整内容并入本文。

[0322] 组合文库

[0323] 本发明提供了用于产生编码包含 ICF 的重链和轻链可变区的核酸组合文库的方法。用于产生这一集合的方法包括提供编码包含 ICF 的重链和轻链可变区的核酸,以 5' 至 3' 方向连接编码重链和轻链可变区的核酸,以及在细胞中表达所述核酸。

[0324] 在一个实施方案中,所述方法提供重链可变区的核酸(或其编码的氨基酸序列)的组合文库。表 G 显示了可用于组合文库中的 ICF1,2,3 和 4 集合的例子。

[0325] 表 G. 用于制备组合重链文库的示例性 ICF 集合

[0326]

ICF 1	ICF2	ICF3	ICF4
GL1_8	GL1_7_8	GL_1	GL_1
GL_2	GL2_3	GL_2	
GL_3	GL_4	GL_3	
GL_4	GL_5	GL_4	
GL_5	GL_6	GL_5	
GL_6		GL_6	
GL_7		GL_7	
		GL_8	

[0327] 使用表 G 中的 4 个 ICF 集合可以产生总共 280 种重链组合 (7ICF1x 5ICF2x8ICF3x 1ICF4)。

[0328] 对于相应的轻链文库,表 H 中的 ICF 集合是可以使用的 ICF 的例子。

[0329] 表 H. 用于制备组合轻链文库的示例性 ICF 集合

[0330]

V _κ . ICF1	V _κ . ICF2	V _κ . ICF3	V _κ . ICF4
VK1_2	VK1_2_3	VK1	VK1
VK3	VK4_5_6	VK2	
VK4	VK7	VK3	
VK5	VK8	VK4	
VK6		VK5	
VK7		VK6	
VK8		VK7	
		VK8	
V _λ . ICF1	V _λ . ICF2	V _λ . ICF3	V _λ . ICF4

VL1	VL1_2	VL1	VL1
VL2	VL3_4	VL2	
VL3	VL5_6	VL3	
VL4	VL7	VL4	
VL5	VL8	VL5	
VL6		VL6	

[0331]

VL7		VL7	
VL8		VL8	

[0332] 因此,224 种 κ 链 ($7 \times 4 \times 8 \times 1$) 或 320 种 ($8 \times 5 \times 8 \times 1$) λ 链的组合文库可以得自这些集合。

[0333] 本发明的组合文库可以从其它 ICF 集合中组装。例如,可以制备简化的文库,例如组合具有相同指示编号的 ICF1、ICF2 和 ICF3:VK1_2+VK1_2_3+VK1+VK1 或 VK6_VK4_5_6+VK6+VK1,由此获得 8 种 κ 链的简化的但代表性的集合。可以通过用如表 1-4 所提供的另一种 ICF 置换 ICF 而制备其它文库。例如,当选择 ICF1 集合用于重链文库时,GL2 可以 (a) 被省略, (b) 由 GL2a, GL2b 或表 1 或实施例中所列的其它 ICF1 置换,或者 (c) 由与 GL2, GL2a, GL2b 或其它 ICF1 相似的一或多种序列如种系或成熟抗体中的相应序列置换。

[0334] 可选的示例性实施方案

[0335] 在另一个实施方案中, HuFR 可以涉及两步重组装过程,其涉及一或多种占位子核酸。占位子可以包含简化的轻链 ICF 集合。占位子还可以基于已知抗体或与加工的成熟抗体序列(例如与成熟抗体的核酸序列最相似的那些轻链可变区种系序列)相比的种系可变区核酸序列相同性而确定。鉴别后,在转染和在细胞中表达后,占位子核酸序列可以用作暂时的单轻链分子,其可以与本发明的重链可变区分子偶联。

[0336] 具有希望性质如结合抗原的重链可变区多肽是最佳重链。在一个实施方案中,编码选择的多肽的核酸序列可以与在细胞中表达的轻链可变区核酸的组合文库组合。在另一个实施方案中,可以如上所述筛选抗体克隆。例如,可以筛选抗体克隆的增强的结合亲和性,例如诱导凋亡或介导细胞死亡的能力。

[0337] 合成轻链基因以作为占位子轻链,用于 HC 筛选目的。获得来自 FR1, FR2, FR3 和 FR4 的轻链构架的代表性序列,其属于相同家族(例如,衍生自相同原始种系序列),并用作占位子轻链基因。选择了 8 个家族的 κ 构架区和 8 个家族的 λ 构架区,代表可以被生成以用于筛选目的的 8 个潜在 κ 或 λ 文库。

[0338] 一旦产生针对所述 8 个家族的每一个的重链和占位子轻链,每种产物可以结合成文库(例如 245 种重链与家族 1 轻链一起产生;245 种重链与家族 2 轻链一起产生;等等,直至具有总共 8 个文库)。从 8 个文库的每一个(每个文库代表 1 个种系家族),用结合测

定（如 ELISA）筛选总共 1960 种抗体。因此，在所有 8 个文库被筛选后，总共 15680 个 HC 候选物被检查。从那些中进一步评价最高的 10 个结合 HC，这是在占位子轻链被除去并用轻链可变区核酸组合文库置换之后进行，其在 HuFR 方法的第二阶段确定。

[0339] 在文库合成和克隆之后，可以在大肠杆菌中扩增携带抗体基因的质粒并转染进哺乳动物细胞以用于产生全长 Ig。所得抗体上清可以随后在凋亡测定中筛选。例如，在 CD3 抗体情况中，从初次筛选中有 326 个 hit 被选择，52 个 hit 被证实，最高 10 个重链 hit 被选择（见实施例 4）。

[0340] 在第二轮中，由凋亡测定鉴别的最高的 10 个重组重链基因可以随后与 HuFR 组合轻链文库组合。这一文库可以被筛选以鉴别具有与对照抗体相比相同或改善的性质的变体。例如，在 CD3 抗体情况中，从初次筛选中有 268 个 hit 被选择，37 个 hit 被证实，最高 10 个被选择。9 个成功再转染并在证实测定中被测定（见实施例 4）。

[0341] 本发明将参照以下实施例进一步描述；但是应理解本发明不限于这些实施例。

实施例

[0342] 实施例 1：用于轻链文库的构架重组装片段

[0343] 本发明提供了轻链和重链构架区“片段”或工作片段的文库，其可以用于构建嵌合抗原结合多肽。下述实施例描述了可以用于构建嵌合抗原结合多肽的轻链构架区“片段”或工作片段的举例文库，以及制备其的举例方法。

[0344] 在一个方面，构架片段设计用于表现人类构架区（FR）例如 FR1、FR2 和 FR3 亚区的序列多样性。在本实施例中，基于人种系免疫球蛋白轻链可变区（V_L）构建片段文库。

[0345] 设计轻链 λ （V _{λ} ）构架区片段用于重组装文库

[0346] 为鉴别 λ 链构架区的序列，查询抗体序列的 Kabat 数据库以确定哪些人种系基因用于成熟功能抗体中。使用序列比较软件鉴别最相似的种系基因用于每种成熟 V_L。因此，基因可以通过其可产生的成熟抗体百分比而进行比较。基于功能全长序列（图 2-3），选择最高的（top）全长种系序列以获得各个 FR 区域。

[0347] 为获得代表人 FR 的“共有”序列，汇编所有人 V _{κ} 外显子的序列，并将外显子序列分成 FR。对每一组 FR 序列进行下述步骤。通过序列相似性对比一组 FR 序列并聚簇。来自每种主 FR 簇的序列用于创建共有序列，其由在每个序列位置最频繁发生的氨基酸组成。所得序列是 17 个共有 FR₁（也称作 ICF1），16 个共有 FR₂（也称作 ICF2），和 15 个共有 FR₃（也称作 ICF3）。每个共有区（例如 ICF1、ICF2、ICF3）与种系文库 FR 片段至少 52% 相同，与成熟 FR 片段至少 65% 相同。FR 共有序列（例如 ICF1、ICF2、ICF3）被转变为 DNA 序列。

[0348] 可以根据希望的覆盖率和筛选能力选择这些 ICF 的亚集。通过先包括来自 ICFV _{κ} 文库（在当时使用的）的独特片段，然后主要基于它们由成熟抗体的相对使用度及其次基于它们对由当前文库错过的任何序列空间的覆盖度而用共有片段补充这一列表而选择亚集片段。

[0349] 实施例 2：用于重链文库的构架重组装片段

[0350] 本发明提供了轻链和重链 ICF 的单独的文库；这些文库使用本发明举例方法制备。下述实施例描述了可以用于构建嵌合抗原结合多肽的重链构架区“片段”或工作片段的举例文库，以及制备它们的举例方法。

[0351] 基于人种系免疫球蛋白重链可变区 (V_H) 和已经经过天然免疫学成熟过程的人 V_H 构架重链 ICF 的单独文库。任何 V_H 可以被亚分为互补决定区 (CDR) 和 FR。对于每种 FR, 设计若干片段以表现天然 V_H FR 中见到的多样性。

[0352] 汇编所有人 V_H 外显子序列, 并且将外显子序列分成 FR。对每一组 FR 序列进行下述步骤。通过序列相似性对比一组 FR 序列并聚簇。来自每种主 FR 簇的序列用于创建共有序列 (例如 ICF1、ICF2、ICF3), 其由在每个序列位置最频繁发生的氨基酸组成。每个 FR 家族氨基酸共有序列 (例如 ICF1、ICF2、ICF3) 以非偏倚方式被逆翻译成密码子。这些初步核苷酸模型与人 V_H 外显子对比以确定“天然”密码子使用。与初级核苷酸模型对比的外显子区被用于产生二级核苷酸模型。翻译所述二级核苷酸模型以比较原始共有一级结构 (例如 ICF1、ICF2、ICF3)。导致来自共有序列 (例如 ICF1、ICF2、ICF3) 的突变的二级模型中的密码子用编码在共有序列中所见的残基的人密码子置换。FR3 具有 12 个代表性片段序列; 在一个实验文库中, 使用 8 个片段。选择这些以使 12 个片段集合与 8 个片段集合之间的序列多样性差异最小化。

[0353] 实施例 3: 抗 CD20 抗体

[0354] 本发明提供了嵌合多肽和特异性结合多肽 CD20 例如在一个实施方案中人 CD20 的特异性二价抗体。

[0355] 特异性结合人 CD20 的小鼠抗体被鉴别, 具有与参考抗体相似的生物学性质。培养小鼠杂交瘤, 经荧光激活的细胞淘选 (FACS) 分析证实小鼠抗体与 CD20+B 细胞系 (Daudi) 的结合。

[0356] 在进一步鉴定和及开发测定法之前, 将选择的亲本小鼠抗体转变为嵌合抗 CD20 抗体。嵌合抗体是进行选择抗体对参考抗体 (小鼠-人嵌合体) 的比较生物学研究所需的。另外, 制备嵌合抗体以作为修饰中所用筛选测定的合适对照。制备亲本嵌合体以便来自免疫球蛋白重链 (HC) 和轻链 (LC) 基因的编码可变区的序列被分离并克隆进含有人 IgG1 恒定区的哺乳动物表达载体中。所得嵌合抗 CD20 抗体被称为 DVSA-CD20。

[0357] 测定法开发

[0358] 建立基于细胞的 ELISA, 以作为鉴别具有类似于或优于 DVSA-CD20 的 CD20 结合性质的 HuFR 变体的简单、快速初级筛选工具。这一测定用悬浮的 CD20+B 细胞系以及用表达人 CD20 蛋白质的稳定的贴壁 HEK-293 细胞系开发。

[0359] CDC (补体依赖的细胞毒性) 测定. 开发基于荧光的 96 孔板测定, 以评价抗 CD20 补体结合 CD20+ 淋巴细胞的能力。补体激活通过测量细胞存活而评估。对于这一测定, 参考抗体和 DVSA-CD20 用作阳性对照。阴性对照包括未处理细胞、仅用补体处理的细胞、用无关人 IgG 和补体处理的细胞以及用载体对照上清和补体处理细胞。

[0360] ADCC (抗体依赖的细胞介导的细胞毒性测定). 测定了抗 CD20 抗体诱导 ADCC 的能力。抗 CD20 抗体变体在 CD20 细胞 ELISA 中被测试具有类似的或改良的与 DVSA-CD20 的结合, 在 CDC 测定中具有与 DVSA-CD20 相比类似的或改良的活性。为证实抗 CD20 变体保留了这种效应子功能, 建立了 96 孔板 ADCC 测定。用 LDH 释放测量细胞死亡。测定的阳性对照包括参考抗体和 DVSA-CD20 抗体。

[0361] 凋亡测定. 开发了用于测量细胞质膜完整性丧失的基于 FACS 的测定以评估抗 CD20 变体诱导凋亡的能力。为此测定, 人 CD20 阳性 B 细胞淋巴瘤细胞用抗 CD20 处理, 用膜

联蛋白 V 和碘化丙锭染色,随后 FACS 分析。

[0362] 细胞周期测定. DVSA-CD20 的完全小鼠亲代抗体已被报道在存在交联抗体时诱导体外人 PBMC 的细胞增殖。参考抗体未证实这一不希望的活性。为保证抗 CD20 变体不诱导人 B 细胞增殖,抗 CD3 细胞周期测定被适应这一筛选。小鼠 CD20 (muCD20) 如文献报道当在交联抗体存在下保温时诱导适当水平的细胞增殖。

[0363] 构建 HuFR 文库

[0364] 人构架重组装进行 2 轮。为进行第一轮,制备重链文库。下表示出用于具有小鼠 CD2R 的 CD20 重链组装的 ICF (ICF 序列见表 1 和表 2),如图 1 示意性示出:

[0365]

重链 ID	ICF1	ICF2	ICF3	ICF4
BD20332	GL7	GL2_3	GL7	GL1
BD20333	GL7	GL2_3	GL8	GL1
BD20335	GL7	GL5	GL1	GL1
BD20336	GL7	GL2_3	GL1	GL1
BD20337	GL7	GL4	GL7	GL1
BD20338	GL6	GL5	GL7	GL1
BD20339	GL7	GL5	GL8	GL1
BD20341	GL7	GL4	GL8	GL1

[0366] 重链可变区的完整核苷酸和氨基酸序列提供如下:

[0367] 重链可变区的核苷酸序列:

[0368] >BD20332 (SEQ ID NO :99)

[0369] CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTTC

[0370] GGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTTACCAGTTACAATA

[0371] TGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTAGAGTGGGTGGGTGCT

[0372] ATTTATCCAGGAAATGGTGATACTTCTTACAATCAGAAGTTCAAAGGCAG

[0373] AGTCACCATCTCAGCTGACAAGTCCATCAGCACTGCCTACCTGCAGTGGA

[0374] GCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTGTGCGAGATCGCAC

[0375] TACGGTAGTAAGTACGTAGACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCT

[0376] GGTCACCGTCTCCTCC

[0377] >BD20333 (SEQ ID NO :108)

[0378] CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTTC

[0379] GGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTTACCAGTTACAATA

[0380] TGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGGTGCT

[0381] ATTTATCCAGGAAATGGTGATACTTCCTACAATCAGAAGTTCAAAGGCAG
[0382] AGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGA
[0383] GCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGATCGCAC
[0384] TACGGTAGTAACCTACGTAGACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCT
[0385] GGTCACCGTCTCCTCC
[0386] >BD20335 (SEQ ID NO :124)
[0387] CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTTC
[0388] GGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTTACCAGTTACAATA
[0389] TGCAGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGTGCT
[0390] ATTTATCCAGGAAATGGTGATACTTCCTACAATCAGAAGTTCAAAGGCAG
[0391] ATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGA
[0392] ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGATCGCAC
[0393] TACGGTAGTAACCTACGTAGACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCT
[0394] GGTCACCGTCTCCTCC
[0395] >BD20336 (SEQ ID NO :130)
[0396] CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTTC
[0397] GGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTTACCAGTTACAATA
[0398] TGCAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTGGTGCT
[0399] ATTTATCCAGGAAATGGTGATACTTCCTACAATCAGAAGTTCAAAGGCAG
[0400] ATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGA
[0401] ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGATCGCAC
[0402] TACGGTAGTAACCTACGTAGACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCT
[0403] GGTCACCGTCTCCTCC
[0404] >BD20337 (SEQ ID NO :131)
[0405] CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTTC
[0406] GGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTTACCAGTTACAATA
[0407] TGCAGTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGTGCT
[0408] ATTTATCCAGGAAATGGTGATACTTCCTACAATCAGAAGTTCAAAGGCAG
[0409] AGTCACCATCTCAGCTGACAAGTCCATCAGCACTGCCTACCTGCAGTGGA
[0410] GCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTGTGCGAGATCGCAC
[0411] TACGGTAGTAACCTACGTAGACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCT
[0412] GGTCACCGTCTCCTCC
[0413] >BD20338 (SEQ ID NO :132)
[0414] GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCAGAGGTGAAAAAGCCCGGGGAGTC
[0415] TCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGCTACACATTTACCAGTTACAATA
[0416] TGCAGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGTGCT
[0417] ATTTATCCAGGAAATGGTGATACTTCCTACAATCAGAAGTTCAAAGGCAG
[0418] AGTCACCATCTCAGCTGACAAGTCCATCAGCACTGCCTACCTGCAGTGGA
[0419] GCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTGTGCGAGATCGCAC

[0420] TACGGTAGTAACCTACGTAGACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCT
[0421] GGTCACCGTCTCCTCC
[0422] >BD20339 (SEQ ID NO :136)
[0423] CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTTC
[0424] GGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTTACCAGTTACAATA
[0425] TGCCTGGGTGCGACAGGCTCCTGAAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGTGCT
[0426] ATTTATCCAGGAAATGGTGATACTTCCTACAATCAGAAGTTCAAAGGCAG
[0427] AGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGA
[0428] GCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGATCGCAC
[0429] TACGGTAGTAACCTACGTAGACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCT
[0430] GGTCACCGTCTCCTCC
[0431] >BD20341 (SEQ ID NO :137)
[0432] CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTTC
[0433] GGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTTACCAGTTACAATA
[0434] TGCCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGTGCT
[0435] ATTTATCCAGGAAATGGTGATACTTCCTACAATCAGAAGTTCAAAGGCAG
[0436] AGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGA
[0437] GCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGATCGCAC
[0438] TACGGTAGTAACCTACGTAGACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCT
[0439] GGTCACCGTCTCCTCC
[0440] 重链可变区的氨基酸序列
[0441] >BD20332 (SEQ ID NO :138)
[0442] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGA
[0443] IYPGNGDTSYNQKFKGRVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARSH
[0444] YGSNYVDYFDYWGGTGLVTVSS
[0445] >BD20333 (SEQ ID NO :142)
[0446] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGA
[0447] IYPGNGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARSH
[0448] YGSNYVDYFDYWGGTGLVTVSS
[0449] >BD20335 (SEQ ID NO :143)
[0450] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWMGA
[0451] IYPGNGDTSYNQKFKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARSH
[0452] YGSNYVDYFDYWGGTGLVTVSS
[0453] >BD20336 (SEQ ID NO :144)
[0454] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGA
[0455] IYPGNGDTSYNQKFKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARSH
[0456] YGSNYVDYFDYWGGTGLVTVSS
[0457] >BD20337 (SEQ ID NO :148)
[0458] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGA

[0459] IYPNGDTSYNQKFKGRVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSH
[0460] YGSNYVDYFDYWGQGLVTVSS
[0461] >BD20338 (SEQ ID NO :149)
[0462] EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFSTSYNMHWVRQAPGKGLEWMGA
[0463] IYPNGDTSYNQKFKGRVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSH
[0464] YGSNYVDYFDYWGQGLVTVSS
[0465] >BD20339 (SEQ ID NO :150)
[0466] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTSYNMHWVRQAPGKGLEWMGA
[0467] IYPNGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSH
[0468] YGSNYVDYFDYWGQGLVTVSS
[0469] >BD20341 (SEQ ID NO :154)
[0470] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTSYNMHWVRQAPGKGLEWMGA
[0471] IYPNGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSH
[0472] YGSNYVDYFDYWGQGLVTVSS
[0473] 与重链相关的信号序列和恒定区如下：
[0474] >HC 信号 (SEQ ID NO :155)
[0475] ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGCTTTTTCTTGTGGCTATTTTAAAAGGTGTCCAGTGT
[0476] >HC 信号 (SEQ ID NO :156)
[0477] MEFGLSWLFLVAILKGVQC
[0478] >>HC 恒定 (SEQ ID NO :160)
[0479] GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCG
GCCCTG
[0480] GGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGC
GGCGTG
[0481] CACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC
AGCAGC
[0482] TTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
GAGCCC
[0483] AAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTC
TTCCTC
[0484] TTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGAC
GTGAGC
[0485] CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG
CCGCGG
[0486] GAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT
GGCAAG
[0487] GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA
GGGCAG
[0488] CCCCAGAAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTG

ACCTGC

[0489] CTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC
TACAAG

[0490] ACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC
AGGTGG

[0491] CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC
CTCTCC

[0492] CTGTCTCCGGGTAAATGA

[0493] >HC 恒定 (SEQ ID NO:161)

[0494] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSS

[0495] LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVS

[0496] HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQ

[0497] PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRW

[0498] QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0499] 重链文库然后与 8 个占位子轻链相结合。每个轻链由固定集合的人构架和小鼠 CDR 组成。携带抗体基因的质粒在大肠杆菌中扩增并转染进哺乳动物细胞中用于产生全长含 IgG 上清,以用于在细胞 ELISA 中进行筛选。由细胞 ELISA 鉴别的最佳重组装重链基因然后与如下重组装轻链文库组合:

[0500]

轻链 ID	ICF1	ICF2	ICF3	ICF4
BD22084	VK8	VK7	VK5	VK1
BD22107	VK8	VK8	VK5	VK1
BD22086	VK8	VK4_5_6	VK7	VK1
BD22103	VK8	VK1_2_3	VK7	VK1
BD22088	VK8	VK7	VK2	VK1
BD22108	VK8	VK4_5_6	VK2	VK1
BD22094	VK8	VK4_5_6	VK3	VK1
BD22085	VK7	VK4_5_6	VK1	VK1
BD22109	VK7	VK7	VK5	VK1

BD22090	VK8	VK8	VK8	VK1
BD22092	VK1_2	VK8	VK7	VK1
BD22100	VK3	VK4_5_6	VK2	VK1
BD22105	VK6	VK8	VK7	VK1
BD22111	VK7	VK1_2_3	VK3	VK1
BD22104	VK4	VK8	VK1	VK1
BD22087	VK6	VK1_2_3	VK3	VK1

[0501]

BD22096	VK5	VK1_2_3	VK3	VK1
BD22091	VK5	VK7	VK4	VK1
BD22089	VK5	VK7	VK2	VK1
BD22095	VK4	VK7	VK2	VK1
BD22106	VK6	VK4_5_6	VK2	VK1
BD22097	VK6	VK7	VK1	VK1
BD22101	VK5	VK7	VK1	VK1
BD22102	VK4	VK7	VK1	VK1

[0502] 轻链可变区的完整核苷酸和氨基酸序列提供如下：

[0503] 轻链可变区的核苷酸序列：

[0504] >BD22084 (SEQ ID NO :162)

[0505] GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGA

[0506] GCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT

[0507] GGTATCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTATGCCACA

[0508] TCCAACCTGGCTTCTGGGATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGG

[0509] GACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAG

[0510] TTTATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT

[0511] ACCAAGGTGGAAATCAAA

[0512] >BD22107 (SEQ ID NO :166)

[0513] GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGA

[0514] GCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT

[0515] GGTATCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATGCCACA

[0516] TCCAACCTGGCTTCTGGGATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGG
[0517] GACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAG
[0518] TTTATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0519] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0520] >BD22086 (SEQ ID NO :167)
[0521] GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGA
[0522] GCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0523] GGTATCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGCCACA
[0524] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGTCTGG
[0525] GACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAG
[0526] TTTATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0527] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0528] >BD22103 (SEQ ID NO :168)
[0529] GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGA
[0530] GCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0531] GGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCCACA
[0532] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGTCTGG
[0533] GACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAG
[0534] TTTATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0535] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0536] >BD22088 (SEQ ID NO :172)
[0537] GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGA
[0538] GCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0539] GGTATCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTATGCCACA
[0540] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGAAAGTGGATCTGG
[0541] GACAGATTTTACTTTTACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATATTGCAA
[0542] CATATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0543] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0544] >BD22108 (SEQ ID NO :173)
[0545] GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGA
[0546] GCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0547] GGTATCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGCCACA
[0548] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGAAAGTGGATCTGG
[0549] GACAGATTTTACTTTTACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATATTGCAA
[0550] CATATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0551] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0552] >BD22094 (SEQ ID NO :174)
[0553] GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGA
[0554] GCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT

[0555] GGTATCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGCCACA
[0556] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGG
[0557] GACAGAATTCACCTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAA
[0558] CTTATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGGCCAAGGT
[0559] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0560] >BD22085 (SEQ ID NO :177)
[0561] GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGA
[0562] GAGGGCCACCATCAACTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0563] GGTATCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGCCACA
[0564] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGG
[0565] GACAGATTTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA
[0566] CTTACTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGGCCAAGGT
[0567] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0568] >BD22109 (SEQ ID NO :205)
[0569] GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGA
[0570] GAGGGCCACCATCAACTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0571] GGTATCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTATGCCACA
[0572] TCCAACCTGGCTTCTGGGATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGG
[0573] GACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCA
[0574] TTTATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGGCCAAGGT
[0575] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0576] >BD22090 (SEQ ID NO :210)
[0577] GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGA
[0578] GCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0579] GGTATCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATGCCACA
[0580] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCTGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGG
[0581] CACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGG
[0582] TTTATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGGCCAAGGT
[0583] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0584] >BD22092 (SEQ ID NO :211)
[0585] GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGA
[0586] CAGAGTCACCATCACTTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0587] GGTATCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATGCCACA
[0588] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTGG
[0589] GACAGATTTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAG
[0590] TTTATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGGCCAAGGT
[0591] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0592] >BD22100 (SEQ ID NO :212)
[0593] GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCTGTCTGCATCTGTAGGAGA

[0594] CAGAGTCACCATCACTTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0595] GGTATCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGCCACA
[0596] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGGATCTGG
[0597] GACAGATTTTACTTTTACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATATTGCAA
[0598] CATATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0599] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0600] >BD22105 (SEQ ID NO :213)
[0601] GAAATTGTGTTGACCCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGA
[0602] AAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0603] GGTATCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATGCCACA
[0604] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGG
[0605] GACAGATTTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAG
[0606] TTTATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0607] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0608] >BD22111 (SEQ ID NO :214)
[0609] GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGA
[0610] GAGGGCCACCATCAACTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0611] GGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCCACA
[0612] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGCGGCAGTGGATCTGG
[0613] GACAGAATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAA
[0614] CTTATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0615] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0616] >BD22104 (SEQ ID NO :215)
[0617] GAAATAGTGATGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGA
[0618] AAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0619] GGTATCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATGCCACA
[0620] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGG
[0621] GACAGATTTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA
[0622] CTTACTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0623] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0624] >BD22087 (SEQ ID NO :216)
[0625] GAAATTGTGTTGACCCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGA
[0626] AAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0627] GGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCCACA
[0628] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGCGGCAGTGGATCTGG
[0629] GACAGAATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAA
[0630] CTTATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0631] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0632] >BD22096 (SEQ ID NO :217)

[0633] GAAATTGTGTTGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGA
[0634] AAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0635] GGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCCACA
[0636] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGG
[0637] GACAGAATTCACCTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAA
[0638] CTTATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0639] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0640] >BD22091 (SEQ ID NO :218)
[0641] GAAATTGTGTTGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGA
[0642] AAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0643] GGTATCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTATGCCACA
[0644] TCCAACCTGGCTTCTGGGATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGG
[0645] GACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGCA
[0646] TTTATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0647] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0648] >BD22089 (SEQ ID NO :219)
[0649] GAAATTGTGTTGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGA
[0650] AAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0651] GGTATCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTATGCCACA
[0652] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGAAAGTGGATCTGG
[0653] GACAGATTTTACTTTTACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATATTGCAA
[0654] CATATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0655] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0656] >BD22095 (SEQ ID NO :220)
[0657] GAAATAGTGATGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGA
[0658] AAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0659] GGTATCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTATGCCACA
[0660] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGAAAGTGGATCTGG
[0661] GACAGATTTTACTTTTACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATATTGCAA
[0662] CATATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0663] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0664] >BD22106 (SEQ ID NO :221)
[0665] GAAATTGTGTTGACCCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGA
[0666] AAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0667] GGTATCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGCCACA
[0668] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGAAAGTGGATCTGG
[0669] GACAGATTTTACTTTTACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATATTGCAA
[0670] CATATTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTTCGGCCAAGGT
[0671] ACCAAGGTGGAAATCAAA

[0672] >BD22097 (SEQ ID NO :222)
[0673] GAAATTGTGTTGACCCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGA
[0674] AAGAGCCACCCTCTCC TGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0675] GGTATCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTATGCCACA
[0676] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGG
[0677] GACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA
[0678] CTTACTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGGCCAAGGT
[0679] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0680] >BD22101 (SEQ ID NO :223)
[0681] GAAATTGTGTTGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGA
[0682] AAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0683] GGTATCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTATGCCACA
[0684] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGG
[0685] GACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA
[0686] CTTACTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGGCCAAGGT
[0687] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0688] >BD22102 (SEQ ID NO :224)
[0689] GAAATAGTGATGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGA
[0690] AAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGCTCAAGTTTAAGTTTCATGCACT
[0691] GGTATCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTATGCCACA
[0692] TCCAACCTGGCTTCTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGG
[0693] GACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA
[0694] CTTACTACTGTCATCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGGCCAAGGT
[0695] ACCAAGGTGGAAATCAAA
[0696] 轻链可变区的氨基酸序列：
[0697] >BD22084 (SEQ ID NO :225)
[0698] DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRASSLSFMHWYQQKPGQPPKLLIYAT
[0699] SNLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCHQWSSNPLTFGQG
[0700] TKVEIK
[0701] >BD22107 (SEQ ID NO :226)
[0702] DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRASSLSFMHWYLQKPGQSPQLLIYAT
[0703] SNLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCHQWSSNPLTFGQG
[0704] TKVEIK
[0705] >BD22086 (SEQ ID NO :227)
[0706] DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRASSLSFMHWYQQKPGQAPRLLIYAT
[0707] SNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCHQWSSNPLTFGQG
[0708] TKVEIK
[0709] >BD22103 (SEQ ID NO :228)
[0710] DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRASSLSFMHWYQQKPGKAPKLLIYAT

[0711] SNLASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQWSSNPLTFGQG
[0712] TKVEIK
[0713] >BD22088 (SEQ ID NO :229)
[0714] DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRASSLSFMHWYQQKPGQPPKLLIYAT
[0715] SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0716] TKVEIK
[0717] >BD22108 (SEQ ID NO :230)
[0718] DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRASSLSFMHWYQQKPGQAPRLLIYAT
[0719] SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0720] TKVEIK
[0721] >BD22094 (SEQ ID NO :231)
[0722] DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRASSLSFMHWYQQKPGQAPRLLIYAT
[0723] SNLASGVP SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0724] TKVEIK
[0725] >BD22085 (SEQ ID NO :232)
[0726] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASSLSFMHWYQQKPGQAPRLLIYAT
[0727] SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0728] TKVEIK
[0729] >BD22109 (SEQ ID NO :233)
[0730] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASSLSFMHWYQQKPGQPPKLLIYAT
[0731] SNLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCHQWSSNPLTFGQG
[0732] TKVEIK
[0733] >BD22090 (SEQ ID NO :234)
[0734] DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRASSLSFMHWYLQKPGQSPQLLIYAT
[0735] SNLASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGYYCHQWSSNPLTFGQG
[0736] TKVEIK
[0737] >BD22092 (SEQ ID NO :235)
[0738] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSLSFMHWYLQKPGQSPQLLIYAT
[0739] SNLASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQWSSNPLTFGQG
[0740] TKVEIK
[0741] >BD22100 (SEQ ID NO :236)
[0742] DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASSLSFMHWYQQKPGQAPRLLIYAT
[0743] SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0744] TKVEIK
[0745] >BD22105 (SEQ ID NO :237)
[0746] EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASSLSFMHWYLQKPGQSPQLLIYAT
[0747] SNLASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQWSSNPLTFGQG
[0748] TKVEIK
[0749] >BD22111 (SEQ ID NO :238)

[0750] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASSLSFMHWYQQKPGKAPKLLIYAT
[0751] SNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0752] TKVEIK
[0753] >BD22104 (SEQ ID NO :239)
[0754] EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASSLSFMHWYQQKPGQSPQLLIYAT
[0755] SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0756] TKVEIK
[0757] >BD22087 (SEQ ID NO :240)
[0758] EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASSLSFMHWYQQKPGKAPKLLIYAT
[0759] SNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0760] TKVEIK
[0761] >BD22096 (SEQ ID NO :241)
[0762] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSLSFMHWYQQKPGKAPKLLIYAT
[0763] SNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0764] TKVEIK
[0765] >BD22091 (SEQ ID NO :242)
[0766] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSLSFMHWYQQKPGQPPKLLIYAT
[0767] SNLASGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCHQWSSNPLTFGQG
[0768] TKVEIK
[0769] >BD22089 (SEQ ID NO :243)
[0770] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSLSFMHWYQQKPGQPPKLLIYAT
[0771] SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTFITISSLQPEDIATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0772] TKVEIK
[0773] >BD22095 (SEQ ID NO :244)
[0774] EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASSLSFMHWYQQKPGQPPKLLIYAT
[0775] SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTFITISSLQPEDIATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0776] TKVEIK
[0777] >BD22106 (SEQ ID NO :245)
[0778] EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASSLSFMHWYQQKPGQAPRLLIYAT
[0779] SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTFITISSLQPEDIATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0780] TKVEIK
[0781] >BD22097 (SEQ ID NO :246)
[0782] EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASSLSFMHWYQQKPGQPPKLLIYAT
[0783] SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0784] TKVEIK
[0785] >BD22101 (SEQ ID NO :247)
[0786] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSLSFMHWYQQKPGQPPKLLIYAT
[0787] SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHQWSSNPLTFGQG
[0788] TKVEIK

- [0789] >BD22102 (SEQ ID NO :248)
- [0790] EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASSLSFMHWYQQKPGQPPKLLIYAT
- [0791] SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCHQWSSNPLTFGQG
- [0792] TKVEIK
- [0793] 与轻链相关的信号序列和恒定区如下：
- [0794] >LC 信号 (SEQ ID NO :249)
- [0795] ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCAGGTGCCAAATGT
- [0796] >HC 信号 (SEQ ID NO :250)
- [0797] MDMRVPAQLLGLLLLWLPGAKC
- [0798] >LC 恒定 (SEQ ID NO :251)
- [0799] CGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTCCCTCTGTT
- [0800] GTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAA TCGGGT
- [0801] AACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACG CTGAGC
- [0802] AAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC ACAAAG
- [0803] AGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAA
- [0804] >LC 恒定 (SEQ ID NO :252)
- [0805] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTL
- [0806] KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0807] 这些经质粒 Ig 链表达载体转染进 HEK-293 悬浮细胞中,筛选所得细胞培养上清。
- [0808] HuFR 文库筛选结果. 用于最终 HuFR 文库的最初高通量筛选数据示于图 26,其示出来自抗 CD20ELISA 测定的数据图,证实在使用贴壁 CD20+HEK-293 细胞的抗 CD20 细胞 ELISA 中抗 CD20HuFR 克隆的比活性。DVSA-CD20 的比活性设为 1.0。具有大于或等于 1.0 的活性的克隆在 CDC 测定中进行测试。对于定量 ELISA 信噪比是 4.2(CV 8.8%),对于抗 CD20 细胞 ELISA 信噪比是 3.6(CV 5.7%)。HuFR 克隆的比活性通过用抗体表达水平(如定量 IgG ELISA 确定)归一化抗 CD20 细胞 ELISA 结合活性而确定。DVSA-CD20 的比活性设为 1.0 并根据最高比活性排列。选择最佳推定 hit(>80)进一步分析。从细胞 ELISA 鉴别的最高的推定 hit 在 CDC 测定中进行谱分析。将 CD20 细胞 ELISA 和 CDC 测定中的最高 hit 相比较示出许多细胞 ELISA hit 保留了与 DVSA-CD20 相似的细胞毒性活性,如图 5 所示。图 5 是比较抗 CD20 ELISA 中的最高抗 CD20HuFR 克隆的比活性(紫色,左边条)与 CDC 测定中的最高克隆活性(浅绿色,右边条)。示出了 DVSA-CD20 阳性对照(cDVSA)和阴性对照(无关人 IgG)的活性。
- [0809] 基于细胞 ELISA 和 CDC 测定的结果,选择最高的 HuFR 变体进行证实,并在一组二级测定中进一步分析。这些变体中相关的 HuFR 重链和轻链如下：
- [0810]

LC&HC 组合	轻链	重链
1	BD22084	BD20332
2	BD22085	BD20335
3	BD22086	BD20335
4	BD22088	BD20337
5	BD22087	BD20335
6	BD22089	BD20335
7	BD22090	BD20337
8	BD22095	BD20337
9	BD22091	BD20337
10	BD22108	BD20337
11	BD22092	BD20338
12	BD22094	BD20337
13	BD22096	BD20337
14	BD22092	BD20337
15	BD22102	BD20337
16	BD22097	BD20335
17	BD22104	BD20337
18	BD22085	BD20339
19	BD22107	BD20339
20	BD22100	BD20335
21	BD22103	BD20337
22	BD22105	BD20337
23*	BD22108	BD20337

24	BD22101	BD20335
25	BD22106	BD20333
26	BD22108	BD20338
27	BD22109	BD20341

[0811]

28	BD22111	BD20336
29*	BD22104	BD20337

[0812] *注意 LC&HC 组合编号 23 具有与编号 10 相同的轻链和重链组合 (BD22108 和 BD20337)。编号 29 具有与编号 17 相同的重链 / 轻链组合 (BD22104 和 BD20337)。但是, 组合编号 23 和 29 被保留以与下述结果一致。

[0813] 最高的变体转染进 HEK-293 悬浮细胞, 并在一组二级测定中测试所得 (未纯化的) 细胞培养上清: 凋亡, 见图 6; 细胞周期, 见图 7; CDC, 见图 8; ADCC, 见图 9。

[0814] 图 6 是凋亡测定的条形图, 其证实一些最高 HuFR hit 具有等于或优于参考抗体和 DVSA-CD20 的活性。阳性对照是星状孢子素 (staurosporine)、参考抗体和 DVSA-CD20。阴性对照是未处理的细胞 (培养基无染色)、仅未处理的细胞交联抗体 (仅培养基 GAH) 和用无关人 IgG 处理的细胞 (人)。图 7 是细胞周期测定, 其显示 HuFR 抗 CD20hit 不诱导体外人 PBMC 细胞增殖。DVSA-CD3 是阳性对照 (第 1 条)。阴性对照包括具有交联抗体的未处理细胞和用无关人 IgG 处理的细胞。图 8 是 CDC 测定的条形图。一些抗 CD20HuFR hit 诱导 CDC 以及或者优于参考抗体和 DVSA-CD20 (第 3 和 4 条)。这一测定的阴性对照 (100% 存活) 是未处理的细胞和用无关人 IgG 处理的细胞 (第 1 和 T 条)。

[0815] 图 9 是 ADCC 测定的条形图, 如下述实施例 4 详细讨论。最高抗 CD20HuFRhit 亚集的初级 ADCC 数据提示这些 hit 中的一些具有类似于浓度为 $1 \mu\text{g/ml}$ 的参考抗体和 DVSA-CD20 的活性。这一测定的阴性对照是与无关人 IgG (人) 抗 CD3 保温的 CD20+ 靶细胞。

[0816] 测定数据的总结如表 A 所示。变体排列顺序为 1 至 29, 起自细胞 ELISA 中最佳结合活性。++ 的表现相当于参考抗体。最高 12 个抗体以星号表示。

[0817] 表 A. 在二级基于细胞的测定组中的抗 CD20 变体的概述

[0818]

变体	CDC	凋亡	细胞周期	ADCC
1	-	-	++	+
2	+	+	+	++
3	+	+	++	++

4 [*]	+	+	++	+++
5	-	++	++	+++
6 [*]	+	++	++	++
7	+	+	++	++
8 [*]	+	+++	++	++
9 [*]	++	++	++	++
10 [*]	++	+	++	++
11	++	+	-	+
12	-	+	++	+++
13	-	-	++	+++
14 [*]	+	+++	++	++++
15 [*]	+	+	++	+++
16	-	+	++	+++
17 [*]	++	+	++	++
18 [*]	+++	++	+	+++
19 [*]	++	+	+	+++
20	-	+	++	+++
21	++	+	+++	+
22 [*]	++	+++	++	+
23	++	+	++	+
24	++	+	++	+
25	-	++	++	+++
26	-	+	+++	+
27	+	++	++	+

28*	++	+++	++	++
29	++	+	+	+

[0819] 实施例 4:抗 CD3 抗体

[0820] 本发明提供了嵌合多肽和嵌合二价抗体,其特异性结合多肽 CD3,例如在一个实施方案中,人 CD3。在一个方面中,本发明的多肽例如本发明的嵌合多肽或嵌合二价抗体被用于抑制或消除免疫应答,例如治疗(改善)肾移植患者中的急性同种异体移植物排斥以及心脏和肝脏移植患者中的类固醇抗性急性同种异体移植物排斥,以及治疗(改善)自身免疫性疾病,严重移植物抗宿主病,治疗(改善)银屑病和溃疡性结肠炎,以及改善 I 型糖尿病,例如通过维持或改善糖尿病患者包括刚确诊的 I 型糖尿病患者中的胰岛素生成而改善。

[0821] 在其它实施方案中,本发明的抗 CD3 抗体可用于治疗肾移植患者中的急性同种异体移植物排斥以及心脏和肝脏移植患者中的类固醇抗性急性同种异体移植物排斥。在其它实施方案中,本发明的这些抗体还可以用于治疗自身免疫性疾病,包括银屑病和溃疡性结肠炎,和严重移植物抗宿主病,以及维持或改善刚确诊的 I 型糖尿病患者中的胰岛素生成。修饰的抗 CD3 正在银屑病和溃疡性结肠炎研究的 2 期研究中进行评价。

[0822] 一种参考小鼠抗 CD3 抗体被转变为本发明的嵌合抗 CD3 抗体。在抗体的 Fc 区中插入一单氨基酸变化(T299V)以降低与该参考抗体相关的不希望的细胞因子副作用(具有这一 T299V 突变的 Fc 区被称为“Fc null”)。Fc null 用作额外的对照。

[0823] 还制备了嵌合抗体用作建立修饰中所用的筛选测定的合适对照。制备了亲代嵌合体以便编码可变区的参考序列被克隆到含有人 IgG1 恒定区的哺乳动物表达载体中。

[0824] 图 9 是 ADCC 测定的条形图,如下述实施例 4 详细讨论。最高抗 CD20HuFRhit 亚集的初级 ADCC 数据提示这些 hit 中的一些具有类似于浓度为 1 μ g/ml 的参考抗体和 DVSA-CD20 的活性。这一测定的阴性对照是与无关人 IgG(人)抗 CD3 保温的 CD20+ 靶细胞。

[0825] 所得的嵌合抗 CD3 抗体被称为 DVSA-CD3,如图 10 和图 11 所示。图 10 示出 DVSA-CD3 的轻链(上部)和重链(底部)核酸序列。黄色高亮文字代表 CDR。图 11 示出 DVSA-CD3 的重链(上部)和轻链(中部)氨基酸序列,以及 DVSA-CD3 的轻链(底部)。黄色高亮文字代表恒定区。

[0826] 凋亡测定

[0827] 在细胞培养基(RPMI-1640(ATCC Cat. 30-2001)/10 % FBS(Invitrogen Cat. 10082-147)/0.05mM 2-巯基乙醇(Sigma M-7522))中培养的 Jurkat T 细胞(ATCC Cat. TIB-152)在以大约 2.5×10^4 个细胞的密度最后一次传代培养后 2 天铺板。然后在 200g 室温离心细胞 5 分钟。吸掉用过的细胞培养基,将细胞温和重悬于新鲜培养基中。细胞计数后用新鲜细胞培养基将细胞数调整至 4.0×10^5 个细胞/ml。细胞然后铺板于 96 孔板中($\sim 50 \mu$ l/孔)。在细胞培养基中配制的抗体溶液(100ng/ml, 50ng/ml, 25ng/ml 或 12.5ng/ml IgG)被加入到细胞并在 37°C、5% CO₂ 下保温 24 小时。待测抗体(20ng/ml)是在筛选过程中鉴别的那些抗体。无关人 IgG1(EMDBiosciences Cat. 400120), DVSA-CD3, DVSA-CD3(Fc null) 作为对照抗体。

[0828] 使用 APO-ONE APOPTOSIS ASSAY™(Promega Cat. G7791)。该测定的读出是基于在 96 孔格式中荧光标记的四肽底物的裂解(APO-ONE™ HOMOGENEOUSCASPASE-3/7Assay,

Promega Cat. G7790, G7791)。100 μ l/ 孔的 APO-ONE™试剂 / 底物 (100 : 1 稀释) 被加入到每孔中并于黑暗中室温保温 24 小时。这一建立的凋亡测定测量在抗 CD3 抗体处理后人类 CD3+T 细胞中 caspase 活性的诱导。然后用荧光微滴定板阅读器以 485nm 激发波长和 530nm 发射波长读板。

[0829] 构建 HuFR 抗 CD3 文库

[0830] 如实施例 3 所述进行 HuFR。在第一轮中, 抗体上清 (与 kappa 占位子 (placeholder) 链相关的重链 HuFR 文库) 在测量抗体变体诱导 T 细胞信号转导和随后的凋亡的能力的高通量测定中筛选。在一个实验循环中, 从最初筛选中选择了 326 个 hit, 52 个 hit 被证实, 并选择最高 10 个重链 hit。表 C 和表 D 显示了最高的重链和轻链序列 (见表 1 至表 4)。

[0831] 在第二轮中, 由凋亡测定鉴别的最高 10 个重组重链基因然后与 HuFR 轻链文库组合。筛选这一文库以鉴别具有与对照 DVSA-CD3 (Fc-null) 相比相同的或改善的性质的变体。在一个实验中, 从初次筛选获得 268 个 hit, 37 个 hit 被证实, 最高的 10 个被选择。9 个候选克隆被成功再转染并在证实测定中被测定 (表 B)。在最高重链和轻链中出现的 ICF 适于表 C 和 D。

[0832] 表 B. 最高抗 CD3HuFR 抗体中的重链和轻链

[0833]

HuFR 抗体	重链 ID	轻链 ID
1	BD20610	BD21130
2	BD20613	BD21131
3	BD20611	BD21132
4	BD20611	BD21133
5	BD20611	BD21134
6	BD20611	BD21135
7	BD20611	BD21136
8	BD20611	BD21137
9	BD20613	BD21138

[0834] 表 C. 在抗 CD3 的最高重链中使用的 ICF

[0835]

重链 ID	ICF1	ICF2	ICF3	ICF4
BD20610	GL_7a	GL_5	GL_4	GL1

BD20611	GL_7a	GL_5	GL_5	GL1
BD20613	GL_3	GL2_3	GL_3	GL1

[0836] 表 D. 在抗 CD3 的最高 kappa 轻链中使用的 ICF

[0837]

轻链 ID	ICF1	ICF2	ICF3	ICF4
BD21130	VK1_2	VK7	VK8	VK1
BD21131	VK3	VK4_5_6	VK8	VK1
BD21132	VK5	VK1_2_3	VK3	VK1
BD21133	VK8	VK7	VK3	VK1
BD21134	VK4	VK7	VK3	VK1
BD21135	VK4	VK4_5_6	VK7	VK1
BD21136	VK3	VK1_2_3	VK6	VK1
BD21137	VK3	VK7	VK2	VK1
BD21138	VK3	VK1_2_3	VK8	VK1

[0838] 图 12 提供了最高 9 个抗 CD3hit 的重链和轻链对比。

[0839] HuFR 文库筛选结果

[0840] 最高的 9 个 CD3 抗体变体重链和轻链候选者被转染进 HEK-293 悬浮细胞中, 测试所得细胞培养上清的凋亡活性和热稳定性。通过人类构架组装反应获得的所有 9 个变体均展示凋亡活性, 其与 DVSA-CD3 (Fc-null) 体外相同或更好 (表 E)。阴性对照是未处理细胞 (培养基) 和无关人类 IgG (hulgG)。

[0841] 表 E. HuFR 抗体的 Apo-One 凋亡测定

[0842]

	12.5 ng/ml	25 ng/ml	50 ng/ml	12.5 ng/ml	25 ng/ml	50 ng/ml
培养基	380	380	384			
hulgG	250	259	234			
Fc null	494	729	1191	1.0	1.0	1.0
变体 1	797	1217	1753	1.6	1.7	1.5
变体 2	854	1435	2156	1.7	2.0	1.8
变体 3	649	854	1132	1.3	1.2	1.0
变体 4	1390	2348	3303	2.8	3.2	2.8
变体 5	1163	1663	2165	2.4	2.3	1.8
变体 6	1277	2224	3498	2.6	3.1	2.9
变体 7	2268	3477	4744	4.6	4.8	4.0
变体 8	969	1632	2559	2.0	2.2	2.1
变体 9	885	1383	2041	1.8	1.9	1.7

[0843] 热稳定性

[0844] 还测定了 9 个 HuFR 变体的热稳定性测定,以保证抗体的结构完整性未被任何氨基酸变化削弱。通过人类构架组装反应获得的 9 个变体具有比 DVSA-CD3 (Fc-null) 抗体高的解链温度。

[0845] 表 F. 9 个变体的热稳定性不受 HuFR 影响

[0846] 本发明提供了下述能结合抗原的变体 1 至变体 9 的嵌合多肽,它们具有热稳定的结合活性:

[0847]

抗体	T _m (°C)
DVSA-CD3 (Fc-null)	59.6
变体 1	66.5
变体 2	70.5
变体 3	64.7
变体 4	65.8
变体 5	67.7

[0848]

变体 6	65.2
变体 7	65.5
变体 8	70.7
变体 9	63.5

[0849] 本文中引用的所有专利、专利申请和文献均并入本文。

序列表

<110>MMR 信息系统公司

<120> 抗体及其制备和使用方法

<130>564462015840

<140>Not Yet Assigned

<141>Concurrently Herewith

<150>US 60/871,069

<151>2006-12-20

<160>372

<170>FastSEQ for Windows Version 4.0

<210>1

<211>25

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>1

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

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20

25

<210>2

<211>25

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>2

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210>3

<211>25

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser
20 25

<210>4

<211>25

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>4

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser
20 25

<210>5

<211>25

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>5

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Gln
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser							
				20				25							

<210>6

<211>25

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>6

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu
1				5					10					15	
Ser	Leu	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Gly	Ser							
				20				25							

<210>7

<211>25

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>7

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							
				20				25							

<210>8

<211>14

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>8

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

1

5

10

<210>9

<211>14

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>9

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly

1

5

10

<210>10

<211>14

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>10

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

1

5

10

<210>11

<211>14

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>11

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly

1

5

10

<210>12

<211>14

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>12

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly

1

5

10

<210>13

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>13

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln

1

5

10

15

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

20

25

30

<210>14

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>14

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

<210>15

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>15

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

<210>16

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>16

Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
				20					25					30	

<210>17

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>17

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

<210>18

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>18

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

<210>19

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>19

Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Lys	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln
1				5				10						15	
Trp	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
			20					25						30	

<210>20

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>20

Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
			20					25					30		

<210>21

<211>12

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>21

Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
1				5					10		

<210>22

<211>75

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>22

gaagtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctggcgggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctct					75

<210>23

<211>75

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>23

caggtgcagc tggtagagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctct 75

<210>24

<211>75

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>24

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctct 75

<210>25

<211>75

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>25

caggtcacct tgaaggagtc tggctctgag ctggtgaaac ccacacagac cctcacactg 60
acctgcacct tctct 75

<210>26

<211>75

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>26

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctct 75

<210>27

<211>75

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>27

gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
tcctgtaagg gttct 75

<210>28

<211>75

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>28

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcttc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttct 75

<210>29

<211>42

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>29

tgggtccgcc aggctccagg gaaggggctg gagtgggtct ca 42

<210>30

<211>42

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>30

tgggtccgcc aggctccagg caaggggcta gagggttg ca

42

<210>31

<211>42

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>31

tgggtccgcc aggctccagg gaaggggctg gagggttg gc

42

<210>32

<211>42

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>32

tgggtgcgac aggcccctgg acaagggtt gagggatg ga

42

<210>33

<211>42

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>33

tgggtgcgac aggctcctgg aaaagggtt gagtggatgg ga

42

<210>34

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>34

cgattcacca tctccagaga caacgccaaag aactcactgt atctgcaaata gaacagcctg 60

agagccgagg acacggctgt gtattactgt gcgaga

96

<210>35

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>35

cgattcacca tctccagaga caacagcaaaa aactccctgt atctgcaaata gaacagtctg 60

agaactgagg acaccgcctt gtattactgt gcaaga

96

<210>36

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>36

aggttcacca tctccagaga tgattcaaag aacacggcgt atctgcaaata gaacagcctg 60

aaaaccgagg acacggccgt gtattactgt actaga

96

<210>37

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>37

cgagttacca tatcagtaga cacgtctaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
actgccgcgg acacggccgt gtattactgt gcgaga 96

<210>38

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>38

aggctcacca tctccaagga cacctccaaa aaccaggtgg tccttacaat gaccaacatg 60
gaccctgtgg acacagccac gtattactgt gcacgg 96

<210>39

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>39

cgatttgtct tctccctega cacgtctgtc agcacggcgt atcttcagat gtctagccta 60
aaggctgagg acacggccgt ctattactgt gcgcga 96

<210>40

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>40

cgcgtcacca tctcagctga caagtcate agcactgcct acctgcagtg gagcagcctg 60
aaggcctcgg acaccgcat gtattactgt gcgaga 96

<210>41

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>41

agagtcacga ttaccgcgga caaatccacg agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
agatctgagg acacggcct gtattactgt gcgaga 96

<210>42

<211>36

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>42

gtcacgtct cctccgcctc caccaagggc ccatcg 36

<210>43

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>43

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10					15		
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys									
				20											

<210>44

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>44

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Thr	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10					15		
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys									
				20											

<210>45

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>45

Glu	Ile	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									
				20											

<210>46

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>46

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
20

<210>47

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>47

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
20

<210>48

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>48

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

<210>49

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>49

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1

5

10

15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210>50

<211>22

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>50

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln

1

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys

20

<210>51

<211>22

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>51

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln

1

5

10

15

Arg Val Thr Ile Ser Cys

20

<210>52

<211>22

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>52

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

1

5

10

15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys

20

<210>53

<211>22

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>53

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

1

5

10

15

Ser Val Thr Ile Ser Cys

20

<210>54

<211>22

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>54

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys
20

<210>55

<211>22

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>55

Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15
Thr Val Arg Ile Thr Cys
20

<210>56

<211>22

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>56

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys
20

<210>57

<211>22

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>57

Gln Leu Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ala Ser Ala Ser Leu Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Thr Cys
20

<210>58

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>58

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210>59

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>59

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210>60

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>60

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210>61

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>61

Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210>62

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>62

Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210>63

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>63

Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr
1 5 10 15

<210>64

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>64

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Val	Leu	Val	Ile	Tyr
1				5				10						15

<210>65

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>65

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Val	Leu	Val	Ile	Tyr
1				5				10						15

<210>66

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>66

Trp	His	Gln	Gln	Gln	Pro	Glu	Lys	Gly	Pro	Arg	Tyr	Leu	Met	Tyr
1				5				10						15

<210>67

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>67

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

<210>68

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>68

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

<210>69

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>69

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

<210>70

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>70

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

<210>71

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>71

Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5				10					15		
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210>72

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>72

Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5				10					15		

Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210>73

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>73

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

<210>74

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>74

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

<210>75

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>75

Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lvs	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr
1				5				10					15		
Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln	Thr	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys
			20				25					30			

<210>76

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>76

Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lvs	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser
1				5				10					15		
Leu	Ala	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys
			20				25					30			

<210>77

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>77

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

<210>78

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>78

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

<210>79

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>79

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

<210>80

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>80

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

<210>81

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>81

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

<210>82

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>82

Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Gly	Ala	Glu	Arg	Tyr
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210>83

<211>21

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>83

Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys
1				5					10					15	
Val	Glu	Ile	Lys	Arg											
			20												

<210>84

<211>10

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>84

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

1

5

10

<210>85

<211>69

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>85

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgc

69

<210>86

<211>69

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>86

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgc

69

<210>87

<211>69

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>87

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

<210>88

<211>69

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>88

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

<210>89

<211>69

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>89

gaaattgtgt tgacgcagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

<210>90

<211>69

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>90

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgc 69

<210>91

<211>69

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>91

gatattgtga tgaccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgc 69

<210>92

<211>66

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>92

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgc 66

<210>93

<211>66

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>93

cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60

tcttgt	66
<210>94	
<211>66	
<212>DNA	
<213>Artificial Sequence	
<220>	
<223>Chemically synthesized	
<400>94	
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc	60
tcctgc	66
<210>95	
<211>66	
<212>DNA	
<213>Artificial Sequence	
<220>	
<223>Chemically synthesized	
<400>95	
cagtctgccc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc	60
tcctgc	66
<210>96	
<211>66	
<212>DNA	
<213>Artificial Sequence	
<220>	
<223>Chemically synthesized	
<400>96	
tcctatgtgc tgactcagcc accctcagtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt	60
acctgt	66
<210>97	
<211>66	

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>97

tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60
acatgc 66

<210>98

<211>66

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>98

tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60
acctgc 66

<210>99

<211>366

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>99

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcttc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggcta cacatttacc agttacaata tgcactgggt ccgccagget 120
ccaggcaagg ggctagagtg ggtgggtgct atttatccag gaaatggatg tacttcctac 180
aatcagaagt tcaaaggcag agtcaccatc tcagctgaca agtccatcag cactgcctac 240
ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac accgccatgt attactgtgc gagatcgcac 300
tacggtagta actacgtaga ctactttgac tactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctcc 366

<210>100

<211>45

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>100

tggtatcagc agaaaccagg gaaagcccct aagctcctga tctat

45

<210>101

<211>45

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>101

tggtaccagc agaaacctgg ccaggctccc aggtcctca tctat

45

<210>102

<211>45

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>102

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca ttac

45

<210>103

<211>45

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>103

tggtatctgc agaagccagg gcagtctcca cagctcctga tctat

45

<210>104

<211>45

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>104

tggtaccagc agctcccagg aacagccccc aaactcctca tctat

45

<210>105

<211>45

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>105

tggtaccaac agcacccagg caaagccccc aaactcatga tttat

45

<210>106

<211>45

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>106

tggtaccagc agaagccagg ccaggcccct gtgctgggtca tctat

45

<210>107

<211>45

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>107

tggtatcagc agaagccagg ccagtcacct gtgctgggtca tctat

45

<210>108

<211>366

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>108

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcttc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggcta cacatttacc agttacaata tgcactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggttgggtgct atttatccag gaaatggtga tacttcctac 180
aatcagaagt tcaaaggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagatcgcac 300
tacggtagta actacgtaga ctactttgac tactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctcc 366

<210>109

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>109

gggggtcccat caaggttcag tggcagtgga tctgggacag atttcactct caccatcagc 60
agtctgcaac ctgaagattt tgcaacttac tactgt 96

<210>110

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>110

ggggtcccat caaggttcag tggaagtgga tctgggacag attttacttt caccatcagc 60
agcctgcagc ctgaagatat tgcaacatat tactgt 96

<210>111

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>111

ggggtcccat caaggttcag cggcagtgga tctgggacag aattcactct caccatcagc 60
agcctgcagc ctgatgattt tgcaacttat tactgc 96

<210>112

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>112

ggcatcccag ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag agttcactct caccatcagc 60
agcctgcagt ctgaagattt tgcagtttat tactgt 96

<210>113

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>113

ggcatcccag ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcactct caccatcagc 60
agcctagagc ctgaagattt tgcagtttat tactgt 96

<210>114

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>114

ggcatcccag acaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcactct caccatcagc 60
agactggagc ctgaagattt tgcagtgtat tactgt 96

<210>115

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>115

ggggtccctg accgattcag tggcagcggg tctgggacag atttcactct caccatcagc 60
agcctgcagg ctgaagatgt ggcagtttat tactgt 96

<210>116

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>116

ggggtccctg acaggttcag tggcagtgga tcaggcacag attttacact gaaaatcagc 60
agagtggagg ctgaggatgt tggggtttat tactgt 96

<210>117

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>117

gggattcctg accgattctc tggctccaag tctggcacgt cagccaccct gggcatcacc 60
ggactccaga ctggggacga ggccgattat tactgc 96

<210>118

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>118

ggggtccctg accgattctc tggctccaag tctggcacct cagcctccct ggccatcagt 60
gggctccagt ctgaggatga ggctgattat tactgt 96

<210>119

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>119

ggggtttcta atcgcttctc tggtccaag tctggcaaca cggcctccct gaccatctct 60
gggctccagg ctgaggacga ggctgattat tactgc 96

<210>120

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>120

ggggtccctg atcgcttctc tggtccaag tctggcaaca cggcctccct gaccatctct 60
gggctccagg ctgaggatga ggctgattat tactgc 96

<210>121

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>121

gggateccctg agcgattctc tggtccaac tctgggaaca cggccaccct gaccatcagc 60
agggtcgaag ccggggatga ggccgactat tactgt 96

<210>122

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>122

gggateccag accgattctc tggtccagc tcaggaaaca cagcttcctt gaccatcact 60
ggggctcagg cggaagatga ggctgactat tactgt 96

<210>123

<211>96

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>123

gggatccctg agcgattctc tggtccaac tctgggaaca cagccactct gaccatcagc 60
gggaccagg ctatggatga ggctgactat tactgt 96

<210>124

<211>366

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>124

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcttc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggcta cacatttacc agttacaata tgcactgggt gcgacaggct 120
cctggaaaag ggcttgagtg gatgggtgct atttatccag gaaatggtga tacttcctac 180
aatcagaagt tcaaaggcag attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagatcgac 300
tacggtagta actacgtaga ctactttgac tactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctcc 366

<210>125

<211>30

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>125

ttcggccaag ggaccaaggt ggaaatcaaa 30

<210>126

<211>30

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>126

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta

30

<210>127

<211>30

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>127

ggctacacat ttaccagtta caatatgcac

30

<210>128

<211>51

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>128

gctattttatc caggaaatgg tgatacttcc tacaatcaga agttcaaagg c

51

<210>129

<211>57

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>129

tcgcactacg gtagtaacta cgtagactac tttgactact ggggccaggg caccctg 57

<210>130

<211>366

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>130

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcttc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggcta cacatttacc agttacaata tgcactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggttgggtgct atttatccag gaaatgggtga tacttcctac 180
aatcagaagt tcaaaggcag attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagatcgcac 300
tacggtagta actacgtaga ctactttgac tactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctcc 366

<210>131

<211>366

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>131

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcttc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggcta cacatttacc agttacaata tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggtgct atttatccag gaaatgggtga tacttcctac 180
aatcagaagt tcaaaggcag agtcaccatc tcagctgaca agtccatcag cactgcctac 240
ctgcagtgga gcagcctgaa ggccctggac accgccatgt attactgtgc gagatcgcac 300
tacggtagta actacgtaga ctactttgac tactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctcc 366

<210>132

<211>366

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>132

gaggtgcagc tgggtgcagtc tggggcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
tcctgtaagg gttctggcta cacatttacc agttacaata tgcactgggt gcgacaggct 120
cctggaaaag ggcttgagtg gatgggtgct atttatccag gaaatggatga tacttcctac 180
aatcagaagt tcaaaggcag agtcaccatc tcagctgaca agtccatcag cactgcctac 240
ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac accgccatgt attactgtgc gagatcgcac 300
tacggtagta actacgtaga ctactttgac tactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctcc 366

<210>133

<211>30

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>133

ggctacacct ttactaggta cacgatgcac 30

<210>134

<211>51

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>134

tacattaate ctagecgtgg ttatactaata tacaatcaga agttcaagga c 51

<210>135

<211>30

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>135

tattatgatg atcattactg ccttgactac

30

<210>136

<211>366

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>136

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcttc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggcta cacatttacc agttacaata tgcactgggt gcgacaggct 120
cctggaaaag ggcttgagtg gatgggtgct atttatccag gaaatgggtga tacttcctac 180
aatcagaagt tcaaaggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagatcgcac 300
tacggtagta actacgtaga ctactttgac tactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctcc 366

<210>137

<211>366

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>137

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcttc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggcta cacatttacc agttacaata tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggtgct atttatccag gaaatggtga tacttcctac 180
aatcagaagt tcaaaggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagatcgcac 300
tacggtagta actacgtaga ctactttgac tactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctcc 366

<210>138

<211>122

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>138

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

<210>139

<211>30

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>139

agggccagct caagtttaag tttcatgcac

30

<210>140

<211>21

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>140

gccacatcca acctggcttc t

21

<210>141

<211>27

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>141

catcagtgga gtagtaaccc gctcacg

27

<210>142

<211>122

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>142

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 Tyr

20

25

30

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

<210>143

<211>122

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

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

<210>144

<211>122

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>144

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

<210>145

<211>30

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>145

agtgcagct caagtgtaag ttacatgaac

30

<210>146

<211>21

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>146

gacacatcca aactggcttc t

21

<210>147

<211>27

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>147

cagcagtgga gtagtaaccc attcacg

27

<210>148

<211>122

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>148

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 Tyr

20

25

30

Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

<223>Chemically synthesized

<400>150

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

<210>151

<211>10

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>151

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr	Asn	Met	His
1				5				10	

<210>152

<211>17

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>152

Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1

5

10

15

Gly

<210>153

<211>19

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>153

Ser His Tyr Gly Ser Asn Tyr Val Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

1

5

10

15

Gly Thr Leu

<210>154

<211>122

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>154

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 Tyr

20

25

30

Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85	90	95
Ala Arg Ser His Tyr Gly Ser Asn Trp Val Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp		
100	105	110
Gly Gln Glv Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115	120	

<210>155

<211>57

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>155

atggagtttg ggctgagctg gctttttctt gtggctatatt taaaaggtgt ccagtgt 57

<210>156

<211>19

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>156

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys

<210>157

<211>10

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>157

Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His
1 5 10

<210>158

<211>17

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>158

Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Asp

<210>159

<211>10

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>159

Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr
1 5 10

<210>160

<211>993

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>160

gcctccacca agggcccata ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60
ggcacagegg ccttgggctg ccttggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgtcg 120
tggaactcag gcgccttgac cageggcggtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

```

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 240
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 300
aaatcttgtg acaaaactca cacatgceca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360
ccgtcagtct tectcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctc 420
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgagggtcaa gttcaactgg 480
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540
agcacgtacc gtgtggtcag cgctctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720
ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840
ctggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcagggtg 900
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 993

```

<210>161

<211>330

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>161

```

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

```

115	120	125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
130	135	140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
145	150	155
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu		
225	230	235
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330	

<210>162

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>162

gatattgtga tgaccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaaccagga 120

cagcctccta agctgctcat ttatgccaca tccaacctgg cttctgggat cccagccagg 180
ttcagtggca gtgggtctgg gacagacttc actctcacca tcagcagcct agagcctgaa 240
gattttgcag ttattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aatcaaaa 318

<210>163

<211>10

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>163

Arg Ala Ser Ser Ser Leu Ser Phe Met His

1 5 10

<210>164

<211>7

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>164

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210>165

<211>9

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>165

His Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr

1

5

<210>166

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>166

gatattgtga tgaccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatctgca gaagccaggg 120
cagtctccac agctcctgat ctatgccaca tccaacctgg cttctgggat cccagccagg 180
ttcagtggca gtgggtctgg gacagacttc actctcacca tcagcagcct agagcctgaa 240
gattttgcag ttattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>167

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>167

gatattgtga tgaccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaacctggc 120
caggctccca ggctcctcat ctatgccaca tccaacctgg cttctgggggt ccctgaccga 180
ttcagtggca gcgggtctgg gacagatttc actctcacca tcagcagcct gcaggctgaa 240
gatgtggcag ttattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>168

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>168

```
gatattgtga tgaccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcttgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaaccaggg 120
aaagccccta agctctgat ctatgccaca tccaacctgg cttctgggggt ccctgaccga 180
ttcagtggca gcggtcttgg gacagatttc actctcacca tcagcagcct gcaggctgaa 240
gatgtggcag ttattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318
```

<210>169

<211>10

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>169

```
Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn
1           5           10
```

<210>170

<211>7

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>170

```
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1           5
```

<210>171

<211>9

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>171

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr

1

5

<210>172

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>172

gatattgtga tgaccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcattgcact ggtatcagca gaaaccagga 120
cagcctccta agctgctcat ttatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
ttcagtggaa gtggatctgg gacagatttt actttcacca tcagcagcct gcagcctgaa 240
gatattgcaa catattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>173

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>173

gatattgtga tgaccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcattgcact ggtatcagca gaaacctggc 120
caggtccca ggctcctcat ctatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
ttcagtggaa gtggatctgg gacagatttt actttcacca tcagcagcct gcagcctgaa 240
gatattgcaa catattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>174

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>174

```

gatattgtga tgaccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaacctggc 120
caggctccca ggctcctcat ctatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
ttcagcggca gtggatctgg gacagaattc actctcacca tcagcagcct gcagcctgat 240
gattttgcaa cttattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa                                     318

```

<210>175

<211>323

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>175

```

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

```

Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
115				120				125							
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
130				135				140							
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
145				150				155				160			
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
165				170				175							
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
180				185				190							
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
195				200				205							
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
210				215				220							
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
225				230				235				240			
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
245				250				255							
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
260				265				270							
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
275				280				285							
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
290				295				300							
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
305				310				315				320			
Pro Gly Lys															

<210>176

<211>66

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>176

Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu
1				5					10					15	

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr
 65

<210>177

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>177

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
 atcaactgca gggccagctc aagtttaagt ttcattgcact ggtatcagca gaaacctggc 120
 caggctccca ggctcctcat ctatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
 ttcagtggca gtggatctgg gacagatttc actctcacca tcagcagtct gaaacctgaa 240
 gattttgcaa ctactactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
 accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>178

<211>972

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>178

gtcttccccc tggcaccctc ctccaagagc acctctgggg gcacagcggc cctgggctgc 60
 ctgggtcaagg actacttccc cgaaccgggtg acgggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc 120
 agcggcgtgc acacttccc ggctgtccta cagtcctcag gactctactc cctcagcagc 180
 gtgggtgaccg tgccctccag cagcttgggc acccagacct acatctgcaa cgtgaatcac 240
 aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga gttgagccca aatcttgtga caaaactcac 300

acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc ctgggggggac cgtcagtctt cctcttcccc 360
 ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggacccctg aggtcacatg cgtgggtgtg 420
 gacgtgagcc acgaagaccc tgagggtcaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 480
 cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc 540
 gtcctcaccg tectgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc 600
 aacaaagccc tcccageccc categagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga 660
 gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc 720
 ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 780
 gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga cggctccttc 840
 ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca 900
 tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct 960
 ccgggtaaat ga 972

<210>179

<211>198

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>179

cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcac tccccgcat ctgatgagca gttgaaatct 60
 ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120
 tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180
 agcaaggaca gcacctac 198

<210>180

<211>33

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>180

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln

1

5

10

15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Lys

20	25	30
Asp		
<210>181		
<211>25		
<212>PRT		
<213>Artificial Sequence		
<220>		
<223>Chemically synthesized		
<400>181		
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1 5 10 15		
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser		
20 25		
<210>182		
<211>32		
<212>PRT		
<213>Artificial Sequence		
<220>		
<223>Chemically synthesized		
<400>182		
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu His Leu Gln		
1 5 10 15		
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Lys		
20 25 30		
<210>183		
<211>33		
<212>PRT		
<213>Artificial Sequence		
<220>		
<223>Chemically synthesized		

<400>183

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

<210>184

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>184

His	Val	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Lys	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln
1				5				10					15		
Trp	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
			20					25					30		

<210>185

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>185

Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu
1				5				10					15		
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
			20					25					30		

<210>186

<211>25

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>186

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser							
			20					25							

<210>187

<211>25

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>187

Gln	Val	Thr	Leu	Arg	Glu	Ser	Gly	Pro	Ala	Leu	Val	Lys	Pro	Thr	Gln
1				5					10					15	
Thr	Leu	Thr	Leu	Thr	Cys	Thr	Phe	Ser							
			20					25							

<210>188

<211>25

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>188

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser							
			20					25							

<210>189

<211>25

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>189

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser

20

25

<210>190

<211>14

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>190

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Gly

1

5

10

<210>191

<211>14

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>191

Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly

1

5

10

<210>192

<211>14

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>192

Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu Trp Leu Gly

1

5

10

<210>193

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>193

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu

1

5

10

15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20

25

30

<210>194

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>194

Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu

1

5

10

15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20

25

30

<210>195

<211>33

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>195

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Lys

20 25 30

Asp

<210>196

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>196

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

<210>197

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>197

Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Ile Cys Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210>198

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>198

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

<210>199

<211>25

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>199

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210>200

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>200

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210>201

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>201

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
20

<210>202

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>202

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Asp Phe Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

<210>203

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>203

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210>204

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>204

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Cys Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

1

5

10

15

<210>205

<211>316

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>205

catcgtgatg acccagtctc cagactccct ggctgtgtct ctgggcgaga gggccaccat 60

caactgcagg gccagctcaa gttaagttt catgcactgg tatcagcaga aaccaggaca 120

gcctcctaag ctgctcattt atgccacatc caacctggct tctgggatcc cagccagggtt 180

cagtggcagt gggctctggga cagacttcac tctcaccatc agcagcctag agcctgaaga 240

ttttgcagtt tattactgtc atcagtggag tagtaaccgc ctcacgttcg gccaaaggtag 300

caaggtggaa atcaaa 316

<210>206

<211>11

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>206

Val Thr Val Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

1 5 10

<210>207

<211>16

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>207

Trp Gly Gln Gly Thr Val Thr Val Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

1 5 10 15

<210>208

<211>233

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>208

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

35 40 45

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

50 55 60

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

65	70	75	80
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His			
	85	90	95
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys			
	100	105	110
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln			
	115	120	125
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu			
	130	135	140
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro			
145	150	155	160
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn			
	165	170	175
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu			
	180	185	190
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val			
	195	200	205
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln			
	210	215	220
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
225	230		

<210>209

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>209

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

<210>212

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>212

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaacctggc 120
caggctccca ggctcctcat ctatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
ttcagtggaa gtggatctgg gacagatttt actttcacca tcagcagcct gcagcctgaa 240
gatattgcaa catattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>213

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>213

gaaattgtgt tgaccagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatctgca gaagccaggg 120
cagtctccac agctcctgat ctatgccaca tccaacctgg cttctgggggt ccctgaccga 180
ttcagtggca gcggtctctgg gacagatttc actctcacca tcagcagcct gcaggctgaa 240
gatgtggcag ttattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>214

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>214

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaaccaggg 120
aaagccccta agctcctgat ctatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
ttcagcggca gtggatctgg gacagaattc actctcacca tcagcagcct gcagcctgat 240
gattttgcaa cttattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>215

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>215

gaaatagtga tgaccagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatctgca gaagccaggg 120
cagtctccac agctcctgat ctatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
ttcagtggca gtggatctgg gacagatttc actctcacca tcagcagtct gcaacctgaa 240
gattttgcaa cttactactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>216

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>216

gaaattgtgt tgaccagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaaccaggg 120
aaagccccta agctcctgat ctatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
ttcagcggca gtggatctgg gacagaattc actctcacca tcagcagcct gcagcctgat 240
gattttgcaa cttattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300

accaaggtgg aaatcaaa

318

<210>217

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>217

gaaattgtgt tgaccagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaaccaggg 120
aaagccccta agctcctgat ctatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
ttcagcggca gtggatctgg gacagaattc actctcacca tcagcagcct gcagcctgat 240
gattttgcaa cttattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>218

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>218

gaaattgtgt tgaccagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaaccagga 120
cagcctccta agctgctcat ttatgccaca tccaacctgg cttctgggat cccagccagg 180
ttcagtggca gtgggtctgg gacagagttc actctcacca tcagcagcct gcagtctgaa 240
gattttgcag tttattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>219

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>219

```
gaaattgtgt tgaccagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaaccagga 120
cagcctccta agctgctcat ttatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
ttcagtggaa gtggatctgg gacagatfff actttcacca tcagcagcct gcagcctgaa 240
gatattgcaa catattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318
```

<210>220

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>220

```
gaaatagtga tgaccagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaaccagga 120
cagcctccta agctgctcat ttatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
ttcagtggaa gtggatctgg gacagatfff actttcacca tcagcagcct gcagcctgaa 240
gatattgcaa catattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318
```

<210>221

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>221

```
gaaattgtgt tgaccagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaacctggc 120
caggctccca ggctcctcat ctatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
```

ttcagtggaa gtggatctgg gacagatttt actttcacca tcagcagcct gcagcctgaa 240
gatattgcaa catattactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>222

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>222

gaaatttgtgt tgaccagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaaccagga 120
cagcctccta agctgctcat ttatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
ttcagtggca gtggatctgg gacagatttc actctcacca tcagcagtct gcaacctgaa 240
gattttgcaa cttactactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>223

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>223

gaaatttgtgt tgaccagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaaccagga 120
cagcctccta agctgctcat ttatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
ttcagtggca gtggatctgg gacagatttc actctcacca tcagcagtct gcaacctgaa 240
gattttgcaa cttactactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210>224

<211>318

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>224

gaaatagtga tgacccagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagctc aagtttaagt ttcatgcact ggtatcagca gaaaccagga 120
cagcctccta agctgctcat ttatgccaca tccaacctgg cttctgggggt cccatcaagg 180
ttcagtggca gtggatctgg gacagatttc actctcacca tcagcagtct gcaacctgaa 240
gattttgcaa cttactactg tcatcagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cggccaaggt 300
accaaggtgg aatcaaaa 318

<210>225

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>225

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

<210>226

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>226

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

<210>227

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>227

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

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

<210>228

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>228

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

<210>229

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>229

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

<210>230

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>230

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

<210>231

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>231

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

<210>232

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>232

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

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

<210>233

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>233

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

<210>234

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>234

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

<210>235

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>235

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

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

<210>236

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>236

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

<210>237

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>237

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Leu Ser Phe Met

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

<210>238

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>238

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

<210>239

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>239

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

<210>240

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>240

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

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

<210>241

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>241

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

<210>242

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>242

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

<210>243

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>243

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

<210>244

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>244

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

<210>245

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>245

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

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

<210>246

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>246

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

<210>247

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>247

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

<210>248

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>248

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

100

105

<210>249

<211>66

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>249

atggacatga gggtecccgcc tcagctcctg gggctcctgc tgctctggct cccaggtgcc 60
aaatgt 66

<210>250

<211>22

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>250

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15
Leu Pro Gly Ala Lys Cys
20

<210>251

<211>324

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>251

cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcacg ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60
ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120

tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240
aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300
agcttcaaca ggggagagtg ttaa 324

<210>252

<211>107

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>252

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

<210>253

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>253

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1	5	10	15
Leu Thr Ile Ser Cys Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys			
20	25	30	

<210>254

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>254

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

<210>255

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>255

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Pro Gly Thr Asp Phe Thr			
1	5	10	15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys			
20	25	30	

<210>256

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>256

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

<210>257

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>257

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

<210>258

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>258

Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5				10					15		
Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Ala	Glu	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210>259

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>259

Gly	Ile	Pro	Pro	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Tyr	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ile	Asn	Asn	Ile	Glu	Ser	Glu	Asp	Ala	Ala	Tyr	Tyr	Phe	Cys
			20					25						30	

<210>260

<211>32

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>260

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

<210>261

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>261

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys									
			20												

<210>262

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>262

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly

1

5

10

15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210>263

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>263

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys

1

5

10

15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys

20

<210>264

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>264

Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Ala Phe Met Ser Ala Thr Pro Gly

1

5

10

15

Asp Lys Val Asn Ile Ser Cys

20

<210>265

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>265

Ala	Ile	Arg	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Phe	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10					15		
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys									
				20											

<210>266

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>266

Ala	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10					15		
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys									
				20											

<210>267

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>267

Asn	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ala	Met	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

1	5	10	15
Asp	Arg	Val	Thr
Ile	Thr	Cys	
20			

<210>268

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>268

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Leu	Gly
1				5				10						15	
Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys									
20															

<210>269

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>269

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Leu	Gly
1				5				10						15	
Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys									
20															

<210>270

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>270

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys

20

<210>271

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>271

Val Ile Trp Met Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Thr Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys

20

<210>272

<211>23

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>272

Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Phe Ser Ala Ser Thr Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210>273

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>273

Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Ser	Leu	Ile	Tyr
1				5				10					15	

<210>274

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>274

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Ala	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Phe	Ile	Tyr
1				5				10					15	

<210>275

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>275

Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5				10					15	

<210>276

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>276

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210>277

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>277

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210>278

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>278

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210>279

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>279

Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210>280

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>280

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Asp	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Lys
1				5					10					15

<210>281

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>281

Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Val	Pro	Lys	His	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210>282

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>282

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210>283

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>283

Trp	Leu	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5				10					15	

<210>284

<211>15

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>284

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Glu	Ala	Ala	Ile	Phe	Ile	Ile	Gln
1				5				10					15	

<210>285

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>285

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

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

<210>286

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>286

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

<210>287

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>287

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 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

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 Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile			
35	40	45	
Tyr Ala Ala Ser Thr 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 Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro			
85	90	95	

<210>290

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>290

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

<210>291

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>291

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

<210>292

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>292

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	Ala	Ala	Ser	Ser	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	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Asn	Ser	Tyr	Pro	
				85					90					95	

<210>293

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>293

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

<210>294

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>294

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

<210>295

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>295

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

<210>296

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>296

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp			
	20	25	30

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

<210>297

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>297

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

<210>298

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>298

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

<210>299

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>299

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

<210>300

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>300

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

<210>301

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>301

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

<210>302

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>302

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

<210>303

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>303

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

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

<210>306

<211>100

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>306

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

<210>307

<211>100

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>307

```

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

```

<210>308

<211>100

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>308

```

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

```

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

<210>309

<211>100

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>309

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

<210>310

<211>100

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>310

```

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

```

<210>311

<211>100

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>311

```

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

```

100

<210>312

<211>100

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>312

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

<210>313

<211>96

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>313

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Ser
			20					25					30		

192

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

<210>314

<211>96

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>314

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

<210>315

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>315

Glu	Ile	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	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Asn
			20					25					30		
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile
		35				40						45			
Tyr	Gly	Ala	Ser	Thr	Arg	Ala	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	Asn	Asn	Trp	Pro	
				85					90					95	

<210>316

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>316

Glu	Ile	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	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Asn
			20					25					30		
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile
		35				40						45			
Tyr	Gly	Ala	Ser	Thr	Arg	Ala	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	Asn	Asn	Trp	Pro	
				85					90					95	

<210>317

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>317

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

<210>318

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>318

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

<210>319

<211>96

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>319

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

<210>320

<211>101

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>320

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

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

<210>323

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>323

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

<210>324

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>324

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

<210>325

<211>98

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>325

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

Asn Gly

<210>326

<211>99

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>326

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

<210>327

<211>98

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>327

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

50	55	60	
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln			
65	70	75	80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu			
85	90	95	
Asn Gly			

<210>328

<211>98

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>328

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

<210>329

<211>98

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>329

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

<210>330

<211>99

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>330

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

<210>331

<211>99

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>331

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

<210>332

<211>99

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>332

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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
 85 90 95
 Ser Thr Leu

<210>333

<211>99

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>333

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

<210>334

<211>99

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>334

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

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

<210>335

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>335

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

<210>336

<211>95

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>336

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

<210>337

<211>96

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>337

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

<210>338

<211>96

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>338

```

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

```

<210>339

<211>96

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>339

```

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

```

65	70	75	80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His			
	85	90	95

<210>340

<211>96

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>340

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

<210>341

<211>94

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>341

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

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

<210>342

<211>96

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>342

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

<210>343

<211>94

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>343

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

<210>344

<211>103

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>344

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

<210>345

<211>99

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>345

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

<210>346

<211>99

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>346

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

65	70	75	80
Ser Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Gly			
	85	90	95
Thr Gly Ile			

<210>347

<211>104

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>347

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

<210>348

<211>104

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>348

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly Ala

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

<210>349

<211>105

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>349

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

<210>350

<211>98

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>350

```

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

```

<210>351

<211>98

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>351

```

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

```

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly

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

<210>354

<211>104

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>354

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

<210>355

<211>98

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>355

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

<210>356

<211>1407

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>356

atggagtttg ggctgagctg gctttttcctt gtggctatatt taaaaggtgt ccagtgtcag 60
 gtccagctgc agcagtctgg ggctgaactg gcaagacctg gggcctcagt gaagatgtcc 120
 tgcaaggctt ctggctacac ctttactagg tacacgatgc actgggtaaa acagaggcct 180
 ggacagggtc tggaatggat tggatacatt aatcctagcc gtggttatac taattacaat 240
 cagaagtcca aggacaaggc cacattgact acagacaaat cctccagcac agcctacatg 300
 caactgagca gcctgacatc tgaggactct gcagtctatt actgtgcaag atattatgat 360
 gatcattact gccttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctcagcctcc 420
 accaagggcc catcggtctt ccccttgga cctcctcca agagcacctc tgggggcaca 480
 gcggccctgg gctgcctggc caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 540

```

tcaggegeccc tgaccagecgg cgtgcacacc ttccccggctg tcctacagtc ctcaggactc 600
tactccctca gcagegtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 660
tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagttga gccc aaatct 720
tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 780
gttttctct tcccccaaa acceaaggac accctcatga tctccccggac ccctgaggtc 840
acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 900
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 960
taccgtgtgg tcagegtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 1020
aagtgcagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc 1080
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catccccgga tgagctgacc 1140
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 1200
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1260
tccgacggct ctttcttct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1320
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctgc acaaccacta cacgcagaag 1380
agcctctccc tgtctccggg taaatga 1407

```

<210>357

<211>717

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>357

```

atggacatga ggggtccccgc tcagctcctg gggctcctgc tgctctggct cccagggtgcc 60
aaatgtcaaa ttgtttctac ccagttctca gcaatcatgt ctgcatctcc agggggagaag 120
gtcaccatga cctgcagtgc cagctcaagt gtaagttaca tgaactggta ccagcagaag 180
tcaggcacct cccccaaaag atggatttat gacacatcca aactggcttc tggagtccct 240
gtcacttca ggggcagtgg gtctgggacc tcttactctc tcacaatcag cggcatggag 300
gctgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtggagta gtaaccatt cacgttcggc 360
tcggggacaa agtttgaaat aaaccgggct gatcgaactg tggctgcacc atctgtcttc 420
atcttccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 480
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 540
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 600
agcacctga cgtgagcaa agcagactac gagaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 660
accatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttaa 717

```

<210>358

<211>468

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>358

```

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1             5             10             15
Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg
      20             25             30
Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
      35             40             45
Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
      50             55             60
Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn
65             70             75             80
Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser
      85             90             95
Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
      100            105            110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp
      115            120            125
Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
      130            135            140
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
      145            150            155            160
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
      165            170            175
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
      180            185            190
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
      195            200            205
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
      210            215            220
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
      225            230            235            240
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

```

	245	250	255
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu			
	260	265	270
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser			
	275	280	285
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu			
	290	295	300
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Val			
305	310	315	320
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn			
	325	330	335
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro			
	340	345	350
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln			
	355	360	365
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val			
	370	375	380
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val			
385	390	395	400
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro			
	405	410	415
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr			
	420	425	430
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val			
	435	440	445
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu			
	450	455	460
Ser Pro Gly Lys			
465			

<210>359

<211>468

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>359

Met	Glu	Phe	Gly	Leu	Ser	Trp	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Ile	Leu	Lys	Gly
1				5					10					15	
Val	Gln	Cys	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg
			20					25					30		
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe
		35					40					45			
Thr	Arg	Tyr	Thr	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				
Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn
65					70					75				80	
Gln	Lys	Phe	Lys	Asp	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Thr	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser
				85						90				95	
Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val
			100					105						110	
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Asp	Asp	His	Tyr	Cys	Leu	Asp	Tyr	Trp
		115					120					125			
Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
		130					135				140				
Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr
145					150					155				160	
Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
				165					170					175	
Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
			180					185					190		
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
		195					200					205			
Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn
		210					215				220				
His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser
225				230						235				240	
Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu
				245					250					255	
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu
		260						265					270		
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser
		275						280					285		
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu
		290						295					300		
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr

305	310	315	320
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn			
	325	330	335
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro			
	340	345	350
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln			
	355	360	365
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val			
	370	375	380
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val			
385	390	395	400
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro			
	405	410	415
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr			
	420	425	430
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val			
	435	440	445
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu			
	450	455	460
Ser Pro Gly Lys			
465			

<210>360

<211>238

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>360

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

Pro	Lys	Arg	Trp	Ile	Tyr	Asp	Thr	Ser	Lys	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro
65					70					75					80
Ala	His	Phe	Arg	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Ser	Tyr	Ser	Leu	Thr	Ile
			85						90					95	
Ser	Gly	Met	Glu	Ala	Glu	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Trp
		100						105					110		
Ser	Ser	Asn	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Asn
		115					120					125			
Arg	Ala	Asp	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro
	130					135					140				
Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu
145				150						155				160	
Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn
		165						170					175		
Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser
		180					185					190			
Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala
	195					200						205			
Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly
	210					215				220					
Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys		
225				230						235					

<210>361

<211>136

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>361

Gln	Val	Gln	Leu	Val	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	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr
		20					25					30			
Thr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
	35					40					45				
Gly	Tyr	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe

50	55	60
Lys Asp Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser		
65	70	75
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		80
	85	90
Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly		95
	100	105
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe		110
	115	120
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser		125
130	135	

<210>362

<211>136

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>362

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr		15
	20	25
Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met		30
	35	40
Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe		45
50	55	60
Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val		
65	70	75
Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys		80
	85	90
Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly		95
	100	105
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe		110
	115	120
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser		125
130	135	

<210>363

<211>136

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>363

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr
				20					25					30	
Thr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
				35					40					45	
Gly	Tyr	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
				50					55					60	
Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr
65						70				75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
						85				90					95
Thr	Arg	Tyr	Tyr	Asp	Asp	His	Tyr	Cys	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
						100				105					110
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
						115				120					125
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser								
						130									135

<210>364

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>364

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

<210>365

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>365

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

<210>366

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>366

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

<210>367

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>367

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

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

<210>370

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>370

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

<210>371

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>371

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

<210>372

<211>106

<212>PRT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Chemically synthesized

<400>372

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

100

105

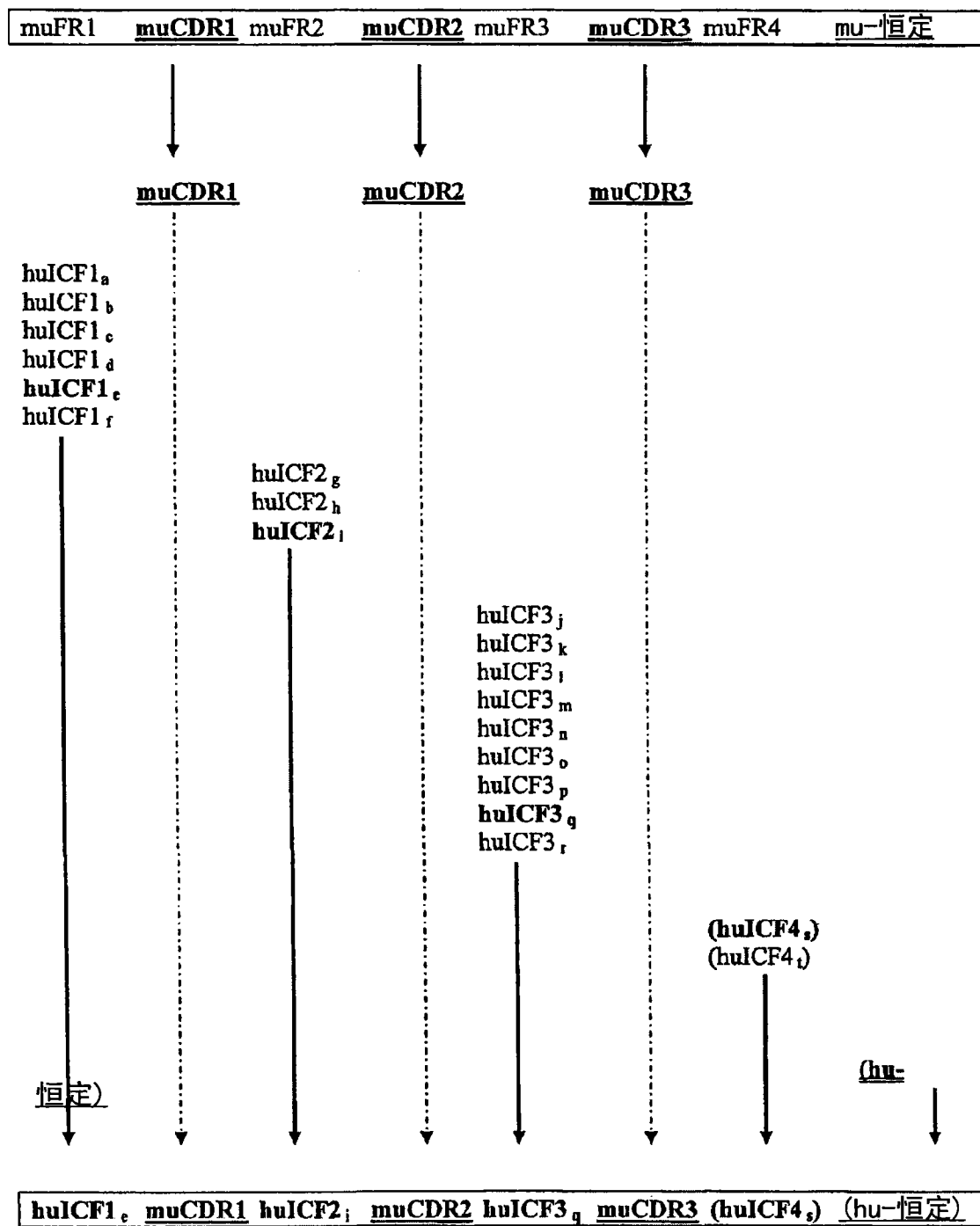
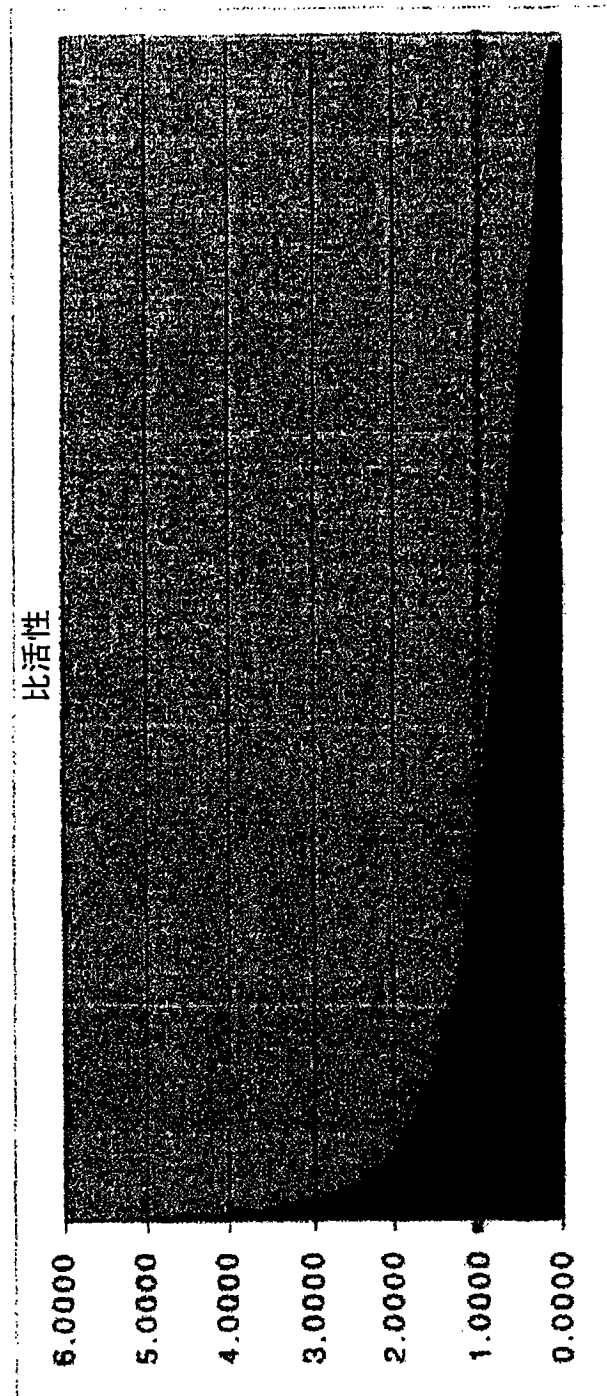


图1 人构架重组装图示

图 2 衍生自种系 kappa 基因的示例性序列

(SEQ ID NO : 325) QSVLTQPPSVSSEAPQRVTISCGSSSNIGNNANVNYQQLPKAPKLLIYYDDLPSGVSDRFSGSKGTSASLAIISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNG
 (SEQ ID NO : 326) QSVLTQPPSVSSEAPQRVTISCTGSSSNIGAGYDHWYQQLPCTAPKLLIYGNRNPSGVPDRFSGSKSGTASLAIITGLQAEDEADYYCQSYDSSLG
 (SEQ ID NO : 327) QSVLTQPPSVSAGTQGRVTISCGSSSNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYSNNQRPSPGVDRFSGSKGTSASLAIISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNG
 (SEQ ID NO : 328) QSVLTQPPSVSAGTQGRVTISCGSSSNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYRNWOPSPGVDRFSGSKGTSASLAIISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNG
 (SEQ ID NO : 329) QSVLTQPPSVSAAQPKVTISCGSSSNIGNNANVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 330) QSVLTQPPSVSAGSPQSVTISCTGSSSNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 331) QSVLTQPPSVSAGSPQSVTISCTGSSSNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 332) QSVLTQPPSVSAGSPQSVTISCTGSSSNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 333) QSVLTQPPSVSAGSPQSVTISCTGSSSNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 334) QSVLTQPPSVSAGSPQSVTISCTGSSSNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 335) SYELTQPPSVSVALGQTARITCGGNNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 336) SYELTQPPSVSVALGQTARITCGGNNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 337) SYELTQPPSVSVALGQTARITCGGNNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 338) SYELTQPPSVSVALGQTARITCGGNNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 339) SYELTQPPSVSVALGQTARITCGGNNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 340) SYELTQPPSVSVALGQTARITCGGNNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 341) SYELTQPPSVSVALGQTARITCGGNNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 342) SYELTQPPSVSVALGQTARITCGGNNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 343) SYELTQPPSVSVALGQTARITCGGNNIGSNTVNYQQLPCTAPKLLIYDNKRPSPGIPDRFSGSKGTSATLGLITGLQAEDEADYYCQAWDDSLSA
 (SEQ ID NO : 344) LPVLTQPPSVSAGLLGASIKLACTLSSEHSTYIEYVQORPGRSPQVIMKVKSDGSHSKGDTGDPDRFMSSGADRYLTFTSNLOSDEAEYHGESHTIDQVQG
 (SEQ ID NO : 345) OPVLTQSSSASASLGSSVYKLTCTLSGHSSTYIAWHQOQPGKAPYLMKLEGGSYNRCGVPDRFSGSKSGADRYLTFTSNLOSDEAEYHGESHTIDQVQG
 (SEQ ID NO : 346) QLVLTQSPSVSASLGASVYKLTCTLSGHSSTYIAWHQOQPGKAPYLMKLEGGSYNRCGVPDRFSGSKSGADRYLTFTSNLOSDEAEYHGESHTIDQVQG
 (SEQ ID NO : 347) QPVLTQPPSVSASPGESARLACTLPSDINVGSYNTIYVQORPGRSPQVIMKVKSDGSHSKGDTGDPDRFMSSGADRYLTFTSNLOSDEAEYHGESHTIDQVQG
 (SEQ ID NO : 348) QAVLTQPPSVSASPGESARLACTLPSDINVGSYNTIYVQORPGRSPQVIMKVKSDGSHSKGDTGDPDRFMSSGADRYLTFTSNLOSDEAEYHGESHTIDQVQG
 (SEQ ID NO : 349) QPVLTQPPSVSASPGESARLACTLPSDINVGSYNTIYVQORPGRSPQVIMKVKSDGSHSKGDTGDPDRFMSSGADRYLTFTSNLOSDEAEYHGESHTIDQVQG
 (SEQ ID NO : 350) NFVLTQPPSVSASPGESARLACTLPSDINVGSYNTIYVQORPGRSPQVIMKVKSDGSHSKGDTGDPDRFMSSGADRYLTFTSNLOSDEAEYHGESHTIDQVQG
 (SEQ ID NO : 351) QTVVLTQPPSVSAGLLGASIKLACTLSSEHSTYIEYVQORPGRSPQVIMKVKSDGSHSKGDTGDPDRFMSSGADRYLTFTSNLOSDEAEYHGESHTIDQVQG
 (SEQ ID NO : 352) QAVVLTQPPSVSAGLLGASIKLACTLSSEHSTYIEYVQORPGRSPQVIMKVKSDGSHSKGDTGDPDRFMSSGADRYLTFTSNLOSDEAEYHGESHTIDQVQG
 (SEQ ID NO : 353) QTVVLTQPPSVSAGLLGASIKLACTLSSEHSTYIEYVQORPGRSPQVIMKVKSDGSHSKGDTGDPDRFMSSGADRYLTFTSNLOSDEAEYHGESHTIDQVQG
 (SEQ ID NO : 354) QPVLTQPPSVSAGLLGASIKLACTLSSEHSTYIEYVQORPGRSPQVIMKVKSDGSHSKGDTGDPDRFMSSGADRYLTFTSNLOSDEAEYHGESHTIDQVQG
 (SEQ ID NO : 355) QAGLTQPPSVSAGLLGASIKLACTLSSEHSTYIEYVQORPGRSPQVIMKVKSDGSHSKGDTGDPDRFMSSGADRYLTFTSNLOSDEAEYHGESHTIDQVQG

图3 衍生自种系 Lambda 基因的示例性序列



对HuFR抗体相对于DVSA-CD20 (=1.0虚线基线) 的比活性的初步ELISA筛选

图 4

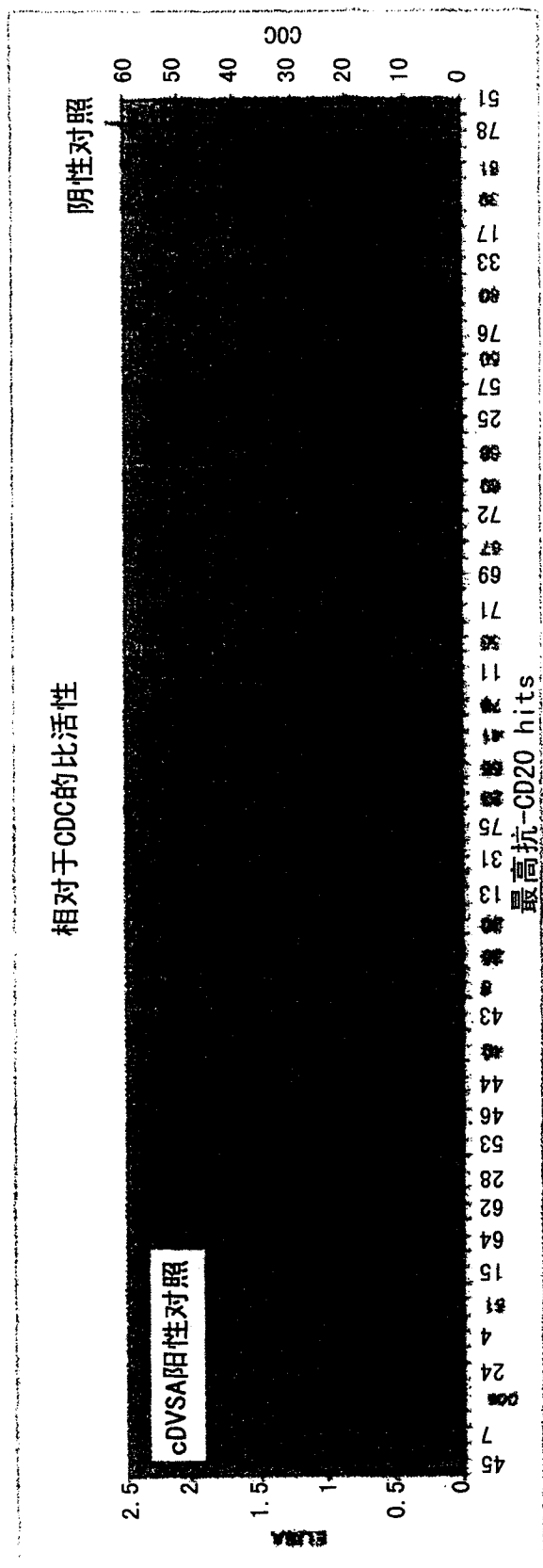


图 5

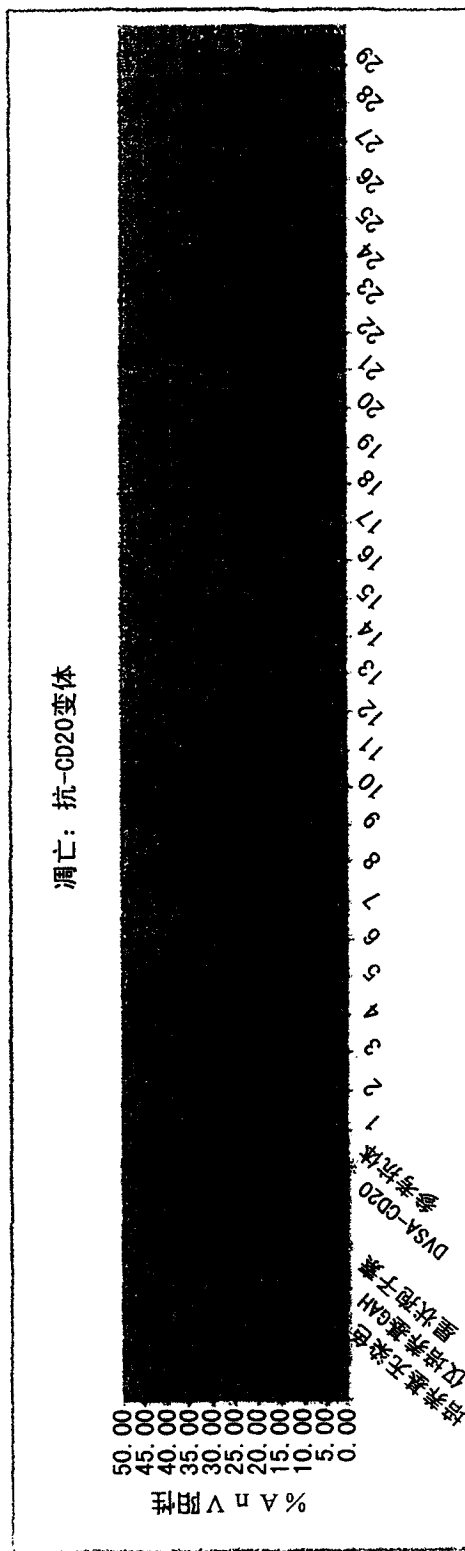


图 6

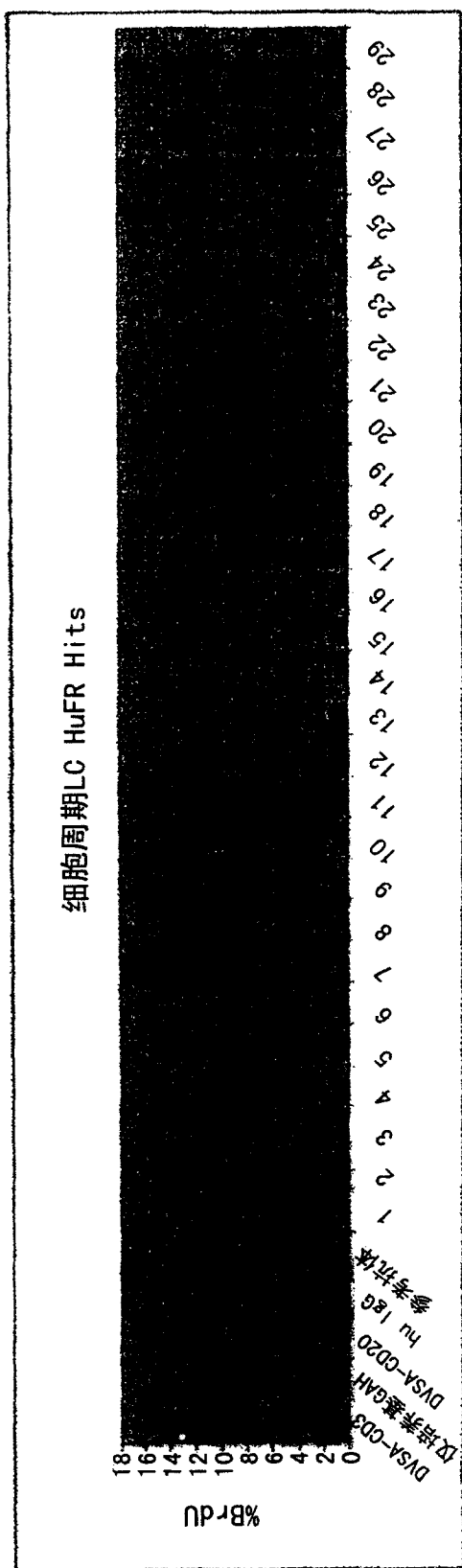


图 7

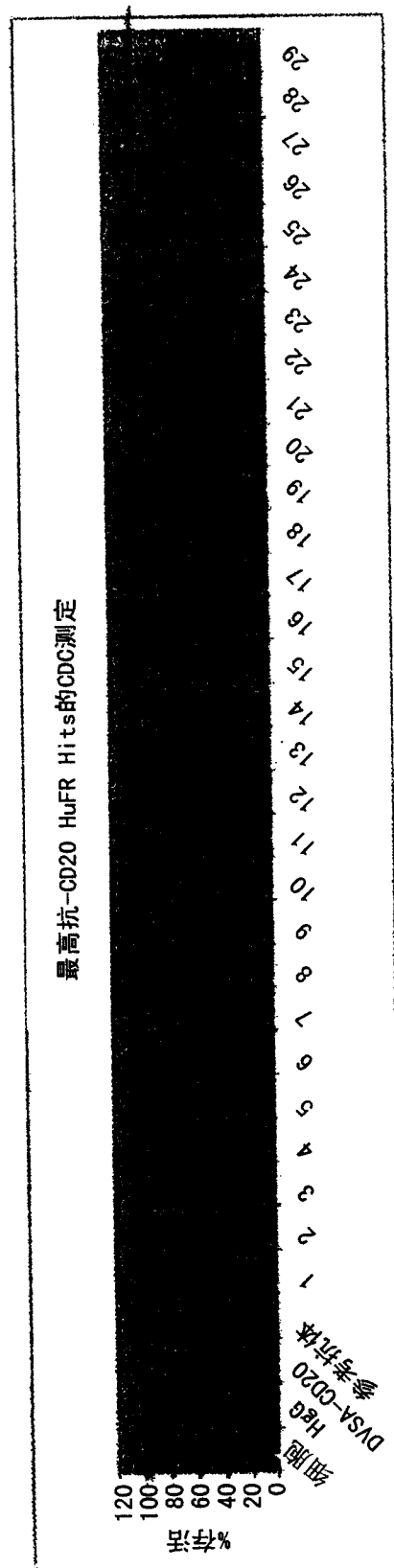


图 8

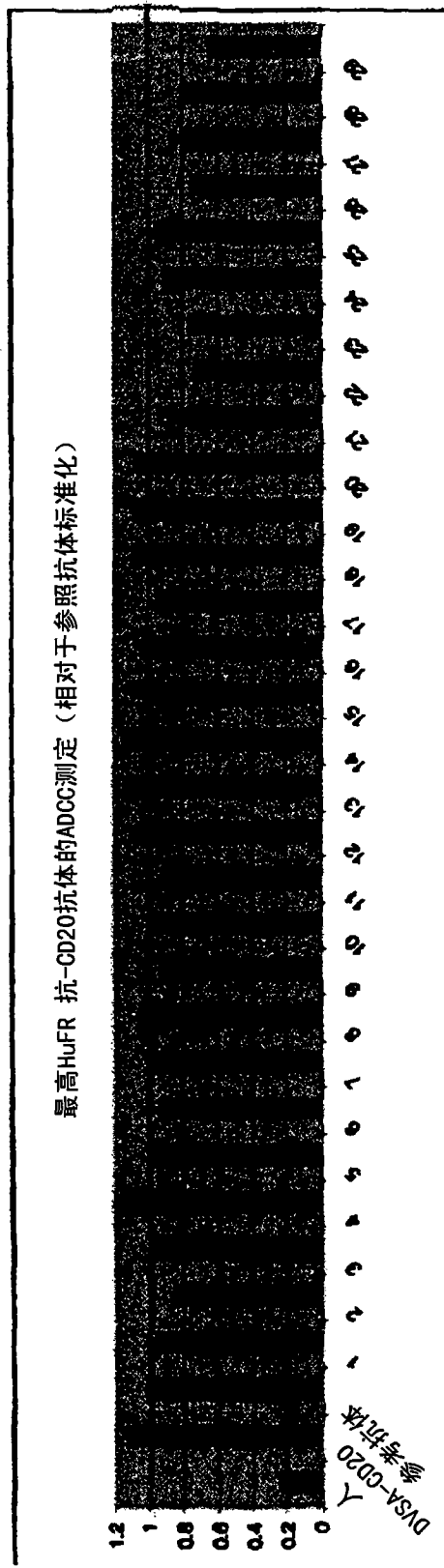


图 9

重链构建体: (SEQ ID NO: 356)

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGCTTTTTCTTGTGGCTATTTTAAAGGTGTCCAGTGTCAAGTCCAGCTGCAGC
AGTCTGGGGCTGAAGTGGCAAGACCTGGGGCCTCAGTGAAGATGTCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTAC
TAGGTACACGATGCACTGGGTAAAACAGAGGCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGATACATTAACTCTAGC
CGTGGTTATACTAATTACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTACAGACAAATCCTCCAGCACAG
CCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGATATTATGATGATCA
TTACTGCCTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGT
TTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT
TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGCGGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGTGTCTCT
ACAGTCTCAGGACTCTACTCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC
ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAA
CTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAATCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAC
CAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCT
GAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGT
ACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA
GTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA
GAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGG
TCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGAC
CAGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGG
CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAAGAGCCTCT
CCCTGTCTCCGGGTAAATGA

轻链构建体: (SEQ ID NO: 357)

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCTGCTGCTCTGGCTCCAGGTGCCAAATGTCAAATTG
TTCTCAGCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTCAACATGACCTGCAGTGCCAGCTC
AAGTGTAAGTTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGTCAGGCACCTCCCCAAAAGATGGATTATGACACATCC
AACTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCACTTCAGGGGCAGTGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCG
GCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGTGGAGTAGTAACCCATTACAGTTCGGCTCGGG
GACAAAGTTGGAATAAAACCGGGCTGATCGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT
GAGCAGTTGAAATCTGGAAGTCCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTAC
AGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAG
CACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCTGCGAA
GTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAA

图 10 HuFR 抗-CD3 抗体的轻链(上)重链(下)序列

HC DVSA-CD3 (Fc Null): (SEQ ID NO :358)

MEFGLSWLFLVAILKGVQCQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKORPGGLEWIGYINPSRG
 YTNYNQKFKDKATLTLDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH
 KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
 DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
 RDELTKNOVSLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWOOQGNVFSCSVMH
 EALHNHYTQKSLSLSPGK

HC DVSA-CD3: (SEQ ID NO :359)

MEFGLSWLFLVAILKGVQCQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKORPGGLEWIGYINPSRG
 YTNYNQKFKDKATLTLDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH
 KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
 DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
 RDELTKNOVSLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWOOQGNVFSCSVMH
 EALHNHYTQKSLSLSPGK

LC DVSA-CD3: (SEQ ID NO :360)

MDMRVPAQLLGLLLLWLPQAKCQIVLTQSPAIMSASPGKVTMTCSASSSVSYMNWYQOKSGTSPKRWIYDTSKL
 ASGVPAAHFRGSGSGTSYSLTISGMEAEDAATYYCQOWSSNPFITFGSGTKLEINRADRTVAAPSVFIFPPSDEOLK
 SGTASVVCCLLNNFYPREAKVOWKVDNALQSGNSQESVTEODSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHOGL
 SSPVTKSFNRGEC

图 11 HuFR 抗 -CD3 抗体的轻链（上）和重链（下）

最高重链 (SEQ ID NOS: 361-363)

	1	50
BD20610	QVQLVESGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLEWMGY	
BD20611	QVQLVESGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLEWMGY	
BD20613	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLEWVGY	
	51	100
BD20610	INPSRGYTNYNQKFKDRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYY	
BD20611	INPSRGYTNYNQKFKDRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATAYYCARYY	
BD20613	INPSRGYTNYNQKFKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRY	
	101	136
BD20610	DDHYCLDYWGQGTLLTVVSSASTKGPSVFPLAPSSKS	
BD20611	DDHYCLDYWGQGTLLTVVSSASTKGPSVFPLAPSSKS	
BD20613	DDHYCLDYWGQGTLLTVVSSASTKGPSVFPLAPSSKS	

最高轻(kappa)链 (SEQ ID NOS: 364-372)

	1	55
BD21130	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQKPGQPPKLLIYDTSKLAS	
BD21131	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLAS	
BD21132	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMNWYQQKPGKAPKLLIYDTSKLAS	
BD21133	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQKPGQPPKLLIYDTSKLAS	
BD21134	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCSASSSVSYMNWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLAS	
BD21135	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCSASSSVSYMNWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLAS	
BD21136	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQKPGKAPKLLIYDTSKLAS	
BD21137	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQKPGQPPKLLIYDTSKLAS	
BD21138	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQKPGKAPKLLIYDTSKLAS	
	56	106
BD21130	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK	
BD21131	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK	
BD21132	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK	
BD21133	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK	
BD21134	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK	
BD21135	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDEVAVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK	
BD21136	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK	
BD21137	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIAVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK	
BD21138	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK	

图 12 抗-CD3 抗体的 HuFR HC 和 LC 可变区