(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118043343 A
(43)申请公布日 2024.05.14

(21)申请号 202280063447.6
(22)申请日 2022.09.29
(30)优先权数据
63/249,685 2021.09.29 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.03.19
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CA2022/051445 2022.09.29
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/050006 EN 2023.04.06
(71)申请人 酵活英属哥伦比亚有限公司
地址 加拿大不列颠哥伦比亚省
(72)发明人 R·布莱克勒
T·斯普雷特·冯克罗登斯泰恩
(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 陈文平 袁泉
(51)Int.Cl.
C07K 14/54(2006.01)
A61K 38/20(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
C07K 14/52(2006.01)
C07K 16/00(2006.01)
C07K 19/00(2006.01)
C12N 15/24(2006.01)
C12N 15/62(2006.01)
G01N 33/68(2006.01)
G16B 35/00(2006.01)

权利要求书6页 说明书202页 附图14页

(54)发明名称

经修饰的白细胞介素p40亚基蛋白质及其使用方法

(57)摘要

本公开总体上涉及经修饰的白细胞介素-12(IL12)或IL23p40多肽,其具有降低与其受体亚基的结合亲和力的改变,以便产生如与野生型人IL12或IL23蛋白质相比毒性更低的IL12或IL23蛋白质用于癌症的治疗。

CN 118043343 A

1.一种经修饰的p40结构域,所述经修饰的p40结构域相对于SEQ ID NO:10中列出的野生型人成熟IL12 p40结构域序列包含一种或多种氨基酸取代,其中所述一种或多种氨基酸取代位于E45、D62和D161中的一个或多个位置处,并且其中所述氨基酸残基的编号基于SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列。

2.如权利要求1所述的经修饰的p40结构域,其中所述一个或多个位置处的所述一种或多种氨基酸取代是K、H、I、N、R或S取代,或其组合。

3.如权利要求1-2中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括E45K。

4.如权利要求1-3中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括D62H。

5.如权利要求1-3中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括D62I。

6.如权利要求1-3中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括D62N。

7.如权利要求1-6中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括D161R。

8.如权利要求1-6中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括D161S。

9.如权利要求1-8中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括E45K、D62H、D62I、D62N、D161R或D161S中两种或更多种取代的组合。

10.一种经修饰的p40结构域,所述经修饰的p40结构域相对于SEQ ID NO:10中列出的野生型人成熟IL12 p40结构域序列包含一种或多种氨基酸取代,其中所述一种或多种氨基酸取代为W15H、W15K、W15R、D18G、E45K、K58H、K58W、E59D、E59G、E59R、F60D、F60E、F60K、F60R、F60V、D62H、D62I、D62N、K84E、K84I、K84L、K84V、K84W、K84Y、E86L、E86R、E86S、E86W、D93E、D93H、D93R、D93W、D161R、D161S、K197D、K197E、K197Q、K197T或K197W,或其组合,并且其中所述氨基酸残基的编号基于SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列。

11.如权利要求10所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域包含一种或多种、两种或更多种、或三种或更多种氨基酸取代。

12.如权利要求10-11中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代为W15H、W15K、D18G、E45K、K58H、K58W、E59G、E59R、F60V、D62H、D62I、D62N、K84E、K84W、E86L、E86S、E86W、D93H、D93W、D161R、D161S、K197E、K197Q、K197T或K197W,或其组合。

13.如权利要求10-12中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代为W15H、W15K、E59R、K84E、K84W、E86W、D161R、K197T或K197W,或其组合。

14.如权利要求10-11中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述两种或更多种氨基酸取代为W15H_K84L、K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_K84E、E59R_K84W,E59R_E86W、E59D_D93H、E59R_D93R、E59R_K197E、E59R_K197W、F60E_K84W、F60R_K84Y、F60K_K197W、F60R_K197W、K84I_E86R、K84E_D93H、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84I_D161R、K84W_D161R、K84W_K197E、K84W_K197Q、K84W_K197W、E86W_D93E、E86R_K197D、E86W_K197W、W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_

E86R_D93H或W15R_E59D_F60D_K197W,或其组合。

15.如权利要求14所述的经修饰的p40结构域,其中所述两种或更多种氨基酸取代为W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D、E86W_D93E、W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H或W15R_E59D_F60D_K197W,或其组合。

16.如权利要求14所述的经修饰的p40结构域,其中所述两种或更多种氨基酸取代为K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_E86W、E59R_K197E、E59R_K197W、E59R_K84E、E59R_K84W、F60E_K84W、F60R_K197W、K84E_D93H、K84I_D161R、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84W_K197E、K84W_K197Q或E86W_K197W,或其组合。

17.如权利要求14所述的经修饰的p40结构域,其中所述两种或更多种氨基酸取代为W15H_K84L、K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_K84E、E59R_K84W、E59R_E86W、E59D_D93H、E59R_D93R、E59R_K197E、E59R_K197W、F60E_K84W、F60R_K84Y、F60K_K197W、F60R_K197W、K84I_E86R、K84E_D93H、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84I_D161R、K84W_D161R、K84W_K197E、K84W_K197Q、K84W_K197W、E86W_D93E、E86R_K197D或E86W_K197W,或其组合。

18.如权利要求14所述的经修饰的p40结构域,其中所述两种或更多种氨基酸取代为W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D或E86W_D93E,或其组合。

19.如权利要求10-11中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述三种或更多种氨基酸取代为W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H或W15R_E59D_F60D_K197W,或其组合。

20.如权利要求10-11中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代选自表C。

21.如权利要求10-11中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域包含与SEQ ID NO:12-14、16、18、19、21-34和36-56中任一项中列出的氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。

22.如权利要求10-11中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域包含选自以下的氨基酸取代或氨基酸取代集合:W15R_E59D_F60D_K197W、W15H_K84L_K197Q、E59D_K84W_K197W、K58H_E86R_K197D、W15H_K84L、F60R_K84E_K197W、K84W_K197W、F60K_K197W、E86R_K197D、K84I_E86R_D93H、E59R_D93R、K84I_E86R、W15K、K84W_D161R、E45R_K58S_E59S_K195D、E59D_D93H、F60R_K84Y、E86W_D93E、K58S_E59S_K195D、K84E、K197T、E59R、W15H、K84W、K197W、E59S、D161R或E86W,或其组合。

23.如权利要求22所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域包含选自以下的氨基酸取代或氨基酸取代集合:W15H_K84L_K197Q、E59D_K84W_K197W、K84W_K197W、F60K_K197W、E59R_D93R、W15K或F60R_K84Y,或其组合。

24.如权利要求1-23中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体的结合亲和力相对于具有SEQ ID NO:10中列出的序列的未修饰的野生型p40结构域的所述结合亲和力并且如在报告基因测定(RGA)中所确定降低约5倍至约1000倍、约5倍至约800倍、约5倍至约600倍、约10倍至约500倍、约10倍至

约300倍或约20倍至约200倍。

25.如权利要求24所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体的结合亲和力降低约20倍至约200倍。

26.如权利要求24-25中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述至少一种同源受体包含IL12Rβ1。

27.如权利要求1-26中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域的如通过解链温度测量的热稳定性在具有SEQ ID NO:10中列出的序列的未修饰的野生型p40结构域的热稳定性的±5℃、±4℃、±3℃、±2℃或±1℃内,并且其中所述解链温度通过差示扫描荧光法(DSF)或差示扫描量热法(DSC)来确定。

28.一种IL12融合蛋白质,其包含权利要求1-27中任一项所述的经修饰的p40结构域。

29.一种IL12融合蛋白质,其包含IL12多肽,其中所述IL12多肽包含

如权利要求1-27中任一项所述的经修饰的p40结构域;所述经修饰的p40结构域偶联到p35结构域。

30.如权利要求29所述的IL12融合蛋白质,其中所述p35结构域包含与SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。

31.如权利要求30所述的IL12融合蛋白质,其中所述p35结构域的N末端直接地或经由第一接头偶联到所述经修饰的p40结构域的C末端。

32.如权利要求31所述的IL12融合蛋白质,其中所述第一接头具有$(G_4S)_x$的序列,并且其中x是1、2、3或4。

33.如权利要求29-32中任一项所述的IL12融合蛋白质,其进一步包含异二聚体Fc(HetFc)结构域,所述异二聚体Fc(HetFc)结构域包含第一Fc多肽和第二Fc多肽,从而形成IL12 HetFc融合蛋白质。

34.如权利要求33所述的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述IL12多肽直接地或经由第二接头偶联到所述第一Fc多肽。

35.如权利要求34所述的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述IL12多肽偶联到所述第一Fc多肽的C末端。

36.如权利要求34-35中任一项所述的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述IL12多肽经由所述经修饰的p40结构域的N末端偶联到所述第一Fc多肽的所述C末端。

37.如权利要求33-36中任一项所述的IL12 HetFc融合蛋白质,其进一步包含掩蔽部分,从而形成经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述掩蔽部分能够与所述经修饰的p40结构域非共价相互作用,从而掩蔽所述经修饰的p40结构域并且使所述经修饰的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体的结合的结合亲和力(K_D)在与未掩蔽的经修饰的p40结构域相比时降低。

38.如权利要求37所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述掩蔽部分直接地或经由第三接头偶联到所述第二Fc多肽的C末端。

39.如权利要求38所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述第三接头是蛋白酶可切割的接头。

40.如权利要求34-39中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述第二

接头和所述第三接头各自包含横跨从5个至约50个氨基酸的氨基酸序列或由其组成。

41.如权利要求40所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述第二接头包含SEQ ID NO:132中列出的氨基酸序列或由其组成,并且所述第三接头包含SEQ ID NO:134中列出的氨基酸序列或由其组成。

42.如权利要求37-41中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述掩蔽部分包含scFv结构域或由其组成,所述scFv结构域包含直接地或经由第四接头偶联到V_L结构域的V_H结构域。

43.如权利要求42所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述第四接头包含SEQ ID NO:135中列出的氨基酸序列或由其组成。

44.如权利要求42-43中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述V_H结构域包含具有与SEQ ID NO:2中列出的序列具有约95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列或由其组成,并且所述V_L结构域包含与SEQ ID NO:3中列出的序列具有约95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。

45.如权利要求37-44中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述掩蔽部分能够使所述经修饰的p40结构域与所述至少一种同源受体的结合亲和力与不包含所述掩蔽部分的相应多肽构建体相比降低至少约10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、200倍或至少约300倍。

46.如权利要求45所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述至少一种同源受体包含IL12Rβ1。

47.一种经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其包含:

(i)IL-12多肽,其包含根据权利要求1-27中任一项所述的经修饰的p40结构域,所述经修饰的p40结构域经由接头$(G_4S)_4$偶联到包含SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列或由其组成的p35结构域;

(ii)异二聚体Fc结构域,其包含第一Fc多肽和第二Fc多肽;和

(iii)掩蔽部分(MM),其包含抗IL12 scFv结构域,

其中:

所述IL12多肽直接地或经由第二接头偶联到所述第一Fc多肽的C末端,并且

所述掩蔽部分直接地或经由第三接头偶联到所述第二Fc多肽的C末端,并且能够与所述IL12多肽非共价相互作用,从而降低所述IL12多肽与其同源受体中的至少一种同源受体的结合亲和力。

48.如权利要求47所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其包含以下从N末端到C末端的两条多肽链或由其组成:(i)Fc-IL12多肽链和(ii)Fc-MM多肽链。

49.如权利要求48所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述Fc-IL12多肽链包含与SEQ ID NO:61-89中列出的任何氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。

50.如权利要求48-49中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述Fc-IL12多肽链包含SEQ ID NO:61-89中任一项中列出的氨基酸序列或由其组成。

51.如权利要求48-50中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述Fc-MM多肽链包含与SEQ ID NO:60中列出的氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或

100％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。

52.如权利要求48-51中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述Fc-MM多肽链包含SEQ ID NO:60中列出的氨基酸序列或由其组成。

53.如权利要求48-52中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中(i)所述Fc-IL12多肽链氨基酸序列选自由以下序列组成的组:v28046、v28047、v28048、v28049、v28050、v28051、v28053、v28054、v28055、v28056、v28057、v28058、v28059、v28060、v28061、v28062、v28063、v28064、v28065、v28066、v28067、v28068、v28069、v28070、v28071、v28072、v28074和v28075,并且(ii)所述Fc-MM多肽链包含v26503的氨基酸序列或由其组成。

54.一种未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其包含:

(i)IL-12多肽,其包含根据权利要求1-27中任一项所述的经修饰的p40结构域,所述经修饰的p40结构域经由接头$(G_4S)_4$偶联到包含SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列或由其组成的p35结构域;和

(ii)异二聚体Fc结构域,其包含第一Fc多肽和第二Fc多肽,

其中所述IL12多肽直接地或经由第二接头偶联到所述第一Fc多肽的C末端。

55.如权利要求54所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其包含以下从N末端到C末端的两条多肽链或由其组成:(i)Fc-IL12多肽链和(ii)Fc多肽链。

56.如权利要求55所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述Fc-IL12多肽链包含与SEQ ID NO:61-89中列出的任何氨基酸序列具有至少约90％、95％、97％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。

57.如权利要求55-56中任一项所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述Fc-IL12多肽链包含SEQ ID NO:61-89中任一项中列出的氨基酸序列或由其组成。

58.如权利要求55-57中任一项所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述Fc多肽链包含与SEQ ID NO:58中列出的氨基酸序列具有至少约90％、95％、97％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。

59.如权利要求55-58中任一项所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中(i)所述IL12多肽链氨基酸序列选自由以下序列组成的组:v28046、v28047、v28048、v28049、v28050、v28051、v28053、v28054、v28055、v28056、v28057、v28058、v28059、v28060、v28061、v28062、v28063、v28064、v28065、v28066、v28067、v28068、v28069、v28070、v28071、v28072、v28074、v28075,并且(ii)所述Fc多肽链包含v12153的氨基酸序列或由其组成。

60.一种药物组合物,其包含(i)权利要求1-27中任一项所述的经修饰的p40结构域、(ii)权利要求38-53中任一项所述的经掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质,和/或(iii)权利要求54-59所述的未掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质,以及药学上可接受的载剂。

61.一种核酸分子或核酸分子集合,其编码(i)权利要求1-27中任一项所述的经修饰的p40结构域,(ii)权利要求37-53中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,和/或(iii)权利要求54-59中任一项的权利要求所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质。

62.一种载体或载体集合,其包含权利要求61所述的核酸分子或核酸分子集合。

63.一种鉴定p40结构域氨基酸序列中的一种或多种氨基酸取代以产生经修饰的p40结构域的方法,所述方法包括进行分子动力学和诱变模拟,从而鉴定表C中列出的所述一种或多种氨基酸取代,其中所述经修饰的p40结构域氨基酸序列中的所述一种或多种氨基酸取

代是相对于SEQ ID NO:1中列出的序列,并且其中所述一种或多种氨基酸取代降低所述经修饰的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体的结合亲和力(K_D),这是相对于不包含所述一种或多种氨基酸取代的未修饰的p40结构域而言的。

64.如权利要求63所述的方法,其中所述至少一种同源受体包含IL12Rβ1。

65.如权利要求63-64中任一项所述的方法,其中所述经修饰的p40结构域的所述结合亲和力与未修饰的p40结构域相比并且如在报告基因测定中所确定降低至少约2倍、5倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍或至少约600倍。

66.一种治疗有此需要的受试者的疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的药物组合物,所述药物组合物包含(i)权利要求1-27中任一项所述的经修饰的p40结构域、(ii)权利要求37-53中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,和/或(iii)权利要求54-59所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,从而治疗所述受试者的所述疾病。

67.如权利要求66所述的方法,其中所述多肽构建体是权利要求38-53中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质。

68.如权利要求67所述的方法,其中所述经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质的所述掩蔽部分在患病组织或器官中从所述融合蛋白质上被切割。

69.如权利要求66-68中任一项所述的方法,其中所述疾病为癌症。

70.如权利要求1-27中任一项所述的经修饰的p40结构域、如权利要求37-53中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,或如权利要求54-59中任一项的权利要求所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其用于疗法中。

71.如权利要求1-27中任一项所述的经修饰的p40结构域、如权利要求37-53中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,或如权利要求54-59中任一项的权利要求所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其用于癌症的治疗中。

72.如权利要求1-27中任一项所述的经修饰的p40结构域、如权利要求37-53中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,或如权利要求54-59中任一项的权利要求所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质用于制造用于治疗癌症的药物的用途。

经修饰的白细胞介素p40亚基蛋白质及其使用方法

技术领域

[0001] 本公开涉及经修饰的白细胞介素p40亚基蛋白质(包括融合蛋白质,特别是IL12p40和IL23p40),或具有经修饰以降低白细胞介素细胞因子结合活性的p40亚基蛋白质的任何其他细胞因子;包含它们的组合物以及使用该组合物治疗包括癌症在内的多种疾病的方法。

背景技术

[0002] 白细胞介素12(IL12)是异二聚体细胞因子家族的第一个公认成员,该家族包括IL12、IL23、IL27、IL35和IL39。IL12和IL23分别是对T辅助细胞1(Th-1)和T辅助细胞17(Th-17)T细胞亚群的发育很重要的促炎细胞因子,而IL27和IL35是强效的抑制性细胞因子。IL39是调节先天性和/或适应性免疫反应的重要细胞因子。IL12可以直接增强效应CD4和CD8 T细胞以及自然杀伤(NK)和NK T细胞的活性。

[0003] IL12是一种异二聚体分子,其由通过二硫键桥共价连接从而形成具有生物活性的70kDa二聚体的α链(p35亚基)和β链(p40亚基)构成。IL23是IL12细胞因子家族的成员,并且也由两个亚基构成:IL23与IL12共享的p40亚基、和p19。IL-23具有与IL-12相同的链IL-12p40。p40亚基也以游离单体和二硫键连接的同型二聚体(p80)的形式分泌,该游离单体和二硫键连接的同型二聚体通常具有与IL12和IL-23的功能相拮抗的功能。IL12受体或受体复合物由IL12Rβ1和IL12Rβ2构成。IL23受体复合物(IL23R)由IL23R亚基和IL12Rβ1亚基组成,IL12Rβ1亚基是IL12受体的常见亚基并且与酪氨酸激酶2(Tyk2)相互作用。IL12Rβ1亚基仅与IL12或IL23的p40亚基相互作用,而IL12Rβ2亚基与IL12的p35和p40亚基两者相互作用,并且IL23R亚基与IL23的p19和p40亚基两者相互作用。IL23R主要在免疫细胞尤其是T细胞(例如,Th17和γδT细胞)、巨噬细胞、树突细胞和NK细胞上表达(Duvallet等人,2011)。最近已证明,未激活的嗜中性粒细胞表达基础量的IL23R,并且细胞激活后IL23R表达增加(Chen等人,2016)。

[0004] 在生物学上,IL12是包括吞噬细胞、B细胞和激活的树突细胞在内的多种免疫系统细胞响应于感染而产生的炎性细胞因子(Colombo和Trinchieri(2002),Cytokine and Growth Factor Reviews,13:155-168和Hamza等人,“Interleukin-12a Key Immunoregulatory Cytokine in Infection Applications”Int.J.Mol.Sci.11;789-806(2010)。IL12在介导免疫系统先天性臂和适应性臂的相互作用、作用于T细胞和自然杀伤(NK)细胞、增强细胞毒性淋巴细胞的增殖和活性以及其他炎性细胞因子(尤其是干扰素-γ(IFN-γ或IFNγ))的产生中发挥重要作用。

[0005] IL12已在人体临床试验中作为用于治疗多种癌症(包括肾癌、结肠癌和卵巢癌、黑色素瘤和T细胞淋巴瘤)的免疫治疗剂(Atkins等人(1997),Clin.Cancer Res.,3:409-17;Gollob等人(2000),Clin.Cancer Res.,6:1678-92;Hurteau等人(2001),Gynecol.Oncol.,82:7-10;以及Youssoufian,等人(2013)Surgical Oncology Clinics ofNorth America,22(4):885-901)以及作为癌症疫苗的佐剂(Lee等人(2001),J.Clin.Oncol.19:3836-47)进

行了测试。然而,IL12在作为重组蛋白质全身施用时是有毒的。Trinchieri,Adv.Immunol.1998;70:83-243.为了在最大限度地降低IL12的全身毒性的同时最大限度地提高IL12的抗肿瘤作用,已提出IL12基因疗法方法使肿瘤部位处产生细胞因子,从而在低血清浓度下实现IL12的高局部水平。Qian等人,Cell Research(2006)16:182-188;US专利公开20130195800。

[0006] 由于IL12是由α链(p35亚基)和β链(p40亚基)组成的异二聚体分子,因此具有生物活性的异二聚体的产生需要该两个亚基的同时表达。使用含有p40和p35亚基的双顺反子载体实现了重组IL12表达,该p40和p35亚基被IRES(内部核糖体进入位点)序列分隔从而允许从单个载体独立表达两个亚基。然而,IRES序列的使用可能会损害蛋白质表达。Mizuguchi等人,Mol Ther(2000);1:376-382。此外,p40和p35亚基的不等表达可导致同二聚体蛋白质(例如p40-p40二聚体)形成,这些蛋白质可能对IL12信号转导产生抑制作用。Gillessen等人Eur.J.Immunol.25(1):200-6(1995)。

[0007] 作为IL12亚基的双顺反子表达的替代,已通过将p40和p35亚基与(Gly4Ser)3或Gly6Ser接头联接产生功能性单链IL12融合蛋白质。Lieschke等人,(1997),Nature Biotechnology 15,35-40;Lode等人,(1998),PNAS 95,2475-2480。(这些形式的p40-接头-p35或p35-接头-p40 IL12构型在本文中可称为“单链IL12(scIL12)”)。

[0008] 人IL12 p70(即p35和p40的二聚体)具有已报道的5-19小时的体内半衰期,在作为治疗性化合物施用时可导致显著的全身毒性。参见例如,Car等人"The Toxicology of Interleukin-12:A Review"Toxicologic Path.27:1,58-63(1999);Robertson等人"Immunological Effects of Interleukin 12Administered by Bolus Intravenous Injection to Patients with Cancer"Clin.Cancer Res.5:9-16(1999);Atkins等人"Phase IEvaluation of Intravenous Recombinant Human Interleukin 12in Patients with Advance Malignancies"Clin.Cancer Res.3:409-417(1997)。鼠类肿瘤治疗模型的临床前研究表明,全身施用IL12后具有强大的抗肿瘤作用。然而,在人中,尝试全身施用重组IL12则导致包括患者死亡在内的严重毒性和有限的功效。因此,本领域仍然需要改进对IL12的体内递送形式的治疗性控制。

发明内容

[0009] 本公开的一个方面提供了含有经修饰的p40结构域的细胞因子融合蛋白质,并且特别地提供了IL12和IL23融合蛋白质,其在本文中也称为IL12 HetFc融合蛋白质。本文描述的IL12融合蛋白质可包含IL12多肽、包含第一Fc多肽和第二Fc多肽的Fc结构域,以及任选的降低、抑制或阻断IL12活性的掩蔽部分(MM)。

[0010] 本公开的一个方面描述了经修饰的p40结构域,该经修饰的p40结构域相对于SEQ ID NO:10中列出的野生型人成熟IL12p40结构域序列包含一种或多种氨基酸取代,其中该一种或多种氨基酸取代位于E45、D62和D161中的一个或多个位置处,并且其中氨基酸残基的编号基于SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列。

[0011] 本公开的一个方面描述了经修饰的p40结构域,该经修饰的p40结构域相对于SEQ ID NO:10中列出的野生型人成熟IL12 p40结构域序列包含一种或多种氨基酸取代,其中该一种或多种氨基酸取代为W15H、W15K、W15R、D18G、E45K、K58H、K58W、E59D、E59G、E59R、F60D、

F60E、F60K、F60R、F60V、D62H、D62I、D62N、K84E、K84I、K84L、K84V、K84W、K84Y、E86L、E86R、E86S、E86W、D93E、D93H、D93R、D93W、D161R、D161S、K197D、K197E、K197Q、K197T或K197W,或其组合,并且其中氨基酸残基的编号基于SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列。

[0012] 本公开的另一个方面描述了包含本公开的经修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质。

[0013] 本公开的另一个方面描述了包含IL12多肽的IL12融合蛋白质,其中该IL12多肽包含本公开的经修饰的p40结构域,该经修饰的p40结构域与p35结构域偶联。

[0014] 本公开的另一个方面描述了经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其包含:(i)IL-12多肽,该IL-12多肽包含本公开的经修饰的p40结构域,该经修饰的p40结构域经由接头$(G_4S)_4$偶联到包含SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列或者由SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列组成的p35结构域;(ii)异二聚体Fc结构域,该异二聚体Fc结构域包含第一Fc多肽和第二Fc多肽;和(iii)屏蔽部分(MM),该屏蔽部分包含抗IL12 scFv结构域,其中:该IL12多肽直接或经由第二接头偶联到该第一Fc多肽的C末端,并且该掩蔽部分直接或经由第三接头偶联到该第二Fc多肽的C末端,并且能够与该IL12多肽非共价相互作用,从而降低该IL12多肽与其同源受体中的至少一种同源受体的结合亲和力。

[0015] 本公开的另一个方面描述了未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其包含:(i)IL-12多肽,该IL-12多肽包含根据本公开的经修饰的p40结构域,该经修饰的p40结构域经由接头$(G_4S)_4$偶联到包含SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列或者由SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列组成的p35结构域;和(ii)异二聚体Fc结构域,该异二聚体Fc结构域包含第一Fc多肽和第二Fc多肽,其中该IL12多肽直接或经由第二接头偶联到该第一Fc多肽的C末端。

[0016] 本公开的另一个方面描述了药物组合物,其包含(i)本公开的经修饰的p40结构域、(ii)本公开的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,和/或(iii)本公开的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,以及药学上可接受的载剂。

[0017] 本公开的另一个方面描述了核酸分子或核酸分子集合,其编码(i)本公开的经修饰的p40结构域、(ii)本公开的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,和/或(iii)本公开的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质。

[0018] 本公开的另一个方面描述了载体或载体集合,其包含本文描述的编码以下的核酸分子或核酸分子集合:(i)本公开的经修饰的p40结构域、(ii)本公开的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,和/或(iii)本公开的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质。

[0019] 本公开的另一个方面描述了鉴定p40结构域氨基酸序列中的一种或多种氨基酸取代以产生经修饰的p40结构域的方法,所述方法包括进行分子动力学和诱变模拟,从而鉴定表C中列出的一种或多种氨基酸取代,其中经修饰的p40结构域氨基酸序列中的所述一种或多种氨基酸取代是相对于SEQ ID NO:1中列出的序列,并且其中所述一种或多种氨基酸取代降低所述经修饰的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体的结合亲和力(K_D),这是相对于不包含所述一种或多种氨基酸取代的未修饰的p40结构域而言的。

[0020] 本公开提供了人IL12和IL23 p40亚基结构域D1和D2的修饰,具体地讲,该修饰包括D1和D2结构域中旨在降低与受体的结合亲和力的经工程改造的氨基酸改变。更具体地说,该改变/修饰发生在对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基位置15、18、45、58、59、60、62、84、86、93、161、195和197的一个或多个位置处。本公开的一个方面提供了被修饰成具有降低的

与IL12Rβ1亚基的结合的p40结构域,其中经修饰的p40结构域含有至少一种氨基酸取代。

[0021] 在一些实施方案中,经修饰的p40结构域表达为IL12融合蛋白质的组分,其包含p35亚基和经修饰的p40亚基,其中含有经修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质的IL12活性与含有未修饰的p40结构域的相应IL12融合蛋白质的IL12活性相比减弱。因此,实施方案再次提供了人IL12或IL23 p40 D1和D2结构域的修饰。在本文的IL12融合蛋白质的一些实施方案中,IL12多肽是具有p40-接头-p35取向的单链IL12多肽。在本文的IL12融合蛋白质的一些实施方案中,单链IL12多肽与包含第一Fc多肽和第二Fc多肽的Fc结构域融合,其中该IL12多肽通过第一接头与第一Fc多肽融合。

[0022] 在一些实施方案中,经修饰的p40结构域表达为经掩蔽的IL12融合蛋白质的组分,其包含:a)Fc结构域,该Fc结构域包含第一Fc多肽和第二Fc多肽;b)掩蔽部分(MM);和c)IL12多肽;其中该掩蔽部分通过第一接头融合至第一Fc多肽;其中该IL12多肽通过第二接头融合至第二Fc多肽;并且其中含有经修饰的p40结构域的经掩蔽的IL12融合蛋白质的IL12活性如与含有未修饰的p40结构域的相应IL12融合蛋白质的IL12活性相比减弱。

[0023] 在本文的经掩蔽的IL12融合蛋白质的一些实施方案中,该掩蔽部分是单链Fv(scFv)抗体片段。在某些实施方案中,该scFv包含:具有分别在SEQ ID No:4-6中列出的氨基酸序列的VHCDR1-3和具有分别在SEQ ID No:7-9中列出的氨基酸序列的VLCDR1-3。在一些实施方案中,该scFv包含VH和VL,该VH和VL分别包含SEQ ID NO:2和3中列出的氨基酸序列。

[0024] 在本文的IL12融合蛋白质的一些实施方案中,该融合蛋白质还包含靶向结构域。在一些实施方案中,该靶向结构域特异性地结合肿瘤相关抗原。

[0025] 在本文的IL12融合蛋白质的一些实施方案中,第一Fc多肽包含第一CH3结构域并且第二Fc多肽包含第二CH3结构域。

[0026] 在本文的IL12融合蛋白质的一些实施方案中,IL12活性是通过测量对IL12敏感的细胞或细胞系的相对细胞丰度或细胞因子产量来确定的。在一些实施方案中,该细胞或细胞系选自PBMC、CD8+T细胞、CTLL-2细胞系和NK细胞系。在一些实施方案中,IL12活性是通过测量CD8+T细胞的IFNγ释放来确定。在一些实施方案中,IL12活性是通过测量NK细胞的相对细胞丰度来确定。

[0027] 在本文所述的IL12融合蛋白质的一些实施方案中,第一CH3结构域或第二CH3结构域或两者包含不对称氨基酸修饰,其中第一和第二CH3结构域优先配对从而形成异二聚体而不是同二聚体。

[0028] 本公开的一个方面提供了组合物,其包含本文描述的任何IL12或IL23融合蛋白质和药学上可接受的赋形剂。

[0029] 本公开的一个方面提供了治疗受试者的癌症的方法,其包括给该受试者施用治疗有效量的组合物,该组合物包含本文所述的任何IL12融合蛋白质(例如,IL12 HetFc融合蛋白质)和药学上可接受的赋形剂。

[0030] 本公开的一个方面提供了经分离的核酸,其编码如本文所述的IL12融合蛋白质。

[0031] 本公开的一个方面提供了表达载体,其包含编码如本文所述的IL12融合蛋白质的经分离的核酸。

[0032] 本公开的一个方面提供了经分离的宿主细胞,其包含编码如本文所述的IL12融合

蛋白质的经分离的核酸或包含此种经分离的核酸的表达载体。

[0033] 本公开的一个方面提供了制备IL12融合蛋白质的方法,其包括在适合于使该IL12融合蛋白质表达的条件下培养宿主细胞,该宿主细胞包含编码如本文所述的IL12融合蛋白质的经分离的核酸或包含此种经分离的核酸的表达载体;以及任选地,从该宿主细胞培养基中回收该IL12融合蛋白质。

[0034] 本公开的一个方面提供了白细胞介素23(IL23)融合蛋白质,其包含p19结构域和如本文所述的经修饰的p40结构域,其中含有经修饰的p40结构域的IL23融合蛋白质的IL23活性如与含有未修饰的p40结构域的相应IL23融合蛋白质的IL23活性相比减弱。

附图说明

[0035] 本文公开的实施方式在附图中通过实例而非限制的方式图示。描述和附图仅用于说明和帮助理解的目的,并不旨在作为对本公开的经修饰的p40结构域、融合蛋白质、组合物和方法的限制的定义。

[0036] 图1A至图1D示出含有p40的细胞因子的示意图,例如,根据本公开的实施方案的单体p40结构域(图1A)、二聚体p40结构域(p80,图1B)以及含有此类p40结构域的细胞因子诸如IL12(图1C)和IL23(图1D)的示意图。

[0037] 图2A至图2B示出根据本公开的实施方案的IL12 HetFc和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质变体的示意图。

[0038] 图3A至图3B示出IL12 HetFc融合蛋白质(v30806,图3A)和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质(v35436,图3B)在蛋白质A和制备型SEC纯化后的代表性CE-SDS和UPLC-SEC谱。

[0039] 图4A至图4J示出从使用IL12 HetFc和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质变体的IL12报告基因测定(RGA)实验获得的数据。每个变体集合的RGA实验运行两次(用“重复1”和“重复2”标签表示)。每张图示出未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质集合(包括对照变体30806)和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质集合(包括对照变体35436)。另外,图4A示出变体37172、37174、37175、37485、37487和37488的RGA反应,图4B示出变体37176、37178、37173、37489、37491和37486的RGA反应,图4C示出变体37157、37158、37156、37470、37471和37469的RGA反应,图4D示出变体37177、37154、37159、37490、37467和37472的RGA反应,图4E示出变体37179、37163、37492和37476的RGA反应,图4F示出变体37181、37162、37155、37494、37475和37468的RGA反应,图4G示出变体37161、37182、37164、37474、37495和37477的RGA反应,图4H示出变体37166、37165、37180、37479、37478和37493的RGA反应,图4I示出变体37169、37171、37168、37482、37484和37481的RGA反应,并且图4J示出变体37167、37170、37480和37483的RGA反应。

具体实施方式

[0040] 本公开涉及被修饰成具有降低的与细胞因子受体IL12Rβ1亚基的结合的p40结构域。具体地说,本公开涉及含有经修饰的p40结构域的IL12家族成员细胞因子,并且更具体地,涉及含有经修饰的p40结构域的IL12和IL23融合蛋白质。本公开还提供了包含含有本文描述的经修饰的p40结构域的细胞因子的组合物和药盒以及使用该组合物治疗多种疾病的方法。

[0041] IL12是能够驱动先天性和适应性免疫细胞的抗肿瘤反应的免疫刺激细胞因子。在包括小鼠黑色素瘤、肾细胞癌、乳腺癌和结肠癌模型的临床前癌症模型中已经广泛研究了IL12作为治疗剂的用途。即使在具有既定大肿瘤的晚期阶段给小鼠施用IL12时，IL12施用的抗肿瘤活性也被表现出来。IL12在临床前模型中的强效抗肿瘤作用导致了重组IL12的临床试验。不幸的是，包括两名患者的治疗相关死亡在内的毒性导致重组IL12的临床试验停止。还值得注意的是，重组细胞因子由于其体积小而具有较差的PK。本公开提供了IL12融合蛋白质，其通过使用经修饰的p40结构域降低细胞因子活性而规避毒性，该经修饰的p40结构域对细胞因子受体IL12Rβ1亚基具有降低的亲和力并导致降低的IL12结合和/或活性。与具有未修饰的p40结构域的IL12蛋白质(此情况下给药、暴露和功效受毒性限制)相比，含有经修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质的细胞因子活性的降低可允许给药、暴露和临床功效的增加。本公开还提供了IL12的通过融合至Fc结构域而改善的药代动力学。

[0042] 定义

[0043] 除非另外定义，否则本文使用的所有技术术语和科学术语具有如本领域普通技术人员通常理解的相同含义。

[0044] 如本文所用，除非另有指示，否则术语“约”是指与给定值相差大约±10％的变化。在一些实施方案中，术语“约”是指与给定值±10％的变化。在一些实施方案中，术语“约”是指与给定值±8％的变化。在一些实施方案中，术语“约”是指与给定值±6％的变化。在一些实施方案中，术语“约”是指与给定值±4％的变化。在一些实施方案中，术语“约”是指与给定值±2％的变化。应当理解，无论是否特别提及，此类变化总是包括在本文提供的任何给定值中。

[0045] 当在本文中结合术语“包含”一起使用时，词语“一个/种(a或an)”可以意指“一个/种”，但在某些实施方案中它也与“一个/种或多个/种”、“至少一个/种”和“一个/种或多于一个/种”的含义一致。

[0046] 如本文所用，术语“包含”、“具有”、“包括”和“含有”及其语法变型是包括性的或开放式的，并且不排除附加的、未列举的要素和/或方法步骤。当在本文中结合组合物、用途或方法一起使用时，术语“基本上由……组成”表示可以存在附加的要素和/或方法步骤，但是这些附加不会实质性影响所列举的组合物、方法或用途起作用的方式。术语“由.....组成”当在本文中与组合物、用途或方法相连使用时，排除了额外要素和/或方法步骤的存在。本文描述为包含某些要素和/或步骤的组合物、用途或方法也可以在某些实施方案中基本上由那些要素和/或步骤组成，而在其他实施方案中由那些要素和/或步骤组成，无论是否特别提及了这些实施方案。

[0047] “融合”意指组分(例如细胞因子分子和Fc结构域多肽或掩蔽部分和Fc结构域多肽)通过肽键直接或经由一个或多个肽接头连接。

[0048] 如本文所用，术语“单链”是指包含通过肽键线性连接的氨基酸单体的分子。在某些实施方案中，细胞因子蛋白质或结构域中的一者是单链细胞因子分子，即IL12分子，其中该p35和p40结构域通过肽接头连接从而形成单个肽链；或IL23分子，其中该p19和p40结构域通过肽接头连接从而形成单个肽链。

[0049] 如本文所用，术语“IL12多肽”、“单链(sc)IL12”和“IL12 p70”可以互换使用，并且通常是指人IL12，该人IL12包含涵盖IL12p40结构域(诸如如本文所述的经修饰的p40结构

域)和IL12p35结构域的连续单链氨基酸序列。

[0050] 如本文所用,术语“亲和力”或“结合亲和力”或“结合活性”是指单个生物分子与其配体/结合伴侣(例如,p40结构域与IL12Rβ1)之间的结合相互作用的强度。结合可以通过结合常数或平衡缔合常数(KA)或其平衡解离常数(KD)的倒数来表征。对于p40结构域和IL12Rβ1之间任何给定的平衡结合相互作用,KA值越高(或KD值越低),平衡时p40和IL12Rβ1越复杂且游离越少。一般而言,当提到KA或KD时,“更紧密”的结合意味着更大的KA值或更小的KD值。诸如细胞因子的蛋白质可以与其受体结合得更紧密,即所谓的“紧密”或“非常紧密”,k_a值为10^{10}-10^{12}。

[0051] 特异性结合的强度或亲和力可以用相互作用的平衡解离常数(KD)来表示,其中较小的KD代表较大的亲和力,且较大的KD代表较低的亲和力。结合特性可以通过本领域熟知的方法,诸如生物层干涉测量法和基于表面等离子体共振的方法(包括Biacore和Octet方法)来确定。因此,可以确定缔合速率常数(ka)和解离速率常数(kd),并且kd/ka的比率等于平衡解离常数KD(参见Nature 361:186-187(1993)和Davies等人(1990)Annual Rev Biochem 59:439-473),这两篇文献中的方法均通过引用以其整体并入。

[0052] 如本文所用,本文中的术语“修饰”或“突变”意指多肽序列中的氨基酸取代、插入和/或缺失或对与蛋白质化学连接的部分的改变。本文中的“氨基酸修饰”意指多肽序列中的氨基酸取代、插入和/或缺失。为了清楚起见,除非另外指出,否则氨基酸修饰始终是针对DNA编码的氨基酸,例如,在DNA和RNA中具有密码子的20个氨基酸。因此,“经修饰的p40结构域”或“突变的p40结构域”意指具有氨基酸取代、插入和/或缺失的p40多肽。

[0053] 如本文所用,本文中的术语“氨基酸取代”或“取代”意指用不同的氨基酸置换亲本多肽序列中特定位置处的氨基酸。具体地说,在一些实施方案中,取代是针对非天然存在于特定位置处的氨基酸,该氨基酸不是天然存在于生物体内或任何生物体中。为清楚起见,已被工程改造以改变核酸编码序列但不改变起始氨基酸(例如将CGG(编码精氨酸)交换为CGA(仍编码精氨酸)以增加宿主生物体表达水平)的蛋白质不是“氨基酸取代”;也就是说,尽管创建了编码相同蛋白质的新基因,但如果该蛋白质在其起始的特定位置处具有相同的氨基酸,则它不是氨基酸取代。

[0054] 预期本文讨论的任何实施方案可以按照本文公开的任何方法、用途或组合物来实施。

[0055] 结合本文公开的一个实施方案描述的特定特征、结构和/或特性可以与结合本文公开的另一个实施方案描述的特征、结构和/或特性以任何合适的方式组合以提供一个或多个其它实施方案。

[0056] 还应理解的是,在一个实施方案中对特征的肯定陈述是在另一个实施方案中排除该特征的基础。例如,在为给定实施方案或权利要求提出选项列表的情况下,应当理解,可以从该列表中删除一个或多个选项,并且缩短的列表可以形成替代实施方案,而不管此种替代实施方案是否被具体提及。

[0057] 经修饰的p40结构域

[0058] 本公开描述了经修饰的p40结构域。此类经修饰的p40结构域可以在其氨基酸序列上例如相对于相应的野生型(WT)p40序列被修饰。如本文所述,与未修饰的p40多肽相比,本公开的经修饰的p40结构域可具有降低的对另一种蛋白质的结合亲和力。在一些实施方案

中,经修饰的p40结构域以降低的亲和力结合至的此种其他蛋白质是同源IL12受体之一,例如受体IL12Rβ1。本公开的经修饰的p40蛋白质也可具有与未修饰的(例如,WT)p40结构域大致相同(例如,解链温度(Tm)相对于WT p40结构域变化±5%)或更高(例如,Tm增加>5%)的稳定性(例如,以Tm测量的热稳定性和/或某些试剂存在下的化学稳定性)。

[0059] 本公开提供了被修饰成具有降低的与IL12Rβ1亚基的结合的p40结构域,其中经修饰的p40结构域含有来自以下列表的至少一种氨基酸取代、或取代组(根据成熟p40序列编号;参见SEQ ID NO:10和表A):W15H、W15K、W15R、D18G、E45K、E45R、K58H、K58S、K58W、E59D、E59G、E59R、E59S、F60D、F60E、F60K、F60R、F60V、D62H、D62I、D62N、K84E、K84I、K84L、K84V、K84W、K84Y、E86L、E86R、E86S、E86W、D93E、D93H、D93R、D93W、D161R、D161S、K195D、K197D、K197E、K197Q、K197T、K197W、W15H_K84L、K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_K84E、E59R_K84W、E59R_E86W、E59D_D93H、E59R_D93R、E59R_K197E、E59R_K197W、F60E_K84W、F60R_K84Y、F60K_K197W、F60R_K197W、K84I_E86R、K84E_D93H、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84I_D161R、K84W_D161R、K84W_K197E、K84W_K197Q、K84W_K197W、E86W_D93E、E86R_K197D、E86W_K197W、W15H_K84L_K197Q、K58S_E59S_K195D、K58H_E86R_K197D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H、W15R_E59D_F60D_K197W、E45R_K58S_E59S_K195D。

[0060] 如本文所述,在每个被修饰位置之间使用“_”标识单链内多个位置处的氨基酸修饰的组合。例如,“15_84”表示位置124和186在所提及的p40多肽链中都被修饰。同样,“15_84_197”表示全部位置124、133和180在所提及的p40多肽链中都被修饰。

[0061] 本公开提供了被修饰成具有降低的与IL12Rβ1亚基的结合的p40结构域,其中经修饰的p40结构域含有来自以下列表的至少一种氨基酸取代、或取代组(根据成熟p40序列编号;参见SEQ ID NO:10和表A):W15H、W15K、W15R、E45R、K58H、K58S、E59D、E59R、E59S、F60D、F60K、F60R、K84E、K84I、K84L、K84W、K84Y、E86R、E86W、D93E、D93H、D93R、D161R、K195D、K197D、K197Q、K197T、K197W、W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D、E86W_D93E、W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、K58S_E59S_K195D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H、W15R_E59D_F60D_K197W、E45R_K58S_E59S_K195D,如在表M中提供的经修饰的p40结构域的序列(SEQ ID NO:12-57)和表M中提供的编码经修饰的p40结构域的核酸序列(SEQ ID NO:137-182)中所捕获的。

[0062] 本公开提供了被修饰成具有降低的与IL12Rβ1亚基的结合的p40结构域,其中经修饰的p40结构域含有来自以下列表的至少一种氨基酸取代、或取代组(根据成熟p40序列编号;参见SEQ ID NO:10和表A):W15H、W15K、E59R、E59S、K84E、K84W、E86W、D161R、K197T、K197W、W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D、E86W_D93E、W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、K58S_E59S_K195D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H、W15R_E59D_F60D_K197W、E45R_K58S_E59S_K195D,分别如表M中提供的经修饰的p40结构域的序列(SEQ ID NO:12,13,19,20,24,27,30,34,38,39,41,47,48,49,51,52,54,55,56,57,42,44,45,46,50,53,40,43)以及分别如表M中提供的编码经修饰的p40结构域的核酸序列(SEQ ID NO:137,138,144,145,149,152,155,159,163,164,166,172,173,174,176,177,179,180,181,182,167,169,170,171,175,178,165,168)中所捕获的。

[0063] 一般来说,被修饰成具有降低的与IL12Rβ1亚基的结合的p40结构域的功能是提供具有降低的毒性和更宽的治疗窗的具有生物活性的IL12家族蛋白质。如本文所用,“治疗窗”是指可以有效治疗疾病而不产生毒性作用的剂量范围;例如,不良反应和所需反应之间的区域是治疗窗。IL12施用的毒性作用的实例包括但不限于:皮肤毒性、局部炎症、口腔黏膜炎、全身炎症、疲乏、体重减轻、呕吐、厌食、血液学毒性(诸如贫血、淋巴细胞减少症、中性粒细胞减少症、血小板减少症、低蛋白质血症、低磷血症和低钙血症)、淋巴结肿大、脾肿大和骨髓增生、骨髓毒性、肌肉毒性、神经毒性、肝毒性(诸如肝功能障碍、氨基转移酶升高、天冬氨酸氨基转移酶(AST)升高、丙氨酸氨基转移酶(ALT)升高、碱性磷酸酶升高、高胆红素血症和低白蛋白质血症)、肌酐升高、腹泻、呼吸困难和胃肠道出血。在一些实施方案中,毒性作用是指剂量限制性毒性。IL12施用的其他毒性作用是本领域普通技术人员已知的。

[0064] p40结构域是一种分泌型蛋白质;作为具有p19或p35的单体、同二聚体或异二聚体;并且因此具有N末端分泌信号肽或SP(SEQ ID NO:122,也是SEQ ID NO:123的残基1-22),其使新翻译的蛋白质靶向于内质网(ER)以进行易位和随后的从细胞中分泌。一旦易位到ER中,SP就会从p40蛋白质的其余部分上被切割。以这种方式,含有SP的蛋白质通常被称为“前蛋白质”或“前体”,而SP切割后分泌的蛋白质被称为“成熟”蛋白质。当对蛋白质序列内的氨基酸进行编号时,通常遵循以下两种惯例之一:1)蛋白质从SP的N末端处第一个残基以1开始编号,或2)蛋白质从SP切割后成熟蛋白质的N末端处第一个残基以1开始编号。表A提供了通过任一惯例对p40前蛋白质和成熟蛋白质内氨基酸的编号。在本公开中,对p40结构域进行的氨基酸取代是根据它们在成熟p40蛋白质(SEQ ID NO:10)中的位置进行编号。

[0065]

表 A: 根据前蛋白质和成熟蛋白质位置进行的 p40 氨基酸序列的编号

氨基酸	前蛋白质	成熟蛋白质
M	1	NA
C	2	NA
H	3	NA
Q	4	NA
Q	5	NA
L	6	NA
V	7	NA
I	8	NA
S	9	NA
W	10	NA
F	11	NA
S	12	NA
L	13	NA
V	14	NA
F	15	NA
L	16	NA
A	17	NA
S	18	NA
P	19	NA

[0066]

表 A：根据前蛋白质和成熟蛋白质位置进行的 p40 氨基酸序列的编号		
氨基酸	前蛋白质	成熟蛋白质
L	20	NA
V	21	NA
A	22	NA
I	23	1
W	24	2
E	25	3
L	26	4
K	27	5
K	28	6
D	29	7
V	30	8
Y	31	9
V	32	10
V	33	11
E	34	12
L	35	13
D	36	14
W	37	15
Y	38	16
P	39	17
D	40	18
A	41	19
P	42	20
G	43	21
E	44	22
M	45	23
V	46	24
V	47	25
L	48	26
T	49	27
C	50	28
D	51	29
T	52	30
P	53	31
E	54	32
E	55	33
D	56	34
G	57	35
I	58	36
T	59	37
W	60	38

[0067]

表 A：根据前蛋白质和成熟蛋白质位置进行的 p40 氨基酸序列的编号		
氨基酸	前蛋白质	成熟蛋白质
T	61	39
L	62	40
D	63	41
Q	64	42
S	65	43
S	66	44
E	67	45
V	68	46
L	69	47
G	70	48
S	71	49
G	72	50
K	73	51
T	74	52
L	75	53
T	76	54
I	77	55
Q	78	56
V	79	57
K	80	58
E	81	59
F	82	60
G	83	61
D	84	62
A	85	63
G	86	64
Q	87	65
Y	88	66
T	89	67
C	90	68
H	91	69
K	92	70
G	93	71
G	94	72
E	95	73
V	96	74
L	97	75
S	98	76
H	99	77
S	100	78
L	101	79

[0068]

表 A：根据前蛋白质和成熟蛋白质位置进行的 p40 氨基酸序列的编号		
氨基酸	前蛋白质	成熟蛋白质
L	102	80
L	103	81
L	104	82
H	105	83
K	106	84
K	107	85
E	108	86
D	109	87
G	110	88
I	111	89
W	112	90
S	113	91
T	114	92
D	115	93
I	116	94
L	117	95
K	118	96
D	119	97
Q	120	98
K	121	99
E	122	100
P	123	101
K	124	102
N	125	103
K	126	104
T	127	105
F	128	106
L	129	107
R	130	108
C	131	109
E	132	110
A	133	111
K	134	112
N	135	113
Y	136	114
S	137	115
G	138	116
R	139	117
F	140	118
T	141	119
C	142	120

[0069]

表 A：根据前蛋白质和成熟蛋白质位置进行的 p40 氨基酸序列的编号		
氨基酸	前蛋白质	成熟蛋白质
W	143	121
W	144	122
L	145	123
T	146	124
T	147	125
I	148	126
S	149	127
T	150	128
D	151	129
L	152	130
T	153	131
F	154	132
S	155	133
V	156	134
K	157	135
S	158	136
S	159	137
R	160	138
G	161	139
S	162	140
S	163	141
D	164	142
P	165	143
Q	166	144
G	167	145
V	168	146
T	169	147
C	170	148
G	171	149
A	172	150
A	173	151
T	174	152
L	175	153
S	176	154
A	177	155
E	178	156
R	179	157
V	180	158
R	181	159
G	182	160
D	183	161

[0070]

表 A：根据前蛋白质和成熟蛋白质位置进行的 p40 氨基酸序列的编号		
氨基酸	前蛋白质	成熟蛋白质
N	184	162
K	185	163
E	186	164
Y	187	165
E	188	166
Y	189	167
S	190	168
V	191	169
E	192	170
C	193	171
Q	194	172
E	195	173
D	196	174
S	197	175
A	198	176
C	199	177
P	200	178
A	201	179
A	202	180
E	203	181
E	204	182
S	205	183
L	206	184
P	207	185
I	208	186
E	209	187
V	210	188
M	211	189
V	212	190
D	213	191
A	214	192
V	215	193
H	216	194
K	217	195
L	218	196
K	219	197
Y	220	198
E	221	199
N	222	200
Y	223	201
T	224	202

[0071]

表 A：根据前蛋白质和成熟蛋白质位置进行的 p40 氨基酸序列的编号		
氨基酸	前蛋白质	成熟蛋白质
S	225	203
S	226	204
F	227	205
F	228	206
I	229	207
R	230	208
D	231	209
I	232	210
I	233	211
K	234	212
P	235	213
D	236	214
P	237	215
P	238	216
K	239	217
N	240	218
L	241	219
Q	242	220
L	243	221
K	244	222
P	245	223
L	246	224
K	247	225
N	248	226
S	249	227
R	250	228
Q	251	229
V	252	230
E	253	231
V	254	232
S	255	233
W	256	234
E	257	235
Y	258	236
P	259	237
D	260	238
T	261	239
W	262	240
S	263	241
T	264	242
P	265	243

[0072]

表 A：根据前蛋白质和成熟蛋白质位置进行的 p40 氨基酸序列的编号		
氨基酸	前蛋白质	成熟蛋白质
H	266	244
S	267	245
Y	268	246
F	269	247
S	270	248
L	271	249
T	272	250
F	273	251
C	274	252
V	275	253
Q	276	254
V	277	255
Q	278	256
G	279	257
K	280	258
S	281	259
K	282	260
R	283	261
E	284	262
K	285	263
K	286	264
D	287	265
R	288	266
V	289	267
F	290	268
T	291	269
D	292	270
K	293	271
T	294	272
S	295	273
A	296	274
T	297	275
V	298	276
I	299	277
C	300	278
R	301	279
K	302	280
N	303	281
A	304	282
S	305	283
I	306	284

[0073]

表 A：根据前蛋白质和成熟蛋白质位置进行的 p40 氨基酸序列的编号		
氨基酸	前蛋白质	成熟蛋白质
S	307	285
V	308	286
R	309	287
A	310	288
Q	311	289
D	312	290
R	313	291
Y	314	292
Y	315	293
S	316	294
S	317	295
S	318	296
W	319	297
S	320	298
E	321	299
W	322	300
A	323	301
S	324	302
V	325	303
P	326	304
C	327	305
S	328	306

[0074] 本文(具体地,在实施例1中)描述的迭代结构引导的电脑模拟(in silico)诱变和结构评价方法使得能够生成横跨p40和IL12Rβ1之间的广泛的预测亲和力的简明的设计文库。与本领域已知的其他常见体外蛋白质突变和选择方法相比,这种电脑模拟方法在设计效率和获得的解决方案广度两个方面提供了优势。例如,单个氨基酸的随机或半随机诱变以及随后蛋白质文库表达和对具有所需特性的突变的筛选可能需要筛选更大量的样本以及多轮克隆、蛋白质表达和分选,以迭代地测试突变组合以获得具有所需活性的设计。相反,本文描述的迭代电脑模拟设计、诱变和选择方法使得能够预先制备含有单种和多种氨基酸取代的设计文库,以实现p40和IL12Rβ1之间的广泛的预测亲和力。

[0075] 进一步地,本文描述的电脑模拟结构引导的方法能够发现实现p40和IL12Rβ1之间的预测亲和力的所需降低以及对未复合p40结构域的预测稳定性具有积极或最小负面影响的突变,以及在降低p40和IL12Rβ1之间的预测亲和力和/或维持或改善未复合p40结构域的预测稳定性方面互补或协同的突变对或突变组。

[0076] 例如,对与IL12Rβ1复合的p40结构域的结构分析将氨基酸K84、E86和K197等鉴定为热点,即在p40-IL12Rβ1界面处有助于稳定性和亲和力的关键残基,如实施例1中所述。然而,在未复合p40的结构分析中,发现K84、E86和K197也对未复合p40的预测稳定性做出了显著贡献。因此,重要的是要考虑这些位置处的突变对p40和IL12Rβ1之间的预测亲和力以及对未复合p40的预测稳定性的影响。本领域已知的蛋白质诱变的典型方法是“丙氨酸扫描”,

其中将所关注的蛋白质内的所有或选定的一组氨基酸单个地用丙氨酸取代,并且通过使用经突变蛋白质的结合或功能测定来测量取代的影响。鉴于K84、E86和K197通过与邻近残基的空间和静电相互作用而对p40的预测稳定性作出的贡献,预测这些位置处的向丙氨酸的突变将不利于突变的p40结构域的稳定性和/或其他生物物理特性(例如,由于取代附近疏水残基的暴露增加而导致聚集倾向增加)。因此,本文(具体而言是实施例1)中描述的电脑模拟设计方法鉴定了这些位置处的几种氨基酸取代,这些氨基酸取代与利用丙氨酸进行的取代一样对p40和IL12Rβ1之间的预测亲和力提供相似或更大的降低,但对未复合p40的预测稳定性具有较小的负面影响并且在一些情况下具有积极影响。例如,对氨基酸取代K84W的建模揭示了与未复合p40中邻近氨基酸的空间互补性相对于同一位置处的未经取代的赖氨酸增加,从而导致预测稳定性的改善。

[0077] 还发现,如果以与同一结构附近的另一个或多个其他氨基酸的组合被取代,那么当孤立地被取代时在特定氨基酸区位(location)处被鉴定为优选的取代可能不是同一区位处的优选取代。例如,当与其他氨基酸的取代组合时,上述取代K84W可以是或者可以不是氨基酸K84处的优选取代。事实上,当与取代E86R组合时,取代K84I优于K84W,因为K84I的较小的尺寸允许E86R采用K84I在p40内形成有利氢键的构象,从而导致预测稳定性的改善。这些有利的氢键在E86R与K84W的组合中将被空间冲突所阻止。同样,孤立的取代E86R由于与未修饰的K84的空间冲突而被阻止采用这种有利的构象。虽然预测孤立的E86R能根据需要降低p40和IL12Rβ1之间的亲和力,但预测它对未复合p40的稳定性产生很大的不利影响。由K84I和E86R取代的组合产生的结构协同作用反而对p40稳定性产生益处,并因此证明了本文所述的电脑模拟建模方法发现互补取代的优点。

[0078] 在另一个实例中,实施例1中描述的与IL12Rβ1复合的p40结构域的结构分析将氨基酸W15鉴定为p40-IL12Rβ1界面处的热点。未复合p40的分子动力学模拟和分析揭示了W15周围区域中的显著构象变化,因此如与针对与IL12Rβ1复合的p40结构域观察到的W15构象相比,观察到在未复合状态下W15贡献了明显更多的分子内p40接触面积以及介于它的吲哚氮和H83的主链氧之间的氢键,这允许在牺牲p40内的分子内接触面积的情况下增加p40和IL12Rβ1之间的分子间接触面积。如实施例1中描述的电脑模拟诱变建模使得能够发现这样的包含W15的突变和突变组,该突变和突变组根据需要降低p40和IL12Rβ1之间的预测亲和力,但也通过恢复或替换由W15形成的可能在取代后丢失的分子内接触而将对未复合p40的预测稳定性的不利影响降至最低。例如,取代W15H被设计为保留与H83的主链氧形成的氢键,并最大限度地减少对位置W15处可能的突变的预测稳定性的不利影响。在另一个实例中,突变组W15R_E59D_F60D_K197W被设计为引入介于W15R和F60D之间的强二齿氢键相互作用以及在未复合状态下K197W恢复的额外的分子内堆积,从而产生这样的设计,该设计最大限度地降低这些位置处的突变对未复合p40的预测稳定性的有害影响,同时也使p40和IL12Rβ1之间的预测亲和力大大降低。

[0079] 使用如实施例1中描述的这个方法,鉴定了p40-IL12Rβ1界面热点和邻近残基处的优选取代和取代组,以产生横跨p40和IL12Rβ1之间的广泛的预测亲和力同时对未复合p40结构域的预测稳定性具有积极或最低负面影响的设计文库。优选的取代和取代组提供在表B中。

[0080]

表 B: 通过电脑模拟设计鉴定的优选 p40 突变		
设计 ID 编号	前体 p40 突变	成熟 p40 突变
1	W37H	W15H
2	W37K	W15K
3	W37R	W15R
4	D40G	D18G
5	E67K	E45K
6	E67R	E45R
7	K80H	K58H
8	K80S	K58S
9	K80W	K58W
10	E81D	E59D
11	E81G	E59G
12	E81R	E59R
13	E81S	E59S
14	F82D	F60D
15	F82E	F60E
16	F82K	F60K
17	F82R	F60R
18	F82V	F60V
19	D84H	D62H
20	D84I	D62I
21	D84N	D62N
22	K106E	K84E
23	K106I	K84I
24	K106L	K84L
25	K106V	K84V
26	K106W	K84W
27	K106Y	K84Y
28	E108L	E86L
29	E108R	E86R
30	E108S	E86S
31	E108W	E86W
32	D115E	D93E
33	D115H	D93H
34	D115R	D93R
35	D115W	D93W
36	D183R	D161R

[0081]

表 B：通过电脑模拟设计鉴定的优选 p40 突变		
设计 ID 编号	前体 p40 突变	成熟 p40 突变
37	D183S	D161S
38	K217D	K195D
39	K219D	K197D
40	K219E	K197E
41	K219Q	K197Q
42	K219T	K197T
43	K219W	K197W
44	W37H_K106L	W15H_K84L
45	K80H_K106I	K58H_K84I
46	E81D_K106W	E59D_K84W
47	E81G_K106W	E59G_K84W
48	E81R_K106E	E59R_K84E
49	E81R_K106W	E59R_K84W
50	E81R_E108W	E59R_E86W
51	E81D_D115H	E59D_D93H
52	E81R_D115R	E59R_D93R
53	E81R_K219E	E59R_K197E
54	E81R_K219W	E59R_K197W
55	F82E_K106W	F60E_K84W
56	F82R_K106Y	F60R_K84Y
57	F82K_K219W	F60K_K197W
58	F82R_K219W	F60R_K197W
59	K106I_E108R	K84I_E86R
60	K106E_D115H	K84E_D93H
61	K106I_D115H	K84I_D93H
62	K106V_D115H	K84V_D93H
63	K106W_D115W	K84W_D93W
64	K106I_D183R	K84I_D161R
65	K106W_D183R	K84W_D161R
66	K106W_K219E	K84W_K197E
67	K106W_K219Q	K84W_K197Q
68	K106W_K219W	K84W_K197W
69	E108W_D115E	E86W_D93E
70	E108R_K219D	E86R_K197D
71	E108W_K219W	E86W_K197W
72	W37H_K106L_K219Q	W15H_K84L_K197Q
73	K80S_E81S_K217D	K58S_E59S_K195D
74	K80H_E108R_K219D	K58H_E86R_K197D
75	E81D_K106W_K219W	E59D_K84W_K197W

[0082]

表 B: 通过电脑模拟设计鉴定的优选 p40 突变		
设计 ID 编号	前体 p40 突变	成熟 p40 突变
76	F82R_K106E_K219W	F60R_K84E_K197W
77	K106I_E108R_D115H	K84I_E86R_D93H
78	W37R_E81D_F82D_K219W	W15R_E59D_F60D_K197W
79	E67R_K80S_E81S_K217D	E45R_K58S_E59S_K195D

[0083] 在各种实施方案中,本文描述了与不包含一个或多个此类氨基酸取代的p40结构域相比,具有降低的与IL12Rβ1亚基的结合的经修饰的p40结构域。在一些实施方案中,经修饰的p40结构域包含选自表C的一种或多种氨基酸取代。

[0084]

表 C: 通过描述的电脑模拟设计方法鉴定的 p40 结构域突变		
设计 ID 编号	前体 p40 突变	成熟 p40 突变(基于 SEQ ID NO: 10)
1	W37H	W15H
2	W37K	W15K
3	W37R	W15R
4	D40G	D18G
5	E67K	E45K
7	K80H	K58H
9	K80W	K58W
10	E81D	E59D
11	E81G	E59G
12	E81R	E59R
14	F82D	F60D
15	F82E	F60E
16	F82K	F60K
17	F82R	F60R
18	F82V	F60V
19	D84H	D62H
20	D84I	D62I
21	D84N	D62N
22	K106E	K84E
23	K106I	K84I
24	K106L	K84L
25	K106V	K84V
26	K106W	K84W
27	K106Y	K84Y
28	E108L	E86L

[0085]

表 C：通过描述的电脑模拟设计方法鉴定的 p40 结构域突变		
设计 ID 编号	前体 p40 突变	成熟 p40 突变(基于 SEQ ID NO: 10)
29	E108R	E86R
30	E108S	E86S
31	E108W	E86W
32	D115E	D93E
33	D115H	D93H
34	D115R	D93R
35	D115W	D93W
36	D183R	D161R
37	D183S	D161S
39	K219D	K197D
40	K219E	K197E
41	K219Q	K197Q
42	K219T	K197T
43	K219W	K197W
44	W37H_K106L	W15H_K84L
45	K80H_K106I	K58H_K84I
46	E81D_K106W	E59D_K84W
47	E81G_K106W	E59G_K84W
48	E81R_K106E	E59R_K84E
49	E81R_K106W	E59R_K84W
50	E81R_E108W	E59R_E86W
51	E81D_D115H	E59D_D93H
52	E81R_D115R	E59R_D93R
53	E81R_K219E	E59R_K197E
54	E81R_K219W	E59R_K197W
55	F82E_K106W	F60E_K84W
56	F82R_K106Y	F60R_K84Y
57	F82K_K219W	F60K_K197W
58	F82R_K219W	F60R_K197W
59	K106I_E108R	K84I_E86R
60	K106E_D115H	K84E_D93H
61	K106I_D115H	K84I_D93H
62	K106V_D115H	K84V_D93H
63	K106W_D115W	K84W_D93W
64	K106I_D183R	K84I_D161R
65	K106W_D183R	K84W_D161R
66	K106W_K219E	K84W_K197E
67	K106W_K219Q	K84W_K197Q

[0086]

表 C: 通过描述的电脑模拟设计方法鉴定的 p40 结构域突变		
设计 ID 编号	前体 p40 突变	成熟 p40 突变(基于 SEQ ID NO: 10)
68	K106W_K219W	K84W_K197W
69	E108W_D115E	E86W_D93E
70	E108R_K219D	E86R_K197D
71	E108W_K219W	E86W_K197W
72	W37H_K106L_K219Q	W15H_K84L_K197Q
73	K80S_E81S_K217D	K58S_E59S_K195D
74	K80H_E108R_K219D	K58H_E86R_K197D
75	E81D_K106W_K219W	E59D_K84W_K197W
76	F82R_K106E_K219W	F60R_K84E_K197W
77	K106I_E108R_D115H	K84I_E86R_D93H
78	W37R_E81D_F82D_K219W	W15R_E59D_F60D_K197W

[0087] 在各种实施方案中,本文描述了与不包含一个或多个此类氨基酸取代的p40结构域相比,具有降低的与IL12Rβ1亚基的结合亲和力的经修饰的p40结构域,并且其中该经修饰的p40结构域可含有至少一种氨基酸取代或氨基酸取代集合。在一些实施方案中,此类一种或多种氨基酸取代或者一个或多个取代集合可以是(根据SEQ ID NO:10和表A中列举的成熟p40序列):W15H、W15K、W15R、D18G、E45K、E45R、K58H、K58S、K58W、E59D、E59G、E59R、E59S、F60D、F60E、F60K、F60R、F60V、D62H、D62I、D62N、K84E、K84I、K84L、K84V、K84W、K84Y、E86L、E86R、E86S、E86W、D93E、D93H、D93R、D93W、D161R、D161S、K195D、K197D、K197E、K197Q、K197T、K197W、W15H_K84L、K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_K84E、E59R_K84W、E59R_E86W、E59D_D93H、E59R_D93R、E59R_K197E、E59R_K197W、F60E_K84W、F60R_K84Y、F60K_K197W、F60R_K197W、K84I_E86R、K84E_D93H、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84I_D161R、K84W_D161R、K84W_K197E、K84W_K197Q、K84W_K197W、E86W_D93E、E86R_K197D、E86W_K197W、W15H_K84L_K197Q、K58S_E59S_K195D、K58H_E86R_K197D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H、W15R_E59D_F60D_K197W和/或E45R_K58S_E59S_K195D(参见,例如,表B)。

[0088] 在某些实施方案中,本文描述了经修饰的p40结构域,其与不包含一个或多个此类氨基酸取代的p40结构域相比具有降低的与IL12Rβ1亚基的结合,并且其中此类经修饰的p40结构域包含一种或多种以下氨基酸取代或者一个或多个氨基酸取代集合(根据SEQ ID NO:10和表A中列举的成熟p40序列编号):W15H、W15K、W15R、D18G、E45K、K58H、K58W、E59D、E59G、E59R、F60D、F60E、F60K、F60R、F60V、D62H、D62I、D62N、K84E、K84I、K84L、K84V、K84W、K84Y、E86L、E86R、E86S、E86W、D93E、D93H、D93R、D93W、D161R、D161S、K197D、K197E、K197Q、K197T、K197W、W15H_K84L、K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_K84E、E59R_K84W、E59R_E86W、E59D_D93H、E59R_D93R、E59R_K197E、E59R_K197W、F60E_K84W、F60R_K84Y、F60K_K197W、F60R_K197W、K84I_E86R、K84E_D93H、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84I_D161R、K84W_D161R、K84W_K197E、K84W_K197Q、K84W_K197W、E86W_D93E、E86R_K197D、E86W_K197W、W15H_K84L_K197Q、K58S_E59S_K195D、K58H_E86R_K197D、E59D_K84W_K197W、F60R_

K84E_K197W、K84I_E86R_D93H和/或W15R_E59D_F60D_K197W(参见,例如,表C)。

[0089] 在一些实施方案中,本文描述了经修饰的p40结构域,其具有降低的与IL12Rβ1亚基的结合亲和力(例如,与不包含一个或多个此类氨基酸取代的p40结构域相比)并且包含一种或多种以下氨基酸取代或一个或多个取代集合(根据SEQ ID NO:10中列举的成熟p40序列编号):W15H、W15K、W15R、E45R、K58H、K58S、E59D、E59R、E59S、F60D、F60K、F60R、K84E、K84I、K84L、K84W、K84Y、E86R、E86W、D93E、D93H、D93R、D161R、K195D、K197D、K197Q、K197T、K197W、W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D、E86W_D93E、W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、K58S_E59S_K195D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H、W15R_E59D_F60D_K197W和/或E45R_K58S_E59S_K195D。各自含有这46种氨基酸取代之一的46个经修饰的p40结构域的氨基酸序列提供在本文表M中,并且包含分别在SEQ ID NO:12-57中列出的氨基酸序列或与该氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%或至少约99%序列同一性的序列,或由其组成。在各种实施方案中,该46个经修饰的p40结构域的此类氨基酸序列由本文表M中提供的且分别对应于SEQ ID NO:137-182的核酸序列编码。

[0090] 在一些实施方案中,本文描述了经修饰的p40结构域,其具有降低的与IL12Rβ1亚基的结合亲和力(例如,与不包含一种或多种此类氨基酸取代的p40结构域相比)并且包含一种或多种以下氨基酸取代或者一个或多个取代组(根据SEQ ID NO:10中列举的成熟p40序列编号):W15H、W15K、W15R、K58H、E59D、E59R、F60D、F60K、F60R、K84E、K84I、K84L、K84W、K84Y、E86R、E86W、D93E、D93H、D93R、D161R、K197D、K197Q、K197T、K197W、W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D、E86W_D93E、W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、K58S_E59S_K195D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H和/或W15R_E59D_F60D_K197W。各自含有这41种氨基酸取代之一的41个经修饰的p40结构域的氨基酸序列描述于本文表M中,并且包含分别在SEQ ID NO:12-14、16、18、19、21-34、36-56中列出的氨基酸序列或与该氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%或至少约99%序列同一性的序列,或由其组成。在各种实施方案中,该41个经修饰的p40结构域的此类氨基酸序列由本文表M中描述的且分别对应于SEQ ID NO:137-139、141、143、144、146-159、161-181的核酸序列编码。

[0091] 在一些实施方案中,本公开描述了经修饰的p40结构域,其具有降低的与IL12Rβ1亚基的结合亲和力(例如,与不包含一个或多个此类氨基酸取代的p40结构域相比),其中该经修饰的p40结构域包含一种或多种以下氨基酸取代或者一个或多个取代组(根据成熟p40序列编号;参见SEQ ID NO:10):W15H、W15K、E59R、E59S、K84E、K84W、E86W、D161R、K197T、K197W、W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D、E86W_D93E、W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、K58S_E59S_K195D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H、W15R_E59D_F60D_K197W和/或E45R_K58S_E59S_K195D。各自含有这些氨基酸取代之一的经修饰的p40结构域的氨基酸序列提供在表M中,并且可包含分别在SEQ ID NO:12、13、19、20、24、27、30、34、38、39、41、47、48、49、51、52、54、55、56、57、42、44、45、46、50、53、40和43中列出的氨基酸序列或与该氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%或至少约99%序列同一性的序列,或由其组成。在各种实施方案中,此类氨基酸序列由表M中提供的并且分别对应于以下的核酸序列编

码:SEQ ID NO:137、138、144、145、149、152、155、159、163、164、166、172、173、174、176,177、179、180、181、182、167、169、170、171、175、178、165和168的核酸序列编码。

[0092] 在一些实施方案中,本公开描述了经修饰的p40结构域,其具有降低的与IL12Rβ1亚基的结合亲和力(例如,与不包含一个或多个此类氨基酸取代的p40结构域相比),其中该经修饰的p40结构域包含一种或多种以下氨基酸取代或者一个或多个取代组(根据成熟p40序列编号;参见SEQ ID NO:10):W15H、W15K、E59R、K84E、K84W、E86W、D161R、K197T、K197W、W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D、E86W_D93E、W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、K58S_E59S_K195D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H和/或W15R_E59D_F60D_K197W。各自含有这些氨基酸取代之一的经修饰的p40结构域的氨基酸序列提供在表M中,并且可包含分别在SEQ ID NO:12、13、19、24、27、30、34、38、39、41、47、48、49、51、52、54、55、56、57、42、44、45、46、50、53和40中列出的氨基酸序列或与该氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%或至少约99%序列同一性的序列,或由其组成。在各种实施方案中,此类氨基酸序列由表M中提供的并且分别对应于SEQ ID NO:137、138、144、149、152、155、159、163、164、166、172、173、174、176,177、179、180、181、182、167、169、170、171、175、178和165的核酸序列编码。

[0093] 在一些实施方案中,本文描述了经修饰的p40结构域,其与未修饰的p40结构域相比具有降低的与其同源IL12受体中的一个或多个同源IL12受体的结合亲和力,该经修饰的p40结构域相对于SEQ ID NO:10中列出的野生型人成熟IL12 p40结构域序列包含一种或多种氨基酸取代,其中该一种或多种氨基酸取代位于E45、D62和D161中的一个或多个位置处,并且其中氨基酸残基的编号是基于SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列。在一些实施方案中,位于该一个或多个位置处的该一种或多种氨基酸取代是K、H、I、N、R和/或S取代。在某些实施方案中,该一种或多种氨基酸取代是E45K、D62H、D62I、D62N、D161R和/或D161S。

[0094] 在又其他实施方案中,本文描述了经修饰的p40结构域,其相对于SEQ ID NO:10中列出的野生型人成熟IL12p40结构域序列包含一种或多种氨基酸取代,其中该一种或多种氨基酸取代为W15H、W15K、W15R、D18G、E45K、K58H、K58W、E59D、E59G、E59R、F60D、F60E、F60K、F60R、F60V、D62H、D62I、D62N、K84E、K84I、K84L、K84V、K84W、K84Y、E86L、E86R、E86S、E86W、D93E、D93H、D93R、D93W、D161R、D161S、K197D、K197E、K197Q、K197T、K197W,或其任何组合,并且其中氨基酸残基的编号是基于SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列。在一些实施方案中,此类经修饰的p40结构域包含一种或多种、两种或更多种、或三种或更多种氨基酸取代。在某些实施方案中,该一种或多种氨基酸取代可以是W15H、W15K、D18G、E45K、K58H、K58W、E59G、E59R、F60V、D62H、D62I、D62N、K84E、K84W、E86L、E86S、E86W、D93H、D93W、D161R、D161S、K197E、K197Q、K197T和/或K197W。在这些实施方案中的一些实施方案中,该一种或多种氨基酸取代可以是W15H、W15K、E59R、K84E、K84W、E86W、D161R、K197T和/或K197W。

[0095] 在其中经修饰的p40结构域相对于SEQ ID NO:10中列出的野生型p40序列包含两种或更多种氨基酸取代的实施方案中,该两种或更多种氨基酸取代是W15H_K84L、K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_K84E、E59R_K84W、E59R_E86W、E59D_D93H、E59R_D93R、E59R_K197E、E59R_K197W、F60E_K84W、F60R_K84Y、F60K_K197W、F60R_K197W、K84I_E86R、K84E_D93H、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84I_D161R、K84W_D161R、K84W_K197E、K84W_K197Q、K84W_K197W、E86W_D93E、E86R_K197D、E86W_K197W、W15H_K84L_K197Q、K58H_

E86R_K197D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H和/或W15R_E59D_F60D_K197W。

[0096] 在某些实施方案中,该两种或更多种氨基酸取代是W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D、E86W_D93E、W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H和/或W15R_E59D_F60D_K197W。

[0097] 在其他实施方案中,该两种或更多种氨基酸取代是K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_E86W、E59R_K197E、E59R_K197W、E59R_K84E、E59R_K84W、F60E_K84W、F60R_K197W、K84E_D93H、K84I_D161R、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84W_K197E、K84W_K197Q和/或E86W_K197W。

[0098] 在又其他实施方案中,该两种或更多种氨基酸取代是W15H_K84L、K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_K84E、E59R_K84W、E59R_E86W、E59D_D93H、E59R_D93R、E59R_K197E、E59R_K197W、F60E_K84W、F60R_K84Y、F60K_K197W、F60R_K197W、K84I_E86R、K84E_D93H、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84I_D161R、K84W_D161R、K84W_K197E、K84W_K197Q、K84W_K197W、E86W_D93E、E86R_K197D和/或E86W_K197W。

[0099] 在某些实施方案中,该两种或更多种氨基酸取代是W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D和/或E86W_D93E。

[0100] 在其中经修饰的p40结构域相对于SEQ ID NO:10中列出的野生型p40序列包含三种或更多种氨基酸取代的实施方案中,该三种或更多种氨基酸取代是W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H和/或W15R_E59D_F60D_K197W。

[0101] 在一些实施方案中,本公开的经修饰的p40结构域包含选自以下中的一种或多种的氨基酸取代或氨基酸取代集合:W15R_E59D_F60D_K197W、W15H_K84L_K197Q、E59D_K84W_K197W、K58H_E86R_K197D、W15H_K84L、F60R_K84E_K197W、K84W_K197W、F60K_K197W、E86R_K197D、K84I_E86R_D93H、E59R_D93R、K84I_E86R、W15K、K84W_D161R、E45R_K58S_E59S_K195D、E59D_D93H、F60R_K84Y、E86W_D93E、K58S_E59S_K195D、K84E、K197T、E59R、W15H、K84W、K197W、E59S、D161R和/或E86W。在这些实施方案中的一些实施方案中,该经修饰的p40结构域包含选自以下中的一种或多种的氨基酸取代或氨基酸取代集合:W15H_K84L_K197Q、E59D_K84W_K197W、K84W_K197W、F60K_K197W、E59R_D93R、W15K和/或F60R_K84Y。

[0102] 在本公开的各种实施方案中,经修饰的p40结构域可包含的该一种或多种氨基酸取代选自表C。在这些实施方案中的至少一些实施方案中,该经修饰的p40结构域包含与SEQ ID NO:12-14、16、18、19、21-34和36-56中任一项中列出的氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。在这些实施方案中的一些实施方案中,该经修饰的p40结构域包含与SEQ ID NO:12-14、16、18、19、21-34和36-56中任一项中列出的氨基酸序列具有至少约99%或100%序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。在一些实施方案中,该经修饰的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体(例如,IL12Rβ1)的结合亲和力与不含本文公开的一种或多种氨基酸取代的未修饰的p40结构域相比时可以降低至少约2倍、5倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400

倍、500倍或至少约600倍。此种结合亲和力的降低可以通过SPR、相对NK细胞丰度、CD8+T细胞IFNγ释放测定、报告基因测定、使用被一种或多种IL12受体类型(例如,IL12Rβ1)转染的细胞进行的测定、使用经刺激的T细胞的测定,或这些测定的组合来测量。

[0103] 在一些实施方案中,包含含有如本文所述的经修饰的p40结构域的IL12多肽的IL12融合蛋白质(例如,IL12 HetFc融合蛋白质)与同源IL12受体中的至少一种(例如,IL12Rβ1)的结合亲和力与包含不含本文公开的一种或多种氨基酸修饰的未修饰的p40结构域的相应IL12融合蛋白质相比时可以降低至少约2倍、5倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍或至少约600倍。此种结合亲和力的降低可以通过SPR、相对NK细胞丰度、CD8+T细胞IFNγ释放测定、报告基因测定、使用被一种或多种IL12受体类型(例如,IL12Rβ1)转染的细胞进行的测定、使用经刺激的T细胞的测定,或这些测定的组合来测量。

[0104] 在一些实施方案中,本公开的经修饰的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体(例如,IL12Rβ1)的结合亲和力与不含本文公开的一种或多种氨基酸修饰的未修饰的p40结构域相比时可以降低至少约5倍至约2000倍、约10倍至约1500倍、约15倍至约1000倍、约20倍至约800倍、约20倍至约600倍、约20倍至约400倍、约20倍至约200倍、约20倍至约100倍、约50倍至约100倍、约50倍至约2000倍、约100倍至约2000倍、或至少约500倍至约2000倍。

[0105] 在一些实施方案中,本公开的经修饰的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体(例如,IL12Rβ1)的结合亲和力相对于其序列在SEQ ID NO:10中列出的未修饰野生型p40结构域的结合亲和力并且如在报告基因测定中所确定可以降低约5倍至约1000倍、约5倍至约800倍、约5倍至约600倍、约10倍至约500倍、约10倍至约300倍,或约20倍至约200倍。

[0106] 在一些实施方案中,本公开的经修饰的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体(例如,IL12Rβ1)的结合亲和力可以降低至少约20倍至约200倍。

[0107] 如本文所用,并且除非另外定义,术语"降低的结合"和"结合亲和力的降低"在本文公开的包含一种或多种氨基酸修饰的经修饰的p40结构域上下文中是指,经修饰的p40结构域或包含此种经修饰的p40结构域的融合蛋白质与其同源受体中的至少一种同源受体(例如,IL12Rβ1)的结合亲和力可测量地降低,这是相对于不包含此类一种或多种氨基酸修饰的野生型p40结构域而言的,其中降低的结合使用任何本文所述的分析方法来确定。此种降低的结合或结合亲和力的降低可以直接通过p40-受体相互作用实验,或者间接分析受经修饰的p40结构域的降低的结合亲和力影响的下游过程的变化来测量。

[0108] 功能性IL12活性可以例如在NK细胞相对丰度、通过免疫(例如NK细胞)测量IFNγ产生的测定、或CD8+T细胞IFNγ释放测定(如例如实施例4中所示)中测量。在一些实施方案中,经修饰的p40结构域(或包含如本文所述的此种p40结构域的融合蛋白质)可以显示出对IL12Rβ1的结合亲和力的完全消除,例如,使得包含经修饰的p40结构域的IL12多肽的结合活性使用已确立的检测测定法诸如SPR、NK、CD8+T细胞或其他基于细胞的测定法无法检测到。

[0109] 在一些实施方案中,本公开的经修饰的p40结构域和/或包含此种经修饰的p40结构域的融合蛋白质的热稳定性可以在含有具有SEQ ID NO:10中列出的序列的未修饰的野

生型p40结构域的融合蛋白质的热稳定性的±5℃、±4℃、±3℃、±2℃或±1℃内,如通过差示扫描荧光法(DSF)或差示扫描量热法(DSC)所确定,如本文针对融合蛋白质进一步描述的。因此,在各种实施方案中,分别与未修饰的p40结构域或含有未修饰的p40结构域的融合蛋白质相比,该一种或多种氨基酸修饰(例如,取代)可能不会显著影响p40结构域和/或包含经修饰的p40结构域的融合蛋白质的热稳定性(例如,至多约±2℃,或更少)。

[0110] IL12融合蛋白质

[0111] 本公开的一个方面提供了含有经修饰的p40结构域的细胞因子融合蛋白质,并且特别地提供了IL12和IL23融合蛋白质,其在本文中也称为IL12 HetFc融合蛋白质。本文描述的IL12融合蛋白质包含IL12多肽、包含第一Fc多肽和第二Fc多肽的Fc结构域,以及任选的降低、抑制或阻断IL12活性的掩蔽部分(MM)。含有MM的IL12HetFc融合蛋白质在本文中也称为经掩蔽的IL12融合蛋白质或经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质。一般而言,具有经修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质和具有经修饰的p40结构域的经掩蔽的IL12融合蛋白质的功能是提供具有降低的毒性和更宽的治疗窗的具有生物活性的IL12蛋白质。在一些实施方案中,IL12融合蛋白质的此种经修饰的p40结构域可以包含本文表B中列出的一种或多种氨基酸修饰。在某些实施方案中,IL12融合蛋白质的经修饰的p40结构域可以包含本文表C中列出的一种或多种氨基酸修饰。

[0112] 在一些实施方案中,包含经修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质的功能可以是提供具有生物活性的IL12蛋白质,该具有生物活性的IL12蛋白质对同源IL12受体中的至少一种同源IL12受体(诸如IL12Rβ1亚基)具有降低的结合亲和力,并且当与不包含经修饰的p40结构域的IL12多肽相比时可以在体内提供降低的毒性并因此提供更宽的治疗窗。如本文进一步所描述的,对于包含IL23多肽而非IL12多肽的IL23融合蛋白质,可以类似地设想上述内容。

[0113] 在各种实施方案中,本文的IL12 HetFc融合蛋白质包含:(i)包含经修饰的p40结构域的IL12多肽,(ii)包含第一Fc多肽和第二Fc多肽的异二聚体Fc结构域(HetFc),和任选的,(iii)与未掩蔽的IL12多肽相比抑制或至少降低IL12活性的掩蔽部分(MM)。在一些实施方案中,包含MM的IL12 HetFc融合蛋白质在本文中也称为经掩蔽的IL12融合蛋白质或经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质。

[0114] 在一些实施方案中,包含本公开的经修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质(例如,IL12 HetFc融合蛋白质)与其同源受体中的至少一种同源受体(例如,IL12Rβ1)的结合亲和力与包含不含本文公开的一种或多种氨基酸修饰的未修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质相比时可以降低至少约5倍至约2000倍、约10倍至约1500倍、约15倍至约1000倍、约20倍至约800倍、约20倍至约600倍、约20倍至约400倍、约20倍至约200倍、约20倍至约100倍、约50倍至约100倍、约50倍至约2000倍、约100倍至约2000倍、或至少约500倍至约2000倍。

[0115] 在一些实施方案中,包含本公开的经修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质(例如,IL12 HetFc融合蛋白质)与其同源受体中的至少一种同源受体(例如,IL12Rβ1)的结合亲和力相对于包含其序列在SEQ ID NO:10中列出的未修饰野生型p40结构域的IL12融合蛋白质的结合亲和力并且如在报告基因测定中所确定可以降低约5倍至约1000倍、约5倍至约800倍、约5倍至约600倍、约10倍至约500倍、约10倍至约300倍或约20倍至约200倍。

[0116] 在一些实施方案中,包含经修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质(例如,IL12

HetFc融合蛋白质)对其同源IL12受体中的至少一种同源IL12受体(例如,IL12Rβ1)的结合亲和力与包含不含本文公开的一种或多种氨基酸修饰的未修饰p40结构域的IL12融合蛋白质相比可以降低至少约20倍至约200倍。

[0117] 经掩蔽的IL12融合蛋白质构型

[0118] 如本文所用的“经掩蔽的IL12融合蛋白质”具体意在包括包含来自异二聚体细胞因子IL12家族的任何细胞因子的本文所述的融合蛋白质,并且因此具体意在包括IL12和IL23经掩蔽的融合蛋白质。在某些地方,“经掩蔽的细胞因子融合蛋白质”可被使用,并且类似地意在包括经掩蔽的IL12或IL23融合蛋白质。另外地,经掩蔽的IL12融合蛋白质在本文中可称为“经掩蔽的HetFc IL12融合蛋白质”,因为该融合蛋白质在一些实施方案中是用本文描述的经修饰的Fc多肽制成的。术语“经掩蔽的IL12融合蛋白质”和“经掩蔽的细胞因子融合蛋白质”也意在包括任何经掩蔽的HetFc IL12融合蛋白质。

[0119] 应该注意的是,该接头的编号只是为了清楚起见,并且该编号是可以互换的。任何给定的接头都可具有不同的编号,这取决于构型或几何结构。一个几何结构中的L1不一定与不同几何结构中的L1是相同的接头。此外,相似的几何结构可对接头进行不同的编号。

[0120] 在某些实施方案中,含有如本文所述的经修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质或经掩蔽的IL12融合蛋白质展现出IL12多肽的效力的完全降低,因为IL12活性未被例如NK或其他基于细胞的测定检测到。在这种情况下,“效力降低倍数”无法计算,因为活性低于检测限。

[0121] 用于测量结合或功能性IL12活性的方法是本领域已知的并在本文中有描述。在某些实施方案中,结合活性可以使用表面等离子共振(SPR)测量。功能性IL12活性可以例如在NK细胞相对丰度或CD8+T细胞IFNγ释放测定(也可参见例如,实施例3)中测量。

[0122] 因此,在某些实施方案中,本文提供了含有经修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质和经掩蔽的IL12融合蛋白质,其表现出如通过SPR、NK细胞、CD8+T细胞IFNγ释放或其他适当的测定所测量的与合适的对照相比降低至少5倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、600倍、700倍、800倍、900倍、1000倍、1200倍、1500倍、2000倍、2500倍、3000倍或进一步降低的结合活性、功能性IL12活性或效力。

[0123] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白质中使用的IL12多肽可以包含如本文所述的经修饰的p40结构域,例如包含表B和C中列出的取代中的任何一种或多种取代的p40结构域序列。此类经修饰的p40结构域与未修饰的(例如,WT)p40结构域相比可以具有降低的与IL12受体的结合。在各种实施方案中,此种经修饰的p40结构域可以包含SEQ ID NO:12-57中列出的氨基酸序列中的任何一个氨基酸序列或与该氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%或至少约99%序列同一性的序列,或由其组成。在其他实施方案中,此种经修饰的p40结构域可以包含分别在SEQ ID NO:12-14、16、18、19、21-34、36-56中列出的氨基酸序列或与该氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%或至少约99%序列同一性的序列,或由其组成。在又其他实施方案中,此种经修饰的p40结构域可以包含分别在SEQ ID NO:12、13、19、20、24、27、30、34、38、39、41、47、48、49、51、52、54、55、56、57、42、44、45、46、50、53、40和43中列出的氨基酸序列或与该氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%或至少约99%序列同一性的序列,或由其组成。

[0124] 细胞因子的IL12家族

[0125] 本公开提供了IL12融合蛋白质。白细胞介素12(IL12)是异二聚体细胞因子家族的第一个公认成员,该家族包括IL12、IL23、IL27、IL35和IL39。IL12和IL23是对T辅助细胞1(Th-1)和T辅助细胞17(Th-17)T细胞亚群的发育很重要的促炎细胞因子,而IL27和IL35是强效的抑制性细胞因子。IL39是调节先天性和/或适应性免疫反应的重要细胞因子。IL12可以直接增强效应CD4和CD8 T细胞以及自然杀伤(NK)和NK T细胞的活性。

[0126] 白细胞介素-12(IL12)是一种异二聚体分子,其由通过二硫键桥共价连接从而形成具有生物活性的70kDa二聚体的一条α链(p35亚基)和一条β链(p40亚基)构成。表M中提供了IL12的成熟p35和p40亚基的示例性氨基酸序列。参见SEQ ID NO:10和11及其变体,诸如p40亚基的包含用于降低对IL12Rβ1的亲和力的氨基酸取代的变体(SEQ ID NO:12-57)。

[0127] IL23是IL12细胞因子家族的成员,并且也由两个亚基构成:IL23与IL12共享的p40亚基、和p19。IL23的p19亚基的示例性氨基酸序列提供于表M中。参见SEQ ID NO:127和128。IL23的受体(IL23R)由IL23R亚基和IL12Rβ1亚基组成,IL12Rβ1亚基是IL12受体的常见亚基并与酪氨酸激酶2(Tyk2)相互作用。IL23R主要在免疫细胞,特别是T细胞(例如,Th17和γδT细胞)、巨噬细胞、树突细胞和NK细胞上表达(Duvallet等人,2011)。最近已证明,未激活的嗜中性粒细胞表达基础量的IL23R,并且细胞激活后IL23R表达增加(Chen等人,2016)。

[0128] 术语“具有IL12功能的蛋白质”或“具有IL23功能的蛋白质”分别涵盖野生型IL12或IL23序列的突变体,其中该野生型序列已通过氨基酸的添加、删除或取代中的一者或多者来改变。本文考虑的IL12和IL23序列包括来自任何动物,特别是任何哺乳动物(包括人、小鼠、狗、猫、猪和非人灵长类动物)的IL12和IL23序列。本文中的“野生型(wild type)”、“野生型(wildtype)”或“WT”意指自然界中发现的氨基酸序列或核苷酸序列,包括等位基因变异。WT蛋白质具有未经有意修饰的氨基酸序列或核苷酸序列。

[0129] IL12的生物活性是众所周知的,并且包括但不限于将幼稚T细胞分化为Th1细胞、刺激T细胞的生长和功能、由T细胞和自然杀伤(NK)细胞产生干扰素-γ(IFN-γ)以及肿瘤坏死因子-α(TNF-a)、减少IL4介导的IFN-γ抑制、增强NK细胞和$CD8^+$细胞毒性T淋巴细胞的细胞毒活性、刺激IL12Rβ1和IL12Rβ2的表达、通过上调MHC I和II分子促进肿瘤抗原的呈递,以及抗血管生成活性。IL12主要由抗原呈递细胞产生,并通过结合至在T细胞或自然杀伤(NK)细胞表面上表达的双链受体复合物来驱动细胞介导的免疫。IL12受体β-1(IL12Rβ1)链结合至IL12的p40亚基。第二条受体链IL12Rβ2的IL12p35连结赋予细胞内信号转导(例如STAT4磷酸化)和载受体细胞的激活(Presky等人,1996)。研究表明IL12分别对Rβ1和Rβ2具有相等的基于细胞的亲和力,并且对复合物具有更高的亲和力(J Immunol.1998年3月1日;160(5):2174-9)。IL12还作用于树突状细胞(DC),导致成熟和抗原呈递增加,这可以允许启动T细胞对肿瘤特异性抗原的反应。它还驱动DC分泌IL12,从而创建正反馈机制来放大该反应。

[0130] IL12、IL23和本文所述的经掩蔽的融合蛋白质的示例性核酸和氨基酸序列在表M中提供。

[0131] 本文提供的任何核酸和氨基酸序列的变体也被考虑用于如本文标题为“多肽和多核苷酸”的章节中描述的融合蛋白质。在某些实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质多肽包含如SEQ ID NO:11中所列出的p35氨基酸序列。在某些实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质多肽包含如SEQ ID NO:10中所列出的p40氨基酸序列。在另一个实施方案中,本文所

述的IL12融合多肽包含如SEQ ID NO:11中所列出的p35氨基酸序列和如SEQ ID NO:10中所列出的p40氨基酸序列。在一个实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质包含具有p40-L-p35构型的scIL12,其中L是接头部分,例如如本文所述的基于肽的接头。在其他实施方案中,本文所述的IL12多肽可以包含p35和/或p40序列的变体。在这个方面,该变体可包含编码p35或p40氨基酸序列的核酸序列的变体,其中该变体编码如与野生型IL12或其他适当的对照相比保留了IL12功能活性的蛋白质。变体核酸序列可包含与编码p35和/或p40的多核苷酸序列(诸如SEQ ID NO:129和130中所列出的多核苷酸序列)至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高%的同一性。该IL12多核苷酸的例示性变体包括经密码子优化的多核苷酸序列。

[0132] 在某些实施方案中,变体可以包括变体p35和/或p40多肽,该变体p35和/或p40多肽包含与分别如SEQ ID NO:11和10中所列出的IL12 p35和/或p40的氨基酸序列的至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高%的同一性,其中此类变体多肽如与包含野生型IL12的适当对照分子相比保留了IL12功能活性。

[0133] 在其他实施方案中,本文所述的IL23多肽可包含该p19和/或p40序列的变体。在这个方面,该变体可包含编码p19或p40氨基酸序列的核酸序列的变体,其中该变体编码如与野生型IL23相比保留了IL23功能活性的蛋白质。变体核酸序列可包含与编码分别如SEQ ID NO:131和130中所列出的p19和/或p40的多核苷酸序列的至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高%的同一性。该IL23多核苷酸的例示性变体包括经密码子优化的多核苷酸序列。

[0134] 所谓结合或活性的降低或抑制意指结合或功能性IL12活性低于适当对照(诸如野生型IL12或相应的未掩蔽的亲本融合蛋白质)的结合或功能性IL12活性。结合或活性的降低或抑制可以表示为效力的降低。在某些实施方案中,具有经修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质的效力如与适当对照(诸如具有野生型p40结构域的IL12融合蛋白质)的IL12活性相比降低了约2倍至约2500倍。在某些实施方案中,具有如本文所述的经修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质的效力如与未修饰的p40结构域相比降低了约5倍至约2000倍、约10倍至约1500倍、约15倍至约1000倍、约20倍至约800倍、约25倍至约600倍、约25倍至约100倍、约50倍至约100倍、约50倍至约2000倍、约100倍至约2000倍、或约500倍至约2000倍。在一些实施方案中,具有如本文所述的经修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质的效力如与未修饰的p40结构域相比降低了约100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、625、650、675、700、725、750、775、800、825、850、875、900、925、950、975、1000、1100、1200、1300、1400、1500、1600、1700、1800、1900、2000、2500或3000倍。在某些实施方案中,如与未修饰的p40结构域相比,效力降低了超过3500、4000、4500、5000、5500、6000、7000、8000、9000或10,000倍。在一些实施方案中,包含如本文所述的一种或多种氨基酸修饰的经修饰的p40结构域或包含此种经修饰的p40结构域的融合蛋白质可以具有如与未修饰的p40结构域相比降低至少约2倍至至少约2500倍的结合。

[0135] 在某些实施方案中,变体可以包括变体p19和/或p40多肽,该变体p19和/或p40多

肽包含与分别如SEQ ID NO:128和10中所列出的IL23 p19和/或p40的氨基酸序列至少50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更高％的同一性,其中此类变体多肽如与野生型IL23相比保留了IL23功能活性。

[0136] 如本文所述的变体细胞因子多肽或包含它们的融合蛋白质表现出的功能活性在适当对照(例如包含野生型细胞因子的相关比较器融合蛋白质(例如,IL12或IL23))的功能活性(例如,IL12或IL23)的2至20倍范围内。在某些实施方案中,细胞因子变体多肽如与野生型对照相比表现出等效效力,例如,如通过NK细胞的相对丰度、CD8+T细胞的IFNγ释放,或受体接合后的细胞信号转导所测量。在其他实施方案中,细胞因子变体多肽展现出介于约2倍与约20倍之间或介于约20倍与约200倍之间的最大效力减弱。在某些实施方案中,细胞因子变体多肽或包含它们的融合蛋白质展现出介于约2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍或约20倍之间的效力减弱。如其他地方所述,IL12具有高毒性。因此,在某些实施方案中可能需要使用具有降低的效力的变体IL12多肽。在某些实施方案中,变体可表现出如与对照相比降低的功能活性或降低的效力,例如,如与适当对照相比降低介于约2倍和约100倍之间,或约2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍或200倍的活性或效力。细胞因子功能活性可以使用本领域已知的和本文描述的测定,诸如脾细胞、NK或CTLL-2测定或CD8+T细胞的IFNγ释放来测量。

[0137] 测量IL12家族细胞因子的功能活性的方法是本领域已知的。此类方法包括本领域已知的测定,诸如用于确定细胞对IL12或IL23的反应性,从而测量作为将适当的细胞与IL12或IL23温育的反应的细胞因子产生、测量受体结合和信号转导激活的测定。

[0138] 在某些实施方案中,IL12活性是通过测量对IL12敏感的细胞或细胞系的细胞增殖来确定的。可用于测试IL12活性的例示性细胞包括CTLL-2或NK或CD8细胞。此类增殖测定包括如例如由Khatri A等人.2007.J Immunol Methods 326(1-2):41-53;Puskas J,等人.2011.Immunology 133(2):206-220;Hodge DL.,等人.J Immunol.2002年6月15日;168(12):6090-8描述的测定。本领域已知的测定可根据需要被修饰成适合被测试的特定细胞因子,诸如IL12或IL23。

[0139] 简而言之,用于测量IL12功能活性的CTLL-2测定可包括按1:5连续稀释待测试的重组蛋白质(例如,如本文所述的经掩蔽的融合蛋白质)于50μL培养基中,然后向96孔板中每孔添加于100μL培养基中的4×10^4CTLL-2细胞,并在37℃下在5％ CO_2气氛下温育18-22小时。在此时间结束时,添加75μg/孔的噻唑蓝溴化四唑(MTT;Sigma-Aldrich)并将板在37℃下在5％ CO_2下温育8小时。用100μL/孔的加HCl酸化的10％ SDS(Gibco)裂解细胞,在37℃下在5％ CO_2下温育过夜,并在570nm处读取吸光度。

[0140] 简而言之,用于测量IL12功能活性的NK测定可以如下进行:将NK细胞在不含IL2的生长培养基(测定培养基)中培养12小时,收获并离心以沉淀细胞。将细胞在测定培养基中重悬至4亿个细胞/毫升,并向测定板添加每孔10,000个细胞或25uL。将变体测试样本直接在384孔黑色平底测定板中在25ul中按1:5稀释度按一式三份滴定。包括重组细胞因子(例如,人IL12(Peprotech,Rocky Hill,NJ))作为阳性对照。将板在37℃和5％二氧化碳温育3天。温育后,将25uL/孔的上清液转移到非结合的384孔板(Greiner-Bio-One,Kremsmü

nster,Austria)并储存在-80℃下。移除上清液后,可以将CellTiter-Glo®发光细胞活力试剂(Promega,Madison,WI)或等效试剂以25uL/孔添加到板中,并且在室温下避光温育30分钟。温育后,诸如在BioTek synergy H1读板器(BioTek,Winooski,VT)上扫描板发光。

[0141] 在一个实施方案中,可以通过测量由IL12与其受体相互作用(例如,IL12Rβ2和IL12Rβ1与IL12 p35-p40异二聚体的相互作用)触发的细胞信号转导级联来确定IL12活性。在一个实施方案中,IL12活性是使用本领域已知并且例如从Abeomics,San Diego,CA USA可商购获得的测定法通过测量STAT4信号转导活性来确定的。

[0142] 在一个实施方案中,IL12活性可以通过测量用IL12蛋白质刺激后CD8+T细胞的IFNγ释放来确定,如实施例3中所述。

[0143] 掩蔽部分

[0144] 本文所述的经掩蔽的IL12或IL23融合蛋白质包含阻断或减少IL12或IL23与其一种或多种天然受体结合以及/或者阻断或减少IL12或IL23的功能活性的掩蔽部分(MM)。在一些实施方案中,本文所述的经掩蔽的IL12或IL23融合蛋白质包含(i)包含C末端融合至包含经修饰的p40结构域的IL12多肽的第一Fc多肽的第一融合多肽,和(ii)包含C末端融合至MM的第二Fc多肽的第二融合多肽,其中该两个Fc多肽形成二聚体Fc结构域复合物(例如,异二聚体Fc结构域)。

[0145] 在某些实施方案中,该MM特异性地结合至IL12。“特异性地结合”、“特异性结合”或“选择性结合”意指该结合对所需抗原具有选择性(就本公开而言,该MM特异性地结合IL12或IL23),并且可以与不需要的或非特异性的相互作用相区分。MM与IL12/IL23结合以及阻断或减少IL12/IL23活性的能力可以通过酶联免疫吸附测定(ELISA)或本领域技术人员熟悉的其他技术,例如,表面等离子体共振(SPR)技术(在BIAcore仪器上进行分析)(Liljeblad等人,Glyco J 17,323-329(2000))和传统结合测定(Heeley,Endocr Res 28,217-229(2002))进行测量。在一个实施方案中,MM与不相关蛋白质结合的程度小于该MM与IL12/IL23结合的约10%,如例如通过SPR所测量。在某些实施方案中,结合至IL12/IL23或其生物活性片段的MM的解离常数(K_d)为<1μM、<100nM、<10nM、<1nM、<0.1nM、<0.01nM或<0.001nM(例如,10^{-8}M或更小,例如,为从10^{-8}M至10^{-13}M,例如,从10^{-9}M至10^{-13}M)。

[0146] 本公开的MM一般是指这样的氨基酸序列,该氨基酸序列存在于经掩蔽的细胞因子融合蛋白质中,并且被定位成使得它降低该细胞因子在经掩蔽的细胞因子融合蛋白质背景内特异性地结合其靶标和/或发挥作用的能力。在一些情况下,该MM通过接头与经掩蔽的细胞因子融合蛋白质偶联。

[0147] 当本文所述的IL12融合蛋白质包含MM并且处于存在靶标(例如,IL12受体)的情况下时,该经掩蔽的IL12融合蛋白质与IL12受体的特异性结合如与未经掩蔽的亲本IL12融合蛋白质的特异性结合相比减少或受到抑制。

[0148] 当本文所述的IL12融合蛋白质包含MM并且处于存在靶标(例如,IL12受体)的情况下时,该经掩蔽的IL12融合蛋白质的效力如与未经掩蔽的亲本IL12融合蛋白质相比减少或受到抑制。因此,该MM起到阻断IL12的功能活性的作用。

[0149] 在IL12 HetFc融合蛋白质的某些实施方案中,如本文进一步所描述的,该MM可以直接地或经由接头偶联到二聚体(例如,异二聚体)Fc结构域的第一Fc多肽,并且该IL12多肽可以直接地或经由接头偶联到二聚体Fc结构域的第二Fc多肽。在此种构型中,例如,如图

2B中所例示,该MM可以特异性地与融合蛋白质的IL12部分相互作用或结合。此种结合可以包括非共价结合或由其组成。该MM与融合蛋白质内的IL12的相互作用可以通过在与相应的“未掩蔽的”IL12多肽相比时抑制或至少降低IL12与其同源受体中的至少一种同源受体相互作用的能力来掩蔽IL12。该MM的此种掩蔽活性可以进一步抑制或减少任何由IL12激活的受体介导的下游事件,因此MM活性可以通过本文描述的和本领域已知的各种方法(例如,酶联免疫吸附剂测定法(ELISA)或本领域技术人员熟悉以及本文描述的其他技术)来测量。

[0150] 在某些实施方案中,本文中经掩蔽的IL12融合蛋白质与IL12受体的解离常数(K_d)通常大于不含MM的相同IL12融合蛋白质的K_d。相反,该经掩蔽的IL12融合蛋白质对IL12受体的结合亲和力通常低于未用MM修饰的IL12融合蛋白质的结合亲和力。

[0151] 在某些实施方案中,MM对IL12多肽的K_d通常大于IL12多肽对IL12受体的K_d。相反,在某些实施方案中,MM对IL12多肽的结合亲和力通常低于IL12多肽对IL12受体的结合亲和力。

[0152] 应当注意的是,由于接近(即当MM通过接头融合至IL12融合蛋白质时),MM对IL12多肽的表观“亲和力”大于当MM未融合至IL12融合蛋白质时的表观“亲和力”。

[0153] 如与未用MM修饰的IL12多肽相比,MM可以抑制经掩蔽的IL12融合蛋白质与IL12受体的结合,并从而抑制融合蛋白质的IL12功能活性。MM可以与IL12多肽结合并抑制该IL12多肽与其受体的结合。MM可以在空间上抑制经掩蔽的IL12融合蛋白质与IL12受体的结合。MM可以在变构上抑制经掩蔽的IL12融合蛋白质与IL12受体的结合。在那些实施方案中,当经掩蔽的IL12融合蛋白质处于存在IL12受体的情况下时,当在体内或通过表面等离子体共振(SPR)测量时,在至少2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84、96小时或5、10、15、30、45、60、90、120、150、180天或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12个月或更长时间内不存在或实质上不存在经掩蔽的IL12融合蛋白质与IL12受体的结合,或者存在如与未掩蔽的IL12融合蛋白质的结合(即亲本IL12的结合)相比不超过0.001%、0.01%、0.1%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%或50%的经掩蔽的IL12融合蛋白质与靶标的结合。

[0154] 如与未用MM修饰的IL12多肽相比,MM可以抑制经掩蔽的IL12融合蛋白质与IL12受体的结合,并从而抑制融合蛋白质的IL12功能活性。MM可以与IL12多肽结合并抑制该IL12多肽与其受体的结合。MM可以在空间上抑制经掩蔽的IL12融合蛋白质与IL12受体的结合。MM可以在变构上抑制经掩蔽的IL12融合蛋白质与IL12受体的结合。在那些实施方案中,当经掩蔽的IL12融合蛋白质处于存在IL12受体的情况下时,当在体外测定诸如报告基因测定(参见,例如实施例4)中测量时,在至少约2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84、96小时或更长时间内不存在或实质上不存在经掩蔽的IL12融合蛋白质与IL12受体的结合,或者存在如与未掩蔽的IL12融合蛋白质的结合(即亲本IL12的结合)相比不超过0.001%、0.01%、0.1%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%或50%的经掩蔽的IL12融合蛋白质与靶标的结合。

[0155] 在某些实施方案中,该MM不是IL12多肽的天然结合伴侣。该MM可以是IL12多肽的经修饰的结合伴侣,其含有至少略微地降低与IL12多肽的亲和力和/或亲合力的氨基酸变化。在一些实施方案中,该MM不含或实质上不含与IL12受体的同源性。在其他实施方案中,该MM与IL12受体的相似性不超过5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、

55％、60％、65％、70％、75％或80％。

[0156] 当该IL12融合蛋白质处于“经掩蔽的”状态时,即使在存在IL12受体的情况下,该MM也会干扰或抑制经掩蔽的IL12融合蛋白质与受体的结合。

[0157] 在各种实施方案中,本文中经掩蔽的IL12融合蛋白质的MM以非共价且可逆的方式与IL12多肽相互作用。因此,在某些实施方案中,本文描述了经掩蔽的IL12融合蛋白质,其可以包含具有受抑制或降低的IL12受体结合亲和力的经掩蔽的IL12多肽,并且该经掩蔽的IL12多肽可在体外或体内环境中的某些条件(例如,pH值、蛋白酶活性等)下变为未掩蔽的,如本文进一步描述的。因此,在一些实施方案中,本文中经掩蔽的IL12融合蛋白质可以暂时被掩蔽,并且在一段时间后,例如,在哺乳动物受试者的某些组织或器官(例如,肿瘤微环境)中可能存在的某些条件(诸如pH或蛋白酶活性)下变为未掩蔽的。条件性未掩蔽的IL12融合蛋白质可以引发其IL-12活性,该活性通常与固有未掩蔽的IL12融合蛋白质的IL12活性相当。然而,由于本文融合蛋白质中使用的IL12多肽包含经修饰的p40结构域,因此在某些条件下未掩蔽的IL12融合蛋白质的IL12功能活性与使用未掩蔽的野生型IL12多肽的融合蛋白质相比仍可能降低。

[0158] MM的结构特性将根据多种因素诸如干扰细胞因子结合和/或活性所需的最小氨基酸序列,感兴趣的细胞因子-细胞因子受体蛋白质结合对,细胞因子和融合蛋白质的大小,蛋白酶可切割接头(PCL)的长度,PCL是否位于MM内、是否位于Fc和细胞因子之间、是否位于Fc和掩蔽体之间,是否存在另外的接头等而变化。

[0159] MM可以以多种不同的形式提供。在某些实施方案中,MM可被选定作为细胞因子的已知结合伴侣。在某些实施方案中,MM是这样的MM,当该MM共价连接在经掩蔽的细胞因子融合蛋白质中时该MM掩蔽细胞因子而使其不与靶标结合,但是当该MM未共价连接在细胞因子融合蛋白质中时该MM不会实质性地或显著地干扰或竞争靶标与细胞因子多肽的结合。在具体实施方案中,MM不含细胞因子的天然存在的结合伴侣的氨基酸序列。

[0160] MM抑制细胞因子偶联时的结合或活性的效率可以通过SPR或如本文所述并在别处详细概述(参见例如NK、CTLL-2或CD8+T细胞IFNγ释放测定)以及如本文在本公开的实施例部分中所述的基于细胞的测定来测量。MM的掩蔽效率可以通过至少以下两个参数确定:MM对细胞因子或包含该细胞因子的融合蛋白质的亲和力以及MM相对于细胞因子与其受体的结合界面的空间关系。

[0161] 关于亲和力,举例来说,一个MM可能具有高亲和力但仅部分地抑制细胞因子与其受体的结合,而另一个MM可能对细胞因子具有较低亲和力但完全地抑制靶标结合。对于短时间段,较低亲和力的MM可能会表现出足够的掩蔽;相反,随着时间的推移,相同的MM可能会被靶标取代(由于对细胞因子的亲和力不足)。

[0162] 以类似的方式,两种具有相同亲和力的MM根据它们促进对细胞因子与其受体结合的抑制的程度可能会表现出不同程度的掩蔽。在另一个实例中,一种具有高亲和力的MM可能会结合并改变细胞因子或包含该细胞因子的融合蛋白质的结构,从而使得与其靶标的结合被完全抑制,而另一种具有高亲和力的MM可能仅部分地抑制结合。因此,有效MM的发现通常不仅仅基于亲和力,还可以包括如与适当对照相比对经掩蔽的细胞因子融合蛋白质的效力的测量。

[0163] 如本文所述,在各种实施方案中,IL12融合蛋白质的MM可以包含特异性地结合到

IL12的抗体或其抗原结合片段,或由其组成。因此,在一些实施方案中,MM可以是单链Fv(scFv)抗体片段。示例性的scFv MM包含SEQ ID NO:2-3中提供的VH和VL氨基酸序列。在某些实施方案中,例示性MM包含SEQ ID NO:4-9中所列出的VHCDR和VLCDR。

[0164] 抗体及其抗原结合片段

[0165] 在某些实施方案中,在本文的经掩蔽的融合蛋白质中使用的掩蔽部分包含抗体或抗体的抗原结合片段。抗原结合片段包括但不限于抗体的轻链和/或重链的可变区或高变区(V_L、V_H)、可变片段(Fv)、Fab'片段、F(ab')2片段、Fab片段、单链抗体(scAb)、单链可变区(scFv)、互补性决定区(CDR)、结构域抗体(dAb)、单结构域重链免疫球蛋白质、单结构域轻链免疫球蛋白质,或本领域已知的含有能够结合靶蛋白质或靶蛋白质上表位的抗原结合片段的其他多肽。

[0166] 例示性的抗原结合结构域衍生自结合IL12和/或IL23的抗体。

[0167] 在一个实施方案中,MM包含特异性地结合至IL12的抗体或其抗原结合片段。在一个实施方案中,MM包含特异性地结合至IL23的抗体或其抗原结合片段。在某些实施方案中,MM包含特异性地结合IL12或IL23的scFv。

[0168] 在一些实施方案中,MM可以通过筛选结合至IL12或IL23的抗体或其抗原结合片段来鉴定。候选MM可以以多种构型融合在细胞因子融合蛋白质中(参见例如图1A至图1B以及本文的实施例),并且可对它们降低细胞因子结合、降低IL12效力的能力和/或使切割后细胞因子活性恢复的能力进行筛选。抗体可衍生自本领域已知的结合至IL12和/或IL23的抗体。此类抗体是已知的并且可从例如文献中获得或可在TABS治疗抗体数据库中(参见tabs(dot)craic(dot)com)找到。用于本文经掩蔽的IL12融合蛋白质的例示性抗体包括布雷奴单抗(US6914128;US7504485;US8168760;US8629257;US9035030);乌司奴单抗(US6902734;US7279157;U8080247;US7736650;US8420081;US7887801;US8361474;US8084233;US9676848)、AK101、PMA204(参见例如,US8563697)、6F6(参见例如,US8563697;Clarke AW等人,2010MAbs 2:539-49)。h6F6抗体结合p40上的不同表位,而不是布雷奴单抗或乌司奴单抗。

[0169] 在一个实施方案中,MM衍生自包含结合至人IL12和人IL23的抗原结合结构域的抗体。在另一个实施方案中,该抗体结合作为单体(人IL12p40)和作为同二聚体(人IL12p80)存在的人IL12p40,并且该抗体抑制人IL12与人IL12Rβ2的结合和人IL23与人IL23R的结合,但不抑制人IL12或人IL23或人IL12p40或人IL12p80与人IL12Rβ1的结合。

[0170] 可以根据需要对结合至IL12和/或IL23的抗体或其抗原结合片段进行进一步修饰以增加或降低亲和力,然后进一步测试它们的如本文所述的掩蔽和降低效力的能力。

[0171] 在某些实施方案中,可以使用此类如例如WO2010/081173和美国专利第10,118,961号中所述的方法,对候选肽进行筛选以鉴定能够结合IL12或IL23的MM肽。此类方法包括提供肽支架文库,其中每个肽支架均包含:跨膜蛋白质(TM)和候选肽;使IL12或IL23与该文库接触;鉴定至少一种能够结合IL12或IL23多肽的候选肽;以及确定候选肽对IL12或IL23的解离常数(K_d)是否介于1-10nM之间。

[0172] 在各种实施方案中,IL12融合蛋白质的MM包含抗体的单链可变片段(scFv)或由其组成。在此类实施方案中,该scFv MM可以包含重链可变结构域(V_H)和轻链可变结构域(V_L),该重链可变结构域包含SEQ ID NO:4-6中列出的互补决定区(CDR)序列,该轻链可变结构域

包含SEQ ID NO:7-9中列出的互补决定区(CDR)序列。因此,在一些实施方案中,该scFv MM可以包含V_H结构域和V_L结构域或由其组成,该VH结构域包含与SEQ ID NO:2中列出的氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列或由其组成,该VL结构域包含与SEQ ID NO:3中列出的氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。

[0173] 接头和蛋白酶可切割接头

[0174] 在本公开的融合蛋白质的某些实施方案中,一种或多种不同的组分或结构域彼此直接融合而没有接头。例如,在某些实施方案中,Fc结构域可以直接融合至MM或直接融合至p35或p40多肽。然而,在某些实施方案中,该经掩蔽的细胞因子融合构建体包含一种或多种不同长度的接头。肽接头允许融合蛋白质排列从而形成功能性掩蔽部分并且允许细胞因子在从较大/完整的融合蛋白质上被切割时保留细胞因子活性。

[0175] "接头"是联接或连接其他肽或多肽的肽,例如约2至约150个氨基酸的接头。本公开的肽接头可以包含约2个至约150个氨基酸、约5个至约100个氨基酸、约5个至约75个氨基酸、约5个至约50个氨基酸、约5个至约40个氨基酸、约5个至约30个氨基酸、或约5个至约20个氨基酸的氨基酸序列,或由其组成。在本公开的经掩蔽的细胞因子融合蛋白质中,接头可被用于将融合蛋白质的任何组分(诸如Fc多肽)与MM融合,或者接头可将Fc多肽联接至细胞因子多肽,例如,IL12的p35或p40。在某些实施方案中,接头可存在于MM内,诸如在MM是scFv并且接头联接VH和VL的情况下。

[0176] 用于本文所述的融合蛋白质的示例性接头包括属于(Gly_nSer)家族的接头,诸如$(Gly_3Ser)_n(Gly_4Ser)_1$、$(Gly_3Ser)_1(Gly_4Ser)_n$、$(Gly_3Ser)_n(Gly_4Ser)_n$或$(Gly_4Ser)_n$,其中n是1至5的整数。在某些实施方案中,适用于连接不同结构域的肽接头包括包含甘氨酸-丝氨酸接头的序列,例如但不限于,$(G_mS)_n$-GG、(SGn)m、(SEGn)m,其中m和n介于0-20之间。

[0177] 在某些实施方案中,接头可以是由以下获得、衍生或设计的氨基酸序列:抗体铰链区序列、将结合结构域连接至受体的序列,或将结合结构域连接至细胞表面跨膜区或膜锚着点的序列。在一些实施方案中,接头可以具有至少一个能够在生理条件或其他标准肽条件(例如,肽纯化条件、用于肽储存的条件)下参与至少一个二硫键的半胱氨酸。在某些实施方案中,与免疫球蛋白铰链肽相对应或相似的接头保留了与朝向该铰链的氨基末端布置的铰链半胱氨酸对应的半胱氨酸。在进一步的实施方案中,接头来自IgG1铰链并且已经被修饰成去除了任何半胱氨酸残基或者是具有对应于铰链半胱氨酸的一个半胱氨酸或两个半胱氨酸的IgG1铰链。

[0178] 除了提供间隔功能外,接头还可以提供适合于使本文未掩蔽的或经掩蔽的细胞因子融合蛋白质的一个或多个结构域正确地定向在融合蛋白质内以及在融合蛋白质与其一个或多个靶标之间或当中的柔性或刚性。进一步地,接头可以在施用于有此需要的受试者(诸如人)后在体外和体内支持全长融合蛋白质的表达和经纯化蛋白质的稳定性,并且优选地在这些受试者中是非免疫原性的或弱免疫原性的。在某些实施方案中,接头可包含人免疫球蛋白铰链、C型凝集素的茎区、II型膜蛋白质家族的部分或全部。接头长度范围为约2个至约100个氨基酸,或约5个至约75个氨基酸,或约10个至约50个氨基酸,或约2个至约40个氨基酸,或约8个至约20个氨基酸、约10个至约60个氨基酸、约10个至约30个氨基酸或约15个至约25个氨基酸。

[0179] 在某些实施方案中,供本文使用的接头可包含“改变的野生型免疫球蛋白铰链区”或“改变的免疫球蛋白铰链区”。此类改变的铰链区是指(a)具有至多30%的氨基酸变化(例如,至多25%、20%、15%、10%或5%的氨基酸取代或删除)的野生型免疫球蛋白铰链区,(b)具有至多30%的氨基酸变化(例如,至多25%、20%、15%、10%或5%的氨基酸取代或删除)的长度为至少10个氨基酸(例如,至少12个、13个、14个或15个氨基酸)的野生型免疫球蛋白铰链区的一部分,或(c)包含核心铰链区的野生型免疫球蛋白铰链区的一部分(该部分可以是4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个,或至少4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个氨基酸长度)。在某些实施方案中,野生型免疫球蛋白铰链区(诸如包含上部区和核心区的IgG1铰链)中的一个或多个半胱氨酸残基可以被一个或多个其他氨基酸残基(例如,一个或多个丝氨酸残基)取代。改变的免疫球蛋白铰链区可替代地或附加地具有野生型免疫球蛋白铰链区(诸如包含上部和核心区的IgG1铰链)的脯氨酸残基被另一个氨基酸残基(例如,丝氨酸残基)的取代。

[0180] 可被用作连接区域的替代铰链和接头序列可以由连接IgV样或IgC样结构域的细胞表面受体部分制成。细胞表面受体含有多个串联的IgV样结构域的IgV样结构域之间的区域和细胞表面受体含有多个串联的IgC样区域的IgC样结构域之间的区域也可以用作连接区域或接头肽。在某些实施方案中,铰链和接头序列具有5个至60个氨基酸的长度,并且可以主要是柔性的,但也可以提供更刚性的特性,可以主要包含具有最小β折叠结构的螺旋结构。

[0181] 某些例示性接头提供在SEQ ID No:132-135中。在如SEQ ID No:58-89中所列出(也参见表M)的本文各种经掩蔽的细胞因子和亲本未经掩蔽的融合蛋白质的上下文中也提供了例示性接头。

[0182] 待用本文的经掩蔽的细胞因子融合蛋白质靶向的疾病的非限制性实例包括:所有类型的癌症,诸如但不限于乳腺癌,包括非限制性实例三阴乳腺癌、ER/PR+乳腺癌和Her2+乳腺癌、肺癌(例如,非小细胞鳞状细胞癌和腺癌)、结肠直肠癌、胃癌、胶质母细胞瘤、卵巢癌、子宫内膜癌、肾癌、肉瘤、皮肤癌、宫颈癌、肝癌、膀胱癌、胆管上皮细胞癌、前列腺癌、黑色素瘤、头颈癌(例如,头颈鳞状细胞癌)、食管癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、胰腺癌、白血病(包括T细胞急性淋巴母细胞性白血病(T-ALL))、淋巴母细胞性疾病(包括多发性骨髓瘤)和实体瘤。适应症还包括骨病或癌症转移(无论原发性肿瘤起源如何)。其他例示性疾病包括类风湿性关节炎、克罗恩(Crohn)病、SLE、心血管损伤和缺血。在某些实施方案中,该目标疾病选自由结肠直肠癌、胰腺癌、头颈癌、食管癌、膀胱癌、宫颈癌和肺癌(例如,非小细胞鳞状细胞癌和腺癌)组成的组。

[0183] 在一个实施方案中,该两个异源多肽选自细胞因子多肽或其功能片段、抗体、抗体的抗原结合片段和Fc结构域。在另一个实施方案中,该重组多肽包含细胞因子多肽或其功能片段、MM和Fc结构域。在某些其他实施方案中,该MM是结合至该细胞因子或细胞因子受体多肽或其细胞因子结合片段的单链Fv(scFv)抗体片段。在进一步的实施方案中,该重组多肽包含结合靶标的抗体或其抗原结合片段,以及结合至该抗体或其抗原结合片段并阻断该抗体或其抗原结合片段结合至靶标的MM。

[0184] 在一些实施方案中,本公开的IL12融合蛋白质包含一个或多个可切割的肽接头。此类一个或多个可切割接头可由于在某些条件下的反应性(例如此类接头可以是蛋白酶敏

感的、酸敏感的或还原敏感的)而是可切割的。在各种实施方案中,本文的可切割接头包含作为蛋白酶的切割识别序列的氨基酸序列,即蛋白酶可切割接头。许多此类切割识别序列是本领域已知的。在一些实施方案中,可以使用被存在于靶细胞诸如癌细胞附近的细胞外基质中的蛋白酶识别和切割的氨基酸序列。细胞外肿瘤相关蛋白酶的示例包括例如纤溶酶、基质金属蛋白酶(MMP)、弹性蛋白酶和激肽释放酶相关肽酶。

[0185] Fc结构域

[0186] 在一些实施方案中,本文所述的经掩蔽的IL12融合蛋白质包含Fc,并且在一些实施方案中,该Fc是二聚体Fc。二聚体Fc结构域可以是异二聚体Fc结构域,如本文所述。融合蛋白质的此种二聚体Fc结构域可以包含第一和第二Fc多肽,其中第一Fc多肽可以偶联到MM,并且第二Fc多肽可以偶联到IL12多肽,例如,如图2B中所示。

[0187] 本文的术语“Fc结构域”或“Fc区”被用于定义至少含有该恒定区的一部分的免疫球蛋白重链的C末端区域。该术语包括天然序列Fc区和变体Fc区。除非本文另有说明,否则Fc区或恒定区中的氨基酸残基的编号是根据EU编号系统(也称为EU索引,如Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991)中所述)。

[0188] 如本文所用的二聚体Fc的“Fc多肽”是指形成二聚体Fc结构域的两个多肽中的一个,即包含能够稳定地自我缔合的免疫球蛋白重链的C末端恒定区的多肽。例如,二聚体IgG Fc区的Fc多肽包含IgG CH2和IgG CH3恒定结构域序列。

[0189] Fc结构域包含CH3结构域或CH3结构域和CH2结构域。该CH3结构域包含两个CH3序列,即来自该二聚体Fc的两个Fc多肽中的每一个Fc多肽的CH3序列。该CH2结构域包含两个CH2序列,即来自该二聚体Fc的两个Fc多肽中的每一个Fc多肽的CH2序列。

[0190] 在一些方面,该Fc包含至少一个或两个CH3序列。在一些方面,该Fc在有或没有一个或多个接头的情况下偶联到IL12多肽构建体(例如,C末端偶联到第一Fc多肽)和/或掩蔽部分(MM)(例如,C末端偶联到第二Fc多肽)。在一些方面,该Fc是人Fc。在一些方面,该Fc是人IgG或IgG1 Fc。在一些方面,该Fc是异二聚体Fc。在一些方面,该Fc包含至少一个或两个CH2序列。

[0191] 在一些方面,该Fc在该CH3序列中的至少一个CH3序列中包含一种或多种修饰。在一些方面,该Fc在该CH2序列中的至少一个CH2序列中包含一种或多种修饰。在一些方面,Fc是单一多肽。在一些方面,Fc是多个肽,例如,两个多肽。

[0192] 在一些方面,Fc是以下中描述的Fc:2011年11月4日提交的专利申请PCT/CA2011/001238(WO2012058768;美国专利第9,562,109号和第10,875,931号)或2012年11月2日提交的PCT/CA2012/050780(WO2013063702);美国专利第9,574,010号、第9,732,155号、第10,457,742号和美国专利申请第US2020008741号,其全部通过引用方式以其整体并入本文。

[0193] 经修饰的CH3结构域

[0194] 在一些方面,本文所述的经掩蔽的IL12融合蛋白质包含异二聚体Fc(“HetFc”),其包含已被不对称修饰的经修饰的CH3结构域。异二聚体Fc可以包含两个重链恒定结构域多肽:第一Fc多肽和第二Fc多肽,该第一Fc多肽和第二Fc多肽可以互换使用,条件是该Fc结构域包含一个第一Fc多肽和一个第二Fc多肽。通常,该第一Fc多肽包含第一CH3序列,并且该第二Fc多肽包含第二CH3序列。在本文的某些图表和其他地方,第一Fc多肽和第二Fc多肽可

以称为Fc多肽A和Fc多肽B(或简称为链A或链B),它们同样可以互换使用,条件是该Fc结构域或区域包含一个Fc多肽A和一个Fc多肽B。在一些情况下,包含一个Fc多肽A和一个Fc多肽B的Fc结构域可以称为变体,并且该变体可以用特定变体编号指代以将该变体与其他Fc变体区分开。

[0195] 当包含一个或多个以不对称方式引入的氨基酸修饰的两个CH3序列二聚化时,该两个CH3序列通常产生异二聚体Fc而不是同二聚体。如本文所用,“不对称氨基酸修饰”是指任何这样的修饰,其中第一CH3序列上特定位置处的氨基酸与第二CH3序列上相同位置处的氨基酸不同,并且该第一和第二CH3序列优先配对从而形成异二聚体而不是同二聚体。这种异二聚化可能是每个序列上相同的相应氨基酸位置处的两个氨基酸中仅一个氨基酸被修饰的结果,或者是每个该第一和第二CH3序列的相同相应位置处的每个序列上的两个氨基酸都被修饰的结果。异二聚体Fc的该第一和第二CH3序列均可包含一个或多于一个不对称氨基酸修饰。

[0196] 表D提供了对应于全长人IgG1重链的氨基酸231至447的人IgG1 Fc序列的氨基酸序列。该CH3序列包含全长人IgG1重链的氨基酸341-447。

[0197] 通常,Fc可以包括两个能够二聚化的连续重链序列(A和B)。在一些方面,Fc的一个或两个序列在以下使用EU编号的区位处包含一个或多个突变或修饰:L351、F405、Y407、T366、K392、T394、T350、S400和/或N390。在一些方面,Fc包括表D中所示的变体序列。在一些方面,Fc包括变体1A-B的突变。在一些方面,Fc包括变体2A-B的突变。在一些方面,Fc包括变体3A-B的突变。在一些方面,Fc包括变体4A-B的突变。在一些方面,Fc包括变体5A-B的突变。

[0198]

表 D: IgG1 Fc 序列		
人 IgG1 Fc 序列 231-447 (EU 编号)	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:136)	
变体 IgG1 Fc 序列 (231-447)	**链**	**突变**
1	A	L351Y_F405A_Y407V
1	B	T366L_K392M_T394W
2	A	L351Y_F405A_Y407V
2	B	T366L_K392L_T394W
3	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
3	B	T350V_T366L_K392L_T394W
4	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
4	B	T350V_T366L_K392M_T394W
5	A	T350V_L351Y_S400E_F405A_Y407V

[0199]

5	B	T350V_T366L_N390R_K392M_T394W

[0200] 该第一和第二CH3序列可以包含如本文参考全长人IgG1重链的氨基酸231至447描

述的氨基酸突变。在一个实施方案中,该异二聚体Fc包含经修饰的CH3结构域,其第一CH3序列在位置F405和Y407处具有氨基酸修饰,并且第二CH3序列在位置T394处具有氨基酸修饰。在一个实施方案中,该异二聚体Fc包含经修饰的CH3结构域,其第一CH3序列具有一个或多个选自L351Y、F405A和Y407V的氨基酸修饰,并且该第二CH3序列具有一个或多个选自T366L、T366I、K392L、K392M和T394W的氨基酸修饰。

[0201] 在一个实施方案中,异二聚体Fc包含经修饰的CH3结构域,其第一CH3序列在位置L351、F405和Y407处具有氨基酸修饰,并且第二CH3序列在位置T366、K392和T394处具有氨基酸修饰,并且该第一或第二CH3序列中的一个CH3序列还在位置Q347处包含氨基酸修饰,并且另一个CH3序列还在位置K360处包含氨基酸修饰。在另一个实施方案中,异二聚体Fc包含经修饰的CH3结构域,其第一CH3序列在位置L351、F405和Y407处具有氨基酸修饰,并且第二CH3序列在位置T366、K392和T394处具有氨基酸修饰,该第一或第二CH3序列中的一个CH3序列还在位置Q347处包含氨基酸修饰,并且另一个CH3序列还在位置K360处包含氨基酸修饰,并且所述CH3序列中的一者或二者还包含氨基酸修饰T350V。

[0202] 在一个实施方案中,异二聚体Fc包含经修饰的CH3结构域,其第一CH3序列在位置L351、F405和Y407处具有氨基酸修饰,并且第二CH3序列在位置T366、K392和T394处具有氨基酸修饰,并且所述第一和第二CH3序列中的一个CH3序列还包含D399R或D399K的氨基酸修饰,并且另一个CH3序列包含T411E、T411D、K409E、K409D、K392E和K392D中的一者或多者。在另一个实施方案中,异二聚体Fc包含经修饰的CH3结构域,其第一CH3序列在位置L351、F405和Y407处具有氨基酸修饰,并且第二CH3序列在位置T366、K392和T394处具有氨基酸修饰,所述第一或第二CH3序列中的一个CH3序列还包含D399R或D399K的氨基酸修饰,并且另一个CH3序列包含T411E、T411D、K409E、K409D、K392E和K392D中的一者或多者,并且所述CH3序列中的一者或二者还包含氨基酸修饰T350V。

[0203] 在一个实施方案中,异二聚体Fc包含经修饰的CH3结构域,其第一CH3序列在L351、F405和Y407处具有氨基酸修饰,并且第二CH3序列在位置T366、K392和T394处具有氨基酸修饰,其中所述CH3序列中一者或两者还包含T350V的氨基酸修饰。

[0204] 在一个实施方案中,异二聚体Fc包含经修饰的CH3结构域,该经修饰的CH3结构域包含以下氨基酸修饰,其中“A”代表针对该第一CH3序列的氨基酸修饰,并且“B”代表针对该第二CH3序列的氨基酸修饰:A:L351Y_F405A_Y407V、B:T366L_K392M_T394W、A:L351Y_F405A_Y407V、B:T366L_K392L_T394W、A:T350V_L351Y_F405A_Y407V、B:T350V_T366L_K392L_T394W、A:T350V_L351Y_F405A_Y407V、B:T350V_T366L_K392M_T394W、A:T350V_L351Y_S400E_F405A_Y407V,和/或B:T350V_T366L_N390R_K392M_T394W。

[0205] 该一个或多个不对称氨基酸修饰可以促进异二聚体Fc的形成,其中该异二聚体CH3结构域具有与野生型同二聚体CH3结构域相当的稳定性。在一个实施方案中,该一个或多个不对称氨基酸修饰促进异二聚体Fc结构域的形成,其中该异二聚体Fc结构域具有与野生型同二聚体Fc结构域相当的稳定性。在一个实施方案中,该一个或多个不对称氨基酸修饰促进异二聚体Fc结构域形成,其中异二聚体Fc结构域具有在差示扫描量热法研究中经由熔融温度(Tm)所观测到的稳定性,并且其中该熔融温度在由对相应的对称野生型同二聚体Fc结构域所观测到的熔融温度的4℃以内。在一些方面,该Fc在至少一个CH3序列中包含一个或多个促进稳定性与野生型同二聚体Fc相当的异二聚体Fc形成的修饰。

[0206] 经修饰的CH2结构域

[0207] 在某些实施方案中,考虑用于本文的Fc结构域是具有经修饰的CH2结构域的Fc。在一些实施方案中,考虑用于本文的Fc结构域是具有经修饰的CH2结构域的IgG Fc,其中对该CH2结构域的修饰导致与一个或多个Fc受体(FcR)(诸如Fcγ RI、Fcγ RII和Fcγ RIII亚类的受体)的结合发生改变。

[0208] 针对该CH2结构域的选择性地改变Fc对不同Fcγ受体的亲和力的许多氨基酸修饰是本领域已知的。导致结合增加的氨基酸修饰和导致结合减少的氨基酸修饰都可用于某些适应症。例如,增加Fc对Fcγ RIIIa(激活的受体)的结合亲和力导致抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)增加,这进而导致靶细胞裂解增加。在一些情况下,降低与Fcγ RIIb(抑制性受体)的结合同样可能是有益的。在某些适应症中,可能需要降低或消除ADCC和补体介导的细胞毒性(CDC)。在此类情况下,包含导致与Fcγ RIIb的结合增加的氨基酸修饰或者降低或消除Fc区与所有Fcγ受体的结合的氨基酸修饰("敲除"变体)的经修饰的CH2结构域可能是有用的。

[0209] 针对CH2结构域的改变Fcγ受体对Fc的结合的氨基酸修饰的实例包括但不限于以下:S298A/E333A/K334A和S298A/E333A/K334A/K326A(增加对Fcγ RIIIa的亲和力)(Lu,等人,2011,J Immunol Methods,365(1-2):132-41);F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L(增加对Fcγ RIIIa的亲和力)(Stavenhagen,等人,2007,Cancer Res,67(18):8882-90);F243L/R292P/Y300L/L235V/P396L(增加对Fcγ RIIIa的亲和力)(Nordstrom JL,等人,2011,Breast Cancer Res,13(6):R123);F243L(增加对Fcγ RIIIa的亲和力)(Stewart,等人,2011,Protein Eng Des Sel.,24(9):671-8);S298A/E333A/K334A(增加对Fcγ RIIIa的亲和力)(Shields,等人,2001,J Biol Chem,276(9):6591-604);S239D/I332E/A330L and S239D/I332E(增加对Fcγ RIIIa的亲和力)(Lazar,等人,2006,Proc Natl Acad Sci USA,103(11):4005-10),以及S239D/S267E和S267E/L328F(增加对Fcγ RIIb的亲和力)(Chu,等人,2008,Mol Immunol,45(15):3926-33)。

[0210] 影响Fc与Fcγ受体结合的另外的修饰描述于Therapeutic Antibody Engineering(Strohl&Strohl,Woodhead Publishing series in Biomedicine No 11,ISBN 1 907568 37 9,2012年10月,第283页)中。

[0211] 在某些实施方案中,经掩蔽的或未经掩蔽的IL12融合蛋白质包含基于具有经修饰的CH2结构域的IgG Fc的支架,其中该经修饰的CH2结构域包含一个或多个导致Fc区与所有Fcγ受体的结合降低或消除的氨基酸修饰(即"敲除"变体)。

[0212] 各种出版物描述了已被用于工程改造抗体以产生"敲除"变体的策略(参见,例如,Strohl,2009,Curr Opin Biotech 20:685-691,和Strohl&Strohl,"Antibody Fc engineering for optimal antibody performance"In Therapeutic Antibody Engineering,Cambridge:Woodhead Publishing,2012,第225-249页)。这些策略包括通过糖基化修饰(以下更详细地描述)、使用IgG2/IgG4支架,或在Fc的铰链或CH2结构域中引入突变来降低效应子功能(还参见美国专利公布第2011/0212087号、国际公布第WO 2006/105338号、美国专利公布第2012/0225058号、美国专利公布第2012/0251531号和Strop等人,2012,J.Mol.Biol.,420:204-219)。

[0213] 用于减少Fcγ R和/或补体与Fc的结合的已知氨基酸修饰的具体非限制性实例包

括表E中标识出的那些。

[0214] 表E:用于减少Fc γ 或补体与Fc的结合的修饰

[0215]

公司	突变
GSK	N297A
Ortho Biotech	L234A/L235A

[0216]

公司	突变
Protein Design labs	IgG2 V234A/G237A
Wellcome Labs	IgG4 L235A/G237A/E318A
GSK	IgG4 S228P/L236E
Merck	IgG2 H268Q/V309L/A330S/A331S
Bristol-Myers	C220S/C226S/C229S/P238S
Seattle Genetics	C226S/C229S/E3233P/L235V/L235A
Medimmune	L234F/L235E/P331S

[0217] 另外的实例包括经工程改造为包括氨基酸修饰L234A/L235A/D265S的Fc区。此外,CH2结构域中的减少Fc与所有Fc γ 受体的结合的不对称氨基酸修饰描述于国际公布第2014/190441号中。

[0218] 在另外的实施方案中,某些氨基酸取代被引入到用于本公开Fc结构域的人IgG1 Fc中以消除免疫效应功能,诸如抗体依赖性细胞细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)。抗体重链的CH2区的突变可包括以EU编号的位置234、235和265,以减少或消除免疫效应功能。

[0219] 靶向结构域

[0220] 在某些实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质可包含使该融合蛋白质靶向于作用部位(例如炎症部位、特定解剖部位诸如器官,或靶向肿瘤)的“靶向结构域”。如本文所用,该“被靶向的抗原”是被该靶向结构域识别并特异性结合的抗原。

[0221] 在一些实施方案中,该靶向结构域对在位于富含蛋白酶的环境(诸如肿瘤微环境)中的细胞上发现的抗原有特异性(特异性地结合该抗原)。在一些实施方案中,该编码的靶向结构域对调节性T细胞(Tregs)有特异性(例如,特异性地结合或识别该调节性T细胞(Tregs)),例如靶向CCR4或CD39受体。其他合适的靶向结构域包括具有在发炎组织中过表达的同源配体(例如IL1受体或IL6受体)的那些结构域。在其他实施方案中,合适的靶向结构域是具有存在于诸如树突细胞(DC)、T细胞、NK细胞等免疫细胞上的同源配体的结构域。在其他实施方案中,该合适的靶向结构域包括具有在肿瘤组织中过表达的同源配体(例如肿瘤相关抗原(TAA))的那些结构域。

[0222] 本文考虑的用于肿瘤靶向的TAA包括但不限于EpCAM、EGFR、HER-2、HER-3、c-Met、FOLR1和CEA。在某些实施方案中,该经掩蔽的融合蛋白质包含两个靶向结构域,其结合至两个已知在患病细胞或组织上表达的不同靶抗原。示例性的抗原结合结构域对包括但不限于EGFR/CEA、EpCAM/CEA和HER-2/HER-3。

[0223] 合适的靶向结构域包括抗原结合结构域,诸如抗体及其片段,包括多克隆抗体、重组抗体、人抗体、人源化抗体、单链可变片段(scFv)、单结构域抗体(诸如重链可变结构域

(VH)、轻链可变结构域(VL)和骆驼型纳米抗体可变结构域(VHH))、dAb等。其他合适的抗原结合结构域包括模拟抗体结合和/或结构的非免疫球蛋白蛋白质,如抗运载蛋白(anticalin)、affilin、亲和体分子、affimer、affitin、alphabody、avimer、DARPin、fynomer、kunitz结构域肽、单域抗体(monobodies)以及基于其他经工程改造支架(如SpA、GroEL、纤维连接蛋白、脂质运载蛋白和CTLA4支架)的结合结构域。抗原结合多肽的进一步的实例包括期望受体的配体、受体的配体结合部分、凝集素,以及结合至一种或多种靶抗原或与一种或多种靶抗原缔合的肽。

[0224] 在一些实施方案中,靶向结构域特异性地结合至细胞表面分子。在一些实施方案中,靶向结构域特异性地结合至肿瘤抗原。在一些实施方案中,该靶向结构域特异性地且独立地结合至选自成纤维细胞激活蛋白质α(FAPa)、滋养细胞糖蛋白质(5T4)、肿瘤相关钙信号转导蛋白2(Trop2)、纤维连接蛋白EDB(EDB-FN)、纤维连接蛋白F.IIIB结构域、CGS-2、EpCAM、EGER、HER-2、HER-3、cMet、CEA和FOLR1中的至少一者的肿瘤抗原。在一些实施方案中,靶向多肽特异性且独立地结合至两种不同抗原,其中该抗原中的至少一种是选自EpCAM、EGFR、HER-2、HER-3、cMet、CEA和FOLR1的肿瘤抗原。被靶向结构域靶向的TAA可以是在肿瘤细胞上表达的肿瘤抗原。肿瘤抗原是本领域熟知的,并且包括例如EpCAM、EGFR、HER-2、HER-3、c-Met、FOLR1、PSMA、CD38、BCMA和CEA。5T4、AFP、B7-H3、钙粘蛋白-6、CAIX、CD117、CD123、CD138、CD166、CD19、CD20、CD205、CD22、CD30、CD33、CD352、CD37、CD44、CD52、CD56、CD70、CD71、CD74、CD79b、DLL3、EphA2、FAP、FGFR2、FGFR3、GPC3、gpA33、FLT-3、gpNMB、HPV-16E6、HPV-16E7、ITGA2、ITGA3、SLC39A6、MAGE、间皮素、Mucl、Muc16、NaPi2b、结合素-4、P-钙粘蛋白、NY-ESO-1、PRLR、PSCA、PTK7、ROR1、SLC44A4、SLTRK5、SLTRK6、STEAP1、TIM1、Trop2、FAP或WT1。

[0225] 在一些实施方案中,该被靶向的抗原是免疫检查点蛋白质。免疫检查点蛋白质的实例包括但不限于CD27、CD137、2B4、TIGIT、CD155、ICOS、HVEM、CD40L、LIGHT、TIM-1、OX40、DNAM-1、PD-L1、PD1、PD-L2、CTLA-4、CD80、CD40、CEACAM1、CD48、CD70、A2AR、CD39、CD73、B7-H3、B7-H4、BTLA、IDO1、IDO2、TDO、KIR、LAG-3、TIM-3或VISTA。在某些实施方案中,该靶向结构域是特异性地结合至免疫检查点蛋白质的抗体或其抗原结合片段,或者该靶向结构域是结合至免疫检查点蛋白质的配体或是其结合片段。

[0226] 该靶向结构域可以特异性地结合至细胞表面分子,诸如蛋白质、脂质或多糖。在一些实施方案中,被靶向的抗原是在肿瘤细胞、病毒感染的细胞、细菌感染的细胞、受损的红细胞、动脉斑块细胞、发炎或纤维化组织细胞上表达的抗原。被靶向的抗原可以包含免疫反应调节剂。免疫反应调节剂的实例包括但不限于粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、白细胞介素2(IL2)、白细胞介素3(IL3)、白细胞介素12(IL12)、白细胞介素15(IL15)、B7-1(CD80)、B7-2(CD86)、GITRL、CD3或GITR。

[0227] 在某些实施方案中,该靶向结构域特异性地结合细胞因子受体。细胞因子受体的实例包括但不限于I型细胞因子受体,诸如GM-CSF受体、G-CSF受体、I型IL受体、Epo受体、LIF受体、CNTF受体、TPO受体;II型细胞因子受体,诸如IFN-α受体(IFNAR1、IFNAR2)、IFB-β受体、IFN-γ受体(IFNGR1、IFNGR2)、II型IF受体;趋化因子受体,诸如CC趋化因子受体、CXC趋化因子受体、CX3C趋化因子受体、XC趋化因子受体;肿瘤坏死受体超家族受体,诸如

TNFRSF5/CD40、TNFRSF8/CD30、TNFRSF7/CD27、TNFRSF1A/TNFR1/CD120a、TNFRSF1B/TNFR2/CD120b;TGF-β受体,诸如TGF-β受体1、TGF-β受体2;Ig超家族受体,诸如IF-1受体、CSF-1R、PDGFR(PDGFRA、PDGFRB)、SCFR。

[0228] 在一些实施方案中,该靶向结构域经由接头或PCL(也称为蛋白酶可切割接头)融合至经掩蔽的IL12融合蛋白质。在某些实施方案中,使该靶向结构域融合至该经掩蔽的IL12融合蛋白质的接头是PCL,该PCL在作用位点处被切割(例如被炎症或癌症特异性蛋白酶切割)。在这个方面,该PCL可以与该经掩蔽的IL12融合蛋白质中存在的任何其他PCL相同或不同,该其他PCL为诸如将MM融合至Fc多肽的PCL、与MM一起存在的PCL或将IL12多肽连接至Fc多肽的PCL。在某些实施方案中,使该靶向结构域融合的PCL与使该MM融合至Fc多肽的PCL和/或使该IL12融合至Fc多肽的PCL相同,由此所有切割位点在到达该靶标后被切割。在一些实施方案中,该靶向结构域经由在作用位点处被切割(例如被炎症或癌症特异性蛋白酶切割)的接头融合至该经掩蔽的IL12融合蛋白质。

[0229] 某些实施方案涉及IL12和I123融合蛋白质

[0230] 在某些实施方案中,本公开的IL12融合蛋白质可以包含:IL12多肽,该IL12多肽具有(i)如本文所述的经修饰的p40结构域,该经修饰的p40结构域偶联到(ii)p35结构域;以及包含第一Fc多肽和第二Fc多肽的Fc结构域。在这些实施方案中,该p35结构域包含与SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。在一些实施方案中,该p35结构域的N末端直接地或经由第一接头偶联到经修饰的p40结构域的C末端。该第一接头可以具有$(G_4S)_x$的序列,其中x是1、2、3或4。在一些实施方案中,该IL12融合蛋白质是可以进一步包含异二聚体Fc结构域的IL12 HetFc融合蛋白质,该异二聚体Fc结构域包含第一Fc多肽和第二Fc多肽。在此类实施方案中,该IL12多肽可以直接地或经由第二接头偶联到第一Fc多肽。在一些实施方案中,该IL12多肽偶联到该第一Fc多肽的C末端。因此,在一些实施方案中,该IL12多肽经由经修饰的p40结构域的N末端偶联到该第一Fc多肽的C末端。

[0231] 在一些实施方案中,该IL12 HetFc融合蛋白质可以进一步包含掩蔽部分,其中该掩蔽部分能够与经修饰的p40结构域非共价相互作用,从而掩蔽经修饰的p40结构域并且使经修饰的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体的结合的结合亲和力(K_D)在与未掩蔽的经修饰的p40结构域相比时降低。在一些实施方案中,该掩蔽部分直接地或经由第三接头偶联到第二Fc多肽的C末端。该第三接头可以是蛋白酶可切割接头。一个或多个第二和/或第三接头可以各自包含横跨5个至约50个氨基酸的氨基酸序列,或由其组成。因此,在一些实施方案中,该第二接头包含SEQ ID NO:132中列出的氨基酸序列或由其组成,并且该第三接头包含SEQ ID NO:134中列出的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中,该掩蔽部分包含scFv结构域或由其组成,该scFv结构域包含直接地或经由第四接头偶联到V_L结构域的V_H结构域。在一些实施方案中,该第四接头包含SEQ ID NO:135中列出的氨基酸序列或由其组成,该V_H结构域包含与SEQ ID NO:2中列出的序列具有约95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列或由其组成,并且该V_L结构域包含与SEQ ID NO:3中列出的序列具有约95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中,该掩蔽部分能够使经修饰的p40结构域与至少一种同源受体的结合亲和力与不包含该掩蔽部分的相应融合蛋白质相比降低至少约10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、200倍或至

少约300倍。该至少一种同源受体可以包含IL12Rβ1或由其组成。

[0232] 在各种实施方案中,本文描述了一种作为经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质的融合蛋白质,其包含:(i)IL-12多肽,该IL-12多肽包含根据本文描述的任何实施方案的经修饰的p40结构域,该经修饰的p40结构域经由接头$(G_4S)_4$偶联到包含SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列或者由SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列组成的p35结构域;(ii)异二聚体Fc结构域,该异二聚体Fc结构域包含第一Fc多肽和第二Fc多肽;和(iii)屏蔽部分(MM),该屏蔽部分包含抗IL12 scFv结构域,其中:该IL12多肽直接地或经由第二接头偶联到该第一Fc多肽的C末端,并且该掩蔽部分直接地或经由第三接头偶联到该第二Fc多肽的C末端。在这些实施方案的一些中,融合蛋白质包含以下从N末端到C末端的两条多肽链或由其组成:(i)Fc-IL12多肽链和(ii)Fc-MM多肽链。在一些实施方案中,该Fc-IL12多肽链包含与SEQ ID NO:61-89中列出的任何氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。在一些实施方案中,该Fc-IL12多肽链包含SEQ ID NO:61-89中任一项中列出的氨基酸序列或由其组成。可以经由CH3结构域与Fc-IL12多肽链配对的Fc-MM多肽链可以包含与SEQ ID NO:60中列出的氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。在一些实施方案中,该Fc-MM多肽链包含SEQ ID NO:60中列出的氨基酸序列,或由其组成。因此,在一些实施方案中,经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质包含(i)Fc-IL12多肽链,该Fc-IL12多肽链(从N末端至C末端)包含选自由以下序列组成的组的序列:v28046、v28047、v28048、v28049、v28050、v28051、v28053、v28054、v28055、v28056、v28057、v28058、v28059、v28060、v28061、v28062、v28063、v28064、v28065、v28066、v28067、v28068、v28069、v28070、v28071、v28072、v28074和v28075,和(ii)Fc-MM多肽链,该Fc-MM多肽链(从N末端到C末端)包含v26503的氨基酸序列。

[0233] 在一些实施方案中,本文还描述了一种作为未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质的融合蛋白质,其包含:(i)IL-12多肽,该IL-12多肽包含根据本文所述的任何实施方案的经修饰的p40结构域,该经修饰的p40结构域经由接头$(G_4S)_4$偶联到包含SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列或者由SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列组成的p35结构域;和(ii)异二聚体Fc结构域,该异二聚体Fc结构域包含第一Fc多肽和第二Fc多肽,其中该IL12多肽直接或经由第二接头偶联到该第一Fc多肽的C末端。在一些实施方案中,该融合蛋白质包含以下从N末端到C末端的两条多肽链或由其组成:(i)Fc-IL12多肽链和(ii)Fc多肽链。在一些实施方案中,该Fc-IL12多肽链包含与SEQ ID NO:61-89中列出的任何氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。在一些实施方案中,该Fc-IL12多肽链包含SEQ ID NO:61-89中列出的氨基酸序列,或由其组成。可以与Fc-IL12多肽链配对的Fc多肽链可以包含与SEQ ID NO:58中列出的氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。在一些实施方案中,该未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质包含(i)Fc-IL12多肽链,该Fc-IL12多肽链(从N末端至C末端)包含选自由以下序列组成的组的氨基酸序列:v28046、v28047、v28048、v28049、v28050、v28051、v28053、v28054、v28055、v28056、v28057、v28058、v28059、v28060、v28061、v28062、v28063、v28064、v28065、v28066、v28067、v28068、v28069、v28070、v28071、v28072、v28074和v28075;和(ii)Fc多肽链,该Fc多肽链包含v12153的氨基酸序列。

[0234] 多肽和多核苷酸

[0235] 本文所述的细胞因子(例如,IL12和IL12细胞因子家族的其他成员)融合蛋白质包含至少一种多肽。还描述了编码本文所述多肽的多核苷酸。该经掩蔽的细胞因子融合蛋白质通常是经分离的。

[0236] 如本文所用,“经分离的”意指这样的剂(例如,多肽或多核苷酸),其已从其天然细胞培养环境的组分中被鉴定出且被分离和/或回收。其自然环境的污染组分是将会干扰细胞因子融合蛋白质的诊断性或治疗性用途的材料,并且可能包括酶、激素和其他蛋白质性或非蛋白质性溶质。经分离的也指已经合成产生,例如经由人工干预合成产生的剂。

[0237] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换用于指代氨基酸残基的聚合物。也就是说,针对多肽的描述同样适用于肽的描述和蛋白质的描述,反之亦然。该术语适用于天然存在的氨基酸聚合物以及其中一个或多个氨基酸残基是非天然编码的氨基酸的氨基酸聚合物。如本文所用,该术语涵盖任何长度的氨基酸链,包括全长蛋白质,其中该氨基酸残基是通过共价肽键连接的。

[0238] 术语“氨基酸”是指天然存在的和非天然存在的氨基酸,以及以类似于该天然存在的氨基酸的方式起作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然编码的氨基酸是20种常见的氨基酸(丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸)和吡咯赖氨酸和硒代半胱氨酸。氨基酸类似物是指基本化学结构(即结合到氢的碳、羧基、氨基和R基团)与天然存在的氨基酸相同的化合物,诸如,高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砜、甲硫氨酸甲基锍。此类类似物具有经修饰的R基团(诸如,正亮氨酸)或经修饰的肽骨架,但保留了与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。对氨基酸的提及包括,例如,天然存在的蛋白质性L-氨基酸;D-氨基酸,经化学修饰的氨基酸,诸如氨基酸变体和衍生物;天然存在的非蛋白质性氨基酸,诸如β-丙氨酸、鸟氨酸等;以及具有本领域已知为氨基酸的特征的特性的化学合成化合物。非天然存在的氨基酸的实例包括但不限于α-甲基氨基酸(例如α-甲基丙氨酸)、D-氨基酸、组氨酸样氨基酸(例如,2-氨基-组氨酸、β-羟基-组氨酸、高组氨酸)、在侧链中具有额外亚甲基的氨基酸(“高”氨基酸),以及其中侧链中的羧酸官能团被磺酸基团置换的氨基酸(例如,半胱氨酸)。将包括合成的非天然氨基酸、取代的氨基酸或一种或多种D-氨基酸在内的非天然氨基酸掺入到本文所述的蛋白质中可能在许多不同的方式下是有利的。与含L-氨基酸的对应物相比,含D-氨基酸的肽等在体外或体内表现出增加的稳定性。因此,当期望或需要更大的细胞内稳定性时,构建掺入有D-氨基酸的肽等可能特别有用。更具体地说,D-肽等对内源性肽酶和蛋白酶具有抗性,由此在有需要时提供改进的分子生物利用度和延长的体内寿命。此外,D-肽等不能被有效地加工以用于向T辅助细胞进行II类主要组织相容性复合物限制的呈递,并且因此不太可能在整个生物体中诱导体液免疫反应。

[0239] 氨基酸在本文中可以由其通常已知的三字母符号或由IUPAC-IUB生物化学命名委员会推荐的单字母符号来表示。同样地,核苷酸可以由其普遍接受的单字母码表示。

[0240] 本文还提供了编码该经掩蔽的细胞因子融合蛋白质的多核苷酸。术语“多核苷酸”或“核苷酸序列”旨在表示两个或更多个核苷酸分子的连续序列段。该核苷酸序列可以是基因组、cDNA、RNA、半合成或合成来源的,或它们的任何组合。

[0241] 术语“核酸”是指单链或双链形式的脱氧核糖核苷酸、脱氧核糖核苷、核糖核苷,或

核糖核苷酸以及它们的聚合物。除非特别限制,否则该术语涵盖含有天然核苷酸的已知类似物的核酸,其具有与参考核酸相似的结合特性并且以与天然存在的核苷酸相似的方式代谢。除非另有特别限制,否则该术语还指代寡核苷酸类似物,包括PNA(肽核酸),即反义技术中使用的DNA类似物(硫代磷酸酯、氨基磷酸酯等)。除非另有指示,特定的核酸序列还隐含地涵盖其经保守修饰的变体(包括但不限于简并密码子取代)和互补序列以及明确指示的序列。具体而言,简并密码子取代可通过生成其中一个或多个选定(或所有)密码子的第三个位置被混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代的序列来实现(Batzer等人,Nucleic Acid Res.19:5081(1991);Ohtsuka等人,J.Biol.Chem.260:2605-2608(1985);Rossolini等人,Mol.Cell.Probes 8:91-98(1994))。

[0242] “经保守修饰的变体”适用于氨基酸和核酸序列二者。对于特定的核酸序列,“经保守修饰的变体”是指那些编码同一或基本上同一的氨基酸序列的核酸,或者在该核酸不编码氨基酸序列的情况下,是指基本上同一的序列。由于遗传密码的简并性,大量功能同一的核酸编码任何给定的蛋白质。例如,该密码子GCA、GCC、GCG和GCU都编码氨基酸丙氨酸。因此,在丙氨酸是由密码子指定的每个位置处,该密码子可以在不改变所编码的多肽的情况下被改变为所述的任何相应密码子。此类核酸变异是“沉默变异”,其是一种经保守修饰的变异。本文中每个编码多肽的核酸序列还描述了该核酸的每个可能的沉默变异。本领域普通技术人员将认识到,核酸中的每个密码子(AUG和TGG除外,AUG通常是甲硫氨酸的唯一密码子,TGG通常是色氨酸的唯一密码子)均可以被修饰为产生功能同一的分子。因此,编码多肽的核酸的每个沉默变异在每个描述的序列中是隐含的。

[0243] 对于氨基酸序列,本领域普通技术人员将认识到,核酸、肽、多肽或蛋白质序列的各种取代、删除或添加(其改变、添加或删除所编码序列中的单一氨基酸或小百分比的氨基酸)是“经保守修饰的变体”,其中该改变导致氨基酸删除、氨基酸添加或氨基酸被化学上相似的氨基酸取代。提供功能相似的氨基酸的保守取代表是本领域普通技术人员已知的。此类经保守修饰的变体是对本文所述的多态性变体、种间同源物和等位基因的补充并且不排除多态性变体、种间同源物和等位基因。

[0244] 提供功能相似的氨基酸的保守取代表是本领域普通技术人员已知的。以下八个组各自含有彼此为保守性取代的氨基酸:1)丙氨酸(A)、甘氨酸(G);2)天冬氨酸(D)、谷氨酸(E);3)天冬酰胺(N)、谷氨酰胺(Q);4)精氨酸(R)、赖氨酸(K);5)异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、甲硫氨酸(M)、缬氨酸(V);6)苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)、色氨酸(W);7)丝氨酸(S)、苏氨酸(T);以及[0139]8)半胱氨酸(C)、甲硫氨酸(M)。

[0245] 在两个或更多个核酸或多肽序列的上下文中,术语“同一(的)”或“同一性”百分比是指两个或更多个相同的序列或子序列。当对序列进行比较和比对以在比较窗口或指定区域上获得如使用以下序列比较算法(或本领域普通技术人员可用的其他算法)之一或通过手动比对和目视检查所测量的最大一致性时,如果该序列具有一定百分比的相同的氨基酸残基或核苷酸(即,在指定区域上约60%同一性、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同一性),则该序列是“实质上同一的”。该定义还涉及测试序列的补体。同一性可以存在于长度为至少约50个氨基酸或核苷酸的区域上,或存在于长度为75-100个氨基酸或核苷酸的区域上,或者在未指定的情况下,存在于多核苷酸或多肽的整个序列上。编码本文所述多肽的多核苷酸(包括来自除人以外的物种的

同源物)可通过包括以下步骤的方法获得:在严格的杂交条件下用具有本文所述的多核苷酸序列或其片段的标记探针筛选文库,以及分离含有所述多核苷酸序列的全长cDNA和基因组克隆。此类杂交技术是本领域技术人员熟知的。

[0246] 对于序列比较,通常一个序列充当参考序列,测试序列与之进行比较。当使用序列比较算法时,将测试序列和参考序列输入计算机中,必要时指定子序列坐标,并指定序列算法程序参数。可以使用默认程序参数,或者可以可以指定可替代参数。然后序列比较算法基于程序参数计算测试序列相对于参考序列的序列同一性百分比。

[0247] 如本文所用的"比较窗口"包括对具有选自由20到600,通常约50到约200,更通常约100到约150组成的组的相邻位置数量中的任一者的区段的提及,在该区段中,一个序列在其与相同相邻位置数量的参考序列被最佳地比对后可与该参考序列进行比较。用于比较的序列比对方法是本领域普通技术人员已知的。用于比较的序列的最佳比对可通过包括但不限于以下的方式来进行:Smith和Waterman(1970)Adv.Appl.Math.2:482c的局部同源算法;Needleman和Wunsch(1970)J.Mol.Biol.48:443的同源比对算法;Pearson和Lipman(1988)Proc.Nat'l.Acad.Sci.USA 85:2444的相似性搜索方法;这些算法的计算机化实现形式(Wisconsin Genetics Software Package,Genetics Computer Group,575Science Dr.,Madison,Wis.中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA);或手动比对和视觉检查(参见,例如,Ausubel等人,Current Protocols in Molecular Biology(1995增补版))。

[0248] 适用于确定序列同一性百分比和序列相似性的算法的一个实例是BLAST和BLAST 2.0算法,它们分别描述于Altschul等人(1997)Nuc.Acids Res.25:3389-3402和Altschul等人.(1990)J.Mol.Biol.215:403-410。用于执行BLAST分析的软件可通过国家生物技术信息中心在万维网ncbi.nlm.nih.gov上公开获得。BLAST算法参数W、T和X确定比对的灵敏度和速度。BLASTN程序(用于核苷酸序列)默认使用11的字长(W)、期望值(E)或10,M=5,N=-4以及两条链的比较。对于氨基酸序列,BLASTP程序使用如下默认参数:字长为3且期望值(E)为10,和BLOSUM62评分矩阵(参见Henikoff和Henikoff(1992)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:10915),比对值(B)为50,期望值(E)为10,M=5,N=-4,以及比较两条链。BLAST算法通常在"低复杂性"过滤器关闭的情况下执行。

[0249] BLAST算法还执行两个序列之间相似性的统计分析(参见,例如,Karlin和Altschul(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:5873-5787)。BLAST算法提供的一种相似性度量是最小和概率(P(N)),其提供了两个核苷酸或氨基酸序列之间的匹配偶然发生的概率的指示。例如,如果测试核酸与参考核酸比较中的最小总概率小于约0.2,或小于约0.01,或小于约0.001,则认为核酸与参考序列相似。

[0250] 短语"选择性地(或特异性地)杂交至"是指当特定核苷酸序列存在于复合物混合物(包括(但不限于)全细胞或者文库DNA或RNA)中时,分子只与该序列在严格杂交条件下结合、形成双链体或杂交。

[0251] 短语"严格的杂交条件"是指DNA、RNA或其它核酸,或它们的组合的序列在低离子强度和高温条件下的杂交,如本领域中所已知。通常,在严格杂交条件下,探针将与它的在核酸的复合物混合物(包括但不限于,总细胞或文库DNA或RNA)中的靶序列杂交,但不与该复合物混合物中的其它序列杂交。严格的条件是序列依赖性的,并且在不同的环境中将是不同的。较长的序列在较高温度下特异性地杂交。关于核酸杂交的广泛指南在Tijssen,

Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology--Hybridization with Nucleic Probes,“Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid assays”(1993)中查阅。

[0252] 如本文所用,术语“工程改造、经工程改造的、工程改造”被认为包括对肽骨架的任何操作,或天然存在的或重组的多肽或其片段的翻译后修饰。工程改造包括对氨基酸序列的修饰、对糖基化模式的的修饰,或对单个氨基酸的侧链基团的修饰,以及这些方法的组合。经工程改造的蛋白质是用标准分子生物学技术表达和生产。

[0253] “经分离的核酸分子或多核苷酸”意指已从其天然环境中分离的核酸分子、DNA或RNA。例如,编码包含在载体中的多肽的重组多核苷酸被认为是经分离的。经分离的多核苷酸的进一步实例包括维持在异源宿主细胞中的重组多核苷酸,或在溶液中的纯化的(部分或实质上纯化的)多核苷酸。经分离的多核苷酸包括这样的细胞中所含有的多核苷酸分子,该细胞通常含有该多核苷酸分子,但是该多核苷酸分子存在于染色体外或存在于不同于其天然染色体区位的染色体区位处。经分离的RNA分子包括体内或体外RNA转录物,以及正链和负链形式,以及双链形式。本文所述的经分离的多核苷酸或核酸还包括例如经由PCR或化学合成合成地产生的此类分子。此外,在某些实施方案中,多核苷酸或核酸包括调节元件,诸如启动子、核糖体结合位点或转录终止子。

[0254] 术语“聚合酶链反应”或“PCR”通常是指用于体外扩增所需核苷酸序列的方法,如例如美国专利第4,683,195号中所述。一般而言,该PCR方法涉及使用能够优先与模板核酸杂交的寡核苷酸引物进行引物延伸合成的重复循环。

[0255] 具有与本公开的参考核苷酸序列至少例如95%“同一”的核苷酸序列的核酸或多核苷酸,意指除了该多核苷酸序列可包含参考核苷酸序列的每100个核苷酸至多5个点突变外,该多核苷酸的核苷酸序列与参考序列是同一的。换言之,为了获得具有与参考核苷酸序列至少95%同一的核苷酸序列的多核苷酸,参考序列中至多5%的核苷酸可以被删除或被另一个核苷酸取代,或参考序列中总核苷酸的至多5%的核苷酸数可被插入到参考序列中。参考序列的这些改变可以发生在参考核苷酸序列的5’或3’末端位置处或这些末端位置之间的任何位置处,单个地散布在参考序列中的残基之间或参考序列内的一个或多个连续基团中。实际上,任何特定的多核苷酸序列是否与本公开的核苷酸序列为至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一可以常规地使用已知的计算机程序诸如上文针对多肽所讨论的程序(例如ALIGN-2)来确定。

[0256] 如果多肽的衍生物或变体的氨基酸序列与来自原始肽的100个氨基酸序列具有至少50%同一性,则称该衍生物或变体与肽具有“同源性”或是“同源的”。在某些实施方案中,该衍生物或变体与具有与该衍生物相同数目的氨基酸残基的肽或肽片段至少75%相同。在某些实施方案中,该衍生物或变体与具有与该衍生物相同数目的氨基酸残基的肽或肽片段至少85%相同。在某些实施方案中,该衍生物或变体与具有与该衍生物相同数目的氨基酸残基的肽或肽片段至少90%相同。在一些实施方案中,该衍生物或变体与具有与该衍生物相同数目的氨基酸残基的肽或肽片段至少95%、96%、97%或98%相同。在某些实施方案中,该衍生物或变体与具有与该衍生物相同数目的氨基酸残基的肽或肽片段至少99%相同。

[0257] 如本文所用的术语“经修饰的”是指对给定多肽所做的任何改变,诸如对多肽的长

度、氨基酸序列、化学结构、共翻译修饰，或多肽的翻译后修饰的改变。形式“(经修饰的)”术语意指所讨论的多肽是任选经修饰的，即所讨论的多肽可以是经修饰的或未修饰的。

[0258] 在一些方面，细胞因子融合蛋白质构建体包含与本文所公开的一个或多个表格或一个或多个登记号中所列出的相关氨基酸序列或其片段至少80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99或100％同一的氨基酸序列。在一些方面，细胞因子融合蛋白质包含由与本文所公开的一个或多个表格或一个或多个登记号中所列出的相关核苷酸序列或其片段至少80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99或100％同一的多核苷酸所编码的氨基酸序列。

[0259] 在一些实施方案中，该一种或多种氨基酸取代是一个或多个非保守取代。在其他实施方案中，该一种或多种氨基酸取代是一个或多个保守取代。一般而言，如本文所用的“保守取代”被认为是一种氨基酸被具有相似物理、化学和/或结构性质的另一种氨基酸取代。常见的保守取代列在表F的第1列下。本领域技术人员将理解，决定什么构成保守取代的主要因素通常是氨基酸侧链的大小及其物理/化学特性，但是某些环境允许用比表F第1列中所列更广泛的氨基酸取代给定的氨基酸。这些额外的氨基酸往往要么与被取代的氨基酸具有相似的特性但在尺寸上变化更广，要么具有相似的尺寸但在物理/化学特性上变化更广。这种更广泛范围的保守取代列在表F的第2列下。考虑到进行氨基酸取代的特定蛋白质环境，本领域技术人员可以容易地确定要选择的最合适的取代基组。

[0260] 表F：保守氨基酸取代

[0261]

原始氨基酸	第 1 列	第 2 列
Ala (A)	Gly、Ile、Leu、Met、正亮氨酸、Val	Cys、Gly、Ile、Leu、Met、正亮氨酸、Phe、Trp、Tyr、Val
Arg (R)	His、Lys	His、Lys
Asn (N)	Cys、Gln、Ser、Thr	Asp、Cys、Gln、Glu、Ser、Thr
Asp (D)	Glu	Asn、Cys、Gln、Glu、Ser、Thr

[0262]

原始氨基酸	第 1 列	第 2 列
Cys (C)	Asn、Gln、Ser、Thr	Asn、Asp、Gln、Glu、Ser、Thr
Gln (Q)	Asn、Cys、Ser、Thr	Asn、Asp、Cys、Glu、Ser、Thr
Glu (E)	Asp	Asp、Asn、Cys、Gln、Ser、Thr
Gly (G)	Pro	Ala、Ile、Leu、Met、正亮氨酸、Pro、Val
His (H)	Arg、Lys	Arg、Lys、Phe、Trp、Tyr
Ile (I)	Ala、Gly、Leu、Met、正亮氨酸、Val	Ala、Cys、Gly、Leu、Met、正亮氨酸、Phe、Trp、Tyr、Val
Leu (L)	Ala、Gly、Ile、Met、正亮氨酸、Val	Ala、Cys、Gly、Ile、Met、正亮氨酸、Phe、Trp、Tyr、Val
Lys (K)	Arg、His	Arg、His
Met (M)	Ala、Gly、Ile、Leu、正亮氨酸、Val	Ala、Cys、Gly、Ile、Leu、正亮氨酸、Phe、Trp、Tyr、Val
Phe (F)	Tyr、Trp	Ala、Cys、Gly、His、Ile、Leu、Met、正亮氨酸、Trp、Tyr、Val
Pro (P)	Gly	Gly
Ser (S)	Asn、Cys、Gln、Thr	Asp、Asn、Cys、Gln、Glu、Thr
Thr (T)	Asn、Cys、Gln、Ser	Asp、Asn、Cys、Gln、Glu、Ser
Trp (W)	Phe、Tyr	Ala、Cys、Gly、His、Ile、Leu、Met、正亮氨酸、Phe、Tyr、Val
Tyr (Y)	Phe、Trp	Ala、Cys、Gly、His、Ile、Leu、Met、正亮氨酸、Phe、Trp、Val
Val (V)	Ala、Gly、Ile、Leu、Met、正亮氨酸	Ala、Cys、Gly、Ile、Leu、Met、正亮氨酸、Phe、Trp、Tyr

[0263] 制备IL12融合蛋白质/重组蛋白质的方法

[0264] 本文所述的IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质(例如,包含经修饰的p40结构域的重组蛋白质)可以使用本领域已知的(参见,例如,美国专利第4,816,567号和“Antibodies: A Laboratory Manual”,第2版,编著Greenfield,Cold Spring Harbor Laboratory Press,New York,2014)并如本文进一步概述的标准重组方法生产。

[0265] 通常,为了重组产生IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质,将编码该IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质的核酸分离并插入到一个或多个载体中,以用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。此种核酸可使用常规程序(例如,通过使用能够特异性地结合至基因IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质的寡核苷酸探针)容易地分离和测序。

[0266] 适合于克隆或表达编码载体的IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质的宿主细胞包括本文所述的原核或真核细胞。

[0267] “重组宿主细胞”或“宿主细胞”是指包括外源多核苷酸的细胞,与用于插入的方法(例如直接摄取、转导、f-交配或本领域已知用于产生重组宿主细胞的其他方法)无关。外源

多核苷酸可以被保持为非整合载体,例如质粒,或者可替代地,可以被整合到宿主基因组中。

[0268] 如本文所用,术语“真核生物”是指属于系统发育域真核生物的生物体,诸如动物(包括但不限于哺乳动物、昆虫、爬行动物和禽类)、纤毛虫、植物(包括但不限于单子叶植物、双子叶植物和藻类)、真菌、酵母、鞭毛虫、微孢子虫、原生生物等。

[0269] 如本文所用,术语“原核生物”是指原核生物体。例如,非真核生物体可以属于真细菌(包括但不限于大肠杆菌(Escherichia coli)、嗜热栖热菌(Thermus thermophilus)、嗜热脂肪芽孢杆菌(Bacillus stearothermophilus)、荧光假单胞菌(Pseudomonas fluorescens)、铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)、恶臭假单胞菌(Pseudomonas putida)等)系统发育域,或古细菌(包括但不限于詹氏甲烷球菌(Methanococcus jannaschii)、嗜热自养甲烷杆菌(Methanobacterium thermoautotrophicum)、盐杆菌属(Halobacterium)(诸如沃氏盐杆菌(Haloferax volcanii)和盐杆菌属物种(Halobacterium species)NRC-1)、闪烁古球菌(Archaeoglobus fulgidus)、激烈火球菌(Pyrococcus furiosus)、霍氏火球菌(Pyrococcus horikoshii)、嗜热泉生古细菌(Aeuropyrum pernix)等)系统发育域。

[0270] 例如,IL12融合蛋白质构建体或其他包含本文所述的经修饰的p40结构域构建体的重组蛋白质可以在细菌中,特别是在不需要糖基化和Fc效应功能时产生。对于多肽在细菌中的表达,参见,例如,美国专利第5,648,237号、第5,789,199号和第5,840,523号。(还参见Charlton,Methods in Molecular Biology,第248卷(BKC Lo,编著,Humana Press,Totowa,NJ,2003),第245-254页,其描述了抗体片段在大肠杆菌中的表达)表达后,如本文所述的IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质可以以可溶性级分形式从细菌细胞糊中分离并且可以进一步纯化。

[0271] 除了原核生物外,真核微生物诸如丝状真菌或酵母是适合于编码IL12融合蛋白质的载体的克隆或表达宿主,包括其糖基化途径已经“人源化”从而导致产生具有部分或完全人糖基化样式的IL12融合蛋白质的真菌和酵母菌株。参见Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004)和Li等人,Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0272] 适合于表达糖基化多肽的宿主细胞也衍生自多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物和昆虫细胞。已经鉴定出许多杆状病毒株,其可以与昆虫细胞一起使用,特别是用于转染草地夜蛾(Spodoptera frugiperda)细胞。

[0273] 也可以利用植物细胞培养物作为宿主。参见,例如,美国专利第5,959,177号、第6,040,498号、第6,420,548号、第7,125,978号和第6,417,429号(描述了用于在转基因植物中生产重组蛋白质的PLANTIBODIES™技术)。

[0274] 也可以使用脊椎动物细胞作为宿主。例如,适合于悬浮生长的哺乳动物细胞系可能是有用的。其他有用的哺乳动物宿主细胞系的实例是由SV40(COS-7)转化的猴肾CV1系;人胚胎肾系(如例如Graham等人,J.Gen Virol.,36:59(1977)中描述的293或293细胞);小仓鼠肾细胞(BHK);小鼠塞尔托利细胞(sertoli cell)(如例如Mather,Biol Reprod,23:243-251(1980)中描述的TM4细胞);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);水牛大鼠肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,如例如Mather等人,Annals N.Y.Acad Sci,

383:44-68(1982)中所述;MRC 5细胞;以及FS4细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR-CHO细胞(Urlaub等人,Proc Natl Acad Sci USA,77:4216(1980));和骨髓瘤细胞系,诸如YO、NSO和Sp2/0。对于适用于融合蛋白质生产的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,参见,例如,Yazaki&Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo,编著,Humana Press,Totowa,N.J.),第255-268页(2003)。

[0275] 在一些实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质是通过包括以下的方法在稳定的哺乳动物细胞中生产:用编码本文所述的IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质的核酸以预定比率转染至少一种稳定的哺乳动物细胞,以及使该核酸在该至少一种哺乳动物细胞中表达。在一些实施方案中,核酸的预定比率是在瞬时转染实验中确定,以确定导致所表达产物中融合蛋白质百分比最高的输入核酸的相对比率(也参见方案3和4的实施例部分和实施例3)。

[0276] 在一些实施方案中,在稳定的哺乳动物细胞中生产本文所述的IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质的方法中,如与单体融合蛋白质相比,该稳定的哺乳动物细胞的表达产物包含更大百分比的期望的HetFc IL12融合蛋白质。在某些实施方案中,本文的融合蛋白质是糖基化的。

[0277] 在一些实施方案中,在稳定的哺乳动物细胞中生产融合蛋白质的方法中,该方法还包括鉴定和纯化期望的融合蛋白质。在一些实施方案中,鉴定是通过液相层析法和质谱法中的一者或两者进行的(也参见本文的实施例)。

[0278] 如果需要,该IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质可在表达后进行纯化或分离。蛋白质可以以本领域技术人员已知的多种方式分离或纯化。标准纯化方法包括在大气压或在高压下使用诸如FPLC和HPLC的系统进行的层析技术,包括离子交换、疏水相互作用、亲和、分子排阻或凝胶过滤以及反相层析法。纯化方法还包括电泳、免疫学、沉淀、透析和层析聚焦技术。超滤和渗滤技术,连同蛋白质浓缩,也是有用的。如本领域所熟知的,多种天然蛋白质结合Fc和抗体,并且这些蛋白质可被用于纯化IL12融合蛋白质。例如,细菌蛋白质A和G结合至Fc区。同样,该细菌蛋白质L结合至一些抗体的Fab区。纯化通常可以由特定的融合伴侣来实现。例如,如果采用GST融合物,可使用谷胱甘肽树脂纯化抗体,如果采用His标签,则可以使用Ni+2亲和层析纯化抗体,或者如果使用Flag标签,则可以使用固定化抗Flag抗体纯化抗体。对于合适的纯化技术的一般指导,参见,例如,Protein Purification:Principles and Practice,第3版,编著,Scopes,Springer-Verlag,NY(1994)。必要的纯化程度将根据IL12融合蛋白质的用途而变化。在一些情况下,可能没必要纯化。

[0279] 在某些实施方案中,该IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质可以使用阴离子交换层析纯化,该阴离子交换层析包括但不限于在Q-琼脂糖、DEAE琼脂糖、poros HQ、poros DEAF、Toyopearl Q、Toyopearl QAE、Toyopearl DEAE、Resource/Source Q和DEAE、Fractogel Q或DEAE柱或它们的等效物或类似物上的层析。

[0280] 在一些实施方案中,该IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质可以使用阳离子交换色层析纯化,该阳离子交换色层析包括但不限于在SP-琼脂糖、CM琼脂糖、poros HS、poros CM、Toyopearl SP、ToyopearlCM、Resource/Source S或CM,或Fractogel S或CM柱,或它们的等价物或类似物上的层析。

[0281] 在某些实施方案中,本文中的IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质是实质上纯的。

术语“实质上纯的”(或“实质上纯化的”)是指这样的本文所述的构建体或其变体,该构建体或其变体可以实质上或本质上不含通常伴随在其天然存在的环境中发现的蛋白质或与该蛋白质相互作用的组分(即天然细胞,或在重组产生的构建体的情况下的宿主细胞)。在某些实施方案中,实质上不含细胞材料的构建体包括具有少于约30%、小于约25%、小于约20%、小于约15%、小于约10%、小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2%,或小于约1%(以干重计)污染蛋白质的蛋白质制品。当该构建体是由宿主细胞重组产生时,在某些实施方案中,该蛋白质以该细胞的干重的约30%、约25%、约20%、约15%、约10%、约5%、约4%、约3%、约2%或约1%或更低百分比存在。当该构建体是由宿主细胞重组产生时,在某些实施方案中,该蛋白质在培养基中以约5g/L、约4g/L、约3g/L、约2g/L、约1g/L、约750mg/L、约500mg/L、约250mg/L、约100mg/L、约50mg/L、约10mg/L或约1mg/L或更少存在。

[0282] 在某些实施方案中,术语“实质上纯化的”如应用于包含如本文所述的异二聚体Fc的HetFc IL12融合蛋白质,意指如通过适当的方法诸如SDS/PAGE分析、RP-HPLC、分子排阻层析法(SEC)和毛细管电泳所确定,该异二聚体Fc具有至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%的纯度水平,具体地说,至少约75%、80%、85%的纯度水平,并且更具体地说,至少约90%的纯度水平、至少约95%的纯度水平、至少约99%或更高的纯度水平。

[0283] 该IL12融合蛋白质和其他重组蛋白质也可以使用本领域已知的技术来化学合成(参见,例如,Creighton,Proteins:Structures and Molecular Principles,WH Freeman& Co.,NY(1983)和Hunkapiller等人,Nature,310:105-111(1984))。例如,对应于多肽片段的多肽可以使用肽合成仪来合成。此外,如果需要,可以将非经典氨基酸或化学氨基酸类似物作为取代或添加引入到该多肽序列中。非经典氨基酸包括但不限于常见氨基酸的D-异构体、2,4-二氨基丁酸、α-氨基异丁酸、4-氨基丁酸、Abu、2-氨基丁酸、g-Abu、e-Ahx、6-氨基己酸、Aib、2-氨基异丁酸、3-氨基丙酸、鸟氨酸、正亮氨酸、正缬氨酸、羟脯氨酸、肌氨酸、瓜氨酸、高瓜氨酸、半胱氨酸、叔丁基甘氨酸、叔丁基丙氨酸、苯基甘氨酸、环己基丙氨酸、β-丙氨酸、氟氨基酸、设计氨基酸诸如α-甲基氨基酸、Cα-甲基氨基酸、Nα-甲基氨基酸和一般氨基酸类似物。此外,该氨基酸可以是D(右旋的)或L(左旋的)。

[0284] 本公开的某些实施方案涉及编码本文所述的经掩蔽的或未经掩蔽的HetFc IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质的经分离的核酸。此类核酸可以编码包含该MM的VL的氨基酸序列和/或包含该MM的VH的氨基酸序列,或者经修饰的IL12多肽等。

[0285] 某些实施方案涉及包含编码本文所述的HetFc IL12融合蛋白质或其他重组蛋白质的核酸的载体(例如表达载体)。该核酸可以包含在单一载体中,或者它可以包含在多于一种载体中。在一些实施方案中,该核酸包含在多顺反子载体中。

[0286] 某些实施方案涉及包含此类核酸的宿主细胞或一种或多种包含该核酸的载体。在一些实施方案中,宿主细胞包含载体(例如已经用载体转化),该载体包含编码包含如本文所述的第一融合蛋白质(例如,融合至MM的第一Fc多肽等)的氨基酸序列和包含如本文所述的第二融合蛋白质(例如,融合至IL12或IL23多肽的第二Fc多肽)的氨基酸序列的核酸。在一些实施方案中,宿主细胞包含第一载体和第二载体(例如已经用第一载体和第二载体转化),所述第一载体包含编码包含如本文所述的第一融合蛋白质(例如,融合至MM的第一Fc多肽)的氨基酸序列的核酸,并且该第二载体包含编码包含如本文所述的第二融合蛋白质

(例如,融合至IL12或IL23多肽的第二Fc多肽)的氨基酸序列的核酸。在一些实施方案中,该宿主细胞是真核的,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或人胚肾(HEK)细胞或淋巴样细胞(例如,Y0、NS0、Sp20细胞)。

[0287] 某些实施方案涉及制备IL12融合蛋白质的方法,该方法通过在适合于使该IL12融合蛋白质表达的条件下培养已引入有编码该融合蛋白质的核酸的宿主细胞,以及任选地从该宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收该IL12融合蛋白质来实现。

[0288] 翻译后修饰

[0289] 在某些实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质可以在翻译期间或翻译之后进行差异修饰。

[0290] 如本文所用,术语"经修饰的"是指对给定多肽所做的任何改变,诸如对多肽的长度、氨基酸序列、化学结构、共翻译修饰或多肽的翻译后修饰的改变。

[0291] 术语"翻译后修饰"是指天然或非天然氨基酸的任何这样的修饰,该修饰是在天然或非天然氨基酸已被掺入到多肽链中后发生于此种氨基酸上的。仅举例来说,该术语涵盖共翻译体内修饰、共翻译体外修饰(诸如在无细胞翻译系统中)、翻译后体内修饰和翻译后体外修饰。

[0292] 在一些实施方案中,该经掩蔽的IL12融合蛋白质可包含修饰,诸如糖基化、乙酰化、磷酸化、酰胺化、通过已知的保护基/阻断基进行的衍生化、蛋白质水解切割或与抗体分子或抗原结合构建体或其他细胞配体的连接,或这些经修饰的组合。在一些实施方案中,该IL12融合蛋白质可以通过已知技术进行化学修饰,该已知技术包括但不限于用溴化氰、胰蛋白酶、糜蛋白酶、木瓜蛋白酶、V8蛋白酶或NaBH4进行的特异性化学切割;乙酰化;甲酰化;氧化;还原或在衣霉素存在下的代谢合成。

[0293] 该IL12融合蛋白质或其部分的另外的任选翻译后修饰包括末端修饰、化学部分与氨基酸主链的附接、N-连接或O-连接碳水化合物链的化学修饰,以及由原核宿主细胞表达引起的N末端甲硫氨酸残基的添加或缺失。本文所述的IL12融合蛋白质可任选地用可检测标记诸如酶、荧光、同位素或亲和标记进行修饰,以允许检测和分离蛋白质。合适的酶标记的实例包括辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;合适的辅基复合物的实例包括抗生蛋白链菌素/生物素和抗生物素蛋白/生物素;合适的荧光材料的实例包括伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪胺荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白;发光材料的实例包括鲁米诺;生物发光材料的实例包括萤光素酶、萤光素或水母素;并且合适的放射性材料的实例包括碘、碳、硫、氚、铟、锝、铥、镥、钯、铂、氙或氟。

[0294] 在一些实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质可以附接至与放射性金属离子缔合的大环螯合剂。

[0295] 在那些通过自然过程(诸如翻译后加工)或通过化学修饰技术对IL12融合蛋白质进行修饰的实施方案中,相同类型的修饰可以任选地以相同或不同程度存在于给定多肽中的数个位点处。修饰包括乙酰化、酰化、ADP-核糖基化、酰胺化、黄素的共价附接、血红素部分的共价附接、核苷酸或核苷酸衍生物的共价附接、脂质或脂质衍生物的共价附接、磷脂酰肌醇的共价附接、交联、环化、二硫键形成、去甲基化、共价交联体的形成、半胱氨酸的形成、焦谷氨酸的形成、甲酰化、γ-羧基化、糖基化、GPI锚形成、羟基化、碘化、甲基化、十四烷基化、氧化、聚乙二醇化、蛋白质水解加工、磷酸化、异戊烯化、外消旋化、硒酰化

(selenoylation)、硫酸化、转移-RNA介导的向蛋白质添加氨基酸诸如精氨酸化和泛素化(参见,例如,Proteins-Structure and Molecular Properties,第2版,T.E.Creighton,W.H.Freeman and Company,New York(1993);Post-Translational Covalent Modification of Proteins,B.C.Johnson,编著,Academic Press,New York,第1-12级(1983);Seifter等人,Meth.Enzymol.182:626-646(1990);Rattan等人,Ann.N.Y.Acad.Sci.663:48-62(1992))。

[0296] 在某些实施方案中,该IL12融合蛋白质可附接至固体支持物,该固体支持物特别可用于免疫测定或被本文所述的蛋白质结合或结合至本文所述的蛋白质或与本文所述的蛋白质缔合的多肽的纯化。此类固体支持物包括但不限于玻璃、纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

[0297] 药物组合物

[0298] 本文还提供了包含本文所述的IL12融合蛋白质的药物组合物。药物组合物包含该IL12融合蛋白质和药学上可接受的载剂。

[0299] 术语“药学上可接受的”意指由联邦监管机构或州政府批准或者在美国药典或其它通常认可的药典中列出用于动物并且更具体地用于人。术语“载剂”是指使用其来施用治疗剂的稀释剂、佐剂、赋形剂或媒介物。这类药物载剂可以是无菌液体如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的那些,如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。在一些方面,该载剂是自然界中未发现的人造载剂。当该药物组合物为静脉内施用时,可以用水作为载剂。盐水溶液和右旋糖水溶液以及甘油水溶液也可被用作液体载剂,特别是用于可注射溶液。合适的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、二醇、水、乙醇等。如果需要,该组合物还可以含有少量的润湿剂或乳化剂,或pH缓冲剂。这些组合物可以采取溶液剂、悬浮剂、乳剂、片剂、丸剂、胶囊、粉末、缓释制剂等形式。该组合物可与传统的粘合剂和载剂(诸如甘油三酯)一起被配制成栓剂。口服制剂可以包括标准载剂,诸如药物级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。合适的药物载剂的实例描述于E.W.Martin的“Remington’s Pharmaceutical Sciences”中。此类组合物将含有治疗有效量的IL12融合蛋白质(优选地为经纯化的形式)以及合适的量的载剂,以提供用于适当地施用于患者的形式。该制剂应适合施用方式。

[0300] 在某些实施方案中,包含IL12融合蛋白质的组合物是根据常规程序配制为适于静脉内施用于人的药物组合物。通常,用于静脉内施用的组合物是在无菌等渗水性缓冲液中的溶液。必要时,该组合物还可以包含增溶剂和局部麻醉剂,诸如利多卡因,以减轻注射部位的疼痛。一般来说,该成分是单独或混合在一起以单位剂型(例如作为干燥冻干粉末或无水浓缩物)提供于指示活性剂的量的密闭容器(如安瓿或药囊)中。当该组合物需通过输注施用时,它可以用含有无菌药物级水或盐水的输液瓶分配。当通过注射施用组合物时,可以提供一安瓿的无菌注射用水或盐水,以便可以在施用之前将成分混合。

[0301] 在某些实施方案中,本文所述的组合物被配制成中性或盐形式。药学上可接受的盐包括与阴离子(诸如源自盐酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等的阴离子)形成的盐和与阳离子(诸如源自钠、钾、铵、钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-乙氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因等的阳离子)形成的盐。

[0302] 使用方法

[0303] 本公开提供了使用IL12融合蛋白质和包含本文所述的经修饰的p40结构域的其他重组融合蛋白质的方法。

[0304] 具体地说,本文进一步提供了治疗患有癌症、自身免疫性疾病、炎性病症或感染性疾病或者有罹患癌症、自身免疫性疾病、炎性病症或感染性疾病的风险的受试者的方法。本文进一步提供了治疗患有选自由以下组成的组的疾病或有罹患选自由以下组成的组的疾病的风险的受试者的方法:所有类型的癌症,诸如但不限于乳腺癌,包括非限制性实例三阴乳腺癌、ER/PR+乳腺癌和Her2+乳腺癌、肺癌(例如,非小细胞鳞状细胞癌和腺癌)、结肠直肠癌、胃癌、胶质母细胞瘤、卵巢癌、子宫内膜癌、肾癌、肉瘤、皮肤癌、宫颈癌、肝癌、膀胱癌、胆管上皮细胞癌、前列腺癌、黑色素瘤、头颈癌(例如,头颈鳞状细胞癌)、食管癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、胰腺癌、白血病(包括T细胞急性淋巴母细胞性白血病(T-ALL))、淋巴母细胞性疾病(包括多发性骨髓瘤)、实体瘤、骨病或癌症转移(不管原发肿瘤起源如何)。进一步提供了治疗患有类风湿性关节炎、克罗恩病、SLE、心血管损伤或缺血或者有罹患风湿性关节炎、克罗恩病、SLE、心血管损伤或缺血风险的受试者的方法。

[0305] 在某些实施方案中,本公开提供通过向受试者施用治疗有效量的本文公开的细胞因子融合蛋白质来治疗该受试者的疾病的方法,其中该疾病选自由以下组成的组:结肠直肠癌、胰腺癌、头颈癌、食管癌、膀胱癌、宫颈癌和肺癌(例如,非小细胞鳞状细胞癌和腺癌)。

[0306] 该方法包括向有需要的受试者施用有效量的如本文所公开的IL12融合蛋白质或其他如本文所述的(例如,包含经修饰的p40结构域)的重组融合蛋白质(融合蛋白质),其通常作为药物组合物施用。在一些实施方案中,该方法还包括选择患有癌症或有罹患癌症风险的受试者。在一些实施方案中,该药物组合物包含L12融合蛋白质或其在肿瘤部位处被激活的片段。在一个实施方案中,该肿瘤是实体瘤。

[0307] 在某些实施方案中,提供了治疗癌症的方法,其包括以有效治疗或改善该癌症的量向需要此种治疗或改善的受试者施用本文所述的IL12融合蛋白质。在其他实施方案中,提供了使用本文所述的IL12融合蛋白质制备用于治疗或改善受试者的癌症的药物的方法。

[0308] 术语“受试者”是指动物,在一些实施方案中是指哺乳动物,其是治疗、观察或实验的对象。动物可以是人、非人灵长类动物、伴侣动物(例如,狗、猫等)、农场动物(例如,母牛、绵羊、猪、马等)或实验室动物(例如,大鼠、小鼠、豚鼠等)。

[0309] 如本文所用的术语“哺乳动物”包括但不限于人、非人灵长类动物、犬科动物、猫科动物、鼠科动物、牛科动物、马科动物和猪科动物。

[0310] “治疗”是指尝试改变被治疗的个体或细胞的自然进程的临床干预,并且可以在临床病理过程期间进行。理想的治疗效果包括预防疾病的复发、缓和症状、削减疾病的任何直接或间接的病理学后果、预防转移、降低疾病进展的速率、改善或缓减疾病状态以及缓解或改善预后。在一些实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质被用于延迟疾病或病症的发展。在一个实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质和本文所述的方法实现肿瘤消退。在一个实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质和本文所述的方法实现肿瘤/癌症生长的抑制。

[0311] 理想的治疗效果包括但不限于:预防疾病的复发、缓和症状、削减疾病的任何直接或间接的病理学后果、预防转移、降低疾病进展的速率、改善或缓减疾病状态、改进的存活率以及缓解或改善预后中的一种或多种。在一些实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质

被用于延迟疾病的发展或减缓疾病的进展。

[0312] 在一些实施方案中,本公开的IL12融合蛋白质可以用于预防疾病例如癌症的发生。

[0313] 如本文所用的术语“有效量”是指所施用的将实现所叙述的方法的目标,例如,一定程度上减轻正在治疗的疾病、病状或病症的一种或多种症状的本文所述的IL12融合蛋白质或包含本文所述的IL12融合蛋白质的组合物的量。将有效治疗和抑制与治疗性蛋白质异常表达和/或活性相关的疾病或病症的本文所述组合物的量可以通过标准临床技术来确定。另外,可任选地采用体外测定法来帮助鉴定最佳剂量范围。制剂中使用的精确剂量还取决于施用途径和该疾病或病症的严重性,并应根据从业者的判断和每个患者的情况来决定。有效的剂量是从源自体外或动物模型测试系统的剂量-反应曲线来外推的。

[0314] 将本文所述的IL12融合蛋白质施用于受试者。各种递送系统是已知的并且可以被用于施用本文所述的IL12融合蛋白质制剂,例如,封装在脂质体、微粒、微囊、能够表达该化合物的重组细胞中,受体介导的内吞作用(参见,例如,Wu和Wu,J.Biol.Chem.262:4429-4432(1987)),构建核酸作为逆转录病毒或其他载体等的一部分,等等。引入方法包括但不限于皮内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、肿瘤内、鼻内、硬膜外和口服途径。该化合物或组合物可以通过任何方便的途径,例如通过输注或团注(bolus injection),通过经上皮或粘膜皮肤内层(例如,口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)吸收施用并且可以与其他生物活性剂一起施用。施用可以是全身的或局部的。此外,在某些实施方案中,期望通过包括心室内和鞘内注射在内的任何合适的途径将本文所述的IL12融合蛋白质组合物引入到中枢神经系统中;心室内注射可以通过例如附接到贮器(诸如Ommaya贮器)的心室内导管来促进。也可以例如通过使用吸入器或雾化器以及含雾化剂的制剂来采用肺部施用。

[0315] 在具体实施方案中,期望将本文所述的IL12融合蛋白质或本文所述的组合物局部施用于需要治疗的区域;这可以通过例如但不限于手术期间的局部输注、局部施用(例如,与手术后的伤口敷料结合)、通过注射、通过导管、通过栓剂或通过植入物来实现,所述植入物是多孔、无孔或凝胶状材料,包括膜(诸如硅橡胶膜(sialastic membrane))或纤维。优选地,当施用包括本文所述的IL12融合蛋白质在内的蛋白质时,必须注意使用该蛋白质不吸收至的材料。

[0316] 在另一个实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质或包含该IL12融合蛋白质的组合物可以在囊泡中,特别是脂质体中递送(参见Langer,Science 249:1527-1533(1990);Treat等人,见Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer,Lopez-Berestein和Fidler(编著),Liss,New York,第353-365页(1989);Lopez-Berestein,同上,第317-327页;一般见同上)。

[0317] 在又另一实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质或组合物可以在控释系统中递送。在一个实施方案中,可以使用泵(参见Langer,同上;Sefton,CRC Crit.Ref.Biomed.Eng.14:201(1987);Buchwald等人,Surgery 88:507(1980);Saudek等人,N.Engl.J.Med.321:574(1989))。在另一个实施方案中,可以使用聚合物材料(参见Medical Applications of Controlled Release,Langer和Wise(编著),CRC Pres.,Boca Raton,Fla.(1974);Controlled Drug Bioavailability,Drug Product Design and Performance,Smolen和Ball(编著),Wiley,New York(1984);Ranger和Peppas,J.,Macrom

ol.Sci.Rev.Macromol.Chem.23:61(1983);也参见Levy等人,Science 228:190(1985);During等人,Ann.Neurol.25:351(1989);Howard等人,J.Neurosurg.71:105(1989))。在又另一实施方案中,控释系统可以被放置在治疗靶标例如脑的附近,从而只需要全身剂量的一小部分(参见,例如,Goodson,于Medical Applications of Controlled Release,第2卷,第115-138页(1984))。

[0318] 在包含编码本文所述的IL12融合蛋白质的核酸的具体实施方案中,该核酸可以体内施用以促进其所编码的蛋白质的表达,这通过构建该核酸为适当的核酸表达载体的一部分,并施用该核酸以使得它变为细胞内的(例如通过利用逆转录病毒载体(参见美国专利第4,980,286号),或通过直接注射,或通过利用微粒轰击(例如,基因枪;Biolistic,Dupont),或用脂质体或细胞表面受体或转染剂包被来进行),或者通过将该核酸与已知进入细胞核的同源框样肽(参见例如,Joliot等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:1864-1868(1991))连接施用等来进行。替代地,核酸可以通过同源重组而从细胞内引入并且并入在宿主细胞DNA中用于表达。

[0319] 本文所述的IL12融合蛋白质可以单独施用或与其他类型的治疗(例如,放射疗法、化学疗法、激素疗法、免疫疗法、免疫检查点抑制剂和抗肿瘤剂)组合施用。通常,优选施用与患者相同物种的物种来源或物种反应性(在抗体的情况下)的产品。

[0320] 本文所述的IL12融合蛋白质可被用于治疗癌症。在一些实施方案中,本文所述的IL12融合蛋白质可被用于治疗已接受一种或多种替代形式的抗癌疗法的患者。在一些实施方案中,该患者已复发或对一种或多种替代形式的抗癌疗法没有反应。在其他实施方案中,将IL12融合蛋白质与一种或多种替代形式的抗癌疗法组合施用于患者。在其他实施方案中,将该IL12融合蛋白质施用于已经变为用一种或多种替代形式的抗癌疗法难以治疗的患者。

[0321] 药盒和制品

[0322] 本文还描述了药盒,其包含一种或多种本文所述的融合蛋白质或另一种重组蛋白质。药盒的各个组分将被包装在单独的容器中,并且此类容器可以随附有监管药品或生物制品的制造、使用或销售的政府机构规定的形式的通知,该通知反映了该机构对制造、使用或销售的批准。该药盒可任选地含有概述该经掩蔽的IL12融合蛋白质的使用方法或施用方案的说明或指南。

[0323] 当药盒的一种或多种组分以溶液(例如水溶液或无菌水溶液)的形式提供时,容器装置本身可以是该溶液可从中被施用于受试者或施加于药盒的其他组分中并与药盒的其他组分混合的吸入器、注射器、移液管、滴眼管或其他此类类似的器具。

[0324] 该药盒的组分还可以以干燥的或冻干的形式提供,并且该药盒可以另外地含有用于重构冻干组分的合适溶剂。不管容器的数量或类型如何,本文所述的药盒还可以包括用于帮助将组合物施用于患者的器械。此类器械可以是吸入器、鼻喷雾装置、注射器、移液管、镊子、量匙、滴眼管或类似的医学上批准的递送媒介物。

[0325] 某些实施方案涉及含有可用于治疗如本文所述的患者的材料的制品。该制品包括容器和位于该容器上或该容器随附的标签或包装说明书。合适的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、静脉溶液袋等。该容器可以由多种材料(诸如玻璃或塑料)形成。该容器装有自身或与另一种组合物组合可有效治疗患者的包含IL12融合蛋白质的组合物,并且可以具有无菌

接入端口(access port)(例如,该容器可以是具有用皮下注射针头可刺穿的塞子的静脉溶液袋或小瓶)。该标签或包装插页指示该组合物用于治疗所选的病状。在一些实施方案中,该制品可以包含(a)第一容器和其中所装的组合物,其中该组合物包含本文所述的IL12融合蛋白质;和(b)第二容器和其中所装的组合物,其中该第二容器中的组合物包含进一步的细胞毒性剂或另外的治疗剂。在此类实施方案中,该制品还可以包括指示该组合物可以用于治疗特定病状的包装说明书。替代地,或另外地,该制品还可以包括第二(或第三)容器,其包含药学上可接受的缓冲液,诸如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏(Ringer's)溶液或葡萄糖溶液。该制品还可以任选地包括在商业和使用者看来所需的其它材料,包括其它缓冲液、稀释剂、过滤器、针头和注射器。

[0326] 示例性实施方案

[0327] 本公开的进一步特定实施方案描述如下。

[0328] 这些实施方案旨在说明本公开中描述的组合物和方法,并非意图限制本公开的范围。此外,术语"p40结构域"和"p40亚基"在本文中可以互换使用。

[0329] 实施方案1.一种白细胞介素12(IL12)或IL23蛋白质的经修饰的p40亚基,其包含人IL12 p40亚基多肽,其中所述多肽相对于SEQ ID NO:10的野生型人IL-12p40在对应于残基15、18、45、58、59、60、62、84、86、93、161、195和197的一个或多个位置处包含至少一种氨基酸取代。

[0330] 实施方案2.如实施方案1所述的经修饰的IL12或IL 23p40亚基多肽,其中至少一种氨基酸取代是选自由以下组成的组的取代:W15H、W15K、W15R、D18G、E45K、E45R、K58H、K58S、K58W、E59D、E59G、E59R、E59S、F60D、F60E、F60K、F60R、F60V、D62H、D62I、D62N、K84E、K84I、K84L、K84V、K84W、K84Y、E86L、E86R、E86S、E86W、D93E、D93H、D93R、D93W、D161R、D161S、K195D、K197D、K197E、K197Q、K197T和K197W。

[0331] 实施方案3.如实施方案2所述的经修饰的IL12或IL23 p40亚基多肽,其中至少一种氨基酸取代是选自由以下组成的组的取代:W15H、W15K、D18G、E45K、E45R、K58H、K58S、K58W、E59G、E59R、E59S、F60V、D62H、D62I、D62N、K84E、K84W、E86L、E86S、E86W、D93H、D93W、D161R、D161S、K195D、K197E、K197Q、K197T和K197W。

[0332] 实施方案4.如实施方案2或3所述的经修饰的IL12或IL23 p40亚基多肽,其中至少一种氨基酸取代包括选自由以下组成的组的取代:W15H、W15K、E59R、E59S、K84E、K84W、E86W、D161R、K197T和K197W。

[0333] 实施方案5.如实施方案2所述的经修饰的IL12或IL 23p40亚基多肽,其中至少一种氨基酸取代包括选自由以下组成的组的取代:W15H、W15R、E45R、K58H、K58S、E59D、E59G、E59R、E59S、F60D、F60E、F60K、F60R、K84E、K84I、K84L、K84V、K84W、K84Y、E86R、E86W、D93E、D93H、D93R、D93W、D161R、K195D、K197D、K197E、K197Q和K197W。

[0334] 实施方案6.如实施方案2或5所述的经修饰的IL12或IL23 p40亚基多肽,其包含:W15H_K84L、K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_K84E、E59R_K84W、E59R_E86W、E59D_D93H、E59R_D93R、E59R_K197E、E59R_K197W、F60E_K84W、F60R_K84Y、F60K_K197W、F60R_K197W、K84I_E86R、K84E_D93H、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84I_D161R、K84W_D161R、K84W_K197E、K84W_K197Q、K84W_K197W、E86W_D93E、E86R_K197D、E86W_K197W、W15H_K84L_K197Q、K58S_E59S_K195D、K58H_E86R_K197D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、

K84I_E86R_D93H、W15R_E59D_F60D_K197W和E45R_K58S_E59S_K195D。

[0335] 实施方案7.如实施方案6所述的经修饰的IL12或IL 23p40亚基多肽,其包含:W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D、E86W_D93E、W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、K58S_E59S_K195D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H、W15R_E59D_F60D_K197W和E45R_K58S_E59S_K195D。

[0336] 实施方案8.如实施方案6所述的经修饰的IL12或IL23 p40亚基多肽,其包含:K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_E86W、E59R_K197E、E59R_K197W、E59R_K84E、E59R_K84W、F60E_K84W、F60R_K197W、K84E_D93H、K84I_D161R、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84W_K197E、K84W_K197Q和E86W_K197W。

[0337] 实施方案9.如实施方案6-8所述的经修饰的IL12或IL23 p40亚基多肽,其包含:W15H_K84L、K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_K84E、E59R_K84W、E59R_E86W、E59D_D93H、E59R_D93R、E59R_K197E、E59R_K197W、F60E_K84W、F60R_K84Y、F60K_K197W、F60R_K197W、K84I_E86R、K84E_D93H、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84I_D161R、K84W_D161R、K84W_K197E、K84W_K197Q、K84W_K197W、E86W_D93E、E86R_K197D和E86W_K197W。

[0338] 实施方案10.如实施方案6-9所述的经修饰的IL12或IL23 p40亚基多肽,其包含:W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D和E86W_D93E。

[0339] 实施方案11.如实施方案7-8所述的经修饰的IL12或IL 23p40亚基多肽,其包含:W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、K58S_E59S_K195D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H、W15R_E59D_F60D_K197W和E45R_K58S_E59S_K195D。

[0340] 实施方案12.如实施方案1-11中任一项所述的经修饰的IL12或IL 23p40亚基多肽,其相对于SEQ ID NO:10的人IL12 p40亚基包含单种氨基酸取代。

[0341] 实施方案13.一种IL12蛋白质,其含有实施方案1-12中任一项所述的经修饰的IL12 p40亚基多肽。14.一种IL23蛋白质,其含有实施方案1-12中任一项所述的经修饰的IL23 p40亚基多肽。

[0342] 实施方案14.一种融合蛋白质,其包含实施方案1-14中任一项所述的经修饰的IL12或IL 23p40亚基多肽和异源多肽。

[0343] 实施方案15.如实施方案14所述的融合蛋白质,其中所述异源多肽是抗体或其片段。

[0344] 实施方案16.如实施方案15所述的融合蛋白质,其中所述异源多肽是异二聚体Fc蛋白质。

[0345] 实施方案17.一种组合物,其包含实施方案1-14中任一项所述的经修饰的IL12或IL23 p 40亚基多肽或实施方案15-16中任一项所述的融合蛋白质,以及药学上可接受的载剂。

[0346] 实施方案18.如实施方案17所述的组合物,其用于治疗受试者的癌症。

[0347] 实施方案19.一种核酸分子,其编码实施方案1-14中任一项所述的经修饰的IL12或IL23 p40亚基多肽或实施方案15-16中任一项所述的融合蛋白质。

[0348] 实施方案20.一种包含实施方案19所述的核酸分子的载体。

[0349] 实施方案21.一种组合物,其包含实施方案19所述的核酸分子或实施方案20所述的载体,以及药学上可接受的载剂。

[0350] 实施方案22.一种经修饰的p40结构域,所述经修饰的p40结构域相对于SEQ ID NO:10中列出的野生型人成熟IL12 p40结构域序列包含一种或多种氨基酸取代,其中所述一种或多种氨基酸取代位于E45、D62和D161中的一个或多个位置处,并且其中所述氨基酸残基的编号基于SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列。

[0351] 实施方案23.如实施方案22所述的经修饰的p40结构域,其中位于所述一个或多个位置处的所述一种或多种氨基酸取代是K、H、I、N、R或S取代,或其组合。

[0352] 实施方案24.如实施方案22-23中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括E45K。

[0353] 实施方案25.如实施方案22-24中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括D62H。

[0354] 实施方案26.如实施方案22-24中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括D62I。

[0355] 实施方案27.如实施方案22-24中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括D62N。

[0356] 实施方案28.如实施方案22-27中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括D161R。

[0357] 实施方案29.如实施方案22-27中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括D161S。

[0358] 实施方案30.如实施方案22-29中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代包括E45K、D62H、D62I、D62N、D161R或D161S中两种或更多种取代的组合。

[0359] 实施方案31.一种经修饰的p40结构域,所述经修饰的p40结构域相对于SEQ ID NO:10中列出的野生型人成熟IL12 p40结构域序列包含一种或多种氨基酸取代,其中所述一种或多种氨基酸取代为W15H、W15K、W15R、D18G、E45K、K58H、K58W、E59D、E59G、E59R、F60D、F60E、F60K、F60R、F60V、D62H、D62I、D62N、K84E、K84I、K84L、K84V、K84W、K84Y、E86L、E86R、E86S、E86W、D93E、D93H、D93R、D93W、D161R、D161S、K197D、K197E、K197Q、K197T或K197W,或其组合,并且其中所述氨基酸残基的编号基于SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列。

[0360] 实施方案32.如实施方案31所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域包含一种或多种、两种或更多种、或三种或更多种氨基酸取代。

[0361] 实施方案33.如实施方案31-32中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代为W15H、W15K、D18G、E45K、K58H、K58W、E59G、E59R、F60V、D62H、D62I、D62N、K84E、K84W、E86L、E86S、E86W、D93H、D93W、D161R、D161S、K197E、K197Q、K197T或K197W,或其组合。

[0362] 实施方案34.如实施方案31-33中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代为W15H、W15K、E59R、K84E、K84W、E86W、D161R、K197T或K197W,或其组合。

[0363] 实施方案35.如实施方案31-32中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述两

种或更多种氨基酸取代为W15H_K84L、K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_K84E、E59R_K84W、E59R_E86W、E59D_D93H、E59R_D93R、E59R_K197E、E59R_K197W、F60E_K84W、F60R_K84Y、F60K_K197W、F60R_K197W、K84I_E86R、K84E_D93H、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84I_D161R、K84W_D161R、K84W_K197E、K84W_K197Q、K84W_K197W、E86W_D93E、E86R_K197D、E86W_K197W、W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H或W15R_E59D_F60D_K197W,或其组合。

[0364] 实施方案36.如实施方案35所述的经修饰的p40结构域,其中所述两种或更多种氨基酸取代为W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D、E86W_D93E、W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H或W15R_E59D_F60D_K197W,或其组合。

[0365] 实施方案37.如实施方案35所述的经修饰的p40结构域,其中所述两种或更多种氨基酸取代为K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_E86W、E59R_K197E、E59R_K197W、E59R_K84E、E59R_K84W、F60E_K84W、F60R_K197W、K84E_D93H、K84I_D161R、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84W_K197E、K84W_K197Q或E86W_K197W,或其组合。

[0366] 实施方案38.如实施方案35所述的经修饰的p40结构域,其中所述两种或更多种氨基酸取代为W15H_K84L、K58H_K84I、E59D_K84W、E59G_K84W、E59R_K84E、E59R_K84W、E59R_E86W、E59D_D93H、E59R_D93R、E59R_K197E、E59R_K197W、F60E_K84W、F60R_K84Y、F60K_K197W、F60R_K197W、K84I_E86R、K84E_D93H、K84I_D93H、K84V_D93H、K84W_D93W、K84I_D161R、K84W_D161R、K84W_K197E、K84W_K197Q、K84W_K197W、E86W_D93E、E86R_K197D或E86W_K197W,或其组合。

[0367] 实施方案39.如实施方案35所述的经修饰的p40结构域,其中所述两种或更多种氨基酸取代为W15H_K84L、E59D_D93H、E59R_D93R、F60K_K197W、F60R_K84Y、K84I_E86R、K84W_D161R、K84W_K197W、E86R_K197D或E86W_D93E,或其组合。

[0368] 实施方案40.如实施方案31-32中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述三种或更多种氨基酸取代为W15H_K84L_K197Q、K58H_E86R_K197D、E59D_K84W_K197W、F60R_K84E_K197W、K84I_E86R_D93H或W15R_E59D_F60D_K197W,或其组合。

[0369] 实施方案41.如实施方案31-32中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述一种或多种氨基酸取代选自表C。

[0370] 实施方案42.如实施方案31-32中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域包含与SEQ ID NO:12-14、16、18、19、21-34和36-56中任一项中列出的氨基酸序列具有至少约90％、95％、97％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。

[0371] 实施方案43.如实施方案31-32中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域包含选自以下的氨基酸取代或氨基酸取代集合:W15R_E59D_F60D_K197W、W15H_K84L_K197Q、E59D_K84W_K197W、K58H_E86R_K197D、W15H_K84L、F60R_K84E_K197W、K84W_K197W、F60K_K197W、E86R_K197D、K84I_E86R_D93H、E59R_D93R、K84I_E86R、W15K、K84W_D161R、E45R_K58S_E59S_K195D、E59D_D93H、F60R_K84Y、E86W_D93E、K58S_E59S_K195D、K84E、K197T、E59R、W15H、K84W、K197W、E59S、D161R或E86W,或其组合。

[0372] 实施方案44.如实施方案43所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域包含选自以下的氨基酸取代或氨基酸取代集合:W15H_K84L_K197Q、E59D_K84W_K197W、

K84W_K197W、F60K_K197W、E59R_D93R、W15K或F60R_K84Y,或其组合。

[0373] 实施方案45.如实施方案22-44中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体的结合亲和力相对于具有SEQ ID NO:10中列出的序列的未修饰野生型p40结构域的结合亲和力并且如在报告基因测定(RGA)中所确定降低约5倍至约1000倍、约5倍至约800倍、约5倍至约600倍、约10倍至约500倍、约10倍至约300倍或约20倍至约200倍。

[0374] 实施方案46.如实施方案45所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体的结合亲和力降低约20倍至约200倍。

[0375] 实施方案47.如实施方案45-46中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述至少一种同源受体包含IL12Rβ1。

[0376] 实施方案48.如实施方案22-47中任一项所述的经修饰的p40结构域,其中所述经修饰的p40结构域的如通过解链温度测量的热稳定性在具有SEQ ID NO:10中列出的序列的未修饰的野生型p40结构域的热稳定性的±5℃、±4℃、±3℃、±2℃或±1℃内,并且其中所述解链温度通过差示扫描荧光法(DSF)或差示扫描量热法(DSC)来确定。

[0377] 实施方案49.一种IL12融合蛋白质,其包含实施方案22-48中任一项所述的经修饰的p40结构域。

[0378] 实施方案50.一种IL12融合蛋白质,其包含IL12多肽,其中所述IL12多肽包含

[0379] 实施方案22-48中任一项所述的经修饰的p40结构域;所述经修饰的p40结构域偶联到

[0380] p35结构域。

[0381] 实施方案51.如实施方案50所述的IL12融合蛋白质,其中所述p35结构域包含与SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。

[0382] 实施方案52.如实施方案50-51中任一项所述的IL12融合蛋白质,其中所述p35结构域的N末端直接地或经由第一接头偶联到所述经修饰的p40结构域的C末端。

[0383] 实施方案53.如实施方案52所述的IL12融合蛋白质,其中所述第一接头具有$(G_4S)_x$的序列,并且其中x是1、2、3或4。

[0384] 实施方案54.如实施方案50-53中任一项所述的IL12融合蛋白质,其进一步包含异二聚体Fc(HetFc)结构域,所述异二聚体Fc(HetFc)结构域包含第一Fc多肽和第二Fc多肽,从而形成IL12 HetFc融合蛋白质。

[0385] 实施方案55.如实施方案54所述的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述IL12多肽直接地或经由第二接头偶联到所述第一Fc多肽。

[0386] 实施方案56.如实施方案55所述的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述IL12多肽偶联到所述第一Fc多肽的C末端。

[0387] 实施方案57.如实施方案55-56中任一项所述的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述IL12多肽经由所述经修饰的p40结构域的N末端偶联到所述第一Fc多肽的C末端。

[0388] 实施方案58.如实施方案55-57中任一项所述的IL12 HetFc融合蛋白质,其进一步包含掩蔽部分,从而形成经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述掩蔽部分能够与所述经修饰的p40结构域非共价相互作用,从而掩蔽所述经修饰的p40结构域并且使所述经修饰

的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体的结合的结合亲和力(K_D)在与未掩蔽的经修饰的p40结构域相比时降低。

[0389] 实施方案59.如实施方案58所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述掩蔽部分直接地或经由第三接头偶联到所述第二Fc多肽的C末端。

[0390] 实施方案60.如实施方案59所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述第三接头是蛋白酶可切割的接头。

[0391] 实施方案61.如实施方案58-60中任一项所述的经掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质,其中所述第二接头和所述第三接头各自包含横跨从5个至约50个氨基酸的氨基酸序列或由其组成。

[0392] 实施方案62.如实施方案61所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述第二接头包含SEQ ID NO:132中列出的氨基酸序列或由其组成,并且所述第三接头包含SEQ ID NO:134中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0393] 实施方案63.如实施方案58-62中任一项所述的经掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质,其中所述掩蔽部分包含scFv结构域或由其组成,所述scFv结构域包含直接地或经由第四接头偶联到V_L结构域的V_H结构域。

[0394] 实施方案64.如实施方案63所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述第四接头包含SEQ ID NO:135中列出的所述氨基酸序列或由其组成。

[0395] 实施方案65.如实施方案63-64中任一项所述的经掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质,其中所述V_H结构域包含具有与SEQ ID NO:2中列出的序列具有约95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列或由其组成,并且所述V_L结构域包含与SEQ ID NO:3中列出的序列具有约95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。

[0396] 实施方案66.如实施方案58-65中任一项所述的经掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质,其中所述掩蔽部分能够使所述经修饰的p40结构域与所述至少一种同源受体的结合亲和力与不包含所述掩蔽部分的相应多肽构建体相比降低至少约10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、200倍或至少约300倍。

[0397] 实施方案67.如实施方案66所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述至少一种同源受体包含IL12Rβ1。

[0398] 实施方案68.一种经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其包含:

[0399] (i)IL-12多肽,其包含根据实施方案22-48中任一项所述的经修饰的p40结构域,所述经修饰的p40结构域经由接头$(G_4S)_4$偶联到包含SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列或由其组成的p35结构域;

[0400] (ii)异二聚体Fc结构域,其包含第一Fc多肽和第二Fc多肽;和

[0401] (iii)掩蔽部分(MM),其包含抗IL12 scFv结构域,

[0402] 其中:

[0403] 所述IL12多肽直接地或经由第二接头偶联到所述第一Fc多肽的C末端,并且

[0404] 所述掩蔽部分直接地或经由第三接头偶联到所述第二Fc多肽的C末端,并且能够与所述IL12多肽非共价相互作用,从而降低所述IL12多肽与其同源受体中的至少一种同源受体的结合亲和力。

[0405] 实施方案69.如实施方案68所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其包含以下

从N末端到C末端的两条多肽链或由其组成:(i)Fc-IL12多肽链和(ii)Fc-MM多肽链。

[0406] 实施方案70.如实施方案69所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述Fc-IL12多肽链包含与SEQ ID NO:61-89中列出的任何氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。

[0407] 实施方案71.如实施方案69-70中任一项所述的经掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质,其中所述Fc-IL12多肽链包含SEQ ID NO:61-89中任一项中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0408] 实施方案72.如实施方案69-71中任一项所述的经掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质,其中所述Fc-MM多肽链包含与SEQ ID NO:60中列出的氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。

[0409] 实施方案73.如实施方案69-72中任一项所述的经掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质,其中所述Fc-MM多肽链包含SEQ ID NO:60中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0410] 实施方案74.如实施方案69-73中任一项所述的经掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质,其中(i)所述Fc-IL12多肽链氨基酸序列选自由以下序列组成的组:v28046、v28047、v28048、v28049、v28050、v28051、v28053、v28054、v28055、v28056、v28057、v28058、v28059、v28060、v28061、v28062、v28063、v28064、v28065、v28066、v28067、v28068、v28069、v28070、v28071、v28072、v28074和v28075,并且(ii)所述Fc-MM多肽链包含v26503的氨基酸序列或由其组成。

[0411] 实施方案75.一种未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其包含:

[0412] (i)IL-12多肽,其包含如实施方案22-48中任一项所述的经修饰的p40结构域,所述经修饰的p40结构域经由接头$(G_4S)_4$偶联到包含SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列或由其组成的p35结构域;和

[0413] (ii)异二聚体Fc结构域,其包含第一Fc多肽和第二Fc多肽,

[0414] 其中所述IL12多肽直接地或经由第二接头偶联到所述第一Fc多肽的C末端。

[0415] 实施方案76.如实施方案75所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其包含以下从N末端到C末端的两条多肽链或由其组成:(i)Fc-IL12多肽链和(ii)Fc-MM多肽链。

[0416] 实施方案77.如实施方案76所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其中所述Fc-IL12多肽链包含与SEQ ID NO:61-89中列出的任何氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。

[0417] 实施方案78.如实施方案76-77中任一项所述的未掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质,其中所述Fc-IL12多肽链包含SEQ ID NO:61-89中任一项中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0418] 实施方案79.如实施方案76-78中任一项所述的未掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质,其中所述Fc多肽链包含与SEQ ID NO:58中列出的氨基酸序列具有至少约90%、95%、97%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。

[0419] 实施方案80.如实施方案76-79中任一项所述的未掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质,其中(i)所述IL12多肽链氨基酸序列选自由以下序列组成的组:v28046、v28047、v28048、v28049、v28050、v28051、v28053、v28054、v28055、v28056、v28057、v28058、v28059、v28060、v28061、v28062、v28063、v28064、v28065、v28066、v28067、v28068、v28069、v28070、v28071、v28072、v28074和v28075,并且(ii)所述Fc多肽链包含v12153的氨基酸序列或由其组成。

[0420] 实施方案81.一种药物组合物,其包含(i)实施方案22-48中任一项所述的经修饰

的p40结构域、(ii)实施方案58-74中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,和/或(iii)实施方案75-80所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,以及药学上可接受的载剂。

[0421] 实施方案82.一种核酸分子或核酸分子集合,其编码(i)实施方案22-48中任一项所述的经修饰的p40结构域、(ii)实施方案58-74中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,和/或(iii)实施方案75-80所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质。

[0422] 实施方案83.一种载体或载体集合,其包含实施方案82所述的核酸分子或核酸分子集合。

[0423] 实施方案84.一种鉴定p40结构域氨基酸序列中的一种或多种氨基酸取代以产生经修饰的p40结构域的方法,所述方法包括进行分子动力学和诱变模拟,从而鉴定表C中列出的所述一种或多种氨基酸取代,其中所述经修饰的p40结构域氨基酸序列中的所述一种或多种氨基酸取代是相对于SEQ ID NO:1中列出的序列,并且其中所述一种或多种氨基酸取代降低所述经修饰的p40结构域与其同源受体中的至少一种同源受体的结合亲和力(K_D),这是相对于不包含所述一种或多种氨基酸取代的未修饰的p40结构域而言的。

[0424] 实施方案85.如实施方案84所述的方法,其中所述至少一种同源受体包含IL12Rβ1。

[0425] 实施方案86.如实施方案84-85中任一项所述的方法,其中所述经修饰的p40结构域的结合亲和力与未修饰的p40结构域相比并且如在报告基因测定中所确定降低至少约2倍、5倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍或至少约600倍。

[0426] 实施方案87.一种治疗有此需要的受试者的疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的药物组合物,所述药物组合物包含(i)实施方案22-48中任一项所述的经修饰的p40结构域、(ii)实施方案58-74中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,和/或(iii)实施方案75-80所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,从而治疗所述受试者中的疾病。

[0427] 实施方案88.如实施方案87所述的方法,其中所述多肽构建体是实施方案58-74中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质。

[0428] 实施方案89.如实施方案88的方法,其中所述经掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质的所述掩蔽部分在患病组织或器官中从所述融合蛋白质上被切割。

[0429] 实施方案90.如实施方案87-89中任一项所述的方法,其中所述疾病是癌症。

[0430] 实施方案91.如实施方案22-48中任一项所述的经修饰的p40结构域、如实施方案58-74中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质或如实施方案75-80中任一项所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其用于疗法中。

[0431] 实施方案92.如实施方案22-48中任一项所述的经修饰的p40结构域、实施方案58-74中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,或实施方案75-80中任一项所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,其用于癌症的治疗中。

[0432] 实施方案93.实施方案22-48中任一项所述的经修饰的p40结构域、实施方案58-74中任一项所述的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质或实施方案75-80中任一项所述的未掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质用于制造用于治疗癌症的药物的用途。

[0433] 除非另外定义,否则本文所用的所有技术性和科学性术语具有与所要求保护的主

题所属领域中的技术人员通常所理解的相同的含义。如果本文中的术语存在多个定义,则以此章节的定义为准。在提及URL或其他此类标识符或地址的情况下,应理解此类标识符可能会更改,并且因特网上的特定信息可能会来来去去,但等效的信息可以通过搜索因特网来找到。对此的引用证明了此类信息的可用性和公开传播。抗体技术领域的技术人员所理解的术语各自被赋予在本领域中获得的含义,除非在本文中明确定义不同。

[0434] 应理解的是,一般描述和下面的详细描述都只是示例性和说明性的,并不限制所要求保护的主题。

[0435] 在本申请中,除非另有具体说明,否则单数的使用包括复数。

[0436] 在本说明书中,除非另有指示,任何浓度范围、百分比范围、比率范围或整数范围应理解为包括在所列举范围内的任何整数的值,并且在适当时,包括其分数(诸如,整数的十分之一和百分之一)。如本文所用,除非另有指示,否则"约"意指所指示范围、值、序列或结构的±10%。应当理解,除非另有指示或上下文另有指示,否则如本文所用的术语"一个/种(a)"和"一个/种(an)"是指所列举组分中的"一个或多个"。替代方案(例如,"或")的使用应理解为意指替代方案中的一个、两者或其任何组合。如本文所用,术语"包括(include)"和"包含(comprise)"是同义使用的。此外,应当理解,衍生自本文所述结构和取代基的各种组合的各单链多肽或免疫球蛋白构建体是由本申请公开,其程度如同每个单链多肽或异二聚体被单独阐述一样。因此,选择特定组分以形成单个单链多肽或异二聚体在本公开的范围内。

[0437] 本文所使用的章节标题仅出于组织性目的并且不被解读为限制所描述的主题。

[0438] 应当理解,本文所述的方法和组合物不限于本文所述的特定方法、方案、细胞系、构建体和试剂,并且因此可以变化。还应理解,本文中使用的术语仅为了描述特定实施方案的目的,并非旨在限制本文所述的方法和组合物的范围,本文所述的方法和组合物的范围只受所附权利要求书限定。

[0439] 实施例

[0440] 实施例1:通过分子建模和计算机引导的工程改造对具有降低的对IL12RB1的亲和力的经修饰的P40结构域进行的设计

[0441] IL12作为抗肿瘤剂的临床效用受到其免疫刺激作用驱动的高毒性的限制。为了降低IL12的免疫刺激效力,可以通过工程改造来降低IL12对其受体IL12Rβ1和/或IL12Rβ2的亲和力。

[0442] 本实施例描述了通过分子建模和计算机引导的工程改造对具有降低的对IL12Rβ1的亲和力的经修饰的p40结构域文库进行的电脑模拟设计。

[0443] 方法:

[0444] 结构制备与分析

[0445] 作为工程改造的起点,从与IL12Rβ1(PDB ID 6wdq)复合的IL12的晶体结构提取了与IL12Rβ1复合的p40结构域的结构坐标。使用专有的电脑模拟建模工具优化结构模型。此程序重建缺失的原子并纠正结构中建模不良的区域,包括可能受晶体堆积限制影响的氨基酸侧链和主链构象。

[0446] 使用几种专有的分子建模工具(例如,ResidueContacts™工具和AffinityDecomposition™工具)并从视觉上对优化的结构进行分析,以鉴定p40-IL12Rβ1界

面处的热点位置,即有助于稳定性和亲和力的关键残基。

[0447] 使用相同的程序来制备和评估与抗体布雷奴单抗(Briakinumab)(来自PDB ID 5njd)和乌司奴单抗(来自PDB ID 3hmx)的抗体抗原结合片段(Fab)复合的p40结构域的结构。

[0448] 对含有p40结构域的多种已发表的晶体结构(例如1f45、3duh、3hmx、3qrw、4grw、5mxa、5mzv、5njd、6wdq等)的比较揭示,p40结构域具有显著程度的构象柔性。为了评价潜在突变对未复合p40稳定性的影响,需要获得代表将对突变进行设计的IL12Rβ1结合位点附近最常见构象的未复合p40结构域的结构。对经分离的p40结构域结构进行显式分子动力学模拟,并使用仅免疫球蛋白结构域和p40的第一纤维连接蛋白III型结构域的比对来联接轨迹坐标并进行聚类,以生成代表五个构象簇的结构。

[0449] 使用计算机引导的工程改造的突变设计

[0450] 通过电脑模拟诱变和用ZymeCAD®平台建模模拟了p40内选定位置处的潜在突变。ZymeCAD®平台是一个软件套件,其在给定输入结构和突变集合的情况下将根据提供的突变改变输入结构中的残基类型,并生成近似于突变蛋白质物理结构的新结构。此外,ZymeCAD®平台通过计算各种基于物理和基于知识的定量度量来评价突变蛋白质相对于亲本非突变蛋白质的特性。这些度量包括,例如,基于能量因素(诸如范德华堆积、空化效应、疏水基团的紧密接触、电荷之间的库仑相互作用、氢键、去溶剂化效应等)计算的空间和静电互补性的量度,该能量因素可能与一种或多种突变蛋白质的稳定性、结合亲和力或结合特异性相关。

[0451] 使用与IL12Rβ1复合的p40的已制备结构以及与抗体布雷奴单抗和乌司奴单抗的抗体抗原结合片段(Fab)复合的p40的已制备结构执行此程序,以评估潜在突变对每种复合物的亲和力和稳定性的影响。

[0452] 除了它们对以上复合物的稳定性和亲和力的影响之外,还评估了潜在的p40突变对经分离的、未复合的p40结构域的稳定性的影响。这是通过使用ZymeCAD®平台模拟通过分子动力学模拟生成的未复合p40结构域的三个最高构象簇中每一个的代表性结构上的潜在突变并评估它们对预测稳定性的影响来实现的。

[0453] 潜在突变是在迭代过程中设计的,首先模拟单个热点残基的突变并使用ZymeCAD™平台进行评价,基于稳定性和亲和力度量以及目视检查选择有前景的突变,随后模拟、评价和选择包含一种或多种亲本选定突变和临近残基或替代热点的额外突变的额外突变集合,该额外突变集合可以对含有所得突变集合的经修饰的p40结构域的预测稳定性和/或亲和力度量提供协同或其他方面期望的影响。

[0454] 使用专有的电脑模拟工具进一步评估潜在突变和突变集合对所得经修饰的p40结构域的预测T细胞表位含量的影响,该工具基于来自Immune Epitope Database(IEDB;https://www.iedb.org/)的代表性MHC等位基因集合的MHC II类肽结合亲和力预测值计算蛋白质序列的每个残基和复合T细胞表位得分

[0455] 结果:

[0456] 基于许多电脑模拟度量和通过目视检查过滤通过使用ZymeCAD®平台进行的

电脑模拟模拟诱变和结构评价的迭代过程生成的潜在突变和突变集合,以获得这样的突变和突变集合文库,该突变和突变集合文库据预测能提供经修饰的p40结构域和IL12Rβ1之间的广泛的亲和力,对未复合的经修饰的p40结构域的稳定性具有积极或最小的负面影响,对经修饰的p40结构域和布雷奴单抗之间的亲和力具有最小的影响,并且对经修饰的p40结构域的预测T细胞表位含量具有最小的影响。

[0457] 表G中提供了所得的文库,以及由ZymeCAD®平台生成的可能与以下相关的选定电脑模拟度量:经修饰的p40结构域和IL12Rβ1之间的亲和力("ΔA Rβ1"和"ΔS Rβ1"分别表示基于亲和力和稳定性物理学的度量;计算为与IL12Rβ1复合的未修饰和经修饰的p40结构域之间的增量;负ΔA值指示亲和力改善或增强,而正ΔA值指示亲和力恶化或减弱;负ΔS值指示稳定性改善或增加,而正ΔS值指示稳定性恶化或降低)、未复合的经修饰的p40结构域的稳定性("ΔS Apo"表示未复合的未修饰和经修饰的p40结构域之间的稳定性得分增量)、经修饰的p40结构域与布雷奴单抗和乌司奴单抗之间的亲和力("ΔABria"和"ΔAUste",分别表示与布雷奴单抗和乌司奴单抗复合的未修饰和经修饰的p40结构域之间的亲和力得分增量),以及经修饰p40结构域的预测T细胞表位含量("TCES"表示经修饰的p40结构域的复合T细胞表位得分;正TCES值指示预测T细胞表位含量相对于未修饰的p40的增加)。

[0458]

表 G: p40 突变和电脑模拟度量

P40 突变 [a]	ΔA Rβ1	ΔS Rβ1	ΔS Apo	ΔA Bria	ΔA Uste	TCES	SEQ ID
W15R_E59D_F60D_K197W	92.6	143.8	37.2	11.4	21.3	5.47	40
W15H_K84L_K197Q	78.5	133	36.4	-11.1	10.5	9.83	42
E59D_K84W_K197W	65.7	104.5	-39.4	-21.6	12.3	7.52	46
K58H_E86R_K197D	65.2	100.8	18.4	-1.4	-0.7	6.32	44
W15H_K84L	62	111.9	32	-3.3	11.1	3.64	41
F60R_K84E_K197W	58.6	145.5	4.1	-11.1	3.4	8.52	50
K84W_K197W	54.6	95.9	-37.5	-21	6.4	7.52	55
F60K_K197W	53.9	81.7	-3.1	-1.8	9.6	6.57	49
E86R_K197D	50.8	83.1	13.7	0.6	2.1	6.32	56

[0459]

表 G: p40 突变和电脑模拟度量							
P40 突变 [a]	ΔA Rβ1	ΔS Rβ1	ΔS Apo	ΔA Bria	ΔA Uste	TCES	SEQ ID
K84I_E86R_D93H	50.6	89.1	-6.8	4.4	1.9	7.79	53
E59R_D93R	49	133.4	22.3	-1.8	93.9	2.74	48
K84I_E86R	43.1	49.9	-4.6	2.6	1.3	6.73	52
W15K	41.9	89.4	53.7	16.9	16	0	13
K84W_D161R	36.5	46.2	-25	-15.2	7.9	3.19	54
E45R_K58S_E59S_K195D	36	49.3	26.5	-2.7	54	19.05	43
E59D_D93H	31.1	58.3	-0.7	3.5	4.2	0.85	47
F60R_K84Y	30	128.2	9.5	-6.4	10.9	4.44	51
E86W_D93E	29.3	41.5	-11.3	-9.7	1.2	3.77	57
K58S_E59S_K195D	27.4	41.2	21.8	-4.4	9.1	9.64	45
K84E	27.3	60	7.8	-7.2	2.3	1.86	24
K197T	23.2	34.1	9.1	-2	-0.1	5.06	38
E59R	22.8	62.4	8.6	2	90.3	1.55	19
W15H	20.9	51.1	35.5	4.4	10.2	0	12
K84W	19.6	18.3	-28.2	-18.5	6.6	2.05	27
K197W	16.8	62.8	-6.9	-6.3	-4.4	5.47	39
E59S	16.1	25.1	6.1	0.7	19.2	1.01	20
D161R	14.5	19.7	4.3	2.5	1.3	1.13	34
E86W	12.1	8.5	-8.2	-14.2	0.6	3.77	30

[0460] [a]根据不含信号肽(SP)的成熟p40序列(SEQ ID NO:10)对突变进行编号。应用于包含SP的p40前体序列的相同突变编号如下(还参见,例如表B和C):W37R_E81D_F82D_K219W、W37H_K106L_K219Q、E81D_K106W_K219W、K80H_E108R_K219D、W37H_K106L、F82R_K106E_K219W、K106W_K219W、F82K_K219W、E108R_K219D、K106I_E108R_D115H、E81R_D115R、K106I_E108R、W37K、K106W_D183R、E67R_K80S_E81S_K217D、E81D_D115H、F82R_K106Y、E108W_D115E、K80S_E81S_K217D、K106E、K219T、E81R、W37H、K106W、K219W、E81S、D183R、E108W

[0461] 实施例2:含有被修饰以降低对IL12RB1的亲和力的P40结构域的IL12 $H_{ET}F_C$融合蛋白质的生产、纯化和生物物理表征

[0462] 在任何含有p40结构域的融合蛋白质的背景下,通过比较含有经修饰的p40结构域的融合蛋白质与具有未修饰的p40结构域的相应融合蛋白质的特性,可以评估被工程改造以降低对IL12Rβ1的亲和力的经修饰的p40结构域的生物物理和功能影响。本实施例描述了含有经修饰的和未修饰的p40结构域的IL12 HetFc融合蛋白质以及经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质的表达、纯化和生物物理表征。

[0463] 方法:

[0464] IL12 HetFc和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质的设计:

[0465] 按照如图2A至图2B中描绘的变体30806的几何结构构建了IL12与异二聚体Fc('HetFc')的融合蛋白质。简而言之,使用单链IL12("scIL12")(由通过肽接头在C末端融合至p40结构域的p35结构域和通过多肽接头在C末端融合至HetFc的两条链之一的scIL12组

成)设计融合蛋白质。通过添加经由肽接头在C末端融合至第二HetFc链的布雷奴单抗衍生的scFv以相同的方式构建经掩蔽的IL12融合蛋白质,如图2B中针对变体v35436所描绘的。IL12 HetFc和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质是用突变的和未突变的p40结构域构建的,如表H中所概述。

[0466] 克隆:

[0467] 将经设计的IL12 HetFc融合蛋白质的多肽序列反向翻译为DNA,针对哺乳动物细胞表达进行密码子优化,并进行基因合成。所有序列的前面都是序列MRPTWAWWLFLVLLLALWAPARG(SEQ ID NO:1)的人工设计的信号肽(Barash S等人,Biochem and Biophys Res.Comm.2002;294,835-842)。对于所有序列,将由5'-EcoR1限制性位点、上述信号肽、对应于本实施例中呈现的克隆的经密码子优化的DNA序列、TGA或TAA终止密码子和BamH1限制性位点-3'组成的载体插入物连结到pTT5载体中以产生表达载体(Durocher Y等人,Nucl.Acids Res.2002;30,No.2e9)。对所得表达载体进行测序以确认编码DNA的正确阅读框和序列。

[0468] 哺乳动物细胞瞬时转染和蛋白质表达:

[0469] 为产生重组IL12 HetFc融合蛋白质,将密度为1.5-2.2×10^6个细胞/毫升的HEK293-6E细胞在37℃下在补充有G418(Wisent生物制品目录号400-130-IG)、4mM谷氨酰胺和0.1% Pluronic F-68(Gibco目录号24040-032)的FreeStyle™ F17培养基(GIBCO目录号A13835-01)中培养。以1:2.5(w/w)的DNA:PEI比率使用PEI-max(Polyscience,Philadelphia,PA)按每1mL细胞1μg DNA(由1:1w/w比率的变体表达载体DNA混合物和GFP/AKT/stuffer DNA组成的DNA)转染细胞。在添加DNA-PEI混合物后24小时,向细胞中添加0.5mM丙戊酸(终浓度)和0.5%w/v胰蛋白胨N1(终浓度),然后将该细胞转移到37℃并在收获前温育7天。

[0470] 通过蛋白质A亲和层析进行的蛋白质纯化:

[0471] 将来自瞬时转染的上清液施加到含有50%mAb Select SuRe™树脂(GE Healthcare,Chicago,IL)的浆液中,并在150rpm的定轨振荡器上在2-8℃下温育过夜。将浆液转移到层析柱中并收集流过物。然后用5个床体积(BV)的树脂平衡缓冲液(PBS)洗涤树脂。为了洗脱被靶向的蛋白质,将5.5BV的酸性洗脱缓冲液(100mM柠檬酸钠缓冲液pH 3.5)添加到柱中并收集级分。然后通过添加10%(v/v)1M Tris pH9中和洗脱级分以达到6-7的最终pH值。通过使用Nanodrop™或用相对比色蛋白质测定通过280nm吸光度测量来确定每个洗脱级分的蛋白质含量。汇集最浓缩的级分,其对应于总洗脱的蛋白质的至少80%。

[0472] 通过制备型分子排阻层析法(制备型SEC)进行的蛋白质纯化:

[0473] 将样本在PBS中以0.8mL/min的流速加载到Akta pure 25层析系统(GE Healthcare Life Sciences,Marlborough,MA)上的Superdex 200Increase 10/300柱(#28-9909-44,GE Healthcare Life Sciences,Marlborough,MA)上。基于A280 nm收集洗脱的蛋白质的级分,并利用LabChip™ GXII Touch(Perkin Elmer,Waltham,MA)通过非还原CE-SDS分析它们的纯度。汇集高纯度的含蛋白质级分,并基于SEC后的A280 nm(Nanodrop™)对最终汇集物中的蛋白质进行定量。

[0474] 使用LabChip™通过毛细管电泳(CE)进行的纯度评估

[0475] 通过非还原和还原LabChip™ CE-SDS评估融合蛋白质样本的纯度。LabChip™

GXII Touch(Perkin Elmer,Waltham,MA)。根据Protein Express Assay用户指南(PerkinElmer,Waltham,MA)进行分析,并进行了以下修改。将浓度范围为5-2000ng/μl的样本连同7μl HT Protein Express样本缓冲液(#CLS920003,Perkin Elmer)添加到96孔板(#MSP9631,BioRad,Hercules,CA)的单独孔中,并在90℃下变性5分钟。LabChip™仪器是使用LabChip™ HT Protein Express芯片(Perkin Elmer#760528)以HT Protein Express 200测定设置运行。

[0476] 通过UPLC-SEC进行的纯度评估

[0477] 通过UPLC-SEC评估融合蛋白质样本,以确定它们的高分子量物质的百分比。UPLC-SEC使用设置为30℃并安装在带有PDA检测器的Agilent Technologies 1260infinity II系统上的Waters Acquity BEH200 SEC柱(2.5mL,4.6×150mm,不锈钢,1.7μm颗粒)(Waters LTD,Mississauga,ON)进行。运行时间为7分钟,每次进样的总体积为2.8mL,运行缓冲液为150mM磷酸钠pH 6.95,DPBS+0.02%吐温20或200mM KPO4,200mM KCl,pH7或200mM KPO4,200mM KCl,0.02%吐温20,pH7,流速为0.4mL/min。通过210-500nm范围内的UV吸光度监测洗脱,并在280nm处提取层析图谱。峰积分是使用OpenLAB™ CDS ChemStation™软件进行。

[0478] 通过差示扫描荧光法(DSF)进行的稳定性评估

[0479] 使用CFX Connect实时PCR检测系统(BioRad)通过DSF评估融合蛋白质样本的稳定性。向96孔PCR板的孔中添加25μl缓冲液、5μl 40xSYPRO Orange染料和10μl变体。将板用光学PCR板密封件密封,以1000rpm离心1分钟,置于热循环仪中,并以0.5℃/min或1℃/min在25℃至95℃梯度上读取。

[0480] 结果:

[0481] 预计含有经修饰的和未修饰的p40结构域的IL12 HetFc和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质的样本可以从瞬时转染的哺乳动物细胞中表达,并且可通过由蛋白质A亲和层析以及随后的制备型SEC或IEX组成的两步纯化过程被纯化至均质。预计含有经修饰的p40结构域的IL12 HetFc和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质的表达滴度、纯化产量和稳定性将不同于含有未修饰的p40结构域的IL12 HetFc和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质,这一趋势与如实施例1中描述的电脑模拟预测的经修饰的p40结构域的稳定性相关。

[0482]

表 H：含有相应经修饰的 p40 结构域的 IL12 HetFc 融合蛋白质的 p40 突变以及克隆和变体编号				
P40 突变 [a]	HetFc-scIL12 克隆编号	SEQ ID NO	IL12 HetFc 融合蛋白质变体编号 [b]	经掩蔽的 IL12 HetFc 融合蛋白质变体编号 [c]
无	22279	61	30806	35436
E59R_D93R	28046	62	37154	37467
F60R_K84Y	28047	63	37155	37468
E86R_K197D	28048	64	37156	37469
K84W_K197W	28049	65	37157	37470
F60K_K197W	28050	66	37158	37471
K84I_E86R	28051	67	37159	37472
E86W_D93E	28053	68	37161	37474
E59D_D93H	28054	69	37162	37475
K84W_D161R	28055	70	37163	37476
K84E	28056	71	37164	37477
E59R	28057	72	37165	37478
K197T	28058	73	37166	37479
D161R	28059	74	37167	37480
E59S	28060	75	37168	37481
K84W	28061	76	37169	37482
E86W	28062	77	37170	37483
K197W	28063	78	37171	37484
W15R_E59D_F60D_K197W	28064	79	37172	37485

[0483]

表 H：含有相应经修饰的 p40 结构域的 IL12 HetFc 融合蛋白质的 p40 突变以及克隆和变体编号				
P40 突变 [a]	HetFc-scIL12 克隆编号	SEQ ID NO	IL12 HetFc 融合蛋白质变体编号 [b]	经掩蔽的 IL12 HetFc 融合蛋白质变体编号 [c]
F60R_K84E_K197W	28065	80	37173	37486
W15H_K84L_K197Q	28066	81	37174	37487
E59D_K84W_K197W	28067	82	37175	37488
K58H_E86R_K197D	28068	83	37176	37489
K84I_E86R_D93H	28069	84	37177	37490
W15H_K84L	28070	85	37178	37491
W15K	28071	86	37179	37492
W15H	28072	87	37180	37493
E45R_K58S_E59S_K195D	28074	88	37181	37494
K58S_E59S_K195D	28075	89	37182	37495

[0484] [a]根据不含SP的成熟p40序列对突变进行编号。应用于包含SP的p40前体序列的相同突变编号如下:E81R_D115R、F82R_K106Y、E108R_K219D、K106W_K219W、F82K_K219W、K106I_E108R、E108W_D115E、E81D_D115H、K106W_D183R、K106E,E81R、K219T,D183R、E81S,

K106W、E108W、K219W、W37R_E81D_F82D_K219W、F82R_K106E_K219W、W37H_K106L_K219Q、E81D_K106W_K219W、K80H_E108R_K219D、K106I_E108R_D115H、W37H_K106L、W37K、W37H、E67R_K80S_E81S_K217D、K80S_E81S_K217D

[0485] [b]每个IL12 HetFc融合蛋白质变体含有如表H中列出的HetFc-scIL12克隆,加上HetFc克隆12153(SEQ ID NO:58)

[0486] [c]每个经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质变体含有如表H中列出的HetFc-scIL12克隆,加上HetFc-scFv克隆26503(SEQ ID NO:60)

[0487] 实施例3:含有被修饰以降低对IL12RB1的亲和力的P40结构域的IL12 HetFc融合蛋白质的生产、纯化和生物物理表征

[0488] 在任何含有p40结构域的融合蛋白质的背景下,通过比较含有经修饰的p40结构域的融合蛋白质与具有未修饰的p40结构域的相应融合蛋白质的特性评估被工程改造以降低对IL12Rβ1的亲和力的经修饰的p40结构域的生物物理和功能影响。本实施例描述了含有经修饰的和未修饰的p40结构域的IL12 HetFc融合蛋白质以及经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质的表达、纯化和生物物理表征。

[0489] 方法:

[0490] IL12 HetFc和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质的设计:

[0491] 按照如图2A至图2B中描绘的变体30806的几何结构构建了IL12与异二聚体Fc('HetFc')的融合蛋白质。简而言之,使用单链IL12("scIL12")(由通过肽接头在C末端融合至p40结构域的p35结构域和通过多肽接头在C末端融合至HetFc的两条链之一的scIL12组成)设计融合蛋白质。通过添加经由肽接头在C末端融合至第二HetFc链的布雷奴单抗衍生的scFv以相同的方式构建经掩蔽的IL12融合蛋白质,如图2B中针对变体v35436所描绘的。IL12 HetFc和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质是用突变的和未突变的p40结构域构建的,如表I中所概述。

[0492] 克隆:

[0493] 将经设计的IL12 HetFc融合蛋白质的多肽序列反向翻译为DNA,针对哺乳动物细胞表达进行密码子优化,并进行基因合成。所有序列的前面都是序列MRPTWAWWLFLVLLLALWAPARG(SEQ ID NO:1)的人工设计的信号肽(Barash S等人,Biochem and Biophys Res.Comm.2002;294,835-842)。对于所有序列,将由5'-EcoR1限制性位点、上述信号肽、对应于本实施例中呈现的克隆的经密码子优化的DNA序列、TGA或TAA终止密码子和BamH1限制性位点-3'组成的载体插入物连结到pTT5载体中以产生表达载体(Durocher Y等人,Nucl.Acids Res.2002;30,No.2e9)。对所得表达载体进行测序以确认编码DNA的正确阅读框和序列。

[0494] 哺乳动物细胞瞬时转染和蛋白质表达:

[0495] 为产生重组IL12 HetFc融合蛋白质,将密度为1.5-2.2×10^6个细胞/毫升的HEK293-6E细胞在37℃下在补充有G418(Wisent生物制品目录号400-130-IG)、4mM谷氨酰胺和0.1% Pluronic F-68(Gibco目录号24040-032)的FreeStyle™ F17培养基(GIBCO目录号A13835-01)中培养。以1:2.5(w/w)的DNA:PEI比率使用PEI-max(Polyscience,Philadelphia,PA)按每1mL细胞1μg DNA(由1:1w/w比率的变体表达载体DNA混合物和GFP/AKT/stuffer DNA组成的DNA)转染细胞。在添加DNA-PEI混合物后24小时,向细胞中添加

0.5mM丙戊酸(终浓度)和0.5％w/v胰蛋白胨N1(终浓度),然后将该细胞转移到37℃并在收获前温育7天。

[0496] 通过蛋白质A亲和层析进行的蛋白质纯化:

[0497] 将来自瞬时转染的上清液施加到含有50％mAb Select SuRe™树脂(GE Healthcare,Chicago,IL)的浆液中,并在150rpm的定轨振荡器上在2-8℃下温育过夜。将浆液转移到层析柱中并收集流过物。然后用5个床体积(BV)的树脂平衡缓冲液(PBS)洗涤树脂。为了洗脱被靶向的蛋白质,将5.5BV的酸性洗脱缓冲液(100mM柠檬酸钠缓冲液pH 3.5)添加到柱中并收集级分。然后通过添加10％(v/v)1M Tris pH9中和洗脱级分以达到6-7的最终pH值。通过使用Nanodrop™或用相对比色蛋白质测定通过280nm吸光度测量来确定每个洗脱级分的蛋白质含量。汇集最浓缩的级分,其对应于总洗脱的蛋白质的至少80％。

[0498] 通过制备型分子排阻层析法(制备型SEC)进行的蛋白质纯化:

[0499] 将样本在PBS中以0.8mL/min的流速加载到Akta pure 25层析系统(GE Healthcare Life Sciences,Marlborough,MA)上的Superdex 200Increase 10/300柱(#28-9909-44,GE Healthcare Life Sciences,Marlborough,MA)上。基于A280 nm收集洗脱的蛋白质的级分,并利用LabChip™ GXII Touch(Perkin Elmer,Waltham,MA)通过非还原CE-SDS分析它们的纯度。汇集高纯度的含蛋白质级分,并基于SEC后的A280 nm(Nanodrop™)对最终汇集物中的蛋白质进行定量。

[0500] 使用LabChip™通过毛细管电泳(CE)进行的纯度评估

[0501] 通过非还原和还原LabChip™ CE-SDS评估融合蛋白质样本的纯度。LabChip™ GXII Touch(Perkin Elmer,Waltham,MA)。根据Protein Express Assay用户指南(PerkinElmer,Waltham,MA)进行分析,并进行了以下修改。将浓度范围为5-2000ng/μl的样本连同7μl HT Protein Express样本缓冲液(#CLS920003,Perkin Elmer)添加到96孔板(#MSP9631,BioRad,Hercules,CA)的单独孔中,并在90℃下变性5分钟。LabChip™仪器是使用LabChip™ HT Protein Express芯片(Perkin Elmer#760528)以HT Protein Express 200测定设置运行。

[0502] 通过UPLC-SEC进行的纯度评估

[0503] 通过UPLC-SEC评估融合蛋白质样本,以确定它们的高分子量物质的百分比。UPLC-SEC使用设置为30℃并安装在带有PDA检测器的Agilent Technologies 1260infinity II系统上的Waters Acquity BEH200 SEC柱(2.5mL,4.6×150mm,不锈钢,1.7μm颗粒)(Waters LTD,Mississauga,ON)进行。运行时间为7分钟,每次进样的总体积为2.8mL,运行缓冲液为150mM磷酸钠pH 6.95,DPBS+0.02％吐温20或200mM KPO4,200mM KCl,pH7或200mM KPO4,200mM KCl,0.02％吐温20,pH7,流速为0.4mL/min。通过210-500nm范围内的UV吸光度监测洗脱,并在280nm处提取层析图谱。峰积分是使用OpenLAB™ CDS ChemStation™软件进行。

[0504] 通过差示扫描荧光法(DSF)进行的稳定性评估

[0505] 使用CFX Connect实时PCR检测系统(BioRad)通过DSF评估融合蛋白质样本的稳定性。向96孔PCR板的孔中添加25μl缓冲液、5μl 40xSYPRO Orange染料和10μl变体。将板用光学PCR板密封件密封,以1000rpm离心1分钟,置于热循环仪中,并以0.5℃/min或1℃/min在25℃至95℃梯度上读取。

[0506] 结果:

[0507] 含有经修饰的和未修饰的p40结构域的IL12 HetFc和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质从瞬时转染的哺乳动物细胞中表达,并且通过由蛋白质A亲和层析以及随后的制备型SEC或IEX组成的两步纯化过程被纯化至均质。蛋白质A亲和纯化后,含有经修饰的p40结构域的IL12 HetFc和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质的产量在具有未修饰的p40结构域的相应融合蛋白质的50%与138%之间(表J-K)。在蛋白质A亲和纯化后,所有含有经修饰的p40结构域的融合蛋白质显示出如与具有未修饰的p40结构域的相应融合蛋白质相比相似的UPLC-SEC和CE-SDS谱(图3A和3B),其中污染物为由用于未经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质的未融合HetFc链的单链或同二聚体或用于经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质的与scFv融合的HetFc链组成的二聚体/三聚体高分子量(HMW)物质和低分子量(LMW)物质。蛋白质A纯化后所需异二聚体IL12 HetFc融合蛋白质物质的单分散性在44%与75%之间(表J-K)。在制备型SEC纯化后,所有样本均显示出超过93%的单分散性。

[0508] 表I中列出的含有经修饰的p40结构域的被测试融合蛋白质的热稳定性(如如本文所述使用DSF通过解链温度所测量)与含有野生型p40结构域的融合蛋白质的热稳定性几乎是同一的,即p40结构域取代对本文所述的融合蛋白质的稳定性没有实质影响。

[0509]

表 I: 含有相应经修饰的 p40 结构域的 IL12 HetFc 融合蛋白质的 p40 突变以及克隆和变体编号

P40 突变 [a]	HetFc-scIL12 克隆编号	SEQ ID NO	IL12 HetFc 融合蛋白质变体编号 [b]	经掩蔽的 IL12 HetFc 融合蛋白质变体编号 [c]
无	22279	61	30806	35436
E59R_D93R	28046	62	37154	37467

[0510]

表 I: 含有相应经修饰的 p40 结构域的 IL12 HetFc 融合蛋白质的 p40 突变以及克隆和变体编号				
P40 突变 [a]	HetFc-scIL12 克隆编号	SEQ ID NO	IL12 HetFc 融合蛋白质变体编号 [b]	经掩蔽的 IL12 HetFc 融合蛋白质变体编号 [c]
F60R_K84Y	28047	63	37155	37468
E86R_K197D	28048	64	37156	37469
K84W_K197W	28049	65	37157	37470
F60K_K197W	28050	66	37158	37471
K84I_E86R	28051	67	37159	37472
E86W_D93E	28053	68	37161	37474
E59D_D93H	28054	69	37162	37475
K84W_D161R	28055	70	37163	37476
K84E	28056	71	37164	37477
E59R	28057	72	37165	37478
K197T	28058	73	37166	37479
D161R	28059	74	37167	37480
E59S	28060	75	37168	37481
K84W	28061	76	37169	37482
E86W	28062	77	37170	37483
K197W	28063	78	37171	37484
W15R_E59D_F60D_K197W	28064	79	37172	37485
F60R_K84E_K197W	28065	80	37173	37486
W15H_K84L_K197Q	28066	81	37174	37487
E59D_K84W_K197W	28067	82	37175	37488
K58H_E86R_K197D	28068	83	37176	37489
K84I_E86R_D93H	28069	84	37177	37490
W15H_K84L	28070	85	37178	37491
W15K	28071	86	37179	37492
W15H	28072	87	37180	37493
E45R_K58S_E59S_K195D	28074	88	37181	37494
K58S_E59S_K195D	28075	89	37182	37495

[0511] [a]根据不含SP的成熟p40序列对突变进行编号。应用于包含SP的p40前体序列的相同突变编号如下:E81R_D115R、F82R_K106Y、E108R_K219D、K106W_K219W、F82K_K219W、K106I_E108R、E108W_D115E、E81D_D115H、K106W_D183R、K106E,E81R、K219T,D183R、E81S,K106W、E108W、K219W、W37R_E81D_F82D_K219W、F82R_K106E_K219W、W37H_K106L_K219Q、E81D_K106W_K219W、K80H_E108R_K219D、K106I_E108R_D115H、W37H_K106L、W37K、W37H、E67R_K80S_E81S_K217D、K80S_E81S_K217D

[0512] [b]每个IL12 HetFc融合蛋白质变体含有如表I中列出的HetFc-scIL12克隆,加上HetFc克隆12153(SEQ ID NO:58)

[0513] [c]每个经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质变体含有如表I中列出的HetFc-scIL12克隆,加上HetFc-scFv克隆26503(SEQ ID NO:60)

[0514]

表 J：未掩蔽的 IL12 HetFc 融合蛋白质的生产和纯化							
P40 突变 [a]	IL12 HetFc 融合蛋白质变体编号	pA 纯化后				制备型 SEC 纯化后	
		产量 (mg) [b]	UPLC-SEC 峰面积%			产量 (mg) [b]	UPLC-SEC 主峰面积%
			HMW [c]	主要	LMW [c]		
无	30806	66.9	23.7	57.0	19.3	23.9	98.1
E59R_D93R	37154	39.8	17.7	51.6	30.7	8.7	93.3
F60R_K84Y	37155	54.2	29.6	52.6	17.8	13.6	97.8
E86R_K197D	37156	64.1	26.9	49.5	23.7	16.2	98.4
K84W_K197W	37157	33.5	18.1	50.1	31.9	6.6	97.8
F60K_K197W	37158	61.5	8.7	61.5	29.8	17.5	98.9
K84I_E86R	37159	80.0	19.6	61.1	19.3	27.2	99.2
E86W_D93E	37161	60.9	31.7	43.7	24.6	13.4	98.1
E59D_D93H	37162	71.9	28.4	47.7	24.0	19.3	98.0
K84W_D161R	37163	68.7	27.8	46.2	26.0	14.4	98.8
K84E	37164	60.9	27.0	51.7	21.3	14.5	97.6
E59R	37165	49.6	28.8	52.9	18.3	14.0	98.6
K197T	37166	83.6	28.2	51.5	20.3	21.7	98.7
D161R	37167	77.8	35.9	46.9	17.2	16.4	98.2
E59S	37168	84.9	23.0	56.7	20.3	25.7	99.0
K84W	37169	63.1	28.8	49.3	21.9	14.8	98.5
E86W	37170	61.2	28.6	47.0	24.4	14.6	98.6
K197W	37171	77.9	40.0	51.9	8.1	19.0	98.8
W15R_E59D_F60D_K197W	37172	75.0	21.0	59.7	19.3	25.4	99.1
F60R_K84E_K197W	37173	42.1	23.8	46.4	29.9	10.1	97.8
W15H_K84L_K197Q	37174	80.6	20.4	59.7	19.8	25.2	99.0
E59D_K84W_K197W	37175	49.4	20.0	49.2	30.8	10.3	97.0
K58H_E86R_K197D	37176	54.2	25.9	53.5	20.6	16.4	98.4

[0515]

表 J: 未掩蔽的 IL12 HetFc 融合蛋白质的生产和纯化							
P40 突变 [a]	IL12 HetFc 融合蛋白质变体编号	pA 纯化后				制备型 SEC 纯化后	
		产量 (mg) [b]	UPLC-SEC 峰面积%			产量 (mg) [b]	UPLC-SEC 主峰面积%
			HMW [c]	主要	LMW [c]		
K84I_E86R_D93H	37177	61.8	20.7	53.2	26.1	21.7	98.8
W15H_K84L	37178	91.4	18.8	60.2	21.1	37.1	99.1
W15K	37179	77.3	26.6	55.7	17.7	23.0	98.7
W15H	37180	70.2	24.1	57.6	18.3	25.5	98.8
E45R_K58S_E59S_K195D	37181	68.5	23.2	55.9	21.0	19.6	98.8
K58S_E59S_K195D	37182	67.9	21.5	58.8	19.7	18.4	98.7

[0516] [a]根据不含SP的成熟p40序列对突变进行编号。

[0517] [b]针对每升表达培养物的毫克数作归一化的产量。

[0518] [c] HMW:高分子量;LMW:低分子量。

[0519]

表 K: 经掩蔽的 IL12 HetFc 融合蛋白质的生产和纯化							
P40 突变 [a]	经掩蔽的 IL12 HetFc 融合蛋白质变体编号	pA 纯化后				制备型 SEC 纯化后	
		产量 (mg) [b]	UPLC-SEC 峰面积%			产量 (mg) [b]	UPLC-SEC 主峰面积%
			HMW [c]	主要	LMW [c]		
无	35436	42.8	9.8	72.8	17.4	11.5	99.1
E59R_D93R	37467	42.1	11.4	68.7	19.9	9.7	99.2
F60R_K84Y	37468	45.2	9.1	74.1	16.8	12.8	99.0
E86R_K197D	37469	51.6	11.8	69.6	18.6	13.3	99.2
K84W_K197W	37470	39.7	10.3	73.3	16.4	12.3	99.0
F60K_K197W	37471	45.4	10.9	73.4	15.8	14.9	98.8
K84I_E86R	37472	51.2	11.4	71.4	17.2	14.3	99.0
E86W_D93E	37474	46.2	12.9	65.9	21.3	11.2	99.1
E59D_D93H	37475	48.4	10.3	71.7	18.0	11.5	98.7
K84W_D161R	37476	46.0	12.0	67.4	20.7	8.3	99.5
K84E	37477	40.4	9.2	75.3	15.6	10.6	99.3
E59R	37478	50.1	12.5	71.7	15.8	12.8	99.1
K197T	37479	47.0	11.6	72.5	16.0	12.8	99.1
D161R	37480	37.8	11.9	71.0	17.1	8.5	99.2

[0520]

表 K: 经掩蔽的 IL12 HetFc 融合蛋白质的生产和纯化							
P40 突变 [a]	经掩蔽的 IL12 HetFc 融合蛋白质变体编号	pA 纯化后				制备型 SEC 纯化后	
		产量 (mg) [b]	UPLC-SEC 峰面积%			产量 (mg) [b]	UPLC-SEC 主峰面积%
			HMW [c]	主要	LMW [c]		
E59S	37481	46.2	10.7	73.5	15.9	11.9	98.7
K84W	37482	47.3	9.4	75.3	15.3	13.3	99.0
E86W	37483	38.7	11.4	65.6	23.0	6.9	99.1
K197W	37484	49.7	11.3	71.4	17.3	10.7	99.0
W15R_E59D_F60D_K197W	37485	43.4	9.3	72.5	18.2	11.7	99.3
F60R_K84E_K197W	37486	43.4	9.7	73.8	16.5	14.3	99.3
W15H_K84L_K197Q	37487	48.7	8.8	74.8	16.4	13.3	99.1
E59D_K84W_K197W	37488	46.5	10.5	72.0	17.5	12.5	99.4
K58H_E86R_K197D	37489	46.9	12.8	68.0	19.2	10.3	99.1
K84I_E86R_D93H	37490	42.3	10.8	70.7	18.5	10.1	99.4
W15H_K84L	37491	55.0	9.6	73.2	17.2	11.6	99.2
W15K	37492	53.0	10.5	67.0	22.5	9.2	99.4
W15H	37493	46.7	10.3	70.3	19.4	8.3	99.1
E45R_K58S_E59S_K195D	37494	44.7	11.1	70.7	18.2	8.5	99.2
K58S_E59S_K195D	37495	59.1	11.9	69.6	18.5	10.5	99.0

[0521] [a]根据不含SP的成熟p40序列对突变进行编号。

[0522] [b]针对每升表达培养物的毫克数作归一化的产量。

[0523] [c] HMW:高分子量;LMW:低分子量。

[0524] 实施例4:IL12 $H_{ET}F_C$融合蛋白质的细胞活性

[0525] CD8+T细胞是IL12的重要靶群体。可通过IFNγ释放评估选定变体对CD8+T细胞的效力。

[0526] 方法:

[0527] CD8+T细胞IFNγ释放测定

[0528] 将CD8+T细胞解冻,用抗-CD3/CD28免疫磁珠(ThermoFisher,Waltham,MA)以10:1的细胞:磁珠比率进行刺激,并在30ul RPMI1640(Gibco)+10% FBS(ThermoFisher)+1% Pen-Strep(Gibco)中以30,000个细胞/孔铺板于384孔黑色平底测定板(ThermoFisher,Watham,MA)中。将板在37℃和5%二氧化碳下温育过夜。第二天,如下制备样本,并添加30ul到CD8+T细胞中。将板在37℃和5%二氧化碳温育3天。温育后,将30uL/孔的上清液转移到非

结合384孔板(Greiner-Bio-One,Kremsmünster,Austria)中并储存在-80℃下。

[0529] 在测定当天,将变体或对照样本的等分试样从-80℃储存中解冻。将样本在非结合384孔板(Greiner-Bio-One,Kremsmünster,Austria)中在100ul中按1:10稀释度按一式四份滴定。包括重组人IL12(Peprotech,Rocky Hill,NJ)作为阳性对照。然后将30ul经滴定的变体转移到如上的经刺激的CD8+T细胞中。

[0530] IFNγ是使用MSD(Mesoscale Discovery,Piscataway,NJ)对IFNγ进行量化。将MSD板封闭并根据制造商的说明在捕获抗体中包被。将板在PBS-T中洗涤3次,并向每个板中添加5ul测定稀释剂。将IFNγ标准品从500ng/mL滴定至0.5pg/mL。将5uL上清液转移至MSD板并在室温下温育1小时。将板在PBS-T中洗涤3次并向每个样本孔和标准品孔添加10ul处于适当稀释度的检测抗体。使用粘合板密封件将板密封一小时。将板在PBS-T中洗涤3次,并向每个孔中添加40uL MSD Gold读取缓冲液B。在MESO SECTOR 6000上读取板并使用MSD软件确定细胞因子浓度。来自标准曲线和样本的数据被用于利用x插值执行非线性曲线拟合以获得IFNγ浓度(以pg/mL为单位)。进行了三次独立实验,并在非线性混合效应模型中分析了每个实验的数据,以生成曲线拟合和95%置信区间。

[0531] 结果:

[0532] 预计含有未修饰的p40结构域的对照IL12 HetFc融合蛋白质将刺激与重组IL12类似的IFNγ在CD8+T细胞IFNγ释放测定中从CD8+T细胞的释放水平(在约10倍内)。

[0533] 预计含有未修饰的p40结构域的对照经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质将刺激如与含有未修饰的p40结构域的对照IL12 HetFc融合蛋白质相比显著降低的IFNγ从CD8+T细胞的释放水平(降低>10倍)。

[0534] 预计含有经修饰的p40结构域的IL12 HetFc融合蛋白质和经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质将刺激如与含有未修饰的p40结构域的相应对照IL12 HetFc和经掩蔽的L12 HetFc融合蛋白质相比降低的IFNγ从CD8+T细胞的释放水平。预计IFNγ从CD8+T细胞的释放降低的程度将与如实施例1中描述的电脑模拟预测的经修饰的p40结构域对IL12Rβ1的亲和力相关。

[0535] 预计经修饰的p40结构域的降低的活性可能与经掩蔽的IL12HetFc融合蛋白质的降低的活性具有协同作用,使得由含有经修饰的p40结构域的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质刺激的IFNγ释放水平与含有未修饰的p40结构域的对照经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质相比的降低倍数将大于由含有经修饰的p40结构域的相应IL12 HetFc融合蛋白质刺激的IFNγ释放水平与含有未修饰的p40结构域的对照IL12 HetFc融合蛋白质相比的降低倍数。

[0536] 实施例5:IL12融合蛋白质的细胞活性

[0537] 如本文所述,IL12可以通过与IL12受体异二聚体的结合来发挥其生物活性,这种与IL12受体异二聚体的结合可以触发导致STAT4激活的信号传导途径。本实施例描述了使用IL12反应性比色报告基因测定(RGA)表征含有异二聚体Fc结构域(HetFc)以及经修饰的或未修饰的p40结构域的IL12融合蛋白质和经掩蔽的IL12融合蛋白质,其中用针对IL12受体、IL12信号传导途径和STAT4可诱导报告子的基因稳定转染的HEK细胞通过分泌在比色测定中检测到的磷酸酶对IL12作出反应。

[0538] 将用悬浮在测定缓冲液(DMEM 4.5g/l葡萄糖、2mM L-谷氨酰胺、10%热灭活FBS、

Pen-Strep(100U/ml-100μg/ml))中的IL12受体转染的报告细胞以每孔30ul中10,000个细胞的浓度铺板于384孔白色平底板(Thermo Scientific Nunc目录号164610)中。将IL12 HetFc融合蛋白质变体单独地在测定缓冲液中从8nM连续稀释到0.14pM(对于变体30806)或在96孔V形底板(Sarstedt 82.1583001)中从100nM连续稀释到1.7pM(所有其他变体)。转移30ul变体并将其在384孔平底板中与30ul IL12R转染的报告细胞混合,并将板转移至37C下具有5% CO2和湿度的温育箱中放置18-24小时。每孔加入90ul Quanti-Blue溶液,并将10ul上清液转移到新的384孔透明平底板中,然后将板在37C、5% CO2下温育1小时,并在Synergy H1上于620nm处读数。

[0539] 当通过IL12 RGA评估时,含有经修饰的p40结构域的IL12 HetFc融合蛋白质(例如,任何一种变体37467-37495)显示出与含有未修饰的p40结构域的对照IL12 HetFc融合蛋白质(例如,变体30806)相比降低的效力(表L,图4A至图4J),其中EC_{50}值对于变体37173(n=2次重复的平均值)且相对于变体30806增加至多约570倍。

[0540] 含有经修饰的p40结构域的经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质显示出与相应的未经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质相比降低的效力(表L,图4A至图4J)。经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质的效力范围为从与含有未修饰的p40结构域的对照经掩蔽的IL12 HetFc融合蛋白质(变体35436)相比无变化直至可检测的活性完全丧失(例如,变体37468、37471、37475、37486)。

表 L：含有经修饰的 p40 结构域的未掩蔽和经掩蔽的 IL12 HetFc 融合蛋白质的 RGA 活性

	未掩蔽的变体					经掩蔽的变体		
		重复 1		重复 2			重复 1	重复 2
p40 突变 [a]	变体编号	EC_{50} (pM)	倍数 EC_{50} [b]	EC_{50} (pM)	倍数 EC_{50} [b]	变体编号	EC_{50} (pM)	EC_{50} (pM)
板组 1 - 图 4A								
W15R_E59D_F60D_K197W	37172	9841	401.0	9167	461.1	37485	ND [c]	ND
W15H_K84L_K197Q	37174	1527	62.2	1564	78.7	37487	ND	ND
E59D_K84W_K197W	37175	1754	71.5	1431	72.0	37488	ND	ND
无	30806	25	1.0	20	1.0	35436	13572	10005
板组 2 - 图 4B								
K58H_E86R_K197D	37176	167	6.9	141	6.9	37489	17432	17949
W15H_K84L	37178	83	3.5	73	3.6	37491	12848	12649
F60R_K84E_K197W	37173	8935	371.4	15834	771.6	37486	ND	ND
无	30806	24	1.0	21	1.0	35436	15694	10927
板组 3 - 图 4C								
K84W_K197W	37157	1153	59.2	1103	68.3	37470	63187	68556
F60K_K197W	37158	4539	232.9	5176	320.7	37471	ND	ND
E86R_K197D	37156	149	7.6	137	8.5	37469	27824	18672
无	30806	19	1.0	16	1.0	35436	19472	7243
板组 4 - 图 4D								
K84I_E86R_D93H	37177	30	1.6	26	1.4	37490	4283	3072
E59R_D93R	37154	2775	149.2	3471	182.6	37467	ND	ND
K84I_E86R	37159	21	1.1	24	1.3	37472	2540	3011
无	30806	19	1.0	19	1.0	35436	17498	8922
板组 5 - 图 4E								
W15K	37179	562	23.7	412	22.6	37492	38713	121642
K84W_D161R	37163	51	2.2	49	2.7	37476	13253	12965
无	30806	24	1.0	18	1.0	35436	11318	9776
板组 6 - 图 4F								
E45R_K58S_E59S_K195D	37181	180	8.7	215	11.8	37494	ND	ND
E59D_D93H	37162	36	1.7	51	2.8	37475	9506	6789
F60R_K84Y	37155	1512	73.5	1582	87.1	37468	ND	ND
无	30806	21	1.0	18	1.0	35436	8440	6859

[0541]

[0542]

表 L：含有经修饰的 p40 结构域的未掩蔽和经掩蔽的 IL12 HetFc 融合蛋白质的 RGA 活性								
	未掩蔽的变体					经掩蔽的变体		
		重复 1		重复 2			重复 1	重复 2
p40 突变 [a]	变体编号	EC_{50} (pM)	倍数 EC_{50} [b]	EC_{50} (pM)	倍数 EC_{50} [b]	变体编号	EC_{50} (pM)	EC_{50} (pM)
板组 7 - 图 4G								
E86W_D93E	37161	23	1.1	22	1.3	37474	585	482
K58S_E59S_K195D	37182	185	8.9	159	9.4	37495	ND	ND
K84E	37164	187	9.0	153	9.0	37477	18497	21767
无	30806	21	1.0	17	1.0	35436	16904	10973
板组 8 - 图 4H								
K197T	37166	79	4.4	57	3.7	37479	16422	16381
E59R	37165	89	5.0	73	4.7	37478	15146	13120
W15H	37180	38	2.2	40	2.6	37493	6049	5122
无	30806	18	1.0	15	1.0	35436	13108	11064
板组 9 - 图 4I								
K84W	37169	52	2.5	42	2.0	37482	14867	8147
K197W	37171	143	7.0	156	7.4	37484	ND	ND
E59S	37168	48	2.3	49	2.3	37481	53085	29188
无	30806	21	1.0	21	1.0	35436	10838	7349
板组 10 - 图 4J								
D161R	37167	20	0.9	19	0.8	37480	12975	12869
E86W	37170	29	1.3	24	1.0	37483	457	474
无	30806	23	1.0	23	1.0	35436	32005	12943

[0543] [a]根据不含信号肽(SP)的成熟p40序列对突变进行编号。p40前体序列编号参见例如表B和/或表C。

[0544] [b]与同一实验板上的变体30806(具有未修饰的p40结构域的IL12HetFc融合蛋白质)相比的EC_{50}倍数变化。

[0545] [c] ND＝由于曲线不完整而未确定。

[0546] 这些数据表明,使用如实施例1中描述的电脑模拟方法确定的一种或多种氨基酸取代中的至少一些氨基酸取代成功地产生了对其同源IL12受体亲和力降低的经修饰的p40结构域。

[0547] 序列表

[0548]

表 M: 序列

SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
1		信号肽	MRPTWAWWLFLVLLLALWAPARG
2		Bria VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVAFIRYDGSNKY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCKTHGSHDNWGQGTMVTVSS
3		Bria VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSRSNIGSN TVKWYQQLPGTAPKLLIYYNDQRPSGVPDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYD RYTHPALLFGTGTKVTVL
4		Bria VHCDR1	SYGMH
5		Bria VHCDR2	FIRYDGSNKYYADSVKG
6		Bria VHCDR3	HGSHDN
7		Bria VLCDR1	SGSRSNIGSNTVK
8		Bria VLCDR2	YNDQRPS
9		Bria VLCDR3	QSYDRYTHPALL
10		p40(成熟)	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
11		p35(成熟)	RNLPVATPDPGMFPCLHHSQNLLRAVSNML QKARQTLEFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVE ACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRK TSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKL LMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSE TVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAV TIDRVMSYLNAS
12		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDHYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT

[0549]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
13		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDKYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
14		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDRYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
15		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSRVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
16		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVHEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS

[0550]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
17		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVSEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
18		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKDF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
19		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKRF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
20		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKSF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
21		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKED

[0551]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
22		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEK GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
23		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKER GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
24		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHEKEDGIW STDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTC WWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
25		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHIKEDGIW STDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTC

[0552]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			WWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
26		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHLKEDGIW STDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTC WWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
27		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHWKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
28		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHYKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
29		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKRDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA

[0553]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
30		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKWDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
31		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTEILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
32		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTHILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
33		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTRILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST

[0554]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
34		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGRNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
35		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHDLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
36		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLDYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
37		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLQYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS

[0555]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			VPCS
38		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLTYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
39		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLWYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
40		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDRYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKDD GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLWYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
41		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDHYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHLKEDGIW STDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTC WWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
42		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDHYPDAPGEMVVLTCD

[0556]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHLKEDGIW STDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTC WWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLQYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
43		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSRVLGSGKTLTIQVSSF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHDLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
44		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVHEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKRDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLDYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
45		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVSSFG DAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWS TDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCW WLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAAT LSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEE SLPIEVMVDAVHDLKYENYTSSFFIRDIIKPD PPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPH SYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSA TVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVP CS
46		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKDF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHWKEDGI

[0557]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLWYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
47		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKDF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTHILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
48		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKRF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTRILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
49		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEK GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLWYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
50		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKER GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHEKEDGIW STDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTC WWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA

[0558]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLWYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
51		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKER GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHYKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
52		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHIKRDGIW STDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTC WWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
53		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHIKRDGIW STHILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTC WWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
54		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHWKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGRNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK

[0559]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
55		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHWKEDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLWYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
56		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKRDGI WSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLDYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
57		突变的 p40	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCD TPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEF GDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKWDGI WSTEILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFT CWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGA ATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAA EESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIK PDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKT SATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWAS VPCS
58	CL_# 12153	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
59	CL_#	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP

[0560]

表 M: 序列

SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
	12155		KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
60	CL_# 26503	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLL CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGG VVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAFIRYDGSNKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCKTH GSHDNWGQGTMVTVSSGGSGGGSGGGSGG GSGGGSGQSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSG SRSNIGSNTVKWYQQLPGTAPKLLIYYNDQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEA DYYCQSYDRYTHPALLFGTGTKVTVL
61	CL_# 22279	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDIL KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK

[0561]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
62	CL_# 28046	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKRFGDA GQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTR ILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
63	CL_# 28047	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKERGDA GQYTCHKGGEVLSHSLLLLHYKEDGIWSTD ILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG

[0562]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
64	CL_# 28048	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKRDGIWSTDI LKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLDYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
65	CL_# 28049	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHWKEDGIWSTDI LKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL

[0563]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			PIEVMVDAVHKLWYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
66	CL_#28050	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEKGDA GQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTD ILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLWYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
67	CL_#28051	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG

[0564]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			QYTCHKGGEVLSHSLLLLHIKRDGIWSTDIL KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
68	CL_# 28053	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKWDGIWSTEI LKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
69	CL_# 28054	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP

[0565]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKDFGDA GQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTH ILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
70	CL_# 28055	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHWKEDGIWSTDI LKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGRNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
71	CL_# 28056	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW

[0566]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHEKEDGIWSTDIL KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
72	CL_#28057	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKRFGDA GQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTD ILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA

[0567]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
73	CL_# 28058	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDIL KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHKLTYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
74	CL_# 28059	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDIL KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGRNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH

[0568]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
75	CL_#28060	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKSFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDIL KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
76	CL_#28061	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHWKEDGIWSTDI LKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPP

[0569]

表 M: 序列

SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
77	CL_#28062	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKWDGIWSTDI LKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
78	CL_#28063	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDIL

[0570]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHKLWYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
79	CL_#28064	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDRYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKDDGDA GQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTD ILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLWYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
80	CL_#28065	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS

[0571]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKERGDA GQYTCHKGGEVLSHSLLLLHEKEDGIWSTDI LKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLWYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
81	CL_# 28066	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDHYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHLKEDGIWSTDIL KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHKLQYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
82	CL_# 28067	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL

[0572]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKDFGDA GQYTCHKGGEVLSHSLLLLHWKEDGIWSTD ILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLWYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
83	CL_#28068	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVHEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKRDGIWSTDI LKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWL TTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESL PIEVMVDAVHKLDYENYTSSFFIRDIIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSY FSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK

[0573]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
84	CL_# 28069	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHIKRDGIWSTHIL KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
85	CL_# 28070	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDHYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHLKEDGIWSTDIL KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID

[0574]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
86	CL_#28071	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDKYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDIL KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
87	CL_#28072	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDHYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDIL KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF

[0575]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
88	CL_#28074	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSRVLGSGKTLTIQVSSFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDIL KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHDLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
89	CL_#28075	完全 AA	EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSADGGIWEL KKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVSSFGDAG QYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDIL KDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLT

[0576]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSA ERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPI EVMVDAVHDLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPK NLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYF SLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVI CRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSG GGGSGGGGSGGGGSNLPVATPDPGMFPCLH HSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEID HEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLK MYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTK IKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
90	CL_#12153	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCA GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCCAAAGACACCCTGATGATTA GCCGAACCCCTGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCCGTGTCTCACGAGGACCCAGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAACCCCGG GAGGAACAGTACAACAGCACCTATAGAGT CGTGTCCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAGGAATATAAGTGC AAAGTGTCCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCTAAGGCAAAAG GCCAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTG CTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGACAAA GAACCAGGTCTCTCTGCTGTGCCTGGTGA AAGGCTTCTATCCATCAGATATTGCTGTG GAGTGGGAAAGCAATGGGCAGCCCGAGA ACAATTACCTGACTTGGCCCCCTGTGCTG GACTCTGATGGGAGTTTCTTTCTGTATTCT AAGCTGACCGTGGATAAAAGTAGGTGGCA GCAGGGAAATGTCTTTAGTTGTTCAGTGA TGCATGAAGCCCTGCATAACCACTACACC CAGAAAAGCCTGTCCCTGTCCCCCGGA
91	CL_#12155	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT

[0577]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTG TATCCTCCAAGCCGGGACGAGCTGACAAA GAACCAGGTCTCCCTGACTTGTCTGGTGA AAGGGTTTTACCCTAGTGATATCGCTGTG GAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGA ACAATTATAAGACTACCCCCCCTGTGCTG GACAGTGATGGGTCATTCGCACTGGTCTC CAAGCTGACAGTGGACAAATCTCGGTGGC AGCAGGGAAATGTCTTTTCATGTAGCGTG ATGCATGAAGCACTGCACAACCATTACAC CCAGAAGTCACTGTCACTGTCACCAGGA
92	CL_# 26503	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCA GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCCAAAGACACCCTGATGATTA GCCGAACCCCTGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCCGTGTCTCACGAGGACCCAGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAACCCCGG GAGGAACAGTACAACAGCACCTATAGAGT CGTGTCCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAGGAATATAAGTGC AAAGTGTCCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCTAAGGCAAAAG GCCAGCCTCGCGAGCCTCAGGTGTACGTG CTGCCACCTTCCCGCGACGAGCTGACCAA GAATCAGGTGTCTCTGCTGTGCCTGGTGA AGGGCTTCTATCCAAGCGATATCGCAGTG GAGTGGGAGTCCAACGGACAGCCCGAGA ACAATTACCTGACCTGGCCACCCGTGCTG GACAGCGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCC AAGCTGACAGTGGACAAGTCTAGATGGCA GCAGGGCAACGTGTTCAGCTGTTCCGTGA TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACC CAGAAGTCTCTGAGCTTAAGCCCTGGAGG AGGAGGAGGCTCCGGCGGAGGAGGCTCC GGCGGCGGGAGCGGCGGCGGCAGCGGGG GCGGCGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTCAG GTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGAG TGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGCGGCTG AGCTGCGCAGCCTCTGGCTTCACCTTTAGC TCCTACGGCATGCACTGGGTGCGGCAGGC

[0578]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CCCTGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGGCCT TCATCAGATATGACGGCAGCAATAAGTAC TATGCCGATTCCGTGAAGGGCAGGTTTAC CATCAGCCGCGACAACTCCAAGAATACAC TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCC GAGGACACCGCCGTGTACTATTGTAAGAC ACACGGCTCCCACGATAATTGGGGCCAGG GCACCATGGTGACAGTGTCTAGCGGCGGC TCTGGCGGCGGCAGCGGGGGTGGCTCTGG AGGAGGCAGCGGAGGAGGCTCCGGCCAG TCTGTGCTGACCCAGCCACCTTCTGTGAGC GGAGCCCCCGGACAGAGGGTGACAATCTC CTGCTCTGGCAGCCGCTCCAACATCGGCA GCAATACCGTGAAGTGGTATCAGCAGCTG CCAGGCACAGCCCCCAAGCTGCTGATCTA CTATAATGACCAGCGGCCTTCCGGCGTGC CAGATAGATTCTCTGGCAGCAAGTCCGGC ACCTCTGCCAGCCTGGCCATCACAGGCCT GCAGGCAGAGGACGAGGCAGATTACTATT GTCAGTCCTACGATAGATATACCCACCCC GCCCTGCTGTTTGGCACCGGCACAAAGGT GACAGTGCTG
93	CL_#22279	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG

[0579]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGGAG CACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTC CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAA GTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA

[0580]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
94	CL_#28046	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGAGATTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGGAG CACAAGAATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT

[0581]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTC CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAA GTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
95	CL_# 28047	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT

[0582]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGAGAGGCG ACGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGC GGCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCT GCTGCACTACAAGGAGGACGGCATCTGGA GCACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGA GCCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCG AGGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACC TGTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGA TCTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGG GCTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGC GGAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGT GAGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTAT TCCGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTG TCCCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCG AAGTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTG AAGTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTT TATCAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCC CTAAGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAG AATAGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGA GTACCCTGACACCTGGAGCACACCACACT

[0583]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CCTATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGG TGCAGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAA GGACCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCG CCACCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGC ATCTCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTA TTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCG TGCCATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGC GGAGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAA TCTGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCA TGTTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACC TGCTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAG AAGGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCC ATGTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGG ATATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTG GAGGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAA GAACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAG ACATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCT GGCCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGG CCCTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGAC CTGAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGAC CATGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTA AGAGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATG CTGGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGC CCTGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCAC AGAAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTC TACAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCT GCTGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGA CCATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAAC GCCAGC
96	CL_# 28048	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG

[0584]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGAGAGACGGCATCTGGAG CACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTC CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGGA CTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT

[0585]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
97	CL_# 28049	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC

[0586]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACTGGAAGGAGGACGGCATCTGGAGC ACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAGC CCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGAG GCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCTG TTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGATC TGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGGC TCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCGG AGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTGA GAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTCC GTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTCC CGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAAG TGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGTGG TACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTATC AGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTAA GAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAATA GCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTAC CCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCTA TTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGCA GGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGAC CGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCAC CGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATCT CCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTCT AGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGCC ATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGA GGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATCT GCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATGT TCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTGC TGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAAG GCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCATG TACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGATA TCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGAG GCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGAA CGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGACAT CTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGGCC TCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCCCT GTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCTGA AGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCATG AACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAGAG GCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCTGG CCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCCTG AACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAGAA GTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTACA AGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGCTG

[0587]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACCAT CGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGCCA GC
98	CL_# 28050	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGAAGGGCG ACGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGC GGCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCT GCTGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGG AGCACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGG AGCCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGC GAGGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCAC CTGTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCG ATCTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGG GGCTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATG CGGAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGG TGAGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTA TTCCGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCT

[0588]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATC GAAGTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCT GTGGTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCT TTATCAGGGACATCATCAAGCCCGATCCC CCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAA GAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGG AGTACCCTGACACCTGGAGCACACCACAC TCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAG GTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGA AGGACCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGC GCCACCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAG CATCTCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACT ATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCC GTGCCATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGG CGGAGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTA ATCTGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGC ATGTTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAAC CTGCTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCA GAAGGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACC CATGTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAG GATATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGT GGAGGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCA AGAACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGA GACATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCC TGGCCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATG GCCCTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGA CCTGAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGA CCATGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCT AAGAGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATAT GCTGGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGG CCCTGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCA CAGAAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTT CTACAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCC TGCTGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTG ACCATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAA CGCCAGC
99	CL_# 28051	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG

[0589]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACATCAAGAGAGACGGCATCTGGAGC ACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAGC CCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGAG GCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCTG TTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGATC TGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGGC TCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCGG AGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTGA GAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTCC GTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTCC CGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAAG TGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAAG TACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTATC AGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTAA GAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAATA GCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTAC CCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCTA TTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGCA GGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGAC CGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCAC CGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATCT CCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTCT AGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGCC

[0590]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			ATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGA GGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATCT GCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATGT TCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTGC TGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAAG GCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCATG TACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGATA TCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGAG GCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGAA CGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGACAT CTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGGCC TCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCCCT GTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCTGA AGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCATG AACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAGAG GCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCTGG CCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCCTG AACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAGAA GTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTACA AGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGCTG CACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACCAT CGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGCCA GC
100	CL_# 28053	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC

[0591]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGTGGGACGGCATCTGGAGC ACAGAGATCCTGAAGGATCAGAAGGAGC CCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGAG GCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCTG TTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGATC TGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGGC TCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCGG AGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTGA GAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTCC GTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTCC CGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAAG TGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAAG TACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTATC AGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTAA GAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAATA GCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTAC CCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCTA TTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGCA GGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGAC CGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCAC CGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATCT CCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTCT AGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGCC ATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGA GGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATCT GCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATGT TCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTGC TGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAAG GCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCATG TACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGATA TCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGAG GCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGAA CGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGACAT CTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGGCC TCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCCCT GTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCTGA

[0592]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			AGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCATG AACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAGAG GCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCTGG CCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCCTG AACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAGAA GTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTACA AGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGCTG CACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACCAT CGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGCCA GC
101	CL_#28054	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGACTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGGAG CACACACATCCTGAAGGATCAGAAGGAGC CCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGAG

[0593]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCTG TTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGATC TGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGGC TCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCGG AGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTGA GAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTCC GTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTCC CGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAAG TGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAAG TACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTATC AGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTAA GAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAATA GCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTAC CCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCTA TTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGCA GGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGAC CGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCAC CGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATCT CCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTCT AGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGCC ATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGA GGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATCT GCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATGT TCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTGC TGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAAG GCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCATG TACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGATA TCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGAG GCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGAA CGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGACAT CTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGGCC TCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCCCT GTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCTGA AGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCATG AACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAGAG GCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCTGG CCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCCTG AACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAGAA GTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTACA AGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGCTG CACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACCAT CGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGCCA GC
102	CL_# 28055	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC

[0594]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACTGGAAGGAGGACGGCATCTGGAGC ACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAGC CCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGAG GCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCTG TTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGATC TGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGGC TCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCGG AGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTGA GAGGCAGAAACAAGGAGTACGAGTATTC CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAA GTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA

[0595]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
103	CL_# 28056	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA

[0596]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACGAGAAGGAGGACGGCATCTGGAG CACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTC CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAA GTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT

[0597]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
104	CL_# 28057	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA

[0598]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGAGATTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGGAG CACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTC CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAA GTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA

[0599]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
105	CL_# 28058	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGGAG CACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTC

[0600]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAC CTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
106	CL_# 28059	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT

[0601]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGGAG CACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCAGAAACAAGGAGTACGAGTATT CCGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGT CCCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGA AGTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGA AGTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTT ATCAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCC TAAGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGA ATAGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAG TACCCTGACACCTGGAGCACACCACACTC CTATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGT GCAGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAG GACCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGC CACCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCA TCTCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTAT

[0602]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TCTAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGT GCCATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCG GAGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAAT CTGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCAT GTTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCT GCTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGA AGGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCA TGTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGA TATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGG AGGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAG AACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGA CATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTG GCCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGC CCTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACC TGAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACC ATGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAA GAGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGC TGGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCC CTGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACA GAAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCT ACAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTG CTGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGAC CATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACG CCAGC
107	CL_# 28060	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG

[0603]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGAGCTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGGAG CACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTC CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAA GTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC

[0604]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
108	CL_# 28061	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACTGGAAGGAGGACGGCATCTGGAGC ACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAGC

[0605]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGAG GCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCTG TTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGATC TGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGGC TCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCGG AGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTGA GAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTCC GTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTCC CGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAAG TGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAAG TACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTATC AGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTAA GAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAATA GCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTAC CCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCTA TTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGCA GGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGAC CGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCAC CGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATCT CCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTCT AGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGCC ATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGA GGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATCT GCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATGT TCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTGC TGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAAG GCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCATG TACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGATA TCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGAG GCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGAA CGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGACAT CTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGGCC TCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCCCT GTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCTGA AGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCATG AACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAGAG GCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCTGG CCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCCTG AACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAGAA GTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTACA AGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGCTG CACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACCAT CGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGCCA GC
109	CL_# 28062	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT

[0606]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGTGGGACGGCATCTGGAGC ACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAGC CCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGAG GCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCTG TTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGATC TGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGGC TCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCGG AGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTGA GAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTCC GTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTCC CGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAAG TGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAAG TACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTATC AGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTAA GAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAATA

[0607]

表 M: 序列

SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTAC CCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCTA TTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGCA GGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGAC CGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCAC CGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATCT CCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTCT AGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGCC ATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGA GGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATCT GCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATGT TCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTGC TGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAAG GCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCATG TACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGATA TCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGAG GCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGAA CGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGACAT CTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGGCC TCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCCCT GTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCTGA AGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCATG AACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAGAG GCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCTGG CCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCCTG AACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAGAA GTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTACA AGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGCTG CACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACCAT CGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGCCA GC
110	CL_# 28063	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA

[0608]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGGAG CACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTC CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGTG GTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA

[0609]

表 M: 序列

SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
111	CL_# 28064	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACAGATATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA

[0610]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGACGACGGCG ACGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGC GGCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCT GCTGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGG AGCACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGG AGCCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGC GAGGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCAC CTGTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCG ATCTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGG GGCTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATG CGGAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGG TGAGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTA TTCCGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCT GTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATC GAAGTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCT GTGGTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCT TTATCAGGGACATCATCAAGCCCGATCCC CCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAA GAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGG AGTACCCTGACACCTGGAGCACACCACAC TCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAG GTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGA AGGACCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGC GCCACCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAG CATCTCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACT ATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCC GTGCCATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGG CGGAGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTA ATCTGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGC ATGTTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAAC CTGCTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCA GAAGGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACC CATGTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAG GATATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGT GGAGGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCA AGAACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGA GACATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCC TGGCCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATG GCCCTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGA CCTGAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGA CCATGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCT AAGAGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATAT GCTGGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGG CCCTGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCA

[0611]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CAGAAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTT CTACAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCC TGCTGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTG ACCATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAA CGCCAGC
112	CL_#28065	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGAGAGGCG ACGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGC GGCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCT GCTGCACGAGAAGGAGGACGGCATCTGG AGCACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGG AGCCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGC GAGGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCAC CTGTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCG ATCTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGG GGCTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATG CGGAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGG

[0612]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TGAGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTA TTCCGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCT GTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATC GAAGTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCT GTGGTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCT TTATCAGGGACATCATCAAGCCCGATCCC CCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAA GAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGG AGTACCCTGACACCTGGAGCACACCACAC TCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAG GTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGA AGGACCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGC GCCACCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAG CATCTCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACT ATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCC GTGCCATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGG CGGAGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTA ATCTGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGC ATGTTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAAC CTGCTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCA GAAGGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACC CATGTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAG GATATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGT GGAGGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCA AGAACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGA GACATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCC TGGCCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATG GCCCTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGA CCTGAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGA CCATGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCT AAGAGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATAT GCTGGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGG CCCTGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCA CAGAAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTT CTACAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCC TGCTGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTG ACCATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAA CGCCAGC
113	CL_# 28066	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG

[0613]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACCACTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACCTGAAGGAGGACGGCATCTGGAGC ACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAGC CCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGAG GCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCTG TTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGATC TGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGGC TCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCGG AGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTGA GAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTCC GTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTCC CGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAAG TGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGCAG TACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTATC AGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTAA GAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAATA GCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTAC CCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCTA TTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGCA GGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGAC CGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCAC CGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATCT

[0614]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTCT AGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGCC ATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGA GGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATCT GCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATGT TCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTGC TGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAAG GCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCATG TACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGATA TCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGAG GCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGAA CGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGACAT CTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGGCC TCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCCCT GTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCTGA AGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCATG AACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAGAG GCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCTGG CCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCCTG AACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAGAA GTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTACA AGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGCTG CACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACCAT CGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGCCA GC
114	CL_# 28067	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC

[0615]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGACTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACTGGAAGGAGGACGGCATCTGGAGC ACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAGC CCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGAG GCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCTG TTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGATC TGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGGC TCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCGG AGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTGA GAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTCC GTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTCC CGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAAG TGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGTGG TACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTATC AGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTAA GAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAATA GCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTAC CCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCTA TTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGCA GGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGAC CGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCAC CGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATCT CCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTCT AGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGCC ATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGA GGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATCT GCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATGT TCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTGC TGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAAG GCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCATG TACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGATA TCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGAG GCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGAA CGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGACAT CTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGGCC

[0616]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCCCT GTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCTGA AGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCATG AACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAGAG GCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCTGG CCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCCTG AACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAGAA GTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTACA AGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGCTG CACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACCAT CGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGCCA GC
115	CL_# 28068	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGCACGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGAGAGACGGCATCTGGAG

[0617]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTC CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGGA CTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
116	CL_#	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA

[0618]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
	28069		CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACATCAAGAGAGACGGCATCTGGAGC ACACACATCCTGAAGGATCAGAAGGAGCC CAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGAGG CCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCTGT TGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGATCT GACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGGCT CCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCGGA GCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTGAG AGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTCCG TGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTCCC GCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAAGT GATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAAGT ACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTATCA GGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTAAG

[0619]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			AACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAATAG CCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTACC CTGACACCTGGAGCACACCACACTCCTAT TTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGCAG GGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGACC GCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCACC GTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATCTC CGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTCTA GCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGCCA TGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGAG GAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATCTG CCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATGTT CCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTGCT GCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAAGG CCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCATGT ACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGATAT CACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGAGG CATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGAAC GAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGACATC TTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGGCCT CCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCCCTG TGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCTGAA GATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCATGA ACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAGAGG CAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCTGGC CGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCCTGA ACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAGAAG TCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTACAA GACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGCTGC ACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACCATC GACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGCCAG C
117	CL_# 28070	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG

[0620]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACCACTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACCTGAAGGAGGACGGCATCTGGAGC ACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAGC CCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGAG GCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCTG TTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGATC TGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGGC TCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCGG AGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTGA GAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTCC GTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTCC CGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAAG TGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAAG TACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTATC AGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTAA GAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAATA GCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTAC CCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCTA TTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGCA GGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGAC CGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCAC CGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATCT CCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTCT AGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGCC ATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGA GGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATCT GCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATGT TCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTGC

[0621]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAAG GCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCATG TACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGATA TCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGAG GCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGAA CGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGACAT CTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGGCC TCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCCCT GTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCTGA AGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCATG AACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAGAG GCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCTGG CCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCCTG AACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAGAA GTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTACA AGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGCTG CACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACCAT CGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGCCA GC
118	CL_# 28071	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACAAGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG

[0622]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGGAG CACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTC CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAA GTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC

[0623]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
119	CL_#28072	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACCACTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGATCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAAGGAGTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGGAG CACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG

[0624]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTC CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACAAGCTGAA GTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
120	CL_# 28074	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG

[0625]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGACCAGA GCTCCAGAGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAGCAGCTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGGAG CACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTC CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACGACCTGAA GTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA

[0626]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
121	CL_# 28075	完全 nt	GAGCCAAAGAGCTCCGACAAGACCCACA CATGCCCCCCTTGTCCGGCGCCAGAGGCT GCAGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCC ACCCAAGCCTAAAGACACACTGATGATTT CCCGAACCCCCGAAGTCACATGCGTGGTC GTGTCTGTGAGTCACGAGGACCCTGAAGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCG AGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCTAGG GAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGCGT CGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAGTGC AAAGTGAGCAATAAGGCCCTGCCCGCTCC TATCGAGAAAACCATTTCCAAGGCTAAAG GGCAGCCTCGCGAACCTCAGGTGTACGTG TATCCACCCTCCCGCGATGAGCTGACAAA GAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGA AGGGCTTTTACCCTAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGA ACAATTATAAGACCACACCTCCAGTGCTG GACTCTGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCT

[0627]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			AAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGC AGCAGGGCAACGTGTTTTCTTGTAGCGTG ATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCTTAAGCCCTGGAG GCAGCGCCGATGGAGGAATCTGGGAGCTG AAGAAGGACGTGTACGTGGTGGAGCTGG ACTGGTATCCAGATGCACCAGGAGAGATG GTGGTGCTGACCTGCGACACACCAGAGGA GGATGGCATCACCTGGACACTGGACCAGA GCTCCGAGGTGCTGGGCTCCGGCAAGACC CTGACAATCCAGGTGAGCAGCTTCGGCGA CGCCGGACAGTACACCTGTCACAAGGGCG GCGAGGTGCTGTCCCACTCTCTGCTGCTGC TGCACAAGAAGGAGGACGGCATCTGGAG CACAGACATCCTGAAGGATCAGAAGGAG CCCAAGAACAAGACCTTCCTGAGGTGCGA GGCCAAGAATTATAGCGGCAGATTCACCT GTTGGTGGCTGACCACAATCTCCACCGAT CTGACATTTTCTGTGAAGTCTAGCAGGGG CTCCTCTGACCCTCAGGGAGTGACATGCG GAGCCGCCACCCTGAGCGCCGAGCGGGTG AGAGGCGATAACAAGGAGTACGAGTATTC CGTGGAGTGCCAGGAGGACTCTGCCTGTC CCGCCGCCGAGGAGTCCCTGCCTATCGAA GTGATGGTGGATGCCGTGCACGACCTGAA GTACGAGAATTATACAAGCTCCTTCTTTAT CAGGGACATCATCAAGCCCGATCCCCCTA AGAACCTGCAGCTGAAGCCTCTGAAGAAT AGCCGCCAGGTGGAGGTGTCCTGGGAGTA CCCTGACACCTGGAGCACACCACACTCCT ATTTCTCTCTGACCTTTTGCGTGCAGGTGC AGGGCAAGTCTAAGAGGGAGAAGAAGGA CCGCGTGTTCACCGATAAGACAAGCGCCA CCGTGATCTGTCGGAAGAACGCCAGCATC TCCGTGCGGGCCCAGGATAGATACTATTC TAGCTCCTGGAGCGAGTGGGCCTCCGTGC CATGTTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGG AGGAGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCTAATC TGCCAGTGGCCACCCCTGACCCAGGCATG TTCCCCTGCCTGCACCACTCTCAGAACCTG CTGCGGGCCGTGAGCAATATGCTGCAGAA GGCCAGACAGACACTGGAGTTTTACCCAT GTACCTCCGAGGAGATCGACCACGAGGAT ATCACAAAGGATAAGACCTCTACAGTGGA GGCATGCCTGCCACTGGAGCTGACCAAGA ACGAGAGCTGTCTGAACAGCCGGGAGAC

[0628]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			ATCTTTCATCACCAACGGCAGCTGCCTGG CCTCCAGAAAGACATCTTTTATGATGGCC CTGTGCCTGTCTAGCATCTACGAGGACCT GAAGATGTATCAGGTGGAGTTCAAGACCA TGAACGCCAAGCTGCTGATGGACCCTAAG AGGCAGATCTTTCTGGATCAGAATATGCT GGCCGTGATCGACGAGCTGATGCAGGCCC TGAACTTCAATAGCGAGACAGTGCCACAG AAGTCCTCTCTGGAGGAGCCCGATTTCTA CAAGACCAAGATCAAGCTGTGCATCCTGC TGCACGCCTTCCGGATCAGAGCCGTGACC ATCGACCGCGTGATGAGCTACCTGAACGC CAGC
122		p40 前体 SP	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVA
123		p40 前体	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDV YVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGIT WTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYT CHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKD QKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTIS TDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERV RGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPIEV MVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNL QLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSL TFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICR KNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS
124		p35 前体 SP	MCPARSLLLVATLVLLDHLSLA
125		p35 前体	MCPARSLLLVATLVLLDHLSLARNLPVATP DPGMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTL EFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELT KNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMAL CLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKR QIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSS LEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMS YLNAS
126		p19 前体 SP	MLGSRAVMLLLLLPWTAQG
127		p19 前体	MLGSRAVMLLLLLPWTAQGRAVPGGSSPA WTQCQQLSQKLCTLAWSAHPLVGHMDLRE EGDEETTNDVPHIQCGDGCDPQGLRDNSQF CLQRIHQGLIFYEKLLGSDIFTGEPSLLPDSP VGQLHASLLGLSQLLQPEGHHWETQQIPSLS PSQPWQRLLLRFKILRSLQAFVAVAARVFA HGAATLSP
128		p19 成熟	RAVPGGSSPAWTQCQQLSQKLCTLAWSAH PLVGHMDLREEGDEETTNDVPHIQCGDGCD PQGLRDNSQFCLQRIHQGLIFYEKLLGSDIFT

[0629]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GEPSLLPDSPVGQLHASLLGLSQLLQPEGHH WETQQIPSLSPSQPWQRLLLRFKILRSLQAF VAVAARVFAHGAATLSP
129	17872	p35 核苷酸	AGAAACCTGCCCGTGGCCACACCCGATCC TGGCATGTTTCCCTGCCTGCACCACAGCC AGAACCTGCTGCGGGCCGTGTCCAATATG CTGCAGAAGGCCAGACAGACCCTGGAGTT CTACCCCTGTACATCTGAGGAGATCGACC ACGAGGATATCACCAAGGACAAGACCTCC ACAGTGGAGGCCTGCCTGCCTCTGGAGCT GACAAAGAACGAGTCCTGTCTGAACAGCC GGGAGACCAGCTTCATCACAAATGGCTCC TGCCTGGCCTCTCGCAAGACCAGCTTTAT GATGGCCCTGTGCCTGAGCTCCATCTACG AGGATCTGAAGATGTATCAGGTGGAGTTC AAGACAATGAACGCCAAGCTGCTGATGGA CCCTAAGCGGCAGATCTTTCTGGATCAGA ATATGCTGGCCGTGATCGACGAGCTGATG CAGGCCCTGAACTTTAATAGCGAGACCGT GCCTCAGAAGTCTAGCCTGGAGGAGCCAG ATTTCTACAAGACAAAGATCAAGCTGTGC ATCCTGCTGCACGCCTTCCGGATCAGAGC CGTGACCATCGACAGAGTGATGTCCTATC TGAACGCCTCT
130	17871	p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGACCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCA GCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGATGCCGGACAGTACACATG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCTCACA GCCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAT GGCATCTGGTCCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATTCTGGC CGCTTTACCTGTTGGTGGCTGACCACAATC TCTACCGACCTGACCTTCAGCGTGAAGTC TAGCCGGGGCTCCTCTGATCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGACAACAAGGAGT ACGAGTATAGCGTGGAGTGCCAGGAGGAT TCCGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGACGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCA

[0630]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC CCTGAAGAACAGCAGACAGGTGGAGGTG TCTTGGGAGTACCCTGATACCTGGTCCAC ACCACACAGCTATTTCTCCCTGACCTTTTG CGTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGCGGG AGAAGAAGGACAGAGTGTTTACCGATAA GACAAGCGCCACCGTGATCTGTAGAAAGA ACGCCTCCATCTCTGTGAGGGCCCAGGAC CGCTACTATTCTAGCTCCTGGTCTGAGTGG GCCAGCGTGCCTTGTTCC
131	17908	p19 核苷酸	AGAGCCGTGCCTGGCGGCAGCTCCCCAGC CTGGACCCAGTGCCAGCAGCTGAGCCAGA AGCTGTGCACACTGGCCTGGTCCGCCCAC CCACTGGTGGGACACATGGACCTGCGGGA GGAGGGCGATGAGGAGACCACAAACGAC GTGCCACACATCCAGTGCGGCGACGGATG TGATCCTCAGGGCCTGCGGGATAATTCTC AGTTCTGCCTGCAGAGAATCCACCAGGGC CTGATCTTCTACGAGAAGCTGCTGGGCAG CGATATCTTTACCGGAGAGCCTTCTCTGCT GCCAGACAGCCCTGTGGGACAGCTGCACG CCTCCCTGCTGGGCCTGTCTCAGCTGCTGC AGCCAGAGGGCCACCACTGGGAGACACA GCAGATCCCCTCTCTGAGCCCATCCCAGC CATGGCAGAGGCTGCTGCTGCGCTTTAAG ATCCTGAGGTCCCTGCAGGCCTTCGTGGC AGTGGCAGCACGCGTGTTTGCCCACGGAG CCGCCACACTGTCTCCC
132		接头	GSADGG
133		接头	GGGGGGGGGGGGS
134		接头	GGGGSGGGGSGGGSGGGSGGGGSGGGGS
135		接头	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSG
136		人 IgG1 Fc 231-447(EU 编号)	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
183		人 IgG1 CH2 结构域	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAK
184		人 IgG1 CH3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK

[0631]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
		结构域	GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
185		经修饰的 IgG1 CH2 结构域	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAK
186		经修饰的 IgG1 CH3 结构域	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
187		经修饰的 IgG1 CH3 结构域	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG
137		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACCACTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG

[0632]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GCCTCCGTGCCATGTTCT
138		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACAAGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
139		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACAGATATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT

[0633]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
140		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCAGAGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG

[0634]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
141		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGCAC GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
142		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAGC GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC

[0635]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
143		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GACTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC

[0636]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
144		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG AGATTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
145		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT

[0637]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG AGCTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
146		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGGACGGCGACGCCGGACAGTACACCT GTCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCAC TCTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGA CGGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGG ATCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTC CTGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGG CAGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAA TCTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGT CTAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGA GTGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGC CGAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAG TACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGA CTCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCC

[0638]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TGCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTG CACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAG CTCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCC CGATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGC CTCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTG TCCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCAC ACCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTG CGTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGG GAGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAA GACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGA ACGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGAT AGATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTG GGCCTCCGTGCCATGTTCT
147		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGAAGGGCGACGCCGGACAGTACACCT GTCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCAC TCTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGA CGGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGG ATCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTC CTGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGG CAGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAA TCTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGT CTAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGA GTGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGC CGAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAG TACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGA CTCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCC TGCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTG CACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAG CTCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCC CGATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGC CTCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTG TCCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCAC ACCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTG CGTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGG GAGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAA GACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGA ACGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGAT AGATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTG GGCCTCCGTGCCATGTTCT
148		突变的 p40 核	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT

[0639]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
		苷酸	GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGAGAGGCGACGCCGGACAGTACACCT GTCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCAC TCTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGA CGGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGG ATCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTC CTGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGG CAGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAA TCTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGT CTAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGA GTGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGC CGAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAG TACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGA CTCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCC TGCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTG CACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAG CTCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCC CGATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGC CTCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTG TCCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCAC ACCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTG CGTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGG GAGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAA GACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGA ACGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGAT AGATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTG GGCCTCCGTGCCATGTTCT
149		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACGAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG

[0640]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
150		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACATCAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA

[0641]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
151		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACCTGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
152		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACTGGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC

[0642]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
153		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACTACAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA

[0643]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
154		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGAGAGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
155		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG

[0644]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGTGGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
156		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGAGATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC

[0645]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
157		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACACACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
158		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC

[0646]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAAGAATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
159		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCAGAAACAAGGAGT

[0647]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
160		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACGACCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG

[0648]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GCCTCCGTGCCATGTTCT
161		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGGACTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
162		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT

[0649]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGCAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
163		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGACCTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG

[0650]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
164		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGTGGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
165		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACAGATATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GACGACGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC

[0651]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGTGGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
166		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACCACTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACCTGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC

[0652]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
167		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACCACTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACCTGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGCAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
168		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGACCAGAGCTCCAGAGTGCTGGGCT

[0653]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAGC AGCTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACGACCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
169		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGCAC GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGAGAGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT

[0654]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGGACTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
170		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGACCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAGC AGCTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACGACCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
171		突变的 p40 核	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT

[0655]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
		苷酸	GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GACTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACTGGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGTGGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
172		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GACTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACACACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG

[0656]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
173		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG AGATTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAAGAATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA

[0657]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
174		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGAAGGGCGACGCCGGACAGTACACCT GTCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCAC TCTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGGAGGA CGGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGG ATCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTC CTGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGG CAGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAA TCTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGT CTAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGA GTGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGC CGAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAG TACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGA CTCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCC TGCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTG CACAAGCTGTGGTACGAGAATTATACAAG CTCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCC CGATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGC CTCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTG TCCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCAC ACCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTG CGTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGG GAGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAA GACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGA ACGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGAT AGATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTG GGCCTCCGTGCCATGTTCT
175		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGAGAGGCGACGCCGGACAGTACACCT GTCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCAC TCTCTGCTGCTGCTGCACGAGAAGGAGGA CGGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGG ATCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTC

[0658]

表 M: 序列

SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			CTGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGG CAGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAA TCTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGT CTAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGA GTGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGC CGAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAG TACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGA CTCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCC TGCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTG CACAAGCTGTGGTACGAGAATTATACAAG CTCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCC CGATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGC CTCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTG TCCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCAC ACCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTG CGTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGG GAGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAA GACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGA ACGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGAT AGATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTG GGCCTCCGTGCCATGTTCT
176		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGAGAGGCGACGCCGGACAGTACACCT GTCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCAC TCTCTGCTGCTGCTGCACTACAAGGAGGA CGGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGG ATCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTC CTGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGG CAGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAA TCTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGT CTAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGA GTGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGC CGAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAG TACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGA CTCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCC TGCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTG CACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAG CTCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCC CGATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGC CTCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTG TCCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCAC

[0659]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			ACCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTG CGTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGG GAGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAA GACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGA ACGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGAT AGATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTG GGCCTCCGTGCCATGTTCT
177		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACATCAAGAGAGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
178		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG

[0660]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACATCAAGAGAGAC GGCATCTGGAGCACACACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
179		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACTGGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCAGAAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC

[0661]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
180		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACTGGAAGGAGGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGTGGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
181		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC

[0662]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGAGAGAC GGCATCTGGAGCACAGACATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGGACTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT
182		突变的 p40 核苷酸	ATCTGGGAGCTGAAGAAGGACGTGTACGT GGTGGAGCTGGACTGGTATCCAGATGCAC CAGGAGAGATGGTGGTGCTGACCTGCGAC ACACCAGAGGAGGATGGCATCACCTGGAC ACTGGATCAGAGCTCCGAGGTGCTGGGCT CCGGCAAGACCCTGACAATCCAGGTGAAG GAGTTCGGCGACGCCGGACAGTACACCTG TCACAAGGGCGGCGAGGTGCTGTCCCACT CTCTGCTGCTGCTGCACAAGAAGTGGGAC GGCATCTGGAGCACAGAGATCCTGAAGGA TCAGAAGGAGCCCAAGAACAAGACCTTCC TGAGGTGCGAGGCCAAGAATTATAGCGGC AGATTCACCTGTTGGTGGCTGACCACAAT CTCCACCGATCTGACATTTTCTGTGAAGTC TAGCAGGGGCTCCTCTGACCCTCAGGGAG TGACATGCGGAGCCGCCACCCTGAGCGCC GAGCGGGTGAGAGGCGATAACAAGGAGT

[0663]

表 M: 序列			
SEQ ID NO	克隆编号	描述	序列(氨基酸或核酸)
			ACGAGTATTCCGTGGAGTGCCAGGAGGAC TCTGCCTGTCCCGCCGCCGAGGAGTCCCT GCCTATCGAAGTGATGGTGGATGCCGTGC ACAAGCTGAAGTACGAGAATTATACAAGC TCCTTCTTTATCAGGGACATCATCAAGCCC GATCCCCCTAAGAACCTGCAGCTGAAGCC TCTGAAGAATAGCCGCCAGGTGGAGGTGT CCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGCACA CCACACTCCTATTTCTCTCTGACCTTTTGC GTGCAGGTGCAGGGCAAGTCTAAGAGGG AGAAGAAGGACCGCGTGTTCACCGATAAG ACAAGCGCCACCGTGATCTGTCGGAAGAA CGCCAGCATCTCCGTGCGGGCCCAGGATA GATACTATTCTAGCTCCTGGAGCGAGTGG GCCTCCGTGCCATGTTCT



图1A

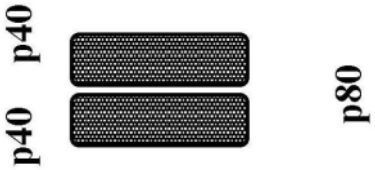


图1B

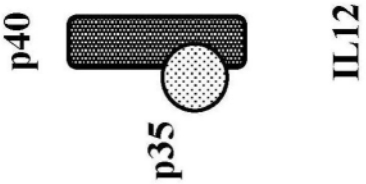


图1C

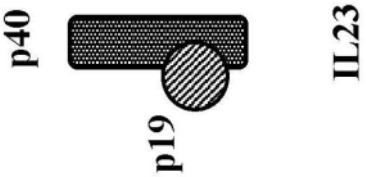


图1D

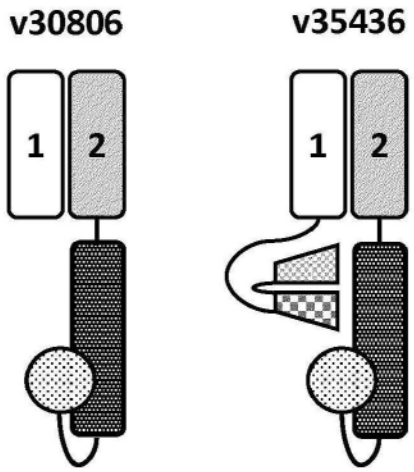
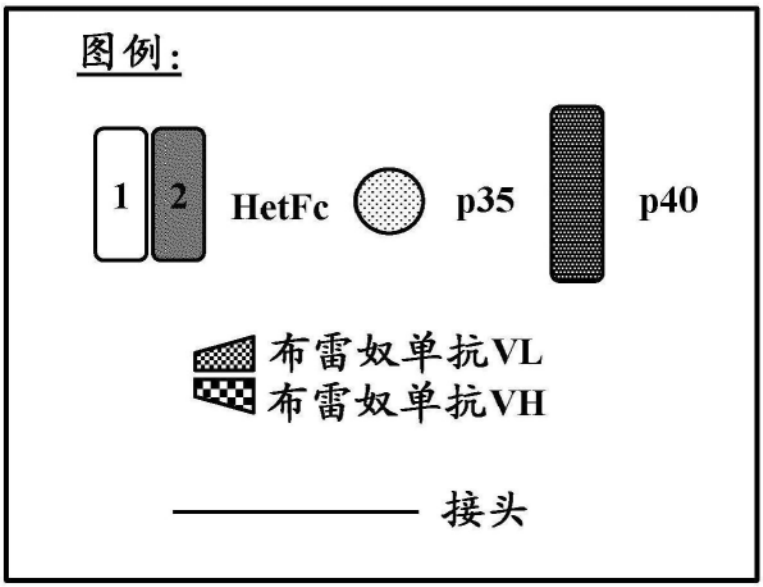


图 2A 图 2B



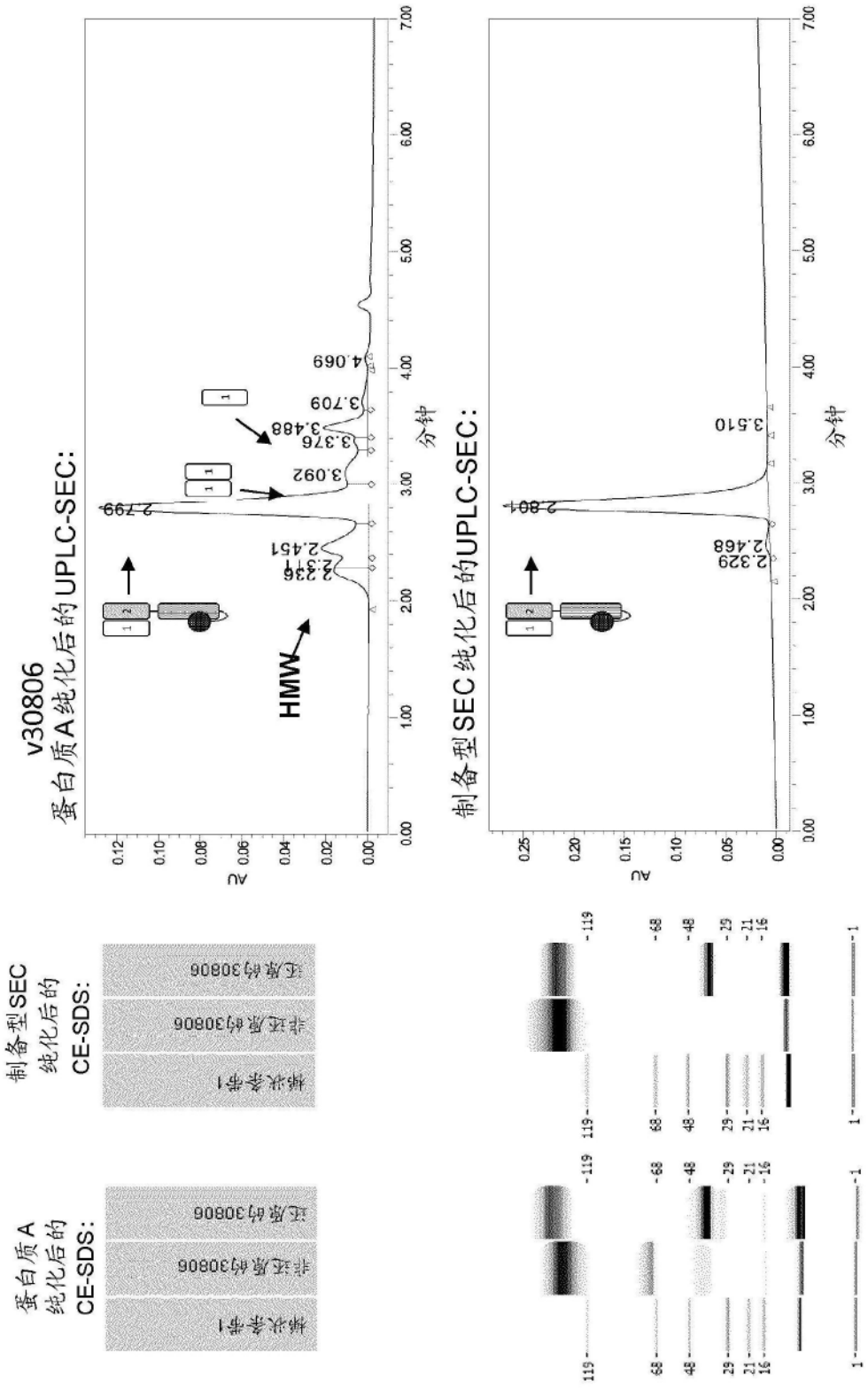

v30806
蛋白质A纯化后的UPLC-SEC:
HMW
2.799
3.092
3.376
3.488
3.709
4.069
2.236
2.311
2.451
mAU
分钟
制备型SEC纯化后的UPLC-SEC:
2.801
2.329
2.468
3.510
mAU
分钟
蛋白质A
纯化后的
CE-SDS:
棒状杂带1
非还原的30806
还原的30806
制备型SEC
纯化后的
CE-SDS:
棒状杂带1
非还原的30806
还原的30806
119
68
48
29
21
16
1

图3A

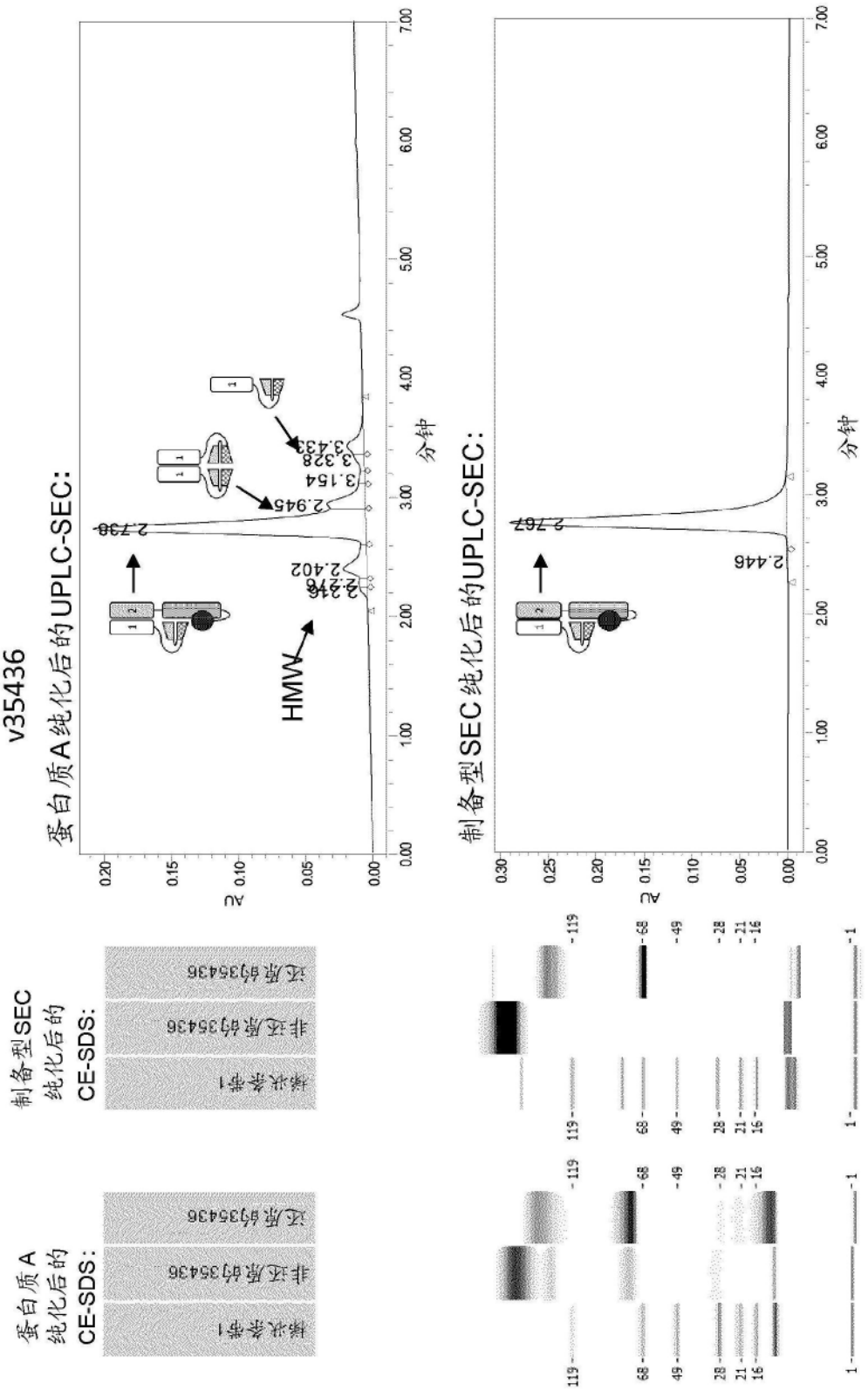

v35436
蛋白质A纯化后的UPLC-SEC:
HMW
2.738
2.946
3.154
3.328
3.433
分钟
制备型SEC纯化后的UPLC-SEC:
2.767
2.446
分钟
蛋白质A纯化后的CE-SDS:
制备型SEC纯化后的CE-SDS:
还原非还原样品1
119
68
49
28
21
16
1

图3B

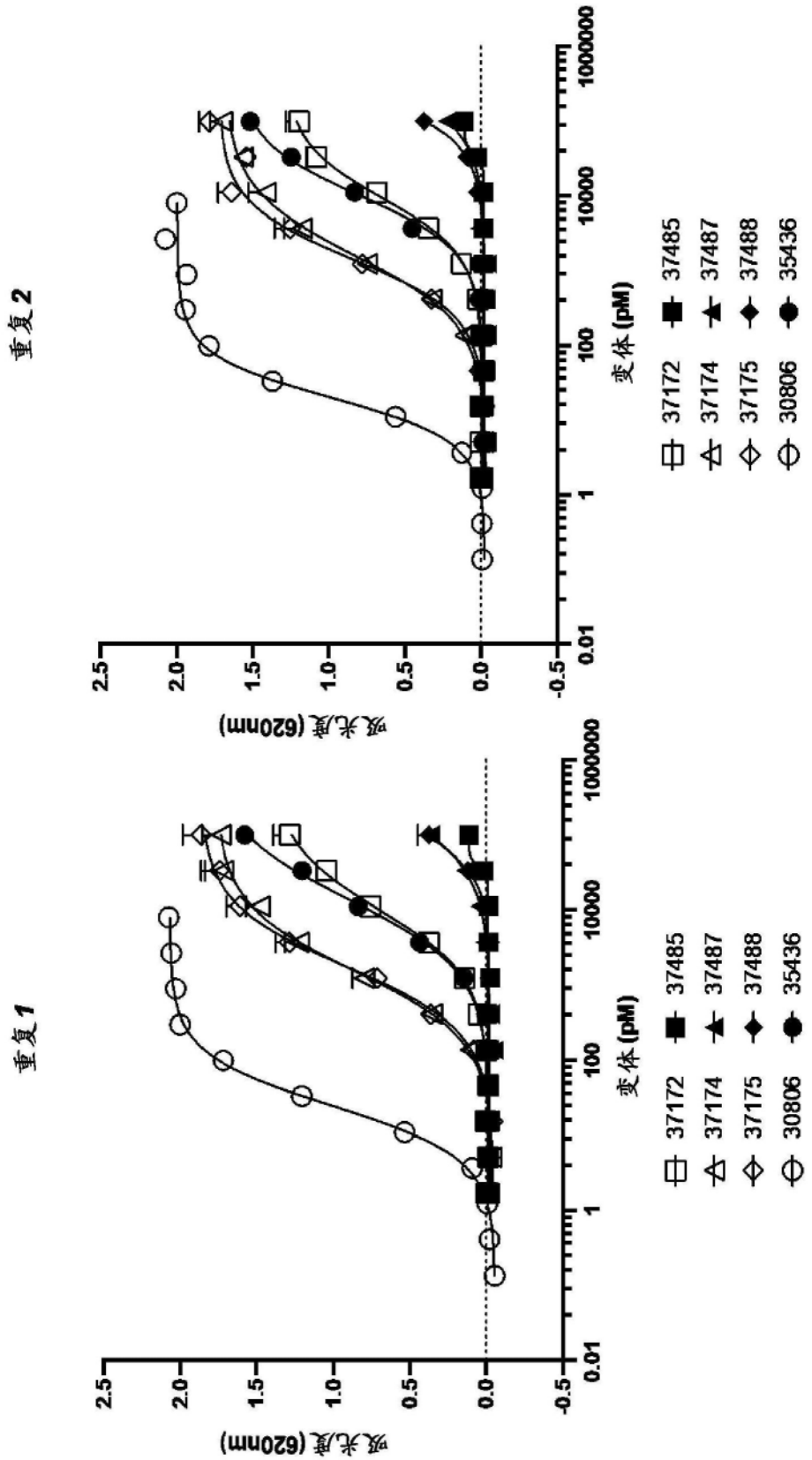

重复 2
重复 1
吸光度 (620nm)
变体 (pM)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
0.01
1
100
10000
1000000
37172
37174
37175
30806
37485
37487
37488
35436

图4A

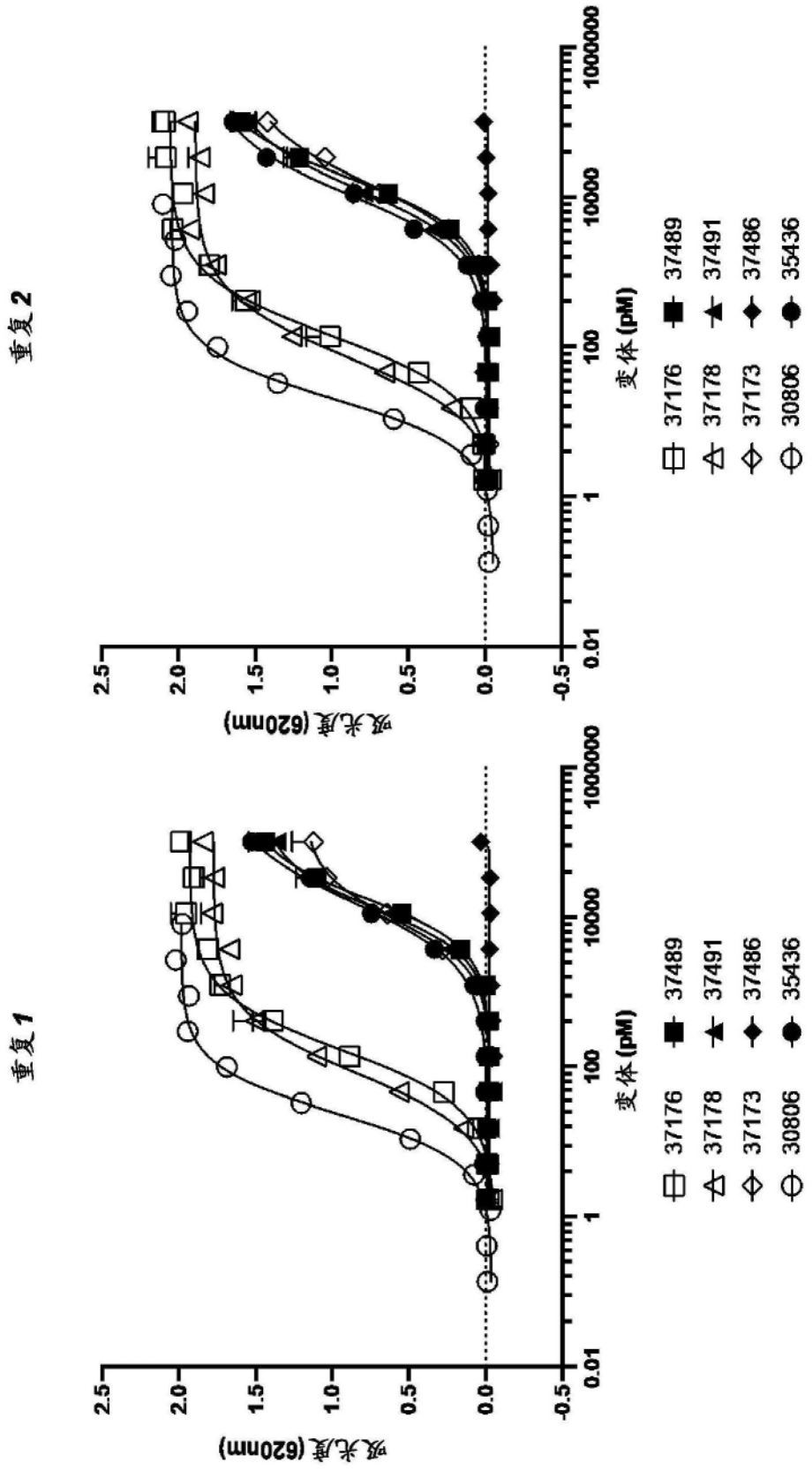

重复 2
重复 1
吸光度 (620nm)
变体 (pM)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
0.01
1
100
10000
1000000
37176
37178
37173
30806
37489
37491
37486
35436

图4B

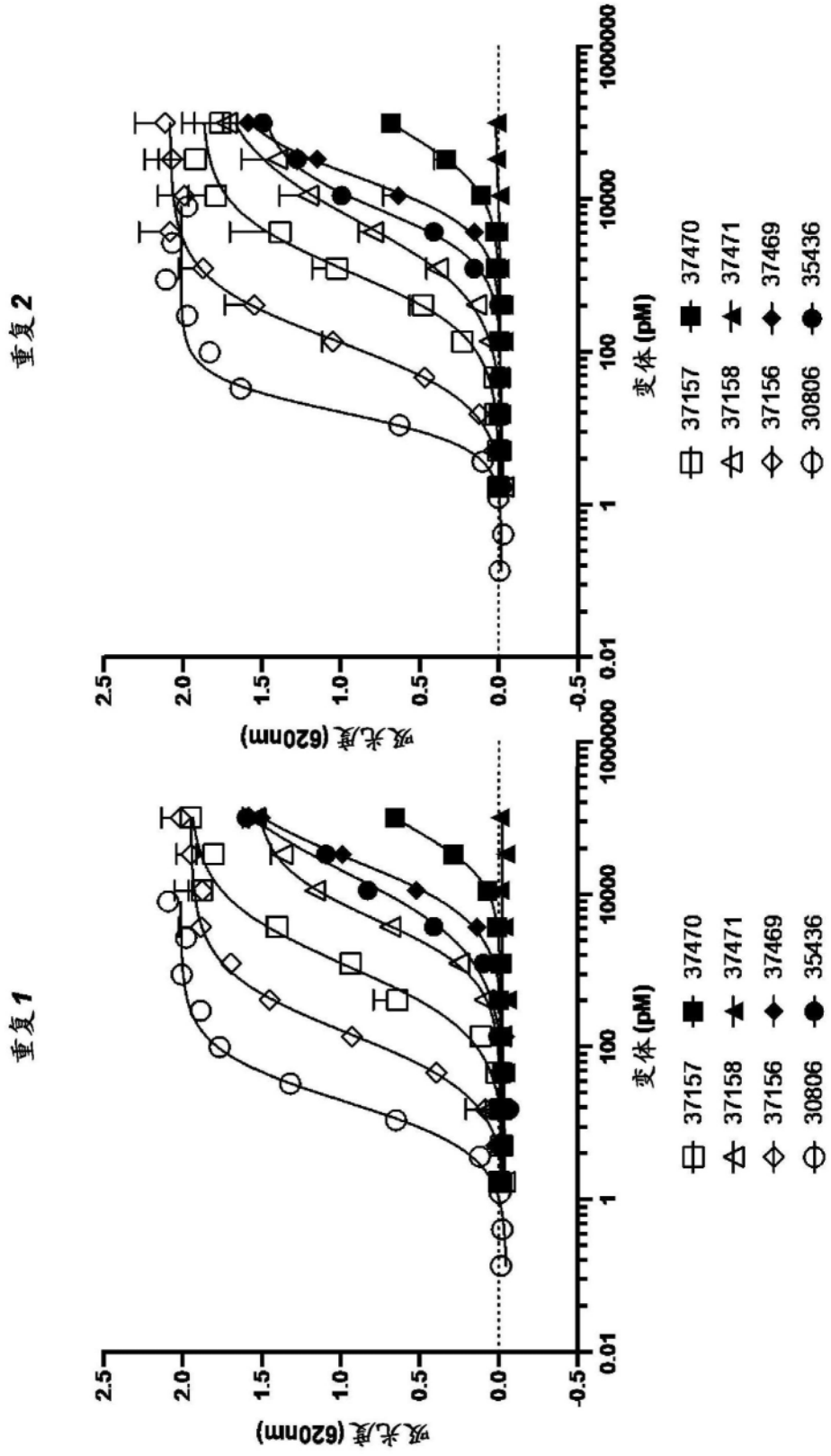

重复 2
重复 1
吸光度 (620nm)
变体 (pM)
37157
37158
37156
30806
37470
37471
37469
35436

图4C

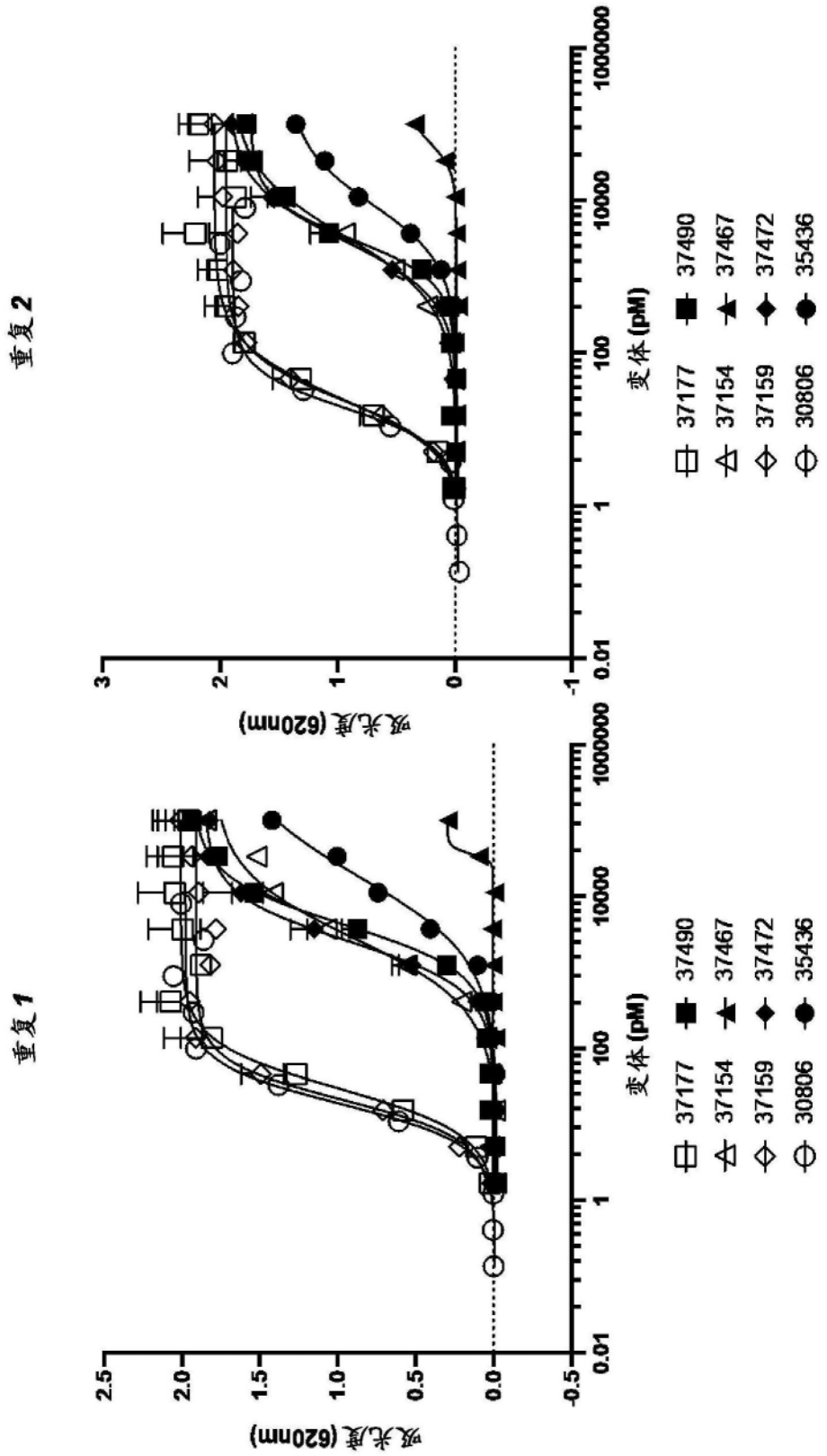

重复 1
重复 2
吸光度 (620nm)
变体 (pM)
37177
37154
37159
30806
37490
37467
37472
35436

图4D

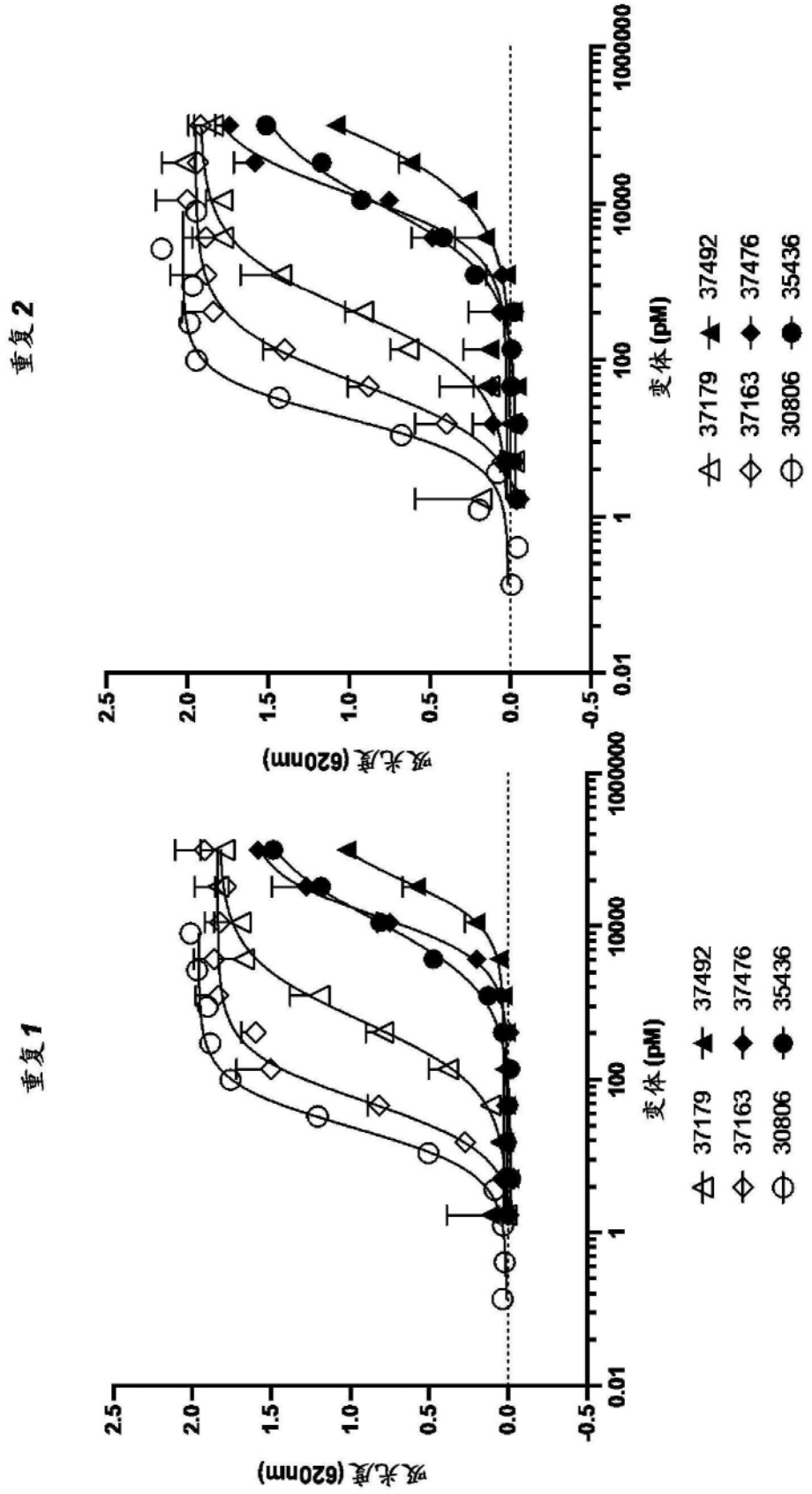

重复 1
重复 2
双光度 (620nm)
变体 (pM)
0.01
1
100
10000
1000000
-0.5
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
37179
37492
37163
37476
30806
35436

图4E

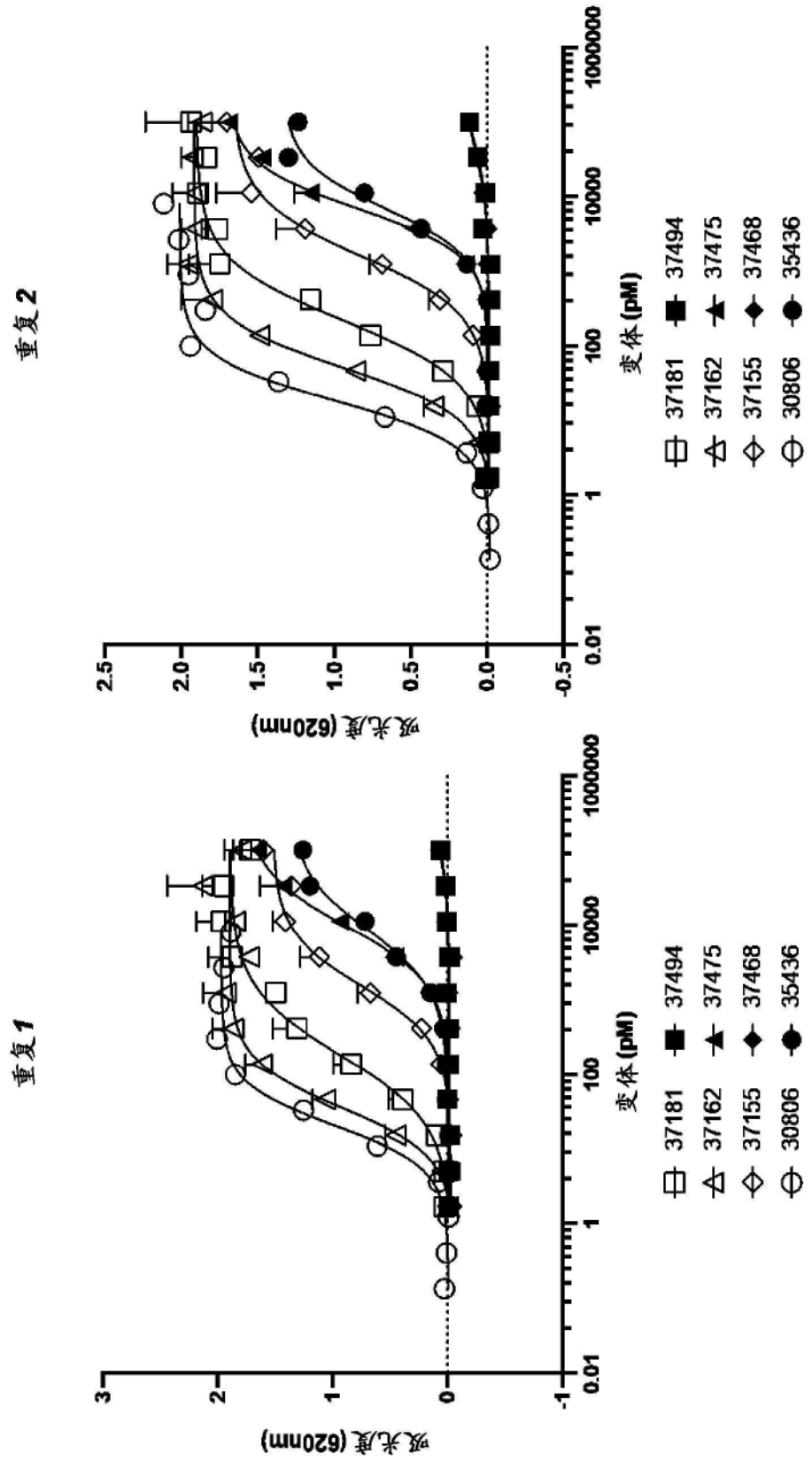

重复 2
重复 1
吸光度 (620nm)
变体 (pM)
37181
37494
37162
37475
37155
37468
30806
35436

图4F

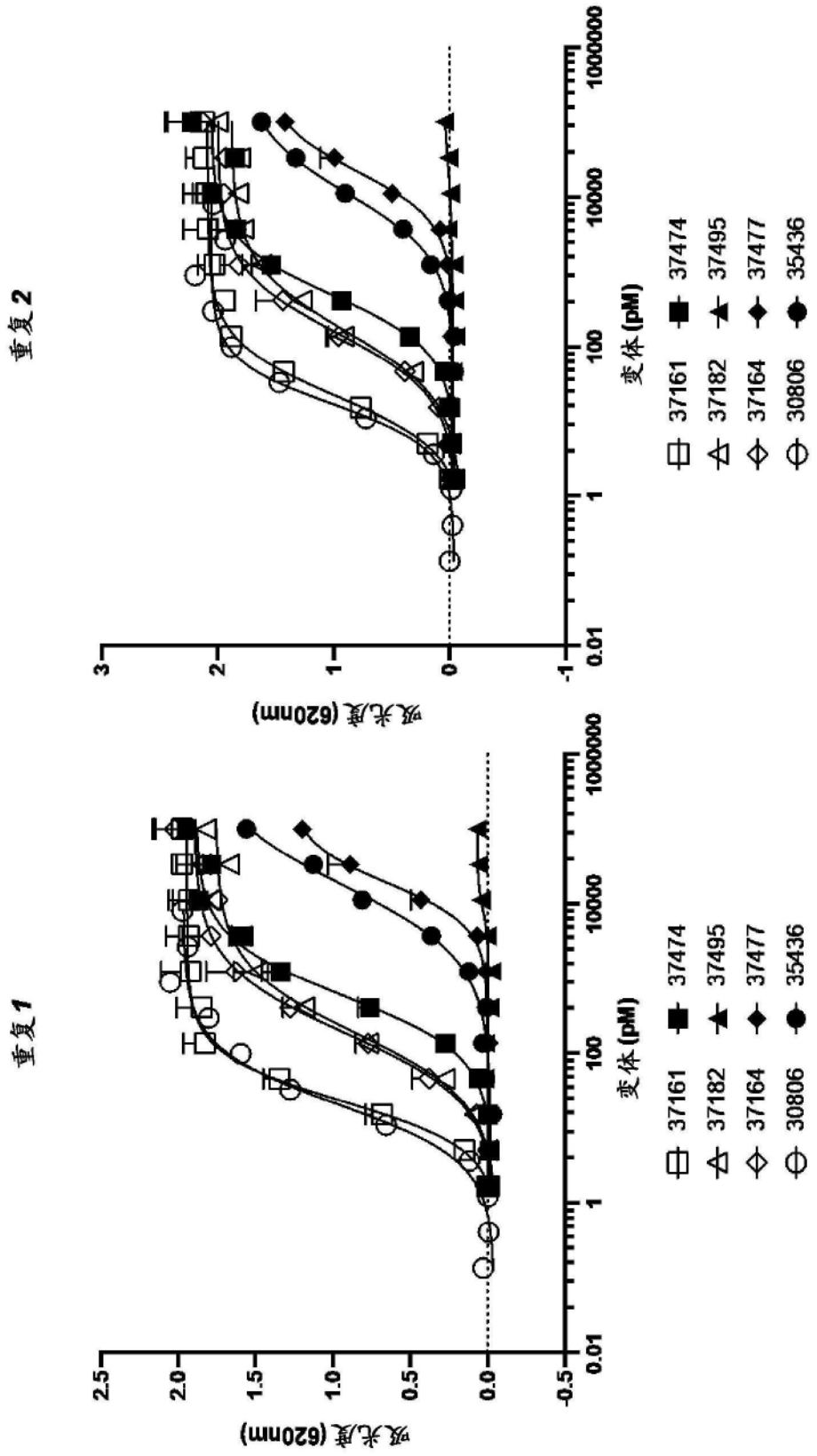

重复 2
重复 1
吸光度 (620nm)
变体 (pM)
37161
37474
37182
37495
37164
37477
30806
35436

图4G

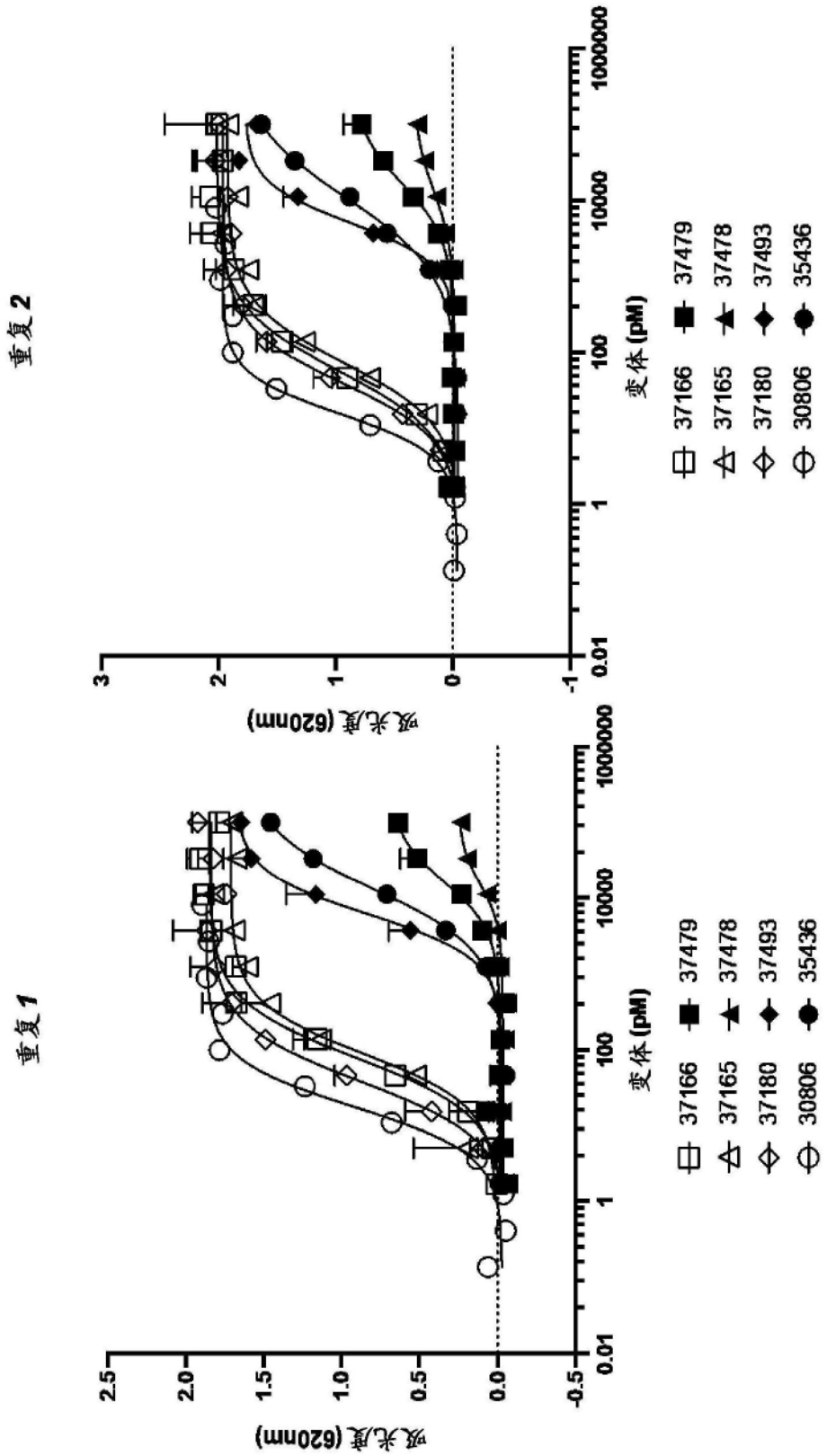

重复 2
重复 1
吸光度 (620nm)
变体 (pM)
37166
37165
37180
30806
37479
37478
37493
35436

图4H

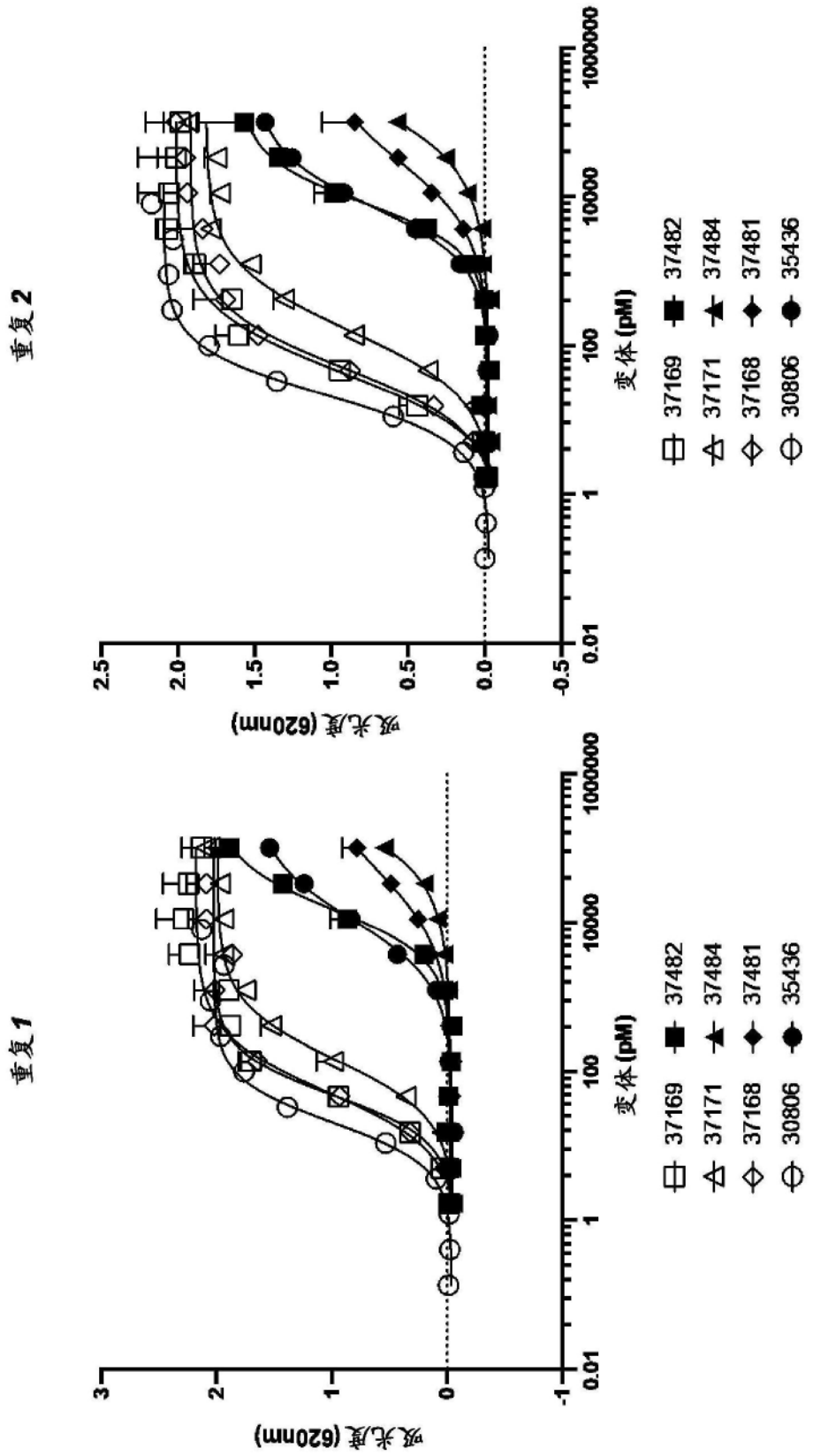

重复 2
重复 1
吸光度 (620nm)
变体 (pM)
0.01
1
100
10000
1000000
37169
37171
37168
30806
37482
37484
37481
35436

图4I

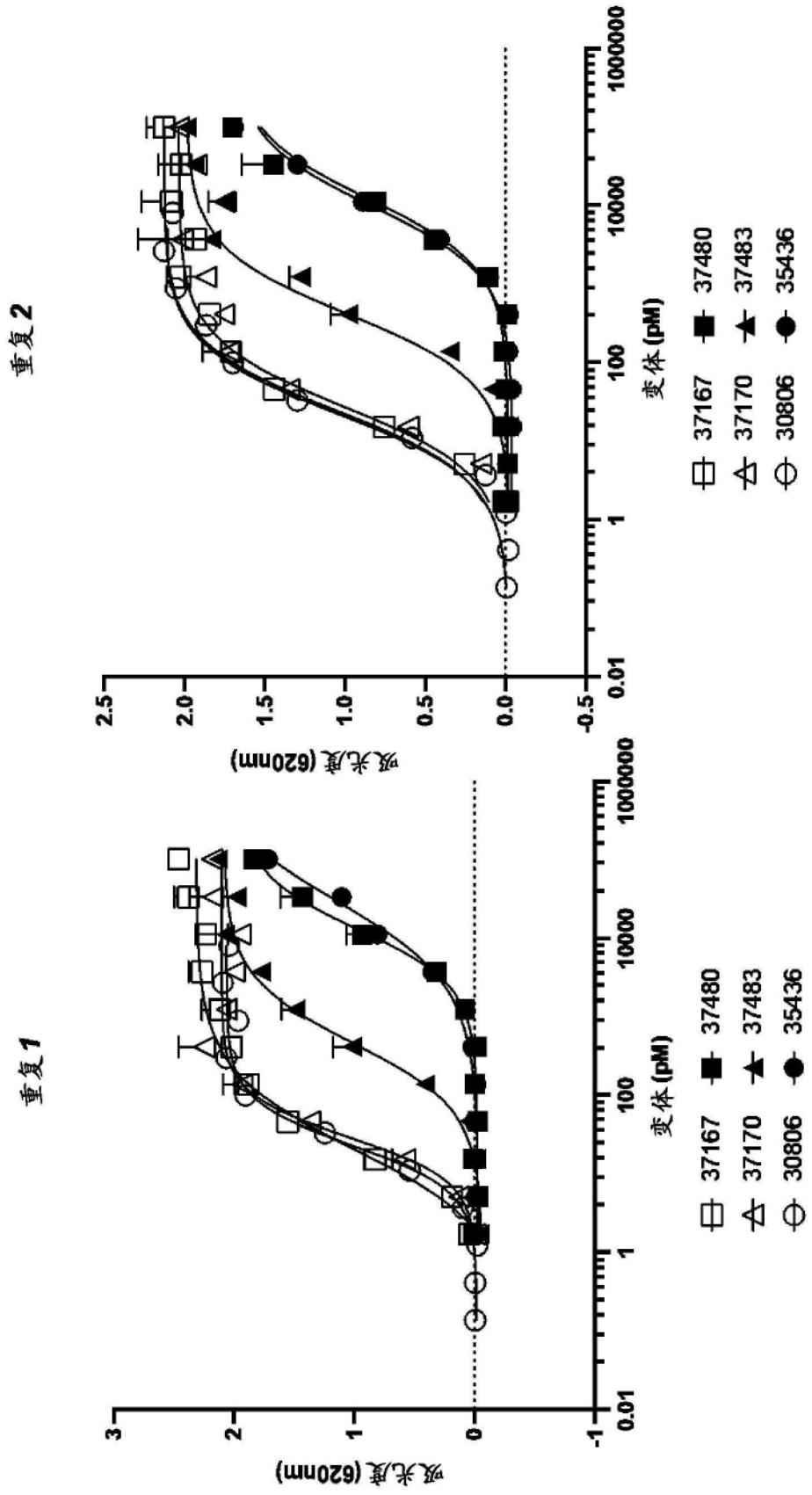


图4J