



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I802576 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 05 月 21 日

(21)申請案號：107119218

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 06 月 04 日

(51)Int. Cl. : C07K16/38 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P19/02 (2006.01)

(30)優先權：2017/06/02

歐洲專利局

17174403.0

(71)申請人：德商馬克專利公司 (德國) MERCK PATENT GMBH (DE)

德國

比利時商艾伯林克斯公司 (比利時) ABLYNX N.V. (BE)

比利時

(72)發明人：拜斯 瑪莉安 BUYSE, MARIE-ANGE (BE)；赫曼斯 蓋 HERMANS, GUY (BE)；

林德曼 斯芬 LINDEMANN, SVEN (DE)；古林 漢斯 GUEHRING, HANS

(DE)；剛瑟 羅夫 GUENTHER, RALF (DE)；凱歐納 羅藍 KELLNER, ROLAND

(DE)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO 2008/074840A2

審查人員：張茜毓

申請專利範圍項數：27 項 圖式數：14 共 249 頁

(54)名稱

與 ADAMTS 結合之免疫球蛋白

(57)摘要

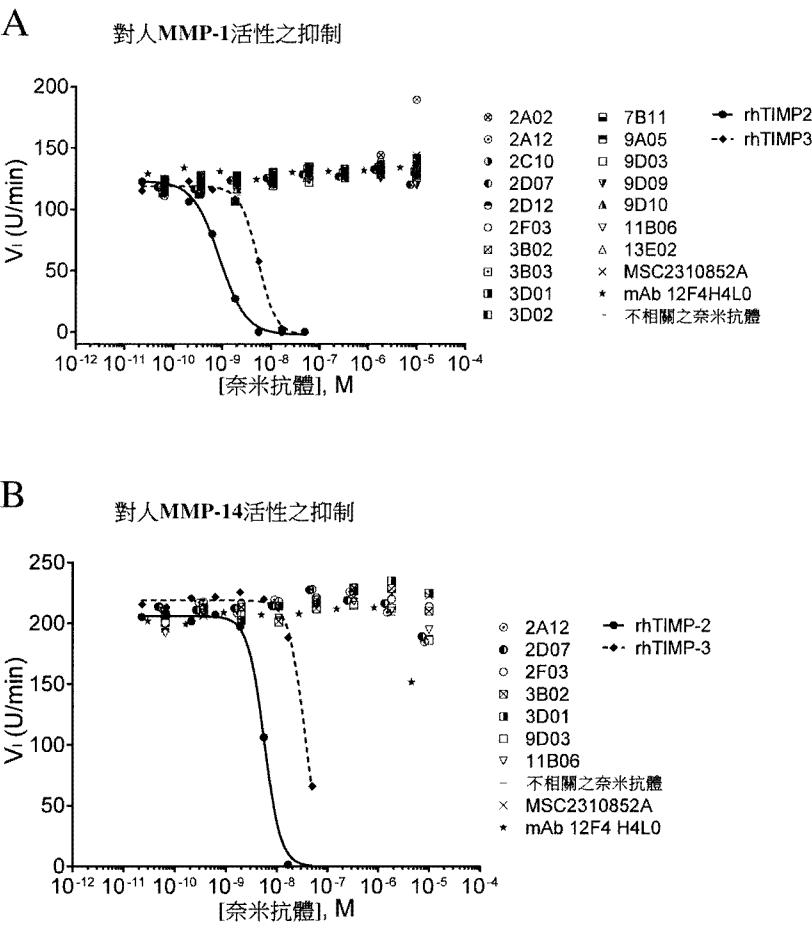
本發明關於與含血小板反應蛋白模體之解聚素金屬蛋白酶 5(ADAMTS5)結合之免疫球蛋白且更特別地關於包含一或多種該等免疫球蛋白或基本上由一或多種該等免疫球蛋白所組成之多肽(本文中亦分別稱為“本發明之免疫球蛋白”和“本發明之多肽”)。本發明亦關於包含該等免疫球蛋白(諸如免疫球蛋白單可變結構域(ISVD))或多肽之構建體及編碼該等免疫球蛋白或多肽之核酸(本文中亦稱為“本發明之核酸”)、製備該等免疫球蛋白、多肽和構建體之方法、表現或能夠表現該等免疫球蛋白或多肽之宿主細胞、包含該等免疫球蛋白、多肽、構建體、核酸及/或宿主細胞之組成物(特別是醫藥組成物)及免疫球蛋白、多肽、構建體、核酸、宿主細胞及/或組成物之用途，特別是用於預防及/或治療目的，諸如本文提及之預防及/或治療目的。本發明之其他方面、實施態樣、優點和應用將可由本文之進一步描述逐漸清晰。

The present invention relates to immunoglobulins that bind ADAMTS5 and more in particular to polypeptides, that comprise or essentially consist of one or more such immunoglobulins(also referred to herein as“immunoglobulin(s) of the invention”, and“polypeptides of the invention”, respectively). The invention also relates to constructs comprising such immunoglobulins, such as immunoglobulin single variable domains(ISVDs) or polypeptides as well as nucleic acids encoding such immunoglobulins or polypeptides(also referred to herein as “nucleic acid(s) of the invention”; to methods for preparing such immunoglobulins, polypeptides and constructs; to host cells expressing or capable of expressing such

immunoglobulins or polypeptides; to compositions, and in particular to pharmaceutical compositions, that comprise such immunoglobulins, polypeptides, constructs, nucleic acids and/or host cells; and to uses of immunoglobulins, polypeptides, constructs, nucleic acids, host cells and/or compositions, in particular for prophylactic and/or therapeutic purposes, such as the prophylactic and/or therapeutic purposes mentioned herein. Other aspects, embodiments, advantages and applications of the invention will become clear from the further description herein.

指定代表圖：

第 1 圖





I802576

【發明摘要】

【中文發明名稱】

與 A D A M T S 結合之免疫球蛋白

【英文發明名稱】

ADAMTS BINDING IMMUNOGLOBULINS

【中文】

本發明關於與含血小板反應蛋白模體之解聚素金屬蛋白酶 5(ADAMTS5)結合之免疫球蛋白且更特別地關於包含一或多種該等免疫球蛋白或基本上由一或多種該等免疫球蛋白所組成之多肽(本文中亦分別稱為“本發明之免疫球蛋白”和“本發明之多肽”)。本發明亦關於包含該等免疫球蛋白(諸如免疫球蛋白單可變結構域(ISVD))或多肽之構建體及編碼該等免疫球蛋白或多肽之核酸(本文中亦稱為“本發明之核酸”)、製備該等免疫球蛋白、多肽和構建體之方法、表現或能夠表現該等免疫球蛋白或多肽之宿主細胞、包含該等免疫球蛋白、多肽、構建體、核酸及/或宿主細胞之組成物(特別是醫藥組成物)及免疫球蛋白、多肽、構建體、核酸、宿主細胞及/或組成物之用途，特別是用於預防及/或治療目的，諸如本文提及之預防及/或治療目的。本發明之其他方面、實施態樣、優點和應用將可由本文之進一步描述逐漸清晰。

【 英文 】

The present invention relates to immunoglobulins that bind ADAMTS5 and more in particular to polypeptides, that comprise or essentially consist of one or more such immunoglobulins(also referred to herein as "*immunoglobulin(s) of the invention*", and "*polypeptides of the invention*", respectively). The invention also relates to constructs comprising such immunoglobulins, such as immunoglobulin single variable domains(ISVDs) or polypeptides as well as nucleic acids encoding such immunoglobulins or polypeptides(also referred to herein as "*nucleic acid(s) of the invention*"; to methods for preparing such immunoglobulins, polypeptides and constructs; to host cells expressing or capable of expressing such immunoglobulins or polypeptides; to compositions, and in particular to pharmaceutical compositions, that comprise such immunoglobulins, polypeptides, constructs, nucleic acids and/or host cells; and to uses of immunoglobulins, polypeptides, constructs, nucleic acids, host cells and/or compositions, in particular for prophylactic and/or therapeutic purposes, such as the prophylactic and/or therapeutic purposes mentioned herein. Other aspects, embodiments, advantages and applications of the invention will become clear from the further description herein.

【指定代表圖】第(1A&1B)圖。

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

與 A D A M T S 結合之免疫球蛋白

【英文發明名稱】

ADAMTS BINDING IMMUNOGLOBULINS

【技術領域】

【0001】本發明關於與 ADAMTS5 結合之免疫球蛋白，更特別地，本發明關於包含一或多種該等免疫球蛋白或基本上由一或多種該等免疫球蛋白所組成之多肽(本文中亦分別稱為“本發明之免疫球蛋白”和“本發明之多肽”)。本發明亦關於包含該等免疫球蛋白(諸如免疫球蛋白單可變結構域(ISVD))或多肽之構建體及編碼該等免疫球蛋白或多肽之核酸(本文中亦稱為“本發明之核酸”)、製備該等免疫球蛋白、多肽和構建體之方法、表現或能夠表現該等免疫球蛋白或多肽之宿主細胞、包含該等免疫球蛋白、多肽、構建體、核酸及/或宿主細胞之組成物(特別是醫藥組成物)及免疫球蛋白、多肽、構建體、核酸、宿主細胞及/或組成物之用途，特別是用於預防及/或治療目的，諸如本文提及之預防及/或治療目的。本發明之其他方面、實施態樣、優點和應用將可由本文之一步描述逐漸清晰。

【先前技術】

【0002】骨關節炎 (osteoarthritis)(OA)是全世界最常見的失能原因之一。其影響3000萬名美國人且最常見之關節疾病。預計到2025年，美國將有超過20%之人口受到影響。該疾病為非全身性的且通常侷限於少數關節。然而，該疾病可發生在所有關節，最常發生在膝蓋、臀部、手、肩部和脊柱。OA之特徵為關節軟骨(覆蓋骨骼之軟骨)之進行性磨損而導致慢性疼痛和失能。最終，該疾病導致關節軟骨被完全破壞、底層骨硬化、骨贅形成，等，這些均導致無法行動和疼痛。骨關節炎可被定義為各種病症群，其特徵為關節症狀之組合、源自關節軟骨缺陷之徵兆和鄰近組織(包括骨，肌腱和肌肉)之變化。疼痛為OA最突顯之症狀且為患者尋求醫療協助最常見的原因。OA無法治癒，即，目前的治療不能抑制OA關節之結構惡化。疾病管理侷限於最多僅僅緩和且對解決疾病進展之根本原因幾乎沒有作用的治療。雖然疾病起始可能有多重因素，但軟骨破壞似乎是由細胞外基質(ECM)不受控制之蛋白水解破壞所導致。關節軟骨中最大量之ECM組分為膠原蛋白(最重要的為膠原蛋白II)和蛋白聚醣，主要為聚集蛋白聚醣(Kiani et al., 2002 Cell Research 12:19-32)。

【0003】聚集蛋白聚醣在關節軟骨之正常功能中很重要，因其提供賦予軟骨承重性能之水合凝膠結構。聚集蛋白聚醣為由軟骨細胞表現之大型多模塊分子(2317個胺基酸)。其核心蛋白係由三個球狀結構域(G1、G2和G3)和用於連接糖胺聚醣鏈之介於G2和G3之間的大型延伸區所組

成。該延伸區域包含二個結構域，一個被硫酸角質素鏈(KS結構域)取代，另一個被硫酸軟骨素鏈(CS結構域)取代。該CS結構域具有100至150個糖胺聚醣(GAG)鏈附著於其上。聚集蛋白聚醣與透明質酸形成大複合物，其中50至100個聚集蛋白聚醣分子經由該G1結構域交互作用並將蛋白質與一個透明質酸分子連接。在攝取水時(由於GAG含量)，這些複合物形成可抵抗壓縮之可逆式可變形凝膠。關節軟骨之結構、液體保留和功能與聚集蛋白聚醣之基質含量及與完整核心蛋白結合之硫酸軟骨素的量有關。結構上，OA之特徵為聚集蛋白聚醣降解，逐漸釋出結構域G3和G2(導致軟骨“縮小”)，最終釋出G1結構域和膠原蛋白降解而不可逆地破壞軟骨結構。OA發病機制最明顯之聚集蛋白聚醣裂解位點係位於序列TEGE³⁷³↓³⁷⁴ARGS處。該裂解位點係位於聚集蛋白聚醣之球間結構域(IGD)中。識別³⁷⁴ARGS新抗原決定部位之抗體導致被證實為ADAMTS4之聚集蛋白聚醣酶-1和為ADAMTS5之聚集蛋白聚醣酶-2之發現。隨後，其他相關之ADAMTS酶(包括ADAMTS1、ADAMTS8、ADAMTS9、ADAMTS15和ADAMTS20)被證明具有聚集蛋白聚醣酶活性。ADAMTS16和ADAMTS18亦為弱聚集蛋白聚醣酶。ADAMTS和基質金屬蛋白酶(MMP)共享一個在序列和整體形狀二者上非常相似之與聚集蛋白聚醣結合之位點(EI Bakali *et al.* 2014 Future Medicinal Chemistry (Review) 6:1399)。

【0004】ADAMTS(含血小板反應蛋白模體之解聚素

金屬蛋白酶)酶為分泌型，多結構域之基質關聯鋅金屬內肽酶，其在組織形態發生和病理生理重塑、炎症和血管生物學中具有不同的作用 (Kelwick *et al.* 2015 *Genome Biology* 16:113)。人類家族包括19個成員，該19個成員可根據其已知之受質進行分組。聚集蛋白聚醣酶或蛋白聚醣酶包括ADAMTS1、ADAMTS4、ADAMTS5、ADAMTS8、ADAMTS9、ADAMTS15和ADAMTS20，其可裂解結合透明質酸之硫酸軟骨素蛋白聚醣(CSPG)胞外蛋白，包括聚集蛋白聚醣、多功能蛋白聚醣(versican)、短鏈黴菌聚醣(brevican)和神經蛋白聚醣(neurocan)。牛聚集蛋白聚醣中之二個最佳裂解位點係在KEEE¹⁶⁶⁷↓¹⁶⁶⁸GLGS，接著為GELE¹⁴⁸⁰↓¹⁴⁸¹GRGT。之後，裂解發生在釋出上述之新抗原決定部位的IGD中之NITEGE³⁷³↓³⁷⁴ARGS(MMP不切開此處)及CS-2區中之TAQE¹⁷⁷¹↓¹⁷⁷²AGEG和VSQE¹⁸⁷¹↓¹⁸⁷²LGQR (Fosang *et al.* 2008 *European Cells and Materials* 15:11-26)。這些裂解位點被高度保留在人、牛、小鼠和大鼠中。

【0005】各種證據線索表明ADAMTS5為涉及骨關節炎發病的主要酶。ADAMTS5為存在於軟骨中之主要聚集蛋白聚醣酶。在人軟骨外植體和軟骨細胞中，剔除ADAMTS5可減弱聚集蛋白聚醣之分解，表明該酶可能參與人體組織。酶之表現被細胞因子(諸如白細胞介素-1和製瘤素-M(oncostatin-M)增強，這引起組織中聚集蛋白聚醣分解。在OA患者之滑液和血清中檢測到ADAMTS5產生

之聚集蛋白聚醣片段(Germaschewski *et al.*, 2014 Osteoarthritis Cartilage 22:690-697)。

【0006】先以無活性蛋白之形式合成ADAMTS5，包括在N-端之蛋白酶結構域和C-端之輔助結構域。該蛋白酶結構域係由信號肽、具有弗林蛋白酶識別序列之前結構域和催化結構域組成。前結構域被前蛋白轉化酶裂解以產生活性酶。ADAMTS5進一步含有輔助結構域，其主動參與受質識別並調節該蛋白酶對其受質(“外部位點”)之親和力。該解聚素樣結構域、中心血小板反應蛋白第I型樣(TS)重複序列、富含半胱胺酸之結構域、間隔子區和ADAMTS5之額外TS模體為具有潛在之外部位點功能的輔助結構域。富含半胱胺酸之結構域似乎對ADAMTS5與糖胺聚醣結合及對接是必要的。ADAMTS成員中之最大變異性係在這些輔助結構域中(Kelwick *et al.*, 2015 Genome Biology 16:113)。

【0007】之後，強烈尋求疾病調節抗骨關節炎藥物(DMOAD)(其可被定義為抑制結構性疾病進展且理想上亦改善症狀及/或功能之藥物)。在此老年人口之慢性疾病中，DMOAD可能被開立為長期處方，因此在具有多種合併症及可能有藥物-藥物交互作用之標的群體中需要有極佳之安全性數據。

【0008】數家製藥公司已研發ADAMTS5之小分子抑制劑。這些化合物中有些被宣稱對ADAMTS5具有特異性，而其他化合物亦對其他ADAMTS成員或甚至對MMP有

效。這些交叉抑制作用被認為是導致肌肉骨骼症候群之原因，該肌肉骨骼症候群為是由廣譜抑制劑引起之副作用且涉及關節痛、肌肉痛、關節僵硬和肌腱炎(Santamaria *et al.*, 2015 *Biochem J* 471:391-401)。Wyeth聚集蛋白聚醣酶抑制劑AGG-523被用在5種健康個體和OA患者之第I期臨床試驗中，但未被進一步採用。其他小分子ADAMTS抑制劑亦未進入任何進一步之臨床研發中作為可能之DMOAD(Bondeson *et al.*, 2015 *Drug Discovery* 10:5-14)。實際上，儘管最近有許多專門研究DMOAD之臨床試驗，但目前為止尚未批准該等治療方法(El Bakali *et al.*, 2014 *Future Medicinal Chemistry*(Review)6:1399)。

【0009】鑑於使用抗體(“Ab”)之標靶生物療法的成功，研發類似之用於OA的治療策略引起人們的關注。針對ADAMTS5之間隔子結構域的Rottapharm單株抗體(mAb)CRB0017之研究顯示出在小鼠中經由關節內投予該mAb可以劑量依賴性方式顯著預防該疾病進展(Chiusaroli *et al.*, 2013 *Osteoarthritis Cartilage* 21:1807)。該研究並無全身性投予之比較，亦未評估該mAb從滑膜空間洩漏之程度。另一項研究在小鼠中使用全身性投予mAb 12F4，該研究同時證明結構性疾病修飾和疼痛相關行為之緩解(Miller *et al.*, 2014 *Osteoarthritis Cartilage* 22iii,S35)。然而，在食蟹猴中單次投予mAb 12F4會引起局灶性出血、劑量依賴性增加之平均動脈壓和表明心肌缺血之心臟傳導異常(更具體地，心電圖上ST升高和心室性心律不整)，這些在投予

單劑量後會持續高達8個月(Larkin et al.,2014 Osteoarthritis Cartilage 22iii,S483)。這些副作用阻止 mAb 12F4之進一步臨床研發。

【0010】以 Ablynx NV之名義的 WO2008/074840描述產生針對解聚素金屬蛋白酶 (ADAM) 家族成員 (包括 ADAMTS5) 之奈米抗體®。

【0011】由於難以將藥物靶向關節軟骨而進一步阻礙在關節中之治療干預。由於關節軟骨為無血管和無淋巴組織，傳統之藥物遞送途徑(口服、靜脈內、肌肉內)最終依賴藉由被動擴散將藥物從滑膜微血管跨滑膜轉移到軟骨。這促進關節內(IA)藥物遞送之發展。

【0012】另一方面，IA遞送治療性蛋白質受限於該治療性蛋白質從關節空間被快速清除且未保留在軟骨內；及侷限在大關節內。藥物在關節中在滑膜之停留時間通常少於24小時(Edwards 2011 Vet J 190:15-21；Larsen et al., 2008 J Pharm Sci 97:4622-4654)。由於大多數IA注射之藥物被快速清除，將需要頻繁注射以維持有效濃度(Owen et al.,1994 Br J Clin Pharmacol 38:349-355)。此外，IA遞送治療性蛋白質實際上對小關節是不可行的，這阻礙，例如OA-手指之治療。

目前對於有效之DMOAD仍然有需要。

【發明內容】

【0013】本發明旨在提供抗OA之多肽，與先前技藝

之胺基酸序列和抗體相比較，其具有改善之預防、治療及/或藥理學性質及其他有利之性質(諸如例如改善之製備容易性、良好之穩定性及/或降低之商品成本)。尤其是，本發明旨在提供抑制 ADAMTS，特別是抑制 ADAMTS5 之多肽。

【0014】 ADAM、ADAMTS 和 MMP 共享在序列和整體形狀上非常相似之位點來與聚集蛋白聚醣結合。由於在正常生理學中具有不同作用之各種其他 ADAM(包括 TACE)和 ADAMTS 家族成員與許多常見之病理狀況(包括哮喘、關節炎、癌症、結締組織疾病或血栓性血小板減少性紫癍(thrombocytopenic purpura))密切相關(El Bakaliet al., 同上)，本發明者感知保留選擇性之重要性。為了有效地僅使 ADAMTS5 活性不表現，靶向該催化性結構域似乎是最佳選擇。然而，ADAMTS4 和 ADAMTS5 之催化性結構域分享高度之序列相似性(參見 El Bakali 等人，同上)。此外，結果表明介於各種物種之間之催化性結構域的高度序列保守性可抵抗強烈之免疫反應。

【0015】令人驚訝地，本發明之 ISVD 滿足這二項看似相互排斥之要求，一方面抑制 ADAMTS5 之(酶催化)活性，另一方面保留選擇性。

【0016】在 AlphaLISA 酶分析中，本發明之各種單價 ISVD 與常規二價抗體 mAb 12F4 H4L0 等效。除此之外，本發明之 ISVD 在高濃度或甚至過量之聚集蛋白聚醣受質濃度下亦與常規二價抗體 mAb12F4 H4L0 等效，這令人聯想

到關節。另一方面，在離體牛外植體分析中，其類似，甚至更接近生理條件，大多數單價 ISVD 具有較比較物 Rottapharm 之 mAb 12F4 H4L0 (“12F4”) 和 mAb CRB0017 更佳之 IC_{50} 。在人離體外植體分析中，如藉由 IC_{50} 所證明者，本發明之 ISVD 亦實質上優於先前技藝之習知抗體 CRB0017。

【0017】在鑑於各種分歧和有利之特徵(包括穩定性、親和力和抑制活性)而進一步工程處理該 ISVD 並將免疫原性最小化之後，接著在體內評估這些 ISVD。

【0018】如在食蟹猴中評估者，全身性投予本發明之 ISVD 證明可在體內有效抑制聚集蛋白聚醣酶活性。此外，與先前技藝之抗體 12F4 相反，使用 ISVD 亦安全。同樣在小鼠內側半月板去穩定化(DMM)體內模型中，本發明之 ISVD 藉由全身性投予後在預防性治療和治療性治療二方面均顯示高達 50% 之結構益處。使用本發明之 ISVD 在大鼠中由前交叉韌帶橫斷和內側半月板切除(ACLT + tMx)誘導之 OA 的早期治療期間可引起劑量依賴性、顯著且有意義之症狀益處。

【0019】ISVD 最終旨在抑制關節中之 ADAMTS5，因此將需要抵抗關節中之滑液(其包含各種蛋白酶)的條件。除了上述有利之特徵外，經分離之 ISVD 顯示出在滑液中非常穩定。預期此穩定性可降低劑量方案之頻率。

【0020】因此，本發明關於包含至少一個與含血小板反應蛋白模體之解聚素金屬蛋白酶(ADAMTS)結合之免疫

球蛋白單可變結構域 (ISVD) 的多肽，較佳地，其中該 ADAMTS 係選自由下列所組成之群組：ADAMTS1 至 ADAMTS19，較佳為 ADAMTS5、ADAMTS4、ADAMTS1、ADAMTS8、ADAMTS9 及 ADAMTS15 和 ADAMTS20，最佳為 ADAMTS5。於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該與 ADAMTS 結合之 ISVD 較佳與 ADAMTS5 結合，但不與 ADAMTS4、MMP1 或 MMP14 結合。

【0021】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該與 ADAMTS5 特異性結合之 ISVD 基本上係由 4 個框架區 (分別為 FR1 至 FR4) 和 3 個互補決定區 (分別為 CDR1 至 CDR3) 組成，其中 (i) CDR1 係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：21、35、20、22、25、33、28、24、23、26、27、29、30、31、32 和 34；與 SEQ ID NO：21、35、20、22、25、33、28、24、23、26、27、29、30、31、32 和 34 具有 1、2 或 3 個胺基酸差異之胺基酸序列；(ii) CDR2 係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：37、53、36、40、50、51、44、45、43、39、38、41、119、42、46、47、48、49 和 52；及與 SEQ ID NO：37、53、36、40、50、51、44、45、43、39、38、41、119、42、46、47、48、49 和 52 具有 1、2 或 3 個胺基酸差異之胺基酸序列；且 (iii) CDR3 係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：55、118、71、54、58、68、69、62、63、61、57、56、59、60、64、65、66、67 和 70；及與 SEQ ID NO：

55、118、71、54、58、68、69、62、63、61、57、56、59、60、64、65、66、67和70具有1、2、3或4個胺基酸差異之胺基酸序列。

【0022】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該與ADAMTS5特異性結合之ISVD基本上係由4個框架區(分別為FR1至FR4)和3個互補決定區(分別為CDR1至CDR3)組成，其中(i) CDR1係選自由下列所組成之群組：(a) SEQ ID NO：22；和(b)與SEQ ID NO：22具有1、2、3、4、5或6個胺基酸差異之胺基酸序列，其中在位置2之S已改變成R；在位置3之A已改變成T；在位置4之V已改變成F；在位置6之V已改變成S；在位置7之N已改變成Y；及/或在位置10之A已改變成G；(ii)CDR2為SEQ ID NO：36；且(iii)CDR3為SEQ ID NO：54。

【0023】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該與ADAMTS5特異性結合之ISVD基本上係由4個框架區(分別為FR1至FR4)和3個互補決定區(分別為CDR1至CDR3)組成，其中(i) CDR1為SEQ ID NO：33；(ii) CDR2係選自由下列所組成之群組：(c) SEQ ID NO：50；和(d) 與SEQ ID NO：50具有1、2或3個胺基酸差異之胺基酸序列，其中位置8之M已改變成I；位置9之P已改變成T；及/或位置10之Y已改變成F；(iii) CDR3係選自由下列所組成之群組：(e) SEQ ID NO：68；和(f) 與SEQ ID NO：68具有1或2個胺基酸差異之胺基酸序列，其中位置5之F已改變成L；及/或位置11之D已改變成E。

【0024】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該與ADAMTS5特異性結合之ISVD基本上係由4個框架區(分別為FR1至FR4)和3個互補決定區(分別為CDR1至CDR3)組成，其中(i) CDR1為SEQ ID NO：28；(ii) CDR2係選自由下列所組成之群組：(c) SEQ ID NO：44；和(d) 與SEQ ID NO：44具有1、2或3個胺基酸差異之胺基酸序列，其中位置3之S已改變成T；位置4之R已改變成W；及/或位置8之T已改變成I；及/或位置9之T已改變成L；(iii) CDR3係選自由下列所組成之群組：(e)SEQ ID NO：62；和(f) 與SEQ ID NO：62具有1或2個胺基酸差異之胺基酸序列，其中位置1之G已改變成S；及/或位置14之D已改變成E。

【0025】於本發明之所有面向中的較佳實施態樣中，較佳地，根據本發明之免疫球蛋白單可變結構域(ISVD)係由如上文和下文中概述之4個框架區(分別為FR1至FR4)和3個互補決定區CDR1、CDR2和CDR3組成或基本上組成。較佳之框架序列揭示於例如下列表A-2中且可用於本發明之ISVD中。較佳地，表A-2中描繪之CDR與該相同ISVD構建體之對應框架區匹配。

【0026】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該ISVD係選自由下列ISVD之群組：其中：CDR1係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：21、35、20、22、25、33、28、24、23、26、27、29、30、31、32和34；CDR2係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：

37、53、36、40、50、51、44、45、43、39、38、41、119、42、46、47、48、49和52；且CDR3係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：55、118、71、54、58、68、69、62、63、61、57、56、59、60、64、65、66、67和70。

【0027】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該ISVD係選自下列ISVD之群組：其中：

CDR1為SEQ ID NO：21、CDR2為SEQ ID NO：37且CDR3為SEQ ID NO：55；

CDR1為SEQ ID NO：35、CDR2為SEQ ID NO：53且CDR3為SEQ ID NO：118；

CDR1為SEQ ID NO：35、CDR2為SEQ ID NO：53且CDR3為SEQ ID NO：71；

CDR1為SEQ ID NO：20、CDR2為SEQ ID NO：36且CDR3為SEQ ID NO：54；

CDR1為SEQ ID NO：22、CDR2為SEQ ID NO：36且CDR3為SEQ ID NO：54；

CDR1為SEQ ID NO：25、CDR2為SEQ ID NO：40且CDR3為SEQ ID NO：58；

CDR1為SEQ ID NO：33、CDR2為SEQ ID NO：50且CDR3為SEQ ID NO：68；

CDR1為SEQ ID NO：33、CDR2為SEQ ID NO：51且CDR3為SEQ ID NO：69；

CDR1為SEQ ID NO：28、CDR2為SEQ ID NO：44且

CDR3為 SEQ ID NO : 62 ;

CDR1為 SEQ ID NO : 28 、 CDR2為 SEQ ID NO : 45 且
CDR3為 SEQ ID NO : 63 ;

CDR1為 SEQ ID NO : 28 、 CDR2為 SEQ ID NO : 43 且
CDR3為 SEQ ID NO : 61 ;

CDR1為 SEQ ID NO : 24 、 CDR2為 SEQ ID NO : 39 且
CDR3為 SEQ ID NO : 57 ;

CDR1為 SEQ ID NO : 23 、 CDR2為 SEQ ID NO : 38 且
CDR3為 SEQ ID NO : 56 ;

CDR1為 SEQ ID NO : 26 、 CDR2為 SEQ ID NO : 41 且
CDR3為 SEQ ID NO : 59 ;

CDR1為 SEQ ID NO : 27 、 CDR2為 SEQ ID NO : 119 且
CDR3為 SEQ ID NO : 60 ;

CDR1為 SEQ ID NO : 27 、 CDR2為 SEQ ID NO : 42 且
CDR3為 SEQ ID NO : 60 ;

CDR1為 SEQ ID NO : 29 、 CDR2為 SEQ ID NO : 46 且
CDR3為 SEQ ID NO : 64 ;

CDR1為 SEQ ID NO : 30 、 CDR2為 SEQ ID NO : 47 且
CDR3為 SEQ ID NO : 65 ;

CDR1為 SEQ ID NO : 31 、 CDR2為 SEQ ID NO : 48 且
CDR3為 SEQ ID NO : 66 ;

CDR1為 SEQ ID NO : 32 、 CDR2為 SEQ ID NO : 49 且
CDR3為 SEQ ID NO : 67 ; 和

CDR1為 SEQ ID NO : 34 、 CDR2為 SEQ ID NO : 52 且

CDR3為SEQ ID NO：70。

【0028】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中CDR1為SEQ ID NO：21、CDR2為SEQ ID NO：37且CDR3為SEQ ID NO：55。

【0029】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該ISVD係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、8、117、12、13、14、15和18。

【0030】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中例如藉由KinExA或可替代地Gyrolab測定，該多肽與ADAMTS5結合之 K_D 係介於 $1E^{-07}$ M至 $1E^{-13}$ M之間，諸如介於 $1E^{-08}$ M至 $1E^{-12}$ M之間，較佳為至多 $1E^{-07}$ M，較佳為低於 $1E^{-08}$ M或 $1E^{-09}$ M，或甚至低於 $1E^{-10}$ M，諸如 $5E^{-11}$ M、 $4E^{-11}$ M、 $3E^{-11}$ M、 $2E^{-11}$ M、 $1.7E^{-11}$ M、 $1E^{-11}$ M，或甚至 $5E^{-12}$ M、 $4E^{-12}$ M、 $3E^{-12}$ M、 $1E^{-12}$ M。

【0031】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中藉由人FRET分析或人AlphaLISA測定，該多肽抑制ADAMTS5之活性的 IC_{50} 值係介於 $1E^{-07}$ M至 $1E^{-12}$ M之間，諸如介於 $1E^{-08}$ M至 $1E^{-11}$ M之間。

【0032】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該多肽抑制ADAMTS5之(酶催化)活性的 IC_{50} 值至多為 $1E^{-07}$ M，較佳為 $1E^{-08}$ M、 $5E^{-09}$ M或 $4E^{-9}$ M、 $3E^{-9}$ M、 $2E^{-9}$ M，諸如 $1E^{-9}$ M。

【0033】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述

之多肽，其中例如藉由結合 ELISA 測定，該多肽調節 ADAMTS5 之 EC_{50} 值係介於 $1E^{-07}$ M 至 $1E^{-12}$ M 之間，諸如介於 $1E^{-08}$ M 至 $1E^{-11}$ M 之間。

【0034】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中例如藉由 SPR 測定，該多肽與 ADAMTS5 結合之解離速率小於 $1E^{-04} s^{-1}$ 。

【0035】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該 ADAMTS5 為人 ADAMTS5 (SEQ ID NO : 149)、牛 ADAMTS5 (SEQ ID NO : 150)、大鼠 ADAMTS5 (SEQ ID NO : 151)、天竺鼠 ADAMTS5 (SEQ ID NO : 152)、小鼠 ADAMTS5 (SEQ ID NO : 153) 或食蟹猴 ADAMTS5 (SEQ ID NO : 154)，較佳為人 ADAMTS5，最佳為 SEQ ID NO : 149。

【0036】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該多肽拮抗 ADAMTS5 之活性，諸如蛋白酶活性 (諸如裂解聚集蛋白聚醣 (Aggrecan)、多功能蛋白聚醣 (versican)、短蛋白聚醣 (brevican)、神經蛋白聚醣 (neurocan)、飾膠蛋白聚醣 (decorin) 及 / 或雙醣鏈蛋白聚醣 (biglycan)，較佳為裂解聚集蛋白聚醣)；較佳為拮抗 ADAMTS5 之聚集蛋白聚醣酶 (aggrecanase) 活性。

【0037】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中例如藉由 FRET、AlphaLISA 或 ELISA 測定，該多肽阻斷至少 20%，諸如至少 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95% 或甚至更多之 ADAMTS5 與聚集蛋

白聚醣結合。

【0038】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該多肽抑制 ADAMTS5 之蛋白酶活性，諸如抑制受質(諸如聚集蛋白聚醣、多功能蛋白聚醣、短蛋白聚醣、神經蛋白聚醣、飾膠蛋白聚醣及/或雙醣鏈蛋白聚醣，較佳為聚集蛋白聚醣)之蛋白水解。

【0039】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，該多肽包含至少二個 ISVD，其中至少 1 個 ISVD 與 ADAMTS(較佳為 ADAMTS5)特異性結合，該 ISVD 較佳為選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15 和 18，較佳地，其中該至少二個 ISVD 與 ADAMTS(較佳為 ADAMTS5)特異性結合。

【0040】於更佳之面向中，本發明關於包含二或多個與 ADAMTS5 特異性結合之 ISVD，其中 a) 至少“第一”ISVD 與 ADAMTS5 之第一抗原決定簇、抗原決定部位、部分、結構域、次單位或構象特異性結合；且其中 (b) 至少“第二”ISVD 與 ADAMTS5 之第二抗原決定簇、抗原決定部位、部分、結構域、次單位或構象特異性結合，該 ADAMTS5 之第二抗原決定簇、抗原決定部位、部分、結構域、次單位或構象分別與該第一抗原決定簇、抗原決定部位、部分、結構域、次單位或構象不同，較佳地，其中該與 ADAMTS5 特異性結合之“第一”ISVD 係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：2、1、3、6、16、17、10、

11、9、5、4、7、8、117、12、13、14、15和18，較佳地，其中該與ADAMTS5特異性結合之“第二”ISVD為SEQ ID NO：118或19，甚至更佳地，該多肽係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：127(選殖株130 049-093-A1b)、SEQ ID NO：126(選殖株129 2F3-093-A1b)、SEQ ID NO：127(選殖株130 049-093-A1b)和SEQ ID NO：128(選殖株131 9D3-093-A1b)。

【0041】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，該多肽進一步包含與血清白蛋白結合之ISVD，較佳地，其中該與血清白蛋白結合之ISVD基本上係由4個框架區(分別為FR1至FR4)和3個互補決定區(分別為CDR1至CDR3)組成，其中CDR1為SEQ ID NO：146、CDR2為SEQ ID NO：147且CDR3是SEQ ID NO：148，甚至更佳地，其中該與血清白蛋白結合之ISVD係選自由下列所組成之群組：ALB8(SEQ ID NO：131)、ALB23(SEQ ID NO：132)、ALB129(SEQ ID NO：133)、ALB132(SEQ ID NO：134)、ALB11(SEQ ID NO：135)、ALB11(S112K)-A(SEQ ID NO：136)、ALB82(SEQ ID NO：137)、ALB82-A(SEQ ID NO：138)、ALB82-AA(SEQ ID NO：139)、ALB82-AAA(SEQ ID NO：140)、ALB82-G(SEQ ID NO：141)、ALB82-GG(SEQ ID NO：142)、ALB82-GGG(SEQ ID NO：143)、ALB92(SEQ ID NO：144)和ALB223(SEQ ID NO：145)，甚至更佳地，其中該多肽係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：129(選殖株 577 2F3^{SO}-A1b)、SEQ ID

NO：130(選殖株 579 2F3^{SO}-093-A1b)、SEQ ID NO：120(選殖株 4 2A12-A1b)、SEQ ID NO：121(選殖株 5 2D7-A1b)、SEQ ID NO：122(選殖株 6 2F3-A1b)、SEQ ID NO：123(選殖株 69 049-A1b)、SEQ ID NO：124(選殖株 70 9D3-A1b)、SEQ ID NO：125(選殖株 71 3B2-A1b)、SEQ ID NO：126(選殖株 129 2F3-093-A1b)、SEQ ID NO：127(選殖株 130 049-093-A1b)和SEQ ID NO：128(選殖株 131 9D3-093-A1b)。

【0042】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，該多肽進一步包含至少一個與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD，較佳地，其係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：156(奈米抗體00745 PEA114F08)和SEQ ID NO：157(奈米抗體00747 PEA604F02)。

於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，該多肽進一步包含至少二個與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD，其中該至少二個與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD可為相同或不同，較佳地，其中該至少二個與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD係獨立選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：156和157，甚至更佳地，其中該與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD與人聚集蛋白聚醣[SEQ ID NO：155]特異性結合。較佳地，該與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD與下列群組特異性結合：犬聚集蛋白聚醣(亦參見表2)、牛聚集蛋白聚醣、大鼠聚集蛋白聚醣；豬聚集蛋白聚醣；小鼠聚集蛋白聚醣、兔子聚集蛋白聚醣；

食蟹猴聚集蛋白聚醣及/或恆河猴聚集蛋白聚醣。較佳地，該與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD與軟骨組織(諸如軟骨及/或半月板)結合。

【0043】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該多肽在37℃，滑液(SF)中可保持穩定至少7天，諸如14天、21天、1個月、2個月、或甚至3個月。

【0044】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該至少二個ISVD係彼此直接連接或經由連接子連接，較佳地，該連接子係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：158至174(即，SEQ ID NO：158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173和174)，較佳為SEQ ID NO：169。

【0045】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其進一步包含C端延伸，較佳地，其中該C端延伸為C端延伸(X)_n，其中n為1至10，較佳為1至5，諸如1、2、3、4或5(且較佳為1或2，諸如1)；且各X為獨立選擇之(較佳為天然產生的)胺基酸殘基且較佳為獨立選自由下列所組成之群組：丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)和異白胺酸(I)。

【0046】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該多肽與下列群組之任一者具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性：SEQ ID NO：1至19(即，SEQ ID NO：1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18和19)、116至117或120至

130(即，SEQ ID NO：120、121、122、123、124、125、126、127、128、129和130)。

【0047】於更佳之面向中，本發明關於治療及/或預防個體之疾病或病症(例如其中涉及ADAMTS5活性者)之方法，該方法包含對該個體投予能有效治療或預防該疾病或病症之症狀之量的如申請專利範圍第1至43項中任一項之多肽，較佳地，其中該疾病或病症係選自由下列所組成之群組：關節病(arthropathy)和軟骨營養不良症(chondrodystrophy)、關節炎疾病，諸如骨關節炎、類風濕性關節炎、痛風性關節炎(gouty arthritis)、銀屑病性關節炎(psoriatic arthritis)、創傷性破裂或脫離、軟骨發育不全(achondroplasia)、肋軟骨炎(costochondritis)、脊椎骨骺發育不良(Spondyloepimetaphyseal dysplasia)、椎間盤突出症(spinal disc herniation)、腰椎間盤退化性疾病(lumbar disk degeneration disease)、退化性關節病(degenerative joint disease)及復發性多軟骨炎(relapsing polychondritis)、剝脫性骨軟骨炎(osteochondritis dissecans)和聚集蛋白聚醣病。更佳地，該疾病或病症為關節炎疾病且最佳為骨關節炎。

【0048】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其係作為藥物。

【0049】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其係用於治療或預防與ADAMTS5相關之疾病的症狀，該與ADAMTS5相關之疾病為諸如例如關節病和軟

骨營養不良症、關節炎疾病，諸如骨關節炎、類風濕性關節炎、痛風性關節炎、銀屑病性關節炎、創傷性破裂或脫離、軟骨發育不全、肋軟骨炎、脊椎骨骺發育不良、椎間盤突出症、腰椎間盤退化性疾病、退化性關節病及復發性多軟骨炎、剝脫性骨軟骨炎和聚集蛋白聚醣病。更佳地，該疾病為關節炎疾病且最佳為骨關節炎。

【0050】於更佳之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該多肽交叉阻斷至少一種由任一下列序列所代表之多肽與ADAMTS5結合：SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15和18及/或該多肽被至少一種由任一下列序列所代表之多肽交叉阻斷與ADAMTS5結合：SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15和18。

【0051】於更佳之面向中，本發明關於交叉阻斷由任一種下列序列所代表之多肽與ADAMTS5結合之多肽：SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15和18及/或其被至少一種由任一下列序列所代表之多肽交叉阻斷與ADAMTS5結合：SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15和18，其中該多肽包含下列群組中至少一者：與ADAMTS5特異性結合之VH、VL、dAb、免疫球蛋白單可變結構域(ISVD)，其中與ADAMTS5結合可調節ADAMTS5

之活性。

【0052】該多肽和組成物之其他方面、優點、應用和用途將從本文之進一步揭示內容變得清楚。本專利說明書全文中引用若干文獻。本文所引用之每篇文獻(包括所有專利案、專利申請案、科學出版物、製造商之專利說明書、說明書，等)，無論在上文還是下文中，均以引用方式全部併入本文中。本文中之任何內容均不應被解釋為承認本發明無權憑藉先前發明而先於該等揭示內容。

【圖式簡單說明】

【0053】第1圖：與ADVDTS5結合之ISVD不會抑制MMP1(A)或MMP14(B)活性。

【0054】第2圖：與ADVDTS5結合之ISVD不會抑制ADAMTS4活性。

【0055】第3圖：預先存在之抗體(preAb)與奈米抗體構建體581(A)和奈米抗體構建體579(B)之結合水準，該奈米抗體構建體581(A)和奈米抗體構建體579(B)係來自3個源自下列群組之供體樣品組：健康個體、骨關節炎個體和具有殘餘之preAb結合之供體。

【0056】第4圖：奈米抗體構建體581(“C011400581”)不與人ADAMTS1(A)結合且不與人ADAMTS4或人ADAMTS15(B)結合。

【0057】第5圖：在人類外植體系統中之效力。圖中顯示7天後上清液中累積之GAG。

【0058】第6圖：A)在牛共培養系統中GAG釋入上清液中之時程。

B)隨著時間推移(7-28天)而釋出之GAG的曲線下面積(AUC)之計算。重複次數 $n = 4$ 。數據係以Box和Whiskers格式顯示，從最小值到最大值。

C)數據顯示出在木瓜蛋白酶分解後之GAG含量[ng/mg軟骨]。重複次數 $n = 4$ 。數據係以Box和Whiskers格式顯示，從最小值到最大值。

【0059】第7圖：隨著時間推移(7-28天)而釋出之exAGNx1的曲線下面積(AUC)之計算。重複次數 $n = 4$ 。數據係以Box和Whiskers格式顯示，從最小值到最大值。

【0060】第8圖：隨著時間推移(7-28天)而釋出之C2M的曲線下面積(AUC)之計算。重複次數 $n = 4$ 。數據係以Box和Whiskers格式顯示，從最小值到最大值。

【0061】第9圖：隨著時間推移(7-28天)而釋出之C3M的曲線下面積(AUC)之計算。重複次數 $n = 4$ 。數據係以Box和Whiskers格式顯示，從最小值到最大值。

【0062】第10圖：對NHP中聚集蛋白聚醣酶活性之抑制。

【0063】第11圖：對軟骨退化之抑制。圖中顯示在DMM小鼠模型中之預防性(A)和治療性(B)治療中的軟骨退化總和中位數。

【0064】第12圖：大鼠外科OA模型中之症狀行為。

【0065】第13圖：內側脛骨軟骨退化寬度。

【0066】第14圖：在軟骨之離體培養物(A、B、C)及軟骨和滑膜之共同培養物(D、E)中抗ADAMTS-5奈米抗體對由軟骨聚集蛋白聚醣酶衍生之聚集蛋白聚醣降解之效果。列出之濃度為該奈米抗體之濃度。以普通單因子變異數分析(ANOVA)或雙因子ANOVA進行統計學分析。當 $p < 0.05$ 時被視為具統計學顯著性。

【實施方式】

[詳細描述]

【0067】對於安全且有效之OA藥物，特別是DMOAD仍有需求。這些藥物應符合各種且經常相反的要求，特別是當意圖成為廣泛適用之形式時。因此，較佳地，該形式應為可用於廣範圍之患者。較佳地，該形式應為安全的且不會由於頻繁投予而引起感染。此外，較佳地，該形式應為對患者友善的，諸如，該形式應允許用於方便之給藥方案和投予途徑，例如全身性投予。例如，較佳地，該形式在投予時不會立即從循環中除去。然而，較佳地，延長半衰期不應引入脫靶活性和副作用或限制效力。

【0068】本發明實現至少一項該等要求。

【0069】基於非常規之篩選、表徵和組合策略，本發明者意外觀察到免疫球蛋白單可變結構域(ISVD)在玻管內和體內實驗中性能異常良好。

【0070】再者，本發明者能夠將ISVD重新進行工程處理使其在改善OA方面進一步優於比較藥物。此外，本

發明之 ISVD 亦被證明較先前技藝之化合物明顯更安全。

【0071】本發明旨在提供較先前技藝之胺基酸序列和抗體具有改善之預防、治療及/或藥理學性質(包括更安全之變化形廓)的拮抗 ADAMTS(特別是 ADAMTS5)之多肽。

【0072】因此，本發明關於針對/及/或可與 ADAMTS5 特異性結合(如本文所定義者)之 ISVD 和多肽。

【0073】因此，本發明關於針對/及/或可與 ADAMTS 特異性結合(如本文所定義者)並調節 ADAMTS 之活性的 ISVD 和多肽，特別是包含至少一個與 ADAMTS5 特異性結合之 ISVD 的多肽，其中與 ADAMTS5 結合可調節 ADAMTS5 之活性。

【0074】除非另有說明或定義，否則所使用之所有術語具有本技藝之技術熟習人士所清楚明白之本技藝中其慣常的含義。例如可參考標準手冊，諸如 Sambrook *et al.* (Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2nd Ed.) Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)、F. Ausubel *et al.* (Current protocols in molecular biology, Green Publishing and Wiley Interscience, New York, 1987)、Lewin (Genes II, John Wiley & Sons, New York, N.Y., 1985)、Old *et al.* (Principles of Gene Manipulation: An Introduction to Genetic Engineering(2nd edition) University of California Press, Berkeley, CA, 1981)；Roitt *et al.* (Immunology(6th Ed.)Mosby/Elsevier, Edinburgh, 2001)、Roitt *et al.* (Roitt's Essential Immunology(10th Ed.) Blackwell Publishing, UK, 2001)

和Janeway *et al.* (Immunobiology (6th Ed.) Garland Science Publishing/Churchill Livingstone, New York, 2005)及本文所引用之一般背景。

【0075】 除非另有說明，否則所有未詳細具體描述之方法、步驟、技術和操作可以本質上為已知且為本技藝之技術熟習人士清楚的方式執行。例如可再次參考本文所提及之標準手冊和一般背景技藝以及其中引用之其他參考文獻；以及，例如下列評論：Presta (Adv. Drug Deliv. Rev. 58 (5-6): 640-56, 2006)、Levin and Weiss (Mol. Biosyst. 2(1): 49-57, 2006)、Irving *et al.* (J. Immunol. Methods 248(1-2): 31-45, 2001)、Schmitz *et al.* (Placenta 21 Suppl. A: S106-12, 2000)、Gonzales *et al.* (Tumour Biol. 26(1): 31-43, 2005)，這些文獻描述用於該蛋白質工程處理之技術，諸如親和力成熟和用於改善蛋白質之特異性和其他所需特性(諸如免疫球蛋白)之其他技術。

【0076】 必須注意的是，除非上下文另有明確說明，如本文所使用之單數形式“一(a、an)”和“該”包括複數指稱。因此，例如，提及之“試劑”包括一或多種該等不同試劑且提及“該方法”時包括對本技藝之一般技術人士已知之可被修飾或替代本文所描述之方法的同等步驟和方法的引用。

【0077】 除非另有說明，否則在一系列要素之前的術語“至少”應被理解為係指該系列中之每個要素。本技藝之技術熟習人士將認知或能夠使用不超過常規實驗來確定許

多本文所描述之本發明的具體實施態樣之同等物。本發明意圖包含該等同等物。

【0078】每當本文中使用的術語“及/或”時，其包括“和”、“或”和“由該術語連接之要素的全部或任何其他組合”的含義。

【0079】本文所使用之術語“約”或“近似”意指在給定之數值或範圍之20%，較佳為15%，更佳為10%，最佳為5%之內。

【0080】本專說明書全文和隨後之申請專利範圍中，除非上下文另有要求，否則詞語“包含(comprise)”和諸如“包含(comprises)”和“包含(comprising)”之變體將被理解為係暗示包括該陳述之整數或步驟，或整數或步驟之群組，但不排除任何其他整數或步驟或整數或步驟之群組。當在本文中使用時，術語“包含(comprising)”可以術語“含有(containing)”或“包括(including)”代替，或有時在本文中使用時可以術語“具有”代替。

【0081】如本文所使用之術語“序列”(例如，像“免疫球蛋白序列”、“抗體序列”、“可變結構域序列”、“V_{HH}序列”或“蛋白質序列”之術語)通常應理解為同時包括相關胺基酸序列及核酸，或編碼彼等之核苷酸，除非上下文需要更限制性之解釋。

【0082】根據上下文，胺基酸序列被解釋為意指單一胺基酸或具有二或多個胺基酸之無支鏈序列。核苷酸序列被解釋為意指具有3或更多個核苷酸之無支鏈序列。

【0083】胺基酸為經常在天然存在之蛋白質中找到的那些L-胺基酸。胺基酸殘基將根據標準之三字母或單字母胺基酸代碼指明。可參考，例如WO 08/020079之第48頁的表A-2。本定義並不意圖包含那些含有D-胺基酸之胺基酸序列。含有經轉譯後修飾之胺基酸的任何胺基酸序列可描述為最初使用表A-2中所示之符號轉譯之具有修飾位置(例如羥基化或糖基化)的胺基酸序列，但這些修飾不應明確顯示在胺基酸序列中。可以序列經修飾之鏈接、交聯和終端加帽、非肽鍵等形式表現之任何肽或蛋白質都包含在該定義中(均如本技藝所已知者)。

【0084】本揭示內容之全文中，術語“蛋白質”、“肽”、“蛋白質/肽”和“多肽”可互換使用且在本揭示內容之目的方面各自具有相同之含義。各術語係指由具有二或多個胺基酸之直鏈構成的有機化合物。該化合物可具有十或更多個胺基酸；二十五或更多個胺基酸；五十或更多個胺基酸；一百或更多個胺基酸、二百或更多個胺基酸，甚至三百或更多個胺基酸。本技藝之技術熟習人士將理解多肽通常包含較蛋白質為少之胺基酸，儘管沒有本技藝公認之區分多肽和蛋白質之胺基酸數量的截止點；多肽可藉由化學合成或重組方法製備；而蛋白質通常藉由本技藝已知之重組方法在玻管內或體內製備。按照慣例，多肽之一級結構中的醯胺鍵係按照寫入胺基酸之順序，其中多肽之胺端(N-端)總是在左側，而酸端(C-端)在右側。

【0085】當核酸或胺基酸序列與至少一種通常在其來

源或培養基中與其聯結的另一種組分(諸如另一種核酸、另一種蛋白質/多肽、另一種生物組分或大分子或至少一種污染物、雜質或次要組分)分離時，該核酸或胺基酸序列被認為是“(為)(基本上)經分離之(形式)”-例如與獲得該核酸或胺基酸序列之反應基質或培養基相比較。特別是，當核酸或胺基酸序列被純化至少2倍，特別是至少10倍、更特別是至少100倍，且高達1000或更多倍時，該核酸或胺基酸序列被認為是“(基本上)經分離的”。較佳地，“為(基本上)經分離之形式”的核酸或胺基酸在使用合適之技術(諸如合適之色層分析技術，諸如聚丙烯醯胺-凝膠電泳)測定時基本上為均質的。

【0086】 當核苷酸序列或胺基酸序列被說是分別“包含”另一核苷酸序列或胺基酸序列，或被說是“基本上由”另一核苷酸序列或胺基酸序列組成時，這可能意味著後項核苷酸序列或胺基酸序列已分別被併入該首先提及之核苷酸序列或胺基酸序列，但更常地，這通常意指該首先提及之核苷酸序列或胺基酸序列在其序列中分別包含核苷酸或胺基酸殘基之延伸，該核苷酸或胺基酸殘基之延伸分別具有與後項序列相同之核苷酸序列或胺基酸序列，不論該首先提及之序列實際上是如何產生或獲得(其可，例如藉由本文所描述之任何合適之方法產生或獲得)。藉由非限制性實例，當本發明之多肽被說是包含免疫球蛋白單可變結構域(“ISVD”)時，這可能意味該免疫球蛋白單可變結構域序列已被併入本發明之多肽的序列中，但更常地，這通常

意指本發明之多肽在其序列內含有免疫球蛋白單可變結構域之序列，而不論本發明之多肽是如何產生或獲得。此外，當核酸或核苷酸序列被說是包含另一核苷酸序列時，該首先提及之核酸或核苷酸序列較佳為當其表現成表現產物(例如多肽)時，由該後項核苷酸序列編碼之胺基酸序列形成該表現產物之一部分(換言之，後項核苷酸序列與首先提及之較大的核酸或核苷酸序列係在相同之閱讀框架中)。此外，當本發明之構建體被說是包含多肽或 ISVD 時，此意指該構建體至少分別包含該多肽或 ISVD，但更常地，此意指該構建體除了該多肽或 ISVD 之外還包含基團、殘基(例如胺基酸殘基)、部分及/或結合單位，不論該多肽或 ISVD 如何與該基團、殘基(例如胺基酸殘基)、部分及/或結合單位連接，亦不論該構建體如何產生或獲得。

【0087】“基本上由.....組成”意指本發明中所使用之 ISVD 與本發明之 ISVD 完全相同或是對應於本發明之 ISVD，在 ISVD 之胺基端、羧基端或同時在 ISVD 之胺基端和羧基端添加有限數量之胺基酸殘基，諸如 1 至 20 個胺基酸，例如 1 至 10 個胺基酸殘基且較佳為 1 至 6 個胺基酸殘基，諸如 1、2、3、4、5 或 6 個胺基酸殘基。

【0088】為了比較二或多個核苷酸序列，第一核苷酸序列和第二核苷酸序列之間的“序列同一性”百分比可藉由將[第一核苷酸序列中與第二核苷酸序列之對應位置處的核苷酸完全相同的核苷酸數目]除以[第一核苷酸序列中之核苷酸總數]並乘以[100%]來計算，其中與第一核苷酸序

列相比較，第二核苷酸序列中之各核苷酸缺失、插入、取代或添加被認為是在單一核苷酸(位置)之差異。可替代地，可使用用於序列比對之已知電腦算法(諸如NCBI Blast v2.0)，使用標準設定來計算介於二或多個核苷酸序列之間的序列同一性程度。用於測定序列同一性程度的一些其他技術、電腦算法和設定描述於，例如WO 04/037999、EP 0967284、EP 1085089、WO 00/55318、WO 00/78972、WO 98/49185和GB 2357768中。通常，為了根據上文概述之計算方法測定二個核苷酸序列之間的“序列同一性”百分比，具有最多核苷酸數之核苷酸序列將被取來作為“第一”核苷酸序列，而另一核苷酸序列將被取來作為“第二”核苷酸序列。

【0089】為了比較二或多個胺基酸序列，第一胺基酸序列和第二胺基酸序列之間的“序列同一性”百分比(本文中亦稱為“胺基酸同一性”)可藉由將[第一胺基酸序列中與第二胺基酸序列之對應位置處的胺基酸殘基完全相同之胺基酸殘基數目]除以[第一胺基酸序列中之胺基酸殘基總數]並乘以[100%]來計算，其中與第一胺基酸序列相比較，第二胺基酸序列中之各個胺基酸殘基的缺失、插入、取代或添加被認為是在單一胺基酸殘基(位置)處的差異，即，如本文定義之“胺基酸差異”。可替代地，二個胺基酸序列之間的序列同一性程度可使用已知之電腦算法計算，諸如上文中提及之用於測定核苷酸序列之序列同一性程度者，同樣是使用標準設定。通常，為了根據上文概述之計算方法

測定二個胺基酸序列之間的“序列同一性”百分比，具有最多胺基酸殘基數之胺基酸序列將被取來作為“第一”胺基酸序列，而另一胺基酸序列將被取來作為“第二”胺基酸序列。

【0090】再者，在測定二個胺基酸序列之間的序列同一性程度時，本技藝之技術熟習人士可考慮所謂的“保守性”胺基酸取代，該“保守性”胺基酸取代通常可被描述為其中胺基酸殘基被具有類似之化學結構的胺基酸殘基替代且對該多肽之功能、活性或其他生物學特性幾乎或基本上沒有影響。該等保守性胺基酸取代為本技藝所熟知，例如從 WO 04/037999、GB 335768、WO 98/49185、WO 00/46383和 WO 01/09300得知；且這些取代之(較佳的)類型及/或組合可基於 WO 04/037999及 WO 98/49185和其中引用之其他參考文獻之相關教示選擇。

【0091】較佳地，該等保守性取代為在下列(a)至(e)組內其中一個胺基酸被同一組內之另一胺基酸殘基取代之取代：(a)小的脂族、非極性或輕微極性殘基：Ala，Ser，Thr，Pro和Gly；(b)極性、帶負電之殘基及其(不帶電荷的)醯胺：Asp、Asn、Glu和Gln；(c)極性、帶正電荷之殘基：His、Arg和Lys；(d)大的脂肪族，非極性殘基：Met、Leu、Ile、Val和Cys；和(e)芳香族殘基：Phe、Tyr和Trp。特佳之保守性取代如下：Ala被取代成Gly或Ser；Arg被取代成Lys；Asn被取代成Gln或His；Asp被取代成Glu；Cys被取代成Ser；Gln被取代成Asn；Glu被取代成

Asp ; Gly被取代成 Ala或 Pro ; His被取代成 Asn或 Gln ; Ile被取代成 Leu或 Val ; Leu被取代成 Ile或 Val ; Lys被取代成 Arg、Gln或 Glu ; Met被取代成 Leu、Tyr或 Ile ; Phe被取代成 Met、Leu或 Tyr ; Ser被取代成 Thr ; Thr被取代成 Ser ; Trp被取代成 Tyr ; Tyr被取代成 Trp;及 /或 Phe被取代成 Val、Ile或 Leu 。

【0092】適用於本文所描述之多肽的任何胺基酸取代亦可基於下列分析：由Schulz等人(“Principles of Protein Structure”, Springer-Verlag, 1978)發展之不同物種的同源蛋白質之間的胺基酸變異頻率的分析、由Chou和Fasman (Biochemistry 13: 211, 1974; Adv. Enzymol., 47: 45-149, 1978)發展之結構形成電位之分析 Eisenberg等人 (Proc. Natl. Acad Sci. USA 81: 140-144, 1984)、Kyte和Doolittle (J. Molec. Biol. 157: 105-132, 1981)及Goldman等人 (Ann. Rev. Biophys. Chem. 15: 321-353, 1986)發展之蛋白質中之疏水性模式的分析，這些文獻之全部內容以引用方式併入本文。關於奈米抗體之一級、二級和三級結構之資訊描述於本文中及上文引用之一般背景技藝中。此外，為了此目的，來自美洲駝之 V_{HH} 結構域的晶體結構係由，例如 Desmyter等人 (Nature Structural Biology, 3: 803, 1996)、Spinelli等人 (Natural Structural Biology, 3: 752-757, 1996) 和 Decanniere等人 (Structure, 7 (4): 361, 1999) 給予。關於在傳統 V_H 結構域中形成 V_H/V_L 界面的一些胺基酸殘基和在這些位置上的可能之駱駝化取代的進一步信息可在上文引

用之先前技藝中找到。

【0093】若胺基酸序列和核酸序列之整個長度具有100%之序列同一性(如本文所定義者)，則它們被說是“完全相同的”。

【0094】當比較二個胺基酸序列時，術語“胺基酸差異”係指與第二序列相比較，在第一序列之位置上插入、缺失或取代單一胺基酸殘基；應理解的是，二個胺基酸序列可含有一、二或多個該等胺基酸差異。更具體地，本發明之ISVD及/或多肽中，術語“胺基酸差異”係指與a)、c)或e)之CDR序列分別比較時，在b)、d)或f)中具體指定之CDR序列之位置上的單一胺基酸殘基之插入、缺失或取代；應理解的是，與a)、c)或e)之CDR序列分別比較時，b)、d)或f)之CDR序列可含有一、二、三、四或最多五個該等胺基酸差異。

【0095】該“胺基酸差異”可為任何一、二、三、四或最多五個取代、缺失或插入、或彼等之任何組合，該胺基酸差異可改善本發明之ADAMTS5結合物(諸如本發明之多肽)的性質或至少不會減損本發明之ADAMTS5結合物(諸如本發明之多肽)的所需性質或所需性質之平衡或組合太多。於此面向中，與包含一或多個不含有一、二、三、四或最多五個取代、缺失或插入之CDR序列的多肽相比較，所產生之本發明的ADAMTS5結合物(諸如本發明之多肽)應以至少相同、大約相同或更高之親和力與ADAMTS5結合。該親和力可藉由本技藝已知之任何合適的方法測量，

但較佳為藉由實施例部分中描述之方法測量。

【0096】於此面向中，如下文中所指明之根據b)、d)及/或f)之CDR的胺基酸序列可為使用本質上為已知或如實施例中描述之一或多種親和力成熟技術，藉由親和力成熟方式分別自根據a)、c)及/或e)之胺基酸序列衍生的胺基酸序列。例如根據用於表現本發明之多肽的宿主生物，該等缺失及/或取代之設計方式可為將一或多個用於轉譯後修飾之位點(諸如一或多個糖基化位點)移除，此方式將在本技藝技術熟習人士的能力範圍內(參見實施例)。

【0097】如本專利說明書中使用之“奈米抗體家族”、“V_{HH}家族”或“家族”係指一群長度完全相同(即，彼等在其序列內具有相同數量之胺基酸)且其中介於位置8和位置106(根據Kabat編號)之間的胺基酸序列具有89%或更高之胺基酸序列同一性的一組奈米抗體及/或V_{HH}序列。

【0098】可互換使用之術語“抗原決定部位”和“抗原決定簇”係指大分子之一部分，諸如可被抗原結合分子識別(更特別地，可被該分子之抗原結合位點識別)之多肽或蛋白質，諸如免疫球蛋白、習知抗體、本發明之免疫球蛋白單可變結構域及/或多肽。抗原決定部位界定免疫球蛋白之最小結合位點，因此代表免疫球蛋白特異性之標靶。

【0099】識別該抗原決定部位之抗原結合分子(諸如免疫球蛋白、習知抗體、本發明之免疫球蛋白單可變結構域及/或多肽)的部分稱為“互補位(paratope)”。

【0100】可“結合”或“特異性結合”某些抗原決定部

位、抗原或蛋白質(或其至少一部分、片段或抗原決定部位)、對某些抗原決定部位、抗原或蛋白質(或其至少一部分、片段或抗原決定部位)“具親和力”及/或“具有特異性”之胺基酸序列(諸如本發明之免疫球蛋白單可變結構域、抗體、多肽，或通常為抗原結合蛋白或多肽或其片段)被稱為“對”或“針對”該抗原決定部位、抗原或蛋白質，或相對於該等抗原決定部位、抗原或蛋白質為“結合”分子，或被稱為“抗”抗原決定部位、“抗”-抗原或“抗”蛋白質(例如“抗”-ADAMTS5)。

【0101】親和力表示分子交互作用之強度或穩定性。親和力通常係以 K_D 或解離常數表示，其單位為mol/升(或M)。親和力亦可以結合常數 K_A 表示，其等於 $1/K_D$ 且單位為 $(\text{mol/升})^{-1}$ (或 M^{-1})。本專利說明書中，二個分子之間交互作用之穩定性將主要以其交互作用之 K_D 值表示；本技藝之技術熟習人士清楚明白鑑於 $K_A = 1/K_D$ 之關係，藉由分子之 K_D 值具體說明分子交互作用之強度亦可用於計算對應之 K_A 值。 K_D 值亦以熱力學的意義表徵分子交互作用之強度，因其憑藉眾所周知之關係 $DG = RT \cdot \ln(K_D)$ (相當於 $DG = -RT \cdot \ln(K_A)$)，其中R等於氣體常數，T等於絕對溫度且ln表示自然對數)與結合之自由能(DG)的變化有關。

【0102】被認為有意義(例如特異性)之生物交互作用的 K_D 通常在 $10^{-12}M$ (0.001nM)至 $10^{-5}M$ (10000nM)之範圍內。交互作用越強，其 K_D 值越低。

【0103】 K_D 值亦可以複合物之解離速率常數(以 k_{off} 表

示)對其結合速率(以 k_{on} 表示)之比率表示(因此 $K_D = k_{off}/k_{on}$ 且 $K_A = k_{on}/k_{off}$)。解離速率 k_{off} 之單位為 s^{-1} (其中 s 為秒之SI單位表示法)。結合速率 k_{on} 之單位為 $M^{-1}s^{-1}$ 。結合速率可在 $10^2 M^{-1}s^{-1}$ 至約 $10^7 M^{-1}s^{-1}$ 之間變化，接近雙分子交互作用之限制擴散的結合速率常數。解離速率憑藉關係 $t_{1/2} = \ln(2)/k_{off}$ 與指定之分子交互作用的半衰期有關。解離速率可在 $10^{-6} s^{-1}$ (接近不可逆之複合物具有數天之 $t_{1/2}$)至 $1 s^{-1}$ ($t_{1/2} = 0.69 s$)之間變化。

【0104】 抗原結合蛋白(諸如ISVD)與抗原或抗原決定簇之特異性結合可以任何本質上為已知之合適的方式測定，包括，例如飽和結合分析及/或競爭性結合分析，諸如放射性-免疫分析(RIA)、酶免疫分析(EIA)和夾心競爭分析，和本質上為本技藝中已知之彼等的不同變體；以及本文所提及之其他技術。

【0105】 二個分子之間的分子交互作用之親和力可經由本質上為已知之不同技術測量，諸如眾所周知之表面等離子體共振(SPR)生物傳感器技術(參見，例如Ober *et al.* 2001, Intern. Immunology 13: 1551-1559)，在該技術中一個分子被固定在生物傳感器晶片上，另一個分子在流動條件下通過該經固定之分子而產生 k_{on} 、 k_{off} 測量值，因而產生 K_D (或 K_A)值。此可，例如使用眾所周知之BIAcore®儀器(Pharmacia Biosensor AB，瑞典Uppsala)進行。動力學排除分析(KINEXA®)(Drake *et al.* 2004, Analytical Biochemistry 328: 35-43)測量溶液中之結合事件而不標記

結合伴侶且係基於動力學排除複合物解離。溶液內親和力分析亦可使用 **GYROLAB®** 免疫分析系統或 **ELISA** 進行，該 **GYROLAB®** 免疫分析系統提供用於自動化生物分析和快速樣品周轉的平台 (Fraley *et al.* 2013, *Bioanalysis* 5: 1765-74)。

【0106】本技藝之技術熟習人士亦將清楚明白若測量過程以某種方式影響該表明之分子的固有結合親和力(例如藉由與一個分子之生物傳感器上之塗層相關的人工製品)，則該測量之 K_D 可對應於表觀 K_D 。此外，若一個分子含有一個以上之用於另一分子的識別位點，則可測量表觀 K_D 。在該等情況下，所測得之親和力可能受二個分子交互作用之親合力影響。特別地，精確測量 K_D 可能為勞動非常密集的，因此，通常測定表觀 K_D 值以評估二個分子之結合強度。應注意的是，只要所有測量均以一致之方式進行(例如保持分條件不變)，表觀 K_D 測量值可作為真實 K_D 之近似值，因此在本文件中， K_D 和表觀 K_D 應以具有同等重要性或相關性視之。

【0107】術語“特異性”係指可與特定抗原結合分子或抗原結合蛋白(例如本發明之 **ISVD** 或多肽)分子結合之不同類型的抗原或抗原決定簇之數目。抗原結合蛋白之特異性可基於親和力及/或親留力(avidity)來測定，例如，如 **WO 08/020079**(其以引用方式併入本文)之第 53-56 頁上的描述，該 **WO 08/020079** 亦描述用於測量抗原結合分子(諸如本發明之多肽或 **ISVD**)與相關抗原間之結合的一些較佳技

術。通常，抗原結合蛋白(諸如本發明之ISVD及/或多肽)與其抗原結合之解離常數(K_D)將為 10^{-5} 至 10^{-12} 莫耳/升或更小，較佳為 10^{-7} 至 10^{-12} 莫耳/升或更小，更佳為 10^{-8} 至 10^{-12} 莫耳/升(即，其結合常數(K_A)為 10^5 至 10^{12} 升/莫耳或更高，較佳為 10^7 至 10^{12} 升/莫耳或更高，且更佳為 10^8 至 10^{12} 升/莫耳)。任何大於 10^{-4} 莫耳/升之 K_D 值(或任何低於 10^4 莫耳/升之 K_A 值)通常被認為表示非特異性結合。較佳地，本發明之單價ISVD將以低於500nM，較佳為低於200nM，更佳為低於10nM，諸如低於500pM(諸如例如介於10和5pM之間或更低)之親和力與所需抗原結合。亦參考WO 08/020079之第53至56頁上的段落n)。

【0108】當ISVD及/或多肽與第一抗原結合之親和力(如上述，且適當地以 K_D 值、 K_A 值、 K_{off} 速率及/或 K_{on} 速率表示)高於其與第二標靶或抗原結合之親和力至少10倍，諸如至少100倍，較佳為至少1000倍或更高時，該ISVD及/或多肽被稱為與另一(第二)標靶或抗原相比較，“特異於”(第一)標靶或抗原。例如該ISVD及/或多肽與第一標靶或抗原結合之 K_D 值可較其與第二標靶或抗原結合之 K_D 值低至少10倍，諸如低至少100倍，較佳為低至少1000倍或更多倍。較佳地，與第二標靶或抗原相比較，當ISVD及/或多肽“特異於”第一標靶或抗原時，其係針對(如本文所定義者)該第一標靶或抗原，但不針對該第二標靶或抗原。

【0109】抗原結合蛋白與抗原或抗原決定簇之特異性

結合可以本質上為已知之任何合適之方式測定，包括，例如飽和結合分析及/或競爭性結合分析，諸如放射免疫分析(RIA)、酶免疫分析(EIA)和其在在本技藝中已知之不同變體；及本文中提及之其他技術。

【0110】可用於評估親和力之較佳方法為Friguet *et al.* 1985 (J. Immunol. Methods 77: 305-19)之二步驟ELISA(酶聯免疫吸附分析)程序。該方法建立溶液相結合平衡測量並避免與該分子之一吸附在支撐物(例如塑料)上有關之可能的人工製品。如技術熟習人士所清楚明白者，該解離常數可為實際或表觀解離常數。用於測定解離常數之方法為技術熟習人士所清楚明白者且例如，包括WO 08/020079之第53至56頁上提及之技術。

【0111】最後，應注意的是，在許多情況下，有經驗之科學家可判斷相關於某些參考分子來測定結合親和力是方便的。例如，為了評估介於分子A和B之間的結合強度，個人可，例如使用已知與B結合且以容易在ELISA或FACS(螢光激活之細胞分選)或其他形式中檢測之螢光團或發色團或其他化學部分(諸如生物素)適當地標記之參考分子C(螢光團用於螢光檢測、發色團用於光吸收檢測、生物素用於由鏈親和素介導之ELISA檢測)。通常，該參考分子C係保持在固定濃度，而用於指定濃度或量之B的A之濃度是有所變化的。結果，獲得對應於A之濃度的 IC_{50} 值，在該濃度下所測得之C的信號為沒有A時的一半。若 $K_{D\ ref}$ (該參考分子之 K_D)及參考分子之總濃度 c_{ref} 為已知，則交互作

用 A-B 之表觀 K_D 可從下式獲得： $K_D = IC_{50} / (1 + c_{ref} / K_{Dref})$ 。注意，若 $c_{ref} \ll K_D$ ， $K_D \approx IC_{50}$ 。惟其所比較之結合劑之 IC_{50} 係以一致方式進行測量(例如保持 c_{ref} 固定)，分子交互作用之強度或穩定性的差異可藉由比較 IC_{50} 評估且該測量在本文全文中被判斷為等同 K_D 或表觀 K_D 。

【0112】該半最大抑制濃度(IC_{50})亦可為化合物抑制生物學或生物化學功能(例如藥理學作用)之有效性的量度。該定量測量表明抑制指定之生物過程(或過程之組分，即，酶、細胞、細胞受體、趨化性、退行發育(anaplasia)、轉移、侵襲性，等)所需要之多肽或 ISVD(例如奈米抗體)的一半。換言之，其為物質之半最大(50%)抑制濃度(IC)(50% IC 或 IC_{50})。藉由測定抑制該激動劑之最大生物反應的一半所需之濃度可計算指定之拮抗劑，諸如本發明之多肽或 ISVD(例如奈米抗體)的 IC_{50} 值。藥物之 K_D 可藉由構建劑量-反應曲線並檢查不同濃度之拮抗劑(諸如本發明之多肽或 ISVD(例如奈米抗體))對逆轉激動劑活性之效果來測定。

【0113】術語半最大有效濃度(EC_{50})係指在具體指定之暴露時間後誘導介於基線和最大值之間的半途反應之化合物的濃度。在本發明之背景中，其係作為多肽、ISVD(例如奈米抗體)效力之量度。分級劑量反應曲線之 EC_{50} 代表觀察到其最大效果之 50% 的化合物濃度。較佳地，濃度係以莫耳單位表示。

【0114】在生物系統中，配體濃度之微小變化通常會

導致反應依循S形函數快速變化。反應之增加隨著配體濃度增加而開始減慢的拐點為EC₅₀。此可藉推衍最佳擬合線而以數學方式測定。在大多數情況下，依賴圖形進行估計是很方便的。當實施例部分中提供EC₅₀時，設計實驗盡可能準確地反映K_D。換言之，該EC₅₀值可被認為是K_D值。術語“平均K_D”係關於在至少1個，但較佳為1個以上，諸如至少二個實驗中獲得之平均K_D值。術語“平均”係指數學術語“平均”(數據總和除以該數據中之項目數)。

【0115】其亦與IC₅₀有關，IC₅₀為化合物之抑制功能(50%抑制)的量度。在競爭結合分析和功能性拮抗劑分析方面，IC₅₀為劑量-反應曲線之最常見的總結量度。在激動劑/刺激劑分析方面，最常見之總結量度為EC₅₀。

【0116】抑制常數(K_i)為抑制劑之效力如何的指示；其為產生半最大抑制所需之濃度。與可根據實驗條件而改變之IC₅₀不同，K_i為絕對值且通常被稱為藥物之抑制常數。抑制常數K_i可藉由使用Cheng-Prusoff程式計算：

$$K_i = \frac{IC_{50}}{\frac{[L]}{K_D} + 1}$$

其中[L]為配體之固定濃度。

【0117】如本文所使用之術語本發明之多肽及/或ISVD之“效力”為本發明之多肽及/或ISVD發生特定效果所需要之量的函數。其係指該本發明之多肽及/或ISVD調節及/或部分或完全抑制ADAMTS5活性之能力。更具體地，其可指該多肽及/或ISVD降低或甚至完全抑制如本文所定

義之 ADAMTS5 活性之能力。因此，其可指該多肽及/或 ISVD 抑制 ADAMTS5 活性(諸如酶催化活性，諸如蛋白水解，例如蛋白酶活性及/或內肽酶活性)及與受質(包括，但不限於聚集蛋白聚醣、多功能蛋白聚醣、短蛋白聚醣、神經蛋白聚醣、飾膠蛋白聚醣及/或雙醣鏈蛋白聚醣)結合，較佳為裂解聚集蛋白聚醣之能力。較佳地，該多肽及/或 ISVD 拮抗 ADAMTS5 之聚集蛋白聚醣酶活性。該效力可藉由本技藝已知或本文描述之任何合適的分析來測量。如本文所使用之“聚集蛋白聚醣酶活性”被定義為聚集蛋白聚醣之蛋白水解性裂解。

【0118】本發明之多肽的效力測量在飽和之多肽濃度下該效果本身之最大強度。效力表示可從本發明之多肽取得之最大反應。其係指多肽產生所需(治療)效果之能力。

【0119】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中例如藉由 Gyrolab 或 KinExA 測定，該多肽與 ADAMTS5 結合之 K_D 係介於 $1E^{-07}$ M 至 $1E^{-13}$ M 之間，諸如介於 $1E^{-08}$ M 至 $1E^{-12}$ M 之間，較佳為至多 $1E^{-07}$ M，較佳為低於 $1E^{-08}$ M 或 $1E^{-09}$ M，或甚至低於 $1E^{-10}$ M，諸如 $5E^{-11}$ M、 $4E^{-11}$ M、 $3E^{-11}$ M、 $2E^{-11}$ M、 $1.7E^{-11}$ M、 $1E^{-11}$ M，或甚至 $5E^{-12}$ M、 $4E^{-12}$ M、 $3E^{-12}$ M、 $1E^{-12}$ M。

【0120】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中例如藉由結合 ELISA 測定，該多肽調節 ADAMTS5 之 EC_{50} 值係介於 $1E^{-07}$ M 至 $1E^{-12}$ M 之間，諸如介於 $1E^{-08}$ M 至 $1E^{-11}$ M 之間。

【0121】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中例如藉由SPR測定，該多肽與ADAMTS5結合之解離速率小於 $5\text{E}^{-04}\text{s}^{-1}$ ，諸如小於 $1\text{E}^{-04}\text{s}^{-1}$ 或 $5\text{E}^{-05}\text{s}^{-1}$ 。

【0122】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中例如藉由人FRET分析或人AlphaLISA測定，該多肽抑制ADAMTS5之活性的 IC_{50} 值係介於 $1\text{E}^{-07}\text{M}$ 至 $1\text{E}^{-12}\text{M}$ 之間，諸如介於 $1\text{E}^{-08}\text{M}$ 至 $1\text{E}^{-11}\text{M}$ 之間。

【0123】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該多肽抑制ADAMTS5之酶催化活性的 IC_{50} 值至多為 $1\text{E}^{-07}\text{M}$ ，較佳為 $1\text{E}^{-08}\text{M}$ 、 $5\text{E}^{-09}\text{M}$ 或 $4\text{E}^{-9}\text{M}$ 、 $3\text{E}^{-9}\text{M}$ 、 $2\text{E}^{-9}\text{M}$ ，諸如 $1\text{E}^{-9}\text{M}$ 。

【0124】若胺基酸序列(諸如ISVD或多肽)特異於(如本文所定義者)不同之抗原或抗原決定簇(諸如例如來自不同哺乳動物物種之ADAMTS5，諸如例如人ADAMTS5、牛ADAMTS5、大鼠ADAMTS5、天竺鼠ADAMTS5、小鼠ADAMTS5或食蟹猴ADAMTS5)，則其被說是與二種不同抗原或抗原決定簇“交叉反應”。可理解的是，ISVD或多肽可被認為是交叉反應，雖然對該二種不同抗原之結合親和力可不相同，諸如相差2、5、10、50、100或甚至更多倍，惟其該ISVD或多肽係特異於(如本文所定義者)這些不同抗原或抗原決定簇。

【0125】ADAMTS5亦稱為ADAMTS11、ADMP-2或聚集蛋白聚醣酶-2。ADAMTS5之相關結構信息可在例如，如下表1中描述之UniProt登錄號中找到(參見表B)。

表 1

蛋白質登錄號	基因	生物	SEQ ID NO:
Q9UNAO	ADAMTS5	智人	149
Q9TT92	ADAMTS5	家牛	150
Q6TY19	ADAMTS5	褐家鼠	151
H0VFP0	ADAMTS5	天竺鼠	152
Q9R001	ADAMTS5	小家鼠	153
F6Z3S6	ADAMTS5	獼猴	154

【0126】“人 ADAMTS5”係指包含 SEQ ID NO：149 之胺基酸序列的 ADAMTS5。於一面向中，本發明之多肽與來自智人、小家鼠、天竺鼠、家牛、獼猴及/或褐家鼠之 ADAMTS5(較佳為人 ADAMTS5，較佳為 SEQ ID NO：149) 特異性結合。

【0127】本文中，術語“(交叉)-阻斷 ((cross)-block、(cross)-blocked、(cross)-blocking)”、“競爭性結合”、“(交叉)-競爭 ((cross)-compete、(cross)-competing 和 (cross)-competition))”可互換使用以意指免疫球蛋白、抗體、ISVD、多肽或其他結合劑干擾其他免疫球蛋白、抗體、ISVD、多肽或結合劑與指定標靶結合之能力。免疫球蛋白、抗體、ISVD、多肽或其他結合劑能夠干擾另一物質與標靶結合到何種程度及因此是否可被說成是根據本發明交叉阻斷可使用本技藝常見之競爭結合分析來測定，諸如例如在競爭 ELISA 中藉由針對展示在噬菌體上之 ISVD 來篩選純化之 ISVD。特別是，合適之定量性交叉阻斷分析包括 ELISA。

【0128】其他用於測定針對標靶(交叉)-阻斷之免疫球蛋白、抗體、ISVD、多肽或其他結合劑是否能夠(交叉)阻

斷、競爭性結合或(交叉)競爭(如本文所定義者)之方法可藉由基於SPR之“夾心分析”，諸如例如描述於實施例部分中者來評估。其他合適之方法描述於，例如Xiao-Chi Jia *et al.*(Journal of Immunological Methods 288: 91-98, 2004)、Miller *et al.*(Journal of Immunological Methods 365: 118-125, 2011)中。

【0129】因此，本發明關於如本文所描述之多肽，諸如由SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15或18所示者(參見表A-1)，其中該多肽與交叉阻斷性多肽競爭(例如藉由競爭性ELISA測定)。

【0130】本發明關於用於測定與本文所描述之多肽(諸如由SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15或18之任一者所示之多肽)競爭的競爭物(諸如多肽)之方法，其中該如本文所描述之多肽與競爭物(諸如多肽)競爭或交叉阻斷該競爭物(諸如多肽)與ADAMTS5(例如人ADAMTS5(SEQ ID NO：149))結合，其中與無本發明之多肽存在時該競爭物與ADAMTS5之結合相比較，在本發明多肽之存在下，該競爭物與ADAMTS5之結合減少至少5%，諸如10%、20%、30%、40%、50%或甚至更多，諸如80%、90%或甚至100%(即，在指定之分析中幾乎檢測不到)。競爭和交叉阻斷可藉由本技藝已知之任何方法測定，諸如例如競爭性ELISA或FACS分析。於一面向中，本發明關於本發明之多

肽，其中該多肽交叉阻斷由SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15或18所示之多肽的至少一者與ADAMTS5結合及/或被由SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15或18所示之多肽的至少一者交叉阻斷與ADAMTS5結合。

【0131】本發明亦關於與本文所描述之多肽競爭之競爭物，諸如SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15或18，其中該競爭物與本文所描述之多肽競爭與ADAMTS5結合或交叉阻斷本文所描述之多肽與ADAMTS5結合，其中與無該競爭物存在時本發明之多肽與ADAMTS5之結合相比較，在該競爭物之存在下，本發明之多肽與ADAMTS5之結合減少至少5%，諸如10%、20%、30%、40%、50%或甚至更多，諸如80%或甚至更多，諸如至少90%或甚至100%(即，在指定之分析中幾乎檢測不到)。於一面向中，本發明關於多肽(諸如SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15或18其中一者)交叉阻斷本發明之多肽與ADAMTS5結合及/或被SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15或18至少一者交叉阻斷與ADAMTS5之結合，較佳地，其中該多肽包含與ADAMTS5特異性結合之VH、VL、dAb或ISVD至少一者，其中與ADAMTS5結合可調節ADAMTS5之活

性。

【0132】“ADAMTS5活性”和“ADAMTS5之活性”(本文中這些術語可互換使用)包括，但不限於：一方面，酶催化活性，諸如蛋白質水解，例如蛋白酶活性(亦稱為蛋白酶或肽酶活性)和內肽酶活性及外部結合位點之活性，諸如例如識別及/或結合受質，例如解聚素樣結構域、中心血小板反應蛋白第I型樣(TS)重複子、富含半胱胺酸之結構域、間隔子區及/或額外之TS模體的活性。ADAMTS5活性包括與受質結合及/或將受質蛋白水解，該受質為，諸如結合透明質酸之硫酸軟骨素蛋白聚醣(hyaluronan-binding chondroitin sulfate proteoglycan)(CSPG)胞外蛋白，諸如聚集蛋白聚醣、多功能蛋白聚醣、短蛋白聚醣、神經蛋白聚醣、飾膠蛋白聚醣和雙醣鏈蛋白聚醣。如本文所使用者，蛋白質水解為藉由將多肽鏈中將胺基酸連接在一起之肽鍵水解來將蛋白質分解成較小之多肽或胺基酸。

【0133】在本發明之背景下，“調節(modulating或to modulate)”通常意指當使用合適之玻管內、細胞或體內分析(諸如本文所提及者)測量時，改變ADAMTS5之活性。特別是，“調節(modulating或to modulate)”可意指當使用合適之玻管內、細胞或體內分析(諸如本文所提及者)測量時，與在相同條件下，但無本發明之ISVD或多肽存在之相同分析中的ADAMTS5之活性相比較，降低或抑制ADAMTS5之活性或可替代地增加ADAMTS5之活性達至少1%，較佳為至少5%，諸如至少10%或至少25%，例如至少50%，至

少 60%，至少 70%，至少 80% 或 90% 或更多。

【0134】因此，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該多肽調節 ADAMTS5 之活性，較佳為抑制 ADAMTS5 之活性。

【0135】因此，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該多肽抑制 ADAMTS5 之蛋白酶活性，諸如抑制受質之蛋白水解，該受質為，諸如聚集蛋白聚醣、多功能蛋白聚醣、短蛋白聚醣、神經蛋白聚醣、飾膠蛋白聚醣及/或雙醣鏈蛋白聚醣。

【0136】因此，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該多肽阻斷 ADAMTS5 與受質結合，該受質為，諸如聚集蛋白聚醣、多功能蛋白聚醣、短蛋白聚醣、神經蛋白聚醣、飾膠蛋白聚醣及/或雙醣鏈蛋白聚醣，其中該受質較佳為聚集蛋白聚醣。

【0137】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中例如藉由 ELISA 測定，該多肽阻斷至少 20%，諸如至少 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95% 或甚至更多之 ADAMTS5 與聚集蛋白聚醣結合。

【0138】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該多肽拮抗或抑制 ADAMTS5 之活性，諸如 (i) 蛋白酶活性，較佳為裂解聚集蛋白聚醣、多功能蛋白聚醣、短蛋白聚醣、神經蛋白聚醣、飾膠蛋白聚醣及/或雙醣鏈蛋白聚醣，較佳為裂解聚集蛋白聚醣；較佳為拮抗 ADAMTS5 之聚集蛋白聚醣酶活性；(ii) 受質與 ADAMTS5

(諸如 ADAMTS5 之外部位點，例如解聚素樣結構域、中心血小板反應蛋白第 I 型樣 (TS) 重複子、富含半胱胺酸之結構域、間隔子區或額外之 TS 模體) 結合。

【0139】因此，本發明關於如本文所描述之多肽，其中當藉由本技藝已知之任何合適之方法(諸如例如酶抑制分析或如實施例部分中之描述)測定時，該多肽抑制至少 5%，諸如 10%、20%、30%、40%、50% 或甚至更多，諸如至少 60%、70%、80%、90%、95% 或甚至更多之 ADAMTS5 之蛋白酶活性。

【0140】雖然在序列和整體形狀上非常相似之 ADAM、ADAMTS 和 MMP 分享與聚集蛋白聚醣的結合位點(例如 ADAMTS4 和 ADAMTS5 之催化性結構域分享高度之序列相似性)，如實施例中所證明者，本發明者能夠鑑定為標靶特異之 ISVD。標靶特異性亦將避免或至少限制肌肉骨骼症候群，該肌肉骨骼症候群為由廣譜抑制劑引起之副作用。

【0141】於一面向中，本發明關於 ADAMTS5 結合物，諸如本發明之 ISVD 和多肽，其中該 ADAMTS5 結合物不與 ADAMTS4、ADAMTS1、ADAMTS15、MMP1 及 / 或 MMP14(膜類型)結合。較佳地，本發明關於如本文所定義之多肽，其中該與 ADAMTS5 結合之 ISVD 不與 ADAMTS4、MMP1 或 MMP14 結合。

【0142】除非另有說明，術語“免疫球蛋白”和“免疫球蛋白序列”-無論本文中係用於指重鏈抗體或習知之 4-鏈

抗體-係作為通用術語以同時包括全長抗體、其個別鏈及其所有部分、結構域或片段(包括，但不限於抗原結合結構域或片段，諸如分別為 V_{HH} 結構域或 V_H/V_L 結構域)。

【0143】如本文所使用之術語(多肽或蛋白質的)“結構域”係指經折疊之蛋白質結構，其具有能力獨立保留該蛋白質之其餘部分之三級結構。一般而言，結構域負責蛋白質之各別功能特性，且在許多情況下可添加至其他蛋白質、從其他蛋白質去除或轉移至其他蛋白質而不喪失該蛋白質及/或該結構域之其餘部分的功能。

【0144】如本文所使用之術語“免疫球蛋白結構域”係指抗體鏈之球形區域(例如習知之4-鏈抗體或重鏈抗體之鏈)，或指基本上由該等球形區域所組成之多肽。免疫球蛋白結構域之特徵在於它們保留抗體分子之免疫球蛋白折疊特徵，此係由具有約7個排列在二個 β -折疊中之反平行 β -股的二層夾心所組成，其可選擇地藉由保留之二硫鍵穩定化。

【0145】本文所使用之術語“免疫球蛋白可變結構域”係指基本上由四個“框架區”組成之免疫球蛋白結構域，該四個“框架區”在本技藝和下文中分別稱為“框架區1”或“FR1”；“框架區2”或“FR2”；“框架區3”或“FR3”；及“框架區4”或“FR4”；框架區被三個“互補決定區”或“CDR”中斷，這些互補決定區在本技藝和下文中稱為“互補決定區1”或“CDR1”；“互補決定區2”或“CDR2”；及“互補決定區域3”或“CDR3”。因此，免疫球蛋白可變結構域之一般結

構或序列可依下述表示：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。免疫球蛋白可變結構域藉由攜帶抗原結合位點來賦予抗體對抗原之特異性。

【0146】術語“免疫球蛋白單可變結構域”(本文中縮寫為“ISVD”或“ISV”)(其可與“單可變結構域”互換使用)定義其中抗原結合位點存在於單免疫球蛋白結構域上及由該單免疫球蛋白結構域形成之分子。此將免疫球蛋白單可變結構域與“習知”免疫球蛋白或其片段區分開，其中二個免疫球蛋白結構域，特別是二個可變結構域交互作用以形成抗原結合位點。通常，在習知之免疫球蛋白中，重鏈可變結構域(V_H)和輕鏈可變結構域(V_L)交互作用以形成抗原結合位點。在後一種情況下， V_H 和 V_L 二者之互補決定區(CDR)將有助於抗原結合位點(即，總共6個CDR)參與形成抗原結合位點。

【0147】鑑於上述定義，習知之4-鏈抗體(諸如IgG、IgM、IgA、IgD或IgE分子；本技藝已知)之抗原結合結構域或Fab片段、F(ab')₂片段、Fv片段(諸如二硫鍵連接之衍生自該等習知之4-鏈抗體的Fv或scFv片段，或雙抗體(均為本技藝已知))通常不被視為免疫球蛋白單可變結構域，因為在這些情況下，抗原與相應之抗原決定部位結合通常不會藉由一個(單一)免疫球蛋白結構域而是藉由一對(聯結合的)免疫球蛋白結構域(例如輕鏈和重鏈可變結構域)，即，藉由免疫球蛋白結構域 V_H - V_L 對發生，該免疫球蛋白結構域 V_H - V_L 對共同結合該相應抗原之抗原決定部位。

【0148】相反地，ISVD能夠特異性結合抗原之抗原決定部位而不與另外之免疫球蛋白可變結構域配對。ISVD之結合位點係由單一 V_{HH} 、 V_H 或 V_L 結構域形成。因此，ISVD之抗原結合位點係由不超過三個CDR形成。

【0149】因此，單可變結構域可為輕鏈可變結構域序列(例如 V_L 序列)或其合適之片段；或重鏈可變結構域序列(例如 V_H 序列或 V_{HH} 序列)或其合適之片段；只要其能夠形成單一抗原結合單位(即，基本上由單可變結構域組成之功能性抗原結合單位，從而使單一抗原結合結構域不需要與另一個可變結構域交互作用以形成功能性抗原結合單位)。

【0150】於本發明之一實施態樣中，該ISVD為重鏈可變結構域序列(例如 V_H 序列)；更具體地說，ISVD可為衍生自習知之四鏈抗體之重鏈可變結構域序列或衍生自重鏈抗體之重鏈可變結構域序列。

【0151】例如，該ISVD可為(單)結構域抗體(或適合作為(單)結構域抗體之胺基酸)、“dAb”或dAb(或適合作為dAb之胺基酸)或奈米抗體(如本文所定義者，包括，但不限於 V_{HH})；其他單可變結構域，或彼等之任一者的任何合適片段。

【0152】特別是，該ISVD可為奈米抗體(如本文所定義者)或其合適之片段。[注意：Nanobody®、Nanobodies®和Nanoclone®為Ablynx N.V.之註冊商標]。關於奈米抗體之一般描述可參考下文之進一步描述，以及本文所引用之

先前技藝，諸如例如 WO 08/020079(第16頁)中所描述者。

【0153】“V_{HH}結構域”(亦稱為 VHH、V_HH結構域、VHH抗體片段和 VHH抗體)最初被描述為“重鏈抗體”之抗原結合免疫球蛋白(可變)結構域(即，“缺乏輕鏈之抗體”；Hamers-Casterman *et al.* 1993 Nature 363: 446-448)。術語“V_{HH}結構域”已經過選擇以將這些可變結構域與存在於習知4-鏈抗體中之重鏈可變結構域(其在本文中稱為“V_H結構域”或“VH結構域”)區分並與存在於習知4-鏈抗體中之輕鏈可變結構域(其在本文中稱為“V_L結構域”或“VL結構域”)區分。關於 VHH 和 奈米抗體之進一步描述請參考 Muyldermans之綜述文章(Reviews in Molecular Biotechnology 74: 277-302, 2001)及下列專利申請案(其被列為一般背景技藝) Vrije Universiteit Brussel之 WO 94/04678、WO 95/04079和 WO 96/34103；Unilever之 WO 94/25591、WO 99/37681、WO 00/40968、WO 00/43507、WO 00/65057、WO 01/40310、WO 01/44301、EP 1134231 和 WO 02/48193；Vlaams Instituut voor Biotechnologie (VIB) 之 WO 97/49805、WO 01/21817、WO 03/035694、WO 03/054016和 WO 03/055527；Algonomics N.V. 和 Ablynx N.V. 之 WO 03/050531；加拿大國家研究委員會之 WO 01/90190；抗體協會之 WO 03/025020 (= EP 1433793)；以及 Ablynx N.V.之 WO 04/041867、WO 04/041862、WO 04/041865、WO 04/041863、WO 04/062551、WO 05/044858、

WO 06/40153、WO 06/079372、WO 06/122786、WO 06/122787和WO 06/122825，及 Ablynx N.V.之進一步發表的專利申請案。亦參考這些申請案中提及之其他先前技藝，特別是在國際申請案WO 06/040153第41至43頁中提及之參考文獻的列表，該列表和參考文獻以引用方式併入本文。如這些參考文獻中所描述者，奈米抗體(特別是V_HH序列和部分人化之奈米抗體)可特別藉由存在於一或多個框架序列中之一或多個“標記(Hallmark)殘基”表徵。奈米抗體之進一步描述，包括奈米抗體之人化及/或駱駝化以及其他修飾、部分或片段、衍生物或“奈米抗體融合物”、多價構建體(包括連接子序列之一些非限制性實例)和用於增加奈米抗體之半衰期的不同修飾及其製劑可在，例如WO 08/101985和WO 08/142164中找到。奈米抗體之進一步的一般描述可參考本文中引用之先前技藝，例如WO 08/020079 (第16頁)中所描述者。

【0154】特別是，存在於本發明之ADAMTS5結合物(諸如本發明之ISVD及/或多肽)中之框架序列可含有一或多個標記殘基(例如WO 08/020079(表A-3至A-8)中所描述者)，因而本發明之ADAMTS5結合物為奈米抗體。該等框架序列(之合適組合)的一些較佳，但非限制性實例將可從本文之進一步揭示內容(參見，例如表A-2)而變得清楚。一般而言，奈米抗體(特別是V_HH序列和部分人化之奈米抗體)可特別藉由存在於一或多個框架序列中之一或多個“標記殘基”表徵(例如，進一步描述於WO 08/020079之第61

頁，第24行至第98頁，第3行中)。

【0155】更特別地，本發明提供包含至少一個免疫球蛋白單可變結構域之ADAMTS5結合物，該免疫球蛋白單可變結構域為具有下列(一般)結構之胺基酸序列

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

其中FR1至FR4分別指框架區1至4且其中CDR1至CDR3分別指互補性決定區1至3，且其：

i)與SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15或18(見表A-1)所示之胺基酸序列其中至少一者具有至少80%，更佳為90%，甚至更佳為95%之胺基酸同一性，其中為了測定胺基酸同一性之程度，忽略該形成CDR序列之胺基酸殘基。於此面向中，亦參考表A-2，其列出SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15和18之免疫球蛋白單可變結構域的框架1序列(SEQ ID NO：72-84)、框架2序列(SEQ ID NO：85-94)、框架3序列(SEQ ID NO：95-113)和框架4序列(SEQ ID NOS：114-115)；或

ii)表A-2中描述之框架序列的組合；

且其中：

iii) 較佳地，根據Kabat編號之位置11、37、44、45、47、83、84、103、104和108處的一或多個胺基酸殘基係選自諸如WO 08/020079之表A-3至表A-8中提及之標記殘基(Hallmark residues)。

【0156】本發明之ADAMTS5結合物(諸如本發明之ISVD及/或多肽)亦可含有下列共同待審之美國臨時申請案中描述之特定突變/胺基酸殘基，該所有臨時申請案之標題均為“改良之免疫球蛋白可變結構域”：2014年5月16日提交之US 61/994552；2014年6月18日提交之US 61/014,015；2014年8月21日提交之US 62/040,167；和2014年9月8日提交之US 62/047,560(全部均授讓給Ablynx NV)。

【0157】特別地，本發明之ADAMTS5結合物(諸如本發明之ISVD及/或多肽)可適當地含有(i) 在位置112之K或Q；或(ii)位置110之K或Q與位置11之V的組合；或(iii) 在位置89之T；或(iv) 在位置89之L且其在位置110處具有K或Q；或(v) 在位置11之V和位置89之L；或(i)至(v)之任何合適之組合。

【0158】如該共同待審之美國臨時申請案中之描述，當本發明之ADAMTS5結合物(諸如本發明之ISVD及/或多肽)含有根據上述(i)至(v)(或其合適之組合)其中一者的突變時：

- 在位置11之胺基酸殘基較佳為選自L、V或K(且最佳為V)；及/或

- 在位置14之胺基酸殘基較佳為適當地選自A或P；及/或

- 在位置41之胺基酸殘基較佳為適當地選自A或P；及/或

-在位置89之胺基酸殘基較佳為適當地選自T、V或L；及/或

-在位置108之胺基酸殘基較佳為適當地選自Q或L；及/或

-在位置110之胺基酸殘基較佳為適當地選自T、K或Q；及/或

-在位置112之胺基酸殘基較佳為適當地選自S、K或Q。

【0159】如該共同待審之美國臨時申請案中所提及者，該突變可有效預防或減少所謂之“預先存在之抗體”與本發明之免疫球蛋白和化合物結合。為了此目的，本發明之ADAMTS5結合物，諸如本發明之ISVD及/或多肽亦可含有(可選擇地與該突變組合)C端延伸(X)_n(其中n為1至10，較佳為1至5，例如1、2、3、4或5，且較佳為1或2，諸如1)；且各X(較佳為天然產生的)為獨立選自，較佳為獨立選自由下列所組成之群組的胺基酸殘基：丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)和異白胺酸(I))，參見，例如美國臨時申請案及WO 12/175741。特別地，本發明之ADAMTS5結合物(諸如本發明之ISVD及/或多肽)在形成蛋白質、多肽或其他化合物或包含彼之構建體的C-端時可含有C-端延伸)(參見，例如美國臨時申請案及WO 12/175741)。

【0160】本發明之ADAMTS5結合物可為以任何合適之方式和從任何合適之來源衍生的免疫球蛋白，諸如免疫

球蛋白單可變結構域，且可為，例如天然存在之 V_{HH} 序列(即，來自合適之駱駝科物種)或合成或半合成之胺基酸序列，包括，但不限於“人化”(如本文所定義者)奈米抗體或 V_{HH} 序列、“駱駝化”(如本文所定義者)免疫球蛋白序列(且特別是駱駝化之重鏈可變結構域序列)及藉由諸如下列技術獲得之奈米抗體：親和力成熟(例如從合成、隨機或天然存在之免疫球蛋白序列開始)、CDR移植、鑲飾、組合源自不同免疫球蛋白序列之片段、使用重疊引物之PCR組裝和技術熟習人士所周知之用於工程處理免疫球蛋白序列之類似技術；或如本文進一步描述之前述的任何合適組合。此外，當免疫球蛋白包含 V_{HH} 序列時，該免疫球蛋白可經適當地人化(如本文進一步描述者)從而提供本發明之一或多種進一步(部分或完全)人化之免疫球蛋白。類似地，當免疫球蛋白包含合成或半合成序列(諸如部分人化之序列)時，該免疫球蛋白可視需要地進一步被適當地人化(同樣地如本文所描述者)，亦從而提供一或多種進一步(部分或完全)人化之本發明的免疫球蛋白。

【0161】“結構域抗體(Domain antibodies)”，亦稱為“Dab”s、“結構域抗體(Domain Antibodies)”和“dAbs”(術語“結構域抗體(Domain Antibodies)”和“dAbs”被GlaxoSmithKline集團公司作為商標)已描述於例如EP 0368684、Ward *et al.*(Nature 341: 544-546, 1989)、Holt *et al.* (Tends in Biotechnology 21: 484-490, 2003)和WO 03/002609中，以及例如WO 04/068820、

WO 06/030220、WO 06/003388和 Domantis 有限公司其他已發表之專利申請案中。結構域抗體基本上對應於非駱駝科哺乳動物之 VH 或 VL 結構域，特別是人 4 鏈抗體。為了以單抗原結合結構域之形式與抗原決定部位結合(即，不分別與 VL 或 VH 結構域配對)，需要特異選擇該等抗原結合特性(例如藉由使用人單 VH 或 VL 結構域序列集合庫)。如同 VHH，分子量為約 13 至約 16kDa 之結構域抗體，且若衍生自全人序列，並不需要人化以用於例如人類之治療用途。

【0162】亦應注意的是，單可變結構域可衍生自某些鯊魚物種(例如所謂的“IgNAR 結構域”，參見，例如 WO 05/18629)，儘管在本發明之背景下由於它們並非源自哺乳動物而較不佳。

【0163】本發明特別關於 ISVD，其中該 ISVD 係選自由下列所組成之群組：VHH、人化 VHH 和駱駝化 VH。

【0164】VHH 結構域之胺基酸殘基係根據 Kabat *et al.* ("Sequence of proteins of immunological interest", US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, Publication No. 91) 所給予之 V_H 結構域之一般編號進行編號，如同應用在如，例如 Riechmann 和 Muyldermans(J.Immunol.Methods 231: 25-38,1999) 之第 2 圖所示之來自駱駝科之 VHH 結構域之編號，這些均為本技藝所已知。用於將 V_H 結構域之胺基酸殘基編號之替代方法(該方法亦可以類似方式應用於 VHH 結構域)為本技藝中所已知。然而，除非另有說明，在本說明書、申請專利範圍和附圖中將遵循如上述之應用

於VHH結構域之根據Kabat的編號。

【0165】應該注意的是-如本技藝中對V_H結構域和VHH結構域所熟知者-各CDR中之胺基酸殘基的總數可有變化且可能不對應於藉由Kabat編號指示之胺基酸殘基的總數(即，根據Kabat編號之一或多個位置在實際序列中可能不會被佔用，或者實際序列可能含有較Kabat編號允許之數目更多之胺基酸殘基)。通常，這意味著根據Kabat之編號可能或可能不對應於實際序列中之胺基酸殘基的實際編號。VH結構域和VHH結構域中之胺基酸殘基的總數通常在110至120之範圍內，常常在112至115之間。然而應注意的是，較小和較長之序列亦可能適用於本文所描述之目的。

【0166】如本技藝眾所周知者，關於CDR方面，定義和描述VH或VHH片段之CDR的有慣例多種，諸如Kabat定義(其係基於序列可變性且為最常使用者)和Chothia定義(其係基於結構環區之位置)。可參考，例如網址<http://www.bioinf.org.uk/abs/>。出於本說明書和申請專利範圍之目的，最佳地，CDR係根據Abm定義(其係基於Oxford Molecular之AbM抗體建模軟體)來定義，因該Abm定義被認為是Kabat和Chothia定義之間的最佳折衷(參見<http://www.bioinf.org.uk/abs/>)。如本文所使用者，FR1包含位置1至25之胺基酸殘基，CDR1包含位置26至35之胺基酸殘基，FR2包含位置36至49之胺基酸，CDR2包含位置50至58之胺基酸殘基，FR3包含位置59至94之胺基酸殘基，

CDR3包含位置95至102之胺基酸殘基且FR4包含位置103至113之胺基酸殘基。

【0167】在本發明之含義中，術語“免疫球蛋白單可變結構域”或“單可變結構域”包含源自非人來源之多肽，較佳為駱駝科動物，較佳為駱駝科動物重鏈抗體。其可為如本文所描述之人化的抗體。再者，該術語包含已如本文所描述之“駱駝化”的源自非駱駝科動物來源(例如小鼠或人)之多肽。

【0168】因此，可將諸如結構域抗體和奈米抗體(包括VHH結構域)之ISVD進行人化。特別地，人化之ISVD，諸如奈米抗體(包括VHH結構域)可為如本文一般定義之ISVD，但其中至少存在一個為人化取代(如本文所定義者)及/或對應於人化取代之胺基酸殘基(且特別地，在至少一個框架殘基中)。藉由比較天然存在之V_{HH}序列之框架區的序列與一或多個密切相關之人V_H序列的對應框架序列可確定可能有用之人化取代，然後可將一或多個由此測定之可能有用的人化取代(或彼等之組合)引入該V_{HH}序列(以本質上為已知之任何方式，如本文進一步描述者)，並測試所得之人化V_{HH}序列對標靶之親和力、穩定性、易於使用性和表現水準，及/或其他所需性質。以此方式，藉由有限程度之試驗和錯誤，技術熟習之人士可基於本文之揭示內容來測定其他合適之人化取代(或彼等之合適組合)。再者，基於前述，ISVD，諸如奈米抗體(包括VHH結構域)(之框架區)可為部分人化或完全人化的。

【0169】另一特佳之本發明的ISVD類別包含具有對應於天然存在之 V_H 結構域的胺基酸序列，但已被“駱駝化”之胺基酸序列的ISVD(即，以出現在重鏈抗體之 V_{HH} 結構域中之對應位置處的一或多個胺基酸殘基取代來自習知之4鏈抗體之天然存在的 V_H 結構域之胺基酸序列中的一或多個胺基酸殘基)。此可以本技藝之技術熟習人士所清楚明白之本質上為已知之方式進行，例如基於本文之描述。較佳地，該等“駱駝化”取代係插入形成 V_H - V_L 界面及/或存在於 V_H - V_L 界面之胺基酸位置，及/或插入如本文所定義之稱為駱駝科標記殘基處(亦參見例如WO 94/04678和Davies和Riechmann(1994和1996))。較佳地，作為用於產生或設計駱駝化之免疫球蛋白單可變結構域之起始原料或起點之 V_H 序列較佳為來自哺乳動物之 V_H 序列，更佳為人類之 V_H 序列，諸如 V_H3 序列。然而，應注意的是，本發明之該等駱駝化免疫球蛋白單可變結構域可以本質上為已知之任何方式獲得，因此不嚴格限制在使用包含天然存在之 V_H 結構域之多肽作為起始原料所獲得之多肽。可參考Davies和Riechmann(FEBS 339 : 285-290,1994 ; Biotechnol.13 : 475-479,1995 ; Prot.Eng.9 : 531-537,1996)和Riechmann和Muyldermans(J.Immunol.Methods 231 : 25-38,1999)。

【0170】例如，同樣地，如本文進一步描述者，“人化”和“駱駝化”二者均可藉由提供分別編碼天然存在之 V_{HH} 結構域或 V_H 結構域之核苷酸序列來進行，然後以本質上為已知之方式改變該核苷酸序列中之一或多個密碼子，使改

變後之新核苷酸序列分別編碼本發明之“人化”或“駱駝化”之 ISVD。然後該核酸可以本質上為已知之方式表現，從而提供本發明所需之 ISVD。可替代地，分別基於天然存在之 V_{HH} 結構域或 V_H 結構域之胺基酸序列，本發明所需之人化或駱駝化之 ISVD 的胺基酸序列可分別設計然後使用本質上為已知之用於合成肽之技術從頭合成。此外，可分別基於天然存在之 V_{HH} 結構域或 V_H 結構域之胺基酸序列或核苷酸序列分別設計編碼本發明所需之人化或駱駝化之 ISVD 的核苷酸序列，然後，使用本質上為已知之用於合成核酸之技術從頭合成，之後，可使用本質上為已知之方式表現由此獲得之核酸以提供本發明所需之 ISVD。

【0171】 ISVD，諸如結構域抗體和奈米抗體(包括 VHH 結構域和人化之 VHH 結構域)亦可藉由在一或多個 CDR 之胺基酸序列中引入一或多個改變以進行親和力成熟，這些改變導致相較於各自之親本分子，所產生之 ISVD 對其各自之抗原的親和力改善。本發明之親和力成熟的 ISVD 分子可藉由本技藝已知之方法製備，例如，如 Marks *et al.* (Biotechnology 10:779-783, 1992)、Barbas, *et al.* (Proc. Nat. Acad. Sci, USA 91: 3809-3813, 1994)、Shier *et al.* (Gene 169: 147-155, 1995)、Yelton *et al.* (Immunol. 155: 1994-2004, 1995)、Jackson *et al.* (J. Immunol. 154: 3310-9, 1995)、Hawkins *et al.* (J. Mol. Biol. 226: 889 896, 1992)、Johnson and Hawkins (Affinity maturation of antibodies using phage display, Oxford University Press,

1996)中之描述。

【0172】從ISVD，諸如 V_H 、 V_L 、 V_{HH} 、結構域抗體或奈米抗體開始之設計/選擇及/或製備多肽之過程在本文中亦稱為“格式化”該ISVD；且，作為多肽之一部分的ISVD被稱為“經格式化的”或將為該多肽之“格式”。基於本文之揭示內容，技術熟習之人士將清楚明白可將ISVD格式化之方式的實例和該等格式之實例；且該等格式化免疫球蛋白單可變結構域形成本發明之另一面向。

【0173】較佳之CDR描述於表A-2中。

【0174】特別地，本發明關於如本文所描述之ISVD，其中該與ADAMTS5特異性結合之ISVD基本上係由4個框架區(分別為FR1至FR4)和3個互補決定區(分別為CDR1至CDR3)組成，其中

(i) CDR1係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：21、35、20、22、25、33、28、24、23、26、27、29、30、31、32和34；及

與SEQ ID NO：21、35、20、22、25、33、28、24、23、26、27、29、30、31、32和34具有1、2或3個胺基酸差異之胺基酸序列；

(ii) CDR2係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：37、53、36、40、50、51、44、45、43、39、38、41、119、42、46、47、48、49和52；及

與SEQ ID NO：37、53、36、40、50、51、44、45、43、39、38、41、119、42、46、47、48、49和52具有1、

2或3個胺基酸差異之胺基酸序列；且

(iii) CDR3係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：55、118、71、54、58、68、69、62、63、61、57、56、59、60、64、65、66、67和70；及

與SEQ ID NO：55、118、71、54、58、68、69、62、63、61、57、56、59、60、64、65、66、67和70具有1、2、3或4個胺基酸差異之胺基酸序列。

【0175】特別地，本發明關於如本文所描述之ISVD，其中該與ADAMTS5特異性結合之ISVD基本上係由4個框架區（分別為FR1至FR4）和3個互補決定區（分別為CDR1至CDR3）組成，其中

(i) CDR1係選自由下列所組成之群組：

(a)SEQ ID NO：22；和

(b)與SEQ ID NO：22具有1、2、3、4、5或6個胺基酸差異之胺基酸序列，其中

-位置2之S已改變成R；

-位置3之A已改變成T；

-位置4之V已改變成F；

-位置6之V已改變成S；

-位置7之N已改變成Y；及/或

-位置10之A已改變成G；

(ii) CDR2為SEQ ID NO：36；且

(iii) CDR3為SEQ ID NO：54。

【0176】特別地，本發明關於如本文所描述之

ISVD，其中該與ADAMTS5特異性結合之ISVD基本上係由4個框架區(分別為FR1至FR4)和3個互補決定區(分別為CDR1至CDR3)組成，其中

- (i) CDR1為SEQ ID NO：33；
- (ii) CDR2係選自由下列所組成之群組：
- (c)SEQ ID NO：50；和
- (d)與SEQ ID NO：50具有1、2或3個胺基酸差異之胺基酸序列，其中
 - 位置8之M已改變成I；
 - 位置10之Y已改變成F；且
- (iii) CDR3係選自由下列所組成之群組：
- (e)SEQ ID NO：68；和
- (f)與SEQ ID NO：68具有1或2個胺基酸差異之胺基酸序列，其中
 - 位置5之F已改變成L；及/或
 - 位置11之D已改變成E。

【0177】特別地，本發明關於如本文所描述之ISVD，其中該與ADAMTS5特異性結合之ISVD基本上係由4個框架區(分別為FR1至FR4)和3個互補決定區(分別為CDR1至CDR3)組成，其中

- (i) CDR1為SEQ ID NO：28；
- (ii) CDR2係選自由下列所組成之群組：
- (c)SEQ ID NO：44；和
- (d)與SEQ ID NO：44具有1、2或3個胺基酸差異之胺

基酸序列，其中

- 位置3之S已改變成T；
- 位置4之R已改變成W；
- 位置8之T已改變成I；及/或
- 位置9之T已改變成L；且

(iii) CDR3係選自由下列所組成之群組：

(e)SEQ ID NO：62；和

(f)與SEQ ID NO：62具有1或2個胺基酸差異之胺基酸序列，其中

- 位置1之G已改變成S；及/或
- 位置14之D已改變成E。

【0178】特別地，本發明關於如本文所描述之ISVD，其中該與ADAMTS5特異性結合之ISVD基本上係由4個框架區(分別為FR1至FR4)和3個互補決定區(分別為CDR1至CDR3)組成，其中

- CDR1係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：21、35、20、22、25、33、28、24、23、26、27、29、30、31、32和34；

-CDR2係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：37、53、36、40、50、51、44、45、43、39、38、41、119、42、46、47、48、49和52；且

- CDR3係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：55、118、71、54、58、68、69、62、63、61、57、56、59、60、64、65、66、67和70。

【 0179 】 特 別 地 ， 本 發 明 關 於 如 本 文 所 描 述 之 ISVD ， 其 中 該 與 ADAMTS5 特 異 性 結 合 之 ISVD 基 本 上 係 由 4 個 框 架 區 (分 別 為 FR1 至 FR4) 和 3 個 互 補 決 定 區 (分 別 為 CDR1 至 CDR3) 組 成 ， 其 中 ：

CDR1 為 SEQ ID NO : 21 、 CDR2 為 SEQ ID NO : 37 且 CDR3 為 SEQ ID NO : 55 ；

CDR1 為 SEQ ID NO : 35 、 CDR2 為 SEQ ID NO : 53 且 CDR3 為 SEQ ID NO : 118 ；

CDR1 為 SEQ ID NO : 35 、 CDR2 為 SEQ ID NO : 53 且 CDR3 為 SEQ ID NO : 71 ；

CDR1 為 SEQ ID NO : 20 、 CDR2 為 SEQ ID NO : 36 且 CDR3 為 SEQ ID NO : 54 ；

CDR1 為 SEQ ID NO : 22 、 CDR2 為 SEQ ID NO : 36 且 CDR3 為 SEQ ID NO : 54 ；

CDR1 為 SEQ ID NO : 25 、 CDR2 為 SEQ ID NO : 40 且 CDR3 為 SEQ ID NO : 58 ；

CDR1 為 SEQ ID NO : 33 、 CDR2 為 SEQ ID NO : 50 且 CDR3 為 SEQ ID NO : 68 ；

CDR1 為 SEQ ID NO : 33 、 CDR2 為 SEQ ID NO : 51 且 CDR3 為 SEQ ID NO : 69 ；

CDR1 為 SEQ ID NO : 28 、 CDR2 為 SEQ ID NO : 44 且 CDR3 為 SEQ ID NO : 62 ；

CDR1 為 SEQ ID NO : 28 、 CDR2 為 SEQ ID NO : 45 且 CDR3 為 SEQ ID NO : 63 ；

CDR1為SEQ ID NO：28、CDR2為SEQ ID NO：43且
CDR3為SEQ ID NO：61；

CDR1為SEQ ID NO：24、CDR2為SEQ ID NO：39且
CDR3為SEQ ID NO：57；

CDR1為SEQ ID NO：23、CDR2為SEQ ID NO：38且
CDR3為SEQ ID NO：56；

CDR1為SEQ ID NO：26、CDR2為SEQ ID NO：41且
CDR3為SEQ ID NO：59；

CDR1為SEQ ID NO：27、CDR2為SEQ ID NO：119且
CDR3為SEQ ID NO：60；

CDR1為SEQ ID NO：27、CDR2為SEQ ID NO：42且
CDR3為SEQ ID NO：60；

CDR1為SEQ ID NO：29、CDR2為SEQ ID NO：46且
CDR3為SEQ ID NO：64；

CDR1為SEQ ID NO：30、CDR2為SEQ ID NO：47且
CDR3為SEQ ID NO：65；

CDR1為SEQ ID NO：31、CDR2為SEQ ID NO：48且
CDR3為SEQ ID NO：66；

CDR1為SEQ ID NO：32、CDR2為SEQ ID NO：49且
CDR3為SEQ ID NO：67；和

CDR1為SEQ ID NO：34、CDR2為SEQ ID NO：52且
CDR3為SEQ ID NO：70。

【0180】於特佳之面向，本發明關於如本文所描述之
ISVD，其中該ISVD特異性結合ADAMTS5且基本上由4個

框架區(分別為FR1至FR4)和3個互補決定區(分別為CDR1至CDR3)組成，其中CDR1為SEQ ID NO：21或包含SEQ ID NO：21，CDR2為SEQ ID NO：37且CDR3為SEQ ID NO：55。

【0181】特別地，本發明關於如本文所描述之ISVD，其中該ISVD與ADAMTS5特異性結合且基本上由4個框架區(分別為FR1至FR4)和3個互補決定區(分別為CDR1至CDR3)組成，其中該ISVD係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、8、117、12、13、14、15和18。

【0182】可理解的是(但不限於)，本發明之免疫球蛋白單可變結構域可作為用於製備多肽之“構建塊”，其可選擇地含有一或多個可作為構建塊之其他免疫球蛋白單可變結構域(即，針對ADAMTS5上之相同或另一抗原決定部位及/或針對一或多個除了ADAMTS5外之其他抗原、蛋白質或標靶)。

【0183】本發明之多肽(本文中亦表示為“奈米抗體構建體”)包含至少一與ADAMTS(較佳為ADAMTS5)結合之ISVD，諸如二個與ADAMTS5結合之ISVD，較佳地，亦包含與白蛋白結合之ISVD。於本發明之多肽中，該ISVD可直接連接或經由連接子連接。甚至更佳地，本發明之多肽包含C端延伸。如本文中將詳述者，該C-端延伸基本上防止/除去與大多數人類個體/患者樣品中預先存在之抗體/因子結合。C端延伸係存在於最後一個(大多數位於C

端)ISVD之最後一個胺基酸殘基(通常為絲胺酸殘基)的C端。

【0184】如下文中進一步闡述者，該ISVD可源自 V_{HH} 、 V_H 或 V_L 結構域，然而，該ISVD係經過選擇從而使彼等不會在本發明之多肽中形成 V_H 和 V_L 結構域之互補對。奈米抗體、 V_{HH} 和人化 V_{HH} 之不尋常在於它們係源自不具有輕鏈之天然駱駝科動物抗體且實際上這些結構域無法與駱駝科動物之輕鏈相聯結以形成互補之 V_{HH} 和 V_L 對。因此，本發明之多肽不包含互補型ISVD及/或形成互補之ISVD對，諸如例如互補之 V_H/V_L 對。

【0185】一般而言，包含或基本上由單一構建塊、單一ISVD或單一奈米抗體組成之多肽或構建體在本文中將分別稱為“單價”多肽和“單價構建體”。包含二或多個構建塊之多肽或構建體(諸如例如ISVD)在本文中亦將稱為“多價”多肽或構建體，且存在於該等多肽或構建體中之構建塊/ISVD在本文中亦將被稱為在“多價格式”中。例如，“二價”多肽可包含二個可選擇地經由連接子序列連接之ISVD，而“三價”多肽可包含三個可選擇地經由二個連接子序列連接之ISVD；而“四價”多肽可包含四個可選擇地經由三個連接子序列連接之ISVD，等。

【0186】多價多肽中，該二或多個ISVD可為相同或不同，且可針對相同之抗原或抗原決定簇(例如針對相同部分或抗原決定部位或針對不同部分或抗原決定部位)，或可替代地針對不同之抗原或抗原決定簇；或彼等任何合

適之組合。含有至少二個構建塊(諸如例如ISVD)且其中至少一個構建塊係針對第一抗原(即，ADAMTS5)及至少一個構建塊係針對第二抗原(即，不同於ADAMTS5)之多肽和構建體亦將被稱為“多特異性”多肽和構建體，而存在於該等多肽和構建體中之構建塊(諸如例如ISVD)在本文中亦稱為“多特異性格式”。因此，例如本發明之“雙特異性”多肽為包含至少一個針對第一抗原(即，ADAMTS5)之ISVD和至少一個針對第二抗原(即，不同於ADAMTS5)之ISVD的多肽，而本發明之“三特異性”多肽為包含至少一個針對第一抗原(即，ADAMTS5)之ISVD、至少一個針對第二抗原(即，不同於ADAMTS5)之其他ISVD和至少一個針對第三抗原(即，不同於ADAMTS5和第二抗原二者)之其他ISVD的多肽；等。

【0187】於一面向中，本發明關於包含至少二個ISVD之多肽，其中至少一個ISVD與ADAMTS特異性結合，該ADAMTS較佳為ADAMTS5，更佳為選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15和18。

【0188】於一面向中，本發明關於包含至少二個ISVD之多肽，其中該至少二個ISVD與ADAMTS(較佳為ADAMTS5)特異性結合，更佳地，該二個ISVD之各個ISVD係獨立地選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15和18。

【0189】“多互補位”多肽和“多互補位”構建體，諸如例如包含或基本上由二或多個各自具有不同之互補位的構建塊所組成之“雙互補位”多肽或構建體和“三互補位”多肽或構建體。

【0190】因此，與ADAMTS5結合之本發明的ISVD基本上可為經分離之形式(如本文所定義者)，或者其可形成構建體或多肽之一部分，該構建體或多肽可包含或基本上由一或多個與ADAMTS5結合之ISVD組成且其可選擇地進一步包含一或多個其他胺基酸序列(全部可選擇地經由一或多個合適之連接子連接)。本發明關於包含或基本上由至少一與ADAMTS5結合之根據本發明之ISVD組成的多肽或構建體，諸如本發明之一或多個ISVD(或彼等之合適片段)。

【0191】本發明之一或多個ISVD可在多肽或構建體中作為構建塊，以分別提供本發明之單價、多價或多互補位多肽或構建體(全部均如本文所描述者)。因此，本發明亦關於為單價構建體之多肽，該單價構建體包含或基本上由一個本發明之單價多肽或ISVD組成。

【0192】因此，本發明亦關於分別為多價多肽或多價構建體之多肽或構建體，諸如例如包含或基本上由二或多個本發明之ISVD組成之二價或三價多肽或構建體(關於含有一或多個VHH結構域之多價和多特異性多肽及其製備方法亦參考Conrath *et al.*(J. Biol. Chem. 276: 7346-7350, 2001)以及例如WO 96/34103、WO 99/23221和

WO 2010/115998)。

【0193】於一面向中，本發明之多價多肽或構建體之最簡單的形式為本發明之二價多肽或構建體，該多二價多肽或構建體包含針對ADAMTS5之第一ISVD(諸如奈米抗體)和相一致之針對ADAMTS5之第二ISVD(諸如奈米抗體)，其中該第一和第二ISVD(諸如奈米抗體)可選擇地經由連接子序列(如本文所定義者)連接。於另一形式中，本發明之多價多肽或構建體可為本發明之三價多肽或構建體，其包含針對ADAMTS5之第一ISVD(諸如奈米抗體)、相一致之針對ADAMTS5之第二ISVD(諸如奈米抗體)和相一致之針對ADAMTS5之第三ISVD(諸如奈米抗體，其中該第一，第二和第三ISVD(諸如奈米抗體)可選擇地經由一或多個，特別是二個連接子序列連接。於一面向中，本發明關於包含或基本上由至少二個(諸如2、3或4個)與ADAMTS5結合之根據本發明之ISVD(或其合適之片段)組成的多肽或構建體。該二或多個ISVD可選擇地經由一或多個肽連接子連接。

【0194】於另一面向中，本發明之多價多肽或構建體可為本發明之雙特異性多肽或構建體，其包含針對ADAMTS5之第一ISVD(諸如奈米抗體)和針對第二抗原，諸如聚集蛋白聚醣之第二ISVD(諸如奈米抗體)，其中該第一和第二ISVD(諸如奈米抗體)可選擇地經由連接子序列(如本文所定義者)連接；然而，本發明之多價多肽或構建體亦可為本發明之三特異性多肽或構建體，其包含針對

ADAMTS5之第一ISVD(諸如奈米抗體)、針對第二抗原，諸如聚集蛋白聚醣之第二ISVD(諸如奈米抗體)和針對第三抗原之第三ISVD(諸如奈米抗體)，其中該第一、第二和第三ISVD(諸如奈米抗體)可選擇地經由一或多個，特別是二個連接子序列連接。

【0195】本發明進一步關於包含或(基本上)由至少一與ADAMTS5(較佳為人ADAMTS5)結合之ISVD(或其合適之片段)和一額外之ISVD(諸如與聚集蛋白聚醣結合之ISVD)所組成之多價多肽。

【0196】根據本發明之特佳的二價，雙特異性多肽或構建體為本文所描述之實施例和表A-1中所示者(參見SEQ ID NO：120至130(即，SEQ ID NO：120、121、122、123、124、125、126、127、128、129和130)，最佳為SEQ ID NO：129和130)。

【0197】於較佳之面向中，本發明之多肽或構建體包含或基本上由至少二個ISVD組成，其中該至少二個ISVD可為相同或相異，但其中至少一個ISVD係針對ADAMTS5，較佳地，該與ADAMTS5結合之ISVD係選自SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15和18。

【0198】存在於本發明之多價多肽或構建體中之二或多個ISVD可由輕鏈可變結構域序列(例如V_L序列)或重鏈可變結構域序列(例如V_H序列)組成；其可由源自習知之四鏈抗體的重鏈可變結構域序列或源自重鏈抗體之重鏈可變結

構域序列組成。於一較佳之面向中，其係由結構域抗體(或適合作為結構域抗體之胺基酸)組成、由單結構域抗體(或適合作為單結構域抗體之胺基酸)組成、由“dAb”(或適合作為dAb之胺基酸)組成、由“奈米抗體”(包括，但不限於 V_{HH})組成、由人化 V_{HH} 序列組成、由駱駝化之 V_H 序列組成；或藉由親和力成熟獲得之 V_{HH} 序列組成。該二或多個免疫球蛋白單可變結構域可由部分或完全人化之奈米抗體或部分或完全人化之 V_{HH} 組成。

【0199】於本發明之一面向中，存在於本發明之多互補位(較佳為雙互補位或三互補位)多肽或構建體中之第一ISVD和第二ISVD彼此不會交叉競爭與ADAMTS5結合，因此屬於不同家族。因此，本發明關於包含二或多ISVD之多互補位(較佳為雙互補位)多肽或構建體，其中各ISVD屬於不同家族。於一面向中，本發明之多互補位(較佳為雙互補位)多肽或構建體之第一ISVD不會交叉阻斷本發明之多互補位(較佳為雙互補位)多肽或構建體之第二ISVD與ADAMTS5結合及/或該第一ISVD不會交叉阻斷第二ISVD與ADAMTS5結合。於另一面向中，本發明之多互補位(較佳為雙互補位)多肽或構建體之第一ISVD交叉阻斷本發明之多互補位(較佳為雙互補位)多肽或構建體之第二ISVD與ADAMTS5結合及/或該第一ISVD交叉阻斷第二ISVD與ADAMTS5結合。

【0200】於特佳之面向中，本發明之多肽或構建體包含或基本上由三或更多個ISVD組成，其中至少二個ISVD

係針對 ADAMTS5。可理解的是，該至少二個針對 ADAMTS5之 ISVD 可為相同或相異、可針對 ADAMTS5 之相同抗原決定部位或不同抗原決定部位、可屬於相同之抗原決定部位群或不同之抗原決定部位群，及/或可與相同或不同之 ADAMTS5 結構域結合。

【0201】相對親和力可取決於多肽中之 ISVD 的位置。可理解的是，本發明多肽中之 ISVD 的順序(取向)可根據本技藝之技術熟習人士之需要選擇。個別 ISVD 之順序及該多肽是否包含連接子係與設計的選擇有關。與其他取向相比，具有或不具有連接子的一些取向可提供較佳之結合特徵。例如，本發明之多肽中的第一 ISVD(例如 ISVD 1)和第二 ISVD(例如 ISVD 2)之順序可為(從 N 端至 C 端)：(i) ISVD 1(例如奈米抗體 1)-[連接子]-ISVD 2(例如奈米抗體 2)-[C 端延伸]；或(ii) ISVD 2(例如奈米抗體 2)-[連接子]-ISVD 1(例如奈米抗體 1)-[C 端延伸]；(其中該介於方括號之間的部分，即，連接子和 C 端延伸為可選擇的)。所有取向均包含在本發明中。含有提供所需之結合特徵的 ISVD 取向之多肽可輕易地藉由例行篩選鑑定，例如實施例部分中所舉例說明者。較佳之順序為從 N-端至 C 端：與 ADAMTS5 結合之 ISVD-[連接子]-與白蛋白或聚集蛋白聚醣結合之 ISVD-[C 端延伸]，其中方括號之間的部分為可選擇的。

【0202】於一面向中，本發明關於包含二或多個與 ADAMTS5 特異性結合之 ISVD 的多肽，其中

a)至少一個與 ADAMTS5之第一抗原決定簇、抗原決定部位、部分、結構域、次單位或構象特異性結合之“第一”ISVD，較佳地，該與 ADAMTS5特異性結合之“第一”ISVD係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：2、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、8、117、12、13、14、15和18；且

b)至少一個與 ADAMTS5之第二抗原決定簇、抗原決定部位、部分、結構域、次單位或構象特異性結合之“第二”ISVD，該 ADAMTS5之第二抗原決定簇、抗原決定部位、部分、結構域、次單位或構象分別與該第一抗原決定簇、抗原決定部位、部分、結構域、次單位或構象不同，較佳地，該與 ADAMTS5特異性結合之“第二”ISVD為 SEQ ID NO：116或19。

【0203】於一較佳之面向中，本發明之多肽或構建體包含或基本上由至少二個與 ADAMTS5結合之 ISVD組成，其中該至少二個 ISVD可為相同或相異，該二個 ISVD係獨立地選自 SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15和18。

【0204】於進一步之面向中，本發明關於包含二或多個針對 ADAMTS5之 ISVD的多互補位(較佳為雙互補位)多肽或構建體，該二或多個針對 ADAMTS5之 ISVD所結合之抗原決定部位與 SEQ ID NO：2、116、19、1、3、6、16、17、10、11、9、5、4、7、117、8、12、13、14、15和18中之任一者所結合者相同。

【0205】於進一步之面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該多肽與下列群組之任一者具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性：SEQ ID NO：1至19(即，SEQ ID NO：1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18和19)、116至117或120至130(即，SEQ ID NO：120、121、122、123、124、125、126、127、128、129和130)。

【0206】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：127(選植株130 049-093-A1b)、SEQ ID NO：126(選植株129 2F3-093-A1b)和SEQ ID NO：128(選植株131 9D3-093-A1b)。

【0207】本技藝需要更有效之療法來治療影響關節軟骨之疾病，諸如骨關節炎。特別是當全身投予時，大多數藥物之停留時間不足。本發明者假設藉由將治療藥物(諸如本發明之構建體、多肽和ISVD)與延長藥物之半衰期的部分偶聯並因此延長該藥物之停留時間可顯著提高該治療藥物之效力，但該部分不應破壞該治療藥物之效力。

【0208】於本發明之一特定面向中，與不含該部分之本發明的對應構建體或多肽相比較，本發明之構建體或多肽可具有賦予半衰期延長之部分。基於本文進一步之揭示內容，本技藝之技術熟習人士將清楚明白本發明之該等構建體和多肽的一些較佳但非限制性實例，例如，包含已經過化學修飾(例如藉由聚乙二醇化)以增加其半期之本發明的ISVD或多肽；本發明之ADAMTS5結合物，諸如包含至

少一個額外結合位點以用於與血清蛋白(諸如血清白蛋白)結合之本發明的ISVD及/或多肽；或包含至少一個本發明之ISVD的本發明多肽，該至少一個之本發明ISVD係與至少一個延長本發明之胺基酸序列的半衰期之部分(特別是至少一個胺基酸序列)連接。基於本文之進一步揭示內容，本技藝之技術熟習人士將清楚明白包含該等延長半衰期部分或ISVD之本發明的構建體(諸如本發明之多肽)之實例；例如，包括，但不限於其中本發明之一或多個ISVD與一或多個血清蛋白或其片段(諸如(人)血清白蛋白或其合適之片段)適當地連接或與一或多個可與血清蛋白(諸如例如結構域抗體、適合作為結構域抗體之免疫球蛋白單可變結構域、單結構域抗體、適合作為單結構域抗體之免疫球蛋白單可變結構域、dAb、適合作為dAb之免疫球蛋白單可變結構域、或可與血清蛋白，諸如血清白蛋白(諸如人血清白蛋白)結合之奈米抗體、血清免疫球蛋白(諸如IgG或運鐵蛋白)；可參考本文之進一步描述和所提及之參考文獻)結合之結合單位適當地連接之多肽；其中本發明之胺基酸序列與Fc部分(諸如人Fc)或其合適之部分或片段連接之多肽；或其中本發明之一或多個免疫球蛋白單可變結構域適當地連接一或多個可與血清蛋白(諸如，但不限於WO 91/01743、WO 01/45746、WO 02/076489、WO2008/068280、WO2009/127691和PCT/EP2011/051559中描述之蛋白質和肽)結合之小蛋白或肽之多肽。

【0209】於本發明之一面向中係提供本發明之構建體

或多肽，其中該構建體或該多肽進一步包含血清蛋白結合部分或血清蛋白。較佳地，該血清蛋白結合部分與血清白蛋白，諸如人血清白蛋白結合。

【0210】於一面向中，本發明關於如本文所描述之包含與血清白蛋白結合之ISVD的多肽。

【0211】一般而言，具有延長之半衰期的本發明之構建體或多肽較佳與本發明本身之對應的構建體或多肽(即，無該賦予增加之半衰期的部分)相比較，其半衰期延長至少1.5倍，較佳為至少2倍，諸如至少5倍，例如至少10倍或超過20倍。例如，與本發明本身之對應的構建體或多肽(即，無該賦予增加之半衰期的部分)相比較，其半衰期延長之本發明的構建體或多肽在人體中之半衰期可，例如延長超過1小時，較佳為超過2小時，更佳為超過6小時，諸如超過12小時，甚至超過24、48或72小時。

【0212】於本發明之較佳，但非限制性之面向中，與本發明本身之對應的構建體或多肽(即，無該賦予增加之半衰期的部分)相比較，本發明之構建體和本發明之多肽在，例如人體中之血清半衰期增加超過1小時，較佳為超過2小時，更佳為超過6小時，諸如超過12小時，甚至超過24、48或72小時。

【0213】於本發明之另一較佳但非限制性之面向中，本發明之該等構建體(諸如本發明之多肽)顯示出在人體內之血清半衰期為至少約12小時，較佳為至少24小時，更佳為至少48小時，甚至更佳為至少72小時或更長。例如，本

發明之構建體或多肽可具有至少5天(諸如約5至10天)，較佳為至少9天(諸如約9至14天)，更佳為至少約10天(諸如約10至15天)，或至少約11天(諸如約11至16天)，更佳為至少約12天(諸如約12至18天或更長)，或超過14天(諸如約14至19天)之半衰期。

【0214】於本發明之特佳但非限制性之面向中，本發明提供本發明之構建體和本發明之多肽，除了該與ADAMTS5結合之一或多個構建塊外，其還包含至少一個與血清白蛋白結合之構建塊，諸如與血清白蛋白(諸如本文所描述之人血清白蛋白)結合之ISVD。較佳地，該與血清白蛋白結合之ISVD包含或基本上由4個框架區(分別為FR1至FR4)和3個互補決定區(分別為CDR1至CDR3)組成，其中CDR1為SFGMS，CDR2為SISGSGSDTLYADSVKG且CDR3為GGSLSR。較佳地，該與人血清白蛋白結合之ISVD係選自由下列所組成之群組：Alb8、Alb23、Alb129、Alb132、Alb11、Alb11(S112K)-A、Alb82、Alb82-A、Alb82-AA、Alb82-AAA、Alb82-G、Alb82-GG、Alb82-GGG、Alb92或Alb223(參見表D)。

【0215】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其包含至少一個與ADAMTS5結合之ISVD和與血清白蛋白結合之ISVD，較佳為選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：129(選殖株577 2F3*-Alb)、SEQ ID NO：130(選殖株579 2F3*-093-Alb)、SEQ ID NO：120(選殖株4 2A12-Alb)、SEQ ID NO：121(選殖株5 2D7-Alb)、SEQ ID NO：

122(選殖株 6 2F3-A1b)、SEQ ID NO: 123(選殖株 69 049-A1b)、SEQ ID NO: 124(選殖株 70 9D3-A1b)、SEQ ID NO: 125(選殖株 71 3B2-A1b)、SEQ ID NO: 126(選殖株 129 2F3-093-A1b)、SEQ ID NO: 127(選殖株 130 049-093-A1b)和 SEQ ID NO: 128(選殖株 131 9D3-093-A1b)(參見表 A-1)。

【0216】於一實施態樣中，本發明關於本發明之構建體，諸如包含血清蛋白結合部分之多肽，其中該血清蛋白結合部分為基於非抗體之多肽。

【0217】本技藝需要更有效之療法來治療影響關節軟骨之疾病，諸如骨關節炎。即使當投予在關節內時，大多數用於治療受影響之軟骨之藥物的停留時間不足。本發明者假設治療藥物(諸如本發明之構建體、多肽和ISVD)之效力可藉由將治療藥物與可將該藥物“錨定”在關節中並因此增加藥物停留之部分偶聯來調節，但該部分不應破壞該治療藥物之效力(該部分在本文中亦表示為“軟骨錨定蛋白”或“CAP”)。該錨定概念不僅能調節藥物之效力，亦藉由降低毒性和副作用來調節對生病之關節的操作特異性，從而增加可能有用之藥物的數量。

【0218】用於臨床用途之分子的格式被預期包含一或二個與ADAMTS5結合之構建塊(諸如ISVD)和一或多個具有該等作用保留模式之構建塊(諸如ISVD)，且可能包含其他部分。於共同待審之申請案中，該等形式被證明可同時保留與ADAMTS5結合和治療效果(例如抑制活性)，以及保留性能。該一或多個具有作用保留模式之構建塊(諸如

ISVD)可為在涉及ADAMTS5之疾病中具有保留效果之任何構建塊(“CAP構建塊”),該涉及ADAMTS5之疾病為諸如關節炎疾病、骨關節炎、脊椎骨骺發育不良(spondyloepimetaphyseal dysplasia)、腰椎間盤退化性疾病(lumbar disk degeneration disease)、退化性關節病(degenerative joint disease)、類風濕性關節炎、剝脫性骨軟骨炎(osteochondritis dissecans)、聚集蛋白聚醣病。

【0219】“CAP構建塊”係用於指導、錨定及/或保留其他(例如治療性)構建塊(諸如與ADAMTS5結合之ISVD)在所需位點(諸如在關節內),其中該其他(例如治療性)構建塊在該所需位點中發揮其效果,例如結合及/或抑制ADAMTS5。

【0220】本發明者進一步假設聚集蛋白聚醣結合物(諸如與聚集蛋白聚醣結合之ISVD)可能如該等錨般作用,儘管聚集蛋白聚醣在影響關節軟骨之各種病症中被高度糖基化並降解。此外,鑑於成本和藥物可進入臨床之前必須在各種動物模型中進行之廣泛測試,該等聚集蛋白聚醣結合物應優先具有廣泛之交叉反應性,例如聚集蛋白聚醣結合物應與各種物種之聚集蛋白聚醣結合。

【0221】使用各種巧妙之免疫化、篩選和表徵方法,本發明者能夠鑑定各種具有優異選擇性、穩定性和特異性特性之能夠延長在關節中之停留和活性的聚集蛋白聚醣結合物(參見共同待審之申請案)。

【0222】於一面向中,本發明關於用於減少及/或抑

制組成物、多肽或構建體從關節外流之方法，其中該方法包含對有此需要之人投予醫藥活性量之至少一種根據本發明之多肽、根據本發明之構建體或根據本發明之組成物。

【0223】在本發明中，術語“減少及/或抑制外流”意指減少及/或抑制組成物、多肽或構建體從關節內向外流出。較佳地，與在相同條件下但無本發明之聚集蛋白聚醣結合物(例如與聚集蛋白聚醣結合之ISVD)存在時在關節中之上述組成物、多肽或構建體的流出物相比較，該流出物減少及/或被抑制至少10%，例如至少20%、30%、40%或50%或甚至更多，諸如至少60%、70%、80%、90%或甚至100%。

【0224】除了其中涉及ADAMTS5之疾病(諸如關節炎疾病、骨關節炎、脊椎骨骺發育不良、腰椎間盤退化性疾病、退化性關節病、類風濕性關節炎、剝脫性骨軟骨炎和聚集蛋白聚醣病)外，預期本發明之聚集蛋白聚醣結合物亦可用於影響軟骨之各種其他疾病中，諸如關節病(arthropathy)和軟骨營養不良症(chondrodystrophy)、關節炎疾病(諸如骨關節炎、類風濕性關節炎、痛風性關節炎(gouty arthritis)、銀屑病性關節炎(psoriatic arthritis)、創傷性破裂或脫離)、軟骨發育不全(achondroplasia)、肋軟骨炎(costochondritis)、脊椎骨骺發育不良、椎間盤突出症(spinal disc herniation)、腰椎間盤退化性疾病、退化性關節病(degenerative joint disease)及復發性多軟骨炎(relapsing polychondritis)(本文中通常表示為“與聚集蛋白

聚醣相關之疾病”）。

【0225】該CAP構建塊(例如與聚蛋白聚醣結合之ISVD)較佳與軟骨組織(諸如軟骨及/或半月板)結合。於一較佳之面向中，該CAP構建塊對其他物種具交叉反應性並與下列一或多者特異性結合：人聚集蛋白聚醣(SEQ ID NO：155)、狗聚集蛋白聚醣、牛聚集蛋白聚醣、大鼠聚集蛋白聚醣；豬聚集蛋白聚醣；小鼠聚集蛋白聚醣、兔子聚集蛋白聚醣；食蟹猴聚集蛋白聚醣及/或恆河猴聚集蛋白聚醣。聚集蛋白聚醣之相關結構信息可在例如，如下列表2中描述之(UniProt)登錄號中找到。

【0226】較佳之CAP構建塊為與聚集蛋白聚醣結合之ISVD，較佳為人聚集蛋白聚醣，較佳為如表B中所描述之SEQ ID NO：155所示者。

表 2

名稱	登錄號
人聚集蛋白聚醣 (SEQ ID NO: 155)	P16112
狗聚集蛋白聚醣	Q28343
牛聚集蛋白聚醣	P13608
大鼠聚集蛋白聚醣	P07897
豬聚集蛋白聚醣(核心)	Q29011
小鼠聚集蛋白聚醣	Q61282
兔子聚集蛋白聚醣	G1U677-1
食蟹聚集蛋白聚醣	XP_002804990.1
恆河猴聚集蛋白聚醣	XP_002804990.1

【0227】因此，本發明關於根據本發明之多肽或構建體，該根據本發明之多肽或構建體進一步包含至少一個

CAP構建塊。

【0228】因此，本發明關於根據本發明之多肽或構建體，該根據本發明之多肽或構建體進一步包含至少一與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD，較佳地，該ISVD係選自由SEQ ID NO：156和157所示者。

【0229】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，該多肽包含至少二個與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD。

【0230】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，該多肽包含至少二個與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD，其中該至少二個與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD可為相同或相異。

【0231】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，該多肽包含至少二個與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD，其中該至少二個與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD係獨立選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：156至157。

【0232】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，該多肽包含至少二個與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD，其中該至少二個與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD係由SEQ ID NO：156至157表示。

【0233】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，該多肽包含與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD，其中該與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD與人聚集蛋白聚

醣[SEQ ID NO: 155]特異性結合。

【0234】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD與下列群組特異性結合：人聚集蛋白聚醣[SEQ ID NO: 155]、狗聚集蛋白聚醣、牛聚集蛋白聚醣、大鼠聚集蛋白聚醣；豬聚集蛋白聚醣；小鼠聚集蛋白聚醣、兔子聚集蛋白聚醣；食蟹猴聚集蛋白聚醣及/或恆河猴聚集蛋白聚醣。

【0235】於一面向中，本發明關於如本文所描述之多肽，其中該與聚集蛋白聚醣特異性結合之ISVD較佳與軟骨組織(諸如軟骨及/或半月板)結合。

【0236】可理解的是，本發明之ISVD、多肽和構建體較佳為穩定的。本發明之多肽、構建體或ISVD之穩定性可藉由本技藝之技術熟習人士已知之例行分析測量。典型之分析包括(不限於)其中測定該多肽、構建體或ISVD之活性，然後在滑液中培育一段所需時間，之後，同樣測定活性。

【0237】於一面向中，本發明關於本發明之ISVD、多肽或構建體，其在37℃下，在滑液(SF)中具有至少7天，諸如至少14天、21天、1個月、2個月或甚至3個月之穩定性。

【0238】治療性構建塊(例如本發明之多價多肽或構建體中與ADAMTS5結合之ISVD)之期望活性可藉由本技藝之技術熟習人士已知之例行分析來測量。

【0239】於一面向中，本發明關於如本文所描述之包

含至少一個 **ISVD** 或多肽及一或多個其他基團、殘基、部分或結合單位之構建體。該一或多個其他基團、殘基、部分或結合單位較佳為選自由下列所組成之群組：聚乙二醇分子、血清蛋白或其片段、可與血清蛋白結合之結合單位、**Fc** 部分及可與血清蛋白結合之小蛋白質或肽、其他胺基酸殘基、標籤和其他功能部分，例如毒素、標記、放射化學物質，等。

【0240】於一如下文中提及之實施態樣中，本發明關於本發明之構建體，諸如包含賦予延長之半衰期之部分的多肽，其中該部分為 **PEG**。因此，本發明亦關於包含 **PEG** 之本發明的構建體或多肽。

【0241】其他胺基酸殘基可能或可能不改變、轉變或以其他方式影響本發明之多肽的其他(生物學)性質且可能或可能不對本發明之多肽添加其他功能。例如，該等胺基酸殘基：

a) 可包含 **N端 Met** 殘基，例如由於在異源宿主細胞或宿主生物中表現所導致者，

b) 可形成信號序列或前導序列，該信號序列或前導序列在多肽合成時指導多肽從宿主細胞分泌出(例如根據用於表現本發明之多肽的宿主細胞來提供原(**pro**)、前(**pre**)或前原形式之本發明多肽)。本技藝之技術熟習人士將清楚明白合適之分泌型前導肽且其為如本文中進一步描述者。通常，該等前導序列將連接多肽之 **N端**，儘管本發明之最廣義的解讀並不限於此；

c)可形成“標籤”，該標籤為，例如允許或促進多肽純化(例如使用針對該序列或殘基之親和技術)之胺基酸序列或殘基。之後，可移除該序列或殘基(例如藉由化學或酶催化性裂解)以提供多肽(為此目的，該標籤視需要地經由可裂解之連接子序列或含有可裂解模體與胺基酸序列或多肽序列連接)。該等殘基之一些較佳，但非限制性實例為多組胺酸殘基、穀胱甘肽殘基和Myc-tag，諸如

AAAEQKLISEEDLNGAA；

d)可為已經過官能化及/或可作為用於連接官能基之位點的一或多個胺基酸殘基。本技藝之技術熟習人士將清楚明白合適之胺基酸殘基和官能基且其包括，但不限於本文提及之用於本發明多肽之衍生物的胺基酸殘基和官能基。

【0242】本發明亦包括包含本發明之多肽及/或ISVD之構建體，該構建體進一步包含其他功能部分，例如毒素、標記、放射性化學物質，等。

【0243】其他基團、殘基、部分或結合單位可，例如本身為或不為生物學及/或藥理學活性之化學基團、殘基、部分。例如(但不限於)，該等基團可與本發明之一或多個ISVD或多肽連接以提供本發明之多肽或構建體的“衍生物”。

【0244】因此，本發明之最廣義亦包含為本發明之構建體及/或多肽之衍生物的構建體及/或多肽。一般而言，該等衍生物可藉由修飾(特別是藉由化學及/或生物學(例如

酶催化性)修飾)本發明之構建體及/或多肽及/或修飾一或多個該形成本發明之多肽的胺基酸殘基來獲得。

【0245】本技藝之技術熟習人士將清楚明白該等修飾之實例以及在該多肽序列內，能以用於引入該等修飾之方式(即，在蛋白質主鏈上，但較佳在側鏈上)、方法和技術修飾之胺基酸殘基之實例及該等修飾可能之用途和優點(亦參見 Zangi *et al.*, Nat Biotechnol 31(10):898-907, 2013)。

【0246】例如，該等修飾可能涉及將一或多個(功能性)基團、殘基或部分引入(例如藉由共價連接或以任何其他合適之方式)本發明之多肽內或多肽上，特別是將一或多個能賦予本發明之構建體及/或多肽一或多種所需性質或功能之官能基、殘基或部分引入。本技藝之技術熟習人士將清楚明白該等官能基之實例。

【0247】例如，該等修飾可包含引入(例如藉由共價結合或以任何其他合適之方式)一或多個功能部分，該一或多個功能部分可增加本發明之構建體或多肽之半衰期、溶解度及/或吸收、降低本發明之構建體或多肽之免疫原性及/或毒性、排除或減弱本發明之構建體或多肽之任何不欲有之副作用及/或賦予本發明之構建體或多肽其他有利性質及/或減少不欲有之性質；或前述之二或多項之任何組合。本技藝之技術熟習人士將清楚明白該等功能性部分之實例和用於引入它們之技術的實例且通常可包含上文引用之一般背景技術中提及之所有功能部分和技術以及本

質上為已知之用於修飾藥物蛋白，特別是用於修飾抗體或抗體片段(包括 ScFv 和單結構域抗體)之功能性部分和技術，其參考資料有，例如 Remington (Pharmaceutical Sciences, 16th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1980)。該等功能性部分可，例如直接(例如共價地)連接或可選擇地經由合適之連接子或間隔子連接本發明之多肽，此亦為本技藝之技術熟習人士所清楚明白。

【0248】一種特定實例為本發明之衍生的多肽或構建體，其中本發明的多肽或構建體已經過化學修飾以增加其半衰期(例如藉由聚乙二醇化)。此為用於增加藥物蛋白質之半衰期及/或降低藥物蛋白質之免疫原性最廣為使用的技術之一且包含連接合適之醫藥上可接受之聚合物，諸如聚(乙二醇)(PEG)或其衍生物(諸如甲氧基聚(乙二醇)或 mPEG)。一般而言，可使用任何合適形式之聚乙二醇化，例如本技藝中用於抗體和抗體片段(包括，但不限於(單)結構域抗體和 ScFv)之聚乙二醇化；其參考資料有，例如 Chapman (Nat. Biotechnol. 54: 531-545, 2002)、Veronese and Harris (Adv. Drug Deliv. Rev. 54: 453-456, 2003)、Harris and Chess (Nat. Rev. Drug. Discov. 2: 214-221, 2003) 和 WO 04/060965。亦可商購各種用於蛋白質聚乙二醇化之試劑，例如來自美國之 Nektar Therapeutics。

【0249】較佳地，使用定點聚乙二醇化，特別是經由半胱胺酸殘基(參見，例如 Yang *et al.* Protein Engineering 16: 761-770, 2003)。例如，為了達到此目的，可將 PEG 連

接在天然存在於本發明之多肽中的半胱胺酸，本發明之構建體或多肽可經修飾，以便適當地引入一或多個用於連接 PEG 之半胱胺酸殘基，或者可將包含一或多個用於連接 PEG 之半胱胺酸殘基的胺基酸序列融合至本發明之構建體或多肽的 N 及 / 或 C 端，這些均使用本質上為本技藝之技術熟習人士已知之蛋白質工程處理技術。

【0250】較佳地，在本發明之構建體或多肽方面，使用分子量大於 5000 (諸如大於 10,000) 且小於 200,000 (諸如小於 100,000) 之 PEG；例如在 20,000 至 80,000 之範圍內。

【0251】另一通常較差之修飾包含 N-連接或 O-連接糖基化，通常為共同轉譯及 / 或轉譯後修飾之一部分，這取決於用於表現本發明多肽之宿主細胞。

【0252】還有另一種修飾可包含引入一或多種可檢測之標記或其他信號產生基團或部分，這取決於本發明之多肽或構建體之所欲用途。本技藝之技術熟習人士清楚明白用於連接、使用 and 檢測它們之合適標記和技術，例如，包括，但不限於螢光標記 (諸如螢光素、異硫氰酸酯、羅丹明、藻紅蛋白、藻藍蛋白、別藻藍蛋白、鄰苯二甲醛和螢光胺及螢光金屬，諸如 ^{152}Eu 或其他來自鐳系元素之金屬)、磷光標記、化學發光標記或生物發光標記 (諸如魯米那 (Luminal)、異魯米諾 (isoluminol)、熱性吡啶鎘酯 (theromatic acridinium ester)、咪唑、吡啶鎘鹽、草酸酯、二氧雜環丁烷或 GFP 及其類似物)、放射性同位素 (諸如 ^3H 、 ^{125}I 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、 ^{51}Cr 、 ^{36}Cl 、 ^{57}Co 、 ^{58}Co 、 ^{59}Fe

和 ^{75}Se)、金屬、金屬螯合物或金屬陽離子(例如金屬陽離子，諸如 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{123}I 、 ^{111}In 、 ^{131}I 、 ^{97}Ru 、 ^{67}Cu 、 ^{67}Ga 和 ^{68}Ga 或特別適用於體內、玻管內或原位診斷和成像之其他金屬或金屬陽離子，諸如 (^{157}Gd 、 ^{55}Mn 、 ^{162}Dy 、 ^{52}Cr 和 ^{56}Fe)) 及發色團和酶(諸如蘋果酸脫氫酶、葡萄球菌核酸酶、 δ -V-類固醇異構酶、酵母醇脫氫酶、 α -甘油磷酸脫氫酶、磷酸丙糖異構酶、生物素殺菌素過氧化物酶、辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶、天門冬醯胺酶、葡萄糖氧化酶、 β -半乳糖苷酶、核糖核酸酶、脲酶、過氧化氫酶、葡萄糖-VI-磷酸脫氫酶、葡糖澱粉酶和乙醯膽鹼酯酶)。本技藝之技術熟習人士清楚明白其他合適之標記，例如，包括可使用 NMR 或 ESR 分光光譜法檢測之部分。

【0253】根據特定標記之選擇，本發明之該等經標記之多肽和構建體可，例如用於試管內、體內或原位分析(包括本質上為已知之免疫分析，諸如 ELISA、RIA、EIA 和其他“夾心分析”，等)及用於體內診斷和成像目的。

【0254】本技藝之技術熟習人士將清楚明白，另一種修飾可能涉及引入螯合基團，例如與上文提到之金屬或金屬陽離子之一螯合。合適之螯合基團為，例如，包括，但不限於二亞乙基三胺五醋酸 (DTPA) 或乙二胺四醋酸 (EDTA)。

【0255】還有另一種修飾可包含引入為特異性結合對之一部分的功能部分，諸如生物素-(鏈)抗生物素蛋白結合對。該等功能部分可用於將本發明之多肽與另一蛋白質、

多肽或化學化合物連接，該另一蛋白質、多肽或化學化合物係與結合對之另一半結合(即，透過形成結合對)。例如，本發明之構建體或多肽可與生物素共軛結合，並連接另一與抗生物素蛋白或鏈親和素共軛結合之蛋白質、多肽、化合物或載體。例如，本發明之該等共軛結合構建體或多肽可作為報告子，例如在診斷系統中，其中可檢測之信號產生劑係與抗生物素蛋白或鏈親和素共軛結合。該等結合對亦可，例如用於將本發明之構建體或多肽與載體結合，包括適合用於藥學目的之載體。一種非限制性實例為Cao和Suresh(*Journal of Drug Targeting* 8: 257,2000)描述之脂質體配製劑。該等結合對亦可用於將治療活性劑與本發明之多肽連接。

【0256】本技藝之技術熟習人士將清楚明白其他可能之化學和酶催化性修飾。亦可引入該等修飾以用於研究目的(例如用於研究功能-活性關係)。例如，可參考Lundblad and Bradshaw(*Biotechnol. Appl. Biochem.* 26: 143-151, 1997)。

【0257】較佳地，該構建體、多肽及/或衍生物以如本文所定義(例如用於本發明之多肽的定義)之親和力(以 K_D 值(實際或表觀)、 K_A 值(實際或表觀)、 k_{on} -速率或結合速率及/或 k_{off} 或解離速率之形式，或可替代地以 IC_{50} 值之形式(如本文進一步描述者)適當地測量及/或表現)與ADAMTS5結合。

本發明之該等構建體及/或多肽及其衍生物亦可為基

本上經分離之形式(如本文所定義者)。

【0258】於一面向中，本發明關於本發明之構建體，其包含或基本上由根據本發明之ISVD或根據本發明之多肽組成且其進一步包含可選擇地經由一或多個肽連接子連接之一或多個其他基團、殘基、部分或結合單位。

【0259】於一面向中，本發明關於本發明之構建體，其中一或多個其他基團、殘基、部分或結合單位係選自由下列所組成之群組：聚乙二醇分子、血清蛋白或其片段、可與血清蛋白結合之結合單位、Fc部分及可與血清蛋白結合之小蛋白質或肽。

【0260】在本發明之構建體(諸如本發明之多肽)中，該二或多個建構塊(諸如例如ISVD)及可選擇地，一或多個其他基團、藥物、試劑、殘基、部分或結合單位可彼此直接連接(如，例如WO 99/23221中之描述)及/或可經由一或多個合適之間隔子或連接子或彼等之任何組合彼此連接。本技藝之技術熟習人士清楚明白用於多價和多特異性多肽之合適的間隔子或連接子，且通常可為本技藝中用於連接胺基酸序列之任何間隔子或連接子。較佳地，該連接子或間隔子適合用於構建意圖用於藥學用途之構建體、蛋白質或多肽。

【0261】例如，本發明之多肽可為，例如三價，三特異性多肽，其包含一個建構塊，諸如與ADAMTS5結合之ISVD、與白蛋白結合之ISVD和可能之另一建構塊，諸如第三ISVD，其中該第一、第二和第三建構塊(諸如ISVD)

可選擇地經由一或多個，特別是2個連接子序列連接。此外，本發明提供本發明之構建體或多肽，該構建體或多肽包含與ADAMTS5結合之第一ISVD和可能之與白蛋白結合之第二ISVD及/或可能之第三ISVD及/或可能之第四ISVD，其中該第一ISVD及/或該第二ISVD及/或可能之該第三ISVD及/或可能之該第四ISVD係經由連接子，尤其是3個連接子連接。

【0262】一些特佳之連接子包括本技藝中用於連接抗體片段或抗體結構域之連接子。這些包括上文引用之一般背景技術中提及之連接子以及，例如本技藝中用於構建雙抗體或ScFv片段之連接子(然而，於此面向中，應注意的是，在雙抗體和ScFv片段中，所使用之連接子序列應具有可允許相關之 V_H 和 V_L 結構域聚集在一起以形成完整之抗原結合位點的長度、靈活度和其他性質，本發明之多肽中所使用之連接子的長度或靈活性並無特別限制，因為各ISVD，諸如奈米抗體本身形成完整之抗原結合位點)。

【0263】例如，連接子可為合適之胺基酸序列，特別是具有介於1至50，較佳為介於1至30(諸如介於1至10)個胺基酸殘基之胺基酸序列。該等胺基酸序列之一些較佳實例包括gly-ser連接子，例如 $(gly_xser_y)_2$ 之類型(諸如例如WO 99/42077中描述之 $(gly_4ser)_3$ 或 $(gly_3ser_2)_3$ 和本文提及之Ablynx的申請案(參見，例如WO 06/040153和WO 06/122825)中描述之GS30、GS15、GS9和GS7連接子)及鉸鏈樣區域，諸如天然存在之重鏈抗體或類似序列(諸

如 WO 94/04678 中所描述者)之鉸鏈區。較佳之連接子描述於表 C 中。

【0264】一些其他特佳之連接子為聚丙胺酸(例如 AAA)及連接子 GS30(亦參見 WO 06/122825 中之 SEQ ID NO：85)和 GS9(亦參見 WO 06/122825 中之 SEQ ID NO：84)。

【0265】其他合適之連接子通常包含有機化合物或聚合物，特別是那些適合用於藥用蛋白質者。例如聚(乙二醇)部分已用於連接抗體結構域，參見，例如 WO 04/081026。

【0266】本發明之範圍包含所使用之連接子的長度、彈性度及/或其他性質(儘管並非關鍵的，因為其通常用於 ScFv 片段中使用之連接子)可能對本發明之最終構建體(諸如本發明之多肽)的性質具有一些影響，包括，但不限於對趨化因子或一或多種其他抗原之親和力、特異性或親合力。基於本文之揭示內容，本技藝之技術熟習人士視需要地在一些有限的例行實驗之後將能夠決定用於本發明之特定構建體(諸如本發明之多肽)的最佳連接子。

【0267】例如，在包含構建塊、ISVD 或針對 ADAMTS5 和另一標靶之奈米抗體的本發明之多價多肽中，該連接子之長度和彈性較佳為使其允許存在於本發明之多肽中的各構建塊(諸如 ISVD)與其同源標靶(例如在各標靶上之抗原決定簇)結合。同樣地，基於本文之揭示內容，本技藝之技術熟習人士視需要地在一些有限的例行實

驗之後將能夠決定用於本發明之特定構建體(諸如本發明之多肽)的最佳連接子。

【0268】本發明之範圍亦包含用於賦予本發明之構建體(諸如本發明之多肽)一或多種其他有利之性質或功能及/或提供用於形成衍生物之一或多個位點及/或用於連接官能基(例如，如本文所描述之用於本發明之ISVD的衍生物)的連接子。例如，含有一或多個帶電荷之胺基酸殘基的連接子可提供改善之親水性質，而形成或含有小抗原決定部位或標籤之連接子可以用於檢測、鑑定及/或純化之目的。同樣地，基於本文之揭示內容，本技藝之技術熟習人士視需要地在一些有限的例行實驗之後將能夠決定用於本發明之特定多肽的最佳連接子。

【0269】最後，當在構建體(諸如本發明之多肽)中使用二或多個連接子時，這些連接子可為相同或相異。同樣地，基於本文之揭示內容，本技藝之技術熟習人士視需要地在一些有限的例行實驗之後將能夠決定用於本發明之特定構建體或多肽的最佳連接子。

【0270】通常，為了易於表現和產製，本發明之構建體(諸如本發明之多肽)將為線性多肽。然而，最為廣義之本發明並不限於此。例如，當本發明之構建體(諸如本發明之多肽)包含三或更多個構建塊、ISVD或奈米抗體時，使用具有三或更多個“臂”之連接子連接他們是可能的，每個“臂”連接構建塊、ISVD或奈米抗體從而提供“星形”構建體。亦可能使用圓形構建體，儘管通常較不較佳。

【0271】因此，本發明關於本發明之構建體(諸如本發明之多肽)，其中該ISVD彼此直接連接或經由連接子連接。

【0272】因此，本發明關於本發明之構建體(諸如本發明之多肽)，其中第一ISVD及/或第二ISVD及/或可能之與血清白蛋白結合之ISVD係經由連接子連接。

【0273】因此，本發明關於本發明之構建體(諸如本發明之多肽)，其中該連接子係選自由下列連接子所組成之群組：3A、5GS、7GS、9GS、10GS、15GS、18GS、20GS、25GS、30GS、35GS、多聚腺苷酸(poly-A)、8GS、40GS、G1鉸鏈、9GS-G1鉸鏈、美洲駝上方長鉸鏈區和G3鉸鏈，諸如例如表C中所呈現者(SEQ ID NO：158至174)。

【0274】因此，本發明關於本發明之構建體(諸如本發明之多肽)，其中該多肽係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：120至130。

【0275】本發明進一步關於用於製備本文所描述之構建體、多肽、ISVD、核酸、宿主細胞和組成物之方法。

【0276】本發明之多價多肽通常可藉由至少包含下述步驟之方法製備：將本發明之ISVD及/或單價多肽與一或多個其他ISVD可選擇地經由一或多個合適之連接子適當地連接以提供本發明之多價多肽。本發明之多肽亦可藉由通常至少包含下述步驟之方法製備：提供編碼本發明之多肽的核酸，以合適之方式表現該核酸並回收表現出之本發明的多肽。該等方法可以本質上為已知之方式進行，該方

式為本技藝之技術熟習人士所清楚明白者(例如基於本文之進一步描述之方法和技術)。

【0277】用於製備本發明之多價多肽的方法可至少包含下述步驟：將本發明之二或多個ISVD與例如一或多個連接子以合適之方式連接在一起。本發明之ISVD(和連接子)可藉由本技藝已知及如本文進一步描述之任何方法偶聯。較佳之技術包括連接編碼本發明之ISVD(和連接子)的核酸序列以製備表現該多價多肽之遺傳構建體。本技藝之技術熟習人士清楚明白用於連接胺基酸或核酸之技術，且同樣地可參考標準手冊，諸如上文提及之Sambrook *et al.*和Ausubel *et al.*及下文中之實施例。

【0278】因此，本發明關於本發明之ISVD於製備本發明之多價多肽的用途。用於製備多價多肽之方法將包含將本發明之ISVD可選擇地經由一或多個連接子與至少一個本發明之其他ISVD連接。然後，使用本發明之ISVD作為結合結構域或構建塊以提供及/或製備包含2(例如在二價多肽中)、3(例如在三價多肽中)、4(例如在四價多肽中)、或更多個結構塊(例如在多價多肽中)之多價多肽。於此面向中，本發明之ISVD可作為結合結構域或結合單位以提供及/或製備多價多肽，諸如包含2、3、4或更多個結構塊之本發明的二價、三價或四價多肽。

【0279】因此，本發明亦關於本發明之ISVD多肽(如本文所描述者)於製備多價多肽之用途。用於製備多價多肽之方法將包含將本發明之ISVD可選擇地經由一或多個

連接子與至少一個本發明之其他 ISVD 連接。

【0280】本發明之多肽和核酸可以本質上為已知之方式(如本技藝之技術熟習人士將可從本文之進一步描述中清楚明白者)製備。例如，本發明之多肽可以本質上為已知之用於製備抗體，特別是用於製備抗體片段(包括，但不限於(單)結構域抗體和 ScFv 片段)之任何方式製備。用於製備多肽和核酸的一些較佳但非限制性方法包括本文所描述之方法和技術。

【0281】用於產生本發明多肽之方法可包含下列步驟：在合適之宿主細胞或宿主生物(本文中亦稱為“本發明之宿主”)或另一合適之表現系統中表現編碼該本發明之多肽的核酸(本文中亦稱為“本發明之核酸”)；可選擇地，隨後分離及/或純化由此獲得之本發明的多肽。

【0282】特別是，該等方法可包含下列步驟：將本發明之宿主培養及/或維持在能使本發明之該宿主表現及/或產生至少一種本發明多肽之條件下；可選擇地，隨後分離及/或純化由此獲得之本發明的多肽。

【0283】因此，本發明亦關於編碼本發明之多肽、ISVD 或構建體之核酸或核苷酸序列(亦稱為“本發明之核酸”)。

【0284】本發明之核酸可為單股或雙股 DNA 或 RNA 形式。根據本發明之一實施態樣，本發明之核酸基本上為如本文定義之經分離的形式。本發明之核酸亦可為存在於載體中及/或為載體之一部分的形式，該載體為，例如表現

載體，諸如例如質粒、黏粒或YAC(同樣地，其可為基本上經分離之形式)。因此，本發明亦關於包含本發明之核酸或核苷酸序列的表現載體。

【0285】本發明之核酸可以本質上為已知之方式，基於本文給予之本發明多肽的信息來製備或取得，及/或可從合適之天然來源中分離出。再者，如本技藝之技術熟習人士將清楚明白者，為了製備本發明之核酸，亦可將幾個核苷酸序列(諸如至少二個編碼本發明之ISVD的核酸)及例如編碼一或多個連接子之核酸以合適之方式連接在一起。本技藝之技術熟習人士將清楚明白用於產生本發明之核酸的技術且該技術可為例如，包括，但不限於自動化DNA合成；定點突變；組合二或多種天然存在及/或合成之序列(或其二或多個部分)、引入導致截短之表現產物表現之突變；引入一或多個限制位點(例如使用合適之限制酶以創造易於分解及/或連接之盒及/或區域)及/或使用一或多個“錯配”之引物藉由PCR反應引入突變。本技藝之技術熟習人士將清楚明白這些和其他技術，且同樣地可參考標準手冊，諸如上文提及之Sambrook，等人和Ausubel，等人以及下文中之實施例。

【0286】於一較佳但非限制性之實施態樣中，本發明之遺傳構建體包含

a) 至少一個本發明之核酸；

b) 可操作地連接一或多個調節元件(諸如啟動子及可選擇之合適的終止子)；還有可選擇地

c)本質上為已知之一或多種遺傳構建體之其他元素；

其中術語“調節元件”、“啟動子”、“終止子”和“可操作地連接”具有彼等在本技藝中通常之含義。

【0287】本發明之遺傳構建體通常可藉由將本發明之核苷酸序列與上述之一或多種其他元件適當地連接來提供，例如使用一般手冊，諸如上文提及之Sambrook，等人和Ausubel，等人中描述之技術。

【0288】本發明之核酸及/或本發明之遺傳構建體可用於轉化宿主細胞或宿主生物，即，用於表現及/或產生本發明之多肽。本技藝之技術熟習人士將清楚明白合適之宿主或宿主細胞且可，例如為任何合適之真菌、原核或真核細胞或細胞系或任何合適之真菌、原核或(非人)真核生物及所有本技藝之技術熟習人士將清楚明白之本質上為已知之用於表現和產生抗體和抗體片段(包括，但不限於(單)結構域抗體和ScFv片段)的其他宿主細胞或(非人)宿主。亦可參考上文引用之一般先前技藝，以及例如WO 94/29457；WO 96/34103；WO 99/42077；Frenken *et al.* (Res Immunol. 149: 589-99, 1998)；Riechmann 和 Muyldermans (1999)，同上；van der Linden (J. Biotechnol. 80: 261-70, 2000)；Joosten *et al.* (Microb. Cell Fact. 2: 1, 2003)；Joosten *et al.* (Appl. Microbiol. Biotechnol. 66: 384-92, 2005)；及本文中引用之其他參考文獻。此外，本發明之多肽亦可在無細胞表現系統中表現及/或產生，且本技藝之技術熟習人士將清楚明白該等系

統之合適實例。用於轉化本發明之宿主或宿主細胞之合適技術為本技藝之技術熟習人士所清楚明白且可取決於所欲使用之宿主細胞/宿主生物和遺傳構建體。同樣地，可參考上文提及之手冊和專利申請案。該轉化之宿主細胞(可為此形式或穩定之細胞株)或宿主生物(可為穩定之突變株或菌株之形式)形成本發明之其他方面。因此，本發明關於包含根據本發明之核酸或根據本發明之表現載體的宿主或宿主細胞。較佳地，這些宿主細胞或宿主生物為表現或(至少)能夠表現(例如在合適之條件下)本發明之多肽(且在宿主生物之情況下：在至少一個細胞中、部分、組織或器官中)之宿主細胞或宿主生物。本發明亦包括可，例如藉由細胞分裂或藉由有性或無性繁殖獲得之本發明之宿主細胞或宿主生物的進一步世代、後代及/或子孫。

【0289】為了產生/獲得本發明多肽之表現，通常可將該轉化之宿主細胞或轉化之宿主生物保持、維持及/或培養在能表現/產生本發明之(所需)多肽之條件下。本技藝之技術熟習人士將清楚明白合適之條件且其通常取決於所欲使用之宿主細胞/宿主生物，以及控制本發明(相關)之核苷酸序列之表現的調節元件。同樣地，可參考在上文中關於本發明之遺傳構建體的段落中提及之手冊和專利申請案。

【0290】然後，可使用本質上為已知之蛋白質分離及/或純化技術，諸如(製備性)色層分析法及/或電泳技術、差異沉澱技術、親和力技術(例如使用與本發明之多肽融

合之特異性，可裂解之胺基酸序列)及/或製備性免疫學技術(即，使用針對欲分離之多肽的抗體)，從宿主細胞/宿主生物及/或從培養該宿主細胞或宿主生物之培養基中分離出本發明之多肽。

【0291】於一面向中，本發明關於用於產生根據本發明之構建體、多肽或ISVD之方法，該方法至少包含下列步驟：(a) 在合適之宿主細胞或宿主生物或另一合適之表現系統中表現根據本發明之核酸序列；可選擇地接著進行(b)分離及/或純化根據本發明之構建體、多肽ISVD。

【0292】於一面向中，本發明關於包含根據本發明之構建體、多肽、ISVD或核酸之組成物。

【0293】如上文中所提及者，對於安全且有效之OA藥物仍然有需求。基於非習知之篩選、表徵和組合策略，本發明者鑑定與ADAMTS5結合及抑制ADAMTS5之ISVD。該ADAMTS5結合物在玻管內和體內實驗中性能優異。此外，本發明之ISVD亦顯示較先前技藝之化合物明顯更有效。因此，本發明提供拮抗ADAMTS(特別是ADAMTS5)之ISVD和多肽，與先前技藝之胺基酸序列和抗體相比較，發明之ISVD和多肽具有改善之預防、治療及/或藥理學性質，包括更安全之變化形廓。此外，這些ADAMTS5結合物當連接與白蛋白結合之ISVD時，在個體中之停留增加，可全身性投予並同時保留活性。

【0294】於一面向中，本發明關於治療或預防個體之疾病或病症(例如其中涉及ADAMTS5活性者)的方法，該方

法包含投予該個體能有效治療或預防該疾病或病症之量的根據本發明之ISVD或多肽。

【0295】於一面向中，本發明關於根據本發明之組成物、根據本發明之ISVD、根據本發明之多肽及/或根據本發明之構建體作為藥物之用途。

【0296】於一面向中，本發明關於本發明之ISVD、多肽及/或構建體於製備用於預防及/或治療至少一種與ADAMTS5相關之疾病的醫藥組成物之用途；及/或於本文提及之一或多種治療方法中之用途。

【0297】本發明亦關於本發明之ISVD、多肽及/或構建體於製備用於預防及/或治療至少一種可藉由調節ADAMTS(較佳為ADAMTS5)之活性(例如抑制聚集蛋白聚醣降解)來預防及/或治療之疾病或病症的醫藥組成物之用途。

【0298】本發明亦關於本發明之ISVD、多肽、化合物及/或構建體於製備用於預防及/或治療至少一種可藉由對患者投予本發明之ISVD、多肽及/或構建體來預防及/或治療之疾病或病症的醫藥組成物之用途。

【0299】本發明進一步關於本發明之ISVD、多肽、化合物及/或構建體或包含彼等之醫藥組成物於預防及/或治療至少一種與ADAMTS5相關之疾病的用途。

【0300】本發明之ADAMTS5結合物預期可用於影響軟骨之各種疾病中，諸如用於關節病和軟骨營養不良症、關節炎疾病，諸如骨關節炎、類風濕性關節炎、痛風性關

節炎、銀屑病性關節炎、創傷性破裂或脫離、軟骨發育不全、肋軟骨炎、脊椎骨骺發育不良、椎間盤突出症、腰椎間盤退化性疾病、退化性關節病及復發性多軟骨炎、剝脫性骨軟骨炎和聚集蛋白聚醣病以及非酒精性脂肪性肝炎(NASH)(本文中通常表示為“與ADAMTS5相關之疾病”)。

【0301】於一面向中，本發明關於用於治療或預防與ADAMTS5相關之疾病的症狀之本發明的組成物、ISVD、多肽及/或構建體，該與ADAMTS5相關之疾病為諸如例如關節病和軟骨營養不良症、關節炎疾病，諸如骨關節炎、類風濕性關節炎、痛風性關節炎、銀屑病性關節炎、創傷性破裂或脫離、軟骨發育不全、肋軟骨炎、脊椎骨骺發育不良、椎間盤突出症、腰椎間盤退化性疾病、退化性關節病及復發性多軟骨炎、剝脫性骨軟骨炎和聚集蛋白聚醣病以及NASH。

【0302】於一面向中，本發明關於用於預防或治療下列疾病之方法：關節病和軟骨營養不良症、關節炎疾病，諸如骨關節炎、類風濕性關節炎、痛風性關節炎、銀屑病性關節炎、創傷性破裂或脫離、軟骨發育不全、肋軟骨炎、脊椎骨骺發育不良、椎間盤突出症、腰椎間盤退化性疾病、退化性關節病及復發性多軟骨炎和NASH，其中該方法包含對有此需要之個體投予醫藥上活性量之至少一種根據本發明之組成物、免疫球蛋白、多肽或構建體。

【0303】於一面向中，本發明關於本發明之ISVD、多肽、組成物或構建體於製備用於治療或預防諸如關節病

和軟骨營養不良症、關節炎疾病，諸如骨關節炎、類風濕性關節炎、痛風性關節炎、銀屑病性關節炎、創傷性破裂或脫離、軟骨發育不全、肋軟骨炎、脊椎骨骺發育不良、椎間盤突出症、腰椎間盤退化性疾病、退化性關節病及復發性多軟骨炎、剝脫性骨軟骨炎和聚集蛋白聚醣病及 NASH。

【0304】本發明之構建體及/或多肽被預期藉由與聚集蛋白聚醣結合可降低或抑制絲胺酸蛋白酶家族成員、組織蛋白酶、基質金屬蛋白酶(MMP)(諸如例如MMP20)，還有ADAMTS4(聚集蛋白聚醣酶-1)及/或ADAMTS11於降解聚集蛋白聚醣之活性。

【0305】在本發明之背景下，術語“預防及/或治療”不僅包含預防及/或治療疾病，通常亦包含預防疾病發作、減緩或逆轉疾病進展、預防或減緩與疾病相關之一或多種症狀發作、減輕及/或緩和與疾病相關之一或多種症狀、減輕疾病之嚴重性及/或持續時間及/或與其相關之任何症狀及/或預防該疾病及/或與其相關之任何症狀之嚴重性進一步增加、預防、減輕或逆轉任何由該疾病引起之生理損傷及大致上對接受治療之患者有益的任何藥理作用。

【0306】該劑量方案將由主治醫師和臨床因素決定。如醫學技藝中眾所周知者，用於任一名患者之劑量係取決於許多因素，包括患者之尺寸、體重、體表面積、年齡、欲投予之特定化合物、所使用之多肽(包括抗體)的活性、投予之時間和途徑、整體健康及與其他療法或治療之組

合。每一劑量之蛋白質性醫藥上活性物質之存在量可為1g至100mg/kg體重；然而，亦可設想低於或高於該示例性範圍之劑量。若該方案為連續輸注，則其可在每分鐘每公斤體重1pg至100mg之範圍內。

【0307】本發明之ISVD、多肽或構建體之使用濃度可為，例如0.01、0.1、0.5、1、2、5、10、20或50pg/ml以在藉由本技藝中眾所周知之方法分析時能抑制及/或中和至少約50%，較佳為75%，更佳為90%、95%或高達99%，且最佳為約100%(基本上完全)之ADAMTS5的生物學功能。

【0308】一般而言，該治療方案將包含在一或多個醫藥上有效量或劑量中投予本發明之一或多個ISVD、多肽及/或構建體，或包含彼等之一或多個組成物。臨床醫生可同樣地基於上文引用之因素決定欲投予之特定量或劑量。本發明之構建體、多肽及/或ISVD之有用劑量可藉由在動物模型中比較彼等之玻管內活性和體內活性來決定。用於將小鼠和其他動物中之有效劑量外推至人類的方法為本技藝所已知；例如，參見US 4,938,949。

【0309】一般而言，臨床醫師將能夠根據欲治療之特定疾病、病症或病況、欲使用之本發明的特定ISVD、多肽及/或構建體之效力、所使用之特定的投予途徑和該特定之醫藥配製劑或組成物來決定合適之給藥方案。

【0310】用於治療所需之本發明的構建體、多肽及/或ISVD之量將不僅隨所選擇之特定的免疫球蛋白、多

肽、化合物及/或構建體而變化，亦隨投予途徑、正接受治療之病況的性質及患者之年齡和病況而變化，且最終將由主治醫師或臨床醫師決定。本發明之構建體、多肽及/或ISVD之劑量亦根據標靶細胞、腫瘤、組織、移植物或器官而變化。

【0311】所需劑量可方便地以單一劑量或在適當之間隔投予之分割劑量(例如，每天二、三、四或更多個亞劑量)之形式呈現。亞劑量本身可被進一步分割成，例如多個在寬鬆間隔投予之離散的劑量。

【0312】投予方案可包括長期，每日治療。“長期”係指持續至少二週，且較佳為數週、數個月或數年。本技藝之一般技術人士可僅使用本文之教示內容中給予之例行實驗來決定在該劑量範圍內之必要修飾。參見Remington's Pharmaceutical Sciences (Martin, E.W., ed. 4), Mack Publishing Co., Easton, PA。在出現任何併發症之事件中亦可由個別醫生調整劑量。

【0313】在上述方法中，通常將使用本發明之ISVD、多肽及/或構建體。然而，組合使用二或多種本發明之ISVD、多肽及/或構建體係在本發明之範圍內。

【0314】本發明之ISVD、多肽及/或構建體可與一或多種其他醫藥上活性化合物或成分組合使用，即，為組合之治療方案形式，該組合之治療方案可能或可能不會導致協同效應。

【0315】該醫藥組成物亦可包含至少一種其他活性

劑，例如一或多種其他抗體或其抗原結合片段、肽、蛋白質、核酸、有機和無機分子。

【0316】同樣地，臨床醫生基於上文引用之因素及其專業判斷將能夠選擇該等其他化合物或成分，以及合適之組合治療方案。

【0317】特別地，本發明之ISVD、多肽及/或構建體可與其他用於或可用於預防及/或治療本文列舉之疾病、病症和病況，醫藥活性化合物或成分組合使用，其結果可能會或可能不會獲得協同效應。臨床醫生將清楚明白這些化合物和成分之實例，以及用於投予彼等之途徑、方法和藥物配製劑或組成物。

【0318】當使用二或多種物質或成分作為組合治療方案之一部分時，其可經由相同之投予途徑或經由不同之投予途徑，在基本上相同時間或不同時間投予(例如基本上同時、連續、或根據交替方案投予)。當物質或成分係經由相同之投予途徑同時投予時，本技藝之技術熟習人士將清楚明白它們可以不同之藥物配製劑或組成物或組合之藥物配製劑或組成物的一部分形式投予。

【0319】此外，當使用二或多種活性物質或成分作為組合治療方案之一部分時，每種物質或成分之投予量可為當單獨使用該化合物或成分時之相同量且根據相同方案投予，且該等組合使用可能會也可能不會導致協同效應。然而，當組合使用二或多種活性物質或成分而導致協同效果時，亦可能減少欲投予之一、多種或所有物質或成分之

量，而仍然取得所需之治療作用。此可例如，用於避免、限制或減少任何與使用為通常用量之一或多種物質或成分相關之不欲有的副作用，而仍然獲得所需之藥物或治療效果。

【0320】根據本發明所使用之治療方案之有效性可以臨床醫生所清楚明白之本質上為已知的任何用於所涉及之疾病、病症或病況的方式測定及/或依循。臨床醫生亦將能在適當之情況下且基於個別案例來改變或修改特定之治療方案，從而獲得所需之治療效果，以避免、限制或減少不欲有之副作用，及/或在一方面獲得所需之治療效果及另一方面避免、限制或減少不欲有之副作用之間達到適當的平衡。

【0321】一般而言，將依循治療方案直至獲得所需之治療效果及/或只要保持所需之治療效果。同樣地，此可以由臨床醫生決定。

【0322】因此，於進一步之面向中，本發明關於含有至少一種本發明之構建體、至少一種本發明之多肽、至少一種本發明之ISVD，或至少一種本發明之核酸和至少一種合適之載體、稀釋劑或賦形劑(即，適合藥物用途)及可選擇之一或多種其他活性物質之醫藥組成物。於一特別之面向中，本發明關於包含根據本發明之構建體、多肽、ISVD或核酸(較佳為至少一種SEQ ID NO：○○○)和至少一種合適之載體、稀釋劑或賦形劑(即，適合藥物用途)及可選擇之一或多種其他活性物質之醫藥組成物。

【0323】待治療之個體可為任何溫血動物，特別是哺乳動物，更特別的是人。在獸醫應用中，該待治療之個體包括為商業目的而飼養或飼養以作為寵物之任何動物。如本技藝之技術熟習人士所清楚明白者，待治療之個體將特別是患有本文提及之疾病、病症和病況或處於罹患風險下的人。因此，於本發明之一較佳之實施態樣中，包含本發明之多肽的醫藥組成物係用於醫學或診斷學。較佳地，該醫藥組成物係用於人類醫學，但其亦可用於獸醫目的。

【0324】同樣地，在該等醫藥組成物中，本發明之一或多種免疫球蛋白、多肽、化合物及/或構建體，或編碼彼等之核苷酸，及/或包含彼等之醫藥組成物亦可適當地與一或多種其他活性成分組合，諸如本文所提及者。

【0325】本發明亦關於在玻管內(例如在玻管內或細胞分析中)或體內(例如在單細胞或多細胞生物中，特別是在哺乳動物中，更特別的是在人體中，諸如在處於罹患本發明之疾病、病症或病況之風險中或罹患本發明之疾病、病症或病況之人類)使用之組成物(諸如，但不限於如本文進一步描述之醫藥組成物或製劑)。

【0326】應理解的是，除非另有明確說明，否則提及治療時係包括既定症狀之治療和預防性治療。

【0327】一般而言，在藥物用途方面，本發明之構建體、多肽及/或ISVD可配製成包含至少一種本發明之構建體、多肽及/或ISVD和至少一種醫藥上可接受之載體、稀釋劑或賦形劑及/或佐劑，和可選擇之一或多種醫藥上活

性之多肽及/或化合物的藥物製劑或組成物。非限制性實例有，該等配製劑可為適合口服投予、腸胃道外投予(諸如藉由靜脈內、肌肉內或皮下注射或靜脈內輸注)、局部投予、藉由吸入投予、藉由皮膚貼劑、植入物、栓劑，等之形式，其中腸胃道外投予為較佳者。該等合適之投予形式-根據投予之方式可為固體、半固體或液體-以及用於製備彼等之方法和載體將為本技藝之技術熟習人士所清楚明白且進一步描述於本文中。該等藥物製劑或組成物在本文中通常稱為“醫藥組成物”。

【0328】可提出之示例性賦形劑有崩解劑、黏合劑、填充劑和潤滑劑。崩解劑之實例包括瓊脂、褐藻膠、碳酸鈣、纖維素、膠體二氧化矽、樹膠、矽酸鋁鎂、甲基纖維素和澱粉。黏合劑之實例包括微晶型纖維素、羥甲基纖維素、羥丙基纖維素和聚乙烯吡咯啉酮。填充劑之實例包括碳酸鈣、磷酸鈣、三元硫酸鈣、羧甲基纖維素鈣、纖維素、糊精、右旋糖、果糖、乳糖醇、乳糖、碳酸鎂、氧化鎂、麥芽糖醇、麥芽糊精、麥芽糖、山梨糖醇、澱粉、蔗糖、糖和木糖醇。潤滑劑之實例包括瓊脂、油酸乙酯、月桂酸乙酯、甘油、棕櫚酸硬脂酸甘油酯、氫化植物油、氧化鎂、硬脂酸酯、甘露醇、泊洛沙姆、二醇、苯甲酸鈉、月桂基硫酸鈉、硬脂醯鈉、山梨糖醇和滑石。常用之穩定劑、防腐劑、潤濕劑和乳化劑、稠度改善劑、風味改善劑、用於改變滲透壓之鹽、緩衝物質、增溶劑、稀釋劑、潤膚劑、著色劑和掩蔽劑及抗氧化劑被考慮作為藥物佐

劑。

【0329】合適之載體包括，但不限於碳酸鎂、硬脂酸鎂、滑石、糖、乳糖、果膠、糊精、澱粉、明膠、黃蓍膠、甲基纖維素、羧甲基纖維素鈉、低熔點蠟、可可脂、水、醇、多元醇、甘油、植物油，等。

【0330】一般而言，本發明之構建體、多肽及/或ISVD可以本質上為已知之任何合適的方式配製和投予。可參考，例如上文引用之一般背景技藝(特別是參考WO 04/041862、WO 04/041863、WO 04/041865、WO 04/041867和WO 08/020079)及標準手冊，諸如Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Mack Publishing Company, USA (1990)、Remington, the Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, Lippincott Williams and Wilkins (2005)；或the Handbook of Therapeutic Antibodies (S. Dubel, Ed.), Wiley, Weinheim, 2007 (參見，例如第252-255頁)。

【0331】於一特別之面向中，本發明關於包含根據本發明之構建體、多肽、ISVD或核酸之醫藥組成物，且該醫藥組成物進一步包含至少一種醫藥上可接受之載體、稀釋劑或賦形劑及/或佐劑，且可選擇地包含一或多種其他醫藥上活性之多肽及/或化合物。

【0332】本發明之構建體、多肽及/或ISVD可以本質上為已知之用於習知抗體和抗體片段(包括ScFv和雙功能抗體)和其他醫藥上活性之蛋白質的任何方式配製和投

予。本技藝之技術熟習人士將清楚明白該等配製劑和用於製備彼等之方法，且例如，包括較適合腸胃道外給投予之製劑(例如靜脈內、腹膜內、皮下、肌肉內、腔內、動脈內、鞘內、鼻內或支氣管內投予)，但亦可用於局部(即，透皮或皮內)投予。

【0333】用於腸胃道外投予之製劑可為，例如適合用於輸注或注射之無菌溶液、懸浮液、分散液或乳液。用於該等製劑之合適載體或稀釋劑有，例如，包括，但不限於WO 08/020079之第143頁中所提及者。通常，水溶液或懸浮液為較佳者。

【0334】本發明之構建體、多肽及/或ISVD亦可使用從基因治療得知之遞送方法投予，參見，例如美國專利案第5,399,346號(其基因治療遞送方法以引用方式併入)。使用基因治療遞送方法，以編碼本發明之構建體、多肽及/或ISVD之基因轉染的初級細胞可另外以組織特異性啟動子轉染以靶向特定之器官、組織、移植物、腫瘤或細胞且可另外以用於亞細胞定位表現之信號和穩定序列轉染之。

【0335】根據本發明之進一步的面向中，本發明之多肽可用於體內和玻管內之另外的應用中。例如，本發明之多肽可用於診斷目的，例如在經過設計以用於檢測及/或定量ADAMTS5之存在及/或純化ADAMTS5之分析中。亦可在特定疾病和用於進行毒物學、安全性和劑量研究之動物模型中測試多肽。

【0336】最後，本發明關於包含至少一種根據本發明

之多肽，至少一種編碼該組分之核酸序列，本發明之載體或載體系統及/或根據本發明之宿主細胞的套組。據考量，該套組可以不同形式提供，例如為診斷套組之形式。

【0337】現在將藉由下列非限制性之較佳面向、實施例和圖形進一步描述本發明。

【0338】本專利申請案全文中引用之所有參考資料(包括文獻參考、授權之專利、發表之專利申請案和共同待審之專利申請案)的全部內容以引用方式明確地併入本文，特別是上文提及之教示內容。

【0339】序列揭示於說明書之主要部分及根據WIPO標準ST.25之單獨的序列表中。在說明書之主要部分和單獨之序列表中以特定數字具體指定之SEQ ID應該相同。舉例而言，SEQ ID no：1在說明書之主要部分和單獨之序列表中應定義相同之序列。若說明書主要部分與單獨之序列表中之序列定義之間存在差異(例如，若該說明書的主要部分中之SEQ ID no：1錯誤地對應單獨序列中之SEQ ID no：2)，則對該申請案(特別是特殊實施態樣)中之特定序列的引用應被理解為是對該申請案之主要部分中之序列的引用，而非對單獨之序列表的引用。換言之，在該說明書之主要部分和單獨之序列表中之序列定義/名稱之間的差異係經由將該單獨之序列表對該說明書之主要部分中所揭示的序列及其名稱進行修正，包括描述、實施例、圖形和申請專利範圍。

實施例 1 從不同物種產生重組 ADAMTS5 蛋白

【0340】使用 FuGENE®HD 轉染劑 (Promega)，經由 HEK293 Flp-In™ 表現系統在室內產生各種形式之牛、大鼠、天竺鼠、小鼠和食蟹猴重組 ADAMTS5 蛋白。轉染後二天，在細胞中加入含有 100 µg/ml 潮黴素 B (Hygromycin B) 之選擇培養基以選擇穩定表現之細胞。

【0341】將穩定表現之細胞擴增。每天從細胞收穫含有分泌出之 ADAMTS5 的條件培養基，藉由 HisTrap 色層分析法純化，再在 50 mM Hepes 緩衝液 pH 7.5 中進行緩衝液交換。藉由 SDS-PAGE 確認蛋白質之純度。

實施例 2 以 ADAMTS5 蛋白將美洲駝免疫化，選殖僅含重鏈之抗體片段庫並製備噬菌體

2.1 免疫化

【0342】在獸醫學院(比利時根特(Ghent)大學)之倫理委員會批准後，以重組人 ADAMTS5 蛋白 (R&D Systems，美國明尼阿波利斯；目錄編號 2198-AD) 將 3 隻美洲駝免疫化。

2.2 選殖僅含重鏈之抗體片段庫並製備噬菌體

【0343】在最後一次注射免疫原後，收集血液樣品。根據製造商之說明書 (Amersham Biosciences，美國紐澤西州 Piscataway)，使用 Ficoll-Hypaque 從這些血液樣品製備外周血單核細胞 (PBMC)。基本上依 WO 05/044858 中之描

述，從PBMC萃取總RNA並作為RT-PCR之起始材料以擴增編碼VHH/奈米抗體之DNA片段。接著，根據標準議定計劃(參見，例如先前技藝和本文中引用之由Ablynx N.V.提交之申請案)製備噬菌體並在過濾滅菌後儲存在4°C下以供進一步使用。

實施例3 由噬菌體顯示選擇人ADAMTS5特異性VHH

【0344】使用從所有美洲駝獲得並選殖在噬菌體集合庫中之VHH組庫來選擇與奈米抗體結合之ADAMTS5(R&D System，美國明尼阿波利斯；目錄編號2198-AD)，以5μg/ml固定在Maxisorp盤(Nunc，Wiesbaden，德國)上，接著為0μg/ml抗原之陰性對照組。在與噬菌體集合庫一起培育並大量洗滌後，以胰蛋白酶(1mg/mL)洗提經結合之噬菌體並用於感染大腸桿菌細胞。經感染之大腸桿菌細胞或是用來製備用於下一輪選擇之噬菌體或是平皿接種在瓊脂盤上以供分析。此外，在三個連續之選擇回合中使用合成之集合庫。

【0345】分析所有選擇輪次之輸出的富集因子，其為相對於對照組之存在於洗提物中之噬菌體的數量。選擇最佳選擇條件以用於進一步分析。

【0346】為了篩選特定結合物之選擇輸出，從瓊脂盤上挑取單一株落並令其在1mL之96深孔盤中生長。藉由添加IPTG來誘導由LacZ控制之VHH表現。根據標準議定方案來製備周質萃取物(參見，例如先前技藝和本文引用之

由 Ablynx N.V.提交的申請案)。

實施例 4 節選周質萃取物之功能型阻斷奈米抗體

【0347】在第一步驟中，藉由結合 ELISA 來測試週質萃取物與重組人 ADAMTS5 之結合。簡單地說，將濃度為 $1\mu\text{g/ml}$ 之重組人 ADAMTS5 (R&D Systems，美國明尼阿波利斯；目錄編號 2198-AD) 塗覆在 384 孔 MaxiSorp 盤 (Nunc，德國 Wiesbaden) 上。以酪蛋白溶液 (1%) 阻斷孔。添加周質萃取物之 10 倍稀釋液後，使用小鼠抗 Flag-HRP 共軛物 (Sigma，美國聖路易斯) 檢測奈米抗體結合並隨後在受質 esTMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) (SDT，比利時布魯塞爾) 之存在下進行酶催化反應。顯示出 ELISA 信號高於無關之奈米抗體對照組的平均信號總和且為無關之奈米抗體對照組的標準偏差之 3 倍的選殖株被認為編碼陽性之與人 ADAMTS5 結合之奈米抗體。

【0348】為了鑑定能夠防止由 ADAMTS5 介導之聚集蛋白聚醣裂解的奈米抗體，使用 50mM HEPES (pH 7.5)、100mM NaCl、5mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、0.1% CHAPS、5% 甘油作為分析緩衝液在基於 FRET 之人 ADAMTS5 酶催化性分析中測試選殖株。簡單地說，將含有與 ADAMTS5 結合之奈米抗體的周質萃取物在 384 孔 OptiPlate (PerkinElmer，美國麻薩諸塞州 Waltham) 中與 $10\mu\text{l}$ 之 $25\mu\text{M}$ 經淬滅的螢光人類肽受質 (Abz-TEGEARGSVI-Dap(Dnp)-KK-NH₂，Anaspec，比利時 Serain，目錄 # 60431-1) 和 $10\mu\text{l}$ 之 25nM 人 ADAMTS5 (R

& D Systems，美國明尼阿波利斯；目錄編號2198-AD)一起培育。在Tecan Infinite M1000分析儀上每分鐘監測奈米抗體防止由ADAMTS5介導之裂解的能力共2小時。使用Graphpad Prism軟體分析數據。從酶進展曲線測定陰性對照組之初始速度(v_0)及盤中之每個奈米抗體選殖株的速度(v_i)和背景信號(S_b)。使用公式 $100*(1-(v_i-S_b)/(v_0-S_b))$ 計算抑制百分比。

【0349】使用含有無關之奈米抗體的周質萃取物作為陰性對照組。含有相對於陰性對照組之信號，能夠降低螢光信號超過50%之ADAMTS5奈米抗體之周質萃取物被認為是抑制性奈米抗體。隨後測定陽性選殖株之DNA序列。

【0350】表4.1中顯示周質萃取物篩選數據之總結。表A-1中顯示抗ADAMTS5奈米抗體之胺基酸序列。

表4.1 含有抗ADAMTS5奈米抗體之周質萃取物的篩選結果

序列 ID	結合 ELISA	FRET 分析	
	(OD 450 nm)	vi (U/min)	% inh
2A02	1.646	2	91
2A12	1.745	-1	104
2C10	1.627	2	90
2D07	1.551	-1	104
2D12	1.354	2	90
2F03	1.842	-1	103
2G01	1.710	10	55
3B02	2.570	-1	105
3B03	2.295	2	93
3D01	2.573	-2	111
3D02	2.581	-2	111
7B11	0.368	2	90
9A05	ND	-3	113
9D03	ND	-2	110
9D09	ND	0	102
9D10	ND	-2	111
11B06	ND	-1	106
13E02	ND	0	99
3F04	2.555	19	8

【0351】在選殖和測序後，鑑定由其CDR具有差異，但顯示出類似之結合和抑制特徵之選殖株組成的各種家族。

【0352】在選殖和測序後，奈米抗體 02A12被鑑定為選殖株 09D03之家族成員(參見表 A-1和 A-2)。CDR區之序列變異性描述於下列表 4.1A、4.1B和 4.1C中。使用選殖株 09D03之CDR的胺基酸序列作為參考，將家族成員之CDR針對該選殖株 09D03之CDR的胺基酸序列進行比較(CDR1從 Kabat位置 26開始，CDR1從 Kabat位置 50開始且 CDR3從 Kabat位置 95開始)。

表 4.1A (09D03 CDR1)

09D03	CDR1*									
Kabat nm	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
絕對 nm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
wsm	G	S	A	V	S	V	N	A	M	A
		R	T	F		S	Y			G

* 在一個選殖株(SEQ ID NO : 22)中有至多6個CDR1突變

表 4.1B (09D03 CDR21)

09D03	CDR2*									
Kabat nm	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59
絕對 nm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
wsm	G	I	S	R	S	A	G	R	T	Y

* 在一個選殖株(SEQ ID NO : 36)中有至多0個CDR2突變

表 4.1C (09D03 CDR3)

09D03	CDR3*														
Kabat nm	95	96	97	98	99	100	100a								
絕對 nm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
wsm	D	L	D	P	N	R	I	F	S	R	D	E	A	A	Y

* 在一個選殖株(SEQ ID NO : 54)中有至多0個CDR突變

【0353】在選殖和測序之後，選殖株09A05被鑑定為選殖株03B02之家族成員(參見表A-1和A-2)。CDR區之序列變異性描述於下列表4.1D、4.1E和4.1F中。使用選殖株03B02之CDR的胺基酸序列作為參考，將家族成員之CDR針對該選殖株03B02之CDR的胺基酸序列進行比較(CDR1起始於Kabat位置26，CDR2起始於Kabat位置50且CDR3起始於Kabat位置95)。

表 4.1D (03B02 CDR1)

03B02	CDR1*									
Kabat nm	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
絕對 nm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
wsm	R	R	T	I	S	S	G	T	M	G

* 在一個選殖株(SEQ ID NO : 33)中有至多0個CDR1突變

表 4.1E (03B02 CDR2)

03B02	CDR2*									
Kabat nm	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59
絕對 nm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
wsm	A	I	R	W	S	S	G	M	P	Y
								I	T	F

* 在一個選殖株(SEQ ID NO : 50)中有至多3個CDR2突變

表 4.1F (03B02 CDR3)

03B02	CDR3*															
Kabat nm	95	96	97	98	99	100	100a									
絕對 nm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
wsm	D	R	S	A	F	R	D	P	S	F	D	V	N	Y	E	Y
	.	.	.		L						E					

* 在一個選殖株(SEQ ID NO : 68)中有至多2個CDR突變

【 0354 】 在選殖和測序之後，選殖株 03D02和 02C10 被鑑定為選殖株 03D01之家族成員(參見表 A-1和 A-2)。 CDR區之序列變異性描述於下列表 4.1G、4.1H和 4.1I中。使用選殖株 03D01之 CDR的胺基酸序列作為參考，將家族成員之 CDR針對該選殖株 03B02之 CDR的胺基酸序列進行比較(CDR1起始於 Kabat位置 26，CDR2起始於 Kabat位置 50 且 CDR3起始於 Kabat位置 95)。

表 4.1G (03D01 CDR1)

[illegible]

* 在一個選殖株(SEQ ID NO: 28)中有至多0個CDR1突變

表 4.1H (03D01 CDR2)

03D01	CDR2*										
Kabat nm	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	
絕對 nm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
wsm	A	I	S	R	S	R	G	T	T	Y	
				T	W			I	L		

* 在一個選殖株(SEQ ID NO: 44)中有至多3個CDR2突變

表 4.11 (03D01 CDR3)

[illegible]

* 在一個選殖株(SEQ ID NO: 62)中有至多1個CDR突變

【0355】上述結果證明某些胺基酸變異是可允許的，同時保留結合和抑制特性。值得注意的是，與ADAMTS5結合並非抑制ADAMTS5活性之預測因子。例如，選殖株3F04為強結合劑，但為弱抑制劑。

實施例5 純化之單價ADAMTS5奈米抗體的表徵

【0356】將從實施例4中描述之篩選中選出的選植株進一步表徵。當將所選定之奈米抗體在大腸桿菌(TG-1)中

轉化時，藉由加入 1mM IPTG 來誘導表現並允許在 37°C 下持續 4 小時。旋轉該細胞培養物後，藉由將該沈澱小丸冷凍融解來製備週質萃取物，接著離心。然後使用這些萃取物作為起始材料，經由 IMAC 在 HisTrap FF 粗 1ml 管柱 (GE healthcare，聯合王國白金漢郡) 上純化，再經由 Zeba 旋轉柱 (Pierce，美國伊利諾州洛克福) 脫鹽以在經由 SDS-PAGE 評估時產生至少 95% 純度。

5.1 在酶催化性 ADAMTS5 分析中評估 ADAMTS5 阻斷奈米抗體

【0357】基本上依實施例 4 中之描述在基於 FRET 之酶催化性分析中證實奈米抗體防止由 ADAMTS5 介導之聚集蛋白聚醣裂解的能力。使用 Graphpad Prism 軟體分析數據。從酶進展曲線，測定初始速度 (v_i) 並以抑制劑濃度之函數形式繪製這些數值及計算 IC_{50} 值。大體上，使用純化之奈米抗體進行之 FRET 分析證實實施例 4 中描述之以周質萃取物得到之結果。 IC_{50} 之範圍係介於 1.8E-09M 至 3.7E-08M。值得注意的是，儘管習知之 mAb 12F4 較單價奈米抗體具有稍佳之 1.0E-09M 之 IC_{50} ，所有奈米抗體均顯示出較佳之效力(數據未顯示)。

【0358】在基於 FRET 之分析後，使用生物素化之 43 聚體聚集蛋白聚醣寡肽作為受質進行基於 AlphaLISA (Perkin Elmer，美國麻薩諸塞州 Waltham) 之人 ADAMTS5 的分析。當 ADAMTS5 裂解該受質時，生物素化之 ARGSV

新抗原決定部位產物被釋出，該 ARGSV 新抗原決定部位產物可藉由鏈親和素-AlphaScreen 供體小珠和被捕捉在經塗覆抗小鼠 IgG 之 AlphaLISA 受體小珠上之抗新抗原決定部位 (“ARGSV”) 抗體導致在雷射激發時產生發光 AlphaScreen 信號來檢測。

【0359】為了測定奈米抗體之抑制潛力，將純化之奈米抗體的連續稀釋液(與陽性對照組和陰性之無關奈米抗體對照組一起)與人 ADAMTS5(R&D Systems，美國明尼阿波利斯；目錄編號 2198-AD)一起在 384 孔 Optiplate(Perkin Elmer，美國麻薩諸塞州 Waltham)中在室溫下培育 15 分鐘。加入生物素化之 43 聚體聚集蛋白聚醣寡肽受質(Biosyntan，德國柏林)並在 37°C 下培育 3 小時後，終止反應。藉由添加 5 μ l 之檢測溶液 1 來進行第一檢測步驟，該檢測溶液 1 包含針對新抗原決定部位 “ARGSV” 之聚集蛋白聚醣抗體、小鼠 BC3mAb(MDBioproducts，Egg，瑞士)和鏈親和素 AlphaScreen 供體小珠(Perkin Elmer)。在室溫下培育 1 小時後，加入 5 μ l 之包含抗小鼠 AlphaLISA 受體小珠(Perkin Elmer)之第二檢測溶液。將盤在室溫下，黑暗中培育 2 小時。藉由在 Envision Multi 標記分析儀(Envision Multi label Plate reader)(Perkin Elmer，美國麻薩諸塞州 Waltham)上讀取數值來進行測量。

【0360】為了測定奈米抗體防止由 ADAMTS5 介導之受質裂解的能力，以奈米抗體濃度之函數分析信號降低並計算 IC₅₀ 值。

【 0361】 結果總結於表 5.1 中。

表5.1 奈米抗體和參考化合物在人AlphaLISA酶催化性分析中之效力(IC50)和對ADAMTS5之抑制%。

化合物 ID	人 AlphaLISA	
	IC50 [M]	% inhibition
mAb 12F4 H4L0	6.5E-11	100
2F03	7.5E-11	100
11B06	1.0E-10	100
9D03	1.1E-10	100
2A12	1.5E-10	100
2D07	1.9E-10	100
3D02	2.2E-10	100
3B02	3.0E-10	100
9A05	3.2E-10	100
3D01	3.9E-10	96
2C10	4.5E-10	100
rhTIMP3	6.1E-10	100
2D12	6.9E-10	100
9D10	9.7E-10	100
13E02	2.2E-09	100
9D09	2.6E-09	100
7B11	3.6E-09	100
2A02	4.3E-09	99
3B03	1.2E-08	100
MSC2310852A	1.4E-07	99

【 0362】 在 AlphaLISA 分析中，至少三種單價奈米抗體 (2F03、11B06和 9D03)顯示出與習知之 mAb 12F4具有類似之 IC₅₀值，而其餘者具有更高之數值。然而，所有奈米抗體顯示出接近 100%抑制。值得注意的是，其 IC₅₀值較 mAb 12F04高至少 100倍之奈米抗體 3B03仍然具有 100%抑制。

5.2 在牛外植體分析中評估ADAMTS5阻斷奈米抗體

【 0363】 在體外分析中評估奈米抗體阻斷軟骨降解之能力，進行牛外植體分析，在該體外分析中，與生化分析

相比較，該受質係以較接近生理狀況之狀況呈現。簡單地說，從牛膝關節新鮮製備牛軟骨外植體片(直徑4mm)並在IL-1 α 之存在下培育在96孔盤中以誘導軟骨降解。為了測量軟骨/聚集蛋白聚醣降解，培育5天(37℃，7.5%CO₂)後經由異染染料1,9二甲基亞甲基藍(在633nm處發射)檢測釋入上清液中之GAG。包含硫酸軟骨素作為分析標準。藉由不含化合物之由IL-1 α 誘導之對照組(0%)及在MSC2310852A之存在下(100%效果)定義效力。

結果總結於表5.2中。

表5.2 來自牛外植體分析中之單價奈米抗體的IC₅₀值。

ID	IC50 [M]	實驗 ID*
mAb 12F4 H4L0	3.2E-06	exp A
2F03	1.4E-08	exp A
11B06	4.80E-08	exp C
9D03	5.9E-08/2.7E-07	exp G/ exp F
2A12	2.40E-08	exp C
02D07	3.30E-08	exp C
3D02	8.80E-07	exp F
3B02	1.40E-07	exp D
9A05	5.10E-07	exp F
3D01	2.2E-08/1.3E-07	exp D/ exp G
2D12	8.00E-07	exp D
2A02	2.40E-06	exp D

*結果僅能在使用相同外植體，具有同一實驗ID之一個分析中比較

5.3 抗原決定部位分組

【0364】在Biacore T100儀器上進行基於SPR之“夾心分析”以將ADAMTS5奈米抗體分至不同的抗原決定部位組中。為此，使用EDC和NHS化學，經由胺偶合將各抗ADAMTS5奈米抗體固定在CM5傳感器晶片上。在捕捉100nM ADAMTS5之步驟後，將濃度為1 μ M之純化的奈米

抗體各自在單一循環中注射且不回收，表面接觸時間為120秒且流速為45μL/min。使用Biacore T100評估軟體來處理曲線並評估與捕獲之ADAMTS5是否有(不同組)或無(同組)另外之結合。

【0365】奈米抗體可分為二組：一個大組(“第1組”)，其包含所有具有相似或重疊抗原決定部位之抑制性奈米抗體，和第二組，其包含結合可識別ADAMTS5上之不同抗原決定部位的非功能性奈米抗體3F04(“第2組”)。

表 5.3 總結測試之奈米抗體的結合抗原決定部位。

表5.3 抗ADAMTS5奈米抗體之抗原決定部位” 組別									
第1組	2A02	2A12	2C10	2D07	2D12	2F03	2G01	3B02	3B03
	3D01	3D02	7B11	9A05	9D03	9D09	9D10	11B06	13E02
第2組	3F04								

5.4 物種交叉反應性

【0366】在Biacore T100儀器上經由基於SPR之解離速率分析初次評估物種之交叉反應性。測試奈米抗體與人、食蟹猴(“cyno”)、天竺鼠、小鼠和牛ADAMTS5之結合。為此，使用EDC和NHS，經由胺偶聯將重組ADAMTS5固定在CM5晶片上。注射濃度為100nM之純化的奈米抗體2分鐘，並允許以45μl/min之流速離解15分鐘。使用BIA評估軟體將1：1交互作用模型(Langmuir模型)擬合至個別解離曲線上來測定各個別奈米抗體的解離速率。在各個實驗中測定人ADAMTS5之解離率作為參考。

結果總結於表5.4A中。

表5.4A單價抗ADAMTS5奈米抗體之物種交叉反應性數據的概述

奈米抗體 ID	基於SPR之對ADAMTS5的解離速率, kd(1/s)						
	實驗 1			實驗 2		實驗 3	
	人	食蟹猴	天竺鼠	人	小鼠	人	牛
2F03	3.3E-05	2.2E-05	3.4E-05	6.5E-05	2.9E-04	9.7E-05	4.3E-05
11B06	1.7E-04	1.4E-04	1.7E-04	2.7E-04	5.3E-04	3.8E-04	2.4E-04
9D03	9.8E-04	9.2E-04	1.0E-03	1.2E-03	3.7E-03	1.4E-03	9.9E-04
2A12	1.4E-04	1.0E-04	1.2E-04	2.3E-04	4.4E-04	3.1E-04	1.7E-04
2D07	1.1E-03	9.8E-04	1.1E-03	9.4E-04	1.8E-03	1.0E-03	6.2E-04
3B02	7.3E-04	7.4E-04	1.0E-03	8.5E-04	2.0E-03	1.2E-03	1.1E-03
3D01	2.3E-04	2.0E-04	2.7E-04	3.2E-04	6.4E-04	4.6E-04	3.5E-04

【0367】對於每個測試之奈米抗體，所有測試之物種均觀察到類似之解離速率。

【0368】此外，食蟹猴和天竺鼠 ADAMTS5 之交叉反應性亦可大致上依實施例 5.1 中之描述使用 AlphaLISA 進行效力測定來解決，但使用生物素化之食蟹猴 43-聚集蛋白聚醣寡肽受質和生物素化之天竺鼠 43-聚集蛋白聚醣寡肽受質。為了測定奈米抗體防止由 ADAMTS5 介導之受質裂解的能力，以奈米抗體濃度之函數形式分析信號降低情形並計算 IC₅₀ 值。

所得之效力總結在表 5.4B 中。

表5.4B單價抗ADAMTS5奈米抗體之物種交叉反應性數據概述

奈米抗體 ID	效力 (IC50, M) AlphaLISA		
	人	食蟹猴	天竺鼠
2F03	7.5E-11	8.1E-11	3.0E-10
11B06	1.0E-10	1.2E-10	3.5E-10
9D03	1.1E-10	1.2E-10	1.3E-10
2A12	1.5E-10	1.9E-10	5.3E-10
2D07	1.9E-10	1.5E-10	3.6E-10
3B02	3.0E-10	1.9E-10	4.6E-10
3D01	3.9E-10	2.2E-10	3.5E-10

【0369】所有奈米抗體和對照化合物均以類似之效力阻斷人和食蟹猴ADAMTS5。在天竺鼠AlphaLISA中，最有效之奈米抗體顯示出較在人AlphaLISA中略低之效力，但這很可能是由於酶濃度增加而導致分析靈敏度較低之結果。

【0370】藉由使用Biacore T100之基於SPR的親和力測定來評估奈米抗體2A12、2F03、093和049之大鼠交叉反應性。亦測定對人ADAMTS5之親和力作為參考。此外，使用EDC和NHS化學，經由胺偶聯將大鼠和人ADAMTS5固定在CM5晶片上。注射不同濃度(1至1000nM)之純化的奈米抗體2分鐘並令其以45μl/min之流速離解25分鐘。使用BIA評估軟體(1：1交互作用)從傳感圖計算動力學常數。

【0371】如表5.4C所示，所有測試之奈米抗體均對人ADAMTS5和大鼠ADAMTS5具類似之親和力。半衰期延長

之奈米抗體 069(參見下文)的親和力類似於其單價對應物(其為奈米抗體 049)之親和力，這表明在C端加入 ALB11對親和力沒有影響。與半衰期延長之奈米抗體 069的親和力相比較，半衰期延長之雙互補位(biparatopic)奈米抗體 130對二種物種之親和力都較高(對人 ADAMTS5為 15倍，對大鼠 ADAMTS5為 10倍)(表 5.4C)。

表5.4C對人ADAMTS5和大鼠ADAMTS5親和力之概述

ID	描述	KD (nM)	
		人 ADAMTS5	大鼠 ADAMTS5
2A12		1.9	1
2F03		1.6	0.7
093	3F04 (N100,Q)	4.9	5.3
049	11B06 (N52S)	3.5	1.7
069	049-35GS-ALB11	2.7	1.3
130	049-35GS-093-35GS-ALB11	0.18	0.13

5.5 抑制MMP-1和MMP-14活性

【 0372 】 為了證實奈米抗體對 ADAMTS5之選擇性，使用各別之酶進行基於 FRET之分析來評估對 MMP-1和 MMP-14之酶催化活性的抑制作用。簡單地說，將活化之人 MMP-1或 MMP-14在室溫下與 10μl之奈米抗體系列稀釋液一起培育 30 分鐘。培育後，分別加入 20μl之 5μM或 2.5μM的螢光肽受質 (Mca-PLGL-Dpa-AR-NH2螢光 MMP受質 (R&D Systems 目錄編號 ES001))。在 Tecan Infinite M1000分析儀上，在 37℃ 下每分鐘監測奈米抗體防止由 MMP-1和 MMP-14介導之裂解的能力2小時。

所得之滴定曲線顯示於第1圖中。

【0373】儘管天然抑制劑TIMP2和TIMP3抑制MMP-1和MMP-14活性，但測試之奈米抗體均未顯示出抑制作用。

5.6 對人ADAMTS4活性之抑制作用

【0374】為了評估對人ADAMTS4之抑制作用，基本上依實施例5.1中之描述進行類似於人ADAMTS5 AlphaLISA之分析，但使用人ADAMTS4(R & D Systems，美國明尼阿波利斯；目錄編號4307-AD)。為了測定奈米抗體防止由人ADAMTS4介導之受質裂解的能力，以奈米抗體濃度之函數形式分析信號減低之情形並計算IC₅₀值。

結果顯示於第2圖中。

【0375】儘管小分子MSC2310852A抑制人ADAMTS4活性，但測試之奈米抗體或mAb 12F4均未顯示出抑制活性。WO2011/002968中描述單株抗體12F4(H4L0)對ADAMTS4具有選擇性。

實施例6 奈米抗體之格式化

6.1 剔除N-糖基化模體

【0376】在格式化之前將存在於奈米抗體11B06(位置N52)和奈米抗體3F04(位置N110f)中之N-糖基化模體剔除。藉由NNK密碼子集合庫將這些位點隨機處理。由於這些位置係位於CDR中，因此模體突變可能影響結合特徵。因此，大致上依實施例5.4中之描述，使用Biacore T100儀

器，藉由基於 SPR 之解離速率分析在人 ADAMTS5 上篩選集合庫中不會影響結合特性之可能的取代。

【0377】令人驚訝地，藉由絲胺酸取代奈米抗體 11B06 中之胺基酸 N52 和藉由麩胺醯胺取代奈米抗體 3F04 中之胺基酸 N100_F 不會影響結合(數據未顯示)。

【0378】因此，使用奈米抗體 049(=11B06(N52S)) 和 093(3F04(N100_F Q)) 作為用於進一步格式化之構建塊來分別代表奈米抗體 11B06 和 3F04(參見表 A-1)。

6.2 產生格式化之奈米抗體

【0379】為了產生半衰期延長之阻斷人 ADAMTS5 聚集蛋白聚醣酶活性之奈米抗體構建體，將奈米抗體 2A12、2D07、2F03、049、9D03 和 3B02 與抗人血清白蛋白(HSA)-奈米抗體 ALB11(參見表 6.3)融合。此外，亦從來自不同結合抗原決定部位的二個奈米抗體之組合(第 1 組成員和第 2 組成員之組合)產生 ALB11 半衰期延長之構建體。在巴斯德畢赤酵母中表現經格式化之奈米抗體構建體，使其分泌入培養基中並在 Poros MabCaptureA 蛋白 A 小珠 (Applied Biosystems，荷蘭 Bleiswijk，目錄編號 4374729) 上進行親和力純化。確認奈米抗體構建體之完整性。

6.3 有和無 HSA 存在時 AlphaLISA 中之效力

【0380】依實施例 5.1 中之描述，在 AlphaLISA 中測試格式化之奈米抗體構建體。另外，藉由在過量 HSA(最終

濃度 4.2μM)之存在下進行實驗來解決 HSA 結合對奈米抗體效力之影響。

【0381】所有半衰期延長之奈米抗體構建體的 IC₅₀ 值列於表 6.3 中。

表6.3 在AlphaLISA中測定之經格式化的奈米抗體構建體(+/- HSA) 之效力

奈米抗體 ID	描述	IC50 (M)	
		- HSA	+ HSA
004	2A12-35GS-ALB11	1.3E-10	1.1E-10
005	2D07-35GS-ALB11	2.9E-10	3.4E-10
006	2F03-35GS-ALB11	7.0E-11	9.2E-11
069	049-35GS-ALB11	6.9E-11	9.8E-11
070	9D03-35GS-ALB11	4.1E-10	6.0E-10
071	3B02-35GS-ALB11	2.8E-10	4.1E-10
129	2F03-35GS-093*-35GS-ALB11	1.1E-10	ND
130	049 ² *-35GS-093-35GS-ALB11	9.7E-11	ND
131	9D03-35GS-093-35GS-ALB11	8.1E-11	ND

奈米抗體 ID	IC50 (M)
	- HSA
2A12	1.5E-10
2D07	1.9E-10
2F03	7.5E-11
049	1.0E-10
9D03	1.1E-10
3B02	3.0E-10

ND = 未測定; 093* = 3F04 (N100Q); 049²* = 11B06 (N52S)

結果表明，ALB11格式化和 HSA 結合均不影響奈米抗體構建體之效力。

6.4 與HSA結合

【0382】在 Biocore T100 上經由 SPR 測定 ALB11 奈米抗體對 HSA 之親和力。為此，經由胺偶聯將 HSA 固定在 CM5 晶片上並基本上依實施例 5.3 中描述處理。亦測定單價 ALB11 之親和力作為參考，該單價 ALB11 之親和力為 3.2nM。

結果總結於表 6.4 中。

表6.4 HLE奈米抗體構建體對HSA之親和力

ID 來自 FNb*	KD (nM)		
	FNb-ALB11	FNb-093 ³ *-ALB11	FNb-ALB11-093
2F03	46	66	52
049 ² *	40	55	40
2A12	27	ND	ND

ND = 未測定 ; *FNb = 功能性奈米抗體 ; 049²* = 11B06 (N52S); 093³* = 3F04 (N100fQ)

【 0383 】 所有半衰期延長之 ADAMTS5 奈米抗體構建體具有類似之親和力(參見表 6.4)，該親和力低於單價 ALB11對HSA之親和力。

6.5 使用KinExA測定對人ADAMTS5之親和力

【 0384 】 在 KinExA3000 儀器 (Sapidyne，美國 Boise) 上，藉由動態排阻分析在溶液中測定經格式化之奈米抗體構建體 069(049-35GS-ALB11)和奈米抗體構建體 130(049-35GS-093-ALB11)(亦參見表 6.5)之親和力。為此，根據製造商之說明(詳細描述於 Darling and Brault(2004 Assay Drug Dev Technol.2：647-57)中)將人 ADAMTS5 與 PMMA 小珠偶聯。將固定濃度之奈米抗體構建體 (50pM 之奈米抗體構建體 069 或 5pM 之奈米抗體構建體 130) 添加至範圍在 2nM 至 0.2pM 之人 ADAMTS5 的系列稀釋液中並在室溫下培育 16 小時直至達到平衡。隨後，將混合物經由 KinExA 之自動採樣器注射在裝填有與人 ADAMTS5 軀合之 PMMA 小珠的管柱上以捕獲小珠上之游離奈米抗體構建體，並以經 Alexa647 標記之 HSA 檢測。將游離奈米抗體構建體之百分比以滴定之人 ADAMTS5 的函數作圖並使用 KinExA Pro 軟

體 v3.2.6 擬合。

結果顯示於表 6.5 中。

表6.5 經由KinExA測定之2種奈米抗體構建體與人ADAMTS5結合之親和力

奈米抗體	描述	KD (pM)
069	049*-35GS-ALB11	20.4
130	049-35GS-093*-ALB11	1.2

049* = 11B06 (N52S); 093²* = 3F04 (N100_fQ)

【 0385 】 與 奈 米 抗 體 構 建 體 069 相 比 較 ， 所 觀 察 到 之 奈 米 抗 體 構 建 體 130 之 親 和 力 約 高 20 倍 。 這 些 數 據 證 實 奈 米 抗 體 構 建 體 130 對 人 ADAMTS5 之 親 和 結 合 。

實施例 7 奈米抗體之序列優化(SO)

【 0386 】 將 示 例 性 奈 米 抗 體 2F03 、 奈 米 抗 體 049(11B06(N52S))和 奈 米 抗 體 093(3F04(N100_fQ))進 行 序 列 優 化 處 理 。 序 列 優 化 為 其 中 令 親 本 奈 米 抗 體 序 列 發 生 突 變 之 過 程 且 該 過 程 涵 蓋 下 列 群 組 之 人 化 過 程 (i) 奈 米 抗 體 和 剔 除 轉 譯 後 修 飾 (ii) 以 及 可 能 預 先 存 在 之 抗 體 的 抗 原 決 定 部 位 (iii) 亦 令 奈 米 抗 體 ALB11 發 生 突 變 以 剔 除 可 能 預 先 存 在 之 抗 體 的 抗 原 決 定 部 位 。

(i)為了人化目的，令親本奈米抗體序列發生突變以產生與人IGHV3-IGHJ種系共有序列更為一致之奈米抗體序列。將奈米抗體和人類IGHV3-IGHJ種系共有序列彼此之間相異之框架區域中的特定胺基酸(除了所謂之標記殘基之外)改變成人類對應物，改變之方式需保持蛋白質結構、活性和穩定性完整。已知極少數之標記殘基對奈米抗體之穩定性、活性和親和力具關鍵性，因此不會發生突

變。

(ii) 將存在於 CDR 中且有實驗證據表明它們對轉譯後修飾 (PTM) 敏感之胺基酸加以改變，改變之方式為使 PTM 位點被去活化但蛋白質結構、活性和穩定性仍保持完整。

(iii) 將奈米抗體之序列優化，但不影響蛋白質結構、活性和穩定性以將任何天然產生之預先存在之抗體的結合最小化並降低引起治療緊急性致免疫反應之可能性。

【0387】為了產生序列經優化之格式化奈米抗體構建體 581 和奈米抗體構建體 579，經由 35GS 連接子連接各別構建塊。分別產生奈米抗體構建體 581 (2F3^{SO} -35GS 連接子 -Alb11) 和奈米抗體構建體 579 (2F3^{SO} -35GS 連接子 -093^{SO} -35GS 連接子 -Alb11) (參見表 A-1)。在畢赤酵母 (*Pichia pastoris*) 中產生為無標籤蛋白之構建體並經由蛋白 A 親和層析法純化，然後脫鹽。確認奈米抗體構建體之完整性。

7.1 對人 ADAMTS5 之親和力

【0388】依實施例 6.5 中之描述使用 KinExA 測定奈米抗體構建體 581 (2F3^{SO} -35GS 連接子 -Alb11) 之親和力，但對該描述之方案做一些小修改。將固定濃度之 20pM 的奈米抗體構建體 581 與人 ADAMTS5 之系列稀釋液 (範圍在 20nM 和 0.32pM 之間的 2.2 倍系列稀釋液和不含 ADAMTS5 之空白組) 一起培育。為了測試白蛋白之干擾，在選定之實驗中將 HSA 加入該與人 ADAMTS5 之預先培育物中，濃度為其對奈米抗體構造體 581 之 KD 的 100 倍。培育該混合物

並使其達到平衡 24 小時，再經由 KinExA 自動採樣器注射入裝填有與人 ADAMTS5 軛合之 PMMA 小珠的管柱上。使用可識別奈米抗體構建體 581(由 Ablynx 產製)之經 AF647 標記的抗奈米抗體工具來檢測捕獲之奈米抗體構建體 581。

結果呈現於表 7.1 中。

表7.1 具有和不具有HSA時奈米抗體構建體581對人ADAMTS5之親和力

+ or - HSA	K _D (pM)	95%CI on K _D (pM)
- HSA (n=3)	3. 65 (CV 20%)	2.27 – 5.86
+ HSA (n=3)	4.84 (CV 22%)	3.45 – 6.80

【0389】結果顯示在沒有 HSA 之情況下奈米抗體構建體 581 對人 ADAMTS5 之親和力為 3.65pM，具有 HSA 時為 4.84pM。

7.2 對血清白蛋白之親和力

【0390】依實施例 5.3 中之描述，使用 SPR 測定奈米抗體構建體 581(2F3^{SO} -35GS 連接子 -Alb11)中之 ALB11 構建塊對人、食蟹猴、天竺鼠、小鼠和大鼠血清白蛋白(SA)之親和力。

結果顯示於表 7.2 中。

表7.2 奈米抗體構建體581與人、食蟹猴、天竺鼠、小鼠和大鼠血清白蛋白之結合親和力(K_D, nM)

奈米抗體ID	人SA	食蟹猴SA	天竺鼠SA	小鼠SA	大鼠SA
581	48	51	420	790	> 7500*

* 解離速率超出檢測限制 :> 5.0E-01 (1/s)

7.3 預先Ab結合

【0391】在 ProteOn XPR36 儀器上經由 SPR 技術篩檢來自 3 個相關供體血清樣品組之奈米抗體構建體 581(2F3^{SO} -

35GS 連接子 -Alb11)和奈米抗體構建體 579(2F3^{SO}-35GS 連接子 -093^{SO}-35GS 連接子 -Alb11)之預先存在的抗體(預先 Ab)結合，該3個相關供體血清樣品組係來自健康個體之樣品、OA樣品和偏差樣品組(其具有已知之與其他奈米抗體結合的殘留之預先抗體結合)。分析血液樣品與被捕捉在 HSA上之抗 ADAMTS5奈米抗體構建體的結合。藉由在125秒(結合結束後5秒)設置報告點，在雙重參考傳感圖之後測定預先存在之抗體結合水準。以 ProteOn manager3.1(Bio-Rad Laboratories，Inc.)進行分析。

結果顯示於第3圖中。

【0392】二種奈米抗體構建體均具有低度殘留之預先 Ab結合水準，奈米抗體構建體 581清楚顯示出具有最少之殘留的預先抗體結合。

7.4 在人AlphaLISA中之功能

【0393】基本上依實施例 5.1中之描述，使用人 ADAMTS5，以奈米抗體構建體 581(2F3^{SO}-35GS 連接子 -Alb11)進行 AlphaLISA。

結果顯示於表 7.4中。

表7.4 藉由AlphaLISA測定之奈米抗體構建體581之效力(pM)。

樣品	IC50 (pM)	95% CI (pM)
mAb 12F4H4L0	120	102 - 140
581	188	157 - 226

結果顯示於奈米抗體構建體 581之效力為 188pM。

7.5 樹突細胞-T細胞分析中之免疫原性分析

【 0394 】 在樹突細胞-T細胞增殖分析中測定相對免疫原性。基本上，針對一組 50個健康供體細胞樣品測試奈米抗體，該健康供體細胞樣品含有最豐富之第 II 類HLA等位基因，因此代表全球大多數人群。使用T細胞增殖作為抗藥物抗體形成之替代標記來評估免疫反應。使用匙孔血藍蛋白 (KLH)作為陽性對照組。陽性對照 KLH在所有 50個捐獻者中均產生陽性反應。測試之供體無一為奈米抗體構建體 581(2F3^{SO}-35GS連接子 -A1b11)陽性。奈米抗體構建體 579(2F3^{SO}-35GS連接子 -093^{SO}-35GS連接子 -A1b11)在三個供體或 6%中產生陽性反應。在空白條件下(僅培養基)，50名捐獻者中有 2名(或 4%)被發現呈陽性反應。使用這些結果設定 50個供體中超過 3個的總反應閾值，相當於 >6%之總反應閾值。當顯著性百分比，陽性反應≤6%，測試之奈米抗體的總體免疫原性潛力被認為是低的(參見表 7.5)。

表7.5 在DC-T細胞分析中測定之免疫原性剖析結果

測試樣品	# 陽性反應	免疫原性潛力
Blank	2 (4%)	/
KLH	50 (100%)	/
581	0 (0%)	Low
579	3 (6%)	Low
對照奈米抗體	1 (2%)	Low

7.6 與人ADAMTS1結合

【 0395 】 在結合 ELISA 中測試與人 ADAMTS1 之結

合。簡單地說，將18.5nM之人ADAMTS1(R&D Systems，美國明尼阿波利斯；目錄編號2197-AD)和人ADAMTS5(R&D Systems，美國明尼阿波利斯；目錄編號2198-AD)塗覆在384孔MaxiSorp盤(Nunc，德國Weisbaden)上。以酪蛋白溶液(1%)阻斷孔並在二種塗層蛋白質上測試奈米抗體構建體581(2F3^{SO}-35GS連接子-Alb11)和抗-人ADAMTS1 mAb(R&D系統，美國明尼阿波利斯；目錄編號MAB2197)之系列稀釋液的結合。分別以識別奈米抗體構建體581之與HRP軛合的抗奈米抗體工具(由Ablynx產製)和與HRP軛合之抗小鼠抗體(Abcam，英國劍橋)檢測後，隨後在受質esTMB(3,3',5,5'-四甲基聯苯胺)(SDT，比利時布魯塞爾)之存在下進行酶催化反應，在OD450nm進行測量。

【0396】在人ADAMTS5上觀察奈米抗體構建體581及在人ADAMTS1上觀察抗人ADAMTS1 mAb之劑量反應曲線，結果顯示出奈米抗體構建體581不與人ADAMTS1結合。

7.7 與人ADAMTS4和ADAMTS15結合

【0397】在結合ELISA中測試與人ADAMTS4和ADAMTS15之結合(參見第4B圖)。簡單地說，將1μg/mL之人ADAMTS4(R&D Systems，美國明尼阿波利斯；目錄編號4307-AD)或人ADAMTS15(R&D Systems，美國明尼阿波利斯；目錄編號5149-AD)以1μg/mL塗層在96孔Maxisorp ELISA盤(Nunc，德國Wiesbaden)一整夜。以SuperBlock

T20(PBS)(Thermo Scientific Pierce；目錄編號37516)阻斷該盤後，將奈米抗體構建體581(“C011400581”)或陽性對照組抗ADAMTS4 mAb(R&D Systems，美國明尼阿波利斯；目錄編號#MAB4307)或陽性對照組抗ADAMTS15 mAb(R&D Systems，美國明尼阿波利斯；目錄編號MAB5149)之劑量反應曲線從1 μ M開始施加於經塗層之盤上並在室溫下培育1小時。以識別奈米抗體構建體581之生物素化的抗奈米抗體工具(由Ablynx產製)檢測經結合之C011400581奈米抗體，同時以生物素化之山羊抗小鼠pAb(Jackson Immuno Research；目錄編號115-065-062)檢測陽性對照mAb。二者均使用鏈親和素-HRP作為二級檢測工具(Thermo Scientific Pierce；目錄編號21126)。然後藉由添加sTMB令盤可視化(SDT，比利時布魯塞爾)。在分析稀釋劑(= PBS+10% Superblock+0.05% Tween20)中製備所有稀釋液和檢測工具。2.5分鐘後經由加入1M HCl終止顯色反應。在450nm 處測量光密度，以620nm作為參考波長。

7.8 經由KinExA親和力測定之物種交叉反應性

【0398】依實施例7.1中之描述，使用KinExA測定奈米抗體構建體581(2F3^{SO}-35GS連接子-Alb11)對數種物種ADAMTS5之親和力。在所有物種方面，製備與人ADAMTS5軀合之PMMA小珠並用於捕獲如上述之游離奈米抗體構建體581。使用識別奈米抗體構建體581之經AF647標記之抗奈米抗體工具(由Ablynx產製)檢測捕獲之

奈米抗體構建體581。結果顯示於表7.7中。

表7.7 奈米抗體構建體581對食蟹猴、大鼠、小鼠和牛之ADAMTS5的親和力

物種 ADAMTS5	K _D (pM)	95%CI on K _D (pM)
食蟹猴 Monkey (n=1)	2.22	0.88 – 4.76
大鼠(n=1)	2.77	1.48 – 5.07
小鼠(n=1)	2.81	0.30 – 11.42
牛 (n=1)	7.66	3.33 – 19.88

實施例8 在人類外植體分析中之效力

【0399】基本上依實施例5.2之描述在體外分析中評估奈米抗體構建體581(2F3^{SO}-35GS連接子-Alb11)阻斷軟骨降解之能力，但現在在人類外植體分析中進行。簡單地說，從人膝關節新鮮製備人軟骨外植體片(直徑4mm)，並在10ng/ml IL-1 α 之存在下在96孔盤中培育以誘導軟骨降解。作為軟骨/聚集蛋白聚醣降解之量度，培育(37℃，7.5%CO₂)7天後，經由異染染料1,9-二甲基亞甲基藍(在633nm處發射)檢測釋入上清液中之GAG。包括硫酸軟骨素作為分析標準。藉由IL-1 β 和OSM誘導之不含化合物的對照組及在MSC2310852A之存在下定義效力。CRB0017為將用於第I期臨床試驗(Rottapharm)中之抗ADAMTS5 mAb。

結果總結於第5圖和表8中。

表8

化合物	分析	IC50 GAG [μ M]
581	人	0.0025-0.0079
581	牛	0.035
CRB0017	牛	0.33

【0400】在人類外植體分析中，奈米抗體顯示出高效

力和100%抑制軟骨降解(GAG損失)。如表8所示，在牛外植體分析中，奈米抗體較CRB0017至少好10倍。

實施例9 在牛共同培養模型中調節C2M、C3M和exAGNX1

【0401】在牛共同培養系統中調查奈米抗體構建體581(在圖中為“581”)對GAG釋出和含量、C2M(膠原蛋白II降解標記物、C3M(膠原蛋白III降解標記物)和exAGNX1(特徵為新抗原決定部位TEGE之聚集蛋白聚醣降解標記物)的影響。在該共同培養系統中，將來自牛膝蓋之軟骨外植體與來自相同動物之滑膜一起培育28天。培養7天後檢測到GAG釋出最多(第6A圖)。以三種濃度測試奈米抗體構建體581：1nM、10nM、100nM。軟骨外植體與滑膜一起培育導致GAG釋出增加。奈米抗體構建體581抑制GAG釋出(第6B圖)。

【0402】與GAG釋出一致，對軟骨外植體之剩餘GAG含量的分析(木瓜蛋白酶分解後)透露出與單獨之外植體相比較，外植體與滑膜共同培育後GAG含量降低(第6C圖)。

【0403】與GAG釋出之分析並行，測量作為聚集蛋白聚醣降解之特異性標記物的exAGNX1釋出。當將軟骨外植體與滑膜一起培育時，曲線下面積分析(AUC)顯示出強烈誘導exAGNX1釋出。此外，奈米抗體構建體581以濃度依賴性方式抑制exAGNX1釋出，在100nM之581時完全抑制(第7圖)。

【0404】為了測定奈米抗體構建體581對共同培養系統中之軟骨的膠原蛋白網絡之影響，測定作為膠原Ⅱ降解之標記物C2M。與聚集蛋白聚醣網絡降解之標記物(GAG和exAGNx1)相比較，C2M在第14天和第21天之間開始增加。在共同培養系統中培育奈米抗體構建體581可抑制C2M釋出(第8圖)。

【0405】測定滑膜炎之另外的標記物C3M(即，膠原蛋白第Ⅲ型降解標記物)。C3M釋出之時程分析指明C3M在14天後開始增加，在第21天達到峰值。以所有三種濃度之奈米抗體構建體581處理時均可抑制C3M(第9圖)。

實施例10 抑制NHP中之聚集蛋白聚醣酶活性

【0406】在食蟹猴(一種非人靈長類動物(NHP)模型)中評估奈米抗體建體581(2F3^{SO}-35GS連接子-Alb11；“C011400581”)在體內抑制聚集蛋白聚醣酶活性之能力。簡單地說，藉由皮下途徑每週對3隻雄性和3隻雌性食蟹猴群組投予一次劑量水準為6、30或150 mg/kg(s.c.)之奈米抗體構建體581共4週。以載劑(即，20mM組胺酸、8%蔗糖、0.01%吐溫20，pH 6.0)治療伴隨之對照組。

【0407】藉由在從數個時間點收集之血清樣品上測定聚集蛋白聚醣降解片段的水準來測量對聚集蛋白聚醣酶活性之抑制，該聚集蛋白聚醣降解片段之特徵為血清中存有新抗原決定部位ARGS。所有經奈米抗體構建體581治療之動物顯示出類似之特徵，即，ARGS水準在第一次給藥時

降低且在48小時至120小時之間達到接近或低於該分析之測量範圍的下限(LLMR)(0.08nM)之非常低水準。隨後，該ARGS水準顯示出在LLMR附近或以下持續最大降低，且在4週之研究結束時未回復至基線。

第10圖中顯示結果之概述。

【0408】總之，ADAMTS5特異性奈米抗體在全身性投予後與標靶接合並在所有測試之劑量水準下有效調節體內之ARGS新抗原決定部位水準。再者，相對於先前技藝之mAb，未觀察到與測試項目有關之病理性心律失常。此外，在以任何測試劑量水準之奈米抗體治療之雄性和雌性猴中未被注意到任何與測試相關之ST段上升之證據。

實施例11 抑制軟骨退化

【0409】為了進一步評估奈米抗體和奈米抗體構建體在體內抑制軟骨退化之能力，使用小鼠DMM(內側半月板去穩定化)模型。簡單地說，以手術方式將內側半月板不穩定化。在誘導DMM前3天(預防性)或誘導DMM後3天(治療性)經由皮下投予各種濃度之示例性奈米抗體構建體581(2F3^{SO}-35GS連接子-A1b11)。治療8週後，處死動物並取出膝蓋。將膝蓋包埋在石蠟塊中，切片並用甲苯胺藍染色。隨後，對切片的幾個參數進行評分，包括內側軟骨退化總和。

結果顯示於第11圖中。

【0410】結果顯示出在DMM小鼠模型中以奈米抗體

進行之預防性和治療性治療(sc)均具有高達50%之結構效益。

實施例 12 大鼠外科手術OA模型中之症狀益處

【0411】為了評估奈米抗體建立症狀益處之能力，使用大鼠外科手術OA模型。簡單地說，以ACLT和tMx手術處理大鼠以在第0天誘導OA。在ACLT和tMx外科手術模型(以內側半月板切除術擴展前十字韌帶橫切面)中從第3天開始每隔一天經由皮下投予奈米抗體構建體581。每週經由步態分析(基於CatWalk)及減少之關節直徑來測定症狀效益。

結果顯示於第12圖中。

【0412】在成年雄性大鼠(Lister Hooded；平均體重 $346\pm 20\text{g}$)中藉由前十字韌帶橫斷(ACLT)+在右膝關節處切除內側半月板(tMx)手術誘導骨關節炎(在第0天)。在手術後第3天開始以載體或測試項目治療(sc)且每隔一天持續治療至第42天。該健康對照組沒有外科手術干預但在與給藥組相同之時間點接受sc載劑。(A) 以“超過載劑之%效益”計算隨時間推移之步態紊亂。“健康+安慰劑”組之平均值=100%效益。“ACLT tMx +載劑”組之平均值=0%效益。(B) 治療開始後所有調查時間點之平均“超過載劑效益”。所顯示者為14至15隻大鼠/組之平均值 $\pm$ SEM。*=以單因子ANOVA和Dunnett氏計算之 $p < 0.05$ 。

【0413】以奈米抗體進行之早期治療在ACLT+TMX誘

導之OA期間引起劑量依賴性，顯著和有意義之症狀效益。

實施例 13 在食蟹猴中之毒性研究

【0414】在食蟹猴中進行為期4週之亞慢性毒性研究以獲得關於奈米抗體之全身毒性、局部耐受性和安全性藥理學之信息。經由皮下注射將示例性奈米抗體構建體581(2F3^{SO}-35GS連接子-Alb11)給予3隻雄性和3隻雌性食蟹猴(*Macaca fascicularis*)之群組(每週一次經由皮下途徑投予6、30或150mg/kg之劑量至背部區域共4週)。以載劑，20mM組胺酸、8%蔗糖、0.01%吐溫20 pH 6.0治療伴隨之對照組。

【0415】在任何測試之劑量水準下均無令人注意之與測試項目相關之局部不耐受跡象。在任何動物，任何劑量水準下均無令人注意之與測試項目相關之行為、體重、食物消耗、血液學和生化參數、淋巴細胞類型、CRP水準、尿液分析參數、眼科和聽覺功能以及器官重量的影響(數據未顯示)。在屍檢時之宏觀檢查和組織病理學檢查均未揭露在檢查之任何動物中、在任何測試之劑量水準下有任何局部或全身器官變化與測試項目有關。

【0416】由於據報導mAb 12F4顯示出局灶性心內膜出血，血壓呈無可逆性之劑量依賴性增加及心臟傳導異常(ST段升高和室性心律失常)(Larkin, *et al.*, *The highs and lows of translational drug development: Antibody-mediated*

inhibition of ADAMTS-5 for osteoarthritis disease modification, OARSI conference 2014: Paris ; Renninger et al., Identification of Altered Cardiovascular Function Produced by a Novel Biologic Compound in a Stand Alone Safety Pharmacology Primate Study, in SPS meeting, 2013)，在動物中進行採用EMKA系統的廣泛性非侵入性遙測。

【0417】在任何動物中，任何劑量水準下之遙測參數(使用非侵入性EMKA系統)中均無任何令人注意之與測試項目相關的影響。特別是，在以任何測試之劑量水準之奈米抗體治療的雄性和雌性猴中均未觀察到病理性心律不整且沒有與任何測試項目有關之ST-升高之證據(數據未顯示)。

這些研究證實ADAMTS5特異性奈米抗體可被認為是安全的。

實施例 14 體內大鼠MMT模型DMOAD研究

【0418】為了證明與本發明之CAP結合劑融合之ADAMTS5抑制劑在體內之效力，使用大鼠中之由外科手術誘導之內側半月板撕裂(MMT)模型。簡單地說，將抗ADAMTS5奈米抗體與CAP結合物偶聯(以奈米抗體構建體C010100954或奈米抗體構建體954表示)。為大鼠在單膝進行手術以誘導OA樣症狀。在手術後3天藉由IA注射開始治療。在手術後第42天執行組織病理學。採取中期和末期血

清樣品以用於探索性生物標記物分析。測定內側和總實質軟骨退化寬度及軟骨退化的減少百分比。每組使用20隻動物。

內側脛骨中之軟骨下缺損顯示於第13圖中。

【0419】結果證明，與載劑相比較，42天後ADAMTS5-CAP構建體實質上減少軟骨寬度。這些結果進一步表明

(a) CAP部分對抗ADAMTS5奈米抗體之活性沒有負面影響；

(b) CAP部分能夠保留抗ADAMTS5奈米抗體；和

(c) 該抗ADAMTS5奈米抗體對軟骨寬度具有正面效果，即使當與CAP部分偶聯。

實施例 15

【0420】方法：將來自四隻動物之牛軟骨外植體(BEX)及來自八個手術置換之膝關節(HEX)和一個健康人膝關節(hHEX)的人軟骨外植體在單獨之培養基(w/o)中，在促炎細胞因子(制瘤素 M(oncostatin M) [10 ng/mL]+TNF α [20 ng/mL](O+T))或 O+T加示例性奈米抗體構建體581(2F3^{SO}-35GS連接子-Alb11)[1 μ M-1 nM]之存在下培養長達21天。將來自乳牛之軟骨和滑膜(bCC)和來自4個置換之骨關節炎之人膝關節(hCC)在單獨之培養基(w/o)中，具有O+T或O+T加上示例性奈米抗體構建581(2F3^{SO}-35GS連接子-Alb11)[1 μ M-0.6nM]之存在下離體共同培養長達28天。

使用活組織鑽孔器將軟骨切成相同大小之外植體。藉由手術刀將滑膜切成相同大小(30mg[±3mg])之外植體。藉由Alamar Blue評估外植體之代謝活性。使用酶聯免疫吸附分析(ELISA)評估軟骨組織更新以測量在條件培養基中良好表徵之降解(huARGS、exAGNxI、C2M)和形成(ProC2)的生物標記物。ProC2和C2M分別為第Ⅱ型膠原蛋白之形成和降解代謝物，而exAGNxI和huARGS為ADAMTS-5降解之聚集蛋白聚醣的代謝物。報告平均值和平均值之標準誤差(SEM)。使用單因子變異數分析(ANOVA)加Dunn氏多重比較檢驗或二因子變異數分析(ANOVA)加Dunnnett多重比較試驗進行統計分析(假設正常分佈)。

【0421】結果：BEX、HEX和bCC之代謝活性在整個培養期間保持穩定，然而與w/o組相比較，在以O/T處理之條件中，hCC和hHEX之代謝活性從第14天開始顯著下降。在以O+T刺激之培養物中，ADAMTS-5降解之聚集蛋白聚醣代謝物在培養的第一周內達到峰值，除了hHEX之外，其中huARGS和exAGNxI之後稍微增加。以O+T刺激之第Ⅱ型膠原蛋白降解，C2M在第19天達到峰值。與w/o對照組相比較，第Ⅱ型膠原蛋白形成物Pro-C2在整個培養過程中均保持相對穩定。

【0422】以示例性奈米抗體構建體581(2F3^{S0}-35GS連接子-A1b11)組合O+T劑量之治療在第5天以劑量依賴方式降低BEX(最高劑量：8% O+T)、HEX(最高劑量：40% O+T)、bCC(最高劑量：10% O+T)、hCC(最高劑量：40% O

+ T)和hHEX(最高劑量：24% O+T)中之huARGS(第14圖)。基於huARGS減少之示例性奈米抗體構建體581(2F3^{SO}-35GS連接子-A1b11)之IC50範圍係從BEX中之300nM至HEX、hHHEX、bCC和hCC中之<15nM(第14圖)。在測試之培養中，示例性奈米抗體構建體581(2F3^{SO}-35GS連接子-A1b11)對exAGNx1之效果與對huARGS之效果相似。示例性奈米抗體構建體581(2F3^{SO}-35GS連接子-A1b11)亦顯著減少C2M(第Ⅱ型膠原蛋白降解之標記物)且係以劑量依賴方式，儘管效果低於對聚集蛋白聚醣降解標記物之效果。示例性奈米抗體構建體581(2F3^{SO}-35GS連接子-A1b11)在任何測試之條件下均顯示出對第Ⅱ型膠原蛋白形成代謝物Pro-C2沒有影響。

【0423】結論：此處，吾人已證明示例性奈米抗體構建體581(2F3^{SO}-35GS連接子-A1b11)具有軟骨保護作用，因其在牛和人軟骨離體培養物之促炎條件下及軟骨和滑膜之共同培養物中以劑量依賴方式抑制由ADAMTS-5介導之聚集蛋白聚醣降解和由MMP介導之第Ⅱ型膠原蛋白降解。2F3^{SO}-35GS連接子-A1b(SEQ ID NO：129)為本發明之較佳實施態樣之一。

表A-1 單價和多價抗ADAMTS5奈米抗體之名稱和簡短描述(“ID”)、SEQ ID NO：s(“SEQ”)及胺基酸序列

ID	SEQ	序列
2A02	5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRRTFSSYVMAWFRQAPGKEREFVAAISRSGDSTYYYDSLEGRFTIS RDNAKNTVHLQMNSLKPEDTAVYICAASRAPSFRTIDAINYYDYWGQGTLLTVSS
2A12	1	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKERDFVAGISRAGRTYYVDSVKGRFTIS RDSAKNTVYLMNRLKPEDTAVYYCAADLDPNRFISRDEAAYWGQGTLLTVSS
2C10	9	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCATSGFTFSPYYMGWFRQAPGKERDFVAAITRSRGTTYLDSTEGRFTIS RDNAKNTMYLQMNSLNPEDTAVYYCAAGRSPGDPSRTYLYEYWGQGTLLTVSS
2D07	6	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCSFSGPGRTFARYAMGWFRQAPGKNRDFITGISGSGDSTYYVPMKDRFT ISRDNAKNMVYLMNALKPEDTAVYYCAADREINRIANDKELDFWGQGTLLTVSS
2D12	4	EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTFSTYFVGWFRQAPGKERDFVAAISRNGARTYYDSVAGLFTIS RDNAKNTVYLMSSLKPEDTAVYYCAAARISPSDPSNEDGYDYWGQGTLLTVSS
2F03	2	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTVSSYAMGWFR LAPGKEREFVAGISRSAERTYYVDSLKGRFTIS RDSAKNTVYLMHNRLKPEDTAVYYCAADLDPNRFISREEYAYWGQGTLLTVSS
2G01	7	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTTFSSYAMGWFRQAPGKERAFVATIWSGGLTVYADSAKGRFTIS RDNAKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCAAEAVGTYTTPDGWTYWGQGTLLTVSS
3B02	16	EVQLVESGGGFVQAGGSLRLSCVASRRTISSGTMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSSGMPYYLDSVMDRFTIS RDNAKNTVSLQMNSLQPEDTAVYYCAADRSAFRDPSPFDVNYEYWGRTLLTVSS
3B03	13	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGSDVVVNDMGWYRQAPGKQREL VADITTGGRITNYADSVKGRFTISR DNVKN TVYLMNSLKPEDTAVYYCNAQVGDSDDDVWYAYWGQGTLLTVSS
3D01	10	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAPSGFTFSPYYMGWFRQAPGKERDFVAAISRSGTTYLDSTEGRFTIS RDNANDTVYLMNSLNPEDTAVYYCAAGRSPGDPSRTYLYDYWGQGTLLTVSS
3D02	11	EVQLVESGGGLVQAGASLRLSCATSGFTFSPYYMGWFRQAPGKERDFVAAISWSRGILYYTDSTEGRFTIS RDNAKNTMYLQMDNLNPEDTAVYYCAASRSPGDPSRTYLYDYWGQGTLLTVSS
7B11	14	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVAAIISGGRTNYADSVKGRFTISR DNSKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCNAEVDAGIYAYGYWGQGTLLTVSS

9A05	17	EVQLVESGGGFVQAGGSLRLSCAASRTISSGTMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSSGITFYPDSEVGRFTIS GDNAKNTVSLQMNLSLKPEDTAVYYCAADRSALRDPSEFVNIEYWGRTLVTVSS
9D03	3	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSASVSNAMAWYRQAPGKQRFVAGISRSAGRTYYTDSVKDRFTIA RDSAKNTVYLQMNRLKPEDTAVYYCAADLPNRIFSRDEAAYWGQGLTVTVSS
9D09	15	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGLTFSSYTMGWFRQAPGQEREFVSAISWNTFTTYYVDSVKDRFTVS RDNAKNTLYLRMNSLKPEDTAVYYCAAAGGSPRQHEPYEYRVWGQGLTVTVSS
9D10	12	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRALSSSIMGWFRQAPGKEREFVAAITWSSGRAYADVSDFEKGRF TISRDNKNTVNLQMKGLKPEDTAVYYCAAALAIPTMTSPHEYPYWGQGLTVTVSS
11B06	8	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGLTFRRNAMGWFRQAPGKERELLAGINWSSGGTTYVDSVKGRFTIS RDNAKNTVDLQMISPKPEDTAVYYCAADGDIGTLVNDENPRYWGGQGLTVTVSS
13E02	18	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGSIFSIDAMGWYRQAPGKERELVASVTTGASPNYGDSTGRFTASR DRAKNALYLQMNLSLKPEDTAVYYCNLIMTIPGGSQIMYWGGQGLTVTVSS
3F04	19	EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCVASGRYPMAWFRQAPGKEREFVAGVSWGGDRTYADSVQGRFTVSRDYA KNTLYLQMNLSLKPEDAAVYYCAGDPWGRLEFRVKDNYSDWGQGLTVTVSS
構建體 049 11B06:N52	117	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGLTFRRNAMGWFRQAPGKERELLAGISWSSGGTTYVDSVKGRFTIS RDNAKNTVDLQMISPKPEDTAVYYCAADGDIGTLVNDENPRYWGGQGLTVTVSS
構建體 093 3F04:N100 fQ	116	EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCVASGRYPMAWFRQAPGKEREFVAGVSWGGDRTYADSVQGRFTVSRDYA KNTLYLQMNLSLKPEDAAVYYCAGDPWGRLEFRVKDQYSDWGQGLTVTVSS
構建體 004 2A12- Alb	120	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKERDFVAGISRSAGRTYYVDSVKGRFTIS RDSAKNTVYLQMNRLKPEDTAVYYCAADLPNRIFSRDEAAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGS GSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGLTVTVSS
構建體 005 2D7- Alb	121	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCSFSGPGRTFARYAMGWFRQAPGKNRDFITGISGSGDSTYYVPMKDRFT ISRDNAKNMVYLQMNALKPEDTAVYYCAADREINRIANDKELDFWQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGG GGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSIS GSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGLTVTVSS
構建體 006 2F3- Alb	122	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTVSSYAMGWFRAPGKEREFVAGISRSAERTYYVDSLKGRFTIS RDSAKNTVYLHMNRLKPEDTAVYYCAADLPNRIFSREEYAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGS GSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGLTVTVSS
構建體 069 049- Alb	123	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGLTFRRNAMGWFRQAPGKERELLAGISWSSGGTTYVDSVKGRFTIS RDNAKNTVDLQMISPKPEDTAVYYCAADGDIGTLVNDENPRYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGS GSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGLTVTVSS

構建體 070 9D3- Alb	124	EVQLVESGGGLVQSGGSLRLSCAASGSAVSVMAMAWYRQAPGKQRDFVAGISRAGRTYYTDSVKDRFTIA RDSAKNTVYLMNRLKPEDTAVYYCAADLDPNRIFSRDEAAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGS GSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSS
構建體 071 3B2- Alb	125	EVQLVESGGGFVQAGGSLRLSCVASRRTISSGTMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSSGMPYYLDSVMDRFTIS RDNAKNTVSLQMNSLQPEDTAVYYCAADRSAPRDPSPDVNIEYWGRTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGG GGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGS SGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSS
構建體 129 2F3- 093-Alb	126	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTVSSYAMGWFRAPGKEREFVAGISRSAERTYYVDSLKGRFTIS RDSAKNTVYLMNRLKPEDTAVYYCAADLDPNRIFSREYAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCVASGRYPMAWFRQAPGKEREFVAGVSWGGDRT YYADSVQGRFTVSRDYAKNTLYLQMNSLKPEDAAYVYACAGDPWGRLFRVKDQYSDWGQGLTVTVSSGGGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAP GKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVT VSS
構建體 130 049- 093-Alb	127	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGLTFRNAMGWFRQAPGKERELLAGISWGGTYYVDSVKGRFTIS RDNAKNTVDLQMISPKPEDTAVYYCAADGDIQTLVNDENPRYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCVASGRYPMAWFRQAPGKEREFVAGVSWGGDRT YYADSVQGRFTVSRDYAKNTLYLQMNSLKPEDAAYVYACAGDPWGRLFRVKDQYSDWGQGLTVTVSSGGGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAP GKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVT VSS
構建體 131 9D3- 093-Alb	128	EVQLVESGGGLVQSGGSLRLSCAASGSAVSVMAMAWYRQAPGKQRDFVAGISRAGRTYYTDSVKDRFTIA RDSAKNTVYLMNRLKPEDTAVYYCAADLDPNRIFSRDEAAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCVASGRYPMAWFRQAPGKEREFVAGVSWGGDRT YYADSVQGRFTVSRDYAKNTLYLQMNSLKPEDAAYVYACAGDPWGRLFRVKDQYSDWGQGLTVTVSSGGGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAP GKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVT VSS
構建體 577=581 2F3*-Alb	129	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTVSSYAMGWFRQAPGKEREFVAGISRSAERTYYVDSLKGRFTIS RDNSKNTVYLMNSLRPEDTALYYCAADLDPNRIFSREYAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGS GSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSA
構建體 579 2F3*- 093*-Alb	130	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTVSSYAMGWFRQAPGKEREFVAGISRSAERTYYVDSLKGRFTIS RDNSKNTVYLMNSLRPEDTALYYCAADLDPNRIFSREYAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRYPMAWFRQAPGKEREFVAGVSWGGDRT YYADSVKGRFTISRYSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCAGDPFGRLFRVKDQYSDWGQGLTVTVSSGGGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAP GKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGLTVT VSSA

* SO (序列优化的)版本

表A-2：CDR和框架，加上如式I中提供之較佳組合，即FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4之序列(下列術語：“ID”係指該指定之SEQ ID NO)

ID	奈米抗體	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
1	02A12	72	EVQLVESGGGLVQ20 AGGSLRLSCAAS	20	GRTFSSYAMG	85	WFRQAPGK36 ERDFVA	36	GLSRSAAGTY	95	YDVSVKGRFTISRDSAKNTV YLQMNRLKPEDTAVYYCAA	54	DLDPNRIFSRDEAA Y	114	WGQGTLL VTVSS
2	02F03	72	EVQLVESGGGLVQ21 AGGSLRLSCAAS	21	GRTVSSYAMG	86	WFRQAPGK37 ERDFVA	37	GISRSAERTY	96	YVDSLKGRFTISRDSAKNTV YLHMNRLLKPEDTAVYYCAA	55	DLDPNRIFSRDEAA Y	114	WGQGTLL VTVSS
3	09D03	73	EVQLVESGGGLVQ22 SGGSLRLSCAAS	22	GSAVSNVAMA	87	WYRQAPGK36 QREFVA	36	GISRSAAGTY	97	YTDVSKDRFTIARDNAKNTV YLQMNRLKPEDTAVYYCAA	54	DLDPNRIFSRDEAA Y	114	WGQGTLL VTVSS
4	02D12	74	EVQLVESGGGLVQ23 AGDLSRLSCAAS	23	GRTFTSYFVG	85	WFRQAPGK38 ERDFVA	38	ALSRNGARTY Y	98	YDSVAGLFTISRDNKNTV LQMSLLKPEDTAVYYCAA	56	ARISPDPSNEDGY DY	114	WGQGTLL VTVSS
5	02A02	75	EVQLVESGGGLVQ24 PGGSLRLSCAAS	24	RRTFSSYVMA	88	WFRQAPGK39 ERDFVA	39	ALSRSGDSTY	99	YYDSLEGRFTISRDNKNTV HLQMNLSLKPEDTAVYYCAA	57	SRAPSPRTIDAINY YDY	114	WGQGTLL VTVSS
6	02D07	76	EVQLVESGGGLVQ25 AGGSLRLSCSFS	25	GPGRTFARYAM G	89	WFRQAPGK40 NRDFIT	40	GISGSGDSTY	100	YVYPMKDRFTISRDNKNTV YLQMNRLKPEDTAVYYCAA	58	DREINRIANDKELD F	114	WGQGTLL VTVSS
7	02G01	72	EVQLVESGGGLVQ26 AGGSLRLSCAAS	26	GRTTFSSYAMG	90	WFRQAPGK41 ERAFVA	41	TIWSGGLTV	101	YADSAKGRFTISRDNKNTV YLQMNLSLKPEDTAVYYCAA	59	EAVGYTTPDGMTY Y	114	WGQGTLL VTVSS
8	11B06	72	EVQLVESGGGLVQ27 AGGSLRLSCAAS	27	GLTFERNAMG	91	WFRQAPGK42 ERELIA	42	GINWSGGTTY	102	YDVSVKGRFTISRDNKNTV DLQMSLKPEDTAVYYCAA	60	DGDIGTLVNDENPR Y	114	WGQGTLL VTVSS
117 49	11B06:NE2S	72	EVQLVESGGGLVQ27 AGGSLRLSCAAS	27	GLTFERNAMG	91	WFRQAPGK119 ERELIA	119	GISWSGGTTY	102	YDVSVKGRFTISRDNKNTV DLQMSLKPEDTAVYYCAA	60	DGDIGTLVNDENPR Y	114	WGQGTLL VTVSS
9	02C10	77	EVQLVESGGGLVQ28 AGGSLRLSCATS	28	GFTFSPYYMG	85	WFRQAPGK43 ERDFVA	43	AITRSRGTTY	103	YLDSTEGRFTISRDNKNTM YLQMNLSLKPEDTAVYYCAA	61	GRSPGDPSTYLYE Y	114	WGQGTLL VTVSS
10	03D01	78	EVQLVESGGGLVQ28 AGGSLRLSCAPS	28	GFTFSPYYMG	85	WFRQAPGK44 ERDFVA	44	ALSRSRGTTY	104	YLDSTEGRFTISRDNANDTV YLQMNLSLKPEDTAVYYCAA	62	GRSPGDPSTYLYD Y	114	WGQGTLL VTVSS
11	03D02	79	EVQLVESGGGLVQ28 AGASLRLSCATS	28	GFTFSPYYMG	85	WFRQAPGK45 ERDFVA	45	ALSWSRGILY	105	YTDSTEGRFTISRDNKNTM YLQMDNLNLPEDTAVYYCAA	63	SRSPGDPSTYLYD Y	114	WGQGTLL VTVSS
12	09D10	72	EVQLVESGGGLVQ29 AGGSLRLSCAAS	29	GRALSSSIMG	88	WFRQAPGK46 ERDFVA	46	AITWSGGRAY YAD	106	VSDFEKGRFTISRDNKNTV NLQMKGLKPEDTAVYYCAA	64	ALAIPVTMSPHEYP Y	114	WGQGTLL VTVSS
13	03B03	80	EVQLVESGGDLVQ30 PGGSLRLSCAAS	30	GSDVVVNDMG	92	WYRQAPGK47 QRELVA	47	DITTGGRIN	107	YADSVKGRFTISRDNKNTV YLQMNLSLKPEDTAVYYCNA	65	QVGSDDDVVWYAY Y	114	WGQGTLL VTVSS
14	07B11	75	EVQLVESGGGLVQ31 PGGSLRLSCAAS	31	GSIFSINVMG	92	WYRQAPGK48 QRELVA	48	ALISGGRIN	108	YADSVKGRFTISRDNKNTV YLQMNLSLKPEDTAVYYCNA	66	EVDAGIYAYGY Y	114	WGQGTLL VTVSS
15	09D09	72	EVQLVESGGGLVQ32 AGGSLRLSCAAS	32	GLTFSSYTMG	93	WFRQAPGQ49 EREFVS	49	ALSNWTFTTY	109	YDVSVKDRFTISRDNKNTL YLRMNLSLKPEDTAVYYCAA	67	AGGSPRQHEPYEYR V	114	WGQGTLL VTVSS
16	03B02	81	EVQLVESGGGFVQ33 AGGSLRLSCVAS	33	RRTISSGTMG	88	WFRQAPGK50 ERDFVA	50	ALRWSSGMPY	110	YLDVSMRFTISRDNKNTV SLQMNLSLKPEDTAVYYCAA	68	DRSAFRDPDFVNY EY	115	WGRGTL VTVSS
17	09A05	82	EVQLVESGGGFVQ33 AGGSLRLSCAAS	33	RRTISSGTMG	88	WFRQAPGK51 ERDFVA	51	ALRWSSGITFF	111	YDPSVEGRFTISGNKNTV SLQMNLSLKPEDTAVYYCAA	69	DRSALRDPSEFVNY EY	115	WGRGTL VTVSS
18	13E02	83	EVQLVESGGGLVQ34 AGGSLRLSCVAS	34	GSIFSIDAMG	94	WYRQAPGK52 ERELVA	52	SVTTGASPN	112	YGDVSTGRFTASDRKAKNAL YLQMNLSLKPEDTAVYYCNL	70	IMTIPGGSQIMY Y	114	WGQGTLL VTVSS

ID	奈米抗體	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
19	03F04	84	EVQLVESGGGVSQ35 AGGSLRLSCVAS	35	GRYPMA	88	WFRQAPGK53 EREFVA	53	GVSWGGRDRTY	113	YADSVQGRFTVSRDYAKNTL YLQMNSLKPEDAAVYYCAG	71	DPWGRLFRVKDNYS D	114	WGQGTL VTVSS
116	93 (3F04 N100FQ)	84	EVQLVESGGGVSQ35 AGGSLRLSCVAS	35	GRYPMA	88	WFRQAPGK53 EREFVA	53	GVSWGGRDRTY	113	YADSVQGRFTVSRDYAKNTL YLQMNSLKPEDAAVYYCAG	118	DPWGRLFRVKDQYS D	114	WGQGTL VTVSS

表B混合之胺基酸序列：名稱和簡短描述(“ID”)、SEQ ID NO：s(“SEQ”)及胺基酸序列(“序列”)

物種	SEQ ID	胺基酸序列
人 ADAM-TS5 Q9UNA0-1	149	MLLGWASLLLCAPRLPLAAVGPAAATPAQDKAGQPPTAAAAAQPRRRQGEVQERAEPPGHPHPLAQRRRSKGLVQNI DQLYSGGGKVGYLVYAGGRRFLDLERDGSVGTAGFVPAGGGTSAPWRHRSCHFYRGTVDGSFSLAVFDLCGGLDG FFAVKHARYTLKPLLRGPWAEEEKGRVYDGSARILHVYTRREGFSFEALPPRASCETPASTPEAHEHAPAHNSPSGR AALASQLLDQSALSPAGGSGPQTWWRRRRSISRARQVELLLVADASMARLYGRGLQHLYLLTLASIANRLYSHASIE NHIRLAVVKVVVLGDKDKSLEVSNAATTLKNFCKWQHQNQLGDDHHEHYDAAILFTREDLCGHHSCTILGMADVG TICSPERSCAVIEDDGLHAAFTVAHEIGHLLGLSHDDSKFCEETFGSTEDKRLMSSILTSIDASKPWSKCTSATITE FLDDGHGNCLLDLPRKQILGPEELPGQTYDATQQCNLTFGPEYSVCPGMDVCARLWCAVVRQGMVCLTKKLP TPCGKGRICLQGKCVDKTKKKYYSTSSHGNWGSWGSWGQCSRSCGGGVQFAYRHCCNNPAPRNNGRYCTGKRAIYRSC SLMPCPPNGKSFREHCEAKNGYQSDAKGVKTFVVEVVPKYAGVLPADVCKLTCTRAKGTGYVVVFSPKVTDGTGTCRLY SNSVVCVRGKCVRTGCDGIIIGSKLQYDKCGVCGGDNSSCTKIVGTFNKKSKGYTDVVRIPEGATHIKVRQFKAQKQTR FTAYLALKKKNGEYLINGKYMISTSETIIDINGTMNYSGWSHRDDFLHGMGYSATKEILIVQILATDPTKPLDVRY SFFVPKKSTPKVNSVTSHGNSNKVGSITSQPQWVTGPWLACSRCTCDTGWHTRTVQCQDGNRKLAKGCPLSQRPSAFKQ CLLKKC
牛 (AA 殘基 1-626)	150	MLLGWAALMLCALRLPPVAAAGPTAAPAQDKAGQPRAAAVAAAAQPRRRGEEAQEPAEPPGHPHPLAPQGRSGRLVQ NIDQLYSGGGKVGYLVYAGGRRFLDLERDDSVGAAGLVPAAGGPNATRRHRGHCFYRGTVDGSFSLAVFDLCGGLD DGFFAVKHARYTLQPLLRGPWAEAEADARVYGDDESARILHVYTRREGFSFEALPPRTSCETHASPPGARERPPAPSP DGRWALAPQQLPGQSAPSSDGSQGPRTWWRRRRSISRARQVELLLVADASMARMYGRGLQHLYLLTLASIANRLYSH ASIHENHIRLVVVKVVVLGDKDKSLEVSNAATTLKNFCKWQHQNQLGDDHHEHYDAAILFTREDLCGHHSCTILGM ADVGTICSPERSCAVIEDDGLHAAFTVAHEIGHLLGLSHDDSKFCEENFGSTEDKRLMSSILTSIDASKPWSKCTSA TITEFLDDGHGNCLLDLPRKQIPGPEELPGQTYDASQQCNLTFGPEYSVCPGMDVCARLWCAVVRQGMVCLTKKLP AVEGTPCGKGRICLQGKCVDKTKKKYYSTSSHGNWGSWGSWGQCSRSCGGGVQFAYRHCCNNPAPRNNGRYCTGKRAI YRSCSVTPCPHHHHHHHHHH
大鼠 (AA 殘基 1-619)	151	MRLEWASLLLLLLLLCASCLALAADNPAAAPAQDKTRQPRAAAAAQPDQRQWEEBQERGHQPOLARQRRSSGLVQN IDQLYSGGGKVGYLVYAGGRRFLDLERDDTVGAAGGIVTAGGLSASSGHRGHCFYRGTVDGSFSLAVFDLCGGLD GFFAVKHARYTLKPLLRGSWAESERVYGDSSRIILHVYTRREGFSFEALPPRTSCETPASPSGAQESPSVHSSSRRT ELAPQLLDHSASFSPAGNAGPQTWWRRRRSISRARQVELLLVADSSMAKMYGRGLQHLYLLTLASIANRLYSHASIE NHIRLAVVKVVVLTDKLSLEVSNAATTLKNFCKWQHQNQLGDDHHEHYDAAILFTREDLCGHHSCTILGMADVG TICSPERSCAVIEDDGLHAAFTVAHEIGHLLGLSHDDSKFCEENFGSTEDKRLMSSILTSIDASKPWSKCTSATITE FLDDGHGNCLLDVPRKQILGPEELPGQTYDATQQCNLTFGPEYSVCPGMDVCARLWCAVVRQGMVCLTKKLP GKGRICLQGKCVDKTKKKYYSTSSHGNWGSWGSWGQCSRSCGGGVQFAYRHCCNNPAPRNSGRYCTGKRAIYRSCSVI PCPHHHHHHHHH
天竺鼠 (AA 殘基 1-622)	152	MLLGWASLLLCAPRLPQAAASAAAAAPAQDKAGQPRAAAAAAPQPRRRQGEHAPLRVEPPGHPHALAPQRRRGLLQSI DRLYSGGGKVGYLVYAGGRRFLDLERDGSVGAAGLFPAGGGLSAPRRHRSCHFYRGTVDGSFSLAVFDLCGGLDG FFAVKHARYTVKPLLRGPWAEADTPRVYGDSSRIILHVYTRREGFSFEALPPRASCETPASPSGAQESPSVHSSSRRT STVDPQLPELSALSAPAGDPGQQTWWRRRRSISRARQVELLLVADSSMAKMYGRGLQHLYLLTLASIANRLYSHASIE NHIRLAVVKVVVLGDKDKSLEVSNAATTLKNFCKWQHQNQLGDDHHEHYDAAILFTREDLCGHHSCTILGMADVG TICSPERSCAVIEDDGLHAAFTVAHEIGHLLGLSHDDSKFCEENFGLTEDKRLMSSILTSIDASKPWSKCTSATITE FLDDGHGNCLLDVPRKQIPSPPEELPGQTYDATQQCNLTFGPEYSVCPGMDVCARLWCAVVRQGMVCLTKKLP TPCGKGRICLQGKCVDKTKKKYYSTSSHGNWGSWGSWGQCSRSCGGGVQFAYRHCCNNPAPRNSGRYCTGKRAIYRSC SVTPCPHHHHHHHHHH
小鼠 (AA 殘基 1-622)	153	MRLEWAPLLLLLLLLSASCLSLAADSPAAAPAQDKTRQPAAAAAAEPDQPQGEETRERGHQLPLAGQRRSSGGLVQN IDQLYSGGGKVGYLVYAGGRRFLDLERDGSVGTAGFVPTEGGTSAPWRHRSCHFYRGTVDGSFSLAVFDLCGGLDG DGFFAVKHARYTLKPLLRGSWAEEYRIYGDSSRIILHVYNREGFSFEALPPRASCETPASPSGPGQESPSVHSR SALAPQLLDHSASFSPGNAGPQTWWRRRRSISRARQVELLLVADSSMAKMYGRGLQHLYLLTLASIANRLYSHASIE NHIRLAVVKVVVLTDKDTLSLEVSNAATTLKNFCKWQHQNQLGDDHHEHYDAAILFTREDLCGHHSCTILGMADVG TICSPERSCAVIEDDGLHAAFTVAHEIGHLLGLSHDDSKFCEENFGTTEDKRLMSSILTSIDASKPWSKCTSATITE FLDDGHGNCLLDLPRKQILGPEELPGQTYDATQQCNLTFGPEYSVCPGMDVCARLWCAVVRQGMVCLTKKLP TPCGKGRVCLQGKCVDKTKKKYYSTSSHGNWGSWGSWGQCSRSCGGGVQFAYRHCCNNPAPRNSGRYCTGKRAIYRSC SVTPCPHHHHHHHHHH
食蟹猴 (AA 殘基 1-622)	154	MLLGWASLLLCAPRLPLAAAGPAAAPAQDKAGPATAAAAAQPRRRQGEVQERTEPPGHPHPLAQRRSSKGLVQNI DQLYSGGGKVGYLVYAGGRRFLDLERDGSVGTAGFVPTEGGTSAPWRHRSCHFYRGTVDGSFSLAVFDLCGGLDG FFAVKHARYTLKPLLRGPWAEETRRVYDGSARILHVYTRREGFSFEALQPRASCETPASTPEPHERPPAHNSP AALASQLLDQSASVPAGGPGPQTWWRRRRSISRARQVELLLVADASMARLYGRGLQHLYLLTLASIANRLYSHASIE NHIRLAVVKVVVLGDKDKSLEVSNAATTLKNFCKWQHQNQLGDDHHEHYDAAILFTREDLCGHHSCTILGMADVG TICSPERSCAVIEDDGLHAAFTVAHEIGHLLGLSHDDSKFCEETFGSTEDKRLMSSILTSIDASKPWSKCTSATITE FLDDGHGNCLLDQPRKQILGPEELPGQTYDATQQCNLTFGPEYSVCPGMDVCARLWCAVVRQGMVCLTKKLP TPCGKGRICLQGKCVDKTKKKYYSTSSHGNWGSWGSWGQCSRSCGGGVQFAYRHCCNNPAPRNNGRYCTGKRAIYRSC GLMPCPHHHHHHHHH
人聚集蛋白醣	155	MTLLVWFVTLRVITAAVTVETSDHNSLSVSIPQPSPLRVLLGTSLTIPCYFIDPMHPVTTAPSTAPLAPRIKWSR VSKEKEVLLVATEGRVVRNSAYQDKVSLPNYPAPISDATLEVQSLRNSDGVYRCEVMHGIEDSEATLEVVVKIGV FHYRAISTRYTLDFDRAQRACLQNSAIATPEQLQAAAYBDGFHQCDAGWLADQTVRYPIHTPREGCGYDKDEFPGVYR TYGIRDTNETYDVYCFABEMEGEVFIYATSPKFTTFQEAANECCRLLGARLATGTHVYLAQAGMDMCSAGWLADRSVR YPIKARPNCGGNLLGVRTVYVHANQTYGPDSSRYDAICYTGEDFVDIPENFFGVGGEDITVQTVTWPDMELPLP

表D：與血清白蛋白結合之ISVD序列(“ID”係指如本文所使用之SEQ ID NO)，包含CDR序列

名稱	ID	胺基酸序列
Alb8	131	EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSS
Alb23	132	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGP EWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSS
Alb129	133	EVQLVESGGGVVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTATYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSSA
Alb132	134	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGP EWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTATYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSSA
Alb11	135	EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSS
Alb11 (S112K)-A	136	EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLVKVSSA
Alb82	137	EVQLVESGGGVVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSS
Alb82-A	138	EVQLVESGGGVVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSSA
Alb82-AA	139	EVQLVESGGGVVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSSAA
Alb82-AAA	140	EVQLVESGGGVVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSSAAA
Alb82-G	141	EVQLVESGGGVVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSSG
Alb82-GG	142	EVQLVESGGGVVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSSGG
Alb82-GGG	143	EVQLVESGGGVVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSSGGG
Alb92	144	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGP EWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSS
Alb223	145	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGP EWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSSA
ALB CDR1	146	SFGMS
ALB CDR2	147	SISGSGSDTLYADSVKG
ALB CDR3	148	GGSLSR

【序列表】

<110> 德商麥克專利有限公司(Merck Patent GmbH)
比利時商艾柏靈斯公司(Ablynx N.V.)

<120> 與ADAMTS結合之免疫球蛋白

<140> TW 107119218

<141> 2018-06-04

<150> EP17174403.0

<151> 2017-06-02

<160> 174

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 胺基酸序列

<400> 1

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

<210> 2

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 胺基酸序列

<400> 2

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

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

<210> 3
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 3
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ala Val Ser Val Asn
20 25 30
Ala Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Phe Val
35 40 45
Ala Gly Ile Ser Arg Ser Ala Gly Arg Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Arg Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Leu Asp Pro Asn Arg Ile Phe Ser Arg Asp Glu Ala Ala
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 4
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 4
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Phe Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Ser Arg Asn Gly Ala Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Val
50 55 60
Ala Gly Leu Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Ala Arg Ile Ser Pro Ser Asp Pro Ser Asn Glu Asp Gly Tyr
100 105 110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 5
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 5

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

<210> 6
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 6
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Phe Ser Gly Pro Gly Arg Thr Phe Ala
20 25 30
Arg Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Asn Arg Asp
35 40 45
Phe Ile Thr Gly Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Val Tyr
50 55 60
Pro Met Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Glu Ile Asn Arg Ile Ala Asn Asp Lys Glu
100 105 110
Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 7
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 7
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Thr Phe Ser Ser
20 25 30
Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Ala Phe
35 40 45
Val Ala Thr Ile Trp Ser Gly Gly Leu Thr Val Tyr Ala Asp Ser Ala
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Glu Ala Val Gly Thr Tyr Tyr Thr Pro Asp Gly Trp Thr Tyr

Trp Gly Gln 100 Thr Leu Val Thr 105 Val Ser Ser 110
115 120

<210> 8
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 8
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Arg Arg Asn
20 25 30
Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Leu
35 40 45
Ala Gly Ile Asn Trp Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80
Leu Gln Met Ile Ser Pro Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Gly Asp Ile Gly Thr Leu Val Asn Asp Glu Asn Pro Arg
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 9
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 9
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Pro Tyr
20 25 30
Tyr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Thr Arg Ser Arg Gly Thr Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Thr
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Asn Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Gly Arg Ser Pro Gly Asp Pro Ser Arg Thr Tyr Leu Tyr Glu
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 10
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Pro Ser Gly Phe Thr Phe Ser Pro Tyr
20 25 30
Tyr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Ser Arg Ser Arg Gly Thr Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Thr
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asp Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Asn Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Gly Arg Ser Pro Gly Asp Pro Ser Arg Thr Tyr Leu Tyr Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 11
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 11
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Ala
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Pro Tyr
20 25 30
Tyr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Ser Trp Ser Arg Gly Ile Leu Tyr Tyr Thr Asp Ser Thr
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asp Asn Leu Asn Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Ser Arg Ser Pro Gly Asp Pro Ser Arg Thr Tyr Leu Tyr Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 12
<211> 127
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 12
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ala Leu Ser Ser Ser
20 25 30
Ile Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Thr Trp Ser Gly Gly Arg Ala Tyr Tyr Ala Asp Val Ser
50 55 60
Asp Phe Glu Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Gly Lys Asn
65 70 75 80
Thr Val Asn Leu Gln Met Lys Gly Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Leu Ala Ile Pro Val Thr Met Ser Pro His
100 105 110
Glu Tyr Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 13
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 13
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Asp Val Val Val Asn
20 25 30
Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45
Ala Asp Ile Thr Thr Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Val Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95
Ala Gln Val Gly Asp Ser Asp Asp Val Trp Tyr Ala Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 14
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 14
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asn
20 25 30
Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45
Ala Ala Ile Ile Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95
Ala Glu Val Asp Ala Gly Ile Tyr Ala Tyr Gly Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 15
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 15
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Gln Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Trp Asn Thr Phe Thr Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Arg Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Ala Gly Gly Ser Pro Arg Gln His Glu Pro Tyr Glu Tyr Arg
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 16
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 16
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Phe Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Arg Arg Thr Ile Ser Ser Gly
20 25 30
Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Arg Trp Ser Ser Gly Met Pro Tyr Tyr Leu Asp Ser Val
50 55 60
Met Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Ser
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Arg Ser Ala Phe Arg Asp Pro Ser Phe Asp Val Asn Tyr
100 105 110
Glu Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 17
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 17
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Phe Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Arg Thr Ile Ser Ser Gly
20 25 30
Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Arg Trp Ser Ser Gly Ile Thr Phe Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Ser
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

Ala Ala Asp Arg Ser Ala Leu Arg Asp Pro Ser Phe Glu Val Asn Tyr
100 85 90 95
Glu Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 105 110 120 125

<210> 18
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 18
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asp
20 25 30
Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val
35 40 45
Ala Ser Val Thr Thr Gly Ala Ser Pro Asn Tyr Gly Asp Ser Val Thr
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ala Ser Arg Asp Arg Ala Lys Asn Ala Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95
Leu Ile Met Thr Ile Pro Gly Gly Ser Gln Ile Met Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 19
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 19
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Arg Tyr Pro Met Ala Trp
20 25 30
Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Gly Val Ser
35 40 45
Trp Gly Gly Asp Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Gln Gly Arg Phe
50 55 60
Thr Val Ser Arg Asp Tyr Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
65 70 75 80
Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Pro
85 90 95
Trp Gly Arg Leu Phe Arg Val Lys Asp Asn Tyr Ser Asp Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 20
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 胺基酸序列

<400> 20
Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Gly
1 5 10

<210> 21
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 21
Gly Arg Thr Val Ser Ser Tyr Ala Met Gly
1 5 10

<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 22
Gly Ser Ala Val Ser Val Asn Ala Met Ala
1 5 10

<210> 23
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 23
Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Phe Val Gly
1 5 10

<210> 24
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 24
Arg Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Val Met Ala
1 5 10

<210> 25
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 25
Gly Pro Gly Arg Thr Phe Ala Arg Tyr Ala Met Gly
1 5 10

<210> 26
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 26
Gly Arg Thr Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Gly
1 5 10

<210> 27
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 27
Gly Leu Thr Phe Arg Arg Asn Ala Met Gly
1 5 10

<210> 28
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 28
Gly Phe Thr Phe Ser Pro Tyr Tyr Met Gly
1 5 10

<210> 29
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 29
Gly Arg Ala Leu Ser Ser Ser Ile Met Gly
1 5 10

<210> 30
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 30
Gly Ser Asp Val Val Val Asn Asp Met Gly

1

5

10

<210> 31

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 胺基酸序列

<400> 31

Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asn Val Met Gly

1 5 10

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 胺基酸序列

<400> 32

Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly

1 5 10

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 胺基酸序列

<400> 33

Arg Arg Thr Ile Ser Ser Gly Thr Met Gly

1 5 10

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 胺基酸序列

<400> 34

Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asp Ala Met Gly

1 5 10

<210> 35

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 胺基酸序列

<400> 35

Gly Arg Tyr Pro Met Ala

1 5

<210> 36
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 36
Gly Ile Ser Arg Ser Ala Gly Arg Thr Tyr
1 5 10

<210> 37
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 37
Gly Ile Ser Arg Ser Ala Glu Arg Thr Tyr
1 5 10

<210> 38
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 38
Ala Ile Ser Arg Asn Gly Ala Arg Thr Tyr Tyr
1 5 10

<210> 39
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 39
Ala Ile Ser Arg Ser Gly Asp Ser Thr Tyr
1 5 10

<210> 40
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 40
Gly Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Tyr
1 5 10

<210> 41
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 41
Thr Ile Trp Ser Gly Gly Leu Thr Val
1 5

<210> 42
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 42
Gly Ile Asn Trp Ser Gly Gly Thr Thr Tyr
1 5 10

<210> 43
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 43
Ala Ile Thr Arg Ser Arg Gly Thr Thr Tyr
1 5 10

<210> 44
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 44
Ala Ile Ser Arg Ser Arg Gly Thr Thr Tyr
1 5 10

<210> 45
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 45
Ala Ile Ser Trp Ser Arg Gly Ile Leu Tyr
1 5 10

<210> 46
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 46
Ala Ile Thr Trp Ser Gly Gly Arg Ala Tyr Tyr Ala Asp
1 5 10

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 47
Asp Ile Thr Thr Gly Gly Arg Thr Asn
1 5

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 48
Ala Ile Ile Ser Gly Gly Arg Thr Asn
1 5

<210> 49
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 49
Ala Ile Ser Trp Asn Thr Phe Thr Thr Tyr
1 5 10

<210> 50
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 50
Ala Ile Arg Trp Ser Ser Gly Met Pro Tyr
1 5 10

<210> 51
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 51
Ala Ile Arg Trp Ser Ser Gly Ile Thr Phe
1 5 10

<210> 52
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 52
Ser Val Thr Thr Gly Ala Ser Pro Asn
1 5

<210> 53
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 53
Gly Val Ser Trp Gly Gly Asp Arg Thr Tyr
1 5 10

<210> 54
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 54
Asp Leu Asp Pro Asn Arg Ile Phe Ser Arg Asp Glu Ala Ala Tyr
1 5 10 15

<210> 55
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 55
Asp Leu Asp Pro Asn Arg Ile Phe Ser Arg Glu Glu Tyr Ala Tyr
1 5 10 15

<210> 56
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 56
Ala Arg Ile Ser Pro Ser Asp Pro Ser Asn Glu Asp Gly Tyr Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 57
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 57
Ser Arg Ala Pro Ser Phe Arg Thr Ile Asp Ala Ile Asn Tyr Tyr Asp
1 5 10 15
Tyr

<210> 58
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 58
Asp Arg Glu Ile Asn Arg Ile Ala Asn Asp Lys Glu Leu Asp Phe
1 5 10 15

<210> 59
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 59
Glu Ala Val Gly Thr Tyr Tyr Thr Pro Asp Gly Trp Thr Tyr
1 5 10

<210> 60
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 60
Asp Gly Asp Ile Gly Thr Leu Val Asn Asp Glu Asn Pro Arg Tyr
1 5 10 15

<210> 61
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 61
Gly Arg Ser Pro Gly Asp Pro Ser Arg Thr Tyr Leu Tyr Glu Tyr
1 5 10 15

<210> 62
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 62
Gly Arg Ser Pro Gly Asp Pro Ser Arg Thr Tyr Leu Tyr Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 63
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 63
Ser Arg Ser Pro Gly Asp Pro Ser Arg Thr Tyr Leu Tyr Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 64
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 64
Ala Leu Ala Ile Pro Val Thr Met Ser Pro His Glu Tyr Pro Tyr
1 5 10 15

<210> 65
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 65
Gln Val Gly Asp Ser Asp Asp Asp Val Trp Tyr Ala Tyr
1 5 10

<210> 66
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 66
Glu Val Asp Ala Gly Ile Tyr Ala Tyr Gly Tyr
1 5 10

<210> 67
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 67
Ala Gly Gly Ser Pro Arg Gln His Glu Pro Tyr Glu Tyr Arg Val
1 5 10 15

<210> 68
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 68
Asp Arg Ser Ala Phe Arg Asp Pro Ser Phe Asp Val Asn Tyr Glu Tyr
1 5 10 15

<210> 69
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 69
Asp Arg Ser Ala Leu Arg Asp Pro Ser Phe Glu Val Asn Tyr Glu Tyr
1 5 10 15

<210> 70
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 70
Ile Met Thr Ile Pro Gly Gly Ser Gln Ile Met Tyr
1 5 10

<210> 71
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 71
Asp Pro Trp Gly Arg Leu Phe Arg Val Lys Asp Asn Tyr Ser Asp
1 5 10 15

<210> 72
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 72
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 73
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 73
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 74
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 74
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 75
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 75
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 76
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 76
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Phe Ser
20 25

<210> 77
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 77
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser
20 25

<210> 78
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 78
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Pro Ser
20 25

<210> 79
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 79
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Ala
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser
20 25

<210> 80
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 胺基酸序列

<400> 80
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 81
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 81
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Phe Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser
20 25

<210> 82
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 82
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Phe Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 83
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 83
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser
20 25

<210> 84
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 84
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser
20 25

<210> 85
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 85
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Phe Val Ala
1 5 10

<210> 86
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 86
Trp Phe Arg Leu Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala
1 5 10

<210> 87
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 87
Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Phe Val Ala
1 5 10

<210> 88
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 88
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala
1 5 10

<210> 89
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 89
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Asn Arg Asp Phe Ile Thr
1 5 10

<210> 90

<213> 人工序列

<220>

<223> 胺基酸序列

<400> 95

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

<210> 96

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 胺基酸序列

<400> 96

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

<210> 97

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 胺基酸序列

<400> 97

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

<210> 98

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 胺基酸序列

<400> 98

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

<210> 99

<211> 39

<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 90
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Ala Phe Val Ala
1 5 10

<210> 91
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 91
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Leu Ala
1 5 10

<210> 92
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 92
Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala
1 5 10

<210> 93
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 93
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Gln Glu Arg Glu Phe Val Ser
1 5 10

<210> 94
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 94
Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val Ala
1 5 10

<210> 95
<211> 39
<212> PRT

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 99
Tyr Tyr Asp Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
1 5 10 15
Lys Asn Thr Val His Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Ile Cys Ala Ala
35

<210> 100
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 100
Tyr Val Tyr Pro Met Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
1 5 10 15
Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
35

<210> 101
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 101
Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
1 5 10 15
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
35

<210> 102
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 102
Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
1 5 10 15
Lys Asn Thr Val Asp Leu Gln Met Ile Ser Pro Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
35

<210> 103

<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 103
Tyr Leu Asp Ser Thr Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
1 5 10 15
Lys Asn Thr Met Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Asn Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
35

<210> 104
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 104
Tyr Leu Asp Ser Thr Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
1 5 10 15
Asn Asp Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Asn Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
35

<210> 105
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 105
Tyr Thr Asp Ser Thr Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
1 5 10 15
Lys Asn Thr Met Tyr Leu Gln Met Asp Asn Leu Asn Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
35

<210> 106
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 106
Val Ser Asp Phe Glu Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Gly
1 5 10 15
Lys Asn Thr Val Asn Leu Gln Met Lys Gly Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
35

<210> 107
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 107
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Val
1 5 10 15
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala
35

<210> 108
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 108
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
1 5 10 15
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala
35

<210> 109
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 109
Tyr Val Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala
1 5 10 15
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Arg Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
35

<210> 110
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 110
Tyr Leu Asp Ser Val Met Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
1 5 10 15
Lys Asn Thr Val Ser Leu Gln Met Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
35

<210> 111
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 111
Tyr Pro Asp Ser Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Ala
1 5 10 15
Lys Asn Thr Val Ser Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
35

<210> 112
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 112
Tyr Gly Asp Ser Val Thr Gly Arg Phe Thr Ala Ser Arg Asp Arg Ala
1 5 10 15
Lys Asn Ala Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Leu
35

<210> 113
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 113
Tyr Ala Asp Ser Val Gln Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Tyr Ala
1 5 10 15
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ala
20 25 30
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly
35

<210> 114
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 114
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 115
<211> 11

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 115
Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 116
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 116
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Arg Tyr Pro Met Ala Trp
20 25 30
Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Gly Val Ser
35 40 45
Trp Gly Gly Asp Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Gln Gly Arg Phe
50 55 60
Thr Val Ser Arg Asp Tyr Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
65 70 75 80
Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Pro
85 90 95
Trp Gly Arg Leu Phe Arg Val Lys Asp Gln Tyr Ser Asp Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 117
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 117
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Arg Arg Asn
20 25 30
Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Leu
35 40 45
Ala Gly Ile Ser Trp Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80
Leu Gln Met Ile Ser Pro Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Gly Asp Ile Gly Thr Leu Val Asn Asp Glu Asn Pro Arg
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 118
<211> 15

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 118
Asp Pro Trp Gly Arg Leu Phe Arg Val Lys Asp Gln Tyr Ser Asp
1 5 10 15

<210> 119
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 119
Gly Ile Ser Trp Ser Gly Gly Thr Thr Tyr
1 5 10

<210> 120
<211> 274
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 120
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Phe Val
35 40 45
Ala Gly Ile Ser Arg Ser Ala Gly Arg Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Arg Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Leu Asp Pro Asn Arg Ile Phe Ser Arg Asp Glu Ala Ala
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
145 150 155 160
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser
165 170 175
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly
180 185 190
Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
195 200 205
Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
210 215 220
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu
225 230 235 240
Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
245 250 255
Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

260

265

270

Ser Ser

<210> 121
<211> 276
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 121
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Phe Ser Gly Pro Gly Arg Thr Phe Ala
20 25 30
Arg Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Asn Arg Asp
35 40 45
Phe Ile Thr Gly Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Val Tyr
50 55 60
Pro Met Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Glu Ile Asn Arg Ile Ala Asn Asp Lys Glu
100 105 110
Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145 150 155 160
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
165 170 175
Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser
180 185 190
Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
195 200 205
Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser
210 215 220
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu
225 230 235 240
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
245 250 255
Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val
260 265 270
Thr Val Ser Ser

<210> 122
<211> 274
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 122
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Gly Trp Phe Arg Leu Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

<210> 123
<211> 274
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 123
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Arg Arg Asn
20 25 30
Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Leu
35 40 45
Ala Gly Ile Ser Trp Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80
Leu Gln Met Ile Ser Pro Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Gly Asp Ile Gly Thr Leu Val Asn Asp Glu Asn Pro Arg
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
145 150 155 160
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser
165 170 175
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly
180 185 190
Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
195 200 205

Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
210 215 220
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu
225 230 235 240
Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
245 250 255
Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
260 265 270
Ser Ser

<210> 124
<211> 274
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 124
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ala Val Ser Val Asn
20 25 30
Ala Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Phe Val
35 40 45
Ala Gly Ile Ser Arg Ser Ala Gly Arg Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Arg Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Leu Asp Pro Asn Arg Ile Phe Ser Arg Asp Glu Ala Ala
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
145 150 155 160
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser
165 170 175
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly
180 185 190
Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
195 200 205
Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
210 215 220
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu
225 230 235 240
Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
245 250 255
Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
260 265 270
Ser Ser

<210> 125
<211> 275
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 125
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Phe Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Arg Arg Thr Ile Ser Ser Gly
20 25 30
Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Arg Trp Ser Ser Gly Met Pro Tyr Tyr Leu Asp Ser Val
50 55 60
Met Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Ser
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Arg Ser Ala Phe Arg Asp Pro Ser Phe Asp Val Asn Tyr
100 105 110
Glu Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
165 170 175
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
180 185 190
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
195 200 205
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
210 215 220
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
225 230 235 240
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
245 250 255
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
260 265 270
Val Ser Ser
275

<210> 126
<211> 429
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 126
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Gly Trp Phe Arg Leu Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Gly Ile Ser Arg Ser Ala Glu Arg Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Leu
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu His Met Asn Arg Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Leu Asp Pro Asn Arg Ile Phe Ser Arg Glu Glu Tyr Ala
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu

145 150 155 160
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser
165 170 175
Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Arg Tyr Pro Met Ala Trp Phe
180 185 190
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Gly Val Ser Trp
195 200 205
Gly Gly Asp Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Gln Gly Arg Phe Thr
210 215 220
Val Ser Arg Asp Tyr Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
225 230 235 240
Leu Lys Pro Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Pro Trp
245 250 255
Gly Arg Leu Phe Arg Val Lys Asp Gln Tyr Ser Asp Trp Gly Gln Gly
260 265 270
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
290 295 300
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
305 310 315 320
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
325 330 335
Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
340 345 350
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
355 360 365
Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
370 375 380
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
385 390 395 400
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
405 410 415
Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
420 425

<210> 127
<211> 429
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 127
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Arg Arg Asn
20 25 30
Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Leu
35 40 45
Ala Gly Ile Ser Trp Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80
Leu Gln Met Ile Ser Pro Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Gly Asp Ile Gly Thr Leu Val Asn Asp Glu Asn Pro Arg
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu
145 150 155 160
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser

Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Arg Tyr Pro Met Ala Trp Phe
165 170 175
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Gly Val Ser Trp
180 185 190
Gly Gly Asp Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Gln Gly Arg Phe Thr
195 200 205
Val Ser Arg Asp Tyr Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
210 215 220
225 230 235 240
Leu Lys Pro Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Pro Trp
245 250 255
Gly Arg Leu Phe Arg Val Lys Asp Gln Tyr Ser Asp Trp Gly Gln Gly
260 265 270
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
290 295 300
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
305 310 315 320
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
325 330 335
Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
340 345 350
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
355 360 365
Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
370 375 380
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
385 390 395 400
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
405 410 415
Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
420 425

<210> 128
<211> 429
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 128
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ala Val Ser Val Asn
20 25 30
Ala Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Phe Val
35 40 45
Ala Gly Ile Ser Arg Ser Ala Gly Arg Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Arg Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Leu Asp Pro Asn Arg Ile Phe Ser Arg Asp Glu Ala Ala
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu
145 150 155 160
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser
165 170 175
Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Arg Tyr Pro Met Ala Trp Phe

180 185 190
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Gly Val Ser Trp
195 200 205
Gly Gly Asp Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Gln Gly Arg Phe Thr
210 215 220
Val Ser Arg Asp Tyr Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
225 230 235 240
Leu Lys Pro Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Pro Trp
245 250 255
Gly Arg Leu Phe Arg Val Lys Asp Gln Tyr Ser Asp Trp Gly Gln Gly
260 265 270
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
290 295 300
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
305 310 315 320
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
325 330 335
Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
340 345 350
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
355 360 365
Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
370 375 380
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
385 390 395 400
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
405 410 415
Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
420 425

<210> 129
<211> 275
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 129
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Gly Ile Ser Arg Ser Ala Glu Arg Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Leu
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Leu Asp Pro Asn Arg Ile Phe Ser Arg Glu Glu Tyr Ala
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
145 150 155 160
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser
165 170 175
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly
180 185 190
Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser

195 200 205
Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
210 215 220
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu
225 230 235 240
Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr
245 250 255
Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
260 265 270
Ser Ser Ala
275

<210> 130
<211> 430
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 130
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Gly Ile Ser Arg Ser Ala Glu Arg Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Leu
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Leu Asp Pro Asn Arg Ile Phe Ser Arg Glu Glu Tyr Ala
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu
145 150 155 160
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser
165 170 175
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Tyr Pro Met Ala Trp Phe
180 185 190
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Gly Val Ser Trp
195 200 205
Gly Gly Asp Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
210 215 220
Ile Ser Arg Asp Tyr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
225 230 235 240
Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Pro Phe
245 250 255
Gly Arg Leu Phe Arg Val Lys Asp Gln Tyr Ser Asp Trp Gly Gln Gly
260 265 270
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
290 295 300
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
305 310 315 320
Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
325 330 335
Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
340 345 350
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser

355 360 365
Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
370 375 380
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
385 390 395 400
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
405 410 415
Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
420 425 430

<210> 131
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 131
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 132
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 132
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Pro Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 133
<211> 116
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 133
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Ala
115

<210> 134
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 134
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Pro Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Ala
115

<210> 135
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 135
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

<210> 136
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 136
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Lys
100 105 110
Val Ser Ser Ala
115

<210> 137
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 137
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 138
<211> 116

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 138
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Ala
115

<210> 139
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 139
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Ala Ala
115

<210> 140
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 140
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

<210> 141
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 141
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Gly
115

<210> 142
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 142
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Gly Gly
115

<210> 143

<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 143
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly
115

<210> 144
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 144
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Phe
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Pro Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 145
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 145
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Phe
20 25 30

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

<210> 146
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 146
Ser Phe Gly Met Ser
1 5

<210> 147
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 147
Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 148
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 148
Gly Gly Ser Leu Ser Arg
1 5

<210> 149
<211> 930
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 149
Met Leu Leu Gly Trp Ala Ser Leu Leu Leu Cys Ala Phe Arg Leu Pro
1 5 10 15
Leu Ala Ala Val Gly Pro Ala Ala Thr Pro Ala Gln Asp Lys Ala Gly

			20				25				30				
Gln	Pro	Pro	Thr	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Gln	Pro	Arg	Arg	Arg	Gln	Gly
		35					40					45			
Glu	Glu	Val	Gln	Glu	Arg	Ala	Glu	Pro	Pro	Gly	His	Pro	His	Pro	Leu
	50					55					60				
Ala	Gln	Arg	Arg	Arg	Ser	Lys	Gly	Leu	Val	Gln	Asn	Ile	Asp	Gln	Leu
65					70					75					80
Tyr	Ser	Gly	Gly	Gly	Lys	Val	Gly	Tyr	Leu	Val	Tyr	Ala	Gly	Gly	Arg
			85						90					95	
Arg	Phe	Leu	Leu	Asp	Leu	Glu	Arg	Asp	Gly	Ser	Val	Gly	Ile	Ala	Gly
		100						105					110		
Phe	Val	Pro	Ala	Gly	Gly	Gly	Thr	Ser	Ala	Pro	Trp	Arg	His	Arg	Ser
		115					120					125			
His	Cys	Phe	Tyr	Arg	Gly	Thr	Val	Asp	Gly	Ser	Pro	Arg	Ser	Leu	Ala
	130					135					140				
Val	Phe	Asp	Leu	Cys	Gly	Gly	Leu	Asp	Gly	Phe	Phe	Ala	Val	Lys	His
145					150					155					160
Ala	Arg	Tyr	Thr	Leu	Lys	Pro	Leu	Leu	Arg	Gly	Pro	Trp	Ala	Glu	Glu
			165						170					175	
Glu	Lys	Gly	Arg	Val	Tyr	Gly	Asp	Gly	Ser	Ala	Arg	Ile	Leu	His	Val
			180					185					190		
Tyr	Thr	Arg	Glu	Gly	Phe	Ser	Phe	Glu	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg	Ala	Ser
		195					200					205			
Cys	Glu	Thr	Pro	Ala	Ser	Thr	Pro	Glu	Ala	His	Glu	His	Ala	Pro	Ala
	210					215					220				
His	Ser	Asn	Pro	Ser	Gly	Arg	Ala	Ala	Leu	Ala	Ser	Gln	Leu	Leu	Asp
225					230					235					240
Gln	Ser	Ala	Leu	Ser	Pro	Ala	Gly	Gly	Ser	Gly	Pro	Gln	Thr	Trp	Trp
			245						250					255	
Arg	Arg	Arg	Arg	Arg	Ser	Ile	Ser	Arg	Ala	Arg	Gln	Val	Glu	Leu	Leu
			260					265					270		
Leu	Val	Ala	Asp	Ala	Ser	Met	Ala	Arg	Leu	Tyr	Gly	Arg	Gly	Leu	Gln
		275					280					285			
His	Tyr	Leu	Leu	Thr	Leu	Ala	Ser	Ile	Ala	Asn	Arg	Leu	Tyr	Ser	His
	290					295					300				
Ala	Ser	Ile	Glu	Asn	His	Ile	Arg	Leu	Ala	Val	Val	Lys	Val	Val	Val
305					310					315					320
Leu	Gly	Asp	Lys	Asp	Lys	Ser	Leu	Glu	Val	Ser	Lys	Asn	Ala	Ala	Thr
				325					330					335	
Thr	Leu	Lys	Asn	Phe	Cys	Lys	Trp	Gln	His	Gln	His	Asn	Gln	Leu	Gly
			340					345					350		
Asp	Asp	His	Glu	Glu	His	Tyr	Asp	Ala	Ala	Ile	Leu	Phe	Thr	Arg	Glu
		355					360					365			
Asp	Leu	Cys	Gly	His	His	Ser	Cys	Asp	Thr	Leu	Gly	Met	Ala	Asp	Val
	370					375					380				
Gly	Thr	Ile	Cys	Ser	Pro	Glu	Arg	Ser	Cys	Ala	Val	Ile	Glu	Asp	Asp
385					390					395					400
Gly	Leu	His	Ala	Ala	Phe	Thr	Val	Ala	His	Glu	Ile	Gly	His	Leu	Leu
			405						410					415	
Gly	Leu	Ser	His	Asp	Asp	Ser	Lys	Phe	Cys	Glu	Glu	Thr	Phe	Gly	Ser
			420					425					430		
Thr	Glu	Asp	Lys	Arg	Leu	Met	Ser	Ser	Ile	Leu	Thr	Ser	Ile	Asp	Ala
		435					440					445			
Ser	Lys	Pro	Trp	Ser	Lys	Cys	Thr	Ser	Ala	Thr	Ile	Thr	Glu	Phe	Leu
	450					455					460				
Asp	Asp	Gly	His	Gly	Asn	Cys	Leu	Leu	Asp	Leu	Pro	Arg	Lys	Gln	Ile
465					470					475					480
Leu	Gly	Pro	Glu	Glu	Leu	Pro	Gly	Gln	Thr	Tyr	Asp	Ala	Thr	Gln	Gln
			485						490					495	
Cys	Asn	Leu	Thr	Phe	Gly	Pro	Glu	Tyr	Ser	Val	Cys	Pro	Gly	Met	Asp
		500						505					510		
Val	Cys	Ala	Arg	Leu	Trp	Cys	Ala	Val	Val	Arg	Gln	Gly	Gln	Met	Val
		515					520					525			
Cys	Leu	Thr	Lys	Lys	Leu	Pro	Ala	Val	Glu	Gly	Thr	Pro	Cys	Gly	Lys
	530					535					540				
Gly	Arg	Ile	Cys	Leu	Gln	Gly	Lys	Cys	Val	Asp	Lys	Thr	Lys	Lys	Lys
545					550					555					560

Tyr Tyr Ser Thr Ser Ser His Gly Asn Trp Gly Ser Trp Gly Ser Trp
565 570 575
Gly Gln Cys Ser Arg Ser Cys Gly Gly Val Gln Phe Ala Tyr Arg
580 585 590
His Cys Asn Asn Pro Ala Pro Arg Asn Asn Gly Arg Tyr Cys Thr Gly
595 600 605
Lys Arg Ala Ile Tyr Arg Ser Cys Ser Leu Met Pro Cys Pro Pro Asn
610 615 620
Gly Lys Ser Phe Arg His Glu Gln Cys Glu Ala Lys Asn Gly Tyr Gln
625 630 635 640
Ser Asp Ala Lys Gly Val Lys Thr Phe Val Glu Trp Val Pro Lys Tyr
645 650 655
Ala Gly Val Leu Pro Ala Asp Val Cys Lys Leu Thr Cys Arg Ala Lys
660 665 670
Gly Thr Gly Tyr Tyr Val Val Phe Ser Pro Lys Val Thr Asp Gly Thr
675 680 685
Glu Cys Arg Leu Tyr Ser Asn Ser Val Cys Val Arg Gly Lys Cys Val
690 695 700
Arg Thr Gly Cys Asp Gly Ile Ile Gly Ser Lys Leu Gln Tyr Asp Lys
705 710 715 720
Cys Gly Val Cys Gly Asp Asn Ser Ser Cys Thr Lys Ile Val Gly
725 730 735
Thr Phe Asn Lys Lys Ser Lys Gly Tyr Thr Asp Val Val Arg Ile Pro
740 745 750
Glu Gly Ala Thr His Ile Lys Val Arg Gln Phe Lys Ala Lys Asp Gln
755 760 765
Thr Arg Phe Thr Ala Tyr Leu Ala Leu Lys Lys Lys Asn Gly Glu Tyr
770 775 780
Leu Ile Asn Gly Lys Tyr Met Ile Ser Thr Ser Glu Thr Ile Ile Asp
785 790 795 800
Ile Asn Gly Thr Val Met Asn Tyr Ser Gly Trp Ser His Arg Asp Asp
805 810 815
Phe Leu His Gly Met Gly Tyr Ser Ala Thr Lys Glu Ile Leu Ile Val
820 825 830
Gln Ile Leu Ala Thr Asp Pro Thr Lys Pro Leu Asp Val Arg Tyr Ser
835 840 845
Phe Phe Val Pro Lys Lys Ser Thr Pro Lys Val Asn Ser Val Thr Ser
850 855 860
His Gly Ser Asn Lys Val Gly Ser His Thr Ser Gln Pro Gln Trp Val
865 870 875 880
Thr Gly Pro Trp Leu Ala Cys Ser Arg Thr Cys Asp Thr Gly Trp His
885 890 895
Thr Arg Thr Val Gln Cys Gln Asp Gly Asn Arg Lys Leu Ala Lys Gly
900 905 910
Cys Pro Leu Ser Gln Arg Pro Ser Ala Phe Lys Gln Cys Leu Leu Lys
915 920 925
Lys Cys
930

<210> 150
<211> 636
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 150
Met Leu Leu Gly Trp Ala Ala Leu Met Leu Cys Ala Leu Arg Leu Pro
1 5 10 15
Pro Val Ala Ala Gly Pro Thr Ala Ala Pro Ala Gln Asp Lys Ala Gly
20 25 30
Gln Pro Arg Ala Ala Ala Val Ala Ala Ala Ala Gln Pro Arg Gly Arg
35 40 45
Arg Gly Glu Glu Ala Gln Glu Pro Ala Glu Pro Pro Gly His Pro His
50 55 60

Pro	Leu	Ala	Pro	Gln	Arg	Gly	Ser	Arg	Gly	Leu	Val	Gln	Asn	Ile	Asp
65					70				75						80
Gln	Leu	Tyr	Ser	Gly	Gly	Gly	Lys	Val	Gly	Tyr	Leu	Val	Tyr	Ala	Gly
				85					90					95	
Gly	Arg	Arg	Phe	Leu	Leu	Asp	Leu	Glu	Arg	Asp	Asp	Ser	Val	Gly	Ala
			100					105					110		
Ala	Gly	Leu	Val	Pro	Ala	Gly	Gly	Gly	Pro	Asn	Ala	Thr	Arg	Arg	His
			115					120					125		
Arg	Gly	His	Cys	Phe	Tyr	Arg	Gly	Thr	Val	Asp	Gly	Ser	Pro	Arg	Ser
						135					140				
Leu	Ala	Val	Phe	Asp	Leu	Cys	Gly	Gly	Leu	Asp	Gly	Phe	Phe	Ala	Val
145					150					155					160
Lys	Arg	Ala	Arg	Tyr	Thr	Leu	Gln	Pro	Leu	Leu	Arg	Gly	Pro	Trp	Ala
				165					170					175	
Glu	Ala	Glu	Gly	Asp	Ala	Arg	Val	Tyr	Gly	Asp	Glu	Ser	Ala	Arg	Ile
			180					185					190		
Leu	His	Val	Tyr	Thr	Arg	Glu	Gly	Phe	Ser	Phe	Glu	Ala	Leu	Pro	Pro
		195				200						205			
Arg	Thr	Ser	Cys	Glu	Thr	His	Ala	Ser	Pro	Pro	Gly	Ala	Arg	Glu	Arg
	210					215					220				
Pro	Pro	Ala	Pro	Ser	Arg	Pro	Asp	Gly	Arg	Trp	Ala	Leu	Ala	Pro	Gln
225					230					235					240
Gln	Leu	Pro	Gly	Gln	Ser	Ala	Pro	Ser	Ser	Asp	Gly	Ser	Gln	Gly	Pro
				245					250					255	
Arg	Thr	Trp	Trp	Arg	Arg	Arg	Arg	Arg	Ser	Ile	Ser	Arg	Ala	Arg	Gln
			260					265					270		
Val	Glu	Leu	Leu	Val	Ala	Asp	Ala	Ser	Met	Ala	Arg	Met	Tyr	Gly	
		275				280					285				
Arg	Gly	Leu	Gln	His	Tyr	Leu	Leu	Thr	Leu	Ala	Ser	Ile	Ala	Asn	Lys
	290					295					300				
Leu	Tyr	Ser	His	Ala	Ser	Ile	Glu	Asn	His	Ile	Arg	Leu	Val	Val	Val
305					310					315					320
Lys	Val	Val	Val	Leu	Gly	Asp	Lys	Asp	Lys	Ser	Leu	Glu	Val	Ser	Lys
				325					330					335	
Asn	Ala	Ala	Thr	Thr	Leu	Lys	Asn	Phe	Cys	Lys	Trp	Gln	His	Gln	His
			340					345					350		
Asn	Gln	Leu	Gly	Asp	Asp	His	Glu	Glu	His	Tyr	Asp	Ala	Ala	Ile	Leu
		355					360					365			
Phe	Thr	Arg	Glu	Asp	Leu	Cys	Gly	His	His	Ser	Cys	Asp	Thr	Leu	Gly
	370					375					380				
Met	Ala	Asp	Val	Gly	Thr	Ile	Cys	Ser	Pro	Glu	Arg	Ser	Cys	Ala	Val
385					390					395					400
Ile	Glu	Asp	Asp	Gly	Leu	His	Ala	Ala	Phe	Thr	Val	Ala	His	Glu	Ile
				405					410					415	
Gly	His	Leu	Leu	Gly	Leu	Ser	His	Asp	Asp	Ser	Lys	Phe	Cys	Glu	Glu
			420					425					430		
Asn	Phe	Gly	Ser	Thr	Glu	Asp	Lys	Arg	Leu	Met	Ser	Ser	Ile	Leu	Thr
		435					440					445			
Ser	Ile	Asp	Ala	Ser	Lys	Pro	Trp	Ser	Lys	Cys	Thr	Ser	Ala	Thr	Ile
	450					455					460				
Thr	Glu	Phe	Leu	Asp	Asp	Gly	His	Gly	Asn	Cys	Leu	Leu	Asp	Leu	Pro
465					470					475					480
Arg	Lys	Gln	Ile	Pro	Gly	Pro	Glu	Glu	Leu	Pro	Gly	Gln	Thr	Tyr	Asp
				485					490					495	
Ala	Ser	Gln	Gln	Cys	Asn	Leu	Thr	Phe	Gly	Pro	Glu	Tyr	Ser	Val	Cys
			500					505					510		
Pro	Gly	Met	Asp	Val	Cys	Ala	Arg	Leu	Trp	Cys	Ala	Val	Val	Arg	Gln
		515					520					525			
Gly	Gln	Met	Val	Cys	Leu	Thr	Lys	Lys	Leu	Pro	Ala	Val	Glu	Gly	Thr
	530					535					540				
Pro	Cys	Gly	Lys	Gly	Arg	Ile	Cys	Leu	Gln	Gly	Lys	Cys	Val	Asp	Lys
545					550					555					560
Thr	Lys	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Thr	Ser	Ser	His	Gly	Asn	Trp	Gly	Ser
				565					570					575	
Trp	Gly	Ser	Trp	Gly	Gln	Cys	Ser	Arg	Ser	Cys	Gly	Gly	Gly	Val	Gln
			580					585					590		
Phe	Ala	Tyr	Arg	His	Cys	Asn	Asn	Pro	Ala	Pro	Arg	Asn	Asn	Gly	Arg

595 600 605
Tyr Cys Thr Gly Lys Arg Ala Ile Tyr Arg Ser Cys Ser Val Thr Pro
610 615 620
Cys Pro His His His His His His His His His His
625 630 635

<210> 151
<211> 629
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 151
Met Arg Leu Glu Trp Ala Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Cys
1 5 10 15
Ala Ser Cys Leu Ala Leu Ala Ala Asp Asn Pro Ala Ala Ala Pro Ala
20 25 30
Gln Asp Lys Thr Arg Gln Pro Arg Ala Ala Ala Ala Ala Gln Pro
35 40 45
Asp Gln Arg Gln Trp Glu Glu Thr Gln Glu Arg Gly His Pro Gln Pro
50 55 60
Leu Ala Arg Gln Arg Arg Ser Ser Gly Leu Val Gln Asn Ile Asp Gln
65 70 75 80
Leu Tyr Ser Gly Gly Gly Lys Val Gly Tyr Leu Val Tyr Ala Gly Gly
85 90 95
Arg Arg Phe Leu Leu Asp Leu Glu Arg Asp Asp Thr Val Gly Ala Ala
100 105 110
Gly Gly Ile Val Thr Ala Gly Gly Leu Ser Ala Ser Ser Gly His Arg
115 120 125
Gly His Cys Phe Tyr Arg Gly Thr Val Asp Gly Ser Pro Arg Ser Leu
130 135 140
Ala Val Phe Asp Leu Cys Gly Gly Leu Asp Gly Phe Phe Ala Val Lys
145 150 155 160
His Ala Arg Tyr Thr Leu Lys Pro Leu Leu Arg Gly Ser Trp Ala Glu
165 170 175
Ser Glu Arg Val Tyr Gly Asp Gly Ser Ser Arg Ile Leu His Val Tyr
180 185 190
Thr Arg Glu Gly Phe Ser Phe Glu Ala Leu Pro Pro Arg Thr Ser Cys
195 200 205
Glu Thr Pro Ala Ser Pro Ser Gly Ala Gln Glu Ser Pro Ser Val His
210 215 220
Ser Ser Ser Arg Arg Arg Thr Glu Leu Ala Pro Gln Leu Leu Asp His
225 230 235 240
Ser Ala Phe Ser Pro Ala Gly Asn Ala Gly Pro Gln Thr Trp Trp Arg
245 250 255
Arg Arg Arg Arg Ser Ile Ser Arg Ala Arg Gln Val Glu Leu Leu Leu
260 265 270
Val Ala Asp Ser Ser Met Ala Lys Met Tyr Gly Arg Gly Leu Gln His
275 280 285
Tyr Leu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Ala Asn Arg Leu Tyr Ser His Ala
290 295 300
Ser Ile Glu Asn His Ile Arg Leu Ala Val Val Lys Val Val Val Leu
305 310 315 320
Thr Asp Lys Ser Leu Glu Val Ser Lys Asn Ala Ala Thr Thr Leu Lys
325 330 335
Asn Phe Cys Lys Trp Gln His Gln His Asn Gln Leu Gly Asp Asp His
340 345 350
Glu Glu His Tyr Asp Ala Ala Ile Leu Phe Thr Arg Glu Asp Leu Cys
355 360 365
Gly His His Ser Cys Asp Thr Leu Gly Met Ala Asp Val Gly Thr Ile
370 375 380
Cys Ser Pro Glu Arg Ser Cys Ala Val Ile Glu Asp Asp Gly Leu His
385 390 395 400
Ala Ala Phe Thr Val Ala His Glu Ile Gly His Leu Leu Gly Leu Ser

His Asp Asp Ser 405 Lys Phe Cys Glu Glu Asn Phe Gly Ser Thr 415 Glu Asp
Lys Arg Leu Met 420 Ser Ser Ile Leu Thr Ser Ile Asp Ala Ser Lys Pro 430
Trp Ser Lys Cys Thr Ser Ala Thr Ile Thr Glu Phe Leu Asp Asp Gly 445
His Gly Asn Cys Leu Leu Asp Val Pro Arg Lys Gln Ile Leu Gly Pro 460
465 Glu Glu Leu Pro Gly Gln Thr Tyr Asp Ala Thr Gln Gln Cys Asn Leu 480
Thr Phe Gly Pro Glu Tyr Ser Val Cys Pro Gly Met Asp Val Cys Ala 495
Arg Leu Trp Cys Ala Val Val Arg Gln Gly Gln Met Val Cys Leu Thr 510
Lys Lys Leu Pro Ala Val Glu Gly Thr Pro Cys Gly Lys Gly Arg Ile 525
Cys Leu Gln Gly Lys Cys Val Asp Lys Thr Lys Lys Lys Tyr Tyr Ser 540
545 Thr Ser Ser His Gly Asn Trp Gly Ser Trp Gly Pro Trp Gly Gln Cys 560
Ser Arg Ser Cys Gly Gly Gly Val Gln Phe Ala Tyr Arg His Cys Asn 575
Asn Pro Ala Pro Arg Asn Ser Gly Arg Tyr Cys Thr Gly Lys Arg Ala 590
Ile Tyr Arg Ser Cys Ser Val Ile Pro Cys Pro His His His His His 605
His His His His His 615 620
625

- <210> 152
- <211> 632
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 胺基酸序列

<400> 152
Met Leu Leu Gly Trp Ala Ser Leu Leu Leu Cys Ala Phe Arg Leu Pro
1 5 10 15
Gln Ala Ala Ala Ser Ala Ala Ala Ala Pro Ala Gln Asp Lys Ala Gly
20 25 30
Gln Pro Arg Ala Ala Ala Ala Ala Pro Gln Pro Arg Arg Arg Gln Gly
35 40 45
Glu His Ala Pro Leu Arg Val Glu Pro Pro Gly His Pro His Ala Leu
50 55 60
Ala Pro Gln Arg Arg Gly Arg Gly Leu Leu Gln Ser Ile Asp Arg Leu
65 70 75 80
Tyr Ser Gly Gly Gly Lys Val Gly Tyr Leu Val Tyr Ala Gly Gly Arg
85 90 95
Arg Phe Leu Leu Asp Leu Glu Arg Asp Gly Ser Val Gly Ala Ala Gly
100 105 110
Leu Phe Pro Ala Gly Gly Gly Leu Ser Ala Pro Arg Arg His Arg Ser
115 120 125
His Cys Phe Tyr Arg Gly Thr Val Asp Gly Ser Pro Arg Ser Leu Ala
130 135 140
Val Phe Asp Leu Cys Gly Gly Leu Arg Gly Phe Phe Ala Val Lys His
145 150 155 160
Ala Arg Tyr Thr Val Lys Pro Leu Leu Arg Gly Pro Trp Ala Glu Ala
165 170 175
Asp Thr Pro Arg Val Tyr Gly Asp Glu Ser Ala Arg Ile Pro His Val
180 185 190
Tyr Thr Arg Glu Gly Phe Ser Phe Glu Ala Leu Pro Pro Arg Ala Ser
195 200 205
Cys Glu Thr Pro Ala Ser Gln Pro Gly Pro His Glu Arg Pro Pro Ala

210 215 220
His Asn Ser Pro Gly Arg His Ser Thr Val Asp Pro Gln Leu Pro Glu
225 230 235 240
Leu Ser Ala Leu Ser Pro Ala Gly Asp Pro Gly Gln Gln Ile Trp Trp
245 250 255
Arg Arg Arg Arg Ser Ile Ser Arg Ala Arg Gln Val Glu Leu Leu
260 265 270
Leu Val Ala Asp Gly Ser Met Ala Lys Met Tyr Gly Arg Gly Leu Gln
275 280 285
His Tyr Leu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Ala Asn Arg Leu Tyr Ser His
290 295 300
Ala Ser Ile Glu Asn His Ile Arg Leu Ala Val Val Lys Val Val Val
305 310 315 320
Leu Gly Asp Lys Asp Lys Ser Leu Glu Val Ser Lys Asn Ala Ala Thr
325 330 335
Thr Leu Lys Asn Phe Cys Lys Trp Gln His Gln His Asn Gln Leu Gly
340 345 350
Asp Asp His Glu Glu His Tyr Asp Ala Ala Ile Leu Phe Thr Arg Glu
355 360 365
Asp Leu Cys Gly His His Ser Cys Asp Thr Leu Gly Met Ala Asp Val
370 375 380
Gly Thr Ile Cys Ser Pro Glu Arg Ser Cys Ala Val Ile Glu Asp Asp
385 390 395 400
Gly Leu His Ala Ala Phe Thr Val Ala His Glu Ile Gly His Leu Leu
405 410 415
Gly Leu Ser His Asp Asp Ser Lys Phe Cys Glu Glu Asn Phe Gly Leu
420 425 430
Thr Glu Asp Lys Arg Leu Met Ser Ser Ile Leu Thr Ser Ile Asp Ala
435 440 445
Ser Lys Pro Trp Ser Lys Cys Thr Ser Ala Thr Met Thr Glu Phe Leu
450 455 460
Asp Asp Gly His Gly Asn Cys Leu Leu Asp Val Pro Arg Lys Gln Ile
465 470 475 480
Pro Ser Pro Glu Glu Leu Pro Gly Gln Thr Tyr Asp Ala Thr Gln Gln
485 490 495
Cys Asn Leu Thr Phe Gly Pro Glu Tyr Ser Val Cys Pro Gly Met Asp
500 505 510
Val Cys Ala Arg Leu Trp Cys Ala Val Val Arg Gln Gly Gln Met Val
515 520 525
Cys Leu Thr Lys Lys Leu Pro Ala Val Glu Gly Thr Pro Cys Gly Lys
530 535 540
Gly Arg Ile Cys Leu Gln Gly Lys Cys Val Asp Lys Thr Lys Lys Lys
545 550 555 560
Tyr Tyr Ser Thr Ser Ser His Gly Asn Trp Gly Ser Trp Gly Pro Trp
565 570 575
Gly Gln Cys Ser Arg Ser Cys Gly Gly Val Gln Phe Ala Tyr Arg
580 585 590
His Cys Asn Asn Pro Ala Pro Arg Asn Ser Gly Arg Tyr Cys Thr Gly
595 600 605
Lys Arg Ala Ile Tyr Arg Ser Cys Ser Val Thr Pro Cys Pro His His
610 615 620
His His His His His His His
625 630

<210> 153
<211> 632
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<223>氨基酸序列

<400> 153
Met Arg Leu Glu Trp Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ser
1 5 10 15
Ala Ser Cys Leu Ser Leu Ala Ala Asp Ser Pro Ala Ala Ala Pro Ala

			20					25					30				
Gln	Asp	Lys	Thr	Arg	Gln	Pro	Gln	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Glu	Pro		
		35					40					45					
Asp	Gln	Pro	Gln	Gly	Glu	Glu	Thr	Arg	Glu	Arg	Gly	His	Leu	Gln	Pro		
	50					55					60						
Leu	Ala	Gly	Gln	Arg	Arg	Ser	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Asn	Ile	Asp	Gln		
65					70						75				80		
Leu	Tyr	Ser	Gly	Gly	Gly	Lys	Val	Gly	Tyr	Leu	Val	Tyr	Ala	Gly	Gly		
			85							90				95			
Arg	Arg	Phe	Leu	Leu	Asp	Leu	Glu	Arg	Asp	Asp	Thr	Val	Gly	Ala	Ala		
			100					105					110				
Gly	Ser	Ile	Val	Thr	Ala	Gly	Gly	Gly	Leu	Ser	Ala	Ser	Ser	Gly	His		
		115					120					125					
Arg	Gly	His	Cys	Phe	Tyr	Arg	Gly	Thr	Val	Asp	Gly	Ser	Pro	Arg	Ser		
	130					135					140						
Leu	Ala	Val	Phe	Asp	Leu	Cys	Gly	Gly	Leu	Asp	Gly	Phe	Phe	Ala	Val		
145					150				155						160		
Lys	His	Ala	Arg	Tyr	Thr	Leu	Lys	Pro	Leu	Leu	Arg	Gly	Ser	Trp	Ala		
				165					170					175			
Glu	Tyr	Glu	Arg	Ile	Tyr	Gly	Asp	Gly	Ser	Ser	Arg	Ile	Leu	His	Val		
			180					185					190				
Tyr	Asn	Arg	Glu	Gly	Phe	Ser	Phe	Glu	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg	Ala	Ser		
		195					200					205					
Cys	Glu	Thr	Pro	Ala	Ser	Pro	Ser	Gly	Pro	Gln	Glu	Ser	Pro	Ser	Val		
	210					215					220						
His	Ser	Arg	Ser	Arg	Arg	Arg	Ser	Ala	Leu	Ala	Pro	Gln	Leu	Leu	Asp		
225				230					235						240		
His	Ser	Ala	Phe	Ser	Pro	Ser	Gly	Asn	Ala	Gly	Pro	Gln	Thr	Trp	Trp		
				245					250					255			
Arg	Arg	Arg	Arg	Arg	Ser	Ile	Ser	Arg	Ala	Arg	Gln	Val	Glu	Leu	Leu		
			260					265					270				
Leu	Val	Ala	Asp	Ser	Ser	Met	Ala	Arg	Met	Tyr	Gly	Arg	Gly	Leu	Gln		
		275					280					285					
His	Tyr	Leu	Leu	Thr	Leu	Ala	Ser	Ile	Ala	Asn	Arg	Leu	Tyr	Ser	His		
	290					295					300						
Ala	Ser	Ile	Glu	Asn	His	Ile	Arg	Leu	Ala	Val	Val	Lys	Val	Val	Val		
305				310						315					320		
Leu	Thr	Asp	Lys	Asp	Thr	Ser	Leu	Glu	Val	Ser	Lys	Asn	Ala	Ala	Thr		
				325					330					335			
Thr	Leu	Lys	Asn	Phe	Cys	Lys	Trp	Gln	His	Gln	His	Asn	Gln	Leu	Gly		
			340					345					350				

Tyr Tyr Ser Thr Ser Ser His Gly Asn Trp Gly Ser Trp Gly Pro Trp
565 570 575
Gly Gln Cys Ser Arg Ser Cys Gly Gly Val Gln Phe Ala Tyr Arg
580 585 590
His Cys Asn Asn Pro Ala Pro Arg Asn Ser Gly Arg Tyr Cys Thr Gly
595 600 605
Lys Arg Ala Ile Tyr Arg Ser Cys Ser Val Thr Pro Cys Pro His His
610 615 620
His His His His His His His
625 630

<210> 154
<211> 632
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 氨基酸序列

<400> 154
Met Leu Leu Gly Trp Ala Ser Leu Leu Leu Cys Ala Phe Arg Leu Pro
1 5 10 15
Leu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Ala Ala Pro Ala Gln Asp Lys Ala Gly
20 25 30
Gln Pro Ala Thr Ala Ala Ala Ala Gln Pro Arg Arg Arg Gln Gly
35 40 45
Glu Glu Val Gln Glu Arg Thr Glu Pro Pro Gly His Pro His Pro Leu
50 55 60
Ala Gln Arg Arg Ser Ser Lys Gly Leu Val Gln Asn Ile Asp Gln Leu
65 70 75 80
Tyr Ser Gly Gly Gly Lys Val Gly Tyr Leu Val Tyr Ala Gly Gly Arg
85 90 95
Arg Phe Leu Leu Asp Leu Glu Arg Asp Gly Ser Val Gly Thr Ala Gly
100 105 110
Phe Val Pro Thr Glu Gly Gly Thr Ser Ala Pro Trp Arg His Arg Ser
115 120 125
His Cys Phe Tyr Arg Gly Thr Val Asp Gly Ser Pro Arg Ser Leu Ala
130 135 140
Val Phe Asp Leu Cys Gly Gly Leu Asp Gly Phe Phe Ala Val Lys His
145 150 155 160
Ala Arg Tyr Thr Leu Lys Pro Leu Leu Arg Gly Pro Trp Ala Glu Glu
165 170 175
Glu Thr Arg Arg Val Tyr Gly Asp Gly Ser Ala Arg Ile Leu His Val
180 185 190
Tyr Thr Arg Glu Gly Phe Ser Phe Glu Ala Leu Gln Pro Arg Ala Ser
195 200 205
Cys Glu Thr Pro Ala Ser Thr Pro Glu Pro His Glu Arg Pro Pro Ala
210 215 220
His Ser Asn Pro Gly Gly Arg Ala Ala Leu Ala Ser Gln Leu Leu Asp
225 230 235 240
Gln Ser Ala Val Ser Pro Ala Gly Gly Pro Gly Pro Gln Thr Trp Trp
245 250 255
Arg Arg Arg Arg Arg Ser Ile Ser Arg Ala Arg Gln Val Glu Leu Leu
260 265 270
Leu Val Ala Asp Ala Ser Met Ala Arg Leu Tyr Gly Arg Gly Leu Gln
275 280 285
His Tyr Leu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Ala Asn Arg Leu Tyr Ser His
290 295 300
Ala Ser Ile Glu Asn His Ile Arg Leu Ala Val Val Lys Val Val Val
305 310 315 320
Leu Gly Asp Lys Asp Lys Ser Leu Glu Val Ser Lys Asn Ala Ala Thr
325 330 335
Thr Leu Lys Asn Phe Cys Lys Trp Gln His Gln His Asn Gln Leu Gly
340 345 350
Asp Asp His Glu Glu His Tyr Asp Ala Ala Ile Leu Phe Thr Arg Glu
355 360 365

Asp Leu Cys Gly His His Ser Cys Asp Thr Leu Gly Met Ala Asp Val
370 375 380
Gly Thr Ile Cys Ser Pro Glu Arg Ser Cys Ala Val Ile Glu Asp Asp
385 390 400
Gly Leu His Ala Ala Phe Thr Val Ala His Glu Ile Gly His Leu Leu
405 410 415
Gly Leu Ser His Asp Asp Ser Lys Phe Cys Glu Glu Thr Phe Gly Ser
420 425 430
Thr Glu Asp Lys Arg Leu Met Ser Ser Ile Leu Thr Ser Ile Asp Ala
435 440 445
Ser Lys Pro Trp Ser Lys Cys Thr Ser Ala Thr Ile Thr Glu Phe Leu
450 455 460
Asp Asp Gly His Gly Asn Cys Leu Leu Asp Gln Pro Arg Lys Gln Ile
465 470 475 480
Leu Gly Pro Glu Glu Leu Pro Gly Gln Thr Tyr Asp Ala Thr Gln Gln
485 490 495
Cys Asn Leu Thr Phe Gly Pro Glu Tyr Ser Val Cys Pro Gly Met Asp
500 505 510
Val Cys Ala Arg Leu Trp Cys Ala Val Val Arg Gln Gly Gln Met Val
515 520 525
Cys Leu Thr Lys Lys Leu Pro Ala Val Glu Gly Thr Pro Cys Gly Lys
530 535 540
Gly Arg Ile Cys Leu Gln Gly Lys Cys Val Asp Lys Thr Lys Lys Lys
545 550 555 560
Tyr Tyr Ser Thr Ser Ser His Gly Asn Trp Gly Ser Trp Gly Ser Trp
565 570 575
Gly Gln Cys Ser Arg Ser Cys Gly Gly Gly Val Gln Phe Ala Tyr Arg
580 585 590
His Cys Asn Asn Pro Ala Pro Arg Asn Asn Gly Arg Tyr Cys Thr Gly
595 600 605
Lys Arg Ala Ile Tyr Arg Ser Cys Gly Leu Met Pro Cys Pro His His
610 615 620
His His His His His His His
625 630

<210> 155
<211> 2415
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 155
Met Thr Thr Leu Leu Trp Val Phe Val Thr Leu Arg Val Ile Thr Ala
1 5 10 15
Ala Val Thr Val Glu Thr Ser Asp His Asp Asn Ser Leu Ser Val Ser
20 25 30
Ile Pro Gln Pro Ser Pro Leu Arg Val Leu Leu Gly Thr Ser Leu Thr
35 40 45
Ile Pro Cys Tyr Phe Ile Asp Pro Met His Pro Val Thr Thr Ala Pro
50 55 60
Ser Thr Ala Pro Leu Ala Pro Arg Ile Lys Trp Ser Arg Val Ser Lys
65 70 75 80
Glu Lys Glu Val Val Leu Leu Val Ala Thr Glu Gly Arg Val Arg Val
85 90 95
Asn Ser Ala Tyr Gln Asp Lys Val Ser Leu Pro Asn Tyr Pro Ala Ile
100 105 110
Pro Ser Asp Ala Thr Leu Glu Val Gln Ser Leu Arg Ser Asn Asp Ser
115 120 125
Gly Val Tyr Arg Cys Glu Val Met His Gly Ile Glu Asp Ser Glu Ala
130 135 140
Thr Leu Glu Val Val Val Lys Gly Ile Val Phe His Tyr Arg Ala Ile
145 150 155 160
Ser Thr Arg Tyr Thr Leu Asp Phe Asp Arg Ala Gln Arg Ala Cys Leu
165 170 175

Gln	Asn	Ser	Ala	Ile	Ile	Ala	Thr	Pro	Glu	Gln	Leu	Gln	Ala	Ala	Tyr
			180					185					190		
Glu	Asp	Gly	Phe	His	Gln	Cys	Asp	Ala	Gly	Trp	Leu	Ala	Asp	Gln	Thr
		195					200					205			
Val	Arg	Tyr	Pro	Ile	His	Thr	Pro	Arg	Glu	Gly	Cys	Tyr	Gly	Asp	Lys
	210					215					220				
Asp	Glu	Phe	Pro	Gly	Val	Arg	Thr	Tyr	Gly	Ile	Arg	Asp	Thr	Asn	Glu
225					230					235					240
Thr	Tyr	Asp	Val	Tyr	Cys	Phe	Ala	Glu	Glu	Met	Glu	Gly	Glu	Val	Phe
				245					250					255	
Tyr	Ala	Thr	Ser	Pro	Glu	Lys	Phe	Thr	Phe	Gln	Glu	Ala	Ala	Asn	Glu
			260					265					270		
Cys	Arg	Arg	Leu	Gly	Ala	Arg	Leu	Ala	Thr	Thr	Gly	His	Val	Tyr	Leu
	275							280				285			
Ala	Trp	Gln	Ala	Gly	Met	Asp	Met	Cys	Ser	Ala	Gly	Trp	Leu	Ala	Asp
	290					295					300				
Arg	Ser	Val	Arg	Tyr	Pro	Ile	Ser	Lys	Ala	Arg	Pro	Asn	Cys	Gly	Gly
305					310					315					320
Asn	Leu	Leu	Gly	Val	Arg	Thr	Val	Tyr	Val	His	Ala	Asn	Gln	Thr	Gly
				325					330					335	
Tyr	Pro	Asp	Pro	Ser	Ser	Arg	Tyr	Asp	Ala	Ile	Cys	Tyr	Thr	Gly	Glu
			340					345					350		
Asp	Phe	Val	Asp	Ile	Pro	Glu	Asn	Phe	Phe	Gly	Val	Gly	Gly	Glu	Glu
	355						360					365			
Asp	Ile	Thr	Val	Gln	Thr	Val	Thr	Trp	Pro	Asp	Met	Glu	Leu	Pro	Leu
	370					375					380				
Pro	Arg	Asn	Ile	Thr	Glu	Gly	Glu	Ala	Arg	Gly	Ser	Val	Ile	Leu	Thr
385					390					395					400
Val	Lys	Pro	Ile	Phe	Glu	Val	Ser	Pro	Ser	Pro	Leu	Glu	Pro	Glu	Glu
				405					410					415	
Pro	Phe	Thr	Phe	Ala	Pro	Glu	Ile	Gly	Ala	Thr	Ala	Phe	Ala	Glu	Val
			420					425					430		
Glu	Asn	Glu	Thr	Gly	Glu	Ala	Thr	Arg	Pro	Trp	Gly	Phe	Pro	Thr	Pro
	435						440					445			
Gly	Leu	Gly	Pro	Ala	Thr	Ala	Phe	Thr	Ser	Glu	Asp	Leu	Val	Val	Gln
	450					455					460				
Val	Thr	Ala	Val	Pro	Gly	Gln	Pro	His	Leu	Pro	Gly	Gly	Val	Val	Phe
465					470					475					480
His	Tyr	Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Tyr	Ser	Leu	Thr	Phe	Glu	Glu	Ala
				485					490					495	
Gln	Gln	Ala	Cys	Pro	Gly	Thr	Gly	Ala	Val	Ile	Ala	Ser	Pro	Glu	Gln
			500					505					510		
Leu	Gln	Ala	Ala	Tyr	Glu	Ala	Gly	Tyr	Glu	Gln	Cys	Asp	Ala	Gly	Trp
	515						520					525			
Leu	Arg	Asp	Gln	Thr	Val	Arg	Tyr	Pro	Ile	Val	Ser	Pro	Arg	Thr	Pro
	530					535					540				
Cys	Val	Gly	Asp	Lys	Asp	Ser	Ser	Pro	Gly	Val	Arg	Thr	Tyr	Gly	Val
545					550					555					560
Arg	Pro	Ser	Thr	Glu	Thr	Tyr	Asp	Val	Tyr	Cys	Phe	Val	Asp	Arg	Leu
				565					570					575	
Glu	Gly	Glu	Val	Phe	Phe	Ala	Thr	Arg	Leu	Glu	Gln	Phe	Thr	Phe	Gln
			580					585					590		
Glu	Ala	Leu	Glu	Phe	Cys	Glu	Ser	His	Asn	Ala	Thr	Ala	Thr	Thr	Gly
	595						600					605			
Gln	Leu	Tyr	Ala	Ala	Trp	Ser	Arg	Gly	Leu	Asp	Lys	Cys	Tyr	Ala	Gly
	610					615					620				
Trp	Leu	Ala	Asp	Gly	Ser	Leu	Arg	Tyr	Pro	Ile	Val	Thr	Pro	Arg	Pro
625					630					635					640
Ala	Cys	Gly	Gly	Asp	Lys	Pro	Gly	Val	Arg	Thr	Val	Tyr	Leu	Tyr	Pro
				645					650					655	
Asn	Gln	Thr	Gly	Leu	Pro	Asp	Pro	Leu	Ser	Arg	His	His	Ala	Phe	Cys
			660					665					670		
Phe	Arg	Gly	Ile	Ser	Ala	Val	Pro	Ser	Pro	Gly	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly
	675						680					685			
Thr	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser	Gly	Val	Glu	Glu	Trp	Ile	Val	Thr	Gln	Val
	690					695					700				
Val	Pro	Gly	Val	Ala	Ala	Val	Pro	Val	Glu	Glu	Glu	Thr	Thr	Ala	Val

705	Pro	Ser	Gly	Glu	Thr	710	Thr	Ala	Ile	Leu	Glu	715	Phe	Thr	Thr	Glu	720	Pro	Glu
	Asn	Gln	Thr	Glu	725	Trp	Glu	Pro	Ala	Tyr	730	Thr	Pro	Val	Gly	Thr	735	Ser	Pro
	Leu	Pro	Gly	Ile	740	Leu	Pro	Thr	Trp	745	Pro	Pro	Thr	Gly	Ala	Glu	750	Thr	Glu
	Glu	755	Ser	Thr	Glu	Gly	Pro	Ser	Ala	760	Thr	Glu	Val	Pro	765	Ser	Ala	Ser	Glu
	Glu	770	Pro	Ser	Pro	Ser	Glu	Val	Pro	775	Phe	Pro	Ser	Glu	Glu	Pro	Ser	Pro	Pro
	Ser	Glu	Glu	Pro	785	Phe	Pro	Ser	Val	Arg	Pro	790	Phe	Pro	Ser	Val	Glu	Leu	Leu
	Phe	Pro	Ser	Glu	805	Glu	Pro	Phe	Pro	Ser	810	Lys	Glu	Pro	Ser	Pro	Ser	Glu	Glu
	Glu	Pro	Ser	Ala	820	Ser	Glu	Glu	Pro	825	Tyr	Thr	Pro	Ser	Pro	Pro	Glu	Pro	Pro
	Ser	Trp	Thr	Glu	835	Leu	Pro	Ser	Ser	840	Gly	Glu	Glu	Ser	Gly	Ala	Pro	Asp	Asp
	Val	Ser	Gly	Asp	850	Phe	Thr	Gly	Ser	855	Gly	Asp	Val	Ser	Gly	His	Leu	Asp	Asp
	Phe	Ser	Gly	Gln	865	Leu	Ser	Gly	Asp	870	Arg	Ala	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Gly
	Asp	Leu	Asp	Ser	885	Ser	Gly	Leu	Thr	890	Ser	Thr	Val	Gly	Ser	Gly	Leu	Thr	Thr
	Val	Glu	Ser	Gly	900	Leu	Pro	Ser	Gly	905	Asp	Glu	Glu	Arg	Ile	Glu	Trp	Pro	Pro
	Ser	Thr	Pro	Thr	915	Val	Gly	Glu	Leu	920	Pro	Ser	Gly	Ala	Glu	Ile	Leu	Glu	Glu
	Gly	Ser	Ala	Ser	930	Gly	Val	Gly	Asp	935	Leu	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Glu	Glu
	Val	Leu	Glu	Thr	945	Ser	Ala	Ser	Gly	950	Val	Gly	Asp	Leu	Ser	Gly	Leu	Pro	Pro
	Ser	Gly	Glu	Val	955	Leu	Glu	Thr	Thr	965	Ala	Pro	Gly	Val	Glu	Asp	Ile	Ser	Ser
	Gly	Leu	Pro	Ser	970	Gly	Glu	Val	Leu	975	Glu	Thr	Thr	Ala	Pro	Gly	Val	Glu	Glu
	Asp	Ile	Ser	Gly	980	Leu	Pro	Ser	Gly	985	Glu	Val	Leu	Glu	Thr	Thr	Ala	Pro	Pro
	Gly	Val	Glu	Asp	995	Ile	Ser	Gly	Leu	1000	Pro	Ser	Gly	Glu	Val	Leu	Glu	Thr	Ala
	Thr	Ala	Pro	Gly	1010	Val	Glu	Asp	Ile	1015	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Glu	Val	Leu
	Leu	Glu	Thr	Thr	1025	Ala	Pro	Gly	Val	1030	Glu	Asp	Ile	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly
	Gly	Glu	Val	Leu	1035	Glu	Thr	Ala	Ala	1040	Pro	Gly	Val	Glu	Asp	Ile	Ser	Gly	Glu
	Leu	Pro	Ser	Gly	1045	Glu	Val	Leu	Glu	1050	Thr	Ala	Ala	Pro	Gly	Val	Glu	Asp	Ile
	Ile	Ser	Gly	Leu	1060	Pro	Ser	Gly	Glu	1065	Val	Leu	Glu	Thr	Ala	Ala	Pro	Gly	Val
	Val	Glu	Asp	Ile	1070	Leu	Pro	Ser	Gly	1075	Glu	Val	Leu	Glu	Thr	Ala	Ala	Pro	Gly
	Ala	Pro	Gly	Val	1080	Glu	Thr	Ala	Ala	1085	Pro	Gly	Val	Glu	Asp	Ile	Ser	Gly	Leu
	Glu	Thr	Ala	Ala	1090	Pro	Gly	Val	Glu	1095	Asp	Ile	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Leu
	Glu	Val	Leu	Glu	1100	Thr	Ala	Ala	Pro	1105	Glu	Thr	Ala	Ala	Pro	Gly	Val	Glu	Asp
	Pro	Ser	Gly	Glu	1110	Val	Leu	Glu	Thr	1115	Ala	Ala	Pro	Gly	Val	Glu	Asp	Ile	Ser
	Ser	Gly	Leu	Pro	1120	Ser	Gly	Glu	Val	1125	Leu	Glu	Thr	Ala	Ala	Pro	Gly	Val	Glu
	Glu	Asp	Ile	Ser	1130	Pro	Ser	Gly	Glu	1135	Val	Leu	Glu	Thr	Ala	Ala	Pro	Gly	Val
	Pro	Gly	Val	Glu	1140	Thr	Ala	Ala	Pro	1145	Glu	Thr	Ala	Ala	Pro	Gly	Val	Glu	Asp
	Ser	Gly	Leu	Pro	1150	Ser	Gly	Leu	Pro	1155	Val	Glu	Thr	Ala	Ala	Pro	Gly	Val	Glu
	Leu	Pro	Ser	Gly	1160	Val	Glu	Thr	Ala	1165	Pro	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Leu	Glu
	Thr	Ala	Ala	Pro	1170	Glu	Val	Glu	Asp	1175	Ile	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Leu	Glu
	Pro	Ser	Gly	Glu	1180	Val	Leu	Glu	Thr	1185	Ala	Ala	Pro	Gly	Val	Glu	Asp	Ile	Ser
	Ser	Gly	Leu	Pro	1190	Ser	Gly	Glu	Val	1195	Leu	Glu	Thr	Ala	Ala	Pro	Gly	Val	Glu
	Glu	Asp	Ile	Ser	1200	Pro	Ser	Gly	Glu	1205	Val	Leu	Glu	Thr	Ala	Ala	Pro	Gly	Val
	Pro	Gly	Val	Glu	1210	Asp	Ile	Ser	Gly	1215	Leu	Pro	Ser	Gly	Glu	Val	Leu	Glu	Thr
					1220					1225									
					1230					1235									
					1240					1245									

Thr	Ala	Ala	Pro	Gly	Val	Glu	Asp	Ile	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Glu	
1250						1255					1260					
Val	Leu	Glu	Thr	Ala	Ala	Pro	Gly	Val	Glu	Asp	Ile	Ser	Gly	Leu	Pro	
1265				1270					1275						1280	
Ser	Gly	Glu	Val	Leu	Glu	Thr	Thr	Ala	Pro	Gly	Val	Glu	Glu	Ile	Ser	
			1285					1290						1295		
Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Glu	Val	Leu	Glu	Thr	Thr	Ala	Pro	Gly	Val	Asp	
		1300						1305						1310		
Glu	Ile	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Glu	Val	Leu	Glu	Thr	Thr	Ala	Pro	
	1315					1320							1325			
Gly	Val	Glu	Glu	Ile	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Glu	Val	Leu	Glu	Thr	
	1330					1335					1340					
Ser	Thr	Ser	Ala	Val	Gly	Asp	Leu	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Gly	Glu	
1345				1350					1355						1360	
Val	Leu	Glu	Ile	Ser	Val	Ser	Gly	Val	Glu	Asp	Ile	Ser	Gly	Leu	Pro	
			1365					1370						1375		
Ser	Gly	Glu	Val	Val	Glu	Thr	Ser	Ala	Ser	Gly	Ile	Glu	Asp	Val	Ser	
		1380						1385					1390			
Glu	Leu	Pro	Ser	Gly	Glu	Gly	Leu	Glu	Thr	Ser	Ala	Ser	Gly	Val	Glu	
	1395					1400						1405				
Asp	Leu	Ser	Arg	Leu	Pro	Ser	Gly	Glu	Glu	Val	Leu	Glu	Ile	Ser	Ala	
1410					1415						1420					
Ser	Gly	Phe	Gly	Asp	Leu	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Gly	Gly	Glu	Gly	Leu	
1425				1430					1435						1440	
Glu	Thr	Ser	Ala	Ser	Glu	Val	Gly	Thr	Asp	Leu	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	
			1445					1450						1455		
Gly	Arg	Glu	Gly	Leu	Glu	Thr	Ser	Ala	Ser	Gly	Ala	Glu	Asp	Leu	Ser	
	1460							1465					1470			
Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Lys	Glu	Asp	Leu	Val	Gly	Ser	Ala	Ser	Gly	Asp	
	1475					1480						1485				
Leu	Asp	Leu	Gly	Lys	Leu	Pro	Ser	Gly	Thr	Leu	Gly	Ser	Gly	Gln	Ala	
1490					1495						1500					
Pro	Glu	Thr	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Phe	Ser	Gly	Glu	Tyr	Ser	Gly	
1505				1510					1515						1520	
Val	Asp	Leu	Gly	Ser	Gly	Pro	Pro	Ser	Gly	Leu	Pro	Asp	Phe	Ser	Gly	
			1525					1530						1535		
Leu	Pro	Ser	Gly	Phe	Pro	Thr	Val	Ser	Leu	Val	Asp	Ser	Thr	Leu	Val	
	1540							1545					1550			
Glu	Val	Val	Thr	Ala	Ser	Thr	Ala	Ser	Glu	Leu	Glu	Gly	Arg	Gly	Thr	
	1555						1560						1565			
Ile	Gly	Ile	Ser	Gly	Ala	Gly	Glu	Ile	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Glu	
1570					1575						1580					
Leu	Asp	Ile	Ser	Gly	Arg	Ala	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Thr	Glu	Leu	
1585				1590					1595						1600	
Ser	Gly	Gln	Ala	Ser	Gly	Ser	Pro	Asp	Val	Ser	Gly	Glu	Ile	Pro	Gly	
		1605						1610						1615		
Leu	Phe	Gly	Val	Ser	Gly	Gln	Pro	Ser	Gly	Phe	Pro	Asp	Thr	Ser	Gly	
	1620							1625					1630			
Glu	Thr	Ser	Gly	Val	Thr	Glu	Leu	Ser	Gly	Leu	Ser	Ser	Gly	Gln	Pro	
	1635					1640						1645				
Gly	Val	Ser	Gly	Glu	Ala	Ser	Gly	Val	Leu	Tyr	Gly	Thr	Ser	Gln	Pro	
	1650					1655					1660					
Phe	Gly	Ile	Thr	Asp	Leu	Ser	Gly	Glu	Thr	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Leu	
1665				1670					1675					1680		
Ser	Gly	Gln	Pro	Ser	Gly	Leu	Pro	Gly	Phe	Ser	Gly	Ala	Thr	Ser	Gly	
		1685						1690						1695		
Val	Pro	Asp	Leu	Val	Ser	Gly	Thr	Thr	Ser	Gly	Ser	Gly	Glu	Ser	Ser	
	1700							1705					1710			
Gly	Ile	Thr	Phe	Val	Asp	Thr	Ser	Leu	Val	Glu	Val	Ala	Pro	Thr	Thr	
	1715					1720						1725				
Phe	Lys	Glu	Glu	Glu	Gly	Leu	Gly	Ser	Val	Glu	Leu	Ser	Gly	Leu	Pro	
1730					1735						1740					
Ser	Gly	Glu	Ala	Asp	Leu	Ser	Gly	Lys	Ser	Gly	Met	Val	Asp	Val	Ser	
1745				1750					1755					1760		
Gly	Gln	Phe	Ser	Gly	Thr	Val	Asp	Ser	Ser	Gly	Phe	Thr	Ser	Gln	Thr	
		1765						1770						1775		
Pro	Glu	Phe	Ser	Gly	Leu	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Glu	Val	Ser	Gly	Glu	

1780						1785						1790																	
Ser	Ser	Arg	Ala	Glu	Ile	Gly	Ser	Ser	Leu	Pro	Ser	Gly	Ala	Tyr	Tyr														
1795						1800						1805																	
Gly	Ser	Gly	Thr	Pro	Ser	Ser	Phe	Pro	Thr	Val	Ser	Leu	Val	Asp	Arg														
1810						1815						1820																	
Thr	Leu	Val	Glu	Ser	Val	Thr	Gln	Ala	Pro	Thr	Ala	Gln	Glu	Ala	Gly														
1825						1830						1835																	
Glu	Gly	Pro	Ser	Gly	Ile	Leu	Glu	Leu	Ser	Gly	Ala	His	Ser	Gly	Ala														
1845						1850						1855																	
Pro	Asp	Met	Ser	Gly	Glu	His	Ser	Gly	Phe	Leu	Asp	Leu	Ser	Gly	Leu														
1860						1865						1870																	
Gln	Ser	Gly	Leu	Ile	Glu	Pro	Ser	Gly	Glu	Pro	Pro	Gly	Thr	Pro	Tyr														
1875						1880						1885																	
Phe	Ser	Gly	Asp	Phe	Ala	Ser	Thr	Thr	Asn	Val	Ser	Gly	Glu	Ser	Ser														
1890						1895						1900																	
Val	Ala	Met	Gly	Thr	Ser	Gly	Glu	Ala	Ser	Gly	Leu	Pro	Glu	Val	Thr														
1905						1910						1915																	
Leu	Ile	Thr	Ser	Glu	Phe	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Glu	Pro	Thr	Ile	Ser														
1925						1930						1935																	
Gln	Glu	Leu	Gly	Gln	Arg	Pro	Pro	Val	Thr	His	Thr	Pro	Gln	Leu	Phe														
1940						1945						1950																	
Glu	Ser	Ser	Gly	Lys	Val	Ser	Thr	Ala	Gly	Asp	Ile	Ser	Gly	Ala	Thr														
1955						1960						1965																	
Pro	Val	Leu	Pro	Gly	Ser	Gly	Val	Glu	Val	Ser	Ser	Val	Pro	Glu	Ser														
1970						1975						1980																	
Ser	Ser	Glu	Thr	Ser	Ala	Tyr	Pro	Glu	Ala	Gly	Phe	Gly	Ala	Ser	Ala														
1985						1990						1995																	
Ala	Pro	Glu	Ala	Ser	Arg	Glu	Asp	Ser	Gly	Ser	Pro	Asp	Leu	Ser	Glu														
2005						2010						2015																	
Thr	Thr	Ser	Ala	Phe	His	Glu	Ala	Asn	Leu	Glu	Arg	Ser	Ser	Gly	Leu														
2020						2025						2030																	
Gly	Val	Ser	Gly	Ser	Thr	Leu	Thr	Phe	Gln	Glu	Gly	Glu	Ala	Ser	Ala														
2035						2040						2045																	
Ala	Pro	Glu	Val	Ser	Gly	Glu	Ser	Thr	Thr	Thr	Ser	Asp	Val	Gly	Thr														
2050						2055						2060																	
Glu	Ala	Pro	Gly	Leu	Pro	Ser	Ala	Thr	Pro	Thr	Ala	Ser	Gly	Asp	Arg														
2065						2070						2075																	
Thr	Glu	Ile	Ser	Gly	Asp	Leu	Ser	Gly	His	Thr	Ser	Gln	Leu	Gly	Val														
2085						2090						2095																	
Val	Ile	Ser	Thr	Ser	Ile	Pro	Glu	Ser	Glu	Trp	Thr	Gln	Gln	Thr	Gln														
2100						2105						2110																	
Arg	Pro	Ala	Glu	Thr	His	Leu	Glu	Ile	Glu	Ser	Ser	Ser	Leu	Leu	Tyr														
2115						2120						2125																	
Ser	Gly	Glu	Glu	Thr	His	Thr	Val	Glu	Thr	Ala	Thr	Ser	Pro	Thr	Asp														
2130						2135						2140																	
Ala	Ser	Ile	Pro	Ala	Ser	Pro	Glu	Trp	Lys	Arg	Glu	Ser	Glu	Ser	Thr														
2145						2150						2155																	
Ala	Ala	Ala	Pro	Ala	Arg	Ser	Cys	Ala	Glu	Glu	Pro	Cys	Gly	Ala	Gly														
2165						2170						2175																	
Thr	Cys	Lys	Glu	Thr	Glu	Gly	His	Val	Ile	Cys	Leu	Cys	Pro	Pro	Gly														
2180						2185						2190																	
Tyr	Thr	Gly	Glu	His	Cys	Asn	Ile	Asp	Gln	Glu	Val	Cys	Glu	Glu	Gly														
2195						2200						2205																	
Trp	Asn	Lys	Tyr	Gln	Gly	His	Cys	Tyr	Arg	His	Phe	Pro	Asp	Arg	Glu														
2210						2215						2220																	
Thr	Trp	Val	Asp	Ala	Glu	Arg	Arg	Cys	Arg	Glu	Gln	Gln	Ser	His	Leu														
2225						2230						2235																	
Ser	Ser	Ile	Val	Thr	Pro	Glu	Glu	Gln	Glu	Phe	Val	Asn	Asn	Asn	Ala														
2245						2250						2255																	
Gln	Asp	Tyr	Gln	Trp	Ile	Gly	Leu	Asn	Asp	Arg	Thr	Ile	Glu	Gly	Asp														
2260						2265						2270																	
Phe	Arg	Trp	Ser	Asp	Gly	His	Pro	Met	Gln	Phe	Glu	Asn	Trp	Arg	Pro														
2275						2280						2285																	
Asn	Gln	Pro	Asp	Asn	Phe	Phe	Ala	Ala	Gly	Glu	Asp	Cys	Val	Val	Met														
2290						2295						2300																	
Ile	Trp	His	Glu	Lys	Gly	Glu	Trp	Asn	Asp	Val	Pro	Cys	Asn	Tyr	His														
2305						2310						2315						2320											

Leu Pro Phe Thr Cys Lys Lys Gly Thr Val Ala Cys Gly Glu Pro Pro
2325 2330 2335
Val Val Glu His Ala Arg Thr Phe Gly Gln Lys Lys Asp Arg Tyr Glu
2340 2345 2350
Ile Asn Ser Leu Val Arg Tyr Gln Cys Thr Glu Gly Phe Val Gln Arg
2355 2360 2365
His Met Pro Thr Ile Arg Cys Gln Pro Ser Gly His Trp Glu Glu Pro
2370 2375 2380
Arg Ile Thr Cys Thr Asp Ala Thr Thr Tyr Lys Arg Arg Leu Gln Lys
2385 2390 2395 2400
Arg Ser Ser Arg His Pro Arg Arg Ser Arg Pro Ser Thr Ala His
2405 2410 2415

<210> 156
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 156
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe Ile Ile Asn
20 25 30
Val Val Arg Trp Tyr Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45
Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Asn Ala Asn Tyr Val Asp Ser Val Arg
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95
Val Pro Thr Thr His Tyr Gly Gly Val Tyr Tyr Gly Pro Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 157
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 157
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Tyr Arg Arg Arg Arg Ala Ser Ser Asn Arg Gly Leu Trp Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125

<210> 158
<400> 158
000

<210> 159
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 159
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 160
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 160
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 161
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 161
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 162
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 162
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 163
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 163
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210>	164
<211>	15
<212>	PRT
<213>	人工序列

<223> 胺基酸序列

<400> 164
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210>	165
<211>	18
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>
<223> 氨基酸序列

<400> 165
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15
Gly Ser

<210>	166
<211>	20
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 166
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser
20

<210>	167
<211>	25
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>
<223> 氨基酸序列

<400> 167
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210>	168
<211>	30
<212>	PRT
<213>	人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 胺基酸序列

<400> 168
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 169
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 169
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Ser
35

<210> 170
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 170
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
35 40

<210> 171
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 171
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 172
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 172
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
1 5 10 15

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20

<210> 173
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 173
Glu Pro Lys Thr Pro Lys Pro Gln Pro Ala Ala Ala
1 5 10

<210> 174
<211> 62
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 胺基酸序列

<400> 174
Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys
1 5 10 15
Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
20 25 30
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu
35 40 45
Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
50 55 60

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種多肽，其包含至少一個與含血小板反應蛋白模體之解聚素金屬蛋白酶5(A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin motifs 5；ADAMTS5)結合之免疫球蛋白單可變結構域(ISVD)，其中該與ADAMTS5結合之ISVD包含3個互補決定區（分別為CDR1至CDR3），其中CDR1具有SEQ ID NO:21之序列，CDR2具有SEQ ID NO:37之序列，且CDR3具有SEQ ID NO:55之序列。

【第2項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其中該ISVD包含4個框架區(分別為FR1至FR4)。

【第3項】

如申請專利範圍第2項之多肽，其中FR1具有胺基酸序列DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS，FR2具有SEQ ID NO:88之胺基酸序列，FR3具有胺基酸序列YVDSLKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAA，且FR4具有SEQ ID NO:114之胺基酸序列。

【第4項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其中該多肽包含SEQ ID NO：129或130或與SEQ ID NO：129或130具有至少95%序列同一性之多肽之序列。

【第5項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其中該ISVD具有包含

SEQ ID NO:129之胺基酸 1-124之序列。

【第6項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其中該多肽與 ADAMTS5之結合 K_D 係低於 $1E^{-08}$ M。

【第7項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其中該多肽抑制 ADAMTS5之酶催化活性的 IC_{50} 值至多為 $1E^{-09}$ M。

【第8項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其中該多肽調節 ADAMTS5之 EC_{50} 值係介於 $1E^{-07}$ M及 $1E^{-12}$ M之間。

【第9項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其中該多肽與 ADAMTS5結合之解離速率小於 $1E^{-04}$ s⁻¹。

【第10項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其中該 ADAMTS5為人類 ADAMTS5，其具有 SEQ ID NO：149之序列。

【第11項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其中該多肽拮抗 ADAMTS5之活性。

【第12項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其中該多肽抑制至少 20%之 ADAMTS5與聚集蛋白聚醣結合。

【第13項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其中該多肽抑制

ADAMTS5之蛋白酶活性。

【第14項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其進一步包含第二ISVD。

【第15項】

如申請專利範圍第14項之多肽，其中該第二ISVD特异性結合ADAMTS5。

【第16項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其進一步包含與血清白蛋白結合之ISVD。

【第17項】

如申請專利範圍第16項之多肽，其中該與血清白蛋白結合之ISVD包含4個框架區(分別為FR1至FR4)及3個互補決定區(分別為CDR1至CDR3)，其中CDR1具有SEQ ID NO：146之序列、CDR2具有SEQ ID NO：147之序列且CDR3具有SEQ ID NO：148之序列。

【第18項】

如申請專利範圍第17項之多肽，其中該與血清白蛋白結合之ISVD係選自由下列所組成之群組：

具有SEQ ID NO:131之序列之ALB8；具有SEQ ID NO:132之序列之ALB23；

具有SEQ ID NO:133之序列之ALB129；

具有SEQ ID NO:134之序列之ALB132；

具有SEQ ID NO:135之序列之ALB11；

具有 SEQ ID NO:136 之序列之 ALB11(S112K)-A；
具有 SEQ ID NO:137 之序列之 ALB82；
具有 SEQ ID NO:138 之序列之 ALB82-A；
具有 SEQ ID NO:139 之序列之 ALB82-AA；
具有 SEQ ID NO:140 之序列之 ALB82-AAA；
具有 SEQ ID NO:141 之序列之 ALB82-G；
具有 SEQ ID NO:142 之序列之 ALB82-GG；
具有 SEQ ID NO:143 之序列之 ALB82-GGG；
具有 SEQ ID NO:144 之序列之 ALB92；及
具有 SEQ ID NO:145 之序列之 ALB223。

【第19項】

如申請專利範圍第14項之多肽，其係選自由下列所組成之群組：

SEQ ID NO：129，
SEQ ID NO：130，
SEQ ID NO：122，及
SEQ ID NO：126。

【第20項】

如申請專利範圍第15項之多肽，其中該與 ADAMTS5 結合之 ISVD 係直接連接或經由連接子連接至該第二 ISVD。

【第21項】

如申請專利範圍第20項之多肽，其中該連接子係選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：158至174。

【第22項】

如申請專利範圍第1項之多肽，其中該多肽與下列任一者具有至少90%序列同一性：SEQ ID NO：2、129或130。

【第23項】

一種如申請專利範圍第1至22項中任一項之多肽之用途，其係用於製備治療涉及ADAMTS5活性之疾病或病症之醫藥品，該治療包含投予能有效治療該疾病或病症之症狀之量之該多肽。

【第24項】

一種如申請專利範圍第1至22項中任一項之多肽之用途，其係用於製備治療疾病或病症之醫藥品，其中該疾病或病症係選自由下列所組成之群組：關節病(arthropathy)、軟骨營養不良症(chondrodystrophy)、關節炎疾病軟骨發育不全(achondroplasia)、肋軟骨炎(costochondritis)、脊椎骨骺發育不良(Spondyloepimetaphyseal dysplasia)、椎間盤突出症(spinal disc herniation)、腰椎間盤退化性疾病(lumbar disk degeneration disease)、退化性關節病(degenerative joint disease)、復發性多軟骨炎(relapsing polychondritis)、剝脫性骨軟骨炎(osteochondritis dissecans)及聚集蛋白聚醣病。

【第25項】

一種如申請專利範圍第1至22項中任一項之多肽之用

途，其係用於製備治療或預防與ADAMTS5相關之疾病的症狀之醫藥品，其中該與ADAMTS5相關之疾病為關節病、軟骨營養不良症、關節炎疾病、軟骨發育不全、肋軟骨炎、脊椎骨骺發育不良、椎間盤突出症、腰椎間盤退化性疾病、退化性關節病、復發性多軟骨炎、剝脫性骨軟骨炎或聚集蛋白聚醣病。

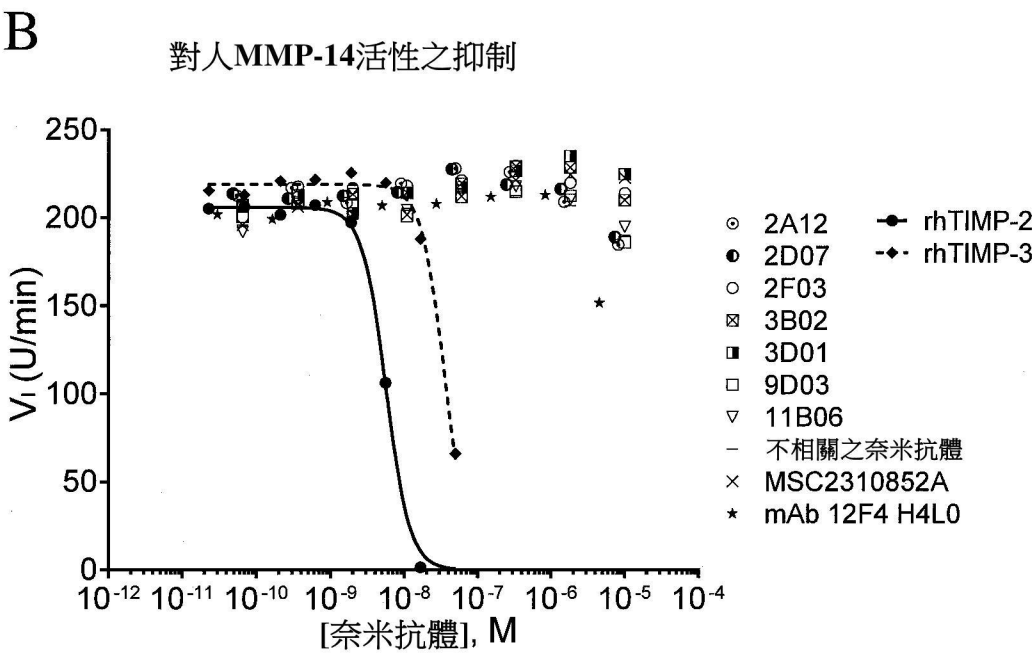
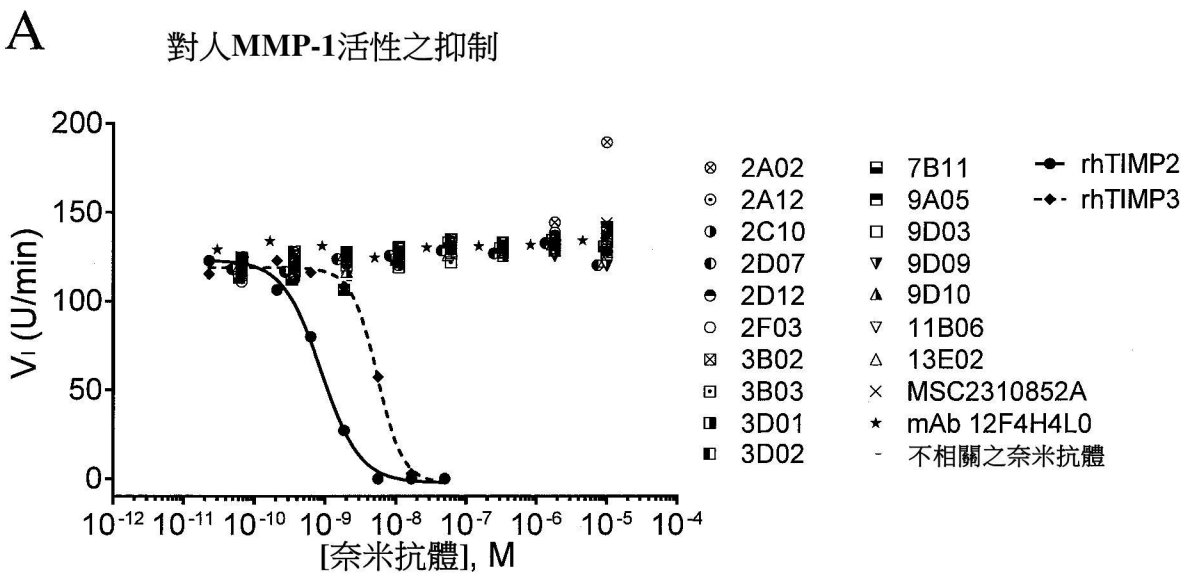
【第26項】

如申請專利範圍第24項之用途，其中該關節炎疾病為骨關節炎、類風濕性關節炎、痛風性關節炎、銀屑病性關節炎、創傷性破裂或脫離。

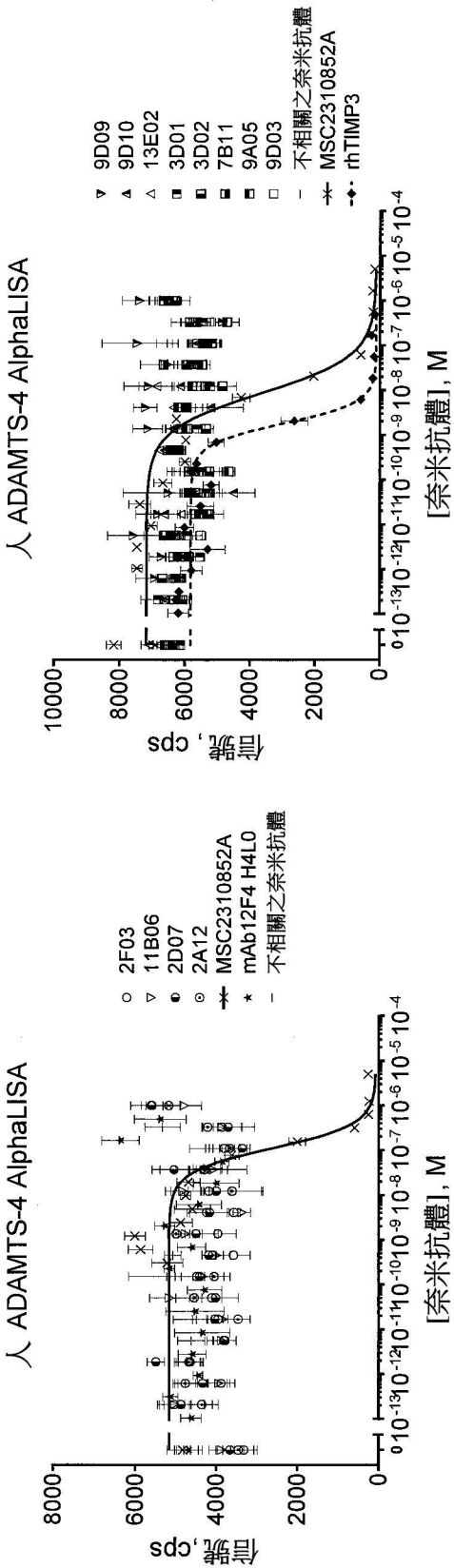
【第27項】

如申請專利範圍第25項之用途，其中該關節炎疾病為骨關節炎、類風濕性關節炎、痛風性關節炎、銀屑病性關節炎、創傷性破裂或脫離。

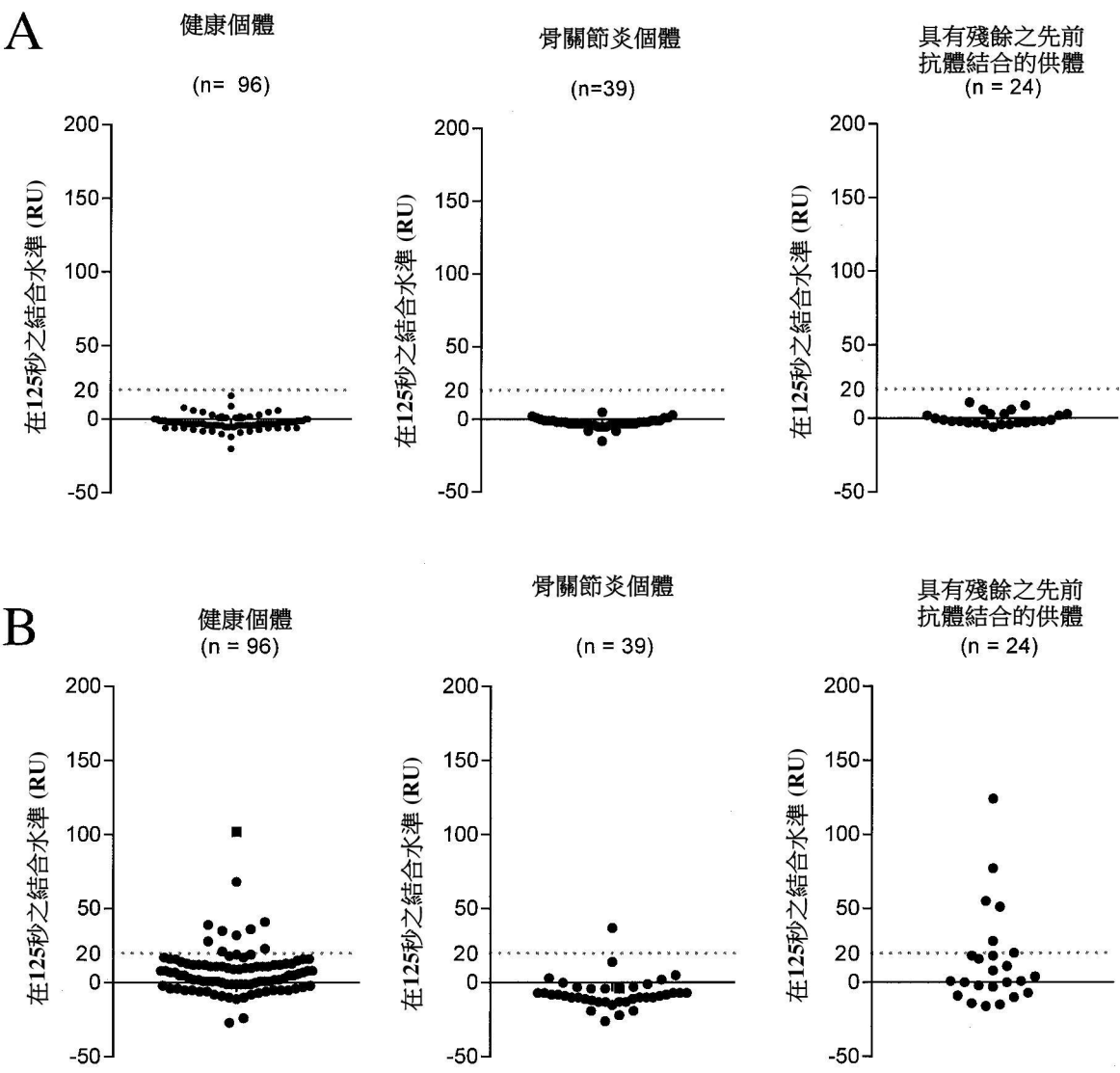
第 1 圖



第2圖

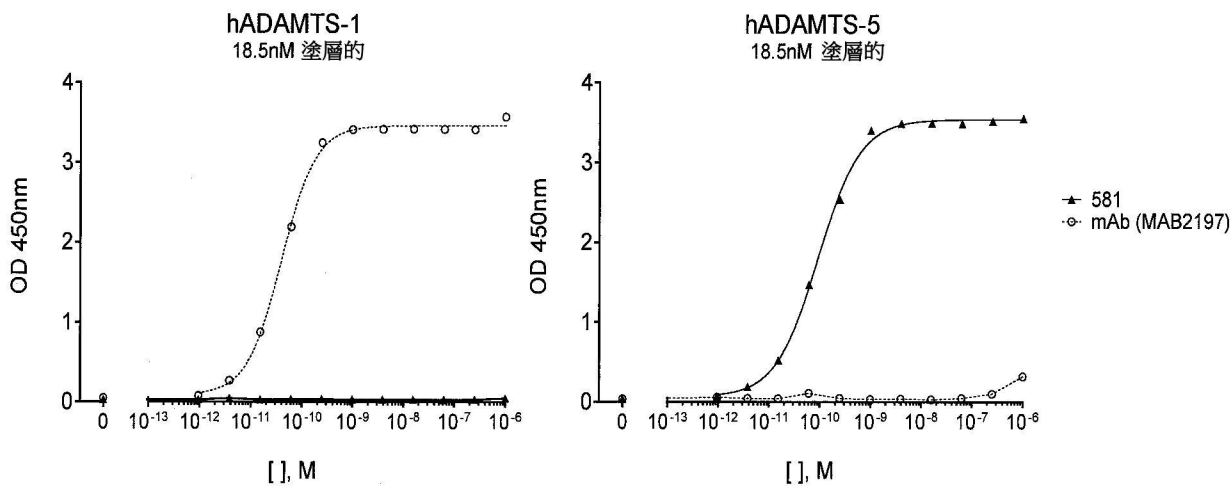


第 3 圖

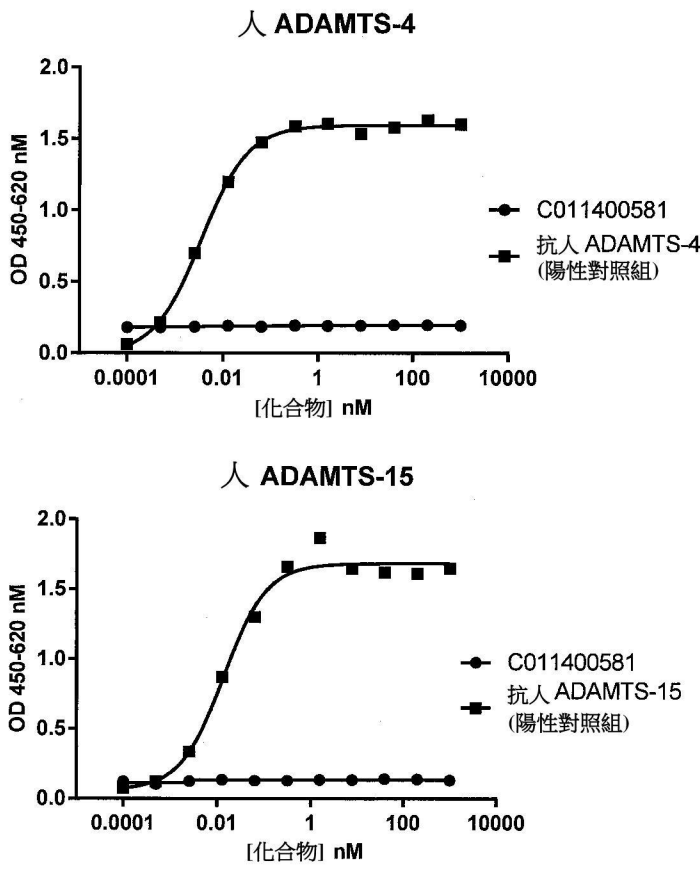


第 4 圖

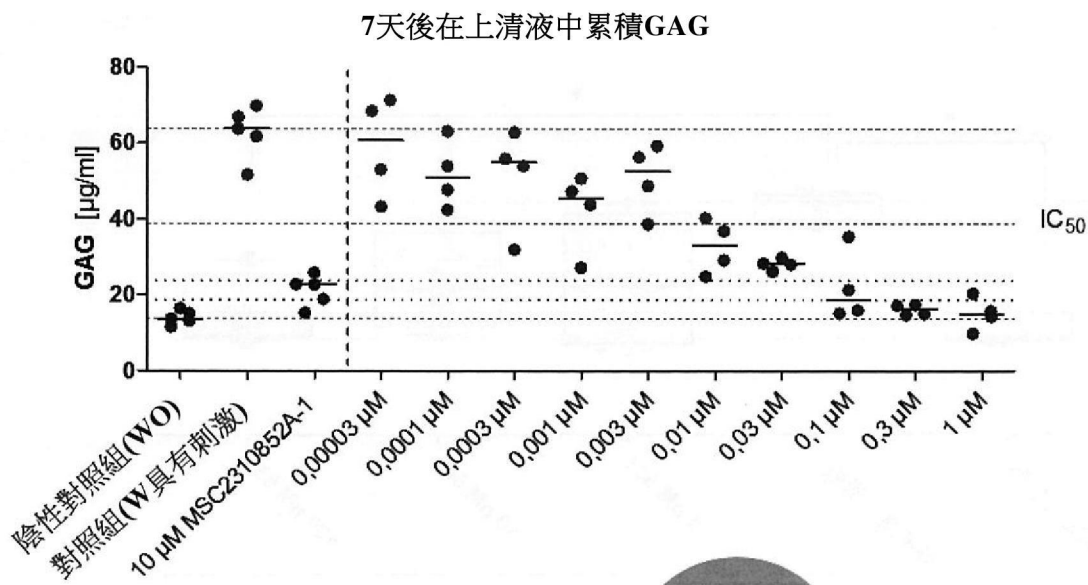
A



B

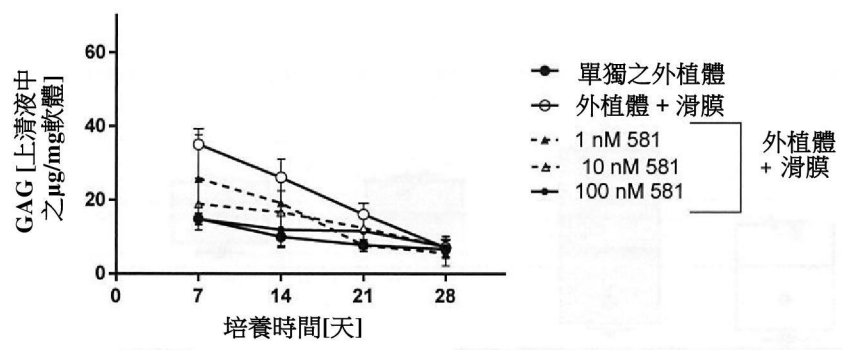


第 5 圖



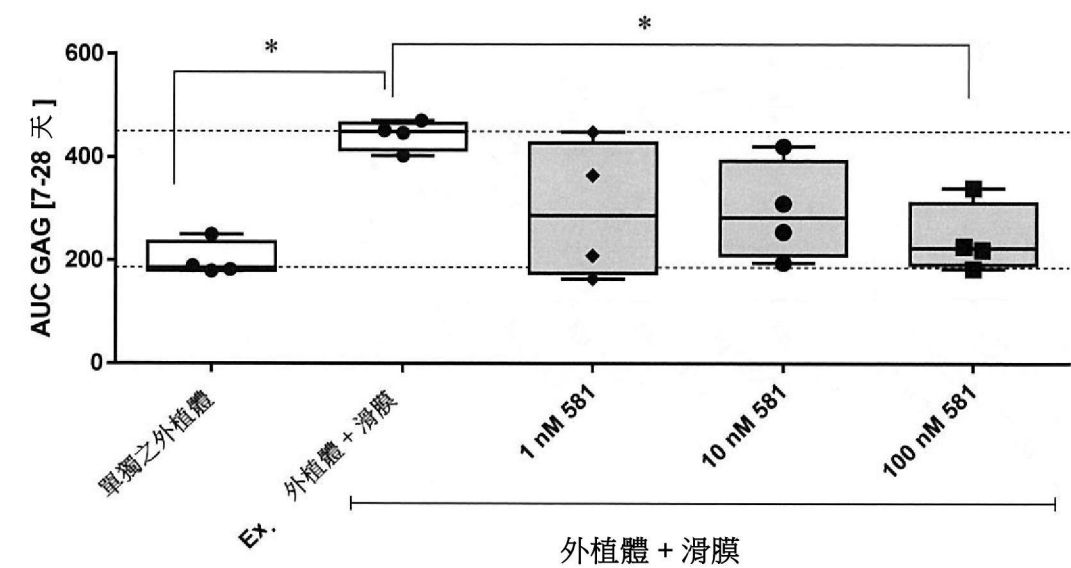
第 6 圖

A)



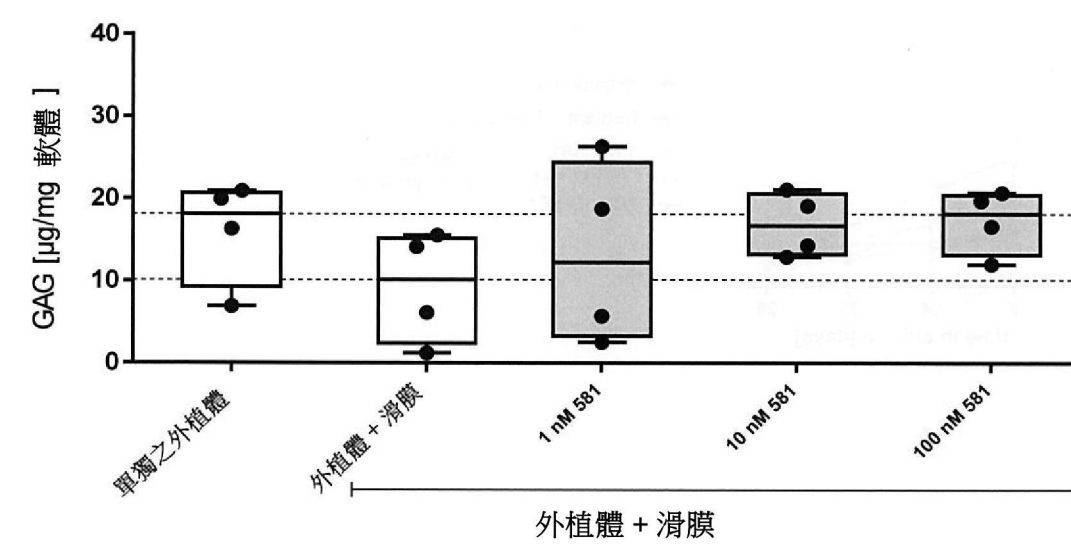
第 6 圖(續)

B)

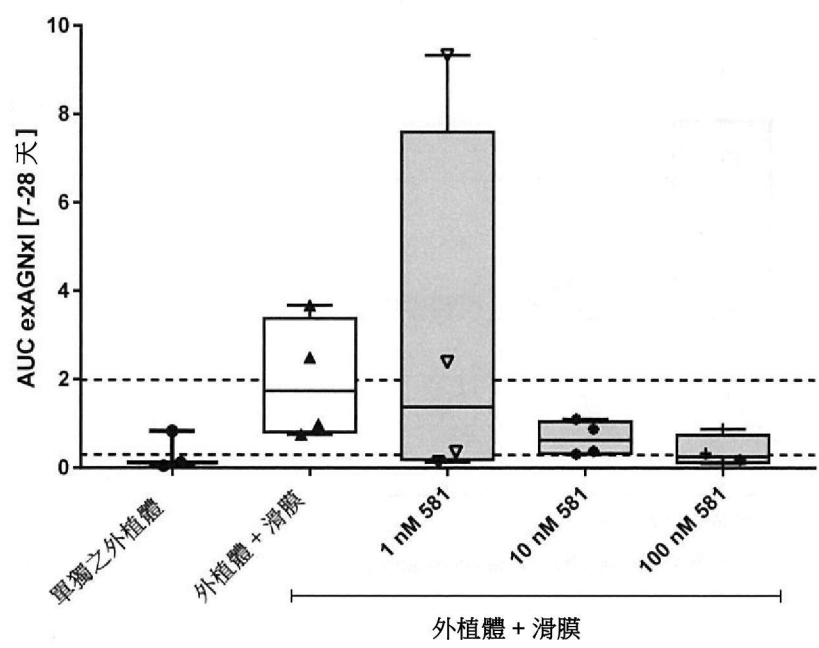


* P<0.001. 以單因子ANOVA獲得之統計，接著進行Dunnett比較

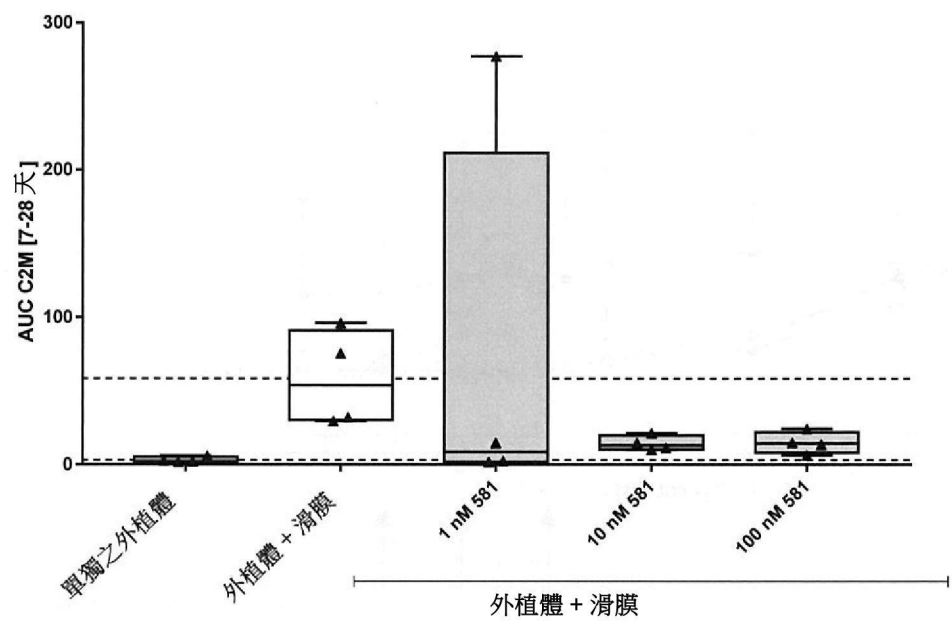
C)



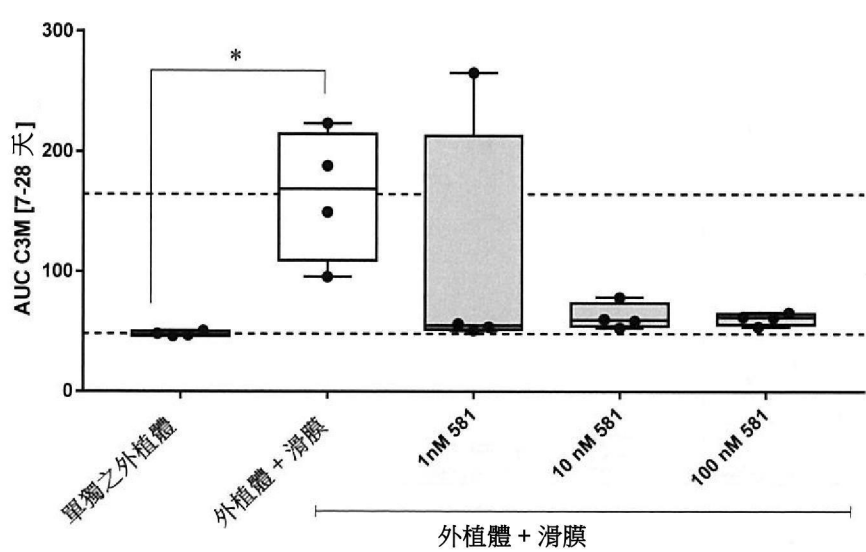
第 7 圖



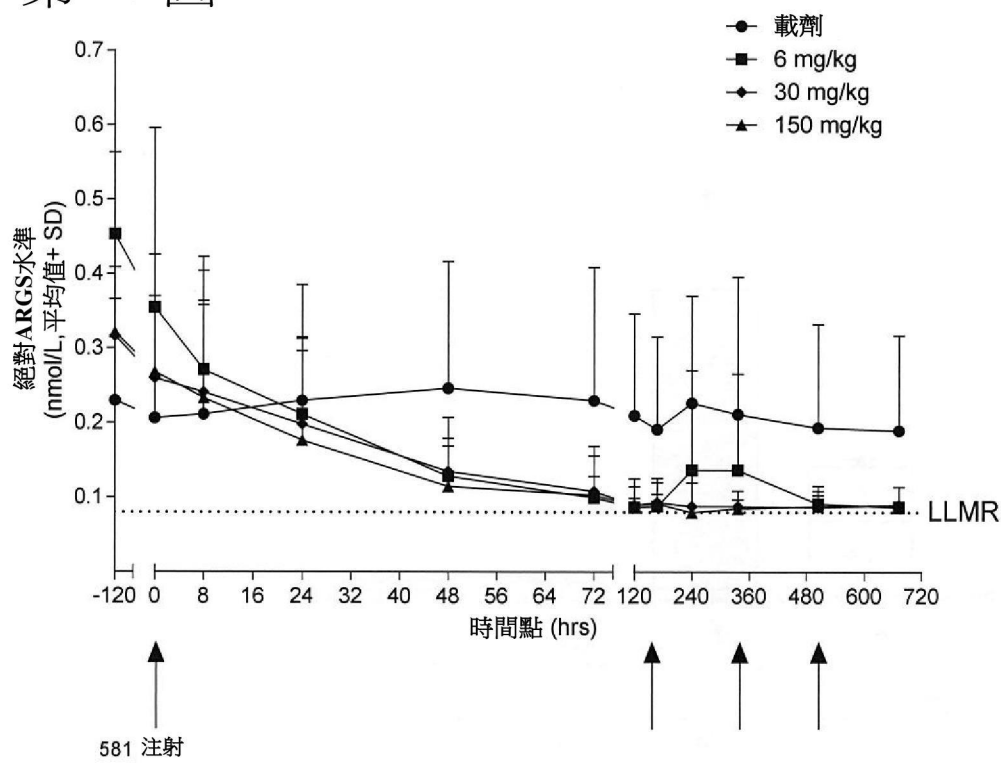
第 8 圖



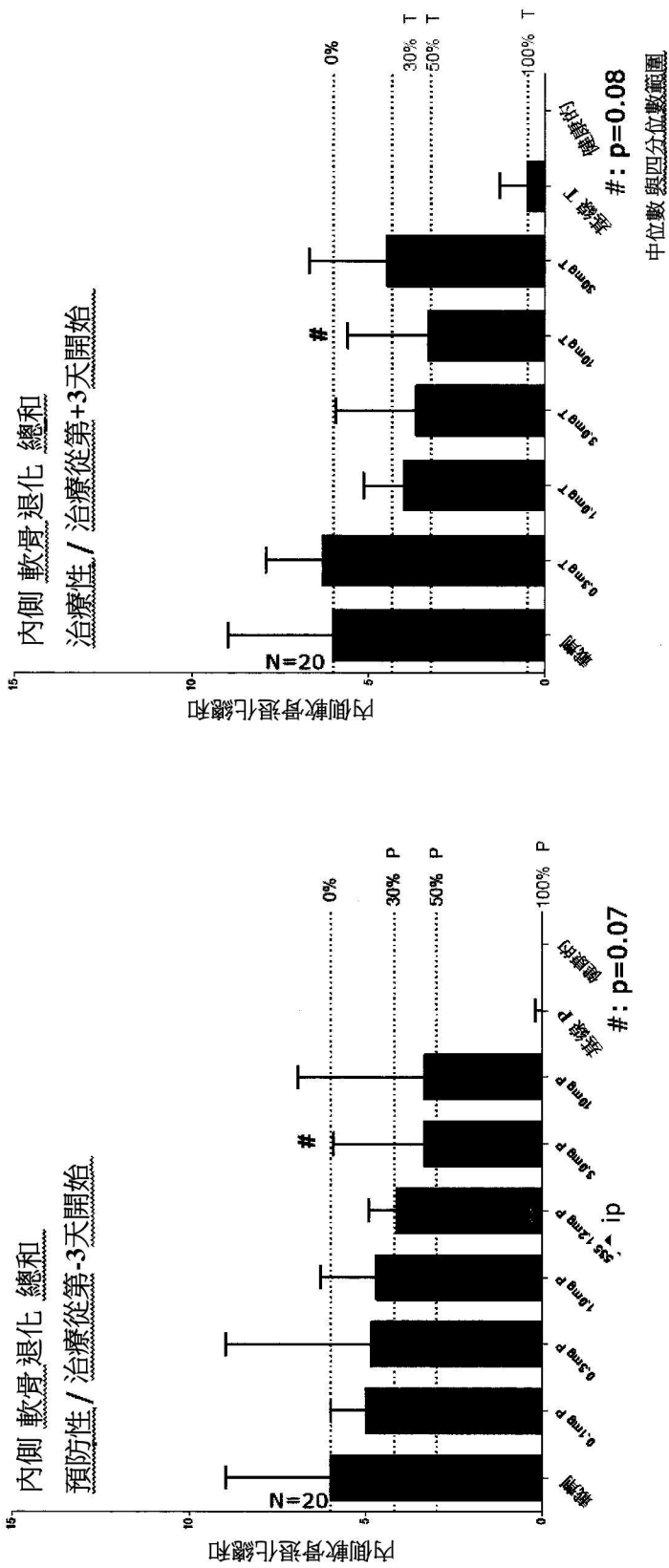
第 9 圖



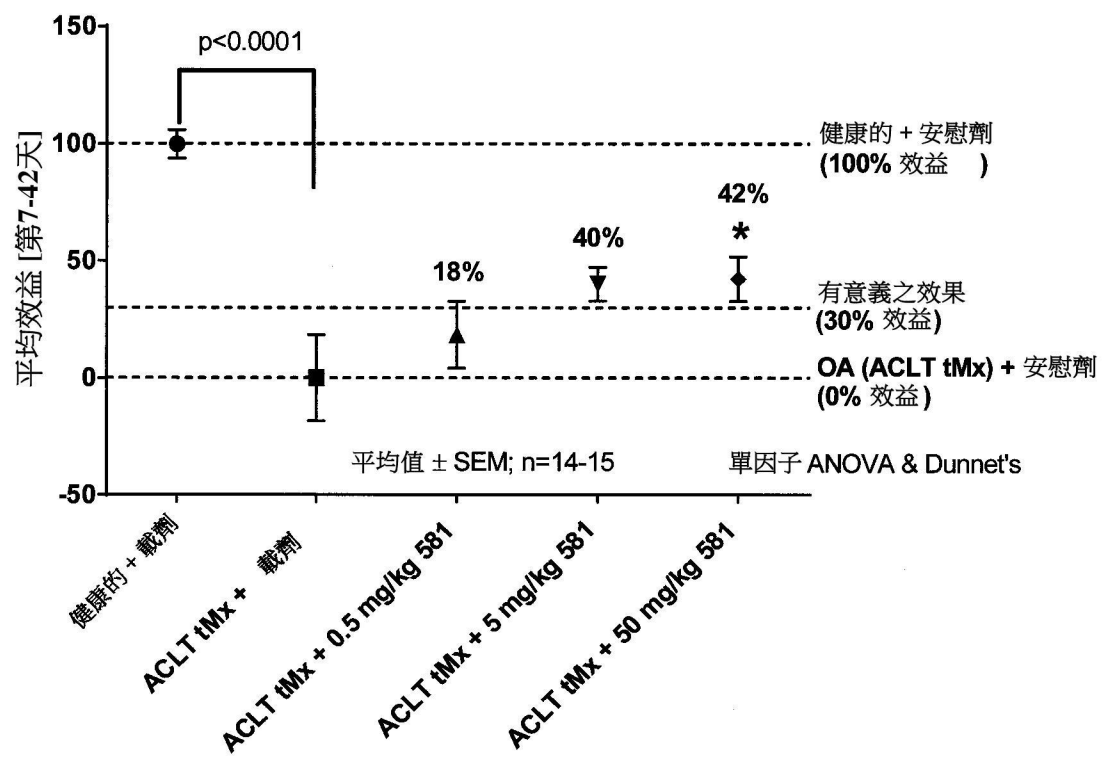
第 10 圖



第 11 圖



第 12 圖



第 13 圖

