



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115925932 A

(43) 申请公布日 2023. 04. 07

(21) 申请号 202210803364.8

(22) 申请日 2016.04.15

(30) 优先权数据

62/147,824 2015.04.15 US

(62) 分案原申请数据

201680034793.6 2016.04.15

(71) 申请人 安奈普泰斯生物有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 P·鲍尔斯 A·J·麦克奈特

D·J·金 M·隆代伊

(74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所

11517

专利代理师 赵昊 顾云峰

(51) Int. Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61P 11/06 (2006.01)

A61P 19/08 (2006.01)

权利要求书5页 说明书33页

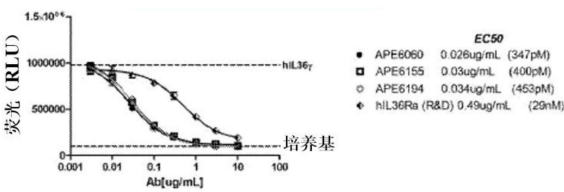
序列表25页 附图16页

(54) 发明名称

针对白细胞介素36受体 (IL-36R) 的抗体

(57) 摘要

本发明涉及分离的免疫球蛋白重链多肽和分离的免疫球蛋白轻链多肽,所述分离的免疫球蛋白重链多肽和分离的免疫球蛋白轻链多肽结合由白细胞介素36受体 (IL-36R) 编码的蛋白。本发明提供了IL-36R结合剂,所述IL-36R结合剂包括上述免疫球蛋白重链多肽和免疫球蛋白轻链多肽。本发明还提供了相关载体、组合物和使用所述IL-36R结合剂治疗对IL-36R的抑制有应答的紊乱或疾病(例如,癌症、感染性疾病、或者自身免疫性疾病)的方法。



1. 一种分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括以下氨基酸序列:Gln Val Gln Xaa1 Xaa2 Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Xaa3 Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Xaa4 Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Xaa5 Asp Xaa6 Ser Ala Xaa7 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Xaa8 Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr AlaVal Tyr Xaa9 Cys Thr Arg Ser Phe Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO:56), 其中:

- (a) Xaa1是亮氨酸(Leu)或苯丙氨酸(Phe),
- (b) Xaa2是缬氨酸(Val)、甲硫氨酸(Met)或亮氨酸(Leu),
- (c) Xaa3是精氨酸(Arg)或甘氨酸(Gly),
- (d) Xaa4是甘氨酸(Gly)、丝氨酸(Ser)或丙氨酸(Ala),
- (e) Xaa5是精氨酸(Arg)或丙氨酸(Ala),
- (f) Xaa6是苏氨酸(Thr)或赖氨酸(Lys),
- (g) Xaa7是丝氨酸(Ser)或天冬酰胺(Asn),
- (h) Xaa8是丝氨酸(Ser)或丙氨酸(Ala), 以及
- (i) Xaa9是酪氨酸(Tyr)或苯丙氨酸(Phe)。

2. 根据权利要求1所述的分离的免疫球蛋白重链多肽,其中所述多肽包括以下氨基酸序列:Gln Val Gln Xaa1 Xaa2 Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Xaa3 Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Xaa4 Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Xaa5 Asp Xaa6 Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Xaa7 Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr AlaVal Tyr Xaa8 Cys Thr Arg Ser Phe Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO:1), 其中:

- (a) Xaa1是亮氨酸(Leu)或苯丙氨酸(Phe),
- (b) Xaa2是缬氨酸(Val)、甲硫氨酸(Met)或亮氨酸(Leu),
- (c) Xaa3是精氨酸(Arg)或甘氨酸(Gly),
- (d) Xaa4是甘氨酸(Gly)、丝氨酸(Ser)或丙氨酸(Ala),
- (e) Xaa5是精氨酸(Arg)或丙氨酸(Ala),
- (f) Xaa6是苏氨酸(Thr)或赖氨酸(Lys),
- (g) Xaa7是丝氨酸(Ser)或丙氨酸(Ala), 以及
- (h) Xaa8是酪氨酸(Tyr)或苯丙氨酸(Phe)。

3. 根据权利要求1所述的分离的免疫球蛋白重链多肽,其包括SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、或者SEQ ID NO:14中任一项所示的氨基酸序列。

4. 一种分离的免疫球蛋白重链多肽,其包括以下氨基酸序列:Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala

Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Xaa1 Met Xaa2 Trp Val Arg Gln Ala Pro Xaa3 Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Met Phe Xaa4 Pro Xaa5 Xaa6 Xaa7 Val Thr Arg Leu Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Thr Ser Met Ile Ile Gly Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO:15), 其中:

- (a) Xaa1是色氨酸(Trp)或酪氨酸(Tyr),
- (b) Xaa2是组氨酸(His)、天冬酰胺(Asn)或酪氨酸(Tyr),
- (c) Xaa3是甘氨酸(Gly)或精氨酸(Arg),
- (d) Xaa4是天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)或组氨酸(His),
- (e) Xaa5是丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)或酪氨酸(Tyr),
- (f) Xaa6是天冬酰胺(Asn)或甘氨酸(Gly), 以及
- (g) Xaa7是丝氨酸(Ser)、丙氨酸(Ala)或天冬氨酸(Asp)。

5. 根据权利要求4所述的分离的免疫球蛋白重链多肽, 其包括SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23或者SEQ ID NO:24中任一项所示的氨基酸序列。

6. 一种分离的免疫球蛋白轻链多肽, 其包括以下氨基酸序列: Xaa1 Xaa2 Gln Xaa3 Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Xaa4 Xaa5 Tyr Ser Ile Thr Xaa6 Asp Phe Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Xaa7 Pro Gly Xaa8 Xaa9 Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Xaa10 Xaa11 Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Xaa12 Tyr Xaa13 Cys Ala Ile Arg Gly Pro Tyr Ser Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Xaa14 (SEQ ID NO:57), 其中:

- (a) Xaa1是谷氨酰胺(Gln)或天冬氨酸(Asp),
- (b) Xaa2是缬氨酸(Val)或亮氨酸(Leu),
- (c) Xaa3是亮氨酸(Leu)或苯丙氨酸(Phe),
- (d) Xaa4是苏氨酸(Thr)或丝氨酸(Ser),
- (e) Xaa5是甘氨酸(Gly)或精氨酸(Arg),
- (f) Xaa6丝氨酸(Ser)或丙氨酸(Ala),
- (g) Xaa7是脯氨酸(Pro)或苯丙氨酸(Phe),
- (h) Xaa8是赖氨酸(Lys)或天冬酰胺(Asn),
- (i) Xaa9是甘氨酸(Gly)或赖氨酸(Lys),
- (j) Xaa10是丝氨酸(Ser)或苏氨酸(Thr),
- (k) Xaa11是缬氨酸(Val)或精氨酸(Arg),
- (l) Xaa12是苏氨酸(Thr)或缬氨酸(Val),
- (m) Xaa13是酪氨酸(Tyr)或苯丙氨酸(Phe), 以及
- (n) Xaa14是丙氨酸(Ala)或者不存在。

7. 根据权利要求1所述的分离的免疫球蛋白重链多肽, 其中所述多肽包括以下氨基酸

序列:Xaa1 Val Gln Xaa2 Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Xaa3 Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Phe Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Xaa4 Pro Gly Xaa5 Xaa6 Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Xaa7 Xaa8 Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Xaa9 Cys Ala Ile Arg Gly Pro Tyr Ser Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO:25), 其中:

- (a) Xaa1是谷氨酰胺 (Gln) 或天冬氨酸 (Asp),
- (b) Xaa2是亮氨酸 (Leu) 或苯丙氨酸 (Phe),
- (c) Xaa3是苏氨酸 (Thr) 或丝氨酸 (Ser),
- (d) Xaa4是脯氨酸 (Pro) 或苯丙氨酸 (Phe),
- (e) Xaa5是赖氨酸 (Lys) 或天冬酰胺 (Asn),
- (f) Xaa6是甘氨酸 (Gly) 或赖氨酸 (Lys),
- (g) Xaa7是丝氨酸 (Ser) 或苏氨酸 (Thr),
- (h) Xaa8是缬氨酸 (Val) 或精氨酸 (Arg), 以及
- (i) Xaa9是酪氨酸 (Tyr) 或苯丙氨酸 (Phe)。

8. 根据权利要求6所述的分离的免疫球蛋白重链多肽, 其包括SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53或者SEQ ID NO:54中任一项所示的氨基酸序列。

9. 一种分离的免疫球蛋白重链多肽, 其包括SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34或者SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列。

10. 一种分离的免疫球蛋白轻链多肽, 其包括以下氨基酸序列: Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Xaa1 Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Xaa2 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Xaa3 Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO:36), 其中:

- (a) Xaa1是甘氨酸 (Gly) 或丙氨酸 (Ala),
- (b) Xaa2是苯丙氨酸 (Phe) 或酪氨酸 (Tyr), 以及
- (c) Xaa3是酪氨酸 (Tyr) 或丝氨酸 (Ser)。

11. 根据权利要求10所述的分离的免疫球蛋白轻链多肽, 其包括SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、或者SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列。

12. 一种分离的免疫球蛋白轻链多肽, 其包括以下氨基酸序列: Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Xaa1 Asn Xaa2 Ile Thr Tyr Phe Tyr Trp Tyr Leu Xaa3 Lys Pro Gly Gln Pro Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn Leu Glu Leu

Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu IleLys (SEQ ID NO:40),

- (a) Xaa1是丝氨酸(Ser)或精氨酸(Arg),
- (b) Xaa2是甘氨酸(Gly)或丙氨酸(Ala),以及
- (c) Xaa3是谷氨酰胺(Gln)或组氨酸(His)。

13.根据权利要求12所述的分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43或者SEQ ID NO:44所示的氨基酸序列。

14.一种分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括以下氨基酸序列:Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Xaa1 Ile Asn Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Xaa2 Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Xaa3 Ser Gly Ser Gly Xaa4Asp Xaa5 Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Xaa6 Xaa7 (SEQ ID NO:58),其中

- (a) Xaa1是天冬氨酸(Asp)或色氨酸(Trp),
- (b) Xaa2是精氨酸(Arg)或甲硫氨酸(Met),
- (c) Xaa3是甘氨酸(Gly)、丝氨酸(Ser)或脯氨酸(Pro),
- (d) Xaa4是苏氨酸(Thr)或天冬酰胺(Asn),
- (e) Xaa5是苯丙氨酸(Phe)或酪氨酸(Tyr),
- (f) Xaa6是精氨酸(Arg)或者不存在,以及
- (g) Xaa7是苏氨酸(Thr)或者不存在。

15.根据权利要求14所述的分离的免疫球蛋白轻链多肽,其中所述多肽包括以下氨基酸序列:Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Xaa1 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Xaa2 Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys (SEQ ID NO:45),其中

- (a) Xaa1是丝氨酸(Ser)或脯氨酸(Pro),以及
- (b) Xaa2是苯丙氨酸(Phe)或酪氨酸(Tyr)。

16.根据权利要求15所述的分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47或SEQ ID NO:55所示的氨基酸序列。

17.一种分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列。

18.一种分离的核酸序列,其编码权利要求1-9中任一项所述的免疫球蛋白重链多肽。

19.一种分离的核酸序列,其编码权利要求10-17中任一项所述的免疫球蛋白轻链多肽。

20.一种载体,其包括权利要求18或权利要求19所述的分离的核酸序列。

21.一种白细胞介素36受体(IL-36R)结合剂,其显示以下生物活性中的一种或多种:

- (a)抑制IL-36R和IL-36 α 、IL-36 β 及/或IL-36 γ 之间的相互作用,

(b) 抑制由IL-36R介导的细胞内信号传导,

(c) 与人IL-36R、食蟹猴IL-36R和非人灵长类IL-36R交叉反应并且抑制其活性。

22. 一种白细胞介素36受体 (IL-36R) 结合剂, 其包括权利要求1-9中任一项所示的免疫球蛋白重链多肽和/或权利要求10-17中任一项所示的免疫球蛋白轻链多肽。

23. 根据权利要求21或权利要求22所述的IL-36R结合剂, 其包括权利要求1-9中任一项所示的免疫球蛋白重链多肽和权利要求10-17中任一项所示的免疫球蛋白轻链多肽。

24. 根据权利要求21或权利要求22所述的IL-36R结合剂, 其包括权利要求1-9中任一项所示的免疫球蛋白重链多肽或权利要求10-17中任一项所示的免疫球蛋白轻链多肽。

25. 根据权利要求21-24中任一项所述的IL-36R结合剂, 其是抗体、抗体缀合物或其抗原结合片段。

26. 根据权利要求22所述的IL-36R结合剂, 其是F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段或者单链结合多肽。

27. 一种IL-36R结合剂, 其与权利要求18-26中任一项所述的IL-36R结合剂竞争结合IL-36R。

28. 一种分离的核酸序列, 其编码权利要求21-27中任一项所述的IL-36R结合剂。

29. 一种载体, 其包括权利要求28所述的分离的核酸序列。

30. 一种分离的细胞, 其包括权利要求29所述的载体。

31. 一种组合物, 其包括 (a) 权利要求21-27中任一项所述的IL-36R结合剂或权利要求29所述的载体以及 (b) 药学上可接受的载体。

32. 一种在哺乳动物中治疗对IL-36R的抑制有应答的疾病的方法, 所述方法包括向患有对IL-36R的抑制有应答的疾病的哺乳动物施用有效量的权利要求31所述的组合物, 从而在所述哺乳动物中治疗所述疾病。

33. 根据权利要求32所述的方法, 其中所述疾病是炎性疾病、自身免疫性疾病、呼吸系统疾病、代谢紊乱、上皮介导的炎性疾病、纤维症或癌症。

34. 根据权利要求33所述的方法, 其中所述疾病是寻常型银屑病、脓疱型银屑病、泛发性脓疱型银屑病 (GPP)、掌跖脓疱病 (PPP)、炎性肠病、银屑病关节炎、多发性硬化症、类风湿性关节炎、COPD、硬皮病、哮喘和强直性脊柱炎。

35. 根据权利要求32-34中任一项所述的方法, 其中在所述哺乳动物中所述IL-36R结合剂的半衰期在30分钟和45天之间。

36. 根据权利要求32-35中任一项所述的方法, 其中所述IL-36R结合剂以约1皮摩尔 (pM) 和约100微摩尔 (μM) 之间的KD结合IL-36R。

37. 权利要求31所述的组合物在制备用于在哺乳动物中治疗对IL-36R的抑制有应答的疾病的药物中的用途。

38. 根据权利要求37所述的用途, 其中所述疾病是炎性疾病、自身免疫性疾病、呼吸系统疾病、代谢紊乱、上皮介导的炎性疾病、纤维症或癌症。

39. 根据权利要求37所述的用途, 其中所述疾病是寻常型银屑病、脓疱型银屑病、泛发性脓疱性银屑病 (GPP)、掌跖脓疱病 (PPP)、炎性肠病、银屑病关节炎、多发性硬化症、类风湿性关节炎、COPD、硬皮病、哮喘和强直性脊柱炎。

针对白细胞介素36受体 (IL-36R) 的抗体

[0001] 本申请是申请号为201680034793.6、申请日为2016年4月15日、发明名称为“针对白细胞介素36受体 (IL-36R) 的抗体”的中国发明专利申请的分案申请,原申请为国际申请号为PCT/US2016/027676的PCT国际申请的中国国家阶段申请,该PCT国际申请要求2015年4月15日提交的美国专利申请第62/147,824号的优先权。

[0002] 以电子形式提交的材料引用并入

[0003] 在此一并提交的计算机可读的核苷酸/氨基酸序列表通过引用整体并入本文,其是2016年4月13日创建的命名为“723558_ST25.TXT”的一个70,258字节的ASCII (文本) 文件。

发明领域

[0004] 白细胞介素36 (IL-36) 细胞因子IL-36 α 、IL-36 β 和IL-36 γ (过去被称为IL-1F6、IL-1F8和IL-1F9) 是白介素1 (IL-1) 的家族成员,其结合IL-36受体 (IL-36R) (过去被称为IL-1Rrp2或IL-1RL2) 并且利用IL-1受体辅助蛋白 (IL-1RAcP) 作为共受体来刺激产生与IL-1诱导产生的细胞内信号类似的细胞内信号 (Towne等, J. Biol. Chem., 279 (14): 13677-13688 (2004))。IL-1F5被证实为充当IL-36R拮抗剂的IL-1家族成员,并且现在将其称为IL-36Ra (Dinarello等, Nat. Immunol., 11 (11): 973 (2010))。

[0005] IL-36 α 、IL-36 β 和IL-36 γ 在一些组织 (包括已经暴露于病原体的内部上皮组织) 和在表皮中高度表达。在经IL-1 β /TNF- α 刺激的人角质形成细胞中,IL-36Ra和IL-36 α 的表达显著上调,而在银屑病皮肤病灶中IL-36Ra和IL-36 γ mRNA过表达。在慢性肾病中也观察到升高的IL-36 α mRNA和蛋白表达 (Ichii等, Lab Invest., 90 (3): 459-475 (2010))。鼠骨髓源性树突状细胞 (BMDC) 和CD4+T淋巴细胞都组成性地表达IL-36R,并且通过产生促炎性细胞因子 (例如,IL-12、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和IL-23) 对IL-36 α 、IL-36 β 和IL-36 γ 产生直接应答,从而诱导产生比其他IL-1细胞因子更强大的刺激效应 (Vigne等, Blood, 118 (22): 5813-5823 (2011))。

[0006] 在角质形成细胞中过表达IL-36 α 的转基因小鼠在出生时表现出短暂的炎性皮肤病,其使得小鼠极易感染由12-O-十四烷酰佛波醇-13-乙酸酯诱导产生的与人类银屑病相像的皮肤病变 (Blumberg等, J. Exp. Med., 204 (11): 2603-2614 (2007); 和Blumberg等, J. Immunol., 185 (7): 4354-4362 (2010))。此外,IL-36R缺陷的小鼠不会发生咪喹莫特诱导的银屑病样皮炎 (Tortola等, J. Clin. Invest., 122 (11): 3965-3976 (2012))。这些结果强烈暗示了IL-36在某些皮肤炎性疾病中具有作用。

[0007] IL-36细胞因子还参与了某些严重的银屑病类型,包括脓疱型银屑病、泛发性脓疱性银屑病 (GPP) 和掌跖脓疱病 (PPP) (参见,例如, Town, J. E. 和 Sims, J. E., Curr. Opin. Pharmacol., 12 (4): 486-90 (2012); 以及 Naik, H. B. 和 Cowen, E. W., Dermatol Clin., 31 (3): 405-425 (2013))。脓疱型银屑病是一种罕见的银屑病类型,其特征为红色表皮包围白色脓疱。泛发性脓疱性银屑病是一种严重的全身型类型的脓疱型银屑病,具有很高的死亡风险,而掌跖脓疱病是慢性的影响手掌和脚掌的脓疱型银屑病。目前,针对脓疱型

银屑病、GPP和PPP的治疗方法包括口服类视黄醇和外用类固醇,但是这些治疗疗效差,并且副作用严重。

[0008] 需要以较高的亲和力结合IL-36R并且能有效中和IL-36R活性的IL-36R拮抗剂(例如,抗体)。本发明提供了这样的IL-36R结合剂。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明提供了一种分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括以下氨基酸序列:Gln Val Gln Xaa1 Xaa2 Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Xaa3 Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Xaa4 Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Xaa5 Asp Xaa6 Ser Ala Xaa7 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Xaa8 Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Xaa9 Cys Thr Arg Ser Phe Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO:56),其中(a) Xaa1是亮氨酸(Leu)或苯丙氨酸(Phe), (b) Xaa2是缬氨酸(Val)、甲硫氨酸(Met)或亮氨酸(Leu), (c) Xaa3是精氨酸(Arg)或甘氨酸(Gly), (d) Xaa4是甘氨酸(Gly)、丝氨酸(Ser)或丙氨酸(Ala), (e) Xaa5是精氨酸(Arg)或丙氨酸(Ala), (f) Xaa6是苏氨酸(Thr)或赖氨酸(Lys), (g) Xaa7是丝氨酸(Ser)或天冬酰胺(Asn), (h) Xaa8是丝氨酸(Ser)或丙氨酸(Ala),以及(i) Xaa9是酪氨酸(Tyr)或苯丙氨酸(Phe)。

[0011] 本发明提供了一种分离的免疫球蛋白重链多肽,其包括以下氨基酸序列:Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Xaa1 Met Xaa2 Trp Val Arg Gln Ala Pro Xaa3 Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Met Phe Xaa4 Pro Xaa5 Xaa6 Xaa7 Val Thr Arg Leu Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Thr Ser Met Ile Ile Gly Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO:15),其中(a) Xaa1是色氨酸(Trp)或酪氨酸(Tyr), (b) Xaa2是组氨酸(His)、天冬酰胺(Asn)或酪氨酸(Tyr), (c) Xaa3是甘氨酸(Gly)或精氨酸(Arg), (d) Xaa4是天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)或组氨酸(His), (e) Xaa5是丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)或酪氨酸(Tyr), (f) Xaa6是天冬酰胺(Asn)或甘氨酸(Gly),以及(g) Xaa7是丝氨酸(Ser)、丙氨酸(Ala)或天冬氨酸(Asp)。

[0012] 本发明提供了一种分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括以下氨基酸序列: Xaa1Xaa2 Gln Xaa3 Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Xaa4 Xaa5 Tyr Ser Ile Thr Xaa6 Asp Phe Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Xaa7 Pro Gly Xaa8 Xaa9 Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Xaa10 Xaa11 Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Xaa12 Tyr Xaa13 Cys Ala Ile Arg Gly Pro Tyr Ser Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Xaa14 (SEQ ID NO:57),其中Xaa1是谷氨酰胺(Gln)或天冬氨酸(Asp);Xaa2是缬氨酸(Val)或亮氨酸(Leu);Xaa3是亮氨酸(Leu)或苯丙氨酸(Phe);Xaa4是苏氨酸(Thr)或丝氨酸(Ser);Xaa5是甘氨酸(Gly)或精氨酸(Arg);Xaa6丝氨酸(Ser)

或丙氨酸 (Ala) ;Xaa7是脯氨酸 (Pro) 或苯丙氨酸 (Phe) ;Xaa8是赖氨酸 (Lys) 或天冬酰胺 (Asn) ;Xaa9是甘氨酸 (Gly) 或赖氨酸 (Lys) ;Xaa10是丝氨酸 (Ser) 或苏氨酸 (Thr) ;Xaa11是缬氨酸 (Val) 或精氨酸 (Arg) ;Xaa12是苏氨酸 (Thr) 或缬氨酸 (Val) ;Xaa13是酪氨酸 (Tyr) 或苯丙氨酸 (Phe) ;以及Xaa14是丙氨酸 (Ala) 或者不存在。

[0013] 本发明提供了一种分离的免疫球蛋白重链多肽,其包括SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列。

[0014] 本发明提供了一种分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括以下氨基酸序列:Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Xaa1 Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Xaa2 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Xaa3 Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO:36),其中 (a) Xaa1是甘氨酸 (Gly) 或丙氨酸 (Ala) , (b) Xaa2是苯丙氨酸 (Phe) 或酪氨酸 (Tyr) ,以及 (c) Xaa3是酪氨酸 (Tyr) 或丝氨酸 (Ser) 。

[0015] 本发明提供了一种分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括以下氨基酸序列:Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Xaa1 Asn Xaa2 Ile Thr Tyr Phe Tyr Trp Tyr Leu Xaa3 Lys Pro Gly Gln Pro Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys (SEQ ID NO:40) , (a) Xaa1是丝氨酸 (Ser) 或精氨酸 (Arg) , (b) Xaa2是甘氨酸 (Gly) 或丙氨酸 (Ala) ,以及 (c) Xaa3是谷氨酰胺 (Gln) 或组氨酸 (His) 。

[0016] 本发明提供了一种分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括以下氨基酸序列:Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Xaa1 Ile Asn Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Xaa2 Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Xaa3 Ser Gly Ser Gly Xaa4 Asp Xaa5 Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Xaa6Xaa7 (SEQ ID NO:58) ,其中 (a) Xaa1是天冬氨酸 (Asp) 或色氨酸 (Trp) , (b) Xaa2是精氨酸 (Arg) 或甲硫氨酸 (Met) , (c) Xaa3是甘氨酸 (Gly) 、丝氨酸 (Ser) 或脯氨酸 (Pro) , (d) Xaa4是苏氨酸 (Thr) 或天冬酰胺 (Asn) , (e) Xaa5是苯丙氨酸 (Phe) 或酪氨酸 (Tyr) , (f) Xaa6是精氨酸 (Arg) 或者不存在,以及 (g) Xaa7是苏氨酸 (Thr) 或者不存在。

[0017] 本发明提供了一种分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或者SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列。

[0018] 此外,本发明提供了编码前述免疫球蛋白多肽的分离或纯化的核酸序列、包括此类核酸序列的载体、包括前述免疫球蛋白多肽的IL-36R结合剂、编码此类IL-36R结合剂的

核酸序列、包括此类核酸序列的载体、包括此类载体的分离的细胞、包括此类IL-36R结合剂或者此类载体的并且具有药学上可接受的运载体的组合物以及通过向哺乳动物施用有效量的此类组合物来治疗对IL-36R的抑制有应答的疾病的方法。

[0019] 附图简述

[0020] 图1A是在用hIL-36 γ 刺激细胞时,实施例1中所描述的HEK人IL-36R/IL-8荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0021] 图1B是在用hIL-36 β 刺激细胞时,实施例1中所描述的HEK人IL-36R/IL-8荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0022] 图1C是在用hIL-36 α 刺激细胞时,实施例1中所描述的HEK人IL-36R/IL-8荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0023] 图1D是在用50ng/mL的hIL-36 α 刺激细胞时,实施例1中所描述的HEK人IL-36R/IL-8荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0024] 图1E是在用20ng/mL的hIL-36 β 刺激细胞时,实施例1中所描述的HEK人IL-36R/IL-8荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0025] 图1F是在用600ng/mL的hIL-36 γ 刺激细胞时,实施例1中所描述的HEK人IL-36R/IL-8荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0026] 图2A是在用2 μ g/mL的cyno IL-36 α 刺激细胞时,实施例1中所描述的HEK食蟹猴IL-36R/IL-8荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0027] 图2B是在用10 μ g/mL的cyno IL-36 β 刺激细胞时,实施例1中所描述的HEK食蟹猴IL-36R/IL-8荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0028] 图2C是在用300ng/mL的cyno IL-36 γ 刺激细胞时,实施例1中所描述的HEK食蟹猴IL-36R/IL-8荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0029] 图3A是通过实施例2中所描述的KINEXATM测定法确定的显示了抗体APE5281与人IL-36R的结合曲线的实验数据展示图。

[0030] 图3B是通过实施例2中所描述的BIAcoreTM测定法确定的显示了抗体APE6194与人IL-36R的结合曲线的实验数据展示图。

[0031] 图3C是通过实施例2中所描述的KINEXATM测定法确定的显示了抗体APE7247与人IL-36R的结合曲线的实验数据展示图。

[0032] 图4A是当使用10ng/mL的hIL-36 α 时,实施例3所描述的原代人角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0033] 图4B是当使用1ng/mL的hIL-36 β 时,实施例3所描述的原代人角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0034] 图4C是当使用100ng/mL的hIL-36 γ 时,实施例3所描述的原代人角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0035] 图4D是当使用10ng/mL的hIL-36 α 时,实施例3所描述的原代人角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0036] 图4E是当使用1ng/mL的hIL-36 β 时,实施例3所描述的原代人角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0037] 图4F是当使用100ng/mL的hIL-36 γ 时,实施例3所描述的原代人角质形成细胞的

IL-8分泌检测的结果展示图。

[0038] 图4G是当使用10ng/mL的hIL-36 α 时,实施例3所描述的原代人角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0039] 图4H是当使用1ng/mL的hIL-36 β 时,实施例3所描述的原代人角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0040] 图4I是当使用100ng/mL的hIL-36 γ 时,实施例3所描述的原代人角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0041] 图5A是当使用50ng/mL的cyno IL-36 α 时,实施例4所描述的原代食蟹猴角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0042] 图5B是当使用10ng/mL的cyno IL-36 β 时,实施例4所描述的原代食蟹猴角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0043] 图5C是当使用250ng/mL的cyno IL-36 γ 时,实施例4所描述的原代食蟹猴角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0044] 图5D是当使用50ng/mL的cyno IL-36 α 时,实施例4所描述的原代食蟹猴角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0045] 图5E是当使用10ng/mL的cyno IL-36 β 时,实施例4所描述的原代食蟹猴角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0046] 图5F是当使用250ng/mL的cyno IL-36 γ 时,实施例4所描述的原代食蟹猴角质形成细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0047] 图6A是当使用5ng/mL的IL-36 β 时,实施例5所描述的原代人单核细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0048] 图6B是当使用500ng/mL的IL-36 β 时,实施例5所描述的原代人单核细胞的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0049] 图7A是当使用10ng/mL的IL-36 α 时,实施例6所描述的原代人外周血单核细胞(PBMC)的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0050] 图7B是当使用1ng/mL的IL-36 β 时,实施例6所描述的原代人外周血单核细胞(PBMC)的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0051] 图7C是当使用100ng/mL的IL-36 γ 时,实施例6所描述的原代人外周血单核细胞(PBMC)的IL-8分泌检测的结果展示图。

[0052] 图8A是当使用APE5100作为一抗时,通过BIAcore™测定法确定的实施例8所描述的抗体/抗原交叉竞争结合检测的结果展示图。

[0053] 图8B是当使用APE6155作为一抗时,通过BIAcore™测定法确定的实施例8所描述的抗体/抗原交叉竞争结合检测的结果展示图。

[0054] 图9A是当使用稳定共表达人IL-36R和人IL-1RAcP的CHO-K细胞时,实施例9所描述的竞争性结合检测的结果展示图。

[0055] 图9B是当使用稳定共表达食蟹猴IL-36R变体1和食蟹猴IL-1RAcP时,实施例9所描述的竞争性结合检测的结果展示图。

[0056] 图10A是当使用经20ng/mL的cyno IL-36 γ 刺激的HEK食蟹猴IL-36R变体2/IL-8细胞时,实施例1所描述的荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0057] 图10B是当使用经300ng/mL的cyno IL-36 γ 刺激的HEK食蟹猴IL-36R变体1/IL-8细胞时,实施例1所描述的荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0058] 图10C是当使用经100ng/mL的cyno IL-36 γ 刺激的HEK食蟹猴IL-36R变体3/IL-8细胞时,实施例1所描述的荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0059] 图10D是当使用经300ng/mL的cyno IL-36 γ 刺激的HEK食蟹猴IL-36R变体2/IL-8细胞时,实施例1所描述的荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0060] 图10E是当使用经300ng/mL的cyno IL-36 γ 刺激的HEK食蟹猴IL-36R变体3/IL-8细胞时,实施例1所描述的荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0061] 图10F是当使用经300ng/mL的cyno IL-36 γ 刺激的HEK食蟹猴IL-36R变体4/IL-8细胞时,实施例1所描述的荧光素酶报告分子检测的结果展示图。

[0062] 发明详述

[0063] 本发明提供了分离的免疫球蛋白重链多肽和/或分离的免疫球蛋白轻链多肽,或其片段(例如,抗原结合片段)。本文使用的术语“免疫球蛋白”或“抗体”,是指见于脊椎动物血液或者其他体液中的蛋白,其被免疫系统用来识别和中和外来物体,例如细菌和病毒。多肽,当被移除出其天然环境时,是“分离的”。在一个优选的实施方式中,免疫球蛋白或抗体是包含至少一个互补性决定区(CDR)的蛋白。CDR形成抗体的“高变区”,其负责抗原结合(在下文中进一步讨论)。整个免疫球蛋白通常由四条多肽组成:两个拷贝的相同的重(H)链多肽和两个拷贝的相同的轻(L)链多肽。每条重链含有一个N-末端可变(V_H)区和三个C-末端恒定(C_{H1} 、 C_{H2} 和 C_{H3})区,并且每条轻链含有一个N-末端可变(V_L)区和一个C-末端恒定(C_L)区。基于其恒定结构域的氨基酸序列,抗体的轻链可归入两种不同类型(kappa(κ)或lambda(λ))中的一种。在典型的免疫球蛋白中,每条轻链通过二硫键连接重链,并且两条重链通过二硫键彼此相互连接。轻链可变区与所述重链可变区对齐,并且轻链恒定区与重链的第一恒定区对齐。重链的其余恒定区彼此互相对齐。

[0064] 每个轻链重链对的可变区形成抗体的抗原结合位点。 V_H 和 V_L 区具有相同的基本结构,其中每个区包含四个框架(FW或FR)区。本文所用的术语“框架区”是指在可变区内的相对保守的氨基酸序列,其中框架区位于高变区或者互补决定区(CDR)之间。每个可变结构域有4个框架区,命名为FR1、FR2、FR3和FR4。框架区形成 β 片层,其提供可变区的结构框架(参见例如,C.A.Janeway等(编),Immunobiology,第5版,Garland Publishing,纽约,NY(2001))。

[0065] 多个框架区通过三个互补性决定区(CDR)相连。如上讨论,被称为CDR1、CDR2和CDR3的三个CDR形成抗体的“高变区”,其负责与抗原结合。多个CDR形成连接由框架区形成的 β -片层结构的或者在某些情况下包括部分由框架区形成的 β -片层结构的环。虽然轻链和重链的恒定区并不直接参与抗体与抗原的结合,但是恒定区可影响可变区的排布(orientation)。恒定区还表现出多种效应子功能,如通过效应分子和细胞之间的相互作用来参与抗体依赖性补体介导的裂解或抗体依赖性细胞毒作用。

[0066] 理想地,本发明的分离的免疫球蛋白重链多肽和分离的免疫球蛋白轻链多肽结合白细胞介素36受体(IL-36R,过去被称为IL-1Rrp2)。IL-36R是IL-1R家族受体,并且与配体IL-36 α (过去被称为IL-1F6)、IL-36 β (过去被称为IL-1F8)和IL-36 γ (过去被称为IL-1F9)结合(参见,例如,Vigne等,Blood,118(22):5813-5823(2011))。IL-36 α 、IL-36 β 和IL-36 γ

是细胞因子IL-1家族的成员并结合IL-36R,且使用IL-1受体辅助蛋白(IL-1RAcP)作为共受体来刺激与IL-1诱导的细胞内信号传导类似的细胞内信号传导(Towne等,J.Biol.Chem., 279(14):13677-13688(2004))。角质形成细胞和其他上皮细胞类型以及树突状细胞和初始CD4⁺T细胞都高表达IL-36细胞因子和IL-36R(Towne等,同上;Vigne等,Blood,118(22):5813-5823(2011);以及Vigne等,Blood,120(17):3478-3487(2012))。

[0067] 本发明的分离的免疫球蛋白重链多肽和本发明的分离的免疫球蛋白轻链多肽可以形成结合IL-36R和另一抗原的试剂,从而产生“双反应性的”结合剂(例如,双反应性抗体)。

[0068] 结合IL-36R的某些其它抗体及其组分是本领域已知的(参见,例如,美国专利公开号2013/0236471)。抗IL-36R的抗体也可以从例如Abcam(剑桥,美国马萨诸塞州)和R&D Systems, Inc. (明尼阿波利斯,美国明尼苏达州)等来源商购获得。

[0069] 本发明提供了一种分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括以下氨基酸序列,由以下氨基酸序列组成,或者基本上由以下氨基酸序列组成:Gln Val Gln Xaa1 Xaa2 Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Xaa3 Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Xaa4 Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Xaa5 Asp Xaa6 Ser Ala Xaa7 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Xaa8 Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Xaa9 Cys Thr Arg Ser Phe Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser(SEQ ID NO:56),其中(a) Xaa1是亮氨酸(Leu)或苯丙氨酸(Phe), (b) Xaa2是缬氨酸(Val)、甲硫氨酸(Met)或亮氨酸(Leu), (c) Xaa3是精氨酸(Arg)或甘氨酸(Gly), (d) Xaa4是甘氨酸(Gly)、丝氨酸(Ser)或丙氨酸(Ala), (e) Xaa5是精氨酸(Arg)或丙氨酸(Ala), (f) Xaa6是苏氨酸(Thr)或赖氨酸(Lys), (g) Xaa7是丝氨酸(Ser)或天冬酰胺(Asn), (h) Xaa8是丝氨酸(Ser)或丙氨酸(Ala), 以及(i) Xaa9是酪氨酸(Tyr)或苯丙氨酸(Phe)。在一些实施方案中,分离的免疫球蛋白重链多肽包括以下氨基酸序列,由以下氨基酸序列组成,或者基本上由以下氨基酸序列组成:Gln Val Gln Xaa1 Xaa2 Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Xaa3 Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Xaa4 Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Xaa5 Asp Xaa6 Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Xaa7 Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Xaa8 Cys Thr Arg Ser Phe Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser(SEQ ID NO:1),其中(a) Xaa1是亮氨酸(Leu)或苯丙氨酸(Phe), (b) Xaa2是缬氨酸(Val)、甲硫氨酸(Met)或亮氨酸(Leu), (c) Xaa3是精氨酸(Arg)或甘氨酸(Gly), (d) Xaa4是甘氨酸(Gly)、丝氨酸(Ser)或丙氨酸(Ala), (e) Xaa5是精氨酸(Arg)或丙氨酸(Ala), (f) Xaa6是苏氨酸(Thr)或赖氨酸(Lys), (g) Xaa7是丝氨酸(Ser)或丙氨酸(Ala), 以及(h) Xaa8是酪氨酸(Tyr)或苯丙氨酸(Phe)。

[0070] 本发明的重链多肽可以包含具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组分的SEQ ID NO:56或SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列,由具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组分的SEQ ID NO:56或SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列

组成,或者基本上由具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组合的SEQ ID NO:56或SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列组成。在一个实施方案中,免疫球蛋白重链多肽包含下述任一项所示的氨基酸序列、由下述任一项所示的氨基酸序列组成或者基本上由下述任一项所示的氨基酸序列组成:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14。

[0071] 本发明还提供了一种分离的免疫球蛋白重链多肽,其包括以下氨基酸序列,由以下氨基酸序列组成,或者基本上由以下氨基酸序列组成:Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Xaa1 Met Xaa2 Trp Val Arg Gln Ala Pro Xaa3 Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Met Phe Xaa4 Pro Xaa5 Xaa6 Xaa7 Val Thr Arg Leu Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Thr Ser Met Ile Ile Gly Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO:15),其中(a) Xaa1是色氨酸(Trp)或酪氨酸(Tyr), (b) Xaa2是组氨酸(His)、天冬酰胺(Asn)或酪氨酸(Tyr), (c) Xaa3是甘氨酸(Gly)或精氨酸(Arg), (d) Xaa4是天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)或组氨酸(His), (e) Xaa5是丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)或酪氨酸(Tyr), (f) Xaa6是天冬酰胺(Asn)或甘氨酸(Gly), 以及(g) Xaa7是丝氨酸(Ser)、丙氨酸(Ala)或天冬氨酸(Asp)。

[0072] 本发明的重链多肽可以包含具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组合的SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列,由具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组合的SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列组成,或者基本上由具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组合的SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列组成。在一个实施方案中,免疫球蛋白重链多肽包含下述任一项所示的氨基酸序列、由下述任一项所示的氨基酸序列组成或者基本上由下述任一项所示的氨基酸序列组成:SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:24。

[0073] 本发明还提供了一种分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括以下氨基酸序列,由以下氨基酸序列组成,或者基本上由以下氨基酸序列组成:Xaa1 Xaa2 Gln Xaa3 Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Xaa4 Xaa5 Tyr Ser Ile Thr Xaa6 Asp Phe Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Xaa7 Pro Gly Xaa8 Xaa9 Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Xaa10 Xaa11 Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Xaa12 Tyr Xaa13 Cys Ala Ile Arg Gly Pro Tyr Ser Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Xaa14 (SEQ ID NO:57),其中Xaa1是谷氨酰胺(Gln)或天冬氨酸(Asp);Xaa2是缬氨酸(Val)或亮氨酸(Leu);Xaa3是亮氨酸(Leu)或苯丙氨酸(Phe);Xaa4是苏氨酸(Thr)或丝氨酸(Ser);Xaa5是甘氨酸(Gly)或精氨酸(Arg);Xaa6丝氨酸(Ser)或丙氨酸(Ala);Xaa7是脯氨酸(Pro)或苯丙氨酸(Phe);Xaa8是赖氨酸(Lys)或天冬酰胺(Asn);Xaa9是甘氨酸(Gly)或赖

氨酸 (Lys) ;Xaa10是丝氨酸 (Ser) 或苏氨酸 (Thr) ;Xaa11是缬氨酸 (Val) 或精氨酸 (Arg) ;Xaa12是苏氨酸 (Thr) 或缬氨酸 (Val) ;Xaa13是酪氨酸 (Tyr) 或苯丙氨酸 (Phe) ;以及Xaa14是丙氨酸 (Ala) 或者不存在。在一些实施方案中,分离的免疫球蛋白重链多肽包括以下氨基酸序列,由以下氨基酸序列组成,或者基本上由以下氨基酸序列组成:Xaa1 Val Gln Xaa2 Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Xaa3 Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Phe Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Xaa4 Pro Gly Xaa5 Xaa6 Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Xaa7 Xaa8 Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Xaa9 Cys Ala Ile Arg Gly Pro Tyr Ser Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser (SEQ ID NO:25),其中 (a) Xaa1是谷氨酰胺 (Gln) 或天冬氨酸 (Asp), (b) Xaa2是亮氨酸 (Leu) 或苯丙氨酸 (Phe), (c) Xaa3是苏氨酸 (Thr) 或丝氨酸 (Ser), (d) Xaa4是脯氨酸 (Pro) 或苯丙氨酸 (Phe), (e) Xaa5是赖氨酸 (Lys) 或天冬酰胺 (Asn), (f) Xaa6是甘氨酸 (Gly) 或赖氨酸 (Lys), (g) Xaa7是丝氨酸 (Ser) 或苏氨酸 (Thr), (h) Xaa8是缬氨酸 (Val) 或精氨酸 (Arg), 以及 (i) Xaa9是酪氨酸 (Tyr) 或苯丙氨酸 (Phe)。

[0074] 本发明的重链多肽可以包含具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组分的SEQ ID NO:57或SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列,由具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组分的SEQ ID NO:57或SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列组成,或者基本上由具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组分的SEQ ID NO:57或SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列组成。在一个实施方案中,免疫球蛋白重链多肽包含下述任一项所示的氨基酸序列、由下述任一项所示的氨基酸序列组成或者基本上由下述任一项所示的氨基酸序列组成:SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53或SEQ ID NO:54。

[0075] 在另一实施方案中,本发明提供了一种分离的免疫球蛋白重链多肽,其包含下述任一项所示的氨基酸序列、由下述任一项所示的氨基酸序列组成或者基本上由下述任一项所示的氨基酸序列组成:SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:35。

[0076] 当本发明的免疫球蛋白重链多肽基本上由SEQ ID NO:1-SEQ ID NO:35中的任一项所示的氨基酸序列组成时,可以在多肽中包含不会对多肽产生实质性影响 (例如,通过影响本发明的重链多肽与IL-36R的亲合性) 的其他组分。此类组分的实例包括,例如,方便纯化或分离的蛋白质部分 (例如,生物素)、偶然基因突变、不含问题位点 (包括游离半胱氨酸、额外的糖基化位点以及脱酰胺或异构化高可能性位点) 的序列。

[0077] 当本发明的免疫球蛋白重链多肽由SEQ ID NO:1-SEQ ID NO:35中的任一项所示的氨基酸序列组成时,多肽不包括任何其他组分 (即,对于本发明的免疫球蛋白重链多肽来说是非内源性的组分)。

[0078] 本发明提供了一种分离的免疫球蛋白重链多肽,其包含与SEQ ID NO:1-SEQ ID NO:35中的任一项所示的氨基酸序列具有至少90%同一性 (例如,至少91%同一性、至少92%同一性、至少93%同一性、至少94%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性或者100%同一性) 的氨基酸序列。本文所述

的核酸或氨基酸序列的“同一性”可以通过将目的核酸或氨基酸序列与参照核酸或氨基酸序列进行比较来确定。将目的序列和参照序列之间相同的(即,具有同一性的)核苷酸或氨基酸残基的数目除以最长序列的长度(即,目的序列或参考序列的长度中长度更长的那个),得到同一性百分比。用于在两个或多个序列之间获得最佳比对以及计算同一性的许多数学算法是已知的并且被并入到了许多可用的软件程序中。这些程序的实例包括CLUSTAL-W、T-Coffee和ALIGN(用于核酸和氨基酸的序列比对),BLAST程序(例如,BLAST 2.1、BL2SEQ及其后续版本)和FASTA程序(例如FASTA3x、FASTM和SSEARCH)(用于序列比对和序列相似性搜索)。序列比对的算法也在,例如,Altschul等,J.Molecular Biol.,215(3):403-410(1990)、Beigert等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,106(10):3770-3775(2009)、Durbin等,eds.,BiologicalSequenceAnalysis:ProbabalisticModels ofProteins and NucleicAcids,剑桥大学出版社,英国剑桥(2009)、Soding,Bioinformatics,21(7):951-960(2005)、Altschul等,Nucleic Acids Res.,25(17):3389-3402(1997)以及Gusfield,Algorithms on Strings,Trees andSequences,剑桥大学出版社,英国剑桥(1997))中有所公开。

[0079] 在另一实施方案中,本发明提供了一种免疫球蛋白轻链多肽,其包括以下氨基酸序列,由以下氨基酸序列组成,或者基本上由以下氨基酸序列组成:Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Xaa1 Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Xaa2 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Xaa3 Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys (SEQ ID NO:36),其中(a)Xaa1是甘氨酸(Gly)或丙氨酸(Ala), (b)Xaa2是苯丙氨酸(Phe)或酪氨酸(Tyr), (c)Xaa3是酪氨酸(Tyr)或丝氨酸(Ser)。

[0080] 本发明的轻链多肽可以包含具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组分的SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列,由具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组分的SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列组成,或者基本上由具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组分的SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列组成。在一个实施方案中,分离的免疫球蛋白轻链多肽包含下述任一项所示的氨基酸序列、由下述任一项所示的氨基酸序列组成或者基本上由下述任一项所示的氨基酸序列组成:SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39。

[0081] 本发明还提供了一种免疫球蛋白轻链多肽,其包括以下氨基酸序列,由以下氨基酸序列组成,或者基本上由以下氨基酸序列组成:Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Xaa1 Asn Xaa2 Ile Thr Tyr Phe Tyr Trp Tyr Leu Xaa3 Lys Pro Gly Gln Pro Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys (SEQ ID NO:40),其中(a)Xaa1是丝氨酸(Ser)或

精氨酸(Arg), (b) Xaa2是甘氨酸(Gly)或丙氨酸(Ala), 以及(c) Xaa3是谷氨酰胺(Gln)或组氨酸(His)。

[0082] 本发明的轻链多肽可以包含具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组的SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列, 由具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组的SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列组成, 或者基本上由具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组的SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列组成。在一个实施方案中, 分离的免疫球蛋白轻链多肽包含下述任一项所示的氨基酸序列、由下述任一项所示的氨基酸序列组成或者基本上由下述任一项所示的氨基酸序列组成: SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43或SEQ ID NO:44。

[0083] 本发明提供了一种分离的免疫球蛋白轻链多肽, 其包括以下氨基酸序列, 由以下氨基酸序列组成, 或者基本上由以下氨基酸序列组成: Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Xaa1 Ile Asn Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Xaa2 Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Xaa3 Ser Gly Ser Gly Xaa4 Asp Xaa5 Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Xaa6 Xaa7 (SEQ ID NO:58), 其中(a) Xaa1是天冬氨酸(Asp)或色氨酸(Trp), (b) Xaa2是精氨酸(Arg)或甲硫氨酸(Met), (c) Xaa3是甘氨酸(Gly)、丝氨酸(Ser)或脯氨酸(Pro), (d) Xaa4是苏氨酸(Thr)或天冬酰胺(Asn), (e) Xaa5是苯丙氨酸(Phe)或酪氨酸(Tyr), (f) Xaa6是精氨酸(Arg)或者不存在, 以及(g) Xaa7是苏氨酸(Thr)或者不存在。在一些实施方案中, 免疫球蛋白轻链多肽包括以下氨基酸序列, 由以下氨基酸序列组成, 或者基本上由以下氨基酸序列组成: Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Xaa1 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Xaa2 Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys (SEQ ID NO:45), 其中(a) Xaa1是丝氨酸(Ser)或脯氨酸(Pro), 以及(b) Xaa2是苯丙氨酸(Phe)或酪氨酸(Tyr)。

[0084] 本发明的轻链多肽可以包含具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组的SEQ ID NO:58或SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列, 由具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组的SEQ ID NO:58或SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列组成, 或者基本上由具有任意一个前述氨基酸取代和氨基酸缺失的任意适宜的组的SEQ ID NO:58或SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列组成。在一个实施方案中, 所述分离的免疫球蛋白轻链多肽包含下述任一项所示的氨基酸序列、由下述任一项所示的氨基酸序列组成或者基本上由下述任一项所示的氨基酸序列组成: SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47或SEQ ID NO:55。

[0085] 在另一实施方案中, 本发明提供了一种分离的免疫球蛋白轻链多肽, 其包含下述任一项所示的氨基酸序列、由下述任一项所示的氨基酸序列组成或者基本上由下述任一项

所示的氨基酸序列组成:SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49或SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列。

[0086] 当本发明的免疫球蛋白轻链多肽基本上由SEQ ID NO:36-SEQ ID NO:50中的任一项所示的氨基酸序列组成时,可以在多肽中包含不会对多肽产生实质性影响的其他组分,例如本申请所述的那些。当本发明的免疫球蛋白轻链多肽由SEQ ID NO:36-SEQ ID NO:50中的任一项所示的氨基酸序列组成时,所述多肽不包括任何额外的组分(即,对于本发明的免疫球蛋白轻链多肽来说是非内源性的组分)。

[0087] 本发明提供了分离的免疫球蛋白轻链多肽,其包括与SEQ ID NO:36-SEQ ID NO:50中的任一项所示的氨基酸序列具有至少90%同一性(例如,至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或者100%同一性)的氨基酸序列。可以使用本文所述的方法来确定核酸或氨基酸的序列“同一性”。

[0088] 上述免疫球蛋白重链多肽和/或轻链多肽的一个或多个氨基酸可被不同的氨基酸替代或取代。氨基酸的“替代”或“取代”是指在多肽序列内,在给定的位置或残基处的一个氨基酸被另一氨基酸在相同位置或残基处替代。

[0089] 氨基酸被大致分为“芳香族”或“脂肪族”。芳香族氨基酸包括芳香环。“芳香族”氨基酸的实例包括组氨酸(H或His)、苯丙氨酸(F或Phe)、酪氨酸(Y或Tyr)和色氨酸(W或Trp)。非芳香族氨基酸大致划为“脂肪族”。“脂肪族”氨基酸的实例包括甘氨酸(G或Gly)、丙氨酸(A或Ala)、缬氨酸(V或Val)、亮氨酸(L或Leu)、异亮氨酸(I或Ile)、甲硫氨酸(M或Met)、丝氨酸(S或Ser)、苏氨酸(T或Thr)、半胱氨酸(C或Cys)、脯氨酸(P或Pro)、谷氨酸(E或Glu)、天冬氨酸(D或Asp)、天冬酰胺(N或Asn)、谷氨酰胺(Q或Gln)、赖氨酸(K或Lys)和精氨酸(R或Arg)。

[0090] 脂肪族氨基酸可以细分为四个亚组。“大脂肪族非极性亚组”由缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸组成。“脂肪族微极性亚组”由甲硫氨酸、丝氨酸、苏氨酸和半胱氨酸组成。“脂肪族极性/带电子亚组”由谷氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸和精氨酸组成。“小残基亚组”由甘氨酸和丙氨酸组成。带电/极性氨基酸组可以细分为三个亚组:由赖氨酸和精氨酸组成的“带正电荷亚组”,由谷氨酸和天冬氨酸组成的“带负电荷亚组”,以及由天冬酰胺和谷氨酰胺组成的“极性亚组”。

[0091] 芳香族氨基酸可以细分为两个亚组:由组氨酸和色氨酸组成的“氮环亚组”以及由苯丙氨酸和酪氨酸组成的“苯基亚组”。

[0092] 氨基酸的替代或取代可以是保守的、半保守的或者非保守的。术语“保守的氨基酸取代”或“保守突变”是指一个氨基酸被与其具有共同特性的另一氨基酸替代。确定单个氨基酸之间共同特性的有效方法是分析同源生物体中相应的蛋白之间氨基酸变化的归一化频率(Schulz和Schirmer,Principles ofProtein Structure,Springer-Verlag,New York (1979))。根据此类分析,可以定义多个氨基酸组,其中组内的氨基酸优先彼此交换,并且因此在对整体蛋白质结构的影响方面其彼此最为相似(Schulz和Schirmer,同上)。

[0093] 保守的氨基酸取代的实例包括上述亚组内的氨基酸的取代,例如,赖氨酸取代精氨酸(反之亦然)使得可以维持正电荷,谷氨酸取代天冬氨酸(反之亦然)使得可以维持负电荷,丝氨酸取代苏氨酸使得可以保留游离的-OH,以及谷氨酰胺取代天冬酰胺使得可以保留游离的-NH₂。

[0094] “半保守的突变”包括用属于上文所列出的在同一组内但不在相同亚组内的氨基

酸进行氨基酸取代。例如,天冬氨酸取代天冬酰胺,或者天冬酰胺取代赖氨酸,均涉及属于同组但不同亚组的氨基酸。“非保守性突变”涉及不同组之间的氨基酸取代,例如,赖氨酸取代色氨酸,或者苯丙氨酸取代丝氨酸等。

[0095] 此外,可以将一个或多个氨基酸插入上述免疫球蛋白重链多肽和/或轻链多肽中。可以将任意数量的任何合适的氨基酸插入到所述免疫球蛋白重链多肽和/或轻链多肽的氨基酸序列中。就此而言,可以将至少一个氨基酸(例如,2个或更多个氨基酸、5个或更多个氨基酸或者10个或更多个氨基酸),但不超过20个氨基酸(例如18个或更少的氨基酸、15个或更少的氨基酸或者12个或更少的氨基酸)插入所述免疫球蛋白重链多肽和/或轻链多肽的氨基酸序列中。优选地,将1-10个氨基酸(例如,1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸)插入所述免疫球蛋白重链多肽和/或轻链多肽的氨基酸序列中。就此而言,可以将氨基酸插入到上述任一种免疫球蛋白重链多肽和/或轻链多肽的任意合适的位置。优选地,将氨基酸插入所述免疫球蛋白重链多肽和/或轻链多肽的CDR(例如CDR1、CDR2或CDR3)中。

[0096] 本发明的分离的免疫球蛋白重链多肽和轻链多肽不限于包括本文所述的具体氨基酸序列的多肽。事实上,所述免疫球蛋白重链多肽或轻链多肽可以是与本发明的免疫球蛋白重链多肽或轻链多肽竞争性结合IL-36R的任意重链多肽或轻链多肽。就此而言,举例来说,免疫球蛋白重链多肽或轻链多肽可以是结合至被本文所描述的重链和轻链多肽识别的相同IL-36R表位的任意重链多肽或轻链多肽。可以通过利用ELISA、Western印迹或免疫组织化学方法的常规肽竞争测定法(参见例如,美国专利4,828,981和8,568,992;以及Braitbard等,Proteome Sci.,4:12(2006))来测定抗体的竞争。

[0097] 本发明提供了一种IL-36R结合剂,其包括一种或多种本文所述的本发明的分离的氨基酸序列,基本上由一种或多种本文所述的本发明的分离的氨基酸序列组成,或者由一种或多种本文所述的本发明的分离的氨基酸序列组成。“IL-36R结合剂”是指与IL-36R蛋白特异性结合的分子,优选蛋白质分子。优选地,IL-36R结合剂是抗体或其片段(例如,其抗原结合片段)。本发明的IL-36R结合剂包括本发明的免疫球蛋白重链多肽和/或本发明的免疫球蛋白轻链多肽,基本上由本发明的免疫球蛋白重链多肽和/或本发明的免疫球蛋白轻链多肽组成,或者由本发明的免疫球蛋白重链多肽和/或本发明的免疫球蛋白轻链多肽组成。在一个实施方案中,IL-36R结合剂包括本发明的免疫球蛋白重链多肽或本发明的免疫球蛋白轻链多肽,基本上由本发明的免疫球蛋白重链多肽或本发明的免疫球蛋白轻链多肽组成,或者由本发明的免疫球蛋白重链多肽或本发明的免疫球蛋白轻链多肽组成。在另一实施方案中,所述IL-36R结合剂包括本发明的免疫球蛋白重链多肽和本发明的免疫球蛋白轻链多肽,基本上由本发明的免疫球蛋白重链多肽和本发明的免疫球蛋白轻链多肽组成,或者由本发明的免疫球蛋白重链多肽和本发明的免疫球蛋白轻链多肽组成。

[0098] 本发明的免疫球蛋白重链多肽和/或本发明的免疫球蛋白轻链多肽的任意氨基酸残基都可以以任意组合的形式被不同的氨基酸残基替代,或者可以缺失或插入,前提是所述氨基酸的替代、插入和/或缺失未实质性地减弱(例如,增强或改善)IL-36R结合剂的生物学活性。

[0099] IL-36R结合剂的“生物学活性”是指,例如,对特定IL-36R表位的结合亲和力,对IL-36R与其受体结合的中和或抑制,在体对IL-36R活性的中和或抑制(例如,IC₅₀),药代动

力学和交叉反应性(例如,与IL-36R蛋白的非人同源物或直系同源物的交叉反应性,或者与其它蛋白或组织的交叉反应性)。在某些实施方案中,理想地,本发明的白细胞介素36受体(IL-36R)结合剂显示以下一种或多种生物学活性:(a)抑制IL-36R和IL-36 α , IL-36 β 以及/或IL-36 γ 之间的相互作用,(b)抑制由IL-36R介导的细胞内信号传导,和/或(c)与人和非人灵长类(例如,食蟹猴)IL-36R的交叉反应以及对其活性的抑制。本领域认可的抗原结合剂的其它生物学特性或特征包括,例如,亲合力、选择性、溶解性、折叠、免疫毒性、表达和制剂。可以使用标准技术来观察、测量和/或评估上述特性或特征,包括但不限于,ELISA、竞争性ELISA、表面等离子体共振分析(BIACORE™)、或者KINEXA™、体外或体内中和测定法、受体-配体结合测定法、细胞因子或生长因子的产生和/或分泌测定法、以及信号转导和免疫组织化学测定法。

[0100] 本文在提及IL-36R结合剂的活性时使用的术语“抑制”或“中和”是指基本上拮抗、阻止、预防、抑制、缓解、破坏、改变、消除、终止或逆转例如IL-36R的生物学活性或者与IL-36R相关的疾病或病症的进展或严重程度的能力。优选地,本发明的IL-36R结合剂抑制或中和IL-36R的活性达至少约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约100%,或者由上述任意两个值限定的范围。

[0101] 本发明的IL-36R结合剂可以是如本文所述的完整的抗体,或者是抗体片段。本文中,术语“抗体的片段”、“抗体片段”和“抗体的功能性片段”可以互换使用,用来表示保留了特异性结合抗原的能力的一个或多个抗体片段(大体参见Holliger等,Nat.Biotech.,23(9):1126-1129(2005))。IL-36R结合剂可以含有任意结合IL-36R的抗体片段。理想地,抗体片段包括,例如,一个或多个CDR、可变区(或其部分)、恒定区(或其部分)、或其组合。抗体片段的实例包括,但不限于,(i)Fab片段,其是由V_L、V_H、C_L和CH₁结构域组成的单价片段,(ii)F(ab')₂片段,其是二价片段,包括在铰链区通过二硫键连接的两个Fab片段,(iii)由抗体单臂的V_L和V_H结构域组成的Fv片段,(iv)Fab'片段,其通过使用温和的还原条件破坏F(ab')₂片段的二硫键而形成,(v)经二硫键稳定的Fv片段(dsFv),以及(vi)结构域抗体(dAb),其是特异性结合抗原的抗体单可变区结构域(VH或VL)多肽。

[0102] 在IL-36R结合剂包括免疫球蛋白重链或轻链多肽的片段的实施方案中,只要片段能够结合IL-36R,并且优选地能抑制IL-36R的活性,则所述片段可以是任意大小。就此而言,理想地,所述免疫球蛋白重链多肽的片段包括约5个和18个之间(例如,约5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个,或者由任何两个前述值定义的范围)的氨基酸。类似地,理想地,免疫球蛋白轻链多肽的片段包括约5个和18个之间(例如,约5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个,或者由任何两个前述值定义的范围)的氨基酸。

[0103] 当所述IL-36R结合剂是抗体或抗体片段时,理想地,抗体或抗体片段包括任意合适类别的重链恒定区(F_c)。优选地,抗体或抗体片段包括基于野生型IgG1、IgG2或IgG4抗体的重链恒定区,或其变体。应当理解,一旦识别抗原,每个抗体类别或同种型就会调动一系列不同的效应机制来处置或中和抗原。因此,在一些实施方案中,当IL-36R结合剂是抗体或抗体片段时,其可以显示一种或多种效应子功能,例如通过与效应分子和细胞的相互作用(例如,补体系统的活化)参与抗体依赖性的补体介导的裂解或抗体依赖性的细胞毒性。

[0104] IL-36R结合剂还可以是单链抗体片段。单链抗体片段的实例包括,但不限于,(i)

单链Fv (scFv), 其是由通过合成接头连接的Fv片段的两个结构域(即, V_L 和 V_H) 组成的单价分子, 所述合成接头使得两个结构域能够合成为单个多肽链(参见, 例如, Bird等, Science, 242:423-426 (1988); Huston等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:5879-5883 (1988); 和 Osbourn等, Nat. Biotechnol., 16:778 (1998)), 以及(ii) 双价抗体(diabody), 其是多肽链的二聚体, 其中每个多肽链包括通过肽接头与 V_L 连接的 V_H , 所述肽接头很短以至于在同一多肽链上的 V_H 和 V_L 不能发生配对, 从而驱动不同 V_H - V_L 多肽链上的互补结构域之间发生配对, 以产生具有两个功能性抗原结合位点的二聚体分子。抗体片段是本领域已知的, 并且在例如美国专利申请公开号2009/0093024A1中有更详细的描述。

[0105] IL-36R结合剂也可以是细胞内抗体(intrabody)或其片段。细胞内抗体是在细胞内表达并发挥作用的抗体。细胞内抗体通常缺乏二硫键, 其能通过其特异性的结合活性调节靶基因的表达或活性。细胞内抗体包括单结构域片段, 例如分离的 V_H 和 V_L 结构域以及 scFv。细胞内抗体可以包括与所述细胞内抗体的N末端或C末端连接的亚细胞运送信号, 从而使得能够在靶蛋白所处的亚细胞室中有高浓度的表达。当与靶基因相互作用时, 细胞内抗体通过例如加速靶蛋白降解和在非生理性亚细胞区室中隔离靶蛋白的机制, 来调节靶蛋白的功能和/或实现表型/功能性敲除。细胞内抗体介导的基因失活的其他机制取决于所述细胞内抗体所靶向的表位, 例如与靶蛋白上的催化位点结合或者与参与蛋白-蛋白、蛋白-DNA或蛋白-RNA相互作用的表位结合。

[0106] IL-36R结合剂也可以是抗体偶联物。就此而言, IL-36R结合剂可以是(1) 抗体、替代骨架、或其片段的偶联物, 和(2) 包括IL-36R结合剂的蛋白或非蛋白部分的偶联物。例如, IL-36R结合剂可以是与肽、荧光分子或化疗剂偶联的抗体的全部或部分。

[0107] IL-36R结合剂可以是, 或者获自, 人抗体、非人抗体或嵌合抗体。“嵌合”抗体是指包括人和非人区域的抗体或其片段。优选地, IL-36R结合剂是人源化抗体。“人源化”抗体是包括人抗体骨架和至少一个获自或源自非人抗体的CDR的单克隆抗体。非人抗体包括分离自任意非人动物例如啮齿动物(如, 小鼠或大鼠)的抗体。人源化抗体可以包括一个、两个或三个获自或源自非人抗体的CDR。在本发明的一个实施方案中, 本发明的IL-36R结合剂的CDRH3获自或源自小鼠单克隆抗体, 而本发明的IL-36R结合剂的其他可变区和恒定区获自或源自人单克隆抗体。

[0108] 可以通过任何方法, 包括通过体外来源(例如, 以重组的方式产生抗体的杂交瘤或细胞系)和在体来源(例如, 啮齿动物), 获得人抗体、非人抗体、嵌合抗体或人源化抗体。用于产生抗体的方法是本领域已知的, 并且描述于例如, Köhler 和 Milstein, Eur. J. Immunol., 5:511-519 (1976); Harlow和Lane (eds.), Antibodies: A Laboratory Manual, CSH Press (1988); 以及Janeway等(eds.), Immunobiology, 5th Ed., Garland出版社, 纽约(2001))中。在某些实施方案中, 可以使用转基因动物(例如, 小鼠)生产人抗体或嵌合抗体, 其中在所述转基因动物中, 一个或多个内源性免疫球蛋白基因被一个或多个人免疫球蛋白基因替代。内源性抗体基因被人抗体基因有效取代的转基因小鼠的实例包括, 但不限于, Medarex HUMAB-MOUSETM、Kirin TC MOUSETM和Kyowa Kirin KM-MOUSETM(参见, 例如, Lonberg, Nat. Biotechnol., 23 (9):1117-25 (2005) 和Lonberg, Handb. Exp. Pharmacol., 181:69-97 (2008))。可以使用本领域已知的任何合适的方法生产人源化抗体(参见, 例如, An, Z. (ed.), Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic, John Wiley &

Sons, Inc., Hoboken, New Jersey (2009)), 包括例如将非人CDR移植到人抗体骨架上 (Kashmiri等, Methods, 36 (1):25-34 (2005); 和Hou等, J. Biochem., 144 (1):115-120 (2008))。在一个实施方案中, 可以使用例如美国专利申请公开号2011/0287485A1中所述的方法来制备人源化抗体。

[0109] 在一个实施方案中, 可以使用蛋白质化学或重组DNA技术将本文的免疫球蛋白重链多肽和/或免疫球蛋白轻链多肽的CDR (例如, CDR1、CDR2或CDR3) 或可变区移植 (即, 接枝) 到另一分子 (例如, 抗体或非抗体多肽) 上。就此而言, 本发明提供了一种IL-36R结合剂, 其包括本文的免疫球蛋白重链和/或轻链多肽的至少一个CDR。所述IL-36R结合剂可以包括本文的免疫球蛋白重链和/或轻链可变区的一个、两个或三个CDR。

[0110] 在优选的实施方案中, IL-36R结合剂结合IL-36R的表位, 其阻断IL-36R与其任何配体 (例如, IL-36 α 、IL-36 β 和IL-36 γ) 的结合并抑制IL-36R介导的信号传导。本发明还提供分离或纯化的IL-36R的表位, 所述表位以间接或变构的方式阻断IL-36R与其任何配体结合。

[0111] 本发明还提供了一种或多种分离的或纯化的核酸序列, 所述核酸序列编码本发明的免疫球蛋白重链多肽、本发明的免疫球蛋白轻链多肽和本发明的IL-36R结合剂。

[0112] 术语“核酸序列”涵盖DNA或RNA的聚合物, 即多核苷酸, 其可以是单链或双链的并且其可以含有非天然的或改变的核苷酸。本文所用的术语“核酸”和“多核苷酸”是指任意长度的聚合形式的核苷酸 (核糖核苷酸 (RNA) 或脱氧核糖核苷酸 (DNA))。这些术语是指分子的一级结构, 因此包括双链DNA和单链DNA, 以及双链RNA和单链RNA。该术语包括用作等同物的由核苷酸类似物以及经修饰的多核苷酸 (例如, 但不限于, 甲基化的和/或封端的多核苷酸) 制成的RNA或DNA类似物。虽然本领域中已知许多其他的连接 (例如, 硫代磷酸酯、硼烷磷酸酯等), 但是核酸通常通过磷酸键连接形成核酸序列或多核苷酸。

[0113] 本发明还提供了包括一种或多种编码本发明的免疫球蛋白重链多肽、本发明的免疫球蛋白轻链多肽和/或本发明的IL-36R结合剂的核酸序列的载体。载体可以是, 例如, 质粒、附加体 (episome)、粘粒、病毒载体 (例如逆转录病毒或腺病毒) 或噬菌体。合适的载体和制备载体的方法是本领域公知的 (参见, 例如, Sambrook等, Molecular Cloning, a Laboratory Manual, 第3版, Cold Spring Harbor出版社, Cold Spring Harbor, 纽约 (2001) 和Ausubel等, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates and John Wiley&Sons, 纽约 (1994))。

[0114] 除了编码本发明的免疫球蛋白重链多肽、本发明的免疫球蛋白轻链多肽和/或本发明的IL-36R结合剂的核酸序列之外, 载体优选包括表达控制序列, 例如启动子、增强子、多聚腺苷酸化信号、转录终止子、信号肽 (例如, 骨粘连蛋白信号肽)、内部核糖体进入位点 (IRES) 等, 其使得能够在宿主细胞中表达编码序列。示例性的表达控制序列在本领域是已知的, 并且在例如Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology, Vol. 185, Academic出版社, San Diego, Calif. (1990) 中描述。

[0115] 来自各种不同来源的大量启动子 (包括组成型启动子、诱导型启动子和阻抑型启动子) 是本领域熟知的。启动子的代表性来源包括例如, 病毒、哺乳动物、昆虫、植物、酵母和细菌, 并且来自这些来源的合适的启动子比较容易获得或者可以从例如ATCC等文库及其他商业或个人来源公开获得的序列的基础上, 合成制备获得。启动子可以是单向的 (即, 在一

个方向上启动转录)或双向的(即,在3'或5'方向上启动转录)。启动子的非限制性实例包括,例如,T7细菌表达系统、pBAD(araA)细菌表达系统、巨细胞病毒(CMV)启动子、SV40启动子和RSV启动子。诱导型启动子包括,例如,Tet系统(美国专利号5,464,758和5,814,618)、蜕皮激素(Ecdysone)诱导系统(No等,Proc.Natl.Acad.Sci.,93:3346-3351(1996))、T-REXTM系统(Invitrogen,卡尔斯巴德,美国加利福尼亚州)、LACSWITCHTM系统(Stratagene,圣地亚哥,美国加利福尼亚州)和Cre-ERT他莫昔芬可诱导的重组酶系统(Indra等,Nuc.Acid.Res.,27:4324-4327(1999);Nuc.Acid.Res.,28:e99(2000);美国专利号7,112,715和Kramer&Fussenegger,Methods Mol.Biol.,308:123-144(2005))。

[0116] 本文所用的术语“增强子”是指这样的DNA序列:其能够提升例如与之可操作连接的核酸序列的转录。增强子可以离核酸序列编码区数千碱基之远,并且可以介导调节因子的结合、DNA的甲基化模式或者DNA结构的变化。来自各种不同来源的许多增强子是本领域公知的,并且可以是(例如,从ATCC等文库及其他商业或个人来源获得的)克隆的多核苷酸或者存在于克隆的多核苷酸内。包括启动子(例如,常用的CMV启动子)的许多多核苷酸还包括增强子序列。增强子可以位于编码序列的上游、内部或下游。

[0117] 载体还可以包括“选择性标记基因”。本文使用的术语“选择性标记基因”是指在存在相应的选择剂的条件下,允许特异性选择或剔除表达所述核酸序列的细胞的核酸序列。合适的可选择性标记基因是本领域已知的并且在例如国际专利申请公开号W0 1992/008796和W0 1994/028143;Wigler等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,77:3567-3570(1980);O'Hare等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,78:1527-1531(1981);Mulligan&Berg,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,78:2072-2076(1981);Colberre-Garapin等,J.Mol.Biol.,150:1-14(1981);Santerre等,Gene,30:147-156(1984);Kent等,Science,237:901-903(1987);Wigler等,Cell,11:223-232(1977);Szybalska&Szybalski,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,48:2026-2034(1962);Lowy等,Cell,22:817-823(1980);和美国专利号5,122,464和5,770,359中有描述。

[0118] 在一些实施方案中,载体是“附加型表达载体”或“附加体”,其能够在宿主细胞中复制,并且在存在适当的选择压力的条件下,在所述宿主细胞内以DNA的染色体外片段的形式继续存在(参见,例如,Conese等,Gene Therapy,11:1735-1742(2004))。代表性的可商购获得的附加型表达载体,包括但不限于,利用爱泼斯坦-巴尔核抗原1(EBNA1)和爱泼斯坦巴尔病毒(EBV)复制起点(oriP)的附加型质粒。来自Invitrogen(卡尔斯巴德,美国加利福尼亚州)的pREP4、pCEP4、pREP7和pcDNA3.1载体和来自Stratagene(拉由拉市,美国加利福尼亚州)的pBK-CMV代表了使用T抗原和SV40复制起点代替EBNA1和oriP的附加型载体的非限制性实例。

[0119] 其它合适的载体包括整合型表达载体,其可以随机整合到宿主细胞的DNA中,或者可以包括重组位点从而使得所述表达载体和所述宿主细胞的染色体之间进行特异性重组。这种整合型表达载体可以利用宿主细胞染色体的内源性表达控制序列来影响目标蛋白的表达。以位点特异性的方式进行整合的载体的实例包括,例如,Invitrogen(卡尔斯巴德,美国加利福尼亚州)的flp-in系统的组件(例如,pcDNATM5/FRT),或cre-lox系统,例如Stratagene(拉由拉市,美国加利福尼亚州)的pExchange-6核心载体中的cre-lox系统。能够随机整合进宿主细胞染色体的载体的实例包括例如来自Life Technologies(卡尔斯巴

德,美国加利福尼亚州)的pcDNA3.1(在不存在T抗原的情况下引入)、来自Millipore(比尔里卡,美国马萨诸塞州)的UCOE以及来自Promega(麦迪逊,美国威斯康辛州)的pCI或pFN10A(ACT)FLEXI™。

[0120] 还可以使用病毒载体。代表性的可商购病毒表达载体包括,但不限于,来自Crucell, Inc. (莱顿,荷兰)的基于腺病毒的Per.C6系统、来自Invitrogen(卡尔斯巴德,美国加利福尼亚州)的基于慢病毒的pLP1以及来自Stratagene(拉由拉市,美国加利福尼亚州)的pFB-ERV加pCFB-EGSH逆转录病毒载体。

[0121] 可以在同一载体上(即,以顺式的方式)将编码本发明的多个氨基酸序列的多个核酸序列提供给细胞。可用单向启动子控制每个核酸序列的表达。在另一实施方案中,可以使用双向和单向启动子的组合来控制多个核酸序列的表达。或者,可以将编码本发明的多个多肽的多个核酸序列各自置于单独的载体上(即,以反式的方式)提供给细胞群。在各单独的载体中的核酸序列可以包括相同或不同的表达控制序列。可以将单独的载体同时或者依次序提供给细胞。

[0122] 可以将包括编码本发明的多肽的核酸的载体引入能够表达由其所编码的多肽的宿主细胞(包括任何合适的原核细胞或真核细胞)中。因此,本发明提供了分离的包括本发明载体的细胞。优选的宿主细胞是能够容易且稳定地生长、具有相当快的生长速率、具有良好表征的表达系统的宿主细胞,并且能比较容易且有效地转化或转染。

[0123] 合适的原核细胞的实例包括,但不限于,来自芽孢杆菌属(例如,枯草芽孢杆菌和短芽孢杆菌)、埃希氏杆菌属(例如,大肠杆菌)、假单胞菌属、链霉菌属、沙门氏菌属和欧文氏菌属的细胞。特别有用的原核细胞包括大肠杆菌的各种菌株(例如,K12、HB101(ATCC号33694)、DH5 α 、DH10、MC1061(ATCC号53338)和CC102)。

[0124] 优选地,将载体导入真核细胞。合适的真核细胞是本领域已知的,并且包括,例如,酵母细胞、昆虫细胞和哺乳动物细胞。合适的酵母细胞的实例包括来自克鲁维酵母菌属(Kluyveromyce)、毕赤酵母属(Pichia)、鼻孢子虫属(Rhinosporidium)、酵母菌属(Saccaromyces)和裂殖酵母属(Schizosaccharomyces)的那些。优选的酵母细胞包括,例如,酿酒酵母和毕赤酵母。

[0125] 合适的昆虫细胞描述于例如Kitts等,Biotechniques,14:810-817(1993); Lucklow, Curr. Opin. Biotechnol., 4:564-572(1993)和Lucklow等, J. Virol., 67:4566-4579(1993)中。优选的昆虫细胞包括Sf-9和HI5(Invitrogen,卡尔斯巴德,美国加利福尼亚州)。

[0126] 本发明优选利用哺乳动物细胞。许多合适的哺乳动物宿主细胞是本领域已知的,并且很多可从美国典型培养物保藏中心(ATCC,马纳萨斯,美国弗吉尼亚州)获得。合适的哺乳动物细胞的实例包括,但不限于,中国仓鼠卵巢细胞(CHO)(ATCC号CCL61)、CHO DHFR细胞(Urlaub等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97:4216-4220(1980))、人胚胎肾(HEK)293或293T细胞(ATCC号CRL1573)和3T3细胞(ATCC号CCL92)。其它合适的哺乳动物细胞系有猴COS-1(ATCC号CRL1650)和COS-7细胞系(ATCC号CRL1651),以及CV-1细胞系(ATCC号CCL70)。其它示例性哺乳动物宿主细胞包括灵长类动物细胞系和啮齿动物细胞系,包括转化的细胞系。正常二倍体细胞、源自原代组织体外培养物的细胞株以及原代外植体也很合适。其它合适的哺乳动物细胞系包括,但不限于,小鼠成神经细胞瘤N2A细胞、HeLa细胞、小鼠L-929细胞

以及BHK或HaK仓鼠细胞系,所有这些都可从ATCC获得。用于选择合适的哺乳动物宿主细胞的方法以及用于转化、培养、扩增、筛选和纯化细胞的方法是本领域已知的。

[0127] 在一个实施方案中,哺乳动物细胞是人细胞。例如,哺乳动物细胞可以是人淋巴样或淋巴衍生细胞系,例如来自前B淋巴细胞的细胞系。人淋巴样细胞系的实例包括,但不限于,RAMOS (CRL-1596)、Daudi (CCL-213)、EB-3 (CCL-85)、DT40 (CRL-2111)、18-81 (Jack等, Proc.Natl.Acad.Sci.USA,85:1581-1585 (1988))、PER.C6细胞 (Crucell Holland B.V.,莱顿,荷兰) 及其衍生物。

[0128] 可以通过“转染”、“转化”或“转导”,将编码本发明的氨基酸序列的核酸序列引入细胞中。本文使用的“转染”、“转化”或“转导”是指通过使用物理或化学方法将一种或多种外源性多核苷酸引入宿主细胞。许多转染技术是本领域已知的,包括例如磷酸钙DNA共沉淀法(参见,例如,Murray E.J. (ed.), Methods in Molecular Biology, Vol.7, Gene Transfer and Expression Protocols, Humana出版社(1991)); DEAE-葡聚糖法;电穿孔法;阳离子脂质体介导的转染;钨颗粒促进的微粒轰击法(Johnston, Nature, 346:776-777 (1990));以及磷酸锶DNA共沉淀法(Brash等, Mol. Cell Biol., 7:2031-2034 (1987))。在感染性颗粒在合适的包装细胞中生长后,可将噬菌体或病毒载体引入宿主细胞,其中所述包装细胞中有许多可以商购获得。

[0129] 本发明提供了组合物,其包括有效量的本发明的免疫球蛋白重链多肽、本发明的免疫球蛋白轻链多肽、本发明的IL-36R结合剂、本发明的编码前述任一种的核酸序列或者包括本发明的核酸序列的本发明的载体。优选地,组合物是药学上可接受的(例如,生理学上可接受的)组合物,其包括运载体,优选药学上可接受的(例如,生理学上可接受的)运载体,以及本发明的氨基酸序列、IL-36R结合剂或载体。可以在本发明的情境下使用任意合适的运载体,并且这种运载体是本领域公知的。对运载体的选择将部分地取决于组合物的特定施用部位和施用组合物所用的特定方法。任选地,组合物可以是无菌的。组合物可以冷冻保存或冻干保存,并在使用前在合适的无菌载体中重构。可以根据例如Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第21版, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA (2001) 中所描述的常规技术生产组合物。

[0130] 本发明还提供了一种在哺乳动物中治疗对IL-36R的抑制或中和有应答的疾病的方法。所述方法包括向患有对IL-36R的抑制或中和有应答的病证的哺乳动物施用上述组合物,从而在所述哺乳动物中治疗所述病症。“对IL-36R的抑制有应答的”或者“对IL-36R的中和有应答的”病症是指任意这样的疾病或病症:其中IL-36R的水平或活性的降低对哺乳动物(优选人)具有治疗益处,或者IL-36R不适当的表达(如过表达)或增强的活性会引起或有助于疾病或病症的病变效应。对IL-36R的抑制有应答的疾病包括,例如,炎症性疾病、自身免疫性疾病、呼吸系统疾病、代谢紊乱和癌症。

[0131] 炎症性疾病包括,例如,皮肤、肺和胃肠道的过敏性炎症、特应性皮炎(也称为特应性湿疹)、哮喘(过敏性和非过敏性哮喘)、上皮介导的炎症、纤维症(例如,特发性肺纤维症、硬皮病、肾纤维症和瘢痕形成)、过敏性鼻炎、食物过敏(例如,对花生、鸡蛋、乳制品、贝类、树生坚果等过敏)、季节性过敏和其他过敏。

[0132] 本发明的方法可用于治疗任意类型的自身免疫性疾病(即,由免疫系统过度活化引起的机体攻击和损害其自身组织的疾病或病症),例如在MacKay I.R.和Rose N.R.,

eds., *The Autoimmune Diseases*, 第五版, Academic出版社, Waltham, MA (2014) 中所描述的那些。可通过本发明的方法治疗的自身免疫性疾病的实例包括, 但不限于, 多发性硬化症、哮喘、1型糖尿病、类风湿性关节炎、硬皮病、克罗恩病、寻常型银屑病(通常称为牛皮癣)、脓疱病性银屑病、泛发性脓疱型银屑病(GPP)、掌跖脓疱病(PPP)、炎性肠病、银屑病关节炎、多发性硬化症、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮(SLE)、溃疡性结肠炎和强直性脊柱炎。在优选的实施方案中, 本发明的方法用于治疗脓疱型银屑病、广泛性脓疱性银屑病、掌跖脓疱病(PPP)或寻常型银屑病。

[0133] 脓疱型银屑病是一种罕见的银屑病形式, 其特征在于红色表皮包围白色脓疱。泛发性脓疱性银屑病(GPP)是危及生命的疾病, 其特征在于突发的重复性高热、全身性皮疹和弥散性脓疱, 伴有白细胞过多和C反应蛋白的血清水平升高, 其可以由白细胞介素36受体拮抗剂(白细胞介素36Ra)的缺乏引起(Marrakchi等, *N. Engl. J. Med.*, 365(7):620-628(2011))。GPP常发生在正在经历寻常型银屑病(PV)或者以前经历过寻常型银屑病(PV)的患者中; 然而, 没有PV病史的患者也有可能发展成GPP(Sugiura等, *J. Invest. Derm.*, 133:2514-2521(2013))。掌跖脓疱病是慢性炎症性皮肤病, 其特征在于手掌和脚掌出现严重损害患者生活质量的无菌脓疱和红色鳞状皮肤(de Waal, A.C. 和 van de Kerkhof, P.C.M., *J. Dermatological Treatment*, 22(2):102-105(2011))。

[0134] 可以通过本发明的方法治疗的呼吸系统疾病的实例包括, 但不限于, 哮喘、囊性纤维症、肺气肿、慢性阻塞性肺病(COPD)和急性呼吸窘迫综合征。可以通过本发明的方法治疗的代谢紊乱的实例包括, 但不限于, 肥胖症、2型糖尿病、动脉粥样硬化和心血管疾病。

[0135] 本发明的方法可用于治疗本领域已知的任何类型的癌症, 包括但不限于, 黑色素瘤、肾细胞癌、肺癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、胆囊癌、喉癌、肝癌、甲状腺癌、胃癌、唾液腺癌、前列腺癌、胰腺癌、白血病、淋巴瘤和Merkel细胞癌(参见, 例如, Bhatia等, *Curr. Oncol. Rep.*, 13(6):488-497(2011))。

[0136] 施用包括本发明的免疫球蛋白重链多肽、本发明的免疫球蛋白轻链多肽、本发明的IL-36R结合剂、本发明的编码前述任一种的核酸序列或者包括本发明的核酸序列的本发明的载体的组合物, 能够在哺乳动物中诱导免疫应答。“免疫应答”可能需要, 例如, 抗体的产生和/或免疫效应细胞(例如, T细胞)的活化。

[0137] 本文使用的“疗法(treatment)”、“治疗(treating)”等术语是指获得所需的药理学和/或生理学效应。优选地, 该效应是治疗性的, 即, 该效应部分地或完全地治愈疾病和/或疾病造成的不良症状。为此, 本发明的方法包括施用“治疗有效量”的IL-36R结合剂。“治疗有效量”是指在必要的剂量和时间段内有效达到所想要的治疗结果的量。治疗有效量可以根据例如个体的疾病状态、年龄、性别和体重, 以及IL-36R结合剂在个体中引发所需应答的能力等因素而变化。例如, 本发明的IL-36R结合剂的治疗有效量是降低人体中IL-36R生物活性的量。

[0138] 或者, 药理学和/或生理学效应可以是预防性的, 即, 该效应完全地或部分地防止疾病或其症状。就此而言, 本发明的方法包括施用“预防有效量”的IL-36R结合剂。“预防有效量”是指在必要的剂量和时间段内有效达到所想要的预防结果(例如, 预防疾病发作)的量。

[0139] 典型的剂量可以是, 例如, 以动物或人体重计算为1pg/kg到20mg/kg的范围; 然而,

低于或高于该示例性范围的剂量也在本发明范围内。每日肠胃外剂量可以是以总体重计算约0.00001 μ g/kg到约20mg/kg (例如,约0.001 μ g/kg、约0.1 μ g/kg、约1 μ g/kg、约5 μ g/kg、约10 μ g/kg、约100 μ g/kg、约500 μ g/kg、约1mg/kg、约5mg/kg、约10mg/kg,或由前述值中的任意两个定义的范围),优选以总体重计算从约0.1 μ g/kg到约10mg/kg (例如,约0.5 μ g/kg、约1 μ g/kg、约50 μ g/kg、约150 μ g/kg、约300 μ g/kg、约750 μ g/kg、约1.5mg/kg、约5mg/kg或由前述值中的任意两个定义的范围),更优选以总体重计算从约1 μ g/kg到5mg/kg (例如,约3 μ g/kg、约15 μ g/kg、约75 μ g/kg、约300 μ g/kg、约900 μ g/kg、约2mg/kg、约4mg/kg或由前述值中的任意两个定义的范围),甚至更优选以体重/天计算从约0.5到15mg/kg/天 (例如,约1mg/kg、约2.5mg/kg、约3mg/kg、约6mg/kg、约9mg/kg、约11mg/kg、约13mg/kg或由前述值中的任意两个定义的范围)。可以通过定期评估接受治疗的患者来监测治疗或预防功效。对于持续数天或更长时间的重复施用,可以根据病情,重复所述治疗直到疾病症状获得所需的抑制,或者,对患者采用终身治疗。然而,其它剂量方案也可能有用并且在本发明范围内。可以通过单次推注施用组合物、通过多次推注施用组合物或者通过连续输注施用组合物来递送所需剂量。

[0140] 可以使用标准的给药技术,包括口服给药、静脉内给药、腹膜内给药、皮下给药、经肺给药、经皮给药、肌肉内给药、鼻内给药、口腔给药、舌下给药或栓剂给药,将包括有效量的本发明的免疫球蛋白重链多肽、本发明的免疫球蛋白轻链多肽、本发明的IL-36R结合剂、本发明的编码前述任一种的核酸序列或者本发明的包括本发明的核酸序列的载体的组合物施用给哺乳动物。组合物优选适用于肠胃外给药。本文使用的术语“肠胃外”包括静脉内、肌肉内、皮下、直肠、阴道和腹膜内给药。更优选地,通过静脉内注射、腹膜内注射或皮下注射,使用外周系统性递送将组合物递送给予哺乳动物。

[0141] 一旦施用给了哺乳动物 (例如,人),就可以通过本领域已知的任何合适的方法来测量本发明的IL-36R结合剂的生物学活性。例如,可以通过确定特定IL-36R结合剂的稳定性来评估生物学活性。在本发明的一个实施方案中,IL-36R结合剂 (例如,抗体) 具有在约30分钟和45天之间 (例如,约30分钟、约45分钟、约1小时、约2小时、约4小时、约6小时、约10小时、约12小时、约1天、约5天、约10天、约15天、约25天、约35天、约40天、约45天或者由任意两个前述值定义的范围) 的体内半衰期。在另一实施方案中,IL-36R结合剂具有在约2小时和20天之间 (例如,约5小时、约10小时、约15小时、约20小时、约2天、约3天、约7天、约12天、约14天、约17天、约19天或者由任意两个前述值定义的范围) 的体内半衰期。在另一实施方案中,IL-36R结合剂具有在约10天和约40天之间 (例如,约10天、约13天、约16天、约18天、约20天、约23天、约26天、约29天、约30天、约33天、约37天、约38天、约39天、约40天或者由任意两个前述值定义的范围) 的体内半衰期。

[0142] 可以以转化中点值 (T_m) 的形式来测量本发明的IL-36R结合剂的稳定性,所述转化中点值是当50%的氨基酸序列处于其天然构象而另外50%发生变性时的温度。一般来说, T_m 越高,蛋白就越稳定。在本发明的一个实施方案中,本发明的IL-36R结合剂包括约60-100 $^{\circ}$ C的体外转化中点值 (T_m)。例如,本发明的IL-36R结合剂可以包括约65-80 $^{\circ}$ C (例如,66 $^{\circ}$ C、68 $^{\circ}$ C、70 $^{\circ}$ C、71 $^{\circ}$ C、75 $^{\circ}$ C或79 $^{\circ}$ C),约80-90 $^{\circ}$ C (例如,约81 $^{\circ}$ C、85 $^{\circ}$ C或89 $^{\circ}$ C) 或者约90-100 $^{\circ}$ C (例如约91 $^{\circ}$ C、约95 $^{\circ}$ C或约99 $^{\circ}$ C) 的体外 T_m 。

[0143] 可以使用本领域已知的任何其它合适的测定法来测量本发明的IL-36R结合剂的稳定性,例如,测量血清半衰期、差示扫描量热法 (DSC)、热转移测定法和脉冲追踪测定法。

可用于在本发明情境下测量体内和体外蛋白稳定性的其它方法在例如,Protein Stability and Folding, B.A. Shirley (ed.), Human出版社, 新泽西托托瓦 (1995); Protein Structure, Stability, and Interactions (Methods in Molecular Biology), Shiver J.W. (ed.), Humana出版社, 纽约, (2010) 和 Ignatova, Microb. Cell Fact., 4:23 (2005) 中描述。

[0144] 对于特定的IL-36R结合剂,还可以通过确定其与IL-36R或其表位的结合亲和力来评估其生物学活性。术语“亲和力”是指两种试剂可逆性结合的平衡常数,并表示成解离常数(K_D)。结合剂对配体的亲和力,例如抗体对表位的亲和力,可以是例如,从约1皮摩尔(pM)到约100微摩尔(μ M)(例如,从约1皮摩尔(pM)到约1纳摩尔(nM)、从约1nM到约1微摩尔(μ M)或者从约1 μ M到约100 μ M)。在一个实施方案中,IL-36R结合剂可以以小于或等于1纳摩尔(例如,0.9nM、0.8nM、0.7nM、0.6nM、0.5nM、0.4nM、0.3nM、0.2nM、0.1nM、0.05nM、0.025nM、0.01nM、0.001nM或者由任意两个前述值定义的范围)的 K_D 结合IL-36R蛋白。在另一实施方案中,IL-36R结合剂可以以小于或等于200pM(例如,190pM、175pM、150pM、125pM、110pM、100pM、90pM、80pM、75pM、60pM、50pM、40pM、30pM、25pM、20pM、15pM、10pM、5pM、1pM或者由任意两个前述值定义的范围)的 K_D 结合IL-36R。可以使用任何本领域公认的测定法来测量目的抗原或表位的免疫球蛋白亲和力。这样的方法包括,例如,荧光激活细胞分选法(FACS)、可分离小珠法(例如,磁珠)、表面等离子体共振法(SPR)、溶液相竞争法(KINEXA™)、抗原筛选法、竞争性结合测定法和/或ELISA法(参见,例如,Janeway等(eds.), Immunobiology, 第5版, Garland出版社, 纽约, 2001)

[0145] 本发明的IL-36R结合剂可以单独施用或者与其它药物组合施用。例如,IL-36R结合剂可以与其它药物(例如,抗炎剂,包括,例如,皮质类固醇(例如,泼尼松和氟替卡松)、非甾体抗炎药(NSAID)(例如,阿司匹林、布洛芬和萘普生)、生物制剂(例如,英夫利昔单抗(REMICADE™)、阿达木单抗(HUMIRA™)、或依那西普(ENBREL™)、甲氨蝶呤(MTX)、口服类维生素A(例如,阿曲汀(SORIATANE™))和外用类固醇)组合施用,用于治疗或预防本文公开的疾病。

[0146] 除治疗用途外,本文所述IL-36R结合剂还可用于诊断性或研究性的应用。就此而言,IL-36R结合剂可用在诊断病症或疾病的方法中,其中在所述病症或疾病中,IL-36R不恰当的表达(如过表达)或活性的增强会引起或导致疾病或病症的病变效应。类似地,IL-36R结合剂也可用于在被检测是否患有对IL-36R的抑制有应答的疾病或病症的受试者中监测IL-36R蛋白水平的检测方法。研究性应用包括,例如,利用IL-36R结合剂以及标记物,在样品中(例如,在人体液中或在细胞或组织提取物中)检测IL-36R蛋白的方法。可以在有或没有修饰(例如,用可检测部分进行共价或非共价标记)的情况下使用IL-36R结合剂。例如,可检测部分可以是放射性同位素(例如, ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 或 ^{125}I)、荧光或化学发光化合物(例如,异硫氰酸荧光素、罗丹明或荧光素)、酶(例如碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或辣根过氧化物酶)或者假体基团。在本发明的情境下可以使用本领域已知的用于将抗原结合剂(例如,抗体)单独缀合到可检测部分的任何方法(参见,例如,Hunter等, Nature, 194:495-496 (1962); David等, Biochemistry, 13:1014-1021 (1974); Pain等, J. Immunol. Meth., 40:219-230 (1981); 以及 Nygren, J. Histochem. and Cytochem., 30:407-412 (1982))。

[0147] 可以通过本领域已知的任何合适的方法,使用本发明的IL-36R结合剂来测量IL-36R的蛋白水平。这些方法包括,例如,放射免疫测定法(RIA)和FACS。可以使用任何合适的

技术,例如,通过在适合形成抗原-抗体复合物的条件下将包括或者疑似包括IL-36R的样品与IL-36R特异性抗体组合,来建立IL-36R的正常表达值或标准表达值。用可检测物质直接或间接标记抗体,以便于检测结合的或者未结合的抗体。合适的可检测物质包括各种酶、假体基团、荧光材料、发光材料和放射性材料(参见,例如,Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, CRC Press, Inc. (1987))。然后将样品中表达的IL-36R多肽的量与标准值进行比较。

[0148] 可以在试剂盒(即,包装好的预定量的试剂和用于执行诊断检测的说明的组合)中提供IL-36R结合剂。如果用酶标记IL-36R结合剂,则试剂盒理想地包括该酶所需的底物和辅因子(例如,提供可检测的发光基团或荧光基团的底物前体)。此外,试剂盒中可以包括其它添加物,例如稳定剂、缓冲液(例如,封闭缓冲液或裂解缓冲液)等。可以改变各种试剂的相对量,使得试剂的溶液浓度基本上能优化所述检测的灵敏度。可以干粉形式(通常是冻干形式)提供试剂,其包括一旦溶解将会形成具有适当浓度的试剂溶液的赋形剂。

[0149] 以下实施例进一步说明本发明,但是绝不应被理解成以任何方式限制其范围。

[0150] 实施例1

[0151] 本实施例表明,本发明的免疫球蛋白重链(HC)和轻链(LC)多肽可以形成在体外能够结合人IL-36R并阻断其信号转导的抗体。

[0152] 用编码人IL-36R(hIL-36R)或食蟹猴IL-36R(cyno IL-36R)和编码IL-8启动子的质粒构建体(Promega Corp., 麦迪逊, 美国威斯康辛州)一起稳定转染HEK293T/17细胞(ATCC CRL-11268),并且选择单细胞克隆以用于随后的所有测定。

[0153] 在T75培养瓶中将HEK293细胞以 3×10^6 个细胞/瓶接种到10mL DMEM+10%FBS中,并在37℃下孵育过夜。第二天早上,将24μl的FUGENETMHD(Promega Corporation, 麦迪逊, 美国威斯康辛州)加入到500μl的OPTI-MEMTM培养基(Life Technologies, 卡尔斯巴德, 美国加利福尼亚州)中,并在室温下孵育5分钟。将编码IL-36R(2μl)的DNA和编码IL8启动子的DNA(2μl)加入到上述混合物中,并在室温下再孵育25分钟。通过Sanger测序法检测食蟹猴IL-36R的等位基因变异,并在食蟹猴群体内鉴定出了四种不同的等位变体。分别生成了表达每种食蟹猴IL-36R等位变体的HEK细胞系。人和食蟹猴的IL-8报告细胞系均利用了内源性表达的HEK人IL1RAcP。将该DNA/FUGENETM混合物缓慢地逐滴加入到所述细胞中用于转染,并在37℃下孵育过夜。转染后24小时,将细胞分开并置于含有潮霉素和嘌呤霉素的DMEM+10%FBS中4周以供选择。4周后,将稳定的细胞以1个细胞/孔接种在底部透明的96孔培养板上(5板/细胞系)。筛选表面表达IL-36R的单细胞克隆并扩增,将传代次数较少(即1-3次)的细胞用于下述检测中。

[0154] 用accutase细胞分离液收获HEK293-人IL36R/IL8或HEK293-cyno IL36R/IL8变体的稳定细胞系,并在底部透明的96孔培养板上将其以 0.06×10^6 个细胞/孔接种在100μl DMEM+10%FBS中,在37℃, 5%CO₂的条件下过夜。第二天早上,将培养板在水槽中倒扣以除去培养基并在纸巾上轻轻敲打以便干燥。通过两倍系列稀释法,在DMEM+10%FBS(Life Technologies, 卡尔斯巴德, 美国加利福尼亚州)中,将包括本发明的HC和LC多肽的各种组合的稀释抗体(见表1)、IL-36Ra(R&D Systems, 明尼阿波利斯, 美国明尼苏达州)和阴性同种型对照抗体配制成所想要的浓度,立即加入到孔中(50μl/孔),并在37℃, 5%CO₂的条件下孵育20分钟。

[0155] 表1

[0156]

| 抗体名称 | HCSEQIDNO: | LCSEQIDNO: |
|-----------------|------------|------------|
| APE3798 | 33 | 48 |
| APE4086 | 3 | 38 |
| APE5125/APE5100 | 4 | 39 |
| APE5216 | 5 | 39 |
| APE5281 | 6 | 39 |
| APE5214/APE4881 | 7 | 39 |
| APE5280 | 8 | 39 |
| APE5257 | 9 | 39 |
| APE5258/APE5076 | 10 | 39 |
| APE5212 | 11 | 39 |
| APE5213/5066 | 12 | 39 |
| APE5211 | 13 | 39 |
| APE5217/APE5060 | 14 | 39 |
| APE3849 | 34 | 49 |
| APE3850 | 16 | 41 |
| APE5600 | 18 | 42 |
| APE5598 | 19 | 42 |
| APE5627 | 20 | 42 |
| APE6064 | 21 | 43 |
| APE6060 | 22 | 43 |
| APE6157 | 23 | 43 |
| APE6155/APE6917 | 22 | 44 |
| APE6194 | 24 | 44 |
| APE3847 | 35 | 50 |
| APE5713 | 27 | 47 |
| APE6083 | 32 | 47 |
| APE6903/APE7247 | 52 | 55 |
| APE6904 | 53 | 55 |
| APE6907 | 54 | 55 |

[0157] 随后用50 μ l的IL36 α 、IL36 β 或IL36 γ 配体(R&D Systems,明尼阿波利斯,美国明尼苏达州)刺激细胞,并在37 $^{\circ}$ C,5%CO₂的条件下再孵育24小时。在实验前,根据经验确定每个细胞因子的EC₅₀。通过使用STEADY-GLOTM荧光素酶测定系统(Promega,Cat#E2520,麦迪逊,美国威斯康辛州)测定了荧光素酶活性。将1:1的荧光素酶测定底物:缓冲液的混合物(100 μ l)加入到每个孔中,在室温下孵育5分钟,并转移(150 μ l)到黑壁的底部透明的96孔板上。在ENVISIONTM读板器(PerkinElmer,沃尔瑟姆,美国马萨诸塞州)上读板,以测定发光值(60秒延迟)。使用GraphPad PRISMTM软件5(GraphPad,圣地亚哥,美国加利福尼亚州)分析数据。

[0158] 针对人IL-36R和cyno IL-36R的IL-8荧光素酶报告分子检测的结果示于图1A-1F

(人IL-36R)、图2A-2C(cyno IL-36R)、图10A-10C(cyno IL-36R)和图10D-10F(人IL-36R)中。每种被测抗体所测得的效力(IC_{50})示于表2以及表3.1和3.2中。

[0159] 表2-HEK人IL-36R的IL-8荧光素酶报告分子检测

| 抗体 | HC SEQ ID NO: | LC SEQ ID NO: | EC50 (nM) 50ng/ml hIL-36 α | EC50 (nM) 20ng/ml hIL-36 β | EC50 (nM) 200ng/ml hIL-36 γ |
|----------------------------|------------------|------------------|---|--|--|
| 嵌合 1D9 (APE3798) | 33 | 48 | | 0.267 | 0.093 |
| 人源化 (HzD) 1D9 (APE5281) | 6 | 39 | 0.17 | | 0.12 |
| 嵌合 5D3 (APE3849) | 34 | 49 | | 1.3 | 3.1 |
| Hzd 5D3 (APE6060) | 22 | 43 | 0.23 | 0.24 | 0.35 |
| Hzd 5D3 (APE6155) | 22 | 44 | 0.23 | 0.22 | 0.40 |
| Hzd 5D3 (APE6194) | 24 | 44 | 0.17 | 0.30 | 0.45 |
| 嵌合 18D4 (APE3847) | 35 | 50 | | 4.2 | 3.6 |
| Hzd 18D4 (APE5713) | 27 | 47 | | | 11 |
| Hzd 18D4 (APE7247) | 52 | 55 | .066 | 0.114 | 0.104 |

[0161] 表3.1-HEK cyno IL-36R的IL-8荧光素酶报告分子检测

| 抗体 | HC SEQ ID NO: | LC SEQ ID NO: | EC50 (nM) 2 μ g/ml | EC50 (nM) 10 μ g/ml | EC50 (nM) 300 ng/ml |
|-----------------------|------------------|------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------|
| | | | cIL-36 α | cIL-36 β | cIL-36 γ |
| Hzd 5D3 (APE6060) | 22 | 43 | 0.067 | 0.17 | 0.29 |
| Hzd 5D3 (APE6155) | 22 | 44 | 0.08 | 0.13 | 0.31 |
| Hzd 5D3 (APE6194) | 24 | 44 | 0.073 | 0.19 | 0.31 |
| 嵌合 18D4 (APE3847) | 35 | 50 | | | 0.51 |
| Hzd 18D4 (APE7247) | 52 | 55 | | | 0.24 |

[0164] 表3.2

| 抗体 | HC SEQ ID NO: | LC SEQ ID NO: | EC50 (nM) 300 ng/ml IL-36 γ (Cyno IL-36R 变体 1) | EC50 (nM) 300 ng/ml IL-36 γ (Cyno IL-36R 变体 2) | EC50 (nM) 300 ng/ml IL-36 γ (Cyno IL-36R 变体 3) |
|-----------------------|------------------|------------------|--|--|--|
| Hzd 18D4 (APE7247) | 52 | 55 | 0.079 | 0.065 | 0.42 |
| Hzd 5D3 (APE6155) | 22 | 44 | 0.042 | 0.043 | 0.21 |

[0166] 本实施例的结果表明,本发明的免疫球蛋白重链(HC)和轻链(LC)多肽可以形成在体外能够结合人IL-36R并阻断其信号转导的抗体。

[0167] 实施例2

[0168] 本实施例表明,本发明的免疫球蛋白重链(HC)和轻链(LC)多肽可以形成在体外能够结合人IL-36R的抗体。

[0169] 通过组合下述试剂来制备编码本文的各种免疫球蛋白重链(HC)和轻链(LC)多肽的DNA样品:大抽制备的DNA(含有6 μ g HC质粒和6 μ g LC质粒)、1ml的OPTIMEM™(Life Technologies,卡尔斯巴德,美国加利福尼亚州)和72 μ l的FUGENE™ HD转染试剂(Promega,菲奇堡,美国威斯康辛州)。预热所有试剂。在充分混合并在室温下孵育25分钟后,在每个T225培养瓶中将1ml的试剂/DNA混合物加入到8x10⁶个HEK293-c18细胞(ATCC CRL-10852)中。在转染前18小时,将所述细胞接种到每瓶中包含了20ml加入了10%FBS(Life Technologies,卡尔斯巴德,美国加利福尼亚州)的DMEM(Life Technologies,卡尔斯巴德,美国加利福尼亚州)的T225培养瓶中,并在5%CO₂37℃孵育过夜。转染后,将细胞置回37℃,5%CO₂的孵育条件。第二天,用25ml的293Freestyle培养基(Life Technologies,卡尔斯巴德,美国加利福尼亚州)替换每个烧瓶中的培养基,并将细胞转移到含8%CO₂的培养箱中。用7-12天来生产抗体。从每个烧瓶中收集上清液,以3000rpm离心10分钟,并无菌过滤到新管中。

[0170] 为了纯化抗体,使约20-30ml含有目的抗体的细胞培养物上清液通过装填了1-2ml的MAB SELECT SURE™ LX树脂(GE Healthcare,沃尔瑟姆,美国威斯康辛州)并经PBS缓冲液(11.9mM磷酸盐,137mM NaCl,2.7mM KCl,pH 7.4)(Fisher Bioreagents,沃基肖,美国马萨诸塞州)预平衡的重力柱。用5个柱体积的PBS缓冲液洗涤所述柱子。用5-10个柱体积的0.1M甘氨酸(pH3.0)从树脂中洗脱结合的抗体。在Amicon Ultra 10K浓缩器(Millipore,比尔里卡,美国马萨诸塞州)中,将含有所述抗体的洗脱液浓缩至约0.1-2mg/mL的抗体浓度,并使用PBS缓冲液交换缓冲液三次。在Nanodrop 2000c分光光度计(Thermo Fisher Scientific,沃尔瑟姆,美国马萨诸塞州)上测定抗体浓度,并通过SDS-PAGE分析评估纯度。

[0171] 使用BIAcore™ T200(Sapidyne Instruments,博伊西,美国爱达荷州)测定法评价了包括本文的免疫球蛋白重链(HC)和轻链(LC)多肽的各种纯化抗体的结合亲和力。使用BIAcore™ T200评价软件(GE Healthcare,英国白金汉郡)测定抗体-抗原的结合动力学和亲和力。使用胺偶联化学法将人IL-36R的胞外结构域以约100RU固定在CM5传感器芯片(GE Healthcare,沃基肖,美国威斯康辛州)上。使用HBS-EP+缓冲液(0.01M HEPES,0.15M NaCl,3mM EDTA,0.05%聚山梨酯,pH7.6)(Teknova,霍利斯特,美国加利福尼亚州)将每种抗体重构成各种浓度。然后以30 μ L/min的流速将每种抗体浓度注射到固定抗原的上面,共两到三次,并使其解离15分钟。在每个循环后,用60 μ L的3M MgCl₂使表面再生。使用BIAcore™ T200评价软件,使用具有质量传递的1:1结合模型,对结合和解离动力学常数(k_{on}和k_{off})进行全局拟合,从而报告结合速率和解离速率(分别为k_a和k_d),以及亲和力(KD)。

[0172] 还使用KINEXA®3000测定法(Sapidyne Instruments,博伊西,美国爱达荷州)评价了包括本文的免疫球蛋白重链(HC)和轻链(LC)多肽的各种纯化抗体的结合亲和力。KINEXA®技术测量在与不同浓度的抗原孵育后,溶液相中未结合的/游离的抗体分子的数量。用微珠来测量液相中的结合情况从而使表面积最大化,避免了测量与固相的结合的方

法所固有的质量传递的局限性和迁移效应。在每个实验中,将50μg可溶性的人IL-36R或 cyno IL-36R的胞外结构域胺偶联至50mg的UltraLink Biosupport珠(Thermo Fisher Scientific,沃尔瑟姆,美国马萨诸塞州)。将恒定浓度的抗体(足以产生0.8V-1.2V的信号 的抗体)在样品缓冲液(1x PBS,pH 7.4,0.02%NaN₃,0.1%BSA)中与滴定的抗原孵育足够 长的时间,以接近或达到平衡(每个抗体的孵育时间各异并且依赖于亲和力)。然后使抗体- 抗原溶液以0.25mL/min的速率流过与抗原偶联的珠粒。使用与ALEXA FLUOR™ 647缀合的 AffiniPure驴抗人IgG(H+L)(Jackson ImmunoResearch,西格罗夫,美国宾夕法尼亚州) (500ng/ml)来检测由珠粒捕获的游离抗体。在KINEXA™ Pro软件中使用单点均相结合模型 (one-site homogeneous binding model),通过非线性回归分析获得了抗体的KD和/或ABC (活性结合浓度)。

[0173] 通过BIAcore™ T200和KINEXA®3000测定法测得的KD值示于表4和图3A(人源化 1D9的KinExA数据)、图3B(5D3 APE6194的Biacore数据)和图3C(人源化18D4的KinExA数据) 中。

[0174] 表4

| 描述 | 抗体 | BIACORE™ | BIACORE™ KD | KINEXA™ KD |
|--------|-----------|-------------|-------------|------------|
| | | KD 人 IL-36R | cyno IL-36R | 人 IL-36R |
| [0175] | 人源化的 1D9 | APE5281 | 77 pM | 126 pM |
| | 嵌合 5D3 | APE3850 | 35 pM | 8 pM |
| | 人源化的 5D3 | APE6060 | 50 pM | |
| | 人源化的 5D3 | APE6155 | 71 pM | 169 pM |
| | 人源化的 5D3 | APE6194 | 22 pM | |
| | 人源化的 18D4 | APE7247 | <20 pM | 100 pM |
| | 人源化的 18D4 | APE6904 | | 27 pM |

[0176] 这些数据表明,包括本文所述的本发明的免疫球蛋白HC和LC多肽的不同组合的抗 体可以以高亲和力结合人IL-36R。

[0177] 实施例3

[0178] 本实施例表明,本发明的免疫球蛋白重链(HC)和轻链(LC)多肽可以形成在体外结 合人IL-36R并抑制内源性表达IL-36R的原代角质形成细胞的细胞信号传导以及细胞因子 (例如,IL-8)的释放的抗体。

[0179] 如上文所述制备和纯化了本测定法中使用的抗体。正常的人表皮角质细胞(NHEK) 购自Lonza Clonetics(cat#00192627)。使用推荐的培养基(Lonza KBM Gold培养基,cat# 00192151+Lonza KGM Gold SingleQuot补充剂,cat#0092152)在5%CO₂37℃的培养箱中培 养和扩增细胞。将第2代细胞分装为多个单次使用的等分冷冻在液氮中。

[0180] 将第2代细胞解冻并在上述推荐的培养基中将其稀释到100,000个细胞/ml的密 度,并以100μl细胞/孔将其接种到标准的96孔平底组织培养板中,使得最终细胞密度为10, 000个细胞/孔。用200μl磷酸盐缓冲盐溶液填充每个外边缘孔(outside wells)以避免边缘 效应。将细胞在5%CO₂37℃的培养箱中培养过夜以使其粘附。

[0181] 第二天使用半对数稀释法以从10μg/ml或1μg/ml逐步稀释降低至0的浓度将抗体 加入培养基。30分钟后,以近似EC₅₀的浓度(之前已经根据经验确定了每种配体的EC₅₀浓度) 将重组的人IL-36配体加入到培养基中。将抗体和配体的浓度配制成所需终浓度的4倍,每

孔加入50 μ l,使得每孔的最终总体积为200 μ l。大约48小时后,将板离心3分钟,然后将上清液转移到清洁板上,立即进行测试或储存在-80℃直到进行进一步分析。

[0182] 使用R&D的Systems DUO-SET™ ELISA试剂盒(cat#DY208),根据制造商提供的标准方案,通过ELISA评估了细胞上清液中人IL-8的水平。绘制数据,并使用GraphPad PRISM™软件计算IC₅₀值。

[0183] 该测定法的结果示于表5和图4A-4I。

[0184] 表5

| | 抗体 | HC SEQ ID NO: | LC SEQ ID NO: | EC50 (nM) | EC50 (nM) | EC50 (nM) |
|--------|--------------------------------|------------------|------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| | | | | 10 ng/ml 人 IL-36 α | 1 ng/ml 人 IL-36 β | 100 ng/ml 人 IL-36 γ |
| [0185] | 人源化的 (HzD) 1D9 (APE5281) | 6 | 39 | 0.047 | 0.053 | 0.04 |
| | Hzd 5D3 (APE6060) | 22 | 43 | 0.08 | 0.217 | 0.08 |
| | Hzd 5D3 (APE6155) | 22 | 44 | 0.125 | 0.227 | 0.093 |
| [0186] | Hzd 5D3 (APE6194) | 24 | 44 | 0.105 | 0.164 | 0.083 |
| | Hzd 18D4 (APE7247) | 52 | 55 | 0.142 | 0.336 | 0.074 |

[0187] 本实施例的结果表明,由本文的HC和LC的组合组成的抗体能够以剂量依赖的方式抑制表达IL-36R并且经IL-36 α 、IL-36 β 和IL-36 γ 刺激的人原代角质形成细胞释放炎性细胞因子(IL-8)。

[0188] 实施例4

[0189] 本实施例表明,本发明的免疫球蛋白重链(HC)和轻链(LC)多肽可以形成能在体外结合食蟹猴IL-36R(cyno IL-36R)并抑制IL-36依赖的细胞信号传导以及内源性表达IL-36R的原代角质形成细胞的细胞因子(例如,IL-8)释放的抗体。

[0190] 如实施例3所述,制备和纯化了本测定法中使用的抗体。正常的食蟹猴表皮角质形成细胞购自CellBiologics(美国伊利诺伊州芝加哥;cat#MK-6066K)。使用推荐的培养基(CellBiologics上皮培养基,Cat#M6621+CellBiologics上皮细胞培养基补充剂,即cat#M6621试剂盒)在5%CO₂37℃的培养箱中培养和扩增细胞。将第2代细胞分装为多个单次使用的等分冷冻在液氮中。

[0191] 将第2代细胞解冻并在上述的培养基中将其稀释到100,000个细胞/ml的密度,并以100 μ l细胞/孔将其接种到标准的96孔平底组织培养板中,使得最终细胞密度为10,000个细胞/孔。用200 μ l的PBS填充每个外边缘孔,以避免边缘效应。将细胞在5%CO₂37℃的培养箱中培养过夜以使其粘附。

[0192] 第二天使用半对数稀释法以从10 μ g/ml或1 μ g/ml逐步稀释降低至0的浓度将抗体加入培养基。30分钟后,以近似EC₅₀的浓度(之前已经根据经验确定了每种配体的EC₅₀浓度)将重组的食蟹猴IL-36配体加入到培养基中。将抗体和配体的浓度配制成所需终浓度的4倍,每孔加入50 μ l,使得每孔的最终总体积为200 μ l。约48小时后,将板离心3分钟,然后将上

清液转移到清洁板上,立即进行测试或储存在-80℃直到进行进一步分析。

[0193] 使用eBioscience (圣地亚哥,美国加利福尼亚州)的猴IL-8platinum ELISA试剂盒(cat#BMS640/3),根据制造商提供的标准方案,通过ELISA评估了细胞上清液中食蟹猴IL-8的水平。绘制数据,并使用GraphPad PRISM™软件计算IC₅₀值。

[0194] 该测定法的结果示于表6和图5A-5F中。

[0195] 表6

| [0196] | 抗体 | HC SEQ ID NO: | LC SEQ ID NO: | EC50 (nM) 50 ng/ml cyno IL-36α | EC50 (nM) 10 ng/ml cyno IL-36β | EC50 (nM) 250 ng/ml cyno IL-36γ |
|--------|-----------------------|------------------|------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| | Hzd 5D3 (APE6060) | 22 | 43 | 1.4 | 1.4 | 1.0 |
| | Hzd 5D3 (APE6155) | 22 | 44 | 1.1 | 1.4 | 1.1 |
| | Hzd 5D3 (APE6194) | 24 | 44 | 1.2 | 2.0 | 1.2 |
| | Hzd 18D4 (APE7247) | 52 | 55 | 2.3 | 1.8 | 5.6 |

[0197] 本实施例的结果表明,由本文的HC和LC的组合组成的抗体以剂量依赖的方式抑制表达IL-36R并且经IL-36α、IL-36β和IL-36γ刺激的食蟹猴原代角质形成细胞释放炎性细胞因子(IL-8)。

[0198] 实施例5

[0199] 本实施例表明,由本文的HC和LC组成的抗体能够以剂量依赖的方式阻断表达IL-36R的人单核细胞中IL-36介导的IL-8释放的能力。

[0200] 由供体全血加工得到的去白细胞系统获自圣地亚哥血库。使用Ficoll密度离心分离法(Sigma HISTOPAQUE™ cat#10771)通过标准的方法制备了外周血单核细胞(PBMC)。用人单核细胞分离试剂盒II(Miltenyi Biotec,圣地亚哥,美国加利福尼亚州;cat#130-091-153)从PBMC中分离了单核细胞。

[0201] 将单核细胞在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI 1640培养基中稀释到500,000个细胞/ml的密度,并以每孔100μl细胞将其接种到标准的96孔平底组织培养板中,使最终细胞密度为50,000/孔。用200μl PBS填充每个外边缘孔,以避免边缘效应。将铺板的细胞在5%CO₂37℃的培养箱中孵育2-3个小时以使其恢复。

[0202] 培养约2-3个小时后,使用半对数稀释法以从10μg/ml或1μg/ml逐步稀释降低至0的浓度将抗体加入培养基。30分钟后,以近似EC₅₀的浓度(之前已经根据经验确定了每种配体的EC₅₀浓度)将重组的人IL-36配体加入到培养基中。将抗体和配体的浓度配制所需终浓度的4倍,每孔加入50μl,使得每孔的最终总体积为200μl。大约48小时后,将板离心3分钟,然后将上清液转移到清洁板上,立即进行测试或储存在-80℃直到进行进一步分析。

[0203] 使用R&D Systems DUO-SET™ ELISA试剂盒(cat#DY208),根据制造商提供的标准方案,通过ELISA评估细胞上清液中人IL-8的水平。绘制数据,并使用GraphPad PRISM™软件计算IC₅₀值。

[0204] 这些实验的结果示于表7以及图6A和6B中。

[0205] 表7

[0206]

| 抗体 | HC SEQ ID NO: | LC SEQ ID NO: | EC50 (nM) 人 IL-36 α | EC50 (nM) 人 IL-36 β | EC50 (nM) 人 IL-36 γ |
|----------------------|------------------|------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| 嵌合 1D9 (APE3798) | 33 | 48 | | | |
| HzD 1D9 (APE5281) | 6 | 39 | 0.035 | 0.033 | 0.027 |
| 嵌合 5D3 (APE3849) | 34 | 49 | | | |
| Hzd 5D3 (APE6060) | 22 | 43 | 0.081 | 0.90 | 0.79 |
| Hzd 5D3 (APE6155) | 22 | 44 | 0.088 | 0.117 | 0.078 |
| Hzd 5D3 (APE6194) | 24 | 44 | 0.09 | 0.105 | 0.084 |
| 嵌合 18D4 (APE3847) | 35 | 50 | | 6.0 | 3.0 |

[0207] 本实施例的结果表明,由本文的HC和LC的组合组成的抗体以剂量依赖的方式抑制表达IL-36R并且经IL-36 α 、IL-36 β 和IL-36 γ 刺激的人原代单核细胞释放炎性细胞因子(IL-8)。

[0208] 实施例6

[0209] 本实施例表明,由本文所述的本发明的免疫球蛋白重链(HC)和轻链(LC)多肽能够形成抑制人原代外周血单核细胞以IL-36依赖的方式释放细胞因子的抗体。

[0210] 从供体全血加工得到的去白细胞系统获自圣地亚哥血库。使用Ficoll密度离心分离(Sigma HISTOPAQUE™ cat#10771)通过标准方法制备了外周血单核细胞(PBMC)。

[0211] 在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI 1640培养基中将PBMC稀释到 1×10^6 个细胞/ml的密度,并以每孔100 μ l细胞将其接种到标准的96孔平底组织培养板中,使最终细胞密度为100,000/孔。用200 μ l PBS填充每个外边缘孔,以避免边缘效应。将铺板的细胞在5%CO₂37℃的培养箱中孵育2-3个小时以使其恢复。

[0212] 培养约2-3个小时后,使用半对数稀释法以从10 μ g/ml或1 μ g/ml逐步稀释降低至0的浓度将抗体加入培养基。30分钟后,以近似EC₅₀的浓度(之前已经根据经验确定了每种配体的EC₅₀浓度)将重组的人IL-36配体加入到培养基中。将抗体和配体的浓度配制成所需终浓度的4倍,每孔加入50 μ l,使得每孔的最终总体积为200 μ l。大约48小时后,将板离心3分钟,然后将上清液转移到清洁板上,立即进行测试或储存在-80℃直到进行进一步分析。

[0213] 使用R&D Systems DUO-SET™ ELISA试剂盒(cat#DY208),根据制造商提供的标准方案,通过ELISA评估细胞上清液中人IL-8的水平。绘制数据,并使用GraphPad PRISM™软件计算IC₅₀值。

[0214] 本测定法的结果示于图7A-7C中,并且表明由本文的HC和LC的组合组成的抗体以剂量依赖的方式抑制表达IL-36R的并且经IL-36 α 、IL-36 β 和IL-36 γ 刺激的人原代外周血单核细胞释放炎性细胞因子(IL-8)。

[0215] 实施例7

[0216] 本实施例表明,由本文所述的本发明的免疫球蛋白重链(HC)和轻链(LC)多肽能够形成抑制食蟹猴原代外周血单核细胞以IL-36依赖的方式释放细胞因子的抗体。

[0217] 使用Ficoll密度离心分离法(Sigma HISTOPAQUE™ cat#10771),通过标准方法从获自Biotox Sciences(圣地亚哥,美国加利福尼亚州)的正常食蟹猴全血中制备了外周血单核细胞(PBMC)。

[0218] 在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI 1640培养基中将PBMC稀释到 1×10^6 个细胞/ml的密度,并以每孔100 μ l细胞接种到标准的96孔平底组织培养板中,使最终细胞密度为100,000/孔。用200 μ l PBS填充每个外边缘孔,以避免边缘效应。将铺板的细胞在5% CO₂ 37℃的培养箱中孵育2-3个小时以使其恢复。

[0219] 培养约2-3个小时后,使用半对数稀释法以从10 μ g/ml或1 μ g/ml逐步稀释降低至0的浓度将抗体加入培养基。30分钟后,以近似EC₅₀的浓度(之前已经根据经验确定了每种配体的EC₅₀浓度)将重组的食蟹猴IL-36配体加入到培养基中。将抗体和配体的浓度配制所需终浓度的4倍,每孔加入50 μ l,使得每孔的最终总体积为200 μ l。大约48小时后,将板离心3分钟,然后将上清液转移到清洁板上,立即进行测试或储存在-80℃直到进行进一步分析。

[0220] 使用eBioscience的猴IL-8platinum ELISA试剂盒(圣地亚哥,美国加利福尼亚州;cat#BMS640/3),根据制造商提供的标准方案,通过ELISA评估细胞上清液中食蟹猴IL-8的水平。绘制数据,并使用GraphPad PRISM™软件计算IC₅₀值。本测定法的结果示于表8中。

[0221] 表8

| [0222] | 抗体 | HC SEQ ID NO: | LC SEQ ID NO: | EC50 (nM) 50 ng/ml cyno IL-36 α | EC50 (nM) 10 ng/ml cyno IL-36 β | EC50 (nM) 250 ng/ml cyno IL-36 γ |
|--------|----------------------|------------------|------------------|--|---|---|
| | Hzd 5D3 (APE6060) | 22 | 43 | 0.98 | 1.7 | 1.4 |
| | Hzd 5D3 (APE6155) | 22 | 44 | 1.2 | 1.5 | 0.89 |
| | Hzd 5D3 (APE6194) | 24 | 44 | 1.5 | 1.6 | 1.6 |

[0223] 本实施例的结果表明,由本文的HC和LC的组合组成的抗体能够以剂量依赖的方式抑制表达IL-36R且经细胞因子IL-36 α 、IL-36 β 和IL-36 γ 刺激的食蟹猴原代外周血单核细胞释放炎性细胞因子(IL-8)。

[0224] 实施例8

[0225] 本实施例表明,本文所述的本发明的免疫球蛋白重链(HC)和轻链(LC)多肽可以形成以交叉竞争的方式结合人IL-36R的抗体。

[0226] 使用BIAcore™ T200系统(GE Healthcare,小查尔芬特,英国白金汉郡)测定了包括本文所述的各种HC和LC多肽的抗体与目的IL-36R的交叉竞争性结合。在每个测试中,在芯片的表面捕获一抗,随后通过加入饱和量的不与人IL-36R结合的阴性对照抗体来阻断未被利用的捕获位点。在该步骤之后进行与IL-36R的结合,随后加入二抗以确定所述抗体是否竞争性结合单体抗原上同一个结合位点。如果抗体结合同一个表位,则不会观察到二级结合;如果利用了IL-36R上的不同结合位点,则所述二抗将与一抗/抗原的复合物结合。

[0227] 使用EDC活化的偶联化学法,将抗人IgG(Fc特异性的;GE Healthcare,英国圣吉尔斯)以~8,000RU固定在BIAcore™ CM5芯片表面。然后在25℃下,在所述芯片的表面捕获包括本文所述的本发明的HC和LC多肽的各种组合的抗IL-36R抗体(10 μ g/mL;接触时间60s,流速10 μ L/min),产生~500RU的被捕获的抗体。通过使用非特异性的同种型匹配的阴性对照

抗体 (100μg/mL APE4909;接触时间60s,流速10μL/min) 阻断表面。随后,使在电泳缓冲液 (HBS-EP+, pH 7.6;GE Healthcare,英国圣吉尔斯) 中稀释的IL-36R (1μM) 流遍芯片表面 (300秒,流速30μL/min),并随后立即用二抗处理。对通过表面等离子共振法 (SPR) 产生得到的能够间接监测芯片表面质量变化的感应图进行检测,以确定抗体之间的交叉竞争性。

[0228] 本发明的抗IL-36R抗体的竞争性结合测定的结果示于表9以及图8A和8B中。

[0229] 表9

| 一抗 | HC SEQ ID NO: | LC SEQ ID NO: | 二抗 | | |
|----------------|---------------|---------------|----------------|---------------|---------------|
| | | | APE3847 (18D4) | APE5100 (1D9) | APE6155 (5D3) |
| APE3847 (18D4) | 35 | 50 | 有竞争性 | 没有竞争性 | 有竞争性 |
| APE5100 (1D9) | 4 | 39 | 没有竞争性 | 有竞争性 | 没有竞争性 |
| APE6155 (5D3) | 22 | 44 | 有竞争性 | 没有竞争性 | 有竞争性 |

[0231] 本实施例的结果表明,抗体APE6155 (5D3) 和APE3847 (18D4) 竞争性结合人IL-36R上的相同表位,但都不与抗体APE5100竞争性结合IL-36R,这表明APE6155和APE3847都不与APE5100共享表位。关于竞争性的结果都很一致,并且不依赖于抗和二抗结合抗原的顺序。

[0232] 实施例9

[0233] 本实施例表明,本文所述的本发明的免疫球蛋白重链 (HC) 和轻链 (LC) 多肽可以结合表达人和食蟹猴IL-36R (并且表达IL-1RacP) 的细胞。

[0234] 检测了抗体与稳定共表达人IL-36R和人IL-1RacP的CHO-K细胞之间的结合。通过Sanger测序法检测了食蟹猴IL-36R的等位基因变异,并在食蟹猴群体内鉴定出了四种不同的等位变体。针对APE6155和APE7247,还检测了抗体与稳定共表达食蟹猴IL-36R变体1和食蟹猴IL-1RacP的CHO-K细胞的结合。将每种抗体与用accutase收获的CHO细胞一起孵育,洗涤,并以每孔500,000个细胞进行接种。将细胞与浓度范围为33nM-16pM的抗体在4℃孵育30分钟,并用FACS染色缓冲液洗涤3次。震荡和吹吸细胞,然后在室温下与100μl的多聚甲醛孵育10分钟。再次洗涤细胞,抽吸,并在4℃下用100μL的抗人IgG Alexa 647染色20分钟。在进行FACS阵列 (BD Biosciences) 分析之前,将细胞重新悬浮于100μL的FACS分析缓冲液中。

[0235] 本发明的抗IL-36R抗体的竞争性结合测定的结果示于图9A和9B中。图9A显示了APE06155和APE07247抗体与稳定表达人IL-36R和IL-1RacP的CHO细胞的结合,图9B显示了同样的抗体与稳定表达食蟹猴变体1IL-36R和IL-1RacP的CHO细胞的结合。使用Graphpad Prism软件拟合数据,APE6155对表达人和食蟹猴IL-36R的CHO细胞的EC50值分别测定为1.5nM和2.4nM,并且备用Ab APE7247与表达人和食蟹猴IL-36R的CHO细胞结合的EC50值分别为2.8nM和3.3nM。同种型匹配的阴性对照抗体APE00422显示不与任何细胞系结合。

[0236] 实施例10

[0237] 本实施例表明,本文所述的本发明的免疫球蛋白重链 (HC) 和轻链 (LC) 多肽可以在食蟹猴体内使用,且具有良好的药代动力学特征和皮下生物利用度。用单剂量静脉注射 (IV) 或皮下 (SC) 注射,将ANB019给予食蟹猴。在单剂量研究中,在给药后0.5到672小时 (4周) 从所述猴中收集血样。在AnaptysBio, Inc. (圣地亚哥,美国加利福尼亚州) 使用其内部开发的基于ELISA的方法分析了获得的血清样品。根据AnaptysBio, Inc获得的ANA020的血清浓度vs.时间的数据进行药代动力学分析。

[0238] 对于IV和SC两种给药途径,ANB019血清浓度vs.时间的曲线均正常,其中对于IV施用,血清浓度水平从T_{max}到第24小时时间点迅速下降,紧跟着发生与在非人灵长类动物中预期的单克隆抗体行为相符的逐步下降。来自ANB019血清浓度值的药代动力学参数估值来源于非隔室分析,并列于表10中。参数估值与猴中IgG4骨架单克隆抗体的预期的药代动力学一致。ANB019的半衰期估计为IV注射后的~270小时以及SC注射后的~330小时。SC注射后的生物利用度为60%。

[0239] 表10

[0240]

| | IgG4 IV | IgG4 SC |
|------------------------------------|------------|------------|
| AUC _{0-672hrs} (hr*ng/mL) | 70,834,325 | 42,680,650 |
| T _{1/2} (hrs) | 271 | 331 |
| C _{max} (ng/mL) | 757,588 | 149,518 |
| T _{max} (hrs) | 0.5 | 28 |
| 生物利用度 (%) | | 60 |

[0241] 本文引用的所有参考文献,包括出版物、专利申请和专利,在此通过引用并入本文,其程度如同指明每个参考文献被单独和具体地通过引用并入并且全部在此列出。

[0242] 除非本文另有说明或者与上下文明显矛盾,否则在描述本发明的上下文中(特别是在所附权利要求的上下文中)使用的术语“一”和“一个”以及“所述”和“至少一个”及相似的指示物应被解释成涵盖单数和复数。除非本文另有说明或者与上下文明显矛盾,否则使用的术语“至少一个”后接一个或多个列举项(例如,“A和B”中的至少一个)应被解释成表示从所列项中选出一项(A或B)或者所列项中的两个或多个的任意组合(A和B)。除非另有说明,否则术语“包含”、“具有”、“包括”和“含有”将被解释成开放式术语(即表示“包括,但不限于”)。除非本文另有说明,否则本文中关于值的范围的描述仅旨在作为对每个落在该范围内的单个数值的单独列举的简略写法,且每个单个数值以如同在本文中单独列举的方式并入本说明书。除非本文另有说明或者与上下文明显矛盾,否则本文所述的所有方法可以以任何合适的顺序执行。对本文提供的任何及所有的实施例或示例性语言(例如,“例如”)的使用,仅旨在更好地说明本发明,并且除非另有说明,否则不对本发明的范围构成限制。本说明书中的语言不应被解释成表示任何未被要求保护的元件对于实施本发明是必需的。

[0243] 本文描述了本发明的优选实施方式,包括发明人所知晓的实施本发明的最佳方式。在对上述说明书阅读的基础上,那些优选实施方式的变体对本领域普通技术人员而言是显而易见的。发明人预期熟练技术人员可以根据需要应用这样的变体,且发明人有意以本文中具体描述的方式以外的方式实施本发明。因此,本发明包括由适用法律所准许的本发明所附权利要求中所述主题的所有修饰和等同。而且,除非在本文中另有说明或者与上下文明显矛盾,本发明包括以上所述元件的所有可能的变体的任意组合。

[0001]

```
▼<ST26SequenceListing dtdVersion="V1_3" fileName="046368-8014CN02.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.1.0" productionDate="2022-07-07">
  <ApplicantFileReference>046368-8014CN02</ApplicantFileReference>
  ▼<EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>US 62/147,824</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2015-04-15</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">安奈普泰斯生物有限公司</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>AnaptysBio, Inc.</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">针对白细胞介素36受体 (IL-36R) 的抗体</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>58</SequenceTotalQuantity>
  ▼<SequenceData sequenceIDNumber="1">
    ▼<INSDSeq>
      <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      ▼<INSDSeq_feature=table>
        ▼<INSDFeature>
          <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
          ▼<INSDFeature_qual>
            ▼<INSDQualifier id="q1">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
        ▼<INSDFeature>
          <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>4</INSDFeature_location>
          ▼<INSDFeature_qual>
            ▼<INSDQualifier id="q2">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa1 is leucine (Leu) or phenylalanine (Phe)</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
        ▼<INSDFeature>
          <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>5</INSDFeature_location>
          ▼<INSDFeature_qual>
            ▼<INSDQualifier id="q3">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa2 is valine (Val), methionine (Met), or leucine (Leu)</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
        ▼<INSDFeature>
          <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>44</INSDFeature_location>
          ▼<INSDFeature_qual>
            ▼<INSDQualifier id="q4">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa3 is arginine (Arg) or glycine (Gly)</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
        ▼<INSDFeature>
          <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>56</INSDFeature_location>
          ▼<INSDFeature_qual>
            ▼<INSDQualifier id="q5">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa4 is glycine (Gly), serine (Ser), or alanine (Ala)</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
        ▼<INSDFeature>
          <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>72</INSDFeature_location>
          ▼<INSDFeature_qual>
            ▼<INSDQualifier id="q6">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa5 is arginine (Arg) or alanine (Ala)</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
        ▼<INSDFeature>
          <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>74</INSDFeature_location>
          ▼<INSDFeature_qual>
            ▼<INSDQualifier id="q7">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa6 is threonine (Thr) or lysine (Lys)</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
        ▼<INSDFeature>
          <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>84</INSDFeature_location>
          ▼<INSDFeature_qual>
            ▼<INSDQualifier id="q8">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa7 is serine (Ser) or alanine (Ala)</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
        ▼<INSDFeature>
          <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>95</INSDFeature_location>
```

[0002]

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q9">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa8 is tyrosine (Tyr) or phenylalanine (Phe)</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q10">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQXXQSGAEVKKPGASVKYSCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQXLEWGMGIYPGDGSTRYNEKFKGRVTITDXSASTAYMELXSLRSEDVAVYXCTRSFYTM DYWGQGTITVTVSS</INSDSeq_s>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q11">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q12">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQRLWGMGIYPGDGSTRYNEKFKGRVTITRDTSSASTAYMELSSLRSEDVAVYVCTRSFYTM DYWGQGTITVTVSS</INSDSeq_s>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q13">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q14">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQRLWGMGIYPGDGSTRYNEKFKGRVTITADKSASTAYMELSSLRSEDVAVYFCTRSFYTM DYWGQGTITVTVSS</INSDSeq_s>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q15">
```

[0003]

```
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      ▼<INSDQualifier id="q16">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QVQLMQSGAEVKKPGASVKVCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQRLIEWMGWIYPGDSSTKYNEKFKGRVTITRDKSANTAYMELASLRSEDTAVYFCTRSFYTMDYWGQGTITVTVSS</INSDSeq_s
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q17">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q18">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLMQSGAEVKKPGASVKVCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQRLIEWMGWIYPGDSSTKYNEKFKGRVTITRDKSANTAYMELASLRSEDTAVYFCTRSFYTMDYWGQGTITVTVSS</INSDSeq_s
  </INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="6">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q19">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q20">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLMQSGAEVKKPGASVKVCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQRLIEWMGWIYPGDSSTKYNEKFKGRVTITADKSANTAYMELASLRSEDTAVYFCTRSFYTMDYWGQGTITVTVSS</INSDSeq_s
  </INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q21">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
```


[0004]

```
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    ▼<INSDQualifier id="q22">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQRLIEWMGWIYPGDSSTKYNEKFKGRVITTRDKSANTAYMELSSLRSEDTAVYFCTRSFYTM DYWGQGTITVTVSS</INSDSeq_s>
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="8">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q23">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q24">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQRLIEWMGWIYPGDSSTKYNEKFKGRVITTRDKSANTAYMELASLRSEDTAVYFCTRSFYTM DYWGQGTITVTVSS</INSDSeq_s>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="9">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q25">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q26">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQRLIEWMGWIYPGDSSTKYNEKFKGRVITTRDKSANTAYMELASLRSEDTAVYFCTRSFYTM DYWGQGTITVTVSS</INSDSeq_s>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="10">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q27">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

[0005]

```
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    ▼<INSDQualifier id="q28">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
</INSDSeq_sequence>QVQLQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQRLIEWMGIYPGDSSTRYNEKFKGRVTITRDKSANTAYMELASLRSEDYAVYFCTRSFYTMDYWGQGTTTVYSS</INSDSeq_s>
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="11">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q29">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q30">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQFLQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQRLIEWMGIYPGDSSTRYNEKFKGRVTITADRSANTAYMELSSLRSEDYAVYFCTRSFYTMDYWGQGTTTVYSS</INSDSeq_s>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="12">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q31">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q32">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQFVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQRLIEWMGIYPGDSSTRYNEKFKGRVTITRDKSANTAYMELSSLRSEDYAVYFCTRSFYTMDYWGQGTTTVYSS</INSDSeq_s>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="13">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q33">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```


[0006]

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
▼<INSDFeature_qual>
  ▼<INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  ▼<INSDQualifier id="q34">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQFVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQRLIEWMGWIYPGDSSTKYNEKFKGRVITIDRKSANTAYMELSSLRSEDTAVYFCTRSFYTM DYWGQGT TTVYSS</INSDSeq_s>
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q35">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q36">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLLQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQRLIEWMGWIYPGDSSTKYNEKFKGRVITIDRKSANTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSFYTM DYWGQGT TTVYSS</INSDSeq_s>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="15">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q37">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>33</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q38">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa1 is tryptophan (Trp) or tyrosine (Tyr)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>35</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q39">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa2 is histidine (His), asparagine (Asn), or tyrosine (Tyr)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>42</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q40">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa3 is glycine (Gly) or arginine (Arg)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>52</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q41">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa4 is aspartic acid (Asp), glutamic acid (Glu), or histidine(His)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

[0007]

```
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>54</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q42">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa5 is serine (Ser), threonine (Thr), or tyrosine (Tyr)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>55</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q43">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa6 is asparagine (Asn) or glycine (Gly)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>56</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q44">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa7 is serine (Ser), alanine (Ala), or aspartic acid (Asp)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    ▼<INSDQualifier id="q45">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMXWVRQAPXQGLEWWMGMFPPXXXVTRLNQKFKDRVTMTTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARTTSMIIIGGFAYWCGQGLTVTVSS</INSDSeq>
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="16">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q46">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q47">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHWVRQAPXQGLEWWMGMFDPNSVTRLNQKFKDRVTMTTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARTTSMIIIGGFAYWCGQGLTVTVSS</INSDSeq>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="17">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q48">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
```

[0008]

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q49">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMHVVRQAPQCGLLEWMGMFEPNSAVTRLNQKFKDRVTMTDRTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARTTSMIIGGFAYWCQGLTVTVSS</INSDSeq>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  </INSDSeq>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q50">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q51">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMNVVRQAPQCGLLEWMGMFEPNSAVTRLNQKFKDRVTMTDRTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARTTSMIIGGFAYWCQGLTVTVSS</INSDSeq>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  </INSDSeq>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q52">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q53">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMNVVRQAPQCGLLEWMGMFEPNSAVTRLNQKFKDRVTMTDRTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARTTSMIIGGFAYWCQGLTVTVSS</INSDSeq>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  </INSDSeq>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q54">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
```

[0009]

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
▼<INSDQualifier id="q55">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYWMNWRQAPRQGLEWMGMFHPSNAVTRLNQKFKDRVMTTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVVYCARITSMIIGGFAYWQGCTLVTYSS</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="21">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q56">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q57">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYWMNWRQAPRQGLEWMGMFHPTGDVTRLNQKFKDRVMTTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVVYCARITSMIIGGFAYWQGCTLVTYSS</INSDSeq>
  </SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="22">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q58">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q59">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYWMNWRQAPRQGLEWMGMFHPTGDVTRLNQKFKDRVMTTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVVYCARITSMIIGGFAYWQGCTLVTYSS</INSDSeq>
  </SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="23">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q60">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </SequenceData>
```



```
</INSDQualifier>
▼<INSDQualifier id="q61">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYMNVVRQAPRQGLEWMGMFHPYGDVTRLNPKFKDRVMTTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYVCARTTSMIIGGFAYWQGCTLVTYSS</INSDSeq>
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="24">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q62">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q63">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="25">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q64">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q65">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa1 is glutamine (Gln) or aspartic acid (Asp)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>4</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q66">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa2 is leucine (Leu) or phenylalanine (Phe)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>25</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q67">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa3 is threonine (Thr) or serine (Ser)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>41</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q68">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa4 is proline (Pro) or phenylalanine (Phe)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>44</INSDFeature_location>
```

[0010]

[0011]

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q69">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa5 is lysine (Lys) or asparagine (Asn)</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>45</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q70">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa6 is glycine (Gly) or lysine (Lys)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>71</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q71">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa7 is serine (Ser) or threonine (Thr)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>72</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q72">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa8 is valine (Val) or arginine (Arg)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>95</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q73">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa9 is tyrosine (Tyr) or phenylalanine (Phe)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q74">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>XVQXQESGPGLVKPSQTLSTCTVXGYSITSDFAWNWIRQXPGXLEWIGYISYSGDTNYPNLSKSRVTIXXDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAIRGPYSFTYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q75">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q76">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSITSDFAWNWIRQPPGKLEWIGYISYSGDTNYPNLSKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAIRGPYSFTYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

[0012]

```
▼<INSDSeq_feature-table>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q77">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    ▼<INSDQualifier id="q78">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQFQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSCYSITSDFAWNIWIRQPGKLEWIGYISYSGDTNYPNLSKSRVTISRDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYFCAIRGPYSFTYWQGQGLTYTVSS</INSDSeq_
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="28">
▼<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  ▼<INSDSeq_feature-table>
  ▼<INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
    ▼<INSDFeature_qual>
      ▼<INSDQualifier id="q79">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  ▼<INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
    ▼<INSDFeature_qual>
      ▼<INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      ▼<INSDQualifier id="q80">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSCYSITSDFAWNIWIRQPGKLEWIGYISYSGDTNYPNLSKSRVTISRDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYFCAIRGPYSFTYWQGQGLTYTVSS</INSDSeq_
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="29">
▼<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  ▼<INSDSeq_feature-table>
  ▼<INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
    ▼<INSDFeature_qual>
      ▼<INSDQualifier id="q81">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  ▼<INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
    ▼<INSDFeature_qual>
      ▼<INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      ▼<INSDQualifier id="q82">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQFQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSCYSITSDFAWNIWIRQPGKLEWIGYISYSGDTNYPNLSKSRVTISRDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYFCAIRGPYSFTYWQGQGLTYTVSS</INSDSeq_
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="30">
▼<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  ▼<INSDSeq_feature-table>
  ▼<INSDFeature>
```

[0013]

```
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
▼<INSDFeature_qual>
  ▼<INSDQualifier id="q83">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    ▼<INSDQualifier id="q84">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQFQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDFAWNWIRQFPCKGLEWIGYISYSGDTNYPNLSKSRVTISRDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYFCAIRGPYSFTYWGQGTLYTVSS</INSDSeq_
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="31">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q85">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q86">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQFQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSDFAWNWIRQFPCKGLEWIGYISYSGDTNYPNLSKSRVTISRDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYFCAIRGPYSFTYWGQGTLYTVSS</INSDSeq_
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="32">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q87">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q88">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DVQFQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTGYSITSDFAWNWIRQPPCKGLEWIGYISYSGDTNYPNLSKSRVTITRDTSKNQFSLKLSVTAADTATYFCAIRGPYSFTYWGQGTLYTVSS</INSDSeq_
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="33">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
```


[0014]

```

    </INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q89">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q90">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQQSGPELVKPGALVKISKASGFTFTSYDINWVRQPGQGLEWIGWYIPGDGSTRYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSSENSAVYFCTRSFYIMDYWGQGTSTVTVSS</INSDSeq_s>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="34">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q91">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q92">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLQQSGPELVKPGASVYRMSCKASDYFTFTNYWMHWVKRPGQGLEWIGWDFPSNSVTRLNQKFKDKATLTNVDKSSNTAYIQFSSLTFEDSAVYYCARTSMIIGGFAYWGQGTSTVTVSS</INSDS>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q93">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q94">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DVQFQESGPGLVKPSQSLTCTVTGYSITSDFAWNWIRQFPGNKLWMMGYISYSGDTNYPNLSKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYFCAIRGPYSFTYWGPGTSTVTVSS</INSDSeq_>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="36">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q95">

```

[0015]

```
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>34</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q96">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa1 is glycine (Gly) or alanine (Ala)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>41</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q97">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa2 is phenylalanine (Phe) or tyrosine (Tyr)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>54</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q98">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa3 is tyrosine (Tyr) or serine (Ser)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    ▼<INSDQualifier id="q99">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQSPVLPVTPGEPASISCRSSKSLHNSXNTLYWYXLPKPGQSPQLLIYRMSNLASGVPDFRFGSGSGCTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPTFGQCTKLEIK</INSDSeq_sequei
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="37">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q100">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q101">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIVMTQSPVLPVTPGEPASISCRSSKSLHNSXNTLYWYXLPKPGQSPQLLIYRMSNLASGVPDFRFGSGSGCTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPTFGQCTKLEIK</INSDSeq_sequei
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="38">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q102">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </SequenceData>
```

[0016]

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
▼<INSDFeature_qual>
  ▼<INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  ▼<INSDQualifier id="q103">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQSPVLPVTPGEFASISCRSSKSLHSNGNTLYWFLQKPGQSPQLLISRMNSLASGVDRFSGSGCTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGQCTKLEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="39">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  ▼<INSDSeq_feature-table>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q104">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        ▼<INSDQualifier id="q105">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQSPVLPVTPGEFASISCRSSKSLHSNANTLYWFLQKPGQSPQLLISRMNSLASGVDRFSGSGCTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGQCTKLEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="40">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  ▼<INSDSeq_feature-table>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q106">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>32</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q107">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa1 is serine (Ser) or arginine (Arg)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>34</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q108">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa2 is glycine (Gly) or alanine (Ala)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>43</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q109">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa3 is glutamine (Gln) or histidine (His)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDSeq>
</SequenceData>
```

[0017]

```
</INSDQualifier>
▼<INSDQualifier id="q110">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQTPLSLSVTPGQFASISCRSSKSLHXXNITYFYWYLXKPGQPPQLLIYQMSNLASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCAQNLELPLTFGGGKVEIK</INSDSeq_sequei
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="41">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q111">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q112">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
  </SequenceData>
  ▼<SequenceData sequenceIDNumber="42">
    ▼<INSDSeq>
      <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      ▼<INSDSeq_feature-table>
        ▼<INSDFeature>
          <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
          ▼<INSDFeature_qual>
            ▼<INSDQualifier id="q113">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
        ▼<INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
          ▼<INSDFeature_qual>
            ▼<INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            ▼<INSDQualifier id="q114">
              <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>
    </SequenceData>
    ▼<SequenceData sequenceIDNumber="43">
      ▼<INSDSeq>
        <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        ▼<INSDSeq_feature-table>
          ▼<INSDFeature>
            <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
            <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
            ▼<INSDFeature_qual>
              ▼<INSDQualifier id="q115">
                <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
              </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
          </INSDFeature>
          ▼<INSDFeature>
            <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
            <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
            ▼<INSDFeature_qual>
              ▼<INSDQualifier>
                <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
              </INSDQualifier>
              ▼<INSDQualifier id="q116">
```


[0018]

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSKSLLRHNAITYFYWYLQKPGQPQLLIYQMSNLASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIK</INSDSeq_seque
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="44">
▼<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  ▼<INSDSeq_feature-table>
  ▼<INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
    ▼<INSDFeature_qual>
      ▼<INSDQualifier id="q117">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        ▼<INSDQualifier id="q118">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="45">
▼<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  ▼<INSDSeq_feature-table>
  ▼<INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
    ▼<INSDFeature_qual>
      ▼<INSDQualifier id="q119">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>64</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q120">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa1 is serine (Ser) or proline (Pro)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>71</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q121">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa2 is phenylalanine (Phe) or tyrosine (Tyr)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        ▼<INSDQualifier id="q122">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDINNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSSXSGSGTDXTFTISSLPEDVATYYCQGHSLPWTFFGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="46">
▼<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  ▼<INSDSeq_feature-table>
  ▼<INSDFeature>
```

[0019]

```
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
▼<INSDFeature_qual>
  ▼<INSDQualifier id="q123">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    ▼<INSDQualifier id="q124">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDINNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGCTDFTFTTISLQPEDIATYYCQQGHTLPWTFGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="47">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q125">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q126">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDINNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGCTDYFTTISLQPEDIATYYCQQGHTLPWTFGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="48">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q127">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q128">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIVMTQAAPSVPTPGESVSISSRSKSLHNSGNTLYWFLQRPQSPQLLISRMNSLASGVPRFSGSGCTAFTLRISRVEAEDVGVYCMQHLEYPTFGSGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="49">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
```

[0020]

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q129">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q130">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLHNSGITYFYWYLQRFQCSQQLLIYQMSNLASGVDPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGIYYCAQNLELPLTFGAGTKLELK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="50">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q131">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q132">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIQMTQTSSLSASLGDRVTINCRASQDINNYLWYQKPDGTRLLIYYTSRLHSGVPSRFSPNGSGTDVYSLTINNLEQEDVATYFCQQGHTLPWTFGGGTGLEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q133">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q134">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DVQFQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSDFAWNWIRQPPGKLEWIGYISYSGDTNYPNLSKSRVTITRDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYFCAIRGPFYSFTYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="52">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q135">
```

[0021]

```
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q136">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DVQFQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITADFAWNNIRQPPGKLEWICYISYSGDTNYPNLSKSRVTITRDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYFCAIRGPYSFTYWGQCTLVTVSSA</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="53">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q137">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
        ▼<INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
          ▼<INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
              </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q138">
              <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
              </INSDQualifier>
            </INSDFeature_qual>
          </INSDFeature>
          </INSDSeq_feature-table>
          <INSDSeq_sequence>DLQFQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITADFAWNNIRQPPGKLEWICYISYSGDTNYPNLSKSRVTITRDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYFCAIRGPYSFTYWGQCTLVTVSSA</INSDSeq>
        </SequenceData>
      ▼<SequenceData sequenceIDNumber="54">
        ▼<INSDSeq>
          <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
          <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
          <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
          ▼<INSDSeq_feature-table>
            ▼<INSDFeature>
              <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
              <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
              ▼<INSDFeature_qual>
                <INSDQualifier id="q139">
                  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                  <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
                  </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
              </INSDFeature>
              ▼<INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
                ▼<INSDFeature_qual>
                  <INSDQualifier>
                    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                  <INSDQualifier id="q140">
                    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                  </INSDFeature_qual>
                </INSDFeature>
                </INSDSeq_feature-table>
                <INSDSeq_sequence>DLQFQESGPGLVKPSQTLSTCTVSRYSITADFAWNNIRQPPGKLEWICYISYSGDTNYPNLSKSRVTITRDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYFCAIRGPYSFTYWGQCTLVTVSSA</INSDSeq>
              </SequenceData>
            ▼<SequenceData sequenceIDNumber="55">
              ▼<INSDSeq>
                <INSDSeq_length>109</INSDSeq_length>
                <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
                <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
                ▼<INSDSeq_feature-table>
                  ▼<INSDFeature>
                    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
                    <INSDFeature_location>1..109</INSDFeature_location>
                    ▼<INSDFeature_qual>
                      <INSDQualifier id="q141">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
```


[0022]

```
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..109</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    ▼<INSDQualifier id="q142">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQWNNVYNWYQQKPKAPKLLIYYTSMHLHSGVPSRFSPSCGNDYFTFTISSLQPEDIATYYCQQGHTLPWTFGGCTKVEIKRT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="56">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  ▼<INSDSeq_feature-table>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q143">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>4</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q144">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa1 is leucine (Leu) or phenylalanine (Phe)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>5</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q145">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa2 is valine (Val), methionine (Met), or leucine (Leu)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>44</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q146">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa3 is arginine (Arg) or glycine (Gly)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>56</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q147">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa4 is glycine (Gly), serine (Ser), or alanine (Ala)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>72</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q148">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa5 is arginine (Arg) or alanine (Ala)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>74</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q149">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa6 is threonine (Thr) or lysine (Lys)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    ▼<INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>77</INSDFeature_location>
      ▼<INSDFeature_qual>
        ▼<INSDQualifier id="q150">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa7 is serine (Ser) or asparagine (Asn)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
</INSDSeq>
</SequenceData>
```

[0023]

```
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>84</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q151">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa8 is serine (Ser) or alanine (Ala)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>95</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q152">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa9 is tyrosine (Tyr) or phenylalanine (Phe)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    ▼<INSDQualifier id="q153">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQXXQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTSYDINWVRQAPGQKLEWGMWYIPGDXYSTKYNKFKGRVITITDXXSAXTAYMELXSLRSEDYAVYXCTRSFYTMDFWCGQGTITVTVSS</INSDSeq_s>
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="57">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q154">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q155">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa1 is glutamine (Gln) or aspartic acid (Asp)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>2</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q156">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa2 is valine (Val) or leucine (Leu)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>4</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q157">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa3 is leucine (Leu) or phenylalanine (Phe)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>25</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q158">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa4 is threonine (Thr) or serine (Ser)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>26</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q159">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa5 is glycine (Gly) or arginine (Arg)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

[0024]

```
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>31</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q160">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa6 serine (Ser) or alanine (Ala)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>41</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q161">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa7 is proline (Pro) or phenylalanine (Phe)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>44</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q162">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa8 is lysine (Lys) or asparagine (Asn)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>45</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q163">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa9 is glycine (Gly) or lysine (Lys)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>71</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q164">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa10 is serine (Ser) or threonine (Thr)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>72</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q165">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa11 is valine (Val) or arginine (Arg)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>93</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q166">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa12 is threonine (Thr) or valine (Val)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>95</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q167">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa13 is tyrosine (Tyr) or phenylalanine (Phe)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>118</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier id="q168">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa14 is alanine (Ala) or absent</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
▼<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
  ▼<INSDFeature_qual>
    ▼<INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    ▼<INSDQualifier id="q169">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
```

[0025]

```
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>XXQKQESGPGLVKPSQTLSTCTVXXYSITXDFAWNIWIRQXPGXXLEWIGYISYSGDTNYPNPSLKSRYTIXXDTSKNQFSLKLSVTAADTAXYXCAIRGPYSFTYWGQGLTVTVSSX</INSDSeq>
</INSDSeq>
</SequenceData>
▼<SequenceData sequenceIDNumber="58">
  ▼<INSDSeq>
    <INSDSeq_length>109</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    ▼<INSDSeq_feature-table>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..109</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q170">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>28</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q171">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa1 is aspartic acid (Asp) or tryptophan (Trp)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>53</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q172">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa2 is arginine (Arg) or methionine (Met)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>64</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q173">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa3 is glycine (Gly), serine (Ser) or proline (Pro)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>69</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q174">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa4 is threonine (Thr) or asparagine (Asn)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>71</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q175">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa5 is phenylalanine (Phe) or tyrosine (Tyr)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>108</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q176">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa6 is arginine (Arg) or absent</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>109</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier id="q177">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Xaa7 is threonine (Thr) or absent</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      ▼<INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..109</INSDFeature_location>
        ▼<INSDFeature_qual>
          ▼<INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          ▼<INSDQualifier id="q178">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

[0026]

```
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>D1QMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQINNYLNWYQQKPKAPKLLIYTSXLHSGVPFRFSXSGCXDTFTISSLQPEDIATYYCQQGHTLPWTFGGCTKVEIKXX</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

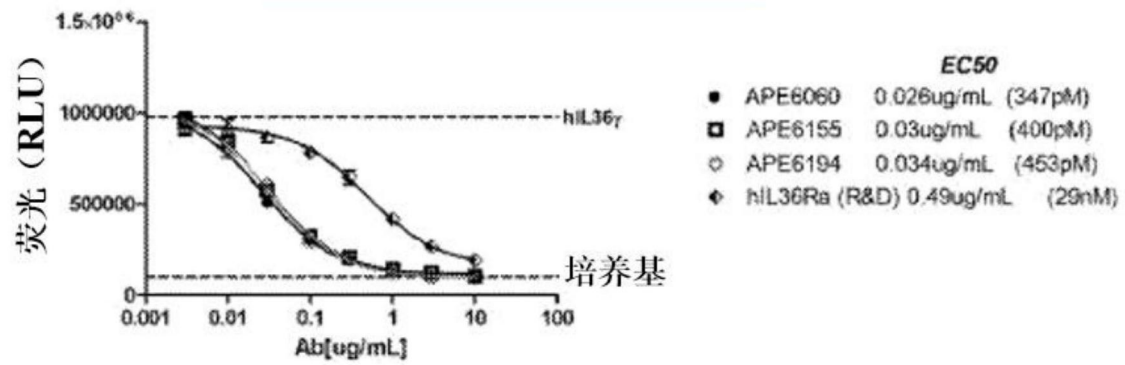



图1A

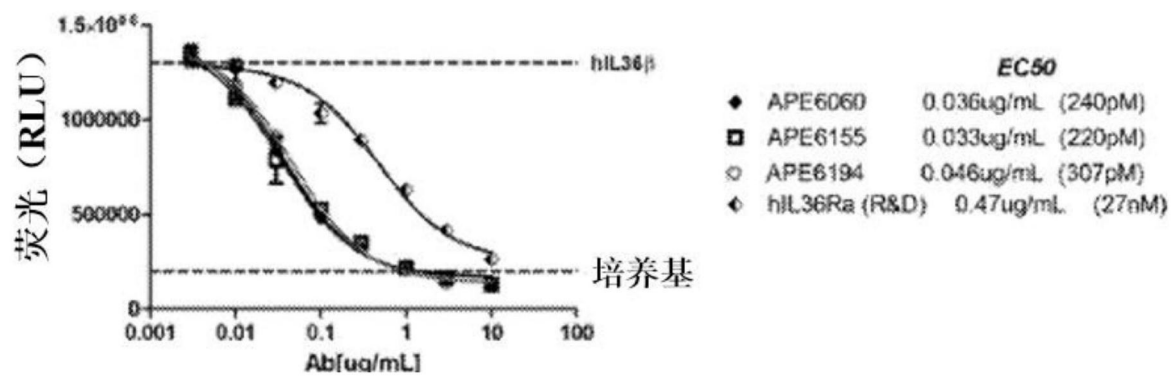


图1B

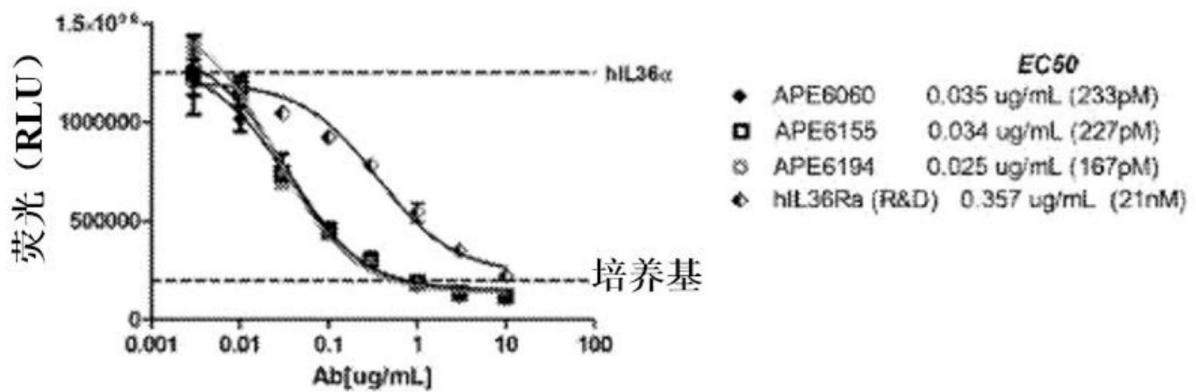


图1C

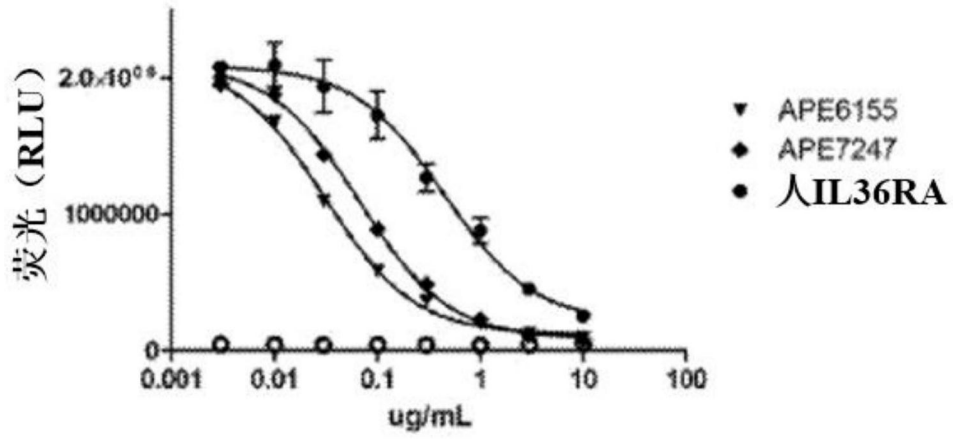


图1D

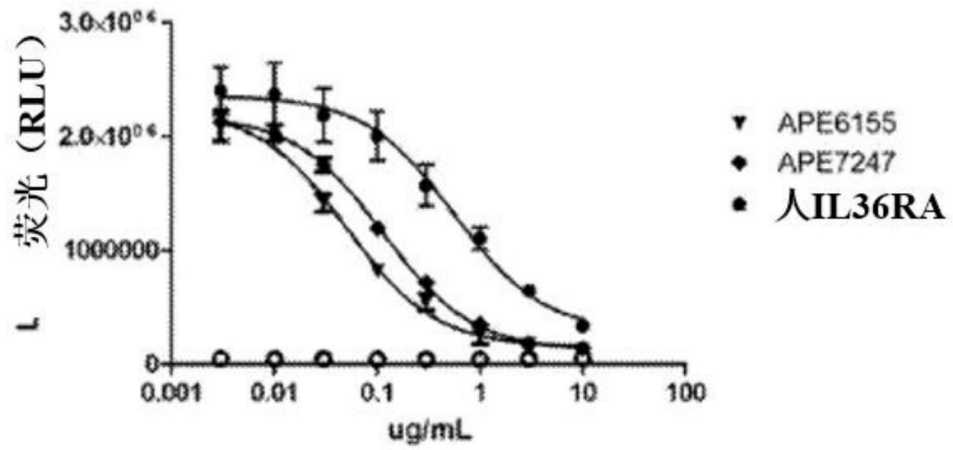


图1E

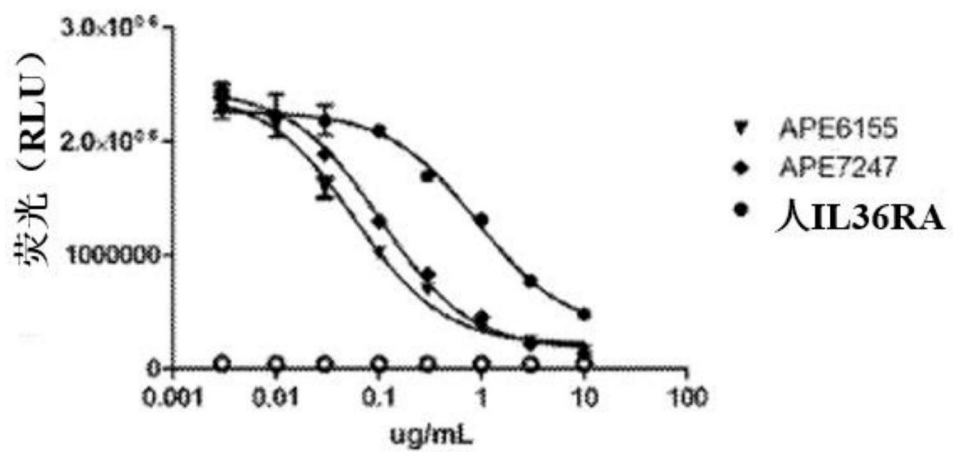


图1F

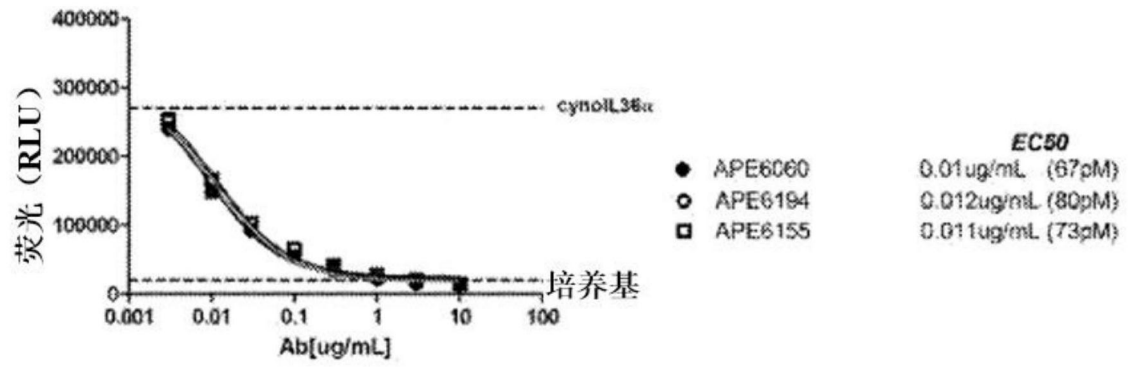


图2A

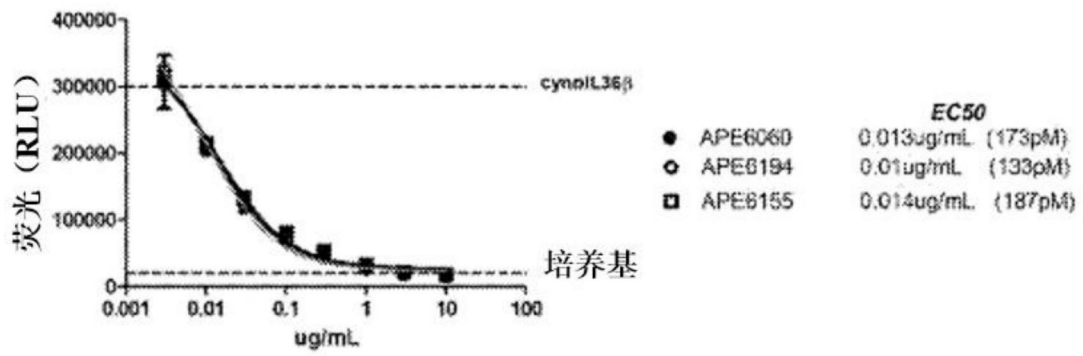


图2B

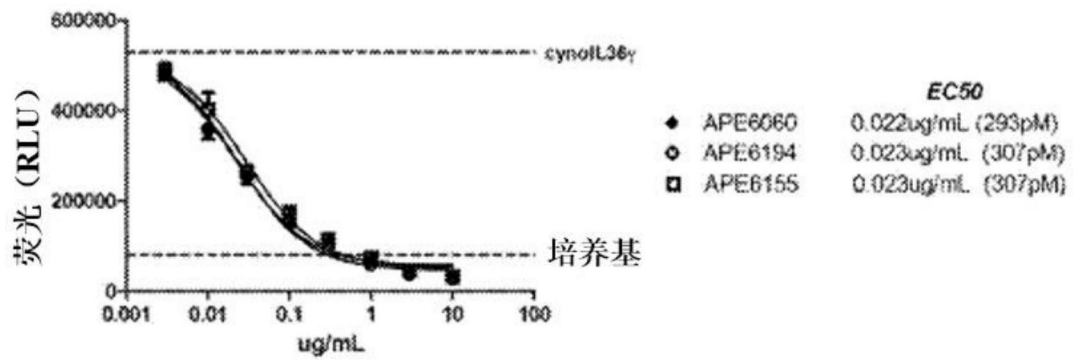


图2C

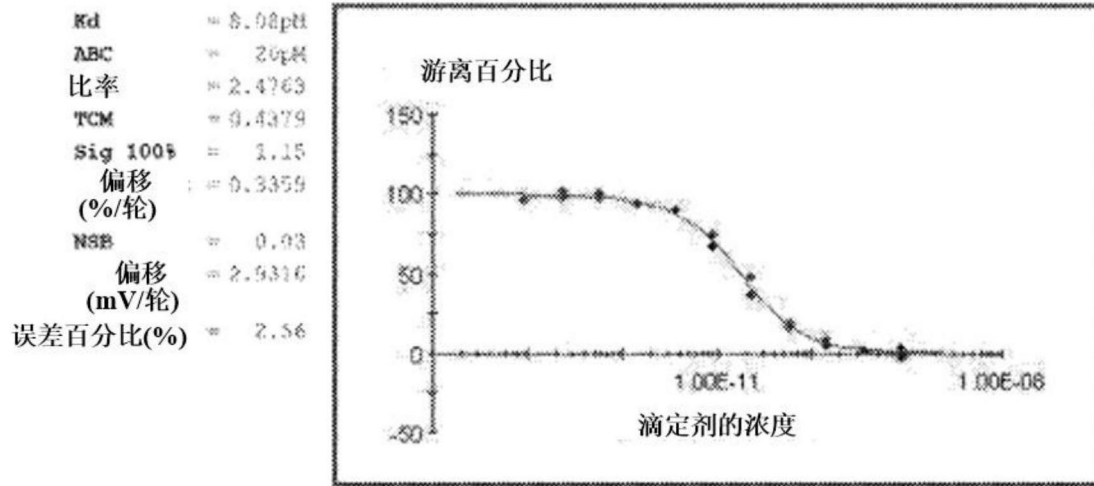


图3A

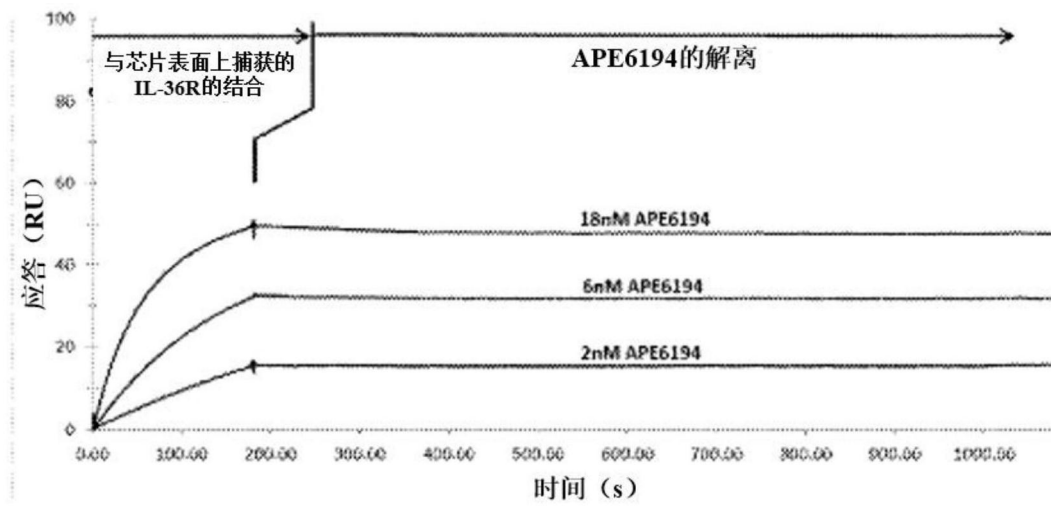


图3B

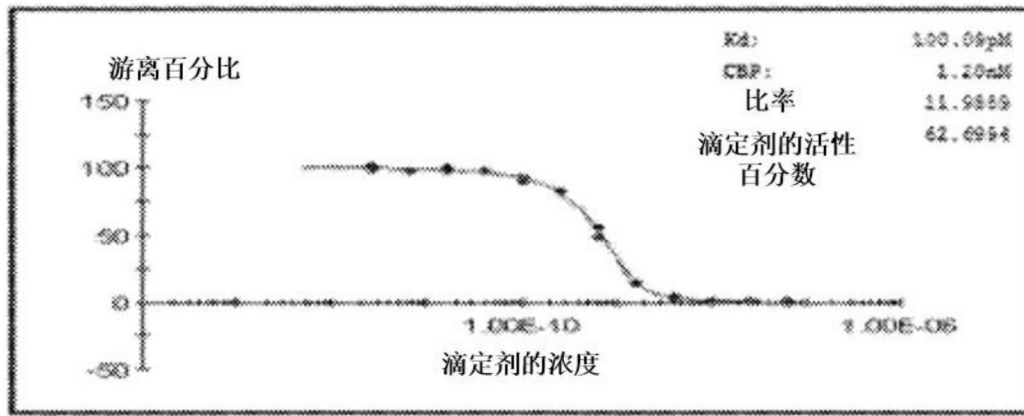


图3C

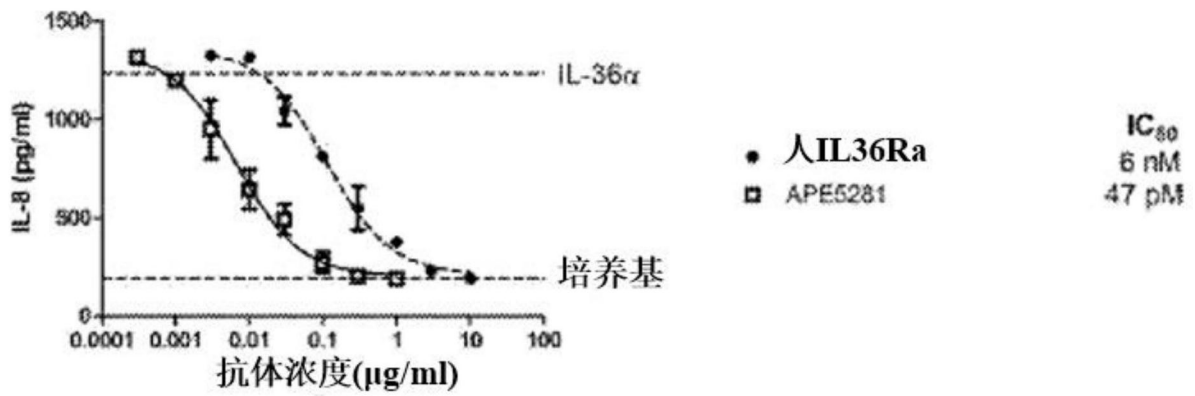


图4A

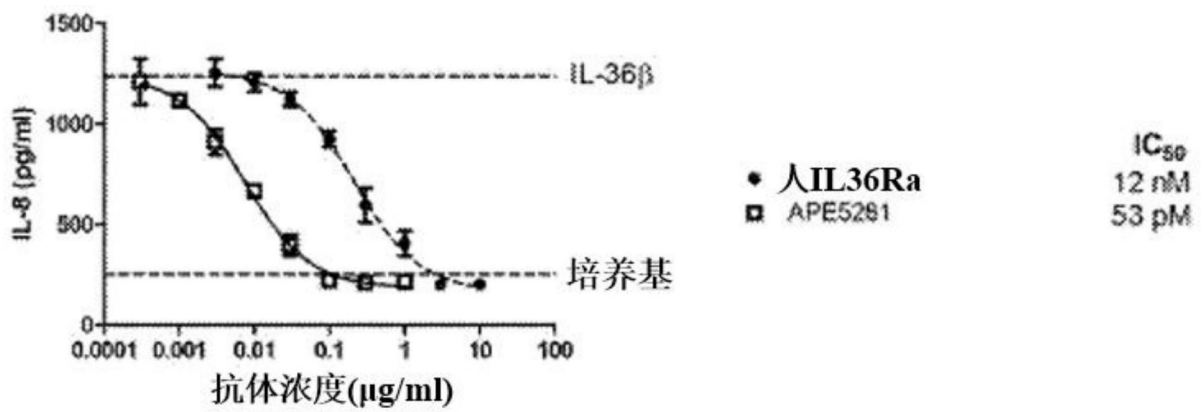


图4B

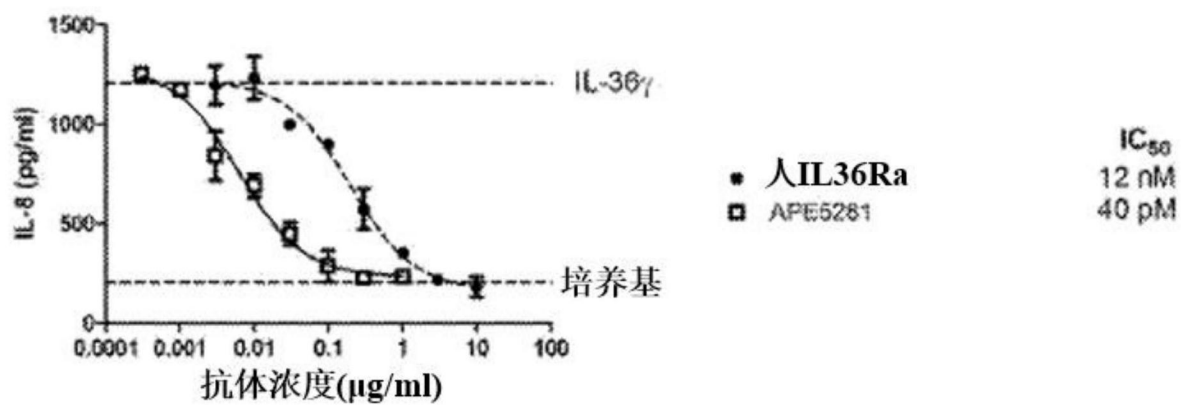


图4C

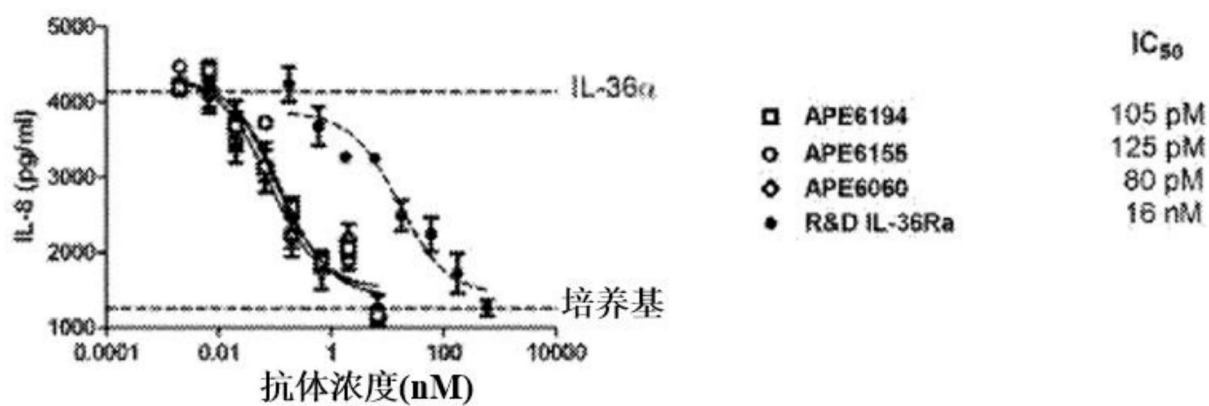


图4D

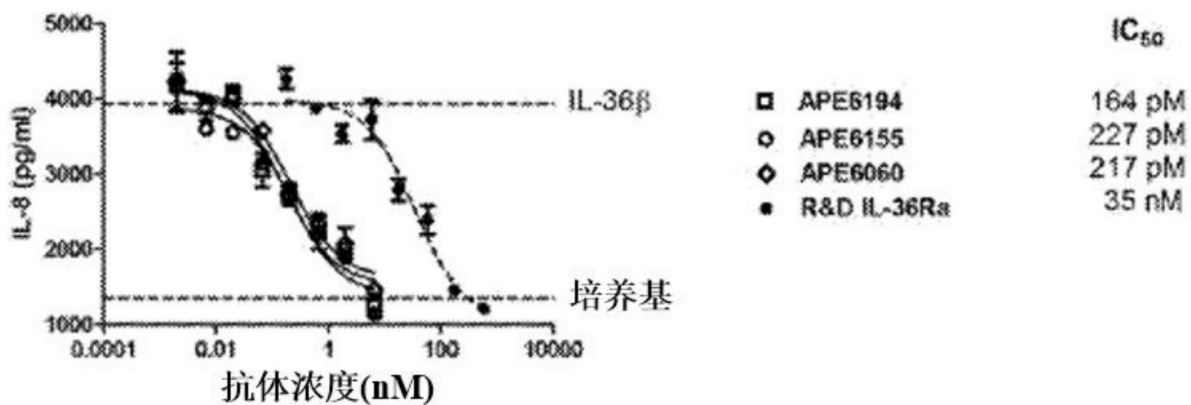


图4E

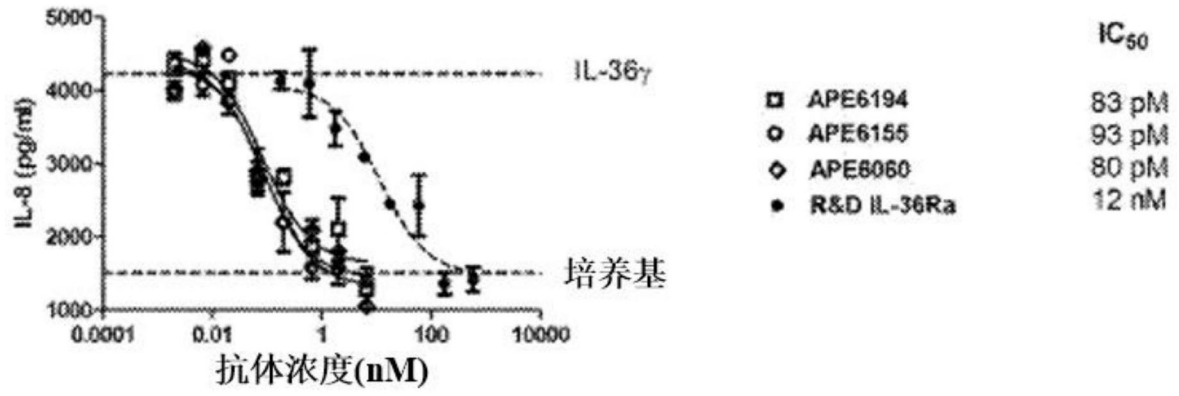


图4F

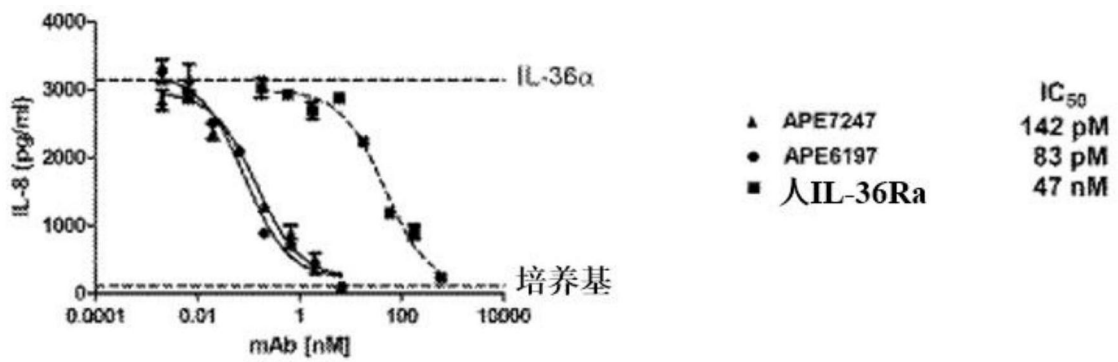


图4G

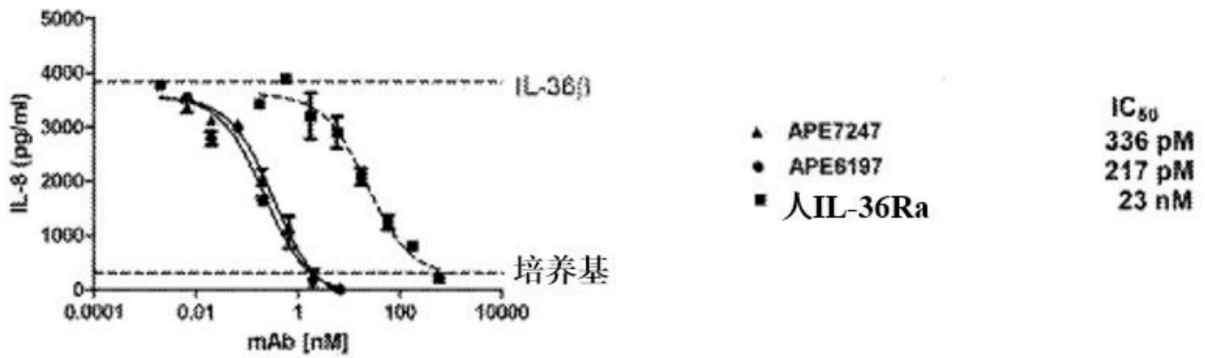


图4H

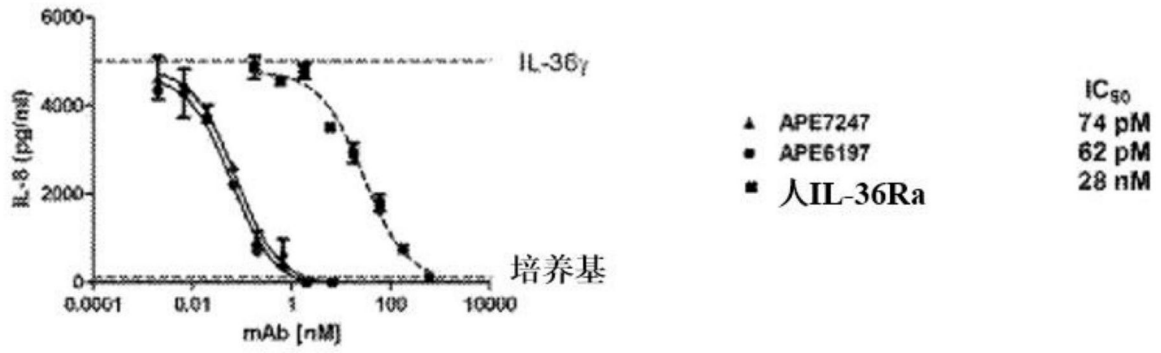


图4I

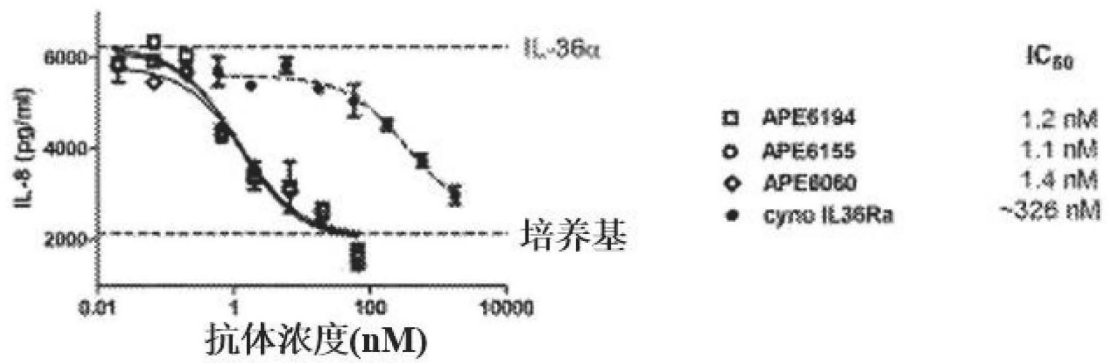


图5A

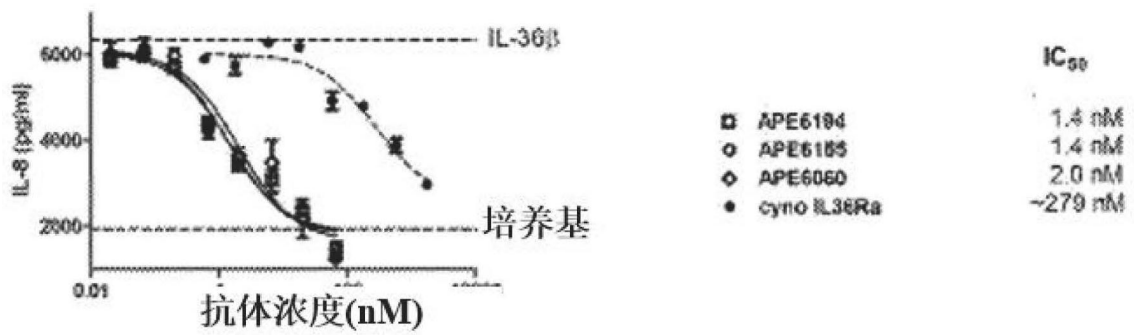


图5B

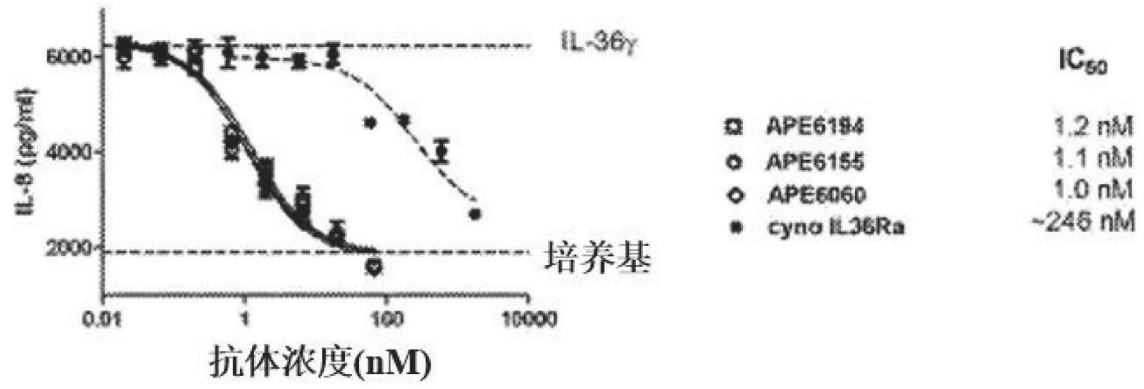


图5C

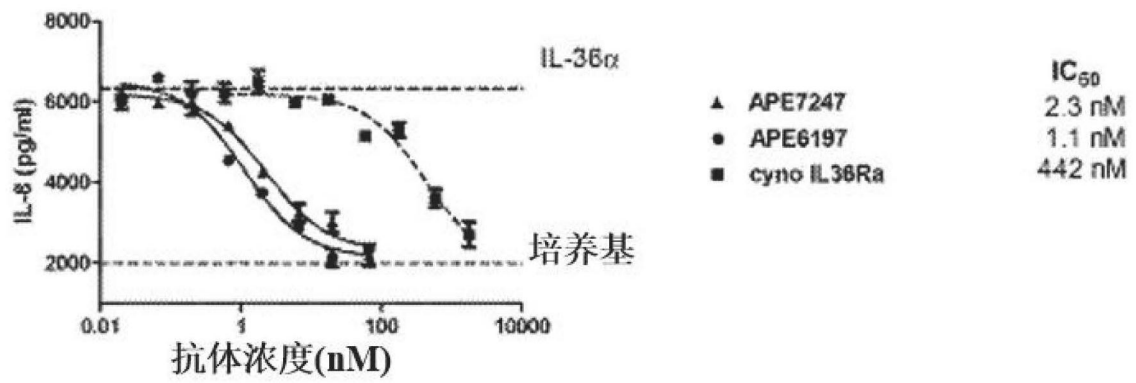


图5D

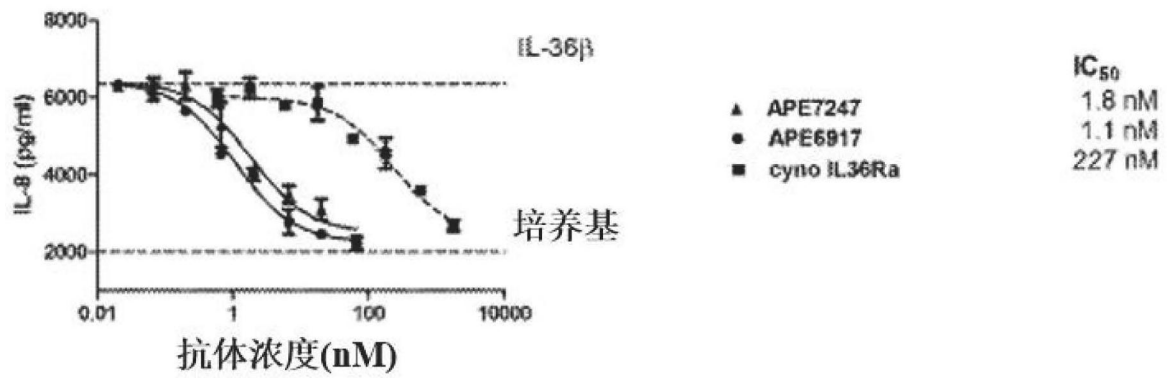


图5E

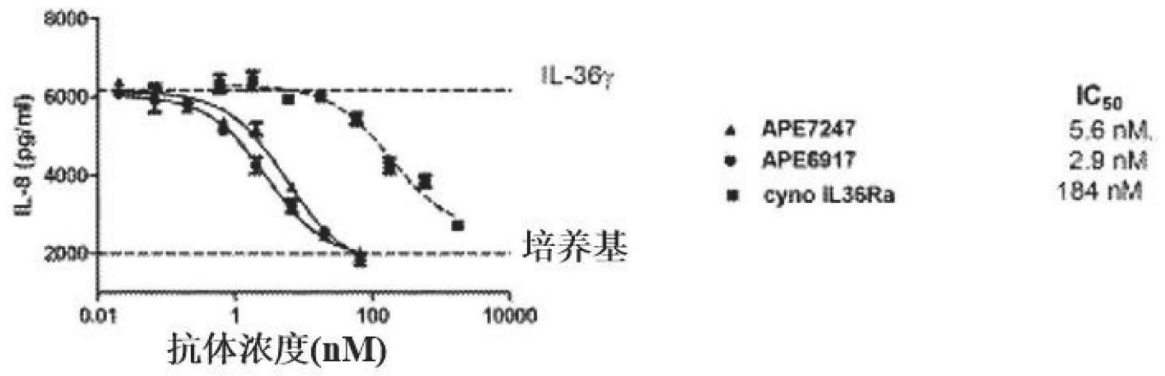


图5F

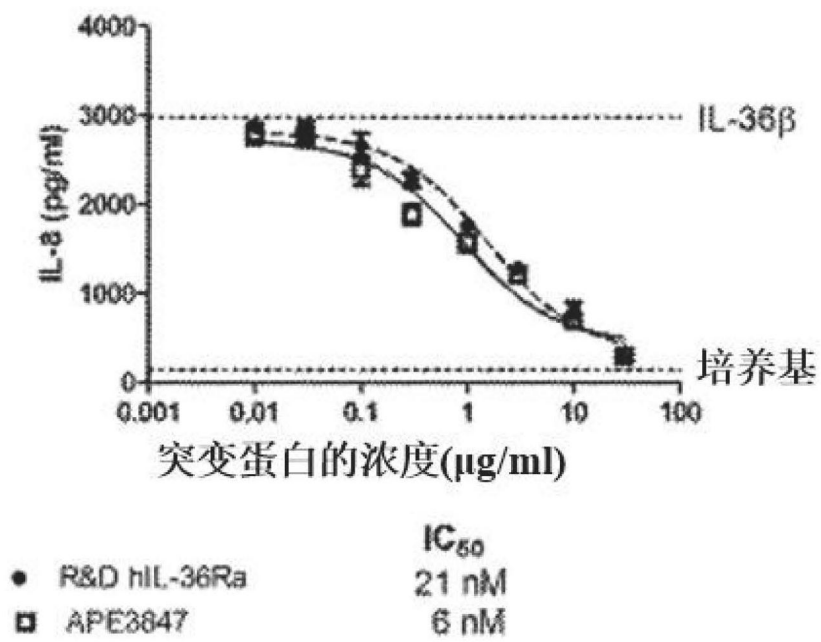


图6A

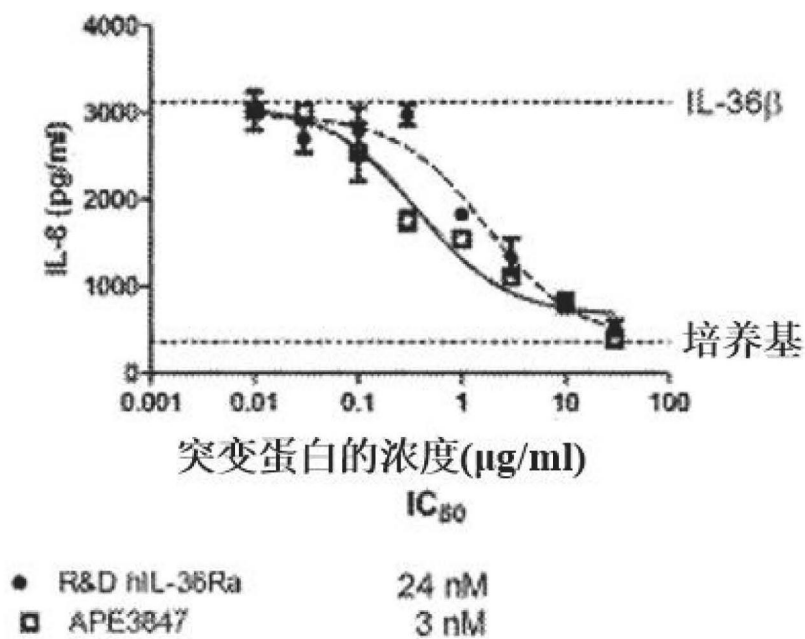


图6B

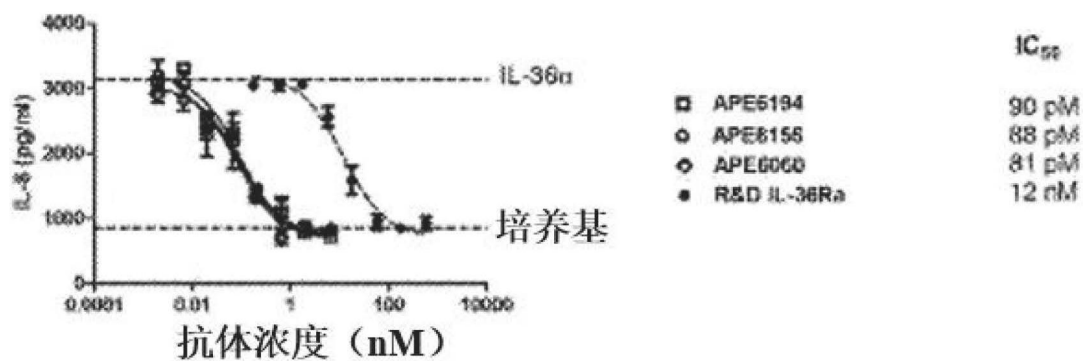


图7A

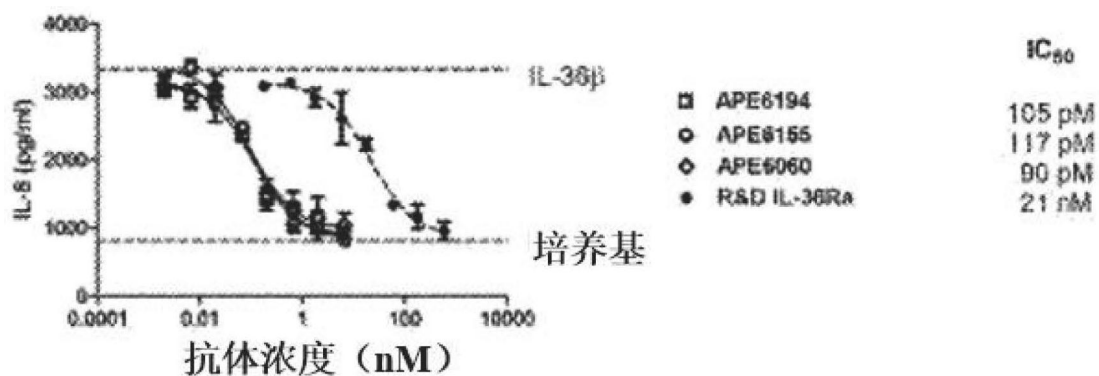


图7B

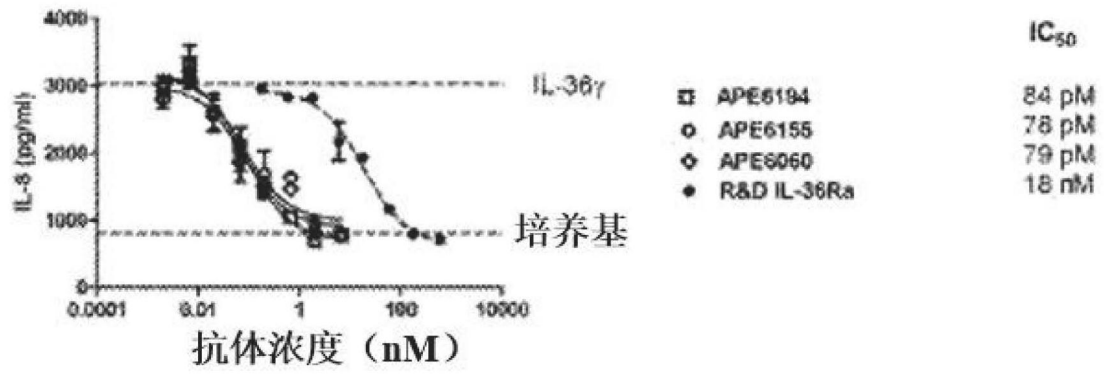


图7C

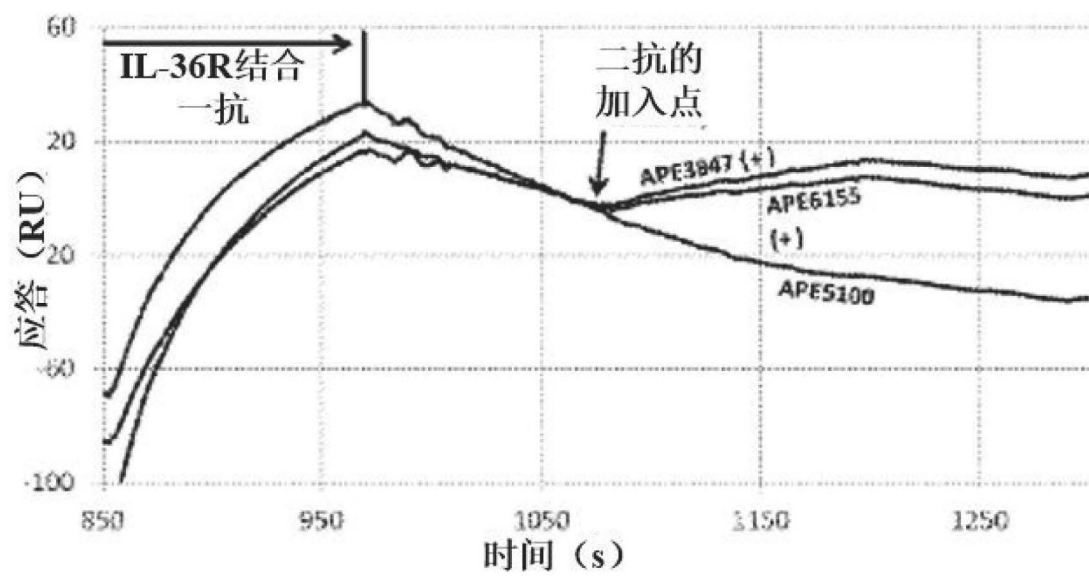


图8A

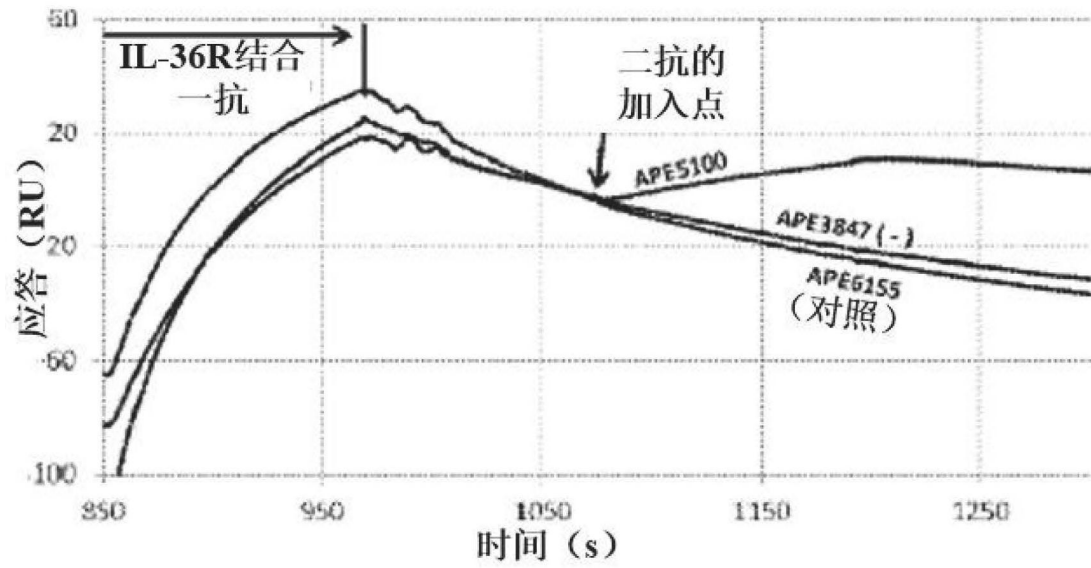


图8B

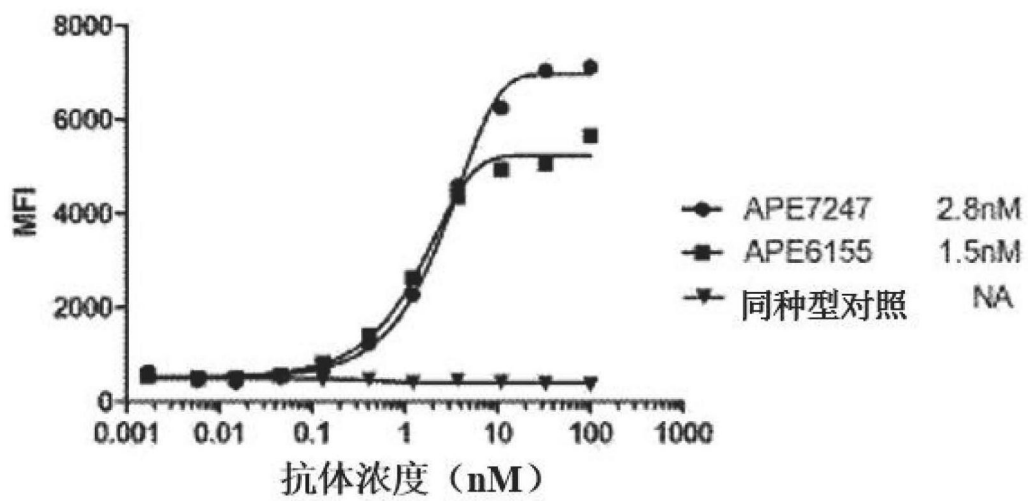


图9A

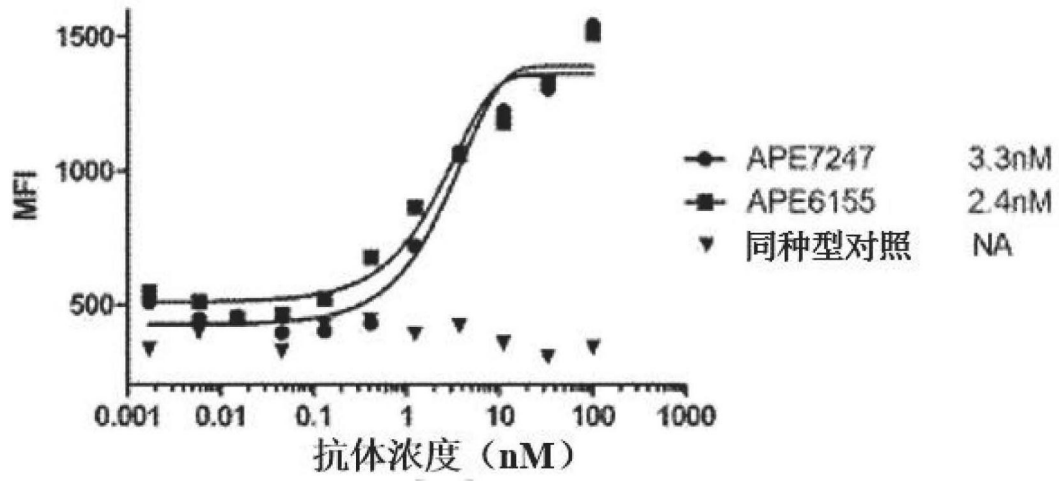


图9B

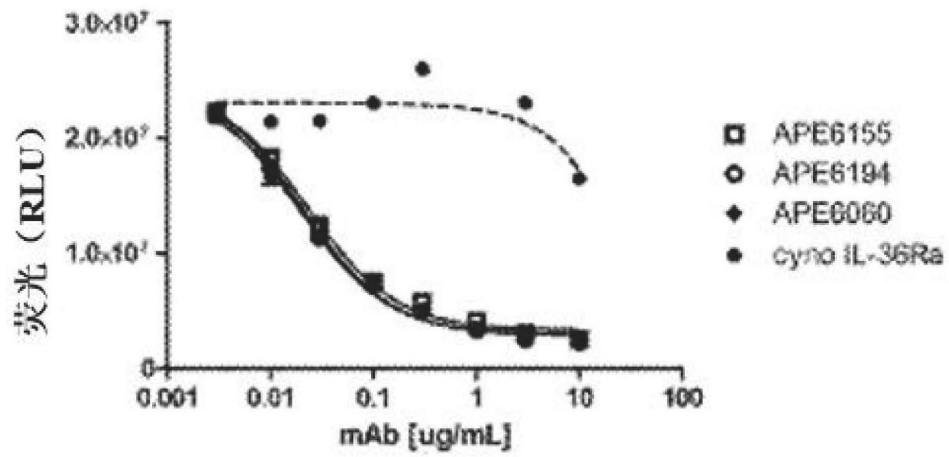


图10A

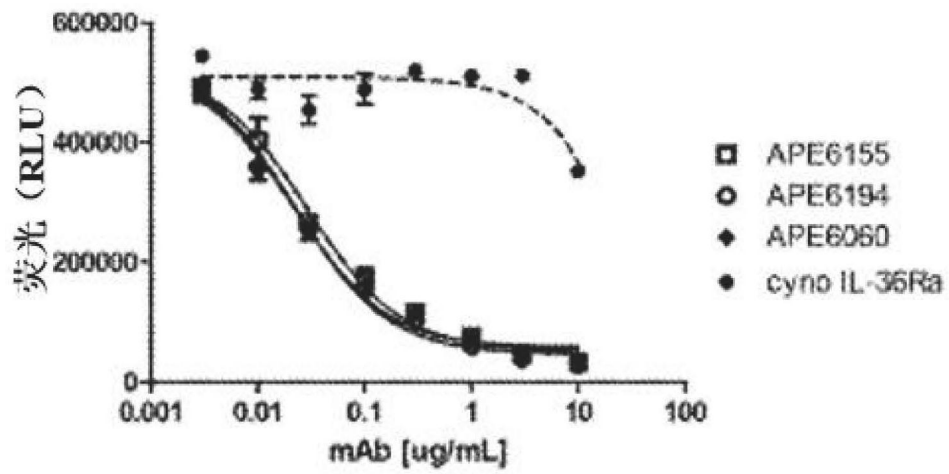


图10B

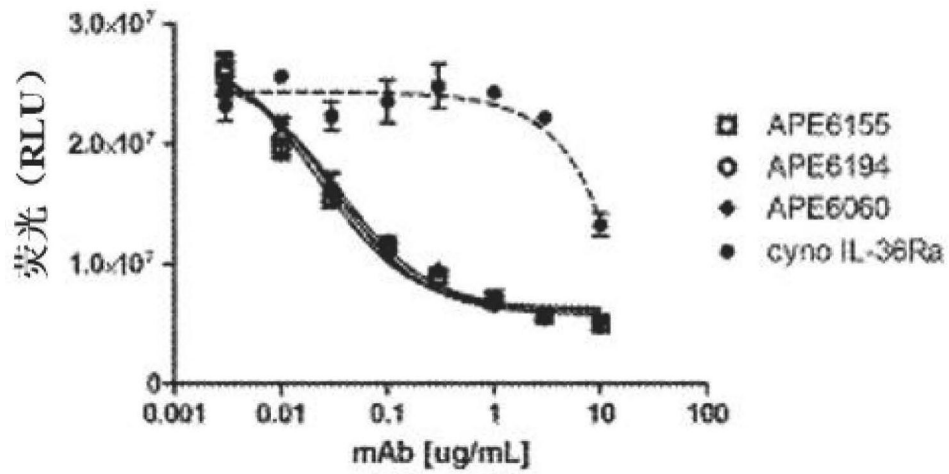


图10C

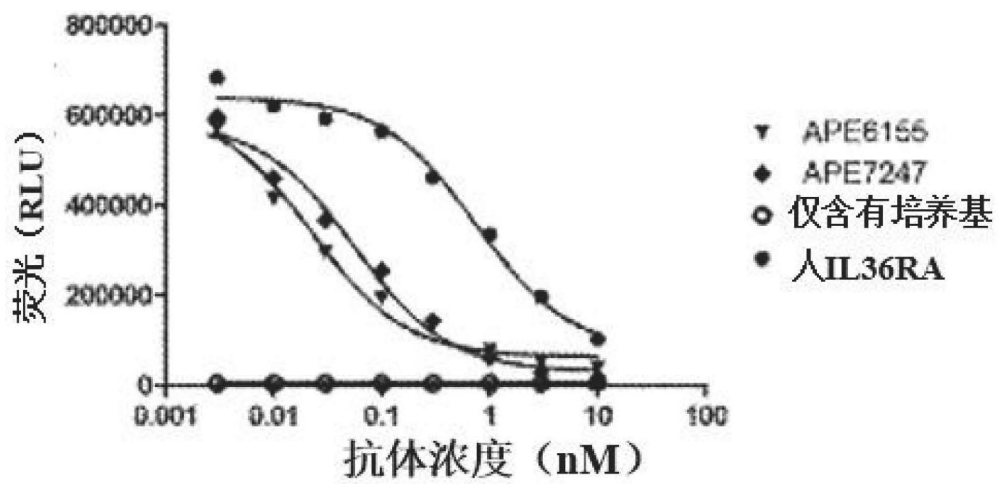


图10D

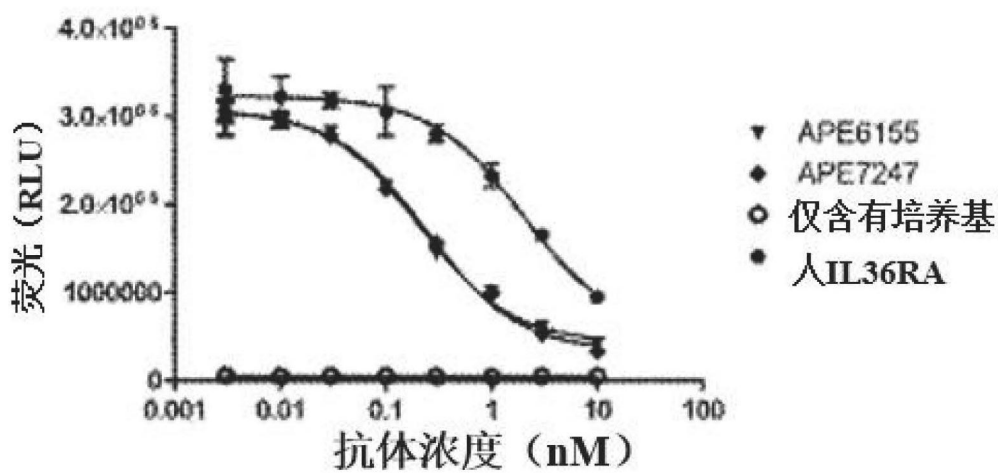


图10E

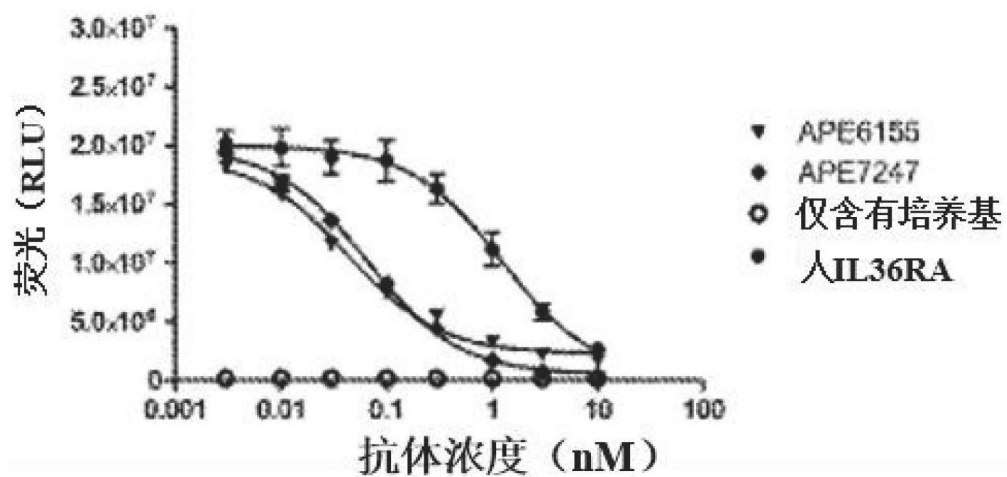


图10F