(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 102482349 B
(45)授权公告日 2017.08.25

(21)申请号 201080027121.5

(22)申请日 2010.06.17

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 102482349 A

(43)申请公布日 2012.05.30

(30)优先权数据
61/218,005 2009.06.17 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2011.12.16

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2010/039029 2010.06.17

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2010/148223 EN 2010.12.23

(73)专利权人 艾伯维生物医疗股份有限公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 菲奥娜·阿尔丹 赤松谦子
罗伯特·B·迪布里吉
大卫·B·鲍尔斯

(74)专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限责任公司 11287
代理人 刘国伟

(51)Int.Cl.
C07K 16/22(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
C12N 15/13(2006.01)
C12N 15/63(2006.01)
A61K 47/68(2017.01)
A61P 37/00(2006.01)

(56)对比文件
WO 03099999 A2,2003.12.04,
US 20020032315 A1,2002.03.14,
汪保安等.基因工程抗体的体外亲和力成熟.《海军总医院学报》.2003,全文.

审查员 张全红

权利要求书3页 说明书35页
序列表97页 附图33页

(54)发明名称

抗VEGF抗体和其用途

(57)摘要

本发明涉及针对血管内皮生长因子“VEGF”的抗体和所述抗体例如用于治疗与VEGF活性和/或VEGF过度产生相关的疾病的用途。

抗体链	互补决定区编号	残基	在互补决定区中的位置	卡贝特编号
轻链	1	S	1	24
		A	2	25
		S	3	26
		Q	4	27
		D	5	28
		I	6	29
		S	7	30
		N	8	31
		Y	9	32
		L	10	33
		N	11	34
轻链	2	F	1	50
		T	2	51
		S	3	52
		S	4	53
		L	5	54
		H	6	55
		S	7	56
轻链	3	Q	1	89
		Q	2	90
		Y	3	91
		S	4	92
		T	5	93
		V	6	94
		P	7	95
		W	8	96
		T	9	97

CN 102482349 B

1.一种抗VEGF抗体或一种抗体的抗VEGF结合片段，其包含6个CDR，所述6个CDR与具有由对应于SEQ ID NO:3所示的CDR-H1、SEQ ID NO:4所示的CDR-H2、SEQ ID NO:5所示的CDR-H3、SEQ ID NO:6所示的CDR-L1、SEQ ID NO:7所示的CDR-L2和SEQ ID NO:8所示的CDR-L3的氨基酸序列组成的CDR的抗VEGF抗体或抗VEGF抗原结合片段相比，具有一个或多个氨基酸突变或氨基酸突变的组合，所述一个或多个氨基酸突变或氨基酸突变的组合选自：

(i)CDR-H2突变K64S；

(ii)CDR-H2突变K64Q；

(iii)CDR-H2突变Y53F和K64Q；

(iv)CDR-H3突变H97E；

(v)CDR-H3突变H97E和Y98F；和

(vi)CDR-L2突变T51A。

2.根据权利要求1所述的抗VEGF抗体或抗体的抗VEGF结合片段，其包含CDR-H2突变K64Q或K64S。

3.根据权利要求1所述的抗VEGF抗体或抗体的抗VEGF结合片段，其包含具CDR-H2突变Y53F和K64Q。

4.根据权利要求1所述的抗VEGF抗体或抗体的抗VEGF结合片段，其包含CDR-H3突变H97E和Y98F。

5.根据权利要求1所述的抗VEGF抗体或抗体的抗VEGF结合片段，其包含CDR-L2突变T51A。

6.根据权利要求1所述的抗VEGF抗体或抗体的抗VEGF结合片段，其包含CDR-H3突变H97E。

7.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其分别为单克隆抗体或单克隆抗体的抗VEGF结合片段。

8.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其分别为人类或人源化抗体，或者人源化或人源化抗体的抗VEGF结合片段。

9.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其为IgG。

10.根据权利要求9所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其为IgG_1。

11.根据权利要求9所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其为IgG_2。

12.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其在Fc区中包括一个或一个以上增加ADCC活性的突变。

13.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其未经岩藻糖基化。

14.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其在Fc区中包括一个或一个以上增加与FcγR的结合的突变。

15.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其在Fc区中包括一个或一个以上增加与FcRn的结合的突变。

16.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其在Fc区中包括一个或一个以上降低ADCC活性的突变。

17.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其除所

述一个或一个以上突变外，还具有对应于SEQ ID NO:1的V_H序列和对应于SEQ ID NO:2的V_L序列。

18.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其除所述一个或一个以上突变外，还具有对应于SEQ ID NO:9的重链序列和对应于SEQ ID NO:10的轻链序列。

19.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其亲和力是具有对应于SEQ ID NO:1的V_H序列和对应于SEQ ID NO:2的V_L序列的抗体的亲和力的1.5到50倍。

20.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其亲和力是具有对应于SEQ ID NO:9的重链序列和对应于SEQ ID NO:10的轻链序列的抗体的亲和力的1.5到50倍。

21.根据权利要求19所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其亲和力是具有对应于SEQ ID NO:1的V_H序列和对应于SEQ ID NO:2的V_L序列的抗体的亲和力的2到30倍。

22.根据权利要求20所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其亲和力是具有对应于SEQ ID NO:9的重链序列和对应于SEQ ID NO:10的轻链序列的抗体的亲和力的2到30倍。

23.根据权利要求19所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其中所述亲和力是采用生物传感器分析的K_D的量度。

24.根据权利要求20所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其中所述亲和力是采用生物传感器分析的K_D的量度。

25.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其经纯化。

26.根据权利要求25所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段，其经纯化到至少85％均质性。

27.一种抗体-药物结合物，其包含根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段。

28.一种医药组合物，其包含根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段或根据权利要求27所述的抗体-药物结合物，和医药学上可接受的载剂。

29.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段、根据权利要求27所述的抗体-药物结合物或根据权利要求28所述的医药组合物在制备治疗癌症的药物中的用途。

30.根据权利要求29所述的用途，其中所述癌症为结肠转移癌、直肠转移癌、非鳞状非小细胞肺癌或转移性HER2阴性乳癌。

31.根据权利要求30所述的用途，其中所述癌症为不可切除、局部晚期、复发性或转移性的非鳞状非小细胞肺癌。

32.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段、根据权利要求27所述的抗体-药物结合物或根据权利要求28所述的医药组合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗年龄相关性黄斑部变性。

33.根据权利要求1到6中任一权利要求所述的抗VEGF抗体或抗VEGF结合片段、根据权利要求27所述的抗体-药物结合物或根据权利要求28的医药组合物在制备药物中的用途，

所述药物用于治疗免疫病症。

34.根据权利要求33所述的用途，其中所述免疫病症为类风湿性关节炎或格雷夫氏病(Grave's disease)。

抗VEGF抗体和其用途

[0001] 相关申请案的交叉参考和序列表

[0002] 本申请案根据35 U.S.C.§119(e)主张2009年6月17日申请的美国临时申请案第61/218,005号的权益,该案的内容以全文引用的方式并入本文中。

[0003] 本申请案含有序列表,所述序列表已经通过EFS-Web提交并且以全文引用的方式并入本文中。在2010年6月15日创建的所述ASCII复本命名为381493PC.txt且大小为141,482个字节。

技术领域

[0004] 本发明涉及抗VEGF抗体、包含抗VEGF抗体的医药组合物和这些抗体的治疗用途。

背景技术

[0005] 血管生成因牵涉到多种病理学病状而成为了有吸引力的治疗目标,所述病理学病状包括肿瘤生长、增生性视网膜病、年龄相关性黄斑部变性、类风湿性关节炎(RA)和牛皮癣(弗克曼(Folkman)等人,1992,生物化学杂志(J.Biol.Chem.)267:10931-10934)。根据对移殖肿瘤所诱导的强烈新生血管反应的观察结果第一次指明了特定分子血管生成因子。现已知血管生成是大多数原发肿瘤生长和其后续转移所必需的。此后众多分子已与血管生成的正调控相关联,所述分子包括转化生长因子(TGF)-α、TGF-β、肝细胞生长因子(HGF)、肿瘤坏死因子-α、血管生成素、白细胞介素(IL)-8和血管内皮生长因子(VEGF,也称为VEGFA或血管通透性因子(vascular permeability factor,VPF))(费瑞拉(Ferrara)等人,2003,自然-医学(Nature Medicine)9:669-676)。

[0006] VEGF蛋白质是与正常胚胎血小管生成(胚胎循环系统的重新形成)和异常血管生成(由预先存在的血管结构生长血管)两者有关的重要信号传导蛋白质(费瑞拉等人,1996,自然(Nature)380:439-442;德沃克(Dvorak)等人,1995,美国病理学杂志(Am.J.Pathol.)146:1029-1039)。VEGF与实体肿瘤和血液科恶性疾病、眼间新生血管综合症、炎症和脑水肿以及雌性生殖道病变相关(费瑞拉等人,2003,自然-医学,9:669-676)。VEGF mRNA在许多人类肿瘤中过度表达,所述人类肿瘤包括肺、乳房、胃肠道、肾、胰脏和卵巢肿瘤(贝克曼(Berkman)等人,1993,临床研究杂志(J.Clin.Invest.),91:153-159)。眼睛水状液和玻璃状液中VEGF的增加已与各种视网膜病相关联(艾俄罗(Aiello)等人,1994,新英格兰医学杂志(N.Engl.J.Med.)331:1480-1487)。年龄相关性黄斑部变性(AMD)是老年人视力丧失的主要原因,它是由新血管生成和血管渗漏引起。已显示在受AMD影响的患者的脉络膜新生血管膜中VEGF的位置(洛佩兹(Lopez)等人,1996,眼科研究与视力学(Invest.Ophtalmo.Vis.Sci.)37:855-868)。

[0007] VEGF基因家族包括原型成员VEGFA,以及VEGFB、VEGFC、VEGFD和胎盘生长因子(PLGF)。人类VEGFA基因被组织成由七个内含子隔开的八个外显子的形式。存在VEGF的至少六种不同的同功异型物:$VEGF_{121}$、$VEGF_{145}$、$VEGF_{162}$、$VEGF_{165}$、$VEGF_{165b}$、$VEGF_{183}$、$VEGF_{189}$和$VEGF_{206}$,其中下标是指在信号裂解之后剩余的氨基酸数目。天然VEGF为45kDa同源二聚肝素

结合糖蛋白(费瑞拉等人,2003,自然-医学,9:669-676)。VEGF(尤其VEGFA)结合于两种相关的受体酪氨酸激酶VEGFR-1(也称为Flt-1)和VEGFR-2(也称为Flk-1或激酶域区(KDR)或CD309)。各受体都具有七个细胞外区域和一个跨膜区域。VEGF也结合于神经纤毛蛋白NRP1(也称为血管内皮细胞生长因子165受体(VEGF165R)或CD304)和NRP2(也称为血管内皮细胞生长因子165受体2(VEGF165R2))。

[0008] 考虑到VEGF在调控血管生成方面的重要作用,其为治疗性干预提供了一种有吸引力的目标。实际上,当前正在开发多种旨在阻断VEGF或其受体信号传导系统的治疗策略用于治疗赘生性疾病。抗VEGF抗体贝伐单抗(bevacizumab),也称为rhuMAb VEGF或Avastin®,是一种由基因泰克公司(Genentech)制造和出售的重组人源化抗VEGF单克隆抗体(普雷斯塔(Presta)等人,1997,癌症研究(Cancer Res.)57:4593-4599)。为了构建贝伐单抗,将鼠类抗VEGF单克隆抗体A.4.6.1的互补决定区(CDR)接枝到人类框架和IgG恒定区上。接着除CDR以外将额外突变引入分子中以改良结合,得到约93%的氨基酸序列源自人类IgG_1且约7%的序列源自鼠类抗体A.4.6.1的抗体。贝伐单抗的分子质量为约149,000道尔顿且经糖基化。

[0009] 兰尼单抗(Ranibizumab)是一种源自贝伐单抗的亲和力成熟的Fab片段。兰尼单抗对VEGF具有较高亲和力且尺寸也较小,从而使其更好地穿透视网膜,且因此可治疗与AMD相关的眼部新血管生成(李恩(Lien)和罗曼(Lowman),科纳乔瓦斯基(Chernajovsky),2008,治疗性抗体(Therapeutic Antibodies).实验药理学手册(Handbook of Experimental Pharmacology)181,施普林格-维拉格出版社(Springer-Verlag),柏林海德堡(Berlin Heidelberg)131-150)。兰尼单抗是由基因泰克公司开发且以商标名Lucentis®出售。

[0010] 用包括Avastin®的方案治疗癌症患者会导致副作用,包括高血压、蛋白尿、血栓栓塞事件(thromboembolic event)、出血和心脏毒性(鲍文斯(Blowers)和霍尔(Hall),2009,英国护理学杂志(Br.J.Nurs.)18(6):351-6,358)。另外,尽管贝伐单抗是人源化抗体,但其在投予人类时会引起免疫反应。此类免疫反应可导致在免疫复合物介导下自循环中清除抗体或片段,并使得重复投药不适用于疗法,由此降低对患者的治疗益处且限制抗体的再投予。

[0011] 因此,需要提供改良的抗VEGF抗体或片段,其可例如通过产生亲和力高于贝伐单抗且可以较低剂量投予的变体或免疫原性和其它副作用比贝伐单抗小的变体来克服一个或一个以上所述问题。

[0012] 背景技术部分中或本申请案任何其它部分中对任何参考文献的引用或标识不应解释为承认此参考文献可用作本发明的现有技术。

发明内容

[0013] 本发明涉及与贝伐单抗或兰尼单抗相比较,免疫原性有所降低和/或对VEGF的亲和力有所改良的抗VEGF抗体贝伐单抗的变体。贝伐单抗具有三个重链CDR,在本文中(按氨基末端到羧基末端的顺序)称为CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;以及三个轻链CDR,在本文中(按氨基末端到羧基末端的顺序)称为CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。贝伐单抗CDR的序列展示于图1A和图1B中,且其编号列于表1(关于重链CDR)和表2(关于轻链CDR)中。相关抗体兰尼单抗是通过使贝伐单抗亲和力成熟而产生。兰尼单抗具有与贝伐单抗一致的CDR-L1、CDR-L2、

CDR-L3和CDR-H2序列，但是其CDR-H1和CDR-H3序列不同于贝伐单抗。兰尼单抗的重链和轻链序列展示于图1C中，且CDR展示于图1D中。

[0014] 与贝伐单抗和兰尼单抗相比较，本发明抗体一般在至少一个重链CDR中具有至少一个氨基酸取代。

[0015] 在某些方面中，与贝伐单抗或兰尼单抗相比较，抗VEGF抗体包括至少一个选自以下的取代：CDR-H1中的N31F、CDR-H2中的K64S、CDR-H2中的K64Q、CDR-H2中的Y53F、CDR-H3中的H97E、CDR-H3中的H97D、CDR-H3中的H97P、CDR-H3中的Y98F、CDR-H3中的Y99E、CDR-H3中的Y99D、CDR-H3中的S100aG和CDR-L2中的T51A。在其它方面中，抗VEGF抗体包括至少一个选自表8和表9的取代。可并入亲和力改良的变体抗体中的额外突变可为候选脱免疫取代(deimmunizing substitution)，例如表6中所述者；以及其它突变，例如不会破坏抗体结合于VEGF的能力的取代，包括(但不限于)表10和表11中所述的突变，或已知突变，例如表12-1到12-9和表13中所述的突变。可合并的其它突变包括(但不限于)表14到表16中所述的突变。

[0016] 在特定实施例中，本发明的抗VEGF抗体包括选自表7的取代和任选存在的一个或一个以上额外突变的组合，所述额外突变为例如候选脱免疫取代，例如表6中所述者；以及其它突变，例如不会破坏抗体结合于VEGF的能力的取代，包括(但不限于)表10和表11中所述的突变，或已知突变，例如表12-1到12-9和表13中所述的突变。可并入本发明的抗VEGF抗体中的其它突变包括(但不限于)表14到表16中所述的突变。

[0017] 在其它实施例中，本发明的抗VEGF抗体包括一个或一个以上以下CDR取代：K64S(CDR-H2)、K64Q(CDR-H2)、Y53F和K64Q(CDR-H2)、H97E和Y98F(CDR-H3)或T51A(CDR-L2)。抗VEGF抗体也可任选包括一个或一个以上额外突变或突变的组合，所述突变选自表6、7、8、9、10、11、12-1到12-9或13到16中的一者或一者以上。

[0018] 其它CDR取代可包括N31F(CDR-H1)；H97E(CDR-H3)；H97D(CDR-H3)；H97P(CDR-H3)；Y99E(CDR-H3)；Y99D(CDR-H3)；S100aG(CDR-H3)(其中CDR-H3中的3位任选不为酪氨酸)；T28P、N31F、N31G和N31M(CDR-H1)；H97A、H97Q、H97S、H97T、S100aD、S100aE和S100Av(CDR-H3)；T30W、T30R或T30Q(CDR-H1)；Y53F、T58F、A61G、A61K、A61R、A61H、A61Y、K64G、K64E、R65L、R65T、R65A、R65E和R65D(CDR-H2)；以及Y98F和Y100eF(CDR-H3)。CDR任选含有一个或一个以上额外突变或突变的组合，所述突变选自表6、7、8、9、10、11、12-1到12-9和13中的一者或一者以上。

[0019] 其它取代可包括重链CDR取代，包括选自以下的取代的组合：(a)在CDR-H1中的N31F、在CDR-H3中的H97D、在CDR-H3中的Y99D和在CDR-H3中的S100aG；(b)在CDR-H1中的N31F、在CDR-H3中的H97P、在CDR-H3中的Y99D和在CDR-H3中的S100aG；(c)在CDR-H1中的N31F、在CDR-H3中的H97P和在CDR-H3中的Y99E；(d)在CDR-H1中的N31F、在CDR-H3中的H97E和在CDR-H3中的Y99E；(e)在CDR-H1中的N31F、在CDR-H3中的H97D和在CDR-H3中的Y99E；(f)在CDR-H1中的N31F、在CDR-H3中的H97E、在CDR-H3中的Y99D和在CDR-H3中的S100aG；(g)在CDR-H1中的N31F、在CDR-H3中的Y99D和在CDR-H3中的S100aG；(h)在CDR-H1中的N31F、在CDR-H3中的H97P和在CDR-H3中的Y99D；(i)在CDR-H1中的N31F、在CDR-H3中的H97D和在CDR-H3中的S100aG；(j)在CDR-H1中的N31F和在CDR-H3中的S100aG；或(k)在CDR-H1中的N31F、在CDR-H3中的H97P和在CDR-H3中的S100aG。其它任选存在的取代可包括一个或一个以上额外

突变或突变的组合，所述突变选自表6、7、8、9、10、11、12-1到12-9和13中的一者或一者以上。

[0020] 其它重链取代可包括至少一个选自以下的取代：在CDR-H2中的A61F、在CDR-H2中的A61E、在CDR-H2中的A61D、在CDR-H2中的D62L、在CDR-H2中的D62G、在CDR-H2中的D62Q、在CDR-H2中的D62T、在CDR-H2中的D62K、在CDR-H2中的D62R、在CDR-H2中的D62E、在CDR-H2中的D62H、在CDR-H2中的K64S、在CDR-H2中的K64V、在CDR-H2中的K64Q、在CDR-H2中的R65V、在CDR-H2中的R65F、在CDR-H2中的R65H、在CDR-H2中的R65N、在CDR-H2中的R65S、在CDR-H2中的R65Q、在CDR-H2中的R65K、在CDR-H2中的R65I和在CDR-H3中的Y98H。任选可包括一个或一个以上额外突变或突变的组合，所述突变选自表7、8、9、10、11、12-1到12-9到13中的一者或一者以上。

[0021] 在某些方面中，本发明抗体具有与贝伐单抗或兰尼单抗的VH和VL序列具有至少80％序列一致性(且在某些实施例中，具有至少85％、至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列一致性)的VH和VL序列，且与贝伐单抗或兰尼单抗相比较在至少一个CDR中包括至少一个氨基酸取代。在其它方面中，本发明抗体具有与贝伐单抗或兰尼单抗的VH和VL序列具有至少80％序列一致性(且在某些实施例中，具有至少85％、至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列一致性)的VH和VL序列，且与贝伐单抗或兰尼单抗相比较在至少一个框架区中包括至少一个氨基酸取代。在特定实施例中，所述重链和所述轻链与贝伐单抗或兰尼单抗的VH和VL序列相比较的序列一致性百分比独立地选自至少80％、至少85％、至少90％、至少95％序列一致性或至少99％序列一致性。在某些方面中，本发明抗体具有与贝伐单抗或兰尼单抗的VH和/或VL序列具有至少95％、至少98％或至少99％序列一致性的VH和/或VL序列。

[0022] 在某些方面中，与贝伐单抗或兰尼单抗相比较，本发明抗体在其CDR中具有至多17个氨基酸取代。保持目标结合能力的具有17个氨基酸取代的变体抗体已由博斯托姆(Bostrom)等人，2009，科学(Science)323:1610-14产生。

[0023] 在特定实施例中，本发明的抗VEGF抗体独立地具有：

[0024] ●与贝伐单抗或兰尼单抗的相应CDR相比较，至多一个、至多两个、至多三个、至多四个、至多五个、至多六个、至多七个、至多八个、至多九个或至多十个CDR-H1取代；

[0025] ●与贝伐单抗或兰尼单抗的相应CDR相比较，至多一个、至多两个、至多三个、至多四个、至多五个、至多六个、至多七个、至多八个、至多九个、至多十个、至多十一个、至多十二个、至多十三个、至多十四个、至多十五个、至多十六个或至多十七个CDR-H2取代；

[0026] ●与贝伐单抗或兰尼单抗的相应CDR相比较，至多一个、至多两个、至多三个、至多四个、至多五个、至多六个、至多七个、至多八个、至多九个、至多十个、至多十一个、至多十二个、至多十三个或至多十四个CDR-H3取代；

[0027] ●与贝伐单抗或兰尼单抗的相应CDR相比较，至多一个、至多两个、至多三个、至多四个、至多五个、至多六个、至多七个、至多八个、至多九个、至多十个或至多十一个CDR-L1取代；

[0028] ●与贝伐单抗或兰尼单抗的相应CDR相比较，至多一个、至多两个、至多三个、至多四个、至多五个、至多六个或至多七个CDR-L2取代；和

[0029] ●与贝伐单抗或兰尼单抗的相应CDR相比较，至多一个、至多两个、至多三个、至多

四个、至多五个、至多六个、至多七个、至多八个或至多九个CDR-L3取代。

[0030] 本发明进一步提供包含经修饰抗VEGF抗体的医药组合物。在一些方面中，医药组合物具有与贝伐单抗或兰尼单抗相比较增加的对VEGF的亲和力和/或降低的免疫原性。

[0031] 本文提供包含编码本发明的抗VEGF抗体的核苷酸序列的核酸以及包含所述核酸的载体。另外，本文提供用包含编码抗VEGF抗体的核苷酸序列的载体转化的原核和真核宿主细胞，以及经工程改造成表达所述核苷酸序列的真核(例如哺乳动物)宿主细胞。也提供通过培养宿主细胞产生抗VEGF抗体的方法。

[0032] 本发明的抗VEGF抗体适用于治疗癌症(例如结肠癌、直肠癌、非小细胞肺癌和乳癌)、视网膜疾病(例如年龄相关性黄斑部变性(“AMD”))和免疫病症(例如类风湿性关节炎)。

[0033] 在某些方面中，本发明的抗VEGF抗体相比贝伐单抗或兰尼单抗可以减低的剂量使用，例如减低至少10％、至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％或至少90％的剂量。

[0034] 应注意，除非上下文另有明确指示，否则本申请案中使用不定冠词“一个(种)”和定冠词“所述”与在专利申请案中所常见一般，意谓一个或一个以上(种)。此外，本申请案中使用术语“或”与在专利申请案中所常见一般，意谓转折词(disjunctive)“或”或连接词(conjunctive)“和”。

[0035] 本说明书中提及的所有出版物都以引用的方式并入本文中。有关本说明书中所包括的文献、条例、材料、装置、物品等的任何论述仅出于为本发明提供背景的目的。不应视为承认任何或所有这些内容构成现有技术基础的一部分或作为与本发明相关的领域中的普通常识，因为其在本申请案的优先日期之前已处处存在。

[0036] 根据以下关于本发明实施例的详细描述，本发明的特征和优点将变得更显而易知。

[0037] 表格及附图说明

[0038] 表1展示贝伐单抗重链CDR中的氨基酸的编号。CDR 1-3分别被揭示为SEQ ID NOS：3-5。

[0039] 表2展示贝伐单抗轻链CDR中的氨基酸的编号。CDR 1-3分别被揭示为SEQ ID NOS：6-8。

[0040] 表3展示已测试过免疫原性的贝伐单抗VL肽。

[0041] 表4展示已测试过免疫原性的贝伐单抗VH肽。

[0042] 表5展示贝伐单抗中经鉴别的$CD4^+$T细胞表位区。CDR区域加有下划线。

[0043] 表6展示CDR-H2和CDR-H3中降低贝伐单抗免疫原性的候选突变。表6中的氨基酸编号对应于贝伐单抗重链中的卡贝特(Kabat)编号。

[0044] 表7展示通过表面等离子共振分析得知的贝伐单抗中使K_D改良的重链CDR氨基酸取代。Δk_{on}是指k_{on}的改良倍数(突变体/WT)。Δk_{off}是指k_{off}的改良倍数(WT/突变体)。ΔK_D是指突变体相对于野生型的K_D的改良。表7中的氨基酸编号对应于贝伐单抗重链中的卡贝特编号。

[0045] 表8展示初步结合研究指示可增加对VEGF的亲和力(数据未示)的贝伐单抗重链CDR中的突变。表8中的氨基酸编号对应于贝伐单抗重链中的卡贝特编号。

[0046] 表9展示初步研究指示可增加对VEGF的亲和力(数据未示)的贝伐单抗重链CDR中的突变。表9中的氨基酸编号对应于贝伐单抗重链中的卡贝特编号。

[0047] 表10展示不影响结合且可并入本发明抗体中的贝伐单抗重链CDR中的突变。表10中的氨基酸编号对应于贝伐单抗重链中的卡贝特编号。

[0048] 表11展示不影响结合且可并入本发明抗体中的贝伐单抗轻链CDR中的突变。表11中的氨基酸编号对应于贝伐单抗轻链中的卡贝特编号。

[0049] 表12-1到12-9展示可并入本发明抗体中的贝伐单抗重链CDR中的已知突变。表12-1到12-9中的各行包括不同的已知变体。对于各变体,已知CDR序列用阴影表示。表12-1到12-9中所标识的各变体的序列标识符分别列于表20-1到20-9中。CDR-H1栏提供CDR-H1的部分序列。CDR-H1的最终天冬酰胺未展示。所述部分序列对应于SEQ ID NO:411。尽管在此部分序列情形下展示了CDR-H1中的已知突变,但应注意到突变存在于全长CDR的情形下。

[0050] 表13展示可并入本发明抗体中的贝伐单抗轻链CDR中的已知突变。表13中各行包括不同已知变体。对于各变体,已知CDR序列用阴影表示。表13中所标识的各变体的序列标识符列于表20-10中。

[0051] 表14展示已测试过免疫原性的贝伐单抗CDR2VH肽,其中相比SEQ ID NO:62未改变的残基由空白方框指示。也提供CD4+T细胞分析结果。

[0052] 表15展示已测试过免疫原性的贝伐单抗CDR3VH肽,其中相比SEQ ID NO:74未改变的残基由空白方框指示。也提供CD4+T细胞分析结果。

[0053] 表16展示已测试过免疫原性的贝伐单抗CDR2VL肽,其中相比SEQ ID NO:25未改变的残基由空白方框指示。也提供CD4+T细胞分析结果。

[0054] 表17展示所选针对贝伐单抗中三个CD4+T细胞表位的表位修饰。

[0055] 表18展示单一可变区突变体及其相关平均荧光强度(MFI)计分。

[0056] 表19展示组合可变区突变体及其相关EC_{50}。

[0057] 表20-1到20-10展示SEQ ID NOS,其中已知对应于贝伐单抗的CDR的变体分别列于表12-1到12-9和表13中。N/A指示未知CDR序列。

[0058] 图1A-1D.图1A展示贝伐单抗重链和轻链可变区的氨基酸序列,分别为SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2,其中CDR区用粗体、加下划线的文字表示。图1B展示贝伐单抗的CDR序列和相应序列标识符。图1C展示兰尼单抗重链和轻链的氨基酸序列,分别为SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10,其中CDR区用粗体、加下划线的文字表示。图1D展示兰尼单抗的CDR序列和相应序列标识符。

[0059] 图2A-2B展示贝伐单抗VL肽反应。图2A展示在2.95或2.95以上的刺激指数下对各VL肽起反应的供体的百分比。N=99个供体。图2B展示各肽对全部99个供体的平均刺激指数加上或减去标准误差。

[0060] 图3A-3B展示贝伐单抗VH肽反应。图3A展示在2.95或2.95以上的刺激指数下对各VH肽起反应的供体的百分比。N=99个供体。图3B展示各肽对全部99个供体的平均刺激指数加上或减去标准误差。

[0061] 图4A-4C展示对突变贝伐单抗表位肽的CD4+T细胞反应。对未经修饰的亲本表位序列的平均反应用空心标记指示。大圆指示表17中提及的所选变化。图4A针对VH CDR2肽;图4B针对VH CDR3肽;且图4C针对VL CDR2肽。

具体实施方式

[0062] 6.1 抗VEGF抗体

[0063] 本发明提供抗VEGF抗体。除非另有指示，否则术语“抗体”(Ab)是指特异性结合于特定抗原或与特定抗原免疫反应的免疫球蛋白分子，且包括多克隆抗体、单克隆抗体、经基因工程改造的抗体和以其它方式修饰的形式的抗体，包括(但不限于)嵌合抗体、人源化抗体、异源结合抗体(例如双特异性抗体、双功能抗体、三功能抗体和四功能抗体)，以及抗体的抗原结合片段，包括例如Fab′、F(ab′)$_2$、Fab、Fv、rIgG和scFv片段。此外，除非另有指示，否则术语“单克隆抗体”(mAb)拟包括完整分子以及能够特异性结合蛋白质的抗体片段(例如Fab和F(ab′)$_2$片段)两者。Fab和F(ab′)$_2$片段缺乏完整抗体的Fc片段，从动物循环中清除的速度较快，并且可具有比完整抗体低的非特异性组织结合性(瓦尔(Wahl)等人，1983，核医学杂志(J.Nucl.Med.)24:316)。

[0064] 术语“scFv”是指单链Fv抗体，其中来自传统抗体的重链和轻链的可变域已经接合形成一条链。

[0065] 提及的“VH”是指抗体免疫球蛋白重链(包括Fv、scFv或Fab的重链)的可变区。提及的“VL”是指免疫球蛋白轻链(包括Fv、scFv、dsFv或Fab的轻链)的可变区。抗体(Ab)和免疫球蛋白(Ig)是具有相同结构特征的糖蛋白。抗体对特定目标展现结合特异性，而免疫球蛋白包括抗体与其它缺乏目标特异性的抗体样分子两者。天然抗体和免疫球蛋白通常为约150,000道尔顿的异源四聚糖蛋白，其由两条相同轻(L)链和两条相同重(H)链构成。每一重链在氨基末端具有可变域(VH)，其后为多个恒定域。每一轻链在氨基末端具有可变域(VL)且在羧基末端具有恒定域。

[0066] 本发明的抗VEGF抗体在细胞内结合于人类VEGF并抑制VEGF受体活性。

[0067] 本发明的抗VEGF抗体含有在序列上与抗体贝伐单抗(也称为Avastin®)和/或兰尼单抗(也称为Lucentis®)的CDR相关的互补决定区(CDR)。

[0068] 也已知CDR为轻链和重链可变域中的高变区。可变域中较为高度保守的部分被称为框架(FR)。如此项技术中所知，描绘抗体高变区的氨基酸位置/边界可视此项技术中已知的情形和各种定义而变化。可变域内的一些位置可视为杂合高变位置，因为这些位置依据一组标准可视为在高变区内，而依据一组不同的标准则可视为在高变区外。这些位置中一者或一者以上也可见于扩展的高变区中。本发明提供在这些杂合高变位置中包含修饰的抗体。天然重链和轻链的可变域各包含四个主要采用β折叠构型经由三个CDR连接的FR区，所述CDR形成连接β折叠结构的环，且在一些情况下形成β折叠结构的一部分。各链中的CDR经由FR区按顺序FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4紧密地固持在一起，且与另一链的CDR一起促使抗体的目标结合位点形成(参见卡贝特等人，免疫相关蛋白质序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)(国立卫生研究院(National Institute of Health)，马里兰州贝塞斯达(Bethesda,Md.)1987)。除非另有指示，否则如本文所用，对免疫球蛋白氨基酸残基的编号是根据卡贝特等人的免疫球蛋白氨基酸残基编号系统进行。

[0069] 贝伐单抗的重链和轻链可变区序列分别以SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2表示。重链和轻链可变区的序列也显示于图1A中。贝伐单抗的CDR序列及其相应标识符呈现于图1B中。编码SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2的任何核苷酸序列都可用于本发明的组合物和方法中。

[0070] 兰尼单抗的重链和轻链序列分别以SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10表示。重链和轻链的序列也显示于图1C中。兰尼单抗的CDR序列及其相应标识符呈现于图1D中。编码SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的任何核苷酸序列都可用于本发明的组合物和方法中。

[0071] 本发明进一步提供包含与贝伐单抗和兰尼单抗的CDR序列相关的CDR序列的抗VEGF抗体片段。术语“抗体片段”是指全长抗体的一部分，一般为目标结合区或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab′、F(ab′)$_2$和Fv片段。“Fv”片段是含有完整目标识别位点和结合位点的最小抗体片段。此区域由一个重链可变域与一个轻链可变域紧密、非共价缔合的二聚体(VH-VL二聚体)组成。正是在此构型中各可变域的三个CDR相互作用以界定在VH-VL二聚体表面上目标结合位点。六个CDR常赋予抗体目标结合特异性。然而，在有些情况下，甚至单一可变域(或仅包含三个对目标具有特异性的CDR的一半Fv)也可具有识别且结合目标的能力。“单链Fv”或“scFv”抗体片段包含呈单一多肽链的抗体的VH和VL域。一般说来，Fv多肽进一步包含介于VH与VL域之间使scFv能够形成目标结合所需的结构的多肽连接子。“单域抗体”是由对目标展现足够亲和力的单一VH或VL域构成。在一个特定实施例中，单域抗体为骆驼抗体(camelid antibody)(参见例如瑞奇曼(Riechmann)，1999，免疫方法杂志(Journal of Immunological Methods)231:25-38)。

[0072] Fab片段含有轻链的恒定域和重链的第一恒定域(CH_1)。Fab′片段因在重链CH_1域的羧基末端添加数个残基(包括一个或一个以上来自抗体铰链区的半胱氨酸)而与Fab片段不同。F(ab′)片段是通过裂解F(ab′)$_2$胃蛋白酶消化产物的铰链半胱氨酸处的二硫键产生。抗体片段的其它化学偶合为所属领域一般技术人员所知。

[0073] 在某些实施例中，本发明的抗VEGF抗体为单克隆抗体。本文所用的术语“单克隆抗体”不限于通过杂交瘤技术产生的抗体。术语“单克隆抗体”是指抗体源自单一克隆，包括任何真核、原核或噬菌体克隆，而不是由可产生所述抗体的方法产生。适于结合本发明使用的单克隆抗体可使用此项技术已知的各种技术来制备，包括使用杂交瘤、重组体和噬菌体呈现技术或其组合。本发明的抗VEGF抗体包括嵌合抗体、灵长类化抗体、人源化抗体或人类抗体。

[0074] 本发明的抗VEGF抗体可为嵌合抗体。本文所用的术语“嵌合”抗体是指抗体具有源自非人类免疫球蛋白(例如大鼠或小鼠抗体)的可变序列和通常选自人类免疫球蛋白模板的人类免疫球蛋白恒定区。用于产生嵌合抗体的方法是此项技术中已知的。参见例如莫里森(Morrison)，1985，科学，229(4719):1202-7；敖(Oi)等人，1986，生物技术(BioTechniques)4:214-221；吉尔利斯(Gillies)等人，1985，免疫法杂志(J.Immunol.Methods)125:191-202；美国专利第5,807,715号、第4,816,567号和第4,816397号，所述文献以全文引用的方式并入本文中。

[0075] 本发明的抗VEGF抗体可被人源化。非人类(例如鼠类)抗体的“人源化”形式是含有源自非人类免疫球蛋白的最小序列的嵌合免疫球蛋白、其免疫球蛋白链或片段(例如，Fv、Fab、Fab′、F(ab′)$_2$或抗体的其它目标结合子域)。一般说来，人源化抗体将包含至少一个且通常两个可变域的实质上全部，其中全部或实质上全部CDR区对应于非人类免疫球蛋白的CDR区且全部或实质上全部FR区为人类免疫球蛋白序列的FR区。人源化抗体也可包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分，通常为人类免疫球蛋白共同序列的至少一部分。抗体人源化的方法在此项技术中为已知的。参见例如瑞奇曼等人，1988，自然，332:323-7；奎恩

(Queen)等人的美国专利第5,530,101号、第5,585,089号、第5,693,761号、第5,693,762号和第6,180,370号;EP239400;PCT公开案WO 91/09967;美国专利第5,225,539号;EP592106;EP519596;帕德兰(Padlan),1991,分子免疫学(Mol.Immunol.),28:489-498;斯图妮卡(Studnicka)等人,1994,保护工程(Prot.Eng.)7:805-814;罗古斯卡(Roguska)等人,1994,美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.)91:969-973;和美国专利第5,565,332号,所有所述文献都以全文引用的方式并入本文中。

[0076] 本发明的抗VEGF抗体可为人类抗体。完全“人类”抗VEGF抗体可为治疗性治疗人类患者所需的。如本文所用,“人类抗体”包括具有人类免疫球蛋白氨基酸序列的抗体且包括自人类免疫球蛋白文库或自转入一个或一个以上人类免疫球蛋白基因且不表达内源性免疫球蛋白的动物分离的抗体。人类抗体可由此项技术中已知的各种方法制备,所述方法包括使用源自人类免疫球蛋白序列的抗体文库的噬菌体呈现方法。参见美国专利第4,444,887号和第4,716,111号;以及PCT公开案WO 98/46645、WO 98/50433、WO 98/24893、WO 98/16654、WO 96/34096、WO 96/33735和WO 91/10741,所述文献各自以全文引用的方式并入本文中。也可使用不能表达功能内源性免疫球蛋白但可表达人类免疫球蛋白基因的转基因小鼠来产生人类抗体。参见例如PCT公开案WO 98/24893、WO 92/01047、WO 96/34096、WO 96/33735;美国专利第5,413,923号、第5,625,126号、第5,633,425号、第5,569,825号、第5,661,016号、第5,545,806号、第5,814,318号、第5,885,793号、第5,916,771号和第5,939,598号,所述文献以全文引用的方式并入本文中。此外,例如麦德雷斯公司(Medarex)(新泽西州普林斯顿(Princeton,NJ))、阿斯特拉制药公司(Astellas Pharma)(伊利诺伊州迪尔菲尔德(Deerfield,IL))、安进公司(Amgen)(加利福尼亚州千橡城(Thousand Oaks,CA))和雷杰纳荣公司(Regeneron)(纽约州塔里敦(Tarrytown,NY))等公司可使用与上文所述类似的技术来致力于提供针对所选抗原的人类抗体。可使用称为“定向选择(guided selection)”的技术来产生识别所选表位的完全人类抗体。在此方法中,使用所选非人类单克隆抗体(例如,小鼠抗体)引导选择识别相同表位的完全人类抗体(杰斯普斯(Jespers)等人,1988,生物技术,12:899-903)。

[0077] 本发明的抗VEGF抗体可被灵长类化。术语“灵长类化抗体”是指包含猴可变区和人类恒定区的抗体。用于产生灵长类化抗体的方法在此项技术中为已知的。参见例如美国专利第5,658,570号、第5,681,722号和第5,693,780号,所述文献以全文引用的方式并入本文中。

[0078] 本发明的抗VEGF抗体可为双特异性抗体。双特异性抗体是通常为人类或人源化的单克隆抗体,其对至少两种不同抗原具有结合特异性。在本发明中,一种结合特异性可针对VEGF,另一种可针对任何其它抗原,例如针对细胞表面蛋白质、受体、受体亚基、组织特异性抗原、病毒源性蛋白质、病毒编码的包膜蛋白质、细菌源性蛋白质或细菌表面蛋白质等。在一个特定实施例中,本发明抗体是对VEGF和CD3两者具有结合特异性的双特异性抗体。

[0079] 本发明的抗VEGF抗体包括衍生化抗体。举例来说(但不作为限制),衍生化抗体通常通过以下方式来修饰:糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、利用已知保护/阻隔基进行的衍生化、蛋白水解裂解、键联到细胞配体或其它蛋白质(参见6.6节关于抗体结合物的论述)等。众多化学修饰中的任一者都可通过已知技术进行,所述技术包括(但不限于)特异性化学裂解、乙酰化、甲酰化、衣霉素(tunicamycin)的代谢合成等。另外,衍生物可含

有一个或一个以上非天然氨基酸，例如使用安布斯(ambrx)技术(参见例如沃夫森(Wolfson)，2006，化学与生物学(Chem.Biol.)13(10)：1011-2)。

[0080] 在本发明的另一实施例中，抗VEGF抗体或其片段可为序列已经修饰成相对于相应野生型序列改变至少一种恒定区介导的生物效应功能的抗体或抗体片段。

[0081] 举例来说，在一些实施例中，本发明的抗VEGF抗体可经修饰成相对于未经修饰的抗体降低至少一种恒定区介导的生物效应功能，例如降低与Fc受体(FcγR)的结合。FcγR结合可通过使抗体的免疫球蛋白恒定区区段在FcγR相互作用所必需的特定区域处发生突变来降低(参见例如坎菲尔德(Canfield)和莫里森(Morrison)，1991，实验医学杂志(J.Exp.Med.)173：1483-1491；以及路德(Lund)等人，1991，免疫学杂志(J.Immunol.)147：2657-2662)。降低抗体的FcγR结合能力也会降低其它依赖于FcγR相互作用的效应功能，例如助噬素作用(opsonization)、吞噬作用和抗原依赖性细胞毒性(“ADCC”)。

[0082] 在其它实施例中，本发明的抗VEGF抗体可经修饰成相对于未经修饰的抗体获得或改良至少一种恒定区介导的生物效应功能，例如增强FcγR相互作用(参见例如US 2006/0134709)。举例来说，本发明的抗VEGF抗体可具有以大于相应野生型恒定区的亲和力结合FcγRIIA、FcγRIIB和/或FcγRIIIA的恒定区。

[0083] 因此，本发明抗体可具有使助噬素作用、吞噬作用或ADCC增加或减少的生物活性变化。这些变化在此项技术中为已知的。举例来说，可降低ADCC活性的抗体修饰描述于美国专利第5,834,597号中。一种例示性降低ADCC的变体对应于美国专利第5,834,597号图4中所示的“突变体3”，其中缺失残基236且残基234、235和237(使用EU编号)经丙氨酸取代。

[0084] 在一些实施例中，本发明抗VEGF抗体的岩藻糖含量较低或缺乏岩藻糖。缺乏岩藻糖的抗体与增强的ADCC活性相关联，尤其在低剂量的抗体下。参见谢尔德(Shields)等人，2002，生物化学杂志(J.Biol.Chem.)277：26733-26740；新川(Shinkawa)等人，2003，生物化学杂志，278：3466-73。制备岩藻糖较少的抗体的方法包括在大鼠骨髓瘤YB2/0细胞(ATCC CRL 1662)中生长。YB2/0细胞低水平表达FUT8mRNA，其编码α-1，6-岩藻糖基转移酶(多肽岩藻糖基化必需的一种酶)。

[0085] 在另一方面中，抗VEGF抗体或其片段可为已经例如通过使免疫球蛋白恒定区区段在与FcRn相互作用有关的特定区域处发生突变来进行修饰以增加或降低对胎儿Fc受体FcRn的结合亲和力的抗体或抗体片段(参见例如WO 2005/123780)。在特定实施例中，IgG类别的抗VEGF抗体经突变以使重链恒定区的氨基酸残基250、314和428中的至少一者单独或其任何组合(例如在位置250和428处，或在位置250和314处，或在位置314和428处，或在位置250、314和428处，其中位置250和428为特定组合)经取代。对于位置250，取代氨基酸残基可为除苏氨酸外的任何氨基酸残基，包括(但不限于)丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸。对于位置314，取代氨基酸残基可为除亮氨酸外的任何氨基酸残基，包括(但不限于)丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸。对于位置428，取代氨基酸残基可为除甲硫氨酸外的任何氨基酸残基，包括(但不限于)丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨

酸、色氨酸或酪氨酸。适合氨基酸取代的特定组合标识于美国专利第7,217,797号的表1中，所述表以全文引用的方式并入本文中。所述突变将增加抗体与FcRn的结合，由此保护抗体免于降解且增加其半衰期。

[0086] 在其它方面中，抗VEGF抗体具有一个或一个以上氨基酸插入到其一个或一个以上高变区中，例如张(Jung)和普鲁克坦(Plückthun)，1997，蛋白质工程(Protein Engineering)10(9)：959-966；矢崎(Yazaki)等人，2004，蛋白质工程设计和选择(Protein Eng Des.Sel.)17(5)：481-9.电子版(Epub)2004年8月17日；和US 2007/0280931中所述。

[0087] 在各种实施例中，抗VEGF抗体或其片段可为已经修饰以增加在异源宿主中的表达的抗体或抗体片段。在某些实施例中，抗VEGF抗体或其片段可为已经修饰以增加在异源宿主细胞中的表达和/或自异源宿主细胞分泌的抗体或抗体片段。在一些实施例中，抗VEGF抗体或其片段经修饰以增加在细菌(例如大肠杆菌(E.coli))中的表达。在其它实施例中，抗VEGF抗体或其片段经修饰以增加在酵母中的表达(凯克(Kieke)等人，1999，美国国家科学院院刊(Proc.Nat'l Acad.Sci.USA)96:5651-5656)。在其它实施例中，抗VEGF抗体或其片段经修饰以增加在昆虫细胞中的表达。在其它实施例中，抗VEGF抗体或其片段经修饰以增加在哺乳动物细胞(例如CHO细胞)中的表达。

[0088] 在某些实施例中，抗VEGF抗体或其片段可为已经修饰以增加抗体在产生期间的稳定性的抗体或抗体片段。在一些实施例中，抗体或其片段可经修饰成用不经历脱酰胺化的氨基酸置换一个或一个以上易发生非酶促脱酰胺化的氨基酸(例如天冬酰胺或谷氨酰胺)(黄(Huang)等人，2005，分析化学(Anal.Chem.)77:1432-1439)。在其它实施例中，抗体或其片段可经修饰成用不易发生氧化的氨基酸置换一个或一个以上易发生氧化的氨基酸(例如甲硫氨酸、半胱氨酸或色氨酸)。在其它实施例中，抗体或其片段可经修饰成用不易发生环化的氨基酸置换一个或一个以上易发生环化的氨基酸(例如天冬酰胺或谷氨酸)。

[0089] 6.2 核酸和表达系统

[0090] 本发明涵盖编码本发明的抗VEGF抗体的核酸分子和宿主细胞。

[0091] 可通过在宿主细胞中重组表达免疫球蛋白轻链和重链基因来制备本发明的抗VEGF抗体。为了以重组方式表达抗体，使用带有编码抗体的免疫球蛋白轻链和重链的DNA片段的一个或一个以上重组表达载体转染宿主细胞，以在宿主细胞中表达轻链和重链，且任选分泌到培养宿主细胞的培养基中，从所述培养基中可回收所述抗体。使用标准重组DNA方法获得抗体重链和轻链基因，将这些基因并入重组表达载体中，并将载体引入宿主细胞中，所述方法例如为以下文献中所描述的方法：分子克隆实验手册(Molecular Cloning;A Laboratory Manual)，第二版(萨姆布鲁克(Sambrook)，弗雷特奇(Fritsch)和马尼提斯(Maniatis)编，纽约州冷泉港(Cold Spring Harbor,N.Y.)，1989)、现代分子生物学实验技术(Current Protocols in Molecular Biology)(奥斯贝尔F.M.(Ausubel,F.M.)等人编，格里尼出版协会(Greene Publishing Associates)，1989)和美国专利第4,816,397号。

[0092] 在一个实施例中，抗VEGF抗体类似于贝伐单抗或兰尼单抗，但在一个或一个以上CDR中有变化。在另一实施例中，抗VEGF抗体类似于贝伐单抗或兰尼单抗，但在一个或一个以上框架区中有变化。在又一实施例中，抗VEGF抗体类似于贝伐单抗或兰尼单抗，但在一个或一个以上CDR中和一个或一个以上框架区中有变化。这些抗体在本文中统称为具有“贝伐单抗相关”或“兰尼单抗相关”序列且有时简单称为本发明的抗VEGF抗体。为了产生编码抗

VEGF抗体的核酸，首先获得编码轻链和重链可变区的DNA片段。这些DNA可通过例如使用聚合酶链反应(PCR)扩增并修饰编码轻链和重链可变序列的生殖系DNA或cDNA来获得。人类重链和轻链可变区基因的生殖系DNA序列是此项技术中已知的(参见例如“VBASE”人类生殖系序列数据库；也参见卡贝特E.A.(Kabat,E.A.)等人，1991，免疫相关蛋白质序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)，第五版，美国卫生和公众服务部(U.S.Department of Health and Human Services)，NIH出版社第91-3242号；汤姆林森(Tomlinson)等人，1992，分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)22T:116-198；和科克斯(Cox)等人，1994，欧洲免疫学杂志(Eur.J.Immunol.)24:827-836，所述文献的内容各自以引用的方式并入本文中)。可以合成编码贝伐单抗或兰尼单抗的重链或轻链可变区的DNA片段，并用作诱发突变的模板，以便使用常规诱变技术来产生如本文所述的变体；或者，可直接合成编码所述变体的DNA片段。

[0093] 一旦获得编码抗VEGF VH和VL区段的DNA片段，就可利用标准重组DNA技术进一步处理这些DNA片段，例如将可变区基因转变成全长抗体链基因、Fab片段基因或scFv基因。在这些处理中，编码VL或VH的DNA片段可操作地连接到编码另一蛋白质(例如抗体恒定区或柔性连接子)的另一DNA片段。在此情形中使用的术语“可操作地连接”拟意谓将两个DNA片段接合以使得由这两个DNA片段编码的氨基酸序列保持同框(in-frame)。

[0094] 可通过将编码VH区的经分离DNA可操作地连接到编码重链恒定区(CH_1、CH_2、CH_3和任选存在的CH_4)的另一DNA分子，将所述编码VH的DNA转变成全长重链基因。人类重链恒定区基因序列在此项技术中为已知的(参见例如卡贝特E.A.等人，1991，免疫相关蛋白质序列，第五版，美国卫生和公众服务部，NIH出版社第91-3242号)，且涵盖这些区域的DNA片段可通过标准PCR扩增法获得。重链恒定区可为IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA、IgE、IgM或IgD恒定区，但在某些实施例中为IgG_1或IgG_4恒定区。对于Fab片段重链基因，编码VH的DNA可以可操作地连接到仅编码重链CH_1恒定区的另一DNA分子。

[0095] 可通过将编码VL区的经分离DNA可操作地连接到编码轻链恒定区CL的另一DNA分子，将所述编码VL的DNA转变成全长轻链基因(以及Fab轻链基因)。人类轻链恒定区基因序列在此项技术中为已知的(参见例如卡贝特E.A.等人，1991，免疫相关蛋白质序列，第五版，(美国卫生和公众服务部，NIH出版社第91-3242号))，且涵盖这些区域的DNA片段可通过标准PCR扩增法获得。轻链恒定区可为κ或λ恒定区，但在某些实施例中为κ恒定区。为了产生scFv基因，将编码VH和VL的DNA片段可操作地连接到编码柔性连接子(例如编码氨基酸序列$(Gly4\sim Ser)_3$)的另一片段，以使得VH和VL序列可表达为邻接单链蛋白质，其中VL与VH区由柔性连接子接合(参见例如博德(Bird)等人，1988，科学，242:423-426；休斯顿(Huston)等人，1988，美国国家科学院院刊，85:5879-5883；麦克卡福提(McCafferty)等人，1990，自然，348:552-554)。

[0096] 为了表达本发明的抗VEGF抗体，将如上所述获得的编码部分或全长轻链和重链的DNA插入表达载体中，以使所述基因可操作地连接到转录和翻译控制序列。在此情形中，术语“可操作地连接”拟意谓将抗体基因连接到载体中以使载体内的转录和翻译控制序列发挥其调控抗体基因转录和翻译的预定功能。表达载体和表达控制序列经选择应与所用表达宿主细胞相容。可将抗体轻链基因和抗体重链基因插入单独载体中，或更通常将两种基因插入同一表达载体中。

[0097] 通过标准方法(例如抗体基因片段和载体上互补限制性位点的连接;或如果不存在限制性位点就为平末端连接(blunt end ligation))将抗体基因插入表达载体中。在插入本发明抗VEGF抗体的轻链或重链序列之前,表达载体可已带有抗体恒定区序列。举例来说,一种将抗VEGF VH和VL序列转变成全长抗体基因的方法是将其分别插入已编码重链恒定区与轻链恒定区的表达载体中,以使VH区段可操作地连接到载体内的CH区段且VL区段可操作地连接到载体内的CL区段。另外或或者,重组表达载体可编码能促进宿主细胞分泌抗体链的信号肽。可将抗体链基因克隆到载体中,从而使信号肽与抗体链基因的氨基末端同框连接。信号肽可为免疫球蛋白信号肽或异源信号肽(即,来自非免疫球蛋白蛋白质的信号肽)。

[0098] 除抗体链基因以外,本发明的重组表达载体还带有控制抗体链基因在宿主细胞中的表达的调控序列。术语"调控序列"拟包括启动子、增强子和控制抗体链基因转录或翻译的其它表达控制元件(例如聚腺苷酸化信号)。这些调控序列例如描述于乔德尔(Goeddel),基因表达技术:酶学方法(Gene Expression Technology:Methods in Enzymology)185(学术出版社(Academic Press),加利福尼亚州圣地亚哥(San Diego,CA),1990)中。所属领域技术人员应了解,表达载体的设计(包括调控序列的选择)可取决于例如待转化的宿主细胞的选择、所要蛋白质的表达水平等因素。适用于哺乳动物宿主细胞表达的调控序列包括可引导蛋白质在哺乳动物细胞中高水平表达的病毒元件,例如源自巨细胞病毒(CMV)(例如CMV启动子/增强子)、猿病毒40(SV40)(例如SV40启动子/增强子)、腺病毒(例如腺病毒主要晚期启动子(AdMLP))和多瘤病毒的启动子和/或增强子。有关病毒调控元件及其序列的进一步描述,参见例如斯汀斯奇(Stinski)的美国专利第5,168,062号、贝尔(Bell)等人的美国专利第4,510,245号和斯查夫纳(Schaffner)等人的美国专利第4,968,615号。

[0099] 除抗体链基因和调控序列以外,本发明的重组表达载体还可带有其它序列,例如调控所述载体在宿主细胞中的复制的序列(例如复制起点)和可选择标记基因。可选择标记基因有助于选择引入了载体的宿主细胞(参见例如美国专利第4,399,216号、第4,634,665号和第5,179,017号,均属于艾克西(Axel)等人)。举例来说,通常可选择标记基因会赋予引入了载体的宿主细胞对药物(例如G418、嘌呤霉素(puromycin)、杀稻瘟菌素(blasticidin)、潮霉素(hygromycin)或甲氨蝶呤)的抗性。适合的可选择标记基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(用于借助甲氨蝶呤选择/扩增的DHFR$^-$宿主细胞)和neo基因(用于G418选择)。对于轻链和重链的表达,利用标准技术将编码重链和轻链的表达载体转染到宿主细胞中。术语"转染"的各种形式拟涵盖常用于将外源DNA引入原核或真核宿主细胞中的各种技术,例如电穿孔、脂质粒转染、磷酸钙沉淀、DEAE-葡聚糖转染等。

[0100] 有可能在原核或真核宿主细胞中表达本发明的抗体。在某些实施例中,在真核细胞(例如哺乳动物宿主细胞)中进行抗体表达以使经适当折叠且具有免疫活性的抗体的分泌最佳。用于表达本发明的重组抗体的例示性哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞(包括描述于奥拉波(Urlaub)和查辛(Chasin),1980,美国国家科学院院刊,77:4216-4220中的DHFR$^-$CHO细胞,其与DHFR可选择标记一起使用,例如考夫曼(Kaufman)和夏普(Sharp),1982,分子生物学(Mol.Biol.)159:601-621中所述)、NS0骨髓瘤细胞、COS细胞、293细胞和SP2/0细胞。当将编码抗体基因的重组表达载体引入哺乳动物宿主细胞中时,通过培养宿主细胞一段足以使抗体在宿主细胞中表达或使抗体分泌到生长宿主细胞的培养

基中的时间来产生抗体。可使用标准蛋白质纯化法自培养基中回收抗体。也可使用宿主细胞产生完整抗体的部分，例如Fab片段或scFv分子。应了解，关于上述程序的变化形式在本发明的范围内。举例来说，可能需要用编码本发明抗VEGF抗体的轻链或重链(但并非两者)的DNA转染宿主细胞。

[0101] 重组DNA技术也可用于移除编码非结合于VEGF所必需的轻链和重链中任一者或两者的一部分或全部DNA。本发明抗体也涵盖由这些截短的DNA分子表达的分子。

[0102] 此外，可通过利用标准化学交联方法使本发明抗体与另一抗体交联来产生双功能抗体，在所述双功能抗体中一条重链和一条轻链属于本发明抗体且另一条重链和轻链对除VEGF以外的抗原具有特异性。双功能抗体也可通过表达经工程改造成编码双功能抗体的核酸来制备。

[0103] 在某些实施例中，可通过使轻链和/或重链CDR中的氨基酸残基突变来产生双特异性抗体，即，使用同一结合位点结合VEGF和无关抗原的抗体。在各种实施例中，可通过使抗原结合位点周边的氨基酸残基突变来产生可结合两种抗原(例如HER2和VEGF)的双特异性抗体(博斯托姆(Bostrom)等人，2009，科学，323：1610-1614)。可通过表达经工程改造成编码双特异性抗体的核酸来制备双功能抗体。

[0104] 为了重组表达本发明的抗VEGF抗体，可用两个本发明的表达载体共转染宿主细胞，第一载体编码重链源性多肽且第二载体编码轻链源性多肽。通常，两个载体各含有单独的可选择标记。或者，可使用编码重链和轻链多肽两者的单一载体。

[0105] 一旦产生了编码抗VEGF抗体的一个或一个以上部分的核酸，就可将进一步的变化或突变引入编码序列中，例如以产生编码具有不同CDR序列的抗体、对Fc受体的亲和力降低的抗体或属于不同子类的抗体的核酸。

[0106] 也可通过化学合成(例如通过固相肽合成(Solid Phase Peptide Synthesis)，第二版，1984，皮尔斯化学品公司(The Pierce Chemical Co.)，伊利诺伊州罗克福德(Rockford，Ill)中描述的方法)产生本发明的抗VEGF抗体。也可使用无细胞平台来产生变体抗体(参见例如朱(Chu)等人，2001，生物化学(Biochemia)第2期(罗氏分子生物制品公司(Roche Molecular Biologicals)))。

[0107] 一旦通过重组表达产生了本发明的抗VEGF抗体，就可通过此项技术中已知用于纯化免疫球蛋白分子的任何方法对其进行纯化，所述方法例如为色谱法(例如离子交换色谱法、亲和色谱法(尤其在蛋白质A或蛋白质G选择之后对VEGF进行的亲和色谱法，和尺寸筛分柱色谱法(sizing column chromatography))、离心法、差别溶解法或任何其它用于纯化蛋白质的标准技术。此外，本发明的抗VEGF抗体或其片段可与本文所述或此项技术中另外已知的异源多肽序列融合以便于纯化。

[0108] 一旦分离，可在必要时例如通过高效液相色谱法(参见例如费舍尔(Fisher)，生物化学与分子生物学实验技术(Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology)，沃克(Work)和波顿(Burdon)编，爱思唯尔社(Elsevier)，1980)或通过在Superdex™ 75柱(法玛西亚生物技术公司(Pharmacia Biotech AB)，瑞士乌普萨拉(Uppsala，Sweden))上进行的凝胶过滤色谱法来进一步纯化抗VEGF抗体。

[0109] 6.3 抗VEGF抗体的生物活性

[0110] 在某些实施例中，本发明的抗VEGF抗体具有某些生物活性，例如与贝伐单抗或兰

尼单抗竞争结合于VEGF或中和VEGF活性。

[0111] 因此，在某些实施例中，本发明的抗VEGF抗体与贝伐单抗或兰尼单抗竞争结合于VEGF。可使用竞争分析测试竞争结合于VEGF的能力。在竞争分析的一个实例中，通过使培养盘与VEGF的溶液(例如于PBS中浓度为1μg/mL的溶液，在4℃下过夜)接触，来使VEGF粘附于固体表面(例如微孔培养盘(microwell plate))上。洗涤培养盘(例如用含0.1％吐温20(Tween 20)的PBS)，并进行阻断(例如在超级阻断缓冲液(Superblock)中；赛默科技公司(Thermo Scientific)，伊利诺伊州罗克福德(Rockford,IL))。将亚饱和量的生物素化贝伐单抗(80ng/mL)或相当量的生物素化兰尼单抗与未经标记的贝伐单抗(或视情况可为兰尼单抗)(“参考”抗体)或连续稀释(例如浓度为2.8μg/mL、8.3μg/mL或25μg/mL)的竞争性抗VEGF抗体(“测试”抗体)于ELISA缓冲液(例如含1％BSA和0.1％吐温20的PBS)中的混合物添加到各孔中，并在轻微震荡下将培养盘培育1小时。洗涤培养盘，将在ELISA缓冲液中稀释的1μg/mL HRP结合抗生蛋白链菌素添加到各孔中，并将培养盘培育1小时。洗涤培养盘并通过添加底物(例如TMB，拜耳夫斯实验公司(Biofx Laboratories Inc.)，马里兰州奥因斯米尔斯(Owings Mills,MD))来检测经结合抗体。通过添加终止缓冲液(stop buffer)(例如拜耳FX(Bio FX)终止试剂；拜耳夫斯实验公司，马里兰州奥因斯米尔斯)来中止反应，并使用微定量盘式读取器(例如维萨米斯(VERSAmax)；分子装置公司(Molecular Devices)，加利福尼亚州森尼维尔(Sunnyvale,CA))在650nm下测量吸光度。也可使用此竞争分析的变化形式来测试本发明抗VEGF抗体与贝伐单抗或兰尼单抗之间的竞争。举例来说，在某些方面中，抗VEGF抗体用作参考抗体且贝伐单抗或兰尼单抗用作测试抗体。另外，可使用在培养的细胞(例如哺乳动物细胞)表面上表达的膜结合VEGF代替可溶性VEGF。竞争分析的其它形式在此项技术中为已知的并且可加以使用。

[0112] 在各种实施例中，当所用本发明抗VEGF抗体的浓度为0.08μg/mL、0.4μg/mL、2μg/mL、10μg/mL、50μg/mL、100μg/mL或浓度范围介于任何上述值之间(例如浓度范围为2μg/mL到10μg/mL)时，所述抗VEGF抗体使经标记贝伐单抗或兰尼单抗的结合降低至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少95％、至少99％或范围介于任何上述值之间的百分比(例如本发明的抗VEGF抗体使经标记贝伐单抗或兰尼单抗的结合降低50％到70％)。

[0113] 在其它实施例中，当所用贝伐单抗或兰尼单抗的浓度为0.4μg/mL、2μg/mL、10μg/mL、50μg/mL、250μg/mL或浓度范围介于任何上述值之间(例如浓度范围为2μg/mL到10μg/mL)时，贝伐单抗或兰尼单抗使本发明的经标记抗VEGF抗体的结合降低至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％或范围介于任何上述值之间的百分比(例如贝伐单抗或兰尼单抗使本发明的经标记抗VEGF抗体的结合降低50％到70％)。

[0114] 在其它方面中，本发明的抗VEGF抗体在多项体外分析(例如细胞增殖或细胞迁移)中抑制(或中和)VEGF活性。举例来说，在一个实施例中，所分析的VEGF活性为诱导内皮细胞(“EC”)增殖(参见例如秦(Qin)等人的方案，2006，生物化学杂志，281:32550-32558)。在另一实施例中，所分析的VEGF活性为诱导EC迁移(参见例如梁(Liang)等人，2007，自然实验手册(Nat.Protoc.)2:329-333所述的体外划痕分析(scratch assay)方案)。在一个特定实施例中，测试抗VEGF抗体逆转由VEGF刺激的增殖和细胞迁移以及由永生化牛视网膜内皮细胞中的$VEGF_{165}$诱导的紧密连接蛋白的离域的能力(戴斯勒(Deissler)等人，2008，英国眼科杂

志(British Journal of Ophthalmology)92:839-843)。在另一实施例中,使用报告子分析法(reporter assay)来分析VEGF活性的中和情况(参见例如优诺(Yohno)等人,2003,生物学与药理学公报(Biological & Pharmaceutical Bulletin)26(4):417-20;和美国专利第6,787,323号)。

[0115] VEGF中和分析的其它形式在此项技术中为已知的并且可加以使用。

[0116] 在各种实施例中,当所用本发明抗VEGF抗体的浓度为2ng/mL、5ng/mL、10ng/mL、20ng/mL、0.1μg/mL、0.2μg/mL、1μg/mL、2μg/mL、5μg/mL、10μg/mL、20μg/mL或浓度范围介于任何上述值之间(例如浓度范围为1μg/mL到5μg/mL)时,所述抗VEGF抗体中和至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或范围介于任何上述值之间的百分比的VEGF(例如本发明的抗VEGF抗体中和50%到70%的VEGF活性)。

[0117] 在一些实施例中,本发明的抗VEGF抗体在中和VEGF方面的效用是贝伐单抗或兰尼单抗的至少0.7倍、0.8倍、至少0.9倍、至少1倍、至少1.1倍、至少1.25倍、至少1.5倍、至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少20倍、至少50倍、至少100倍、至少200倍、至少500倍、至少1000倍,或相对于贝伐单抗或兰尼单抗,在中和VEGF方面的效用范围介于任一对上述值之间(例如在中和VEGF方面的效用是贝伐单抗或兰尼单抗的0.9倍到5倍,或者效用是贝伐单抗或兰尼单抗的2倍到50倍)。

[0118] 6.4 抗VEGF抗体的动力学性质

[0119] 在某些实施例中,本发明的抗VEGF抗体对VEGF具有高结合亲和力。在特定实施例中,本发明的抗VEGF抗体具有特定缔合速率常数(k_{on}或k_a值)、解离速率常数(k_{off}或k_d值)、亲和力常数(K_A值)、解离常数(K_D值)和/或IC_{50}值。在各种实施例中,可例如根据卡尔森(Karlsson)等人,1991,免疫法杂志(J.Immunol.Methods)145:229-240中揭示的方法,使用表面等离子共振测定抗VEGF抗体与VEGF受体相互作用的结合常数。在某些方面中,这些值选自以下实施例。

[0120] 在一个特定实施例中,本发明的抗VEGF抗体结合于VEGF的k_{on}为至少$10^4M^{-1}s^{-1}$、至少$5\times10^4M^{-1}s^{-1}$、至少$10^5M^{-1}s^{-1}$、至少$5\times10^5M^{-1}s^{-1}$、至少$10^6M^{-1}s^{-1}$、至少$5\times10^6M^{-1}s^{-1}$、至少$10^7M^{-1}s^{-1}$、至少$5\times10^7M^{-1}s^{-1}$、至少$10^8M^{-1}s^{-1}$、至少$5\times10^8M^{-1}s^{-1}$、至少$10^9M^{-1}s^{-1}$,或k_{on}在介于任一对上述值之间的任何范围内(例如$5\times10^5M^{-1}s^{-1}$到$5\times10^6M^{-1}s^{-1}$,或$10^7M^{-1}s^{-1}$到$10^8M^{-1}s^{-1}$)。

[0121] 在另一实施例中,本发明的抗VEGF抗体结合于VEGF的k_{off}速率为$10^{-3}s^{-1}$或以下、$5\times10^{-4}s^{-1}$或以下、$10^{-4}s^{-1}$或以下、$5\times10^{-5}s^{-1}$或以下、$10^{-5}s^{-1}$或以下、$5\times10^{-6}s^{-1}$或以下、$10^{-6}s^{-1}$或以下、$5\times10^{-7}s^{-1}$或以下、$10^{-7}s^{-1}$或以下、$5\times10^{-8}s^{-1}$或以下、$10^{-8}s^{-1}$或以下,或k_{off}速率在介于任一对上述值之间的任何范围内(例如$5\times10^{-4}s^{-1}$到$10^{-6}s^{-1}$,或$10^{-3}s^{-1}$到$5\times10^{-5}s^{-1}$)。

[0122] 在另一实施例中,本发明的抗VEGF抗体结合于VEGF的K_A(k_{on}/k_{off})为至少10^8M^{-1}、至少$5\times10^9M^{-1}$、至少$10^{10}M^{-1}$、至少$5\times10^{10}M^{-1}$、$10^{11}M^{-1}$、至少$5\times10^{11}M^{-1}$、至少$10^{12}M^{-1}$、至少$5\times10^{12}M^{-1}$、至少$10^{13}M^{-1}$、至少$5\times10^{13}M^{-1}$、至少$10^{14}M^{-1}$、至少$5\times10^{14}M^{-1}$、至少$10^{15}M^{-1}$,或K_A在介于任一对上述值之间的任何范围内(例如$5\times10^9M^{-1}$到$10^{11}M^{-1}$,或$10^{11}M^{-1}$到$5\times10^{14}M^{-1}$)。

[0123] 在其它实施例中,本发明的抗VEGF抗体结合于VEGF的K_D(k_{off}/k_{on})为$10^{-8}M$或以下、$5\times10^{-9}M$或以下、$10^{-9}M$或以下、$5\times10^{-10}M$或以下、$10^{-10}M$或以下、$5\times10^{-11}M$或以下、$10^{-11}M$或以下、$5\times10^{-12}M$或以下、$10^{-12}M$或以下、$5\times10^{-13}M$或以下、$10^{-13}M$或以下、$5\times10^{-14}M$或以下、$10^{-14}M$或以下、$5\times10^{-15}M$或以下、$10^{-15}M$或以下,或K_D在介于任一对上述值之间的任何范围内(例如

5×10^{-9}M到5×10^{-12}M，或5×10^{-11}M到5×10^{-13}M）。

[0124] 在特定实施例中，通过此项技术中众所周知或本文中所述的分析测定K_D（k_{off}/k_{on}）值，所述分析例如为ELISA、等温滴定量热法（isothermal titration calorimetry，ITC）、荧光偏振分析或任何其它生物传感器技术（例如BIAcore）。

[0125] 在一些实施例中，本发明的抗VEGF抗体结合于VEGF并抑制VEGF与VEGF受体（Flt-1或Flk-1）的结合，其中IC_{50}值小于5×10^{7}nM、小于10^{7}nM、小于5×10^{6}nM、小于10^{6}nM、小于5×10^{5}nM、小于10^{5}nM、小于5×10^{4}nM、小于10^{4}nM、小于5×10^{3}nM、小于10^{3}nM、小于5×10^{2}nM、小于100nM、小于90nM、小于80nM、小于70nM、小于65nM、小于60nM、小于50nM、小于40nM、小于30nM、小于25nM、小于20nM、小于15nM、小于12nM、小于10nM、小于5nM、小于1nM、小于5×10^{-1}nM、小于10^{-1}nM、小于5×10^{-2}nM、小于10^{-2}nM、小于5×10^{-3}nM、小于10^{-3}nM、小于5×10^{-4}nM或小于10^{-4}nM，或IC_{50}在介于任一对上述值之间的任何范围内（例如5×10^{7}nM到50nM，或15nM到5×10^{-3}nM）。IC_{50}可根据此项技术中众所周知或本文中所述的方法（例如ELISA）测量。

[0126] 在其它实施例中，本发明的抗VEGF抗体在生物分析（例如EC增殖或迁移分析）中结合于VEGF并中和VEGF的活性，其中IC_{50}值小于5×10^{7}nM、小于10^{7}nM、小于5×10^{6}nM、小于10^{6}nM、小于5×10^{5}nM、小于10^{5}nM、小于5×10^{4}nM、小于10^{4}nM、小于5×10^{3}nM、小于10^{3}nM、小于5×10^{2}nM、小于100nM、小于90nM、小于80nM、小于70nM、小于65nM、小于60nM、小于50nM、小于40nM、小于30nM、小于25nM、小于20nM、小于15nM、小于12nM、小于10nM、小于5nM、小于1nM、小于5×10^{-1}nM、小于10^{-1}nM、小于5×10^{-2}nM、小于10^{-2}nM、小于5×10^{-3}nM、小于10^{-3}nM、小于5×10^{-4}nM或小于10^{-4}nM，或IC_{50}在介于任一对上述值之间的任何范围内（例如5×10^{7}nM到50nM，或15nM到5×10^{-3}nM）。可用于测量抗VEGF抗体的IC_{50}的例示性中和分析描述于下文第6.3节中。

[0127] 在某些实施例中，抗VEGF抗体在VEGF中和分析中结合于VEGF并抑制VEGF结合于Flt-1、Flk-1或两者，或抑制VEGF活性，其中IC_{50}值介于约1pm与约1μM之间。在特定实施例中，抗VEGF抗体在VEGF中和分析中结合于VEGF并抑制VEGF结合于Flt-1、Flk-1或两者，或抑制VEGF活性，其中IC_{50}值介于10pM与100nM之间、介于100pM与10nM之间、介于200pM与5nM之间、介于300pM与4nM之间、介于500pM与3nM之间、介于750pM与2nM之间、介于1nM与20nM之间、介于500pM与40nM之间、介于50pM与50nM之间、介于250pM与100nM之间和介于100nM与1μM之间，或IC_{50}在介于任一对上述值之间的任何范围内（例如10pM到50nM，或750pM到2nM）。

[0128] 在上述实施例的某些方面中，测量在以下浓度VEGF存在下的IC_{50}：0.001μM、0.005μM、0.01μM、0.05μM、0.1μM、0.5μM、1μM、10μM、20μM、30μM、40μM、50μM、60μM、70μM、80μM、90μM、100μM、200μM、300μM、400μM、500μM、600μM、700μM、800μM、900μM、1000μM，或在任一对上述值之间的任何范围内的浓度（例如0.01μM到50μM，或10μM到100μM）。

[0129] 在某些实施例中，本发明抗体在可比较分析中的动力学性质与贝伐单抗或兰尼单抗的动力学性质相当，或相对于贝伐单抗或兰尼单抗的动力学性质有所改良。举例来说，在某些实施例中，本发明的抗VEGF抗体结合于VEGF的k_{on}速率在贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的约0.5×到1000×的范围内，例如k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的0.5×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的0.75×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的0.9×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的1×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的1.1×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的1.2×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的1.3×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的1.4×、

k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的1.5×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的1.75×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的2×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的2.25×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的2.5×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的3×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的4×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的5×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的7.5×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的10×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的15×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的20×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的50×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的75×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的100×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的150×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的200×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的200×或k_{on}的范围介于任一对上述值之间，例如k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的2×到75×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的5×到100×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的0.5×到1000×、k_{on}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{on}的0.75×到200×等。

[0130] 在某些实施例中，本发明的抗VEGF抗体结合于VEGF的k_{off}速率在贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.001×到3×的范围内，例如k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.002×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.005×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.0075×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.01×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.025×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.05×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.075×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.1×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.25×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.5×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.75×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.9×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的1×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的1.1×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的1.25×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的1.5×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的1.75×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的4×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的3×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的2×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的3×，或k_{off}的范围介于任一对上述值之间，例如k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.01×到1.1×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.05×到1.25×、k_{off}为贝伐单抗或兰尼单抗的k_{off}的0.1×到0.9×等。

[0131] 在其它实施例中，本发明的抗VEGF抗体结合于VEGF的K_A(k_{on}/k_{off})在贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的0.25×到1000×的范围内，例如K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的0.5×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的0.75×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的1×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的2×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的4×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的10×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的15×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的20×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的30×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的40×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的50×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的100×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的250×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的500×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的750×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的1000×，或K_A的范围介于任一对上述值之间，例如K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的0.75×到10 5×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的1×到100×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的10×到20×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的4×到50×、K_A为贝伐单抗或兰尼单抗的K_A的2×到20×，或者为可根据本文揭示的k_{on}和k_{off}速率计算的任何值或范围。

[0132] 在其它实施例中，本发明的抗VEGF抗体结合于VEGF的K_D(k_{off}/k_{on})在贝伐单抗或兰

尼单抗的K_D的0.001×到10×的范围内，例如K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.001×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.005×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.01×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.05×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.075×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.1×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.2×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.3×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.4×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.5×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.6×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.7×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.8×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.9×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的1×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的1.5×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的2×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的4×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的7.5×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的10×，或K_D的范围介于任一对上述值之间，例如K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.01×到2×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.1×到1.5×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.7×到4×、K_D为贝伐单抗或兰尼单抗的K_D的0.2×到2×，或者为可根据本文揭示的k_{on}和k_{off}速率计算的任何值或范围。

[0133] 在一些实施例中，本发明的抗VEGF抗体结合于VEGF并抑制VEGF结合于Flt-1、Flk-1或两者，或中和VEGF的活性，其中IC_{50}值在贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.001×到10×的范围内，例如IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.001×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.005×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.01×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.05×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.075×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.1×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.2×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.3×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.4×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.5×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.6×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.7×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.8×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.9×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的1×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的1.5×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的2×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的4×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的7.5×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的10×，或IC_{50}的范围介于任一对上述值之间，例如IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.01×到2×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.1×到1.5×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.7×到4×、IC_{50}为贝伐单抗或兰尼单抗的IC_{50}的0.2×到2×。在某些实施例中，单一CDR取代可引起与贝伐单抗或兰尼单抗相比较的上述IC_{50}差异，而与贝伐单抗或兰尼单抗相比较，本发明的抗VEGF抗体可包含此取代以及至多16个额外CDR取代。

[0134] 6.5 抗VEGF抗体的降低的免疫原性

[0135] 在某些方面中，本发明提供免疫原性相比贝伐单抗或兰尼单抗有所降低的抗VEGF抗体。本发明提供相比贝伐单抗的CDR在CDR和/或框架区中具有单一或多个氨基酸取代的抗VEGF抗体，其中至少一个取代使所述抗体的免疫原性相比贝伐单抗或兰尼单抗有所降低。在某些实施例中，免疫原性降低由导致消除或减少一个或一个以上T细胞表位的一个或一个以上氨基酸取代引起。

[0136] 在某些方面中，免疫原性降低的本发明抗VEGF抗体具有相比贝伐单抗或兰尼单抗相当或改良的生物活性，例如对VEGF的亲和力或对VEGF活性的中和作用。这些性质可例如通过上文第6.3节中所述的方法来测试。

[0137] 在某些实施例中，本发明抗VEGF抗体的免疫原性相对于贝伐单抗或兰尼单抗抗体有所降低。这些抗体一般相对于重链和/或轻链可变区在对应于SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:62和/或SEQ ID NO:74的区域中具有变体序列。所述抗体一般将在对应于SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:62和SEQ ID NO:74的一个、两个或全部三个序列中具有一个、两个或三个氨基酸取代，但是本文中也涵盖在一个、两个或全部三个区域中有至多四个或五个取代。

[0138] 如本发明中所用，“免疫原性降低的”变体是指在对应于SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:62和/或SEQ ID NO:74的区域中具有变体序列的抗VEGF抗体在末梢血液单核细胞中引起的增殖反应分别低于SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:62或SEQ ID NO:74的肽。可用于评价增殖反应的例示性增殖分析阐述于下文第7节中。增殖反应的降低可通过反应者(responder)百分比、刺激指数或两者来反映。

[0139] 在其它实施例中，与具有SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:62或SEQ ID NO:74的序列的肽相比较，变体序列使反应者减少至少25％、反应者减少至少30％、反应者减少至少35％、反应者减少至少40％、反应者减少至少45％、反应者减少至少50％、反应者减少至少60％、反应者减少至少65％、反应者减少至少70％、反应者减少至少75％、反应者减少至少80％、反应者减少至少85％、反应者减少至少90％、反应者减少至少95％、反应者减少100％，或反应者减少的范围介于任何上述值之间，例如反应者减少25％到75％、反应者减少50％到90％、反应者减少60％到100％、反应者减少70％到90％等。

[0140] 在其它实施例中，变体序列导致刺激指数比分别由SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:62或SEQ ID NO:74的肽引起的刺激指数减低至少5％、减低至少10％、减低至少15％、减低至少20％、减低至少25％、减低至少30％、减低至少35％或减低至少40％，或导致刺激指数相比SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:62或SEQ ID NO:74的肽减低的范围介于任何上述值之间，例如减低5％到20％、减低10％到30％、减低25％到35％、减低30％到40％等。

[0141] 与贝伐单抗或兰尼单抗相比较免疫原性降低的候选抗VEGF抗体的例示性实施例包含表6中所示的一个或一个以上CDR取代或取代的组合。与贝伐单抗或兰尼单抗相比较免疫原性降低的抗VEGF抗体任选包含一个或一个以上额外取代，例如表7到13的任一者中的呈单一形式或组合形式的CDR突变。

[0142] 与贝伐单抗或兰尼单抗相比较免疫原性降低的候选抗VEGF抗体的其它例示性实施例包含表14到16中所示的一个或一个以上CDR取代或取代的组合。与贝伐单抗或兰尼单抗相比较免疫原性降低的抗VEGF抗体的一些优选实施例提供于表19中。

[0143] 6.6 抗体结合物

[0144] 本发明的抗VEGF抗体包括例如通过将任何类型的分子共价连接到抗体以使共价连接不干扰与VEGF的结合来进行修饰的抗体结合物。

[0145] 在某些方面中，本发明的抗VEGF抗体可结合于效应部分或标记。本文所用的术语“效应部分”包括例如抗赘瘤剂、药物、毒素、生物活性蛋白质(例如酶)、其它抗体或抗体片段、合成或天然存在的聚合物、核酸(例如DNA和RNA)、放射性核素(具体说来，放射性碘、放射性同位素)、螯合金属、纳米粒子和报告子组(例如荧光化合物或可用NMR或ESR光谱法检测的化合物)。

[0146] 在一个实例中，抗VEGF抗体可结合于效应部分(例如细胞毒性剂、放射性核素或药物部分)，以改变指定生物反应。效应部分可为蛋白质或多肽，例如(但不限于)毒素(例如相

思豆毒素(abrin)、蓖麻毒素A、绿脓杆菌外毒素(Pseudomonas exotoxin)或白喉毒素(Diphtheria toxin))、信号传导分子(例如α-干扰素、β-干扰素、神经生长因子、血小板源性生长因子或组织纤维蛋白溶酶原活化因子)、血栓形成剂(thrombotic agent)或抗血管生成剂(例如血管抑制素(angiostatin)或内皮抑制素(endostatin))或生物反应调节剂(例如细胞激素或生长因子,例如白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-6(IL-6)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)或神经生长因子(NGF))。

[0147] 在另一实例中,效应部分可为细胞毒素或细胞毒性剂。细胞毒素和细胞毒性剂的实例包括紫杉醇(taxol)、细胞迟缓素B(cytochalasin B)、短杆菌素D(gramicidin D)、溴化乙锭、吐根素(emetine)、丝裂霉素(mitomycin)、依托泊苷(etoposide)、替诺泊苷(tenoposide)、长春新碱(vincristine)、长春花碱(vinblastine)、秋水仙素(colchicin)、多柔比星(doxorubicin)、佐柔比星(daunorabicin)、二羟基炭疽菌素二酮(dihydroxy anthracin dione)、米托蒽醌(mitoxantrone)、光神霉素(mithramycin)、放线菌素D(actinomycin D)、1-去氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因(procaine)、丁卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛尔(propranolol)和嘌呤霉素(puromycin),以及其类似物或同系物。

[0148] 效应部分也包括(但不限于)抗代谢物(例如甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、阿糖胞苷(cytarabine)、5-氟尿嘧啶、达卡巴嗪(decarbazine))、烷基化剂(例如二氯甲基二乙胺、硫替派(thioepa)苯丁酸氮芥(chlorambucil)、美法仑(melphalan)、卡莫司汀(carmustine)(BSNU)和洛莫斯汀(lomustine)(CCNU)、环硫磷酰胺(cyclothosphamide)、白消安(busulfan)、二溴甘露糖醇、链脲佐菌素(streptozotocin)、丝裂霉素C5(mitomycin C5)和顺-二氯二胺铂(II)(DDP)顺铂(cisplatin))、蒽环霉素(anthracycline)(例如佐柔比星(daunorubicin)(以前称为道诺霉素(daunomycin))和多柔比星)、抗生素(例如放线菌素(dactinomycin)(以前称为放线菌素(actinomycin)、博莱霉素(bleomycin)、光神霉素(mithramycin)和氨茴霉素(anthramycin,AMC)、卡奇霉素(calicheamicin)或倍癌霉素(duocarmycin))和抗有丝分裂剂(例如长春新碱和长春花碱)。

[0149] 其它效应部分可包括放射性核素,例如(但不限于)^{111}In和^{90}Y、Lu^{177}、铋^{213}、锎^{252}、铱^{192}和钨^{188}/铼^{188};以及药物,例如(但不限于)烷基磷酸胆碱、拓扑异构酶I抑制剂、紫杉化物(taxoid)和苏拉明(suramin)。

[0150] 用于使这些效应部分结合于抗体的技术是此项技术中众所周知的(参见例如海尔斯托姆(Hellstrom)等人,控制性药物传递(Controlled Drug Delivery),第二版,第623-53页(罗宾森(Robinson)等人编,1987));赛洛普(Thorpe)等人,1982,免疫学评述(Immunol.Rev.)62:119-58;和杜波维奇克(Dubowchik)等人,1999,药理学与治疗学(Pharmacology and Therapeutics)83:67-123)。

[0151] 在一个实例中,抗VEGF抗体或其片段经由共价键(例如肽键)通过抗体的N末端或C末端或在内部与另一蛋白质(或其部分,例如蛋白质的至少10、20或50个氨基酸部分)的氨基酸序列融合。抗体或其片段可在抗体恒定域的N末端连接到另一蛋白质。重组DNA程序可用于产生这些融合物,例如WO 86/01533和EP0392745中所述。在另一实例中,效应分子可延长体内半衰期和/或增进抗体跨上皮障壁传递到免疫系统。适合的此类型效应分子的实例

包括聚合物、白蛋白、白蛋白结合蛋白或白蛋白结合化合物，例如WO 2005/117984中所述者。

[0152] 在某些方面中，抗VEGF抗体结合于小分子毒素。在某些例示性实施例中，本发明的抗VEGF抗体结合于海兔毒素(dolastatin)或者海兔毒素的肽类似物或衍生物，例如奥瑞他汀(auristatin)(美国专利第5,635,483号和第5,780,588号)。海兔毒素或奥瑞他汀药物部分可通过其N(氨基)末端、C(羧基)末端或在内部连接到抗体(WO 02/088172)。例示性奥瑞他汀实施例包括N末端连接的单甲基奥瑞他汀药物部分DE和DF，如美国专利第7,498,298号中所揭示(所述专利以全文引用的方式并入本文中；其揭示例如连接子以及制备结合于连接子的例如MMAE和MMAF等单甲基缬氨酸化合物的方法)。

[0153] 在其它例示性实施例中，小分子毒素包括(但不限于)卡奇霉素、美登素(maytansine)(美国专利第5,208,020号)、新月毒素(trichothene)和CC1065。在本发明的一个实施例中，抗体结合于一个或一个以上美登素分子(例如每个抗体分子约1到约10个美登素分子)。美登素可例如转变成May-SS-Me，May-SS-Me可被还原成May-SH3并与抗体反应(查瑞(Chari)等人，1992，癌症研究(Cancer Research)52:127-131)以产生美登素生物碱-抗体(maytansinoid-antibody)或美登素生物碱-Fc融合结合物。也可使用的卡奇霉素的结构类似物包括(但不限于) γ_1^1、γ_3^1、N-乙酰基-γ_1^1、PSAG和θ_1^1(海因曼(Hinman)等人，1993，癌症研究，53:3336-3342；罗德(Lode)等人，1998，癌症研究，58:2925-2928；美国专利第5,714,586号、美国专利第5,712,374号、美国专利第5,264,586号、美国专利第5,773,001号)。

[0154] 本发明抗体还可结合于脂质粒以用于靶向传递(参见例如帕克(Park)等人，1997，药理学进展(Adv.Pharmacol.)40:399-435；马提(Marty)和斯查文登纳(Schwendener)，2004，分子医学方法(Methods in Molecular Medicine)109:389-401)。

[0155] 在一个实例中，本发明抗体可连接到聚乙二醇(PEG)部分。在一个特定实例中，抗体为抗体片段且PEG部分可通过位于抗体片段中的任何可用氨基酸侧链或末端氨基酸官能团(例如任何自由氨基、亚氨基、硫醇基、羟基或羧基)连接。这些氨基酸可天然存在于抗体片段中或可使用重组DNA方法经工程改造到所述片段中。参见例如美国专利第5,219,996号。可以使用多个位点连接两个或两个以上PEG分子。PEG部分可通过位于抗体片段中的至少一个半胱氨酸残基的硫醇基共价连接。当硫醇基用作连接点时，可使用适当活化的效应部分，例如硫醇选择性衍生物，例如顺丁烯二酰亚胺和半胱氨酸衍生物。

[0156] 在一个特定实例中，抗VEGF抗体结合物是聚乙二醇化的经修饰Fab′片段，即例如根据EP0948544中揭示的方法共价连接到PEG(聚(乙二醇))。也参见聚(乙二醇)化学、生物技术和生物医学应用(Poly(ethyleneglycol)Chemistry，Biotechnical and Biomedical Applications)，(J.米尔顿哈瑞丝(J.Milton Harris)编，派拉蒙出版社(Plenum Press)，纽约(New York)，1992)；聚(乙二醇)化学与生物应用(Poly(ethyleneglycol)Chemistry and Biological Applications)，(J.米尔顿哈瑞丝和S.扎利浦斯基(S.Zalipsky)编，美国化学协会(American Chemical Society)，华盛顿哥伦比亚特区(Washington D.C.)，1997)；和生物结合：生物医学科学的蛋白质偶合技术(Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences)，(M.艾斯兰(M.Aslam)和A.登特(A.Dent)编，格鲁夫出版社(Grove Publishers)，纽约(New York)，1998)；和查普曼(Chapman)，2002，先进药物传递评论(Advanced Drug Delivery Reviews)54:531-545。PEG可连接到铰链区中

的半胱氨酸。在一个实例中，PEG修饰的Fab′片段具有顺丁烯二酰亚胺基共价连接到经修饰铰链区中的单一硫醇基。赖氨酸残基可共价连接到顺丁烯二酰亚胺基，且对于赖氨酸残基上的各胺基，可连接分子量为约20,000Da的甲氧基聚(乙二醇)聚合物。连接到Fab′片段的PEG的总分子量因此可为约40,000Da。

[0157] “标记”一词当用于本文中时是指可直接或间接结合于本发明的抗VEGF抗体的可检测化合物或组合物。标记可本身为可检测的(例如放射性同位素标记或荧光标记)，或在酶标记情形中可催化底物化合物或组合物发生可检测的化学变化。有用的荧光部分包括(但不限于)荧光素、荧光素异硫氰酸酯、若丹明(rhodamine)、5-二甲胺-1-萘磺酰氯、藻红素(phycoerythrin)等。有用的酶标记包括(但不限于)碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶、葡萄糖氧化酶等。

[0158] 特别适用于诊断目的的其它抗VEGF抗体结合物描述于下文第6.7节中。

[0159] 6.7 抗VEGF抗体的诊断应用

[0160] 本发明的抗VEGF抗体，包括已例如通过生物素化、辣根过氧化物酶或任何其它可检测部分(包括第6.6节中所述者)修饰的抗体，可有利地用于诊断目的。

[0161] 具体说来，抗VEGF抗体可用于例如(但不限于)纯化或检测VEGF，包括体外和体内诊断方法。举例来说，抗体可在免疫分析中用于定性和定量测量生物样本中VEGF的含量。参见例如哈罗(Harlow)等人，抗体实验手册(Antibodies:A Laboratory Manual)，第二版(冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press)，1988)，其以全文引用的方式并入本文中。

[0162] 本发明进一步涵盖结合于诊断剂的抗体或其片段。可在诊断上使用抗体(例如)来检测相关目标于特定细胞、组织或血清中的表达；或监测免疫反应的发展或进展作为临床测试程序的一部分以例如确定既定治疗方案的功效。可通过使抗体与可检测物质偶合来促进检测。可检测物质的实例包括各种酶、辅基、荧光物质、发光物质、生物发光物质、放射性物质、正电子发射金属(使用各种正电子发射断层摄影术)和非放射性顺磁性金属离子。可检测物质可直接或使用此项技术中已知的技术通过中间物(例如此项技术中已知的连接子)间接偶合或结合于抗体(或其片段)。酶标记的实例包括荧光素酶(例如萤火虫荧光素酶和细菌荧光素酶；美国专利第4,737,456号)、荧光素、2,3-二氢酞嗪二酮(2,3-dihydrophthalazinedione)、苹果酸脱氢酶、尿素酶、过氧化物酶(例如辣根过氧化物酶(HRPO))、碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶、乙酰胆碱酯酶、葡糖淀粉酶(glucoamylase)、溶菌酶、糖氧化酶(例如葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶)、杂环氧化酶(例如尿酸酶和黄嘌呤氧化酶)、乳酸过氧化物酶(lactoperoxidase)、微过氧化物酶(microperoxidase)等。适合辅基复合物的实例包括抗生蛋白链菌素/生物素和抗生物素蛋白/生物素；适合荧光物质的实例包括伞酮、荧光素、荧光素异硫氰酸酯、若丹明、二氯三嗪基胺荧光素、丹酰氯或藻红素；发光物质的实例包括鲁米诺(luminol)；生物发光物质的实例包括荧光素酶、荧光素和水母发光蛋白(aequorin)；且适合放射性物质的实例包括^{125}I、^{131}I、^{111}In或^{99}Tc。

[0163] 本发明提供VEGF表达的检测，其包含使用一种或一种以上本发明的抗VEGF抗体(任选结合于可检测部分)接触生物样本(个体的细胞、组织或体液)，并检测样本对于VEGF表达是否为阳性或样本的表达相比对照样本是否发生改变(例如降低或增加)。

[0164] 可使用本发明方法诊断的疾病包括(但不限于)本文所述的疾病。在某些实施例中,组织或体液为末梢血液、末梢血液白细胞、活组织检查组织(例如肺或皮肤活组织检查)和组织。

[0165] 6.8 使用抗VEGF抗体的治疗方法

[0166] 6.8.1 临床益处

[0167] 本发明的抗VEGF抗体可用于治疗以病理性血管生成为特征的各种赘瘤或非赘生性病状。

[0168] 本发明抗体适用于治疗血管生成在肿瘤生长中起重要作用的肿瘤,包括癌症和良性肿瘤。本文中欲治疗的癌症的实例包括(但不限于)癌瘤、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤和白血病。所述癌症的更特定的实例包括鳞状细胞癌、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(包括胃肠癌)、胰腺癌、神经胶母细胞瘤、子宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾脏癌、肝癌、前列腺癌、外阴癌(vulval cancer)、甲状腺癌、肝癌(hepatic carcinoma)和各种类型的头和颈癌,以及B细胞淋巴瘤(包括低度/滤泡性非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma,NHL)、小淋巴细胞性(SL)NHL、中度/滤泡性NHL、中度弥漫性NHL、重度免疫母细胞性NHL、重度淋巴母细胞性NHL、重度小无裂细胞(non-cleaved cell)NHL、巨大肿块NHL、套细胞淋巴瘤、AIDS相关性淋巴瘤和瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(Waldenstrom's Macroglobulinemia))、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、毛细胞白血病(Hairy cell leukemia)、慢性骨髓母细胞白血病和移植后淋巴组织增生病症(PTLD),以及与母斑病、水肿(例如与脑肿瘤相关的水肿)和梅格氏综合症(Meigs'syndrome)相关的异常血管增生。更具体说来,可用本发明抗体治疗的癌症包括乳癌、结肠直肠癌、直肠癌、非小细胞肺癌、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、肾细胞癌、前列腺癌、肝癌、胰腺癌、软组织肉瘤、卡波西氏肉瘤(kaposi's sarcoma)、类癌瘤(carcinoid carcinoma)、头和颈癌、黑色素瘤、卵巢癌、间皮瘤(mesothelioma)和多发性骨髓瘤。在一些实施例中,本发明的抗VEGF抗体用于治疗人类患者的结肠直肠癌。

[0169] 本发明涵盖抗血管生成疗法,这是一种旨在抑制提供养分以支持肿瘤生长所需的肿瘤血管的发育的癌症治疗策略。因为血管生成与原发肿瘤生长和转移两者有关,所以本发明提供的抗血管生成治疗能够抑制在原发部位处肿瘤的赘生性生长以及防止在继发部位处肿瘤的转移。

[0170] 可用本发明抗体治疗的非赘生性病状包括视网膜疾病(例如年龄相关性黄斑部变性)以及免疫和发炎疾病(例如类风湿性关节炎、牛皮癣、动脉粥样硬化、糖尿病性和其它增生性视网膜病(包括早产儿视网膜病)、晶状体后纤维组织增生、新生血管性青光眼、年龄相关性黄斑部变性、甲状腺增生(包括格雷夫氏病(Grave's disease))、角膜和其它组织移植、慢性炎症、肺炎、肾病综合症、子痫前症、腹水、心包积液(例如与心包炎相关的心包积液)和胸膜积液)。

[0171] 因此,本发明提供治疗有需要的患者的任何上述疾病的方法,其包含:投予所述患者本发明的抗VEGF抗体。任选例如在以下时间之后重复所述投药:一天、两天、三天、五天、一周、两周、三周、一个月、五周、六周、七周、八周、两个月或三个月。可以相同剂量或不同剂量重复投药。投药可重复一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、十次或十次

以上。举例来说，根据某些给药方案，患者接受抗VEGF疗法较长时间，例如6个月、1年或1年以上。在某些实施例中，投予患者的抗VEGF抗体的量为治疗有效量。如本文所用，“治疗有效”量的VEGF抗体可作为单次剂量投予或在治疗方案的整个过程内投予，持续例如一周、两周、三周、一个月、三个月、六个月、一年或一年以上的过程。例示性治疗方案描述于下文第6.11节中。

[0172] 根据本发明，治疗疾病涵盖治疗已诊断为患有处于任何临床阶段或表现的任何形式的疾病的患者、延迟疾病症状或病征的发作或发展或加重或恶化，和/或预防疾病和/或降低疾病的严重性。

[0173] 本发明的抗VEGF抗体所投予的“个体”或“患者”优选为哺乳动物，例如非灵长类动物(例如牛、猪、马、猫、狗、大鼠等)或灵长类动物(例如猴或人类)。在某些实施例中，个体或患者为人类。在某些方面中，人类为儿科患者。在其它方面中，人类为成人患者。

[0174] 6.9 医药组合物和投药途径

[0175] 本文提供包含本发明的抗VEGF抗体、任选使用的一种或一种以上额外治疗剂(例如下文第6.10节中所述的组合治疗剂)的组合物。组合物通常将作为一般会包括医药学上可接受的载剂的无菌医药组合物的一部分来提供。所述组合物可呈任何适合的形式(取决于将其投予患者的所需方法)。

[0176] 本发明的抗VEGF抗体可通过多种途径，例如经口、透皮、经皮下、经鼻内、经静脉内、经肌肉内、经眼内、经局部、经鞘内和经脑室内投予患者。在任何既定情况下，最适合的投药途径将取决于特定抗体、个体和疾病的性质与严重性以及个体的身体状况。

[0177] 对于治疗除视网膜疾病以外的适应症，本发明抗VEGF抗体的有效剂量范围可为每单次(例如团注)投药、多次投药或连续投药约0.1mg/kg到约75mg/kg，或每单次(例如团注)投药、多次投药或连续投药使血清浓度达到0.01μg/mL到5000μg/mL血清浓度，或其中任何有效范围或值，此取决于所治疗病状、投药途径以及个体的年龄、重量和状况。在某些实施例中，例如对于治疗癌症，各剂量范围可为每公斤体重约0.1mg到约50mg，例如每公斤体重约3mg到约25mg。抗体可调配成水溶液并通过皮下注射来投予。

[0178] 对于治疗视网膜疾病(例如年龄相关性黄斑部变性(AMD))，剂量宜使所注射的眼中水状液的抗VEGF抗体浓度为1μg/mL到50μg/mL。对于治疗AMD，各剂量可为0.1mg到约1mg，例如约0.25mg到约0.5mg。抗体可调配成水溶液并通过玻璃体内注射来投予。

[0179] 医药组合物宜呈每剂含有预定量本发明的抗VEGF抗体的单位剂型形式。此类单位可含有例如(但不限于)0.1mg到5g，例如1mg到1g、或10到50mg。用于本发明中的医药学上可接受的载剂可例如视欲治疗病状或投药途径而采用各种形式。

[0180] 可通过将具有所要纯度的抗体与通常用于此项技术中的任选的医药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂(全部在本文中称为“载剂”；即缓冲剂、稳定剂、防腐剂、等张剂、非离子清洁剂、抗氧化剂和其它各种各样的添加剂)混合，将本发明抗VEGF抗体的治疗性调配物制备成冻干调配物或水溶液形式以供储存。参见雷氏药学大全(Remington′s Pharmaceutical Sciences)，第16版(奥索(Osol)编1980)。这些添加剂在所用剂量和浓度下必须对接受者是无毒的。

[0181] 缓冲剂有助于将pH值维持在接近生理条件的范围内。其浓度可在约2mM到约50mM的范围内。适用于本发明的缓冲剂包括有机酸与无机酸两者及其盐，例如柠檬酸盐缓冲液

(例如柠檬酸单钠-柠檬酸二钠混合物、柠檬酸-柠檬酸三钠混合物、柠檬酸-柠檬酸单钠混合物等)、琥珀酸盐缓冲液(例如琥珀酸-琥珀酸单钠混合物、琥珀酸-氢氧化钠混合物、琥珀酸-琥珀酸二钠混合物等)、酒石酸盐缓冲液(例如酒石酸-酒石酸钠混合物、酒石酸-酒石酸钾混合物、酒石酸-氢氧化钠混合物等)、反丁烯二酸盐缓冲液(例如反丁烯二酸-反丁烯二酸单钠混合物、反丁烯二酸-反丁烯二酸二钠混合物、反丁烯二酸单钠-反丁烯二酸二钠混合物等)、葡糖酸盐缓冲液(例如葡糖酸-葡糖酸钠混合物、葡糖酸-氢氧化钠混合物、葡糖酸-葡糖酸钾混合物等)、草酸盐缓冲液(例如草酸-草酸钠混合物、草酸-氢氧化钠混合物、草酸-草酸钾混合物等)、乳酸盐缓冲液(例如乳酸-乳酸钠混合物、乳酸-氢氧化钠混合物、乳酸-乳酸钾混合物等)和乙酸盐缓冲液(例如乙酸-乙酸钠混合物、乙酸-氢氧化钠混合物等)。另外,可使用磷酸盐缓冲液、组氨酸缓冲液和三甲胺盐(例如Tris)。

[0182] 可添加防腐剂以阻止微生物生长,且其添加量可在0.2%到1%(w/v)的范围内。适用于本发明的防腐剂包括苯酚、苄醇、间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、十八基二甲基苄基氯化铵、苯甲烃铵卤化物(benzalconium halide)(例如,氯化物、溴化物和碘化物)、氯化六羟季铵和对羟基苯甲酸烷基酯(例如,对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯)、儿茶酚、间苯二酚、环己醇和3-戊醇。可添加等张剂(有时称为"稳定剂")以确保本发明的液体组合物的等张性,且其包括多羟基糖醇,例如三羟基或三个以上羟基的糖醇,例如甘油、赤藻糖醇、阿拉伯糖醇、木糖醇、山梨糖醇和甘露糖醇。稳定剂是指一大类赋形剂,其功能可在增积剂(bulking agent)到使治疗剂溶解或有助于防止变性或粘着于容器壁的添加剂的范围内。典型稳定剂可为多羟基糖醇(如上文列举);氨基酸,例如精氨酸、赖氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、丙氨酸、鸟氨酸、L-亮氨酸、2-苯丙氨酸、谷氨酸、苏氨酸等;有机糖或糖醇,例如乳糖、海藻糖、水苏糖、甘露糖醇、山梨糖醇、木糖醇、核糖醇、肌醇(myoinisitol)、半乳糖醇、甘油等,包括环醇(cyclitol),例如纤维醇(inositol);聚乙二醇;氨基酸聚合物;含硫还原剂,例如尿素、谷胱甘肽、硫辛酸(thioctic acid)、巯基乙酸钠、硫代甘油、α-单硫代甘油和硫代硫酸钠;低分子量多肽(例如具有10个或10个以下残基的肽);蛋白质,例如人类血清白蛋白、牛血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮单糖,例如木糖、甘露糖、果糖、葡萄糖;双糖,例如乳糖、麦芽糖、蔗糖;和三糖,例如棉子糖;以及多糖,例如葡聚糖。存在的稳定剂可在每重量份活性蛋白质0.1到10,000重量的范围内。

[0183] 可添加非离子表面活性剂或清洁剂(也称为"湿润剂")以帮助溶解治疗剂以及保护治疗性蛋白质免于发生搅拌诱发的聚集,其也允许调配物暴露于承受应力的剪切面而不引起蛋白质变性。适合的非离子表面活性剂包括聚山梨醇酯(20、80等)、泊洛沙姆(polyoxamer)(184、188等)、普流尼克多元醇(Pluronic polyol)、聚氧化乙烯脱水山梨糖醇单醚(TWEEN®-20、TWEEN®-80等)。存在的非离子表面活性剂可在约0.05mg/ml到约1.0mg/ml,例如约0.07mg/ml到约0.2mg/ml的范围内。

[0184] 其它各种各样的赋形剂包括增积剂(例如淀粉)、螯合剂(例如EDTA)、抗氧化剂(例如抗坏血酸、甲硫氨酸、维生素E)和共溶剂。

[0185] 本文的调配物除本发明的抗VEGF抗体外也可含有组合治疗剂。适合的组合治疗剂的实例提供于下文第6.10节中。

[0186] 皮下投药的给药时程可在每六个月一次到每日一次之间变化,此取决于众多临床

因素，包括疾病类型、疾病的严重性和患者对抗VEGF抗体的敏感性。

[0187] 欲投予的本发明抗VEGF抗体的剂量将视以下而变化：特定抗体、疾病类型(例如癌症、发炎等)、个体和疾病的严重性、个体的身体状况、治疗方案(例如是否使用组合治疗剂)和所选投药途径；所属领域技术人员可容易地确定适当剂量。

[0188] 所属领域技术人员应认识到，本发明抗VEGF抗体的最佳量和个别剂量的间隔将由所治疗病状的性质和程度；投药形式、途径和部位；以及所治疗特定个体的年龄和状况决定，且医师将最终确定欲使用的适当剂量。每当适当时可重复所述剂量。如果发生副作用，那么可根据常规临床实践来改变或降低给药的量和/或频率。

[0189] 6.10 组合疗法

[0190] 下文描述组合方法，其中可利用本发明的抗VEGF抗体。本发明的组合方法涉及投予患者至少两种药剂，第一药剂为本发明的抗VEGF抗体，且第二药剂为组合治疗剂。抗VEGF抗体与组合治疗剂可同时、依序或分开投予。

[0191] 本发明的组合治疗方法可产生比加性效应(additive effect)大的效应，从而提供治疗益处，其中抗VEGF抗体和组合治疗剂都不以单独治疗有效的量投予。

[0192] 在本发明方法中，本发明的抗VEGF抗体和组合治疗剂可并行(同时或相继)投予。如本文中所用，如果本发明的抗VEGF抗体和组合治疗剂在同一天(例如在同一患者就诊期间)投予患者，就认为其为相继投予。相继投药可相隔1、2、3、4、5、6、7或8小时发生。相反，如果本发明的抗VEGF抗体和组合治疗剂在不同日投予患者，例如本发明的抗VEGF抗体和组合治疗剂可按1天、2天或3天、一周、2周或每月的间隔投予，就认为其为分开投予。在本发明的方法中，投予本发明的抗VEGF抗体可在投予组合治疗剂之前或之后进行。

[0193] 作为一个非限制性实例，本发明的抗VEGF抗体和组合治疗剂可并行投予一段时间，随后为交替投予本发明的抗VEGF抗体和组合治疗剂的第二时间毁。

[0194] 由于投予本发明的抗VEGF抗体和组合治疗剂具有潜在的协同效应，故这些药剂可以按在单独投予所述药剂中的一者或两者时不具治疗有效性的量投予。

[0195] 在某些方面中，组合治疗剂为抗血管生成剂、抗风湿药、消炎剂、化学治疗剂、放射治疗、免疫抑制剂或细胞毒性药。

[0196] 预期当用于治疗各种疾病时，本发明的抗VEGF抗体可与适用于相同或类似疾病的其它治疗剂组合。当用于治疗癌症时，本发明抗体可与常规癌症疗法(例如手术、放射疗法、化学疗法或其组合)组合使用。

[0197] 在一些其它方面中，可与本发明抗体一起用于组合肿瘤疗法的其它治疗剂包括与肿瘤生长有关的其它因子(例如EGFR、ErbB2(也称为Her2)、ErbB3、ErbB4或TNF-α)的拮抗剂，例如抗体。

[0198] 有时，对于治疗癌症和免疫疾病，投予患者一种或一种以上细胞激素也可能是有益的。在一个优选实施例中，将VEGF抗体与生长抑制剂共投予。

[0199] 生长抑制剂的适合剂量为目前使用的剂量且可能因生长抑制剂与抗VEGF抗体的联合作用(协同作用)而降低。

[0200] 对于治疗癌症、免疫疾病和视网膜疾病，宜将消炎剂与本发明的抗VEGF抗体组合使用。消炎剂包括(但不限于)对乙酰氨基酚、苯海拉明(diphenhydramine)、哌替啶(meperidine)、地塞米松(dexamethasone)、颇得斯安(pentasa)、美沙拉嗪(mesalazine)、

安肠克(asacol)、磷酸可待因(codeine phosphate)、贝诺酯(benorylate)、芬布芬(fenbufen)、萘普生(naprosyn)、双氯芬酸(diclofenac)、依托度酸(etodolac)以及吲哚美辛(indomethacin)、阿斯匹灵(aspirin)和布洛芬(ibuprofen)。

[0201] 对于治疗癌症,宜将化学治疗剂与本发明的抗VEGF抗体组合使用。化学治疗剂包括(但不限于)放射性分子、毒素(也称为细胞毒素或细胞毒性剂,其包括对细胞活力有害的任何试剂)、含有化学治疗化合物的药剂以及脂质粒或其它小泡(vesicle)。适合化学治疗剂的实例包括(但不限于)1-脱氢睾酮、5-氟尿嘧啶达卡巴嗪、6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、放线菌素D、阿德力霉素(adriamycin)、阿地白介素(aldesleukin)、抗α5β1整合素抗体、烷基化剂、别嘌呤醇钠(allopurinol sodium)、六甲蜜胺(altretamine)、氨磷汀(amifostine)、阿那曲唑(anastrozole)、氨茴霉素(AMC))、抗有丝分裂剂、顺-二氯二胺铂(II)(DDP)顺铂、二氨基二氯铂(diamino dichloro platinum)、蒽环霉素、抗生素、抗代谢物、天冬酰胺酶、BCG活体(膀胱内)、倍他米松磷酸钠(betamethasone sodium phosphate)和乙酸倍他米松、比卡鲁胺(bicalutamide)、硫酸博莱霉素、白消胺(busulfan)、甲酰四氢叶酸钙(calcium leucouorin)、卡奇霉素、卡培他滨(capecitabine)、卡铂(carboplatin)、洛莫斯汀(CCNU)、卡莫司汀(BSNU)、苯丁酸氮芥、顺铂、克拉屈滨(Cladribine)、秋水仙素、结合雌激素、环磷酰胺、环硫磷酰胺、阿糖胞苷、细胞迟缓素B、环磷酰胺(cytoxan)、达卡巴嗪(Dacarbazine)、放线菌素、放线菌素(dactinomycin,以前称为放线菌素(actinomycin))、盐酸佐柔比星、柠檬酸佐柔比星、地尼白介素-毒素连接物(denileukin diftitox)、右雷佐生(Dexrazoxane)、二溴甘露醇、二羟基炭疽菌素二酮、多西他赛(Docetaxel)、甲磺酸多拉司琼(dolasetron mesylate)、盐酸多柔比星、屈大麻酚(dronabinol)、大肠杆菌L-天冬酰胺酶、伊洛昔单抗(eolociximab)、吐根素、依泊汀-α(epoetin-α)、伊文氏杆菌属L-天冬酰胺酶(Erwinia L-asparaginase)、酯化雌激素、雌二醇、雌莫司汀磷酸钠、溴化乙锭、乙烯雌二醇(ethinyl estradiol)、依替膦酸盐(etidronate)、依托泊苷嗜橙菌因子(etoposide citrororum factor)、磷酸依托泊苷、非格司亭(filgrastim)、氟尿苷、氟康唑(fluconazole)、磷酸氟达拉宾(fludarabine phosphate)、氟尿嘧啶、氟他胺(flutamide)、叶醛酸(folinic acid)、盐酸吉西他滨、糖皮质激素、乙酸戈舍瑞林(goserelin acetate)、短杆菌素D、盐酸格拉司琼(granisetron HCL)、羟基脲、盐酸黄胆素(idarubicin HCL)、异环磷酰胺(ifosfamide)、干扰素α-2b、盐酸伊立替康(irinotecan HCL)、来曲唑(letrozole)、甲酰四氢叶酸钙、乙酸柳培林(leuprolide acetate)、盐酸左旋咪唑(levamisole HCL)、利多卡因、洛莫斯汀、美登素生物碱(maytansinoid)、盐酸氮芥(mechlorethamine HCL)、乙酸甲羟助孕酮(medroxyprogesterone acetate)、乙酸甲地孕酮(megestrol acetate)、盐酸美法仑(melphalan HCL)、硫醇嘌呤(mercaptipurine)、美司钠(mesna)、甲氨蝶呤、甲基睾固酮、光神霉素、丝裂霉素C、米托坦(mitotane)、米托蒽醌、尼鲁米特(nilutamide)、乙酸奥曲肽(octreotide acetate)、盐酸昂丹司琼(ondansetron HCL)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、帕米膦酸二钠、喷司他丁(pentostatin)、盐酸毛果芸香素(pilocarpine HCL)、吡利霉素(plimycin)、以聚苯丙生20为载体的卡莫司汀植入剂(polifeprosan 20 with carmustine implant)、卟非姆钠(porfimer sodium)、普鲁卡因、盐酸丙卡巴肼(procarbazine HCL)、普萘洛尔、利妥昔单抗(rituximab)、沙格司亭(sargramostim)、链脲佐菌素、他莫昔芬(tamoxifen)、紫杉醇(taxol)、替尼泊苷

(teniposide)、替诺泊苷、睾内酯(testolactone)、四卡因(tetracaine)、噻替派苯丁酸氮芥、硫鸟嘌呤、噻替派、盐酸拓朴替康(topotecan HCL)、柠檬酸托瑞米芬(toremifene citrate)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、维甲酸(tretinoin)、戊柔比星(valrubicin)、硫酸长春花碱(vinblastine sulfate)、硫酸长春新碱(vincristine sulfate)花酒石酸长春瑞滨(vinorelbine tartrate)。

[0202] 可与本发明的抗VEGF抗体结合使用的任何抗血管生成剂包括卡密雷特(Carmeliet)和杰恩(Jain),2000,自然,407:249-257所列举者。在某些实施例中,抗血管生成剂为另一VEGF拮抗剂或VEGF受体拮抗剂,例如VEGF变体、可溶性VEGF受体片段、能够阻断VEGF或VEGFR的适体、中和抗VEGFR抗体、低分子量VEGFR酪氨酸激酶抑制剂和其任何组合。或者,或此外,可共投予患者两种或两种以上抗VEGF抗体。

[0203] 在某些实施例中,可将激素疗法与本发明的抗VEGF抗体结合使用。在一些实施例中,激素疗法包括一种或一种以上可抑制雌激素和/或孕酮以防止促进癌细胞生长的药剂,例如选择性雌激素受体调节剂(例如他莫昔芬)、芳香酶抑制剂(例如阿那曲唑(Arimidex®)或来曲唑(费玛拉(Femara)))、芳香酶失活剂(例如依西美坦(exemestane;Aromasin®))或抑制雌激素产生的药剂(例如戈舍瑞林(佐拉迪斯(Zoladex)))。在其它实施例中,激素疗法是一种或一种以上可抑制自卵巢产生激素的药剂。

[0204] 在一些方面中,抗VEGF抗体可与小分子蛋白质酪氨酸激酶(PTK)抑制剂结合使用。在一些实施例中,PTK抑制剂对VEGF受体酪氨酸激酶具有特异性。在其它实施例中,PTK抑制剂结合于酪氨酸激酶的VEGF受体家族中的一个以上成员(例如VEGFR-1、VEGFR-2)。在其它实施例中,适用于本发明的组合物和方法中的蛋白质酪氨酸激酶抑制剂包括PTK抑制剂,其不以选择性方式结合于VEGF家族的受体酪氨酸激酶,而是也结合于其它蛋白质家族(例如HER2、HER3、HER4、PDGFR和/或Raf)的酪氨酸激酶域。

[0205] 在一些实施例中,酪氨酸激酶是受体酪氨酸激酶,即,是具有细胞外配体结合域且可由一个或一个以上配体的结合而活化的较大蛋白质的细胞内域。在某些实施例中,蛋白质酪氨酸激酶为非受体酪氨酸激酶。可用于本发明方法中的PTK抑制剂包括(但不限于)吉非替尼(gefitinib)(ZD-1839,Iressa®)、埃罗替尼(erlotinib)(OSI-1774,Tarceva™)、卡奈替尼(canertinib)(CI-1033)、凡德他尼(vandetanib)(ZD6474,Zactima®)、酪氨酸磷酸化抑制剂(tyrphostin)AG-825(CAS 149092-50-2)、拉帕替尼(lapatinib)(GW-572016)、索拉非尼(sorafenib)(BAY43-9006)、AG-494(CAS 133550-35-3)、RG-13022(CAS 149286-90-8)、RG-14620(CAS 136831-49-7)、BIBW 2992(托沃克(Tovok))、酪氨酸磷酸化抑制剂9(CAS 136831-49-7)、酪氨酸磷酸化抑制剂23(CAS 118409-57-7)、酪氨酸磷酸化抑制剂25(CAS 118409-58-8)、酪氨酸磷酸化抑制剂46(CAS 122520-85-8)、酪氨酸磷酸化抑制剂47(CAS 122520-86-9)、酪氨酸磷酸化抑制剂53(CAS 122520-90-5)、紫铆花素(butein)(1-(2,4-二羟苯基)-3-(3,4-二羟苯基)-2-丙烯-1-酮2′,3,4,4′-四羟查酮;CAS 487-52-5)、姜黄素(curcumin)((E,E)-1,7-双(4-羟基-3-甲氧苯基)-1,6-庚二烯-3,5-二酮;CAS 458-37-7)、N4-(1-苄基-1H-吲唑-5-基)-N6,N6-二甲基-吡啶并-[3,4-d]-嘧啶-4,6-二胺(202272-68-2)、AG-1478、AG-879、环丙烷甲酸-(3-(6-(3-三氟甲基-苯氨基)-嘧啶-4-基氨基)-苯基)-酰胺(CAS 879127-07-8)、N8-(3-氯-4-氟苯基)-N2-(1-甲基哌啶-4-基)-嘧啶并[5,4-d]嘧啶-2,8-二胺二盐酸盐(CAS 196612-93-8)、4-(4-苄氧苯胺基)-6,7-二甲氧喹唑啉(CAS

179248-61-4)、N-(4-((3-氯-4-氟苯基)氨基)吡啶并[3,4-d]嘧啶-6-基)2-丁酰胺(CAS 881001-19-0)、EKB-569、HKI-272和HKI-357。

[0206] 在一个特定实施例中,本发明的抗VEGF抗体与基于5-氟尿嘧啶的静脉内化学疗法组合使用。此组合特别适用于结肠或直肠转移癌患者的第一线或第二线治疗。

[0207] 在另一特定实施例中,本发明的抗VEGF抗体与卡铂和太平洋紫杉醇组合使用。此组合特别适用于患有不可切除、局部晚期、复发性或转移性非鳞状非小细胞肺癌的患者的第一线治疗。

[0208] 在另一特定实施例中,本发明的抗VEGF抗体与太平洋紫杉醇组合使用。此组合特别适用于治疗尚未接受针对转移性HER2阴性乳癌的化学疗法的患者。

[0209] 对于治疗视网膜疾病,本发明的抗VEGF抗体可与以下组合使用:E10030,一种抗血小板源性生长因子(PDGF)聚乙二醇化适体;ARC1905,一种靶向补体级联的C5组分的聚乙二醇化适体;和伏洛昔单抗(volociximab),一种靶向α5β1整合素跨膜受体的单克隆抗体;用Visudyne®的光动力学疗法(PDT);或Macugen®,一种适体(哌加他尼钠(pegaptanib sodium))。

[0210] 6.11 治疗方案

[0211] 本发明提供包括投予本发明的抗VEGF抗体的治疗方案。治疗方案将视患者的年龄、体重和疾病状况而变化。治疗方案可持续2周到无限期。在特定实施例中,治疗方案持续2周到6个月、3个月到5年、6个月到1或2年、8个月到18个月等。治疗方案可为不变剂量方案或多变剂量方案。

[0212] 对于下述剂量例示性方案,抗VEGF抗体可以适于皮下投药的无菌、不含防腐剂溶液形式投予。

[0213] 对于治疗转移性结肠直肠癌,本发明的抗VEGF抗体以每2周0.5mg/kg到15mg/kg的剂量与团注IFL(伊立替康、5-氟尿嘧啶和甲酰四氢叶酸方案)一起经静脉内投予。在特定实施例中,在团注IFL存在下,所述剂量为每两周1mg/kg到4mg/kg、2mg/kg到6mg/kg、0.5mg/kg到3mg/kg、1mg/kg到10mg/kg、3mg/kg到4.8mg/kg或1mg/kg到4.5mg/kg。

[0214] 在治疗转移性结肠直肠癌的另一实施例中,本发明的抗VEGF抗体以每2周1mg/kg到30mg/kg的剂量与FOLFOX4(奥沙利铂(oxaliplatin)、甲酰四氢叶酸和氟尿嘧啶方案)一起经静脉内投予。在特定实施例中,在FOLFOX4存在下,所述剂量为每两周2mg/kg到9mg/kg、3mg/kg到12mg/kg、1mg/kg到7.5mg/kg、2mg/kg到20mg/kg、6mg/kg到9.75mg/kg或4mg/kg到9.5mg/kg。

[0215] 对于治疗非鳞状非小细胞肺癌,本发明的抗VEGF抗体以每三周2mg/kg到40mg/kg的剂量与卡铂/太平洋紫杉醇一起经静脉内投予。在特定实施例中,在卡铂/太平洋紫杉醇存在下,所述剂量为每三周5mg/kg到14mg/kg、4mg/kg到20mg/kg、10mg/kg到17.5mg/kg、7mg/kg到14mg/kg、10mg/kg到30mg/kg或3mg/kg到30mg/kg。

[0216] 对于治疗转移性乳癌,本发明的抗VEGF抗体以每两周0.5mg/kg到20mg/kg的剂量与太平洋紫杉醇一起经静脉内投予。在特定实施例中,与太平洋紫杉醇存在下,所述剂量为每两周1mg/kg到4mg/kg、2mg/kg到6mg/kg、0.5mg/kg到3mg/kg、1mg/kg到10mg/kg、3mg/kg到4.8mg/kg或1mg/kg到4.5mg/kg。

[0217] 对于治疗转移性乳癌,本发明的抗VEGF抗体作为单药疗法以每两周0.5mg/kg到

20mg/kg的剂量经静脉内投予。在特定实施例中，作为单药疗法，所述剂量为每两周1mg/kg到4mg/kg、2mg/kg到6mg/kg、0.5mg/kg到3mg/kg、1mg/kg到10mg/kg、3mg/kg到4.8mg/kg或1mg/kg到4.5mg/kg。

[0218] 对于治疗年龄相关性黄斑部变性(AMD)，一月(约28天)一次以0.1mg到1mg的剂量通过玻璃体内注射来投予本发明的抗VEGF抗体。在特定实施例中，一月(约28天)一次通过玻璃体内注射投予的剂量为0.1mg到0.4mg、0.2mg到0.6mg、0.1mg到0.25mg、0.25mg到0.5mg、0.25mg到0.75mg或0.3mg到0.45mg。在一个特定实施例中，用本发明的抗VEGF抗体治疗的患者患有湿性AMD。在另一特定实施例中，患者患有干性AMD。

[0219] 6.12 诊断和医药试剂盒

[0220] 本发明涵盖含有本发明的抗VEGF抗体(包括抗体结合物)的医药试剂盒。医药试剂盒是包含本发明的抗VEGF抗体(例如呈冻干形式或呈水溶液形式)和一种或一种以上以下物质的包装：

[0221] ●组合治疗剂，例如上文第6.10节中所述；

[0222] ●用于投予抗VEGF抗体的装置，例如笔、针和/或注射器；及

[0223] ●当抗体呈冻干形式时用于再悬浮抗体的医药级水或缓冲液。

[0224] 在某些方面中，各单位剂量的抗VEGF抗体是分开包装，且试剂盒可含有一个或一个以上单位剂量(例如两个单位剂量、三个单位剂量、四个单位剂量、五个单位剂量、八个单位剂量、十个单位剂量，或更多个单位剂量)。在一个特定实施例中，将一个或一个以上单位剂量各自安置于注射器或笔中。

[0225] 本文也涵盖含有本发明的抗VEGF抗体(包括抗体结合物)的诊断试剂盒。诊断试剂盒是一种包含本发明的抗VEGF抗体(例如呈冻干形式或呈水溶液形式)和一种或一种以上适用于进行诊断分析的试剂的包装。当抗VEGF抗体用酶标记时，试剂盒可包括所述酶所需的底物和辅因子(例如提供可检测发色团或荧光团的底物前体)。此外，还可包括其它添加剂，例如稳定剂、缓冲剂(例如阻断缓冲剂或溶解缓冲剂)等。在某些实施例中，诊断试剂盒中所包括的抗VEGF抗体固定于固体表面上，或在试剂盒中包括上面可固定抗体的固体表面(例如载片)。可大幅改变各种试剂的相对量以提供实质上使分析敏感度最佳的试剂溶液的浓度。在一个特定实施例中，抗体和一种或一种以上试剂可以干粉(通常经冻干)的形式提供(以个别方式或以组合方式)，所述干粉包括在溶解时将提供具有适当浓度的试剂溶液的赋形剂。

[0226] 7.实例1：贝伐单抗的T细胞表位的鉴别

[0227] 7.1 材料和方法

[0228] 7.1.1 肽

[0229] 使用多针(multi-pin)形式由模拟抗原表位(Mimotope)(澳大利亚阿德莱德(Adelaide,Australia))合成肽。合成贝伐单抗轻链和重链V区的序列，其呈有12个氨基酸重叠的15肽形式(表3和4)，总计为69种肽。将肽冻干并以约1mg/mL到2mg/mL再悬浮于DMSO(西格玛-阿尔德里奇公司(Sigma-Aldrich))中。储备肽于-20℃下冷冻保存。

[0230] 7.1.2人类末梢血液单核细胞

[0231] 社区供体白细胞层产品(Community donor buffy coat product)购自斯坦福血液中心(Stanford Blood Center)(加利福尼亚州圣克拉拉(Palo Alto,CA))。用不含钙或

镁的DPBS按1∶1体积比稀释白细胞层物质。用12.5ml的菲科尔帕克-PLUS(FicollPaque-PLUS)(GE医疗集团(GE Healthcare))使稀释的白细胞层物质(25ml到35ml)处于50ml锥形离心管(沙斯特(Sarsted)或科斯塔(Costar)离心管)的下层。在室温下以900g将样本离心30分钟。从界面收集末梢血液单核细胞(PBMC)。添加DPBS以使最终体积达到50ml,并以350g将细胞离心5分钟。将聚结成团的细胞再悬浮于DPBS中并计数。

[0232] 7.1.3 树突状细胞

[0233] 为了分离树突状细胞,用含10^8个新鲜分离的PBMC的AIM V培养基(英杰公司(Invitrogen))(总体积为30ml)接种T75培养瓶(科斯塔(Costar))。在-80℃下,将过量PBMC按5×10^7个细胞/毫升于90%胎牛血清(FCS)、10%DMSO中冷冻。在37℃下于5%CO_2中培育T75培养瓶2小时。移除非粘着细胞,并用DPBS洗涤粘着单层细胞。为了使单核细胞分化成树突状细胞,添加30ml含有800个单位/毫升GM-CSF(R&D系统公司(R and D Systems))和500个单位/毫升IL-4(R&D系统公司)的AIM V培养基。将培养瓶培育5天。在第5天添加IL-1α(英多杰公司(Endogen))和TNFα(英多杰公司)达到50pg/mL和0.2ng/mL。再将培养瓶培育两天。在第7天,通过添加3ml含有0.5mg到1.0mg丝裂霉素C(西格玛-阿尔德里奇公司)的100mM EDTA达到10mM EDTA以及16.5μg/mL到33μg/mL丝裂霉素C的最终浓度来收集树突状细胞。在37℃和5%CO_2下再培育培养瓶1小时。收集树突状细胞,并用AIM V培养基洗涤2到3次。

[0234] 7.1.4 细胞培养

[0235] 在第7天,在37℃水浴中迅速解冻先前冷冻的自体PBMC。立即将细胞稀释于DPBS或AIM V培养基中,并以350g离心5分钟。使用磁珠(Easy-Sep $CD4^+$试剂盒,干细胞技术公司(Stem Cell Technologies))通过阴性选择来富集$CD4^+$细胞。在96孔圆底培养盘(科斯塔9077)中以每孔每2×10^4个树突状细胞对应2×10^5个$CD4^+$ T细胞来共培养自体$CD4^+$T细胞和树突状细胞。以约5μg/mL添加肽。对照孔仅含有DMSO(西格玛公司(Sigma))媒剂(0.25%v:v)。阳性对照孔含有0.25%的DMSO和1μg/mL的破伤风类毒素(李斯特生物公司(List Biologicals)或卡尔生物化学公司(CalBioChem))。将培养物培育5天。在第5天,每孔添加0.25μCi的氚化胸腺嘧啶(安玛西亚公司(Amersham)或GE医疗集团)。在第6天,使用帕卡德费特美(Packard Filtermate)细胞收集器将培养物收集到过滤垫(filtermat)。使用沃拉克麦克贝塔1450型(Wallac MicroBeta 1450)闪烁计数器(珀金埃尔默公司(Perkin Elmer))进行闪烁计数。

[0236] 7.1.5 数据分析

[0237] 通过对6到12个重复实验的个别结果求平均值来计算平均背景CPM值。对四个阳性对照孔的CPM值求平均值。对各肽的重复实验孔或三次重复实验孔求平均值。通过用平均对照值除平均实验CPM值来计算阳性对照孔和肽孔的刺激指数值。为了能被纳入数据集中,需要破伤风类毒素阳性对照孔的刺激指数大于3.0。记录产生2.95或2.95以上的刺激指数的任何肽的反应。使用来自一组99个供体的末梢血液样本来测试肽。汇集对所有肽的反应。对于所测试的每一肽,计算在2.95或2.95以上的刺激指数下起反应的供体集合(donor set)所占的百分比。此外,也计算所有供体的平均刺激指数。

[0238] 7.2 结果

[0239] 7.2.1 贝伐单抗VH和VL区中$CD4^+$ T细胞表位的鉴别

[0240] 通过分析在具有99个供体的组内对肽的反应百分比来鉴别$CD4^+$T细胞表位肽。计

算所测试的描述贝伐单抗重链和轻链V区的所有肽的平均反应百分比和标准偏差。大于或等于平均背景反应加上3个标准偏差的反应率被视为潜在$CD4^+$T细胞表位。对于贝伐单抗轻链V区，测试32种肽(表3)，所得平均背景反应百分比为2.1±2.7%。背景以上的3个标准偏差经测定为10.2%。在贝伐单抗轻链肽数据集中，一种在位置13处的肽(Q40-T54)展现此种程度的反应，且反应率为15.2%(图2A)。对于贝伐单抗重链V区，测试37种肽(表4)。平均背景反应百分比为2.8±3.1%。背景以上的3个标准偏差为12.1%。在贝伐单抗重链数据集内的一种肽#18(N52-R56)达到16.2%的反应百分比(图3A)。重链数据集中在位置#30处的第二肽达到9.1%的反应率，且因刺激指数增加而被视为表位(参见下文)。

[0241] 计算数据集中所有肽的平均刺激指数。轻链肽13具有高平均刺激指数，即1.82±0.24s.e.m.(图2B)。重链肽#18的平均刺激指数值为2.16±0.35s.e.m.(图3B)。位置#30处的肽由于平均刺激指数升高和反应率在平均值以上而返回1.45+0.18s.e.m.的平均刺激指数(图3B)。当测定所述抗体V区的$CD4^+$T细胞表位含量时包括位置#30处的肽。所有这些刺激指数值都显著高于两个数据集中所有肽的平均刺激指数(全部69种重链和轻链肽的平均刺激指数为1.14±0.07)。

[0242] 这些数据表明在贝伐单抗V区中有三个CD4+T细胞表位区(表5)。在VL区中，在肽位置13处发现一个表位，其涵盖框架2和来自CDR2的两个氨基酸。序列含有在人源化期间插入所述序列中的鼠类回复突变(V46)。在表5中，源自CDR的氨基酸加有下划线。在重链中，标识出两个表位肽区。在位置#18处的较强表位涵盖所有CDR2。第二表位肽区含有框架3和CDR3氨基酸。

[0243] 7.2.2 贝伐单抗变体抗体的免疫原性降低的变体

[0244] 对贝伐单抗进行突变分析(参见下文实例2)。根据结合突变分析进行的抗原结合研究，鉴别出CDR-H2和CDR-H3区内不会显著降低抗体对VEGF的亲和力的一组候选氨基酸取代(表6)。这些氨基酸取代经单独和组合测试以鉴别免疫原性相比野生型抗体有所降低的贝伐单抗变体。

[0245] 8.实例2:对VEGF的亲和力增加的贝伐单抗变体的鉴别

[0246] 对贝伐单抗抗体进行综合性突变分析以鉴别对VEGF的亲和力相比贝伐单抗有所增加的突变体。通过BIAcore对候选高亲和力突变体进行分析以证实其结合特征:对VEGF的亲和力相比贝伐单抗有所增加。

[0247] 8.1 材料和方法

[0248] 8.1.1 BIAcore

[0249] 将十五个变异贝伐单抗VH区构建体连同未经修饰的VL区一起克隆到含有人类IgG_1的质粒中，通过短暂转染使其在293T/17细胞系中表达，并通过蛋白质A或蛋白质G亲和力法来纯化抗体。通过使用BIAcore 2000和3000表面等离子共振系统(BIAcore;GE医疗集团，新泽西州皮斯卡塔韦(Piscataway,NJ))来测定抗体对VEGF(R&D系统公司(R&D systems)，明尼苏达州明尼阿波利斯(Minneapolis,MN))的亲和力。首先使用标准BIAcore胺偶合试剂(N-乙基-N′-二甲氨基-丙基碳化二亚胺,EDC;N-羟基丁二酰亚胺,NHS;和盐酸乙醇胺，pH值8.5)将多克隆山羊抗人类Fc抗体(杰克森免疫研究公司(Jackson Immunoresearch))固定到生物传感器表面，随后在平行表面上以5μL/min的低流速捕捉抗VEGF抗体(贝伐单抗和贝伐单抗变体)。保持较低的RL以使由VEGF的二聚性质引起的亲合力

(avidity)减到最小。未在参考表面上进行抗体捕捉以充当阴性对照。随后,以50μL/min的流速在两分钟内将VEGF注射到所有流槽中以监测缔合,随后为持续25分钟的流过HBS-P操作缓冲液(running buffer)(10mM HEPES、150mM氯化钠、0.005%P-20,pH值7.4)以监测解离阶段。在每一循环中,将VEGF以范围介于0nM与512nM之间且以四倍增量变化的6种不同的VEGF浓度注射于表面上。在每一循环结束时,以两个短暂脉冲用1.5%H_3PO_4在100μL/min流速下使表面再生。将结合数据拟合到1:1朗缪尔模型(Langmuir model)以由BIAevaluate软件求出结合常数。在各分析中应用双重参考以消除参考表面和仅含缓冲液的对照组的背景反应。分析至少三次独立测定的所有结合动力学数据。

[0250] 8.2 结果

[0251] 结果呈现为绝对数以及优于野生型的改良倍数。几乎所有列出的变体当与贝伐单抗或野生型相比较时都具有改良的缔合(k_{on})和解离(k_{off})速率(表7)。变体的最终亲和力值在0.1nM范围内且对应于SEQ ID NO:82的变体达到低至0.08nM的值。这些值与在这些实验中所测得的亲和力为1.9nM的贝伐单抗形成对比。

[0252] 表8和表9展示初步结合研究显示对VEGF的亲和力高于贝伐单抗(数据未示)的其它重链变体。表10展示初步研究指示对VEGF的亲和力类似于贝伐单抗(数据未示)的重链变体。表11展示初步研究指示对VEGF的亲和力类似于贝伐单抗(数据未示)的轻链变体。

[0253] 9.实例3:脱免疫的变体肽的选择

[0254] 产生对应于贝伐单抗的免疫原性区域(参见实例1)的变体肽(表14到16)。根据实例2中描述的综合性突变分析来选择变体肽,其中鉴别出不会实质上降低贝伐单抗对VEGF的结合亲和力的CDR修饰。

[0255] 总共合成77种肽,并根据抗原结合研究加以测试,包括各亲本15肽的两种合成法。利用第7.1节中描述的方法用亲本肽和变体肽测试总共93个供体且结果展示于图4A到图4C中。具体说来,图4A到图4C展示对突变贝伐单抗表位肽的CD4+T细胞反应。用空心标记指示对未经修饰的亲本表位序列的平均反应。大圆形指示表17(参见下文)中提到的所选肽。图4A展示VH CDR2肽;图4B展示VH CDR3肽;且图4C展示VLCDR2肽。所选肽的免疫原性数据展示于表17中。

[0256] 对于重链可变区CDR2肽,在此研究中对亲本肽的平均反应百分比为5.38%和6.45%。三种突变肽展示与亲本肽相比较,总反应率和平均刺激指数降低。

[0257] 重链可变区CDR3表位肽的亲本肽反应率在此研究中为7.53%和6.45%。发现了展示比亲本肽低的总反应的单突变肽序列。

[0258] 最后,轻链可变区CDR2肽亲本反应率在此研究中为25.8%和15%。鉴别出一种展示比亲本肽低的总免疫原性的突变肽。

[0259] 为了证实脱免疫突变与贝伐单抗相比较维持对VEGF的亲和力,使用流式细胞测量术来比较在经修饰的表位肽中并有突变的变体抗体(呈单氨基酸或双氨基酸修饰形式)与贝伐单抗的结合性质。几种脱免疫突变对VEGF的亲和力与贝伐单抗相当或有所增加。

[0260] 在一项研究中,用3nM结合有Alexa647的rHuVEGF(英杰公司目录号PHG0143)和以1:400稀释的山羊抗人类κRPE(南方生物技术公司(Southern Biotech)目录号2063-09)对表达表面结合形式的贝伐单抗变体的经短暂转染的293c18细胞染色。通过流式细胞测量术使用达科赛脱美(DakoCytomation)CyAn ADP流式细胞仪来采集数据,并使用Treestar's

FloJo分析程式加以分析。此研究中测量的平均荧光强度(MFI)列于表18中。

[0261] 在另一研究中，测量贝伐单抗和变体抗体与VEGF结合的EC_{50}。使用贝伐单抗和其变体以及如上所述结合有Alexas647的rHu VEGF来产生抗体滴定曲线，其中VEGF自5μM经两倍连续稀释达到0.01μM。EC_{50}值展示于表19中。

[0262] 10.特定实施例、参考文献的引用

[0263] 本申请案中引用的所有出版物、专利、专利申请案和其它文献都以全文引用的方式并入本文中用于所有目的，引用的程度就如同已个别地指示将各个别出版物、专利、专利申请案或其它文献以引用的方式并入用于所有目的一般。尽管已经说明和描述各种特定实施例，但应了解可在不脱离本发明的精神和范围的情况下进行各种改变。

序列表

<110> 亚培生物医疗股份有限公司

<120> 抗VEGF抗体和其用途

<130> 381493-223WO (104004)

<140>
<141>

<150> 61/218,005
<151> 2009-06-17

<160> 412

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 1
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

[0001] Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 2
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 2
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 3
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn
1 5 10

[0002]

<210> 4
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 4
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 5
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 5
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 6
<211> 11

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 6
Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 7
Phe Thr Ser Ser Leu His Ser
1 5

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

[0003]

<400> 8
Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 9
<211> 231
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 9
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Asp Phe Thr His Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
195 200 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Leu
225 230

[0004]

<210> 10
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 10
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 11
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

[0005]
<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 11
Gly Tyr Asp Phe Thr His Tyr Gly Met Asn
1 5 10

<210> 12
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 12
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 13
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 13
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

<210> 14
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 14
Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg
1 5 10 15

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 15
Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
1 5 10 15

<210> 16
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0006]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 16
Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser
1 5 10 15

<210> 17
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 17
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln
1 5 10 15

<210> 18
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 18
Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser
1 5 10 15

<210> 19
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 19
Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu
1 5 10 15

<210> 20
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 20
Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr
1 5 10 15

<210> 21
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0007]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 21
Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
1 5 10 15

<210> 22
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 22
Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
1 5 10 15

<210> 23
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 23
Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
1 5 10 15

<210> 24
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 24
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
1 5 10 15

<210> 25
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 25
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Phe Thr
1 5 10 15

<210> 26
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0008] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 26
Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Phe Thr Ser Ser Leu
1 5 10 15

<210> 27
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 27
Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly
1 5 10 15

<210> 28
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 28
Val Leu Ile Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser
1 5 10 15

<210> 29
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 29
Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
1 5 10 15

<210> 30
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 30
Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15

<210> 31
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0009]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 31
His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
1 5 10 15

<210> 32
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 32
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

<210> 33
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 33
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
1 5 10 15

<210> 34
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 34
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
1 5 10 15

<210> 35
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 35
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
1 5 10 15

<210> 36
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0010]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 36
Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
1 5 10 15

<210> 37
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 37
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
1 5 10 15

<210> 38
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 38
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
1 5 10 15

<210> 39
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 39
Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr
1 5 10 15

<210> 40
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 40
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp
1 5 10 15

<210> 41
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0011]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 41
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr Phe Gly
1 5 10 15

<210> 42
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 42
Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr
1 5 10 15

<210> 43
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 43
Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
1 5 10 15

<210> 44
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 44
Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
1 5 10 15

<210> 45
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 45
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
1 5 10 15

<210> 46
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0012]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 46
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
1 5 10 15

<210> 47
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 47
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
1 5 10 15

<210> 48
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 48
Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
1 5 10 15

<210> 49
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 49
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr
1 5 10 15

<210> 50
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 50
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
1 5 10 15

<210> 51
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0013]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 51
Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly
1 5 10 15

<210> 52
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 52
Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp
1 5 10 15

<210> 53
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 53
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln
1 5 10 15

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 54
Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
1 5 10 15

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 55
Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
1 5 10 15

<210> 56
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0014]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 56
Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10 15

<210> 57
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 57
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Trp Ile
1 5 10 15

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 58
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Trp Ile Asn Thr Tyr
1 5 10 15

<210> 59
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 59
Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu
1 5 10 15

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

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

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

<220>
[0015] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 61
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp
1 5 10 15

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 62
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Arg
1 5 10 15

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 63
Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Arg Arg Phe Thr
1 5 10 15

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 64
Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu
1 5 10 15

<210> 65
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 65
Ala Ala Asp Phe Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser
1 5 10 15

<210> 66
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0016]
<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 66
Phe Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr
1 5 10 15

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 67
Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr Leu
1 5 10 15

<210> 68
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 68
Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn
1 5 10 15

<210> 69
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 69
Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
1 5 10 15

<210> 70
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 70
Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
1 5 10 15

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

[0017]
<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 71
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
1 5 10 15

<210> 72
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 72
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
1 5 10 15

<210> 73
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 73
Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr
1 5 10 15

<210> 74
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 74
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro His Tyr
1 5 10 15

<210> 75
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 75
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser
1 5 10 15

<210> 76
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0018]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 76
Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp
1 5 10 15

<210> 77
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 77
Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

<210> 78
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 78
Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly
1 5 10 15

<210> 79
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 79
Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
1 5 10 15

<210> 80
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 80
Ser His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
1 5 10 15

<210> 81
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0019] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 81
Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10 15

<210> 82
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 82
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro Asp Tyr Asp Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 83
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 83
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

[0020] Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro Pro Tyr Asp Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 84
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 84
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro Pro Tyr Glu Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 85
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 85
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

[0021]

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro Glu Tyr Glu Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 86
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 86
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro Asp Tyr Glu Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

[0022] <210> 87
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 87
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro Glu Tyr Asp Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 88
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 88
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

[0023]

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Asp Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 89
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 89
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro Pro Tyr Asp Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 90
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 90
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

[0024]

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 91
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 91
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 92
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 92
[0025] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro Pro Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 93
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 93
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro Glu Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

[0026]

<210> 94
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 94
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 95
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 95
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

[0027] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Tyr Pro Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 96
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 96
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Phe Tyr
20 25 30

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

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

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Pro Pro Tyr Tyr Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 97
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 97
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 98
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0028]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 98
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Phe Asp Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 99
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 99
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Glu Asp Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 100
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 100
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 101
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 101
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Gly Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 102
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 102
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Leu Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 103
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0029]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 103
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Gln Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 104
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 104
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Thr Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 105
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 105
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Lys Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 106
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 106
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Arg Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 107
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 107
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Glu Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 108
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0030] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 108
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala His Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 109
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 109
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Ser Arg
1 5 10 15

<210> 110
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 110
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Val Arg
1 5 10 15

<210> 111
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 111
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Gln Arg
1 5 10 15

<210> 112
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 112
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Val
1 5 10 15

<210> 113
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0031]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 113
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Phe
1 5 10 15

<210> 114
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 114
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys His
1 5 10 15

<210> 115
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 115
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Asn
1 5 10 15

<210> 116
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 116
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Ser
1 5 10 15

<210> 117
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 117
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Gln
1 5 10 15

<210> 118
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0032] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 118
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Lys
1 5 10 15

<210> 119
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 119
Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Ile
1 5 10 15

<210> 120
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 120
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Phe Asp Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 121
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 121
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Glu Asp Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 122
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 122
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 123
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0033]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 123
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Gly Phe Lys Arg
1 5 10 15

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 124
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Leu Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 125
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 125
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Gln Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 126
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 126
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Thr Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 127
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 127
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Lys Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 128
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0034] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 128
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Arg Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 129
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 129
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Glu Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 130
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 130
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala His Phe Lys Arg
1 5 10 15

<210> 131
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 131
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Ser Arg
1 5 10 15

<210> 132
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 132
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Val Arg
1 5 10 15

<210> 133
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0035] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 133
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Gln Arg
1 5 10 15

<210> 134
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 134
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Val
1 5 10 15

<210> 135
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 135
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Phe
1 5 10 15

<210> 136
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 136
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys His
1 5 10 15

<210> 137
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 137
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Asn
1 5 10 15

<210> 138
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0036] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 138
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Ser
1 5 10 15

<210> 139
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 139
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Gln
1 5 10 15

<210> 140
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 140
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Lys
1 5 10 15

<210> 141
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 141
Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Ile
1 5 10 15

<210> 142
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 142
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 143
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0037] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 143
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Glu Tyr
1 5 10 15

<210> 144
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 144
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Pro Tyr
1 5 10 15

<210> 145
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 145
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro His Phe
1 5 10 15

<210> 146
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 146
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Asp Phe
1 5 10 15

<210> 147
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 147
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Glu Phe
1 5 10 15

<210> 148
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0038] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 148
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Pro Phe
1 5 10 15

<210> 149
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 149
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Phe Thr
1 5 10 15

<210> 150
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 150
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Asp Thr
1 5 10 15

<210> 151
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 151
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Thr
1 5 10 15

<210> 152
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 152
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Gly Thr
1 5 10 15

<210> 153
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0039] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 153
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ala Thr
1 5 10 15

<210> 154
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 154
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Phe Ala
1 5 10 15

<210> 155
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 155
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Asp Ala
1 5 10 15

<210> 156
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 156
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala
1 5 10 15

<210> 157
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 157
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Gly Ala
1 5 10 15

<210> 158
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0040] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 158
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ala Ala
1 5 10 15

<210> 159
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 159
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Thr
1 5 10 15

<210> 160
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 160
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Thr
1 5 10 15

<210> 161
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 161
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Thr
1 5 10 15

<210> 162
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 162
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Thr
1 5 10 15

<210> 163
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0041] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 163
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Phe Ala
1 5 10 15

<210> 164
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 164
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala
1 5 10 15

<210> 165
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 165
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala
1 5 10 15

<210> 166
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 166
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala
1 5 10 15

<210> 167
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 167
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala
1 5 10 15

<210> 168
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0042] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 168
Gly Tyr Asp Phe Thr Asn Tyr Gly Met
1 5

<210> 169
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 169
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Ile
1 5

<210> 170
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 170
Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr Gly Met
1 5

<210> 171
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 171
Ala Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met
1 5

<210> 172
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 172
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
1 5 10

<210> 173
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0043] <220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 173
Gly Tyr Asp Phe Thr His Tyr Gly Ile
1 5

<210> 174
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 174
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Ala
1 5

<210> 175
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 175
Gly Tyr Asp Phe Gly His Tyr Gly Ile
1 5

<210> 176
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 176
Gly Tyr Glu Phe Gln His Tyr Gly Ile
1 5

<210> 177
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 177
Gly Tyr Asp Phe Ser His Tyr Gly Ile
1 5

<210> 178
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0044]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 178
Gly Tyr Glu Phe Ser His Tyr Gly Ile
1 5

<210> 179
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 179
Gly Tyr Glu Phe Thr His Tyr Gly Ile
1 5

<210> 180
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 180
Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr Gly Ile
1 5

<210> 181
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 181
Gly Tyr Asp Phe Thr Asn Tyr Gly Ile
1 5

<210> 182
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 182
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Ala
1 5 10

<210> 183
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0045] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 183
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Ala Met
1 5

<210> 184
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 184
Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr Gly Met
1 5

<210> 185
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 185
Gly Tyr Thr Phe Ala Asn Tyr Gly Met
1 5

<210> 186
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 186
Gly Tyr Thr Ala Thr Asn Tyr Gly Met
1 5

<210> 187
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 187
Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Gly Met
1 5

<210> 188
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0046]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 188
Gly Ala Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met
1 5

<210> 189
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 189
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Ala Gly Met
1 5

<210> 190
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 190
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Glu Phe Thr
1 5 10 15

Arg

<210> 191
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 191
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Val Asp Glu Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 192
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 192
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Glu Glu Phe Lys
1 5 10 15

[0047]

Arg

<210> 193
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 193
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Pro Glu Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 194
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 194
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Gln Glu Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 195
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 195
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Ala His Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 196
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 196
Trp Ile Asn Thr Tyr Asn Gly Glu Thr Thr Tyr Ala Pro Asp Phe Lys
1 5 10 15

[0048]

Arg

<210> 197
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 197
Trp Ile Asn Thr Tyr Asn Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Pro Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 198
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 198
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ala Gln Asp Phe Lys

1 5 10 15

Arg

<210> 199
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 199
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Asn Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 200
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 200
[0049] Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys
1 5 10 15

Glu

<210> 201
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 201
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Glu Glu Phe Thr
1 5 10 15

Arg

<210> 202
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 202

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala His Glu Phe Thr
1 5 10 15

Arg

<210> 203
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 203
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Pro Asp Phe Thr
1 5 10 15

Arg

<210> 204
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

[0050]

<400> 204
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala His Glu Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 205
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 205
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Pro Glu Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 206
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 206
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Gln Glu Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 207
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 207
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Ala His Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 208
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

[0051]

<400> 208
Trp Ile Asn Thr Tyr Asn Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Pro Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 209
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 209
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Pro Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 210
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ala Gln Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 211
Trp Ile Asn Thr Asn Asn Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

[0052]

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> 任何氨基酸

<400> 212
Trp Ile Asn Thr Xaa Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

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

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 213
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Lys Phe
1 5 10 15

Lys Asp Arg

<210> 214
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 214
Val Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 215
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 215
Trp Ile Asn Thr Trp Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

[0053]

<210> 216
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 216
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Ala

<210> 217
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 217
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Ala
1 5 10 15

Arg

<210> 218

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 218
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Ala Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 219
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 219
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Ala Phe Lys
1 5 10 15

Arg

[0054]

<210> 220
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 220
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 221
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 221
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 222
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 222
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Ala Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 223
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 223
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

[0055]

<210> 224
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 224
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Ala Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 225
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 225
Trp Ile Asn Thr Trp Thr Gly Gln Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 226
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 226
Trp Ile Asn Thr Trp Thr Gly Thr Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 227
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 227
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Ala Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

[0056]

<210> 228
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 228
Trp Ile Asn Thr Tyr Ala Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 229
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 229
Trp Ile Asn Thr Trp Asp Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 230
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 230
Trp Ile Asn Thr Ala Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 231
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 231
Trp Ile Asn Thr Trp Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

[0057]

<210> 232
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 232
Trp Ile Asn Ala Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 233
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 233
Trp Ile Ala Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 234
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 234
Trp Ala Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 235
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 235
Ala Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

[0058] Arg

<210> 236
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 236
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Ala Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 237
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 237
Tyr Pro Lys Tyr Tyr Gly Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 238
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 238
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 239
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 239
Tyr Pro His Tyr Tyr Val Asn Glu Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 240
<211> 14
<212> PRT
[0059] <213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 240
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 241
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 241
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 242
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 242

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 243
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 243
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Arg Ser Gln Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 244
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 244
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Gly Cys His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 245
<211> 14
<212> PRT
[0060] <213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 245
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Thr Thr His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 246
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 246
Asp Pro His Tyr Tyr Gly Ser Tyr His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 247
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 247

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Tyr His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 248
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 248
Arg Pro His Tyr Tyr Gly Ala Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 249
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 249
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ala Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 250
<211> 18
<212> PRT
[0061] <213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 250
Tyr Pro His Tyr Tyr Ser Gly Glu Arg Glu Ser Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 251
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 251
Tyr Pro His Tyr Tyr Ala Arg Glu Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 252
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 252
Tyr Pro His Tyr Tyr Ser Val Glu Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 253
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 253
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 254
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

[0062]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 254
Tyr Pro His Tyr Tyr Gln Ser Glu Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 255
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 255
Tyr Pro His Tyr Tyr His Thr Arg Gly Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 256
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 256
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Thr Asp His Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 257
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 257
Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Gly Asp Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 258
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

[0063]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 258
Tyr Pro His Tyr Tyr Glu Lys Gln Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 259
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 259
Tyr Pro His Tyr Tyr Ser Asp Glu Lys Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 260
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 260
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Lys Asp Gly Lys Lys Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 261
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 261
Tyr Pro His Tyr Tyr Lys Glu Asp Lys Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 262
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

[0064]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 262
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Arg Asp Lys Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 263
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 263
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Ser Asp Lys Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 264
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 264
Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Arg Asp Lys Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 265
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 265
Tyr Pro His Tyr Tyr Ser His Gln Lys Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

[0065]

<210> 266
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 266
Tyr Pro His Tyr Tyr Thr Tyr Asp Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 267
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 267
Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Gly Gln Arg Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 268
<211> 18
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 268
Tyr Pro His Tyr Tyr Glu Lys Glu Arg Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 269
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 269
Tyr Pro His Tyr Tyr Gln Asp Glu Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

[0066]

<210> 270
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 270
Tyr Pro His Tyr Tyr Glu Arg Asp Gly Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 271
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 271
Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Asn Glu Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 272
<211> 18

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 272
Tyr Pro His Tyr Tyr Gln Arg Asn Gly Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 273
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 273
Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Thr Glu Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

[0067]

<210> 274
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 274
Tyr Pro His Tyr Tyr Val Asn Asp Lys Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 275
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 275
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Lys Asp Gly Met Ser Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 276

<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 276
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Asn Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 277
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 277
Tyr Pro His Tyr Tyr Pro Ser Pro Arg Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 278
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

[0068]

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 278
Tyr Pro His Tyr Tyr Gln Asn Glu Gly Pro Ser Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 279
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 279
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 280
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 280
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 281
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 281
Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Asp Glu Arg Glu Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 282
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 282
Tyr Pro His Tyr Tyr Ser His Glu Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
[0069] 1 5 10 15

Val

<210> 283
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 283
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Lys Asp Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 284
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 284

Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Asn Glu Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 285
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 285
Tyr Pro His Tyr Tyr Ser Asn Glu Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 286
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

[0070]

<400> 286
Tyr Pro His Tyr Tyr Val Asn Glu Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 287
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 287
Tyr Pro His Tyr Tyr Val Thr Asp Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 288
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 288
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Asn His Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 289
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 289
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Lys Asp Gly Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 290
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

[0071]

<400> 290
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Lys Asp Arg Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 291
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 291
Tyr Pro His Tyr Tyr Gln Arg Asp Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 292
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 292
Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Asp Glu Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 293
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 293
Tyr Pro His Tyr Tyr Glu Arg Asp Gly Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 294
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

[0072]

<400> 294
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Arg Asp Gly Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 295
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 295
Tyr Pro His Tyr Tyr Arg Asn Glu Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 296
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 296
Tyr Pro His Tyr Tyr Ser His Glu Arg Val Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 297
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 297
Tyr Pro His Tyr Tyr Gln Lys Gln Ser Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Val

<210> 298
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

[0073]

<400> 298
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 299
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 299
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 300
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 300
Tyr Pro His Tyr Tyr Val Glu Glu Thr Glu Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 301
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 301
Tyr Pro His Tyr Tyr Val Gly Glu Thr Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 302
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> 任何氨基酸

[0074]

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> 任何氨基酸

<400> 302
Tyr Pro Xaa Tyr Tyr Gly Xaa Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 303
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 303
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Ala Asp Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 304
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 304
Tyr Pro His Tyr Tyr Val Gly Glu Gln Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 305
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 305
Tyr Pro His Tyr Tyr Val Gly Glu Thr Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 306
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

[0075]

<400> 306
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Lys Asp Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 307
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 307
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Lys Asp Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 308
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 308
Tyr Pro His Tyr Tyr Ala Lys Glu Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 309
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 309
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10 15

<210> 310
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

[0076]

<400> 310
Tyr Pro His Tyr Tyr Lys Asn Asp Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 311
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 311
Tyr Pro His Tyr Tyr Leu Asn Asp Lys Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 312
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 312
Tyr Pro His Tyr Tyr Val Asn Glu Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 313
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 313
Tyr Pro His Tyr Tyr Ala Arg Asp Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 314
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

[0077]

<400> 314
Tyr Pro His Tyr Tyr Tyr Arg Asp Arg Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 315
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 315
Tyr Pro Tyr Tyr Asn Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 316
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 316
Pro Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 317
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 317
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 318
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 318
Tyr His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 319
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0078] <221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 319
Tyr Tyr His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 320
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 320
Thr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 321
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 321
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 322
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 322
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 323
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 323
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 324
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

[0079] <220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 324
Tyr Pro His Tyr Tyr Val Asn Glu Arg Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Val

<210> 325
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 325
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 326
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 326
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 327
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 327
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Ala
1 5 10

<210> 328
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 328
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

[0080]

<210> 329
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 329
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Ala Val
1 5 10

<210> 330
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 330
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Ala Asp Val
1 5 10

<210> 331
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 331
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Ala Phe Asp Val
1 5 10

<210> 332
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 332
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Ala Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 333
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 333
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser Ala Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

[0081]

<210> 334
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 334
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ala His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 335
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 335
Tyr Pro Tyr Tyr Arg Gln Lys Gly His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 336
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 336
Tyr Pro Tyr Tyr Arg Gln Arg Gly His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 337
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 337
Tyr Pro Tyr Tyr Arg Asp Ala Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 338
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 338
Tyr Pro Tyr Tyr Arg Asn Ala Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

[0082]

<210> 339
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 339
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ala Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 340
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 340
Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ala Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 341
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 341
Tyr Pro Tyr Tyr Arg Gly Glu Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 342
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 342
Tyr Pro Tyr Tyr Arg Lys Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 343
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 343
Tyr Pro Tyr Tyr Arg Ser Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

[0083]

<210> 344
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 344
Tyr Pro Tyr Tyr Lys Gly Gly Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 345
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 345
Tyr Pro Tyr Tyr Ile Ala Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 346
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 346
Tyr Pro Tyr Tyr Ile Asn Lys Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 347
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 347
Tyr Pro Tyr Tyr Arg Asp Asn Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 348
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 348
Tyr Pro Tyr Tyr Arg Gln Asn Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

[0084]

<210> 349
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 349
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Asn Gln Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 350
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 350
Tyr Pro Tyr Tyr Ile Glu Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 351
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 351
Tyr Pro Tyr Tyr Thr Asn Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 352
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 352
Tyr Pro Tyr Tyr Thr Thr Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 353
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 353
Tyr Pro Tyr Tyr Thr Gly Arg Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

[0085]

<210> 354
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 354
Tyr Pro Tyr Tyr Lys Asn Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 355
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 355
Tyr Pro Tyr Tyr Arg Asn Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 356
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 356
Tyr Pro Tyr Tyr Thr Asn Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 357
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 357
Tyr Pro Tyr Tyr Arg Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 358
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 358
Tyr Pro Tyr Tyr Trp Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

[0086]

<210> 359
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 359
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 360
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 360
Tyr Pro His Tyr Tyr Ala Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 361
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 361
Tyr Pro Tyr Tyr Lys Glu Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 362
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 362
Tyr Pro Tyr Tyr Arg Asn Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 363
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 363
Tyr Pro Tyr Tyr Arg Gln Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

[0087]

<210> 364
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 364
Tyr Pro His Tyr Ala Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 365
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 365
Tyr Pro Tyr Tyr Glu Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 366
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 366
Tyr Pro Tyr Tyr Thr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 367
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 367
Tyr Pro His Ala Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 368
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 368
Tyr Pro Ala Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

[0088]

<210> 369
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 369
Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 370
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 370
Ala Ala His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 371
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 371
Ala Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 372
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 372
Ala Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 373
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 373
Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

[0089]

<210> 374
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 374
Ser Ala Ala Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 375
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 375
Ser Ala Ser Ala Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 376
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 376
Ser Ala Ser Gln Ala Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 377
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 377
Ser Ala Ser Gln Asp Ala Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 378
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 378
Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ala Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

[0090]

<210> 379
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 379
Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 380
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 380
Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Ala Leu Asn
1 5 10

<210> 381
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 381
Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 382
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 382
Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 383
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 383
Arg Ala Asn Glu Gln Leu Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

[0091]

<210> 384
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 384
Arg Ala Asn Glu Gln Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 385
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 385
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 386
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 386
Ala Thr Ser Ser Leu His Ser
1 5

<210> 387
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 387
Phe Ala Ser Ser Leu His Ser
1 5

<210> 388
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 388
Phe Thr Ala Ser Leu His Ser
1 5

[0092]

<210> 389
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 389
Phe Thr Ser Ala Leu His Ser
1 5

<210> 390
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 390
Phe Thr Ser Ser Ala His Ser
1 5

<210> 391
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 391
Phe Thr Ser Ser Leu Ala Ser
1 5

<210> 392
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 392
Phe Thr Ser Ser Leu His Ala
1 5

<210> 393
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 393
Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

[0093]

<210> 394
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 394
Gln Gln Tyr Ser Thr Val Phe Trp Thr
1 5

<210> 395
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 395
Gln Gln Tyr Asn Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 396
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 396
Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 397
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 397
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 398
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 398
Gln Gln Tyr Ser Ala Val Pro Trp Thr
1 5

[0094]

<210> 399
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 399
Gln Gln Tyr Ser Asn Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 400
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 400
Gln Gln Tyr Ser Ser Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 401
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 401
Ala Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 402
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 402
Gln Ala Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 403
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 403
Gln Gln Ala Ser Thr Val Pro Trp Thr
1 5

[0095]

<210> 404
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 404
Gln Gln Tyr Ala Thr Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 405
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 405
Gln Gln Tyr Ser Ala Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 406
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 406
Gln Gln Tyr Ser Thr Ala Pro Trp Thr
1 5

<210> 407
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 407
Gln Gln Tyr Ser Thr Val Ala Trp Thr
1 5

<210> 408
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 408
Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Ala Thr
1 5

[0096]

<210> 409
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 409
Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp Ala
1 5

<210> 410
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 410
Gln Gln Tyr Asn Ser Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 411
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 411
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met
1 5

<210> 412
<211> 15
<212> PRT
[0097] <213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 412
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

抗体链	互补决定区（CDR）编号	残基	在互补决定区中的位置	卡贝特（Kabat）编号
重链	1	G	1	26
		Y	2	27
		T	3	28
		F	4	29
		T	5	30
		N	6	31
		Y	7	32
		G	8	33
		M	9	34
		N	10	35
重链	2	W	1	50
		I	2	51
		N	3	52
		T	4	52a
		Y	5	53
		T	6	54
		G	7	55
		E	8	56
		P	9	57
		T	10	58
		Y	11	59
		A	12	60
		A	13	61
		D	14	62
		F	15	63
		K	16	64
		R	17	65
重链	3	Y	1	95
		P	2	96
		H	3	97
		Y	4	98
		Y	5	99
		G	6	100
		S	7	100a
		S	8	100b
		H	9	100c
		W	10	100d
		Y	11	100e
		F	12	100f
		D	13	101
		V	14	102

表1

抗体链	互补决定区编号	残基	在互补决定区中的位置	卡贝特编号
轻链	1	S	1	24
		A	2	25
		S	3	26
		Q	4	27
		D	5	28
		I	6	29
		S	7	30
		N	8	31
		Y	9	32
		L	10	33
		N	11	34
轻链	2	F	1	50
		T	2	51
		S	3	52
		S	4	53
		L	5	54
		H	6	55
		S	7	56
轻链	3	Q	1	89
		Q	2	90
		Y	3	91
		S	4	92
		T	5	93
		V	6	94
		P	7	95
		W	8	96
		T	9	97

表2

SEQ ID NO:	免疫球蛋白轻链可变区的肽
13.	DIQMTQSPSSLSASV
14.	MTQSPSSLSASVGDR
15.	SPSSLSASVGDRVTI
16.	SLSASVGDRVTITCS
17.	ASVGDRVTITCSASQ
18.	GDRVTITCSASQDIS
19.	VTITCSASQDISNYL
20.	TCSASQDISNYLNWY
21.	ASQDISNYLNWYQQK
22.	DISNYLNWYQQKPGK
23.	NYLNWYQQKPGKAPK
24.	NWYQQKPGKAPKVLI
25.	QQKPGKAPKVLIYFT
26.	PGKAPKVLIYFTSSL
27.	APKVLIYFTSSLHSG
28.	VLIYFTSSLHSGVPS
29.	YFTSSLHSGVPSRFS
30.	SSLHSGVPSRFSGSG
31.	HSGVPSRFSGSGSGT
32.	VPSRFSGSGSGTDFT
33.	RFSGSGSGTDFTLTI
34.	GSGSGTDFTLTISSL
35.	SGTDFTLTISSLQPE
36.	DFTLTISSLQPEDFA
37.	LTISSLQPEDFATYY
38.	SSLQPEDFATYYCQQ
39.	QPEDFATYYCQQYST
40.	DFATYYCQQYSTVPW
41.	TYYCQQYSTVPWTFG
42.	CQQYSTVPWTFGQGT
43.	YSTVPWTFGQGTKVE
44.	VPWTFGQGTKVEIKR

表3

SEQ ID NO:	免疫球蛋白重链可变区的肽
45.	EVQLVESGGGLVQPG
46.	LVESGGGLVQPGGSL
47.	SGGGLVQPGGSLRLS
48.	GLVQPGGSLRLSCAA
49.	QPGGSLRLSCAASGY
50.	GSLRLSCAASGYTFT
51.	RLSCAASGYTFTNYG
52.	CAASGYTFTNYGMNW
53.	SGYTFTNYGMNWVRQ
54.	TFTNYGMNWVRQAPG
55.	NYGMNWVRQAPGKGL
56.	MNWVRQAPGKGLEWV
57.	VRQAPGKGLEWVGWI
58.	APGKGLEWVGWINTY
59.	KGLEWVGWINTYTGE
60.	EWVGWINTYTGEPTY
61.	GWINTYTGEPTYAAD
62.	NTYTGEPTYAADFKR
63.	TGEPTYAADFKRRFT
64.	PTYAADFKRRFTFSL
65.	AADFKRRFTFSLDTS
66.	FKRRFTFSLDTSKST
67.	RFTFSLDTSKSTAYL
68.	FSLDTSKSTAYLQMN
69.	DTSKSTAYLQMNSLR
70.	KSTAYLQMNSLRAED
71.	AYLQMNSLRAEDTAV
72.	QMNSLRAEDTAVYYC
73.	SLRAEDTAVYYCAKY
74.	AEDTAVYYCAKYPHY
75.	TAVYYCAKYPHYYGS
76.	YYCAKYPHYYGSSHW
77.	AKYPHYYGSSHWYFD
78.	PHYYGSSHWYFDVWG
79.	YGSSHWYFDVWGQGT
80.	SHWYFDVWGQGTLVT
81.	YFDVWGQGTLVTVSS

表4

SEQ ID. NO.	序列	n	%	刺激指数（SI）	平均值的标准误差（s. e. m.）
25	QQKPGKAPKVLIYFT	15	15.15	1.82	0.24
62	NTYTGEPTYAADFKR	16	16.16	2.16	0.35
74	AEDTAVYYCAKYPHY	9	9.09	1.45	0.18

表5

野生型	位置	候选脱免疫取代
互补决定区-重链2		
A	61	F, E, D
D	62	G, L, Q, T, K, R, E, H
K	64	S, V, Q
R	65	V, F, H, N, S, Q, K, I
互补决定区-重链3		
Y	98	H

表6

SEQ ID NO:	28	31	97	99	100a	k_{on}（1/摩尔浓度•秒）	k_{off}（1/秒）	K_D（摩尔浓度）	Δ k_{on}	Δ k_{off}	Δ K_D
82		F	D	D	G	2.08E+06	1.72E-04	8.27E-11	11.6	2.0	23.8
83		F	P	D	G	1.88E+06	1.94E-04	1.06E-10	10.4	1.8	18.6
84		F	P	E		1.60E+06	1.82E-04	1.28E-10	8.9	1.9	15.3
85		F	E	E		1.25E+06	1.75E-04	1.40E-10	6.9	2.0	14.1
86		F	D	E		1.33E+06	2.38E-04	1.79E-10	7.4	1.5	11.0
87		F	E	D	G	8.24E+05	1.60E-04	2.04E-10	4.6	2.2	9.6
88		F		D	G	9.68E+05	2.73E-04	2.82E-10	5.4	1.3	7.0
89		F	P	D		9.04E+05	2.49E-04	2.82E-10	5.0	1.4	7.0
90		F	D		G	6.45E+05	1.97E-04	3.11E-10	3.6	1.8	6.3
91		F				2.11E+05	1.21E-04	5.75E-10	1.2	2.9	3.4
92			P			3.67E+05	2.56E-04	7.08E-10	2.0	1.4	2.8
93			E			2.92E+05	2.25E-04	7.61E-10	1.6	1.6	2.6
94		F			G	2.58E+05	2.20E-04	8.57E-10	1.4	1.6	2.3
95			D			2.62E+05	3.96E-04	1.54E-09	1.5	0.9	1.3
96		F	P		G	2.25E+05	3.79E-04	1.75E-09	1.3	0.9	1.1
野生型	T	N	H	Y	S	1.80E+05	3.52E-04	1.97E-09	1.0	1.0	1.0

表7

野生型	位置	增加亲和力的重链取代
互补决定区-重链1		
T	28	P
N	31	F, G, M
互补决定区-重链3		
H	97	A, D, E, P, Q, S, T
Y	99	D, E
S	100a	D, E, G, V

表8

野生型	位置	增加亲和力的重链取代
互补决定区-重链1		
T	30	W, R, Q
互补决定区-重链2		
Y	53	F
T	58	F
A	61	G, K, R, H, Y
K	64	G, E
R	65	L, T, A, E, D
互补决定区-重链3		
Y	98	F
Y	100e	F

表9

野生型	位置	中性重链取代
互补决定区-重链1		
T	30	I, M, V
N	31	Y, S, A, Q
互补决定区-重链2		
A	61	F, E, D
D	62	G, L, Q, T, K, R, E, H
K	64	S, V, Q
R	65	V, F, H, N, S, Q, K, I
互补决定区-重链3		
Y	98	H

表10

野生型	位置	中性轻链取代
互补决定区-轻链1		
S	24	R, W, G
S	26	V
S	30	G
N	31	L, S
互补决定区-轻链2		
L	54	M
H	55	R
S	56	G, R
互补决定区-轻链3		
T	93	D, E, S

表11

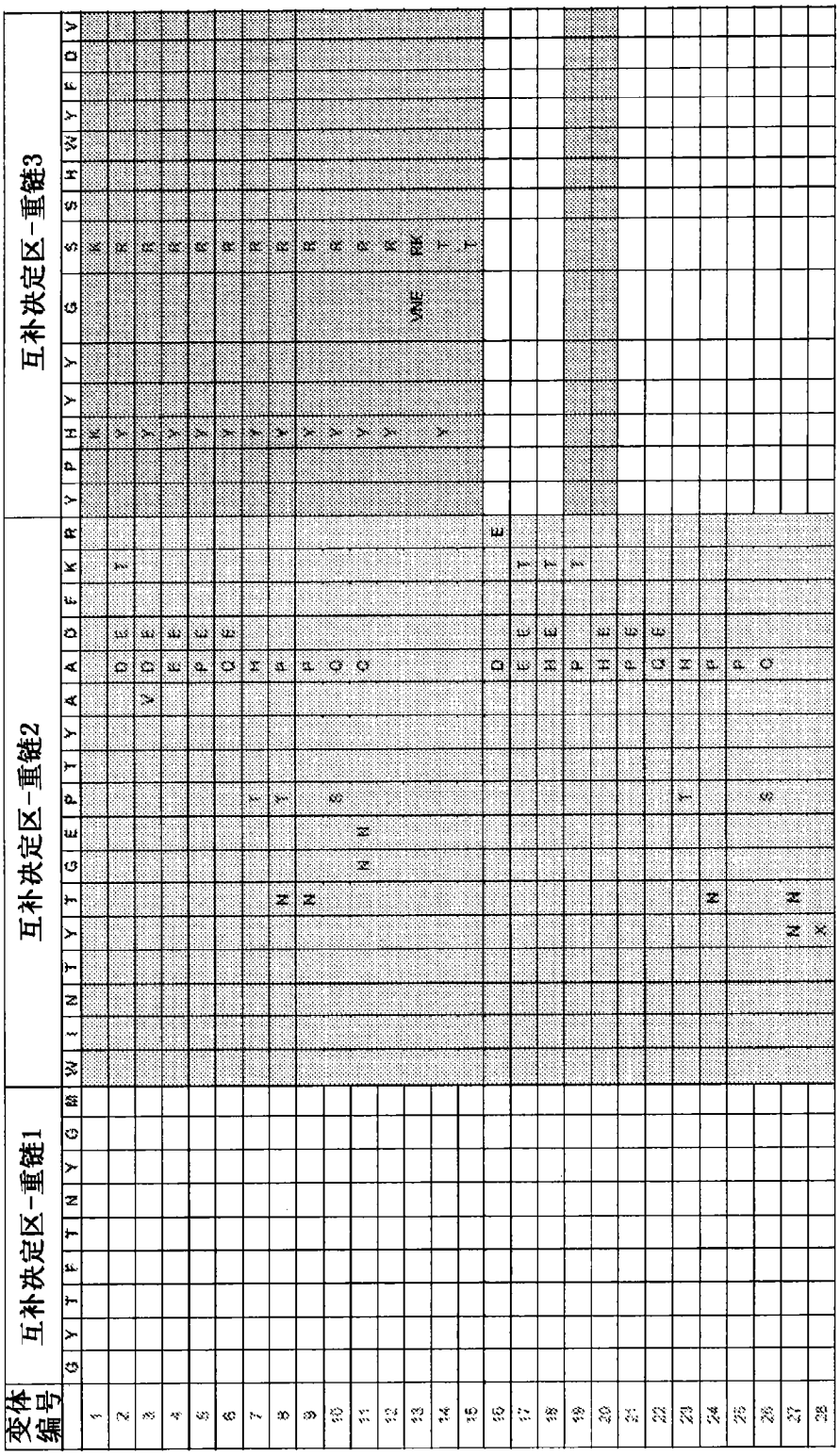


表12-1

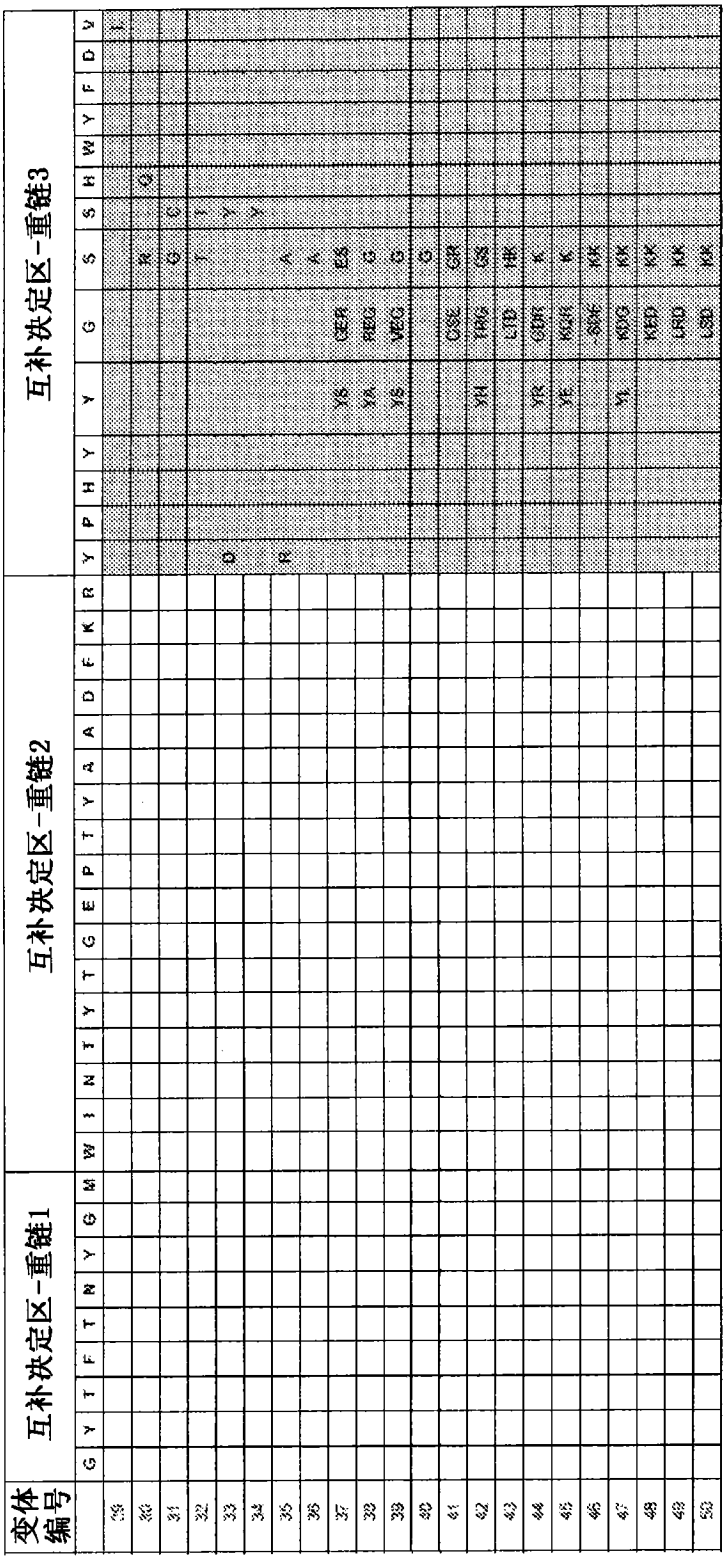
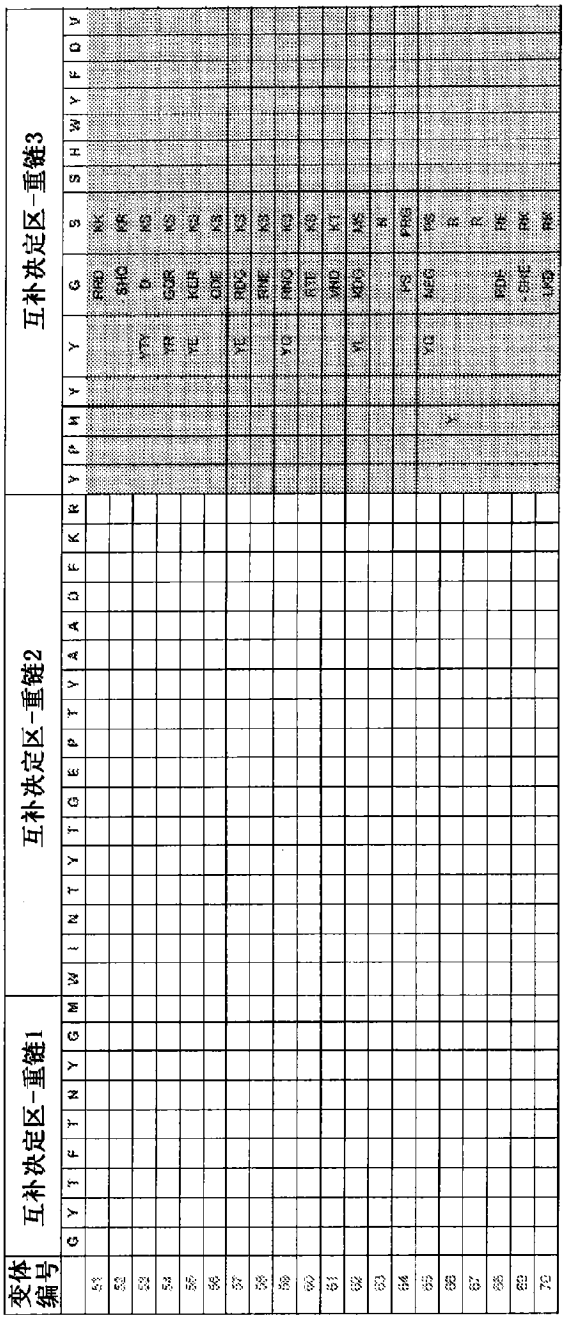


表12-2



变体编号	互补决定区-重链1																互补决定区-重链2																		互补决定区-重链3																	
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	Y	G	S	H	W	Y	F	D	V
53																																																	
58																																																
59																																																
54																																																
56																																																
66																																																
57																																																
55																																																
69																																																
60																																																
61																																																
62																																																
63																																																
64																																																
65																																																
68																																																
67																																																
70																																																
71																																																

表12-3

变体编号	互补决定区-重链1									互补决定区-重链2																	互补决定区-重链3													
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	Y	G	S	S	H	W	Y	F	D	V
71																																LNE	RK							
72																																SNE	RK							
73																																VNE	RK							
74																																VTD	RK							
75																																GNH	RS							
76																															YL	KDG	RS							
77																															YL	KDH	RS							
78																																GKD	RS							
79																																RDE	RS							
80																															YE	RDG	RS							
81																															YL	RDG	RS							
82																																RNE	RS							
83																																SHE	RV							
84																															YQ	KQ	SKS							
85																													Y				T							
86																																	T							
87																																VEE	TE							
88																															YV	GE	TS							
89																													X				X							
90																															YL	ADR								
91																															YV	GEQ								
92																															YV	GFT								
93																															YL	KDK								

表12-4

变体编号	互补决定区-重链1									互补决定区-重链2																	互补决定区-重链3													
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	Y	G	S	S	H	W	Y	F	D	V
94																															YL	KDR								
95																															YA	KER								
96																																LG								
97																															YK	NDK								
98																															YL	NDK								
99																															YV	NER								
100																															YA	RDR								
101																															YY	RDR								
102																													Y		N									
103																											P		Y											
104																													Y											
105																												-												
106																												Y												
107																											T													
108																													Y				R							
109			D																														R							
110																																	R							
111			D																													VNE	RK							
112									I																				Y				T							
113																													Y				T							

表12-5

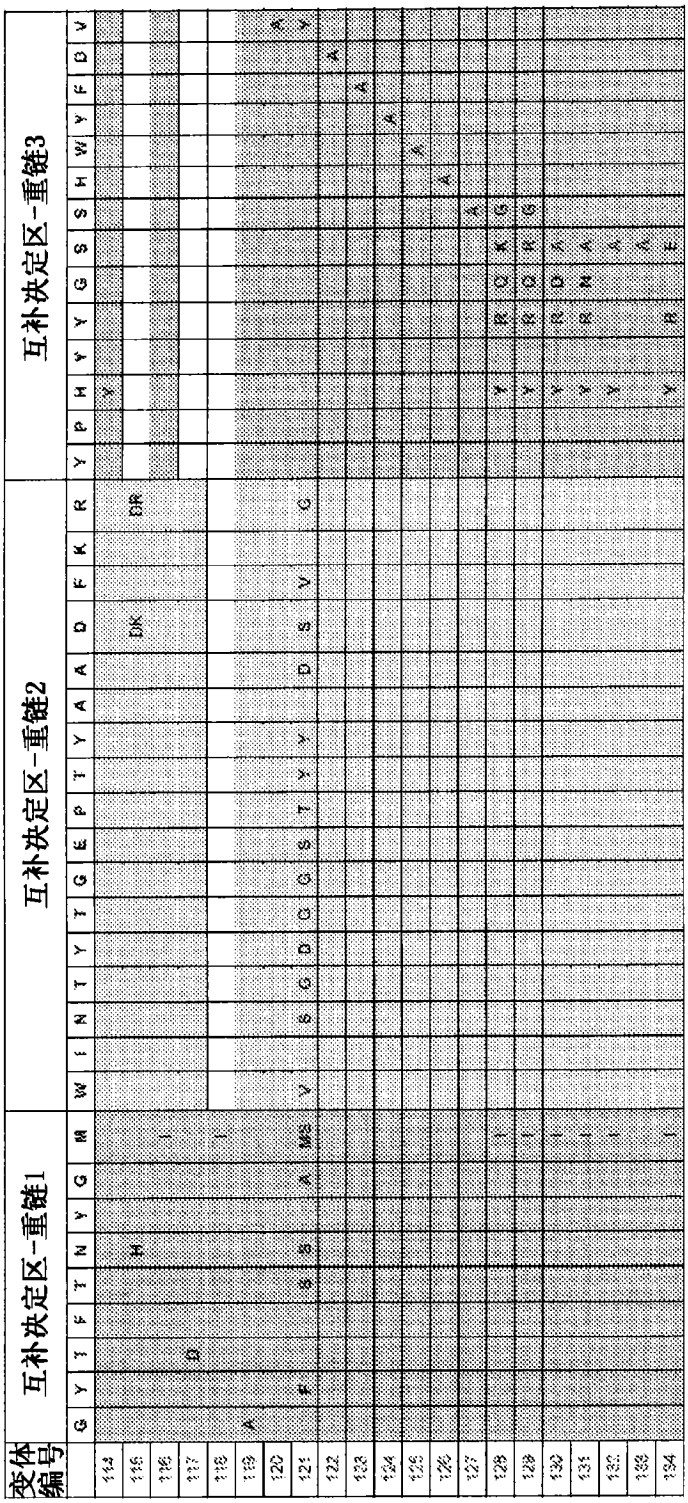
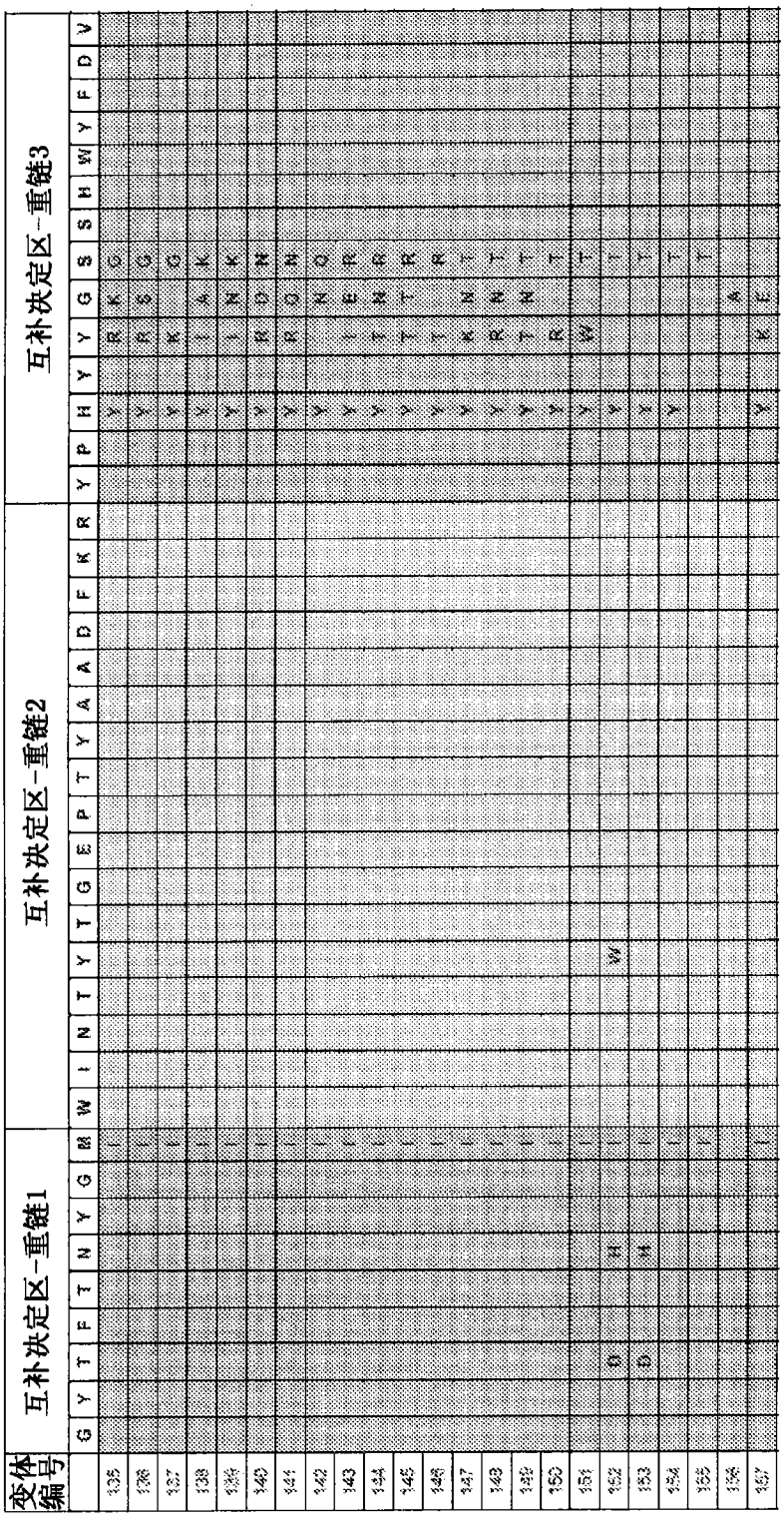
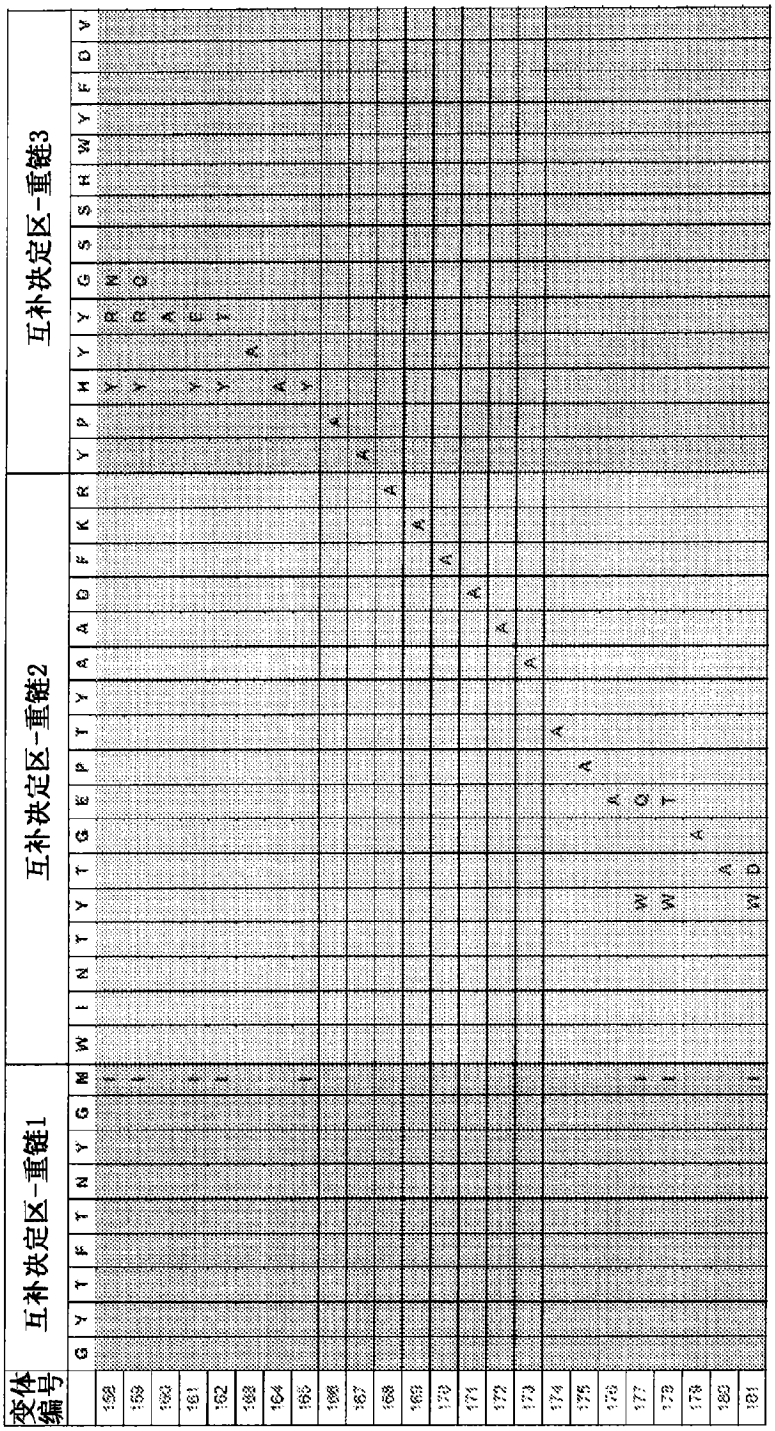


表12-6



变体编号	互补决定区-重链1										互补决定区-重链2																			互补决定区-重链3																	
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	Y	R	K	G	S	S	H	W	Y	F	D	V
135									I																				Y		R	K	G	S	S							
136									I																				Y		R	S	G	S	S							
137									I																				Y		K		G	S	S							
138									I																				Y		I	A	K	K								
139									I																				Y		I	N	K	D	N							
140									I																				Y		R	D	N									
141									I																				Y		R	Q	N									
142									I																				Y		N	Q										
143									I																				Y		=	E	R									
144									I																				Y		T	R	R									
145									I																				Y		T	T	R									
146									I																				Y		T	T	R									
147									I																				Y		K	N	T									
148									I																				Y		R	W	T									
149									I																				Y		T	W	T									
150									I																				Y		R		T									
151									I																				Y		W		T									
152				D		H			I					W															Y				T									
153				D		H			I																				Y				T									
154									I																				Y				T									
155									I																								T									
156									I																							A									
157									I																				Y		K	E										

表12-7



变体编号	互补决定区-重链1										互补决定区-重链2																				互补决定区-重链3										
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	G	S	S	H	W	Y	F	D	V
159									I																						Y	R	N							
160									I																						Y	R	Q							
161									I																						Y	A								
162									I																						Y	E								
163																															Y	T								
164									I																							A								
165									I																						A	Y								
166																															Y									
167																															A									
168																															A									
169																																								
170																																								
171																																								
172																																								
173																																								
174																																								
175																																								
176																																								
177																																								
178																																								
179																																								
180																																								
181																																								

表12-8

变体编号	互补决定区-重链1									互补决定区-重链2																	互补决定区-重链3													
	G	Y	T	F	T	N	Y	G	M	W	I	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	Y	P	H	Y	Y	G	S	S	H	W	Y	F	D	V
182														A																										
183									I					W																										
184													A																											
185												A																												
186											A																													
187										A																														
188									A																															
189			D		G	H			I																															
190			E		D	H			I																															
191			D		S	H			I																															
192			E		S	H			I																															
193			D			H			I																															
194			E			H			I																															
195						H			I																															
196			D						I																															
197									MA																															
198								A																																
199						A																																		
200					A																																			
201				A																																				
202			A																																					
203		A																																						
204							A																																	
205																				A																				

表12-9

变体编号	互补决定区-轻链1											互补决定区-轻链2						互补决定区-轻链3								
	S	A	S	Q	D	I	S	N	Y	L	N	F	T	S	S	L	H	S	Q	Q	Y	S	T	V	P	W	T
206																									F		
207																						NS		-			
208																						YS		-			
209																					SY			-			
210																							A				
211																							N				
212																							S				
213	A																										
214		A																									
215			A																								
216				A																							
217					A																						
218						A																					
219							A																				
220								A																			
221									A																		
222										A																	
223											A																
224												A															
225													A														
226														A													
227															A												
228																A											
229																	A										
230																		A									
231																			A								
232																				A							
233																					A						
234																						A					
235																							A				
236																								A			
237																									A		
238																										A	
239																											A
240	R		N	E	Q	L																					
241	R		N	E	Q																						
242	R				S						A	A	A				E					N	S	L			

表13

SEQ ID NO:	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	反应者数量*	反应者%	平均刺激指数
62																5	5.38	1.67
97			F													9	9.68	1.59
98											F					6	6.45	1.51
99											E					5	5.38	1.82
100											D					7	7.53	1.39
101												G				6	6.45	1.45
102												L				8	8.60	1.44
103												Q				10	10.75	1.46
104												T				4	4.30	1.40
105												K				5	5.38	1.50
106												R				4	4.30	1.32
107												E				5	5.38	1.32
108												H				4	4.30	1.21
109														S		2	2.15	1.22
110														V		4	4.30	1.19
111														Q		2	2.15	1.13
112															V	10	10.75	1.59
113															F	13	13.98	1.82
114															H	9	9.68	1.55
115															N	7	7.53	1.41
116															S	4	4.30	1.24
117															Q	7	7.53	1.33
118															K	4	4.30	1.27
119															I	9	9.68	2.06
	* n= 93																	

表14

SEQ ID NO:	N	T	Y	T	G	E	P	T	Y	A	A	D	F	K	R	反应者数量*	反应者%	平均刺激指数
120			F								F					7	7.53	1.68
121			F								E					8	8.60	1.51
122			F								D					4	4.30	1.34
123			F									G				3	3.23	1.19
124			F									L				6	6.45	1.29
125			F									Q				6	6.45	1.34
126			F									T				6	6.45	1.34
127			F									K				9	9.68	1.48
128			F									R				8	8.60	1.67
129			F									E				10	10.75	1.61
130			F									H				8	8.60	1.64
131			F											S		4	4.30	1.21
132			F											V		3	3.23	1.12
133			F											Q		2	2.15	1.15
134			F												V	6	6.45	1.41
135			F												F	12	12.90	1.65
136			F												H	11	11.83	1.70
137			F												N	9	9.68	1.80
138			F												S	11	11.83	1.80
139			F												Q	7	7.53	1.34
140			F												K	4	4.30	1.17
141			F												I	5	5.38	1.36
62																6	6.45	1.33
	* n= 93																	

表14（续）

SEQ ID NO:	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	K	Y	P	H	Y	反应者数量*	反应者%	平均刺激指数
74																7	7.53	1.45
142														D		11	11.83	1.62
143														E		6	6.45	1.43
144														P		10	10.75	1.97
145															F	4	4.30	1.26
146														D	F	5	5.38	1.22
147														E	F	1	1.08	1.09
148														P	F	5	5.38	1.22
74																6	6.45	1.34
	* n= 93																	

表15

SEQ ID NO:	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	V	L	I	Y	F	T	反应者数量*	反应者%	平均刺激指数
25																24	25.81	3.69
149										L						18	19.35	2.05
150														D		6	6.45	1.42
151														S		6	6.45	1.43
152														G		2	2.15	1.27
153														A		2	2.15	1.17
154															A	2	2.15	1.16
155														D	A	7	7.53	1.87
156														S	A	8	8.60	2.34
157														G	A	8	8.60	1.63
158														A	A	11	11.83	1.77
159										L				D		12	12.90	1.49
160										L				S		3	3.23	1.25
161										L				G		4	4.30	1.27
162										L				A		5	5.38	1.28
163										L					A	23	24.73	2.49
164										L				D	A	9	9.68	2.23
165										L				S	A	10	10.75	1.39
166										L				G	A	6	6.45	1.52
167										L				A	A	5	5.38	1.27
25																14	15.05	2.30
	* n= 93																	

表16

SEQ ID NO:				
免疫球蛋白重链可变区	**互补决定区2 16%/2.16刺激指数**	**反应者数量***	**%**	**刺激指数**
62	NTYTGEPTYAADFKR	5	5.38	1.67
109	NTYTGEPTYAADFSR	2	2.15	1.22
111	NTYTGEPTYAADFQR	2	2.15	1.13
133	NTFTGEPTYAADFQR	2	2.15	1.15
62	NTYTGEPTYAADFKR	6	6.45	1.33
免疫球蛋白重链可变区	**互补决定区3 9%/1.45刺激指数**			
74	AEDTAVYYCAKYPHY	7	7.53	1.45
143	AEDTAVYYCAKYPEF	1	1.08	1.09
74	AEDTAVYYCAKYPHY	6	6.45	1.34
免疫球蛋白轻链可变区	**互补决定区2 15%/1.45刺激指数**			
25	QQKPGKAPKVLIYFT	24	25.81	3.69
154	QQKPGKAPKVLIYFA	2	2.15	1.16
25	QQKPGKAPKVLIYFT	14	15.05	2.30
	* n= 93			

表17

单可变区突变体	平均荧光强度
野生型	194.78
免疫球蛋白重链可变区K64Q	230.4
免疫球蛋白重链可变区K64S	168.08
免疫球蛋白重链可变区Y53F. K64Q	217.4
免疫球蛋白重链可变区H97E. Y98F	310.32
免疫球蛋白轻链可变区T51A	295.93

表18

组合可变区突变体	EC_{50}
野生型	152.4
免疫球蛋白重链可变区K64Q/ 免疫球蛋白轻链可变区T51A	174.2
免疫球蛋白重链可变区K64S/ 免疫球蛋白轻链可变区T51A	263.2
免疫球蛋白重链可变区Y53F. K64Q/ 免疫球蛋白轻链可变区T51A	104
免疫球蛋白重链可变区H97E. Y98F/ 免疫球蛋白轻链可变区T51A	26.22

表19

	SEQ ID NOS		
变体编号	互补决定区-重链1	互补决定区-重链2	互补决定区-重链3
1	n/a	4	237
2	n/a	190	238
3	n/a	191	238
4	n/a	192	238
5	n/a	193	238
6	n/a	194	238
7	n/a	195	238
8	n/a	196	238
9	n/a	197	238
10	n/a	198	238
11	n/a	199	238
12	n/a	4	238
13	n/a	4	239
14	n/a	4	240
15	n/a	4	241
16	n/a	200	n/a
17	n/a	201	n/a
18	n/a	202	n/a
19	n/a	203	5
20	n/a	204	5
21	n/a	205	n/a
22	n/a	206	n/a
23	n/a	207	n/a
24	n/a	208	n/a
25	n/a	209	n/a
26	n/a	210	n/a
27	n/a	211	n/a
28	n/a	212	n/a

表20-1

	SEQ ID NOS		
变体编号	互补决定区-重链1	互补决定区-重链2	互补决定区-重链3
29	n/a	n/a	242
30	n/a	n/a	243
31	n/a	n/a	244
32	n/a	n/a	245
33	n/a	n/a	246
34	n/a	n/a	247
35	n/a	n/a	248
36	n/a	n/a	249
37	n/a	n/a	250
38	n/a	n/a	251
39	n/a	n/a	252
40	n/a	n/a	253
41	n/a	n/a	254
42	n/a	n/a	255
43	n/a	n/a	256
44	n/a	n/a	257
45	n/a	n/a	258
46	n/a	n/a	259
47	n/a	n/a	260
48	n/a	n/a	261
49	n/a	n/a	262
50	n/a	n/a	263

表20-2

	SEQ ID NOS		
变体编号	互补决定区-重链1	互补决定区-重链2	互补决定区-重链3
51	n/a	n/a	264
52	n/a	n/a	265
53	n/a	n/a	266
54	n/a	n/a	267
55	n/a	n/a	268
56	n/a	n/a	269
57	n/a	n/a	270
58	n/a	n/a	271
59	n/a	n/a	272
60	n/a	n/a	273
61	n/a	n/a	274
62	n/a	n/a	275
63	n/a	n/a	276
64	n/a	n/a	277
65	n/a	n/a	278
66	n/a	n/a	279
67	n/a	n/a	280
68	n/a	n/a	281
69	n/a	n/a	282
70	n/a	n/a	283

表20-3

	SEQ ID NOS		
变体编号	互补决定区-重链1	互补决定区-重链2	互补决定区-重链3
71	n/a	n/a	284
72	n/a	n/a	285
73	n/a	n/a	286
74	n/a	n/a	287
75	n/a	n/a	288
76	n/a	n/a	289
77	n/a	n/a	290
78	n/a	n/a	291
79	n/a	n/a	292
80	n/a	n/a	293
81	n/a	n/a	294
82	n/a	n/a	295
83	n/a	n/a	296
84	n/a	n/a	297
85	n/a	n/a	298
86	n/a	n/a	299
87	n/a	n/a	300
88	n/a	n/a	301
89	n/a	n/a	302
90	n/a	n/a	303
91	n/a	n/a	304
92	n/a	n/a	305
93	n/a	n/a	306

表20-4

	SEQ ID NOS		
变体编号	互补决定区-重链1	互补决定区-重链2	互补决定区-重链3
94	n/a	n/a	307
95	n/a	n/a	308
96	n/a	n/a	309
97	n/a	n/a	310
98	n/a	n/a	311
99	n/a	n/a	312
100	n/a	n/a	313
101	n/a	n/a	314
102	n/a	n/a	315
103	n/a	n/a	316
104	n/a	n/a	317
105	n/a	n/a	318
106	n/a	n/a	319
107	n/a	n/a	320
108	411	4	321
109	168	4	322
110	411	4	323
111	168	4	324
112	169	4	325
113	411	4	326

表20-5

	SEQ ID NOS		
变体编号	互补决定区-重链1	互补决定区-重链2	互补决定区-重链3
114	411	4	321
115	170	213	n/a
116	169	4	5
117	168	4	n/a
118	169	n/a	n/a
119	171	4	5
120	411	4	327
121	172	214	328
122	411	4	329
123	411	4	330
124	411	4	331
125	411	4	332
126	411	4	333
127	411	4	334
128	169	4	335
129	169	4	336
130	169	4	337
131	169	4	338
132	169	4	339
133	411	4	340
134	169	4	341

表20-6

	SEQ ID NOS		
变体编号	互补决定区-重链1	互补决定区-重链2	互补决定区-重链3
135	169	4	342
136	169	4	343
137	169	4	344
138	169	4	345
139	169	4	346
140	169	4	347
141	169	4	348
142	169	4	349
143	169	4	350
144	169	4	351
145	169	4	352
146	169	4	353
147	169	4	354
148	169	4	355
149	169	4	356
150	169	4	357
151	169	4	358
152	173	215	359
153	173	4	359
154	169	4	359
155	169	4	241
156	411	4	360
157	169	4	361

表20-7

	SEQ ID NOS		
变体编号	互补决定区-重链1	互补决定区-重链2	互补决定区-重链3
158	169	4	362
159	169	4	363
160	411	4	364
161	169	4	365
162	169	4	366
163	411	4	367
164	411	4	368
165	169	4	369
166	411	4	370
167	411	4	371
168	411	216	5
169	411	217	5
170	411	218	5
171	411	219	5
172	411	220	5
173	411	221	5
174	411	222	5
175	411	223	5
176	411	224	5
177	169	225	5
178	169	226	5
179	411	227	5
180	411	228	5
181	169	229	5

表20-8

	SEQ ID NOS		
变体编号	互补决定区-重链1	互补决定区-重链2	互补决定区-重链3
182	411	230	5
183	169	231	5
184	411	232	5
185	411	233	5
186	411	234	5
187	411	235	5
188	174	4	5
189	175	4	5
190	176	4	5
191	177	4	5
192	178	4	5
193	173	4	5
194	179	4	5
195	180	4	5
196	181	4	5
197	182	4	5
198	183	4	5
199	184	4	5
200	185	4	5
201	186	4	5
202	187	4	5
203	188	4	5
204	189	4	5
205	411	236	5

表20-9

	SEQ ID NOS		
变体编号	互补决定区-轻链1	互补决定区-轻链2	互补决定区-轻链3
206	6	7	394
207	n/a	n/a	395
208	n/a	n/a	396
209	n/a	n/a	397
210	n/a	n/a	398
211	n/a	n/a	399
212	n/a	n/a	400
213	372	7	8
214	373	7	8
215	374	7	8
216	375	7	8
217	376	7	8
218	377	7	8
219	378	7	8
220	379	7	8
221	380	7	8
222	381	7	8
223	382	7	8
224	6	386	8
225	6	387	8
226	6	388	8
227	6	389	8
228	6	390	8
229	6	391	8
230	6	392	8
231	6	7	401
232	6	7	402
233	6	7	403
234	6	7	404
235	6	7	405
236	6	7	406
237	6	7	407
238	6	7	408
239	6	7	409
240	383	7	8
241	384	7	8
242	385	393	410

表20-10

贝伐单抗(Avastin®)免疫球蛋白重链可变区(SEQ ID NO:1)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GYTFTNYGMN**WVRQAPGKGLEWVG**WINTYTGEPT**
YAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAK**YPHYYGSSHWYFDV**WGQGTL
VTVSS

贝伐单抗(Avastin®)免疫球蛋白轻链可变区(SEQ ID NO:2)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**SASQDISNYLN**WYQQKPGKAPKVLIY**FTSSLHS**GVP
SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYSTVPWT**FGQGTKVEIKR

图1A

抗体链	互补决定区编号	序列	SEQ ID NO.
重链	1	GYTFTNYGMN	3
重链	2	WINTYTGEPTYAADFKR	4
重链	3	YPHYYGSSHWYFDV	5
轻链	1	SASQDISNYLN	6
轻链	2	FTSSLHS	7
轻链	3	QQYSTVPWT	8

图1B

兰尼单抗(Lucentis®)免疫球蛋白重链可变区(SEQ ID NO:9)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GYDFTHYGMN**WVRQAPGKGLEWVG**WINTYTGEPT**
YAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAK**YPYYYGTSHWYFDV**WGQGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHL

兰尼单抗(Lucentis®)免疫球蛋白轻链可变区(SEQ ID NO:10)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC**SASQDISNYLN**WYQQKPGKAPKVLIY**FTSSLHS**GVP
SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYSTVPWT**FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS
TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图1C

抗体链	互补决定区编号	序列	SEQ ID NO.
重链	1	GYDFTHYGMN	11
重链	2	WINTYTGEPTYAADFKR	4
重链	3	YPYYYGTSHWYFDV	12
轻链	1	SASQDISNYLN	6
轻链	2	FTSSLHS	7
轻链	3	QQYSTVPWT	8

图1D

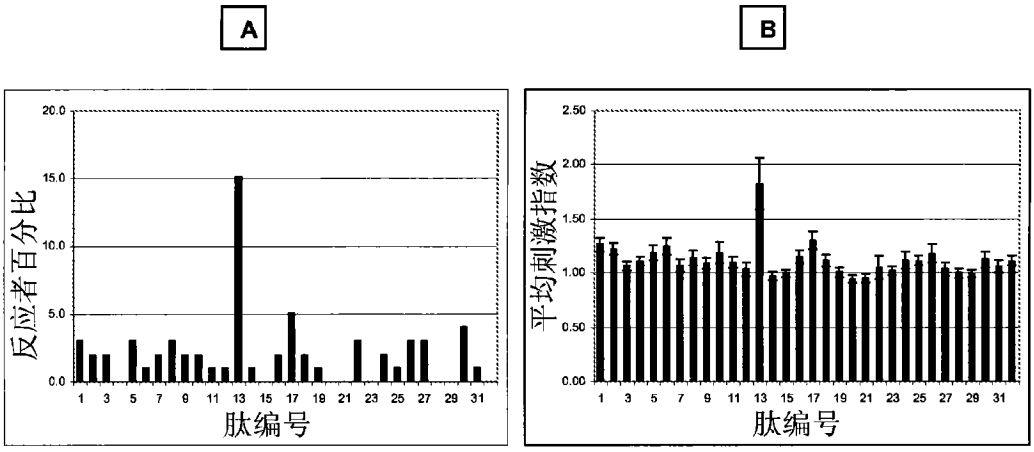


图2A-2B

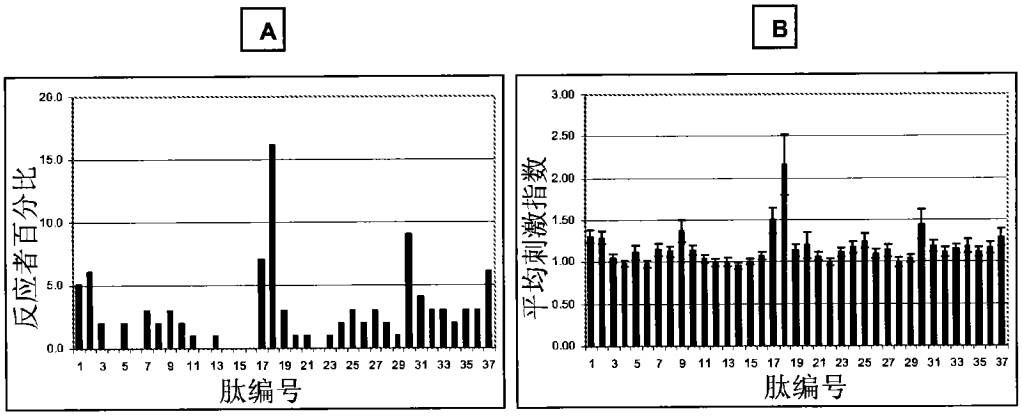


图3A-3B

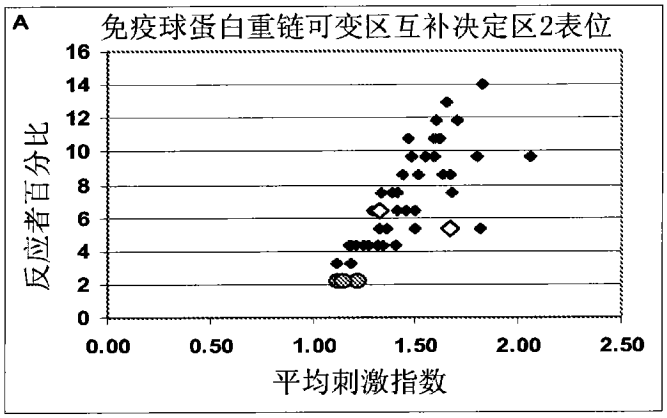


图4A

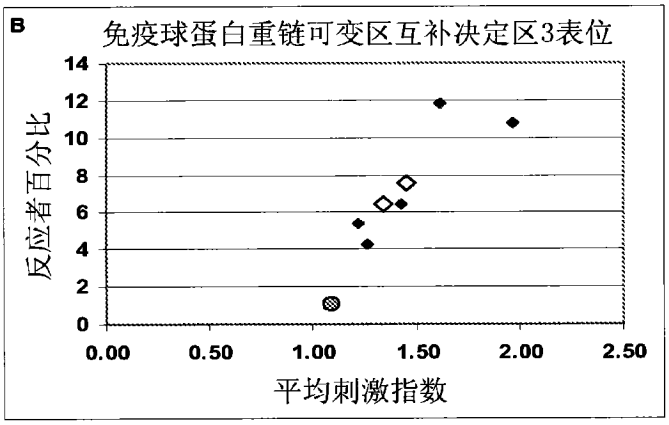

B
免疫球蛋白重链可变区互补决定区3表位
反应者百分比
14
12
10
8
6
4
2
0
0.00
0.50
1.00
1.50
2.00
2.50
平均刺激指数

图4B

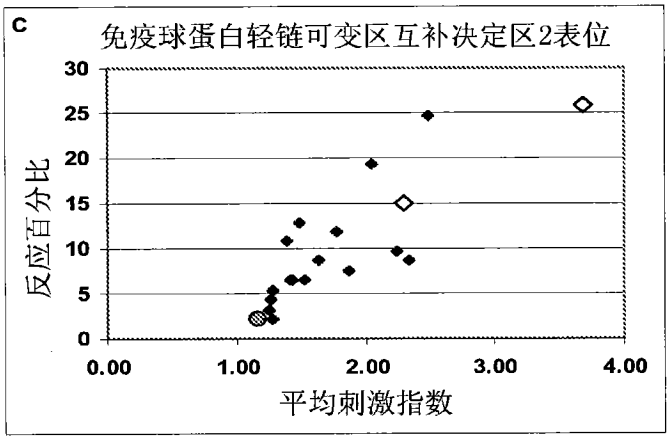

C
免疫球蛋白轻链可变区互补决定区2表位
反应百分比
30
25
20
15
10
5
0
0.00
1.00
2.00
3.00
4.00
平均刺激指数

图4C