



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112584859 A

(43) 申请公布日 2021.03.30

(21) 申请号 201980044261.4

(22) 申请日 2019.07.02

(30) 优先权数据

62/693216 2018.07.02 US

62/800259 2019.02.01 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.12.29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/040296 2019.07.02

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/010079 EN 2020.01.09

(71) 申请人 美国安进公司

地址 美国加利福尼亚州

申请人 XENCOR公司

(72) 发明人 O·诺兰-斯特沃 C·李

C·M·穆劳斯基 B·M·阿尔巴

N·J·阿拉马尔 K·格拉厄姆

J·L·斯蒂芬斯 G·摩尔

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 黄登高 李志强

(51) Int.Cl.

A61K 39/12 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 35/00 (2006.01)

权利要求书7页 说明书60页

序列表125页 附图48页

(54) 发明名称

抗STEAP1抗原结合蛋白

(57) 摘要

本披露提供了结合STEAP1的新颖抗原结合蛋白以及使用方法。

1. 一种抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白结合SEQ ID NO:2的STEAP1并且包含:
 - (a) 重链CDR,其包含与i) vhCDR1 SEQ ID NO:14、vhCDR2SEQ ID NO:15或vhCDR2 SEQ ID NO:21、和vhCDR3 SEQ ID NO:16;或ii) vhCDR1 SEQ ID NO:33、vhCDR2 SEQ ID NO:34、和vhCDR3 SEQ ID NO:35差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列;或
 - (b) 轻链CDR,其包含与i) v1CDR1 SEQ ID NO:11、v1CDR2SEQ ID NO:12、和v1CDR3 SEQ ID NO:13;或ii) v1CDR1 SEQ ID NO:30、v1CDR2 SEQ ID NO:31、和v1CDR3 SEQ ID NO:32差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列;或
 - (c) 轻链可变结构域,其包含与SEQ ID NO:183或SEQ ID NO:186具有至少90%同一性的氨基酸序列;或
 - (d) 重链可变结构域,其包含与SEQ ID NO:182、SEQ ID NO:184、或SEQ ID NO:185具有至少90%同一性的氨基酸序列。
2. 如权利要求1所述的抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白包含CDR序列
 - a) 含有SEQ ID NO:14的vhCDR1、含有SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:21的vhCDR2、和含有SEQ ID NO:16的vhCDR3;或
 - b) 含有SEQ ID NO:33的vhCDR1、含有SEQ ID NO:34的vhCDR2、和含有SEQ ID NO:35的vhCDR3。
3. 如权利要求1或权利要求2所述的抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白包含CDR序列,其选自
 - a) 含有SEQ ID NO:11的v1CDR1、含有SEQ ID NO:12的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:13的v1CDR3;或
 - b) 含有SEQ ID NO:30的v1CDR1、含有SEQ ID NO:31的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:32的v1CDR3。
4. 如权利要求1-3中任一项所述的抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白包含
 - 含有SEQ ID NO:14的vhCDR1、
 - 含有SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:21的vhCDR2、
 - 含有SEQ ID NO:16的vhCDR3、
 - 含有SEQ ID NO:11的v1CDR1、
 - 含有SEQ ID NO:12的v1CDR2、和
 - 含有SEQ ID NO:13的v1CDR3。
5. 如权利要求1-3中任一项所述的抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO:33的vhCDR1、含有SEQ ID NO:34的vhCDR2、含有SEQ ID NO:35的vhCDR3、含有SEQ ID NO:30的v1CDR1、含有SEQ ID NO:31的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:32的v1CDR3。
6. 如权利要求1-3中任一项所述的抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO:182、SEQ ID NO:184、或SEQ ID NO:185的可变重链结构域。
7. 如权利要求1-3中任一项所述的抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO:183或SEQ ID NO:186的可变轻链结构域。
8. 如权利要求1-3中任一项所述的抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO:182或SEQ ID NO:184的可变重链结构域以及含有SEQ ID NO:183的可变轻链结构域。
9. 如权利要求1-3中任一项所述的抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白包含含有SEQ ID

NO:185的可变重链结构域和含有SEQ ID NO:186的可变轻链结构域。

10. 一种抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白交叉阻断如权利要求1-9中任一项所述的参考抗原结合蛋白与STEAP1的结合,或该抗原结合蛋白与STEAP1的结合被如权利要求1-9中任一项所述的参考抗原结合蛋白交叉阻断。

11. 如权利要求10所述的抗原结合蛋白,其中通过表面等离子体共振或ELISA检测该交叉阻断。

12. 如权利要求10所述的抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白不结合STEAP1的胞外环2。

13. 如权利要求10所述的抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白优先介导T细胞依赖性地杀伤具有大于10,000的STEAP1表面密度的细胞。

14. 一种抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白结合STEAP1的氨基酸92-118和氨基酸279-290内的区域。

15. 如权利要求1-14中任一项所述的抗原结合蛋白,其中该抗原结合蛋白是抗体。

16. 如权利要求15所述的抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白是单克隆抗体、嵌合抗体、或人源化抗体。

17. 如权利要求1-14中任一项所述的抗原结合蛋白,其中该抗原结合蛋白是抗原结合抗体片段。

18. 如权利要求1-14中任一项所述的抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白包含单链抗体、双抗体、三抗体、四抗体、或结构域抗体。

19. 一种药物组合物,该药物组合物包含如权利要求1-18中任一项所述的抗原结合蛋白和生理学上可接受的运载体。

20. 如权利要求19所述的药物组合物,该药物组合物进一步包含抗PD-1抗原结合蛋白,该抗PD-1抗原结合蛋白包含:含有在SEQ ID NO:189中列出的氨基酸序列的vhCDR1、含有在SEQ ID NO:190中列出的氨基酸序列的vhCDR2、含有在SEQ ID NO:191中列出的氨基酸序列的vhCDR3、含有在SEQ ID NO:192中列出的氨基酸序列的vLCDR1、含有在SEQ ID NO:193中列出的氨基酸序列的vhCDR2、和含有在SEQ ID NO:194中列出的氨基酸序列的vLCDR3。

21. 一种治疗癌症的方法,该方法包括向有需要的受试者施用如权利要求1-18中任一项所述的抗原结合蛋白。

22. 如权利要求21所述的方法,该方法进一步包括向该受试者施用抗PD-1抗原结合蛋白。

23. 如权利要求1-18中任一项所述的抗原结合蛋白在制备药物中的用途,该药物用于在对其有需要的受试者中治疗癌症。

24. 如权利要求23所述的用途,其中该药物用于施用

与有效量的抗PD-1抗原结合蛋白联合的有效量的抗STEAP1抗原结合蛋白。

25. 如权利要求1-18中任一项所述的抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白用于在治疗对其有需要的受试者的癌症中使用。

26. 如权利要求25所述使用的抗原结合蛋白,其中该抗原结合蛋白与抗PD1抗原结合蛋白一起被施用。

27. 如权利要求22、24、或26所述使用的方法、用途、或抗原结合蛋白,其中该抗PD1抗原结合蛋白包含:含有在SEQ ID NO:189中列出的氨基酸序列的vhCDR1、含有在SEQ ID NO:

190中列出的氨基酸序列的vhCDR2、含有在SEQ ID NO:191中列出的氨基酸序列的vhCDR3、含有在SEQ ID NO:192中列出的氨基酸序列的v1CDR1、含有在SEQ ID NO:193中列出的氨基酸序列的vhCDR2、和含有在SEQ ID NO:194中列出的氨基酸序列的v1 CDR3。

28. 如权利要求27所述使用的方法、用途、或抗原结合蛋白,其中该抗PD1抗原结合蛋白包含:含有与SEQ ID NO:195的氨基酸序列具有至少90%同一性的氨基酸序列的重链可变结构域以及含有与SEQ ID NO:196的氨基酸序列具有至少90%同一性的氨基酸序列的轻链可变结构域。

29. 如权利要求28所述使用的方法、用途、或抗原结合蛋白,其中该抗PD1抗原结合蛋白包含:含有SEQ ID NO:195的氨基酸序列的重链可变结构域以及含有SEQ ID NO:196的氨基酸序列的轻链可变结构域。

30. 如权利要求27-29中任一项所述使用的方法、用途、或抗原结合蛋白,其中该抗PD-1抗原结合蛋白是抗原结合抗体片段。

31. 如权利要求27-29中任一项所述使用的方法、用途、或抗原结合蛋白,其中该抗PD-1抗原结合蛋白是抗体。

32. 如权利要求27-29中任一项所述使用的方法、用途、或抗原结合蛋白,其中该抗PD-1抗原结合蛋白是单克隆抗体、嵌合抗体或人源化抗体。

33. 如权利要求27-31中任一项所述使用的方法、用途、或抗原结合蛋白,其中该抗PD1抗原结合蛋白包含:含有SEQ ID NO:197的氨基酸序列的重链以及含有SEQ ID NO:198的氨基酸序列的轻链。

34. 如权利要求21-33中任一项所述使用的方法、用途、或抗原结合蛋白,其中该癌症是前列腺癌。

35. 如权利要求21-33中任一项所述使用的方法、用途、或抗原结合蛋白,其中该癌症是尤文肉瘤。

36. 一种多核苷酸,该多核苷酸包含编码如权利要求1-14中任一项所述的抗原结合蛋白的轻链可变结构域和/或重链可变结构域的核酸序列。

37. 一种表达载体,该表达载体包含如权利要求36所述的多核苷酸。

38. 一种组合物,该组合物包含:含有编码如权利要求1-14中任一项所述抗原结合蛋白的轻链可变结构域的核酸序列的多核苷酸以及含有编码如权利要求1-14中任一项所述的抗原结合蛋白的重链可变结构域的核酸序列的多核苷酸。

39. 一种制备抗原结合蛋白的方法,该方法包括在允许轻链可变结构域和重链可变结构域表达的条件下使宿主细胞与权利要求36所述的多核苷酸或与权利要求38所述的组合物接触。

40. 一种双特异性抗原结合蛋白,该双特异性抗原结合蛋白包含如权利要求1-14中任一项所述的抗原结合蛋白。

41. 如权利要求40所述的双特异性抗原结合蛋白,该双特异性抗原结合蛋白结合STEAP1和CD3。

42. 如权利要求41所述的双特异性抗原结合蛋白,该双特异性抗原结合蛋白包含CD3结合结构域,该CD3结合结构域包含SEQ ID NO:170-172和174-176的CDR序列。

43. 一种异源二聚体抗体,该异源二聚体抗体包含:

a) 第一单体,其包含第一重链,该第一重链包含:

1) 第一可变重链结构域;

2) 第一恒定重链,其包含第一CH1结构域和第一Fc结构域;

3) scFv,其结合人CD3并且包含scFv可变轻链结构域、scFv接头和scFv可变重链结构域;其中使用一个或多个结构域接头将所述scFv共价附接至所述CH1结构域的C末端和所述第一Fc结构域的N末端之间;

b) 第二单体,其包含第二重链,该第二重链包含第二可变重链结构域和含有第二Fc结构域的第二恒定重链;以及

c) 共同轻链,其包含可变轻链结构域和恒定轻链结构域;

其中所述第一可变重链结构域和所述可变轻链结构域结合人STEAP1,所述第二可变重链结构域和所述可变轻链结构域结合人STEAP1,并且其中

(i) 该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含重链CDR,这些重链CDR包含与(a) vhCDR1 SEQ ID NO:14; (b) vhCDR2SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:21;和(3) vhCDR3 SEQ ID NO:16差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列,并且该可变轻链结构域包含轻链CDR,这些轻链CDR包含与v1CDR1 SEQ ID NO:11、v1CDR2SEQ ID NO:12、和v1CDR3 SEQ ID NO:13差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列;或

(ii) 该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含重链CDR,这些重链CDR包含与vhCDR1 SEQ ID NO:33、vhCDR2 SEQ ID NO:34、和vhCDR3 SEQ ID NO:35差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列,并且该可变轻链结构域包含轻链CDR,这些轻链CDR包含与v1CDR1 SEQ ID NO:30、v1CDR2 SEQ ID NO:31、和v1CDR3SEQ ID NO:32差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列;或

(iii) 该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含与SEQ ID NO:182或184具有至少90%同一性的氨基酸序列,并且该可变轻链结构域包含与SEQ ID NO:183具有至少90%同一性的氨基酸序列;或

(iv) 该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含与SEQ ID NO:185具有至少90%同一性的氨基酸序列,并且该可变轻链结构域包含与SEQ ID NO:186具有至少90%同一性的氨基酸序列。

44. 如权利要求43所述的异源二聚体抗体,其中该第一单体包含氨基酸取代E233P、L235V、G236A、S267K、R292C、N297G、V302C、E357Q、和S364K;该第二单体包含氨基酸取代N208D、E233P、L235V、G236A、S267K、R292C、Q295E、N297G、V302C、L368D、K370S、N384D、Q418E、和N421D;并且两个单体都包含在位置234处的缺失。

45. 如权利要求43或权利要求44所述的异源二聚体抗体,其中所述scFv包含

(i) 包含重链CDR的可变重链结构域以及包含轻链CDR的可变轻链结构域,这些重链CDR包含与vhCDR1 SEQ ID NO:170、vhCDR2SEQ ID NO:171、和vhCDR3 SEQ ID NO:172差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列,这些轻链CDR包含与v1CDR1 SEQ ID NO:174、v1CDR2 SEQ ID NO:175、和v1CDR3 SEQ ID NO:176差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列;或

(ii) 包含与SEQ ID NO:169具有至少90%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域以及包含与SEQ ID NO:173具有至少90%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域。

46. 如权利要求43或权利要求44所述的异源二聚体抗体,其中所述scFv包含CDR,这些CDR包含:含有SEQ ID NO:170的vhCDR1、含有SEQ ID NO:171的vhCDR2、含有SEQ ID NO:172的vhCDR3、含有SEQ ID NO:174的v1CDR1、含有SEQ ID NO:175的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:176的v1CDR3。

47. 如权利要求43-45中任一项所述的异源二聚体抗体,其中所述scFv包含SEQ ID NO:169和SEQ ID NO:173的可变重链区和可变轻链区。

48. 如权利要求43-47中任一项所述的异源二聚体抗体,其中所述scFv具有带电荷的scFv接头。

49. 如权利要求48所述的异源二聚体抗体,其中该带电荷的scFv接头具有从3至8的正电荷,并且选自由SEQ ID NO:143至153组成的组。

50. 如权利要求48所述的异源二聚体抗体,其中该scFv接头包含SEQ ID NO:152。

51. 如权利要求43-47中任一项所述的异源二聚体抗体,其中所述scFv包含SEQ ID NO:44的序列。

52. 如权利要求43-51中任一项所述的异源二聚体抗体,其中该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含以下CDR序列:含有SEQ ID NO:14的vhCDR1、含有SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:21的vhCDR2、含有SEQ ID NO:16的vhCDR3,并且其中该可变轻链结构域包含以下CDR序列:含有SEQ ID NO:11的v1CDR1、含有SEQ ID NO:12的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:13的v1CDR3。

53. 如权利要求43-51中任一项所述的异源二聚体抗体,其中该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含以下CDR序列:含有SEQ ID NO:33的vhCDR1、含有SEQ ID NO:34的vhCDR2、含有SEQ ID NO:35的vhCDR3,并且其中该可变轻链结构域包含以下CDR序列:含有SEQ ID NO:30的v1CDR1、含有SEQ ID NO:31的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:32的v1CDR3。

54. 如权利要求43-51中任一项所述的异源二聚体抗体,其中该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含SEQ ID NO:182或SEQ ID NO:184,并且该可变轻链结构域包含SEQ ID NO:183。

55. 如权利要求43-51中任一项所述的异源二聚体抗体,其中该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含SEQ ID NO:185,并且该可变轻链结构域包含SEQ ID NO:186。

56. 如权利要求52或权利要求53所述的异源二聚体抗体,该异源二聚体抗体包含氨基酸取代N67Q和/或在位置292、297、或302中的一个或多个处的取代。

57. 如权利要求43所述的异源二聚体抗体,其中

a) 该第一单体包含SEQ ID NO:19或SEQ ID NO:20的序列,该第二单体包含SEQ ID NO:18或199的序列,并且该共同轻链包含SEQ ID NO:17的序列;或

b) 该第一单体包含SEQ ID NO:38的序列,该第二单体包含SEQ ID NO:37的序列,并且该共同轻链包含SEQ ID NO:36的序列。

58. 如权利要求43所述的异源二聚体抗体,其中

a) 该第一单体包含SEQ ID NO:202的序列,该第二单体包含SEQ ID NO:201的序列,并且该共同轻链包含SEQ ID NO:200的序列;

b) 该第一单体包含SEQ ID NO:207的序列,该第二单体包含SEQ ID NO:203的序列,并且该共同轻链包含SEQ ID NO:200的序列;或

c) 该第一单体包含SEQ ID NO:206的序列,该第二单体包含SEQ ID NO:205的序列,并且该共同轻链包含SEQ ID NO:204的序列。

59. 一种核酸组合物,该核酸组合物包含:

- a) 编码如权利要求43-58中任一项所述的第一单体的第一核酸;
- b) 编码如权利要求43-58中任一项所述的第二单体的第二核酸,和
- c) 编码如权利要求43-58中任一项所述的共同轻链的第三核酸。

60. 一种核酸组合物,该核酸组合物包含:

a) 包含第一核酸的第一表达载体,该第一核酸编码如权利要求43-58中任一项所述的第一单体;

b) 包含第二核酸的第二表达载体,该第二核酸编码如权利要求43-58中任一项所述的第二单体;以及

c) 包含第三核酸的第三表达载体,该第三核酸编码如权利要求43-58中任一项所述的共同轻链。

61. 一种宿主细胞,该宿主细胞包含如权利要求59或权利要求60所述的核酸组合物。

62. 一种药物组合物,该药物组合物包含如权利要求43-58中任一项所述的异源二聚体抗体。

63. 一种治疗有需要的受试者的方法,该方法包括向该受试者施用如权利要求43-58中任一项所述的异源二聚体抗体。

64. 一种在有需要的受试者中治疗癌症的方法,该方法包括向该受试者施用如权利要求43-58中任一项所述的异源二聚体抗体。

65. 如权利要求63或权利要求64所述的方法,该方法进一步包括向该受试者施用抗PD-1抗原结合蛋白。

66. 如权利要求43-58中任一项所述的异源二聚体抗体在制备药物中的用途,该药物用于在对其有需要的受试者中治疗癌症。

67. 如权利要求66所述的用途,其中该药物是用于施用与有效量的抗PD-1抗原结合蛋白联合的有效量的异源二聚体抗体。

68. 如权利要求43-58中任一项所述的异源二聚体抗体,该异源二聚体抗体用于在治疗对其有需要的受试者的癌症中使用。

69. 如权利要求68所述用于使用的异源二聚体抗体,其中该异源二聚体抗体与抗PD1抗原结合蛋白一起被施用。

70. 如权利要求65、67、或69中任一项所述使用的方法、用途、或抗原结合蛋白,其中该抗PD1抗原结合蛋白包含:含有在SEQ ID NO:189中列出的氨基酸序列的vhCDR1、含有在SEQ ID NO:190中列出的氨基酸序列的vhCDR2、含有在SEQ ID NO:191中列出的氨基酸序列的vhCDR3、含有在SEQ ID NO:192中列出的氨基酸序列的v1CDR1、含有在SEQ ID NO:193中列出的氨基酸序列的vhCDR2、和含有在SEQ ID NO:194中列出的氨基酸序列的v1 CDR3。

71. 如权利要求70所述使用的方法、用途、或抗原结合蛋白,其中该抗PD1抗原结合蛋白包含:含有与SEQ ID NO:195的氨基酸序列具有至少90%同一性的氨基酸序列的重链可变结构域以及含有与SEQ ID NO:196的氨基酸序列具有至少90%同一性的氨基酸序列的轻链可变结构域。

72. 如权利要求71所述使用的方法、用途、或抗原结合蛋白,其中该抗PD1抗原结合蛋白包含:含有SEQ ID NO:195的氨基酸序列的重链可变结构域以及含有SEQ ID NO:196的氨基酸序列的轻链可变结构域。

73. 如权利要求70-72中任一项所述使用的方法、用途、或异源二聚体抗体,其中该抗PD-1抗原结合蛋白是抗原结合抗体片段。

74. 如权利要求70-72中任一项所述使用的方法、用途、或异源二聚体抗体,其中该抗PD-1抗原结合蛋白是抗体。

75. 如权利要求70-72中任一项所述使用的方法、用途、或异源二聚体抗体,其中该抗PD-1抗原结合蛋白是单克隆抗体、嵌合抗体或人源化抗体。

76. 如权利要求70-75中任一项所述使用的方法、用途、或异源二聚体抗体,其中该抗PD1抗原结合蛋白包含:含有SEQ ID NO:197的氨基酸序列的重链以及含有SEQ ID NO:198的氨基酸序列的轻链。

77. 如权利要求70-75中任一项所述使用的方法、用途、或异源二聚体抗体,其中该抗PD1抗原结合蛋白包含:含有SEQ ID NO:208的氨基酸序列的重链以及含有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的轻链。

78. 如权利要求64-77中任一项所述使用的方法、用途、或异源二聚体抗体,其中该癌症是前列腺癌。

79. 如权利要求64-77中任一项所述使用的方法、用途、或异源二聚体抗体,其中该癌症是尤文肉瘤。

抗STEAP1抗原结合蛋白

技术领域

[0001] 本披露提供了结合前列腺六跨膜上皮抗原1 (STEAP1) 的新颖抗原结合蛋白及其用途。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求于2018年7月2日提交的美国临时专利申请号62/693,216和于2019年2月1日提交的美国临时专利申请号62/800,259,所述申请的披露内容通过引用以其整体并入本文。

[0004] 序列表

[0005] 作为本披露的单独部分,本申请包含呈计算机可读形式的序列表(文件名:52601_Seqlisting.txt;大小:298,914字节;创建日:2019年6月27日),该序列表通过引用以其全文并入本文。

背景技术

[0006] 前列腺癌仍然是美国男性中最常见的癌症之一。美国癌症统计工作组(U.S.Cancer Statistics Working Group).美国癌症统计:基于网络报告的1999-2014发病率和死亡率(1999-2014Incidence and Mortality Web-based Report);亚特兰大(GA):卫生与人类服务部,疾病控制与预防中心(Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention)和国家癌症研究所(National Cancer Institute);2017。虽然与其他癌症类型相比前列腺癌的存活率相对较高,但目前的治疗选择伴随着风险和不希望副作用。例如,手术伴随着神经损伤和阳痿的风险,并且放射疗法可以增加发展膀胱癌或胃肠道癌的风险。传统化疗与许多副作用相关联,这些副作用限制了患者在治疗期间的生活质量。

[0007] 基于抗体的疗法已经成功地治疗多种疾病,包括癌症和自身免疫/炎性障碍。至少部分地由于前列腺癌特异性抗原的存在,据信前列腺癌特别适合于基于抗体的疗法。尽管最近在阐明癌发生和潜在生物标志物的潜在生物学机制方面取得了进展,但仍存在对于癌症(包括前列腺癌)的基于抗体的可替代治疗选择的需要。

发明内容

[0008] 本披露提供了结合SEQ ID NO:2的STEAP1的抗原结合蛋白,并且该抗原结合蛋白包含:(a)重链CDR,其包含与i)vhCDR1 SEQ ID NO:14、vhCDR2 SEQ ID NO:15或vhCDR2 SEQ ID NO:21、和vhCDR3 SEQ ID NO:16;或ii)vhCDR1 SEQ ID NO:33、vhCDR2 SEQ ID NO:34、和vhCDR3 SEQ ID NO:35差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列;或(b)轻链CDR,其包含与i)vLCDR1 SEQ ID NO:11、vLCDR2 SEQ ID NO:12、和vLCDR3 SEQ ID NO:13;或ii)vLCDR1 SEQ ID NO:30、vLCDR2 SEQ ID NO:31、和vLCDR3 SEQ ID NO:32差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列;或(c)轻链可变结构域,其包含与SEQ ID NO:183或SEQ ID NO:186具有至少90%同一性的氨基酸序列;或(d)重链可变结构域,其包含与SEQ ID NO:182、

SEQ ID NO:184、或SEQ ID NO:185具有至少90%同一性的氨基酸序列。在多个方面,该抗原结合蛋白包含:含有SEQ ID NO:14的vhCDR1、含有SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:21的vhCDR2、含有SEQ ID NO:16的vhCDR3、含有SEQ ID NO:11的v1CDR1、含有SEQ ID NO:12的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:13的v1CDR3。可替代地,该抗原结合蛋白包含:含有SEQ ID NO:33的vhCDR1、含有SEQ ID NO:34的vhCDR2、含有SEQ ID NO:35的vhCDR3、含有SEQ ID NO:30的v1CDR1、含有SEQ ID NO:31的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:32的v1CDR3。在多个方面,该抗原结合蛋白包含:含有SEQ ID NO:182或SEQ ID NO:184的可变重链结构域和含有SEQ ID NO:183的可变轻链结构域;例如,该抗原结合蛋白包含:含有SEQ ID NO:182的可变重链结构域和含有SEQ ID NO:183的可变轻链结构域,或含有SEQ ID NO:184的可变重链结构域和含有SEQ ID NO:183的可变轻链结构域。可替代地,该抗原结合蛋白包含:含有SEQ ID NO:185的可变重链结构域和含有SEQ ID NO:186的可变轻链结构域。本披露进一步提供了抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白包含:含有SEQ ID NO:201的重链和含有SEQ ID NO:200的轻链;或含有SEQ ID NO:203的重链和含有SEQ ID NO:200的轻链。

[0009] 本披露进一步提供了包含第一单体的异源二聚体抗体,该第一单体包含第一重链,该第一重链包含:1) 第一可变重链结构域;2) 第一恒定重链,其包含第一CH1结构域和第一Fc结构域;和3) scFv,其结合人CD3并且包含scFv可变轻链结构域、scFv接头和scFv可变重链结构域;其中使用一个或多个结构域接头将所述scFv共价附接至所述CH1结构域的C末端和所述第一Fc结构域的N末端之间。该异源二聚体抗体进一步包含第二单体,该第二单体包含:第二重链,该第二重链包含第二可变重链结构域和含有第二Fc结构域的第二恒定重链;和共同轻链,该共同轻链包含可变轻链结构域和恒定轻链结构域。该第一可变重链结构域和该可变轻链结构域结合人STEAP1,该第二可变重链结构域和该可变轻链结构域结合人STEAP1,并且其中(i) 该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含重链CDR,这些重链CDR包含与vhCDR1 SEQ ID NO:14、vhCDR2 SEQ ID NO:15或vhCDR2 SEQ ID NO:21、和vhCDR3 SEQ ID NO:16差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列,并且该可变轻链结构域包含轻链CDR,这些轻链CDR包含与v1CDR1 SEQ ID NO:11、v1CDR2 SEQ ID NO:12、和v1CDR3 SEQ ID NO:13差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列;或(ii) 该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含重链CDR,这些重链CDR包含与vhCDR1 SEQ ID NO:33、vhCDR2 SEQ ID NO:34、和vhCDR3 SEQ ID NO:35差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列,并且该可变轻链结构域包含轻链CDR,这些轻链CDR包含与v1CDR1 SEQ ID NO:30、v1CDR2 SEQ ID NO:31、和v1CDR3 SEQ ID NO:32差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列;或(iii) 该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含与SEQ ID NO:182或SEQ ID NO:184具有至少90%同一性的氨基酸序列,并且该可变轻链结构域包含与SEQ ID NO:183具有至少90%同一性的氨基酸序列;或(iv) 该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含与SEQ ID NO:185具有至少90%同一性的氨基酸序列,并且该可变轻链结构域包含与SEQ ID NO:186具有至少90%同一性的氨基酸序列。在多个方面,该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含CDR序列:含有SEQ ID NO:14的vhCDR1、含有SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:21的vhCDR2、和含有SEQ ID NO:16的vhCDR3;并且该可变轻链结构域包含CDR序列:含有SEQ ID NO:11的v1CDR1、含有SEQ ID NO:12的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:13的v1CDR3。在多个方面,该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含CDR序列:含有SEQ ID NO:33

的vhCDR1、含有SEQ ID NO:34的vhCDR2、和含有SEQ ID NO:35的vhCDR3;并且该可变轻链结构域包含CDR序列:含有SEQ ID NO:30的v1CDR1、含有SEQ ID NO:31的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:32的v1CDR3。在多个方面,该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含SEQ ID NO:182或SEQ ID NO:184,并且该可变轻链结构域包含SEQ ID NO:183(例如,SEQ ID NO:182和183或SEQ ID NO:184和183)、或该第一可变重链结构域和该第二可变重链结构域包含SEQ ID NO:185,并且该可变轻链结构域包含SEQ ID NO:186。该scFv包含CDR,这些CDR包含:含有SEQ ID NO:170的vhCDR1、含有SEQ ID NO:171的vhCDR2、含有SEQ ID NO:172的vhCDR3、含有SEQ ID NO:174的v1CDR1、含有SEQ ID NO:175的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:176的v1CDR3;或SEQ ID NO:169和SEQ ID NO:173的可变重链区和可变轻链区。

[0010] 还提供了治疗癌症(例如前列腺癌)的方法,该方法包括向对其有需要的受试者施用本文所述的抗原结合蛋白。

[0011] 本文中节标题的使用仅仅是为了便于阅读,而不是意图限制本身。整个文件旨在被视为统一的披露,并且应理解,可以考虑本文描述的特征的所有组合。

[0012] 除非本文另作定义,否则结合本申请使用的科技术语应当具有本领域普通技术人员通常所了解的含义。另外,除非上下文另外需要,否则单数术语应包括复数形式,并且复数术语应包括单数形式。除非另有说明,否则术语“包含”、“具有”,“包括”和“含有”应被解释为开放式术语。如果将本发明的各方面描述为“包括”特征,则实施例也被认为是“由该特征组成”或“基本上由该特征组成”。本文提供的任何和所有实例或示例性语言(例如“例如”)的应用仅旨在更好地说明本披露,而不对另外要求保护的本披露的范围做出限制。说明书中的语言不应当被解释为指示任何未要求保护的要素为实践本披露所必需的。除操作实例中或在另外指示的情况下以外,本文所使用的表示成分或反应条件的量的所有数字应当理解为在所有情况下被术语“约”修饰,该术语将由相关领域的技术人员解释。

[0013] 在本文引证数值的范围仅旨在用作单独地提及每个单独的数值落在该范围内和每个端点的速记的方法,除非本文另外说明,并且每个单独的数值和端点被结合到本说明书中就像它被单独地在本文引证一样。

[0014] 总体而言,本文所述的细胞和组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学、蛋白质和核酸化学、制造、配制品、药理学、和药品的术语和技术是本领域中熟知并且常用的那些。除非另作指示,否则本申请的方法和技术一般是根据本领域熟知的常规方法且如本说明书全篇所引用和论述的各种通用和更具体的参考文献中所描述来进行。参见,例如,Sambrook等人.,*Molecular Cloning:A Laboratory Manual*,3rd ed.,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y. (2001) [分子克隆:实验室手册,第3版,冷泉港实验室出版社,冷泉港,纽约洲(2001)];Ausubel等人.,*Current Protocols in Molecular Biology*,Greene Publishing Associates (1992) [分子生物学现代方法,格林出版联合公司(1992)];以及Harlow和Lane *Antibodies:A Laboratory Manual* Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y. (1990) [抗体:实验室手册,冷泉港实验室出版社,冷泉港,纽约州(1990)],这些文献通过引用并入本文。酶促反应和纯化技术是根据制造商的说明,如本领域通常所实现或如本文中所描述进行的。与本文所描述的分析化学、合成有机化学以及医药和药物化学结合使用的术语及其实验方法与技术是本领域熟知且常用的那些。标准技术可以用于化学合成、化学分析、药物制备、配制和递送

以及患者的治疗。使用本领域常规使用的方法计算百分比同一性,包括在例如美国专利公开号2017/0342155中描述的方法,将该专利通过引用以其全文并入本文并特别是关于段落[0075]-[0083]。

附图说明

[0015] 图1描绘了本披露的双特异性抗体。

[0016] 图2描绘了人CD3 ϵ 链的序列(SEQ ID NO:1)。

[0017] 图3描绘了人STEAP1的序列(SEQ ID NO:2)。对胞外环的序列加下划线。

[0018] 图4A-4E描绘了有用的异源二聚化变体对集合(包括偏斜(skew)变体和pI变体)。

[0019] 图5描绘了电子等排(isosteric)变体抗体恒定区及其各自的取代的列表。pI₋(-)指示较低pI的变体,而pI₊(+)指示较高pI的变体。这些可以任选地且独立地与本披露的其他异源二聚化变体(以及如本文所概述的其他变体类型)组合。

[0020] 图6描绘了消融Fc γ R结合的有用消融变体(有时称为“敲除”或“KO”变体)。

[0021] 图7描绘了本披露的两个实施例。

[0022] 图8A和8B描绘了有用的接头,这些接头包括可以用于本文提供的抗原结合蛋白和异二聚抗体形式的带电荷的scFv接头和结构域接头。本披露的多个方面中带电荷的接头可用于例如增加或降低利用一个或多个scFv作为组分的异源二聚体抗体的pI。具有单电荷的唯一现有技术scFv接头被称为“惠特洛(Whitlow)”,来自Whitlow等人,Protein Engineering[蛋白质工程]6(8):989-995(1993)。该接头用于减少scFv中的聚集和增强蛋白水解稳定性。

[0023] 图9描绘了工程化异源二聚体-偏斜Fc变体、连同异源二聚体产率(通过HPLC-CIEX确定)和热稳定性(通过DSC确定)的列表。未确定的热稳定性由“n.d”指示。另外的信息在美国专利号9,822,186中提供,将其通过引用以全文并入本文。

[0024] 图10A和10B描绘了稳定性经优化的人源化抗CD3变体scFv。相对于H1_L1.4 scFv序列给出取代。氨基酸编号是Kabat编号。指出了具体的可变轻链区和可变重链区;所列出的取代可用于除具体列出的那些之外的可变轻链区和可变重链区。另外的信息在国际专利公开号2017/091656中提供,将其通过引用以全文并入本文。

[0025] 图11A和11B显示用鼠STEAP1抗体Ab-Am在C4-2B luc细胞的表面上特异性检测STEAP1。

[0026] 图12A-12C显示使用鼠STEAP1抗体Ab-Am(图12A);Ab-A1 XmaB(●)或Ab-A1 XmaB²⁺¹(■)在4°C下持续1hr(图12B)和抗体Ab-A1 XmaB²⁺¹(图12C)在C4-2B luc前列腺癌细胞上特异性检测STEAP1。

[0027] 图13显示用STEAP1抗体Ab-Bx(Ab-B1 XmaB)在C4-2B luc前列腺癌细胞上特异性检测STEAP1。

[0028] 图14A-14C显示STEAP1抗体Ab-Ax(图14A)、STEAP1抗体Ab-A1 XmaB²⁺¹(图14B)、和STEAP1抗体Ab-A2(N67Q) XmaB²⁺¹(图14C)介导人T细胞对人肿瘤细胞系C4-2B luc的靶细胞裂解。

[0029] 图15显示STEAP1抗体Ab-A1 XmaB²⁺¹和Ab-A2(N67Q) XmaB²⁺¹介导人T细胞对人肿瘤细胞系C4-2B luc(而不是C4-2B luc STEAP1KO)的剂量依赖性靶细胞裂解。

[0030] 图16A-16B显示鼠STEAP1抗体Ab-Am检测的由测试的293T细胞表达的STEAP1。图16C显示STEAP1结合剂Ab-A2 (N67Q) X_{mab}²⁺¹介导用人STEAP1稳定转染的人细胞系293T而不是亲本人293T细胞系的剂量依赖性靶细胞裂解。

[0031] 图17A显示Ab-Bx (Ab-B1-X_{mab}) 和Ab-B1 X_{mab}²⁺¹介导C4-2B luc前列腺癌细胞的靶细胞裂解。图17B显示X_{mab}²⁺¹Ab-B1变体(即, Ab-B1-G37A、Ab-B1-S39A、和Ab-B1-G37A/S39A)介导C4-2B luc前列腺癌细胞的靶细胞裂解。图17C显示X_{mab}²⁺¹Ab-B1变体(即, Ab-B1-G37A、Ab-B1-S39A、和Ab-B1-G37A/S39A)不介导C4-2B luc STEAP1敲除前列腺癌细胞的靶细胞裂解。

[0032] 图18A-18I描绘了抗原结合蛋白的若干种型式:“开瓶器 (bottle opener)”型式、mAb-Fv、mAb-scFv、中心-scFv、中心-Fv、单臂中心-scFv、单scFv-mAb、scFv-mAb和双scFv。对于所描绘的所有scFv结构域,它们可以是N-末端至C-末端可变重链-(任选的接头)-可变轻链,或相反。另外,对于单臂scFv-mAb,scFv可以附接至重链单体的N-末端或轻链的N-末端。

[0033] 图19提供了本披露的CDR、可变重链结构域、可变轻链结构域、scFv、接头序列、和单体序列的序列。加下划线的可变区序列表示CDR序列。

[0034] 图20A和20B说明了在实例9中描述的T细胞依赖性细胞毒性测定的结果。图20A是说明在一种代表性T-细胞供体(y轴=Log(pM))中由单独的Ab-A2 (N67Q) X_{mab}²⁺¹(开口圆)以及Ab-A2 (N67Q) X_{mab}²⁺¹与抗PD-1抗体的组合(闭合圆)介导的特异性细胞毒性(%)的图。图20B说明来自四个不同T-细胞供体的单独的Ab-A2 (N67Q) X_{mab}²⁺¹(左侧)以及Ab-A2 (N67Q) X_{mab}²⁺¹与抗PD-1抗体的组合(右侧)的EC₅₀(pM)。

[0035] 图21A-21C是说明暴露于不同量的Ab-A2 (N67Q) X_{mab}²⁺¹的总T细胞(图21A)、CD8⁺T细胞(图21B)、和CD4⁺T细胞(图21C)中PD-1表达(%CD3+)的线图。图中圆形和方形表示T细胞的不同供体。在暴露于本披露的异源二聚体抗体的T细胞中PD-1表达增加。

[0036] 图22是说明肿瘤体积(mm³;y轴)随时间(研究的天数,x轴)的线图。在第1天,将人SK-N-MC细胞(5x10⁶个细胞/小鼠)皮下注射到雌性、亚致死照射的NOD/SCID小鼠的右背侧中。在第8天,除第1组外,将人CD3⁺T细胞(2x10⁷个细胞/小鼠)注射到所有动物的腹腔中。在第12、19和26天(图中顶部的箭头),通过静脉推注按1.0、0.1、或0.01mg/kg(分别第3、4、5组)的剂量水平施用媒介物(第1和2组)或Ab-A2 (N67Q) X_{mab}²⁺。使用电子卡尺按三次/周测定肿瘤体积。显示组平均肿瘤体积[mm³]+/-SEM。图中的星号表示在媒介物(第2组)和Ab-A2 (N67Q) X_{mab}²⁺处理组之间的统计学显著差异(单因素方差分析;* = p < 0.05;*** = p < 0.001)。

[0037] 图23. 雌性NOD/SCID小鼠中平均和中位SK-N-MC人神经母细胞瘤肿瘤体积

具体实施方式

[0038] STEAP1是包含六个跨膜结构域的339个氨基酸的蛋白质,产生三个胞外环和两个胞内环。人STEAP1的氨基酸序列在本文中示为SEQ ID NO:2。胞外环的估计位置是氨基酸92-118(胞外环1)、氨基酸185-217(胞外环2)和氨基酸279-290(胞外环3)。与正常组织相比,STEAP1在前列腺癌中差异表达,并且与原发性前列腺癌样品相比,观察到骨和淋巴结前列腺癌转移灶中的表达增加。STEAP1代表用于诊断和基于抗体的治疗的理想靶标,例如双

特异性抗STEAP1/抗CD3T细胞募集抗体,以例如触发T细胞依赖性细胞毒性或前列腺癌细胞的重定向裂解。如本文进一步所述,本披露提供了结合STEAP1的抗原结合蛋白。

[0039] 抗原结合蛋白

[0040] “抗原结合蛋白”是包含结合特定靶标抗原(例如STEAP1)的部分的蛋白质。抗原结合蛋白包含支架或框架部分,其允许抗原结合部分采用促进抗原结合蛋白与抗原结合的构象。在示例性方面,抗原结合蛋白是抗体或免疫球蛋白(例如,异源二聚体和/或双特异性抗体)、或抗原结合抗体片段、或抗体蛋白产物。

[0041] 术语“抗体”是指完整的抗原结合免疫球蛋白。“抗体”是一种抗原结合蛋白。抗体可以是IgA、IgD、IgE、IgG、或IgM抗体,包括IgG1、IgG2、IgG3或IgG4中的任何一种。在多个实施例中,完整抗体包含两条全长重链和两条全长轻链。抗体具有可变区和恒定区。在IgG型式中,可变区通常为约100-110或更多个氨基酸,包含三个互补决定区(CDR),主要负责抗原识别,并且与结合不同抗原的其他抗体差异很大。可变区典型地包含至少三个重链或轻链CDR(Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫相关蛋白质序列],Public Health Service[公共卫生署]N.I.H.,贝塞斯达,马里兰州;还参见Chothia和Lesk,1987,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]196:901-917;Chothia等人,1989,Nature[自然]342:877-883),位于框架区内(由Kabat等人,1991指定框架区1-4、FR1、FR2、FR3、和FR4;还参见Chothia和Lesk,1987,同上)。恒定区允许抗体募集免疫系统的细胞和分子。

[0042] 在多个方面,抗体是单克隆抗体。在某些方面,抗体是人抗体。在某些方面,抗体(或其他抗原结合蛋白)是嵌合的或人源化的。术语“嵌合”是指含有来自两种或更多种不同抗体的结构域的抗体。嵌合抗体可以例如含有来自一个物种的恒定结构域,和来自第二物种的可变结构域,或更一般地,可以含有来自至少两个物种的氨基酸序列的区段。“嵌合”和“人源化”两者通常是指组合来自多于一个物种的区域的抗原结合蛋白。嵌合抗体还可以含有同一物种内的两种或更多种不同抗体的结构域。在一个实施例中,嵌合抗体是CDR接枝抗体。

[0043] 当与抗原结合蛋白相关使用时,术语“人源化”是指如下抗原结合蛋白(例如,抗体),其至少具有来自非人来源的CDR区,并且被工程化为具有比原始来源的抗体更相似于真实的人抗体的结构和免疫功能。例如,人源化可涉及将来自非人抗体(例如小鼠抗体)的CDR接枝到人框架区中。通常,在人源化抗体中,除CDR之外的整个抗体由人起源的多核苷酸编码或与这种抗体相同(其CDR内除外)。CDR(部分或全部由源自非人生物体的核酸编码)被接枝到人抗体可变区的 β -折叠框架中以产生抗体,其特异性由接枝的CDR决定。这种抗体的产生描述于例如国际专利公开号W0 92/11018;Jones,1986,Nature[自然]321:522-525;和Verhoeyen等人,1988,Science[科学]239:1534-1536,所述公开均通过引用整体并入。通常采用选择的受体框架残基向相应的供体残基的“回复突变”,以重新获得在初始接枝的构建体中丧失的亲和力(参见例如,美国专利号5530101;5585089;5693761;5693762;6180370;5859205;5821337;6054297;和6407213,均通过引用整体并入)。人源化抗体任选地还包含免疫球蛋白(典型地是人免疫球蛋白)恒定区的至少一部分,并且因此典型地包含人Fc区。

[0044] 用于产生嵌合抗体、人源化抗体和重构型非人抗体的多种技术和方法是本领域熟知的。参见Tsurushita和Vasquez,2004,Humanization of Monoclonal Antibodies[单克

隆抗体的人源化],Molecular Biology of B Cells[B细胞的分子生物学],533-545,Elsevier Science(爱思唯尔科学出版社)(美国),和其中引用的参考文献;Jones等人.,1986,Nature[自然]321:522-525;Riechmann等人.,1988;Nature[自然]332:323-329;Verhoeyen等人.,1988,Science[科学],239:1534-1536;Queen等人.,1989,Proc Natl Acad Sci,USA[美国科学院院刊]86:10029-33;He等人.,1998,J.Immunol.[免疫学杂志]160:1029-1035;Carter等人.,1992,Proc Natl Acad Sci USA[美国科学院院刊]89:4285-9,Presta等人.,1997,Cancer Res.[癌症研究]57(20):4593-9;Gorman等人.,1991,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国科学院院刊]88:4181-4185;O'Connor等人.,1998,Protein Eng[蛋白质工程]11:321-8,美国专利公开号20030039649;美国专利号5,869,619、5,225,539、5,821,337、5,859,205;Padlan等人.,1995,FASEB J.[美国实验生物学学会联合会杂志]9:133-39;以及Tamura等人.,2000,J.Immunol.[免疫学杂志]164:1432-41,全部通过引用以全文并入。降低非人抗体可变区的免疫原性的人源化或其他方法可包括表面重修方法,如例如描述于Roguska等人,1994,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国科学院院刊]91:969-973中,通过引用整体并入。亲本抗体可以是亲和力成熟的,这在本领域中被很好地理解。可以使用基于结构的方法用于人源化和亲和力成熟,例如像在美国专利公开号20060008883中所述。可以使用基于选择的方法用于人源化和/或亲和力成熟抗体可变区,包括但不限于在以下各项中描述的方法:Wu等人.,1999,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]294:151-162;Baca等人.,1997,J.Biol.Chem.[生物化学杂志]272(16):10678-10684;Rosok等人.,1996,J.Biol.Chem.[生物化学杂志]271(37):22611-22618;Rader等人.,1998,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国科学院院刊]95:8910-8915;Krauss等人.,2003,Protein Engineering[蛋白质工程]16(10):753-759,均通过引用以全文并入。人源化还可以涉及所选择的氨基酸取代以使非人序列更类似于人序列。其他人源化方法可以涉及仅移植部分CDR,包括但不限于在Tan等人.,2002,J.Immunol.[免疫学杂志]169:1119-1125;De Pascalis等人.,2002,J.Immunol.[免疫学杂志]169:3076-3084中所述的方法,均通过引用以全文并入。

[0045] 在其他实施例中,抗原结合蛋白是抗原结合抗体片段,即缺少抗体轻链的部分或全部和/或抗体重链的部分或全部的抗体片段。抗体片段可以重组产生或可以通过使用酶(例如木瓜蛋白酶和胃蛋白酶)切割完整抗体来制备。木瓜蛋白酶切割抗体以产生两个Fab片段和单个Fc片段。胃蛋白酶切割抗体以产生F(ab')₂片段和pFc'片段。在示例性实例中,抗原结合抗体片段是Fab片段或F(ab')₂片段。Fab片段是具有VL、VH、CL和CH1结构域的单价片段。Fab可以指单独的该区域,或在全长抗体,抗体片段等的背景下指该区域。F(ab')₂片段是具有由二硫桥在铰链区连接的两个Fab片段的二价片段。

[0046] 已经开发出抗体的构造以产生越来越多可替代的型式,这些型式跨越至少约12-150kDa的分子量范围并且具有从单体(n=1)至二聚体(n=2)、至三聚体(n=3)、至四聚体(n=4),和至潜在更高范围的效价(n);此类可替代的型式在本文中被称为“抗体蛋白质产物”,并且是抗原结合蛋白的实例。抗体蛋白产物包括基于完整抗体结构的那些和模拟保留完整抗原结合能力的抗体片段的那些,例如scFv和VHH/VH(以下讨论的)。单链抗体(scFv)是以下抗体,其中VL和VH区经由接头(例如,长度通常为约15个氨基酸的氨基酸残基的合成序列)连接以形成连续的蛋白质链,其中该接头足够长以允许蛋白质链自身折回并形成单

价抗原结合位点(参见,例如,Bird等人.,1988,Science[科学]242:423-26和Huston等人.,1988,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国科学院院刊]85:5879-83)。

[0047] 保留其完整抗原结合位点的抗原结合片段是Fv片段,该Fv片段完全由可变(V)区(单一抗体的VL和VH结构域)组成。可溶的柔性氨基酸肽接头通常用于将V区连接至scFv(单链片段可变的)片段用于稳定分子,或将恒定(C)结构域添加至V区中以产生Fab片段(片段,抗原结合)。scFv和Fab片段可以容易地在宿主细胞中产生,例如原核或真核宿主细胞。其他抗体蛋白产物包括二硫键稳定的scFv(ds-scFv)、单链Fab(scFab)、单链抗体(SCA)、结构域抗体(dAb)(例如,包含VH结构域、VL结构域、或VH或VL结构域的抗原结合片段的肽)、包含Fd片段的肽(包含VH和CH1结构域)、互补决定区(CDR)片段,以及二聚体和多聚体抗体型式(如二抗体、三抗体、和四抗体、或微型抗体(miniAb),这些抗体型式包含由与寡聚结构域连接的scFv组成的不同型式。最小的片段是骆驼科重链Ab的VHH/VH以及单结构域Ab(sdAb)。肽体(peptibody)或肽-Fc融合体是另一种抗体蛋白产物。肽体的结构由接枝到Fc结构域上的生物活性肽组成。本领域进一步描述了肽体。参见,例如,Shimamoto等人.,mAbs 4(5):586-591(2012)。

[0048] 可替代地,抗体蛋白产物可以包含例如,可替代的蛋白支架或具有接枝的CDR或CDR衍生物的人工支架。此类支架包括但不限于抗体衍生的支架(包含引入例如,稳定抗原结合蛋白的三维结构的突变)以及全合成支架(包含例如,生物相容性聚合物)。参见,例如,Korndorfer等人.,2003,Proteins:Structure,Function,and Bioinformatics[蛋白质:结构、功能和生物信息学],第53卷,第1期:121-129;Roque等人.,2004,Biotechnol.Prog.[生物技术进展]20:639-654。另外,可以使用肽抗体模拟物(“PAM”),以及基于利用纤连蛋白组分作为支架的抗体模拟物的支架。

[0049] 在多个方面,该抗原结合蛋白包含重链CDR,这些重链CDR包含与i)vhCDR1 SEQ ID NO:14、vhCDR2 SEQ ID NO:15或vhCDR2SEQ ID NO:21、和vhCDR3 SEQ ID NO:16;或ii)vhCDR1 SEQ ID NO:33、vhCDR2 SEQ ID NO:34、和vhCDR3 SEQ ID NO:35差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列;和/或包含轻链CDR,这些轻链CDR包含与i)vLCDR1 SEQ ID NO:11、vLCDR2 SEQ ID NO:12、和vLCDR3 SEQ ID NO:13;或ii)vLCDR1 SEQ ID NO:30、vLCDR2 SEQ ID NO:31、和vLCDR3 SEQ ID NO:32差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列。尽管取代(例如,保守取代)是优选的,但每个这样的序列差异独立地是缺失、插入或取代。保守取代的实例包括但不限于以下各组内的交换:小的脂肪族非极性或轻微极性残基:Ala、Ser、Thr、Pro、Gly;极性带负电荷的残基及其酰胺和酯:Asp、Asn、Glu、Gln、半胱氨酸和高半胱氨酸;极性,带正电荷的残基:His、Arg、Lys、鸟氨酸(Orn);大的脂肪族非极性残基:Met、Leu、Ile、Val、Cys、正亮氨酸(Nle)、高半胱氨酸;和大的芳香族残基:Phe、Tyr、Trp、乙酰基苯丙氨酸。

[0050] 在多个方面,抗原结合蛋白包含以下CDR序列:a)含有SEQ ID NO:14的vhCDR1、含有SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:21的vhCDR2、和含有SEQ ID NO:16的vhCDR3;或b)含有SEQ ID NO:33的vhCDR1、含有SEQ ID NO:34的vhCDR2、和含有SEQ ID NO:35的vhCDR3。可替代地或另外地,抗原结合蛋白包含以下CDR序列:a)含有SEQ ID NO:11的vLCDR1、含有SEQ ID NO:12的vLCDR2、和含有SEQ ID NO:13的vLCDR3;或b)含有SEQ ID NO:30的vLCDR1、含有SEQ ID NO:32的vLCDR2、和含有SEQ ID NO:33的vLCDR3。

[0051] 因此在多个方面,该抗原结合蛋白包含:含有SEQ ID NO:14的vhCDR1、含有SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:21的vhCDR2、含有SEQ ID NO:16的vhCDR3、含有SEQ ID NO:11的v1CDR1、含有SEQ ID NO:12的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:13的v1CDR3。在可替代的方面,该抗原结合蛋白包含:含有SEQ ID NO:33的vhCDR1、含有SEQ ID NO:34的vhCDR2、含有SEQ ID NO:35的vhCDR3、含有SEQ ID NO:30的v1CDR1、含有SEQ ID NO:31的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:32的v1CDR3。

[0052] 在多个实施例中,抗原结合蛋白包含轻链可变结构域,该轻链可变结构域包含与SEQ ID NO:183或SEQ ID NO:186具有至少90%同一性(例如,至少95%同一性或100%同一性)的氨基酸序列;和/或包含重链可变结构域,该重链可变结构域包含与SEQ ID NO:182、SEQ ID NO:184、或SEQ ID NO:185具有至少90%同一性(例如,至少95%同一性或100%同一性)的氨基酸序列。例如,抗原结合蛋白可以包含(i) SEQ ID NO:183和SEQ ID NO:182;(ii) SEQ ID NO:184和SEQ ID NO:183;或(iii) SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:186。在多个方面,抗原结合蛋白包含轻链可变区和/或重链可变区,该轻链可变区和/或重链可变区包含与前述氨基酸序列仅相差15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、或1个残基的氨基酸序列,其中每个这样的序列差异独立地是缺失、插入、或取代(例如,保守取代)。在多个方面,一个或多个序列差异位于CDR外部(例如,在框架区内)。

[0053] 在多个实施例中,抗原结合蛋白包含轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:17或SEQ ID NO:36具有至少90%同一性(例如,至少95%同一性或100%同一性)的氨基酸序列;和/或包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:199或SEQ ID NO:37具有至少90%同一性(例如,至少95%同一性或100%同一性)的氨基酸序列。例如,抗原结合蛋白可以包含(i) SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18;(ii) SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:199;或(iii) SEQ ID NO:36和SEQ ID NO:37。

[0054] 在多个实施例中,抗原结合蛋白包含轻链,该轻链包含与SEQ ID NO:200或SEQ ID NO:204具有至少90%同一性(例如,至少95%同一性或100%同一性)的氨基酸序列;和/或包含重链,该重链包含与SEQ ID NO:201、SEQ ID NO:203或SEQ ID NO:205具有至少90%同一性(例如,至少95%同一性或100%同一性)的氨基酸序列。例如,抗原结合蛋白可以包含(i) SEQ ID NO:200和SEQ ID NO:201;(ii) SEQ ID NO:200或SEQ ID NO:203;(iii) SEQ ID NO:204和SEQ ID NO:205。

[0055] 竞争、表位、结合亲和力

[0056] 抗原结合蛋白结合SEQ ID NO:2的STEAP1。例如,通过测定与对照分子的结合相比的分子的结合(该对照分子通常是具有相似结构不具有结合活性的分子),可以测定特异性结合(即,与STEAP1的结合可测量地不同于非特异性相互作用)。例如,通过与类似于靶标的对照分子的竞争可以测定特异性结合。

[0057] 抗原结合蛋白与STEAP1的结合亲和力可以用解离常数(Kd)来描述。在示例性方面,本文提供的抗原结合蛋白的Kd是微摩尔、纳摩尔、皮摩尔或飞摩尔。典型地,相对于靶抗原或表位,特异性结合抗原的抗原结合蛋白对于对照分子具有20倍、50倍、100倍、500倍、1000倍、5,000倍、10,000倍或更多倍的Kd。同样,特定抗原的特异性结合可以展现为,例如,相对于对照,抗体对表位具有如下抗原或表位KA或Ka:至少20倍、50倍、100倍、500倍、1000倍、5,000倍、10,000倍或更多,其中KA或Ka是指特定抗体-抗原相互作用的解离率。在示例

性方面,本文提供的抗原结合蛋白针对STEAP1的KD小于或等于 10^{-7} M、小于或等于 10^{-8} M、小于或等于 10^{-9} M、小于或等于 10^{-10} M、小于或等于 10^{-11} M、或小于或等于 10^{-12} M。例如,抗原结合蛋白的KD任选地在约 10^{-4} 至 10^{-6} M、或约 10^{-7} 至 10^{-9} M、或约 10^{-10} 至 10^{-12} M、或约 10^{-7} 至 10^{-12} 、或约 10^{-9} 至 10^{-12} 、或约 10^{-13} 至 10^{-15} M的范围内。可替代地(或另外地)该抗原结合蛋白具有与STEAP1的低解离速率。在一些实施例中,该抗原结合蛋白具有 $K_{\text{解离}}$ 为 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 或更低。在另一个实施例中, $K_{\text{解离}}$ 为 $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 或更低。在多个方面,抗原结合蛋白区分表达高水平STEAP1的靶细胞和显示较少STEAP1的脱靶细胞。例如,在多个方面,抗原结合蛋白优先地结合细胞,这些细胞包含多于约100,000个STEAP受体/细胞(例如,约200,000个STEAP1受体/细胞)低至约10,000个STEAP1受体/细胞。将理解,关于与STEAP1相关的竞争、结合亲和力、和结合特异性的本披露还适用于多特异性抗原结合蛋白与第二或第三抗原(例如,CD3)的结合或用于与抗STEAP1抗原结合蛋白连接的不同抗体。例如,在示例性方面,本文提供的抗原结合蛋白针对CD3(或如下所述的PD-1)的Kd小于或等于 10^{-7} M、小于或等于 10^{-8} M、小于或等于 10^{-9} M、小于或等于 10^{-10} M、小于或等于 10^{-11} M、或小于或等于 10^{-12} M。例如,抗原结合蛋白的Kd任选地在约 10^{-4} 至 10^{-6} M、或约 10^{-7} 至 10^{-9} M、或约 10^{-10} 至 10^{-12} M、或约 10^{-7} 至 10^{-12} 、或约 10^{-9} 至 10^{-12} 、或约 10^{-13} 至 10^{-15} M的范围内。可替代地(或另外地)该抗原结合蛋白具有与CD3的低解离速率。在一些实施例中,该抗原结合蛋白具有 $K_{\text{解离}}$ 为 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 或更低。在另一个实施例中,关于CD3, $K_{\text{解离}}$ 是 $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 或更低。

[0058] 本披露进一步提供了抗原结合蛋白(例如,抗体),该抗原结合蛋白与本文所述的任何抗原结合蛋白(例如,Ab-A、Ab-A1、Ab-A2、Ab-B、或Ab-B1,包括呈如本文所述的 $X_{\text{mAb}2+1}$ 型式)竞争结合STEAP1。换言之,本披露提供了抗原结合蛋白,该抗原结合蛋白交叉阻断本文所述的参考抗原结合蛋白与STEAP1的结合或该抗原结合蛋白与STEAP1的结合被参考抗原结合蛋白交叉阻断。通过“竞争”来表示一种抗原结合蛋白阻止、减少或抑制参考抗原结合蛋白与STEAP1的结合。可以使用许多类型的竞争性结合测定,例如,表面等离子体共振、固相直接或间接放射免疫测定(RIA)、固相直接或间接酶免疫测定(EIA)、夹心法竞争测定(参见,例如,Stahli等人.,1983,Methods in Enzymology[酶学方法]9:242-253)、固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA(参见,例如,Kirkland等人.,1986,J.Immunol.[免疫学杂志]137:3614-3619)、固相直接标记测定、固相直接标记夹心法测定(参见,例如,Harlow和Lane,1988,Antibodies,A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Press[抗体,实验室手册,冷泉港出版社])、使用1-125标记固相直接标记RIA(参见,例如,Morel等人.,1988,Molec.Immunol.[分子免疫学]25:7-15)、固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA(参见,例如,Cheung,等人.,1990,Virology[病毒学]176:546-552)、以及直接标记的RIA(Moldenhauer等人.,1990,Scand.J.Immunol.[斯堪的纳维亚免疫学杂志]32:77-82)。典型地,这种测定涉及使用与固体表面结合或暴露在细胞上的纯化抗原,未标记的测试抗原结合蛋白和经标记的参考抗原结合蛋白。通过在测试抗原结合蛋白的存在下,测定结合至固体表面或细胞的标记的量来测量竞争性抑制。通常,测试抗原结合蛋白是过量存在的。通过竞争测定(竞争性抗原结合蛋白)鉴定的抗原结合蛋白包括与参考抗原结合蛋白结合相同表位(与由参考抗原结合蛋白识别的表位重叠的表位,以及不重叠但允许在测试抗原结合蛋白和参考抗原结合蛋白之间发生空间位阻的表位)的抗原结合蛋白。通常,当竞争性抗原结合蛋白过量存在时,其将使参考抗原结合蛋白与共同抗原的结合抑制至少20%、25%、30%、35%、

40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、或75%。在一些情况下,结合被抑制至少80%、85%、90%、95%、或97%或更多。在至少一个方面,抗原结合蛋白(例如,抗体)与参考抗原结合蛋白(例如,本文所述的Ab-A、Ab-A1、Ab-A2、Ab-B、或Ab-B1,任选地呈双特异性抗体型式,例如在实例中所述的双特异性抗体型式(例如,XmAb²⁺¹))竞争,使得该参考抗原结合蛋白与STEAP1的结合降低至少80%或至少90%。

[0059] 抗原结合蛋白结合SEQ ID NO:2的STEAP1。竞争(或交叉阻断)抗原结合蛋白可以结合以下表位:重叠由参考抗原结合蛋白识别的表位,或不重叠但允许在测试抗原结合蛋白和参考抗原结合蛋白之间发生空间位阻的表位。在多个方面,抗原结合蛋白与参考抗原结合蛋白结合相同的表位,所述参考抗原结合蛋白是例如Ab-A、Ab-A1、Ab-A2(N67Q)、Ab-B、或Ab-B1或本文所述的其双特异性或异源二聚体形式(例如,Ab-A1 XmAb²⁺¹、Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺¹、或Ab-B1XmAb²⁺¹)。例如,本披露的抗原结合蛋白任选地结合STEAP1的第二胞外环的外部区域。在至少一个实施例中,抗原结合蛋白结合STEAP1的氨基酸92-118(胞外环1)和/或氨基酸279-290(胞外环3)内的区域。在多个方面,本披露提供了结合STEAP1的氨基酸92-118和氨基酸279-290内的区域的抗原结合蛋白。还任选地,抗原结合蛋白不结合STEAP2(UniProtKB号Q8NFT2;SEQ ID NO:177)。如果需要,可以通过解析与STEAP1或其部分结合的抗原结合蛋白的X射线晶体结构来确定参考抗原结合蛋白和/或测试的抗原结合蛋白的表位。在一个这样的实施例中,表位被定义为在STEAP1细胞外部分上的那些残基,当抗原结合蛋白(参考抗原结合蛋白或测试的抗原结合蛋白)与其结合时,与不结合时相比,溶剂可及性降低至少10%。

[0060] 制备抗原结合蛋白的方法

[0061] 制备抗原结合蛋白(例如,抗体、抗原结合抗体片段、和抗体蛋白产物)的适合的方法是本领域已知的。例如,用于产生抗体的标准杂交瘤方法描述于例如Harlow和Lane(编辑),Antibodies:A Laboratory Manual,CSH Press[抗体:实验室手册,CSH出版社](1988);和CA.Janeway等人.(编辑),Immunobiology,5th Ed.,Garland Publishing,New York,NY[免疫生物学,第5版,加兰出版社,纽约,纽约州](2001)中。EBV-杂交瘤方法和噬菌体载体表达系统描述于例如Haskard和Archer,J.Immunol.Methods[免疫学方法杂志],74(2),361-67(1984);Roder等人.,Methods Enzymol.[酶学方法],121,140-67(1986);以及Huse等人.,Science[科学],246,1275-81(1989)中。在非人动物中产生抗体的方法描述于例如美国专利号5,545,806、5,569,825、5,714,352和5,814,318;以及美国专利申请公开号2002/0197266中(均通过引用并入本文中)。在某些方面,提供了结合STEAP1的重组抗原结合蛋白。在该上下文中,“重组蛋白”是使用重组技术,例如通过表达重组核酸所制备的蛋白质。用于产生重组蛋白的方法和技术是本领域中熟知的。

[0062] 结合位点中CDR的分子进化也已经被用于产生具有增加的亲和力的抗原结合蛋白(例如,抗体),例如,如由Schier等人.,1996,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]263:551中所述对于c-erbB-2具有增加的亲和力的抗体。此类技术在制备抗STEAP1抗原结合蛋白(或本文所述的其他抗原结合蛋白)中是有用的。

[0063] 测试抗原结合蛋白与抗原(例如STEAP1)的结合能力的方法是本领域已知的,并包括,例如放射免疫测定(RIA)、ELISA、蛋白质印迹法、免疫沉淀法、表面等离子体共振(例如,BIAcore®)、和竞争性抑制测定(参见,例如,Janeway等人.,下文;美国专利公开号2002/

0197266;和美国专利号7,872,106,这些文献的全部在此通过引用以其全文并入本文,并特别是关于竞争测定的披露内容)。实际上,测试抗原结合蛋白与第二抗原结合蛋白竞争结合抗原,或结合其表位的能力的测定在本领域中是已知的,并可以被用于测试抗体与例如STEAP1结合的能力。参见,例如,美国专利申请公开号2014/0178905;Chand等人., Biologicals[生物制品]46:168-171(2017);Liu等人., Anal Biochem[分析生物化学]525:89-91(2017);以及Goolia等人., J Vet Diagn Invest[兽医诊断调查杂志]29(2):250-253(2017)。可以将表面等离子体共振用于测定抗原结合蛋白和第二抗原结合蛋白的结合常数,并且可以比较这两个结合常数。

[0064] 多特异性抗原结合蛋白

[0065] 抗体技术中持续存在的问题是对同时结合两种(或多种)不同抗原的双特异性(和/或多特异性)抗体的需要,通常允许不同的抗原接近并产生新功能和新疗法。本披露提供了结合STEAP1和一种或多种另外的靶抗原的新颖多特异性抗原结合蛋白。在优选的实施例中,本披露提供了新颖的双特异性抗原结合蛋白(例如,双特异性抗体),该抗原结合蛋白包含如上所述的抗STEAP1结合结构域以及结合第二靶抗原(该抗原可以是不同的STEAP1表位,但通常是不同的抗原)的结合区。在多个方面,第二抗原是存在于效应细胞上的细胞表面分子,即,表达一个或多个FcR(例如,Fc γ RIII)并进行归因于抗体的Fc区的一个或多个效应子功能的白细胞。

[0066] 效应子功能的实例包括但不限于,C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC)、Fc受体结合、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、吞噬作用、细胞表面受体的下调、和B细胞活化。涉及ADCC的效应细胞的实例包括但不限于,细胞毒性T细胞、外周血单核细胞(PBMC)、天然杀伤(NK)细胞、单核细胞、和嗜中性粒细胞。在多个方面,本披露提供了结合CD3(例如,SEQ ID NO:1)和STEAP1(SEQ ID NO:2)二者的双特异性抗原结合蛋白(例如,双特异性抗体)。在多个方面,本披露提供了结合CD3以及STEAP1的胞外环1和3的双特异性抗原结合蛋白(例如,双特异性抗体)。

[0067] 在多个方面,多特异性抗原结合蛋白区分表达高水平STEAP1的靶细胞和显示较少STEAP1的脱靶细胞。在这方面,在一些实施例中,本披露的双特异性抗原结合蛋白(例如,异源二聚体抗体)能够优先介导T细胞依赖性杀伤肿瘤细胞,证明降低的“脱靶”效应。例如,在一些方面,包含本文所述的STEAP1抗原结合蛋白的双特异性抗体与CD3抗原结合区一起优先介导T细胞依赖性杀伤细胞,其中STEAP1的表面密度高于10,000(例如,与具有STEAP1的表面密度低于10,000的细胞相比,对于具有STEAP1的表面密度高于10,000的细胞EC90是至少低10倍)。

[0068] 本披露提供了包含新颖抗CD3序列的双特异性抗原结合蛋白,包括多组CDR和完全可变轻链和重链。在一些方面,双特异性构建体的CD3结合结构域(任选地如以下所讨论的scFv)包含:含有重链CDR的可变重链结构域,这些重链CDR包含与vhCDR1 SEQ ID NO:170、vhCDR2 SEQ ID NO:171、和vhCDR3 SEQ ID NO:172差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列;以及含有轻链CDR的可变轻链结构域,这些轻链CDR包含与v1CDR1 SEQ ID NO:174、v1CDR2 SEQ ID NO:175、和v1CDR3 SEQ ID NO:176差异不超过3、2、或1个氨基酸的氨基酸序列。例如,本披露提供了多特异性(例如,双特异性)构建体,该构建体包含可变重链结构域,该可变重链结构域包含与SEQ ID NO:169具有至少90%同一性(例如,至少95%同一性或

100%同一性)的氨基酸序列;和包含可变轻链结构域,该可变轻链结构域包含与SEQ ID NO:173具有至少90%同一性(例如,至少95%同一性或100%同一性)的氨基酸序列。

[0069] 例如,抗CD3部分任选地包含CDR序列,这些CDR序列包含:含有SEQ ID NO:170的vhCDR1、含有SEQ ID NO:171的vhCDR2、含有SEQ ID NO:172的vhCDR3、含有SEQ ID NO:174的v1CDR1、含有SEQ ID NO:175的v1CDR2、和含有SEQ ID NO:176的v1CDR3。就此而言,CD3结合区任选地包含SEQ ID NO:169的可变重链区和SEQ ID NO:173的可变轻链区。

[0070] 双特异性抗原结合蛋白可以包含两个抗原结合结构域(例如,每个抗原单价结合)或三个(或更多个)抗原结合结构域(例如,一个抗原双价结合并且另一个抗原单价结合),例如本文所述的STEAP1和CD3结合结构域。双特异性抗体包括但不限于传统的双特异性免疫球蛋白(例如,BsIgG);包含附加的抗原结合结构域的IgG(例如,轻链或重链的氨基或羧基末端与另外的抗原结合结构域连接,例如单结构域抗体或配对的抗体可变结构域(例如,Fv或scFv));BsAb片段(例如,双特异性单链抗体);双特异性融合蛋白(例如,与效应部分融合的抗原结合结构域)和BsAb缀合物。参见,例如,Spiess等人.,Molecular Immunology[分子免疫学]67(2)A部分:97-106(2015),该文献描述了多种双特异性型式并在此通过引用并入本文。双特异性构建体的实例包括但不限于,双抗体、单链双抗体、串联scFvs、和Fab₂双特异抗体,以及包含全长抗体的工程化构建体。参见,例如,Chames&Baty,2009,mAbs 1[6]:1-9;和Holliger&Hudson,2005,Nature Biotechnology[自然生物技术]23[9]:1126-1136;Wu等人.,2007,Nature Biotechnology[自然生物技术]25[11]:1290-1297;Michaelson等人.,2009,mAbs 1[2]:128-141;国际专利公开号2009032782和2006020258;Zuo等人.,2000,Protein Engineering[蛋白质工程]13[5]:361-367;美国专利申请公开号20020103345;Shen等人.,2006,J Biol Chem[生物化学杂志]281[16]:10706-10714;Lu等人.,2005,J Biol Chem[生物化学杂志]280[20]:19665-19672;以及Kontermann,2012MAbs 4(2):182,所以这些都明确地并入本文。

[0071] 在多个方面,双特异性抗原结合蛋白是双特异性单链抗体(BiScFv)。轻链可变区和重链可变区彼此连接成为单链作为第一抗原结合结构域,该第一抗原结合结构域任选地经由接头连接至具有相似结构的第二抗原结合结构域。在使用接头的情况下,该接头优选地具有足以确保第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域中的每一者均可以彼此独立地保留其差异结合特异性的长度和序列。双特异性单链分子是本领域中已知的,并且进一步描述于美国专利号7635472,国际专利公开号W0 99/54440;Mack,J.Immunol.[免疫学杂志](1997),158,3965-3970;Mack,PNAS,(1995),92,7021-7025;Kufer,Cancer Immunol.Immunother.[癌症免疫学与免疫疗法],(1997),45,193-197;Loffler,Blood[血液],(2000),95,6,2098-2103;Bruhl,Immunol.[免疫学],(2001),166,2420-2426;以及Kipriyanov,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志],(1999),293,41-56中,这些文献均通过引用以其全文并入。

[0072] 可替代的双特异性抗原结合型式描述于例如美国专利申请公开号2011/0054151中,通过引用并于本文中。例如,双特异性抗原结合蛋白可以包含mAb-Fv型式,其中IgG抗体在C末端处与Fv片段融合。可替代地,可以使用mAb-Fab型式,其中IgG抗体在C末端处与Fab融合。mAb-Fab构建体包含C末端Fv融合的C末端的CH和CL恒定结构域,而mAb-Fv不包含。参见美国专利申请公开号2011/0054151的图8。任选地,mAb-Fv和mAb-Fab构建体的N末端结合

区缺少轻链和CH1结构域(即,包含单结构域VHH区)。mAb-Fv和mAb-Fab构建体包含三个可变区,使得它们二价结合第一抗原和单价结合第二抗原。适合的双特异性抗原结合型式还包括在美国专利申请公开号2011/0054151中所述的Fab-Fv和Fab-Fab构建体。Fab-Fv和Fab-Fab免疫球蛋白包含结合第一抗原的N末端Fab片段和结合第二抗原的C末端Fv或Fab片段。

[0073] 在一个方面,本披露针对异源二聚体抗体的产生,这些异源二聚体抗体共同衔接抗原并依赖于在每条链上不同的恒定区中的氨基酸变体以促进异源二聚体形成和/或允许异源二聚体相比于同源二聚体纯化的简化。通常,通过将每条重链和轻链的基因包括在宿主细胞中来制备双特异性抗体。这通常导致形成所希望的异源二聚体(A-B),以及两个同源二聚体(A-A和B-B)。然而,多特异性抗体形成的主要障碍是难以纯化异源二聚体抗体与同源二聚体抗体分开和/或相比于同源二聚体的形成偏斜形成异源二聚体的。

[0074] 本披露提供了异源二聚体抗体型式,这些型式克服了与先前技术相关的障碍。另外,在STEAP1/CD3双特异性抗原结合蛋白的上下文中,本披露的异源二聚体抗体允许CD3的单价结合。T细胞的CD3活化仅在当其相关联的T细胞受体(TCR)在高度亲合的细胞-细胞突触中在抗原呈递细胞上衔接负载抗原的MHC时发生(Kuhns等人.,2006,Immunity[免疫力]24:133-139)。使用抗CD3抗体的CD3的非特异性二价交联引发细胞因子风暴和毒性(Perruche等人.,2009,J Immunol[免疫学杂志]183[2]:953-61;Chatenoud和Bluestone,2007,Nature Reviews Immunology[免疫学自然综述]7:622-632;通过引用明确地并入)。因此,对于实际的临床应用,用于重定向杀伤靶细胞的CD3共同参与的优选模式是单价结合,其仅在与共同衔接的靶标衔接时导致活化。因此,在一个实施例中,本披露的异源二聚体抗体提供了以提供有效抗体生产的型式单价结合CD3和二价结合STEAP1的优点。

[0075] 示例性异源二聚体抗体型式包含具有单链Fv(scFv)的重链和处于“规则”Fab型式的第二重链(即,包含可变重链和轻链)。换言之,异源二聚体抗体包含a)第一重链,其包含第一可变Fc结构域和结合第一抗原(任选地CD3)的单链Fv区(scFv);b)第二重链,其包含第二可变Fc结构域和第一可变重链结构域;和c)第一轻链,其包含第一可变轻链结构域和第一恒定轻链结构域,其中第一可变重链结构域和第一可变轻链结构域结合第二抗原(任选地STEAP1)。为说明,构建体包含:具有scFv区-结构域接头-Fc结构域的一个单体和具有VH-CH1-铰链-CH2-CH3加相关的轻链的第二单体,任选地具有异源二聚体化变体(包括空间和pI变体),Fc和FcRn变体,以及包括在这些区域中的另外的抗原结合结构域(具有任选的接头)。在一些实施例中,该接头是铰链区或其片段。该结构在本文中被称为XmAb型式,“三联的F”型式(scFv-FAb-Fc)或“开瓶器”型式。通过使用如下文详细描述促进异源二聚体抗体形成的恒定区(例如,Fc结构域和/或铰链区)中的氨基酸变体将两条链优选地结合在一起。优选地,scFv结合CD3,并任选地包括带正电荷的scFv接头。可替代地,scFv结合STEAP1。“三联的F”型式进一步描述于美国专利号9,822,186中,通过引用以其全文并入本文,并特别地是关于异源二聚体抗体结构的披露内容。

[0076] 在另一个方面,双特异性抗原结合蛋白是包含第一单体的异源二聚体抗体,该第一单体包含第一重链,该第一重链包含第一可变重链结构域、含有第一CH1结构域和第一Fc结构域的第一恒定重链,其中scFv包含scFv可变轻链结构域、scFv接头、和scFv可变重链结构域。使用一个或多个结构域接头,scFv在重恒定结构域CH1结构域的C末端和第一Fc结构域的N末端之间共价附接,并且该scFv结合CD3。异源二聚体抗体进一步包含第二单体,该第

二单体包含第二重链,该第二重链包含第二可变重链结构域和含有第二Fc结构域的第二恒定重链。异源二聚体抗体进一步利用包含可变轻链结构域和恒定轻链结构域的共同轻链,该轻链与重链结合以形成结合STEAP1的两个相同的Fab。由于与一种靶抗原的二价结合,该型式在文中有时被称为“XmAb²⁺¹”型式。因此,在一个实施例中,本披露的异源二聚体抗体提供了以提供有效抗体生产的型式单价结合CD3和二价结合STEAP1的优点。

[0077] 如下进一步描述,异源二聚体抗体还可以包括突变以产生偏斜变体、pI变体、消融变体、另外的Fc变体等。例如,在多个方面,所述第一和所述第二Fc结构域具有一组氨基酸取代,这些氨基酸取代选自下组,该组由以下组成:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;和K370S:S364K/E357Q。

[0078] 本披露的XmAb²⁺¹异源二聚体抗体型式的图示提供在图1中。scFv结构域和两个Fab部分的提供形成三个抗原结合结构域,其中两个单体的Fab部分结合STEAP1,并且该scFv结构域结合CD3。将scFv结构域插入这些单体之一的Fc结构域和CH1-Fv区之间。

[0079] 异源二聚体抗体优选为IgG类,该IgG类具有若干个亚类,包括但不限于IgG1、IgG2、IgG3、和IgG4,尽管还考虑了IgM、IgD、IgG、IgA、和IgE。应当理解,抗体还可以包含同种型和/或亚类的杂合体。例如,如在美国专利公开号2009/0163699(通过引用并入)中所示的IgG1/G2杂合体的pI工程化被考虑作为本披露的一部分。

[0080] 存在许多机制,这些机制可用于产生本披露的异源二聚体。另外,如本领域技术人员所理解的并且在下文更全面地描述,可以组合这些机制以确保高度异源二聚体化。

[0081] 也可任选地使用本领域通常称为“杵臼”(“knobs and holes”,“KIH”)的一种机制,其指的是产生空间影响以促进异源二聚体形成且不利于同源二聚体形成的氨基酸工程化;这有时被称为“杵臼”,如美国专利公开号20130205756中所述,Ridgway等人.,Protein Engineering[蛋白质工程]9(7):617(1996);Atwell等人.,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]1997 270:26;和美国专利号8,216,805,所有这些文献在此通过引用以其全文并入本文,特别地是关于异源二聚体抗体产生的披露内容。此外,如描述于Merchant等人,Nature Biotech.[自然生物技术]16:677(1998),这些“杵臼”突变可以与二硫键组合,使形成偏斜异二聚化。突变的实例包括与T366W配对的T366S/L368A/Y407V,以及具有桥接二硫化物的该变体,与T366W/S354C配对的T366S/L368A/Y407V/Y349C,特别地是与其他异源二聚体化变体(包括如下文概述的pi变体)组合。

[0082] 发现用于生成异源二聚体的另一种机制有时被称为“静电转向”,如描述于Gunasekaran等,J.Biol.Chem.[生物化学杂志]285(25):19637(2010)中,将其整体通过引用并入本文。这有时在本文中称为“电荷对”。在该实施例中,静电用于使形成偏斜异二聚化。如本领域技术人员将理解的,这些也可能对pI有影响,并且因此对纯化也有影响,并且因此在某些情况下也可以考虑pI变体。然而,由于产生这些以强制异二聚化并且不用作纯化工具,因此它们被归类为“空间变体”。这些包括但不限于D221E/P228E/L368E,与D221R/P228R/K409R配对(即,这些是单体对应组);和C220E/P228E/368E,与C220R/E224R/P228R/K409R配对。在框架区的一些实施例中,位置220突变去除对于重链和轻链二硫化物形成不再需要的半胱氨酸。“空间变体”是本披露任选的实施例。

[0083] 有若干种机制可以导致异源二聚体蛋白质的纯化的简化;一种依赖于使用pI变

体,使得每种单体具有不同的pI,因此允许A-A、A-B和B-B二聚体蛋白的等电纯化。可替代地,可以基于大小进行分离。也可能使相对于同源二聚体的异源二聚体的形成“偏斜”,如下文通常所概述。因此,在本披露的上下文中可以使用空间异源二聚体化变体和pI或电荷对变体的组合。另外,scFv可以包括带电荷的scFv接头(正电荷或负电荷),出于纯化目的给出进一步的pI加强。如本领域技术人员所理解的,一些三联的F型式(仅具有带电荷的scFv接头并且无另外的pi调节)是有用的,尽管本发明还确实提供了具有带电荷的scFv接头的偏斜变体(和本文所述Fc、FcRn、和K0变体的组合)的用途。

[0084] 在利用pI作为分离机制的实施例中,可以将氨基酸变体引入单体多肽的一者或两者中;即,单体之一(本文简称为“单体A”)的pI可以远离单体B地工程化,或单体A和B两者都可以被改变,其中单体A的pI增加且单体B的pI减少。可以通过去除或添加带电荷的残基(例如,中性氨基酸被带正电荷或带负电荷的氨基酸残基替换,例如甘氨酸替换为谷氨酸)来完成任一种或两种单体的pI变化,将带电荷的残基从正或负变为相反电荷(天冬氨酸变为赖氨酸)或将带电荷的残基改变为中性残基(例如,电荷的丧失;赖氨酸变为丝氨酸)。另外,用于在产生本文异源二聚体抗体中使用的适合的pI变体是同种型的那些变体,例如从不同IgG同种型导入pI变体,使得pI在不引入显著免疫原性的情况下改变;参见来自美国专利公开号20140288275的图29,在此通过引用以其全文并入本文。

[0085] 因此,实施例提供了在至少一个单体中产生pI的足够变化,使得异源二聚体可以与同源二聚体分离。这可以通过使用“野生型”重链恒定区和变体区来实现,所述变体区已被工程化为增加或减少其pI(wt A-+B或wt A--B),或通过增加一个区域并减少其他区域(A+-B-或A-B+)来实现。该注意的是,在该讨论中,哪个单体包含scFv并且哪个Fab包含scFv无关紧要。与pI变体的使用相关的示意图在美国专利号9,822,186的图34中列出(通过引用以其全文并入本文,特别是关于异源二聚体抗体变体和抗CD3序列的讨论)。pI变体可以按“即插即用(plug and play)”型式与偏斜变体组合,因为这些变体的作用容易地转移到具有不同Fv区的不同抗体中并且非常稳定。

[0086] 因此,通常本披露的方面包括抗体恒定区中的氨基酸变体,通过将氨基酸取代(“pI变体”或“pI取代”)掺入一个或两个单体中指导这些变体改变至少一个(如果不是两个)抗体单体的等电点(pI)以形成“pI异源二聚体”(即,“pI抗体”)。如果两个单体的pI相差至少0.1个pH单位(例如0.2、0.3、0.4和0.5pH或更大的差异),可以实现异源二聚体与两种同源二聚体的分离。

[0087] 为了实现良好分离,包括在每个或两个单体上的pI变体的数量将部分取决于一个或多个scFv和Fab的起始pI。即,为了确定要工程化的单体或“方向”(例如更正或更负),计算两个靶抗原的Fv序列并由此做出决定。如本领域所知,不同的Fv将具有被开发利用的不同起始pI。通常,将pI工程化为导致每种单体的总pI差异为至少约0.1log,优选0.2至0.5。

[0088] 此外,在一些情况下(取决于型式)异源二聚体可以基于大小(例如,分子量)与同源二聚体分离。例如,如在图18A-I的一些实施例中所示,一些型式形成具有不同大小的同源二聚体和异源二聚体(例如,对于开瓶器,一种同源二聚体是“双scFv”型式,一种同源二聚体是标准抗体,并且异源二聚体具有一个Fab和一个scFv)。另外,如图18A-I所示,可能的是一些抗原二价结合(例如,两个抗原结合位点与单个抗原结合)。如理解的,可以利用Fab和scFv的任何组合来实现所希望的结果和组合。

[0089] 在使用pI变体实现异源二聚体化的情况下,通过使用一个或多个重链的恒定区,提供了设计和纯化多特异性蛋白质(包括抗体)的更模块化的方法。因此,在一些实施例中,异源二聚体化变体(包括偏斜和纯化异源二聚体化变体)不包括在可变区中,使得必须工程化每种单独的抗体。另外,在一些实施例中,通过从不同IgG同种型导入pI变体显著降低由pI变体产生的免疫原性的可能性,使得pI在不引入显著免疫原性的情况下改变。因此,待解决的一个问题是阐明具有高人序列含量的低pI恒定结构域,例如,在任何特定位置处最小化或避免非人残基。

[0090] 用pI工程化可能发生的附带益处还包括血清半衰期的延长和FcRn结合的增加。即,如美国专利公开号20120028304(通过引用以其全文并入本文)中所述,降低抗体恒定结构域(包括在抗体和Fc融合体中发现的那些)的pI可以导致体内更长的血清滞留。这些用于增加血清半衰期的pI变体也促进用于纯化的pI变化。

[0091] 本披露的异源二聚体融合蛋白可呈现多种构型,如图18A-I中一般所示。一些图描绘了“单端”构型,其中在分子的一个“臂”上存在一种类型的特异性,而在其他“臂”上存在不同的特异性。其他图描绘了“双端”构型,其中在分子的“顶部”存在至少一种类型的特异性,在分子的“底部”存在一种或多种不同的特异性。可用于本披露的一种异源二聚体支架是如图18A所示和上文所述的“三联的F”或“开瓶器”支架型式。“三联的F”型式具有若干个明显的优点。依赖于两种scFv构建体的抗体类似物通常具有稳定性和聚集问题,这可以通过由本文所述的构建体通过添加“常规”重链和轻链配对得到缓解。另外,与依赖于两条重链和两条轻链的型式相反,重链和轻链的不正确配对(例如,重1与轻2配对等)不产生问题。另外有用的抗原结合蛋白型式描述如下。

[0092] 在多个方面,异源二聚体抗体的scFv包含本文所述的抗CD3CDR序列。例如,在多个方面,该scFv包含:含有SEQ ID NO:170的vhCDR1、含有SEQ ID NO:171的vhCDR2、含有SEQ ID NO:172的vhCDR3、含有SEQ ID NO:174的vlCDR1、含有SEQ ID NO:175的vlCDR2、和含有SEQ ID NO:176的vlCDR3。例如,scFv任选地包含SEQ ID NO:169的可变重链区和SEQ ID NO:173的可变轻链区。在多个方面,scFv包含SEQ ID NO:44的序列。

[0093] 在一些实施例中,scFv包含在图19中列出的氨基酸序列,例如在SEQ ID NO:44中列出的氨基酸序列。图19中列出的序列提供了具有不同亲和力的抗原结合结构域。在一些迹象中,较强的亲和力可能是优选的,而在其他情况下,可以使用较小的亲和力。因此,在一些实施例中,本披露提供了包含抗CD3抗原结合结构域的异源二聚体抗体,这些抗原结合结构域是CD3的“强”或“高亲和力”结合剂(例如,一个实例是描绘为H1.30_L1.47(任选地包括适当的带电荷的接头)的重和轻可变结构域)。在其他实施例中,本披露提供了包含抗CD3抗原结合结构域的异源二聚体抗体,这些抗原结合结构域是CD3的“轻”或“低亲和力”结合剂。

[0094] 典型的scFv接头是本领域熟知的,并且通常长度为10至25个氨基酸,并包括甘氨酸和丝氨酸。通过“带电荷的scFv接头”来表示利用带电荷的氨基酸用于在产生和纯化包含至少一个scFv的异源二聚体抗体中使用的scFv接头。适合的带电荷的scFv接头显示在图8A、8B和19中,尽管还可以使用其他的。通常,如与标准不带电荷的scFv接头(例如,传统上使用的(GGGGS)₃₋₅(SEQ ID NO:179)序列)相比,预期用于在本披露的上下文中使用的带电荷的scFv接头具有从3至8(3、4、5、6、7、或8均是可能的)的电荷变化(负电荷或正电荷)。该带电荷的scFv任选地包含氨基酸序列,该氨基酸序列选自:IRPRAIGGSKPRVA(SEQ ID NO:

145)、GKGGSGKGGSGKGG (SEQ ID NO:146)、GGKGGKGGSGKGG (SEQ ID NO:147)、GGGKSGGGKSGGGK (SEQ ID NO:148)、GKGGKSGKGGKSGKGG (SEQ ID NO:149)、GGGKSGGGKSGKGG (SEQ ID NO:150)、GKPGSGKPGSGKPGS (SEQ ID NO:151)、GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS (SEQ ID NO:152)、或GKGGKSGKGGKSGKGGKSGKGG (SEQ ID NO:153)。在多个方面,scFv包含氨基酸序列GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS (SEQ ID NO:152)。

[0095] 在示例性方面,scFv包含与本文提供的序列(例如,SEQ ID NO:4-6、8-10、11-17、21、23-25、27-29、30-35、170-173、和174-176中任一个或多个的CDR序列;SEQ ID NO:3、7、22、26、41、42、45、46、49、50、53、54、57、58、61、62、65、66、69、70、73、74、77、78、81、82、85、86、89、90、93、94、97、98、101、102、105、106、109、110、113、114、117、118、121、122、125、126、129、130、133、134、137、138、141、142、169、173、和182-186中任一个或多个的可变区序列;SEQ ID NO:143-168中任一个的scFv接头序列;和/或SEQ ID NO:19、20、38、40、43、44、47、48、51、52、55、56、59、60、63、64、67、68、71、72、75、76、79、80、83、84、87、88、91、92、95、96、99、100、104、104、107、108、111、112、115、116、119、120、123、124、127、128、131、132、135、136、139、和140中任一个的scFv序列)中任一个具有至少约70%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、或具有高于约90%(例如,约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、或约99%)序列同一性的CDR序列、可变区序列、scFv接头序列、或scFv序列。例如,scFv可以包含如在SEQ ID NO:4-6、8-10、11-17、21、23-25、27-29、30-35、170-173、和174-176中任一个或多个中列出的CDR序列,但包含一个或两个氨基酸取代。可替代地,在多个方面,scFv可以包含可变区序列,这些可变区序列关于SEQ ID NO:3、7、22、26、41、42、45、46、49、50、53、54、57、58、61、62、65、66、69、70、73、74、77、78、81、82、85、86、89、90、93、94、97、98、101、102、105、106、109、110、113、114、117、118、121、122、125、126、129、130、133、134、137、138、141、142、169、173、或182-186被修饰,其中这些修饰是在CDR序列外。

[0096] 在多个方面,异源二聚体抗体的第一可变重链结构域和第二可变重链结构域包含本文所述的抗STEAP1 CDR或可变区序列。例如,在一些实施例中,异源二聚体抗体的第一可变重链结构域和第二可变重链结构域包含:含有SEQ ID NO:14的vhCDR1、含有SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:21的vhCDR2、和含有SEQ ID NO:16的vhCDR3;并且可变轻链结构域包含:含有SEQ ID NO:11的vlCDR1、含有SEQ ID NO:12的vlCDR2、和含有SEQ ID NO:13的vlCDR3。可替代地,第一可变重链结构域和第二可变重链结构域包含:含有SEQ ID NO:33的vhCDR1、含有SEQ ID NO:34的vhCDR2、和含有SEQ ID NO:35的vhCDR3;并且可变轻链结构域包含:含有SEQ ID NO:30的vlCDR1、含有SEQ ID NO:31的vlCDR2、和含有SEQ ID NO:32的vlCDR3。在优选的实施例中,第一可变重链结构域和第二可变重链结构域包含SEQ ID NO:182或SEQ ID NO:184,并且可变轻链结构域包含SEQ ID NO:183。可替代地,第一可变重链结构域和第二可变重链结构域包含SEQ ID NO:185,并且可变轻链结构域包含SEQ ID NO:186。

[0097] 在本披露的多个方面,异源二聚体抗体包含a)含有SEQ ID NO:19或20的序列的第一单体、含有SEQ ID NO:18的序列的第二单体、和含有SEQ ID NO:17的序列的共同轻链;或b)含有SEQ ID NO:38的序列的第一单体、含有SEQ ID NO:37的序列的第二单体、和含有SEQ ID NO:36的序列的共同轻链。

[0098] 在本披露的多个方面,异源二聚体抗体包含:含有SEQ ID NO:202或207的序列的第一单体、含有SEQ ID NO:201或203的序列的第二单体、和含有SEQ ID NO:200的序列的共

同轻链(例如,含有SEQ ID NO:202的序列的第一单体、含有SEQ ID NO:201的序列的第二单体、和含有SEQ ID NO:200的序列的轻链;或含有SEQ ID NO:207的序列的第一单体、含有SEQ ID NO:203的序列的第二单体、和含有SEQ ID NO:200的序列的轻链)。可替代地;异源二聚体抗体可以包含:含有SEQ ID NO:206的序列的第一单体、含有SEQ ID NO:205的序列的第二单体、和含有SEQ ID NO:204的序列的共同轻链。

[0099] 在示例性方面,第一和/或第二可变重链结构域可以包含与本文提供的序列(例如,SEQ ID NO:4-6、14-17、21、23-25、33-35、和170-172中任一个或多个的CDR序列;或SEQ ID NO:3、22、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、169、182、184、和185中任一个的可变区序列)中任一个具有至少约70%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、或具有高于约90%(例如,约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、或约99%)序列同一性的CDR序列或可变区序列。例如,第一和/或第二可变重链结构域可以包含如在SEQ ID NO:4-6、14-17、21、23-25、33-35、和170-172中任一个或多个中列出的CDR序列,但包含一个或两个氨基酸取代。可替代地,在多个方面,第一和/或第二可变重链结构域可以包含可变区序列,这些可变区序列关于SEQ ID NO:3、22、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、169、182、184、或185被修饰,其中这些修饰是在CDR序列外。类似地,在多个方面,可变轻链结构域可以包含与本文提供的序列(例如,SEQ ID NO:8-10、11-13、27-29、30-32、和174-176中任一个或多个的CDR序列;或SEQ ID NO:7、26、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98、102、106、110、114、118、122、126、130、134、138、142、173、183、和186中任一个的可变区序列)中任一个具有至少约70%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、或具有高于约90%(例如,约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、或约99%)序列同一性的CDR序列或可变区序列。例如,可变轻链结构域可以包含如在SEQ ID NO:8-10、11-13、27-29、30-32、和174-176中任一个或多个中列出的CDR序列,但包含一个或两个氨基酸取代。可替代地,在多个方面,可变轻链结构域可以包含可变区序列,这些可变区序列关于SEQ ID NO:7、26、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、98、102、106、110、114、118、122、126、130、134、138、142、173、183、或186被修饰,其中这些修饰是在CDR序列外。如果需要,该第一单体可以包含与本文提供的序列(SEQ ID NO:19、20、38、202、206、或207)中任一个具有至少约70%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、或具有高于约90%(例如,约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、或约99%)序列同一性的氨基酸序列;该第二单体可以包含与本文提供的序列(SEQ ID NO:18、199或37;或SEQ ID NO:202、207、或206)中任一个具有至少约70%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、或具有高于约90%(例如,约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、或约99%)序列同一性的氨基酸序列;和/或该共同轻链可以包含与本文提供的序列(SEQ ID NO:17、36、200、或204)中任一个具有至少约70%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、或具有高于约90%(例如,约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、或约99%)序列同一性的氨基酸序列。

[0100] 在一些实施例中,使用全长异源二聚体抗体。通过“全长”来表示构成抗体的天然生物形式的结构,包括可变区和恒定区,包括如本文所概述的一种或多种修饰。本披露的异

源二聚体抗体可以是单克隆的、合成的、嵌合的和/或人源化的。在异源二聚体抗体的上下文中的抗原结合抗体片段包含至少一个恒定结构域,该结构域可以被工程化以产生异源二聚体(例如pI工程化)。其他抗体片段包括含有一个或多个已经被pI工程化的本发明的CH1、CH2、CH3、铰链和CL结构域的片段。例如,Fc融合体是与另一种蛋白质融合的Fc区(CH2和CH3,任选地具有铰链区)的融合体。许多Fc融合体是本领域已知的,并且可以通过添加本发明的异源二聚体化变体来改善。可以制备包含CH1;CH1、CH2和CH3;CH2;CH3;CH2和CH3;CH1和CH3的抗体融合体,其中任何或所有可以任选地与铰链区一起使用,利用本文所述的异源二聚体化变体的任何组合。

[0101] 本披露的这些抗原结合蛋白(包含异源二聚体抗体)通常是分离的或重组的。编码本文所述的异源二聚体抗体的全部或部分的核酸、载体、和宿主细胞是本文所述的,并预期作为本披露的一部分。

[0102] 抗体结构/Fc区修饰

[0103] 本披露包括具有修饰的Fc变体的抗体,这些变体具有相对于野生型抗体序列的氨基酸修饰。根据组成它们的氨基酸修饰来定义这些变体。因此,例如,N434S或434S是相对于亲本Fc多肽在位置434处具有取代丝氨酸的Fc变体,其中根据EU索引编号。同样,M428L/N434S定义了相对于亲本Fc多肽具有取代M428L和N434S的Fc变体。野生型氨基酸的同一性可以是未指明的,在这种情况下,前述变体被称为428L/434S。提供的取代的顺序是任意的,即,例如,428L/434S是与M428L/N434S相同的Fc变体,等等。修饰可以是添加、缺失、或取代。取代可包括天然存在的氨基酸,并且在某些情况下,可包括合成氨基酸。实例包括美国专利号6,586,207;美国专利公开号20040214988;国际专利公开号WO 98/48032、WO 03/073238、WO 05/35727A2、和WO 05/74524A2;J.W.Chin等人.,(2002),*Journal of the American Chemical Society*[美国化学学会杂志]124:9026-9027;J.W.Chin和P.G.Schultz,(2002),*ChemBioChem*[化学生物化学]11:1135-1137;J.W.Chin,等人.,(2002),*PICAS United States of America*[PICAS美利坚合众国]99:11020-11024;以及L.Wang和P.G.Schultz,(2002),*Chem.*[化学]1-10,均通过引用以全文并入。

[0104] 对于在本披露中所讨论的与抗体和其他抗原结合蛋白有关的所有位置,除非另外指出,氨基酸位置编号是根据EU索引进行。EU索引或如在Kabat或EU编号方案中的EU索引是指EU抗体的编号(Edelman等人,1969,*Proc Natl Acad Sci USA*[美国科学院院刊]63:78-85,将其全文通过引用并入本文)。例如,应理解,每个可变重链区(VH)和可变轻链区(VL)由三个高变区(“互补决定区”,“CDR”)和四个FR组成,按以下顺序从氨基末端到羧基末端排列:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。高变区通常涵盖在轻链可变区中从约氨基酸残基24至34(LCDR1;“L”表示轻链)、50至56(LCDR2)和89至97(LCDR3)和在重链可变区中约31至35B(HCDR1;“H”表示重链)、50至65(HCDR2)和95至102(HCDR3)的氨基酸残基;Kabat等人.,*SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST*,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,[免疫学目的蛋白的序列,第5版,公共卫生服务,美国国立卫生研究院],贝塞斯达,马里兰州(Bethesda,Md.)(1991)和/或形成高变环的那些残基(例如,轻链可变区中的残基26-32(LCDR1)、50-52(LCDR2)和91-96(LCDR3)以及重链可变区中的26-32(HCDR1)、53-55(HCDR2)和96-101(HCDR3);Chothia和Lesk(1987)*J.Mol.Biol.*[分子生物学杂志]196:901-917)。

[0105] 如本领域技术人员所理解的,在不同编号系统之间CDR的确切编号和放置可以是不同的。然而,应该理解,可变重链和/或可变轻链序列的披露内容包括相关的(固有的)CDR的披露内容。因此,每个可变重链区的披露内容是vhCDR(例如vhCDR1、vhCDR2和vhCDR3)的披露内容,并且每个可变轻链区的披露内容是vLCDR(例如vLCDR1、vLCDR2和vLCDR3)的披露内容。CDR编号的有用比较如下,参见Lafranc等人,Dev.Comp.Immunol.[发育和比较免疫学]27(1):55-77(2003):

	Kabat+ Chothia	IMGT	Kabat	AM	Chothia	Contact
[0106] vhCDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
vhCDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58
vhCDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101
vLCDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36
vLCDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55
vLCDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96

[0107] 在整个说明书中,当提及可变结构域中的残基时(大约是轻链可变区的残基1-107和重链可变区的残基1-113),通常使用Kabat编号系统(例如,Kabat等人.,同上(1991))。

[0108] 每条链的羧基末端部分限定恒定区,主要负责效应子功能。Kabat等人收集了重链和轻链可变区的许多一级序列。基于序列的保守程度,他们将各个一级序列分类为CDR和框架并做出其列表(参见SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST,5th edition,NIH publication[免疫学目的序列,第5版,NIH出版],第91-3242号,E.A.Kabat等人.,通过引用以全文并入)。

[0109] 在免疫球蛋白的IgG亚类中,重链中存在若干个免疫球蛋白结构域。通过本文中的“免疫球蛋白(Ig)结构域”来表示具有不同三级结构的免疫球蛋白区域。令人感兴趣的是重链结构域,包括恒定重链(CH)结构域和铰链结构域。在IgG抗体的背景下,IgG同种型各自具有三个CH区域。因此,在IgG上下文中的“CH”结构域如下:根据如在Kabat中的EU索引,“CH1”是指位置118-220。根据如在Kabat中的EU索引,“CH2”是指位置237-340,并且如在Kabat中根据EU索引,“CH3”是指位置341-447。如本文所示和下文所述,这些pI变体可以在下面讨论的一个或多个CH区中以及铰链区中。在多个方面,本文描述的序列始于CH1区,位置118;除非另有说明,否则不包括可变区。

[0110] 重链Ig结构域的另一种类型是铰链区。通过本文中的“铰链”或“铰链区”或“抗体铰链区”或“免疫球蛋白铰链区”意指包含在抗体的第一和第二恒定结构域之间的氨基酸的柔性多肽。结构上,IgG CH1结构域在EU位置220处终止,并且IgG CH2结构域在残基EU位置237处开始。因此,对于IgG,抗体铰链在本文中被定义为包括位置221(IgG1中的D221)至236(IgG1中的G236),其中该编号是根据如在Kabat中的EU索引。在一些实施例中,例如在Fc区的上下文中,包括下铰链,其中该“下铰链”通常指位置226或230。如本文所述,pI变体也可以在铰链区中制备。

[0111] 通过如本文所使用的“Fc”或“Fc区”或“Fc结构域”来表示包含抗体恒定区的多肽,该抗体恒定区不包括第一恒定区免疫球蛋白结构域,并且在一些情况不包括铰链的一部分。因此,Fc是指IgA、IgD和IgG的最后两个恒定区免疫球蛋白结构域,IgE和IgM的最后三个恒定区免疫球蛋白结构域,以及在这些结构域的N末端的柔性铰链。对于IgA和IgM,Fc可以

包括J链。对于IgG, Fc结构域包含免疫球蛋白结构域C γ 2和C γ 3 (C γ 2和C γ 3) 以及C γ 1 (C γ 1) 和C γ 2 (C γ 2) 之间的下铰链区。尽管Fc区的边界可以变化, 人IgG重链Fc区通常定义为在其羧基末端包括残基C226或P230, 其中根据如在Kabat中的EU索引进行编号。

[0112] 可以将氨基酸变体引入本披露的抗原结合蛋白(例如, 双特异性抗体)中以添加额外的官能性。例如, 可以添加Fc区内的氨基酸变化(对一个单体或两者), 以促进增加的ADCC或CDC(例如, 改变与Fc γ 受体的结合), 以允许或增加添加毒素和药物的产量(例如, 对于ADC), 以及增加与FcRn的结合和/或增加所得分子的血清半衰期。可通过改变氨基酸序列调节的效应子功能包括但不限于ADCC、ADCP和CDC。本文概述的任何和所有变体可以任选地和独立地与其他变体组合。

[0113] 通过“FcRn”或“新生儿Fc受体”来表示结合IgG抗体Fc区并且至少部分地由FcRn基因编码的蛋白质。FcRn可以来自任何生物, 包括但不限于人、小鼠、大鼠、兔和猴。如本领域所知, 功能性FcRn蛋白包含两个多肽, 通常称为重链和轻链。该轻链是 β -2-微球蛋白, 并且该重链由FcRn基因编码。除非本文另有说明, 否则FcRn或FcRn蛋白是指FcRn重链与 β -2-微球蛋白的复合物。使用多种FcRn变体来增加与FcRn受体的结合, 并且在一些情况下, 用于增加血清半衰期。赋予与FcRn受体的增加的结合和血清半衰期的相应增加的Fc变体包括但不限于, 434A、434S、428L、308F、259I、428L/434S、259I/308F、436I/428L、436I或V/434S、436V/428L、252Y、252Y/254T/256E和259I/308F/428L。为清楚起见, 由于每条重链不同, FcRn变体(以及Fc变体)可以存在于一个或两个单体上。

[0114] 另一类别的功能性变体是“Fc γ 消融变体”或“Fc敲除(FcKO或KO)变体”。在这些实施例中, 对于一些治疗应用, 期望减少或去除Fc结构域与一种或多种或全部Fc γ 受体(例如, Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIb、Fc γ RIIIa等)的正常结合, 以避免另外的作用机制。通过“Fc γ 受体”、“Fc γ R”或“Fc γ gammaR”来表示结合IgG抗体Fc区并由Fc γ R基因编码的蛋白质家族的任何成员。在人中, 该家族包括但不限于Fc γ RI (CD64), 包括同种型Fc γ RIa、Fc γ RIb、和Fc γ RIc; Fc γ RII (CD32), 包括同种型Fc γ RIIa(包括同种异型H131和R131)、Fc γ RIIb(包括Fc γ RIIb-1和Fc γ RIIb-2), 和Fc γ RIIc; 以及Fc γ RIII (CD16), 包括同种型Fc γ RIIIa(包括同种异型V158和F158)和Fc γ RIIIb(包括同种异型Fc γ RIIb-NA1和Fc γ RIIb-NA2) (Jefferis等人., 2002, Immunol Lett [免疫学通讯]82:57-65, 通过引用以全文并入)。Fc γ R可以来自任何生物, 包括但不限于人、小鼠、大鼠、兔和猴。小鼠Fc γ R包括但不限于Fc γ RI (CD64)、Fc γ RII (CD32)、Fc γ RIII (CD16)、和Fc γ RIII-2 (CD16-2)。在许多实施例中, 通常需要消融Fc γ RIIIa结合以消除或显著降低ADCC活性。美国专利号9,822,186的图36描述了Fc敲除(或消融变体)的用途, 该用途保留了野生型稳定性但去除了所有Fc γ R结合。

[0115] 代表性的消融变体包括选自下组的那些, 该组由以下组成: G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236del/S239K、E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G、和E233P/L234V/L235A/G236del。应注意, 本文引用的消融变体消融Fc γ R结合, 但通常不消除FcRn结合。

[0116] 如本领域已知的, 人IgG1的Fc结构域与Fc γ 受体具有最高结合, 并因此当异源二聚体抗体主链中的恒定结构域(或Fc结构域)是IgG1时, 可以使用消融变体。可替代地, 或除了IgG1背景中的消融变体之外, 例如, 在糖基化位置297处的突变(通常为A或S)可显著消融与Fc γ RIIIa的结合。人IgG2和IgG4具有天然降低的与Fc γ 受体的结合, 因此这些主链可以与

消融变体一起使用或不与消融变体一起使用。

[0117] 脱酰胺可严重影响抗体活性和稳定性。在多个方面,异源二聚体抗体包含一个或多个取代以去除脱酰胺位点。在这方面,异源二聚体抗体任选地包含在位置N67处的取代,例如取代N67Q。

[0118] 异源二聚体重链恒定区

[0119] 本披露提供了基于使用含有变体重链恒定区作为第一结构域的单体的异源二聚体抗体。通过本文中的“单体”来表示异源二聚体蛋白的一半。应注意,传统抗体实际上是四聚体(两条重链和两条轻链)。为了便于参考,在本披露的上下文中,包含重链和轻链的配对被认为是“单体”。包含scFv(并且在一些情况下为Fab)的重链区被认为是单体。基本上,每个单体包含足够的重链恒定区以允许异源二聚体工程化(无论是整个恒定区,例如CH1-铰链-CH2-CH3, Fc区(CH2-CH3),还是仅CH3结构域)。

[0120] 这些变体重链恒定区可包含全部或部分重链恒定区,包括全长构建体、CH1-铰链-CH2-CH3、或其部分,包括例如单独的CH2-CH3或CH3。另外,每个单体的重链区可以是相同的主链(CH1-铰链-CH2-CH3或CH2-CH3)或不同的。N末端和C末端平截和添加也包括在定义内;例如,一些pI变体包括向重链结构域的C末端添加带电荷的氨基酸。

[0121] 除了本文概述的异源二聚体化变体(例如,空间变体和pI变体)之外,这些重链区还可以包含额外的氨基酸取代,包括用于改变Fc γ R和FcRn结合的变化。

[0122] 异源二聚体化变体包括许多不同类型的变体,包括但不限于空间变体(包括带电荷的变体)和pI变体,这些变体可以任选地和独立地与任何其他变体组合。在这些实施例中,重要的是使“单体A”与“单体B”匹配,即,如果异源二聚体蛋白依赖于空间变体和pI变体二者,则这些需要与每个单体正确匹配,例如,有效的空间变体组(1组在单体A上,1组在单体B上)与pI变体组合(1组在单体A上,1组在单体B上),使得每种单体上的这些变体被设计成实现所希望的功能。在例如空间变体也可以改变电荷的情况下,正确的组必须与正确的单体匹配。

[0123] 本文概述的异源二聚体化变体(例如,包括但不限于图中所示的那些变体)可以任选地和独立地与任何其他变体组合,并且在任何其他单体上。对于异源二聚体化而言重要的是存在变体的“组”,针对一个单体的一组和对另一个单体的一组。无论这些是组合的1对1(例如,单体1列表可以一起)还是转换的(单体1pI变体与单体2空间变体),是无关紧要的。然而,当如上概述进行组合时,应保留“链态(strandedness)”,使得异源二聚体化是有利的;例如,增加pI的带电荷的变体应该与增加的pI变体和/或具有增加的pI的scFv接头等一起使用。通过在异源二聚体蛋白单体的上下文中的“链态”来表示,与“匹配”的两条DNA链类似,将异源二聚体化变体掺入每个单体中,以保持“匹配”的能力从而形成异源二聚体。例如,如果将一些pI变体工程化为单体A(例如,使pI更高),则还可以利用的空间变体(是“电荷对”)不会干扰pI变体,例如,使pI更高的带电荷的变体放在相同的“链”或“单体”上以保持两种官能性。此外,对于另外的Fc变体(例如Fc γ R结合、FcRn结合、消融变体等),单体或两个单体可以独立地并任选地包括任何列出的变体。在一些情况下,两个单体都具有另外的变体,并且在一些情况下,仅一个单体具有另外的变体,或者它们可以组合。

[0124] 空间变体

[0125] 在一些实施例中,通过添加空间变体促进异源二聚体的形成。即,通过改变每条重

链中的氨基酸,不同的重链更可能联合以形成异源二聚体结构而不是形成具有相同Fc氨基酸序列的同源二聚体。代表性的合适的空间变体显示在图中。

[0126] 用于产生空间变体的一种机制是上述“杵臼”机制。发现用于生成异源二聚体的另一种机制有时被称为“静电转向”,如描述于Gunasekaran等,J.Biol.Chem. [生物化学杂志] 285 (25) :19637 (2010) 中,将其整体通过引用并入本文。这有时在本文中称为“电荷对”。在该实施例中,静电用于使形成偏斜异二聚化。这些也可能对pI有影响,并且因此对纯化也有影响,并且因此在某些情况下也可以考虑pI变体。然而,由于产生这些以强制异二聚化并且不用作纯化工具,因此它们被归类为“空间变体”。这些包括但不限于,导致高于75%异源二聚体化的变体,例如与D221R/P228R/K409R (例如,这些是“单体对应组”) 配对的D221E/P228E/L368E以及与C220R/E224R/P228R/K409R配对的C220E/P228E/368E。

[0127] 在一些实施例中,基于“杵臼”机制以及“静电转向”机制,偏斜变体有利地且同时有利于异二聚化。这些变体以“组”“对”的形式出现。即,对中的一组掺入到第一单体中,并且对的另一组掺入到第二单体中。应当注意的是,这些组不一定表现为“杵臼”变体,其中在一个单体上的残基与另一单体上的残基之间一一对应。也就是说,这些组的对可以在两个单体之间形成界面,从而促进异二聚体形成并阻止同二聚体形成,从而允许在生物学条件下自发形成的异二聚体百分比超过90%,而不是预期的50% (25%同二聚体A/A:50%异二聚体A/B:25%同二聚体B/B)。示例性的异二聚化“偏斜”变体如图4描绘。此类偏斜变体的实例包括配对的突变组,包括但不限于S364K/E357Q:L368D/K370S:L368D/K370S:S364K:L368E/K370S:S364K:T411T/E360E/Q362E:D401K:L368D/K370S:S364K/E357L:K370S:S364K/E357Q;和T366S/L368A/Y407V:T366W (任选地包括桥接二硫化物,T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C)。

[0128] 另外的单体A和单体B变体可以任何量任选地和独立地与其他变体组合,例如本文概述的pI变体或美国专利公开号2012/0149876的图37中示出的其他空间变体,该图和图例通过引用明确地并入本文。

[0129] 在一些实施例中,本文概述的空间变体可任选地并独立地与任何异源二聚体化变体(包括pI变体(或其他变体,例如Fc变体、FcRn变体、消融变体等))掺入到一个或两个单体中。

[0130] 针对异源二聚体的pI(等电点)变体

[0131] 通常,有两种类别的pI变体:增加蛋白质pI的那些(碱性变化)和降低蛋白质pI的那些(酸性变化)。如本文所述,可以进行这些变体的所有组合:一个单体可以是野生型,或者是不显示与野生型显著不同的pI的变体,并且另一个可以是更碱性或更酸性的。可替代地,改变每个单体,一个更碱性,并且一个更酸性。pI变体的示例性组合显示在图中。

[0132] 在多个实施例中,例如在图18A,E、F、G、H和I型式中,pI变体的优选的组合具有包含208D/295E/384D/418E/421D变体(当相对于人IgG1时的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D)的一个单体(负电荷Fab侧)以及包含带正电荷的scFv接头(包括(GKPGS)₄)的第二单体(正电荷scFv侧)。然而,如本领域技术人员所理解的,第一单体包括CH1结构域,包括位置208。因此,在不包含CH1结构域的构建体中(例如对于在其中一个结构域上不利用CH1结构域的抗体,例如处于双scFv型式或“单臂”型式,例如在图18B、C或D中描绘的那些),优选的负电荷pI变体Fc组包括295E/384D/418E/421D变体(当相对于人IgG1时,Q295E/N384D/

Q418E/N421D)。

[0133] 酸性pI变化

[0134] 当使包含变体重链恒定结构域的一个单体更具正电荷时(例如,降低pI),一个或多个以下的修饰(例如,取代)在本披露的上下文中是适合的:S119E、K133E、K133Q、T164E、K205E、K205Q、N208D、K210E、K210Q、K274E、K320E、K322E、K326E、K334E、R355E、K392E、K447的缺失、在C末端处添加DEDE肽、G137E、N203D、K274Q、R355Q、K392N、和Q419E。这些变化相对于IgG1描述,但所有同种型以及同种型杂合体都可以通过这种方式改变。在重链恒定结构域来自IgG2-4的情况下,也可以使用R133E和R133Q。

[0135] 碱性pI变化

[0136] 当使包含变体重链恒定结构域的一个单体更具负电荷(例如,增加pI)时,以下示例性取代中的一个或多个在本披露的上下文中是适合的:Q196K、P217R、P228R、N276K、和H435R。这些变化相对于IgG1描述,但所有同种型以及同种型杂合体都可以通过这种方式改变。

[0137] 异源二聚体抗体轻链变体

[0138] 还可以在抗体轻链中制备pI变体。用于降低轻链pI的氨基酸修饰包括但不限于,K126E、K126Q、K145E、K145Q、N152D、S156E、K169E、S202E、K207E和在轻链的C末端处添加DEDE肽。基于恒定 λ 轻链的该类别中的变化包括但不限于在R108Q、Q124E、K126Q、N138D、K145T、和Q199E处的一个或多个取代。另外,增加轻链的pI也是可能的并且在本披露的多个方面中考虑。

[0139] 同种型变体

[0140] 另外,本披露的多个实施例需要将在特定位置处的pI氨基酸从一种IgG同种型“输入”到另一种IgG同种型中,从而减少或消除将不需要的免疫原性引入变体中的可能性。这些变体中的许多显示在美国专利公开号2014/0370013的图21中,在此通过引用并入。换言之,IgG1是用于治疗性抗体的常见同种型,其原因有多种,包括高效应子功能。然而,IgG1的重链恒定区具有比IgG2更高的pI(8.10对7.31)。通过将特定位置处的IgG2残基引入IgG1主链,所得单体的pI降低(或增加)并且另外表现出更长的血清半衰期。例如,IgG1在位置137处具有甘氨酸(pI 5.97),并且IgG2具有谷氨酸(pI 3.22);输入的谷氨酸将影响所得蛋白质的pI。通常需要许多氨基酸取代来显著影响变体抗体的pI。然而,应该注意如下的讨论,即使IgG2分子的变化也允许增加血清半衰期。

[0141] 在其他实施例中,进行非同种型氨基酸改变,以减少所得蛋白质的总电荷状态(例如,通过将更高的pI氨基酸改变为更低的pI氨基酸)或允许在结构中适应稳定性,等等。

[0142] 另外,通过pI工程化重链和轻链恒定结构域,可以观察到异源二聚体的每个单体中的显著变化。如本文所讨论的,使两个单体的pI相差至少0.5可以允许通过离子交换色谱或等电聚焦或对等电点敏感的其他方法进行分离。

[0143] 另外,可以产生电子等排的pI变体,例如与亲本氨基酸大致相同大小的带电荷的变体,并且在本文中考虑。

[0144] 计算pI

[0145] 每个单体的pI可取决于变体重链恒定结构域的pI和总单体的pI,包括变体重链恒定结构域和融合配偶体。因此,在一些实施例中,在变体重链恒定结构域的基础上计算pI中

的变化。可替代地,可以比较每个单体的pI。类似地,计算“起始”可变区(例如,scFv或Fab)的pI以告知哪个单体将在哪个方向上被工程化。

[0146] pI变体在体内赋予更好的FcRn结合

[0147] 降低单体pI的pI变体可显示出改善体内血清滞留的附加益处。

[0148] 据信Fc区在体内具有更长的半衰期,因为在内体中在pH 6下与FcRn的结合整合Fc (Ghetie和Ward,1997 Immunol Today.[当代免疫]18(12):592-598,在此通过引用并入)。然后,内体区室将Fc再循环至细胞表面。一旦区室向细胞外空间打开,较高的pH(约7.4)诱导Fc释放回血液中。认为Fc在pH 7.4下对FcRn的亲合力增加禁止将Fc释放回血液中。因此,将在体内增加Fc半衰期的Fc突变将理想地在较低的pH下增加FcRn结合,同时仍允许在较高pH下释放Fc。氨基酸组氨酸在6.0至7.4的pH范围内改变其电荷状态。因此,在Fc/FcRn复合物的重要位置处发现His残基并不奇怪。

[0149] 最近提出,具有较低等电点的可变区的抗体还可以具有更长的血清半衰期(Igawa等人.,2010PEDS.23(5):385-392,通过引用以全文并入)。具有降低的pI和延长的半衰期的恒定区变体提供了更加模块化的方法来改善抗体的药代动力学特性。

[0150] 在附图中披露了可用于该实施例的pI变体,以及它们用于纯化优化的用途。

[0151] 变体的组合

[0152] 如本领域技术人员所理解的,所有所述的异源二聚体化变体可以任选地并独立地以任何方式组合,只要它们保持其“链态”或“单体分配”即可。另外,所有这些变体可以组合成任何异源二聚体化型式。在pI变体的情况下,虽然在附图中示出了示例性实施例,但是可以根据改变两个单体之间的pI差异以促进纯化的基本规则产生其他组合。

[0153] 抗原结合蛋白(例如,抗体)型式

[0154] 可用于本披露上下文中的一种异源二聚体支架是如上所述和在图18中列出的“三联的F”或“开瓶器”支架型式。在该实施例中,抗体的一条重链包含单链Fv(“scFv”,如下定义),并且另一条重链是“规则的”Fab型式,包含可变重链和轻链。本文概述的许多实施例通常依赖于开瓶器型式,该开瓶器形式包含含有scFv的第一单体,该scFv包含可变重链结构域和可变轻链结构域,使用scFv接头(在许多但非全部实例中带电荷)共价衔接,其中该scFv通常通过结构域接头(如本文所概述该结构域接头可以是未带电荷的或带电荷的,并且可以是外源的或内源的(例如全部或部分天然的铰链结构域))共价衔接至第一Fc结构域的N末端。开瓶器型式的第二单体是重链,并且组合物进一步包含轻链。

[0155] 另外,开瓶器型式的Fc结构域通常包含偏斜变体(例如,选自下组,该组由以下组成:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W;和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C),任选地包含消融变体,任选地包含带电荷的scFv接头,以及包含pI变体的重链。在一些实施例中,该开瓶器型式包括偏斜变体、pI变体、和消融变体。因此,一些实施例包括开瓶器型式,这些开瓶器型式包含:a)第一单体(“scFv单体”),其包含带电荷的scFv接头、偏斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和Fv;b)第二单体(“Fab单体”),其包含偏斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和可变重链结构域(与可变轻链结构域构成结合第二抗原的Fv);和c)轻链。

[0156] 在一些实施例中,该开瓶器型式包括偏斜变体、pI变体、消融变体、和FcRn变体。因此,一些实施例包括开瓶器型式,这些开瓶器型式包含:a)第一单体(“scFv单体”),其包含带电荷的scFv接头、偏斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、和结合第一抗原的Fv;b)第二单体(“Fab单体”),其包含偏斜变体L368D/K370S、pI变体、N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、和可变重链结构域(与可变轻链结构域构成结合第二抗原的Fv);和c)轻链。

[0157] 可用于本披露的另一种异源二聚体支架是图18H中所示的mAb-Fv型式。在该实施例中,该型式依赖于使用“额外的”可变重链结构域与一个单体的C末端附接和“额外的”可变轻链结构域与另一个单体的C末端附接,因此形成第三抗原结合结构域,其中两个单体的Fab部分结合一个抗原,并且“额外的”scFv结构域结合不同抗原。

[0158] 在该实施例中,第一单体包含:含有第一可变重链结构域的第一重链,以及含有第一Fc结构域的第一恒定重链结构域,其中使用结构域接头(vh1-CH1-[结构域接头(例如,铰链)]-CH2-CH3-[任意的结构域接头]-v12),第一可变轻链结构域共价附接至第一Fc结构域的C末端。第二单体包含:含有第二Fc结构域的第二恒定重链结构域的第二可变重链结构域,和使用结构域接头(vh1-CH1-结构域接头(例如,铰链)-CH2-CH3-[任意的结构域接头]-vh2)共价附接至第二Fc结构域的C末端的第三可变重链结构域。两个C末端附接的可变结构域构成scFv。该实施例进一步利用包含可变轻链结构域和恒定轻链结构域的共同轻链,其与重链结合以形成两个相同的Fab。对于本文的许多实施例,这些构建体包括如所希望的和本文所述的偏斜变体、pI变体、消融变体、另外的Fc变体等。

[0159] 任选地,mAb-Fv型式的Fc结构域包含偏斜变体(例如,选自下组,该组由以下组成:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L,K370S:S364K/E357Q,T366S/L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C),任选地包含消融变体,任选地包含带电荷的scFv接头,以及包含pI变体的重链。在一些实施例中,该mAb-Fv型式包括偏斜变体、pI变体、和消融变体。因此,一些实施例包括开瓶器型式,这些开瓶器型式包含:a)第一单体,其包含偏斜变体S364K/E357Q、消融变体233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和第一可变重链结构域(与轻链的第一可变轻链结构域构成结合抗原的Fv),以及第二可变重链结构域;b)第二单体,其包含偏斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和第一可变重链结构域(与第一可变轻链结构域构成结合第一抗原的Fv),以及第二可变轻链(与第二可变重链一起形成结合第二抗原的Fv);和c)包含第一可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链。

[0160] 可用于本披露的又另一种异源二聚体支架是图18I中显示的mAb-scFv型式。在该实施例中,该型式依赖于使用scFv与其中一个单体的C末端附接,因此形成第三抗原结合结构域,其中两个单体的Fab部分结合一个抗原,并且“额外的”scFv结构域结合不同抗原。在该实施例中,第一单体包含第一重链(包含可变重链结构域和恒定结构域),其中包含scFv可变轻链结构域、scFv接头、和scFv可变重链结构域的C末端共价附接的scFv处于任一取向(vh1-CH1-结构域接头-CH2-CH3-[任意的结构域接头]-vh2-scFv接头-v12或vh1-CH1-结构域接头-CH2-CH3-[任意的结构域接头]-v12-scFv接头-vh2)。该实施例进一步利用包含可

变轻链结构域和恒定轻链结构域的共同轻链,其与重链结合以形成结合其中一个靶抗原的两个相同的Fab。对于本文的许多实施例,这些构建体包括如所希望的和本文所述的偏向变体、pI变体、消融变体、另外的Fc变体等。

[0161] 另外,mAb-scFv型式的Fc结构域任选地包含偏斜变体(例如,选自下组,该组由以下组成:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W;和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C),任选地包含消融变体,任选地包含带电荷的scFv接头,以及包含pI变体的重链。在一些实施例中,该mAb-scFv型式包括偏斜变体、pI变体、和消融变体。因此,一些实施例包括以下型式,这些型式包含:a)第一单体,其包含偏斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和第一可变重链结构域(与轻链的第一可变轻链结构域构成结合第一抗原的Fv),以及第二可变重链结构域;b)第二单体,其包含偏斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和第一可变重链结构域(与第一可变轻链结构域构成结合第一抗原的Fv),以及第二可变轻链(与第二可变重链一起形成结合第二抗原的Fv);和c)包含第一可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链。

[0162] 可用于本披露的又另一种异源二聚体支架是图18F中显示的中心-scFv或“XmAb²⁺¹”型式。该型式依赖于使用插入的scFv结构域,因此形成第三抗原结合结构域,其中两个单体的Fab部分结合一个靶标,并且“额外”scFv结构域结合另一个。将scFv结构域插入这些单体中的一个的Fc结构域和CH1-Fv区之间,因此提供第三抗原结合结构域。在该实施例中,一种单体包含第一重链,该第一重链包含第一可变重链结构域、CH1结构域(和任选的接头/铰链)和Fc结构域,其中scFv包含scFv可变轻链结构域、scFv接头和scFv可变重链结构域。使用任选的结构域接头(VH1-CH1-[任选的结构域接头]-VH2-scFv接头-VL2-[包括铰链的任选的结构域接头]-CH2-CH3,或针对scFv的相反取向,VH1-CH1-[任选的结构域接头]-VL2-scFv接头-VH2-[包括铰链的任选的结构域接头]-CH2-CH3),scFv在重恒定结构域CH1结构域的C末端和第一Fc结构域的N末端之间共价附接。在一些实施例中,第一单体是VH1-CH1结构域接头-VH2-scFv接头-VL2-结构域接头-CH2-CH3。其他单体是标准Fab侧(即VH1-CH1-结构域接头(例如,铰链)-CH2-CH3)。该实施例进一步利用包含可变轻链结构域和恒定轻链结构域的共同轻链,其与重链结合以形成结合靶标的两个同一的Fab。对于本文的许多实施例,这些构建体包括如所希望的和本文所述的偏斜变体、pI变体、消融变体、另外的Fc变体等。

[0163] 在多个方面,抗原结合蛋白包含第一重链,该第一重链包含VH1-CH1-[结构域接头]-VH2-scFv接头-VL2-[结构域接头(任选地包括铰链)]-CH2-CH3;第二重链,该第二重链包含VH1-CH1-结构域接头-CH2-CH3;和包含VL1的共同轻链;其中VH1和VL1结合STEAP1,并且VH2和VL2结合CD3。在该型式中,VH2任选地包含SEQ ID NO:170(CDR1)、SEQ ID NO:171(CDR2)、和SEQ ID NO:172(CDR3)的CDR序列,而VL2包含SEQ ID NO:174(CDR1)、SEQ ID NO:175(CDR2)、和SEQ ID NO:176(CDR3)的CDR序列。VH1包含SEQ ID NO:14(CDR1)、SEQ ID NO:15或21(CDR2)、和SEQ ID NO:16(CDR3)的CDR序列;并且VL1包含SEQ ID NO:11(CDR1)、SEQ ID NO:12(CDR2)、和SEQ ID NO:13(CDR3)的CDR序列。可替代地,VH1包含SEQ ID NO:33(CDR1)、SEQ ID NO:34(CDR2)、和SEQ ID NO:35(CDR3)的CDR序列;并且VL1包含SEQ ID NO:

30 (CDR1)、SEQ ID NO:31 (CDR2)、和SEQ ID NO:32 (CDR3)的CDR序列。任选地,抗原结合蛋白包含第一重链中的修饰,所述修饰包括但不限于E233P、de1L234、L235V、G236A、S267K、r292c、n297g、v302c、E357Q、和S364K (EU编号,小写字母指示本文进一步描述的SEFL2取代),并且第二重链包含修饰,所述修饰包括但不限于N208D、E233P、de1L234、L235V、G236A、S267K、r292c、Q295E、n297g、v302c、L368D、K370S、N384D、Q418E、和N421D (EU编号,小写字母指示本文进一步描述的SEFL2取代)。用于本实施例的上下文的接头任选地为GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS (SEQ ID NO:152)。

[0164] 中心scFv型式的Fc结构域任选地包含偏斜变体(例如,选自下组,该组由以下组成:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C),任选地包含消融变体,任选地包含带电荷的scFv接头,和包含pI变体的重链。在一些实施例中,中心scFv型式包括偏斜变体、pI变体、和消融变体。因此,一些实施例包括以下型式,这些型式包含:a)第一单体,其包含偏斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236de1/S267K、和第一可变重链结构域(与轻链的第一可变轻链结构域构成结合第一靶标的Fv),以及第二可变重链结构域;b)第二单体,其包含偏斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236de1/S267K、和第一可变重链结构域(与第一可变轻链结构域构成结合第一靶标的Fv),以及第二可变轻链(与第二可变重链一起形成结合第二靶标的Fv);和c)包含第一可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链。

[0165] 可特别用于本披露的另一种异源二聚体支架是图18G中所示的中心-Fv型式。该型式依赖于使用插入的scFv结构域,因此形成第三抗原结合结构域,其中两个单体的Fab部分结合一个靶标,并且“额外”scFv结构域结合另一个。将scFv结构域插入单体的Fc结构域和CH1-Fv区之间,因此提供第三抗原结合结构域,其中每种单体包含scFv的组分(例如,一个单体包含可变重链结构域,并且另一个单体包含可变轻链结构域)。在该实施例中,一个单体包含第一重链(该第一重链包含第一可变重链结构域、CH1结构域、和Fc结构域)以及另外的可变轻链结构域。使用结构域接头(vh1-CHI-[任选的结构域接头]-v12-铰链-CH2-CH3),轻链结构域在重链恒定结构域CH1结构域的C末端和第一Fc结构域的N末端之间共价衔接。其他单体包含第一重链,该第一重链包含第一可变重链结构域、CH1结构域、和Fc结构域、以及另外的可变重链结构域(vh1-CHI-[任选的结构域接头]-vh2-铰链-CH2-CH3)。使用结构域接头,将轻链结构域在重链恒定结构域的CH1结构域的C末端和第一Fc结构域的N末端之间共价衔接。该实施例进一步利用包含可变轻链结构域和恒定轻链结构域的共同轻链,其与重链结合以形成结合靶标的两个相同的Fab。对于本文的许多实施例,这些构建体包括如所希望的和本文所述的偏斜变体、pI变体、消融变体、另外的Fc变体等。

[0166] 可用于本披露上下文中的另外的异源二聚体支架是图18C中所示的单臂中心-scFv型式。在该实施例中,一个单体仅包含Fc结构域,而另一个单体使用插入的scFv结构域,因此形成第二抗原结合结构域。在该型式中,Fab部分结合一个靶标,并且scFv结合另一个靶标。将scFv结构域插入其中一个单体的Fc结构域和CH1-Fv区之间。在该实施例中,一个单体包含第一重链,该第一重链包含第一可变重链结构域、CH1结构域和Fc结构域,其中scFv包含scFv可变轻链结构域、scFv接头和scFv可变重链结构域。使用结构域接头,将scFv

在重恒定结构域的CH1结构域的C末端和第一Fc结构域的N末端之间共价衔接。第二单体包含Fc结构域。该实施例进一步利用包含可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链,其与重链结合以形成Fab。对于本文的许多实施例,这些构建体包括如所希望的和本文所述的偏斜变体、pI变体、消融变体、另外的Fc变体等。

[0167] 另外,单臂中心-scFv型式的Fc结构域任选地包含偏斜变体(例如,选自下组,该组由以下组成:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W;和T366S/L368A/Y407V Y349C:T366W/S354C),任选地包含消融变体,任选地包含带电荷的scFv接头,以及包含pI变体的重链。在一些实施例中,该单臂中心-scFv型式包括偏斜变体、pI变体、和消融变体。因此,一些实施例包括开瓶器型式,这些开瓶器型式包含:a) 第一单体,其包含偏斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和第一可变重链结构域(与轻链的第一可变轻链结构域构成结合第一靶标的Fv),以及第二可变重链结构域;b) 第二单体,其包含偏斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和第一可变重链结构域(与第一可变轻链结构域构成结合第一靶标的Fv),以及第二可变轻链(与第二可变重链一起形成结合第二靶标的Fv);和c) 包含第一可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链。在一些实施例中,该单臂中心-scFv型式包括偏斜变体、pi变体、消融变体、和FcRn变体。因此,一些实施例包括以下型式,这些型式包含:a) 第一单体,其包含偏斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、和第一可变重链结构域(与轻链的第一可变轻链结构域构成结合第一靶标的Fv),以及第二可变重链结构域;b) 第二单体,其包含偏斜变体L368D/K370S、pi变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、和第一可变重链结构域(与第一可变轻链结构域构成结合如本文概述的第一靶标的Fv),以及第二可变轻链(与第二可变重链一起形成结合第二靶标的Fv);和c) 包含第一可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链。

[0168] 可用于本披露的另外的异源二聚体支架是图18D中所示的单臂scFv-mAb型式。在该实施例中,一个单体仅包含Fc结构域,而另一个单体使用在重链的N末端处衔接的scFv结构域,所述衔接通常通过使用接头:vh-scFv接头-vl-[任选的结构域接头]-CH1-铰链-CH2-CH3或(处于相反取向)v1-scFv接头-vh-[任选的结构域接头]-CH1-铰链-CH2-CH3。在该型式中,Fab部分结合一个靶标,并且scFv结合另一个靶标。该实施例进一步利用包含可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链,其与重链结合以形成Fab。对于本文的许多实施例,这些构建体包括如所希望的和本文所述的偏斜变体、pI变体、消融变体、另外的Fc变体等。

[0169] 单臂scFv-mAb的Fc结构域包含偏斜变体(例如,选自下组,该组由以下组成:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W;和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C),任选地包含消融变体,任选地包含带电荷的scFv接头,以及包含pi变体的重链。在一些实施例中,该单臂scFv-mAb型式包括偏斜变体、pi变体、和消融变体。因此,一些实施例包括开瓶器型式,这些开瓶器型式包含:a) 第一单体,其包含偏斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和第

一可变重链结构域(与轻链的第一可变轻链结构域构成结合第一靶标的Fv),以及第二可变重链结构域;b)第二单体,其包含偏斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和第一可变重链结构域(与第一可变轻链结构域构成结合如本文概述的第一靶标的Fv),以及第二可变轻链(与第二可变重链一起形成结合第二靶标的Fv);和c)包含第一可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链。在一些实施例中,该单臂scFv-mAb型式包括偏斜变体、pI变体、消融变体、和FcRn变体。因此,一些实施例包括开瓶器型式,这些开瓶器型式包含:a)第一单体,其包含偏斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、和第一可变重链结构域(与轻链的第一可变轻链结构域构成结合第一靶标的Fv),以及第二可变重链结构域;b)第二单体,其包含偏斜变体L368D/K370S、pi变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、和第一可变重链结构域(与第一可变轻链结构域构成结合如本文概述的第一靶标的Fv),以及第二可变轻链(与第二可变重链一起形成结合第二靶标的Fv);和c)包含第一可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链。

[0170] 可用于本披露的另一种异源二聚体支架是图18E中所示的mAb-scFv型式。在该实施例中,该型式依赖于使用scFv与其中一个单体的N末端附接,因此形成第三抗原结合结构域,其中这两个单体的Fab部分结合一个靶标,并且“额外的”scFv结构域结合不同靶标。在该实施例中,第一单体包含第一重链(包含可变重链结构域和恒定结构域),其中包含scFv可变轻链结构域、scFv接头、和scFv可变重链结构域的N末端共价附接的scFv处于任一取向((vh1-scFv接头-vl1-[任意的结构域接头]-vh2-CH1-铰链-CH2-CH3)或(其中该scFv处于相反取向)(vl1-scFv接头-vh1-[任意的结构域接头]-vh2-CH1-铰链-CH2-CH3))。该实施例进一步利用包含可变轻链结构域和恒定轻链结构域的共同轻链,其与重链结合以形成结合其中一个靶抗原的两个相同的Fab。对于本文的许多实施例,这些构建体包括如所希望的和本文所述的偏斜变体、pi变体、消融变体、另外的Fc变体等。

[0171] scFv-mAb型式的Fc结构域任选地包含偏斜变体(例如,选自下组,该组由以下组成:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W;和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C),任选地包含消融变体,任选地包含带电荷的scFv接头,以及包含pI变体的重链。在一些实施例中,该mAb-scFv型式包括偏斜变体、pI变体、和消融变体。因此,一些实施例包括开瓶器型式,这些开瓶器型式包含:a)第一单体,其包含偏斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和第一可变重链结构域(与轻链的第一可变轻链结构域构成结合第一靶标的Fv),以及第二可变重链结构域;b)第二单体,其包含偏斜变体L368D/K370S、pi变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和第一可变重链结构域(与第一可变轻链结构域构成结合如本文概述的第一靶标的Fv),以及第二可变轻链(与第二可变重链一起形成结合第二靶标的Fv);和c)包含第一可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链。在一些实施例中,该mAb-scFv型式包括偏斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变体。因此,一些实施例包括开瓶器型式,这些开瓶器型式包含:a)第一单体,其包含偏斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、和第一可变重链结构域

(与轻链的第一可变轻链结构域构成结合第一靶标的Fv),以及第二可变重链结构域;b)第二单体,其包含偏斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、和第一可变重链结构域(与第一可变轻链结构域构成结合第一靶标的Fv),以及第二可变轻链(与第二可变重链一起形成结合第二靶标的Fv);和c)包含第一可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链。

[0172] 本披露还提供了双scFv型式,例如在图18B中所描绘。在该实施例中,异源二聚体抗原结合蛋白由两个scFv-Fc单体(两个单体呈(vh-scFv接头-vl-[任选的结构域接头]-CH2-CH3)型式或(vl-scFv接头-vh-[任选的结构域接头]-CH2-CH3)型式,或其中一个单体处于一种取向并且另一个处于其他取向)构成。双scFv型式的Fc结构域任选地包含偏斜变体(例如,选自下组,该组由以下组成:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W;和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C),任选地包含消融变体,任选地包含带电荷的scFv接头,以及包含pI变体的重链。

[0173] 在一些实施例中,该双scFv型式包括偏斜变体、pI变体、和消融变体。因此,一些实施例包括以下型式,这些型式包含:a)第一单体,其包含偏斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和第一可变重链结构域(与轻链的第一可变轻链结构域构成结合第一靶标的Fv),以及第二可变重链结构域;b)第二单体,其包含偏斜变体L368D/K370S、pi变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、和第一可变重链结构域(与第一可变轻链结构域构成结合如本文概述的第一靶标的Fv),以及第二可变轻链(与第二可变重链一起形成结合第二靶标的Fv);和c)包含第一可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链。在一些实施例中,该双scFv型式包括偏斜变体、pI变体、消融变体、和FcRn变体。因此,一些实施例包括开瓶器型式,这些开瓶器型式包含:a)第一单体,其包含偏斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、和第一可变重链结构域(与轻链的第一可变轻链结构域构成结合第一靶标的Fv),以及第二可变重链结构域;b)第二单体,其包含偏斜变体L368D/K370S、pi变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、和第一可变重链结构域(与第一可变轻链结构域构成结合第一靶标的Fv),以及第二可变轻链(与第二可变重链一起形成结合第二靶标的Fv);和c)包含第一可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链。

[0174] 抗体型式的另外的描述提供在国际专利公开号WO 2017/218707中,在此通过引用并入。

[0175] 抗体结合

[0176] 在多个方面,本披露的双特异性抗原结合蛋白(例如,异源二聚体抗体)结合CD3和STEAP1。不同结合区独立地展示针对其各自抗原的KD,该KD小于或等于 10^{-4} M、小于或等于 10^{-5} M、小于或等于 10^{-6} M、小于或等于 10^{-7} M、小于或等于 10^{-8} M、小于或等于 10^{-9} M、小于或等于 10^{-10} M、小于或等于 10^{-11} M、或小于或等于 10^{-12} M,其中KD是指特定的抗体-抗原相互作用的解离速率。结合亲和力被进一步描述如上。STEAP1结合区不需要以与例如CD3结合区结合CD3的相同的亲和力结合STEAP1。在双特异性抗原结合蛋白的上下文中披露的结合亲和力还适用于本文所述的任何单特异性构建体,包括结合PD-1的构建体。

[0177] 另外的抗体修饰

[0178] 除了以上概述的修饰之外,还可以做出其他修饰。例如,可以通过掺入连接VH和VL结构域的二硫桥来稳定分子(Reiter等人.,1996,Nature Biotech.[自然生物技术]14:1239-1245,通过引用以全文并入)。另外,存在抗体的多种共价修饰,这些共价修饰可以如下所概述制备。

[0179] 抗体的共价修饰包括在本披露的范围内,并且通常但不总是在翻译后进行。例如,通过使抗体的特定氨基酸残基与能够与选择的侧链或N或C末端残基反应的有机衍生剂反应,将抗体的若干种类型的共价修饰引入到分子中。

[0180] 半胱氨酰残基最常见地与 α -卤代乙酸酯(和相应的胺),诸如氯乙酸或氯乙酰胺反应,以得到羧甲基或羧酰胺甲基衍生物。半胱氨酰残基还可以通过与溴三氟丙酮、 α -溴- β -(5-咪唑基)丙酸、磷酸氯乙酰胺、N-烷基马来酰亚胺、3-硝基-2-吡啶基二硫化物、甲基2-吡啶基二硫化物、对氯汞苯甲酸酯、2-氯汞-4-硝基苯酚或氯-7-硝基苯并-2-氧杂-1,3-二唑等的反应来衍生出。

[0181] 另外,半胱氨酸的修饰在抗体-药物缀合物(ADC)应用中特别有用,进一步描述如下。在一些实施例中,抗体的恒定区可以被工程化为含有一个或多个特别是“硫醇反应性”的半胱氨酸,以便允许药物部分的更具体和受控的放置。参见例如美国专利号7,521,541,通过引用以其全文并入本文。

[0182] 组氨酰残基是通过在pH 5.5-7.0下与焦碳酸二乙酯反应衍生出,因为这种剂对组氨酰侧链相对具有特异性。对溴苯甲酰甲基溴也是有用的;该反应优选在pH 6.0的0.1M二甲胂酸钠中进行。

[0183] 赖氨酰残基和氨基末端残基与琥珀酸酐或其他羧酸酐反应。用这些剂情况下的衍生化逆转赖氨酰残基的电荷。用于衍生含 α -氨基的残基的其他合适试剂包括亚氨酸酯,诸如甲基吡啶亚胺甲酯;磷酸吡哆醛;吡哆醛;硼氢化氯;三硝基苯磺酸;0-甲基异脲;2,4-戊二酮;以及转氨酶催化的与乙醛酸盐的反应。

[0184] 精氨酰残基通过与一种或多种常规试剂(其中苯甲酰甲醛、2,3-丁二酮、1,2-环己二酮和茛三酮)反应而被修饰。由于胍官能团的高pKa,精氨酸残基的衍生化要求反应在碱性条件下进行。此外,这些试剂可以与赖氨酸基团以及精氨酸 ϵ -氨基基团反应。

[0185] 可以对酪氨酰残基进行特定修饰,特别感兴趣的是通过与芳族重氮化合物或四硝基甲烷反应将光谱标记引入到酪氨酰残基中。最常见地,将N-乙酰基咪唑和四硝基甲烷分别用于形成0-乙酰基酪氨酰物质和3-硝基衍生物。使用 ^{125}I 或 ^{131}I 碘化酪氨酰残基以制备用于放射免疫测定的标记蛋白质,上述氯胺T法是合适的。

[0186] 羧基侧基团(天冬氨酰基或谷氨酰基)通过与碳二亚胺($\text{R}'-\text{N}=\text{C}=\text{N}-\text{R}'$)反应而选择性地修饰,其中R和R'任选为不同的烷基基团,诸如1-环己基-3-(2-咪唑基-4-乙基)碳二亚胺或1-乙基-3-(4-氮鎓-4,4-二甲基戊基)碳二亚胺。此外,天冬氨酰残基和谷氨酰残基通过与铵离子反应转化为天冬酰胺酰残基和谷氨酰胺酰残基。

[0187] 用双功能剂情况下的衍生化可用于将抗体交联到水不溶性载体基质或表面以用于多种方法中。常用的交联剂包括例如1,1-双(重氮乙酰基)-2-苯基乙烷、戊二醛、N-羟基琥珀酰亚胺酯(例如与4-叠氮基水杨酸的酯)、同双官能亚氨酸酯(包括二琥珀酰亚胺酯,诸如3,3'-二硫代双(琥珀酰亚胺基丙酸酯),和双官能马来酰亚胺,诸如双-N-马来酰亚胺-1,

8-辛烷)。衍生剂诸如3-[(对叠氨基苯基) 二硫代] 丙酰亚胺酸甲基酯产生能够在光存在下形成交联的可光活化中间体。可替代地, 将在美国专利号3,969,287、3,691,016、4,195,128、4,247,642、4,229,537、和4,330,440 (均通过引用以全文并入) 中所述的反应性水不溶性基质 (诸如溴化氰活化的碳水化合物) 和反应性底物用于蛋白质固定化。

[0188] 谷氨酰胺酰残基和天冬酰胺酰残基通常分别脱酰胺成相应的谷氨酰残基和天冬氨酰残基。可替代地, 这些残基在弱酸性条件下脱酰胺。这些残基的任一形式都属于本披露的范围。

[0189] 其他修饰包括对脯氨酸和赖氨酸的羟基化、对丝氨酸或苏氨酸残基的羟基基团的磷酸化、对赖氨酸、精氨酸和组氨酸侧链的 α -氨基基团的甲基化 (T.E.Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties* [蛋白质: 结构和分子特性], W.H.Freeman&Co. [W.H. 弗里曼公司], San Francisco [旧金山], 第79-86页 [1983], 通过引用以全文并入)、对N末端胺的乙酰化、和对任何C末端羧基基团的酰胺化。

[0190] 另外, 如本领域技术人员所理解的, 可以将标记物 (包括荧光的、酶的、磁性的、放射性的等) 添加至本文所述的任何抗原结合蛋白 (以及本披露的其他组合物)。

[0191] 糖基化

[0192] 另一种类型的共价修饰是糖基化的改变。在另一个实施例中, 本文披露的这些抗体 (或其他类型的抗原结合蛋白) 可以被修饰为包括一个或多个工程化的糖型。通过如本文所使用的“工程化的糖型”来表示与抗体共价附接的碳水化合物组合物, 其中所述碳水化合物组合物与亲本抗体的化学组成不同。工程化的糖型可用于多种目的, 包括但不限于, 增强或降低效应子功能。工程化的糖型的优选的形式是非岩藻糖基化, 该非岩藻糖基化已经显示其与ADCC功能的增加相关, 可能是通过与Fc γ RIIIa受体的更紧密结合。在该上下文中, “非岩藻糖基化”表示宿主细胞中产生的大部分抗体基本上不含岩藻糖, 例如, 90%、95%、或98%的所产生的抗体不具有明显的岩藻糖作为抗体的碳水化合物部分 (通常附接在Fc区的N297处) 的组分。在功能上定义的非岩藻糖基化抗体通常对Fc γ RIIIa受体表现出至少50%或更高的亲和力。

[0193] 任选地, 异源二聚体抗体包含序列修饰, 该修饰例如在位置292、297、或302中的一个或多个处去除一个或多个糖基化位点。一个非限制性实例包括引入一个或多个稳定的效应子无功能 (SEFL2) 突变 (例如, 在IgG1主链中), 其进一步描述于例如美国专利号9,546,203中, 该专利通过引用以其全文并入本文, 并且特别是关于SEFL2突变的描述。除了本文披露的任何其他修饰之外, 还可以使用该修饰 (例如, N67Q修饰) 以减少脱酰胺作用。

[0194] 可以通过本领域已知的多种方法产生工程化的糖型。参见, 例如, Umaña 等人., 1999, *Nat Biotechnol* [自然生物技术] 17:176-180; Davies 等人., 2001, *Biotechnol Bioeng* [生物技术与生物工程] 74:288-294; Shields 等人., 2002, *J Biol Chem* [生物化学杂志] 277:26733-26740; Shinkawa 等人., 2003, *J Biol Chem* [生物化学杂志] 278:3466-3473; 美国专利号6,602,684; 美国专利公开号2003/0157108和2003/0003097; 以及国际专利公开号WO 00/61739A1、WO 01/29246A1、WO 02/31140A1和WO 02/30954A1, 均通过引用以全文并入, 以及 Potelligent® 技术 [Biowa公司, 普林斯顿, 新泽西州] 和 GlycoMab® 糖基化工程化技术 [格力卡生物技术公司 (Glycart Biotechnology AG), 苏黎世, 瑞士]。这些技术中的许多基于控制与Fc区共价附接的岩藻糖基化和/或二等分寡糖的水平, 例如通过在不同生

物体或细胞系中表达IgG,工程化或其他情况(例如,Lec-13 CHO细胞或大鼠杂交瘤YB2/0细胞);通过调节参与糖基化途径的酶(例如FUT8[α 1,6-岩藻糖基转移酶]和/或B1-4-N-乙酰葡萄糖胺基转移酶III[GnTIII]);或在IgG已经表达后通过修饰一种或多种碳水化合物。例如,“糖工程化的抗体技术”通过在生产过程中添加抑制岩藻糖基化的经修饰的糖来起作用;参见例如美国专利公开号20090317869,在此通过引用以其全文并入本文。工程化的糖型通常是指不同的碳水化合物或寡糖;因此,抗体可包括工程化的糖型。

[0195] 可替代地,工程化的糖型可以指包含不同碳水化合物或寡糖的IgG变体。如本领域中已知的,糖基化模式可以取决于蛋白质的序列(例如,下文论述的特定糖基化氨基酸残基的存在或不存在)或其中产生蛋白质的宿主细胞或生物体。下面论述特定的表达系统。

[0196] 多肽的糖基化典型地是N-连接或O-连接的。N-连接是指碳水化合物部分连接至天冬酰胺残基的侧链。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸(其中X为除脯氨酸以外的任何氨基酸)是将碳水化合物部分酶促连接至天冬酰胺侧链的识别序列。因此,在多肽中这些三肽序列中的任一者的存在产生潜在的糖基化位点。O-连接糖基化是指将糖N-乙酰半乳糖胺、半乳糖或木糖中的一种连接至羟基氨基酸,最常见的是丝氨酸或苏氨酸,但是也可使用5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸。

[0197] 通过改变氨基酸序列以使得它含有上述三肽序列中的一者或多者而方便地完成向抗体添加糖基化位点(用于N-连接的糖基化位点)。还可以通过向起始序列添加一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基或由一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基取代来作出改变(用于O-连接的糖基化位点)。为了方便起见,抗体氨基酸序列优选通过DNA水平的变化来改变,特别是通过在预选碱基处突变编码靶多肽的DNA,以使得产生将翻译成所希望氨基酸的密码子。

[0198] 增加抗原结合蛋白(例如,抗体)上的碳水化合物部分的数量的一种手段是通过将糖苷化学或酶促偶联至蛋白质。这些程序的有利之处在于它们不需要在具有用于N-和O-连接的糖基化的糖基化能力的宿主细胞中产生蛋白质。取决于所使用的偶联方式,一种或多种糖可连接至(a)精氨酸和组氨酸,(b)游离羧基基团,(c)游离巯基基团,诸如半胱氨酸的那些,(d)游离羟基基团,诸如丝氨酸、苏氨酸或羟基脯氨酸的那些,(e)芳香族残基,诸如苯丙氨酸、酪氨酸或色氨酸的那些,或(f)谷氨酰胺的酰胺基团。这些方法描述于国际专利公开号W0 87/05330以及Aplin和Wriston,1981,CRC Crit.Rev.Biochem.[CRC生物化学关键评论],第259-306页中,二者通过引用以全文并入。

[0199] 存在于起始抗体(例如,翻译后)上的碳水化合物部分的去除可以化学或酶促方式完成。化学去糖基化要求将蛋白质暴露于化合物三氟甲磺酸,或等效化合物。该处理导致除连接糖(N-乙酰葡萄糖胺或N-乙酰半乳糖胺)以外的大多数或所有糖切割,同时使多肽保持完整。化学去糖基化由Hakimuddin等人.,1987,Arch.Biochem.Biophys.[生物化学与生物物理学集刊]259:52和由Edge等人.,1981,Anal.Biochem.[分析生物化学]118:131所述,二者通过引用以全文并入。多肽上碳水化合物部分的酶促切割可以通过使用多种内切糖苷酶和外切糖苷酶实现,如由Thotakura等人.,1987,Meth.Enzymol.[酶学方法]138:350所述,通过引用以全文并入。可以通过使用化合物衣霉素预防潜在糖基化位点处的糖基化,如由Duskin等人.,1982,J.Biol.Chem.[生物化学杂志]257:3105所述,通过引用以全文并入。衣霉素阻断蛋白质-N-糖苷键的形成。

[0200] 抗体的另一种类型的共价修饰包括以在例如,来自内克塔治疗公司(Nektar

Therapeutics)的2005-2006PEG目录(可从Nektar网站获得)、或美国专利号4,640,835;4,496,689;4,301,144;4,670,417;4,791,192;或4,179,337(均通过引用以全文并入)中列出的方式将抗体与多种非蛋白质聚合物连接,这些聚合物包括但不限于各种多元醇,例如聚乙二醇、聚丙二醇、或聚氧化烯。此外,如本领域中已知的,可以在抗体内的不同位置进行氨基酸取代从而利于添加聚合物诸如PEG。参见例如,美国专利公开号2005/0114037A1,通过引用以全文并入。

[0201] 用于另外的官能性的另外的Fc变体

[0202] 除了上述pI氨基酸变体和其他变体之外,还有许多有用的Fc氨基酸修饰,这些修饰可以由于多种原因而产生,包括但不限于改变与一种或多种Fc γ R受体的结合,改变与FcRn受体的结合等。除了上述任何修饰之外或可替代地可以采用以下修饰。

[0203] Fc γ R变体

[0204] 可以进行许多有用的Fc取代以改变与一种或多种Fc γ R受体的结合。导致增加的结合以及降低的结合的取代可能是有用的。例如,已知增加与Fc γ R IIIa的结合通常导致ADCC增加(抗体依赖性细胞介导的细胞毒性;细胞介导的反应,其中表达Fc γ R的非特异性细胞毒性细胞识别靶标细胞上的结合抗体并且随后引起靶标细胞的裂解)。类似地,在某些情况下,与Fc γ R IIb(抑制性受体)的结合降低也是有益的。可用于本披露的有用的氨基酸取代包括美国专利公开号2006/0024298(特别是图41)、2006/0121032、2006/0235208、2007/0148170中列出的那些,所述公开全部通过引用明确地并入本文,并且特别是其中披露的变体。可以使用的具体的变体包括但不限于,236A、239D、239E、332E、332D、239D/332E、267D、267E、328F、267E/328F、236A/332E、239D/332E/330Y、239D、332E/330L、和299T。

[0205] 此外,发现另外的Fc取代,其可用于增加与FcRn受体的结合和增加血清半衰期,如美国专利公开号2009/0163699中具体披露的,所述公开通过引用以其整体并入本文,所述取代包括但不限于434S、428L、308F、259I、428L/434S、259I/308F、436I/428L、436I或V/434S、436V/428L和259I/308F/428L。

[0206] Fc消融变体

[0207] 可用于本披露上下文中的其他变体是消融(例如,减少或消除)与Fc γ 受体结合的变体。减少异源二聚体抗体的潜在作用机制(例如,降低ADCC活性)可能是所希望的。许多适合的Fc消融变体描绘于图6中,并可以任选地和独立地包括或排除与任何其他异源二聚体化变体(包括pI变体和空间变体)组合。

[0208] 在一些实施例中特别有用的是与正电荷侧(不包含pI变体、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S))配对的第一单体(“负电荷侧”) (包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、偏斜变体368D/370S、和消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K),其中该正电荷侧是包含scFv的单体,并且包含带电荷的scFv接头。第二实施例利用与正电荷侧(包含pI变体Q196K/I199T/P271R/P228R/N276K、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S))配对的第一负电荷侧单体(包含I199T/N203D/K274Q/R355Q/Q419E/K447del、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S)),其中该正电荷侧是包含scFv的单体,并且包含带电荷的scFv接头。第三实施例利用与正电荷侧

单体(不包含pI变体、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体E233P/L234V/L235A/G236de1/S267K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S))配对的第一负电荷侧单体(包含I199T/N203D/K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447de1、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体E233P/L234V/L235A/G236de1/S267K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S)),其中该正电荷侧是包含scFv的单体,并且包含带电荷的scFv接头。第四实施例利用与正电荷侧(不包含pI变体、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体E233P/L234V/L235A/G236de1/S239K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S))配对的第一单体(“负电荷侧”)(包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、偏斜变体368D/370S和消融变体E233P/L234V/L235A/G236de1/S239K)。第五实施例利用与正电荷侧(包含pI变体Q196K/I199T/P271R/P228R/N276K、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体E233P/L234V/L235A/G236de1/S239K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S))配对的第一负电荷侧单体(包含I199T/N203D/K274Q/R355Q/Q419E/K447de1、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体E233P/L234V/L235A/G236de1/S239K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S))。第六实施例利用与正电荷侧单体(包含偏斜变体S364K/E357Q和消融变体E233P/L234V/L235A/G236de1/S239K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S))配对的第一负电荷侧单体(包含I199T/N203D/K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447de1、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体E233P/L234V/L235A/G236de1/S267K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S)),其中该正电荷侧是scFv单体,并且包含带电荷的scFv接头(特别地当scFv是抗CD3时)。第七实施例利用与正电荷侧(不包含pI变体、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体S239K/S267K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S))配对的第一单体(“负电荷侧”)(包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、偏斜变体368D/370S和消融变体S239K/S267K),其中该正电荷侧是scFv单体,并且包含带电荷的scFv接头。第八实施例利用与正电荷侧(包含pI变体Q196K/I199T/P271R/P228R/N276K、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体S239K/S267K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S))配对的第一负电荷侧单体(包含I199T/N203D/K274Q/R355Q/Q419E/K447de1、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体S239K/S267K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S)),其中该正电荷侧是scFv单体,并且包含带电荷的scFv接头。第九实施例利用与正电荷侧单体(不包含pI变体、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体S239K/S267K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S))配对的第一负电荷侧单体(包含I199T/N203D/K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447de1、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体S239K/S267K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S)),其中该正电荷侧是scFv单体,并且包含带电荷的scFv接头。第十实施例利用与正电荷侧(不包含pI变体、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体S267K/P329K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S))配对的第一单体(“负电荷侧”)(包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、偏斜变体368D/370S和消融变体S267K/P329K),其中该正电荷侧是scFv单体,并且包含带电荷的scFv接头。第十一实施例利用与正电荷侧(包含pI变体Q196K/I199T/P271R/P228R/N276K、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体S267K/P329K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S))配对的第一负电荷侧单体(包含I199T/N203D/K274Q/R355Q/Q419E/K447de1、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体S267K/P329K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S)),其中该正电荷侧是scFv单体,并且包含带电荷的scFv接头。第十二实施例利用

与正电荷侧单体(不包含pI变体、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体S267K/P329K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S))配对的第一负电荷侧单体(包含I199T/N203D/K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447del、偏斜变体S364K/E357Q和消融变体S267K/P329K(任选地两个单体都包含FcRn变体428L/434S)),其中该正电荷侧是scFv单体,并且包含带电荷的scFv接头。

[0209] 在多个方面,第一单体包含第一重链(其包含第一可变重链结构域、含有第一CH1结构域和第一Fc结构域的第一恒定重链)、scFv(其结合人CD3并且包含scFv可变轻链结构域、scFv接头和scFv可变重链结构域(即,“Fab-scFv-Fc”重链)),该第一单体包含在上铰链中的缺失,并引入CH2和CH3取代。这些取代包括例如,E233P、delL234、L235V、G236A、S267K、r292c、n297g、v302c、E357Q、和S364K(EU编号,参考SEFL2取代的小写字母)中的一个或多个(例如,全部)。第二单体包含第二重链(其包含第二可变重链结构域和含有第二Fc结构域的第二恒定重链),该第二单体任选地包含以下突变中的一个或多个(例如,全部):N208D、E233P、delL234、L235V、G236A、S267K、r292c、Q295E、n297g、v302c、L368D、K370S、N384D、Q418E、和N421D(EU编号,参考SEFL2取代中的小写字母)。

[0210] 接头

[0211] 本文中的“接头”还被称为“接头序列”或“间隔子”或语法等同物。同源或异源双功能接头的熟知的(参见,1994皮尔斯化学公司(Pierce Chemical Company)目录,technical section on cross-linkers[关于交联的技术部分],第155-200页,通过引用完全并入)。(注意通用“接头”和“scFv接头和“带电荷的scFv接头”之间的区别。)可以使用许多策略将分子共价连接在一起。这些包括但不限于蛋白质或蛋白质结构域的N末端和C末端之间的多肽连接、经由二硫键的连接、和通过化学交联剂的连接。在该实施例的一个方面,接头是通过重组技术或肽合成产生的肽键。接头肽可主要包括以下氨基酸残基:Gly、Ser、Ala、或Thr。接头肽应具有适于连接两个分子的长度,使得它们相对于彼此呈现正确的构象,使得这两个分子保持所希望的活性。在一个实施例中,接头长度为从约1至50个氨基酸,优选地长度为约1至30个氨基酸。在一个实施例中,可以使用长度为1至20个氨基酸的接头。有用的接头包括甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括例如(GS)_n、(GSGGS)_n(SEQ ID NO:178)、(GGGS)_n(SEQ ID NO:179)、和(GGGS)_n(SEQ ID NO:180),其中n是至少一的整数),甘氨酸-丙氨酸聚合物,丙氨酸-丝氨酸聚合物和其他柔性接头。可替代地,各种非蛋白质聚合物,包括但不限于聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇、聚亚氧烷、或聚乙二醇和聚丙二醇的共聚物,可用作接头。

[0212] 其他接头序列可包括CL/CH1结构域的任何长度(但不包括CL/CH1结构域的所有残基)的任何序列;例如,CL/CH1结构域的前5-12个氨基酸残基。接头可以衍生自免疫球蛋白轻链,例如C_κ或C_λ。接头可以衍生自任何同种型的免疫球蛋白重链,包括例如C_γ1、C_γ2、C_γ3、C_γ4、C_α1、C_α2、C_δ、C_ε、和C_μ。接头序列还可以衍生自其他蛋白质,例如Ig样蛋白质(例如,TCR、FcR、KIR),铰链区衍生的序列和来自其他蛋白质的其他天然序列。

[0213] 在一些实施例中,接头是“结构域接头”,用于将本文所概述的任何两个结构域连接在一起。例如,在图18F中,存在将Fab的CH1结构域的C末端与scFv的N末端附接的结构域接头,其中存在将scFv的C末端与CH2结构域附接的另一种任选的结构域接头(尽管在许多实施例中,铰链被用作该结构域接头)。在一些实施例中,该接头是铰链区或其片段。

[0214] 抗体-药物缀合物

[0215] 本披露的抗原结合蛋白(例如,抗体或异源二聚体抗体)任选地与药物缀合以形成抗体-药物缀合物(ADC)。通常,在不同的上下文(包括肿瘤学应用)中使用ADC,其中使用抗体-药物缀合物用于局部递送细胞毒性或细胞抑制剂允许将药物部分靶向递送至肿瘤,这可以允许更高的功效,更低的毒性等。对该技术的综述提供在Ducry等人., *Bioconjugate Chem.*, [生物缀合物化学]21:5-13(2010); Carter等人., *Cancer J.* [癌症杂志]14(3):154(2008); 以及Senter, *Current Opin. Chem. Biol.* [化学生物学新见]13:235-244(2009)中,均在此通过引用以其全文并入本文。

[0216] 通常,通过与抗体共价衔接来进行缀合,如下文进一步描述的,并且通常依赖于接头,通常是肽连接(如本文所述,其可被设计为在靶位点处对蛋白酶切割敏感或不敏感)。另外,接头-药物单元(LU-D)的连接可以通过与抗体内半胱氨酸的衔接来实现。药物部分的数量/抗体可以根据反应条件而变化,并且可以在1:1至10:1的药物:抗体之间变化。如本领域技术人员所理解的,实际数字是平均数。

[0217] ADC的药物可以选自许多药剂中的任何一种,包括但不限于细胞毒性剂(例如化学治疗剂,生长抑制剂)、毒素(例如,细菌、真菌、植物或动物来源或其片段的酶活性毒素)或放射性同位素(即,放射性缀合物)。本披露进一步提供了使用ADC的方法。

[0218] 在本披露的上下文中使用的药物包括细胞毒性药物,特别是用于癌症治疗的那些。这些药物通常包括DNA损伤剂、抗代谢物、天然产物及其类似物。细胞毒性剂的示例性类别包括酶抑制剂(例如二氢叶酸还原酶抑制剂和胸苷酸合成酶抑制剂)、DNA嵌入剂、DNA切割剂、拓扑异构酶抑制剂、药物的蒽环家族、长春花碱药物、丝裂霉素、博来霉素、细胞毒性核苷、药物的蝶啶家族、二炔(diyne)s、鬼臼毒素、多拉司他汀(dolastatins)、美登木素生物碱、分化诱导剂、和紫杉醇。

[0219] 这些类别的成员包括,例如,甲氨蝶呤、甲蝶呤、二氯甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤、胞嘧啶阿拉伯糖苷、美法仑、环氧长春碱、leurosine、放线菌素、柔红霉素、多柔比星、丝裂霉素C、丝裂霉素A、卡米霉素、氨基蝶呤、他利霉素(tallysomycin)、鬼臼毒素和鬼臼毒素衍生物(如依托泊苷或依托泊苷磷酸盐)、长春花碱、长春新碱、长春地辛、紫杉烷类(包括紫杉醇)、多西他赛、视黄酸、丁酸、N8-乙酰基亚精胺、喜树碱、卡奇霉素(calicheamicin)、埃斯波霉素、烯-二炔、多卡米新(duocarmycin)A、多卡米新SA、卡奇霉素、喜树碱、美登木素生物碱(包括DM1)、单甲基奥瑞他汀E(MMAE)、单甲基奥瑞他汀F(MMAF)、和美登木素生物碱(DM4)及其类似物。

[0220] 可以将毒素用作抗体-毒素缀合物,并且包括细菌毒素(例如白喉毒素)、植物毒素(例如蓖麻毒素)、小分子毒素(例如格尔德霉素)(Mandler等人(2000) *J. Nat. Cancer Inst.* [国家癌症研究所杂志]92(19):1573-1581; Mandler等人(2000) *Bioorganic & Med. Chem. Letters* [生物有机化学与医药化学通讯]10:1025-1028; Mandler等人(2002) *Bioconjugate Chem.* [生物缀合物化学]13:786-791)、美登木素生物碱(EP 1391213; Liu等人., (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* [美国科学院院刊]93:8618-8623)、以及卡奇霉素(Lode等人(1998) *Cancer Res.* [癌症研究]58:2928; Hinman等人(1993) *Cancer Res.* [癌症研究]53:3336-3342)。毒素可通过包括微管蛋白结合、DNA结合或拓扑异构酶抑制的机制发挥其细胞毒性和细胞抑制作用。

[0221] 考虑了抗体(或其他抗原结合蛋白)和一种或多种小分子毒素(例如美登木素生物

碱、多拉司他汀、单端孢霉烯、单端孢霉烯、卡奇霉素和CC1065)的缀合物,以及具有毒素活性的这些毒素的衍生物。

[0222] 适合用作美登木素生物碱药物部分的美登素化合物是本领域熟知的,并且可以根据已知方法从天然来源中分离,使用基因工程技术产生(参见Yu等人(2002)PNAS 99:7968-7973),或根据已知方法合成地制备美登醇和美登醇类似物。如下所述,可以通过掺入功能活性基团(如硫醇或胺基团)来修饰药物以缀合抗体。

[0223] 示例性美登木素生物碱药物部分包括具有经修饰的芳香族环的那些,例如:C-19-脱氯(美国专利号4,256,746)(通过氢化铝锂还原安丝菌素(ansamycin)P2制备);C-20-羟基(或C-20-脱甲基)+/-C-19-脱氯(美国专利号4,361,650和4,307,016)(通过使用链霉菌或放线菌进行脱甲基化或使用LAH进行脱氯制备);和C-20-脱甲氧基、C-20-酰氧基(--OCOR), +/-脱氯(美国专利号4,294,757)(通过使用酰氯酰化制备)和在其他位置处具有修饰的那些。

[0224] 示例性美登木素生物碱药物部分还包括具有如下修饰的那些:C-9-SH(美国专利号4,424,219)(通过美登醇与H₂S或P₂S₅的反应制备);C-14-烷氧基甲基(脱甲氧基/CH₂OR)(美国专利号4,331,598);C-14-羟甲基或酰氧基甲基(CH₂OH或CH₂OAc)(美国专利号4,450,254)(由诺卡氏菌(*Nocardia*)制备);C-15-羟基/酰氧基(美国专利号4,364,866)(通过链霉菌转化美登醇制备);C-15-甲氧基(美国专利号4,313,946和4,315,929)(从滑桃树(*Trewia nudiflora*)中分离);C-18-N-脱甲基(美国专利号4,362,663和4,322,348)(通过链霉菌对美登醇的脱甲基作用制备);和4,5-脱氧(美国专利号4,371,533)(由三氯化钛/美登醇的LAH还原制备)。

[0225] 特别有用的是DM1(披露于美国专利号5,208,020中,通过引用并入)和DM4(披露于美国专利号7,276,497中,通过引用并入)。还参见美国专利号5,416,064、6,441,163、7,303,749、7,368,565、和7,601,354;国际专利公开号WO/01/24763、WO 02/098883、WO 02/16368和WO 04/1033272;以及USSN 12/631,508中的许多另外的美登木素生物碱衍生物和方法,均明确地通过引用以其全文并入本文。

[0226] 含有美登木素生物碱的ADC、其制备方法及其治疗用途披露于例如,美国专利号5,208,020、5,416,064、6,441,163和欧洲专利EP 0 425235B1中,这些专利的披露内容在此明确地通过引用并入。Liu等人.,*Proc.Natl.Acad.Sci.USA*[美国科学院院刊]93:8618-8623(1996)描述了包含命名为DM1的美登木素生物碱(其与针对人结肠直肠癌的单克隆抗体C242连接)的ADC。

[0227] Chari等人.,*Cancer Research*[癌症研究]52:127-131(1992)描述了ADC,其中美登木素生物碱通过二硫化物接头与鼠抗体A7(其与人结肠癌细胞系上的抗原结合)缀合、或与另一种鼠单克隆抗体TA.1(其结合HER-2/neu癌基因)缀合。药物缀合物实现了与游离美登木素生物碱药物类似的程度的细胞毒性,该细胞毒性可以通过增加美登木素生物碱分子数量/抗体分子来增加。

[0228] 在一些实施例中,ADC包含多拉司他汀或多拉司他汀肽类似物或衍生物、或奥瑞他汀(auristatin)(美国专利号5,635,483和5,780,588)。已经显示多拉司他汀和奥瑞他汀干扰微管动力学、GTP水解、以及核分裂和细胞分裂(Woyke等人(2001)*Antimicrob.Agents and Chemother.*[抗微生物剂与化学疗法]45(12):3580-3584),并具有抗癌作用(美国专利

号5,663,149)和抗真菌活性(Pettit等人(1998) *Antimicrob. Agents Chemother.* [抗微生物剂与化学疗法] 42:2961-2965)。多拉司他汀或奥瑞他汀药物部分可以通过肽药物部分的N(氨基)末端或C(羧基)末端与抗体附接(国际专利公开号W0 02/088172)。在多个方面,异源二聚体抗体是治疗计划的一部分,其还包括施用艾日布林。

[0229] 示例性奥瑞他汀的实施例包括在“Senter等人, *Proceedings of the American Association for Cancer Research* [美国癌症研究协会学报], 第45卷, 文摘号623, 于2004年3月28日呈递中披露以及在美国专利公开号2005/0238648(其披露内容明确地通过引用以其全文并入本文)中所述的N末端连接的单甲基奥瑞他汀药物部分DE和DF。示例性奥瑞他汀的实施例是MMAE(参见美国专利号6,884,869,明确地通过引用以其全文并入本文)。另一个示例性奥瑞他汀的实施例是MMAF(参见美国专利号2005/0238649和美国专利号5,767,237和6,124,431,明确地通过引用以其全文并入本文)。

[0230] 典型地,可以通过在两个或更多个氨基酸和/或肽片段之间形成肽键来制备基于肽的药物部分。例如,可以根据在肽化学领域熟知的液相合成方法(参见E. Schroder和K. Lubke, “The Peptides” [肽], 第1卷, 第76-136页, 1965, 学术出版社)制备此类肽键。可以根据以下方法制备奥瑞他汀/多拉司他汀药物部分:美国专利号5,635,483和5,780,588; Pettit等人(1989) *J. Am. Chem. Soc.* [美国化学学会杂志] 111:5463-5465; Pettit等人(1998) *Anti-Cancer Drug Design* [抗癌药物设计] 13:243-277; Pettit, G.R., 等人. *Synthesis* [合成], 1996, 719-725; Pettit等人(1996) *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* [化学学会铂金汇报杂志] 1 5:859-863; 以及Doronina(2003) *Nat Biotechnol* [自然生物技术] 21(7):778-784。

[0231] 在其他实施例中,ADC包含一个或多个卡奇霉素分子。例如,吉妥单抗是第一个商业ADC药物,并利用卡奇霉素 γ 1作为有效负载(参见美国专利号4,970,198,通过引用以其全文并入本文)。另外的卡奇霉素衍生物描述于美国专利号5,264,586、5,384,412、5,550,246、5,739,116、5,773,001、5,767,285和5,877,296中,均明确的通过引用并入。抗生素的卡奇霉素家族能够在亚皮摩尔浓度下产生双链DNA断裂。对于卡奇霉素家族的缀合物的制备,参见美国专利号5,712,374、5,714,586、5,739,116、5,767,285、5,770,701、5,770,710、5,773,001、5,877,296(均属于美国氰胺公司(American Cyanamid Company))。可以使用的卡奇霉素的结构类似物包括但不限于 γ 1I、 α 2I、 α 2I、N-乙酰基- γ 1I、PSAG和 θ I1(Hinman等人., *Cancer Research* [癌症研究] 53:3336-3342(1993), Lode等人., *Cancer Research* [癌症研究] 58:2925-2928(1998), 以及前述属于美国氰胺公司的美国专利)。抗体可以缀合的另一种抗肿瘤药物是QFA,它是一种抗叶酸剂。卡奇霉素和QFA都具有细胞内作用位点,并且不容易穿过质膜。因此,这些药剂通过抗体介导的内化作用的细胞摄取大大增强了它们的细胞毒性作用。

[0232] CC-1065(参见美国专利号4,169,888,通过引用并入)和多卡米新是ADC中使用的抗肿瘤抗生素家族的成员。这些抗生素似乎通过序列选择性地DNA的小沟中腺嘌呤N3处烷基化起作用,这引发了导致细胞凋亡的级联事件。多卡米新的重要成员包括多卡米新A(美国专利号4,923,990通过引用并入)和多卡米新SA(美国专利号5,101,038通过引用并入),以及如在美国专利号7,517,903、7,691,962、5,101,038、5,641,780、5,187,186、5,070,092、5,070,092、5,641,780、5,101,038、5,084,468、5,475,092、5,585,499、5,703,

080、6,989,452、7,087,600、7,129,261、7,498,302、7,507,420、和5,846,545;以及国际专利公开号WO 2007/089149和WO 2009/017394A1中所述的大量类似物,这些专利均明确地通过引用并入。

[0233] 其他细胞毒性剂

[0234] 可以与抗原结合蛋白缀合的其他抗肿瘤剂包括BCNU、链脲霉素、长春新碱和5-氟脲嘧啶,在美国专利号5,053,394和5,770,710中所述的已知共同称为LL-E33288复合物的药剂家族,以及埃斯波霉素(esperamicins)(美国专利号5,877,296)。

[0235] 可以使用的酶活性毒素及其片段包括白喉毒素A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链(来自铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒素A链、相思豆毒素A链、蒴莲根毒素A链、 α -八叠球菌、油桐蛋白、香石竹毒蛋白、美洲商陆(*Phytolaca americana*)蛋白(PAPI、PAPII、和PAP-S)、苦瓜抑制剂、麻风树毒蛋白、巴豆毒素、肥皂草抑制剂、白树毒素、米托菌素(mitogellin)、局限曲菌素、酚霉素、伊诺霉素和单端孢霉烯。参见,例如,国际专利公开号WO 93/21232。

[0236] 本披露进一步考虑了在抗原结合蛋白和具有核溶解活性的化合物(例如,核糖核酸酶或DNA核酸内切酶,例如脱氧核糖核酸酶;DNA酶)之间形成的ADC。

[0237] 对于肿瘤的选择性破坏,抗原结合蛋白(例如,抗体或异源二聚体抗体)可包含高放射性原子。多种放射性同位素可用于生产放射性缀合物。实例包括At211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212和Lu的放射性同位素。

[0238] 放射性标记或其他标记可以按已知的方式掺入缀合物中。例如,肽可以是生物合成的,或者可以使用适合的氨基酸前体通过化学氨基酸合成来合成,所述氨基酸前体涉及例如氟-19代替氢。可以经由肽中的半胱氨酸残基将标记(例如Tc99m或I123、Re186、Re188、和In111)衔接。钇-90可以经由赖氨酸残基衔接。可以将IODOGEN方法(Fraker等人(1978) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* [生物化学与生物物理研究通讯] 80:49-57)用于掺入碘-123。“Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy [免疫闪烁扫描中的单克隆抗体]”(Chatal, CRC出版社,1989)详细描述了其他方法。

[0239] 在一些情况下,可以通过诸如反相HPLC或电泳的方法实现均质ADC的分离、纯化和表征(其中p是来自具有其他药物载量的ADC的特定值)。在示例性实施例中,p是2、3、4、5、6、7、或8或其一分数。

[0240] 应当理解,还可以对所需化合物进行化学修饰,以使该化合物的反应更方便用于制备本发明的缀合物。例如,官能团(例如胺、羟基或巯基)可以在对药物的活性或其他性质具有最小或可接受的影响的位置附加到药物上。

[0241] 接头单元

[0242] 典型地,抗原结合蛋白-药物缀合物包含在药物单元和抗原结合蛋白单元之间的接头单元。在一些实施例中,接头在细胞内或细胞外条件下是可切割的,使得接头的切割在适当的环境中从抗原结合蛋白释放药物单元。例如,分泌某些蛋白酶的实体瘤可以作为可切割接头的靶标;在其他实施例中,所利用的是胞内蛋白酶。在又其他实施例中,接头单元是不可切割的,并且例如通过溶酶体中的抗体降解释放药物。

[0243] 在一些实施例中,接头可被存在于胞内环境(例如,在溶酶体或核内体或细胞凹陷内)中的切割剂切割。该接头可以例如为一种肽基接头,它被细胞内肽酶或蛋白酶(包括但

不限于,溶酶体或核内体蛋白酶)切割。在一些实施例中,该肽基接头为至少两个氨基酸长或至少三个氨基酸长或更长。

[0244] 切割剂可以包括但不限于组织蛋白酶B和D及纤溶酶,已知它们均水解二肽药物衍生物,引起靶细胞内部活性药物的释放(参见,例如,Dubowchik和Walker,1999,Pharm.Therapeutics[药物治疗]83:67-123)。肽基接头可以被存在于表达CD38的细胞中的酶切割。例如,可以使用可被硫醇依赖性蛋白酶组织蛋白酶-B(其在癌组织中高度表达)切割的肽基接头体(例如,Phe-Leu或Gly-Phe-Leu-Gly接头(SEQ ID NO:181))。此类接头的其他实例描述于例如美国专利号6,214,345中,通过引用以其全文并入本文。

[0245] 在一些实施例中,由胞内蛋白酶切割的肽基接头是Val-Cit接头或Phe-Lys接头(参见,例如,美国专利号6,214,345,该专利描述了具有wval-cit接头的多柔比星的合成)。

[0246] 在其他实施例中,可切割接头是pH敏感性的,即,对在某些pH值下水解敏感。典型地,该pH敏感性接头在酸性条件下可水解。例如,可以使用在溶酶体中可水解的酸不稳定性接头(例如,脞、缩氨基脲、缩氨基硫脲、顺-乌头酰胺、原酸酯、乙缩醛、缩酮等)。(参见,例如,美国专利号5,122,368;5,824,805;和5,622,929;Dubowchik和Walker,1999,Pharm.Therapeutics[药物治疗]83:67-123;Neville等人.,1989,Biol.Chem.[生物化学]264:14653-14661)。这些接头在中性pH条件(如在血液中的那些)下相对稳定,但在低于pH 5.5或5.0(近似为溶酶体的pH值)下不稳定。在某些实施例中,可水解的接头是硫醚接头(例如像,通过酰脞键与治疗剂附接的硫醚(参见,例如,美国专利号5,622,929))。

[0247] 在又其他实施例中,接头在还原条件下是可切割的(例如,二硫键接头)。本领域中已知多种二硫化物接头,包括例如,可以使用SATA(N-琥珀酰亚胺基-5-乙酰基硫代乙酸酯)、SPDP(N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯)、SPDB(N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丁酸酯)及SMPT(N-琥珀酰亚胺基-氧基羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基-二硫代)甲苯)以及SPDB和SMPT形成的那些。参见,例如,Thorpe等人.,1987,Cancer Res.[癌症研究]47:5924-5931;Wawrzynczak等人.,In Immunoconjugates:Antibody Conjugates in Radioimager and Therapy of Cancer[在免疫缀合物:在癌症的无线成像和癌症治疗中的缀合物](C.W.Vogel编辑.,牛津大学出版社(Oxford U.Press),1987)。还参见美国专利号4,880,935。

[0248] 在其他实施例中,接头是丙二酸酯接头(Johnson等人.,1995,Anticancer Res.[抗癌研究]15:1387-93)、马来酰亚胺基苯甲酰基接头(Lau等人.,1995,Bioorg-Med-Chem.[生物有机化学与医药化学]3(10):1299-1304)、或3'-N-amide analog(Lau等人.,1995,Bioorg-Med-Chem.[生物有机化学与医药化学]3(10):1305-12)。

[0249] 在又其他实施例中,该接头单元是不可切割的,并且该药物是通过抗体降解来释放。参见,例如,美国专利公开号2005/0238649通过引用以其全文并入本文。

[0250] 在许多实施例中,接头是自牺牲型。如本文所使用,术语“自牺牲型间隔子”是指双官能化学部分,其能够将两个间隔的化学部分共价连接在一起形成稳定的三联分子。如果其与第一部分的键断裂,它将自发地与第二化学部分分离。参见,例如,国际专利公开号WO 2007059404A2、WO 06110476A2、WO 05112919A2、WO 2010/062171、WO 09/017394、WO 07/089149、WO 07/018431、WO 04/043493、和WO 02/083180,这些专利涉及药物可切割的底物缀合物,其中药物和可切割的底物任选地通过自我牺牲型接头连接,并且这些专利都通过

引用明确地并入。

[0251] 通常,接头对胞外环境基本上不敏感,即当抗原结合蛋白-药物缀合物存在于细胞外环境中(例如,在血浆中)时,在抗原结合蛋白-药物缀合物样品中不超过约20%、15%、10%、5%、3%或不超过约1%的接头被切割。可以通过以下方法确定接头是否对胞外环境基本上不敏感:例如通过将抗原结合蛋白-药物缀合物化合物与血浆孵育持续预定的时间段(例如,2、4、8、16、或24小时),并然后定量血浆中存在的游离药物的量。

[0252] 在其他非互斥的实施例中,接头促进细胞内化。在某些实施例中,当与治疗剂(即,在如本文所述的ADC的接头-治疗剂部分的环境)缀合时,接头促进细胞内化。在又其他实施例中,当与本披露的奥瑞他汀化合物和抗原结合蛋白缀合时,接头促进细胞内化。

[0253] 可与本发明的组合物和方法一起使用的多种示例性接头描述于国际专利公开号WO 2004-010957和美国专利公开号2006/0074008、20050238649、和2006/0024317中(各自通过引用以其全文并入本文)。

[0254] 应当理解,在多个实施例中,上述治疗剂可以被单独施用,即不与抗原结合蛋白缀合。

[0255] 药物载量

[0256] 药物载量由 p 表示,并且是分子中药物部分平均数/抗原结合蛋白。药物载量(“ p ”)可以是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个部分(D)/抗原结合蛋白,尽管通常平均数是分数或小数。通常,1至4的药物载量通常是有用的,并且1至2也是有用的。本披露的ADC包括与一系列药物部分(从1至20)缀合的抗原结合蛋白的集合。来自缀合反应的ADC制剂中的药物部分平均数/抗原结合蛋白可以通过常规方法(如质谱法和ELISA测定)来表征。

[0257] 也可以确定依据 p 的ADC的定量分布。在一些情况下,可以通过诸如电泳的方法实现均质ADC的分离、纯化和表征(其中 p 是来自具有其他药物载量的ADC的特定值)。

[0258] 对于一些ADC, p 可能受抗原结合蛋白上附接位点的数量的限制。例如,在附接物是半胱氨酸硫醇的情况下,如在上述示例性实施例中,抗原结合蛋白可以仅具有一个或若干个半胱氨酸硫醇基团,或者可以仅具有一个或若干个充分反应性硫醇基团,通过该基团可以附接接头。在某些实施例中,较高的药物载量(例如 $p > 5$)可能导致某些抗体-药物缀合物的聚集、不溶性、毒性、或丧失细胞通透性。在某些实施例中,针对本披露ADC的药物载量的范围是1至约8;从约2至约6;从约3至约5;从约3至约4;从约3.1至约3.9;从约3.2至约3.8;从约3.2至约3.7;从约3.2至约3.6;从约3.3至约3.8;或从约3.3至约3.7。实际上,已经表明,对于某些ADC,药物部分/抗原结合蛋白的最佳比例可以小于8,并且可以是约2至约5。参见美国专利公开号2005/0238649A1(在此通过引用以其全文并入本文)。

[0259] 在某些实施例中,在缀合反应期间,少于理论最大值的药物部分与抗原结合蛋白缀合。抗原结合蛋白可以包含例如不与如下所述的药物-接头中间体或接头试剂反应的赖氨酸残基。通常,抗体不包含许多游离的和反应性的半胱氨酸硫醇基团,这些基团可以与药物部分连接;实际上,抗体中的大多数半胱氨酸硫醇残基以二硫键存在。在某些实施例中,在部分或总还原条件下,可以用还原剂(如二硫苏糖醇(DTT)或三羰基乙基膦(TCEP))还原抗体,以产生反应性半胱氨酸硫醇基团。在某些实施例中,使抗体经历变性条件以揭示反应性亲核基团(例如赖氨酸或半胱氨酸)。

[0260] 可以按不同的方式控制ADC的载量(药物/抗原结合蛋白比率),例如通过:(i)限制药物-接头中间体或接头试剂相对于抗体的摩尔过量;(ii)限制缀合反应时间或温度;(iii)针对半胱氨酸硫醇修饰的部分还原条件或限制性还原条件;(iv)通过重组技术,使抗原结合蛋白的氨基酸序列工程化,使得半胱氨酸残基的数目和位置被修饰用于控制接头-药物附接的数目和/或位置(诸如在例如国际专利公开号WO 2006/034488(在此通过引用以其全文并入本文)中披露所制备的thioMab或thioFab)。

[0261] 应理解,当多于一个亲核基团与药物-接头中间体或接头试剂反应,随后与药物部分试剂反应时,则所得产物是ADC化合物的混合物,其中具有与抗原结合蛋白附接的一个或多个药物部分的分布。药物平均数/抗原结合蛋白可以通过双重ELISA抗体测定从混合物计算,该抗体测定对抗原结合蛋白是特异性的并且对药物是特异性的。可以通过质谱法在混合物中鉴定单个ADC分子,并通过HPLC分离,例如疏水相互作用色谱法。

[0262] 在一些实施例中,可以通过电泳或色谱法从缀合混合物中分离具有单一载量值的均质ADC。

[0263] 组合物

[0264] 通过将具有所需纯度的抗原结合蛋白与任选的药学上可接受的运载体、赋形剂或稳定剂混合来制备根据本披露使用的制剂用于储存(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition[雷明顿药物科学,第16版],Osol,A.编辑[1980]),处于冻干制剂或水溶液的形式。本披露的组合物优选是无菌的。可接受的运载体、赋形剂或稳定剂在所用剂量和浓度下对接受者是无毒的,并且包括缓冲剂(如磷酸盐、柠檬酸盐)和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵;六甲基氯化铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁基或苄醇;烷基对羟基苯甲酸酯,如甲基对羟基苯甲酸酯或丙基对羟基苯甲酸酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质(如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白);亲水聚合物(如聚乙烯吡咯烷酮);氨基酸(如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸);单糖、二糖和其他碳水化合物(包括葡萄糖、甘露糖或糊精);螯合剂(如EDTA);糖(如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇);成盐抗衡离子(如钠);金属络合物(如Zn-蛋白质络合物);和/或非离子型表面活性剂(如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG))。

[0265] 该制剂还可含有所治疗的具体适应症所必需的一种以上的活性化合物,优选那些具有互补活性而不会相互产生不利影响的活性化合物。例如,可能需要提供具有其他特异性的抗原结合蛋白。可替代地或另外地,组合物可以包含细胞毒性剂、细胞因子、生长抑制剂和/或小分子拮抗剂,例如本文提及的任何药物。此类分子合适地以对预期目的有效的量组合存在。

[0266] 也可以将活性成分包埋在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊(例如分别为羟甲基纤维素或明胶-微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊)中,包埋在胶体药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊)中或包埋在粗滴乳状液中。此类技术披露于Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition[雷明顿药物科学,第16版],Osol,A.编辑(1980)中。

[0267] 可以制备持续释放制剂。持续释放制剂的适合的实例包括含有抗原结合蛋白的固体疏水聚合物的半透性基质,该基质处于成型制品的形式(例如薄膜或微胶囊)。持续释放

基质的实例包括聚酯、水凝胶(例如,聚(2-羟乙基-甲基丙烯酸酯)、或聚(乙烯醇))、聚乳酸(美国专利号3,773,919)、L-谷氨酸和 γ -乙基-L-谷氨酸的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物,如LUPRON DEPOT™(由乳酸-乙醇酸共聚物和醋酸亮丙瑞林组成的可注射微球),以及聚-D-(-)-3-羟丁酸。虽然聚合物(如乙烯-乙酸乙烯酯和乳酸-乙醇酸)能够释放分子超过100天,但某些水凝胶释放蛋白质持续的时间更短。

[0268] 当包封的抗体长时间保留在体内时,它们会因暴露于37°C的湿气而变性或聚集,导致生物活性的丧失和免疫原性的可能变化。可以根据所涉及的机制设计合理的策略以实现稳定。例如,如果发现聚集机理是通过硫代-二硫化物交换形成分子间S-S键,则可以通过修饰巯基残基、从酸性溶液中冻干、控制水分含量、使用适当的添加剂并且开发特定的聚合物基质组合物来实现稳定化。

[0269] 施用模式

[0270] 根据临床上可接受的方法将抗原结合蛋白和任选的共同治疗(例如一种或多种化学治疗剂或另一种抗体治疗剂(例如,抗PD-1抗体))按以下途径施用于受试者,例如静脉内、肌内、腹膜内、皮下、关节内、病灶内、滑膜内、鞘内、口服、局部、肿瘤内、通过淋巴管输入或吸入途径。优选静脉内或皮下施用抗原结合蛋白。预期推注和连续输注,如在疾病或损伤部位局部给药。还考虑了在离体方法中使用抗原结合蛋白(任选地与另一种治疗剂)。例如,患者的血液或其他体液可以离体与抗原结合蛋白接触,并且任选地施用。抗原结合蛋白可以与适合的不溶性基质或固体支持物结合。

[0271] 使用方法

[0272] 本披露提供了治疗对其有需要的受试者的方法,该方法包括向受试者施用本文所述的抗原结合蛋白(例如,抗体或异源二聚体抗体)。在多个实施例中,本披露提供了在对其有需要的受试者中治疗癌症(例如前列腺癌或尤文肉瘤(Ewing sarcoma))的方法,该方法包括向受试者施用本文所述的抗原结合蛋白(例如,抗体或异源二聚体抗体)。本披露进一步提供了本披露的抗原结合蛋白(例如,抗体或异源二聚体抗体)用于治疗对其有需要的受试者的用途,例如用于在受试者中治疗癌症(例如,前列腺癌或尤文肉瘤)的用途。该癌症优选是与STEAP1表达增加相关的癌症(例如,多于10,000个STEAP1/细胞)。癌症的实例包括但不限于前列腺癌、乳腺癌、胰腺癌、膀胱癌、胃肠道癌、睾丸癌、卵巢癌、子宫颈癌,以及肉瘤(尤文肉瘤)和黑素瘤。

[0273] 治疗本文所述受试者的方法旨在提供疾病或病症的改善,和/或与疾病或病症相关的症状的改善。例如,治疗应答是指疾病中的以下改善中的一种或多种:(1) 增生性细胞数量减少;(2) 增生性细胞死亡增加;(3) 增生性细胞存活的抑制;(5) 肿瘤生长或新病变出现的抑制(即,在一定程度上减慢,优选停止);(6) 提高的患者存活率;和/或(7) 从与疾病或病症(例如,在前列腺癌、尿频、夜尿、血尿、排尿困难或骨痛的情况下;在受影响的区域中尤文肉瘤、疼痛,肿胀或压痛的情况下)相关的一种或多种症状中得到一些缓解。

[0274] 任何给定疾病或病症中的治疗应答可以通过对该疾病或病症特异的标准化应答标准来确定。可以使用筛查技术评估肿瘤应答,例如磁共振成像(MRI)扫描、x-放射成像、计算机断层摄影术(CT)扫描、正电子发射断层扫描(PET)、骨扫描、超声、肿瘤活检取样、循环中的肿瘤细胞的计数、和/或肿瘤抗原的测量(例如,前列腺特异性抗原(PSA)和/或甲胎蛋白(AFP))。除了这些治疗应答之外,接受治疗的受试者可以经历与疾病相关的症状改善的

有益效果。

[0275] 受试者是哺乳动物,优选人,任选人类男性。在癌症的情况下,受试者可被诊断为该疾病的任何阶段(即,I期、II期、III期或IV期前列腺癌),或可能处于发展为尚未临床证实的癌症的风险。

[0276] 对于前列腺癌,受试者可能经历前列腺癌相关的症状(例如本文所述的那些)的减少、肿瘤大小的减小、前列腺癌标志物水平的降低、新病变的出现率降低等。在多个方面,本披露的方法进一步包括监测受试者的治疗。考虑受试者健康状况的任何改善(例如,没有临床可检测的疾病,在没有新病灶情况下可测量的肿瘤负荷的任何减少(例如至少约50%减少)(即,受试者中存在的恶性细胞的数量或测量的肿瘤肿块质量)、疼痛减轻、排尿改善)。

[0277] 根据本披露的治疗包括所使用的药物的“治疗有效量”。“治疗有效量”是指以剂量计并且持续所需的时间段以实现所希望的治疗结果的有效量。“治疗有效量”可以根据多种因素而变化,例如个体疾病状态、年龄、性别、以及体重,以及药物在个体中引发希望的应答的能力。治疗有效量还是其中的任何毒性或不影响被治疗有益的效果胜过的一个量。用于肿瘤治疗的“治疗有效量”还可以通过其稳定疾病进展的能力来测量。本披露的治疗有效量的抗原结合蛋白的示例性、非限制性范围是约0.1-100mg/kg。为了易于施用和剂量均匀性,可以将肠胃外组合物配制成单位剂型。剂量单位形式用于本文时是指作为针对治疗受试者的单一剂量适合的物理上离散的单位;每个单位含有与所需药用载体联合的、经计算产生所希望的生物效果的预定量的治疗剂。

[0278] 在一些实施例中,将抗原结合蛋白(例如,单特异性抗体或异源二聚体抗体)与一种或多种另外的治疗剂(例如,化学治疗剂或免疫治疗剂)组合使用。可以将一种或多种另外的治疗剂连续施用(在彼此的分钟、小时、天、或周内)或平行施用;它们还可以按预先混合的单一组合物施用患者。

[0279] DNA损伤性化学治疗剂的非限制性实例包括拓扑异构酶I抑制剂(例如,伊立替康、托泊替康、喜树碱及其类似物或代谢物,和多柔比星);拓扑异构酶II抑制剂(如依托泊苷、替尼泊苷和柔红霉素);烷基化剂(例如,美法仑、苯丁酸氮芥、白消安、噻替派、异环磷酰胺、卡莫司汀、洛莫司汀、司莫司汀、链脲霉素、氮烯咪胺、甲氨蝶呤、丝裂霉素C和环磷酰胺);DNA嵌入剂(如顺铂、奥沙利铂、表柔比星和卡铂);DNA嵌入剂和自由基生成剂(如博来霉素);和核苷模拟物(例如,5-氟尿嘧啶、卡培他滨、吉西他滨、氟达拉滨、阿糖胞苷、巯基嘌呤,硫鸟嘌呤、喷司他丁和羟基脲)。

[0280] 破坏细胞复制的化学治疗剂包括但不限于紫杉醇、多西他赛和相关类似物;卡巴他塞(cabazitaxel);长春新碱、长春碱和相关类似物;沙利度胺、来那度胺和相关类似物(例如CC-5013和CC-4047);酪氨酸蛋白激酶抑制剂(例如,甲磺酸伊马替尼和吉非替尼);蛋白酶体抑制剂(例如,硼替佐米);NF- κ B抑制剂(包括I κ B激酶抑制剂);抗体,其与癌症中过表达的蛋白质结合,从而下调细胞复制(例如,曲妥珠单抗、利妥昔单抗、西妥昔单抗和贝伐单抗);以及已知在癌症中上调的、过表达的或活化的蛋白质或酶(对其的抑制作用下调细胞复制)的其他抑制剂。

[0281] 在一些实施例中,本披露的抗原结合蛋白(例如,单特异性抗体或异源二聚体抗体)可在用多西他赛的治疗之前,与其同时或之后使用。在多个方面,抗原结合蛋白(例如,单特异性抗体或异源二聚体抗体)作为包括手术和/或放射(例如,外部束或近距离放射治

疗)的治疗计划的一部分施用。

[0282] 在多个方面,抗原结合蛋白(例如,单特异性抗体或异源二聚体抗体)作为治疗计划的一部分提供,该治疗计划还包括施用激素疗法(例如,雄性激素剥夺疗法,例如阻断促黄体激素释放激素释放或产生的药剂(例如,亮丙瑞林、戈舍瑞林、曲普瑞林或地加瑞克);抗雄激素(例如比卡鲁胺、氟他胺或尼鲁米特);酮康唑;醋酸阿比特龙;恩杂鲁胺),

[0283] 在多个方面,抗原结合蛋白(例如,单特异性抗体或异源二聚体抗体)作为治疗计划的一部分提供,该治疗计划还包括施用另一种免疫疗法(例如,西普鲁塞-T(sipuleucel-T)、贝伐单抗、阿特殊单抗(atezolizumab)、阿维鲁单抗(avelumab)、易普利姆玛、曲美木单抗(tremelimumab)、AM-224、MDX-1105、依替莫德 α (eftilagimod α) (IMP321)、或依诺妥单抗(enoblituzumab) (MGA271))。在这方面,该方法任选地包括施用另一种靶向不同抗原的抗原结合蛋白,例如癌症相关的抗原或与免疫应答相关的抗原。例如,在多个实施例中,将抗STEAP1抗原结合蛋白与PD-1靶向抗原结合蛋白(例如,抗体)一起施用于受试者,该PD-1靶向抗原结合蛋白降低、阻断、抑制、消除或干扰来自PD-1与其一种或多种结合配偶体(例如PD-L1或PD-L2)的相互作用的信号转导。在具体的方面,PD-1抗原结合蛋白抑制PD-1与PD-L1和/或PD-L2的结合。在一个实施例,PD-1抗原结合蛋白减少由T淋巴细胞上表达的细胞表面蛋白介导的通过PD-1的信号传导所介导的或通过其的负共刺激信号,从而使功能失调的T细胞减少功能失调(例如,增强效应子对抗原识别的应答)。抗PD-1抗体的实例包括纳武单抗(BMS-936558)、派姆单抗(pembrolizumab) (MK-3475)、BMS 936558、BMS-936559、TSR-042 (Tesarco公司)、ePDR001 (诺华公司 (Novartis)) 和匹地利珠单抗(pidilizumab) (CT-011)。虽然本披露涉及PD-1抗原结合蛋白,本披露还考虑使用其他PD-1结合拮抗剂,这些拮抗剂减少、阻断、抑制、消除或干扰由PD-1与一种或多种其结合配偶体(如PD-L1或PD-L2)相互作用引起的信号转导。

[0284] 本文提供的关于抗STEAP1抗原结合蛋白的本披露内容还适用于抗PD-1抗原结合蛋白。例如,在不同情况下,抗PD-1抗原结合蛋白是抗体(例如单克隆IgG)。抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物是单价或二价的。在示例性方面,抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物与人PD-1(其具有SEQ ID NO:187的氨基酸序列)结合。在示例性方面,抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物与食蟹猴PD-1(其具有SEQ ID NO:188的氨基酸序列)结合。在示例性实例中,抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物与人PD-1和食蟹猴PD-1二者结合。

[0285] 在示例性实施例中,抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物与PD-1的结合强度可以用KD描述。在示例性方面,本文提供的抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物的KD为约 10^{-1} M、约 10^{-2} M、约 10^{-3} M、约 10^{-4} M、约 10^{-5} M、约 10^{-6} M、约 10^{-7} M、约 10^{-8} M、约 10^{-9} M、或更低。在示例性方面,本文提供的抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物的KD是微摩尔、纳摩尔、皮摩尔或飞摩尔。在示例性方面,本文提供的抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物的KD是在约 10^{-4} 至 10^{-6} M、或 10^{-7} 至 10^{-9} M、或 10^{-10} 至 10^{-12} M、或 10^{-13} 至 10^{-15} M的范围内。在示例性方面,抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物对人PD-1、食蟹猴PD-1、或二者具有高亲和力。在示例性方面,抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物对人PD-1的KD为低于100pM,任选地约1pM至约50pM。在示例性方面,抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1

抗体蛋白产物对人PD-1的KD在约1pM至约20pM内或低于约10pM。在示例性方面,抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物对食蟹猴PD-1的KD为低于100pM,任选地约1pM至约75pM。在示例性方面,抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物对食蟹猴PD-1的KD在约1pM至约20pM内或低于10pM。

[0286] 在示例性方面,抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物将PD-1和PD-L1或PD-L2之间的结合相互作用抑制至少50%。在示例性方面,抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物展示出对PD-1和PD-L1或PD-L2之间结合相互作用的至少约50%、至少约60%、或至少约70%的抑制。

[0287] 在示例性实例中,在混合的淋巴细胞反应(MLR)中,通过抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物抑制PD-1介导的T细胞IL-2产生。在示例性方面,在MLR中抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物的IC₅₀是在约0.1nM至约5nM内。在示例性方面,在MLR中抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物的IC₅₀低于2nM或低于1nM。在示例性方面,在MLR中抗PD-1抗体、其抗原结合抗体片段、或抗PD-1抗体蛋白产物的IC₅₀为约0.5nM至约2nM。

[0288] 测试抗体与PD-1结合能力的方法是本领域已知的,并且包括任何适合的抗体-抗原结合测定,例如像放射免疫测定(RIA)、ELISA、蛋白质印迹法、免疫沉淀法、SPR、和竞争性抑制测定(参见,例如,Janeway等人.,下文,和美国专利申请公开号2002/0197266,以及与竞争测定有关的上述部分)。其他结合测定(例如竞争性结合测定或竞争测定,这些测定测试抗体与第二抗体竞争与抗原或与其表位结合的能力)可用于测试抗体与PD-1结合的能力。参见,例如,美国专利申请公开号2014/0178905;Chand等人.,Biologicals[生物制品]46:168-171(2017);Liu等人.,Anal Biochem[分析生物化学]525:89-91(2017);以及Goolia等人.,J Vet Diagn Invest[兽医诊断调查杂志]29(2):250-253(2017)。此外,比较两种抗体的其他方法是本领域已知的,并且包括例如表面等离子体共振(SPR)。可以将SPR用于测定抗体和第二抗体的结合常数,并且可以比较这两个结合常数。本披露考虑使用抗PD1抗原结合蛋白,其在本披露方法的上下文中与本文所述的任何抗PD-1抗体与PD-1蛋白的结合竞争或交叉阻断该结合。

[0289] 用于表征人和食蟹猴PD-1结合亲和力的代表性方法如下。将抗体在含有3倍连续稀释的可溶性重组受体人PD-1(1-170)-FLAG-His或食蟹猴PD-1(1-167)-FLAG-His的孔中孵育。在两种情况下,可以选择30nM的最高PD-1浓度。可以使用300秒的缔合和500秒的解离,因为这些参数通常产生足够的曲率以用于精确的动力学拟合。可以用ForteBio Octet HTX和RED384仪器对人/食蟹猴PD-1结合亲和力定量。标准Octet样品缓冲液可用于样品稀释和结合基线、缔合、和解离步骤(例如,10mM Tris、pH 7.5、150mM NaCl、1mM CaCl₂、0.10mg/ml BSA、0.13% (v/v) Triton X-100)。可以使用标准仪器数据分析软件(v9和v10)以下列方式处理ForteBio原始数据:(a)将具有固定靶标但没有相互作用的两条参考曲线(即仅缓冲液)平均,并从同一列中的剩余样品曲线中减去;(b)分离缔合和解离曲线并与Y轴对齐;(c)缔合和解离级间是对齐的;(d)实施Savitzky-Golay滤除以减少信号噪声,和(e)针对每个样品-靶标相互作用的缔合和解离曲线组用单个1:1结合模型全局拟合,以确定结合速率常数 k_a 和解离速率常数 k_d 的测量值;将平衡解离常数 KD 计算为解离和缔合速率常数的比率(= k_d/k_a)。

[0290] 在示例性实例中,抗PD-1抗体(或其抗原结合抗体片段或抗体蛋白产物)包含:在SEQ ID NO:189中列出的重链(HC)互补决定区1(vhCDR1)氨基酸序列、在SEQ ID NO:190中列出的HC CDR2(vhCDR2)氨基酸序列、在SEQ ID NO:191中列出的HC CDR3(vhCDR3)氨基酸序列、在SEQ ID NO:192中列出的轻链(LC)CDR1(vlCDR1)氨基酸序列、在SEQ ID NO:193中列出的LC CDR2(vlCDR2)氨基酸序列、和在SEQ ID NO:194中列出的LC CDR3(vlCDR3)氨基酸序列。在示例性实施例中,抗PD-1抗体(或其抗原结合抗体片段或抗体蛋白产物)包含重链可变区(vh)和/或轻链可变区(vl),该重链可变区包含与SEQ ID NO:195的氨基酸序列具有至少90%同一性(例如,91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%同一性)的氨基酸序列;该轻链可变区包含与SEQ ID NO:196的氨基酸序列具有至少90%同一性(例如,91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%同一性)的氨基酸序列。在示例性实施例中,抗PD-1抗体(或其抗原结合抗体片段或抗体蛋白产物)包含重链和/或轻链,该重链包含与SEQ ID NO:197的氨基酸序列具有至少90%同一性(例如,91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%同一性)的氨基酸序列;该轻链包含与SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少90%同一性(例如,91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%同一性)的氨基酸序列。

[0291] 在示例性方面,本文所述的抗STEAP1构建体是治疗方案的一部分,该治疗方案包括施用有效抑制肿瘤转移和/或对至少一个细胞群具有抗增殖作用的细胞因子、淋巴因子、生长因子、或造血因子。此类细胞因子、淋巴因子、生长因子、或其他造血因子包括但不限于:M-CSF、GM-CSF、TNF、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IFN、TNF α 、TNF1、TNF2、G-CSF、Meg-CSF、GM-CSF、促血小板生成素、干细胞因子、和促红细胞生成素。另外的生长因子包括例如,血管生成素、骨形态发生蛋白-1、骨形态发生蛋白-2、骨形态发生蛋白-3、骨形态发生蛋白-4、骨形态发生蛋白-5、骨形态发生蛋白-6、骨形态发生蛋白-7、骨形态发生蛋白-8、骨形态发生蛋白-9、骨形态发生蛋白-10、骨形态发生蛋白-11、骨形态发生蛋白-12、骨形态发生蛋白-13、骨形态发生蛋白-14、骨形态发生蛋白-15、骨形态发生蛋白受体IA、骨形态发生蛋白受体IB、脑源性神经营养因子、睫状神经营养因子、睫状神经营养因子受体 α 、细胞因子诱导的中性粒细胞趋化因子1、细胞因子诱导的中性粒细胞趋化因子2 α 、细胞因子诱导的中性粒细胞趋化因子2 β 、 β 内皮细胞生长因子、内皮素1、上皮衍生的中性粒细胞引诱剂、胶质细胞系衍生的神经营养因子受体 α 1、胶质细胞系衍生的神经营养因子受体 α 2、生长相关蛋白、生长相关蛋白 α 、生长相关蛋白 β 、生长相关蛋白 γ 、肝素结合表皮生长因子、肝细胞生长因子、肝细胞生长因子受体、胰岛素样生长因子I、胰岛素样生长因子受体、胰岛素样生长因子II、胰岛素样生长因子结合蛋白、角化细胞生长因子、白血病抑制因子、白血病抑制因子受体 α 、神经生长因子、神经生长因子受体、神经营养因子-3、神经营养因子-4、前B细胞生长刺激因子、干细胞因子、干细胞因子受体、转化生长因子 α 、转化生长因子 β 、转化生长因子 β 1、转化生长因子 β 1.2、转化生长因子 β 2、转化生长因子 β 3、转化生长因子 β 5、潜在转化生长因子 β 1、转化生长因子 β 结合蛋白I、转化生长因子 β 结合蛋白II、转化生长因子 β 结合蛋白III、肿瘤坏死因子受体I型、肿瘤坏死因子受体II型、尿激酶型纤溶酶原激活物受体、和嵌合蛋白以及其生物学或免疫学活性片段。在示例性实施例中,抗STEAP1构建体作为治疗方案的一部分被施用,该治疗方案涉及施用对前述细胞因子、淋巴因子、生长因子或其他造血因子中的

任一种特异性的抗体。

[0292] 本披露考虑了抗STEAP1抗原结合蛋白或异源二聚体抗体在制备用于在对其有需要的受试者中治疗癌症的药物中的用途。任选地,该药物是用于施用与有效量的抗PD-1抗原结合蛋白(例如,本文所述的抗PD-1抗原结合蛋白中的任一种)联合的有效量的抗STEAP1抗原结合蛋白或异源二聚体抗体。

[0293] 本披露进一步考虑了用于在对其有需要的受试者中治疗癌症(即,在对其有需要的受试者中治疗癌症(如前列腺癌或尤文肉瘤)的方法)中使用的本文所述的抗STEAP1抗原结合蛋白或异源二聚体抗体。任选地,将抗STEAP1抗原结合蛋白或异源二聚体抗体与抗PD1抗原结合蛋白一起施用。通过“与……一起施用”来表示抗STEAP1抗原结合蛋白或异源二聚体抗体是包括施用抗PD1抗原结合蛋白的治疗方案的一部分。实际上,抗STEAP1抗原结合蛋白(例如,异源二聚体抗体)可以在用抗PD1抗原结合蛋白治疗之前、与其同时或之后使用。抗STEAP1抗原结合蛋白或异源二聚体抗体和抗PD1抗原结合蛋白的施用不需要同时发生,尽管本披露考虑了其中组分包含在相同药物组合物中并一起施用的实施例。本披露还提供了治疗方法,其中抗STEAP1抗原结合蛋白或异源二聚体抗体和抗PD1抗原结合蛋白存在于分开的药物组合物中,这些药物组合物平行施用或近时间施用。可以将抗STEAP1抗原结合蛋白或异源二聚体抗体和抗PD1抗原结合蛋白按任何顺序连续施用(例如,在彼此的分钟、小时、天、或周内)。施用模式如上所述。

[0294] 例如,在体外或体内检测STEAP1的存在的测定中也可以使用本文所述的抗STEAP1抗原结合蛋白。还可以通过例如免疫亲和色谱,使用抗原结合蛋白来纯化STEAP1。

[0295] 核酸、载体、宿主细胞

[0296] 本披露进一步提供了编码本文所述的抗原结合蛋白(例如,单特异性抗体或异源二聚体抗体)的核酸组合物。编码本披露的抗原结合蛋白的组分的核酸可以如本领域已知的并且取决于用于产生该抗原结合蛋白的宿主细胞而被掺入表达载体中。表达载体的实例包括但不限于质粒、病毒载体、非游离型哺乳动物载体和其他表达载体。通常,编码所希望的多肽的核酸序列与任何数量的调节元件(启动子、复制起点、选择标志物、核糖体结合位点、诱导子等)可操作地连接。表达载体可以是染色体外载体或整合载体。

[0297] 本披露的核酸和/或表达载体任选地被引入本领域熟知的任何数量的不同类型的宿主细胞(包括哺乳动物、细菌、酵母、昆虫和/或真菌细胞)中,其中哺乳动物细胞(例如,CHO细胞)可用于许多实施例。在另一个方面,本披露提供了这样的宿主细胞,其中已经引入编码抗原结合蛋白的表达载体。适合的哺乳动物宿主细胞系的实例包括猴肾细胞的COS-7系(ATCC CRL 1651)(Gluzman等人.,1981,Cell[细胞]23:175)、L细胞、人胚肾293细胞或其衍生物(例如,HEK293T、HEK293-EBNA)、C127细胞、小鼠胚胎成纤维细胞(3T3细胞)(ATCC CCL 163)、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞和其衍生物(例如,CHO-K1、CHO pro-3)、小鼠骨髓瘤细胞(例如,NS0、GS-NS0、Sp2/0)、人宫颈癌细胞(HeLa细胞)、幼仓鼠肾(BHK)细胞(ATCC CRL 10)细胞系、人骨肉瘤上皮细胞U2-OS、腺癌人肺泡基底上皮细胞(A549)、人纤维肉瘤细胞(HT1080)、小鼠脑肿瘤细胞(CAD)、胚胎瘤细胞(P19)、小鼠神经母细胞瘤细胞(N2a)、人乳腺癌细胞s(MCF-7)、视网膜母细胞瘤细胞(Y79)、人视网膜母细胞瘤细胞(SO-Rb50)、人肝癌细胞(Hep G2)、小鼠B骨髓瘤细胞(J558L)、和非洲绿猴肾细胞(例如,COS细胞、VERO细胞和其衍生物(包括如由McMahan等人.,1991,EMBO J.[欧洲分子生物学学会会刊]10:2821所描述

的来源自非洲绿猴肾细胞系CVI (ATCC CCL 70)的CVI/EBNA细胞系)。可以在促进抗原结合蛋白表达的条件下培养转化的细胞,并通过常规蛋白质纯化程序回收蛋白质。一种这样的纯化程序包括使用亲和色谱法,例如经过STEAP1的全部或部分(例如,一个或多个胞外环)与其结合的基质。考虑用于本文的抗原结合蛋白包括基本上不含污染性内源物质的基本上均质的重组抗原结合蛋白。

[0298] 关于异源二聚体抗体,在多个方面,提供了组合物,该组合物包含编码第一单体的核酸、编码第二单体的核酸、和编码共同轻链的核酸。本披露还提供了编码单体和共同轻链的部分的核酸构建体(例如结合STEAP1的抗STEAP1 Fab或包含本文披露的六个CDR的抗体片段)、抗CD3 scFv、结合STEAP1和/或CD3的可变轻链和/或可变重链结构域等。

[0299] 在一些实施例中,通常在不同或相同的启动子控制下,编码每个单体的核酸和任选地编码共同轻链的核酸各自包含在单一表达载体内。在多个实施例中,这两个或三个核酸中的每一个都包含在不同的表达载体上。如美国专利公开号2016/0215063(在此通过引用以其全文并入本文,并特别地是关于对重组抗体产生的讨论)中所述,可以使用不同的载体比率用于驱动异源二聚体形成。令人惊讶地,在抗体构建体包含以1:1:2比率的第一单体:第二单体:轻链的情况下,这些不一定是产生最佳结果的比例。参见美国专利公开号2016/0215063的图65,通过引用并入本文。在多个方面,本披露提供了核酸组合物,其包含:a)包含第一核酸的第一表达载体,该第一核酸编码第一单体;b)包含第二核酸的第二表达载体,该第二核酸编码第二单体;和c)包含第三核酸的第三表达载体,该第三核酸编码共同轻链。在可替代的实施例中,编码共同轻链的第三核酸与第一或第二核酸存在于相同的表达载体上。

[0300] 异源二聚体抗体任选地通过培养包含一种或多种表达载体的宿主细胞来制备。一旦产生,就进行抗体纯化步骤,典型地包括离子交换色谱步骤。如本文所讨论的,使两个单体的pI相差至少0.5可以允许通过离子交换色谱或等电聚焦或对等电点敏感的其他方法进行分离。换言之,包含改变每个单体的等电点(pI)的pI取代使得每个单体具有不同的pI,并且异源二聚体也具有不同的pI,从而促进等电纯化异源二聚体(例如,阴离子交换柱,阳离子交换柱)。这些取代还有助于确定和监测纯化(例如,IEF凝胶、cIEF和分析IEX柱)后的任何污染性mAb同源二聚体。

[0301] 药剂盒

[0302] 在一些实施例中,本披露的抗原结合蛋白在药剂盒中提供。在示例性方面,该药剂盒包含作为单位剂量(即,分散在合适的载体中的离散量)的抗原结合蛋白。在示例性方面,该药剂盒包含若干个单位剂量,例如,一周或一个月的单位剂量供应,任选地,每个单位剂量单独包装或以其他方式与其他单位剂量分开包装。在一些实施例中,该药剂盒/单位剂量的组分与对患者给药的说明书一起包装。在一些实施例中,该药剂盒包含一种或多种用于向患者施用的装置,例如针和递送装置(如注射器)等。在一些方面,抗原结合蛋白以即用形式(例如注射器,静脉输液袋等)预包装,但还考虑抗原结合蛋白可以按需要重构的冻干形式提供。在一些方面,试剂盒进一步包含包括本文所述的任何一种的其他治疗剂或诊断剂或药学上可接受的运载体(例如,溶剂、缓冲剂、稀释剂等)。

[0303] 在此所引用的所有参考文献(包括出版物、专利申请、和专利)均通过引用在此并入,引用的程度如同每个参考文献被个别地并且明确地指示通过引用结合并且以其全部内

容在此阐述。

[0304] 给出以下实施例仅用于说明本披露而不以任何方式限制其范围。

[0305] 实例

[0306] 实例1

[0307] 该实例描述了使用如上所述的单特异性抗体在前列腺癌细胞的表面上检测STEAP1。

[0308] 将使用针对STEAP1的CRISPR构建体被工程化以丧失STEAP1表达的前列腺癌细胞(C4-2B luc细胞(图11A)或C4-2B luc^{STEAP1 KO}细胞(图11B))与同种型对照抗体或抗STEAP1小鼠单克隆抗体(Ab-Am)以10μg/mL的浓度在4°C下孵育1小时。在与FITC缀合的(图11A)或APC缀合(图11B)的抗小鼠IgG二抗孵育后,通过流式细胞术检测细胞结合的Ab-Am。将鉴定STEAP1依赖性信号的FITC或APC荧光绘制在直方图(实心灰色直方图)中,并与同种型对照(白色直方图)进行比较。结果显示在图11A和11B中。

[0309] 实例2

[0310] 该实例描述了抗STEAP1抗体的表征。

[0311] 产生一组22种抗人STEAP1小鼠单克隆抗体。与其他测试相比,抗体A显示出改进的流式细胞术结合特性(亲本mAb结合LnCAP(+)/DU145(-)FACS转换(倍数):Ab-A(60.1)、Ab-B(3.6)、Ab-C(2.4)、和Ab-D(4.3)。

[0312] 为确定由本披露的抗体识别的STEAP1区,产生嵌合构建体,其中STEAP1的三个胞外环中的每一个被相应的STEAP2区替换并在293细胞中表达。Ab-A结合STEAP1,并且不结合STEAP2。用来自STEAP2的相应的环替换STEAP1的胞外环1和3消除了结合,而当胞外环2被STEAP2对应物替换时,Ab-A与STEAP1的结合未被破坏。Ab-A似乎与STEAP1的胞外环2外结合。

[0313] 如在例如美国专利公开号2016/0215063中所述,以“XmAb”型式制备包含Ab-A1、Ab-A2(N67Q)和Ab-B1的STEAP-1结合臂以及抗CD3结合臂的异源二聚体抗体。这些异源二聚体抗体显示出TDCC活性(pM):Ab-A1x(273.8)、Ab-A2x(387.9)、和Ab-B1x(128.7)。

[0314] 实例3

[0315] 该实例比较了具有本披露的异源二聚体抗STEAP1/抗CD3(Xmab²⁺¹)的不同支架的抗STEAP1/抗CD3双特异性抗体(XmAb)与C4-2B细胞的结合(由EC50表征)。

[0316] 如例如美国专利公开号2016/0215063(通过引用并入本文,特别地是关于对“开瓶器”型式的讨论)中所述产生处于“XmAb”型式的三种抗STEAP1人源化抗体(Ab-A1、Ab-A2(N67Q)和Ab-B1)。该XmAb型式需要:包含与抗CD3 scFv附接的Fc结构域的第一重链;包含Fc结构域和第一可变重链结构域的第二重链;以及包含可变轻链结构域和恒定轻链结构域的轻链。可变重链结构域和所述可变轻链结构域与STEAP1结合。以异源二聚体XmAb²⁺¹型式(Ab-A1 XmAb²⁺¹和Ab-B1 XmAb²⁺¹)产生两种抗STEAP1人源化抗体。Ab-A1 XmAb²⁺¹和Ab-B1 XmAb²⁺¹的CDR序列列出在SEQ ID NO:11-16(Ab-A1 XmAb²⁺¹)和SEQ ID NO:30-35(Ab-B1 XmAb²⁺¹)中。还产生了具有N67Q修饰的Ab-A1 XmAb²⁺¹的变体,本文中被命名为Ab-A2(N67Q)XmAb²⁺¹。Ab-A2(N67Q)XmAb²⁺¹的CDR序列列出在SEQ ID NO:11-13、14、16和21中。抗体命名Ab-A2和Ab-A2(N67Q)XmAb²⁺¹在本文中可互换地使用。评估异源二聚体双特异性抗体与在C4-2B前列腺癌细胞的表面上表达的STEAP1结合的能力,以及评估未被人源化的处于XmAb

型式(Ab-Mx1、Ab-Mx2、和Ab-Mx3)的三种小鼠抗STEAP1抗体。

[0317] 将C4-2B-Luc细胞与递增浓度的Ab-A1 XmAb²⁺¹、Ab-A1 Xmab、Ab-B1 Xmab、Ab-Mx1、Ab-Mx2和Ab-Mx3在4℃下孵育至5μM,持续1小时。与APC缀合的抗人IgG二抗孵育后,通过流式细胞术检测细胞结合的抗体,并且检测递增浓度的各抗体的APC通道的平均荧光强度(MFI)。如表3所示,Ab-A1 Xmab²⁺¹表明细胞结合比处于XmAb型式的相同结合剂(即,Ab-A1 Xmab)的结合EC50低65倍,表明超过相应XmAb的非常强的亲合力。XmAb²⁺¹型式显著改进了Ab-A结合剂与在前列腺癌细胞上表达的STEAP1的结合。

[0318] 表3.抗STEAP XmAb和抗STEAP Xmab²⁺¹与C4-2B细胞的结合EC50

抗体分子	EC50 (nM)
Ab-A1 Xmab	144.0
Ab-B1 Xmab	798.1
Ab-Mx1	1226
Ab-Mx2	1252
Ab-Mx3	5005
Ab-A1 XmAb ²⁺¹	2.203

[0320] 用Ab-A按以下多种型式(Ab-A(传统的、单特异性抗体、非人源化)重复实验:Ab-A1 XmAb型式、Ab-A1 Xmab²⁺¹型式、和Ab-A2(N67Q)Xmab²⁺¹型式(具有N67Q修饰)和Ab-B XmAb型式。在4℃下,将C4-2B-Luc细胞用递增浓度的抗STEAP1 XmAb或XmAb²⁺¹分子一起孵育至5μM,持续1小时。与APC缀合的抗人IgG二抗孵育后,通过流式细胞术检测细胞结合的XmAb,并且展示递增浓度的各抗STEAP1 XmAb分子的APC通道的平均荧光强度(MFI)。结果显示在以下图12A-12C和图13和表4中。

[0321] 表4. EC50结合至C4-2B luc细胞

型式	STEAP1结合剂	结合剂种类	EC ₅₀ (nM)
mAb	Ab-A	小鼠	1.2
XmAb	Ab-A1 Xmab	人源化	144
XmAb ²⁺¹	Ab-A1 XmAb ²⁺¹	人源化	2.2
XmAb ²⁺¹	AbA2-(N67Q) XmAb ²⁺¹	人源化	1.2
XmAb	Ab-B1 Xmab	人源化	48.9

[0323] 无论异源二聚体型式如何,这些抗体均结合STEAP1。与其他抗体型式相比,XmAb²⁺¹型式表明与STEAP1的改进的结合。

[0324] 还使用与上述方法类似的方法评估TDCC活性。所有测试的抗体均显示TDCC活性,其中XmAb²⁺¹的抗体表现出比Xmab抗体更好的活性:Ab-A XmAb(EC50=274pM,EC90=438pM)、Ab-A1 Xmab(EC50=388pM,EC90=722pM)、Ab-B1 Xmab(EC50=129pM,EC90=265pM)、Ab-A1 Xmab²⁺¹(EC50=6pM,EC90=11pM)、和Ab-B1 Xmab²⁺¹(EC50=19pM,EC90=43pM)。

[0325] 实例5

[0326] 该实例表征由抗STEAP1 XmAb和XmAb²⁺¹介导的人T细胞对人肿瘤细胞系C4-2B luc的裂解。

[0327] 将C4-2B luc前列腺癌细胞与人泛T细胞按E:T细胞比率为10比1,以及递增浓度的

(图14A) Ab-A1 XmAb、(图14B) Ab-A1XmAb²⁺¹、或(图14C) Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹型式(具有N67Q取代)共培养持续48小时。通过荧光素酶活性测量监测靶细胞裂解,并且与无XmAb对照条件相比,在每个浓度下绘制特异性细胞毒性。如图14A-14C所示,Ab-A1 Xmab、Ab-A1 XmAb²⁺¹和Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹成功介导靶细胞裂解。

[0328] 实例6

[0329] 该实例证明了本披露的异源二聚体抗体区分表达STEAP1细胞和不表达STEAP1的细胞的能力。

[0330] STEAP1阳性C4-2B luc前列腺癌细胞(●)和STEAP1阴性C4-2B luc^{STEAP1 KO}细胞(■)与人泛T细胞按E:T细胞比率为10比1以及递增浓度的Ab-A1 XmAb²⁺¹共培养48小时。通过荧光素酶活性测量监测靶细胞裂解,并且与对照条件(缺少XmAb)相比,在每个浓度下绘制特异性细胞毒性。结果示于以下图15和表5中。Ab-A1 XmAb²⁺¹剂量依赖性地介导人肿瘤细胞系C4-2B luc的靶细胞裂解,但不介导被修饰以敲除STEAP1表达的C4-2B luc细胞的裂解。

[0331] 表5. 在抗STEAP1 XmAb (Ab-A1 XmAb) 和XmAb²⁺¹ (Ab-A1和Ab-A2 (N67Q)) 变体情况下针对C4-2B luc和C4-2B luc^{STEAP1KO}的T细胞依赖性细胞毒性 (TDCC) EC50

型式	STEAP1 结合剂	结合剂种类	靶细胞系	TDCC EC ₅₀ (pM)
XmAb	Ab-A1	人源化	C4-2B luc	324.9
[0332] XmAb ²⁺¹	Ab-A1	人源化		6.3
XmAb ²⁺¹	Ab-A2(N67Q)	人源化		5.4
XmAb ²⁺¹	Ab-A1	人源化	C4-2B luc ^{STEAP1KO}	> 10,000

[0333] 另外,用人STEAP1稳定转染的293T细胞(图16A)或亲本293T细胞(图16B)与同种型对照抗体或抗STEAP1 Ab-A小鼠单克隆抗体(Ab-Am;无双特异性型式)按10μg/mL的浓度在4℃下孵育1小时。在与FITC缀合的抗小鼠IgG二抗(图16A)孵育后,通过流式细胞术检测细胞结合的Ab-Am。将鉴定STEAP1依赖性信号的FITC荧光绘制在直方图(实心灰色直方图)中,并与同种型对照(白色直方图)进行比较。如图16A和16B所示,Ab-Am检测在两个所测试的细胞群中表达的STEAP-1。

[0334] 图16C说明了将STEAP1稳定的293T细胞(●)和STEAP1阴性亲本293T细胞(■)与人泛T细胞按E:T细胞比率为10比1以及递增浓度的Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹共培养持续48小时的结果。通过荧光素酶活性测量监测靶细胞裂解,并且与无XmAb对照条件相比,在每个浓度下绘制特异性细胞毒性。结果示于以下图16A-16C和表6中。抗STEAP1/抗CD3异源二聚体抗体选择性地介导表达STEAP1的细胞的细胞裂解。

[0335] 表6. 在Ab-A2-N67Q XmAb²⁺¹情况下针对用人STEAP1稳定转染的293T细胞和亲本293T细胞的T细胞依赖性细胞毒性 (TDCC) EC50

分子型式	STEAP1结合剂	结合剂种类	靶细胞系	TDCC EC ₅₀ (pM)
[0336] XmAb ²⁺¹	Ab-A2 (N67Q)	人源化	293T/STEAP1	0.1

XmAb ²⁺¹	Ab-A2 (N67Q)	人源化	293T/亲本	>10,000
---------------------	--------------	-----	---------	---------

[0337] 还将STEAP1阳性C4-2B luc前列腺癌细胞与人泛T细胞按E:T细胞比率为10比1以及递增浓度的Ab-B1 Xmab (●) 或Ab-B1XmAb²⁺¹ (■) 共培养持续48小时。如图17A所示, Ab-B1 Xmab和Ab-B1 XmAb²⁺¹介导C4-2B luc前列腺癌细胞的靶细胞裂解。

[0338] 将C4-2B luc前列腺癌细胞与人泛T细胞按E:T细胞比率为10比1以及递增浓度的XmAb²⁺¹Ab-B1-G37A (具有G37A取代的XmAb²⁺¹) (■)、XmAb²⁺¹Ab-B1-S39A (具有S39A取代的XmAb²⁺¹型式) (▲)、或XmAb²⁺¹Ab-B1-G37A/S39A (同时具有G37A和S39A取代的XmAb²⁺¹型式) (▼) 共培养持续48小时。如图17B中显示, Ab-B1变体 (即, Ab-B1-G37A、Ab-B1-S39A、和Ab-B1-G37A/S39A) 介导C4-2B luc前列腺癌细胞的靶细胞裂解。还参见以下表7。类似地, 将STEAP1阴性C4-2B luc^{STEAP1 KO}癌细胞与人泛T细胞按E:T细胞比率为10比1以及递增浓度的Ab-B1 XmAb²⁺¹ (●)、Ab-B1-G37A (■)、Ab-B1-S39A (▲)、或Ab-B1-G37A/S39A (▼) 共培养持续48小时。通过荧光素酶活性测量监测靶细胞裂解, 并且与无XmAb对照条件相比, 在每个浓度下绘制特异性细胞毒性。结果示于以下图17C和表7中。抗STEAP1/抗CD3异源二聚体抗体选择性地介导表达STEAP1的细胞的细胞裂解, 并且本披露的XmAb²⁺¹型式优于其他型式。

[0339] 表7. 在Ab-B1变体情况下针对C4-2B luc和C4-2B luc^{STEAP1KO}的T细胞依赖性细胞毒性 (TDCC) EC50

分子型式	STEAP1 结合剂	靶细胞系	TDCC EC ₅₀ (pM)
XmAb	Ab-B1	C4-2B luc	326.2
XmAb ²⁺¹	Ab-B1		111.9
XmAb ²⁺¹	Ab-B1-G37A		42.5
XmAb ²⁺¹	Ab-B1-S39A		34.9
XmAb ²⁺¹	Ab-B1-G37A/S39A		184.8
XmAb ²⁺¹	Ab-B1	C4-2B luc ^{STEAP1 KO}	>10,000
XmAb ²⁺¹	Ab-B1-G37A		>10,000
XmAb ²⁺¹	Ab-B1-S39A		>10,000
XmAb ²⁺¹	Ab-B1-G37A/S39A		>10,000

[0341] 实例7

[0342] 该实例表征了本披露的异源二聚体抗体Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹针对人和食蟹猴CD3ε的平衡结合常数 (KD)。

[0343] 使用表面等离子体共振 (SPR-Pioneer FE), 测量重组人或食蟹猴CD3ε的亲合力Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹。使用标准胺偶联程序, 在约60RU下, 将重组人CD3ε-Fc和食蟹猴CD3ε-Fc固定在CM5芯片表面上。将Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹按100、33.3、11.1和3.7nM的浓度注射。如下表8中所列, 分别针对120秒和300秒记录Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹与配体相互作用的缔合速率和解离速率。平衡解离常数 (K_D) 值作为解离速率常数和缔合速率常数 (k_{解离}/k_{缔合}) 的比率导出。

[0344] 表8. Ab-A2-N67Q XmAb²⁺与人和食蟹猴CD3相互作用的缔合速率和解离速率“a”表

示使用BIAcore®生成的数据,并且“b”表示使用Octet生成的数据

[0345]	分子型式	STEAP1 结合剂	测量方法	对人 CD3ε 的 K _D (nM)	对食蟹猴 CD3ε 的 K _D (nM)
	XmAb ²⁺¹	Ab-A2(N67Q)	SPR	16.3 ^a 至 27.6 ^b	15.1 ^a 至 25.8 ^b

[0346] 实例8

[0347] 该实例说明了本披露的异源二聚体抗体 (Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹) 介导显示一系列 STEAP1表面密度的靶细胞的裂解。

[0348] 评估多种靶细胞系 (SNU-5、C4-2B、Sk-N-MC、LOX-IMVI、VCaP、IM-95、TYKNU、22RV-1、HBSCM、HUCCT1、PC3、HCT116和NCIH1869) 表面上的STEAP-1密度。参见下表9, 鉴定了如使用Dako Qifikit方法测量的在第3列中的STEAP1密度 (STEAP I抗体结合位点的数目/细胞)。

[0349] 表9. STEAP1表面密度和T细胞依赖性细胞毒性 (TDCC) EC50和EC90

细胞系	组织来源	STEAP1 (Qifikit)	EC50 (pM)	EC90 (pM)
SNU5	胃	220,612	6.2	13.7
C4-2B	前列腺	150,072	6.8	16.1
SK-N-MC	神经母细胞 瘤	19,057	10.4	33.9
LOX-IMVI	皮肤	9,765	36.6	112
VCaP	前列腺	8,148	722	9,904
IM-95	胃	7,824	344.7	1,643
TYKNU	卵巢	6,293	1,716	>10,000
22RV-1	前列腺	5,671	257.3	1,604
HBSCM	平滑肌	~5,000	1,517.5	>10,000
HUCCT1	胆道	4,295	>10,000	>10,000
PC3	前列腺	~4,000	>10,000	>10,000
HCT116	结肠	3,785	336	1,796
NCIH1869	肺	1,915	>10,000	>10,000

[0351] 在单独的研究中,评估了OE33、EBC1、和A673细胞系表面上的STEAP-1密度。参见下表10, 鉴定了如使用Dako Qifikit方法测量的在第3列中的STEAP1密度 (STEAP I抗体结合位点的数目/细胞)。

细胞系	组织来源	STEAP1 (Qifikit)	EC50 (pM)	EC90 (pM)
OE33	食管	83,303	145	3,022
EBC1	肺	32,718	162	2,741
A673	骨	25,241	122	1,587

[0353] 将来自人供体的T细胞与靶细胞系,以及递增浓度的Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹分子在37°C下孵育48小时。48小时后,使用稳定的glo (B) 或细胞滴度glo测量靶细胞活力从而测量细胞活力。Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹杀伤细胞系,其中EC90不同。

[0354] Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹能够杀伤癌细胞系,这些癌细胞系具有从约200,000个STEAP1

受体/细胞 (SNU5细胞系) 降至约10,000个STEAP1受体/细胞 (LOX-IMV细胞系) 范围内的STEAP1密度。当STEAP1受体密度降至10,000个/细胞时, Ab-A2 (N67Q) XmaB²⁺¹的效力降低。在该方面, Ab-A2 (N67Q) XmaB²⁺¹ 优先介导T细胞依赖性地杀伤STEAP1的表面密度高于10,000的细胞 (例如, 与STEAP1的表面密度低于10,000的细胞相比, 对于STEAP1的表面密度高于10,000的细胞的EC90低至少10倍)。

[0355] 与Ab-A2-N67G XmaB²⁺¹相比, 用处于XmaB²⁺¹型式 (Ab-B-G52A XmaB²⁺¹和小鼠抗体 Ab-Cm XmaB²⁺¹) 的其他抗体评估癌细胞的差异杀伤。Ab-A2-N67G XmaB²⁺¹表明高表达和低表达STEAP1的细胞之间的差异杀伤, 然而Ab-B-G52A XmaB²⁺¹没有在高表达和低表达STEAP1的表达细胞之间区分, 而是杀伤每个表达STEAP1细胞。参见表11。Ab-A2-N67G XmaB²⁺¹不伤害以较低水平 (即, 低于10,000/细胞) 表达STEAP1的正常细胞, 例如HSMBC (初始人平滑肌支气管细胞)。

[0356] 表11. Ab-B1 XmaB²⁺¹和Ab-Cm XmaB²⁺¹杀伤高表达和低表达STEAP1的细胞。

Ab (XmaB ²⁺¹)	C4-2B-Luc ~ 150,000 R/C		C4-2B K-O ~ 0 R/C		LOX-IMVI ~10,000 R/C		IM95-Luc ~8,000 R/C	
	Ec50 (pM)	EC90 (pM)	Ec50 (pM)	EC90 (pM)	Ec50 (pM)	EC90 (pM)	Ec50 (pM)	EC90 (pM)
Ab-A2-N67G	5	19.4	>30,000	>30,000	47.1	445.2	344.7	1,643
Ab-B1-G52A	48.9	205	>30,000	>30,000	22	45.6	13.2	37.7
Ab-Cm	23.3	64.3	>30,000	>30,000	27.6	464.7	6.6	21.1

Ab (XmaB ²⁺¹)	HCT116-Luc ~ 4,000 R/C		HSMBC ~ 4,000 R/C		OVCARB 低于 FACS 检测		NB-4-Luc o R/C - 无 mRNA	
	Ec50 (pM)	EC90 (pM)	Ec50 (pM)	EC90 (pM)	Ec50 (pM)	EC90 (pM)	Ec50 (pM)	EC90 (pM)
Ab-A2-N67G	336	1,796	2,008	>6000	3,623	12,946	>30,000	>30,000
Ab-B1-G52A	43.6	207.4	27.5	108	80.5	609	>30,000	>30,000
Ab-Cm	11.6	75.8	48.5	109.2	18.7	207.9	>30,000	>30,000

[0359] 实例9

[0360] 该实例表明, 使用本文所述的抗CD3/抗STEAP1异源二聚体抗体与抗PD-1抗体的组合, 增强T细胞依赖性细胞毒性。

[0361] PD-L1过表达细胞系的产生: 在补充有10%胎牛血清、1%Pen/Strep、1%HEPES、和1%GlutaMAX的DMEM培养基中培养GP2-293细胞。将细胞以75%汇合铺板于10cm培养皿中, 并在37°C, 5%CO₂下孵育过夜。第二天早上, 将细胞进行转染。向管A中添加45μL的脂质体3000和500μL的OptiMEM培养基。向管B中, 添加15μg的MSCV_GFP_PD-L1质粒、1.8μg的VSV-g质粒、30μL P3000试剂、和500μL的OptiMEM培养基。将管A和管B混合, 并在室温下孵育10分钟。将混合物逐滴添加至GP2-293细胞的培养皿中, 在37°C, 5%CO₂下孵育过夜。第二天早上, 取出培养基并用10mL新鲜培养基替换。当天下午, 将靶细胞以75%汇合铺板于6孔板中, 并在37°C, 5%CO₂下孵育过夜。第二天早晨, 从GP2-293细胞中收集病毒上清液并离心 (5分钟, 1200rpm)。将上清液收集在新管中, 并以1:1000添加聚凝胺。从含有靶细胞的平板中去除培养基, 并添加2mL病毒上清液。对于悬浮细胞, 将1E6细胞以1500rpm离心5分钟, 重悬于500μL补充有10%胎牛血清和1%pen/strep的RPMI中, 并铺板于6孔板中, 向其中添加2mL病毒上清液。将含有靶细胞和病毒上清液的平板在1200x g, 32°C下离心1.5小时, 然后在37

℃, 5%CO₂下孵育。5小时后添加培养基。四天后,用FACSymphony,通过流式细胞术分析细胞的GFP和PD-L1表达。使用PE缀合的抗体(克隆29E.2A3)检测PD-L1。在BD Melody分选仪上对PD-L1表达<70%阳性的细胞进行分选,以选择表达高水平PD-L1的细胞。

[0362] T细胞依赖性细胞毒性(TDCC)测定:将Ab-A2(N67Q) X_mAb²⁺¹稀释于细胞培养基(RPMI、10%热灭活的胎牛血清、1X GlutaMAX、1X Pen/Strep)中,连续稀释(1:3,总共22次)并使用Bravo液体处理机器转移至具有黑色、透明底的384孔板中。使用磁铁从珠分离CD3/CD28 Dynabeads(1:1,48小时)预活化的人泛T细胞(n=4),并在细胞培养基中稀释。(通过流式细胞术评估来自每个供体的活化T细胞的等分试样的PD-1表达。如上所述对细胞进行染色,并在FACSymphony流式细胞仪上收集数据,并使用FlowJo v10.1进行分析。)将活化的T细胞(2500个细胞/20μL;4行/供体),随后是过表达PD-L1的靶细胞铺板于384孔测定板(2500个细胞/20μL;全板)中,使得最终的效应子与靶细胞(E:T)比率为1:1。将包含SEQ ID NO:189-194的CDR序列的本披露的抗PD-1抗体(5μL中最终为10μg/mL)添加至每种T细胞供体的两行中。将板用MicroClime盖覆盖,并在37℃,5%CO₂下孵育24小时。对于具有表达荧光素酶的靶细胞的测定,添加30μL的Steady-Glo、Bright-Glo、或One-Glo试剂(普洛麦格公司(Promega))。用PBS洗涤具有不表达荧光素酶的粘附靶细胞的平板,以使用EL406平板洗涤器去除T细胞,并添加25μL细胞滴度Glo试剂。将板在室温下在黑暗中与试剂一起孵育10分钟。使用BioTek Neo读板仪检测发光。相对于用不含Ab-A2 X_mAb²⁺¹的T细胞孵育的靶细胞,计算特异性细胞毒性。使用Graphpad Prism软件绘制剂量曲线并用四参数可变斜率曲线拟合计算EC50值。

[0363] TDCC测定的结果示于图20A和20B中。与单独的Ab-A2(N67Q) X_mAb²⁺¹相比,Ab-A2(N67Q) X_mAb²⁺¹和抗PD-1抗体的组合显示出增强的细胞毒性和降低的EC50。

[0364] 实例10

[0365] 该实例说明了本披露的异源二聚体抗体(例如,Ab-A2(N67Q) X_mAb²⁺¹)在体内减小尤文肉瘤肿瘤体积的能力。

[0366] 在第1天,用5x10⁶个表达STEAP1的SK-N-MC肿瘤细胞移植亚致死照射的NOD/SCID雌性免疫受损小鼠。在第8天,腹膜内注射2x10⁷CD3+人T细胞。在第12、19、和26天,按0.01、0.1、或1mg/kg,通过静脉内(IV)推注施用Ab-A2(N67Q) X_mAb²⁺¹或媒介物对照。随时间的肿瘤体积数据以图形方式呈现(图22)。

[0367] Ab-A2(N67Q) X_mAb²⁺¹诱导初始肿瘤消退,其中在第15天和第22天之间在所有剂量组中相对肿瘤体积(RTV)<1,而媒介物处理的动物的RTV持续增加直至研究结束。来自接受最低剂量Ab-A2(N67Q) X_mAb²⁺¹(0.01mg/kg)的动物的肿瘤在第22天后开始继续生长,而用更高Ab-A2(N67Q) X_mAb²⁺¹剂量(0.1和1mg/kg)处理的小鼠平均RTV分别<1直到第28和25天(表12)。

[0368] 表12. 与第11天相比的相对肿瘤体积

[0369]

剂量组	参数	第 11 天	第 13 天	第 15 天	第 18 天	第 20 天	第 22 天	第 25 天	第 28 天
2.媒介物	平均值	1.00	1.19	1.36	1.88	2.40	2.93	3.89	5.29
	SEM	0.00	0.05	0.05	0.13	0.20	0.30	0.39	0.45
1.无 T 细胞的媒介物	平均值	1.00	1.07	1.46	1.88	2.87	3.48	4.17	5.02
	SEM	0.00	0.02	0.14	0.17	0.44	0.32	0.39	0.52
3.Ab-A2 XmAb ²⁺¹ (1.0 mg/kg)	平均值	1.00	1.09	0.91	0.51	0.47	0.37	0.41	0.61
	SEM	0.00	0.05	0.07	0.13	0.17	0.19	0.27	0.46
4.Ab-A2 XmAb ²⁺¹ (0.1 mg/kg)	平均值	1.00	1.03	0.79	0.49	0.42	0.27	0.51	1.13
	SEM	0.00	0.07	0.06	0.05	0.06	0.07	0.22	0.39
5.Ab-A2 XmAb ²⁺¹ (0.01 mg/kg)	平均值	1.00	1.18	0.86	0.75	0.63	0.93	2.46	4.24
	SEM	0.00	0.09	0.08	0.08	0.08	0.15	0.35	0.54

[0370] 在第15和第22天之间,当与媒介物处理的对照组2相比时,在所有Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹剂量水平处达到p值<0.001,并且在第22天后,在0.1和1mg/kg Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹剂量处达到p值<0.001(图23)。在第28天,媒介物处理的小鼠(第2组)的肿瘤相对于在初始处理之前的初始体积具有平均5.29倍更大的体积,而在Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹处理组中组平均RTV为0.61(第3组)、1.13(第4组)和4.24(第5组)(表1)。在第28天生命期结束时,最高Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹剂量组(第3组)中9/10的动物被认为是无肿瘤的,其中肿瘤生长抑制(TGI)为97%(表13)。

[0371] 表13. 肿瘤生长抑制(肿瘤体积)

[0372]

剂量组	参数	第 11 天	第 13 天	第 15 天	第 18 天	第 20 天	第 22 天	第 25 天	第 28 天
2.媒介物	中值	196.61	225.01	253.27	348.93	468.93	590.08	837.07	955.14
	T/C (%)	100	100	100	100	100	100	100	100
1.无 T 细胞的媒介物	中值	203.63	229.86	286.81	323.09	563.09	598.48	673.42	885.10
	T/C (%)	104	102	113	93	120	101	80	93
	TGI (%)	-4	-2	-13	7	-20	-1	20	7
3.Ab-A2 XmAb ²⁺¹ (1.0 mg/kg)	中值	197.87	206.94	166.09	78.41	59.90	33.53	27.07	29.77
	T/C (%)	101	92	66	22	13	6	3	3
	TGI (%)	-1	8	34	78	87	94	97	97
4.Ab-A2 XmAb ²⁺¹ (0.1 mg/kg)	中值	197.59	198.67	144.59	88.07	76.73	41.56	55.86	106.87
	T/C (%)	100	88	57	25	16	7	7	11
	TGI (%)	0	12	43	75	84	93	93	89
5.Ab-A2 XmAb ²⁺¹ (0.01 mg/kg)	中值	200.97	217.31	150.74	121.75	115.60	202.07	431.89	867.08
	T/C (%)	102	97	60	35	25	34	52	91
	TGI (%)	-2	3	40	65	75	66	48	9

[0373] 因此,在临床上相关的异种移植模型中,Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹展示出令人信服的抗肿瘤活性。

序列表

<110> 美国安进公司 (AMGEN INC.)
 <120> 抗 STEAP1 抗原结合蛋白
 <130> 32512/52601
 <150> US 62/693216
 <151> 2018-07-02
 <150> US 62/800,259
 <151> 2019-02-01
 <160> 214
 <170> PatentIn 3.5 版
 <210> 1
 <211> 207
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 1

[0001]

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

<210> 2
 <211> 339
 <212> PRT

<213> 智人
 <400> 2
 Met Glu Ser Arg Lys Asp Ile Thr Asn Gln Glu Glu Leu Trp Lys Met
 1 5 10 15
 Lys Pro Arg Arg Asn Leu Glu Glu Asp Asp Tyr Leu His Lys Asp Thr
 20 25 30
 Gly Glu Thr Ser Met Leu Lys Arg Pro Val Leu Leu His Leu His Gln
 35 40 45
 Thr Ala His Ala Asp Glu Phe Asp Cys Pro Ser Glu Leu Gln His Thr
 50 55 60
 Gln Glu Leu Phe Pro Gln Trp His Leu Pro Ile Lys Ile Ala Ala Ile
 65 70 75 80
 Ile Ala Ser Leu Thr Phe Leu Tyr Thr Leu Leu Arg Glu Val Ile His
 85 90 95
 Pro Leu Ala Thr Ser His Gln Gln Tyr Phe Tyr Lys Ile Pro Ile Leu
 100 105 110
 Val Ile Asn Lys Val Leu Pro Met Val Ser Ile Thr Leu Leu Ala Leu
 115 120 125
 Val Tyr Leu Pro Gly Val Ile Ala Ala Ile Val Gln Leu His Asn Gly
 130 135 140
 Thr Lys Tyr Lys Lys Phe Pro His Trp Leu Asp Lys Trp Met Leu Thr
 145 150 155 160
 Arg Lys Gln Phe Gly Leu Leu Ser Phe Phe Phe Ala Val Leu His Ala
 165 170 175
 Ile Tyr Ser Leu Ser Tyr Pro Met Arg Arg Ser Tyr Arg Tyr Lys Leu
 180 185 190
 Leu Asn Trp Ala Tyr Gln Gln Val Gln Gln Asn Lys Glu Asp Ala Trp
 195 200 205
 Ile Glu His Asp Val Trp Arg Met Glu Ile Tyr Val Ser Leu Gly Ile
 210 215 220
 Val Gly Leu Ala Ile Leu Ala Leu Leu Ala Val Thr Ser Ile Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Ser Asp Ser Leu Thr Trp Arg Glu Phe His Tyr Ile Gln Ser Lys
 245 250 255
 Leu Gly Ile Val Ser Leu Leu Leu Gly Thr Ile His Ala Leu Ile Phe
 260 265 270
 Ala Trp Asn Lys Trp Ile Asp Ile Lys Gln Phe Val Trp Tyr Thr Pro
 275 280 285
 Pro Thr Phe Met Ile Ala Val Phe Leu Pro Ile Val Val Leu Ile Phe
 290 295 300
 Lys Ser Ile Leu Phe Leu Pro Cys Leu Arg Lys Lys Ile Leu Lys Ile
 305 310 315 320
 Arg His Gly Trp Glu Asp Val Thr Lys Ile Asn Lys Thr Glu Ile Cys
 325 330 335

[0002]

Ser Gln Leu

<210> 3

<211> 121

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 3

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Met Met Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Ser Thr Tyr

 20 25 30

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

 35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe

 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

 85 90 95

Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly

 100 105 110

[0003]

Ala Gly Ser Thr Val Thr Val Ser Ser

 115 120

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 4

Thr Tyr Trp Ile Glu

1 5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 5

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 6

Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val
 1 5 10
 <210> 7
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 小家鼠
 <400> 7
 Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
 35 40 45
 Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala Glu
 65 70 75 80
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Ser Phe Pro Tyr Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

[0004]

<210> 8
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 小家鼠
 <400> 8
 Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
 1 5 10
 <210> 9
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 小家鼠
 <400> 9
 Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 10
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 小家鼠
 <400> 10
 Gln Gln Arg Arg Ser Phe Pro Tyr Thr
 1 5
 <210> 11
 <211> 10

<212> PRT
 <213> 智人
 <400> 11
 Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
 1 5 10
 <210> 12
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 12
 Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 13
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 13
 Gln Gln Arg Arg Ser Phe Pro Tyr Thr
 1 5
 <210> 14
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 14
 Thr Tyr Trp Ile Glu
 1 5
 <210> 15
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 15
 Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 16
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 16
 Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val
 1 5 10
 <210> 17
 <211> 232

[0005]

<212> PRT
 <213> 智人
 <400> 17
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu
 20 25 30
 Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val
 35 40 45
 Ser Tyr Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu
 50 55 60
 Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe
 65 70 75 80
 Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
 85 90 95
 Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Ser Phe
 100 105 110
 Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 115 120 125
 Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
 130 135 140
 Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
 145 150 155 160
 Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
 165 170 175
 Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
 180 185 190
 Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
 195 200 205
 Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
 210 215 220
 Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230
 <210> 18
 <211> 469
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 18
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

Ser Thr Tyr Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu
 50 55 60
 Glu Trp Met Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn
 65 70 75 80
 Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp
 85 90 95
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn
 115 120 125
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 210 215 220
 Val Asn His Lys Pro Ser Asp Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 225 230 235 240
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro
 245 250 255
 Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 260 265 270
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 275 280 285
 Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 290 295 300
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Glu Tyr Asn Ser
 305 310 315 320
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 325 330 335
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 340 345 350
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 355 360 365
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 370 375 380
 Val Ser Leu Thr Cys Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 385 390 395 400

[0007]

Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 405 410 415
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 420 425 430
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val Phe Ser Cys Ser
 435 440 445
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 450 455 460
 Leu Ser Pro Gly Lys
 465
 <210> 19
 <211> 742
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 19
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45
 Ser Thr Tyr Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu
 [0008] 50 55 60
 Glu Trp Met Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn
 65 70 75 80
 Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp
 85 90 95
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn
 115 120 125
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 210 215 220
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro

225	230	235	240
Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln			
	245	250	255
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg			
	260	265	270
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn			
	275	280	285
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile			
	290	295	300
Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys			
305	310	315	320
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu			
	325	330	335
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val			
	340	345	350
Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp			
	355	360	365
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly			
	370	375	380
Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gln Ala			
385	390	395	400
Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val			
	405	410	415
Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr			
	420	425	430
Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly Leu Ile			
	435	440	445
Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly			
	450	455	460
Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Pro			
465	470	475	480
Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp			
	485	490	495
Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser			
	500	505	510
Gly Gly Gly Gly Ser Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro			
	515	520	525
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp			
	530	535	540
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp			
545	550	555	560
Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly			
	565	570	575
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn			

[0009]

		580				585			590						
Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp
		595				600			605						
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro
	610					615			620						
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu
625					630				635					640	
Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Gln	Met	Thr	Lys	Asn
				645					650				655		
Gln	Val	Lys	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile
		660							665				670		
Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr
		675					680						685		
Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys
690						695							700		
Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys
705					710					715					720
Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu
				725						730					735
Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys										
		740													

[0010]	<210>	20													
	<211>	745													
	<212>	PRT													
	<213>	智人													
	<400>	20													

Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp
1				5					10					15	
Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu
			20					25					30		
Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly
		35					40						45		
Tyr	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	Trp	Ile	Glu	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly
	50					55						60			
Gln	Arg	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Glu	Ile	Leu	Pro	Gly	Ser	Gly	Gln	Thr
65					70						75				80
Asp	Phe	Asn	Glu	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Phe	Thr	Ala	Asp	Thr
					85					90					95
Ser	Ser	Asp	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp
			100						105						110
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Arg	Trp	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Thr	Arg	Gly
		115							120						125
Tyr	Phe	Asn	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala
	130								135						140

	Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser		
	145	150	155 160
	Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe		
		165	170 175
	Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly		
		180	185 190
	Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu		
		195	200 205
	Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr		
		210 215	220
	Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys		
	225	230	235 240
	Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
		245	250 255
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
		260	265 270
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr		
		275	280 285
	Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
		290	295 300
	Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp		
	305	310	315 320
[0011]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr		
		325	330 335
	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
		340	345 350
	Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe		
		355	360 365
	Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro		
		370	375 380
	Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly		
	385	390	395 400
	Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly		
		405	410 415
	Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr		
		420	425 430
	Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg		
		435	440 445
	Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg		
		450	455 460
	Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly		
	465	470	475 480
	Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser		
		485	490 495

[0012]

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
 500 505 510
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 515 520 525
 Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 530 535 540
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 545 550 555 560
 Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 565 570 575
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
 580 585 590
 Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 595 600 605
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 610 615 620
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 625 630 635 640
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met
 645 650 655
 Thr Lys Asn Gln Val Lys Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 660 665 670
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 675 680 685
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 690 695 700
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 705 710 715 720
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 725 730 735
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 740 745

<210> 21
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 21

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Gln Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 22
 <211> 121
 <212> PRT

<213> 小家鼠
 <400> 22
 Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Gln Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Met Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Arg Thr Val Ser
 65 70 75 80
 Leu Asp Ile Asn Asp Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Thr Arg Ala Gly Gly Gln Leu Arg Pro Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 23

Asn Tyr Gly Met Asn

1 5

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 24

Trp Met Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 25

<211> 12

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 25

Ala Gly Gly Gln Leu Arg Pro Gly Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 26

<211> 111

<212> PRT

[0013]

<213> 小家鼠
 <400> 26
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30
 Gly Asp Ser Phe Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Asp
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
 65 70 75 80
 Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 Glu Glu Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 27

[0014]

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Phe Met Asn
 1 5 10 15

<210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 28

Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 29

Gln Gln Ser Asn Glu Glu Pro Pro Thr

1 5

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人

<400> 30

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Phe Met Asn
 1 5 10 15

<210> 31
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 31
 Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5
 <210> 32
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 32
 Gln Gln Ser Asn Glu Glu Pro Pro Thr
 1 5
 <210> 33
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 33
 Asn Tyr Gly Met Asn
 1 5
 [0015] <210> 34
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 34
 Trp Met Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 35
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 35
 Ala Gly Gly Gln Leu Arg Pro Gly Ala Met Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 36
 <211> 237
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 36
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15

Val His Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val
 20 25 30
 Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val
 35 40 45
 Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Phe Met Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly
 50 55 60
 Gln Pro Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly
 65 70 75 80
 Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
 85 90 95
 Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln
 100 105 110
 Gln Ser Asn Glu Glu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
 115 120 125
 Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
 130 135 140
 Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
 145 150 155 160
 Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
 165 170 175
 Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
 180 185 190
 Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
 195 200 205
 Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
 210 215 220
 Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235
 <210> 37
 <211> 469
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 37
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Glu Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30
 Pro Gly Ala Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45
 Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala
 65 70 75 80
 Asp Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Ala Arg

[0016]

			85					90				95				
	Thr	Val	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val
			100					105				110				
	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Ala	Gly	Gly	Gln	Leu	Arg	Pro	Gly	Ala	Met	Asp
			115					120				125				
	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
			130				135				140					
	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly
			145				150				155					160
	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
			165					170				175				
	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr
			180					185				190				
	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
			195					200				205				
	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn
			210				215					220				
	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asp	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro
			225				230				235					240
	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro
			245					250				255				
[0017]	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
			260					265				270				
	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
			275					280				285				
	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
			290				295					300				
	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Glu	Tyr	Asn	Ser
			305				310				315					320
	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu
			325					330								335
	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala
			340					345				350				
	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro
			355					360				365				
	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln
			370					375				380				
	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Asp	Val	Ser	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala
			385				390				395					400
	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asp	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr
			405					410				415				
	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu
			420					425				430				
	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Glu	Gln	Gly	Asp	Val	Phe	Ser	Cys	Ser

	435	440	445
	Val Met His Glu Ala Leu	His Asn His Tyr Thr	Gln Lys Ser Leu Ser
	450	455	460
	Leu Ser Pro Gly Lys		
	465		
	<210> 38		
	<211> 742		
	<212> PRT		
	<213> 智人		
	<400> 38		
	Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile	Leu Phe Leu Val Ala Thr	Ala Thr Gly
	1	5	10
	Val His Ser Glu Ile Gln Leu	Val Gln Ser Gly Ala Glu	Val Lys Lys
	20	25	30
	Pro Gly Ala Thr Val Lys Ile	Ser Cys Lys Ala Ser Gly	Tyr Thr Phe
	35	40	45
	Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp	Val Gln Gln Ala Pro Gly	Gln Gly Leu
	50	55	60
	Glu Trp Met Gly Trp Met Asn	Thr Tyr Thr Gly Glu Pro	Thr Tyr Ala
	65	70	75
	Asp Lys Phe Gln Gly Arg Val	Thr Phe Thr Leu Asp Thr	Ser Ala Arg
	85	90	95
[0018]	Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser	Ser Leu Arg Ser Glu Asp	Thr Ala Val
	100	105	110
	Tyr Phe Cys Ala Arg Ala Gly	Gly Gln Leu Arg Pro Gly	Ala Met Asp
	115	120	125
	Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met	Val Thr Val Ser Ser Ala	Ser Thr Lys
	130	135	140
	Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu	Ala Pro Ser Ser Lys Ser	Thr Ser Gly
	145	150	155
	Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys	Leu Val Lys Asp Tyr Phe	Pro Glu Pro
	165	170	175
	Val Thr Val Ser Trp Asn Ser	Gly Ala Leu Thr Ser Gly	Val His Thr
	180	185	190
	Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu	Ser Ser Val
	195	200	205
	Val Thr Val Pro Ser Ser Ser	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr	Ile Cys Asn
	210	215	220
	Val Asn His Lys Pro Ser Asn	Thr Lys Val Asp Lys Lys	Val Glu Pro
	225	230	235
	Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly	Ser Gly Gly Gly Gly Ser	Glu Val Gln
	245	250	255
	Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly	Leu Val Gln Pro Gly Gly	Ser Leu Arg
	260	265	270

[0019]

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn
 275 280 285
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile
 290 295 300
 Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 305 310 315 320
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 325 330 335
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
 340 345 350
 Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp
 355 360 365
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly
 370 375 380
 Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gln Ala
 385 390 395 400
 Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val
 405 410 415
 Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr
 420 425 430
 Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly Leu Ile
 435 440 445
 Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 450 455 460
 Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Pro
 465 470 475 480
 Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp
 485 490 495
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser
 500 505 510
 Gly Gly Gly Gly Ser Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 515 520 525
 Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 530 535 540
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 545 550 555 560
 Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 565 570 575
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 580 585 590
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 595 600 605
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 610 615 620

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
625 630 635 640
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys Asn
645 650 655
Gln Val Lys Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
660 665 670
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
675 680 685
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
690 695 700
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
705 710 715 720
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
725 730 735
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
740

<210> 39
<211> 262
<212> PRT
<213> 智人
<400> 39

[0020]

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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
115 120 125
Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
130 135 140
Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
145 150 155 160
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
165 170 175
Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg

180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His
 260
 <210> 40
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 40
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

[0021]

```

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225                      230                      235                      240
Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
                245                      250

<210> 41
<211> 125
<212> PRT
<213> 智人
<400> 41
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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
                20                      25                      30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
                35                      40                      45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50                      55                      60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                      70                      75                      80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                      90                      95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
                100                      105                      110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
                115                      120                      125

[0022]
<210> 42
<211> 109
<212> PRT
<213> 智人
<400> 42
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1                      5                      10                      15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
                20                      25                      30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
                35                      40                      45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50                      55                      60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65                      70                      75                      80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                      90                      95
His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
                100                      105

```

<210> 43
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 43
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 [0023] 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 44
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 44

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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250
 <210> 45
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 45
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

```

        50                55                60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                70                75                80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
        85                90                95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
        100                105                110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                120                125
<210> 46
<211> 109
<212> PRT
<213> 智人
<400> 46
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1                5                10                15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
        20                25                30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
        35                40                45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
        50                55                60
[0025] Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65                70                75                80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
        85                90                95
His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
        100                105
<210> 47
<211> 262
<212> PRT
<213> 智人
<400> 47
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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
        20                25                30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                40                45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
        50                55                60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                70                75                80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

```

				85					90					95					
	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asp	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe			
				100					105					110					
	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Lys	Pro			
				115					120					125					
	Gly	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly			
				130					135					140					
	Ser	Gln	Ala	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly			
	145								150					155					160
	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr			
				165										170					175
	Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Pro	Arg			
				180										185					190
	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Gly	Val	Pro	Ala	Arg			
				195										200					205
	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly			
				210										215					220
	Ala	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser			
	225								230					235					240
	Asn	His	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Ser			
				245										250					255
[0026]	His	His	His	His	His	His													
				260															
	<210>	48																	
	<211>	254																	
	<212>	PRT																	
	<213>	智人																	
	<400>	48																	
	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	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr			
				20							25				30				
	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val			
				35							40				45				
	Gly	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp			
				50							55				60				
	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr			
	65										70				75				80
	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr			
				85							90				95				
	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asp	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe			
				100											105				110
	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Lys	Pro			
				115											120				125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 49

<211> 125

<212> PRT

<213> 智人

<400> 49

[0027]

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

<210> 50

<211> 109

<212> PRT

<213> 智人

<400> 50

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 51
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 51
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 [0028] 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly

210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 52
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 52
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 [0029] Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 53
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 53
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

[0030]

<210> 54
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 54
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 55
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 55
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260

[0031]

<210> 56

<211> 254

<212> PRT

<213> 智人

<400> 56

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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

[0032]

<210> 57
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 57
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 58
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 58
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 [0033] His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 59
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 59
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Pro Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro

```

                115                120                125
Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
   130                135                140
Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
145                150                155                160
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
                165                170                175
Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
                180                185                190
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
   195                200                205
Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
   210                215                220
Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225                230                235                240
Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
                245                250                255
His His His His His His
                260
<210> 60
<211> 254
<212> PRT
<213> 智人
<400> 60
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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
                20                25                30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
   35                40                45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
   50                55                60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                70                75                80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                90                95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Pro Ser Tyr Val Ser Trp Phe
                100                105                110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
   115                120                125
Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
   130                135                140
Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
145                150                155                160

```

[0034]

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 61

<211> 125

<212> PRT

<213> 智人

<400> 61

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

[0035]

<210> 62

<211> 109

<212> PRT

<213> 智人

<400> 62

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

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 63
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 63
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 [0036] Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Glu Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser

	245	250	255
	His His His His His His		
	260		
<210>	64		
<211>	254		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<400>	64		
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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr			
	20	25	30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	35	40	45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp			
	50	55	60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr			
65	70	75	80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr			
	85	90	95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Glu Tyr Val Ser Trp Phe			
	100	105	110
[0037] Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro			
	115	120	125
Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly			
	130	135	140
Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly			
145	150	155	160
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr			
	165	170	175
Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg			
	180	185	190
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg			
	195	200	205
Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly			
	210	215	220
Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser			
225	230	235	240
Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
	245	250	
<210>	65		
<211>	125		
<212>	PRT		
<213>	智人		

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

<210> 66
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 66

[0038]

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

<210> 67
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 67

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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

[0039]

	20		25		30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val					
	35		40		45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp					
	50		55		60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr					
	65		70		80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr					
	85		90		95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Pro Tyr Val Ser Trp Phe					
	100		105		110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro					
	115		120		125
Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly					
	130		135		140
Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly					
	145		150		160
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr					
	165		170		175
Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg					
	180		185		190
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg					
	195		200		205
Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly					
	210		215		220
Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser					
	225		230		240
Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser					
	245		250		255
His His His His His His					
	260				
<210>	68				
<211>	254				
<212>	PRT				
<213>	智人				
<400>	68				
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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr					
	20		25		30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val					
	35		40		45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp					
	50		55		60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr																				
65						70						75								80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr																				
						85						90								95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Pro Tyr Val Ser Trp Phe																				
						100						105								110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro																				
						115						120								125
Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly																				
						130						135								140
Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly																				
145						150						155								160
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr																				
						165						170								175
Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg																				
						180						185								190
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg																				
						195						200								205
Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly																				
						210						215								220
Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser																				
225						230						235								240
Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu																				
						245						250								
<210>						69														
<211>						125														
<212>						PRT														
<213>						智人														
<400>						69														
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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr																				
						20						25								30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val																				
						35						40								45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp																				
						50						55								60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr																				
65						70						75								80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr																				
						85						90								95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Pro Tyr Val Ser Trp Phe																				
						100						105								110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser																				

115 120 125

<210> 70

<211> 109

<212> PRT

<213> 智人

<400> 70

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 71

<211> 262

<212> PRT

<213> 智人

<400> 71

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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

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

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
130 135 140

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

[0041]

145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 72
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 72
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

[0042]

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250
 <210> 73
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 73
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 [0043] Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 74
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 74
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 75
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 75
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 [0044] 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 76

<211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 76
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250
 <210> 77
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 77
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

[0045]

	20		25		30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val					
	35		40		45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp					
	50		55		60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr					
65		70		75	80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr					
	85		90		95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe					
	100		105		110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser					
	115		120		125
<210>	78				
<211>	109				
<212>	PRT				
<213>	智人				
<400>	78				
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly					
1	5		10		15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser					
	20		25		30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly					
	35		40		45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe					
	50		55		60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala					
65		70		75	80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn					
	85		90		95
His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu					
	100		105		
<210>	79				
<211>	262				
<212>	PRT				
<213>	智人				
<400>	79				
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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr					
	20		25		30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val					
	35		40		45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp					

50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Glu Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 80
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 80
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

[0047]

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Glu Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 81

<211> 125

<212> PRT

<213> 智人

<400> 81

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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Glu Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 82
 <211> 109
 <212> PRT

[0048]

<213> 智人
 <400> 82
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 83
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 83

[0049]

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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg

180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His
 260
 <210> 84
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

[0050]

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 85
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 85

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

[0051] Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 86
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 86

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

<210> 87
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Asn Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 [0052] 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 88
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Asn Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 [0053] Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250
 <210> 89
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Asn Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 90
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 90
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 [0054] Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 91
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

				85					90					95	
Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asp	Gln	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe
				100					105					110	
Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Lys	Pro
				115					120					125	
Gly	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly
				130					135					140	
Ser	Gln	Ala	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly
				145					150					155	160
Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr
				165					170					175	
Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Pro	Arg
				180					185					190	
Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Gly	Val	Pro	Ala	Arg
				195					200					205	
Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly
				210					215					220	
Ala	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser
				225					230					235	240
Asn	His	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Ser
				245					250					255	
[0055]	His	His	His	His	His	His									
				260											
<210>	92														
<211>	254														
<212>	PRT														
<213>	智人														
<400>	92														
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	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr
				20					25					30	
Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
				35					40					45	
Gly	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp
				50					55					60	
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr
				65					70					75	80
Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
				85					90					95	
Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asp	Gln	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe
				100					105					110	
Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Lys	Pro
				115					120					125	

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 93

<211> 125

<212> PRT

<213> 智人

<400> 93

[0056]

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

<210> 94

<211> 109

<212> PRT

<213> 智人

<400> 94

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

<210> 95

<211> 262

<212> PRT

<213> 智人

<400> 95

[0057]

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

<210> 97
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 97
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

[0059]

<210> 98
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 98
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 99
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 99
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 [0060] 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 100
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 100
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
115 120 125
Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
130 135 140
Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
145 150 155 160
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
165 170 175
Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
180 185 190
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
195 200 205
[0061] Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
210 215 220
Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225 230 235 240
Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245 250
<210> 101
<211> 125
<212> PRT
<213> 智人
<400> 101
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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 85 90 95
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 102
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 102
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 [0062] His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 103
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 103
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Ala Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro

	115		120		125
Gly	Ser Gly Lys Pro	Gly Ser Gly Lys Pro	Gly Ser Gly Lys Pro	Gly Ser Gly Lys Pro	Gly
	130		135		140
Ser	Gln Ala Val Val Thr	Gln Glu Pro Ser	Leu Thr Val Ser	Pro Gly	
145		150		155	160
Gly	Thr Val Thr Leu Thr	Cys Gly Ser Ser	Thr Gly Ala Val	Thr Thr	
		165		170	175
Ser	Asn Tyr Ala Asn Trp	Val Gln Gln Lys Pro	Gly Lys Ser Pro	Arg	
	180		185		190
Gly	Leu Ile Gly Gly Thr	Asn Lys Arg Ala Pro	Gly Val Pro Ala	Arg	
	195		200		205
Phe	Ser Gly Ser Leu Leu	Gly Gly Lys Ala Ala	Leu Thr Ile Ser	Gly	
210		215		220	
Ala	Gln Pro Glu Asp Glu	Ala Asp Tyr Tyr Cys	Ala Leu Trp Tyr Ser		
225		230		235	240
Asn	His Trp Val Phe Gly	Gly Gly Thr Lys Leu	Thr Val Leu Gly Ser		
		245		250	255
His	His His His His His				
	260				
<210>	104				
<211>	254				
<212>	PRT				
<213>	智人				
<400>	104				
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 Phe	Thr Phe Ser Thr Tyr		
		20		25	30
Ala	Met Asn Trp Val Arg	Gln Ala Pro Gly Lys	Gly Leu Glu Trp Val		
		35		40	45
Gly	Arg Ile Arg Ser Lys	Tyr Asn Asn Tyr Ala	Thr Tyr Tyr Ala Asp		
50		55		60	
Ser	Val Lys Gly Arg Phe	Thr Ile Ser Arg Asp	Asp Ser Lys Asn Thr		
65		70		75	80
Leu	Tyr Leu Gln Met Asn	Ser Leu Arg Ala Glu	Asp Thr Ala Val Tyr		
		85		90	95
Tyr	Cys Val Arg His Gly	Asn Phe Gly Ala Ser	Tyr Val Ser Trp Phe		
		100		105	110
Asp	Tyr Trp Gly Gln Gly	Thr Leu Val Thr Val	Ser Ser Gly Lys Pro		
		115		120	125
Gly	Ser Gly Lys Pro Gly	Ser Gly Lys Pro Gly	Ser Gly Lys Pro Gly		
	130		135		140
Ser	Gln Ala Val Val Thr	Gln Glu Pro Ser Leu	Thr Val Ser Pro Gly		
145		150		155	160

[0063]

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250
 <210> 105
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 105
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 [0064] Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Ala Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 106
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 106
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 107
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 107
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser

[0065]

		245		250		255
	His His His	His His His				
		260				
<210>	108					
<211>	254					
<212>	PRT					
<213>	智人					
<400>	108					
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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr						
		20		25		30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val						
		35		40		45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp						
		50		55		60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr						
65		70		75		80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr						
		85		90		95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe						
		100		105		110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro						
		115		120		125
Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly						
		130		135		140
Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly						
145		150		155		160
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr						
		165		170		175
Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg						
		180		185		190
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg						
		195		200		205
Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly						
		210		215		220
Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser						
225		230		235		240
Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu						
		245		250		
<210>	109					
<211>	125					
<212>	PRT					
<213>	智人					

<400> 109
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 110

<211> 109

<212> PRT

<213> 智人

<400> 110

[0067]

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

<210> 111

<211> 262

<212> PRT

<213> 智人

<400> 111

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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

	20	25	30
	Ala Met Asn Trp Val Arg Gln	Ala Pro Gly Lys Gly	Leu Glu Trp Val
	35	40	45
	Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr	Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr	Ala Asp
	50	55	60
	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr	Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys	Asn Thr
	65	70	75
	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser	Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala	Val Tyr
	85	90	95
	Tyr Cys Val Arg His Gly Asn	Phe Gly Asp Glu Tyr Val Ser	Trp Phe
	100	105	110
	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr	Leu Val Thr Val Ser Ser Gly	Lys Pro
	115	120	125
	Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser	Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys	Pro Gly
	130	135	140
	Ser Gln Ala Val Val Thr Gln	Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser	Pro Gly
	145	150	155
	Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys	Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val	Thr Thr
	165	170	175
	Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val	Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser	Pro Arg
	180	185	190
[0068]	Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn	Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro	Ala Arg
	195	200	205
	Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly	Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile	Ser Gly
	210	215	220
	Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala	Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp	Tyr Ser
	225	230	235
	Asn His Trp Val Phe Gly Gly	Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu	Gly Ser
	245	250	255
	His His His His His His		
	260		
	<210>	112	
	<211>	254	
	<212>	PRT	
	<213>	智人	
	<400>	112	
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser	Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro	Gly Gly
	1	5	10
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala	Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser	Thr Tyr
	20	25	30
	Ala Met Asn Trp Val Arg Gln	Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu	Trp Val
	35	40	45
	Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr	Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr	Ala Asp
	50	55	60

[0069]

```

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                70                75                80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                90                95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Glu Tyr Val Ser Trp Phe
                100               105               110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
                115               120               125
Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
                130               135               140
Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
145                150                155                160
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
                165                170                175
Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
                180                185                190
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
                195                200                205
Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
                210                215                220
Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225                230                235                240
Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
                245                250
<210> 113
<211> 125
<212> PRT
<213> 智人
<400> 113
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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
                20                25                30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
                35                40                45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50                55                60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                70                75                80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                90                95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Glu Tyr Val Ser Trp Phe
                100               105               110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
    
```

```

115              120              125
<210> 114
<211> 109
<212> PRT
<213> 智人
<400> 114
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1          5              10              15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
          20              25              30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
          35              40              45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
          50              55              60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65              70              75              80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
          85              90              95
His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
          100              105

<210> 115
<211> 262
<212> PRT
<213> 智人
<400> 115
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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
          20              25              30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35              40              45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
          50              55              60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65              70              75              80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
          85              90              95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Asn Tyr Val Ser Trp Phe
          100              105              110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
          115              120              125
Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
          130              135              140
Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly

```

[0070]

145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 116
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 116
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Asn Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

[0071]

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250
 <210> 117
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 117
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 [0072] 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Asn Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 118
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 118
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 119
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 119
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Pro Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 120

<211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 120
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Pro Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250
 <210> 121
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 121
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

[0074]

20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Pro Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 122
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 122
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 [0075] Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 123
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 123
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Gln Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His
 260
 <210> 124
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 124
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

[0076]

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Gln Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 125

<211> 125

<212> PRT

<213> 智人

<400> 125

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

<210> 126

<211> 109

<212> PRT

[0077]

<213> 智人
 <400> 126
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 127

<211> 262

<212> PRT

<213> 智人

<400> 127

[0078]

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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg

180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His
 260
 <210> 128
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 128
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

[0079]

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 129
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 129

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

[0080] Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 130
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 130

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

<210> 131
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 131
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Ala Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 132
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 132

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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Ala Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250
 <210> 133
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 133
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp

85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 136
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 136
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

[0084]

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 137
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 137

[0085]

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

<210> 138
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 138

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 139
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 139
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly

序 列 表

[0087]

210	215	220		
Ala Gln Pro Glu Asp	Glu Ala Asp Tyr Tyr	Cys Ala Leu Trp Tyr Ser		
225	230	235	240	
Asn His Trp Val Phe	Gly Gly Gly Thr Lys	Leu Thr Val Leu Gly Ser		
	245	250	255	
His His His His His				
	260			
<210>	140			
<211>	254			
<212>	PRT			
<213>	智人			
<400>	140			
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	Phe Thr Phe Ser Thr Tyr		
	20	25	30	
Ala Met Asn Trp Val	Arg Gln Ala Pro Gly	Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35	40	45	
Gly Arg Ile Arg Ser	Lys Ala Asn Asn Tyr	Ala Thr Ala Tyr Ala Asp		
50	55	60		
Ser Val Lys Gly Arg	Phe Thr Ile Ser Arg	Asp Asp Ser Lys Asn Thr		
65	70	75	80	
Leu Tyr Leu Gln Met	Asn Ser Leu Arg Ala	Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
	85	90	95	
Tyr Cys Val Arg His	Gly Asn Phe Gly Asp	Ser Tyr Val Ser Trp Phe		
	100	105	110	
Asp Tyr Trp Gly Gln	Gly Thr Leu Val Thr	Val Ser Ser Gly Lys Pro		
	115	120	125	
Gly Ser Gly Lys Pro	Gly Ser Gly Lys Pro	Gly Ser Gly Lys Pro Gly		
	130	135	140	
Ser Gln Ala Val Val	Thr Gln Glu Pro Ser	Leu Thr Val Ser Pro Gly		
145	150	155	160	
Gly Thr Val Thr Leu	Thr Cys Gly Ser Ser	Thr Gly Ala Val Thr Thr		
	165	170	175	
Ser Asn Tyr Ala Asn	Trp Val Gln Gln Lys	Pro Gly Lys Ser Pro Arg		
	180	185	190	
Gly Leu Ile Gly Gly	Thr Asn Lys Arg Ala	Pro Gly Val Pro Ala Arg		
	195	200	205	
Phe Ser Gly Ser Leu	Leu Gly Gly Lys Ala	Ala Leu Thr Ile Ser Gly		
210	215	220		
Ala Gln Pro Glu Asp	Glu Ala Asp Tyr Tyr	Cys Ala Leu Trp Tyr Ser		
225	230	235	240	
Asn His Trp Val Phe	Gly Gly Gly Thr Lys	Leu Thr Val Leu		
	245	250		

<210> 141
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 141
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

[0088]

<210> 142
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 142
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 143
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成肽
 <400> 143
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 144

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 144

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr
 1 5 10 15

Lys Gly

<210> 145

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0089]

<223> 合成肽

<400> 145

Ile Arg Pro Arg Ala Ile Gly Gly Ser Lys Pro Arg Val Ala
 1 5 10

<210> 146

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 146

Gly Lys Gly Gly Ser Gly Lys Gly Gly Ser Gly Lys Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 147

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 147

Gly Gly Lys Gly Ser Gly Gly Lys Gly Ser Gly Gly Lys Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 148

<211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 148
 Gly Gly Gly Lys Ser Gly Gly Gly Lys Ser Gly Gly Gly Lys Ser
 1 5 10 15
 <210> 149
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 149
 Gly Lys Gly Lys Ser Gly Lys Gly Lys Ser Gly Lys Gly Lys Ser
 1 5 10 15
 <210> 150
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 150
 Gly Gly Gly Lys Ser Gly Gly Lys Gly Ser Gly Lys Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 151
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 151
 Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 152
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 152
 Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly
 1 5 10 15

[0090]

Lys Pro Gly Ser
 20
 <210> 153
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 153
 Gly Lys Gly Lys Ser Gly Lys Gly Lys Ser Gly Lys Gly Lys Ser Gly
 1 5 10 15
 Lys Gly Lys Ser
 20
 <210> 154
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 154
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 [0091] Gly Gly Gly Ser
 20
 <210> 155
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 155
 Ser Thr Ala Gly Asp Thr His Leu Gly Gly Glu Asp Phe Asp
 1 5 10
 <210> 156
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 156
 Gly Glu Gly Gly Ser Gly Glu Gly Gly Ser Gly Glu Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 157
 <211> 15

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 157
 Gly Gly Glu Gly Ser Gly Gly Glu Gly Ser Gly Gly Glu Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 158
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 158
 Gly Gly Gly Glu Ser Gly Gly Gly Glu Ser Gly Gly Gly Glu Ser
 1 5 10 15
 <210> 159
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 [0092] <400> 159
 Gly Glu Gly Glu Ser Gly Glu Gly Glu Ser Gly Glu Gly Glu Ser
 1 5 10 15
 <210> 160
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 160
 Gly Gly Gly Glu Ser Gly Gly Glu Gly Ser Gly Glu Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 161
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 161
 Gly Glu Gly Glu Ser Gly Glu Gly Glu Ser Gly Glu Gly Glu Ser Gly
 1 5 10 15
 Glu Gly Glu Ser

<211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 166
 Gly Thr Ala Ala Ala Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly Ala Ala Ala Gly
 1 5 10 15
 Ala Ala Gly

<210> 167
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 167
 Gly Thr Ser Gly Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly

[0094]

<210> 168
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成肽
 <400> 168
 Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Lys Pro Gly Ser
 20

<210> 169
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 169
 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 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

```

          50              55              60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65              70              75              80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
          85              90              95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
          100             105             110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115             120             125
<210> 170
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人
<400> 170
Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1              5              10
<210> 171
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人
<400> 171
[0095] Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1              5
<210> 172
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人
<400> 172
Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val
1              5
<210> 173
<211> 109
<212> PRT
<213> 智人
<400> 173
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1              5              10              15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
          20              25              30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
          35              40              45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
          50              55              60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala

```

65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
<210> 174
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人
<400> 174
Thr Tyr Ala Met Asn
1 5
<210> 175
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人
<400> 175
Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly

[0096] <210> 176
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人
<400> 176
His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10
<210> 177
<211> 490
<212> PRT
<213> 智人
<400> 177
Met Glu Ser Ile Ser Met Met Gly Ser Pro Lys Ser Leu Ser Glu Thr
1 5 10 15
Phe Leu Pro Asn Gly Ile Asn Gly Ile Lys Asp Ala Arg Lys Val Thr
 20 25 30
Val Gly Val Ile Gly Ser Gly Asp Phe Ala Lys Ser Leu Thr Ile Arg
 35 40 45
Leu Ile Arg Cys Gly Tyr His Val Val Ile Gly Ser Arg Asn Pro Lys
 50 55 60
Phe Ala Ser Glu Phe Phe Pro His Val Val Asp Val Thr His His Glu
65 70 75 80
Asp Ala Leu Thr Lys Thr Asn Ile Ile Phe Val Ala Ile His Arg Glu

	85	90	95
His Tyr Thr Ser Leu Trp Asp Leu Arg His Leu Leu Val Gly Lys Ile			
	100	105	110
Leu Ile Asp Val Ser Asn Asn Met Arg Ile Asn Gln Tyr Pro Glu Ser			
	115	120	125
Asn Ala Glu Tyr Leu Ala Ser Leu Phe Pro Asp Ser Leu Ile Val Lys			
	130	135	140
Gly Phe Asn Val Val Ser Ala Trp Ala Leu Gln Leu Gly Pro Lys Asp			
145	150	155	160
Ala Ser Arg Gln Val Tyr Ile Cys Ser Asn Asn Ile Gln Ala Arg Gln			
	165	170	175
Gln Val Ile Glu Leu Ala Arg Gln Leu Asn Phe Ile Pro Ile Asp Leu			
	180	185	190
Gly Ser Leu Ser Ser Ala Arg Glu Ile Glu Asn Leu Pro Leu Arg Leu			
	195	200	205
Phe Thr Leu Trp Arg Gly Pro Val Val Val Ala Ile Ser Leu Ala Thr			
	210	215	220
Phe Phe Phe Leu Tyr Ser Phe Val Arg Asp Val Ile His Pro Tyr Ala			
225	230	235	240
Arg Asn Gln Gln Ser Asp Phe Tyr Lys Ile Pro Ile Glu Ile Val Asn			
	245	250	255
Lys Thr Leu Pro Ile Val Ala Ile Thr Leu Leu Ser Leu Val Tyr Leu			
	260	265	270
Ala Gly Leu Leu Ala Ala Ala Tyr Gln Leu Tyr Tyr Gly Thr Lys Tyr			
	275	280	285
Arg Arg Phe Pro Pro Trp Leu Glu Thr Trp Leu Gln Cys Arg Lys Gln			
	290	295	300
Leu Gly Leu Leu Ser Phe Phe Phe Ala Met Val His Val Ala Tyr Ser			
305	310	315	320
Leu Cys Leu Pro Met Arg Arg Ser Glu Arg Tyr Leu Phe Leu Asn Met			
	325	330	335
Ala Tyr Gln Gln Val His Ala Asn Ile Glu Asn Ser Trp Asn Glu Glu			
	340	345	350
Glu Val Trp Arg Ile Glu Met Tyr Ile Ser Phe Gly Ile Met Ser Leu			
	355	360	365
Gly Leu Leu Ser Leu Leu Ala Val Thr Ser Ile Pro Ser Val Ser Asn			
	370	375	380
Ala Leu Asn Trp Arg Glu Phe Ser Phe Ile Gln Ser Thr Leu Gly Tyr			
385	390	395	400
Val Ala Leu Leu Ile Ser Thr Phe His Val Leu Ile Tyr Gly Trp Lys			
	405	410	415
Arg Ala Phe Glu Glu Glu Tyr Tyr Arg Phe Tyr Thr Pro Pro Asn Phe			
	420	425	430
Val Leu Ala Leu Val Leu Pro Ser Ile Val Ile Leu Gly Lys Ile Ile			

[0097]

435 440 445
 Leu Phe Leu Pro Cys Ile Ser Arg Lys Leu Lys Arg Ile Lys Lys Gly
 450 455 460
 Trp Glu Lys Ser Gln Phe Leu Glu Glu Gly Met Gly Gly Thr Ile Pro
 465 470 475 480
 His Val Ser Pro Glu Arg Val Thr Val Met
 485 490

<210> 178
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成接头
 <400> 178

Gly Ser Gly Gly Ser
 1 5

<210> 179
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成接头
 <400> 179

[0098]

Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5

<210> 180
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成接头
 <400> 180

Gly Gly Gly Ser
 1

<210> 181
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成接头
 <400> 181

Gly Phe Leu Gly
 1

<210> 182

<211> 121
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 182
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

[0099]

<210> 183
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 183
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Ser Phe Pro Tyr Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 184

<211> 121
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 184
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Gln Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

[0100]

<210> 185
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 185
 Glu Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Met Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Ala Arg Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ala Gly Gly Gln Leu Arg Pro Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

	115	120	
<210>	186		
<211>	111		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成多肽		
<400>	186		
Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly			
1	5	10	15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp			
	20	25	30
Gly Asp Ser Phe Met Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro			
	35	40	45
Gln Leu Leu Ile Tyr Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp			
	50	55	60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser			
65	70	75	80
Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn			
	85	90	95
Glu Glu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
	100	105	110
[0101] <210>	187		
<211>	268		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<400>	187		
Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr			
1	5	10	15
Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe			
	20	25	30
Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr			
	35	40	45
Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu			
	50	55	60
Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu			
65	70	75	80
Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn			
	85	90	95
Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala			
	100	105	110
Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg			
	115	120	125
Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly			

```

    130             135             140
Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly Leu Leu Gly Ser
145             150             155             160
Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys Ser Arg Ala Ala
             165             170             175
Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Lys Glu Asp
             180             185             190
Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly Glu Leu Asp Phe
             195             200             205
Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro Cys Val Pro Glu
210             215             220
Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly Met Gly Thr Ser
225             230             235             240
Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg Ser Ala Gln Pro
             245             250             255
Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
             260             265
<210> 188
<211> 288
<212> PRT
<213> Cynomologus Monkey
<400> 188
[0102] Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
1             5             10             15
Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Glu Ser Pro Asp Arg Pro Trp
             20             25             30
Asn Ala Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Leu Val Thr Glu Gly Asp
             35             40             45
Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Ala Ser Glu Ser Phe Val
             50             55             60
Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
65             70             75             80
Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
             85             90             95
Val Thr Arg Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
             100            105            110
Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
             115            120            125
Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
130             135             140
Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
145             150             155             160
Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Ala Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly
             165             170             175

```

Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys
 180 185 190
 Ser Arg Ala Ala Gln Gly Thr Ile Glu Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro
 195 200 205
 Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly
 210 215 220
 Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Ala Pro
 225 230 235 240
 Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly
 245 250 255
 Leu Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
 260 265 270
 Ser Pro Arg Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
 275 280 285

<210> 189

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 189

[0103]

Ser Tyr Asp Met Ser

1 5

<210> 190

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 190

Leu Ile Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys

1 5 10 15

<210> 191

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 191

Pro Ser Gly His Tyr Phe Tyr Ala Met Asp Val

1 5 10

<210> 192

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 192
 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala
 1 5 10
 <210> 193
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 193
 Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
 1 5
 <210> 194
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 194
 [0104] Gln Gln Ala Glu Ser Phe Pro His Thr
 1 5
 <210> 195
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 195
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Leu Ile Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Ser Pro Ser Gly His Tyr Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln

		100						105					110				
	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Ser	Pro	Ser	Gly	His	Tyr	Phe	Tyr	Ala	
	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	
	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	
	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	
	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	
	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	
	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	
	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	
	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	
	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	
[0106]	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	
	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	
	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	Gln	
	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	
	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	
	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	
	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	
	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	
	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	
	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	
	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	
	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	

450 455 460
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470
 <210> 198
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 198
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30
 Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45
 Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
 65 70 75 80
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 85 90 95
 [0107] Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 100 105 110
 Ala Glu Ser Phe Pro His Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 115 120 125
 Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 130 135 140
 Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 145 150 155 160
 Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 165 170 175
 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 180 185 190
 Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 195 200 205
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 210 215 220
 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235
 <210> 199
 <211> 472
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽
 <400> 199
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
 20 25 30
 Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
 35 40 45
 Tyr Thr Phe Ser Thr Tyr Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 50 55 60
 Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Gln Thr
 65 70 75 80
 Asp Phe Asn Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr
 85 90 95
 Ser Ser Asp Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
 100 105 110
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly
 115 120 125
 Tyr Phe Asn Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140
 Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160
 Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175
 Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190
 Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205
 Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220
 Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asp Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240
 Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255
 Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 260 265 270
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 275 280 285
 Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 290 295 300
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Glu
 305 310 315 320
 Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

[0108]

325 330 335
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 340 345 350
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 355 360 365
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 370 375 380
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro Ser
 385 390 395 400
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 405 410 415
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 420 425 430
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val Phe
 435 440 445
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 450 455 460
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470
 <210> 200
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 200
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Ser Phe Pro Tyr Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140

[0109]

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 201
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 201
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 [0110] Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asp Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Glu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 [0111] Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 202
 <211> 723
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 202
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45

[0112]

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

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

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
225 230 235 240

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
245 250 255

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
260 265 270

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys
275 280 285

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
290 295 300

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
305 310 315 320

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
325 330 335

Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
340 345 350

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
355 360 365

Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gln Ala Val Val Thr
370 375 380

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
385 390 395 400

Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp
 405 410 415
 Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
 420 425 430
 Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
 435 440 445
 Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu
 450 455 460
 Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val Phe Gly
 465 470 475 480
 Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 485 490 495
 Gly Ser Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala
 500 505 510
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 515 520 525
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His
 530 535 540
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 545 550 555 560
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 565 570 575
 [0113] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 580 585 590
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 595 600 605
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 610 615 620
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Lys
 625 630 635 640
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 645 650 655
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 660 665 670
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 675 680 685
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 690 695 700
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 705 710 715 720
 Pro Gly Lys
 <210> 203
 <211> 450

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 203
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Gln Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 [0114] 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asp Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Glu Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305	310	315	320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu			
	325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr			
	340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu			
	355	360	365
Thr Cys Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp			
	370	375	380
Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val			
385	390	395	400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp			
	405	410	415
Lys Ser Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val Phe Ser Cys Ser Val Met His			
	420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro			
	435	440	445
Gly Lys			
450			
<210> 204			
<211> 218			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成多肽			
<400> 204			
Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly			
1	5	10	15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp			
	20	25	30
Gly Asp Ser Phe Met Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro			
	35	40	45
Gln Leu Leu Ile Tyr Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp			
	50	55	60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser			
65	70	75	80
Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn			
	85	90	95
Glu Glu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg			
	100	105	110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln			
	115	120	125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr			
	130	135	140

[0115]

	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser		
	145	150	155 160
	Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr		
		165	170 175
	Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys		
		180	185 190
	His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro		
		195	200 205
	Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
		210	215
	<210>	205	
	<211>	448	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	合成多肽	
	<400>	205	
	Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Thr Val		
	1	5	10 15
	Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met		
		20	25 30
[0116]	Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp		
		35	40 45
	Met Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe Gln Gly		
		50	55 60
	Arg Val Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Ala Arg Thr Val Tyr Met Glu		
	65	70	75 80
	Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg		
		85	90 95
	Ala Gly Gly Gln Leu Arg Pro Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly		
		100	105 110
	Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe		
		115	120 125
	Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu		
		130	135 140
	Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp		
	145	150	155 160
	Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
		165	170 175
	Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
		180	185 190
	Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
		195	200 205
	Ser Asp Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		

Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys
 420 425 430
 Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
 435 440 445
 Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp
 450 455 460
 Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly
 465 470 475 480
 Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 485 490 495
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
 500 505 510
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 515 520 525
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu Asp
 530 535 540
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 545 550 555 560
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 565 570 575
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 580 585 590
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 595 600 605
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 610 615 620
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Lys Leu Thr
 625 630 635 640
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 645 650 655
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 660 665 670
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 675 680 685
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 690 695 700
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 705 710 715 720
 Lys

[0119]

<210> 207
 <211> 723
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽
 <400> 207
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Gln Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 [0120] 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 225 230 235 240
 Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 245 250 255
 Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
 260 265 270
 Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys
 275 280 285
 Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
 290 295 300
 Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
 305 310 315 320
 Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly

				325								330											335
	Asn	Phe	Gly	Asp	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly							
				340								345											350
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly							
				355								360											365
	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Val	Thr							
				370								375											380
	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr							
	385						390						395										400
	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr	Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp							
					405							410											415
	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr							
				420								425											430
	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Gly	Val	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu							
				435								440											445
	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Ala	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu							
				450				455				460											
	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	His	Trp	Val	Phe	Gly							
	465						470					475											480
	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly							
					485							490											495
[0121]	Gly	Ser	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala							
				500								505											
	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met							
				515								520											
	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Lys	His							
				530								535											
	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val							
	545						550					555											560
	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Cys	Glu	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr							
					565							570											575
	Arg	Cys	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly							
				580								585											590
	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile							
				595								600											
	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val							
				610								615											
	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Gln	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Lys							
	625						630					635											640
	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu							
					645							650											655
	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro							
					660							665											670
	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val							

675 680 685
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
690 695 700
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
705 710 715 720
Pro Gly Lys

<210> 208
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<400> 208

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

[0122]

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 209
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 209
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro
	1				5					10					15	
	Pro	Cys	Pro													
	<210>		213													
	<211>		19													
	<212>		PRT													
	<213>		人工序列													
	<220>															
	<223>		合成多肽													
	<400>		213													
[0125]	Gly	Lys	Pro	Gly	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly	Ser	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro
	1				5					10					15	
	Pro	Cys	Pro													
	<210>		214													
	<211>		14													
	<212>		PRT													
	<213>		人工序列													
	<220>															
	<223>		合成多肽													
	<400>		214													
	Gly	Lys	Pro	Gly	Ser	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro		
	1				5					10						

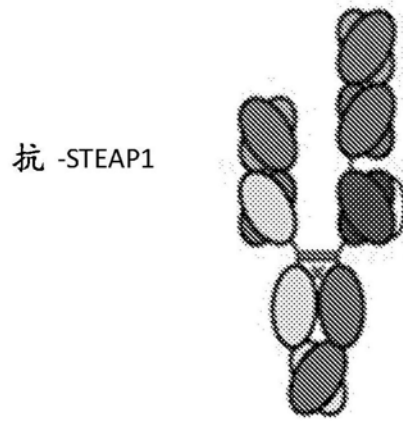


图1

MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDE
DDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDMVMSVATIVIVDICITGG
LLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPiRKGQRDLYSGLNQRRi (SEQ ID
NO: 1)

图2

MESRKDITNQEELWKMKPRRNLEEDDYLHKDTGETSMLKRPVLLHLHQTAAHADEFDCPSE
LQHTQELFPQWHLPIKIAAIIASLTFLYLLREVIHPLATSHQQYFYKIPILVINKVLPM
VSITLLALVYLPGVIAAIVQLHNGTKYKKFPHWLDKWMLTRKQFGLLSFFFAVLHAIYSL
SYPMRRSYRYKLLNWAYQQVQNKEDAWIEHDVWRMEIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPS
VDSLWREFHYIQSKLGIVSLLGTIHALIFAWNKWIDIKQFVWYTPPTFMIAVFLPIV
VLIFKSILFLPCLRKKILKIRHGVEDVTKINKTEICSQL (SEQ ID NO: 2)

图3

单体1	单体2
F405A	T394F
S364D	Y349K
S364E	L368K
S364E	Y349K
S364F	K370G
S364H	Y349K
S364H	Y349T
S364Y	K370G
T411K	K370E
V397S/F405A	T394F
K370R/T411K	K370E/T411E
L351E/S364D	Y349K/L351K
L351E/S364E	Y349K/L351K
L351E/T366D	L351K/T366K
P395T/V397S/F405A	T394F
S364D/K370G	S364Y/K370R
S364D/T394F	Y349K/F405A
S364E/F405A	Y349K/T394F
S364E/F405S	Y349K/T394Y
S364E/T411E	Y349K/D401K
S364H/D401K	Y349T/T411E
S364H/F405A	Y349T/T394F
S364H/T394F	Y349T/F405A
Y349C/S364E	Y349K/S354C
L351E/S364D/F405A	Y349K/L351K/T394F
L351K/S364H/D401K	Y349T/L351E/T411E
S364E/T411E/F405A	Y349K/T394F/D401K
S364H/D401K/F405A	Y349T/T394F/T411E
S364H/F405A/T411E	Y349T/T394F/D401K

图4A

单体1	单体2
K370E/T411D	T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/K409V
L368D	S364K
L368D/K370S	S364K
L368D/K370S	S364K/E357L
L368D/K370S	S364K/E357Q
T411E/K360E/Q362E	D401K
K370S	S364K
L368E/K370S	S364K/E357Q
K370S	S364K/E357Q
T411E/K360D	D401K
T411E/K360E	D401K
T411E/Q362E	D401K
T411E/N390D	D401K
T411E	D401K/Q347K
T411E	D401K/Q347R
T411E/K360D/Q362E	D401K

图4B

单体1	单体2
T411E/K360E/N390D	D401K
T411E/Q362E/N390D	D401K
T411E/Q347R	D401K/K360D
T411E/Q347R	D401K/K360E
T411E/K360	D401K/Q347K
T411E/K360D	D401K/Q347R
T411E/K360E	D401K/Q347K
T411E/K360E	D401K/Q347R
T411E/S364K	D401K/K370S
T411E/K370S	D401K/S364K
Q347E	E357Q
Q347E	E357Q/Q362K
K360D/Q362E	Q347R
K360D/Q362E	D401K
K360D/Q362E	Q347R/D401K
K360E/Q362E	Q347R
K360E/Q362E	D401K
K360E/Q362E	Q347R/D401K
Q362E/N390D	D401K
Q347E/K360D	D401N
K360D	Q347R/N390K
K360D	N390K/D401N
K360E	Y349H
K370S/Q347E	S364K
K370S/E357L	S364K
K370S/E357Q	S364K
K370S/Q347E/E357L	S364K
K370S/Q347E/E357Q	S364K

图4C

单体1	单体2
L368D/K370S/Q347E	S364K
L368D/K370S/E357L	S364K
L368D/K370S/E357Q	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E	S364K
L368E/K370S/E357L	S364K
L368E/K370S/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E	S364K
L368D/K370T/E357L	S364K
L368D/K370T/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E	S364K
L368E/K370T/E357L	S364K
L368E/K370T/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357Q	S364K
T411E/Q362E	D401K/T411K
T411E/N390D	D401K/T411K
T411E/Q362E	D401R/T411R
T411E/N390D	D401R/T411R
Y407T	T366Y
F405A	T394W
T366Y/F405A	T394W/Y407T
Y407A	T366W
T366S/L368A/Y407V	T366W
T366S/L368A/Y407V/Y349C	T366W/S354C

图4D

单体1	单体2
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447	
N208D Q295E N384D Q418E N421D	
N208D Q295E Q418E N421D	
Q196K I199T P217R P228R N276K	
Q196K I199T N276K	
E269Q E272Q E283Q E357Q	
E269Q E272Q E283Q	
E269Q E272Q	
E269Q E283Q	
E272Q E283Q	
E269Q	

图4E

pI 变体

变体恒定区取代

pI_ISO(-)	I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447
pI(-)_电子等排_A	N208D Q295E N384D Q418E N421D
pI(-)_电子等排_B	N208D Q295E Q418E N421D
pI_ISO(+RR)	Q196K I199T P217R P228R N276K
pI_ISO(+)	Q196K I199T N276K
pI(+)_电子等排_A	E269Q E272Q E283Q E357Q
pI(+)_电子等排_B	E269Q E272Q E283Q
pI(+)_电子等排_E269Q/E272Q	E269Q E272Q
pI(+)_电子等排_E269Q/E283Q	E269Q E283Q
pI(+)_电子等排_E272Q/E283Q	E272Q E283Q
pI(+)_电子等排_E269Q	E269Q

图5

消融变体

变体	变体, 续
G236R	P329K
S239G	A330L
S239K	A330S/P331S
S239Q	I332K
S239R	I332R
V266D	V266D/A327Q
S267K	V266D/P329K
S267R	S267R/A327Q
H268K	S267R/P329K
E269R	G236R/L328R
299R	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K
299K	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
K322A	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G
A327G	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G
A327L	E233P/L234V/L235A/G236del
A327N	S239K/S267K
A327Q	267K/P329K
L328E	
L328R	
P329A	
P329H	

图6

scFv 单体 (+)

异源偏斜变体
S364K/E357Q

任选的scFv带电荷的接头
包括但不限于 (GKPGS)₄

FcKO
E233P/L234V/L235A/G236del/S267K

FcRn的 ± 428L/434S

抗CD3的scFv

Fab 单体 (-)

异源偏斜变体 L368D/K370S

电子等排的pI取代
N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D

FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K

FcRn的 ± 428L/434S

抗STEAP1的Fv序列

scFv 单体

异源偏斜变体
S364K/E357Q

任选的scFv带电荷的接头
包括但不限于 (GKPGS)₄

FcKO
E233P/L234V/L235A/G236del/S267K

FcRn的 ± 428L/434S (任选的)

抗CD3的scFv

Fab 单体

异源偏斜变体 L368D/K370S

pI 取代 I199T N203D K274Q R355Q Q419E K447del

FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K

FcRn的 ± 428L/434S (任选的)

抗STEAP1的scFv

图7

带正电荷的scFv接头

名称	序列	长度	电荷	SEQ ID NO:
Gly-Ser 15	GGGSGGGSGGGGS	15	0	143
惠特洛接头	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	18	+1	144
6paxA_1 (+A)	IRPRAIGGSKPRVA	14	+4	145
+B	GKGGSGKGGSGKGGGS	15	+3	146
+C	GGKSGGGKSGGGKGS	15	+3	147
+D	GGGKSGGGKSGGGKS	15	+3	148
+E	GKGKSGKKGKSGKGS	15	+6	149
+F	GGGKSGGGKSGKGGGS	15	+3	150
+G	GKPGSGKPGSGKPGS	15	+3	151
+H	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	20	+4	152
+I	GKGKSGKKGKSGKSGKGS	20	+8	153

带负电荷的scFv接头

名称	序列	长度	电荷	SEQ ID NO:
Gly-Ser 15	GGGSGGGSGGGSGGGGS	20	0	154
3hsc_2 (-A)	STAGDTHLGGEDFD	14	-4	155
-B	GEGSGEGSGEGGS	15	-3	156
-C	GGEGSGEGSGEGGS	15	-3	157
-D	GGGESGGGESGGGES	15	-3	158
-E	GEGESGEGESGEGES	15	-6	159
-F	GGGESGGEGSGEGGS	15	-3	160
-G	GEGESGEGESGEGESGEGES	20	-8	161

图8A

scFv 接头

GGGGSGGGGSGGGGS	(SEQ ID NO: 162)
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	(SEQ ID NO: 163)
GSTSGSGKPGSGEGSTKG	(SEQ ID NO: 164)
PRGASKSGSASQTGSAPGS	(SEQ ID NO: 165)
GTAAAGAGAAGGAAAGAAG	(SEQ ID NO: 166)
GTSGSSGSGSGGSGSGGGG	(SEQ ID NO: 167)
GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	(SEQ IS NO: 168)

有用的结构域接头

KTHTCPPCP (“一半铰链”)	SEQ ID NO:210
EPKSSDKTHTCPPCP (“完全铰链C220S 变体 ”)	SEQ ID NO:211
GGGGSGGGGSKTHTCPPCP (“弯曲一半铰链”)	SEQ ID NO:212
GKPGSGKPGSKTHTCPPCP (“带电的一半铰链 1”)	SEQ ID NO:213
GKPGSKTHTCPPCP (“带电的一半铰链 2”)	SEQ ID NO:214

图8B

XENP	异源二聚体-偏斜 变体, 链1	异源二聚体-偏斜 变体, 链2	异源二聚体 产率 (%)	CH3 Tm (°C)
12757	无	无	52.7	83.1
12758	L368D/K370S	S364K	94.4	76.6
12759	L368D/K370S	S364K/E357L	90.2	77.2
12760	L368D/K370S	S364K/E357Q	95.2	77.5
12761	T411E/K360E/Q362E	D401K	85.6	80.6
12496	L368E/K370S	S364K	91.5	n.d.
12511	K370S	S364K	59.9	n.d.
12840	L368E/K370S	S364K/E357Q	59.5	n.d.
12841	K370S	S364K/E357Q	90.4	n.d.
12894	L368E/K370S	S364K	41.0	n.d.
12895	K370S	S364K	49.3	n.d.
12896	L368E/K370S	S364K/E357Q	73.9	n.d.
12901	K370S	S364K/E357Q	87.9	n.d.

图9

VH ID	VL ID	VH 取代	VL 取代
H1	L1.4		
H1.30	L1.47	N30S/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.33	L1.47	N30S/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.31	L1.47	N30S/N35S/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.32	L1.47	N30S/Y52CA/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.88	L1.47	N30S/N100P	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.89	L1.47	N30S/N100D/S100AE	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.90	L1.47	N30S/N100D/S100AP	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.91	L1.47	N30S/Y52CA/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.92	L1.47	N30S/Y58A/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.93	L1.47	N30S/N100E	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.94	L1.47	N30S/N100Q	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.96	L1.47	N30S/N100D/S100AN	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.97	L1.47	N30S/N100D/S100AQ	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.98	L1.47	N30S/Y52CA/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.99	L1.47	N30S/Y58A/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.100	L1.47	N30S/N100A/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.101	L1.47	N30S/N100Q/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.102	L1.47	N30S/N100D/S100AE/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.103	L1.47	N30S/N100D/S100AN/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.104	L1.47	N30S/N100D/S100AP/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.105	L1.47	N30S/N100D/S100AQ/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H

图10A

VH ID	VL ID	VH 取代	VL 取代
H1.106	L1.47	N30S/Y52CA/Y58A/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.107	L1.47	N30S/Y52CA/Y58A/N100A	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.108	L1.47	N30S/Y52CA/Y58A/N100Q	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.109	L1.47	N30S/Y52CA/Y58A/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H

图10B

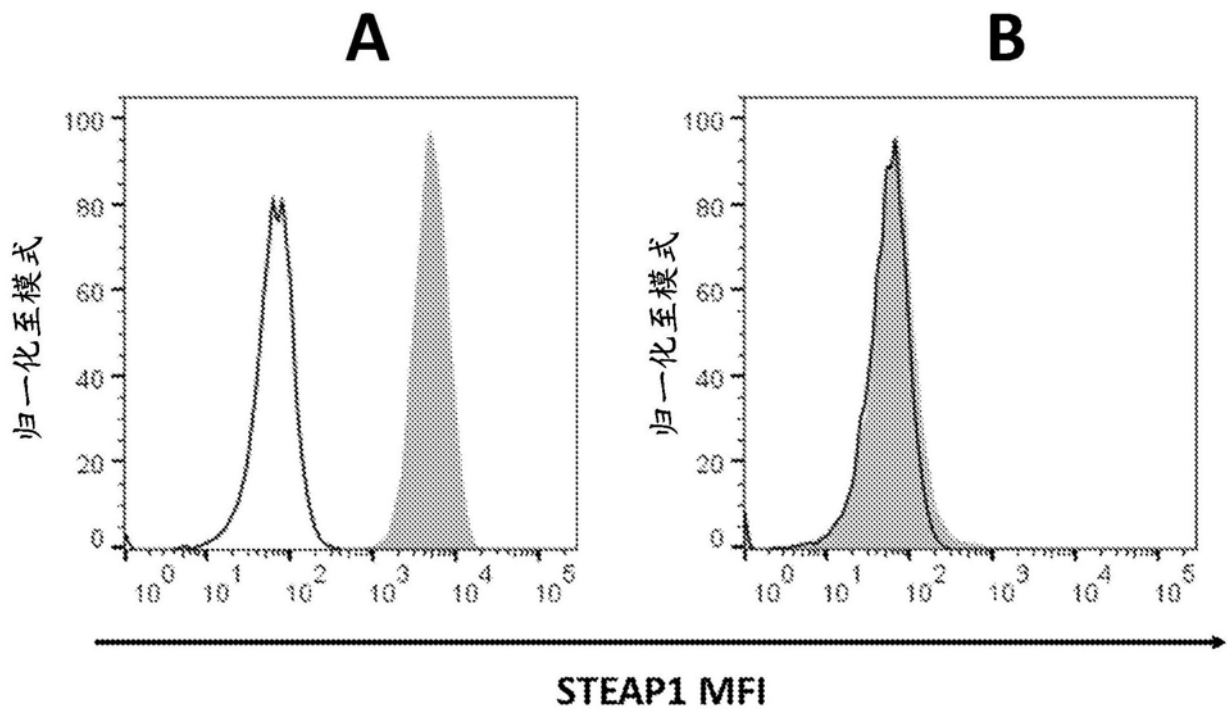


图11

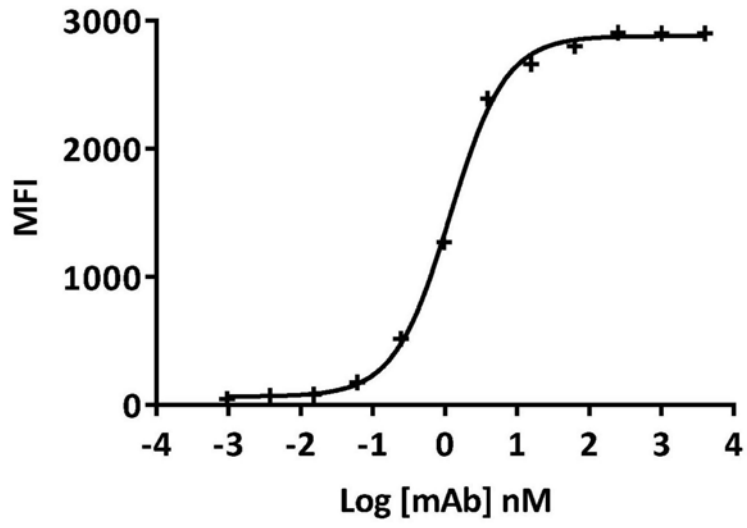


图12A

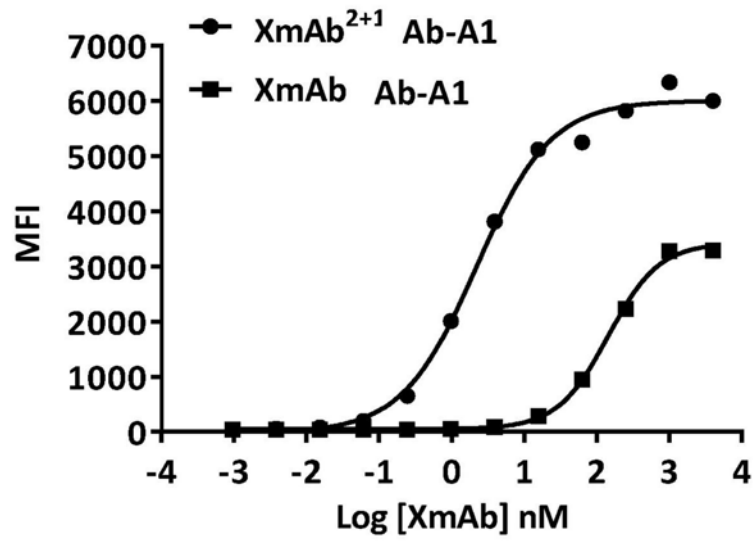


图12B

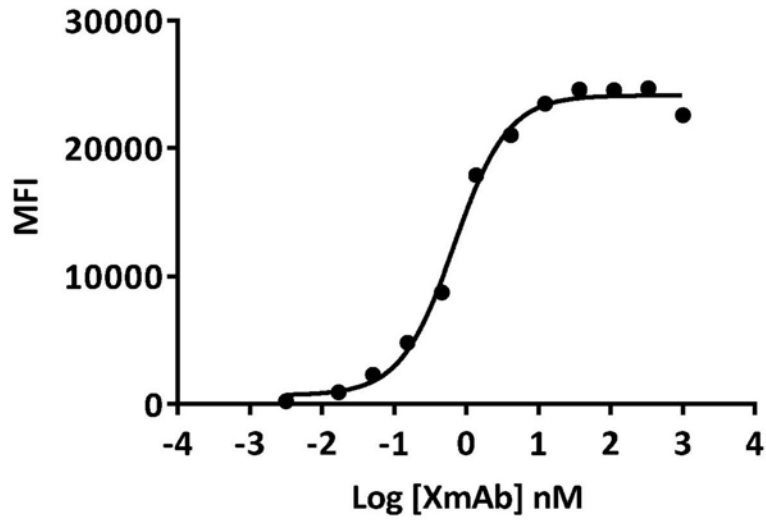


图12C

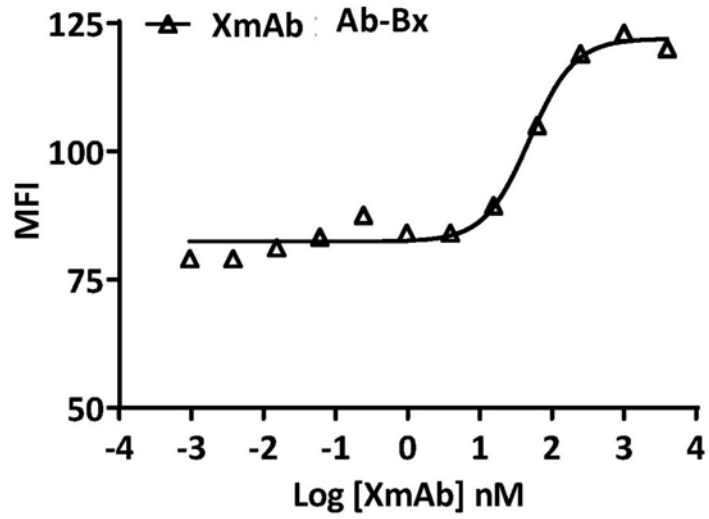


图13

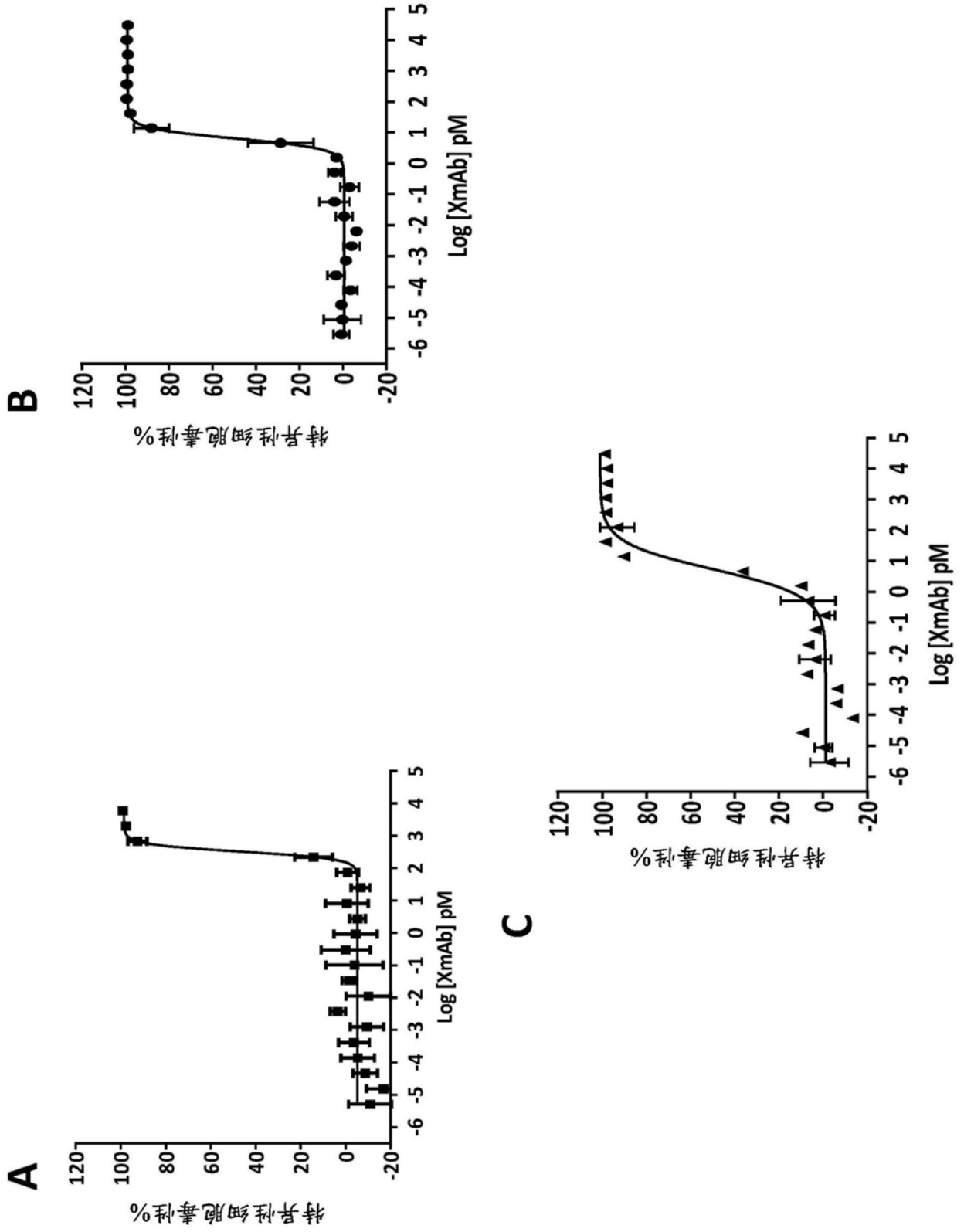


图14

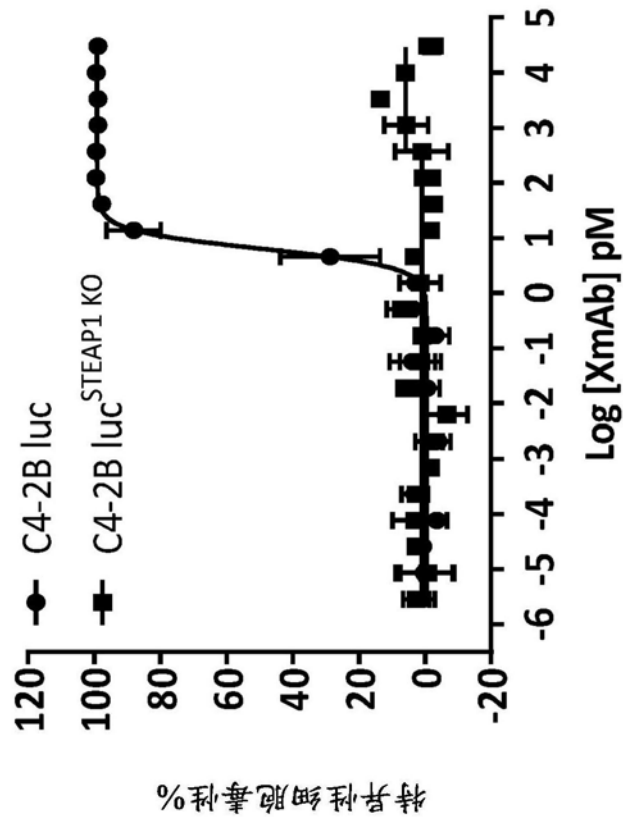


图15

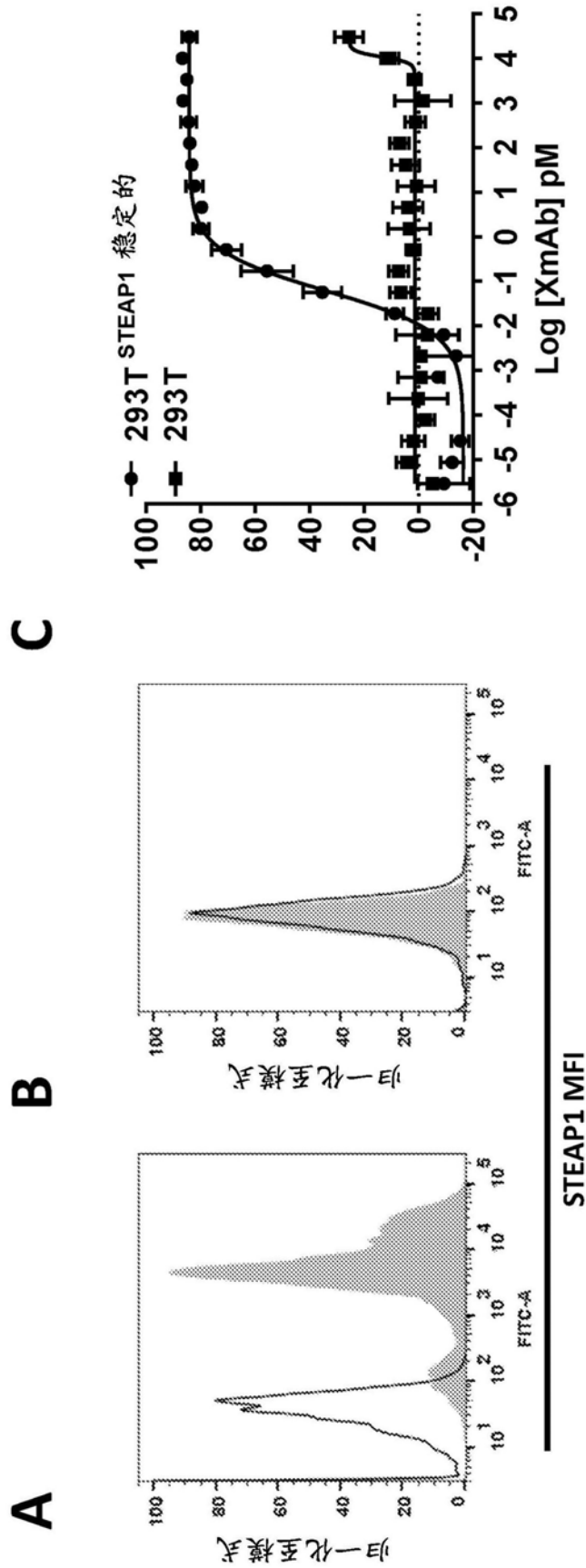


图16

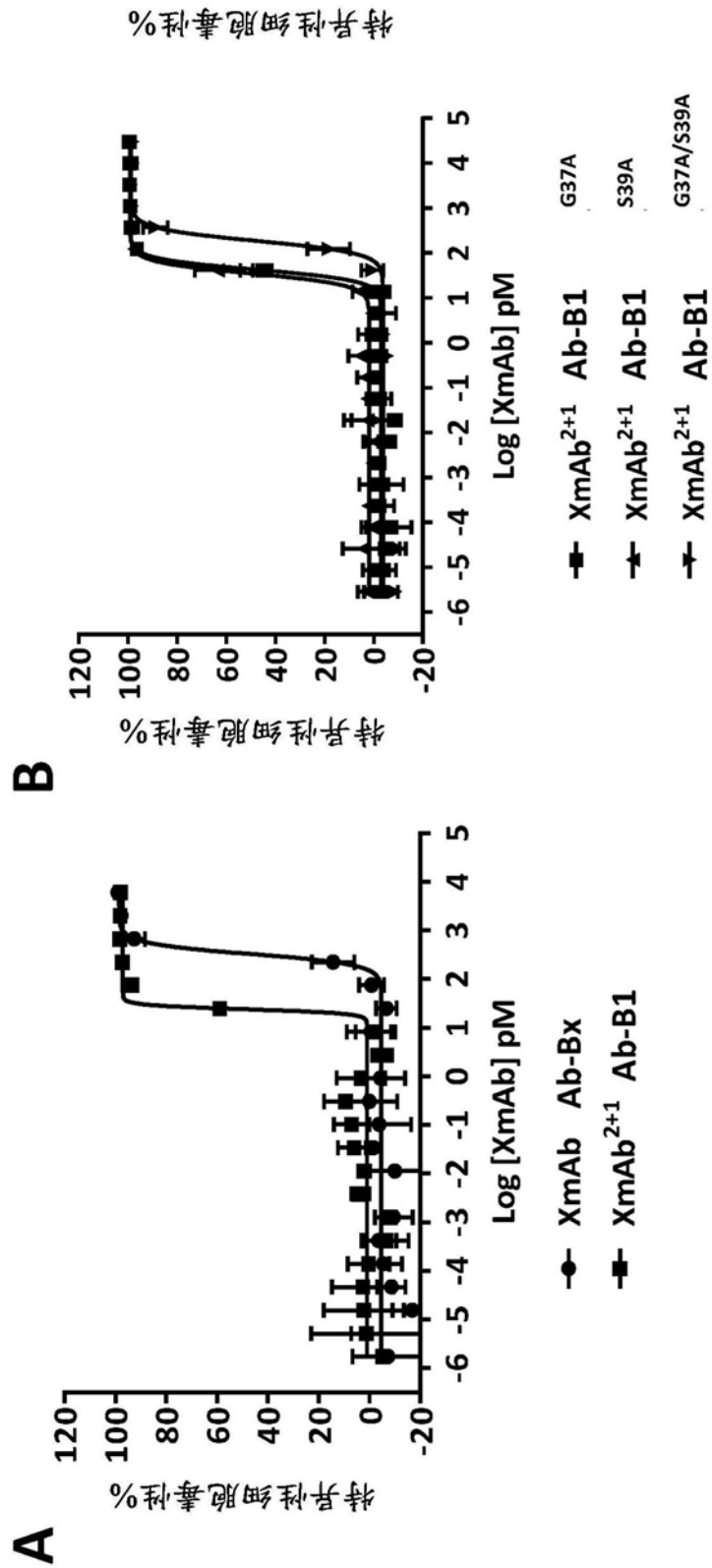


图17

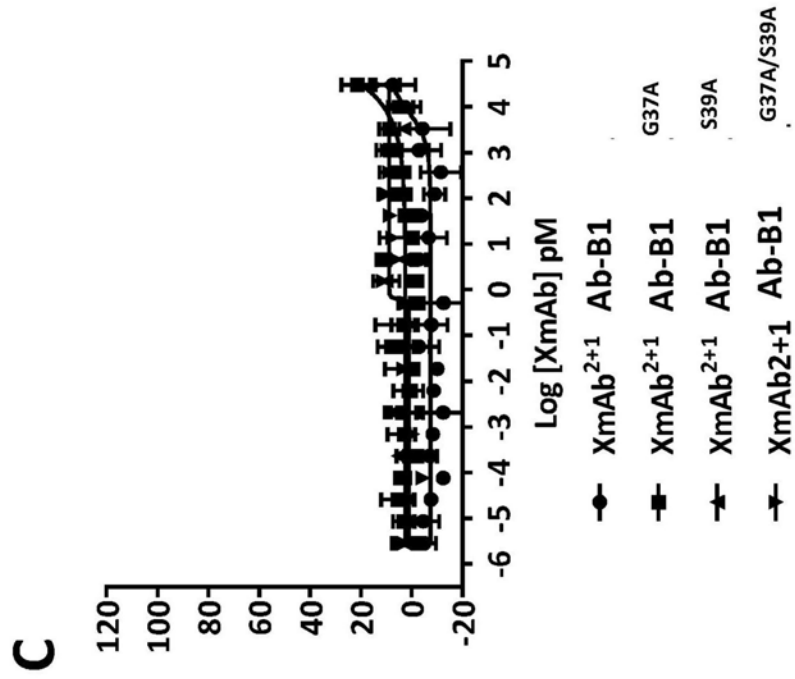


图17C

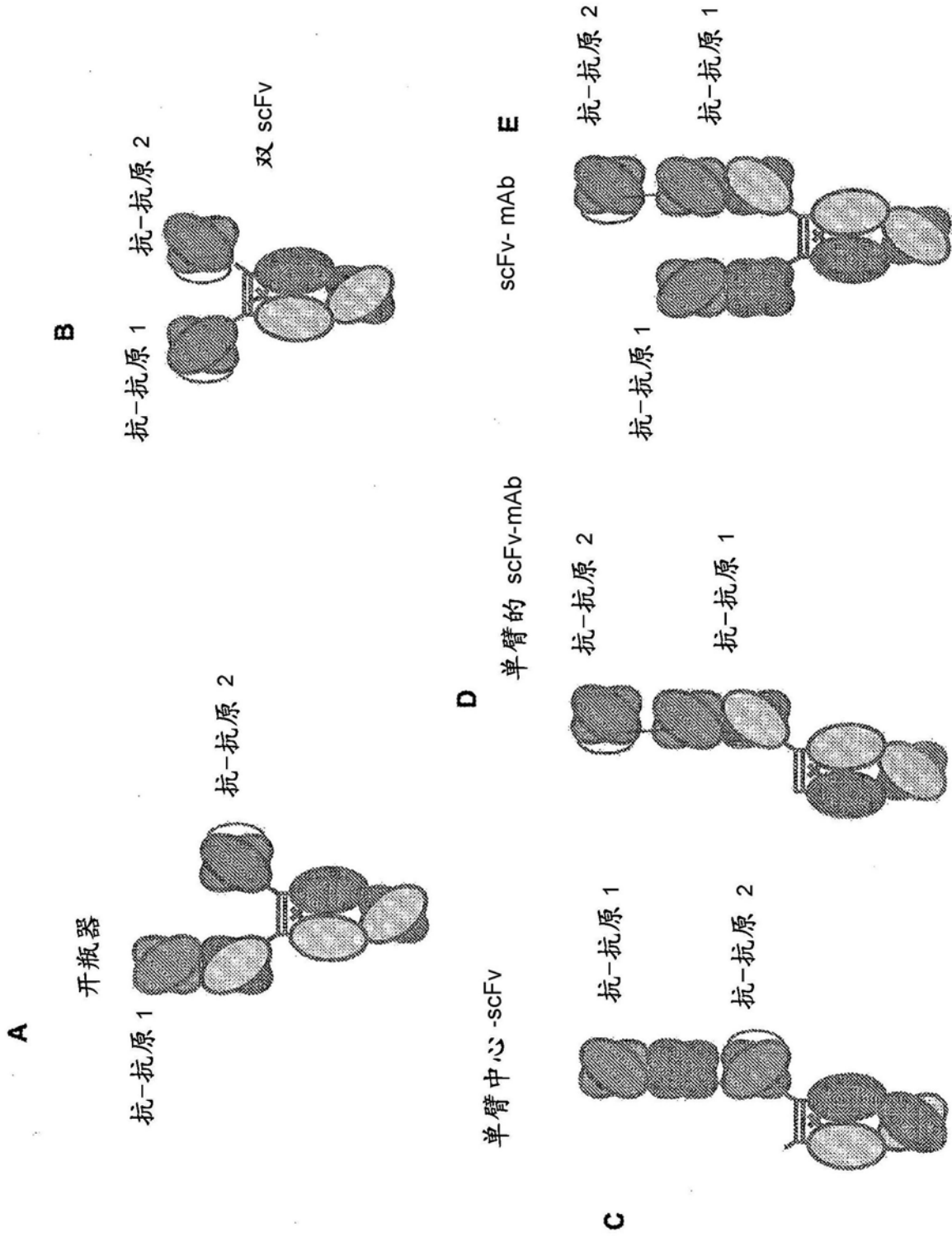


图18A-E

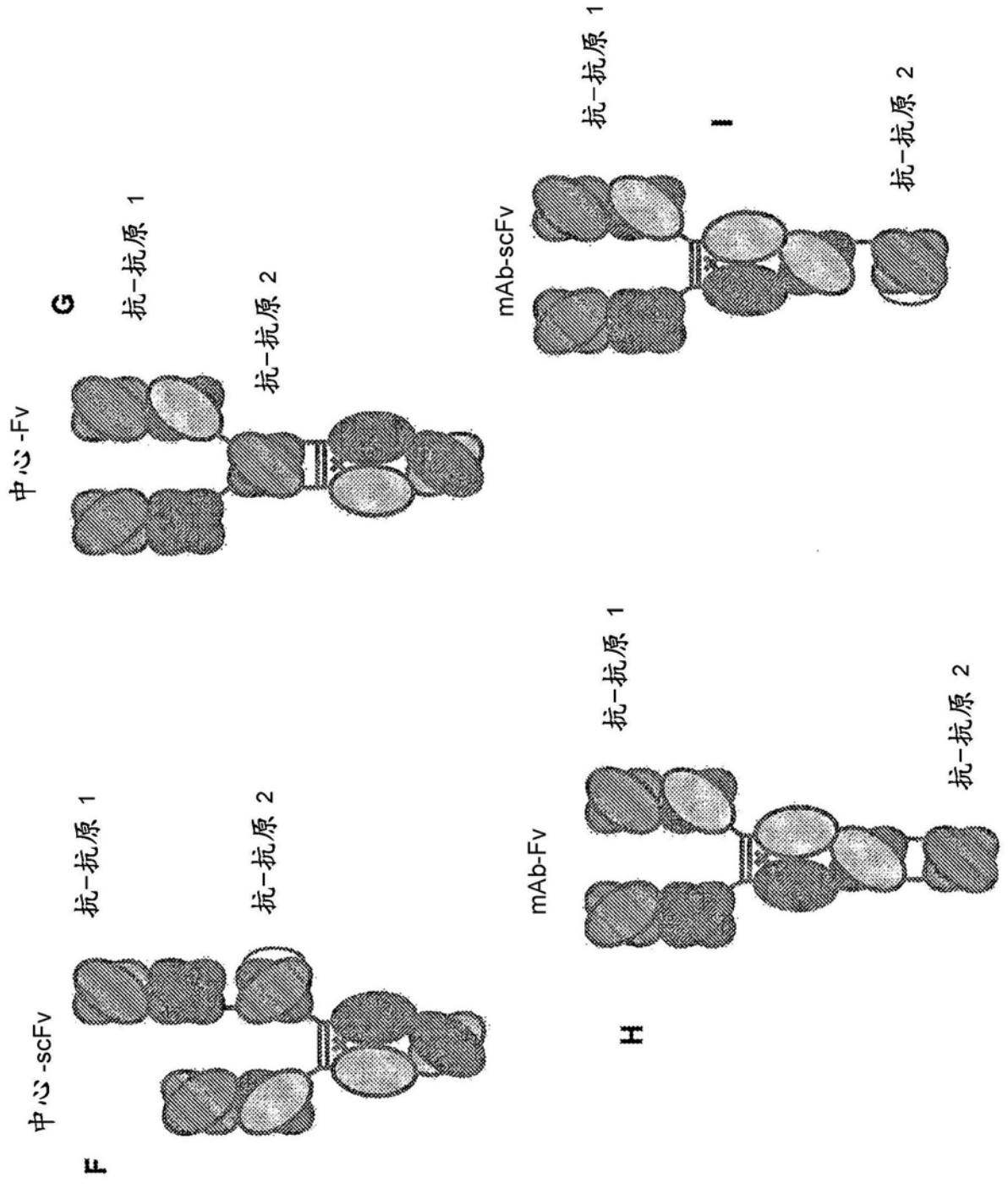


图18F-I

SEQ ID NO:	描述	序列
1.	CD3 ε链-人	MQSGTHWRVGLGCLLSVGVWGDGNEEMGGITQTPYKVISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNI GDEDEDHLSLKEFSELEQSGYVYCYPRGSKPEDANFYLRARVCENCMEMDMVMSVATVIVD CITGGLLLLVYVWSK NRKAKAPVTRGAGAGGRQGRQNKERPPVNPDPYEPKRGQRDLYSGLNQ RRI MESKRDITNQEELWKMKPRRNLLEDDYLHKDTGETSMLKRPVLLHLHQT AHAEFDCPSE LQHTQELFPQWHLPIKIAAIIASLTFLYLLREV IHPLATSHQQYFYKIPILVINKVLPM VSITLLALVYLP GVIAAIVQLHNGTKYKFFPHWLDKWMMLTRKQFGLLS FFFAVLHAIYSL SYPMRRSRYKLLNWAYQQVQ QNKEDAWIEHDVWRMEIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPS VSDSLTWREFHYIQSKLIGIVSLLGTHALIFAWNKWIDIKQFVWYTPPTFMIAVFLPIV VLIFKSILFLPCLRRKKILRHWEDVTKINKTEICSQL
2.	STEAP-1 - 人	QVQLQSGAEMMKPGASVKISCKATGYTFSTYWIEWVKQRP GHLEWIGEILPGSGNTDFNEKFKGKATFTADTS SDTAYMHLSSLTSEDSAVYCYTRWGYGTRGYFN VWGAGSTVTVSS TYWIE
3.	Ab-A HC 可变	EILPGSGNTDFNEKFKG
4.	Ab-A HCDR1	WGYYGTRGYFNV
5.	Ab-A HCDR2	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSVSYMHWFQ QKPGTSPKLIWYSTSNLASGVPARFSGSGTSYSLT SRME AEDAATYCCQRRSFYTFGGG TKLEIK SASSVSYMH
6.	Ab-A HCDR3	STSNLAS
7.	Ab-A LC 可变	QRRRFPYT
8.	Ab-A LCDR1	RASSVSYMH
9.	Ab-A LCDR2	
10.	Ab-A LCDR3	
11.	Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ LCDR1	

图19

12.	Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ LCDR2	STSNLAS
13.	Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ LCDR3	QQRRSFPYT
14.	Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ HCDR1	TYWIE
15.	Ab-A1 Xmab ²⁺¹ HCDR2	EILPGSGNTDFNEKFQG
16.	Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ HCDR3	WGYGTRGYFNV
17.	Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ 轻链	MGWSCILFLVATATGVHSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSVSYMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPAR FSGSGSDTYLTISSLEPEDFAVYVYCCQRRSFPYTFGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
18.	Ab-A1 Xmab ²⁺¹ 重链	MGWSCILFLVATATGVHSEQQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSTYVIEWVVRQAPGQRLEWMMGEILPGSG NTDFNEKFQGRVFTADTSSDTAYMELSSLRSEDTAVYCYTRWGYGTRGFYFNWVWGGTLTVSSASTKGPSVFPPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS DTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEEYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCDVSGFYPYSDIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEEQGDVFCSCVMHEALHNHYT QKSLSPGK
19.	Ab-A1 Xmab ²⁺¹ XVHMx	MGWSCILFLVATATGVHSEQQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSTYVIEWVVRQAPGQRLEWMMGEILPGSG NTDFNEKFQGRVFTADTSSDTAYMELSSLRSEDTAVYCYTRWGYGTRGFYFNWVWGGTLTVSSASTKGPSVFPPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKEPKSCGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMINWVRQAPGKGLIEWVGRV RSKYNNTYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCYTRHGNFGDSYVWFAYWVGGQTLTVSSG KPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVTQEPSLTVSPGGTTLTCGSSGTAVTTSYANWVWVQKPKGSPRGLIGGNTKR APGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYCALWYNSHWVFGGGLTVLGGGGGGGGKTHTCPPCPAPP VAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTRYVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVCLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWVQGGNFCSCVMHEALHNHYTQKSLSPGK

图19续

20.	Ab-A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ XVHMx	MDMIRVPAQLLGLLLWLRGARCQVLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSTYWIEWVRQAPGQRLEWMGEIL PGSGQTD FNEK FQGRVTF TADTSSDTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWGYYGTRGYFNVWVGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVWRQAPGKGLLEW VGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTV SSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTN KRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGLKTLVLGGGGGGGSKTHTCPPCPA PPVAGPSVFLPPPKKDTLMISRTPETCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVVKLTCLVKGFPYSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK EILPGSGQTD FNEK FQG
21.	Ab-A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ HCDR2 (所有其他 CDR与Ab-A1 Xmab ²⁺¹ 相同)	
22.	Ab-B1 重链可变	QIQLVQSGPELKKPGETVKISKASGYFTNYGMNWVKQAPGKGLQWGMWMTYTGPTYADDFKGRFAFSLET SARTVSLDINDLKNEDATYFCTRAGGQLRPGAMDYWGQGSTVTVSS
23.	Ab-B1 HCDR1	NYGMN
24.	Ab-B1 HCDR2	WMNTYTGPTYADDFKG
25.	Ab-B1 HCDR3	AGGQLRPGAMDY
26.	Ab-B1 轻链可变	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISKASQSDYDGDGDFMNMWYQQKPGQPCKLLIYVASNLESIGIPDRFSGSGSGDTFTLN IHPVEEEDAATYCCQQSNEEPTFGGGTKLEIK
27.	Ab-B1 LCDR1	KASQSDYDGDGDFMN
28.	Ab-B1 LCDR2	VASNLES
29.	Ab-B1 LCDR3	QQSNEEPT
30.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹	KASQSDYDGDGDFMN

图19续

	LCDR1	
31.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ LCDR2	VASNLES
32.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ LCDR3	QQSNEEPTT
33.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ HCDR1	NYGMN
34.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ HCDR2	WMNTYTGEPTYADKFKQG
35.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ HCDR3	AGGQLRPGAMDY
36.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ 轻链	MGWSCIILFLVATATGVHSDIVLTQTPLSVTPGQPASISCKASQSDYDGDGDFMNVWYVQKPGQPPQLIYVASNLESGVDFRFGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCCQSNEEPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
37.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ 重链	MGWSCIILFLVATATGVHSEIQLVQSGAEVKKPQATVKISCKASGYTFTNYGMNVVQAPGQGLEWVMGWMNTYTGEPTYADKFKQGRVFTLDTSARTVYMELSLRSEDTAVYFCARAGGQLRPGAMDYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFLPAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHTYICNVNHKPSDTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSEFLLYSKLTVDKSRWEEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
38.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ XMVHx	MGWSCIILFLVATATGVHSEIQLVQSGAEVKKPQATVKISCKASGYTFTNYGMNVVQAPGQGLEWVMGWMNTYTGEPTYADKFKQGRVFTLDTSARTVYMELSLRSEDTAVYFCARAGGQLRPGAMDYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFLPAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHTKPSNTKVDKKEPKSCGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGFGDSVSWFAYWGQGTLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTLVSPGGTTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSISGAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGLTTLVGGGGGGGGKSTHTCCPCPA PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSEFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
39.	抗-CD3 H1_L1.4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTSTYAMNWRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGFGDSVSWFAYWGQGTLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV

图19续

		TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
40.	抗 -CD3 H1_L1.4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
41.	抗 -CD3 H1_L1.4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSS
42.	抗 -CD3 H1_L1.4	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
43.	抗 -CD3 H1.30_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
44.	抗 -CD3 H1.30_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
45.	抗 -CD3 H1.30_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSS
46.	抗 -CD3 H1.30_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
47.	抗 -CD3 H1.33_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
48.	抗 -CD3 H1.33_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
49.	抗 -CD3 H1.33_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGTLLTVSS
50.	抗 -CD3 H1.33_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

图19续

51.	抗 -CD3 H1.31_L147	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVROAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDD SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVYCVRHGNEFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVT QEPLSTVSPGGTTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQP EDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
52.	抗 -CD3 H1.31_L147	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVROAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDD SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVYCVRHGNEFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVT QEPLSTVSPGGTTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQP EDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
53.	抗 -CD3 H1.31_L147	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVROAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDD SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVYCVRHGNEFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSS
54.	抗 -CD3 H1.31_L147	QAVVTQEPSTVSPGGTTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
55.	抗 -CD3 H1.32_L147	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVYCVRHGNEFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
56.	抗 -CD3 H1.32_L147	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVYCVRHGNEFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
57.	抗 -CD3 H1.32_L147	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVYCVRHGNEFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSS
58.	抗 -CD3 H1.32_L147	QAVVTQEPSTVSPGGTTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
59.	抗 -CD3 H1.88_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVYCVRHGNEFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
60.	抗 -CD3 H1.88_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVYCVRHGNEFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
61.	抗 -CD3 H1.88_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVYCVRHGNEFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSS

图19续

62.	抗 -CD3 H1.88_L1.47	QAVVTEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPKGSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI</u> SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
63.	抗 -CD3 H1.89_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFGDEYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPKGSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ</u> PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
64.	抗 -CD3 H1.89_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFGDEYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPKGSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ</u> PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
65.	抗 -CD3 H1.89_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFGDEYVSWFAYWQQGTLTVSS
66.	抗 -CD3 H1.89_L1.47	QAVVTEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPKGSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI</u> SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
67.	抗 -CD3 H1.90_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFGDPYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPKGSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ</u> PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
68.	抗 -CD3 H1.90_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFGDPYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPKGSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ</u> PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
69.	抗 -CD3 H1.90_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFGDPYVSWFAYWQQGTLTVSS
70.	抗 -CD3 H1.90_L1.47	QAVVTEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPKGSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI</u> SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
71.	抗 -CD3 H1.91_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPKGSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ</u> PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
72.	抗 -CD3 H1.91_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFGDSYVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPKGSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ</u> PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

图19续

73.	抗-CD3 H1.91_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKANNIYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSS QAVVTEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAALTI SGAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
74.	抗-CD3 H1.91_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNIYATAYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQ PEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
75.	抗-CD3 H1.92_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNIYATAYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQ PEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
76.	抗-CD3 H1.92_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNIYATAYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQ PEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
77.	抗-CD3 H1.92_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNIYATAYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSS QAVVTEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAALTI SGAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
78.	抗-CD3 H1.92_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNIYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQ PEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
79.	抗-CD3 H1.93_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNIYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQ PEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
80.	抗-CD3 H1.93_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNIYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQ PEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
81.	抗-CD3 H1.93_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNIYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGTLLTVSS QAVVTEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAALTI SGAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
82.	抗-CD3 H1.93_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNIYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQ PEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
83.	抗-CD3 H1.94_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNIYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPKGSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAALTSGAQ PEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
84.	抗-CD3 H1.94_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNIYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV

图19续

			TQEPSLTVSPGGTVTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGG</u> TNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
85.	抗-CD3 H1.94_L1.47		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCRHGFNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGG</u> TNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
86.	抗-CD3 H1.94_L1.47		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCRHGFNFGDNVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGG</u> TNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
88.	抗-CD3 H1.96_L1.47		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCRHGFNFGDNVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGG</u> TNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
89.	抗-CD3 H1.96_L1.47		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCRHGFNFGDNVSWFAYWGQGLTVTVSS
90.	抗-CD3 H1.96_L1.47		QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGG</u> TNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
91.	抗-CD3 H1.97_L1.47		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCRHGFNFGDQVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGG</u> TNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
92.	抗-CD3 H1.97_L1.47		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCRHGFNFGDQVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGG</u> TNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
93.	抗-CD3 H1.97_L1.47		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCRHGFNFGDQVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGG</u> TNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
94.	抗-CD3 H1.97_L1.47		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCRHGFNFGDQVSWFAYWGQGLTVTVSS
95.	抗-CD3 H1.98_L1.47		QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGG</u> TNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCRHGFNFGDSYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGG</u> TNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

图19续

96.	抗 -CD3 H1.98_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKANNIYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGTLLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALISGAQ PEEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
97.	抗 -CD3 H1.98_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKANNIYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGTLLVTVSS
98.	抗 -CD3 H1.98_L1.47	QAVVTEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
99.	抗 -CD3 H1.99_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNIYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGTLLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALISGAQ PEEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
100.	抗 -CD3 H1.99_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNIYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGTLLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALISGAQ PEEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
101.	抗 -CD3 H1.99_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNIYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGTLLVTVSS
102.	抗 -CD3 H1.99_L1.47	QAVVTEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
103.	抗 -CD3 H1.100_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNIYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGASVSWFDYWGQGTLLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALISGAQ PEEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
104.	抗 -CD3 H1.100_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNIYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGASVSWFDYWGQGTLLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALISGAQ PEEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
105.	抗 -CD3 H1.100_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNIYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGASVSWFDYWGQGTLLVTVSS
106.	抗 -CD3 H1.100_L1.47	QAVVTEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
107.	抗 -CD3 H1.101_L1.47	EVQLVGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNIYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGQSVSWFDYWGQGTLLVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV

图19续

108.	抗 -CD3 H1.101_L1.47	TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVWVQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGQSYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
109.	抗 -CD3 H1.101_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVWVQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGQSYVSWFDYWGQGLTVTVSS
110.	抗 -CD3 H1.101_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SQAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
111.	抗 -CD3 H1.102_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVWVQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDEYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
112.	抗 -CD3 H1.102_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVWVQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDEYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
113.	抗 -CD3 H1.102_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVWVQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDEYVSWFDYWGQGLTVTVSS
114.	抗 -CD3 H1.102_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SQAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
115.	抗 -CD3 H1.103_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVWVQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDNYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
116.	抗 -CD3 H1.103_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVWVQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDNYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTSGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
117.	抗 -CD3 H1.103_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVWVQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDNYVSWFDYWGQGLTVTVSS
118.	抗 -CD3 H1.103_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SQAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

图19续

119.	抗 -CD3 H1.104_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTFYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDPPYVWFYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTS GAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
120.	抗 -CD3 H1.104_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTFYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDPPYVWFYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTS GAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
121.	抗 -CD3 H1.104_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTFYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDPPYVWFYWGQGLTVTVSS
122.	抗 -CD3 H1.104_L1.47	QAVVTQEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAAL TISGAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
123.	抗 -CD3 H1.105_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTFYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDQYVWFYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV VTQEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTS GAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
124.	抗 -CD3 H1.105_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTFYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDQYVWFYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV VTQEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTS GAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
125.	抗 -CD3 H1.105_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTFYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDQYVWFYWGQGLTVTVSS
126.	抗 -CD3 H1.105_L1.47	QAVVTQEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAAL TISGAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
127.	抗 -CD3 H1.106_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTFYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDSYVWFYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTS GAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
128.	抗 -CD3 H1.106_L1.47 (ScFv)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTFYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDSYVWFYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTS GAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
129.	抗 -CD3 H1.106_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTFYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYVYVRHGNFGDSYVWFYWGQGLTVTVSS

图19续

130.	抗 -CD3 H1.106_L1.47	QAVVTEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGV</u> PARFSGSLLGGKAAITI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
131.	抗 -CD3 H1.107_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFASVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGV</u> PARFSGSLLGGKAAITISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
132.	抗 -CD3 H1.107_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFASVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGV</u> PARFSGSLLGGKAAITISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
133.	抗 -CD3 H1.107_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFASVSWFAYWQQGTLTVSS
134.	抗 -CD3 H1.107_L1.47	QAVVTEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGV</u> PARFSGSLLGGKAAITI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
135.	抗 -CD3 H1.108_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFASVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGV</u> PARFSGSLLGGKAAITISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
136.	抗 -CD3 H1.108_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFASVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGV</u> PARFSGSLLGGKAAITISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
137.	抗 -CD3 H1.108_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFASVSWFAYWQQGTLTVSS
138.	抗 -CD3 H1.108_L1.47	QAVVTEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGV</u> PARFSGSLLGGKAAITI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
139.	抗 -CD3 H1.109_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFASVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGV</u> PARFSGSLLGGKAAITISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
140.	抗 -CD3 H1.109_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNEFASVSWFAYWQQGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTTLT <u>CGSSTGAVTTSNYANWVQQPKGKSPRGLIGGTTNKRAPGV</u> PARFSGSLLGGKAAITISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

图19续

141.	抗 -CD3 H1.109_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLTVTVSS
142.	抗 -CD3 H1.109_L1.47	QAVVTEPSLTVSPGGTTLTCGSSGAVTTSNRYANWVQKPKGKPRGLIGGTTKRAPGVPARFSGSLGGKAALTI SQAQPEDEADYCALWYSNHWFVGGGKTLTVL
143.	接头	GGGSGGGGGGGGGG
144.	惠特洛接头	GSTSGKPGSGEGSTKG
145.	接头	IRPRAIGGSKPRVA
146.	接头	GKGGSGKGGGKGGG
147.	接头	GGKSGGKGGGKGGG
148.	接头	GGKSGGKGGGKGGG
149.	接头	GKGSKGKGGKGGG
150.	接头	GGKSGGKGGGKGGG
151.	接头	GKPGSGKPGSGKPGS
152.	接头	GKPGSGKPGSGKPGS
153.	接头	GKGSKGKGGKGGKGG
154.	接头	GGGSGGGGGGGGGGG
155.	接头	STAGDTHLGGEDFD
156.	接头	GEGSGEGSGEGEGS
157.	接头	GEGSGEGSGEGEGS
158.	接头	GGESGGEGSGEGES
159.	接头	GEGSGEGSGEGES
160.	接头	GGESGGEGSGEGES
161.	接头	GEGSGEGSGEGEGES
162.	接头	GGGSGGGGGGGGGG
163.	接头	GGGSGGGGGGGGGGG
164.	接头	GSTSGKPGSGEGSTKG
165.	接头	PRGASKSGASQTGSAPGS
166.	接头	GTAAGAAGAAAGAAAG
167.	接头	GTSGSGSGSGSGSGGGG
168.	接头	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS
169.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

图19续

	抗-CD3, 重链可变	
170.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ 抗-CD3, HCDR1	TYAMN
171.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ 抗-CD3, HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKGG
172.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ 抗-CD3, HCDR3	HGNFGDSVVSWFAY
173.	Ab-A1 XmAb ²⁺ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ 抗-CD3, 轻链可变	QAVVWTEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
174.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ 抗-CD3, LCDR1	GSSTGAVTTSNYAN
175.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ 抗-CD3, LCDR2	GTNKRAP
176.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ 抗-CD3, LCDR3	ALWYSNHWV
177.	STEAP2 - 人	MESIMMGGSPKSLSEFLPNGINGIKDARKVTVGVIGSGDFAKSLTIRLIRCGYHVVIGS RNPKFASEFFPHWVDVTHHEDALTKTNIIFVAIHREHYTSLWDLRHLVGGKILIDVSNMI RINQYSPESNAEYLASLFPDSLIVKGFNVVSAWALQLGPKDASRQVYICSNIIQARQQVIE

图19续

		LARQLNFIPIDLGSLSSAREIENLPLRLFTLWRGPVVVAISLATFFFLYSFVRDVIHPYA RNQQSDFYKPIEIVNKTLPVAVITLLSLVLAGLAAAYQLYGTKYRRFPWLETLWQ CRKQLGLSFFAMVHVAYSCLPMRRSERYLFNLMAYQQVHANIEINSWNEEVVWRIEMY ISFGIMSLGLLSLLAVTSPISVSNALNWREFSIQSTLGYVALLJSTFHVLIYGWKRAFE EYYRYFTPPNFVALVLPISVILGKIILFLPCISRKLKRIKKGWKSQFLEEGMGGTIP HVSPERVTVM
178.	接头	GSGGS
179.	接头	GGGS
180.	接头	GGGS
181.	接头	GFLG
182.	Ab-A1 Xmab ²⁺¹ 重链可变	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSTYIEWVWVROAPGQRLEWMMGEILPGSGNTDFNEKFQGRVFTADTS SDTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWGYYGTRGFNVWGGTLLTVSS
183.	Ab-A1/A2(N67Q) Xmab ²⁺¹ 轻链可变	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSVSYMHWFQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSGSDTYTLTISSLEPE DFAVYYCQQRRSPFPTFGQGTKLEIK
184.	Ab-A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ 重链可变	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSTYIEWVWVROAPGQRLEWMMGEILPGSGQTDNFNEKFQGRVFTADTS SDTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWGYYGTRGFNVWGGTLLTVSS
185.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ 重链可变	EIQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYTFSTYGMNWWVQQAPGQGLEWMMGWMTNTYGEPTYADKFKQGRVFTLID TSARTVYMEISSLRSEDTAVYFCARAGGQLRPGAMDYWGQGMVTVSS
186.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ 轻链可变	DIVLTQPLSLVTPGQPASISCKASQSDYDGDGDFMNNWYLKPGQPPQLIYVVASNLESGVDPDRFSGSGSDFTLTK ISRVEAEDVGVVYCCQQSNEEPTFGQGTKLEIK
187.	人 PD-1	PGWFLDSPDRPWNPTFSPALLVVTEDGNATFTCSFSNTSEFVLNWYRMSPSNQTKLAAFPEDRSQPGQDCRF RVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTLYLCAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAQGFQTLVVG VVGGLLGSLLVWVLAVICSRRAARTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSDYDYGELDFQWREKTPPPVPCVPEQTEYA TIVFPSGMGTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL
188.	食蟹猴 PD-1	MQIPQAPWPVWAVLQLGWRPGWFLESPDRPWNAPTFSBALLLVTEGDNATFTCSFNASESVLNWYRMSPS NQTDKLAAFPEDRSQPGQDCRFVTRIPNGRDFHMSVVRARRNDSGTLYLCAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAE VPTAHPSPSPRPAQGFQALVGVVGGLLGSLLVWVLAVICSRRAAQGTIEARRTGQPLKEDPSAVPVFSDYDYGELD FQWREKTPPPVPCVPEQTEYATIVFPSGLTSSPARRGSADGPRSPRPLRPEDGHCSWPL
189.	抗-PD-1抗体HC	SYDMS

图19续

	CDR1	
190.	抗 PD-1 抗体 HC CDR2	LISGGGSQTYAESVK
191.	抗 PD-1 抗体 HC CDR3	PSGHYFYAMDV
192.	抗 PD-1 抗体 LC CDR1	RASQGISNWLA
193.	抗 PD-1 抗体 LC CDR2	AASSLQS
194.	抗 PD-1 抗体 LC CDR3	QQAESFPHT
195.	抗 PD-1 抗体可变 重链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYDMSWVRQAPGKGLWVYSLISGGGSQTYAESVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCASPSGHYFYAMDVWGQGTITVTVSS
196.	抗 PD-1 抗体可变 轻链	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPKAPKLLIFAAASSLQSGVPSRFSGSGGDTFTLTI SSLQPEDFATYYCQQAESFPHTFGGGTKVEIK
197.	抗 PD-1 抗体全长 重链	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYDMSWVRQAPGKGLWVYSLIS GGSQTYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCASPSGHYFYAMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSV FLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVWTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHCTPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSGSEFLYSKLTVDKSRWQQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
198.	抗 PD-1 抗体全长	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCDIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPKAPKLLIFAAASS LQSGVPSRFSGSGGDTFTLTISSLPEDFATYYCQQAESFPHTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV

图19续

<p>CLLNNFYBREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEK</p>	<p>轻链</p>	
<p>MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCQQLVQSGAEVKKPGASVKCKASGYTFSTYWIEWVWRQAPGQRLEWMGEIL PGSGQTDENEKFGQGRVFTADTSSDTAYMELSLRSEDITAVYCTRWGGYVTRGFVNWVWGGTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSDTKVDKKEPKKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDLMISRTPETVTVVVDVKKHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEEYGGTYRCVSLTVLHQQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNIH YTKSLSLSPGK</p>	<p>Ab-A2 (N67Q) Xmab 2+1 重链</p>	
<p>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSVSYMHWFQPKGQAPRLLIYSTNSLASGIPARFSGSGGTDYTLTISSLEPE DFAVYCCQRRSFPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>	<p>Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab²⁺¹ 轻链减信号序列</p>	
<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKCKASGYTFSTYWIEWVWRQAPGQRLEWMGEILPGSGGNTDFNEKFGQGRVFTADTS SDTAYMELSLRSEDITAVYCTRWGGYVTRGFVNWVWGGTLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKEPKKCDKTHTC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDLMISRTPETVTVVVDVKKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS VLTVLHQQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW ESDGPENNYKTTTPVLDSDGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNIHYTKSLSLSPGK</p>	<p>Ab-A1 Xmab²⁺¹ 重链减信号序列</p>	
<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKCKASGYTFSTYWIEWVWRQAPGQRLEWMGEILPGSGGNTDFNEKFGQGRVFTADTS SDTAYMELSLRSEDITAVYCTRWGGYVTRGFVNWVWGGTLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKKCGGGGS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHHGDFGDSYVSWFAYWGGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGKPG SQAVTQEPSTVSPGGTTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPKGSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAAAL TISGAQPEDEADYYCALWYNSHWVFGGGTKLTVLGGGGGGGSKTHTCCPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDLMIS</p>	<p>Ab-A1 Xmab²⁺¹ XVHMx 减信号序列</p>	

图19续

<p>YFPEPVTYSWNSGALTSVHTFPVAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCGGGGG GGGGSEYQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYADSVKGR FTISRDSDKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSVSWFAYWQQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPG SQAVTQEPSLTVSPGGTVLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAL TISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGKTLVLGGGGGGGSKTHTCCPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVTKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>减信号序列</p>
<p>208.</p>	<p>抗 PD-1 抗体 HC 全长减信号序列</p>
<p>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVSLISGGGQTYIAESVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYFCASPSSGHYFYAMDVWGQGTITVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTYSWNSGALTSVHTFPVAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>抗 PD-1 抗体 LC 全长减信号序列</p>
<p>209.</p>	<p>抗 PD-1 抗体 LC 全长减信号序列</p>

图19续

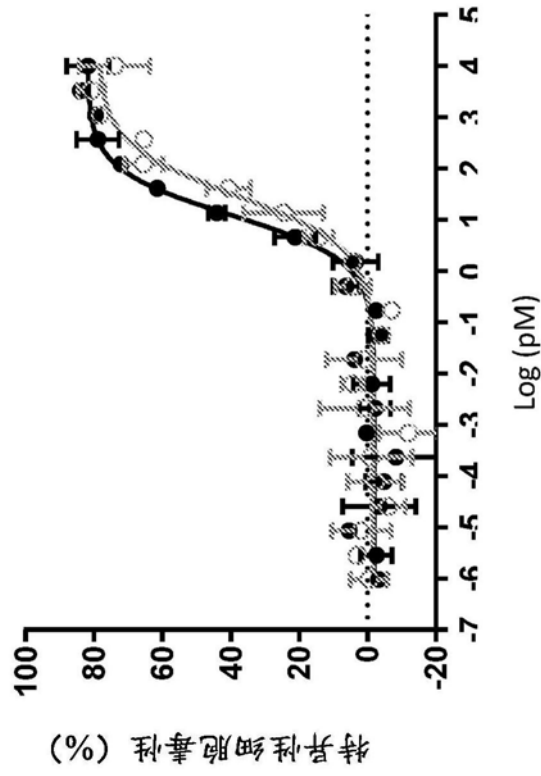


图20A

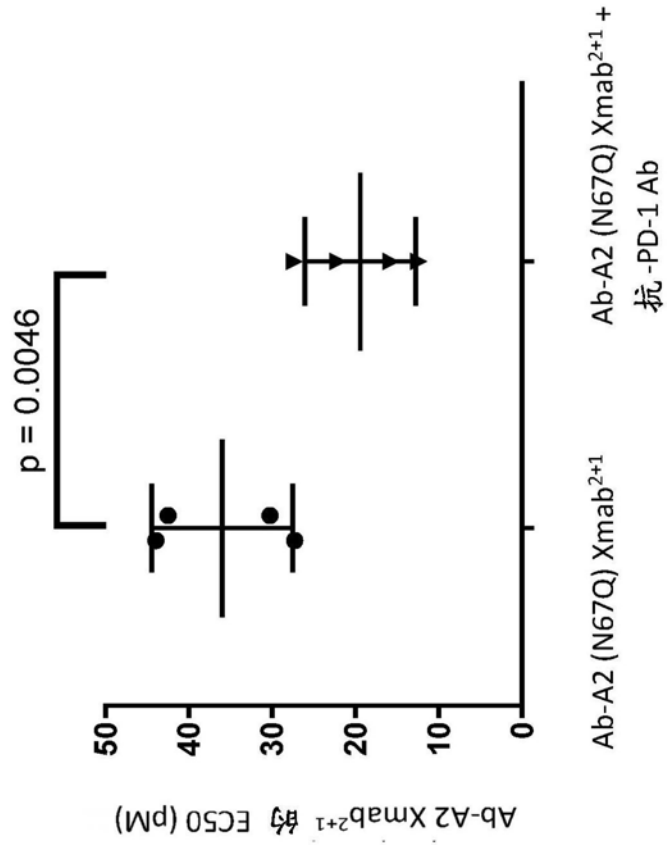


图20B

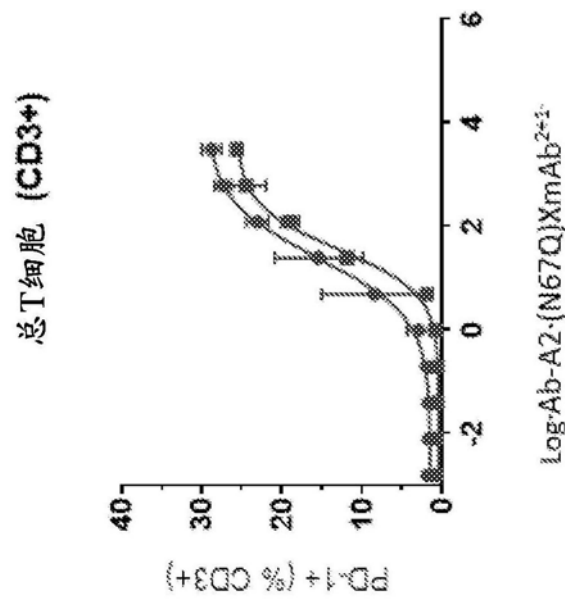


图21A

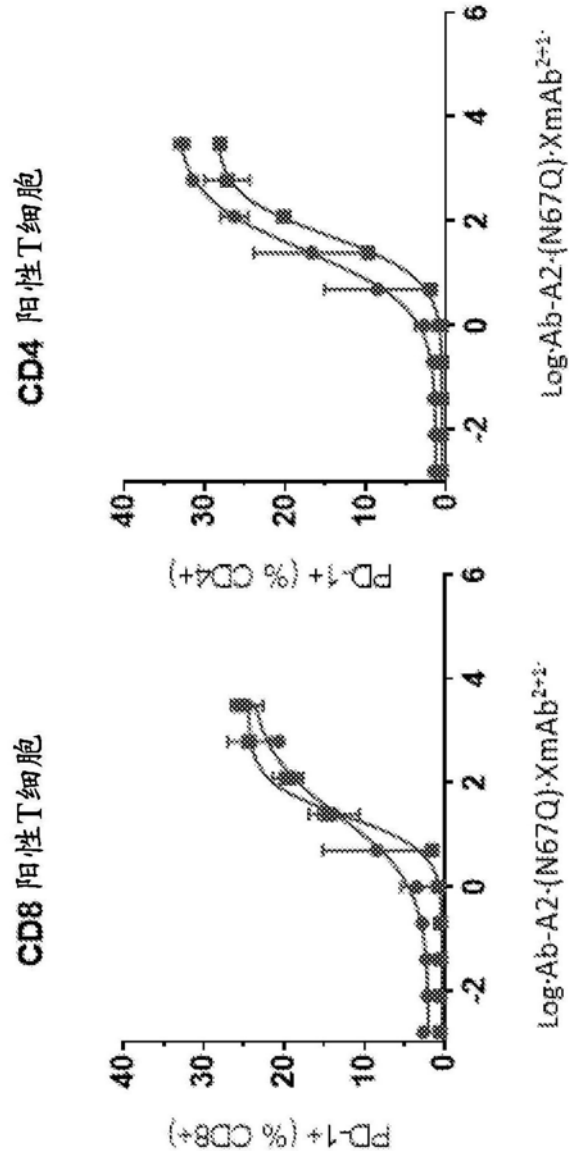


图 21B

图 21C

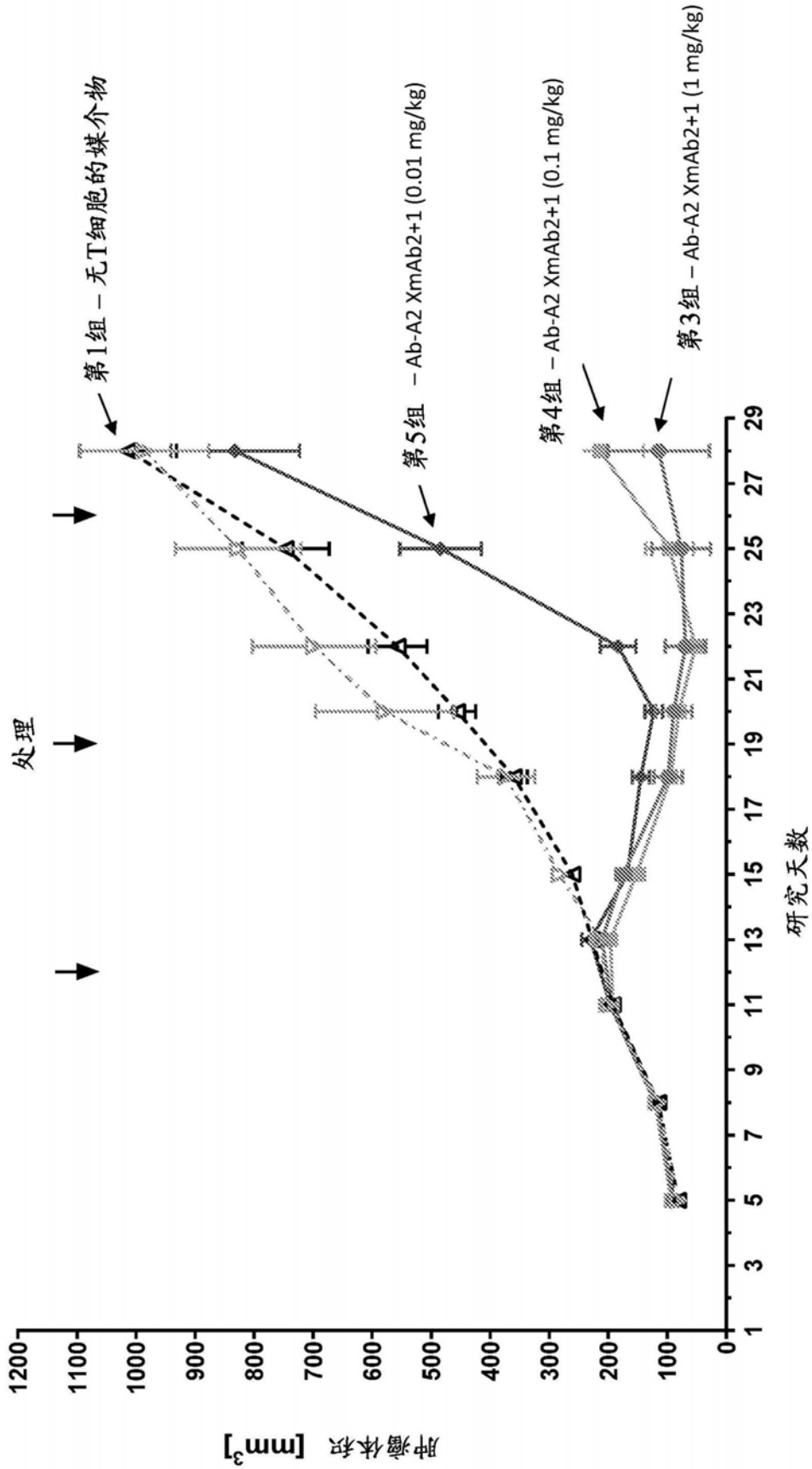


图22

雌性NOD/SCID小鼠中平均和中位SK-N-MC人神经母细胞瘤肿瘤体积

剂量组	参数	肿瘤体积 [mm ³]									
		第5天	第8天	第11天	第13天	第15天	第18天	第20天	第22天	第25天	第28天
1 无T细胞的媒介物	平均值	81.42	115.24	198.79	212.62	282.70	373.05	578.73	698.38	827.31	985.94
	中值	90.28	122.85	203.63	229.86	286.81	323.09	563.09	598.48	673.42	885.10
	标准差	9.84	10.43	15.69	18.48	12.75	48.70	117.46	104.52	106.45	108.87
	动物[N]	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	显著性	n.p.	n.p.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
2 媒介物	平均值	81.70	115.59	192.91	227.63	260.98	360.22	456.04	557.15	746.68	1013.67
	中值	80.44	118.24	196.61	225.01	253.27	348.93	468.93	590.08	837.07	955.14
	标准差	3.26	5.84	5.65	8.43	8.27	22.88	31.99	49.93	73.79	82.53
	动物[N]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	显著性	n.p.	n.p.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
3 Ab-A2 X(mAb2+1 (1.0 mg/kg)	平均值	90.20	116.48	194.16	210.85	174.59	98.67	89.06	69.26	76.53	114.65
	中值	87.90	115.14	197.87	206.94	166.09	78.41	59.90	33.53	27.07	29.77
	标准差	6.06	6.83	5.86	10.05	12.61	24.54	30.99	34.20	49.48	85.58
	动物[N]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	显著性	n.p.	n.p.	n.s.	n.s.	***	***	***	***	***	***
4 Ab-A2 X(mAb2+1 (0.1 mg/kg)	平均值	92.85	120.80	192.45	196.10	152.32	94.10	80.21	52.33	96.21	214.04
	中值	92.42	117.60	197.59	198.67	144.59	88.07	76.73	41.56	55.86	106.87
	标准差	4.26	7.36	5.14	12.56	14.21	9.02	10.31	12.89	40.62	73.43
	动物[N]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	显著性	n.p.	n.p.	n.s.	n.s.	***	***	***	***	***	***
5 Ab-A2 X(mAb2+1 (0.01 mg/kg)	平均值	88.12	120.82	196.68	230.31	168.00	145.00	122.92	183.51	484.07	832.45
	中值	90.29	119.04	200.97	217.31	150.74	121.75	115.60	202.07	431.89	867.08
	标准差	5.07	7.38	5.23	15.01	13.55	14.25	14.81	29.98	69.24	109.11
	动物[N]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	显著性	n.p.	n.p.	n.s.	n.s.	***	***	***	***	*	n.s.

通过与第2组比较进行的邓尼特事后检验，针对肿瘤生长的单因素方差分析和实验结果的评估；显著性：* = p < 0.05；** = p < 0.01；*** = p < 0.001。统计分析从第11天（处理开始前的一天）直到第28天。
 N = 动物数量；n.p. = 未进行；n.s. = 不显著；SEM = 平均值的标准差；w/o = 无。

图23