(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 112912397 B
(45)授权公告日 2025.03.14

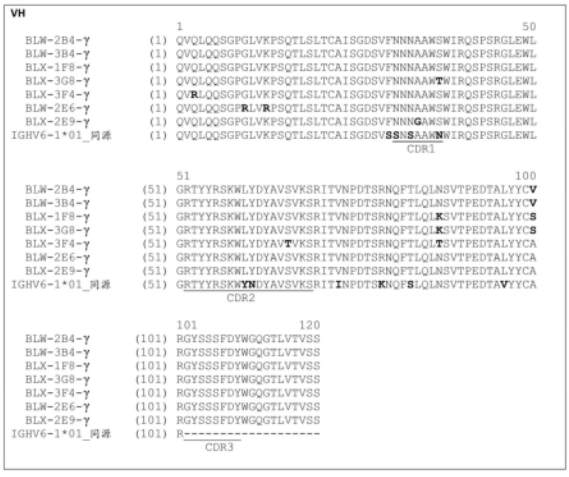
(21)申请号 201980049271.7
(22)申请日 2019.05.21
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112912397 A
(43)申请公布日 2021.06.04
(30)优先权数据
62/676081 2018.05.24 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.01.22
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/IB2019/054188 2019.05.21
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/224717 EN 2019.11.28
(73)专利权人 詹森生物科技公司
地址 美国宾夕法尼亚州
(72)发明人 F·高德特 J·吉尔斯-科马尔 B·海德里奇 C·黄 C·凯恩 R·麦克达德 J·内梅斯-西伊
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 李志强 彭昶
(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
C07K 14/47(2006.01)
C07K 16/30(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)
(56)对比文件
CN 113164588 A,2021.07.23
CN 112703203 A,2021.04.23
审查员 夏颖
权利要求书3页 说明书172页
序列表285页 附图82页

(54)发明名称

抗CD3抗体及其用途

(57)摘要

本发明涉及特异性结合CD3的抗体。本发明涉及特异性结合PSMA的抗体。本发明涉及特异性结合CD3和PSMA的抗体。本发明涉及特异性结合IL1RAP的抗体。本发明涉及特异性结合CD33的抗体。本发明涉及特异性结合CD3和IL1RAP的抗体。本发明涉及特异性结合CD3和CD33的抗体。本发明涉及特异性结合TMEFF2的抗体。本发明涉及特异性结合CD3和TMEFF2的抗体。本发明涉及所述抗体的片段、编码所述抗体或其片段的多核苷酸,以及制备和使用抗体的方法。



CN 112912397 B

1.一种分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段,包含:

重链以及轻链,所述重链包含:SEQ ID NO: 662的氨基酸序列所示的重链互补决定区(HCDR)1、SEQ ID NO: 663的氨基酸序列所示的HCDR2和SEQ ID NO: 664的氨基酸序列所示的HCDR3,所述轻链包含:SEQ ID NO: 671的氨基酸序列所示的轻链互补决定区(LCDR)1、SEQ ID NO: 673的氨基酸序列所示的LCDR2和SEQ ID NO: 690的氨基酸序列所示的LCDR3。

2.根据权利要求1所述的分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段,包含:

a)包含SEQ ID NO: 652的重链可变区和包含SEQ ID NO: 661的轻链可变区;

b)包含SEQ ID NO: 640的重链和包含SEQ ID NO: 676的轻链;

c)包含SEQ ID NO: 657的重链可变区和包含SEQ ID NO: 678的轻链可变区;或者

d)包含SEQ ID NO: 675的重链和包含SEQ ID NO: 677的轻链。

3.根据权利要求1所述的分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段以300nM或更小的结合亲和力特异性结合食蟹猕猴或人CD3d、或CD3e、或CD3e和CD3d。

4.根据权利要求3所述的分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段,其中所述结合亲和力为100nM或更小。

5. 根据权利要求3所述的分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段,其中所述结合亲和力通过流式细胞术或通过Proteon表面等离振子共振测定ProteOn XPR36系统在+25℃下测量。

6.根据权利要求1所述的分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段具有下列特性中的一种、两种、三种或四种:

a)以300nM或更小的计算EC50结合人和食蟹猕猴CD3+ T淋巴细胞,并且以300nM或更小的计算EC50结合表达食蟹猕猴CD3的HEK细胞,其中结合CD3+ T淋巴细胞与结合表达食蟹猕猴CD3的HEK细胞之间的计算EC50差值小于5倍,并且其中所述计算EC50是在0℃下使用流式细胞术在全细胞结合测定中测量的;

b)以300nM或更小的平衡解离常数(K_D)结合来自人的重组CD3d(SEQ ID NO: 691),或结合来自人的重组CD3e(SEQ ID NO: 636),或结合来自食蟹猕猴的重组CD3d(SEQ ID NO: 692),或结合来自食蟹猕猴的重组CD3e(SEQ ID NO: 693),其中所述K_D使用Proteon表面等离振子共振测定ProteOn XPR36系统在+25℃下测量;

c)通过X射线晶体学确定,结合CD3e的残基1-6;或者

d)通过荧光激活细胞分选测定确定,激活T细胞或诱导CD69表达达到与cOKT3或SP34-2相似的程度。

7.根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,包含抗体恒定结构域中的至少一个置换,所述至少一个置换包括:

a)重链置换K409R、F405L或F405L和R409K;

b)重链置换S228P、F234A和L235A;

c)重链置换L234A、G237A、P238S、H268A、A330S和P331S,其中所述抗体是IgG1同种型;或者

d)重链置换S228P,其中所述抗体是IgG4同种型;

其中残基根据EU索引进行编号。

8. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO: 652和661的重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)。

9. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO: 640和676的重链序列(HC)和轻链序列(LC)。

10. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO: 657和678的VH和VL。

11. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO: 675和677的HC和LC。

12. 一种抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO: 652和661的VH和VL。

13. 一种抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO: 640和676的HC和LC。

14. 一种抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO: 657和678的VH和VL。

15. 一种抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO: 675和677的HC和LC。

16.根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是人的或人源化的。

17.根据权利要求16所述的抗体,其中所述抗体是IgG4或IgG1同种型。

18.根据权利要求1所述的抗体,其中所述抗体是双特异性的。

19. 一种双特异性抗体,包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO: 662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

20.根据权利要求19所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域和所述第二结构域是IgG4同种型,并且其中所述第一结构域或所述第二结构域包含S228P、F234A、L235A、F405L和R409K重链置换,并且所述第一结构域或所述第二结构域中的另一结构域包含S228P、F234A和L235A重链置换,其中残基根据EU索引进行编号。

21.根据权利要求19所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域和/或所述第二结构域包含CH3恒定结构域中的至少一个置换,所述CH3恒定结构域包含F405L或F405L和R409K置换,其中残基根据EU索引进行编号。

22.根据权利要求19所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域或所述第二结构域中的一者包含F405L重链置换,并且所述第一结构域或所述第二结构域中的另一者包含K409R重链置换,其中残基根据EU索引进行编号。

23.根据权利要求19所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域和所述第二结构域是IgG4同种型,其中所述第一结构域或所述第二结构域中的一者包含S228P重链置换,并且所述第一结构域或所述第二结构域中的另一者包含S228P、F405L和R409K重链置换,其中残基根据EU索引进行编号。

24. 根据权利要求19所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO: 652和661的VH和VL。

25. 根据权利要求19所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO: 640和676的HC和LC。

26. 根据权利要求19所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO: 657和678的VH和VL。

27. 根据权利要求19所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID

NO: 675和677的HC和LC。

28.根据权利要求19所述的双特异性抗体,其中所述第二抗原是在除免疫效应细胞之外的靶细胞上表达的细胞表面抗原。

29.根据权利要求28所述的双特异性抗体,其中所述细胞表面抗原为肿瘤相关抗原。

30.根据权利要求19所述的双特异性抗体,其中所述第二抗原为CD33、IL1RAP、PSMA或TMEFF2。

31.一种药物组合物,包含根据前述权利要求中任一项所述的抗体和药学上可接受的载体。

32.一种多核苷酸,编码根据权利要求1至30中任一项所述的抗体。

33.一种载体,包含根据权利要求32所述的多核苷酸。

34.一种宿主细胞,包含根据权利要求33所述的载体。

35.一种制备根据权利要求1至30中任一项所述的抗体的方法,包括:在使所述抗体表达的条件下培养根据权利要求34所述的宿主细胞,以及回收由所述宿主细胞产生的抗体。

36.根据权利要求18至30中任一项所述的双特异性抗体在制备用于治疗受试者的癌症的药物中的用途,其中所述第二抗原是肿瘤相关抗原。

37.根据权利要求36所述的用途,其中所述癌症是实体瘤或血液恶性肿瘤。

38.根据权利要求37所述的用途,其中所述实体瘤是前列腺癌、结直肠癌、胃癌、膀胱癌、肺癌、鳞状细胞癌、胶质瘤、乳腺癌、胰腺癌、肾癌或尿道上皮癌。

39.根据权利要求37所述的用途,其中所述实体瘤是肾透明细胞癌。

40.根据权利要求37所述的用途,其中所述实体瘤是肝脏转移性腺癌。

41.根据权利要求38所述的用途,其中所述前列腺癌是难治性前列腺癌、前列腺上皮内瘤或雄激素非依赖性前列腺癌。

42.根据权利要求38所述的用途,其中所述前列腺癌是恶性前列腺癌。

43.根据权利要求37所述的用途,其中所述血液恶性肿瘤是急性髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、慢性髓性白血病(CML)或母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤(DPDCN)。

44.根据权利要求1至30中任一项所述的抗体,所述抗体用于在治疗中使用。

45.根据权利要求36所述的用途,其中所述药物还包含第二治疗剂。

抗CD3抗体及其用途

[0001] 序列表

[0002] 本申请包含已经以ASCII格式电子递交的序列表,并且据此全文以引用方式并入。2019年5月3日创建的所述ASCII副本命名为JBI5135USNP_Sequence_listing.txt,大小为588KB。

技术领域

[0003] 本文提供的公开内容涉及能够与人和非人分化簇3(CD3)特异性结合的抗CD3抗体及其抗原结合片段,并且具体地涉及与非人哺乳动物(例如,食蟹猴)的CD3交叉反应的抗CD3抗体和抗原结合片段;能够与人和非人前列腺特异性膜抗原(PSMA)特异性结合的PSMA抗体及其抗原结合片段;能够与人和非人IL1RAP特异性结合的IL1RAP抗体及其抗原结合片段;能够与人和非人CD33特异性结合的CD33抗体及其抗原结合片段;以及能够特异性结合CD3的双特异性抗体;PSMA;IL1RAP;CD33;CD3和PSMA;CD3和IL1RAP;或CD3和CD33。本公开还涉及此类抗体和抗原结合片段在治疗癌症、自身免疫性和/或炎性疾病和其他病症中的用途。

背景技术

[0004] 已经探索了双特异性抗体和抗体片段作为募集溶细胞性T细胞以杀死肿瘤细胞的手段。然而,许多募集T细胞的双特异性抗体的临床用途受到挑战的限制,这些挑战包括不利的药代动力学、潜在的免疫原性和制造问题。因此,非常需要募集溶细胞性T细胞以杀死表现出降低的毒性和有利的制造特征的肿瘤细胞的双特异性抗体。

[0005] 人CD3T细胞抗原受体蛋白复合物由6条不同的链组成:一条CD3γ链(SwissProtP09693)、一条CD3δ链(SwissProtP04234)、两条CD3ε链(SwissProtP07766)和一条CD3ζ链同源二聚体(SwissProtP20963)(εγ:εδ:ζζ),该同源二聚体与T细胞受体α和β链缔合。该复合物在将抗原识别偶联到几种细胞内信号转导途径中起重要作用。CD3复合物介导信号转导,从而导致T细胞活化和增殖。CD3是免疫应答所需的。

发明内容

[0006] 本文提供了一种分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含:重链以及轻链,该重链包含:包含SEQ ID NO:662的重链互补决定区(HCDR)1、包含SEQ ID NO:663的HCDR2和包含SEQ ID NO:664的HCDR3,该轻链包含:包含SEQ ID NO:671的轻链互补决定区(LCDR)1、包含SEQ ID NO:673的LCDR2和包含SEQ ID NO:690的LCDR3;包含SEQ ID NO:652的重链可变区和包含SEQ ID NO:661的轻链可变区;包含SEQ ID NO:640的重链和包含SEQ ID NO:676的轻链;或者包含:重链以及轻链,该重链包含:包含SEQ ID NO:662的HCDR1、包含SEQ ID NO:663的HCDR2和包含SEQ ID NO:664的HCDR3,该轻链包含:包含SEQ ID NO:773的LCDR1、包含SEQ ID NO:673的LCDR2和包含SEQ ID NO:690的LCDR3;包含SEQ ID NO:657的重链可变区和包含SEQ ID NO:678的轻链可变区;或者包含SEQ ID

NO:675的重链和包含SEQ ID NO:678的轻链。

[0007] 还提供了以约300nM或更小的结合亲和力特异性结合食蟹猕猴(Macacafascicularis)或人CD3d、或CD3e、或CD3e和CD3d的分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段。

[0008] 在一些实施方案中,分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段具有下列特性中的一种、两种、三种或四种:

[0009] • 以20nM或更小的计算EC50结合人和食蟹猕猴CD3+T淋巴细胞,并且以40nM或更小的计算EC50结合表达食蟹猕猴CD3的HEK细胞,其中结合CD3+T淋巴细胞与结合表达食蟹猕猴CD3的HEK细胞之间的计算EC50差值小于5倍,并且其中计算EC50是在0℃下使用流式细胞术在全细胞结合测定中测量的;

[0010] • 以12nM或更小的平衡解离常数(KD)结合来自人的重组CD3d(SEQ ID NO:691),或结合来自人的重组CD3e(SEQ ID NO:636),或来自食蟹猕猴的重组CD3d(SEQ ID NO:692),其中KD使用Proteon表面等离振子共振测定ProteOnXPR36系统在+25℃下测量;

[0011] • 结合CD3e的残基1-6,如通过X射线晶体学所确定的;或者

[0012] • 激活T细胞或诱导CD69表达达到与cOKT3或SP34-2相似的程度,如通过荧光激活细胞分选测定所确定的。

[0013] 在一些实施方案中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID No:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL;或者分别为SEQ ID NO:640和676的HC和LC。

[0014] 在一些实施方案中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID No:662、663、664、773、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;分别为SEQ ID NO:657和678的VH和VL,或者分别为SEQ ID NO:675和677的HC和LC。

[0015] 本文进一步描述了双特异性抗体,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域,其中第一结构域包含本文所述的抗体或其抗原结合片段。

[0016] 本文所述的双特异性抗体可包含第一结构域,该第一结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;以及第二结构域,该第二结构域包含分别为SEQ ID NO:697、683、698、699、792和686的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0017] 本文所述的双特异性抗体可包含第一结构域,该第一结构域包含分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL;以及包含分别为SEQ ID NO:681和682的VH和VL的第二结构域。

[0018] 本文所述的双特异性抗体可包含第一结构域,该第一结构域包含分别为SEQ ID NO:640和676的HC和LC;以及包含分别为SEQ ID NO:679和680的HC和LC的第二结构域。

[0019] 本文所述的双特异性抗体可包含第一结构域,该第一结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;以及第二结构域,该第二结构域包含分别为SEQ ID NO:704、705、706、707、708和709的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0020] 本文所述的双特异性抗体可包含第一结构域,该第一结构域包含分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL;以及包含分别为SEQ ID NO:702和703的VH和VL的第二结构域。

[0021] 本文所述的双特异性抗体可包含第一结构域,该第一结构域包含分别为SEQ ID NO:640和676的HC和LC;以及包含分别为SEQ ID NO:700和701的HC和LC的第二结构域。

[0022] 本公开还提供了分离的双特异性CD3×PSMA抗体,其包含以300nM或更小的亲和力与表达重组食蟹猕猴或人CD3d或CD3e的细胞结合的第一结构域,其中与细胞的结合通过流式细胞术测量;以及与PSMA特异性结合的第二结构域。

[0023] 在一些实施方案中,双特异性CD3×PSMA抗体包含第一结构域,该第一结构域:

[0024] •以20nM或更小的计算EC50结合人和食蟹猕猴CD3+T淋巴细胞,并且以40nM或更小的计算EC50结合表达食蟹猕猴CD3的HEK细胞,其中结合CD3+T淋巴细胞与结合表达食蟹猕猴CD3的HEK细胞之间的计算EC50差值小于5倍,并且其中计算EC50是在0℃下使用流式细胞术在全细胞结合测定中测量的;

[0025] •以12nM或更小的平衡解离常数(KD)结合来自人的重组CD3d(SEQ ID NO:691),或结合来自人的重组CD3e(SEQ ID NO:636),或结合来自食蟹猕猴的重组CD3d(SEQ ID NO:692),或结合来自食蟹猕猴的重组CD3e(SEQ ID NO:693),其中KD使用Proteon表面等离振子共振测定ProteOnXPR36系统在+25℃下测量;

[0026] •如通过肽谱分析所检测的,显示没有甲硫氨酸或色氨酸氧化,或显示没有天冬酰胺脱酰胺,或显示没有天冬酰胺异构化;

[0027] •结合CD3e的残基1-6,如通过X射线晶体学所确定的;或者

[0028] •激活T细胞或诱导CD69表达达到与cOKT3或SP34-2相似的程度,如通过荧光激活细胞分选测定所确定的。

[0029] 本发明还描述了药物组合物,该药物组合物包含本文所述的抗体以及药学上可接受的载体。

[0030] 本公开还提供了产生本文所述抗体的方法,包括在表达抗体的条件下培养包含载体的宿主细胞,以及回收由宿主细胞产生的抗体,该载体包含编码本文所述抗体或其抗原结合片段的多核苷酸。产生双特异性CD3×PSMA抗体的方法可包括将具有两条相同HC1和两条相同LC1的单特异性二价CD3抗体与具有两条相同HC2和两条相同LC2的单特异性二价PSMA抗体以约1:1摩尔比的混合物混合;将还原剂引入该混合物中;将该混合物温育约九十分钟至约六小时;去除还原剂;以及纯化包含HC1、LC1、HC2和LC2的双特异性CD3×PSMA抗体。

[0031] 本发明还描述了治疗受试者的癌症的方法,该方法包括以足以治疗癌症的时间向有需要的受试者施用治疗有效量的所述分离的抗体。

[0032] 本公开还提供包含本文所述抗体的试剂盒。该试剂盒还可包括用于检测抗体的试剂和使用说明。

附图说明

[0033] 当结合附图阅读时,进一步理解发明内容以及下文的具体实施方式。出于示出本公开的抗体和方法的目的,附图中所示的是抗体和方法的示例性实施方案;然而,抗体和方法不限于所公开的具体实施方案。在附图中:

[0034] 图1A和图1B示出在OmniRat中产生的抗CD3抗体。将OmniRat中产生的活性抗CD3mAb的VH(图1A)和VL(图1B)序列与来自IMGT的人种系序列进行比对。CDR区标有下划线。

序列差异以粗体示出。图1A公开了SEQ ID NO:651、651、653、656、655、20、654和717,并且图1B公开了SEQ ID NO:658、688、660、659、659、659、659和718,全部分别以外观顺序公开。

[0035] 图2示出了基于细胞的结合测定,用于评估单个大鼠杂交瘤上清液与人纯化的CD3+T淋巴细胞的结合能力。

[0036] 图3示出了基于细胞的结合测定,用于评估单个大鼠杂交瘤上清液与食蟹猴纯化的CD3+T淋巴细胞的结合能力。

[0037] 图4示出了杂交瘤上清液的竞争测定结果,该结果评估了杂交瘤上清液与市售抗人CD3抗体SP34-2竞争的能力,该抗体具有已知的表位并与食蟹猴CD3交叉反应。

[0038] 图5示出了抗CD3抗体在原代人T细胞上的代表性结合曲线。

[0039] 图6示出了抗CD3抗体与AlexaFluor488缀合的SP34-2在原代人T细胞上的代表性竞争结合曲线。

[0040] 图7示出了轻链(LC)工程化的BLW-2E6mAb与原代人T细胞的结合。

[0041] 图8示出了重链(HC)工程化的BLW-2E6与原代人T细胞的结合。

[0042] 图9示出了通过FACS分析得出的人T细胞中的AlexaFluor™(AF)488CD3饱和。将采集的平均荧光强度值绘制为抗体分子浓度的函数。推导出针对每个供体的Kd值,并且获得平均值。推导出针对人T细胞的饱和结合常数(KdT)为5.6±1.0nM(n=4),并且将其用于本文中以确定Kd结合亲和力。排除一个人供体,因为其在分析期间没有达到至少60%的存活率标准。图例中的"LS"标识符是指个体人T细胞供体。

[0043] 图10示出了二价抗CD3抗体CD3B376和CD3B450竞争结合AlexaFluor488SP-34抗CD3抗体的抑制曲线。IC50值分别导出为29nM和60nM。

[0044] 图11示出了与hCD3ε(1-27)-Tn25结合的BLW-2E6变体的传感图。

[0045] 图12A至图12E示出了通过DSC确定的抗CD3抗体CD3B376(图12A)、CD3B450(图12B)、CD3B389(图12C)、CD3B467(图12D)的热稳定性,以及所有候选物的热谱图叠加(图12E)。

[0046] 图13A至图13B示出了CD3B376和CD3B389(图13A)的抗CD3抗体热谱图叠加的热稳定性的比较;CD3B450和CD3B467的热谱图叠加(图13B)。

[0047] 图14示出了亲和力成熟的PSMA×CD3双特异性抗体的子集的LNCAP细胞结合。

[0048] 图15示出了亲和力成熟的PSMA×CD3双特异性抗体的子集的LNCAP细胞结合。

[0049] 图16示出了亲和力成熟的PSMA×CD3双特异性抗体的PSMA阴性PC3细胞结合结果。

[0050] 图17示出了功能性细胞杀伤测定中PSMA×CD3亲和力成熟的双特异性Abs的结果。

[0051] 图18示出了CD3B334:CD3复合物中的抗体-抗原相互作用。CD3残基在椭圆中,CD3B334残基在框中。

[0052] 图19示出了基于原代人和食蟹猴T细胞的测定,该测定用于确定杂交瘤命中激活T细胞的能力,如通过CD69激活所测量的。

[0053] 图20示出了PS3B79在T细胞人源化NSG小鼠中的LnCAPAR.TB人前列腺异种移植物中的抗肿瘤功效。皮下LnCAPAR.TB肿瘤每周测量两次,并且结果表示为平均肿瘤体积,以mm^3±SEM表示(*,p<0.0001)。

[0054] 图21示出了PS3B90在T细胞人源化NSG小鼠中的LnCAPAR.TB人前列腺异种移植物中的抗肿瘤功效。皮下LnCAPAR.TB肿瘤每周测量两次,并且结果表示为平均肿瘤体积,以

mm^3±SEM表示(*,p<0.001)。

[0055] 图22A至图22D示出了与人LNCaP细胞结合的抗PSMA噬菌体淘选命中的滴定曲线。图22A示出了命中G9-PSMM18、M25、M50、M52、M56、M57和M59的滴定曲线;图22B示出了M52和M110的滴定曲线;图22C示出了M85、M87和M81的滴定曲线;并且图22D示出了M52和M84的滴定曲线。在图22D中,通过octet对哺乳动物表达的上清液进行Fab表达归一化,并使用流式细胞术针对人LNCAP、PSMG5(食蟹猴PSMAHEK)或PSMG9(黑猩猩PSMAHEK)细胞进行滴定。使用GraphPadPrizm绘制几何平均荧光强度(GeoMFI)与Fab浓度的关系。

[0056] 图23A至图23D示出了与表达黑猩猩PSMA的HEK细胞结合的抗PSMA噬菌体淘选命中的滴定曲线。(针对黑猩猩PSMAHEK的抗PSMA噬菌体淘选命中的哺乳动物Fab上清液滴定曲线)。图23A示出了命中G9-PSMM18、M25、M50、M52、M56、M57和M59的滴定曲线;图23B示出了M52和M110的滴定曲线;图23C示出了M81、M52、M85和M87的滴定曲线;并且图23D示出了M52和M84的滴定曲线。在图23D中,通过octet对哺乳动物表达的上清液进行Fab表达归一化,并使用流式细胞术针对人LNCAP、PSMG5(食蟹猴PSMAHEK)或PSMG9(黑猩猩PSMAHEK)细胞进行滴定。使用GraphPadPrizm绘制几何平均荧光强度(GeoMFI)与Fab浓度的关系。

[0057] 图24A至图24D示出了与表达食蟹猴PSMA的HEK细胞结合的抗PSMA噬菌体淘选命中的滴定曲线。(针对食蟹猴PSMAHEK的抗PSMA噬菌体淘选命中的哺乳动物Fab上清液滴定曲线)。图24A示出了命中G9-PSMM18、M25、M50、M52、M56、M57和M59的滴定曲线;图24B示出了M52和M110的滴定曲线;图24C示出了M81、M52、M85和M87的滴定曲线;并且图24D示出了M52和M84的滴定曲线。在图24D中,通过octet对哺乳动物表达的上清液进行Fab表达归一化,并使用流式细胞术针对人LNCAP、PSMG5(食蟹猴PSMAHEK)或PSMG9(黑猩猩PSMAHEK)细胞进行滴定。使用GraphPadPrizm绘制几何平均荧光强度(GeoMFI)与Fab浓度的关系。

[0058] 图25示出了与人PSMAECD同源二聚体结合的PSMM84Fab的总体结构。

[0059] 图26示出了PSMA与PSMB83轻链的主要相互作用的近距离视图。

[0060] 图27示出了PSMA与PSMB83重链的主要相互作用的近距离视图。

[0061] 图28示出了在人(SEQ ID NO:719)、小鼠(SEQ ID NO:720)和食蟹猴(cyno)(SEQ ID NO:721)PSMA的序列内PSMB83的表位残基的比较。表位残基以阴影示出,并且序列差异以下划线示出。

[0062] 图29示出了PSMB83的互补位残基。CDR以下划线示出,互补位残基以阴影示出。图29分别以外观顺序公开了SEQ ID NO:722-727。

[0063] 图30示出了在PSMA和PSMM84之间进行直接接触的相互作用图。范德华相互作用以虚线示出,H键为指向主链原子的带箭头实线。

[0064] 图31示出了与亲本PSMB83的表达相比,来源于PSMM84的抗PSMAFab克隆的表达水平。将原始发光数相对于对数浓度作图。

[0065] 图32示出了与亲本PSMM84的结合相比,来源于PSMB83的抗PSMAFab克隆与人PSMA的结合。将原始发光数相对于对数浓度作图。

[0066] 图33示出了与亲本PSMB83的结合相比,来源于PSMB83的抗PSMAFab克隆与食蟹猴PSMA的结合。将原始发光数相对于对数浓度作图。

[0067] 图34示出了48小时后全血中LAMA-84细胞的IC3B19和IC3B34离体介导的T细胞毒性。IC3B19和IC3B34的浓度在图下部的表中提供。

[0068] 图35示出了48小时后全血中IC3B19和IC3B34离体介导的T细胞活化。IC3B19和IC3B34的浓度在图下部的表中提供。

[0069] 图36至图55示出了IC3B19和IC3B34介导的T细胞和IL1RAP+靶细胞系LAMA-84(内源和外源添加的肿瘤细胞)的结合。评估上清液的来自全血(n＝15个供体)的10个促炎细胞因子细胞毒性和添加外源LAMA-84IL1RAP+肿瘤细胞系的T细胞活化测定。对于这些图,统计意义上显著的差异以粗体文本示出。

[0070] 图36A至图36B示出了24小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-1β释放(图36A)和对应的4PL回归参数估计(图36B)。

[0071] 图37A至图37B示出了48小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-1β释放(图37A)和对应的4PL回归参数估计(图37B)。

[0072] 图38A至图38B示出了24小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-2释放(图38A)和对应的4PL回归参数估计(图38B)。

[0073] 图39A至图39B示出了48小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-2释放(图39A)和对应的4PL回归参数估计(图39B)。

[0074] 图40A至图40B示出了24小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-4释放(图40A)和对应的4PL回归参数估计(图40B)。

[0075] 图41示出了48小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-4释放。

[0076] 图42A至图42B示出了24小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-6释放(图42A)和对应的4PL回归参数估计(图42B)。

[0077] 图43示出了48小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-6释放。

[0078] 图44示出了24小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-8释放。

[0079] 图45示出了48小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-8释放。

[0080] 图46A至图46B示出了24小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-10释放(图46A)和对应的4PL回归参数估计(图46B)。

[0081] 图47A至图47B示出了48小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-10释放(图47A)和对应的4PL回归参数估计(图47B)。

[0082] 图48示出了24小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-12p70释放。

[0083] 图49示出了48小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-12p70释放。

[0084] 图50示出了24小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-13释放。

[0085] 图51A至图51B示出了48小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IL-13释放(图51A)和对应的4PL回归参数估计(图51B)。

[0086] 图52A至图52B示出了24小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IFN-γ释放(图52A)和对应的4PL回归参数估计(图52B)。

[0087] 图53A至图53B示出了48小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞IFN-γ释放(图53A)和对应的4PL回归参数估计(图53B)。

[0088] 图54A至图54B示出了24小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞TNF-α释放(图54A)和对应的4PL回归参数估计(图54B)。

[0089] 图55A至图55B示出了48小时后由IC3B19和IC3B34介导的T细胞TNF-α释放(图55A)和对应的4PL回归参数估计(图55B)。

[0090] 图56示出了IC3B19和IC3B34而非具有空白臂的双特异性抗体(IAPB57×B23B49或B23B39×CD3B219)在NCI-H1975细胞中诱导靶标特异性细胞毒性。在该测定中,细胞毒性EC50在IC3B19和IC3B34之间变化三倍,值分别为0.018nM和0.057nM。

[0091] 图57示出了IAPB57×CD3B376在T细胞人源化NSG小鼠中的H1975人NSCLC异种移植物中的抗肿瘤功效。皮下H1975肿瘤每周测量两次,并且结果表示为平均肿瘤体积,以mm3±SEM表示,*p<0.0001。

[0092] 图58示出了各种抗PSMA构建体的等电点的比较。

[0093] 图59绘出了与CNTO5825对照分子相比波长的变化。对照CNTO607表现出特征性的强自相互作用。误差条表示三次重复测量的标准偏差。

[0094] 图60示出了在抗PSMA交叉相互作用测定中IgG柱和对照柱上保留时间的比较。

[0095] 图61A至图61B示出了使用抗CD3臂CD3B219和CD3B376的CD33×CD3双特异性抗体对新鲜AML患者全血中的母细胞的细胞毒性和T细胞活化进行的离体评估。图61A示出了使用CD33双特异性抗体或CD3×空白对照的AML细胞的总细胞毒性百分比。图61B示出了由CD33双特异性抗体或CD3×空白对照诱导的T细胞活化。未添加Fc阻断剂。

[0096] 图62A至图62C示出了CD33×CD3T细胞介导的细胞毒性测定法。将使用抗CD3臂CD3B219和抗CD3B376的CD33×CD3双特异性抗体与人panT细胞和对于CD33SNPrs12459419突变是野生型(KG1,图62A)、杂合型(SH2,图62B)或纯合型(OCIAML3,图62C)的AML细胞系一起温育。在37℃、5%的CO2下温育48小时之后,通过流式细胞术测量总肿瘤细胞的细胞毒性。

[0097] 图63A至图63B示出了与CD3B219或CD3B376配对的C33B904抗体对外源添加到正常健康人全血(N=6个供体)的MOLM-13细胞的细胞毒性的离体评估:使用CD33×CD3双特异性抗体和相应空白×CD3对照在48小时后,MOLM-13细胞的细胞毒性百分比(图63A)和$CD33^+$ $CD14^+$单核细胞的细胞毒性百分比(图63B)。

[0098] 图64A至图64B示出了使用抗CD3臂CD3B219和CD3B376的CD33×CD3双特异性抗体对来自六个正常食蟹猴供体的新鲜全血中的单核细胞的细胞毒性和T细胞活化进行的离体评估。图64A示出了使用CD33双特异性抗体或其CD3×空白对照的$CD33^+CD14^+$食蟹猴单核细胞的总细胞毒性百分比。图64B示出了由CD33双特异性抗体或其CD3×空白对照诱导的T细胞活化。未添加Fc阻断剂。

[0099] 图65示出了C3CB189在T细胞人源化NSG小鼠中的MOLM-13人AML异种移植物中的抗肿瘤功效。每周对弥散的MOLM-13肿瘤进行生物发光(BLI)成像两次,并且结果以平均光亮度(p/s/cm^2/sr)±SEM(n=8-10/组)表示。*处理与对照的p≤0.0001,通过双因素方差分析与Bonferroni检验进行计算。

[0100] 图66示出了用C3CB189处理的动物在T细胞人源化NSG小鼠中的MOLM-13人AML异种移植物中的存活率。使用Kaplan-Meier曲线以图形表示携带MOLM-13的小鼠的存活率,并通过对数秩(Mantel-Cox)检验进行评估。*处理组与对照组的p≤0.0001。

[0101] 图67示出了C3CB88在T细胞人源化NSG小鼠中的MOLM-13人AML异种移植物中的抗肿瘤功效。每周对弥散的MOLM-13肿瘤进行生物发光(BLI)成像两次,并且结果以平均光亮度(p/s/cm^2/sr)±SEM(n=8-10/组)表示。*处理与对照的p≤0.0001,通过双因素方差分析与Bonferroni检验进行计算。

[0102] 图68示出了用C3CB88处理的动物在T细胞人源化NSG小鼠中的MOLM-13人AML异种移植物中的存活率。使用Kaplan-Meier曲线以图形表示携带MOLM-13的小鼠的存活率,并通过对数秩(Mantel-Cox)检验进行评估。*处理组与对照组的$p \leq 0.05$。

[0103] 图69示出了选定抗-TMEFF2抗体重链可变区(VH)的比对。VH区在每行开始时由它们的SEQ ID NO:标识。

[0104] 图70示出了选定抗TMEFF2抗体轻链可变区(VL)的比对。VH区在每行开始时由它们的SEQ ID NO:标识。

[0105] 图71示出了在雄性NGS小鼠的离体LnCaP前列腺癌模型中用0.5mg/kg TMCB132处理的每只小鼠的平均肿瘤体积的减小。

[0106] 图72示出了TMEB762×CD3B376在T细胞人源化NSG小鼠中的已建立LNCaP异种移植物中的功效。

[0107] 图73示出了响应于TMCB132的施用,LnCaP前列腺癌细胞中的T细胞活化。

[0108] 图74示出了TMCB132的T细胞介导的细胞毒性。

[0109] 图75示出了TMCB132在T细胞人源化小鼠中的抗肿瘤功效。

具体实施方式

[0110] 本说明书中所引用的所有出版物,包括但不限于专利和专利申请均以引用方式并入本文,如同在本文中完整给出。

[0111] 应当了解,本文所用的术语只是为了描述具体实施方案的目的,并非旨在进行限制。除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语的含义与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同。

[0112] 虽然与本文所述的那些方法和材料相似或等效的任意方法和材料都可以用于检验本发明的实践中,然而本文中描述示例性材料和方法。在描述和要求保护本发明时,将使用以下术语。

[0113] 如本说明书和所附权利要求中所用,除非内容另有明确说明,否则单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数指代。因此,例如,对“一个细胞”的提及包括两个或更多个细胞的组合等等。

[0114] “特异性结合”、“特异性地结合”或“结合”是指抗体以比针对其它抗原更高的亲和力结合至某个抗原或该抗原内的表位。通常,抗体以约5×10^{-8}M或更小(例如约1×10^{-9}M或更小、约1×10^{-10}M或更小、约1×10^{-11}M或更小或者约1×10^{-12}M或更小)的平衡解离常数(K_D)结合至抗原或抗原内的表位,通常该K_D为该抗体结合至非特异性抗原(如BSA、酪蛋白)的K_D的至多百分之一。可使用标准程序来测量解离常数。然而,特异性结合至抗原或抗原内的表位的抗体可能对其他相关的抗原具有交叉反应性,例如,对来自其他物种(同源)(诸如人或猴,例如食蟹猕猴(cynomolgus,cyno)、黑猩猩(Pantroglodytes)(chimpanzee,chimp))的相同抗原具有交叉反应性。虽然单特异性抗体特异性结合一个抗原或一个表位,而双特异性抗体特异性结合两个不同的抗原或两个不同的表位。

[0115] “抗体”广义上是指并包括免疫球蛋白分子,具体包括单克隆抗体(包括鼠科动物单克隆抗体、人单克隆抗体、人源化单克隆抗体和嵌合单克隆抗体),抗原结合片段,双特异性或多特异性抗体,二聚、四聚或多聚抗体,单链抗体、结构域抗体,以及包含具有所需特异

性的抗原结合位点的免疫球蛋白分子的任何其他经修饰构型。“全长抗体分子”包含由二硫键互连的两条重链(HC)与两条轻链(LC)以及它们的多聚体(例如IgM)。每条重链由重链可变区(VH)和重链恒定区(由结构域CH1、铰链、CH2和CH3构成)构成。每条轻链由轻链可变区(VL)和轻链恒定区(CL)构成。VH区和VL区可进一步细分为超变区,该超变区称为互补决定区(CDR)并间插有框架区(FR)。各个VH和VL由三个CDR和四个FR片段构成,并按以下顺序从氨基端至羧基端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。

[0116] “互补决定区(CDR)”是结合抗原的抗体区域。CDR可使用各种描绘来定义,诸如Kabat(Wu等人,1970年,JExpMed,第132卷,第211-250页)(Kabat等人,“SequencesofProteinsofImmunological Interest”,第5版,PublicHealthService,NationalInstitutesofHealth,Bethesda,Md.,1991年)、Chothia(Chothia等人,1987年,JMolBiol,第196卷,第901-917页)、IMGT(Lefranc等人,2003年,DevComp Immunol,第27卷,第55-77页)和AbM(Martin和Thornton,1996年,JBmolBiol,第263卷,第800-815页)。描述了各种描绘和可变区编号之间的对应关系(参见例如Lefranc等人,2003年,DevCompImmunol,第27卷,第55-77页;Honegger和Pluckthun,2001年,JMolBiol,第309卷,第657-670页;国际免疫遗传学(IMGT)数据库;Web资源,http://www_imgt_org)。可用程序(诸如UCL Business PLC的abYsis)可用于描绘CDR。除非说明书中另有明确地说明,否则如本文所用,术语“CDR”、“HCDR1”、“HCDR2”、“HCDR3”、“LCDR1”、“LCDR2”和“LCDR3”包括由任何上述方法(Kabat、Chothia、IMGT或AbM)定义的CDR。

[0117] 免疫球蛋白可根据重链恒定域氨基酸序列被指定为五种主要种类,即IgA、IgD、IgE、IgG和IgM。IgA和IgG进一步亚分类为同种型IgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。基于其恒定结构域的氨基酸序列,可将任何脊椎物种的抗体轻链指定为两种完全不同的类型即κ和λ中的一种。

[0118] “抗原结合片段”是指免疫球蛋白分子的结合抗原的部分。抗原结合片段可以是合成的、可通过酶促方法获得的或遗传工程化的多肽,并且包括VH、VL、VH和VL、Fab、F(ab')2、Fd和Fv片段、由一个VH结构域或一个VL结构域组成的结构域抗体(dAb)、鲨鱼可变IgNAR结构域、骆驼化VH结构域、由模拟抗体的CDR的氨基酸残基组成的最小识别单元(诸如FR3-CDR3-FR4部分,HCDR1、HCDR2和/或HCDR3,以及LCDR1、LCDR2和/或LCDR3)。VH和VL域可经由合成接头连接在一起以形成各种类型的单链抗体设计,其中在VH和VL域由单独的单链抗体构建体表达的情况下,VH/VL域可在分子内或分子间配对,以形成单价抗原结合位点,诸如单链Fv(scFv)或双价抗体;例如在国际专利公布WO1998/44001、WO1988/01649、WO1994/13804和WO1992/01047中所述。

[0119] “单克隆抗体”是指从抗体分子的基本上同质群体中获得的抗体,即,除了可能熟知的改变(诸如从抗体重链移除C末端赖氨酸)或翻译后修饰(诸如氨基酸异构化或脱酰胺、甲硫氨酸氧化或天冬酰胺或谷氨酰胺脱酰胺)之外,构成群体的各个抗体是相同的。单克隆抗体通常结合一个抗原表位。双特异性单克隆抗体结合两个不同的抗原表位。单克隆抗体可在抗体群内具有异质糖基化。单克隆抗体可以是单特异性的或多特异性的,诸如双特异性单价的、二价的或多价的。

[0120] “分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体或抗体片段(例如,特异性结合抗原的分离的抗体,该抗原基本上不含特异性结合该抗原之外的抗原

的抗体)。就双特异性CD3抗体而言,该双特异性抗体特异性结合CD3和第二抗原两者。“分离抗体”涵盖分离至更高纯度的抗体,诸如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%纯度的抗体。

[0121] “人源化抗体”是指其中至少一个CDR来源于非人物种并且至少一个框架来源于人免疫球蛋白序列的抗体。人源化抗体在框架中可包含置换,使得该框架可能不是表达的人免疫球蛋白或人免疫球蛋白种系基因序列的精确拷贝。

[0122] “人抗体”是指当施用于人受试者时被优化以具有最小限度的免疫应答的抗体。人抗体的可变区来源于人免疫球蛋白序列。如果人抗体包含恒定区或恒定区的一部分,则该恒定区也来源于人免疫球蛋白序列。如果人抗体的可变区来源于使用人种系免疫球蛋白或重排免疫球蛋白基因的系统,则人抗体包含“来源于”人起源序列的重链可变区和轻链可变区。此类示例性系统为在噬菌体上展示的人免疫球蛋白基因文库,以及转基因非人动物,诸如携带人免疫球蛋白基因座的小鼠或大鼠。由于用于获得人抗体和人免疫球蛋白基因座的系统之间的差异,体细胞突变的引入,或有意将取代引入框架或CDR中,或这两者,因此“人抗体”与在人中表达的免疫球蛋白相比通常包含氨基酸差异。通常,“人抗体”的氨基酸序列与由人种系免疫球蛋白基因或重排免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性。在一些情况下,“人抗体”可包含由人框架序列分析得到的共有框架序列(例如Knappik等人,2000年,JMolBiol,第296卷,第57-86页中所述);或结合到展示在噬菌体上的人免疫球蛋白基因文库中的合成HCDR3(例如Shi等人,2010年,JMolBiol,第397卷,第385-396页和国际专利公布WO2009/085462中所述)。

[0123] 相对于参考多肽序列的“氨基酸序列同一性百分比(%)”定义为候选序列中与参考多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比,在比对序列并引入缺口(如果需要的话)以实现最大的序列同一性百分比之后,不考虑任何保守置换作为序列同一性的一部分。出于确定氨基酸序列同一性百分比的目的进行的比对可以本领域技术范围内的多种方式实现,例如使用可公开获得的计算机软件诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可确定用于比对序列的合适参数,包括在所比较序列的全长上实现最大比对所需的任何算法。然而,出于本文的目的,使用序列比较计算机程序ALIGN-2生成氨基酸序列同一性%值。ALIGN-2序列比较计算机程序由Genentech.Inc.编写,并且源代码已在美国版权局(WashingtonD.C.,20559)的用户文档中备案,其在美国版权注册号TXU510087下注册。ALIGN-2程序可从Genentech.Inc.(South SanFrancisco,Calif.)公开获得,或者可编译自源代码。ALIGN-2程序应被编译以用于在UNIX操作系统上使用,包括数字UNIXV4.0D。所有序列比较参数均由ALIGN-2程序设定并且不变化。当采用ALIGN-2进行氨基酸序列比较时,给定氨基酸序列A与给定氨基酸序列B的氨基酸序列同一性%(其可另选地表述为给定氨基酸序列A与给定氨基酸序列B具有或包含一定的氨基酸序列同一性%)如下计算:

[0124] 100乘以分数X/Y,

[0125] 其中X是序列比对程序ALIGN-2在该程序对A和B的比对中评分为相同匹配的氨基酸残基的数目,并且其中Y是B中氨基酸残基的总数。应当理解,当氨基酸序列A的长度不等于氨基酸序列B的长度时,A至B的氨基酸序列同一性%不等于B至A的氨基酸序列同一性%。

除非另外特别说明,否则本文所用的所有氨基酸序列同一性%值均如紧接的前面段落中所述使用ALIGN-2计算机程序获得。

[0126] “人抗体”的定义中不包括抗原结合位点来源于非人物种的抗体。

[0127] “重组体”是指当将来自不同来源的片段连接以产生重组DNA、抗体或蛋白质时,通过重组手段制备、表达、形成或分离的DNA、抗体和其他蛋白质。

[0128] “表位”是指抗原的与抗体特异性结合的部分。表位通常由部分诸如氨基酸或多糖侧链的化学活性(诸如,极性、非极性或疏水性)表面基团组成,并且可具有特定三维结构特征以及特定电荷特征。表位可由形成构象空间单元的连续和/或不连续氨基酸构成。对于不连续表位,来自抗原的线性序列的不同部分的氨基酸因蛋白质分子的折叠而在三维空间上靠近。抗体“表位”取决于用来鉴定表位的方法。

[0129] “互补位”是指抗体的与抗原特异性结合的部分。互补位可以在性质上是线性的或可以是不连续的,其通过抗体的非邻接氨基酸之间的空间关系而不是氨基酸的线性系列形成。“轻链互补位”和“重链互补位”或“轻链互补位氨基酸残基”和“重链互补位氨基酸残基”分别指与抗原接触的抗体轻链和重链残基,或一般而言,“抗体互补位残基”是指与抗原接触的那些抗体氨基酸。

[0130] “双特异性”是指特异性结合两个不同抗原或同一抗原内的两个不同表位的抗体。双特异性抗体可能对其他相关的抗原具有交叉反应性,例如,对来自其他物种(同源)(诸如人或猴,例如食蟹猕猴(cynomolgus,cyno)或黑猩猩)的相同抗原具有交叉反应性,或者可结合两个或更多个不同抗原之间所共享的表位。

[0131] “多特异性”是指特异性结合两个或更多个不同抗原或同一抗原内的两个或更多个不同表位的抗体。多特异性抗体可能对其他相关的抗原具有交叉反应性,例如,对来自其他物种(同源)(诸如人或猴,例如食蟹猕猴(cynomolgus,cyno)或黑猩猩)的相同抗原具有交叉反应性,或者可结合两个或更多个不同抗原之间所共享的表位。

[0132] “变体”是指因一处或多处修饰(例如,一个或多个置换、插入或缺失)而不同于参考多肽或参考多核苷酸的多肽或多核苷酸。

[0133] “载体”是指能够在生物系统内复制或可在这类系统之间移动的多核苷酸。载体多核苷酸通常含有元件诸如复制起点、启动子、聚腺苷酸化信号或选择标记物,其功能是促进这些多核苷酸在生物系统,例如细胞、病毒、动物、植物以及利用能够复制载体的生物组分的重组生物系统中的复制或保持。载体多核苷酸可为单链或双链DNA或RNA分子或这些分子的杂合分子。

[0134] “表达载体”是指可用于在生物系统或再造生物系统中以指导由存在于表达载体中的多核苷酸序列所编码的多肽进行翻译的载体。

[0135] “多核苷酸”是指包含由糖-磷酸主链或其它等同的共价化学方式所共价连接的核苷酸链的分子。双链DNA和单链DNA以及双链RNA和单链RNA是多核苷酸的典型示例。“多核苷酸”可指包含磷酸糖类主链共价连接的核苷酸链或其他等同共价化学物的合成分子。cDNA是示例性合成多核苷酸。

[0136] “多肽”或“蛋白质”是指包含由肽键连接以形成多肽的至少两个氨基酸残基的分子。少于50个氨基酸的小多肽可以称作“肽”。

[0137] “流式细胞术”是用于分析流体中的颗粒在通过至少一个激光器时的物理和化学

特性的技术。细胞组分被荧光标记,然后被激光器激发以发射不同波长的光(Adan等人,CriticalReviewsinBiotechnology,2016年,第1549-7801页)。

[0138] “抗独特型(抗Id)抗体”是识别抗体的抗原决定簇(例如互补位或CDR)的抗体。生产或制备抗独特型抗体的方法是本领域公知的。(Lathey,J.等人,Immunology,1986年,第57卷第1期,第29-35页)。抗Id抗体可为抗原封闭性或非封闭性的。抗原封闭性抗Id抗体可用于检测样本中的游离抗体(例如,CD3)。非封闭性抗Id抗体可用于检测样本中的总抗体(游离、部分结合于抗原或完全结合于抗原的抗体)。抗Id抗体可通过用抗体对正在制备抗Id抗体的动物免疫来制备。在本文所述的一些实施方案中,抗独特型抗体用于检测样本中治疗性抗体的水平。

[0139] 抗Id抗体还可以用作免疫原以在另一动物中诱导免疫应答,从而产生所谓的抗-抗Id抗体。抗-抗Id抗体可在表位上与诱导抗Id抗体的原始mAb相同。因此,通过使用针对单克隆抗体的独特型决定簇的抗体,可以识别出表达相同特异性抗体的其它克隆。抗Id抗体可通过任何合适的技术改变(从而产生抗Id抗体变体)和/或衍生,例如本文别处针对抗CD3抗体所述的那些。

[0140] PSMA是指前列腺特异性膜抗原。黑猩猩(也称为chimpanzee或chimp)PSMA的氨基酸序列示出在SEQ ID NO:49中。胞外结构域跨越SEQ ID NO:49的残基44-750,跨膜结构域跨越残基20-43,并且胞质结构域跨越残基1-19。食蟹猕猴(也称为食蟹猴、猕猴或cyno)PSMA的氨基酸序列示出在SEQ ID NO:50中。胞外结构域跨越SEQ ID NO:50的残基44-750,跨膜结构域跨越残基20-43,并且胞质结构域跨越残基1-19。人PSMA的氨基酸序列示出在SEQ ID NO:51中。胞外结构域跨越SEQ ID NO:51的残基44-750,跨膜结构域跨越残基20-43,并且胞质结构域跨越残基1-19。

[0141] 在整个说明书中,“CD3特异性”或“特异性结合CD3”或“抗CD3抗体”是指与CD3-ε多肽(SEQ ID NO:635)特异性结合的抗体,包括与CD3-ε胞外结构域(ECD)(SEQ ID NO:636)特异性结合的抗体。CD3-ε与CD3-γ、-δ和-ζ以及T细胞受体α/β和γ/δ异源二聚体一起形成T细胞受体-CD3复合物。该复合物在将抗原识别偶联到几种细胞内信号转导途径中起重要作用。CD3复合物介导信号转导,从而导致T细胞活化和增殖。CD3是免疫应答所需的。

[0142] SEQ ID NO:635(人CD3ε)

[0143] MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRI

[0144] SEQ ID NO:636(人CD3ε胞外结构域)

[0145] DGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMD

[0146] 如本文所用,术语“白介素-1受体辅助蛋白”、“IL1RAP”和“IL1-RAP”特别包括人IL1RAP蛋白,例如,如GenBank登录号AAB84059、NCBI参考序列:NP_002173.1和UniProtKB/Swiss-Prot登录号Q9NPH3-1中所描述的那些(还可参见Huang等人,1997年,Proc.Natl.Acad.Sci.USA.第94卷第24期,第12829-12832页)。IL1RAP在科学文献中也被称为IL1R3、C3orf13、FLJ37788、IL-1RAcP和EG3556。

[0147] “CD33”是指分化簇33蛋白。CD33是67千道尔顿(kD)的单通跨膜糖蛋白,并且是唾

液酸结合免疫球蛋白样凝集素(Siglecs)家族的成员。CD33主要被认为是髓细胞样分化抗原,在髓细胞样祖细胞、中性粒细胞和巨噬细胞中表达较低,而在循环的单核细胞和树突状细胞中高度表达。人CD33胞外结构域(UniprotP20138)(SEQ ID NO:636)和食蟹猴CD33(XP_005590138.1)是用于在产生根据本公开的CD33特异性抗体中使用的蛋白质的示例。

[0148] “TMEFF2”是指具有EGF样和两个卵泡抑素样结构域2的人跨膜蛋白质,也称为tomoregulin2。全长人TMEFF2的氨基酸序列示出在SEQ ID NO:77中。TMEFF2的胞外结构域示出在SEQ ID NO:575中并跨越全长TMEFF2的残基40-374。TMEFF2胞外结构域携带三个不同的亚结构域:Kazal样1(残基85-137)、Kazal样2(残基176-229)和EGF结构域(残基261-301)。TMEFF2EGF结构域示出在SEQ ID NO:577中。TMEFF2“膜近侧区”是指SEQ ID NO:629的TMEFF2区,其涵盖EGF结构域和N-C末端接头区(例如SEQ ID NO:77的全长人TMEFF2的残基230-320)。除非明确指明来自非人物种,否则本文对蛋白质、多肽和蛋白质片段的所有提及均旨在指相应蛋白质、多肽或蛋白质片段的人型式。因此,除非指明来自非人物种,例如“小鼠TMEFF2”或“猴TMEFF2”等,否则“TMEFF2”意指人TMEFF2。

[0149] SEQ ID NO:77(全长人TMEFF2)

[0150] MVLWESPRQCSSWTLCEGFCWLLLLPVMLLIVARPVKLAAFPTSLSDCQTPTGWNCSGYDDRENDLFLCDTNTCKFDGECLRIGDTVTCVCQFKCNNDYVPVCGSNGESYQNECYLRQAACKQQSEILVVSEGSCATDAGSGSGDGVHEGSGETSQKETSTCDICQFGAECDEDAEDVWCVCNIDCSQTNFNPLCASDGKSYDNACQIKEASCQKQEKIEVMSLGRCQDNTTTTTKSEDGHYARTDYAENANKLEESAREHHIPCPEHYNGFCMHGKCEHSINMQEPSCRCDAGYTGQHCEKKDYSVLYVVPGPVRFQYVLIAAVIGTIQIAVICVVVLCITRKCPRSNRIHRQKQNTGHYSSDNTTRASTRLI

[0151] SEQ ID NO:575(人TMEFF2的胞外结构域)

[0152] FPTSLSDCQTPTGWNCSGYDDRENDLFLCDTNTCKFDGECLRIGDTVTCVCQFKCNNDYVPVCGSNGESYQNECYLRQAACKQQSEILVVSEGSCATDAGSGSGDGVHEGSGETSQKETSTCDICQFGAECDEDAEDVWCVCNIDCSQTNFNPLCASDGKSYDNACQIKEASCQKQEKIEVMSLGRCQDNTTTTTKSEDGHYARTDYAENANKLEESAREHHIPCPEHYNGFCMHGKCEHSINMQEPSCRCDAGYTGQHCEKKDYSVLYVVPGPVRFQYVLIAAVIGTIQIAVICVVVLCITRKCPRSNRIHRQKQNTGHYSSDNTTRASTRLI

[0153] TMEFF2 EGF结构域SEQ ID NO:577

[0154] HHIPCPEHYNGFCMHGKCEHSINMQEPSCRCDAGYTGQHCE

[0155] TMEFF2膜近侧区SEQ ID NO:629

[0156] NTTTTTKSEDGHYARTDYAENANKLEESAREHHIPCPEHYNGFCMHGKCEHSINMQEPSCRCDAGYTGQHCEKKDYSVLYVVPGPVRFQYV

[0157] “TMEFF2阳性癌症”是指表现出可测量水平的TMEFF2蛋白质的癌症组织或癌症细胞。TMEFF2蛋白质的水平可使用熟知的测定法,使用例如ELISA、免疫荧光法、流式细胞术或放射性免疫测定法,在活细胞或裂解细胞上测量。“过表达(Overexpress、overexpressed和overexpressing)”可互换地指当与参考样本相比时具有可测量的更高水平肿瘤抗原的样本,诸如癌细胞、恶性细胞或癌症组织。过表达可由基因扩增或由增加的转录或翻译引起。样本中蛋白质的表达和过表达可使用熟知的测定法,使用例如ELISA、免疫荧光法、流式细胞术或放射性免疫测定法,在活细胞或裂解细胞上测量。多核苷酸在样本中的表达和过表达可例如使用荧光原位杂交、DNA印迹或PCR技术来测量。当样本中的蛋白质或多核苷酸水平为参考样本中的蛋白质或多核苷酸水平的至少1.5倍时,蛋白质或多核苷酸被过表达。参

考样本的选择是熟知的。

[0158] “样本”是指从受试者分离的类似流体、细胞、或组织的采集物,以及存在于受试者体内的流体、细胞或组织。示例性样本为生物流体,诸如血液,血清和浆膜液,血浆,淋巴液,尿液,唾液,囊液,泪液,排泄物,痰,分泌组织和器官的粘膜分泌物,阴道分泌物,腹水诸如与非实体瘤相关联的那些,胸膜、心包、腹膜、腹腔和其他体腔的流体,由支气管灌洗液收集的流体,与受试者或生物来源接触的液体溶液例如细胞和器官培养基(包括细胞或器官条件培养基)、灌洗液等,组织活检样本,细针穿刺或手术切除的肿瘤组织。

[0159] 如本文使用,“癌细胞”或“肿瘤细胞”是指在体内、离体或组织培养物中的癌性、癌前或转化的细胞,其具有自发或诱导的表型变化。这些变化未必涉及新遗传物质的摄取。虽然转化可由感染转化病毒以及结合新基因组核酸、或摄取外源核酸而发生,但是还可自发地发生或在暴露于致癌物之后发生,从而使内源基因突变。转化/癌症示例为合适的动物宿主(诸如裸小鼠等)中体外、体内和离体的形态变化、细胞永生、异常生长控制、病灶形成、增殖、恶性肿瘤、肿瘤特异性标记物水平调节、侵入、肿瘤生长(Freshney,CultureofAnimalCells:AManualofBasicTechnique(第3版,1994年))。

[0160] 除非另有说明,否则任何数值,例如本文所述的浓度或浓度范围,应理解为在所有情况下均由术语“约”修饰。因此,数值通常包括所述值±10%。例如,1mg/mL的浓度包括0.9mg/mL至1.1mg/mL。同样,1%至10%(w/v)的浓度范围包括0.9%(w/v)至11%(w/v)。除非上下文另有明确指示,否则如本文所用,使用的数值范围明确地包括所有可能的子范围、该范围之内的所有单个数值,包括此类范围之内的整数和该范围之内的分数。

[0161] “效应抗原”是来自免疫系统细胞的可刺激或触发细胞毒性、吞噬作用、抗原呈递和/或细胞因子释放的抗原。此类效应抗原来自例如但不限于T细胞和自然杀伤(NK)细胞。针对效应抗原的合适特异性的示例包括但不限于CD3或CD3亚基,诸如针对T细胞的CD3ε和针对NK细胞的CD16。效应细胞的此类细胞表面分子适用于介导细胞杀伤。效应细胞是免疫系统的可刺激或触发细胞毒性、吞噬作用、抗原呈递和/或细胞因子释放的细胞。此类效应细胞为例如但不限于T细胞、自然杀伤(NK)细胞、粒细胞、单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞和抗原呈递细胞。针对效应细胞的合适特异性的示例包括但不限于CD2、CD3和CD3亚基,诸如CD3e、CD5、CD28以及针对T细胞的T细胞受体(TCR)的其他组分;针对NK细胞的CD16、CD16A、CD25、CD38、CD44、CD56、CD69、CD94、CD335(NKp46)、CD336、(NKp44)、CD337(NKp30)、NKp80、NKG2C和NKG2D、DNAM、NCR;针对粒细胞的CD18、CD64和CD89;针对单核细胞和巨噬细胞的CD18、CD32、CD64、CD89和甘露糖受体;针对树突状细胞的CD64和甘露糖受体;以及CD35。在本发明的某些实施方案中,效应细胞的那些特异性,即细胞表面分子,适于在双特异性或多特异性分子与此类细胞表面分子结合时介导细胞杀伤,从而诱导细胞溶解或细胞凋亡。

[0162] “双特异性CD3抗体”是指包含特异性结合CD3的至少一个结合结构域和特异性结合第二抗原的至少一个结合结构域的分子,诸如包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域的双特异性抗体。特异性结合CD3和第二抗原的结构域通常为V_H/V_L对。双特异性CD3抗体就其与CD3或第二抗原的结合而言可以是一价的。在一些实施方案中,第二抗原或靶抗原是在除免疫效应细胞之外的靶细胞上表达的细胞表面抗原。在一些实施方案中,第二抗原为肿瘤相关抗原(TAA)。示例性TAA为PSMA、CD33、IL1RAP和

TMEFF2。

[0163] “双特异性PSMA×CD3抗体”、“PSMA/CD3抗体”、“双特异性抗PSMA×CD3抗体”或“抗PSMA/CD3抗体”等是指包含特异性结合PSMA的至少一个结合结构域和特异性结合CD3的至少一个结合结构域的分子。特异性结合PSMA和CD3的结构域通常为V_H/V_L对。双特异性抗PSMA×CD3抗体就其与PSMA或CD3的结合而言可以是一价的。

[0164] “双特异性CD33×CD3抗体”、“CD33/CD3抗体”、“双特异性抗CD33×CD3抗体”或“抗CD33/CD3抗体”等是指包含特异性结合CD33的至少一个结合结构域和特异性结合CD3的至少一个结合结构域的分子。特异性结合CD33和CD3的结构域通常为V_H/V_L对。双特异性抗CD33×CD3抗体就其与CD33或CD3的结合而言可以是一价的。

[0165] “双特异性IL1RAP×CD3抗体”、“IL1RAP/CD3抗体”、“双特异性抗IL1RAP×CD3抗体”或“抗IL1RAP/CD3抗体”等是指包含特异性结合IL1RAP的至少一个结合结构域和特异性结合CD3的至少一个结合结构域的分子。特异性结合IL1RAP和CD3的结构域通常为V_H/V_L对。双特异性抗IL1RAP×CD3抗体就其与IL1RAP或CD3的结合而言可以是一价的。

[0166] “双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体”、TMEFF2/CD3抗体、TMEFF2xCD3抗体等是指结合TMEFF2和CD3的抗体。

[0167] “价”是指在分子中存在对于抗原为特异性的结合位点的指定数目。因此,术语“单价”、“二价”、“四价”和“六价”分别是指在分子中存在对于抗原为特异性的一个、两个、四个和六个结合位点。“多价”是指在分子中存在对于抗原为特异性的两个或更多个结合位点。

[0168] “抗原特异性CD4+或CD8+T细胞”是指由特异性抗原或其免疫刺激表位活化的CD4+或CD8+T细胞。

[0169] “受试者”包括任何人或非人动物。“非人动物”包括所有的脊椎动物,例如哺乳动物和非哺乳动物,诸如非人灵长类动物、绵羊、狗、猫、马、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。除非另外指出,否则术语“患者”或“受试者”可互换使用。

[0170] 除非另有明确说明,否则在整个说明书中,抗体恒定区中的氨基酸残基根据EU索引编号,如Kabat等人,“SequencesofProteinsof ImmunologicalInterest”,第5版PublicHealthService,NationalInstitutesof Health,Bethesda,MD.(1991)中有所描述。

[0171] 表1.本文使用的常规单字母和三字母氨基酸代码

[0172]

氨基酸	三字母代码	单字母代码
丙氨酸	Ala	A
精氨酸	Arg	R
天冬酰胺	Asn	N
天冬氨酸	Asp	D
半胱氨酸	Cys	C
谷氨酸	Gln	E
谷氨酰胺	Glu	Q
甘氨酸	Gly	G
组氨酸	His	H
异亮氨酸	Ile	I
赖氨酸	Lys	K

甲硫氨酸	Met	M
苯丙氨酸	Phe	F
脯氨酸	Pro	P
丝氨酸	Ser	S
苏氨酸	Thr	T
色氨酸	Trp	W
酪氨酸	Tyr	是
缬氨酸	Val	V

[0173] 物质的组成

[0174] 本发明提供了抗CD3抗体及其抗原结合片段、特异性结合PSMA的抗体及其抗原结合片段、特异性结合CD33的抗体及其抗原结合片段、特异性结合IL1RAP的抗体及其抗原结合片段、包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域的多特异性抗体,以及特异性结合CD3以及PSMA、CD33、IL1RAP和TMEFF2中的一种或多种的多特异性抗体。本发明提供了多肽和编码本发明抗体的多核苷酸或其互补核酸、载体、宿主细胞及其制备和使用方法。

[0175] 本文所述抗体的一般方面

[0176] 本文所述的抗CD3抗体或抗原结合片段包括这样的变体:其具有保留所述抗CD3抗体或抗原结合片段的生物特性(例如,结合亲和力或免疫效应活性)的单个或多个氨基酸置换、缺失或添加。在本发明的上下文中,除非另有说明,否则以下符号用于描述突变;i)给定位置处氨基酸的置换被书写为例如K409R,其意指409位的赖氨酸被精氨酸置换;以及ii)对于特定变体,使用特定的三字母或单字母代码(包括代码Xaa和X)指示任何氨基酸残基。因此,精氨酸置换409位的赖氨酸表示为:K409R,或者任何氨基酸残基置换409位的赖氨酸表示为K409X。在409位的赖氨酸缺失的情况下,用K409*表示。技术人员可制备具有单个或多个氨基酸置换、缺失或添加的变体。

[0177] 这些变体可包括:(a)其中一个或多个氨基酸残基被保守或非保守氨基酸置换的变体,(b)其中一个或多个氨基酸添加到多肽或从多肽缺失的变体,(c)其中一个或多个氨基酸包括取代基的变体,以及(d)其中多肽与另一种肽或多肽(诸如融合配偶体、蛋白质标签或其它化学部分)融合的变体,其可赋予多肽有用的特性,诸如例如抗体的表位、多组氨酸序列、生物素部分等。本文所述的抗体或抗原结合片段可包括这样的变体:其中来自一个物种的氨基酸残基在保守位置或非保守位置处置换为另一物种中的对应残基。在其它实施方案中,非保守位置处的氨基酸残基被保守或非保守残基置换。得到这些变体的技术,包括基因技术(缺失、突变等)、化学技术和酶技术,是本领域普通技术人员已知的。

[0178] 本文所述的抗体或抗原结合片段可为IgM、IgD、IgG、IgA或IgE同种型。在一些实施方案中,抗体同种型为IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。在一些实施方案中,抗体是IgG1同种型。在一些实施方案中,抗体是IgG2同种型。在一些实施方案中,抗体是IgG3同种型。在一些实施方案中,抗体是IgG4同种型。抗体或其抗原结合片段的特异性部分是由CDR的氨基酸序列和排列决定的。因此,一种同种型的CDR可转变为另一种同种型而不改变抗原特异性。因此,这类抗体同种型在所述抗体或抗原结合片段的范围内。

[0179] 人IgG类分为四种同种型:IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。它们在CH1区、CH2区和CH3区的

氨基酸序列中共享大于95％的同源性,但显示的主要差别在于铰链区的氨基酸组成和结构。Fc区介导效应子功能,诸如抗体依赖性细胞的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)和补体依赖性细胞毒性(CDC)。在ADCC中,Fc区结合至免疫效应细胞(诸如自然杀伤细胞和巨噬细胞)的表面上的Fc受体(Fcγ R),导致靶细胞的裂解。在CDC中,抗体通过触发细胞表面的补体级联反应来介导靶细胞杀伤。在ADCP中,抗体通过吞噬细胞(诸如巨噬细胞或树突状细胞)的内化作用介导抗体包被的靶细胞的消除。本文所述的抗体包括具有与任何IgG同种型组合的可变结构域的所述特征的抗体,包括其中Fc区已经被修饰以调节各种效应子功能的修饰型式。

[0180] 对于治疗性抗体的许多应用,Fc介导的效应子功能是不期望的,因为它们可能由于细胞耗尽而潜在地构成安全隐患。修饰效应子功能可通过工程化Fc区以减弱其与Fcγ R或补体因子的结合来实现。IgG与活化性(Fcγ RI、Fcγ RIIa、Fcγ RIIIa和Fcγ RIIIb)和抑制性(Fcγ RIIb)、Fcγ R或补体(C1q)的第一组分的结合取决于位于铰链区和CH2结构域中的残基。可在IgG1、IgG2和IgG4中引入突变以降低或沉默Fc介导的效应子功能。本文所述的抗体可包括这些修饰形式。

[0181] 在一些实施方案中,抗CD3、抗PSMA、抗CD33和/或抗IL1RAP抗体包含工程化Fc区,该工程化Fc区具有以下特性中的一种或多种:(a)当与亲本Fc相比时效应子功能降低;(b)对Fcγ RI、Fcγ RIIa、Fcγ RIIb、Fcγ RIIIb和/或Fcγ RIIIa的亲和力降低;(c)对Fcγ RI的亲和力降低;(d)对Fcγ RIIa的亲和力降低;(e)对Fcγ RIIIb的亲和力降低;或(f)对Fcγ RIIIa的亲和力降低。

[0182] 在一些实施方案中,抗CD3、抗PSMA、抗CD33和/或抗IL1RAP抗体为例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。在其中抗体具有IgG4同种型的一些实施方案中,与野生型IgG4相比,该抗体在其Fc区中含有S228P、F234A和L235A置换。在其中抗体具有IgG1同种型的一些实施方案中,该抗体在其Fc区中含有L234A和L235A置换。本文所述的抗体可包括这些修饰形式。

[0183] 在一些实施方案中,抗CD3、抗PSMA、抗CD33和/或抗IL1RAP抗体为IgG4同种型,任选地包含重链置换S228P。

[0184] 在一些实施方案中,抗CD3、抗PSMA、抗CD33和/或抗IL1RAP抗体为IgG1同种型,当与野生型IgG1比较时,其任选地包含重链置换L234A、G237A、P238S、H268A、A330S和P331S。

[0185] 在一些实施方案中,抗CD3、抗PSMA、抗CD33和/或抗IL1RAP抗体为IgG2同种型,当与野生型IgG2比较时,其任选地包含重链置换L234A、G237A、P238S、H268A、V309L、A330S和P331S。

[0186] 野生型IgG4

[0187] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK(SEQ ID NO:602)

[0188] 野生型IgG1

[0189] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS

[0190] GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG

[0191] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:601)

[0192] 野生型IgG2

[0193] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS

[0194] GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:711)

[0195] 在某些实施方案中,提供了标记的抗CD3、抗PSMA、抗CD33和/或抗IL1RAP抗体。直接检测的示例性标记或部分(例如,荧光标记、发色标记、电子高密度标记、化学发光标记和放射性标记)以及间接检测(例如,通过酶反应或分子相互作用)的标记和部分(例如,酶或配体)。示例性标记包括放射性标记(例如,^{32}P、^{14}C、^{111}I、^{125}I、^{3}H、^{131}I)、荧光标记(诸如DyLight® 649)、表位标签、生物素、发色团标记、ECL标记或酶。更具体地,所述标记包括钌、^{111}In-DOTA、^{111}In-二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶和β-半乳糖苷酶、聚组氨酸(HIS标签)、吖啶染料、花青染料、荧光酮染料、噁嗪染料、菲啶染料、罗丹明染料、Alexafluor®染料等。

[0196] 除所述抗CD3、抗PSMA、抗CD33和/或抗IL1RAP抗体和抗原结合片段之外,还提供了能够编码所述抗体和抗原结合片段的多核苷酸序列。还提供了包含所述多核苷酸的载体,以及表达本文提供的抗CD3、抗PSMA、抗CD33和/或抗IL1RAP抗体或抗原结合片段的细胞。还描述了能够表达所公开的载体的细胞。这些细胞可为哺乳动物细胞(诸如293F细胞、CHO细胞)、昆虫细胞(诸如Sf7细胞)、酵母细胞、植物细胞或细菌细胞(诸如大肠杆菌)。所述抗体也可由杂交瘤细胞产生。

[0197] 单特异性抗体的产生

[0198] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3、抗PSMA、抗CD33、抗TMEFF2和/或抗IL1RAP抗体为人的。

[0199] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3、抗PSMA、抗CD33、抗TMEFF2和/或抗IL1RAP抗体为人源化的。

[0200] 本文所述的本发明的单特异性抗体(例如,抗CD3、抗PSMA、抗CD33、抗TMEFF2和/或抗IL1RAP抗体)可使用各种技术产生。例如,可使用Kohler和Milstein,Nature,第256卷第495页,1975年中所述的杂交瘤方法来产生单克隆抗体。在杂交瘤方法中,用人、黑猩猩或猕猴PSMA、CD33、IL1RAP、TMEFF2或CD3或者PSMA、CD33、IL1RAP、TMEFF2或CD3的片段(诸如PSMA、CD33、IL1RAP、TMEFF2或CD3的胞外结构域)来免疫小鼠或其他宿主动物(诸如仓鼠、大鼠或猴),之后使用标准方法将来自免疫动物的脾细胞与骨髓瘤细胞融合以形成杂交瘤细胞(Goding,"Monoclonal Antibodies:Principles and Practice",第59-103页(Academic Press,1986年))。筛选出由单个永生化杂交瘤细胞产生的菌落,用以制备具有所需特性(诸如结合特异性、交叉反应性或缺乏结合特异性、缺乏交叉反应性,以及抗原的亲和力)的抗

体。

[0201] 各种宿主动物可用于产生本文所述的本发明的抗CD3、抗PSMA、抗CD33、抗TMEFF2和/或抗IL1RAP抗体。例如,可使用Balb/c小鼠来产生小鼠抗人PSMA抗体。可使用各种技术来人源化由Balb/c小鼠和其它非人动物制备的抗体,从而产生更类似人的序列。

[0202] 包括选择人受体框架的示例性人源化技术是已知的,并且包括CDR接枝(美国专利5,225,539)、SDR接枝(美国专利6,818,749)、表面重塑(Padlan,1991年,Mol Immunol,第28卷,第489-499页)、特异性决定残基表面重塑(美国专利公布2010/0261620)、人框架改型(美国专利8,748,356)或超人源化(美国专利7,709,226)。在这些方法中,亲本抗体的CDR被转移到人框架上,该人框架可基于其与亲本框架的总体同源性,基于CDR长度的相似性、或规范结构同一性、或它们的组合进行选择。

[0203] 可通过如下过程进一步优化人源化抗体以改善其对所需抗原的选择性或亲和力:通过采用诸如国际专利公布WO1090/007861和WO1992/22653中所述的技术,引入修改的框架支持残基来保持结合亲和力(回复突变),或者通过在任何CDR处引入变体例如来改善抗体的亲和力。

[0204] 基因组中携带人免疫球蛋白(Ig)基因座的转基因动物(诸如小鼠或大鼠)可用于生成抗目标蛋白质的人抗体,这在例如美国专利6,150,584、国际专利公布WO99/45962、国际专利公布WO2002/066630、WO2002/43478、WO2002/043478和WO1990/04036;Lonberg等人,1994年,Nature,第368卷,第856-859页;Green等人,1994年,NatureGenet.7:13-21;Green&Jakobovits,1998年,Exp.Med.第188卷,第483-495页;Lonberg和Huszar,1995年,IntRevImmunol,第13卷,第65-93页;Bruggemann等人,1991年,EurJImmunol,第21卷,第1323-1326页;Fishwild等人,1996年,NatBiotechnol,第14卷,第845-851页;Mendez等人,1997年,NatGenet,第15卷,第146-156页;Green,1999年,J Immunol Methods,第231卷,第11-23页;Yang等人,1999年,CancerRes,第59卷,第1236-1243页;Brüggemann和Taussig,1997年,Curr Opin Biotechnol,第8卷,第455-458页中有所描述。可破坏此类动物中的内源性免疫球蛋白基因座或使该基因座缺失,并且可使用转染色体或微小基因,通过同源或非同源重组将至少一种完整或部分的人免疫球蛋白基因座插入动物的基因组中。可邀请诸如Regeneron(http://_www_regeneron_com)、HarbourAntibodies(http://_www_harbourantibodies_com)、OpenMonoclonalTechnology,Inc.(OMT)(http://_www_omtinc_net)、KyMab(http://_www_kymab_com)、Trianni(http://_www.trianni_com)和Ablexis(http://_www_ablexis_com)等公司使用上述技术以提供抗选定抗原的人抗体。

[0205] 人抗体可选自噬菌体展示文库,其中噬菌体被工程化以表达人免疫球蛋白或其部分,诸如Fab、单链抗体(scFv)或者未配对或配对抗体可变区(Knappik等人,2000年,JMolBiol,第296卷,第57-86页;Krebs等人,2001年,J Immunol Meth,第254卷,第67-84页;Vaughan等人,1996年,Natur eBiotechnology,第14卷,第309-314页;Sheets等人,1998年,PITAS(USA),第95卷,第6157-6162页;Hoogenboom和Winter,1991年,J Mol Biol,第227卷,第381页;Marks等人,1991年,J Mol Biol,第222卷,第581页)。可例如用噬菌体pIX外壳蛋白从将抗体重链和轻链可变区表达为融合蛋白的噬菌体展示文库中分离出本发明的抗体,如Shi等人,2010年,JMolBiol,第397卷,第385-396页和国际专利公布WO09/085462中所述。可从文库中筛选结合到人和/或食蟹猴PSMA、CD33、IL1RAP、TMEFF2或CD3的噬菌体,并可进

一步表征所获得的阳性克隆,从克隆裂解物中分离Fab,并将其表达为全长IgG。用于分离人抗体的此类噬菌体展示方法描述于例如:美国专利5,223,409、5,403,484、5,571,698、5,427,908、5,580,717、5,969,108、6,172,197、5,885,793;6,521,404;6,544,731;6,555,313;6,582,915和6,593,081。

[0206] 免疫源性抗原的制备以及单克隆抗体的产生可用任何合适的技术诸如重组蛋白产生来进行。免疫原性抗原可以纯化蛋白质或蛋白质混合物(包括全细胞或细胞提取物或组织提取物)的形式施用于动物,或抗原可在动物体内由编码所述抗原或其部分的核酸从头形成。

[0207] 双特异性和多特异性CD3抗体的产生和使用

[0208] 本发明提供双特异性和多特异性抗体,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域。第二抗原可为肿瘤相关抗原(TAA)或病原性细胞上的抗原。

[0209] 可用于工程化包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域的双特异性和多特异性抗体的示例性抗CD3抗体包括CD3抗体,该CD3抗体包含表7A和表7B中所示的V_H/V_L序列和重链/轻链CDR,以及表10和表11以及随附文本中所述的其工程化变体。例如,本文所述的CD3抗体CD3B312、CD3B313、CD3B314、CD3B315、CD3B316、CD3B317、CD3B337、CD3B373、CD3B376、CD3B389、CD3B450和CD3B467的CDR和/或VH/VL结构域可用于产生包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域的双特异性和多特异性抗体。

[0210] 本文所述的抗CD3抗体CDR和/或VH/VL结构域可掺入包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域的双特异性抗体中。

[0211] 本文所述的抗CD3抗体CDR和/或VH/VL结构域可掺入包含本文和表23中所述的PSMA结合VH/VL结构域的双特异性抗体中。本文所述的抗CD3抗体和/或VH/VL结构域可掺入包含本文和表30中所述的IL1RAP结合VH/VL结构域的双特异性抗体中。本文所述的抗CD3抗体CDR和/或VH/VL结构域可掺入包含本文和表38中所述的CD33结合VH/VL结构域的双特异性抗体中。例如,PSMA抗体PSMB119、PSMB120、PSMB121、PSMB122、PSMB123、PSMB87、PSMB126、PSMB127、PSMB128、PSMB129、PSMB130、PSMB120、PSMB121、PSMB122、PSMB123、PSMB127、PSMB128、PSMB130、PSMB344、PSMB345、PSMB346、PSMB347、PSMB349、PSMB358、PSMB359、PSMB360、PSMB361、PSMB362、PSMB363和PSMB365的VH/VL结构域可用于产生双特异性PSMA×CD3抗体。

[0212] 示例性TAA为PSMA、CD33、TMEFF2和IL1RAP。本文提供的示例性多特异性PSMA×CD3、CD33×CD3、TMEFF2×CD3和IL1RAP×CD3抗体具有特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合PSMA、CD33、TMEFF2或IL1RAP的第二结构域。可用于工程化双特异性PSMA×CD3分子的示例性抗PSMA抗体是本文所述的那些,其可包含重链和轻链序列,包括但不限于表23中列出的重链和轻链序列。可用于工程化双特异性IL1RAP×CD3分子的示例性抗IL1RAP抗体是本文所述的那些,其可包含重链和轻链可变区序列,包括但不限于表35中提供的重链和轻链可变区序列。可用于工程化双特异性CD33×CD3分子的示例性抗CD33抗体是本文所述的那些,其可包含重链和轻链可变区序列,包括但不限于表43中提供的重链和轻链可变区序列。可用于工程化双特异性TMEFF2×CD3分子的示例性抗TMEFF2抗体是本文所述的那些,

其可包含重链和轻链可变区序列,包括但不限于表59、表66-68中提供的重链和轻链可变区序列。

[0213] 可测试所产生的双特异性抗体与CD3和/或第二抗原的结合和/或其期望的功能特征,诸如表达第二抗原的细胞的T细胞介导的杀伤。

[0214] 本文提供的双特异性抗体包括具有全长抗体结构的抗体。

[0215] “Fab臂”或“半分子”是指特异性地结合抗原的一个重链-轻链对。

[0216] 如本文所述的全长双特异性抗体可以例如使用两个单特异性二价抗体之间的Fab臂交换(或半分子交换)通过下列方式产生:在每个半分子中的重链CH3交界处引入置换以促成两个在体外无细胞环境中或使用共表达而具有不同特异性的抗体半分子的异源二聚体形成。Fab臂交换反应是二硫键异构化反应和CH3域解离-缔合的结果。亲本单特异性抗体的铰链区中的重链二硫键被还原。亲本单特异性抗体之一的所得游离半胱氨酸与第二亲本单特异性抗体分子的半胱氨酸残基形成重链间二硫键,同时亲本抗体的CH3域通过解离-缔合而释放和重新形成。可将Fab臂的CH3域改造成促成异源二聚化而非同源二聚化。所得产物是具有两个Fab臂或半分子的双特异性抗体,这两个Fab臂或半分子各自结合不同的表位,即CD3上的表位和第二抗原上的表位。

[0217] “同源二聚化”是指具有相同CH3氨基酸序列的两条重链的相互作用。“同源二聚体”是指具有含有相同CH3氨基酸序列的两条重链的抗体。

[0218] “异源二聚化”是指具有不同CH3氨基酸序列的两条重链的相互作用。“异源二聚体”是指具有含有不同CH3氨基酸序列的两条重链的抗体。

[0219] 在一些实施方案中,双特异性抗体包括诸如Triomab/Quadroma(Trion Pharma/FreseniusBiotech)、纽扣(Genentech)、CrossMAbs(Roche)和静电配对体(Chugai,Amgen,NovoNordisk,Oncomed)、LUZ-Y(Genentech)、链交换工程结构域体(SEEDbody)(EMDSerono)、Biclonic(Merus)和DuoBody®技术(Genmab A/S)的设计。

[0220] Triomabquadroma技术可用于产生全长双特异性抗体,其掺入了本发明的抗CD3抗体的VH和VL。Triomab技术促进两个亲本嵌合抗体之间的Fab臂交换,一个亲本mAb具有IgG2a,并且第二亲本mAb具有大鼠IgG2b恒定区,从而产生嵌合双特异性抗体。

[0221] “钮扣”策略(参见例如国际公布WO2006/028936)可用于产生全长双特异性抗体。简而言之,在人IgG中形成CH3域的交界的选定氨基酸可在影响CH3域相互作用的位置处突变,从而促进异源二聚体形成。将具有小侧链(扣)的氨基酸引入特异性地结合第一抗原的抗体的重链中,并将具有大侧链(钮)的氨基酸引入特异性地结合第二抗原的抗体的重链中。在两种抗体共表达后,由于具有“扣”的重链与具有“钮”的重链的优先相互作用而形成异源二聚体。形成钮和扣的示例性CH3取代对(表示为第一重链的第一CH3域中的修饰位置/第二重链的第二CH3域中的修饰位置)是:T366Y/F405A、T366W/F405W、F405W/Y407A、T394W/Y407T、T394S/Y407A、T366W/T394S、F405W/T394S和T366W/T366S_L368A_Y407V。

[0222] CrossMAb技术可用于产生全长双特异性抗体。除利用“钮扣”策略促进Fab壁交换之外,CrossMAb在半臂之一中具有交换的CH1结构域和CL结构域,以确保所得的双特异性抗体正确的轻链配对(参见例如美国专利8,242,247)。

[0223] 可使用其他交换策略如下产生全长双特异性抗体:在双特异性抗体的一个或两个臂中,在重链与轻链之间或重链之内交换可变域或恒定域、或这两种域。这些交换包括例如

VH-CH1与VL-CL、VH与VL、CH3与CL以及CH3与CH1,如在国际专利公布WO2009/080254、WO2009/080251、WO2009/018386和WO2009/080252中有所描述。

[0224] 还可使用其他策略,诸如通过在一个CH3表面置换带正电荷的残基并在第二CH3表面置换带负电荷的残基使用静电相互作用促进重链异源二聚化,如美国专利公布US2010/0015133;美国专利公布US2009/0182127;美国专利公布US2010/028637或美国专利公布US2011/0123532中所述。在其他策略中,可通过下面的取代(表示为第一重链的第一CH3域中的修饰位置/第二重链的第二CH3域中的修饰位置)促进异源二聚化:L351Y_F405A_Y407V/T394W、T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V、T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V、L351Y_Y407A/T366A_K409F、L351Y_Y407A/T366V_K409F、Y407A/T366A_K409F、或T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W,如美国专利公布US2012/0149876或美国专利公布US2013/0195849中所述。

[0225] LUZ-Y技术可用于产生双特异性抗体。在该技术中,将亮氨酸拉链加入CH3结构域的C末端,以驱动由亲本mAb装配异源二聚体,该亲本mAb经后纯化移除,如在Wranik等人,2012年,JBiolChem,第287卷第52期,第42221-42229页中所述。

[0226] SEEDbody技术可用于产生双特异性抗体。SEEDbodies在其恒定域中具有所选择的经IgA残基取代的IgG残基,以促进异源二聚化,如在美国专利US20070287170中有所描述。

[0227] 根据国际专利公布WO2011/131746中所述的方法,本文所述的双特异性抗体可在无细胞环境中,通过在两个单特异性同源二聚抗体的CH3区域中导入非对称突变并由两个亲本单特异性同源二聚抗体在还原条件下形成双特异性异源二聚抗体而体外产生,该还原条件允许二硫键异构化。在这些方法中,第一单特异性二价抗体(即,特异性结合第二抗原的抗体;例如,抗PSMA、抗CD33、抗TMEFF2和/或抗IL1RAP抗体)和第二单特异性二价抗体(例如,抗CD3抗体)工程化为在CH3结构域处具有促进异源二聚体稳定性的某些置换;将这些抗体在足以使铰链区中的半胱氨酸发生二硫键异构化的还原条件下一起温育;从而通过Fab臂交换产生双特异性抗体。温育条件恢复到非还原条件。可使用的示例性还原剂为2-巯基乙胺(2-MEA)、二硫苏糖醇(DTT)、二硫赤藓糖醇(DTE)、谷胱甘肽、三(2-羧乙基)膦(TCEP)、L-半胱氨酸和β-巯基乙醇。例如,可使用如下条件:在至少25mM2-MEA的存在下或至少0.5mM二硫苏糖醇的存在下,在5-8的pH例如pH7.0或pH7.4,至少20℃的温度下,温育至少90分钟。

[0228] 在本文所述的一些实施方案中,包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域的双特异性抗体在抗体CH3恒定结构域中包含至少一个置换。

[0229] 在本文所述的一些实施方案中,抗体CH3恒定结构域中的至少一个置换为K409R、F405L或F405L和R409K置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0230] 抗体结构域和位置编号为人们所熟知。“非对称”是指抗体的两条独立重链中的两个CH3结构域内的不同置换。IgG1CH3区通常由IgG1上的残基341-446构成(残基根据EU索引进行编号)。

[0231] 在本文所述的一些实施方案中,双特异性抗体是IgG1同种型,并且当与野生型IgG1比较时,在抗体第一重链(HC1)中包含F405L置换以及在抗体第二重链(HC2)中包含K409R置换。

[0232] 在本文所述的一些实施方案中,双特异性抗体是IgG1同种型,并且当与野生型IgG1比较时,在抗体第一重链(HC1)中包含K409R置换以及在抗体第二重链(HC2)中包含

F405L置换。

[0233] 在本文所述的一些实施方案中,双特异性抗体是IgG4同种型,并且当与野生型IgG4比较时,在HC1中包含S228P置换以及在HC2中包含S228P、F405L和R409K置换。

[0234] 在本文所述的一些实施方案中,双特异性抗体是IgG4同种型,并且当与野生型IgG4比较时,在HC1中包含S228P、F405L和R409K置换以及在HC2中包含S228P置换。

[0235] 在本文所述的一些实施方案中,双特异性抗体是IgG4同种型,并且当与野生型IgG4比较时,在HC1中包含S228P、F234A和L235A置换以及在HC2中包含S228P、F234A、L235A、F405L和R409K置换。

[0236] 在本文所述的一些实施方案中,双特异性抗体是IgG4同种型,并且当与野生型IgG4比较时,在HC1中包含S228P、F234A、L235A、F405L和R409K置换以及在HC2中包含S228P、F234A和L235A置换。

[0237] 在本文所述的一些实施方案中,当残基根据EU索引进行编号时,本发明的双特异性抗体在HC1和HC2中的残基位置350、366、368、370、399、405、407或409处包含至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个或八个非对称置换。

[0238] 在本文所述的一些实施方案中,当残基根据EU索引进行编号时,本发明的双特异性抗体在HC1和HC2中的残基位置350、370、405或409处包含至少一个、两个、三个或四个非对称置换。

[0239] 在本文所述的一些实施方案中,当残基根据EU索引进行编号时,本发明的双特异性抗体在HC1和HC2中的残基位置405或409处包含至少一个非对称置换。

[0240] 通常使用标准方法以DNA水平到分子水平(诸如抗体的恒定结构域)上进行置换。

[0241] 本发明的抗体可被工程化为各种公知的抗体形式。

[0242] 在一些实施方案中,本发明的双特异性抗体是交叉体。

[0243] 在一些实施方案中,本发明的双特异性抗体包括重组IgG样双靶向分子,其中该分子的两侧各自含有至少两种不同抗体的Fab片段或Fab片段的一部分;IgG融合分子,其中全长IgG抗体与额外的Fab片段或Fab片段的部分融合;Fc融合分子,其中单链Fv分子或稳定的双体抗体与重链恒定域、Fc区或其部分融合;Fab融合分子,其中不同的Fab片段融合在一起;基于ScFv和双体抗体的重链抗体(例如域抗体、纳米抗体),其中不同的单链Fv分子或不同的双体抗体或不同的重链抗体(例如域抗体、纳米抗体)彼此融合或与另一蛋白或载体分子融合。

[0244] 在一些实施方案中,重组IgG样双靶向分子包括双靶向(DT)-Ig(GSK/Domantis)、二合一抗体(Genentech)和mAb2(F-Star)。

[0245] 在一些实施方案中,IgG融合分子包括双重可变结构域(DVD)-Ig(Abbott)、Ts2Ab(MedImmune/AZ)和BsAb(Zymogenetics)、HERCULES(BiogenIdec)以及TvAb(Roche)。

[0246] 在一些实施方案中,Fc融合分子包括ScFv/Fc融合体(Academic Institution)、SCORPION(EmergentBioSolutions/Trubion,Zymogenetics/BMS)和双亲和性再靶向技术(Fc-DART)(MacroGenics)。

[0247] 在一些实施方案中,Fab融合双特异性抗体包括F(ab)2(Medarex/AMGEN)、Dual-Action或Bis-Fab(Genentech)、Dock-and-Lock(DNL)(ImmunoMedics)、二价双特异性抗体(Biotecnol)和Fab-Fv(UCB-Celltech)。基于ScFv的、基于双价抗体的结构域抗体包括双特

异性T细胞衔接器(BITE)(Micromet)、串联双价抗体(Tandab)(Affimed)、双亲和性再靶向分子(DART)(MacroGenics)、单链双价抗体(Academic)、TCR样抗体(AIT,ReceptorLogics)、人血清白蛋白ScFv融合体(Merrimack)和COMBODY(EpigenBiotech)、双靶向纳米抗体(Ablynx)、仅双靶向重链结构域抗体。各种形式的双特异性抗体已描述于例如Chames和Baty,2009年,CurrOpinDrugDiscDev,第12卷,第276页和Nunez-Prado等人,2015年,DrugDiscoveryToday,第20卷第5期,第588-594页中。

[0248] 表2汇总了可用于产生本发明的双特异性抗体的本文所述的示例性单克隆抗体。

[0249] 表2.可用于产生本发明的双特异性抗体的示例性单克隆抗体

[0250]

第一结构域	第二结构域		
抗 CD3	抗 PSMA	抗 CD33	抗 IL1RAP
CD3B312	PSMB87	C33B760	IAPB3
CD3B313	PSMB119	C33B777	IAPB9
CD3B314	PSMB120	C33B778	IAPB17
CD3B315	PSMB121	C33B782	IAPB23
CD3B316	PSMB122	C33B792	IAPB25
CD3B317	PSMB123	C33B799	IAPB29
CD3B337	PSMB124	C33B806	IAPB38
CD3B373	PSMB126	C33B830	IAPB47
CD3B376	PSMB127	C33B836	IAPB55
CD3B389	PSMB129	C33B903	IAPB57
CD3B450	PSMB130	C33B904	IAPB61
CD3B467	PSMB344	C33B905	IAPB62
	PSMB345	C33B907	IAPB63
	PSMB346	C33B908	IAPB64
	PSMB347		IAPB65
	PSMB349		
	PSMB358		
	PSMB359		
	PSMB360		
	PSMB361		
	PSMB362		
	PSMB363		
	PSMB365		

[0251] 可用于工程化双特异性TMEFF2×CD3分子的示例性抗TMEFF2抗体是本文所述的那些,其可包含重链和轻链可变区序列,包括但不限于表59、表66-68中提供的重链和轻链可变区序列。

[0252] 在一些实施方案中,抗CD3抗体为多特异性抗体,例如包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域的双特异性抗体。在一些实施方案中,第二抗原或靶抗原是在除免疫效应细胞之外的靶细胞上表达的细胞表面抗原。在一些实施方案中,第二抗原为TAA。示例性TAA为PSMA、CD33、TMEFF2和IL1RAP。

[0253] 本发明提供双特异性抗体,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域。

[0254] 在一些实施方案中,第一结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,第一结构域包含分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL。在一些实施方案中,第一结构域包含分别为SEQ ID NO:640和676的HC和LC。在一些实施方案中,第一结构域包含分别为SEQ ID NO:657和678的VH

和VL。在一些实施方案中,第一结构域包含分别为SEQ ID NO:675和677的HC和LC。

[0255] 在一些实施方案中,第一结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、773、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一些实施方案中,第一结构域包含分别为SEQ ID NO:657和678的VH和VL。在一些实施方案中,第一结构域包含分别为SEQ ID NO:675和677的HC和LC。

[0256] 本发明还提供了用于在治疗中使用的双特异性抗体,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域。

[0257] 本发明还提供了用于在治疗细胞增殖性失调中使用的双特异性抗体,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域。

[0258] 本发明还提供了用于在治疗癌症中使用的双特异性抗体,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域。

[0259] 本发明还提供了用于在治疗自身免疫疾病中使用的双特异性抗体,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域。

[0260] 本发明还提供了用于在制备治疗癌症的药物中使用的双特异性抗体,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域。

[0261] 本发明还提供了用于在制备治疗自身免疫性疾病的药物中使用的双特异性抗体,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域。

[0262] 本发明的另一个方面是治疗有需要的受试者的细胞增殖性疾病或自身免疫性疾病的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本发明的抗CD3抗体。在一些实施方案中,将抗CD3抗体或包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域的双特异性抗体以约0.01mg/kg至约10mg/kg的剂量施用于受试者。在一些实施方案中,将抗CD3抗体或包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域的双特异性抗体以约0.1mg/kg至约10mg/kg的剂量施用于受试者。在一些实施方案中,将抗CD3抗体或包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域的双特异性抗体以约1mg/kg的剂量施用于受试者。在一些实施方案中,将抗CD3抗体或包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域的双特异性抗体通过皮下、静脉内、肌内、局部、口服、透皮、腹膜内、眶内、植入、吸入、鞘内、心室内或鼻内施用。在一些实施方案中,将抗CD3抗体或包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域的双特异性抗体通过皮下施用。在一些实施方案中,将抗CD3抗体或包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域的双特异性抗体通过静脉内施用。

[0263] 在任何前述用途或方法中,细胞增生性疾病为癌症。在一些实施方案中,癌症选自食道癌、胃癌、小肠癌、大肠癌、结直肠癌、乳腺癌、非小细胞肺癌、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、B细胞淋巴瘤、B细胞白血病、多发性骨髓瘤、肾癌、前列腺癌、肝癌、头颈癌、黑素瘤、卵巢癌、间皮瘤、胶质母细胞瘤、生发中心B细胞样(GCB)DLBCL、活化B细胞样(ABC)DLBCL、滤泡性淋巴瘤(FL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴性白血病(CLL)、边缘区淋巴瘤(MZL)、小淋巴细胞白血病(SLL)、淋巴浆细胞性淋巴瘤(LL)、华氏巨球蛋白血症(WM)、中枢神经系统淋巴瘤(CNSL)、伯基特淋巴瘤(BL)、B细胞前淋巴细胞白血病、脾边缘区淋巴

瘤、毛细胞白血病、脾淋巴瘤/白血病、未分类的脾弥漫性红髓小B细胞淋巴瘤、变异型毛细胞白血病、华氏巨球蛋白血症、重链疾病、浆细胞骨髓瘤、骨孤立性浆细胞瘤、骨外浆细胞瘤、黏膜相关淋巴组织淋巴结外边缘区淋巴瘤(MALT淋巴瘤)、淋巴结边缘区淋巴瘤、儿童淋巴结边缘区淋巴瘤、小儿滤泡性淋巴瘤、原发性皮肤滤泡中心淋巴瘤、富含T细胞/组织细胞的大B细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统DLBCL、原发性皮肤DLBCL-腿型、老年人EBV阳性DLBCL、慢性炎症相关性DLBCL、淋巴瘤样肉芽肿病、原发性纵隔(胸腺)大B细胞淋巴瘤。血管内大B细胞淋巴瘤、ALK阳性大B细胞淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、HHV8相关多中心性Castleman病引起的大B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤;特征介于弥漫性大B细胞淋巴瘤和伯基特淋巴瘤之间的未分类B细胞淋巴瘤,以及特征介于弥漫性大B细胞淋巴瘤、经典霍奇金淋巴瘤和轻链淀粉样变性之间的未分类B细胞淋巴瘤。

[0264] 在一些实施方案中,癌症是食道癌。在一些实施方案中,癌症是腺癌,例如转移性腺癌(例如,结直肠腺癌、胃腺癌或胰腺癌)。

[0265] 在任何前述用途或方法中,自身免疫性疾病可选自类风湿性关节炎、幼年型类风湿关节炎、系统性红斑狼疮(SLE)、韦格纳氏病、炎性肠病、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、血栓性血小板减少性紫癜(TTP)、自身免疫性血小板减少症、多发性硬化症、牛皮癣、IgA肾病、IgM多发性神经病、重症肌无力、血管炎、糖尿病、雷诺综合征、干燥综合征、肾小球肾炎、视神经脊髓炎(NMO)和IgG神经病。

[0266] 在另一方面,本发明的特征在于一种试剂盒,该试剂盒包括:(a)包含前述抗CD3抗体或双特异性抗体中任一者的组合物,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域,以及(b)包装说明书,该包装说明书包括用于将组合物施用于受试者以治疗或延缓细胞增生性疾病进展的说明书。术语“包装说明书”用来指通常包括在治疗产品的商业包装中的说明书,其含有关于涉及此类治疗产品使用的适应症、用法、剂量、给药、联合疗法、禁忌症和/或警告的信息。

[0267] 在任何前述用途或方法中,受试者可以是人。

[0268] 多核苷酸、载体和宿主细胞

[0269] 还公开了编码本发明的抗CD3抗体或本发明的双特异性抗体的分离的多核苷酸,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域。能够编码本文提供的可变结构域的分离的多核苷酸可包括在相同或不同的载体上以产生本发明的抗体或抗原结合片段。

[0270] 在一些实施方案中,本发明的多核苷酸包括编码前导序列的多核苷酸。可采用本领域已知的任何前导序列。编码前导序列的多核苷酸可包括限制性内切核酸酶切割位点或翻译起始位点。

[0271] 还提供了包含本发明的多核苷酸的载体。载体可为表达载体。表达载体可含有一个或多个附加的序列,诸如但不限于调控序列(如启动子、增强子)、选择标记和聚腺苷酸化信号。用于转化多种宿主细胞的载体是熟知的,并且包括但不限于质粒、噬菌粒、粘粒、杆状病毒、杆粒、细菌人工染色体(BAC)、酵母人工染色体(YAC)以及其它细菌、酵母和病毒载体。

[0272] 本说明书范围内的重组表达载体包括合成的或cDNA衍生的核酸片段,这些片段编码可操作地连接至合适的调控元件的至少一种重组蛋白。此类调节元件可包含转录启动子、编码合适的mRNA核糖体结合位点的序列以及控制转录和翻译的终止的序列。表达载体,

特别是哺乳动物表达载体还可包含一个或多个非转录元件,诸如复制起点、连接到待表达的基因的合适启动子和增强子、其它5'或3'侧翼非转录序列、5'或3'非翻译序列(诸如必需的核糖体结合位点)、聚腺苷酸化位点、剪接供体和受体位点或转录终止序列。也可并入赋予在宿主中复制能力的复制起点。

[0273] 用于转化脊椎动物细胞的表达载体中的转录和翻译控制序列可由病毒源提供。示例性载体可如Okayama和Berg,3Mol.Cell.Biol.280(1983)。

[0274] 在一些实施方案中,将抗体编码序列或抗原结合片段编码序列置于强效组成型启动子(诸如用于以下基因的启动子:次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶(HPRT)、腺苷脱氨酶、丙酮酸激酶、β-肌动蛋白、人肌球蛋白、人血红蛋白、人肌肉肌酸等)的控制下。此外,许多病毒启动子在真核细胞中组成性地发挥功能,并适用于与所述实施方案一起使用。这类病毒启动子包括但不限于细胞巨化病毒(CMV)立即早期启动子、SV40的早期和晚期启动子、小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV)启动子、马罗尼白血病病毒的长末端重复序列(LTR)、人免疫缺陷病毒(HIV)、EB病毒(EBV)、劳氏肉瘤病毒(RSV)和其它逆转录病毒,以及单纯疱疹病毒的胸苷激酶启动子。在一个实施方案中,将PSMA特异性抗体或其抗原结合片段编码序列置于诱导型启动子(诸如,金属硫蛋白启动子、四环素诱导型启动子、多西环素诱导型启动子、含有一种或多种干扰素刺激的反应元件(ISRE)(诸如蛋白激酶R2',5'-寡腺苷酸合成酶、Mx基因、ADAR1等)的启动子)的控制下。

[0275] 本文所述的载体可含有一个或多个内部核糖体进入位点(IRES)。IRES序列包含在融合载体中可能有利于增强一些蛋白质的表达。在一些实施方案中,载体系统将包括一个或多个聚腺苷酸化位点(例如,SV40),这些位点可在任何上述核酸序列的上游或下游。载体组分可连续地连接,或以提供用于表达基因产物的最佳间距的方式(即通过在ORF之间引入"间隔区"核苷酸)排列,或以另一种方式定位。调控元件诸如IRES基序也可被布置成提供用于表达的最佳间距。

[0276] 载体可包含本领域熟知的选择标记。选择标记包括阳性和阴性选择标记,例如,抗生素抗性基因(例如,新霉素抗性基因、潮霉素抗性基因、卡那霉素抗性基因、四环素抗性基因、青霉素抗性基因)、谷氨酸合酶基因、HSV-TK、用于更昔洛韦选择的HSV-TK衍生物或用于6-甲基嘌呤选择的细菌嘌呤核苷磷酸化酶基因(Gadi等人,7GeneTher.1738-1743(2000))。编码选择标记或克隆位点的核酸序列可在编码感兴趣的多肽或克隆位点的核酸序列的上游或下游。

[0277] 本文所述的载体可用于用编码所述抗体或抗原结合片段的基因转化各种细胞。例如,载体可用于产生抗CD3、抗PSMA、抗CD33、抗TMEFF2或抗IL1RAP抗体或产生抗原结合片段的细胞。因此,本发明还提供一种包含本发明的载体的宿主细胞。

[0278] 本领域已知用于将外来基因引入细胞中的多种技术,并且出于实施所述方法的目的,这些技术可用于根据本文所描述和例示的各种实施方案构建重组细胞。所使用的技术应当使得异源基因序列向宿主细胞稳定转移,以致异源基因序列是可遗传的并且可由细胞子代表达,从而受体细胞的必要发育和生理功能不被破坏。可使用的技术包括但不限于染色体转移(例如细胞融合、染色体介导的基因转移、微细胞介导的基因转移)、物理方法(例如转染、原生质球融合、显微注射、电穿孔、脂质体载体)、病毒载体转移(例如,重组DNA病毒、重组RNA病毒)等(描述于Cline,29Pharmac.Ther.第69-92页,1985年)。也可使用磷酸钙

沉淀和聚乙二醇(PEG)诱导的细菌原生质体与哺乳动物细胞的融合来转化细胞。

[0279] 适用于在表达本文所述的抗体或抗原结合片段中使用的细胞优选为真核细胞,更优选为植物、啮齿动物或人来源的细胞,例如但不限于NSO、CHO、CHOK1、perC.6、Tk-ts13、BHK、HEK293细胞、COS-7、T98G、CV-1/EBNA、L细胞、C127、3T3、HeLa、NS1、Sp2/0骨髓瘤细胞和BHK细胞系等。此外,可使用杂交瘤细胞完成抗体的表达。用于产生杂交瘤的方法是本领域中已良好建立的。

[0280] 可选择或筛选用本发明的表达载体转化的细胞用于本发明的抗体或抗原结合片段的重组表达。扩增和筛选重组阳性细胞,筛选表现出所需表型(诸如高水平表达、增强的生长特性或例如由于蛋白质修饰或改变的翻译后修饰产生具有所需生化特征的蛋白质的能力)的亚克隆。这些表型可能是由于给定亚克隆的固有性质或由于突变造成的。突变可通过使用化学品、UV波长光、辐射、病毒、插入诱变剂、DNA错配修复的抑制或这些方法的组合来实现。

[0281] 药物组合物/施用

[0282] 本发明还提供一种包含本发明的抗体以及药学上可接受的载体的药物组合物。就治疗性用途而言,可将本发明的抗体制备为药物组合物,该药物组合物含有有效量的抗体作为药学可接受的载体中的活性成分。“载体”是指本发明抗体与之一起施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或媒介物。此类媒介物可以是液体,诸如水和油,包括来源于石油、动物、植物的油或合成的那些油,诸如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。例如,可使用0.4%盐水和0.3%甘氨酸。这些溶液是无菌的,并且通常不含颗粒物。它们可通过常规的公知灭菌技术(例如过滤)进行灭菌。组合物可根据需要含有药学可接受的辅助物质,以接近生理条件,例如pH调节剂和缓冲剂、稳定剂、增稠剂、润滑剂和着色剂等。在此类药物制剂中本发明的抗体的浓度可从按重量计小于约0.5%,通常到至少约1%到多达15或20%改变,且可根据所选择的具体施用方式,主要基于所需剂量、流体体积、粘度等进行选择。包含其他人蛋白(例如,人血清白蛋白)在内的合适的媒介物和配制物在例如Remington:TheScienceandPracticeofPharmacy,第21版,Troy,D.B.编辑,LipincottWilliamsandWilkins,Philadelphia,PA,2006年,第5部分,PharmaceuticalManufacturing,第691-1092页(特别参见第958-989页)中有所描述。

[0283] 用于本发明的抗体的治疗性用途的施用模式可以是将抗体递送至宿主的任何合适途径,诸如胃肠外施用,例如真皮内、肌肉内、腹膜内、静脉内或皮下、肺部,经粘膜(口腔、鼻内、阴道内、直肠),使用片剂、胶囊、溶液、粉末、凝胶、颗粒形式的制剂;以及包含在注射器、植入装置、渗透泵、盒、微型泵中;或技术人员所理解的本领域熟知的其它方式。可通过例如以下方式实现位点特异性施用:瘤内、胃肠外、支气管内、腹内、囊内、软骨内、腔内、体腔内、小脑内、脑室内、结肠内、颈管内、胃内、肝内、心脏内、骨内、骨盆内、心包内、腹膜内、胸膜内、前列腺内、肺内、直肠内、肾内、视网膜内、脊柱内、滑膜内、胸内、子宫内、血管内、膀胱内、病灶内、阴道、直肠、口腔、舌下、鼻内或经皮递送。

[0284] 本发明的抗体可通过任何合适的途径施用于受试者,例如通过静脉内(i.v.)输注或弹丸式注射、肌内或皮下或腹膜内来肠胃外施用。可历经例如15分钟、30分钟、60分钟、90分钟、120分钟、180分钟或240分钟或1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时或12小时给予i.v.输注。

[0285] 向受试者给予的剂量足以缓解或至少部分地遏止正在治疗的疾病(“治疗有效量”),并且有时可为0.005mg/kg至约100mg/kg,例如约0.05mg/kg至约30mg/kg,或约5mg/kg至约25mg/kg,或约4mg/kg,约8mg/kg,约16mg/kg或约24mg/kg,或例如约1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、7mg/kg、8mg/kg、9mg/kg或10mg/kg,但可甚至更高,例如约15mg/kg、16mg/kg、17mg/kg、18mg/kg、19mg/kg、20mg/kg、21mg/kg、22mg/kg、23mg/kg、24mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、40mg/kg、50mg/kg、60mg/kg、70mg/kg、80mg/kg、90mg/kg或100mg/kg。

[0286] 也可以给予固定的单位剂量,例如50mg、100mg、200mg、500mg或1000mg,或者剂量可基于患者的表面积,例如500mg/m2、400mg/m2、300mg/m2、250mg/m2、200mg/m2或100mg/m2。通常可施用介于1和8次之间(例如,1、2、3、4、5、6、7或8次)的剂量来治疗患者,但可给予9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多次的剂量。

[0287] 可在一天、两天、三天、四天、五天、六天、一周、两周、三周、一个月、五周、六周、七周、两个月、三个月、四个月、五个月、六个月或更长时间之后重复施用本发明抗体。也可以重复治疗过程,按照慢性施用一样。重复施用可为相同剂量或不同剂量。例如,本文所述的本发明抗体可通过静脉内输注以8mg/kg或以16mg/kg按一周的时间间隔施用8周,接着以8mg/kg或以16mg/kg按每两周一次的方式再施用16周,然后以8mg/kg或以16mg/kg按每四周一次的方式施用。

[0288] 例如,本文所述的方法中的抗体可在治疗开始后第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40天中的至少一者,或者另选地,在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20周中的至少一者,或它们的任何组合,使用单次剂量或者每24、12、8、6、4或2小时一次的分次剂量或它们的任何组合,以约0.1-100mg/kg的量作为日剂量提供,诸如0.5、0.9、1.0、1.1、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、40、45、50、60、70、80、90或100mg/kg/天。

[0289] 本文所述的方法中的抗体也可预防性地施用,以降低罹患癌症的风险、延迟癌症进展中事件的发生开始和/或在癌症缓解后降低复发的风险。

[0290] 可将本文提供的抗体低压冻干用于贮存,并在使用前在合适的载体中复原。此项技术已被证实对常规的蛋白制备物有效,并且可采用熟知的冻干和复原技术。

[0291] 检测CD3、PSMA、CD33、IL1RAP、TMEFF2或靶抗原和CD3的方法

[0292] 本文提供了检测样本中CD3、PSMA、CD33、TMEFF2或IL1RAP的方法,该方法包括获得样本,使样本与本发明的抗CD3、抗PSMA、抗CD33、抗TMEFF2或抗IL1RAP抗体接触,以及检测与样本中CD3、PSMA、CD33、TMEFF2或IL1RAP结合的抗体。

[0293] 还提供了检测样本中CD3和第二抗原(例如,PSMA、CD33、TMEFF2或IL1RAP)的方法,该方法包括获得样本,使样本与包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域的双特异性抗体接触,并且检测结合样本中CD3和第二抗原的抗体。

[0294] 在本文所述的一些实施方案中,样本可来源于尿液、血液、血清、血浆、唾液、腹水、循环细胞、循环肿瘤细胞、非组织缔合的细胞(即游离细胞)、组织(例如手术切除的肿瘤组织、活体组织切片,包括细针抽吸组织)、组织学制备物等。

[0295] 可使用已知的方法检测本发明的抗体。示例性方法包括使用荧光或化学发光标记、或放射标记物直接标记抗体,或者使易于检测的部分(诸如生物素、酶或表位标签)连接

到本发明的抗体上。示例性的标记和部分为钌、^{111}In-DOTA、^{111}In-二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶和β-半乳糖苷酶、聚组氨酸(HIS标签)、吖啶染料、花青染料、荧光酮染料、噁嗪染料、菲啶染料、罗丹明染料和Alexafluor®染料。

[0296] 本文提供的抗体可用于多种测定以检测样本中的CD3、PSMA、CD33、IL1RAP、TMEFF2或CD3和第二抗原。示例性的测定为蛋白质印迹分析、放射性免疫测定、表面等离振子共振、免疫沉淀、平衡透析、免疫扩散、电化学发光(ECL)免疫测定、免疫组织化学、荧光激活细胞分选(FACS)或ELISA测定。

[0297] 抗体试剂盒

[0298] 本发明还提供了包含抗CD3、抗PSMA、抗CD33、抗TMEFF2或抗IL1RAP抗体或双特异性抗体中的一种或多种的试剂盒,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原或其抗原结合片段的第二结构域。所述试剂盒可用于实施使用抗CD3、抗PSMA、抗CD33、抗TMEFF2或抗IL1RAP抗体或包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合本发明的第二抗原的第二结构域的双特异性抗体的方法,或本领域技术人员已知的其他方法。在一些实施方案中,所述试剂盒可包括本文所述的抗体或抗原结合片段以及用于在检测生物样本中CD3或第二抗原(诸如PSMA、CD33、IL1RAP、TMEFF2)的存在中使用的试剂。因此,所述试剂盒可包括以下中的一种或多种:抗体或本文所述的其抗原结合片段,以及用于在不使用时容纳抗体或片段的容器、抗体或片段的使用说明、附连到固相支撑物的抗体或片段和/或可检测标记形式的抗体或片段,如本文所述。

[0299] 本发明还提供包含本文所述的特异性结合PSMA的抗体的试剂盒。本发明还提供包含本文所述的特异性结合CD33的抗体的试剂盒。本发明还提供包含本文所述的特异性结合IL1RAP的抗体的试剂盒。本发明还提供包含本文所述的特异性结合TMEFF2的抗体的试剂盒。

[0300] 试剂盒可用于治疗用途并用作诊断试剂盒。

[0301] 试剂盒可用于检测生物样本中CD3、PSMA、CD33、IL1RAP、TMEFF2和/或第二抗原的存在。

[0302] 在一些实施方案中,试剂盒包含本文所述的本发明抗体和用于检测该抗体的试剂。试剂盒可包含一个或多个其它元件,包含:使用说明;其它试剂,例如标记、治疗剂、或者可用于使抗体与标记或治疗剂螯合或以其它方式偶联的试剂、或辐射防护组合物;用于准备施用抗体的装置或其它材料;药学上可接受的载体;以及向受试者施用的装置或其它材料。

[0303] 在一些实施方案中,试剂盒包含容器装本发明的抗体和试剂盒的使用说明。

[0304] 在一些实施方案中,试剂盒中的抗体被标记。

[0305] CD3特异性抗体

[0306] 本文描述了分离的抗CD3抗体。本发明的抗CD3抗体结合人CD3和任选的食蟹猴CD3。在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体及其片段以彼此5倍内的亲和力结合人CD3和食蟹猴CD3。换句话讲,抗体结合的差异小于5的倍数。在这种情况下,本发明的抗CD3抗体既可用于灵长类动物中CD3的安全性、活性和/或药代动力学特征的临床前评估,也可用作人类的药物。换句话讲,相同的CD3特异性分子可用于临床前动物研究以及用于人类临床研究。与物种特异性替代分子相比,这种人/食蟹猴交叉反应性导致动物研究的高度可比较的

结果和大大增加的预测能力。在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体及其片段结合由CD3e/d亚基形成的表位。CD3特异性抗体可以是人的、人源化的或嵌合的。本文还举例说明了在OmniRat(OpenMonocmaticTechnologies(“OMT”),PaloAlto,California,USA,omniab.com)中产生的人抗体。

[0307] 在本文所述的一些实施方案中,抗CD3抗体或其片段具有下列特性中的一种、两种、三种、四种或五种:

[0308] a)以20nM或更小的计算EC50结合人和食蟹猕猴CD3+T淋巴细胞,并且以40nM或更小的计算EC50结合表达食蟹猕猴CD3的HEK细胞,其中结合CD3+T淋巴细胞与结合表达食蟹猕猴CD3的HEK细胞之间的计算EC50差值小于5倍,并且其中计算EC50是在0℃下使用流式细胞术在全细胞结合测定中测量的;

[0309] b)以12nM或更小的平衡解离常数(K_D)结合来自人的重组CD3d(SEQ ID NO:691),或结合来自人的重组CD3e(SEQ ID NO:636),或结合来自食蟹猕猴的重组CD3e(SEQ ID NO:693),其中K_D使用Proteon表面等离振子共振测定ProteOnXPR36系统在+25℃下测量;

[0310] c)如通过肽谱分析所检测的,显示没有甲硫氨酸或色氨酸氧化,或显示没有天冬酰胺脱酰胺,或显示没有天冬酰胺异构化;

[0311] d)结合CD3e的残基1-6,如通过X射线晶体学所确定的;或者

[0312] e)激活T细胞或诱导CD69表达达到与cOKT3或SP34-2相似的程度,如通过荧光激活细胞分选测定所确定的。

[0313] 本发明的抗CD3抗体及其片段对表达人CD3的人T细胞具有约5nM至约1000nM,优选地约5nM至约50nM、约50nM至约100nM、约100nM至约200nM、约200nM至约300nM、约300nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM以及约900nM至约1000nM,更优选地约5nM至约300nM的体外结合亲和力(K_d),如通过流式细胞术确定的。

[0314] 在一些方面,本发明的抗CD3抗体及其片段为二价抗体,该二价抗体对表达人CD3的人T细胞具有约5nM至约1000nM,优选地约5nM至约50nM、约50nM至约100nM、约100nM至约200nM、约200nM至约300nM、约300nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM以及约900nM至约1000nM,更优选地约5nM至约300nM,最优选地约100nM的体外结合亲和力(K_d),如通过流式细胞术确定的。

[0315] 在一些方面,本发明的抗CD3抗体及其片段为单价构建体,该单价构建体对表达人CD3的人T细胞具有约5nM至约1000nM,优选地约5nM至约50nM、约50nM至约100nM、约100nM至约200nM、约200nM至约300nM、约300nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM以及约900nM至约1000nM,更优选地约100nM至约250nM,最优选地约250nM的体外结合亲和力(K_d),如通过流式细胞术确定的。

[0316] 在一个方面,本文所述的抗CD3抗体及其片段与市售CD3抗体SP34-2(BDBiosciences551916)竞争结合CD3,如使用AlexaFluor488缀合的SP34-2抗体对原代人T细胞的竞争结合测定所确定的,该竞争结合测定使用流式细胞术进行测量。

[0317] 在一个方面,抗CD3抗体及其片段不表现出翻译后修饰,包括没有氧化、没有脱酰胺化和没有天冬氨酸异构化,如通过肽谱分析所确定的。

[0318] 在一个方面,抗CD3抗体及其片段有效激活T细胞并诱导CD69表达达到与人和食蟹猴T细胞中的SP34-2和人T细胞中的cOKT3类似的程度,如使用流式细胞术通过基于T细胞的测定所确定的。

[0319] 在一个方面,本文所述的抗CD3抗体及其片段具有约400kcal/mol或更大、约410kcal/mol或更大、约420kcal/mol或更大、约430kcal/mol或更大、约440kcal/mol或更大、约45kcal/mol或更大、约460kcal/mol或更大、约470kcal/mol或更大、约480kcal/mol或更大、约490kcal/mol或更大、约500kcal/mol或更大、约510kcal/mol或更大、约520kcal/mol或更大、约530kcal/mol或更大、约540kcal/mol或更大或约550kcal/mol或更大的总解折叠焓。在某些方面,本发明的抗CD3抗体及其片段具有约418kcal/mol、545kcal/mol、约402kcal/mol或约406kcal/mol的总解折叠焓,并且抗CD3抗体分别为CD3B376(IgG4PAA)分子、CD3B450(IgG4PAA)分子、CD3B389(IgG1σ)分子和CD3B467(IgG1σ)分子。

[0320] 示例性的此类抗体包括CD3B311、CD3B312、CD3B313、CD3B314、CD3B315、CD3B316、CD3B317、CD3B334、CD3B376、CD3B389、CD3B450和CD3B467,以及被工程化为单价形式的CD3B376和CD3B450。

[0321] 本发明的抗CD3抗体或抗原结合片段可以多种形式存在,但将包括表7A中所示的抗体可变结构域片段或CDR中的一者或多者及其工程化变体,例如,表9和表10中所示或所述的那些以及它们的随附描述。

[0322] 本发明还提供了抗CD3抗体或其抗原结合片段,它们包含含有表7B所述抗体中的任一抗体的HCDR1、HCDR2和HCDR3的重链。本发明还提供了抗CD3抗体或其抗原结合片段,它们包含含有表7B所述抗体中的任一抗体的HCDR1、HCDR2和HCDR3的重链以及含有表7B所述抗体中的任一抗体的LCDR1、LCDR2和LCDR3的轻链。在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段与包含含有表7B所述抗体中的任一抗体的HCDR1、HCDR2和HCDR3的重链以及含有表7B所述抗体中的任一抗体的LCDR1、LCDR2和LCDR3的轻链的抗体或其抗原结合片段竞争结合CD3。

[0323] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:651、652、653、654、655、687或656的重链可变区(VH)内所含的HCDR1、HCDR2和HCDR3,其中HCDR1、HCDR2和HCDR3由Chothia、Kabat或IMGT定义。

[0324] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:658、659、694、660、688或661的轻链可变区(VH)内所含的LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中LCDR1、LCDR2和LCDR3由Chothia、Kabat或IMGT定义。

[0325] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含:

[0326] SEQ ID NO:662、665或666的HCDR1;

[0327] SEQ ID NO:663、689或695的HCDR2;以及

[0328] SEQ ID NO:664的HCDR3;

[0329] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含:

[0330] SEQ ID NO:773、710、674或671的LCDR1;

[0331] SEQ ID NO:669或673的LCDR2;以及

[0332] SEQ ID NO:670的LCDR3。

[0333] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含:

[0334] SEQ ID NO:662、665或666的HCDR1;

[0335] SEQ ID NO:663、689或695的HCDR2;

[0336] SEQ ID NO:664的HCDR3;

[0337] SEQ ID NO:773、710、674或671的LCDR1;

[0338] SEQ ID NO:669或673的LCDR2;以及

[0339] SEQ ID NO:670的LCDR3。

[0340] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含下列的HCDR1、HCDR2和HCDR3:

[0341] 分别为SEQ ID NO:662、663和664;

[0342] 分别为SEQ ID NO:662、695和664;

[0343] 分别为SEQ ID NO:665、663和664;

[0344] 分别为SEQ ID NO:665、695和664;

[0345] 分别为SEQ ID NO:662、689和664;

[0346] 分别为SEQ ID NO:666、663和664;

[0347] 分别为SEQ ID NO:666、695和664;

[0348] 分别为SEQ ID NO:665、689和664;或者

[0349] 分别为SEQ ID NO:666、689和664。

[0350] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含下列的LCDR1、LCDR2和LCDR3:

[0351] 分别为SEQ ID NO:773、669和670;

[0352] 分别为SEQ ID NO:773、673和670;

[0353] 分别为SEQ ID NO:710、673和670;

[0354] 分别为SEQ ID NO:674、673和670;

[0355] 分别为SEQ ID NO:671、673和690;

[0356] 分别为SEQ ID NO:773、673和690;

[0357] 分别为SEQ ID NO:671、669和670;或者

[0358] 分别为SEQ ID NO:776、673和670。

[0359] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、773、669和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0360] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、773、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0361] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、669和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0362] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0363] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:662、695、664、773、669和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0364] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:662、695、664、773、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0365] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:662、695、664、671、669和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0366] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:662、695、664、671、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0367] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:665、663、664、773、669和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0368] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:665、663、664、773、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0369] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:665、663、664、671、669和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0370] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:665、663、664、671、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0371] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:665、695、664、773、669和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0372] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:665、695、664、773、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0373] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:665、695、664、776、669和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0374] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:665、695、664、776、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0375] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:666、663、664、773、669和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0376] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:666、663、664、773、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0377] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:666、663、664、776、669和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0378] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:666、663、664、671、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0379] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:666、695、664、773、669和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0380] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:666、695、664、773、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0381] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:666、695、664、671、669和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0382] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:666、695、664、671、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0383] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:662、689、664、671、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0384] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID

NO:662、663、664、710、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0385] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0386] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、773、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0387] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:709、640、641、642、643、675或644的重链(HC)序列和/或SEQ ID NO:645、716、649、676、677或650的轻链(LC)序列。在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含HC和LC,该HC具有与SEQ ID NO:709、640、641、642、643、675或644有至少85%,优选地90%,更优选地95%或更高诸如95%、96%、97%、98%或99%同一性的多肽序列,该LC具有与SEQ ID NO:645、716、649、676、677或650有至少85%,优选地90%,更优选地95%或更高诸如95%、96%、97%、98%或99%同一性的多肽序列。在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含HC和LC,该HC具有与SEQ ID NO:709、640、641、642、643、675或644有至少85%,优选地90%,更优选地95%或更高诸如95%、96%、97%、98%或99%同一性的多肽序列,该LC具有与SEQ ID NO:645、716、649、676、677或650有至少85%,优选地90%,更优选地95%或更高诸如95%、96%、97%、98%或99%同一性的多肽序列,其中序列变化不发生在CDR区中。

[0388] 在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:651、652、657、653、654、655、687或656的重链可变区(VH)序列和/或SEQ ID NO:658、659、694、660、688、678或661的轻链可变区(VL)序列。在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含VH和VL,该VH具有与SEQ ID NO:651、652、657、653、654、655、687或656有至少85%,优选地90%,更优选地95%或更高诸如95%、96%、97%、98%或99%同一性的多肽序列,该VL具有与SEQ ID NO:658、659、694、660、688、678或661有至少85%,优选地90%,更优选地95%或更高诸如95%、96%、97%、98%或99%同一性的多肽序列。在一些实施方案中,本发明的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含VH和VL,该VH具有与SEQ ID NO:651、652、657、653、654、655、687或656有至少85%,优选地90%,更优选地95%或更高诸如95%、96%、97%、98%或99%同一性的多肽序列,该VL具有与SEQ ID NO:658、659、694、660、688、678或661有至少85%,优选地90%,更优选地95%或更高诸如95%、96%、97%、98%或99%同一性的多肽序列,其中序列变化不发生在CDR区中。

[0389] PSMA特异性抗体

[0390] 结合PSMA的抗体及其片段结合黑猩猩靶抗原。在一个实施方案中,抗体及其片段以彼此5倍内的亲和力结合人和猕猴PSMA靶抗原。换句话讲,抗体结合的差异小于5的倍数。在这种情况下,相同抗体分子既可用于灵长类动物中PSMA的安全性、活性和/或药代动力学特征的临床前评估,也可用作人类的药物。换句话讲,相同的PSMA特异性分子可用于临床前动物研究以及用于人类临床研究。这导致与物种特异性替代分子相比动物研究的高度可比较的结果和大大增加的预测能力。由于PSMA结构域是跨物种特异性的,即与人和猕猴抗原反应,因此本发明的抗体或其片段既可用于灵长类动物中这些结合结构域的安全性、活性和/或药代动力学特征的临床前评估,也可用于与人类药物相同的形式。

[0391] 本发明还提供特异性结合PSMA的多特异性抗体。根据本发明,双特异性(即,双功

能)抗体可用于接合两种不同的治疗靶标或执行两种不同的功能。此类抗体可用于例如向特定靶细胞募集免疫效应细胞,例如T细胞或NK细胞。各种基于抗体片段的分子是已知的,并且正在研究中,例如用于癌症治疗。

[0392] 本发明还提供了PSMA×“效应抗原”双特异性抗体。在一个实施方案中,PSMA×“效应抗原”双特异性抗体的效应抗原是CD3。在本发明中已发现,可以产生PSMA×CD3双特异性抗体,其中相同分子可用于临床前动物测试以及临床研究,甚至用于人类治疗。这是由于鉴定了PSMA×CD3双特异性抗体,该抗体除了分别与人PSMA和人CD3结合外,还与黑猩猩和猕猴的抗原同源物结合。本发明的PSMA×CD3双特异性抗体可用作针对各种疾病(包括但不限于癌症)的治疗剂。鉴于上述情况,不再需要构建替代靶标PSMA×CD3双特异性抗体以在系统发育上远离(人类)的物种中进行测试。因此,相同的分子可用于动物临床前测试,如在临床测试中以及在市场批准和治疗药物给药后打算对人类给药一样。

[0393] 在本文所述的一些实施方案中,特异性结合PSMA的分离抗体或其抗体片段具有以下特性中的一种、两种、三种、四种或五种:

[0394] a.以小于25nM或更小的平衡解离常数(K_D)结合黑猩猩PSMA胞外结构域(ECD),其中K_D使用ProteOnXPR36系统在+25℃下测量,

[0395] b.以20nM或更小的计算EC50结合LNCaP淋巴细胞,并且以40nM或更小的计算EC50结合表达食蟹猕猴PSMA的HEK细胞,其中结合LNCaP细胞与结合表达食蟹猕猴PSMA的HEK细胞之间的计算EC50差值小于5倍,并且其中计算EC50是在0℃下使用流式细胞术在全细胞结合测定中测量的,

[0396] c.以12nM或更小的平衡解离常数(K_D)结合来自人的重组PSMAECD(SEQ ID NO:55)、来自黑猩猩的重组PSMA ECD(SEQ ID NO:52)或来自食蟹猕猴的重组PSMA ECD(SEQ ID NO:53),其中K_D使用Proteon表面等离振子共振测定ProteOn XPR36系统在+25℃下测量;

[0397] d.当在双特异性抗体中与抗CD3抗体配对时,显示T细胞介导的LNCaP细胞、C42细胞、表达人PSMA的HEK细胞或表达食蟹猕猴PSMA的HEK细胞的杀伤,其中T细胞介导的杀伤通过铬-51或半胱天冬酶3/7活化测定来测量,或者

[0398] e.识别构象表位,其中表位由人PSMA(SEQ ID NO:51)的残基I138、F235、P237、G238、D244、Y299、Y300、Q303、K304、E307和K324-P326构成

[0399] 示例性的此类抗体或其片段为本文所述的PSMA抗体PSMB119、PSMB120、PSMB121、PSMB122、PSMB123、PSMB87、PSMB126、PSMB127、PSMB128、PSMB129、PSMB130、PSMB120、PSMB121、PSMB122、PSMB123、PSMB127、PSMB128、PSMB130、PSMB344、PSMB345、PSMB346、PSMB347、PSMB349、PSMB358、PSMB359、PSMB360、PSMB361、PSMB362、PSMB363和PSMB365。

[0400] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:56、57、58、59、60和61的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0401] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:62、63、64、65、60和66的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0402] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:67、68、69、70、71和72的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0403] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:73、74、75、76、60和61的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0404] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:78、79、80、81、82和83的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0405] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:84、85、86、87、60和88的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0406] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:89、90、91、92、93和94的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0407] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:95、96、97、65、60和66的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0408] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:84、98、99、100、82和101的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0409] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:89、90、102、103、104和105的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0410] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:89、90、106、103、104和105的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0411] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:107、108、109、76、60和88的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0412] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:78、1、80、81、82和83的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0413] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:78、1、80、81、82和83的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0414] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:78、1、80、4、82和686的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0415] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:78、1、80、81、792和686的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0416] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:78、2、80、81、82和83的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0417] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:78、3、80、81、82和5的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0418] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:78、3、80、81、82和83的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0419] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:78、3、80、4、82和686的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0420] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:78、3、80、81、792和686的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0421] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:78、2、81、81、82和5的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0422] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:78、2、80、4、792和686的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0423] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分

别为SEQ ID NO:78、2、80、4、792和686的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0424] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含分别为SEQ ID NO:78、683、80、81、792和686的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0425] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含SEQ ID NO:6、7、8、110、112、114、116、118、120、121、123、125、126、128、130或681的重链可变区(VH)。在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含SEQ ID NO:9、111、113、115、117、119、122、124、127、129、131或682的轻链可变区(VL)。

[0426] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含SEQ ID NO:12、13、132、134、136、138、140、141、143、145、146、148、150、151或679的重链序列。

[0427] 在本文所述的本发明的一些实施方案中,本发明的特异性结合PSMA的抗体包含SEQ ID NO:14、15、75、133、135、137、139、142、144、147、149或680的轻链序列。

[0428] CD33特异性抗体

[0429] 本发明的CD33特异性抗体具有一种或多种期望的功能特性,包括但不限于与CD33和/或CD3的高亲和力结合,与CD33和/或CD3的高特异性以及当单独施用或与其他抗癌疗法联合施用时治疗癌症或预防癌症的能力。

[0430] 在某些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段结合CD33的C2结构域。在某些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段结合CD33的V结构域。全长人CD33由UniprotP20138(SEQ ID NO:244)提供。

[0431] 如本文所用,“与CD33特异性结合”的抗体是指以1×10^{-7}M或更小、优选地1×10^{-8}M或更小、更优选地5×10^{-9}M或更小、1×10^{-9}M或更小、5×10^{-10}M或更小或1×10^{-10}M或更小的KD与CD33结合、优选地与人CD33结合、优选地与CD33的C2结构域结合的抗体。

[0432] 本文所述的抗体或抗原结合片段能够以多种形式存在,但将包含表39和表40所示的抗体CDR中的一者或多者。

[0433] 本文描述了特异性地结合至CD33的重组抗体和抗原结合片段。在一些实施方案中,CD33特异性抗体或抗原结合片段为人IgG或其衍生物。虽然本文例示的CD33特异性抗体或抗原结合片段是人的,但是所例示的抗体或抗原结合片段也可为嵌合的。

[0434] 在一些实施方案中,提供了CD33特异性抗体或其抗原结合片段,它们包含含有表39所述抗体中的任一抗体的CDR1、CDR2和CDR3的重链。在一些实施方案中,提供了CD33特异性抗体或其抗原结合片段,它们包含含有表39所述抗体中的任一抗体的CDR1、CDR2和CDR3的重链以及含有表40所述抗体中的任一抗体的CDR1、CDR2和CDR3的轻链。

[0435] 在一些实施方案中,提供了CD33特异性抗体或其抗原结合片段,它们包含表38所示的重链可变区。在一些实施方案中,提供了CD33特异性抗体或其抗原结合片段,它们包含表38所示的轻链可变区。

[0436] 本部分中讨论并在表38中示出的抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域适于包含在双特异性构建体中。例如,在CD33双特异性抗体的一些实施方案中,效应臂为CD3臂。在CD33×CD3双特异性抗体的一些实施方案中,CD3臂包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。在CD33×CD3双特异性抗体的一些实施方案中,CD3臂包含分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL。在CD33×CD3双特异性

抗体的一些实施方案中,CD3臂包含分别为SEQ ID NO:640和676的HC和LC。

[0437] 在CD33×CD3双特异性抗体的一些实施方案中,CD3臂包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、773、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。在CD33×CD3双特异性抗体的一些实施方案中,CD3臂包含分别为SEQ ID NO:657和678的VH和VL。在CD33×CD3双特异性抗体的一些实施方案中,CD3臂包含分别为SEQ ID NO:675和677的HC和LC。

[0438] 在某些实施方案中,抗CD33抗体或其抗原结合片段包含具有与SEQ ID NO:267、260、275、270、262、258、257、281、292、291、261、269、280、259、263、264、265、266、272、277、279、284或285有至少95%同一性的多肽序列的重链可变区或者与SEQ ID NO:287、314、309、301、298、297、290、332、331、302、310、320、300、304、305、306、307、317、319、324或325有至少95%同一性的多肽序列的轻链可变区。并且抗CD3抗体或其抗原结合片段包含具有与SEQ ID NO:257或258有至少95%同一性的多肽序列的重链可变区或者具有与SEQ ID NO:298或299有至少95%同一性的多肽序列的轻链可变区。

[0439] IL1RAP特异性抗体

[0440] 如本文所用,术语“白介素-1受体辅助蛋白”、“IL1RAP”和“IL1-RAP”特别包括人IL1RAP蛋白(SEQ ID NO:576),例如,如GenBank登录号AAB84059、NCBI参考序列:NP_002173.1和UniProtKB/Swiss-Prot登录号Q9NPH3-1中所描述的那些(还可参见Huang等人,1997年,Proc.Natl.Acad.Sci.USA.第94卷第24期,第12829-12832页)。IL1RAP在科学文献中也被称为IL1R3、C3orf13、FLJ37788、IL-1RAcP和EG3556。

[0441] 本文所述的抗体或抗原结合片段能够以多种形式存在,但将包含表29所示的抗体CDR中的一者或多者。

[0442] 本文描述了特异性地结合至IL1RAP的重组抗体和抗原结合片段。在一些实施方案中,IL1RAP特异性抗体或抗原结合片段为人IgG或其衍生物。虽然本文例示的IL1RAP特异性抗体或抗原结合片段是人的,但是所例示的抗体或抗原结合片段也可为嵌合的。

[0443] 在一些实施方案中,提供了IL1RAP特异性抗体或其抗原结合片段,它们包含含有表29所述抗体中的任一抗体的CDR1、CDR2和CDR3的重链。在一些实施方案中,提供了IL1RAP特异性抗体或其抗原结合片段,它们包含含有表29所述抗体中的任一抗体的CDR1、CDR2和CDR3的重链以及含有表29所述抗体中的任一抗体的CDR1、CDR2和CDR3的轻链。

[0444] 在一些实施方案中,提供了IL1RAP特异性抗体或其抗原结合片段,它们包含含有表30所示抗体中的任一抗体的重链可变区。在一些实施方案中,提供了IL1RAP特异性抗体或其抗原结合片段,它们包含含有表30所示抗体中的任一抗体的轻链可变区。在一些实施方案中,提供了IL1RAP特异性抗体或其抗原结合片段,它们包含含有表30所示抗体中的任一抗体的重链可变区和轻链可变区。

[0445] 本段中所讨论和表30所示的抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域适于包含在双特异性构建体中,其中靶标臂为抗IL1RAP臂。例如,在IL1RAP双特异性抗体的一些实施方案中,效应臂为CD3臂。在IL1RAP×CD3双特异性抗体的一些实施方案中,CD3臂包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。在IL1RAP×CD3双特异性抗体的一些实施方案中,CD3臂包含分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL。在IL1RAP×CD3双特异性抗体的一些实施方案中,CD3臂包含分别为SEQ ID NO:640和676的HC和LC。

[0446] 在IL1RAP×CD3双特异性抗体的一些实施方案中,CD3臂包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、773、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。在IL1RAP×CD3双特异性抗体的一些实施方案中,CD3臂包含分别为SEQ ID NO:657和678的VH和VL。在IL1RAP×CD3双特异性抗体的一些实施方案中,CD3臂包含分别为SEQ ID NO:675和677的HC和LC。

[0447] TMEFF2特异性抗体

[0448] 本发明提供了一种分离的抗-TMEFF2抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段结合至TMEFF2的SEQ ID NO:629的膜近侧区。结合TMEFF2的膜近侧区的本发明的抗TMEFF2抗体不被细胞内化。虽然不希望受任何特定理论的束缚,但可以预期,与内化抗-TMEFF2抗体相比,非内化抗-TMEFF2抗体具有由于缺乏内化和TMEFF2的降解引起的由抗体效应子功能介导的改善的致癌效应。

[0449] “结合至膜近侧区”意指90%的使用氢/氘交换(H/D交换)鉴别的抗体表位残基位于TMEFF2的膜近侧区内。表位残基是通过H/D交换具有至少5%氘代水平差异的由测试抗体保护的那些。示例性的此类抗体为如本文所述的TMEB675、TMEB570、TMEB674、TMEB565、TMEB762和TMEB757。

[0450] 在一些实施方案中,分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段在残基HGKCEHSINMQEPSC(SEQ ID NO:592)或DAGYTGQHCEKKDYSVL(SEQ ID NO:600)内结合至TMEFF2的膜近侧区。在残基HGKCEHSINMQEPSC(SEQ ID NO:592)内结合的示例性抗-TMEFF2抗体是TMEB570。在残基DAGYTGQHCEKKDYSVL(SEQ ID NO:600)内结合的示例性抗TMEFF2抗体是TMEB675。TNEB675变体TMEB762和TMEB757也预期在残基DAGYTGQHCEKKDYSVL(SEQ ID NO:600)内结合TMEFF2的膜近侧区。

[0451] 在H/D交换测定法中,将通过重组表达的TMEFF2ECD在存在或不存在抗体情况下于氘化水中温育预定时间,从而导致氘在不受抗体保护的可交换氢原子处引入,之后使蛋白酶消化蛋白质并使用LC-MS分析肽片段。H/D交换测定法可使用已知的方案执行。示例性方案描述于实施例5中。

[0452] 本发明还提供了一种分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或其抗原结合片段与参考抗体竞争结合至TMEFF2的膜近侧区,该参考抗体包含SEQ ID NO:25的重链可变区(VH)和SEQ ID NO:28的轻链可变区(VL)、SEQ ID NO:589的VH和SEQ ID NO:29的VL、SEQ ID NO:27的VH和SEQ ID NO:30的VL、SEQ ID NO:589的VH和SEQ ID NO:31的VL、SEQ ID NO:604的VH和SEQ ID NO:607的VL、或SEQ ID NO:612的VH和SEQ ID NO:613的VL。

[0453] 测试抗体与参考抗体竞争结合至TMEFF2的膜近侧区可使用熟知的方法在体外进行测定。例如,可通过ELISA评估在存在未标记的参考抗体情况下MSD Sulfo-Tag™ NHS-酯标记的测试抗体与TMEFF2膜近侧区的结合,或者可使用Bioacore分析或流式细胞术来展示竞争。当测试抗体抑制参考抗体与TMEFF2的膜近侧区的结合达到85%或更大,例如90%或更大、或95%或更大的程度时,测试抗体与参考抗体竞争结合至TMEFF2。

[0454] 本发明还提供了一种分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含下列的重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3:

[0455] 分别为SEQ ID NO:582、584、587、18、588和22;

[0456] 分别为SEQ ID NO:583、585、16、19、21和23;

[0457] 分别为SEQ ID NO:582、586、17、18、588和24;

[0458] 分别为SEQ ID NO:583、585、16、18、588和22;或者

[0459] 分别为SEQ ID NO:582、584、587、18、588和603。

[0460] 在一些实施方案中,本发明的分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段以约0.4×10^{-9}M或更小的平衡解离常数(K_D)结合至TMEFF2的膜近侧区,其中K_D使用表面等离振子共振在pH4.5-5.0的乙酸盐缓冲液中于室温下进行测量。

[0461] 在一些实施方案中,分离的抗-TMEFF2抗体或其抗原结合片段以介于约0.1×10^{-10}M和约0.4×10^{-9}M之间的K_D结合至TMEFF2的膜近侧区。

[0462] 抗体对TMEFF2的膜近侧区的亲和力可使用任何合适的方法通过实验确定。一种示例性方法采用本领域技术人员已知的ProteOnXPR36、Biacore3000或KinExA仪器、ELISA或竞争结合测定法。如果在不同的条件(例如,同渗容摩、pH)下测量,则测量的抗体对TMEFF2的亲和力可变化。因此,亲和力和其他结合参数(例如,K_D、K_{on}和K_{off})的测量通常用标准化条件和标准化缓冲液(诸如本文所述的缓冲液)进行。本领域技术人员将理解,使用例如Biacore3000或ProteOn进行亲和力测量的内部误差(测量为标准偏差,SD)通常可在典型检出限内的测量值的5%-33%内。因此,当提及K_D值时,术语"约"反映测定中的典型标准偏差。例如,1×10^{-9}M的K_D的典型SD为至多±0.33×10^{-9}M。

[0463] 本发明还提供了一种分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段结合至TMEFF2的膜近侧区,并包含来源于VH3_3-23(SEQ ID NO:53)或VH1_1-69(SEQ ID NO:54)的重链可变区(VH)框架。

[0464] 本发明还提供了一种分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段结合至TMEFF2的膜近侧区,并包含来源于VKI_L11(SEQ ID NO:55)或VKIIII_A27(SEQ ID NO:591)的轻链可变区(VL)框架。

[0465] 本发明还提供了一种分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段结合至TMEFF2的膜近侧区,并包含分别来源于SEQ ID NO:53的VH3_3-23和SEQ ID NO:55的VKI_L11的VH框架和VL框架。

[0466] 本发明还提供了一种分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段结合至TMEFF2的膜近侧区,并包含分别来源于SEQ ID NO:54的VH1_1-69和SEQ ID NO:591的VKIII_A27的VH框架和VL框架。

[0467] 本发明还提供了一种分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段结合至TMEFF2的膜近侧区,并包含分别来源于SEQ ID NO:54的VH1_1-69和SEQ ID NO:55的VKI_L11的VH框架和VL框架。

[0468] 包含"来源于"特定框架或种系序列的重链或轻链可变区的抗体是指从使用人种系免疫球蛋白基因的系统获得的抗体,诸如从转基因小鼠、大鼠或鸡或如本文讨论的噬菌体展示文库获得的抗体。由于例如天然存在的体细胞突变或有意取代,含有来源于种系序列的特定框架的抗体与其来源于的序列相比可含有氨基酸差异。

[0469] 本发明还提供了一种分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:582、584、587、18、588和22的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0470] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:25的VH和SEQ ID NO:28的VL。

[0471] 在一些实施方案中,VH由SEQ ID NO:39的多核苷酸编码,并且VL由SEQ ID NO:42的多核苷酸编码。

[0472] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:32的HC和SEQ ID NO:35的LC。

[0473] 在一些实施方案中,HC由SEQ ID NO:46的多核苷酸编码,并且VL由SEQ ID NO:49的多核苷酸编码。

[0474] 本发明还提供了一种分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:583、585、16、19、21和23的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0475] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:589的VH和SEQ ID NO:29的VL。

[0476] 在一些实施方案中,VH由SEQ ID NO:40的多核苷酸编码,并且VL由SEQ ID NO:43的多核苷酸编码。

[0477] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:33的HC和SEQ ID NO:36的LC。

[0478] 在一些实施方案中,HC由SEQ ID NO:47的多核苷酸编码,并且VL由SEQ ID NO:50的多核苷酸编码。

[0479] 本发明还提供了一种分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:582、586、17、18、588和24的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0480] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:27的VH和SEQ ID NO:30的VL。

[0481] 在一些实施方案中,VH由SEQ ID NO:41的多核苷酸编码,并且VL由SEQ ID NO:44的多核苷酸编码。

[0482] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:34的HC和SEQ ID NO:37的LC。

[0483] 在一些实施方案中,HC由SEQ ID NO:48的多核苷酸编码,并且LC由SEQ ID NO:51的多核苷酸编码。

[0484] 本发明还提供了一种分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:583、585、16、18、588和22的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0485] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:589的VH和SEQ ID NO:31的VL。

[0486] 在一些实施方案中,VH由SEQ ID NO:40的多核苷酸编码,并且VL由SEQ ID NO:45的多核苷酸编码。

[0487] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:33的HC和SEQ ID NO:38的LC。

[0488] 在一些实施方案中,HC由SEQ ID NO:47的多核苷酸编码,并且LC由SEQ ID NO:590的多核苷酸编码。

[0489] 本发明还提供了一种分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:582、584、587、18、588和603的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0490] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:604的VH和SEQ ID NO:607的VL。

[0491] 在一些实施方案中,VH由SEQ ID NO:618的多核苷酸编码,并且VL由SEQ ID NO:619的多核苷酸编码。

[0492] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:614的HC和SEQ ID NO:615的LC。

[0493] 在一些实施方案中,HC由SEQ ID NO:620的多核苷酸编码,并且LC由SEQ ID NO:621的多核苷酸编码。

[0494] 本发明还提供了一种分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含分别为SEQ ID NO:582、584、587、18、588和603的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0495] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:612的VH和SEQ ID NO:613的VL。

[0496] 在一些实施方案中,VH由SEQ ID NO:622的多核苷酸编码,并且VL由SEQ ID NO:623的多核苷酸编码。

[0497] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:616的HC和SEQ ID NO:617的LC。

[0498] 在一些实施方案中,HC由SEQ ID NO:624的多核苷酸编码,并且LC由SEQ ID NO:625的多核苷酸编码。

[0499] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段是多特异性抗体。

[0500] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2抗体或其抗原结合片段是双特异性抗体。

[0501] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2双特异性抗体或其抗原结合片段结合T细胞抗原。

[0502] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2双特异性抗体或其抗原结合片段结合CD3。

[0503] 在一些实施方案中,该分离的抗TMEFF2双特异性抗体或其抗原结合片段结合CD3ε。

[0504] 本发明的示例性抗TMEFF2抗体的VH、VL、HCDR、LCDR、HC和LC序列示于表60至表67中。

[0505] 尽管实施例中所示的实施方案包括成对的可变结构域,一个来自重链并且一个来自轻链,但本领域技术人员将认识到另选实施方案可包括单一重链可变结构域或单一轻链可变结构域。单个可变结构域可用于筛选能够形成能够与TMEFF2结合的二结构域特异性抗原结合片段的可变结构域。可以通过噬菌体展示筛选方法,使用例如国际专利公布WO1992/01047中所公开的分级双组合方法来完成筛选。在该方法中,使用含有VH或VL链克隆的单个菌落来感染编码另一条链(VL或VH)的克隆的完整文库,并且使用已知方法和本文所述的那

些方法根据噬菌体展示技术选择所得的双链特异性抗原结合结构域。因此,使用国际专利公布WO1992/01047中公开的方法,单独的VH和VL多肽链可用于鉴别另外的抗TMEFF2抗体。

[0506] 双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体

[0507] 本发明还提供了一种分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含结合TMEFF2的第一结构域和结合CD3的第二结构域,其中抗体结合至TMEFF2的膜近侧区。虽然不希望受任何具体理论的束缚,但结合至TMEFF2的膜近侧区的双特异性抗体可更有效地介导T细胞介导的肿瘤细胞杀伤。

[0508] 本发明还提供了一种分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含结合TMEFF2的第一结构域和结合CD3的第二结构域,其中该抗体与参考抗体竞争结合至TMEFF2的膜近侧区,该参考抗体包含SEQ ID NO:25的重链可变区(VH)和SEQ ID NO:28的轻链可变区(VL)、SEQ ID NO:589的VH和SEQ ID NO:29的VL、SEQ ID NO:27的VH和SEQ ID NO:30的VL、SEQ ID NO:589的VH和SEQ ID NO:31的VL、SEQ ID NO:604的VH和SEQ ID NO:607的VL、或SEQ ID NO:612的VH和SEQ ID NO:613的VL。

[0509] 在一些实施方案中,该分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段以约0.4×10^{-9}M或更小的解离常数(K_D)结合TMEFF2的膜近侧区,其中K_D使用表面等离振子共振在pH4.5-5.0的乙酸盐缓冲液中于室温下进行测量。

[0510] 在一些实施方案中,该分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段以介于约0.1×10^{-10}M和约0.4×10^{-9}M之间的K_D结合TMEFF2的膜近侧区。

[0511] 本发明还提供了一种分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段,其中第一结构域包含下列的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3:

[0512] 分别为SEQ ID NO:582、584、587、18、588和22;

[0513] 分别为SEQ ID NO:583、585、16、19、21和23;

[0514] 分别为SEQ ID NO:582、586、17、18、588和24;o

[0515] 分别为SEQ ID NO:583、585、16、18、588和22;或者

[0516] 分别为SEQ ID NO:582、584、587、18、588和603。

[0517] 本发明还提供了一种分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段,其中第二结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0518] 本发明还提供了一种分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段,其中第一结构域包含

[0519] SEQ ID NO:25的VH和SEQ ID NO:28的VL;

[0520] SEQ ID NO:589的VH和SEQ ID NO:29的VL;

[0521] SEQ ID NO:27的VH和SEQ ID NO:30的VL;

[0522] SEQ ID NO:589的VH和SEQ ID NO:31的VL;

[0523] SEQ ID NO:604的VH和SEQ ID NO:607的VL;或者

[0524] SEQ ID NO:612的VH和SEQ ID NO:613的VL。

[0525] 本发明还提供了一种分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段,其中第二结构域包含

[0526] SEQ ID NO:652的VH和SEQ ID NO:661的VL。

[0527] 在一些实施方案中,第二结构域包含SEQ ID NO:657的VH和SEQ ID NO:658的VL。

[0528] 本发明还提供了一种分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含结合TMEFF2的第一结构域和结合CD3的第二结构域,其中

[0529] 第一结构域包含分别为SEQ ID NO:582、584、587、18、588和22的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,并且第二结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0530] 第一结构域包含SEQ ID NO:25的VH和SEQ ID NO:28的VL,并且第二结构域包含SEQ ID NO:652的VH和SEQ ID NO:661的VL;

[0531] 第一结构域包含SEQ ID NO:25的VH和SEQ ID NO:28的VL,并且第二结构域包含SEQ ID NO:657的VH和SEQ ID NO:678的VL;

[0532] 双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:32的HC1、SEQ ID NO:35的LC1、SEQ ID NO:640的HC2和SEQ ID NO:676的LC2;以及/或者

[0533] 双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:32的HC1、SEQ ID NO:35的LC1、SEQ ID NO:675的HC2和SEQ ID NO:677的LC2。

[0534] 本发明还提供了一种分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含结合TMEFF2的第一结构域和结合CD3的第二结构域,其中

[0535] 第一结构域包含分别为SEQ ID NO:583、585、16、19、21和23的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,并且第二结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0536] 第一结构域包含SEQ ID NO:589的VH和SEQ ID NO:29的VL,并且第二结构域包含SEQ ID NO:652的VH和SEQ ID NO:661的VL;

[0537] 第一结构域包含SEQ ID NO:589的VH和SEQ ID NO:29的VL,并且第二结构域包含SEQ ID NO:657的VH和SEQ ID NO:678的VL;并且/或者

[0538] 双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:33的HC1、SEQ ID NO:36的LC1、SEQ ID NO:640的HC2和SEQ ID NO:676的LC2;

[0539] 双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:33的HC1、SEQ ID NO:36的LC1、SEQ ID NO:675的HC2和SEQ ID NO:677的LC2;

[0540] 本发明还提供了一种分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含结合TMEFF2的第一结构域和结合CD3的第二结构域,其中

[0541] 第一结构域包含分别为SEQ ID NO:582、586、17、18、588和24的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,并且第二结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0542] 第一结构域包含SEQ ID NO:27的VH和SEQ ID NO:30的VL,并且第二结构域包含SEQ ID NO:652的VH和SEQ ID NO:661的VL;

[0543] 第一结构域包含SEQ ID NO:27的VH和SEQ ID NO:30的VL,并且第二结构域包含SEQ ID NO:657的VH和SEQ ID NO:678的VL;并且/或者

[0544] 双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:34的HC1、SEQ ID NO:37的LC1、SEQ ID NO:640的HC2和SEQ ID NO:676的LC2;

[0545] 双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:34的HC1、SEQ

ID NO:37的LC1、SEQ ID NO:675的HC2和SEQ ID NO:677的LC2;

[0546] 本发明还提供了一种分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含结合TMEFF2的第一结构域和结合CD3的第二结构域,其中

[0547] 第一结构域包含分别为SEQ ID NO:583、585、16、18、588和22的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,并且第二结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0548] 第一结构域包含SEQ ID NO:589的VH和SEQ ID NO:31的VL,并且第二结构域包含SEQ ID NO:652的VH和SEQ ID NO:661的VL;

[0549] 第一结构域包含SEQ ID NO:589的VH和SEQ ID NO:31的VL,并且第二结构域包含SEQ ID NO:657的VH和SEQ ID NO:678的VL;以及/或者

[0550] 双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:33的HC1、SEQ ID NO:38的LC1、SEQ ID NO:640的HC2和SEQ ID NO:676的LC2;

[0551] 双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:33的HC1、SEQ ID NO:38的LC1、SEQ ID NO:675的HC2和SEQ ID NO:677的LC2。

[0552] 本发明还提供了一种分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含结合TMEFF2的第一结构域和结合CD3的第二结构域,其中

[0553] 第一结构域包含分别为SEQ ID NO:582、584、587、18、588和603的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,并且第二结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0554] 第一结构域包含SEQ ID NO:604的VH和SEQ ID NO:607的VL,并且第二结构域包含SEQ ID NO:652的VH和SEQ ID NO:661的VL;

[0555] 第一结构域包含SEQ ID NO:604的VH和SEQ ID NO:607的VL,并且第二结构域包含SEQ ID NO:657的VH和SEQ ID NO:678的VL;以及/或者

[0556] 双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:614的HC1、SEQ ID NO:615的LC1、SEQ ID NO:640的HC2和SEQ ID NO:676的LC2;

[0557] 双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:614的HC1、SEQ ID NO:615的LC1、SEQ ID NO:675的HC2和SEQ ID NO:677的LC2;

[0558] 本发明还提供了一种分离的双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含结合TMEFF2的第一结构域和结合CD3的第二结构域,其中

[0559] 第一结构域包含分别为SEQ ID NO:582、584、587、18、588和603的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,并且第二结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0560] 第一结构域包含SEQ ID NO:612的VH和SEQ ID NO:613的VL,并且第二结构域包含SEQ ID NO:652的VH和SEQ ID NO:661的VL;

[0561] 第一结构域包含SEQ ID NO:612的VH和SEQ ID NO:613的VL,并且第二结构域包含SEQ ID NO:657的VH和SEQ ID NO:678的VL;以及/或者

[0562] 双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:616的HC1、SEQ ID NO:617的LC1、SEQ ID NO:640的HC2和SEQ ID NO:676的LC2;

[0563] 双特异性抗TMEFF2/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:616的HC1、SEQ

ID NO:617的LC1、SEQ ID NO:675的HC2和SEQ ID NO:677的LC2。

[0564] 实施方案:

[0565] 本发明提供了以下非限制性实施方案。

[0566] 1.一种分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段,包含:

[0567] a)重链以及轻链,所述重链包含:包含SEQ ID NO:662的重链互补决定区(HCDR)1、包含SEQ ID NO:663的HCDR2和包含SEQ ID NO:664的HCDR3,所述轻链包含:包含SEQ ID NO:671的轻链互补决定区(LCDR)1、包含SEQ ID NO:673的LCDR2和包含SEQ ID NO:690的LCDR3;

[0568] b)包含SEQ ID NO:652的重链可变区和包含SEQ ID NO:661的轻链可变区;

[0569] c)包含SEQ ID NO:640的重链和包含SEQ ID NO:676的轻链;

[0570] d)重链以及轻链,所述重链包含:包含SEQ ID NO:662的HCDR1、包含SEQ ID NO:663的HCDR2和包含SEQ ID NO:664的HCDR3,所述轻链包含:包含SEQ ID NO:773的LCDR1、包含SEQ ID NO:673的LCDR2和包含SEQ ID NO:690的LCDR3;

[0571] e)包含SEQ ID NO:657的重链可变区和包含SEQ ID NO:678的轻链可变区;或者

[0572] f)包含SEQ ID NO:675的重链和包含SEQ ID NO:678的轻链。

[0573] 2.一种分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段以约300nM或更小的结合亲和力特异性结合食蟹猕猴或人CD3d、或CD3e、或CD3e和CD3d。

[0574] 3.根据实施方案2所述的分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段,其中所述结合亲和力为约100nM或更小。

[0575] 4.根据实施方案2或3所述的分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段,其中所述结合亲和力通过流式细胞术或通过Proteon表面等离振子共振测定ProteOnXPR36系统在+25℃下测量。

[0576] 5.根据前述实施方案中任一项所述的分离的重组抗CD3抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段具有下列特性中的一种、两种、三种或四种:

[0577] a)以300nM或更小的计算EC50结合人和食蟹猕猴CD3+T淋巴细胞,并且以300nM或更小的计算EC50结合表达食蟹猕猴CD3的HEK细胞,其中结合CD3+T淋巴细胞与结合表达食蟹猕猴CD3的HEK细胞之间的计算EC50差值小于5倍,并且其中所述计算EC50是在0℃下使用流式细胞术在全细胞结合测定中测量的;

[0578] b)以300nM或更小的平衡解离常数(K_D)结合来自人的重组CD3d(SEQ ID NO:691),或结合来自人的重组CD3e(SEQ ID NO:636),或结合来自食蟹猕猴的重组CD3d(SEQ ID NO:692),或结合来自食蟹猕猴的重组CD3e(SEQ ID NO:693),其中所述K_D使用Proteon表面等离振子共振测定ProteOn XPR36系统在+25℃下测量;

[0579] c)结合CD3e的残基1-6,如通过X射线晶体学所确定的;或者

[0580] d)激活T细胞或诱导CD69表达达到与cOKT3或SP34-2相似的程度,如通过荧光激活细胞分选测定所确定的。

[0581] 6.根据前述实施方案中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,包含抗体恒定结构域中的至少一个置换,所述至少一个置换包括:

[0582] a)重链置换K409R、F405L或F405L和R409K;

[0583] b)重链置换S228P、F234A和L235A;

[0584] c)重链置换L234A、G237A、P238S、H268A、A330S和P331S,其中所述抗体是IgG1同种型;或者

[0585] d)重链置换S228P,其中所述抗体是IgG4同种型;

[0586] 其中残基根据EU索引进行编号。

[0587] 7.根据前述实施方案中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0588] 8.根据前述实施方案中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:652和661的重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)。

[0589] 9.根据前述实施方案中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:640和676的重链序列(HC)和轻链序列(LC)。

[0590] 10.根据实施方案1至5中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、773、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0591] 11.根据实施方案1至5中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:657和678的VH和VL。

[0592] 12.根据实施方案1至5中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:675和677的HC和LC。

[0593] 13.一种抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0594] 14.一种抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL。

[0595] 15.一种抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:640和676的HC和LC。

[0596] 16.一种抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、773、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0597] 17.一种抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:657和678的VH和VL。

[0598] 18.一种抗体或其抗原结合片段,包含分别为SEQ ID NO:675和677的HC和LC。

[0599] 19.根据前述实施方案中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是人的或人源化的。

[0600] 20.根据实施方案19所述的抗体,其中所述抗体是IgG4或IgG1同种型。

[0601] 21.根据实施方案20所述的抗体,包含抗体Fc中的一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个或十个置换。

[0602] 22.根据实施方案18所述的抗体,包含:

[0603] a)D43G、L49M、L50I、S62N、Q85E轻链置换;

[0604] b)D43G、V48L、L49M、L50I、S62N、Q85E、H89Y轻链置换;

[0605] c)R10G、R13K、V73I、R70K、T83S、L96V重链置换;

[0606] d)轻链置换D43G、V48L、L49M、L50I、S62N、Q85E或H89Y中的任一个;或者

[0607] e)重链置换R10G、R13K、V73I、R79K、T83S或L96V中的任一个,

[0608] 其中轻链置换的残基根据SEQ ID No:661进行编号,并且重链置换的残基根据SEQ ID No:652进行编号。

[0609] 23.根据前述实施方案中任一项所述的抗体,其中所述抗体是双特异性或多特异性的。

[0610] 24.一种双特异性抗体,包含特异性结合CD3的第一结构域和特异性结合第二抗原的第二结构域,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0611] 25.根据实施方案24所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域和所述第二结构域是IgG4同种型,并且其中所述第一结构域或所述第二结构域包含S228P、F234A、L235A、F405L和R409K重链置换,并且所述第一结构域或所述第二结构域中的另一结构域包含S228P、F234A和L235A重链置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0612] 26.根据实施方案24所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域和/或所述第二结构域包含CH3恒定结构域中的至少一个置换,所述CH3恒定结构域包含F405L或F405L和R409K置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0613] 27.根据实施方案24所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域或所述第二结构域中的一者包含F405L重链置换,并且所述第一结构域或所述第二结构域中的另一者包含K409R重链置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0614] 28.根据实施方案24所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域和所述第二结构域是IgG4同种型,其中所述第一结构域或所述第二结构域中的一者包含S228P重链置换,并且所述第一结构域或所述第二结构域中的另一者包含S228P、F405L和R409K重链置换,其中残基根据EU索引进行编号。

[0615] 29.根据权利要求24所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL。

[0616] 30.根据权利要求24所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:640和676的HC和LC。

[0617] 31.根据权利要求24所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:657和678的VH和VL。

[0618] 32.根据权利要求24所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:675和677的HC和LC。

[0619] 33.根据权利要求24所述的双特异性抗体,其中所述第二抗原是在除免疫效应细胞之外的靶细胞上表达的细胞表面抗原。

[0620] 34.根据权利要求33所述的双特异性抗体,其中所述细胞表面抗原为肿瘤相关抗原。

[0621] 35.根据权利要求24至34中任一项所述的双特异性抗体,其中所述第二抗原为CD33、IL1RAP、PSMA或TMEFF2。

[0622] 36.根据实施方案35所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:78、683、80、81、792和686的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0623] 37.根据实施方案33所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:681和682的VH和VL。

[0624] 38.根据实施方案33所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ

ID NO:640和676的HC和LC;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:679和680的HC和LC。

[0625] 39.根据实施方案33所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:78、3、80、81、792和686的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0626] 40.根据实施方案33所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:8和682的VH和VL。。

[0627] 41.根据实施方案33所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:640和676的HC和LC;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:13和680的HC和LC。

[0628] 42.根据实施方案33所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和690的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:78、79、80、81、82和83的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0629] 43.根据实施方案33所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:116和117的VH和VL。

[0630] 44.根据实施方案33所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:640和676的HC和LC;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:138和139的HC和LC。

[0631] 45.根据实施方案31所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:164、165、166、167、168和169的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0632] 46.根据实施方案31所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:215和216的VH和VL。

[0633] 47.根据实施方案31所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:349、390、341、471、513和555的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0634] 48.根据实施方案31所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:267和306的VH和VL。

[0635] 49.根据实施方案31所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:662、663、664、671、673和670的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:363、404、445、485、527和569的HCDR1、HCDR2、

HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0636] 50.根据实施方案31所述的双特异性抗体,其中所述第一结构域包含分别为SEQ ID NO:652和661的VH和VL;并且其中所述第二结构域包含分别为SEQ ID NO:281和320的VH和VL。

[0637] 51.一种药物组合物,包含根据前述实施方案中任一项所述的抗体和药学上可接受的载体。

[0638] 52.一种多核苷酸,编码根据实施方案1至50中任一项所述的抗体。

[0639] 53.一种载体,包含根据实施方案52所述的多核苷酸。

[0640] 54.一种宿主细胞,包含根据实施方案53所述的载体。

[0641] 55.一种制备根据实施方案1至50中任一项所述的抗体的方法,包括:在使所述抗体表达的条件下培养根据实施方案52所述的宿主细胞,以及回收由所述宿主细胞产生的抗体。

[0642] 56.一种治疗受试者的癌症的方法,包括以足以治疗所述癌症的时间向有需要的所述受试者施用治疗有效量的根据实施方案1至50中任一项所述的分离的抗体。

[0643] 57.根据实施方案56所述的方法,其中所述癌症是实体瘤或血液恶性肿瘤。

[0644] 58.根据实施方案57所述的方法,其中所述实体瘤是前列腺癌、结直肠癌、胃癌、肾透明细胞癌、膀胱癌、肺癌、鳞状细胞癌、胶质瘤、乳腺癌、肾脏癌、新生血管疾病、肾透明细胞癌(CCRCC)、胰腺癌、肾癌、尿道上皮癌或肝脏转移性腺癌。

[0645] 59.根据实施方案58所述的方法,其中所述前列腺癌是难治性前列腺癌、前列腺上皮内瘤、雄激素非依赖性前列腺癌或恶性前列腺癌。

[0646] 60.根据实施方案57所述的方法,其中所述血液恶性肿瘤是急性髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、慢性髓性白血病(CML)或母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤(DPDCN)。

[0647] 61.根据实施方案56至60中任一项所述的方法,其中所述抗体与第二治疗剂联合施用。

[0648] 62.根据实施方案1至50中任一项所述的抗体,所述抗体用于在治疗中使用。

[0649] 63.一种抗独特型抗体,所述抗独特型抗体与根据实施方案1至50中任一项所述的抗体结合。

[0650] 实施例

[0651] 1抗CD3 mAb的从头产生和功能表征

[0652] 1-1用CD3抗原免疫OmniRats®以产生CD3单克隆抗体

[0653] 用编码以下各项的专有载体(Aldevron,Fargo,North Dakota,USA)免疫OmniRats®:人CD3e和人CD3d;食蟹猴CD3e和食蟹猴CD3d。动物接受人和食蟹猴DNA的交替加强免疫。从第6次施用开始,动物接受具有相同插入序列的优化载体。将来自淋巴结的细胞与Ag8骨髓瘤细胞系融合。IgM耗尽后,将来自融合BLW的4000万个细胞置于三个96孔板上。在IgM未耗尽的情况下,将来自融合BLX的1.33亿个细胞置于九个96孔板上。

[0654] 通过对用克隆到筛选载体中的人和食蟹猴cDNA瞬时转染的细胞进行基于细胞的ELISA(CELISA),分析来自融合BLW(淋巴细胞的磁珠耗尽)和BLX(淋巴细胞的磁珠未耗尽)的杂交瘤上清液,所述筛选载体如下:pOPT-CD3e-hum-epsilon-TCE.OMT+pOPT-CD3d-hum-

delta.OMT、1:1(pOPT-CD3e/d-hum-mix)andpcDNA3.1-CD3e-cyn-delta+pcDNA3.1-CD3d-cyn-delta、1:1(pcDNA3.1-CD3e/d-cyn-mix)。人和食蟹猴cDNA序列(以及对应的氨基酸序列)在表4中提供。对于CELISA阴性对照,将未转染的哺乳动物细胞与杂交瘤上清液一起温育并用Bethyl二抗检测。对于CELISA转染对照,用抗标记抗体检测用上述构建体转染的哺乳动物细胞。

[0655] 通过对CD3阳性和CD3阴性Jurkat细胞:JurkatCD3+(E6-1)和JurkatCD3-(J.RT3-T3.5)进行流式细胞术(FACS),进一步分析杂交瘤上清液。对于FACS阴性对照,将CD3阴性Jurkat细胞(J.RT3-T3.5)与稀释缓冲液一起温育,并用Southern抗大鼠IgHRP和Bethyl抗大鼠IgG1、2a、2b、2c-HRP二抗检测。

[0656] 来自融合BLW和融合BLX的杂交瘤的杂交瘤上清液中的抗体,对瞬时转染细胞上呈现的人和食蟹猴CD3e/d复合物(或者,对JurkatCD3+(E6-1)细胞上呈现的人CD3e/d复合物)的特异性,通过对瞬时转染的细胞进行CELISA以及在对Jurkat细胞系进行的FACS中测试来证实(表3)。在用作阴性对照的实验样本中,未检测到任何样本的显著信号。

[0657] 表3:通过基于细胞的ELISA(上图)和通过流式细胞术(下图)测试各个杂交瘤上清液的特异性。CELISA值表示每个样本的相对荧光单位(rfu)。FACS值表示每个样本的相对荧光强度的几何平均值(几何均值)。

[0658]

		基于细胞的 ELISA（相对荧光单位）					
		在用以下物质转染的细胞上温育的杂交瘤上清液:					
		pOPT-CD3e/d-hum-mix		pcDNA3.1-CD3e/d-cyn-mix		未转染的 CHO 阴性对照	
		BLW: 与来自免疫组 MR14—379 大鼠 1 和 2 的淋巴细胞融合（已施加的 IgM+的磁珠耗尽）					
否	克隆	Rfu	阳性%	Rfu	阳性%	Rfu	阳性%
1	BLW-2B4	689	101	230	47	30	
2	BLW-2E6	231	34	121	25	20	
3	BLW-3B4	867	127	320	66	24	
		BLX: 与来自免疫组 MR14—379 大鼠 1 和 2 的淋巴细胞融合（IgM+的磁珠未耗尽）					
否	克隆	Rfu	阳性%	Rfu	阳性%	Rfu	阳性%
4	BLX-1F8	689	101	230	47	30	
5	BLX-2E9	867	127	320	66	24	
6	BLX-3F4	896	131	371	76	17	
7	BLX-3G8	759	111	340	70	22	
8	BLX-4D9	1042	153	483	99	24	
9	BLX-6A2	110	16	38	8	19	
	阳性对照	682	100	488	100	-	
	阴性对照	25	4	42	9	-	
		流式细胞术染色（FACS）					
		在 Jurkat 细胞系上温育的杂交瘤上清液					
		Jurkat CD3+（E6-1）		Jurkat CD3-（J.RT3.T3.5）阴性对照			
		BLW: 与来自免疫组 MR14—379 大鼠 1 和 2 的淋巴细胞融合（已施加的 IgM+的磁珠耗尽）					

[0659]

否	克隆	几何均值	阳性%	几何均值	阳性%
1	BLW-2B4	148034	53	4012	
2	BLW-2E6	7503	3	687	
3	BLW-3B4	198849	72	2884	
		BLX: 与来自免疫组 MR14—379 大鼠 1 和 2 的淋巴细胞融合（IgM+的磁珠未耗尽）			
否	克隆	几何均值	阳性%	几何均值	阳性%
4	BLX-1F8	148034	53	4012	
5	BLX-2E9	198849	72	2884	
6	BLX-3F4	181963	66	4613	
7	BLX-3G8	214697	77	3096	
8	BLX-4D9	25839	9	1471	
9	BLX-6A2	3385	1	1219	
	阳性对照	277338	100	2051	
	阴性对照	869	0	599	

[0660] 表4.用于免疫的CD3序列

[0661]

人CD3d	NP_000723.1(www.uniprot.org/uniprot/P04234)(SEQ ID NO:691)
人CD3e	(NP_000724.1(www.uniprot.org/uniprot/P07766)(SEQ ID NO:636)
食蟹猴CD3d	XP_001097302(www.uniprot.org/uniprot/Q95LI8)(SEQ ID NO:692)
食蟹猴CD3e	CD3e+TCE(www.uniprot.org/uniprot/Q95LI5)(SEQ ID NO:693)

[0662] 1-2克隆抗CD3抗体

[0663] 在OmniRats(OMT,PaloAlto,California,USA)中产生抗人CD3抗体。从基因组序列中提取这些克隆的可变区(“V区”)序列并进行分析。获得的所有序列均为人IgG重链或λ轻链,并且这些序列,尤其是LC,显示出高同源性。将序列与种系比对显示了框架中的一些突变(图1)。将V区DNA序列合成并克隆到哺乳动物表达载体中,将重链序列合成并克隆到人IgG1载体中,并且将轻链序列合成并克隆到人λ载体中。序列示于表6和表7中。为七个mAb指定蛋白质标识符(表5A)。

[0664] 选择CD3B312作为最具代表性的克隆,并且将重链序列克隆到具有S228P、F234A、L235A突变和指定蛋白质标识符的人IgG1σ和IgG4PAA中,如表5B所示。这些用于产生双特异性抗体,并通过细胞毒性证明T细胞重定向功能。

[0665] 表5A.克隆的肽ID和蛋白ID

[0666]

克隆ID	HC肽ID	LC肽ID	蛋白ID
BLW-2B4	CD3H218	CD3L123	CD3B311
BLW-2E6	CD3H219	CD3L124	CD3B312
BLW-3B4	CD3H218	CD3L125	CD3B313
BLX-1F8	CD3H220	CD3L126	CD3B314
BLX-2E9	CD3H221	CD3L124	CD3B315
BLX-3F4	CD3H222	CD3L124	CD3B316
BLX-3G8	CD3H223	CD3L124	CD3B317

[0667] 表5B.选择CD3B312作为最具代表性的克隆,并且将重链序列克隆到具有突变和指定蛋白质标识符的人IgG1σ和IgG4PAA中。

[0668]

IgG1	IgG1σ	IgG4PAA
CD3B312	CD3B337	CD3B373

[0669] 表6.7个单克隆CD3抗体的重链序列和轻链序列

[0670]

蛋白质 AA ID	重链氨基酸序列	SEQ ID NO.	轻链氨基酸序列	SEQ ID NO.
CD3B311 (BLW-2B4)	HC 肽 ID: CD3H218 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLT CAISGDSVFNNNAAWTWIRQS PSRGLEWLGRTYYRSKWLYD YAVSVKSRITVNPDTSRNQFT LQLKSVTPEDTALYYCSRGYS SSFDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPP	(637)	LC 肽 ID: CD3L123 QSALTQPASVSGSPGQSI TISCTGTSSNIGTYKFVS WYQQHPDKAPKVLLYE VSKRPSGVSSRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDQAD YHCCSYAGSGTLLFGGG TKLTVLGQPKAAPSVTL FPPSSEELQANKATLVCL ISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWK SHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS	(645)

[0671]

		SREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK			
	CD3B312 (BLW-2E6)	HC 肽 ID: CD3H219 QVRLQQSGPGLVKPSQTLSLT CAISGDSVFNNNAAWSWIRQS PSRGLEWLGRTYYRSKWLYD YAVTVKSRITVNPDTSRNQFT LQLTSVTPEDTALYYCARGYS SSFDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	(640)	LC 肽 ID: CD3L124 QSALTQPASVSGSPGQSI TISCTGTSSNIGTYKFVS WYQQHPDKAPKVLLYE VSKRPSGVSSRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDQAD YHCCSYAGSGTLLFGGG TKLTVLGQPKAAPSVTL FPPSSEELQANKATLVCL ISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWK SHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS	(646)
	CD3B313 (BLW-3B4)	HC 肽 ID: CD3H218 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLT CAISGDSVFNNNGAWSWIRQS PSRGLEWLGRTYYRSKWLYD YAVSVKSRITVNPDTSRNQFT LQLNSVTPEDTALYYCARGYS SSFDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYP	(638)	LC 肽 ID: CD3L125 QSALTQPASVSGSPGQSI TISCTGTSSNIGTYKFVS WYQQHPDKAPKVLLYE VSKRPSGVSSRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDQAD YHCCSYAGSGTLLFGGG TKLTVLGQPKAAPSVTL FPPSSEELQANKATLVCL ISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWK SHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS	(649)

[0672]

	SDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK			
CD3B314 (BLX-1F8)	HC 肽 ID: CD3H220 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLT CAISGDSVFNNNAAWSWIRQS PSRGLEWLGRTYYRSKWLYD YAVSVKSRITVNPDTSRNQFT LQLKSVTPEDTALYYCSRGYS SSFDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	(641)	LC 肽 ID: CD3L126 QSALTQPASVSGSPGQSI TISCTGTSSDIGTYKFVS WYQQHPDKAPKVLLYE VSKRPSGVSSRFSGSKSD NTASLTISGLQAEDQAD YHCCSYAGSGTLLFGGG TKLTVLGQPKAAPSVTL FPPSSEELQANKATLVCL ISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWK SHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS	(650)
CD3B315 (BLX-2E9)	HC 肽 ID: CD3H221 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLT CAISGDSVFNNNAAWSWIRQS PSRGLEWLGRTYYRSKWLYD YAVSVKSRITVNPDTSRNQFT LQLNSVTPEDTALYYCVRGYS SSFDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTP	(642)	LC 肽 ID: CD3L124 QSALTQPASVSGSPGQSI TISCTGTSRDIGTYKFVS WYQQHPDKAPKVLLYE VSKRPSGVSSRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDQAD YHCCSYAGSGTLLFGGG TKLTVLGQPKAAPSVTL FPPSSEELQANKATLVCL ISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWK SHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS	(647)

[0673]

	PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK			
CD3B316 (BLX-3F4)	HC 肽 ID: CD3H222 QVQLQQSGPRLVRPSQTLSLT CAISGDSVFNNNAAWSWIRQS PSRGLEWLGRTYYRSKWLYD YAVSVKSRITVNPDTSRNQFT LQLNSVTPEDTALYYCARGYS SSFDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	(643)	LC 肽 ID: CD3L124 QSALTQPASVSGSPGQSI TISCTGTSSNIGTYKFVS WYQQHPDKAPKVLLYE VSKRPSGVSSRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDQAD YHCCSYAGSGTLLFGGG TKLTVLGQPKAAPSVTL FPPSSEELQANKATLVCL ISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWK SHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS	(646)
CD3B317 (BLX-3G8)	HC 肽 ID: CD3H223 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLT CAISGDSVFNNNAAWSWIRQS PSRGLEWLGRTYYRSKWLYD YAVSVKSRITVNPDTSRNQFT LQLNSVTPEDTALYYCVRGYS SSFDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR	(644)	LC 肽 ID: CD3L124 QSALTQPASVSGSPGQSI TISCTGTSRDIGTYKFVS WYQQHPDKAPKVLLYE VNKRPSGVSSRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDQAD YHCCSYAGSGTLLFGGG TKLTVLGQPKAAPSVTL FPPSSEELQANKATLVCL ISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWK SHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS	(648)

[0674]

	WQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK			

[0675] 表7A.来自上述第一批的9个单克隆CD3抗体中7个的HC和LC同种型的VH和VL序列(参见表3)。所有HC同种型均为huIgG1_G1m(17)。所有LC同种型均为huLambda2。

[0676]

Fab ID	肽 ID	VH（SEQ ID NO:）	肽 ID	VL（SEQ ID NO:）
CD3B311	CD3H218	qvqlqqsgpglvkpsqtlsltcaisgdsvfnnnaawswirqspsrglewlgrtyyrskwlydyavsvksritvnpdtsrnqftlqlnsvtpedtalyycvrgysssfdywgqgtlvtvss（651）	CD3L123	qsaltqpasvsgspgqsitisctgtsrdigtykfvswyqqhpdkapkvllyevnkrpsgvssrfsgsksgntasltisglqaedqadyhccsyagsgtllfggggtkltvl（658）
CD3B312	CD3H219	qvqlqqsgprlvrpsqtlsltcaisgdsvfnnnaawswirqspsrglewlgrtyyrskwlydyavsvksritvnpdtsrnqftlqlnsvtpedtalyycargysssfdywgqgtlvtvss（652）	CD3L124	qsaltqpasvsgspgqsitisctgtssnigtykfvswyqqhpdkapkvllyevskrpsgvssrfsgsksgntasltisglqaedqadyhccsyagsgtllfgggtkltvl（659）
CD3B313	CD3H218	qvqlqqsgpglvkpsqtlsltcaisgdsvfnnnaawswirqspsrglewlgrtyyrskwlydyavsvksritvnpdtsrnqftlqlnsvtpedtalyycvrgysssfdywgqgtlvtvss（687）	CD3L124	qsaltqpasvsgspgqsitisctgtsrdigtykfvswyqqhpdkapkvllyevskrpsgvssrfsgsksgntasltisglqaedqadyhccsyagsgtllfgggtkltvl（688）
CD3B314	CD3H220	qvqlqqsgpglvkpsqtlsltcaisgdsvfnnnaawswirqspsrglewlgrtyyrskwlydyavsvksritvnpdtsrnqftlqlksvtpedtalyycsrgysssfdywgqgtlvtvss（653）	CD3L126	qsaltqpasvsgspgqsitisctgtssdigtykfvswyqqhpdkapkvllyevskrpsgvssrfsgsksdntasltisglqaedqadyhccsyagsgtllfgggtkltvl（660）
CD3B315	CD3H221	qvqlqqsgpglvkpsqtlsltcaisgdsvfnnngawswirqspsrglewlgrtyyrskwlydyavsvksritvnpdtsrnqftlqlnsvtpedtalyycargysssfdywgqgtlvtvss（654）	CD3L124	qsaltqpasvsgspgqsitisctgtssnigtykfvswyqqhpdkapkvllyevskrpsgvssrfsgsksgntasltisglqaedqadyhccsyagsgtllfgggtkltvl（659）
CD3B316	CD3H222	qvrlqqsgpglvkpsqtlsltcaisgdsvfnnnaawswirqspsrglewlgrtyyrskwlydyavtvksritvnpdtsrnqftlqltsvtpedtalyycargysssfdywgqgtlvtvss（655）	CD3L124	qsaltqpasvsgspgqsitisctgtssnigtykfvswyqqhpdkapkvllyevskrpsgvssrfsgsksgntasltisglqaedqadyhccsyagsgtllfgggtkltvl（659）
CD3B317	CD3H223	qvqlqqsgpglvkpsqtlsltcaisgdsvfnnnaawtwirqspsrglewlgrtyyrskwlydyavsvksrit	CD3L124	qsaltqpasvsgspgqsitisctgtssnigtykfvswyqqhpdkapkvllyevskrpsgvssrfsgsksgntasltis

[0677]

		vnpdtsrnqftlqlksvtpedtalyycsrgysssfdywgqgtlvtvss（656）		glqaedqadyhccsyagsgtllfggggtkltvl（659）

[0678] 表7B.来自上述第一批的9个单克隆CD3抗体中7个的HC和LC同种型的CDR序列(参见表3)。序列根据Kabat定义。所有HC同种型均为huIgG1_G1m(17)。所有LC同种型均为huLambda2。

[0679]

		CDR（SEQ ID NO:）		
FAB ID	肽 ID	CDR1	CDR2	CDR3
CD3B311	HC CD3H218	NNNAAWS（662）	RTYYRSKWLYDYAVSVKS（663）	GYSSSFDY（664）
	LC CD3L123	TGTSRDIGTYKFVS（667）	EVNKRPS（669）	CSYAGSGTLL（670）
CD3B312	HC CD3H219	NNNAAWS（662）	RTYYRSKWLYDYAVSVKS（663）	GYSSSFDY（664）
	LC CD3L124	TGTSSNIGTYKFVS（671）	EVSKRPS（673）	CSYAGSGTLL（670）
CD3B313	HC CD3H218	NNNAAWS（662）	RTYYRSKWLYDYAVSVKS（663）	GYSSSFDY（664）
	LC CD3L124	TGTSRDIGTYKFVS（672）	EVSKRPS（673）	CSYAGSGTLL（670）
CD3B314	HC CD3H220	NNNAAWS（662）	RTYYRSKWLYDYAVSVKS（663）	GYSSSFDY（664）
	LC CD3L126	TGTSSDIGTYKFVS（674）	EVSKRPS（673）	CSYAGSGTLL（670）
CD3B315	HC CD3H221	NNNGAWS（665）	RTYYRSKWLYDYAVSVKS（663）	GYSSSFDY（664）
	LC CD3L124	TGTSSNIGTYKFVS（671）	EVSKRPS（673）	CSYAGSGTLL（670）
CD3B316	HC CD3H222	NNNAAWS（662）	RTYYRSKWLYDYAVTVKS（689）	GYSSSFDY（664）
	LC	TGTSSNIGTYKFVS	EVSKRPS	CSYAGSGTLL

[0680]

	CD3L124	（671）	（673）	（670）
CD3B317	HC CD3H223	NNNAAWT（666）	RTYYRSKWLYDYAVSVKS（663）	GYSSSFDY（664）
	LC CD3L124	TGTSSNIGTYKFVS（671）	EVSKRPS（673）	CSYAGSGTLL（670）

[0681] 1-3筛选结合到人和食蟹猴纯化的T细胞的杂交瘤

[0682] 设计基于细胞的结合测定,用于评估单个大鼠杂交瘤上清液与人(图2)和食蟹猴(图3)纯化的CD3+T淋巴细胞的结合能力。对T细胞进行计数,稀释至1×10^6个细胞/mL,并与0.5μl/mL的Live/Dead可固定绿色死细胞染色剂(Life Technologies,L-2301)一起温育。接下来,将细胞以100μl/孔(1×10^5个细胞/孔)等分到U形底板(Falcon353077)中。将板以300g离心5分钟以沉淀细胞并移除上清液。将板短暂涡旋以重悬细胞。将杂交瘤上清液

在FACS染色缓冲液(BSA,BD Biosciences554657)中稀释至4.5μg/mL,然后以1:3稀释度连续稀释6倍至0.006μg/mL的最低浓度。将小鼠抗人CD3的阳性对照(SP34-2,BD Biosciences 551916)和阴性同种型对照(小鼠IgG1 BD Biosciences 556648)也稀释至4.5μg/mL。将50μl的每种样本添加至T细胞并在4℃下温育1小时。将细胞用染色缓冲液洗涤一次,并根据适当的物种(对于杂交瘤样本为抗大鼠,对于对照抗体为抗小鼠)以10μg/mL加入50μl的二级AF647山羊抗小鼠IgG(Life Technologies,A21235)或AF647山羊抗大鼠IgG(Life Technologies,A21247)。将板在4℃下温育45分钟,并用染色缓冲液洗涤两次。将细胞重悬于25μl运行缓冲液(染色缓冲液+1mM EDTA(Life technologies,AM9260G)+0.1%pluronic F-68(Life Technologies 24040-032))中,并在Intellicyt系统(Intellicyt Corp.)上读数。结果在图2和图3中示出。

[0683] 在其他实验中,将纯化的人T细胞以1.1×10^5个细胞/孔接种在U形底板中。将板以300g离心5分钟以沉淀细胞并移除上清液。将板短暂涡旋以重悬细胞。将杂交瘤上清液在FACS染色缓冲液(BSA,BD Biosciences 554657)中稀释至30μg/mL,然后以1:3稀释度连续稀释11倍至0.00017μg/mL的最低浓度。将50μl的每种样本添加至T细胞并在4℃下温育1小时。将细胞用染色缓冲液洗涤一次,并以10μg/mL加入50μl的二级Dylight650山羊抗大鼠IgG(Bethyl,A110-239D5)。将板在4℃下温育1小时,并用染色缓冲液洗涤两次。将细胞重悬于30μl的FACS缓冲液中并在Hypercyte流式细胞仪(Intellicyt公司)上读数。结合原代人T细胞的抗CD3克隆的代表性剂量响应曲线在图5中示出。

[0684] 与SP34-2(具有已知表位并与食蟹猴CD3交叉反应的市售抗人CD3抗体)的代表性竞争结合曲线在图6中示出。初始筛选结果汇总于表8中。六个克隆显示阳性结合并且还与SP34-2竞争结合原代人T细胞。

[0685] 1-4与SP34-2市售CD3抗体的竞争测定

[0686] 还评估了杂交瘤上清液与市售抗人CD3抗体SP34-2竞争的能力,该抗体具有已知的表位并与食蟹猴CD3交叉反应。首先,进行AF488荧光标记的SP34-2(BD,557705)的浓度滴定曲线以确定SP34-2的固定浓度,用于以下竞争测定。简而言之,将人纯化的T细胞在PBS中稀释至1×10^6个细胞/mL。以5μL/100μ细胞添加Fc阻断剂(TruStain人Fc阻断剂,Biolegend,422302),并以100μL/孔接种到U形底板中。以1:2稀释方案将AF488SP34-2和AF488标记的同种型对照(AF488小鼠IgG1,BD,400129)从50μg/mL连续稀释至0.049μg/mL。将板以300xg离心5分钟以沉淀细胞并移除上清液。将板轻轻地短暂涡旋以重悬细胞。将50μl的每种AF488SP34-2稀释液添加至细胞并在4℃下温育1小时。将板用染色缓冲液洗涤两次并用运行缓冲液(染色缓冲液+1mM EDTA(Life technologies,AM9260G)+0.1%pluronic F-68(LifeTechnologies 24040-032))洗涤一次。将细胞重悬于25μL运行缓冲液中并在HTFC筛选系统(IntelliCyt公司)上读数。基于剂量响应曲线,选择2μg/mL SP34-2的固定浓度用于竞争测定。

[0687] 测定展示与纯化的T细胞结合的七种杂交瘤与SP34-2竞争结合到人T细胞(图4)。竞争测定中包括对照抗体。将未标记的小鼠抗人CD3、SP34-2抗体和小鼠抗人CD3、UCHT1抗体用作阳性对照,并且将大鼠IgG和小鼠同种型用作AF488标记的SP34-2的阴性对照。将纯化的人T细胞在PBS中稀释至1×10^6个细胞/mL的浓度。将Fc阻断剂(TruStain人Fc阻断剂,Biolegend,422302)以5μL/100μL细胞和Live/Dead可固定FarRed死细胞染色剂(Life

Technologies L10120)以0.5μL/mL细胞加入细胞中,并在4℃下温育15分钟。接下来,将10^5个细胞/孔(1×10^5个细胞/孔)等分到96孔U形底板(Falcon353077)中。将板以300xg离心5分钟以沉淀细胞并移除上清液。将板轻轻地短暂涡旋以重悬细胞。将杂交瘤上清液和对照抗体在FACS染色缓冲液(BSA,BD Biosciences554657)中稀释至期望最终浓度的2倍。将35μL的2X杂交瘤上清液和对照抗体与35μl的2XAF488 SP34-2(4μg/mL)混合,得到期望的1X浓度的杂交瘤上清液、1X浓度的对照抗体和2μg/mL的AF488 SP34-2。使用具有一定浓度范围的7点滴定测定杂交瘤上清液和对照抗体。杂交瘤上清液被测定为200μg/mL至0.08μg/mL,并且对照抗体被测定为100μg/mL至0.04μg/mL。将50μL的1X杂交瘤上清液或具有2μg/mL AF488 SP34-2的1X对照抗体添加到T细胞中并在4℃下温育2小时。将板用染色缓冲液洗涤两次并用运行缓冲液(染色缓冲液+1mM EDTA(Life technologies,AM9260G)+0.1%pluronic F-68(Life Technologies 24040-032))洗涤一次。将细胞重悬于25μL运行缓冲液中并在HTFC筛选系统(IntelliCyt公司)上读数。与SP34-2(具有已知表位并与食蟹猴CD3交叉反应的市售抗人CD3抗体)的代表性竞争结合曲线在图4和图6中示出。初始筛选结果汇总于表8中。六个克隆显示阳性结合并且还与SP34-2竞争结合原代人T细胞。

[0688] 如图4所示,七种抗体与SP34-2以相似的曲线竞争。曲线相对于对照SP34-2的右移表明结合亲和力较弱。可以预期,同种型对照大鼠IgG不与SP34-2竞争。

[0689] 表8.结合在原代人T细胞上的抗CD3抗体的汇总。抗CD3克隆BLX-4E5、BLX-5H7、BLX-8B4、BLX-8B6、BLX-8G8和BLW-1E3对于结合到人T细胞是阳性的,并且与SP34-2竞争结合

[0690]

Ab克隆	与人T细胞结合	与SP34-2竞争
BLW-2B4	+	+
BLW-2E6	+	+
BLW-3B4	+	+
BLX-1F8	+	+
BLX-2E9	+	+
BLX-3F4	+	+
BLX-3G8	+	+
BLX-1G10	-	-
BLX-3H6	-	-

[0691]

BLX-4E5	+	+
BLX-5H7	+	+
BLX-8B4	+	+
BLX-8B6	+	+
BLX-8G8	+	+
BLW-1E3	+	+
BLW-1F1	+	-
BLW-2C4	-	-
BLW-2C11	-	-
BLW-2F9	-	-
BLW-3B5	-	-
BLW-3H5	-	-

[0692] 1-5筛选用于T细胞活化的杂交瘤命中,如通过CD69上调所测量的使用基于原代人

和食蟹猴T细胞的测定来确定杂交瘤命中激活T细胞的能力。这通过将抗体包被到板上以模拟TCR活化的交联效应来实现。在活化时,已知T细胞上调蛋白质CD69的表面表达。通过用未知样本或对照(阳性对照:内部,Okt-3 BISB264.002,BD Bioscience SP-34-2#551916;阴性对照:抗CD20,内部BISB266.004)将50μl的10μg/ml抗体制剂包被到96孔板(Costar#3361)中来进行该实验。将板在4℃下温育过夜。第二天,将板用PBS洗涤两次。冷冻原代T细胞(来源于Biological Specialities或Hemacare的人原代T细胞;来源于WorldWide Primate的食蟹猴原代T细胞)解冻,计数存活率并以2×10^6个细胞/ml重悬于RPMI 1640培养基(Gibco#11875,具有10%HIFBS(Gibco#10062))中。将100μl细胞加入板中,并在37℃、5%CO_2下温育过夜(大约16小时)。第二天,将板以1300rpm离心3分钟以沉淀细胞,并弃去上清液。将细胞在PBS中洗涤一次,并如前所述离心。将10μl的Live/Dead绿色可固定染色剂(Life Technologies#L23101)在PBS中的2.5%溶液添加至每个孔,并在室温下且在黑暗中温育10分钟。接下来加入50μl的抗CD69 AF488(Biolegend#310916批号B125271)在FACS缓冲液(BD Biosciences#554657)中的1%溶液,将板在4℃下温育45分钟。通过如前所述沉淀细胞,弃去上清液并重悬于150μl的FACS缓冲液中,将板洗涤两次。最后一次洗涤后,将细胞重悬于150μl的FACS缓冲液中并在FACSCanto上读数。如图19所示,阳性对照cOkt3和SP34-2诱导人T细胞上CD69的上调,如通过测量的抗CD69染色的平均荧光强度所指示的。仅SP34-2诱导食蟹猴T细胞中的CD69表达,因为其结合到从猴到人保守的CD3序列区。OKT3抗CD3克隆不结合食蟹猴CD3,也不诱导CD69上调。人和食蟹猴T细胞两者中的阴性对照是未在T细胞上表达的抗CD20。在测试T细胞活化的杂交瘤克隆中,有几种诱导的CD69表达达到与阳性对照相似的程度,即2B4、2E6、3B4、1F8、2E9、3F4、3G8、4E5、5H7、8B4、8G8和1F1。除了5H7、8B4和8G8之外,大多数还结合并活化了食蟹猴T细胞。

[0693] 1-6BLW-2E6的框架工程化

[0694] 与人免疫球蛋白种系序列相比,克隆显示出高同源性并且携带框架突变(图1A和图1B)。选择克隆2E6以适应标准框架序列。HC上的所有6个突变和LC上的7个突变均单独地或组合地突变回人种系序列(表9)。合成突变的V区DNA序列并将其克隆到与其亲本构建体相同的哺乳动物表达载体中。HC和LC构建体通过矩阵形式配对,产生携带单个或组合突变的蛋白质,并测试了蛋白质活性。LC上的V48不能改回种系。所有其他反向突变不是关键性的,但在一定程度上降低了活性。

[0695] 表9.BLW-2E6框架变体。

人种系的重链反向突变	肽ID
WT	CD3H219
R10G	CD3H225
R13K	CD3H226
V73I	CD3H227
R79K	CD3H228
T83S	CD3H229
L96V	CD3H230
R10G/R13K/V73I/R79K/T83S/L96V	CD3H231

[0696]

人种系的轻链反向突变	肽ID
WT	CD3L124
D43G	CD3L128
V48L	CD3L129
L49M	CD3L130
L50I	CD3L131
S62N	CD3L132
Q85E	CD3L133
H89Y	CD3L134
D43G/L49M/L50I/S62N/Q85E	CD3L135

[0697]

D43G/L49M/L50I/S62N/Q85E/H89Y	CD3L137
D43G/V48L/L49M/L50I/S62N/Q85E/H89Y	CD3L136
D43G/L49M/L50I/S62N/Q85E/H89Y/C91V	CD3L197

[0698] 将框架突变工程化为一个杂交瘤克隆BLW-2E6,得到80个突变克隆,其中一些在表10中示出。测定80个突变克隆与原代人T细胞的结合(图7和图8)。对T细胞进行计数,稀释至1×10^6个细胞/mL,并用5μLFc阻断剂(TruStain人Fc阻断剂,Biolegend,422302)/100μL细胞和0.5μl/mL的Live/Dead可固定绿色死细胞染色剂(LifeTechnologies,L-2301)/100μL细胞温育。接下来,将细胞以100μL/孔(1×10^5个细胞/孔)等分到96孔U形底板(Falcon 353077)中。将板以300xg离心5分钟以沉淀细胞并移除上清液。将板轻轻地短暂涡旋以重悬细胞。将杂交瘤上清液在FACS染色缓冲液(BSA,BDBiosciences554657)中稀释至7.5μg/mL、1.5μg/mL、0.3μg/mL和0.06μg/mL。将50μL的每种样本添加至T细胞并在4℃下温育1小时。将细胞用染色缓冲液洗涤一次,并将50μL的5μg/mL二级AF647山羊抗人IgGF(ab')2(Jackson ImmunoResearch目录109-605-097)添加至细胞。将板在4℃下温育45分钟,用染色缓冲液洗涤两次并用运行缓冲液(染色缓冲液+1mM EDTA(Life technologies,AM9260G)+0.1%pluronic F-68(Life Technologies 24040-032))洗涤一次。将细胞重悬于25μL运行缓冲液中并在HTFC筛选系统(IntelliCyt公司)上读数。结果表明,位置48处LC的变化消除了结合,使得突变不继续进行。在HC中观察到结合的轻微降低,其中所有位置返回到种系(CD3H231)。

[0699] 1-7 BLW-2E6 LC的C91扫描

[0700] 克隆2E6及其衍生物表达不良,并且观察到蛋白质聚集。预测轻链的一个残基C91具有翻译后修饰(PTM)风险,并且突变为所有其他可能的氨基酸以改善蛋白质稳定性(表10)。合成突变的V区DNA序列并将其克隆到与其亲本构建体相同的人λ表达载体中。SPR结果

表明,位置91处缬氨酸或亮氨酸的变化未显著改变结合亲和力。该变化也结合到野生型序列和上述框架适应中,从而产生抗体CD3B376(CD3H219/CD3L150)和CD3B450(CD3H231/CD3L197)。将CD3B376和CD3B450克隆为IgG4PAA(具有S228P、F234A、L235A突变的IgG4)。

[0701] CD3B376的序列信息提供如下:

[0702] CD3H219 HC氨基酸序列(SEQ ID NO:640):

[0703] QVQLQQSGPRLVRPSQTLSLTCAISGDSVFNNNAAWSWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWLYDYAVSVKS RITVNPDTSRNQFTLQLNSVTPEDTALYYCARGYSSSFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0704] CD3H219 HC核酸序列(SEQ ID NO:712)

[0705] caggtgcagctgcagcagtctggccctagactcgtgcggccttcccagaccctgtctctgacctgtgc catctccggcgactccgtgttcaacaacaacgccgcctggtcctggatccggcagagcccttctagaggcctggaa tggctgggccggacctactaccggtccaagtggctgtacgactacgccgtgtccgtgaagtcccggatcaccgtga accctgacacctcccggaaccagttcaccctgcagctgaactccgtgacccctgaggacaccgccctgtactactg cgccagaggctactcctcctccttcgactattggggccagggcaccctcgtgaccgtgtcctct

[0706] CD3L150 LC氨基酸序列(SEQ ID NO:676):

[0707] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFVSWYQQHPDKAPKVLLYEVSKRPSGVSSRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDQADYHCVSYAGSGTLLFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPG AVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

[0708] CD3L150 LC核酸序列(SEQ ID NO:713):

[0709] cagtctgctctgacccagcctgcctccgtgtctggctctcccggccagtccatcaccatcagctgtac cggcacctcctccaacatcggcacctacaagttcgtgtcctggtatcagcagcaccccgacaaggcccccaaagtg ctgctgtacgaggtgtccaagcggccctctggcgtgtcctccagattctccggctccaagtctggcaacaccgcct ccctgaccatcagcggactgcaggctgaggaccaggccgactaccactgtgtgtcctacgctggctctggcaccct gctgtttggcggaggcaccaagctgaccgtgctg

[0710] CD3H219的VH氨基酸序列(SEQ ID NO:652):

[0711] qvqlqqsgprlvrpsqtlsltcaisgdsvfnnnaawswirqspsrglewlgrtyyrskwlydyavsvk sritvnpdtsrnqftlqlnsvtpedtalyycargysssfdywgqgtlvtvss

[0712] CD3L150的VL氨基酸序列(SEQ ID NO:661):

[0713] qsaltqpasvsgspgqsitisctgtssnigtykfvswyqqhpdkapkvllyevskrpsgvssrfsgsk sgntasltisglqaedqadyhcVsyagsgtllfgggtkltvl

[0714] CD3H219的HCDR1(SEQ ID NO:662):NNNAAWS

[0715] CD3H219的HCDR2(SEQ ID NO:663):

[0716] RTYYRSKWLYDYAVSVKS

[0717] CD3H219的HCDR3(SEQ ID NO:664):GYSSSFDY

[0718] CD3L150的LCDR1(SEQ ID NO:671):TGTSSNIGTYKFVS

[0719] CD3L150的LCDR2(SEQ ID NO:673):EVSKRPS

[0720] CD3L150的LCDR3(SEQ ID NO:690):VSYAGSGTLL

[0721] CD3B450的序列信息提供如下:

[0722] CD3H231 HC氨基酸序列(SEQ ID NO:675):

[0723] QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVFNNNAAWSWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWLYDYAVSVKS RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARGYSSSFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0724] CD3H231 HC核酸序列(SEQ ID NO:714):

[0725] caggtgcagctgcagcagagcggccccggcctggtcaagcccagccagaccctgagcctgacctgcgc catcagcggcgacagcgtgttcaacaacaacgccgcctggtcctggatccgccagagccccagccgcggcctggag tggctgggccgcacctactaccgcagcaagtggctgtacgactacgccgtgtccgtgaagtcccgcatcaccatca accccgacaccagcaagaaccagttctccctgcagctgaacagcgtgacccccgaggacaccgccgtgtactactg cgcccgcggctacagcagcagcttcgactactggggccagggcaccctggtcaccgtgtccagc

[0726] CD3L197 LC氨基酸序列(SEQ ID NO:677):

[0727] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFVSWYQQHPGKAPKVMIYEVSKRPSGVSNRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDEADYYCVSYAGSGTLLFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPG AVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

[0728] CD3L197 LC核酸序列(SEQ ID NO:715):

[0729] Cagtctgctctgacccagcctgcctccgtgtctggctctcccggccagtccatcaccatcagctgtac cggcacctcctccaacatcggcacctacaagttcgtgtcctggtatcagcagcaccccggcaaggcccccaaagtg atgatctacgaggtgtccaagcggccctccggcgtgtccaacagattctccggctccaagtccggcaacaccgcct ccctgacaatcagcggactgcaggccgaggacgaggccgactactactgtgtgtcctacgccggctctggcaccct gctgtttggcggcggaacaaagctgaccgtgctg

[0730] CD3H231的VH氨基酸序列(SEQ ID NO:657):

[0731] qvqlqqsgpglvkpsqtlsltcaisgdsvfnnnaawswirqspsrglewlgrtyyrskwlydyavsvks ritinpdtsknqfslqlnsvtpedtavyycargysssfdywgqgtlvtvss

[0732] CD3L197的VL氨基酸序列(SEQ ID NO:678):

[0733] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFVSWYQQHPGKAPKVMIYEVSKRPSGVSNRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDEADYYCVSYAGSGTLLFGGGTKLTVL

[0734] CD3H231的HCDR1(SEQ ID NO:662):NNNAAWS

[0735] CD3H231的HCDR2(SEQ ID NO:663):

[0736] RTYYRSKWLYDYAVSVKS

[0737] CD3H231的HCDR3(SEQ ID NO:664):GYSSSFDY

[0738] CD3L197的LCDR1(SEQ ID NO:671):TGTSSNIGTYKFVS

[0739] CD3L197的LCDR2(SEQ ID NO:673):EVSKRPS

[0740] CD3L197的LCDR3(SEQ ID NO:690):VSYAGSGTLL

[0741] 表10.通过C91扫描测得的BLW-2E6 LC的工程化变体

[0742]

C91扫描	肽ID
CD3 2E6 LC	CD3L124
CD3 2E6 LC,C91S	CD3L146
CD3 2E6 LC,C91G	CD3L147
CD3 2E6 LC,C91E	CD3L148
CD3 2E6 LC,C91D	CD3L149
CD3 2E6 LC,C91V	CD3L150
CD3 2E6 LC,C91A	CD3L151
CD3 2E6 LC,C91R	CD3L152
CD3 2E6 LC,C91K	CD3L153
CD3 2E6 LC,C91N	CD3L154
CD3 2E6 LC,C91M	CD3L155
CD3 2E6 LC,C91I	CD3L156
CD3 2E6 LC,C91T	CD3L157
CD3 2E6 LC,C91W	CD3L158
CD3 2E6 LC,C91Y	CD3L159
CD3 2E6 LC,C91L	CD3L160
CD3 2E6 LC,C91F	CD3L161
CD3 2E6 LC,C91Q	CD3L162
CD3 2E6 LC,C91H	CD3L163
CD3 2E6 LC,C91P	CD3L164

[0743] 1-8通过ProteOn SPR测得的BLW-2E6 CD3 mAb与hCD3ε构建体的结合

[0744] 通过ProteOn SPR(Bio-Rad)测量在轻链和/或重链上具有点突变的BLW-2E6抗CD3mAb与具有C末端Tencon25融合体(Janssen生产,称为hCD3ε(1-27)-Tn25)的重组人CD3ε(1-27)肽的结合。将山羊抗人FcIgG(JacksonImmunoresearch,目录号109-005-098)经由氨基偶联在醋酸盐缓冲液(pH5.0)中以30μg/mL直接固定在GLC传感器芯片(Bio-Rad,目录号176-5011)上垂直取向的所有6个配体通道上,在含0.005％Tween-20的PBS中的流速为30μL/min。固定密度平均为约6000应答单位(RU),在不同通道之间具有小于5％的变化。在垂直的配体取向上不同的五种mAb以1.5μg/ml(1000RU至1250RU)捕获在抗人FcIgG表面上,其中第6配体通道作为无配体表面对照。在5倍浓度的3倍稀释系列中,1μM浓度的hCD3ε(1-27)-Tn25作为被分析物飞入,从而在水平取向上与捕获的mAb结合。还注入第6缓冲液样本以监测捕获的mAb的解离和基线稳定性。以100μL/min的流速监测所有浓度的hCD3ε(1-27)-Tn25的解离相30分钟。使用0.8％磷酸的18秒脉冲将结合表面再生用于下一个相互作用循环以去除抗原和结合的mAb。通过从响应数据中减去两组参考数据来处理原始数据:1)点间信号以校正Ag与空芯片表面之间的非特异性相互作用;2)校正由于捕获mAb表面随时间的解离所致的基线漂移的缓冲液通道信号。将每种mAb在所有浓度下的处理数据全局拟合到1:1简单的朗缪尔结合模型,以提取动力学(k_{on},k_{off})和亲和力(K_D)常数的估计值。结果提供于图11中。

[0745] 表11.BLW-2E6变体与hCD3ε(1-27)-Tn25(N＝1)结合的动力学/亲和力汇总

[0746]

蛋白质AA ID	重链	轻链	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)	HC突变	LC突变
C3B312	CD3H219	CD3L124	9.08E+04	1.87E-03	20.6	野生型	野生型
CD3B376	CD3H219	CD3L150	1.02E+05	2.37E-03	23.3	野生型	C91V
N/A	CD3H219	CD3L160	9.84E+04	4.05E-03	41.1	野生型	C91L
N/A	CD3H219	CD3L137	6.13E+04	2.02E-03	32.9	野生型	D43G/L49M/L50I/S62N/Q85E/H89Y
CD3B334	CD3H231	CD3L137	6.96E+04	5.54E-03	79.6	R10G/R13K/V73I/R79K/T83S/L96V	D43G/L49M/L50I/S62N/Q85E/H89Y

[0747] N/A＝未指定

[0748] 1-9抗CD3单克隆抗体与人T细胞的结合

[0749] 与抗原特异性靶臂杂交后,通过流式细胞术测定CD3B376和CD3B450对人T细胞的体外结合亲和力。对人T细胞进行初步研究以确定抗CD3示踪剂分子的饱和结合常数(KdT)。然后将固定浓度的示踪剂([T])与滴定浓度的测试mAb用于竞争结合测定法。测试分子的IC50(实现50％抑制时的浓度)值用于使用下式确定结合亲和力(K_d):K_d＝IC50/(1+([T]/K_dT))。使用五名人供体测定示踪剂:可商购获得的AlexaFluor488SP34-2抗CD3(BioScience#557705)(数据未示出)的饱和结合常数(K_dT)。

[0750] 测定示踪剂的饱和结合常数(K_dT)

[0751] 方法:将人PanT细胞低温保存在氮气罐中直至使用。将T细胞解冻,用PBS洗涤,重悬于FACS染色缓冲液中,计数(注明存活率),并以0.5×10^6个细胞/mL重悬。以1μL/1×10^6个细胞加入FarRedLive/Dead染色剂(LifeTechnologies,AKAInvitrogen#L34974)(50μL的DMSO到小瓶中);并且将FcR阻断剂(MiltenyiBiotec#130-059-901)(1mL的1:20稀释液/0.5×10^6个细胞)加入细胞中,各10分钟。将细胞以50,000个细胞/孔接种并洗涤。将递增浓度的AlexaFluor488SP-34抗CD3加入T细胞中,在4℃下保持2小时。洗涤细胞以去除未结合的抗体,固定15分钟,洗涤,并重悬于含有1mMEDTA的FACS染色缓冲液中。

[0752] 使用iQue Intellicyte流式细胞仪测量结合。针对T细胞群,之后针对单细胞,之后针对活细胞(FL4)的细胞进行门控。测定每个孔的染色几何平均值(FL1)。

[0753] 将采集的平均荧光强度值作为抗体分子浓度的函数作图,并使用Prism软件在单位点结合分析(总结合)中进行分析(图9)。该软件计算相应的K_d值,该值描述抗体分子与受体(人PanT细胞上的CD3)的结合,该结合遵循质量作用定律。公式如下:Y＝(B_{max}×X)/(K_d+X);其中:Bmax为最大结合;K_d是达到半最大结合所需的配体浓度。

[0754] 结果:推导出针对每名供体的K_d值,并且获得平均值。推导出针对人T细胞的饱和结合常数(K_dT)为5.6±1.0nM(n＝4),并且将其用于前述公式中以确定K_d结合亲和力。

[0755] 通过竞争测定法测定抗CD3mAb的结合亲和力

[0756] 方法:使用抗CD3的二价抗体进行竞争结合研究:

[0757] • 抗CD3二价体:CD3B376和CD3B450(图10)

[0758] 人PanT细胞用于测定测试mAb的结合亲和力。所使用的示踪剂是可商购获得的

AlexaFluor488SP-34抗CD3(BioScience#557705)并且该示踪剂的饱和结合常数如上所述。

[0759] 将T细胞低温保存在氮气罐中直至使用。将T细胞解冻,用PBS洗涤,重悬于FACS染色缓冲液中,计数,注明存活率,并以0.5×10^6个细胞/mL重悬。以1μL/1×10^6个细胞加入FarRedLive/Dead染色剂(Life Technologies,AKAInvitrogen#L34974)(50μL的DMSO到小瓶中);并且将FcR阻断剂(MiltenyiBiotec#130-059-901)(1mL的1:20稀释液/0.5×10^6个细胞)加入细胞中,各10分钟。将细胞以50,000个细胞/孔接种并洗涤。

[0760] 将mAb(和同种型对照)从1000μg/mL或200μg/mL(2X)的起始浓度连续稀释1:2,并且将固定浓度的示踪剂(5μg/mL;2X)混合在一起以得到1X浓度。因此,示踪剂的最终(1X)浓度为2.5μg/mL=16.6nM。将该混合物加入T细胞中,在4℃下保持2小时。然后洗涤细胞以去除未结合的抗体,固定15分钟,洗涤,并重悬于含有1mMEDTA的FACS染色缓冲液中。

[0761] 使用iQue Intellicyte流式细胞仪测量结合。针对T细胞群,之后针对单细胞,之后针对活细胞(FL4)的细胞进行门控。测定每个孔的染色几何平均值(FL1)。将采集的平均荧光强度值作为log抗体分子浓度(转化为nM)的函数作图,并使用Prism软件在推导出EC50/IC50值(单位为nM)的S形剂量响应(可变斜率)中进行分析。使用以下公式推导出结合亲和力(K_d):K_d=IC50/(1+([T]/K_dT))。其中:K_d是竞争体的亲和力(未标记的分子);测试化合物的IC50(单位为nM);[T]为示踪剂的浓度(16.6nM);K_dT是通过饱和结合测定的示踪剂的K_d(对于人为5.6nM)。

[0762] 单克隆抗体和双特异性抗体的产生

[0763] 本发明的双特异性CD3抗体可通过受控的Fab臂交换(FAE)产生,如在下列文献中所述:Labrijn等人,2013年,PNAS,第110卷第13期:第5145-5150页;PCT公布WO2011/131746;或Labrijn等人,2014年,NatProtoc,第9卷第10期:第2450-2463页。简而言之,在该体外方法中,提供了两种全长亲本二价抗体,其各自在抗体CH3区中包含有利于异源二聚体形成的突变,从而产生包含来自每个亲本抗体的半臂的双特异性抗体。可用于促进异源二聚体形成的突变是,对于IgG1抗体为一种亲本抗体中的F405L和另一种亲本抗体中的R409K,或对于IgG4抗体为一种亲本抗体中的F405L和K409R同时保留野生型CH3。

[0764] 在CMV启动子作用下,单特异性抗体在HEK细胞系中表达。

[0765] 使用具有100mMNaAcpH3.5的洗脱缓冲液和2MTrispH7.5和150mMNaCl的中和缓冲液的蛋白A柱纯化亲本抗体。使用PD10(SephadexG25M)柱将mab脱盐,然后透析至pH7.2的D-PBS缓冲液中。

[0766] 在纯化后,将亲本抗体在75mM的半胱胺-HCl中在还原条件下混合,并在31℃下温育4h。重组反应基于摩尔比,其中将设定量的靶标亲本(例如,10mg或约71.8纳摩尔)与CD3抗体(例如,约67.8纳摩尔)组合,其中靶标亲本抗体的添加量比CD3抗体高6%。重组体随后用PBS透析以去除还原剂。用过量的靶标亲本抗体(比率)进行双特异性抗体反应,以使重组后剩余的未反应CD3亲本抗体的量最小化。在亲本mAb部分还原后,通过过夜透析到PBS中去除还原剂。

[0767] 结果:图10示出了二价和一价抗CD3构建体CD3B376和CD3B450竞争结合AlexaFluor488SP-34抗CD3示踪抗体的抑制曲线。递增浓度的测试抗CD3抗体降低了AlexaFluor488示踪抗体的结合,从而降低了平均荧光强度(MFI)。生成IC50值,并且使用前述公式计算K_d亲和力并汇总于表13中。

[0768] CD3B376结合位点比二价和单价两种形式的CD3B450更紧密。

[0769] 表13.抗CD3二价和单价CD3B376和CD3B450构建体的IC50和K_d亲和力值

[0770]

构建体	抗 CD3	IC50 (nM)	K_d （nM）
二价体	CD3B376	29	7.3
	CD3B450	60	15
一价构建体	CD3B376	409	103
	CD3B450	1011	254

[0771] 1-10抗CD3单克隆抗体的构象稳定性

[0772] 抗CD3抗体CD3B376、CD3B389(CD3B376的IgG1σ型式;重链为SEQ ID NO:729;轻链为SEQ ID NO:676)、CD3B450和CD3B467(CD3B450的IgG1σ型式;重链为SEQ ID NO:728;轻链为SEQ ID NO:677)的构象稳定性通过差示扫描量热法(DSC)测定。热转变的中点Tm由每个Ab候选物的热变性曲线确定。图12A至图12E示出PBS中抗CD3抗体的热变性曲线。表14包括通过DSC测定的抗CD3抗体的热解折叠的Tm和焓值(ΔH)的汇总。

[0773] DSC结果指示所有抗CD3抗体CD3B376、CD3B389、CD3B450和CD3B467具有折叠结构域。基于解折叠的开始,每种抗体的相对稳定性如下:CD3B389<CD3B467<CD3B376<CD3B450。通过DSC测试的抗CD3分子显示出热稳定性的一些差异。CD3B376(IgG4PAA)分子在59.7℃、62.4℃和69.2℃下显示出三个部分不可分辨跃迁,其中总解折叠焓为417.6kcal/mol,而CD3B450(IgG4PAA)分子在62.5℃和66.3℃下显示出两个不可分辨跃迁,其中总解折叠焓为545.1kcal/mol。CD3B389(IgG1σ)分子在54.6℃、58.2℃、73.1℃和77.1℃下显示出四个跃迁,其中总解折叠焓为401.7kcal/mol,而CD3B467(IgG1σ)分子在56.3℃、59.6℃、66.5℃和75.6℃下显示出四个跃迁,其中总解折叠焓为406.2kcal/mol。

[0774] 表14.PBS中抗CD3抗体的热转变数据汇总。值表示重复运行的平均值。提供了HC肽和LC肽(括号中的SEQ ID NO)的序列信息。

[0775]

	CD3B376 HC: SEQ ID NO: 640 LC: SEQ ID NO: 676		CD3B450 HC: SEQ ID NO: 675 LC: SEQ ID NO: 677		CD3B389 HC: SEQ ID NO: 729 LC: SEQ ID NO: 676		CD3B467 HC: SEQ ID NO: 728 LC: SEQ ID NO: 677	
	平均值	错误	平均值	错误	平均值	错误	平均值	错误
Tm1(℃)	59.7	0.1	62.5	0.9	54.6	0.1	56.3	0.1
ΔH1(cal/mol)	151900.0	4200.0	158175.0	64025.0	166150.0	2450.0	98160.0	17840.0
Tm2(℃)	62.4	0.1	66.3	0.2	58.2	0.1	59.6	0.0
ΔH2(cal/mol)	202200.0	4300.0	386900.0	71000.0	62050.0	1290.0	72900.0	370.0
Tm3(℃)	69.2	0.0	NA	NA	73.5	0.1	66.5	0.0
ΔH3(cal/mol)	63450.0	2080.0	NA	NA	101900.0	1600.0	92785.0	6785.0
Tm4(℃)	NA	NA	NA	NA	77.1	0.0	75.6	0.1
ΔH3(cal/mol)	NA	NA	NA	NA	71560.0	2500.0	142400.0	4800.0
总 ΔH	601000.0	NA	545075.0	NA	401660.0	NA	406245.0	NA

[0776] 两种IgG1抗体与对应的IgG4PAA抗体(比较具有相同可变结构域的分子)相比显示

出较低的稳定性,其中第一转变的Tm低5℃-6℃(图13A和图13B以及表14)。

[0777] 1-11与CD3eN末端肽复合的CD3B334 Fab的晶体结构

[0778] 通过用人种系残基置换抗体中的多个框架残基来修饰抗CD3mAb CD3B334(CD3H231/CD3L137)以增加"人源性"指数。该程序产生具有以下突变的抗体CD3B334:当与亲本VLCD3L124比较时VL中的D43G/L49M/L50I/S62N/Q85E/H89Y;以及当与亲本VHCD3H219比较时VH中的R10G/R13K/V73I/R79K/T83S/L96V。将CD3B334的His标记的Fab片段在HEK293Expi细胞中表达,并使用亲和色谱法和尺寸排阻色谱法纯化。在NewEnglandPeptide(批号V1108-19/21)合成人CD3e的N末端9聚体肽,并与Fab以10:1的摩尔比(过量肽)混合。复合物通过蒸汽扩散方法从包含4M甲酸钠的0.1MTris(pH8.5)的溶液中结晶。晶体属于正交晶系空间群P212121,晶胞尺寸为66.5Å×69.4Å×100.4Å,在不对称单元中有一个复合分子。使用Fab的晶体结构作为搜索模型,通过分子置换法以1.8Å的分辨率确定复合物的结构。

[0779] CD3B334结合CD3e的残基1-6。肽的N末端Gln为焦谷氨酸盐形式,并且在疏水环境中,介于HCDR3的F107和LCDR3的L99之间。来自HCDR2的两个精氨酸残基R52和R56与CD3的酸性残基发生静电相互作用。总共16个残基形成CD3B334互补位。来自除LCDR2之外的所有CDR的残基与CD3肽直接接触(在4Å距离内)(参见图18)。

[0780] 2 PSMA抗体

[0781] 2-1 PSMA细胞系的产生

[0782] 产生呈现全长黑猩猩PSMA(H2Q3K5_PANTR,SEQ ID NO:49)或全长食蟹猴PSMA(EHH56646.1,SEQ ID NO:50)的表达载体以用作筛选工具,从而使用标准分子生物学技术并使用具有CMV启动子的内部表达载体评估抗PSMA先导物。使用标准方法将载体瞬时转染到悬浮的HEK293F细胞中。将转染的293F悬浮细胞接种在加血清的生长培养基中,使其变得贴壁并选择用于稳定的质粒整合。通过连续稀释选择单细胞群,并且使用(PSMAL抗体(Center)亲和纯化的兔多克隆抗体(目录号OAAB02483,Aviva Systems Biology)作为一抗,同时使用R-PE抗兔二抗(目录号111-116-144,Jackson ImmunoResearch Laboratories,Inc.)和兔多克隆IgG(目录号SC-532,Santa Cruz Biotechnology)作为同种型对照)通过FACS对PSMA表面受体表达进行定量。

[0783] 使用含有全长人PSMA(FOLH1_HUMAN,SEQ ID NO:51)和嘌呤霉素的慢病毒(Genecopoeia,目录号EX-G0050-Lv105-10)产生人PSMA表达细胞系,用于选择PSMA阳性细胞。用慢病毒颗粒转导对PSMA呈阴性的HEK293F细胞(ATCC)以过表达人PSMA。在转导后,通过处理合并的细胞选择阳性表达PSMA和抗性标记物的细胞,使其在DMEM+10%的HIFBS(Life Technologies)中生长并补充不同浓度的嘌呤霉素(Life Technologies)。

[0784] 除了HEK产生的细胞系之外,还使用了几个商业细胞系进行噬菌体淘选和结合以及细胞毒性测定。LNCaP克隆FGC细胞(ATCC,目录号CRL-1740)是可商购获得的人前列腺癌细胞系。C4-2B细胞最初在MD Anderson处发育,并且来源于在体内生长并转移到骨髓的LNCaPFGC(Thalmann等人,1994年,Cancer Research,第54卷,第2577-2581页)。

[0785] 2-2产生可溶性PSMA ECD蛋白

[0786] 产生重组黑猩猩PSMA细胞外结构域(ECD)蛋白(黑猩猩PSMA ECD,SEQ ID NO:52)

以用于淘选,并且使用标准分子生物学技术并使用具有CMV启动子的内部表达载体评估抗PSMA先导物。具有N末端信号序列(SEQ ID NO:594)、N末端Avitag(SEQ ID NO:595)和6-His标签(SEQ ID NO:596)的黑猩猩PSMAECD基因片段(SEQ ID NO:49的氨基酸44-750)使用标准分子生物学技术并使用具有CMV启动子的内部表达载体克隆并在293Expi细胞(Invitrogen)中瞬时表达。使用基因合成技术制备cDNA(美国专利6,670,127;美国专利6,521,427)。通过离心收集上清液并使其澄清。使用两步纯化过程纯化蛋白质:1)使用HisTrap HP柱(GE Healthcare)进行IMAC纯化,以及2)尺寸排阻纯化(Superdex200,GeHealthcare),其中洗脱缓冲液为含有0.5mMZnCl$_2$以及钙、镁的Dulbecco磷酸盐缓冲盐水(Thermofisher,#14040)来稳定PSMA二聚化。将含有感兴趣的蛋白质的级分合并,并通过A280测定蛋白质浓度。该材料用于结合和亲和力测量,并且被称为PSMG8。

[0787] 黑猩猩PSMAECD也被生物素酰化以用于淘选。将共转染到哺乳动物细胞中以生物素酰化含有Avi标签的蛋白质的BirA质粒在内部产生。将BirA编码区(SEQ ID NO:597)与来自小鼠IgG重链的信号肽(SEQ ID NO:598)融合,并将ER保留信号(KDEL(SEQ ID NO:716))加到C末端以产生BirA质粒(SEQ ID NO:599)。将构建的基因克隆到CMV启动子控制下的表达载体中。为了产生生物素酰化的PSMA抗原,将PSMA质粒DNA以4倍过量(w/w)加入BirA质粒,再加入到转染混合物中。

[0788] 黑猩猩PSMAECD蛋白的生物素酰化经由Avi标签并通过BirA表达构建体的共转染进行,并且所得分泌蛋白使用两步纯化过程纯化:1)使用HisTrapHP柱(GEHealthcare)进行IMAC纯化,以及2)尺寸排阻纯化(Superdex200,GeHealthcare),其中洗脱缓冲液为含有0.5mMZnCl2以及钙、镁的Dulbecco磷酸盐缓冲盐水(Thermofisher,#14040)来稳定PSMA二聚化。在用于噬菌体淘选研究之前测试蛋白质的内毒素。

[0789] 重组食蟹猴PSMA胞外结构域(ECD)蛋白(食蟹猴PSMAECD,SEQ ID NO:53)如之前针对黑猩猩PSMAECD所述进行克隆和表达,该胞外结构域蛋白对应于SEQ ID NO:50的氨基酸44-750,并且具有N末端信号标签(SEQ ID NO:594)、N末端Avi标签(SEQ ID NO:595)和6His标签(SEQ ID NO:596)。食蟹猴PSMAECD蛋白的生物素酰化经由Avi标签并通过BirA表达构建体的共转染进行,并且所得分泌蛋白使用IMACHisTrapHP柱(GEHealthcare)和MonoAvidin柱通过两步纯化过程纯化。在用于噬菌体淘选研究之前测试蛋白质的内毒素。该材料还用于结合和亲和力测量,并且被称为PSMG1。

[0790] 具有IgG1Fc(SEQ ID NO:593)的第二重组食蟹猴PSMAECD蛋白(食蟹猴PSMAFc,SEQ ID NO:54)使用标准分子生物学技术并使用具有CMV启动子的内部表达载体克隆并表达。使食蟹猴PSMAFc蛋白在293HEK-expi细胞中瞬时表达。转染5天后,收获HEK293 Expi细胞中PSMG3的瞬时转染,通过离心(30min,6000rpm)澄清并过滤(0.2μPES膜,Corning)。IgG的相对量是通过Octet仪器(ForteBio)并使用掺入用过的培养基中的纯化的已知IgG(相同同种型)测定的,以生成标准曲线。

[0791] 将澄清的食蟹猴PSMAFc上清液以约30mg蛋白/ml树脂的相对浓度上样到平衡的(dPBS,pH 7.2)HiTrap MabSelect Sure蛋白A柱(GE Healthcare)上。上样后,用dPBS(pH7.2)洗涤柱,并用10倍柱体积的0.1M乙酸钠(pH3.5)洗脱蛋白质。合并峰级分,用2M Tris(pH7)中和,并过滤(0.2μ)。将中和的蛋白质样本在4℃下通过含有Ca2+、Mg2+和0.5mMZnCl2(pH7.2)的dPBS的3次变化透析过夜。第二天,将样本从透析液中取出,过滤(0.2

μ),并通过BioTek SynergyHTTM分光光度计上280nm处的吸光度确定蛋白质浓度。通过SDS-PAGE和分析性尺寸排阻HPLC(Dionex HPLC系统)来评估纯化的蛋白质的质量。使用LAL测定(Pyrotell-T,Associates of Cape Cod)测量内毒素水平。将纯化的蛋白质保存在4℃下。

[0792] 重组人PSMA胞外结构域(ECD)蛋白(人PSMA ECD,SEQ ID NO:55)如之前针对黑猩猩和食蟹猴PSMA ECD蛋白所述进行克隆、表达和纯化,该胞外结构域蛋白对应于SEQ ID NO:51的氨基酸44-750,并且具有N末端Avi标签和6His标签(SEQ ID NO:596)。

[0793] 2-3鉴定抗黑猩猩和抗人PSMAFab

[0794] 用重组蛋白淘选

[0795] 由与四个人VL种系基因(A27、B3、L6、O12)文库配对的VH1-69、3-23和5-51重链文库组成的从头人Fab-pIX文库的首次溶液淘选[Shi,L.等人,JMolBiol,2010年,第397卷第2期:第385-396页,WO 2009/085462]使用交替淘选方法进行,其中根据制造商方案在包被有生物素酰化的黑猩猩PSMAECD的链霉抗生物素蛋白磁珠(Invitrogen,目录号112.05D,批号62992920)上进行一轮噬菌体捕获,然后根据制造商方案在包被有食蟹猴PSMA-Fc的ProtG珠(Invitrogen,目录号10003D)上进行噬菌体捕获,接着根据制造商方案在包被有生物素酰化的黑猩猩PSMA ECD的Sera-magDoubleSpeed中性抗生物素蛋白磁珠(Thermo,目录号7815-2104-011150)上进行噬菌体捕获。该淘选产生两个命中:PSMM18和PSMM25。

[0796] 抗PSMA Fab的全细胞淘选

[0797] 使用来自上述黑猩猩ECD淘选实验的第1轮输出或新鲜的从头噬菌体文库作为输入,对全细胞进行额外的淘选实验。简而言之,根据本领域已知的标准方案,噬菌体通过辅助噬菌体感染产生并通过PEG/NaCl沉淀进行浓缩。将噬菌体文库在未转染的亲本HEK293F细胞上于4℃下轻轻摇动过夜而被预先清除。在PEG/NaCl沉淀之后,将预先清除的文库与表达黑猩猩PSMA的HEK293细胞或LNCAP细胞一起温育,同时在4℃下轻轻摇动2小时。通过Ficoll梯度进行未结合的噬菌体的去除和噬菌体结合的细胞的回收,并且在几个洗涤步骤之后,将携带结合噬菌体的细胞与1mL的TG-1大肠杆菌(E.coli)培养物在37℃下温育30分钟而无需搅拌。将所得混合物接种在LB-羧苄青霉素-1%葡萄糖板上并在37℃下生长过夜。然后重复该过程以用于后续的淘选轮次。

[0798] 将噬菌体Fab-pIX转化成Fab-His以产生大肠杆菌上清液

[0799] 使用标准程序将所得噬菌体Fab-pIX命中转化为Fab-His。从噬菌体淘选的大肠杆菌(Plasmid Plus Maxi试剂盒,Qiagen目录号12963)中分离质粒DNA,并进行NheI/SpeI限制性消化。将所得的5400bp和100bp片段在0.8%琼脂糖凝胶上分离,并对5400bp片段进行凝胶纯化(MinElute PCR纯化试剂盒,Qiagen目录号28006)。使用T4连接酶将纯化的5400bp条带自连接,并且将所得产物(编码Fab-his融合体)转化回TG-1大肠杆菌菌株并克隆分离。通过用1mM IPTG过夜诱导培养物,从克隆中产生Fab-His上清液。在将过夜培养物离心后,准备好澄清的上清液用于在下游测定中使用。为了测定不同Fab-his上清液的相对表达水平,对连续稀释的上清液进行了抗k(Southern Biotech,目录号2061-05)ELISA。所有测试的克隆均表现出相似的Fab-his表达(数据未示出)。

[0800] 来自大肠杆菌的Fab-his融合体的细胞结合

[0801] 基于细胞的结合测定被设计成评估来自大肠杆菌上清液的各个Fab-his融合体与表达PSMA的细胞的结合能力。在pIX切除后,从所有淘选实验的第3轮输出中分离出各个Fab

克隆。测试Fab克隆与表达黑猩猩和食蟹猴PSMA的HEK细胞的结合,以及与LNCaP细胞上的人PSMA的结合。简而言之,将表达PSMA的细胞以200,000/孔的密度等分到V形底板(CoStar3357)中,并与表达Fab片段的(100μl)上清液在冰上温育1小时。将细胞用含有2%FBS的PBS洗涤两次,并且用小鼠抗人κ-RPE抗体(Life Technologies,目录号MH10514)在冰上染色1小时。将细胞用含有2%FBS的PBS洗涤两次并重悬于100μL的相同洗涤缓冲液中。在BD FACSArray流式细胞仪上读取板。通过使用前向散射和侧向散射对健康细胞群进行实时门控,然后分析该门内的细胞的PE染色,在FlowJo软件中分析FACS数据。计算平均荧光强度(MFI)并导出到Microsoft Excel中。对于所有三个PSMA物种(食蟹猴、黑猩猩和人)表现出结合≥3倍背景并且不表现出与HEK293细胞系结合的Fab克隆被标记为“初步阳性”。Fab被测序并向前移动以克隆到哺乳动物表达载体中用于重新筛选。从哺乳动物细胞表达的Fab上清液与表达PSMA的细胞系的结合中选择真阳性。

[0802] 哺乳动物Fab的制备

[0803] 为了将大肠杆菌Fab转化为哺乳动物表达的Fab,根据制造商方案利用In-FusionHD克隆(ClonTech目录号638918)。简而言之,将已通过初步筛选并被移入哺乳动物Fab形式的克隆的核苷酸序列加载到“InFu Primer Finder v1.2.3”程序(内部开发的软件)中,该程序产生用于产生向huKappa_muIgGSP和huG1Fab表达载体中进行无缝克隆的PCR片段的同种型特异性PCR引物的列表。这些载体是具有基于pcDNA3.1的CMV启动子的内部载体。在无缝克隆过程之后,使用标准方案分离大肠杆菌克隆体,对其进行序列验证并转染到HEK293细胞中。通过在5天后从转染中收获20ml上清液来制备用于确认与表达PSMA的细胞系的结合的哺乳动物PSMAFab。

[0804] 以哺乳动物上清液形式重新筛选来自全细胞淘选的命中

[0805] 使用前述全细胞结合测定进行哺乳动物表达的Fab上清液的确认。对Fab与人PSMA(LNCaP)、黑猩猩和食蟹猴细胞的结合进行测试,以及对未结合到亲本HEK细胞系的情况进行反向筛选。表19示出了与表达PSMA的细胞结合的哺乳动物Fab上清液的命中特征。来自大肠杆菌上清液的许多命中都不能通过哺乳动物表达的蛋白质来证实。PSMM48显示与表达食蟹猴PSMA的细胞的高度结合以及与表达黑猩猩PSMA的细胞的一些结合,但不与表达人PSMA的LNCaP细胞结合。PSMM56显示了类似的特征,但是与LNCaP细胞有一些结合。PSMM69-80与LNCaP细胞结合,但不与表达黑猩猩PSMA或食蟹猴PSMA的细胞结合。哺乳动物Fab上清液PSMM52、M56和M57结合所有三种细胞系。PSMM50、M51和M54显示出更多的黑猩猩或食蟹猴结合。M58显示出轻微的黑猩猩和食蟹猴结合。

[0806] 表19.通过Geo-MFI(平均荧光强度)测量的与表达PSMA的细胞结合的哺乳动物Fab蛋白的命中特征

[0807]

Fab ID（Fab DNA ID）	食蟹猴	黑猩猩	LNCaP	亲本 HEK
PSMB10（PSMM10）	244	81.6	-	248
PSMB11（PSMM11）	19	6.6	-	8.14
PSMB12（PSMM12）	31.6	8.05	-	12.6
PSMB13（PSMM13）	57.8	18.2	-	50.5
PSMB14（PSMM14）	32.6	13.1	-	22.2
PSMB15（PSMM15）	40.4	18.5	-	38
PSMB16（PSMM16）	175	220	-	6.39
PSMB17（PSMM17）	34.9	22.4	-	40.1
PSMB18（PSMM18）	696	439	-	8.71
PSMB19（PSMM19）	53.7	-	5.15	4.47
PSMB20（PSMM20）	5.75	-	5.85	41.3
PSMB21（PSMM21）	94.4	-	20.7	372
PSMB22（PSMM22）	9.07	-	7.92	54.9
PSMB23（PSMM23）	16.4	-	6.66	164
PSMB24（PSMM24）	14.6	9.6	4.09	3.96
PSMB25（PSMM25）	15.2	11.3	16.9	4.09
PSMB26（PSMM26）	9.48	-	7.26	114
PSMB27（PSMM27）	20	-	7.56	136
PSMB28（PSMM28）	29.7	-	8.88	302
PSMB29（PSMM29）	6.87	-	5.7	72.8
PSMB30（PSMM30）	5.16	-	4.58	45
PSMB31（PSMM31）	5.99	-	-	25.5
PSMB32（PSMM32）	4.81	-	-	27.1
PSMB33（PSMM33）	5.14	-	-	40.1
PSMB34（PSMM34）	17.9	-	-	107
PSMB35（PSMM35）	58.5	-	-	231
PSMB36（PSMM36）	5.05	-	-	6.96
PSMB37（PSMM37）	23.4	-	-	178
PSMB38（PSMM38）	4.05	-	-	7.7
PSMB39（PSMM39）	10.2	-	-	166
PSMB40（PSMM40）	66.9	-	-	348
PSMB41（PSMM41）	5.39	-	-	12
PSMB42（PSMM42）	7.35	-	-	25.8

[0808]

PSMB43（PSMM43）	8.73	-	-	7.18
PSMB44（PSMM44）	12.6	-	-	48.9
PSMB45（PSMM45）	22.4	-	-	43.1
PSMB46（PSMM46）	3.88	-	-	5.29
PSMB47（PSMM48）	101	25.5	3.46	2.85
PSMB48（PSMM49）	2.72	3.18	2.68	2.72
PSMB49（PSMM50）	51.6	22	3.22	3.48
PSMB51（PSMM52）	285	231	41.5	2.68
PSMB52（PSMM53）	39.2	6.89	2.67	2.56
PSMB53（PSMM54）	27.6	17.8	4	2.6
PSMB54（PSMM55）	2.7	2.75	2.65	2.79
PSMB55（PSMM56）	226	180	17.2	2.58
PSMB56（PSMM57）	95.6	34.7	24.5	2.52
PSMB57（PSMM58）	19.8	11	3.26	2.68
PSMB58（PSMM59）	121	192	25.3	2.67
PSMB59（PSMM60）	4.96	9.69	6.04	3
PSMB60（PSMM61）	2.28	3.07	87.3	4.64
PSMB61（PSMM62）	2.1	3.16	135	2.98
PSMB62（PSMM63）	7.17	4.43	54.9	9.09
PSMB63（PSMM64）	2.07	2.95	27	2.82
PSMB64（PSMM65）	2.39	3.26	70.5	3.05
PSMB65（PSMM66）	2.3	3.13	32.4	4.25
PSMB66（PSMM67）	2.14	3	24.6	2.83
PSMB67（PSMM68）	2.23	2.95	21	2.95
PSMB68（PSMM69）	5.44	-	134	35.3
PSMB69（PSMM70）	2.29	3.38	25.5	3.35
PSMB70（PSMM71）	2.22	3.49	15.5	3.26
PSMB71（PSMM72）	2.54	4.4	18.5	3.07
PSMB72（PSMM73）	2.13	3.53	227	3.02
PSMB73（PSMM74）	2.97	4.13	125	11.1
PSMB74（PSMM75）	120	-	178	132
PSMB75（PSMM76）	2.99	3.04	173	7.89
PSMB76（PSMM77）	3.75	3.99	138	3.95
PSMB77（PSMM78）	4.68	3.96	144	4.71
PSMB78（PSMM79）	25.2	-	378	24.4
PSMB79（PSMM80）	38.4	-	512	157
PSMB80（PSMM81）	19.6	18.6	20.9	6.61
PSMB81（PSMM82）	2.63	2.06	4.07	2.69
PSMB82（PSMM83）	2.79	2.23	4.11	2.76
PSMB83（PSMM84）	2.59	2.28	4.09	2.74
PSMB84（PSMM85）	750	729	192	3.15

[0809]

PSMB85（PSMM86）	2.84	2.59	2.33	3.24
PSMB86（PSMM87）	224	176	31.7	2.82
PSMB87（PSMM88）	2.63	2.27	4.23	2.91
PSMB88（PSMM89）	37.7	29.7	30.3	7.6
PSMB89（PSMM90）	27.1	27.3	53.2	39.5
PSMB90（PSMM91）	26.7	24.7	47.1	36.4
PSMB91（PSMM92）	8.97	6.16	13	6.63
PSMB92（PSMM93）	20	16.5	57.1	50
PSMB93（PSMM94）	5.13	9.62	2.5	3.66
PSMB94（PSMM95）	5.12	2.67	2.22	3.57
PSMB95（PSMM96）	8.9	8.82	13.4	11.4
PSMB96（PSMM97）	2.4	3.25	2.53	4.03
PSMB97（PSMM98）	2.57	4.73	2.52	3.7
PSMB99（PSMM100）	9.95	2.4	2.39	4.03
PSMB100（PSMM101）	4.03	2.52	2.33	3.37
PSMB100（PSMM101）	3.5	2.86	2.48	4.57
PSMB101（PSMM102）	5.49	3.18	2.23	3.33
PSMB102（PSMM103）	2.4	2.42	2.16	3.2
PSMB103（PSMM104）	3.52	3.26	2.58	4.44
PSMB104（PSMM105）	2.15	2.5	2.34	3.95
PSMB105（PSMM106）	2.03	2.39	2.18	3.39
PSMB106（PSMM107）	2	2.4	2.27	3.59
PSMB107（PSMM108）	2	2.47	2.33	3.49
PSMB108（PSMM109）	2	2.58	2.28	3.46
PSMB109（PSMM110）	321	326	34.9	6.11
PSMB110（PSMM111）	2.3	2.31	2.31	3.4
PSMB111（PSMM112）	2.32	2.31	-	3.21
PSMB112（PSMM113）	6.28	5.7	2.71	3.28
PSMB113（PSMM114）	2.82	2.95	2.32	3.29
PSMB114（PSMM115）	2.78	2.47	4.3	3.14
PSMB115（PSMM116）	2.66	2.59	2.2	3.14
PSMB46（PSMM117）	4.54	3.18	2.21	4.79
PSMB67（PSMM118）	3.95	4.3	3	6.13
PSMB74（PSMM119）	7.94	13	3.16	12.5
PSMB78（PSMM120）	5.08	4.79	22.3	6.82
PSMB81（PSMM121）	3.66	3.83	3.05	5.11
PSMB82（PSMM122）	15.1	28.4	10.8	24.3
PSMB83（PSMM123）	37.5	42.1	3.04	4.88
PSMB85（PSMM124）	34.6	52.9	20.7	46.8
PSMB87（PSMM125）	4.23	3.74	2.26	4.73
PSMB89（PSMM126）	51.8	53.1	11.7	6.27

[0810]

PSMB90（PSMM127）	42.8	30.2	7.74	5.99
PSMB91（PSMM128）	3.9	27.6	2.37	4.32
PSMB92（PSMM129）	45.7	37.3	12.1	7.4
PSMB93（PSMM130）	5.13	7.85	4.11	7.82
PSMB94（PSMM131）	3.67	3.23	2.32	4.72
PSMB95（PSMM132）	4.05	3.64	2.56	5.57
PSMB96（PSMM133）	3.91	4.54	2.37	4.65
PSMB97（PSMM134）	3.22	3.16	4.08	4.22
PSMB98（PSMM135）	15.6	12.7	2.22	4.21
PSMB99（PSMM136）	4.08	3.26	2.22	5.04
PSMB100（PSMM137）	5.24	3.82	2.16	4.83
PSMB101（PSMM138）	3.84	3.14	2.23	4.52
PSMB102（PSMM139）	4.51	3.82	2.23	4.59
PSMB103（PSMM140）	6.81	4.27	2.21	5.41
PSMB104（PSMM141）	7.52	4.35	2.26	4.39
PSMB105（PSMM142）	5.03	11.2	4.87	7.28
PSMB106（PSMM143）	3.87	3.8	2.73	4.9
PSMB107（PSMM144）	3.3	3.35	2.3	4.64
PSMB108（PSMM145）	6.78	3.83	2.33	4.98
PSMB110（PSMM146）	4.03	3.23	2.28	5.3
PSMB111（PSMM147）	3.71	3.26	2.36	5.11
PSMB112（PSMM148）	4.54	3.26	2.26	4.86
PSMB113（PSMM149）	84.3	104	51.7	94.2
PSMB114（PSMM150）	3.31	3.26	2.21	5.14
PSMB115（PSMM151）	3.55	3.43	2.3	4.21

[0811] 哺乳动物表达的Fab的剂量响应曲线

[0812] 一旦确认哺乳动物表达的Fab克隆作为纯Fab上清液与表达PSMA的细胞系阳性结合后,就通过Octet或蛋白质凝胶将上清液针对蛋白质浓度进行归一化,并且使用先前所述的方案完成剂量响应曲线以确认PSMA结合。图22至图24示出了表现出与所有三种表达PSMA的细胞结合的命中的滴定曲线。图22A、图22B、图22C和图22D示出了抗PSMA淘选命中相对于LNCaP细胞的滴定曲线。图23A、图23B、图23C和图23D示出了抗PSMA淘选命中相对于黑猩猩PSMAHEK细胞的滴定曲线。图24A、图24B、图24C和图24D示出了抗PSMA淘选命中相对于食蟹猴PSMAHEK细胞的滴定曲线。在表达不同物种PSMA的细胞系之间比较命中的结合特征。PSMM52上清液在整个实验中用作阳性对照。由于CDR中的N连接糖基化位点,与PSMA阴性亲本HEK细胞系的结合或缺乏与PSMA阳性细胞系的结合,降低了某些命中的优先级。剩下11个Fab命中,将10个命中克隆到人IgG4-PAA重链构建体中并用于产生PSMA×CD3双特异性抗体。这些命中示出彼此的3倍内的跨物种结合,并被转移到双特异性抗体形式中,以测试PSMA阳性靶标的T细胞重定向杀伤。每个命中的淘选抗原在表20中示出。

[0813] 表20.每个淘选命中的抗原

[0814]

第1轮抗原	第2-3轮抗原	命中	命中鉴定
黑猩猩 PSMA ECD	食蟹猴 PSMA ECD	2	PSMM18、PSMM25
黑猩猩 PSMA ECD	黑猩猩 PSMA HEK	9	PSMM50、PSMM52、PSMM57、PSMM59、PSMM110、PSMM56、PSMM85、PSMM84
LNCaP	黑猩猩 PSMA HEK	2	PSMM87、PSMM81

[0815] 抗PSMA mAb的制备

[0816] 通过限制性克隆将表现出与所有三种表达PSMA的细胞结合的总共12个克隆最终转化为具有Fc置换S228P、F234A和L235A(PAA)同种型的mAbIgG4。简而言之,用HindIII和ApaI消化对应于已通过初始筛选的Fab克隆的构建体。将凝胶纯化的片段连接到具有CMV启动子vDR000215的表达载体中,CMV驱动的表达载体含有用于完全mAb表达的人IgG4-PAAFc。这允许快速产生双特异性抗体。使用先前描述的表达载体来表达每个PSMAmAb的重链和轻链,其中两个载体瞬时共转染到293Expi或CHO细胞系中以用于mAb的表达。由噬菌体淘选产生的跨物种阳性PSMA Fab的CDR序列示于下表21中。所选Fab的VH序列和VL序列示于下表22中。由Fab产生的mAb的重链序列和轻链序列示于下表23中。

[0817] 表21.来自噬菌体淘选的FAb的CDR序列(根据Kabat定义)(对应的SEQ ID NO列于括号中)

[0818]

FAB ID		CDR（SEQ ID NO:）		
		CDR1	CDR2	CDR3
PSMB109	HC	NAWIS（62）	WINPESGRANYAQKFQG	ELYYLVYSTYYYAFDY

[0819]

			(63)	(64)
	LC	RASQSIDRWLN (65)	AASSLQS (60)	QQSPRYPLT (66)
PSMB86	HC	SYDIS (67)	GIIPIEGTANYAQKFQG (68)	DYPAGYGFDY (69)
	LC	RASQSVSSSYLA (70)	GASSRAT (71)	QQYGSSPLT (72)
PSMB84	HC	SDWMS (73)	AISGNGGSTEYADSVKG (74)	DPYYYYDGDSYYGMDV (75)
	LC	RASQSISSYLN (76)	AASSLQS (60)	QQSYSTP (61)
PSMB83	HC	SDAMH (78)	EISGSGGYTNYADSVKG (79)	DSYDSSLYVGDYFDY (80)
	LC	RASQSVSSYLA (81)	DASNRAT (82)	QQRSNWPLT (83)
PSMB56	HC	SYAIS (84)	WISPYNGNANYAQKFQG (85)	DSDRSYNLDY (86)
	LC	RASQSISGWLN (87)	AASSLQS (60)	QQSYSTPLT (88)
PSMB55	HC	SYWIG (89)	IIYPGDSDTRYSPSFQG (90)	GLPIWYLDY (91)
	LC	RASQSVASDLA (92)	FASNRAT (93)	QQSITWPFT (94)
PSMB51	HC	SYAIS (95)	WIIPYNGNANYAQKFQG (96)	VNSAALVWERLDY (97)
	LC	RASQSIDRWLN (65)	AASSLQS (60)	QQSPRYPLT (66)
PSMB49	HC	SYAIS (84)	GIIPIFGTANYAQKFQG (98)	ASRVWHASYGYLDY (99)
	LC	RASQSVSKWLA (100)	DASNRAT (82)	QQRFTAPWT (101)
PSMB25	HC	SYWIG (89)	IIYPGDSDTRYSPSFQG (90)	GWAYDRGLDY (102)
	LC	KSSQSVLYSSNNKNYLA (103)	WASTRES (104)	QQYYSTPLT (105)
PSMB18	HC	SYWIG (89)	IIYPGDSDTRYSPSFQG	AYHYSKGLDY (106)

[0820]

			(90)	
	LC	KSSQSVLYSSNNKNYLA (103)	WASTRES (104)	QQYYSTPLT (105)
PSMB80	HC	DYAIS (107)	RIDPIEGTANYAQKFQG (108)	DRYYYDGVYWYSDYFDY (109)
	LC	RASQSISSYLN (76)	AASSLQS (60)	QQSYSTPLT (88)
PSMB58	HC	SYWIS (56)	IIYPGDSYTRYSPSFQG (57)	DYEWELFDSRLDY (58)
	LC	RASQSISSYLN (59)	AASSLQS (60)	QQSYSTP (61)

[0821] 表22.PSMA Fab的VH序列和VL序列

[0822]

FAB ID	VH 氨基酸序列	SEQ ID NO	VL 氨基酸序列	SEQ ID NO
PSMB109	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGWISPYNGNANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVNSAALVWERLDYWGQGTLVTVSS	110	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDRWLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSPRYPLTFGQGTKVEIK	111
PSMB86	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFKSYDISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIEGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYPAGYGFDYWGQGTLVTVSS	112	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGQGTKVEIK	113
PSMB84	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDSDWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGNGGSTEYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPYYYYDGDSYYGMDVWGQGTLVTVSS	114	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK	115
PSMB83	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSVK	116	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ	117

[0823]

	GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSS		APRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIK	
PSMB80	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFDDYAISWVRQAPGQGLEWMGRIDPIEGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDRYYYDGVYWYSDYFDYWGQGTLVTVS	118	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK	119
PSMB58	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWISWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSYTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARDYEWELFDSRLDYWGQGTLVTVSS	120	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK	115
PSMB56	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGWISPYNGNANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDSDRSYNLDYWGQGTLVTVSS	121	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISGWLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK	122
PSMB55	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGLPIWYLDYWGQGTLVTVSSA	123	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVASDLAWYQQKPGQAPRLLIYFASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSITWPFTFGQGTKVEIK	124
PSMB51	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGWIIPYNGNANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVNSAALVWERLDYWGQGTLVTVSS	125	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDRWLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSPRYPLTFGQGTKVEIK	111
PSMB49	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSE	126	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSKWLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT	127

[0824]

	DTAVYYCARASRVWHASYGYL DYWGQGTLVTVSS		GIPARFSGSGSGTDF TLTISSLEPEDFAVY YCQQRFTAPWTFGQ GTKVEIK	
PSMB2 5	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISC KGSGYSFTSYWIGWVRQMPGK GLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQG QVTISADKSISTAYLQWSSLKAS DTAMYYCARGWAYDRGLDYW GQGTLVTVSS	128	DIVMTQSPDSLAVS LGERATINCKSSQSV LYSSNNKNYLAWY QQKPGQPPKLLIYW ASTRESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQA EDVAVYYCQQYYS TPLTFGQGTKVEIK	129
PSMB1 8	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISC KGSGYSFTSYWIGWVRQMPGK GLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQG QVTISADKSISTAYLQWSSLKAS DTAMYYCARAYHYSKGLDYW GQGTLVTVSS	130	DIVMTQSPDSLAVS LGERATINCKSSQSV LYSSNNKNYLAWY QQKPGQPPKLLIYW ASTRESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQA EDVAVYYCQQYYS TPLTFGQGTKVEIK	131

[0825] 表23具有对应SEQ ID NO的PSMA单克隆抗体的重链序列和轻链序列

[0826]

mAb ID	重链氨基酸序列	SEQ ID NO	轻链氨基酸序列	SEQ ID NO
PSMB1 29 (FAB PSMB1 09)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGWISPYNG NANYAQKFQGRVTITADES TSTAYMELSSLRSEDTAVY YCARVNSAALVWERLDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTKTYTCNVDHK PSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD	132	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSIDRWLN WYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSPRYPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	133

[0827]

	SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK			
PSMB130 (FAB PSMB86)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFKSYDISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIEGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYPAGYGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	134	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	135
PSMB128 (FAB PSMB84)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDSDWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGNGGSTEYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPYYYYDGDSYYGMDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA	136	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	137

[0828]

		VEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLGK			
	PSMB127 (FAB PSMB83)	EVQLLESGGGLVQPGGSLR LSCAASGFTFKSDAMHWVR QAPGKGLEWVSEISGSGGY TNYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDSYDSSLYVGDYFDY WGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLGK	138	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAV YYCQQRSNWPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	139
	PSMB126 (FAB PSMB80)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFDDYAISWVR QAPGQGLEWMGRIDPIEGT ANYAQKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSEDTAVYY CARDRYYYDGVYWYSDYF DYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGP PCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIA	140	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYSTPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	137

[0829]

		VEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLGK			
	PSMB124 (FAB PSMB56)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGWISPYNG NANYAQKFQGRVTITADES TSTAYMELSSLRSEDTAVY YCARDSDRSYNLDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNVDHKPSN TKVDKRVESKYGPPCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGK	141	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSISGWLN WYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYSTPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	142
	PSMB123 (FAB PSMB55)	EVQLVQSGAEVKKPGESLK ISCKGSGYSFTSYWIGWVR QMPGKGLEWMGIIYPGDSD TRYSPSFQGQVTISADKSIST AYLQWSSLKASDTAMYYC ARGLPIWYLDYWGQGTLV TVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQ	143	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVASDLA WYQQKPGQAPRLLIYF ASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAV YYCQQSITWPFTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	144

[0830]

	PENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLS LGK			
PSMB1 22 (FAB PSMB5 1)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGWIIPYNG NANYAQKFQGRVTITADES TSTAYMELSSLRSEDTAVY YCARVNSAALVWERLDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTKTYTCNVDHK PSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK	145	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSIDRWLN WYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSPRYPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	133
PSMB1 21 (FAB PSMB4 9)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGGIIPIFGTA NYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCA RASRVWHASYGYLDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTKTYTCNVDHKPSN TKVDKRVESKYGPPCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWES	146	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVSKWLA WYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAV YYCQQRFTAPWTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	147

[0831]

		NGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGK			
	PSMB120 (FAB PSMB25)	EVQLVQSGAEVKKPGESLK ISCKGSGYSFTSYWIGWVR QMPGKGLEWMGIIYPGDSD TRYSPSFQGQVTISADKSIST AYLQWSSLKASDTAMYYC ARGWAYDRGLDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK	148	DIVMTQSPDSLAVSLGE RATINCKSSQSVLYSSN NKNYLAWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSL QAEDVAVYYCQQYYS TPLTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	149
	PSMB119 (FAB PSMB18)	EVQLVQSGAEVKKPGESLK ISCKGSGYSFTSYWIGWVR QMPGKGLEWMGIIYPGDSD TRYSPSFQGQVTISADKSIST AYLQWSSLKASDTAMYYC ARAYHYSKGLDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTK VDKRVESKYGPPCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKG LPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTC	150	DIVMTQSPDSLAVSLGE RATINCKSSQSVLYSSN NKNYLAWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSL QAEDVAVYYCQQYYS TPLTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	149

[0832]

	LVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLS LGK			
PSMB87 (FAB PSMB58)	EVQLVQSGAEVKKPGESLK ISCKGSGYSFTSYWISWVRQ MPGKGLEWMGIIYPGDSYT RYSPSFQGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAMYYCA RDYEWELFDSRLDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNVDHKPSN TKVDKRVESKYGPPCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGK	151	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYSTPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	137

[0833] 产生了单特异性抗PSMA抗体PSMB119,其包含具有SEQ ID NO:130的VH和SEQ ID NO:131的VL的VH区和VL区,以及具有S228P、F234A和L235A置换的IgG4恒定区。产生了单特异性抗PSMA抗体PSMB120,其包含具有SEQ ID NO:128的VH和SEQ ID NO:129的VL的VH区和VL区,以及具有S228P、F234A和L235A置换的IgG4恒定区。产生了单特异性抗PSMA抗体PSMB121,其包含具有SEQ ID NO:126的VH和SEQ ID NO:127的VL的VH区和VL区,以及具有S228P、F234A和L235A置换的IgG4恒定区。产生了单特异性抗PSMA抗体PSMB122,其包含具有SEQ ID NO:125的VH和SEQ ID NO:111的VL的VH区和VL区,以及具有S228P、F234A和L235A置换的IgG4恒定区。产生了单特异性抗PSMA抗体PSMB123,其包含具有SEQ ID NO:123的VH和SEQ ID NO:124的VL的VH区和VL区,以及具有S228P、F234A和L235A置换的IgG4恒定区。产生了单特异性抗PSMA抗体PSMB124,其包含具有SEQ ID NO:121的VH和SEQ ID NO:122的VL的VH区和VL区,以及具有S228P、F234A和L235A置换的IgG4恒定区。产生了单特异性抗PSMA抗体PSMB126,其包含具有SEQ ID NO:118的VH和SEQ ID NO:119的VL的VH区和VL区,以及具有S228P、F234A和L235A置换的IgG4恒定区。产生了单特异性抗PSMA抗体PSMB127,其包含具有SEQ ID NO:116的VH和SEQ ID NO:117的VL的VH区和VL区,以及具有S228P、F234A和L235A置换的IgG4恒定区。产生了单特异性抗PSMA抗体PSMB128,其包含具有SEQ ID NO:114的VH和SEQ ID NO:115的VL的VH区和VL区,以及具有S228P、F234A和L235A置换的IgG4恒定区。产生了单特异性抗PSMA抗体PSMB129,其包含具有SEQ ID NO:110的VH和SEQ ID NO:111的VL的

VH区和VL区,以及具有S228P、F234A和L235A置换的IgG4恒定区。产生了单特异性抗PSMA抗体PSMB130,其包含具有SEQ ID NO:112的VH和SEQ ID NO:113的VL的VH区和VL区,以及具有S228P、F234A和L235A置换的IgG4恒定区。

[0834] 2-5与抗PSMA Fab PSMB83(亦称为PSMM84)结合的人PSMA ECD的晶体结构

[0835] PSMA是在细胞表面上表达的同源二聚体蛋白。PSMA是每单体750个残基的II型整合糖蛋白,由具有肽酶活性的大ECD结构域(705个残基)、单程TM结构域和短的19个残基胞内结构域构成。以3.15Å分辨率测定与双特异性抗体PS3B27的抗PSMAFab臂结合的人PSMA的细胞外区域(ECD)的晶体结构,以更好地理解PSMA和抗体之间的组合位点。

[0836] 人PSMA的细胞外区域(残基44-750)在具有N末端gp67信号肽和随后可切割的六组氨酸标签(SEQ ID NO:596)的HighFive™昆虫细胞中表达。分泌蛋白通过三步程序从上清液中纯化,该三步程序包括:最初的Ni^{2+}-NTA亲和捕获、TEV介导的组氨酸标签切割,然后是反向亲和色谱步骤,最后是尺寸排阻色谱步骤。将纯化的PSMA-ECD在液氮中快速冷冻,并在-80℃下储存于10mM HEPES(pH7.4,150mM NaCl,2mM $CaCl_2$,0.1mM $ZnCl_2$)中。

[0837] PSMB83(亦称为PSMM84)的Fab(其为双特异性抗体PS3B27中的亲本抗PSMAFab臂)在具有六组氨酸标签(SEQ ID NO:596)的HEK293Expi细胞中表达,并且使用亲和色谱(HisTrap,GE Healthcare)和尺寸排阻色谱(SEC-300,Phenomenex Yarra)纯化。将Fab在4℃下存储在50mM NaCl,20mM Tris(pH7.4)中。

[0838] 人PSMA ECD/PSMB83Fab复合物通过三步程序制备。首先,将Fab缓冲液交换到20mM MES(pH6.0,150mM NaCl)中。然后,将Fab和PSMA混合(相对于PSMA单体1.5摩尔过量的Fab)并在4℃下温育过夜,同时透析到pH 6.0的20mM MES中。最后,将复合物在20mMMES(pH6.0)中结合至monoS5/50柱并用NaCl梯度洗脱。

[0839] 在20℃下使用坐滴蒸气扩散法和Mosquito LCP机器人(TTP Labtech)获得适用于X射线衍射的晶体。结合到人PSMAECD的PSMB83Fab晶体从18%PEG3kDa、0.2M$(NH_4)_2SO_4$、0.1M Tris(pH8.5)并使用微晶种和初始为7.3mg/mL的PSMA/Fab复合物生长。从25%PEG3kDa、0.2MLiCl、0.1M醋酸盐(pH4.5)获得游离PSMB83 Fab的晶体,其中Fab初始为8.8mg/mL。

[0840] 通过使用Phaser(Phaser晶体学软件,University of Cambridge)进行分子置换(MR)来解析结构。PSMB83(亦称为PSMM84)Fab结构的MR搜索模型是PDB代码4M60。使用PSMA(PDB代码:2C6G)和PSMB83Fab(1.93Å分辨率的结构;数据未示出)作为MR搜索模型来解析PSMA/Fab复合物结构。利用PHENIX(Adams等人,2004年)对结构进行精修,并使用COOT(Emsley和Cowtan,2004年)进行模型调整。所有其它晶体学计算均使用CCP4套件程序执行(Collaborative Computational Project Number 4,1994)。所有分子图形均用PyMol(PyMOL分子图形系统,1.4.1版,Schrödinger,LLC.)生成,并且互补决定区(CDR)使用Kabat定义确定。

[0841] PSMA/Fab结构包括Fab轻链残基1-211、Fab重链残基1-224(除了无序的残基138-146之外)和PSMA残基56-750,其对应于蛋白酶(残基56-116和352-590)、顶端(残基117-351)和螺旋(残基591-750)结构域,以及每个PSMA二聚体亚基十个可能的N连接聚糖(Asn-76、-121、-140、-195、-459、-476和-638)中的七个。PSMA活性位点位于这三个结构域之间的界面处,并且其包含由组氨酸(H377和H553)和谷氨酸/天冬氨酸(D387、催化E424、E425和

D453)残基和水分子配位的两个锌原子。晶体不对称单元含有一个PSMA二聚体,其中每个亚基以与PSMB83Fab类似的方式结合。Fab/PSMA结合位点由电子密度图精确限定,该电子密度图允许可靠地定位结合残基。Fab和PSMA分子在图25至图30中按顺序编号。

[0842] PSMB83表位、互补位及相互作用。PSMB83是双特异性抗体PS3B27中的亲本抗PSMAFab臂,其识别PSMA的顶端结构域中的构象表位和不连续表位(图25)。Fab包埋的PSMA表面积为约$700Å^2$。具体地讲,PSMB83表位残基是I138、F235、P237、G238、D244、Y299、Y300、Q303、K304、E307和K324-P326。螺旋α7(残基Y299-E307)是表位的普遍区域并且结合Fab重链和轻链CDR。在螺旋的一端,Y299和Y300与Fab残基$Y57^H$、$W94^L$和PSMA残基F235和P237形成芳香簇,而在螺旋的另一端,E307与$R91^L$和氢键$Y32^L$形成盐桥。图26和图27示出了PSMA与PSMB83轻链和重链的主要相互作用。PSMB83表位残基在人和食蟹猴之间是保守的(图28),并且双特异性抗体PS3B27被证明以类似的亲和力与人和食蟹猴PSMA结合。相比之下,人到小鼠的G238A突变,尤其是Y300D表位突变,与人相比,预期会降低PSMB83与小鼠PSMA的结合亲和力。Y300D突变破坏与$N59^H$的氢键接触和与$W94^L$的π堆积相互作用。

[0843] PSMB83互补位由除CDR-L2和CDR-H1外的所有CDR中的残基构成(图29)。具体地讲,互补位残基是轻链$S30^L$、$Y32^L$、$R91^L$、$S92^L$、$W94^L$和重链$G56^H$-$N59^H$、$K65^H$、$G66^H$、$Y101^H$、$V107^H$和$D109^H$。图30示出了PSMA和PSMB83之间的相互作用接触。表位的可接近位置有利于PS3B27双特异性抗体中PSMB83Fab臂与膜结合的PSMA结合,而另一Fab臂仍与T细胞膜中的CD3结合。PSMB83预期不会抑制PSMA酶活性,因为该抗体远离活性位点结合并且不会在PSMA中引起任何可能影响酶功能的显著结构变化,诸如闭合活性位点的环运动或催化残基的置换(对于结合Fab和未结合Fab的结构中PSMA分子的Cα叠加,RMSD为$0.3Å$ (Barinka等人,2007年))。

[0844] 2-6抗PSMA亲和力成熟

[0845] 对来自两个PSMA亲和力成熟文库的抗PSMAFab噬菌体克隆进行亲和力成熟,以鉴定与亲本PSMB127(fabID=PSMB83,亦称为PSMM84)相比具有增加的结合亲和力的抗体。产生两个文库用于PSMB127的亲和力成熟。在第一文库中,根据表24中的设计(PH9H9L1)将重链CDR1和CDR2随机化。H-CDR3片段从pDR000024032PCR扩增并用SacII+XhoI消化。将该片段克隆到PH9H9L1/PH9L3文库中。将其转化到大肠杆菌MC1061F'细胞中,并且产生展示该Fab文库的噬菌体。在第二文库中,根据表25中的设计(PH9L3L3)使轻链CDR随机化。对来自PSMB83(PSMH360)的重链进行PCR扩增并用NcoI+XhoI消化。将该片段克隆进PH9L3L3文库DNA(ELN:从头2010噬菌体文库SRI-021)中。将其转化到大肠杆菌MC1061F'细胞中,并且产生展示该Fab文库的噬菌体。

[0846] 表24:PH9H9L1文库设计

[0847]

位置	亲本AA	文库AA
30	S	D、K、S
31	S	D、N、S、T
32	是	A、D、S、Y
33	A	A、D、G、S、W、Y
35	S	H、N、S
50	A	A、E、L、N、R、T、W、Y

52	S	A、D、L、N、R、S
54	S	A、E、N、S、Y
57	S	D、N、R、S、T、Y
59	是	E、G、N、Q、R、Y

[0848] 表25:PH9L3L3文库设计

[0849]

位置	亲本AA	文库AA
30	S	D、N、R、S
31	S	N、S、T
32	是	D、N、R、S、Y
49	是	E、H、K、Y
50	D	D、G、S、W、Y
53	N	D、N、S、T、Y
91	R	A、D、E、G、H、N、R、S、W、Y
92	S	A、D、E、G、H、N、R、S、W、Y

[0850]

93	N	A、D、E、G、H、N、R、S、W、Y
94	W	A、D、E、G、H、N、R、S、W、Y
96	L	F、I、L、N、R、W、Y

[0851] 对生物素酰化的人PSMAECD进行PSMA亲和力成熟Fab-pIX文库的溶液淘选,进行三轮。根据制造商方案将噬菌体结合的抗原捕获在中性抗生物素蛋白磁珠(GEHealthCareLifeScience,目录号78152104011150)上,然后在1xPBST(0.05%tween20)中充分洗涤,并且与500倍摩尔过量的生物素酰化抗原中的未标记PSMAECD一起长时间温育。该淘选产生克隆PSMXP46R3_59H09、PSMXP46R3_59H06、PSMXP46R3_59E03、PSMXP46R3_59C09、PSMXP46R3_59H01、PSMXP46R3_59F11和PSMXP46R3_59F07。

[0852] 为了测定抗PSMAfab克隆的表达水平,将96孔Maxisorb板在4℃下用抗人FdIgG包被过夜,洗涤,并用3%乳-PBS-0.05%Tween封闭1小时。将噬菌体上清液样本在封闭缓冲液中进行11次稀释,连续稀释2倍,最终孔为空白。将100μl的这些溶液在包被的板上捕获1小时。将板洗涤,加入100μl抗F(ab')2-HRP抗体保持1小时。洗涤板并用100μl过氧化物酶试剂显影板,并在Envision上读取发光(图31)。

[0853] 为了确定抗PSMAfab克隆与人和食蟹猴重组蛋白的结合,将96孔Maxisorb板用100μl5μg/ml中性抗生物素蛋白在4℃下包被过夜。将板洗涤并用3%乳-PBS-0.05%Tween封闭1小时。在室温下以2.5μg/ml捕获重组的生物素酰化人和食蟹猴PSMA蛋白1小时。将板洗涤,并将100μl的2倍连续稀释的fab上清液在RT下捕获1小时。将板洗涤,然后用200μl含0.3%乳的PBST温育2.5小时,以洗掉一些弱亲和力的fab。然后再用新鲜的200μl含0.3%乳的PBST温育30分钟,以去除更弱亲和力的fab。将板洗涤,加入100μl抗F(ab')2-HRP抗体保持1小时。洗涤板并用100μl过氧化物酶试剂显影板,并在Envision上读取发光(图32和图33)。

[0854] 图31表明亲本Fab和亲和力成熟的Fab的蛋白质表达是相似的。y轴值代表检测试剂的发光,其等于稀释曲线上的fab蛋白的丰度;发光读数越高,孔中的蛋白质越多,连续两倍稀释后蛋白质就会减少。在具有亲和力成熟的fab的孔中存在更多的蛋白质,但相比亲本的增加为如EC50值(其为提供最大响应的一半的蛋白质浓度)所示的至多五倍。这些数据表

明,图32和图33中PSMA结合特征的差异不是由于Fab浓度的差异。

[0855] 图32表明与亲本抗PSMAFab(PSMB83)相比,亲和力成熟的Fab与人重组抗原的结合改善。同样,曲线图的y轴表示发光值。在这种情况下,该值越大,意味着结合到人PSMA蛋白的Fab越多。这是结合的量度,因为增加的Fab浓度(沿x轴)会产生更高的发光值。亲本Fab在这些条件下的结合可忽略不计,如即使在高浓度下也不存在信号(沿着x轴的空心圆)所证实的那样。在所测试的浓度下观察到亲和力成熟的fab的结合,这等同于与人PSMA蛋白的更强结合能力。考虑到亲本Fab与人PSMA蛋白的结合为零,因此不会产生EC50。

[0856] 图33表明与亲本抗PSMAFab(PSMB83)相比,亲和力成熟的Fab与食蟹猴重组抗原的结合改善。同样,曲线图的y轴表示发光值。在这种情况下,该值越大,意味着结合到食蟹猴PSMA蛋白的Fab越多。这是结合的量度,因为增加的Fab浓度(沿x轴)会产生更高的发光值。亲本Fab在这些条件下的结合可忽略不计,如即使在高浓度下也不存在信号(沿着x轴的空心圆)所证实的那样。在所测试的浓度下观察到亲和力成熟的fab的结合,这等同于与人PSMA蛋白的更强结合能力。考虑到亲本Fab与人PSMA蛋白的结合为零,因此不会产生EC50用于直接比较。

[0857] 总体而言,与亲本抗PSMAmAb(PSMB127)相比,噬菌体的Fab结合特征表明改善的与人和食蟹猴重组抗原的结合。这种改善不是Fab表达特征差异的结果,如图33和图34所示,示出归一化为Fab表达水平的亲和力成熟Fab的结合。从ELISA筛选中鉴定出的前五种Fab候选物以单克隆抗体形式在IgG4PAA上产生。表26列出了后续的Mab标识符,并且表27和表28分别描述了它们的可变区的序列以及重链和轻链的序列。

[0858] 表26:基于ELISA鉴定的前五种亲和力成熟的抗体

[0859]

孔 ID	HC SEQ ID	LC SEQ ID	MAB 蛋白 ID
PSMXP46R3_59C09	PSMH859	PSML160	PSMB346
PSMXP46R3_59E03	PSMH859	PSML159	PSMB345
PSMXP46R3_59F07	PSMH862	PSML158	PSMB349
PSMXP46R3_59H01	PSMH860	PH9L3	PSMB347
PSMXP46R3_59H06	PSMH859	PH9L3	PSMB344

[0860] 表27.前五种PSMA Fab候选物的VH序列和VL序列

[0861]

MAB ID	VH 氨基酸序列	SEQ ID NO	VL 氨基酸序列	SEQ ID NO
PSMB344	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSMKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSS	6	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIK	117
PSMB345	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSMKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSS	6	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNYLAWYQQKPGQAPRLLIHDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRRNWPLTFGQGTKVEIK	9
PSMB346	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSMKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSS	6	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASYRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRRNWPLTFGQGTKVEIK	682
PSMB347	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSMKSRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSS	7	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIK	117
PSMB349	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSLKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSS	8	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRGNWPLTFGQGTKVEIK	10

[0862]

[0863] 表28.IgG4 PAA上单克隆抗体形式的前五种PSMA候选物的重链序列和轻链序列

[0864]

mAb ID	重链氨基酸序列	SEQ ID NO	轻链氨基酸序列	SEQ ID NO
PSMB344	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFKSDAMHW VRQAPGKGLEWVSEISGS GGYTNYADSMKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDSYDSSLYVG DYFDYWGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGK	11	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAV YYCQQRSNWPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	139
PSMB345	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFKSDAMHW VRQAPGKGLEWVSEISGS GGYTNYADSMKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDSYDSSLYVG DYFDYWGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVD	11	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVSNYLA WYQQKPGQAPRLLIHD ASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAV YYCQQRRNWPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQ	14

[0865]

	KRVESKYGPPCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGK		GLSSPVTKSFNRGEC	
PSMB346	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFKSDAMHW VRQAPGKGLEWVSEISGS GGYTNYADSMKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDSYDSSLYVG DYFDYWGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGK	11	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYD ASYRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAV YYCQQRRNWPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	680
PSMB347	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFKSDAMHW VRQAPGKGLEWVSEISGS GGYTNYADSMKSRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDSYDSSLYVG DYFDYWGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVS	12	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAV YYCQQRSNWPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVD	139

[0866]

	WNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGK		NALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	
PSMB349	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFKSDAMHW VRQAPGKGLEWVSEISGS GGYTNYADSLKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDSYDSSLYVG DYFDYWGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGK	13	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAV YYCQQRGNWPLTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC	15

[0867] 将3种不同的HC和4种不同的LC以矩阵形式组合以扩展命中的多样性(表29)。考虑到PSMH860的CDR2中的甲硫氨酸是翻译后风险,因此用M64L生成新序列并鉴定为PSMH865。PSMH865与PSML160配对以生成MabPSMB365。

[0868] 表29:组合的3条重链和4条轻链的矩阵形式

[0869]

	PSMH859	PSMH860	PSMH862
PH9L3	PSMB344	PSMB347	PSMB358
PSML158	--	PSMB361	PSMB349
PSML159	PSMB345	PSMB362	PSMB359
PSML160	PSMB346	PSMB363	PSMB360

[0870] 表30和表31分别示出了矩阵重组可变区的序列以及重链和轻链的序列。

[0871] 表30.矩阵重组PSMA命中的VH序列和VL序列

[0872]

MAB ID	VH 氨基酸序列	SEQ ID NO	VL 氨基酸序列	SEQ ID NO
PSMB358	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSLKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSS	8	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIK	117
PSMB359	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSLKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSS	8	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNYLAWYQQKPGQAPRLLIHDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRRNWPLTFGQGTKVEIK	9
PSMB360	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSLKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSS	8	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASYRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRRNWPLTFGQGTKVEIK	682

[0873]

PSMB361	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSMKSRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSS	7	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRGNWPLTFGQGTKVEIK	10
PSMB362	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSMKSRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSS	7	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNYLAWYQQKPGQAPRLLIHDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRRNWPLTFGQGTKVEIK	9
PSMB363	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSMKSRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSS	7	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASYRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRRNWPLTFGQGTKVEIK	682
PSMB365	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSLKSRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSS	681	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASYRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRRNWPLTFGQGTKVEIK	682

[0874] 表31.矩阵重组PSMA命中的重链序列和轻链序列

[0875]

MAB ID	重链氨基酸序列	SEQ ID NO	轻链氨基酸序列	SEQ ID NO
PSMB358	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSDAMHWVRQAPGKGLEWVSEISGSGGYTNYADSLKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYDSSLYVGDYFDYWGQGTLVTVSSASTKGP	13	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVY	139

[0876]

		SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK		YCQQRSNWPLTFGQ GTKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKD STYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRG EC	
	PSMB359	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFKSDAMHWVRQAPGK GLEWVSEISGSGGYTNYADSLK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDSYDSSLYVG DYFDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK	13	EIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSV SNYLAWYQQKPGQ APRLLIHDASNRAT GIPARFSGSGSGTDF TLTISSLEPEDFAVY YCQQRRNWPLTFG QGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNR GEC	14
	PSMB360	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFKSDAMHWVRQAPGK GLEWVSEISGSGGYTNYADSLK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDSYDSSLYVG DYFDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPS	13	EIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSV SSYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASYRAT GIPARFSGSGSGTDF TLTISSLEPEDFAVY YCQQRRNWPLTFG QGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQ	680

[0877]

		VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK		SGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNR GEC	
	PSMB361	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFKSDAMHWVRQAPGK GLEWVSEISGSGGYTNYADSMK SRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDSYDSSLYVGD YFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK	12	EIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSV SSYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASNRAT GIPARFSGSGSGTDF TLTISSLEPEDFAVY YCQQRGNWPLTFG QGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNR GEC	15
	PSMB362	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFKSDAMHWVRQAPGK GLEWVSEISGSGGYTNYADSMK SRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDSYDSSLYVGD YFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG	12	EIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSV SNYLAWYQQKPGQ APRLLIHDASNRAT GIPARFSGSGSGTDF TLTISSLEPEDFAVY YCQQRRNWPLTFG QGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNR GEC	14

[0878]

		FYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK			
	PSMB363	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFKSDAMHWVRQAPGK GLEWVSEISGSGGYTNYADSMK SRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDSYDSSLYVGD YFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK	12	EIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSV SSYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASYRAT GIPARFSGSGSGTDF TLTISSLEPEDFAVY YCQQRRNWPLTFG QGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNR GEC	680
	PSMB365	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFKSDAMHWVRQAPGK GLEWVSEISGSGGYTNYADSLK SRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDSYDSSLYVGD YFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK	679	EIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSV SSYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASYRAT GIPARFSGSGSGTDF TLTISSLEPEDFAVY YCQQRRNWPLTFG QGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNR GEC	631

[0879] 表32示出了所有亲和力成熟的PSMA命中的CDR序列。

[0880] 表32.亲和力成熟的PSMA命中的CDR序列

[0881]

MAB ID		CDR（SEQ ID NO:）		
		CDR1	CDR2	CDR3
PSMB344	HC	SDAMH（78）	EISGSGGYTNYADSMKG（1）	DSYDSSLYVGDYFDY（80）
	LC	RASQSVSSYLA（81）	DASNRAT（82）	QQRSNWPLT（83）
PSMB345	HC	SDAMH（78）	EISGSGGYTNYADSMKG（1）	DSYDSSLYVGDYFDY（80）
	LC	RASQSVSNYLA（4）	DASNRAT（82）	QQRRNWPLT（686）
PSMB346	HC	SDAMH（78）	EISGSGGYTNYADSMKG（1）	DSYDSSLYVGDYFDY（80）
	LC	RASQSVSSYLA（81）	DASYRAT（684）	QQRRNWPLT（686）
PSMB347	HC	SDAMH（78）	EISGSGGYTNYADSMKS（2）	DSYDSSLYVGDYFDY（80）
	LC	RASQSVSSYLA（81）	DASNRAT（82）	QQRSNWPLT（83）
PSMB349	HC	SDAMH（78）	EISGSGGYTNYADSLKG（3）	DSYDSSLYVGDYFDY（80）
	LC	RASQSVSSYLA（81）	DASNRAT（82）	QQRGNWPLT（5）
PSMB358	HC	SDAMH（78）	EISGSGGYTNYADSLKG（3）	DSYDSSLYVGDYFDY（80）
	LC	RASQSVSSYLA（81）	DASNRAT（82）	QQRSNWPLT（83）
PSMB359	HC	SDAMH（78）	EISGSGGYTNYADSLKG（3）	DSYDSSLYVGDYFDY（80）
	LC	RASQSVSNYLA（4）	DASNRAT（82）	QQRRNWPLT（686）
PSMB360	HC	SDAMH（78）	EISGSGGYTNYADSLKG（3）	DSYDSSLYVGDYFDY（80）
	LC	RASQSVSSYLA（81）	DASYRAT（684）	QQRRNWPLT（686）
PSMB36	H	SDAMH	EISGSGGYTNYADS	DSYDSSLYVGDYFD

[0882]

1	C	(78)	MKS (2)	Y (632)
	LC	RASQSVSSYLA (81)	DASNRAT (82)	QQRGNWPLT (5)
PSMB362	HC	SDAMH (78)	EISGSGGYTNYADSMKS (2)	DSYDSSLYVGDYFDY (80)
	LC	RASQSVSNYLA (4)	DASNRAT (685)	QQRRNWPLT (686)
PSMB363	HC	SDAMH (78)	EISGSGGYTNYADSMKS (2)	DSYDSSLYVGDYFDY (80)
	LC	RASQSVSSYLA (630)	DASYRAT (684)	QQRRNWPLT (686)
PSMB365	HC	SDAMH (78)	EISGSGGYTNYADSLKS (683)	DSYDSSLYVGDYFDY (80)
	LC	RASQSVSSYLA (81)	DASYRAT (684)	QQRRNWPLT (686)

[0883] 3 PSMA×CD3双特异性抗体的制备和功能评价

[0884] 3-1 PSMA×CD3双特异性抗体的产生

[0885] 产生了两种类型的亲和力成熟的PSMA×CD3双特异性抗体:一种对靶向臂(例如,亲和力成熟的抗PSMA)有特异性,该靶向臂与高亲和力CD3臂即CD3B376(VHSEQ ID NO:652,VLSEQ ID NO:661;HCSEQ ID NO:640,LCSEQ ID NO:676)CD3臂或低亲和力CD3B450(VHSEQ ID NO:657,VLSEQ ID NO:678,HCSEQ ID NO:675,LCSEQ ID NO:677)臂重组。

[0886] 这些亲本mAb是GenMab形式(Labrijn等人,2013年),其中靶标亲本(PSMA)包含409R GenMab突变(IgG4的天然氨基酸),而杀伤亲本(CD3)包含F405L GenMab突变和R409K突变。单特异性抗CD3抗体表达为IgG4,在其Fc区中具有Fc置换S228P、F234A、L235A、F405L和R409K(CD3臂)(根据EU索引进行编号)。靶向亲本(PSMA)在具有Fc置换S228P、F234A、L235A的人IgG4上。在CMV启动子作用下,单特异性抗体在HEK细胞系中表达。

[0887] 使用具有100mM NaAc pH3.5的洗脱缓冲液和2.5M Tris pH 7.2的中和缓冲液的蛋白A柱纯化亲本PSMA和CD3抗体。中和的亲本mAb用于制备PSMA×CD3双特异性抗体。将亲本mab的一部分进一步缓冲液交换到D-PBS(pH7.2)缓冲液中,以进行分析测量和测定。

[0888] 纯化后,进行受控的Fab臂交换以制备双特异性抗体。将亲本PSMA抗体与所需亲本CD3抗体在75mM的2-MEA(2-巯基乙胺)中在还原条件下混合,并在31℃下温育4小时或在室温下温育过夜。重组反应基于摩尔比,其中使用6%过量的PSMA亲本mAb使重组后剩余的CD3亲本mAb最小化。重组体随后用1xDPBS(pH7.2)透析以去除还原剂。

[0889] 产生的最终双特异性抗体以及用于重组反应的亲本mAb(即PSMA、CD3或空白)一起列于表33中。

[0890] 选择的PSMA命中也与非杀伤臂(空白)配对以产生用于测试目的阴性对照。对于对照双特异性抗体B2M1,产生、纯化IgG4PAA形式的RSV抗体(VHSEQ ID NO:610,VLSEQ ID NO:611),并且与CD3臂CD3B219-F405L、R409K组合以产生CD3B288(CD3×空白),或与PSMA臂PSMB122、PSMB126、PSMB130组合以分别产生PS3B37、PS3B39和PS3B40(PSMA×空白)。将这些

PSMA特异性亲和力成熟的Mab与CD3B219和CD3B376杂交(如上述方法)以产生表32中所示的双特异性抗体。

[0891] 表33.由亲和力成熟的PSMA命中产生的亲和力成熟的PSMA×CD3双特异性抗体的产生

[0892]

ID	臂 1	HC	LC	Arm 2	HC	LC
PS3B60	PSMB344	PSMH859	PH9L3	CD3B219	CD3H141	CD3L66
PS3B61	PSMB345	PSMH859	PSML159	CD3B219	CD3H141	CD3L66
PS3B62	PSMB346	PSMH859	PSML160	CD3B219	CD3H141	CD3L66
PS3B63	PSMB347	PSMH860	PH9L3	CD3B219	CD3H141	CD3L66
PS3B64	PSMB349	PSMH862	PSML158	CD3B219	CD3H141	CD3L66
PS3B70	PSMB358	PSMH862	PH9L3	CD3B219	CD3H141	CD3L66
PS3B71	PSMB359	PSMH862	PSML159	CD3B219	CD3H141	CD3L66
PS3B72	PSMB360	PSMH862	PSML160	CD3B219	CD3H141	CD3L66
PS3B73	PSMB361	PSMH860	PSML158	CD3B219	CD3H141	CD3L66
PS3B74	PSMB362	PSMH860	PSML159	CD3B219	CD3H141	CD3L66
PS3B75	PSMB363	PSMH860	PSML160	CD3B219	CD3H141	CD3L66
PS3B76	PSMB358	PSMH862	PH9L3	CD3B376	CD3H219	CD3L150
PS3B77	PSMB349	PSMH862	PSML158	CD3B376	CD3H219	CD3L150
PS3B78	PSMB359	PSMH862	PSML159	CD3B376	CD3H219	CD3L150
PS3B79	PSMB360	PSMH862	PSML160	CD3B376	CD3H219	CD3L150
PS3B80	PSMB347	PSMH860	PH9L3	CD3B376	CD3H219	CD3L150
PS3B81	PSMB361	PSMH860	PSML158	CD3B376	CD3H219	CD3L150
PS3B82	PSMB362	PSMH860	PSML159	CD3B376	CD3H219	CD3L150
PS3B83	PSMB363	PSMH860	PSML160	CD3B376	CD3H219	CD3L150
PS3B84	PSMB344	PSMH859	PH9L3	CD3B376	CD3H219	CD3L150
PS3B85	PSMB345	PSMH859	PSML159	CD3B376	CD3H219	CD3L150
PS3B86	PSMB346	PSMH859	PSML160	CD3B376	CD3H219	CD3L150
PS3B90	PSMB365	PSMH865	PSML160	CD3B376	CD3H219	CD3L150

[0894] 3-2评估LNCAP细胞结合中PSMA×CD3亲和力成熟的双特异性abs

[0895] 测试PSMA×CD3双特异性抗体与PSMA阳性细胞系LNCAP和PSMA阴性细胞系PC3的结合。为了评估PSMA双特异性抗体的结合能力,利用细胞结合测定(如前所述)。针对蛋白质浓度对双特异性抗体进行归一化,然后与相同数量的表达人或食蟹猴PSMA的细胞一起温育。通过流式细胞术收集每个浓度下的MFI,并将其作为浓度的函数作图。通过log10转换数据,然后作图。进行结合曲线的非线性回归以确定EC50。

[0896] 这些相对值用于对结合到靶细胞的PSMA进行排序。图14至图16示出了所制备的所有双特异性抗体的LNCAP结合。在图16中,没有一个构建体表现出与PSMA阴性细胞系的结合。在图14和图15中,与亲本Mab PS2B27相比,所有亲和力成熟的命中都显示出通过左移曲线增加的结合亲和力和增加的cMax。

[0897] 亲和力成熟的双特异性抗体与重组食蟹猴PSMAECD和人PSMAECD的相互作用使用ProteOnXPR36系统(BioRad)通过表面等离子体共振(SPR)进行研究,如先前针对重组黑猩猩PSMAECD所述。所有双特异性抗体以基本上相同的亲和力结合两个靶标,人PSMAECD的KD范围为0.05nM至0.27nM,而食蟹猴PSMAECD的KD范围为0.05nM至0.23nM。

[0898] 3-3功能性细胞杀伤测定中PSMA×CD3亲和力成熟的双特异性Ab的评估

[0899] 基于以上数据、亲和力测量和序列同一性,进一步表征了作为具有CD3B219或

CD3B376的双特异性抗体的三种PSMA抗体PSMB347、PSMB360和PSMB365介导PSMA特异性重定向T细胞毒性的能力。使用半胱天冬酶细胞毒性测定法测量T-细胞介导的杀伤,该测定法通过活性半胱天冬酶3/7裂解荧光底物来间接测量细胞杀伤。底物的裂解产生荧光DNA染料,其中荧光局限于细胞核。在整个测定过程中,使用能够在相同坐标下对孔精确成像的10X机动物镜,在每个孔中进行重复荧光测量。基于限定的尺寸限制和/或通过使用第二标记来鉴定靶细胞群。通过阴性选择从正常健康供体中分离冷冻的PanCD3+T细胞(购自Biological Specialty Corporation,Colmar,PA)。将表达PSMA的前列腺癌细胞(LNCaP,C42)在具有10%HIFBS+补充剂的RPMI1640(购自LifeT echnologies)中培养。

[0900] 在无选择试剂的情况下,将T细胞和靶细胞在无酚红RPMI+10%FBS和补充剂(Life Technologies)中以3:1的效应子与靶标比率(E:T)混合,并且根据制造商指导将0.6μL NucView半胱天冬酶试剂(Essen Bioscience)添加至每mL细胞中。将总体积为0.1mL的细胞添加至透明的96孔平底板(BD Falcon)的适当孔中。在如上所示制备的无酚红RPMI中以2X最终浓度制备PS3B27(CD3×PSMA)、CD3B288(CD3×空白)或PS3B46(PSMA×空白)双特异性抗体,并将0.1mL的化合物添加至每个孔。在室温下温育30分钟以最大程度减少孔边缘处的细胞聚集之后,将板转移至Zoom Incucyte仪器(Essen Bioscience)中。Incucyte仪器位于设定为37℃、5%CO2的加湿培养箱中。

[0901] 根据制造指南为所测试的每种细胞系设计Incucyte上的处理定义。每六小时进行测量,直到观察到半胱天冬酶信号中的平台,之后是从含有最高浓度的测试化合物的孔中的最大信号开始的三次或更多次连续减小。如图17所示的数据,PS3B80、PS3B79、PS3B89、PS3B90、PS3B63和PS3B72的曲线左移,表明效力高于PS3B27。空白臂对照未如预期那样诱导细胞死亡。

[0902] 3-4人源化NSG小鼠中LnCaP异种移植物在肿瘤发生预防中的抗肿瘤功效

[0903] 在用人T细胞经腹膜内(ip)人源化的雄性NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG)小鼠中的已建立3DLnCaP AR.TB人前列腺癌异种移植物中评估PS3B79和PS3B90的功效。将PS3B79和PS3B90以2.5mg/kg和5mg/kg或空白×CD3B376抗体对照以q3d-q4d在第36天、第39天、第43天、第47天、第50天、第53天、第56天、第60天和第63天给药,总共8次给药。在肿瘤植入后第53天(其为研究的最后日期),当每组保留九(9)只动物时,计算肿瘤生长抑制(%TGI)。与空白×CD3对照相比观察到统计意义上显著的肿瘤生长抑制的情况如下:对于5mg/kg下的PS3B79,观察到的TGI为42%(采用Bonferroni检验的双因素方差分析,*p<0.0001,图20),以及对于2.5mg/kg和5mg/kg下的PS3B90,观察到的TGI分别为53%和33%(采用Bonferroni检验的双因素方差分析,*p<0.001,图21)。因此,CD3B376能够在体内诱导T细胞活化和细胞毒性,并且以具有高亲和力PSMA结合臂PSMB360和PSMB365的双特异性形式导致肿瘤生长抑制。

[0904] 4 IL1RAP×CD3双特异性抗体的制备和功能评价

[0905] 在本公开的双特异性抗体中使用和适用于在本公开的双特异性抗体中使用的IL1RAP单克隆抗体在美国专利申请公布20170121420A1中有所描述,该专利申请公布的公开内容据此全文以引用方式并入。十五个单特异性IL1RAP抗体(参见US20170121420A1的表6)表达为IgG4,具有Fc置换S228P、L234A和L235A。CD3亲本mAb表达为具有S228P、L234A、L235A、F405L和R409K的IgG4(根据EU索引进行编号)。还产生了单特异性抗CD3抗体

CD3B220,其包含具有SEQ ID NO:92的VH和SEQ ID NO:93的VL的VH区和VL区,以及具有S228P、L234A、L235A、F405L和R409K置换的IgG4恒定区。

[0906] 使用标准方法并使用蛋白A柱纯化单特异性抗体。洗脱后,将池中和至pH7并透析至pH7.2的1xD-PBS中。

[0907] 通过将单特异性CD3mAb(CD3B376:SEQ ID NO:652的VH和SEQ ID NO:661的VL;或CD3B450:SEQ ID NO:657的VH和SEQ ID NO:678的VL)和单特异性IL1RAPmAb通过受控的Fab臂交换产生双特异性IL1RAP×CD3抗体(如WO2011/131746中所述)。简而言之,将约1-20mg/mL的抗IL1RAP/抗CD3抗体的DPBS溶液(pH7-7.4)和75mM2-巯基乙醇胺(2-MEA)以摩尔比1.08:1混合在一起并在25℃-37℃下温育2-6小时,然后通过透析、渗滤、切向流过滤去除2-MEA,以去除还原剂并能够形成双特异性抗体。

[0908] IL1RAP×CD3双特异性抗体的重链和轻链示于下表34中。

[0909] 表34.选择用于产生IL1RAP×CD3双特异性抗体的15种IL1RAPmAb的CDR序列(括号中的SEQ ID NO)。

[0910]

ID	HC-CDR1	HC-CDR2	HC-CDR3	LC-CDR1	LC-CDR2	LC-CDR3
IAPB47	GYSFTSYW	IYPSDSYT	ARRNSAENYADLDY	QSISND	YAS	QQSFTAPLT
	(152)	(153)	(154)	(155)	(156)	(157)
IAPB38	GFTFSNYA	INYGGGSK	AKDYGPFALDY	QSVDDW	TAS	QQYHHWPLT
	(158)	(159)	(160)	(161)	(162)	(163)
IAPB57	GGSISSSTYY	IYFTGST	AKEDDSSGYYSFDY	QGISSY	AAS	QQVNSYPLT
	(164)	(165)	(166)	(167)	(168)	(169)
IAPB61	GVSISSSTYY	IYFTGNT	GSLFGDYGYFDY	QFISSN	GAS	QQYNNWPST
	(170)	(171)	(172)	(173)	(174)	(175)
IAPB62	GYTFNTYA	INTNTGNP	ARRYFDWLLGAFDI	QGISSW	AAS	QQANSFPLT
	(176)	(177)	(178)	(179)	(168)	(180)
IAPB3	GGTFSSYA	ISAIFGTA	ARGNSFHALWDYAFDY	QSVLYSSNNKNY	WAS	QQYYSTPLT
	(181)	(182)	(183)	(184)	(185)	(186)
IAPB17	GGTFSSYA	IIPIFGNA	ARTIIYLDYVHILDY	QSVLYSSNNKNY	WAS	QQYYSTPLT
	(181)	(187)	(188)	(184)	(185)	(186)
IAPB23	GFTFSNYW	IRYDGGSK	AKDAYPPYSFDY	QSVSSY	DAS	QQRSNWPLT
	(189)	(190)	(191)	(192)	(193)	(194)
IAPB25	GFTFSSYA	ISGSGGST	AKGDEYYYPDPLDY	QSISSY	AAS	QQSYSTPLT
	(195)	(196)	(197)	(198)	(168)	(199)
IAPB29	GFTFSNYA	ISGSGGST	AKEWSSYFGLDY	QSISSY	AAS	QQSYSTPLT
	(158)	(196)	(200)	(198)	(168)	(199)
IAPB9	GGTFSSYA	ISPIFGTA	ARRYDNFARSGDLDY	QSISSY	AAS	QQSYSTPLT
	(181)	(201)	(202)	(198)	(168)	(199)
IAPB55	GVSISSSTYY	IYFTGNT	GSLFGDYGYFDY	QFISSN	GAS	QQYNNWPFT
	(170)	(171)	(172)	(173)	(174)	(203)
IAPB63	GYTFNTY	INTNTGN	ARRYFDW	SSDVGD	DVS	ASYAG

[0911]

	A	P	LLGAFDI	YNY		NYNVV
	(176)	(177)	(178)	(204)	(205)	(206)
IAPB64	GYTFNTYA	INTNTGNP	ARRYFDWLLGAFDI	SSDVGDYNY	DVS	SSYAGNYNVV
	(176)	(177)	(178)	(204)	(205)	(207)
IAPB65	GGTFSSYA	ISAIFGTA	ARHLHNAIHLDY	QSVSNF	GAS	QQGKHWPWT
	(181)	(182)	(208)	(209)	(174)	(210)

[0912] 15 IL1RAP mAb的VH序列和VL序列示于下表35中。

[0913] 表35.用于产生IL1RAP×CD3双特异性抗体的IL1RAP mAb的VH序列和VL序列。

[0914]

ID	VH 氨基酸序列	SEQ ID NO:	VL 氨基酸序列	SEQ ID NO.
IAPB47	EVQLVQSGAEVKKPGESLK ISCKGSGYSFTSYWIGWVR QMPGKGLEWMGIIYPSDSY TRYSPSFQGQVTISADKSIST AYLQWSSLKASDTAMYYC ARRNSAENYADLDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNVDHKPSN TKVDKRVESKYGPPCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGK	211	EIVLTQSPGTLSLSPGERA TLSCRASQSISNDLNWYQ QKPGKAPKLLIYYASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLT INSLQPEDFATYYCQQSFT APLTFGQGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	212
IAPB38	EVQLLESGGGLVQPGGSLR LSCAASGFTFSNYAMNWV RQAPGKGLEWVSGINYGG GSKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV	213	EIVLTQSPATLSLSPGERA TLSCRASQSVDDWLAWY QQKPGQAPRLLIYTASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQY	214

[0915]

		YYCAKDYGPFALDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNVDHKPSN TKVDKRVESKYGPPCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGK		HHWPLTFGQGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	
	IAPB57	QLQLQESGPGLVKPSETLSL TCTVSGGSISSSTYYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYFTGSTD YNPSLKSRVSISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCAK EDDSSGYYSFDYWGQGNL VTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTK VDKRVESKYGPPCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKG LPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLS LGK	215	DIQLTQSPSFLSASVGDRV TITCRASQGISSYLAWYQ QKPGKAPKLLIYAASTLQ SGVPSRFSGSGSGTEFTLT ISSLQPEDFATYYCQQVN SYPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	216
	IAPB61	QLQLQESGPGLVKPSETLSL TCTVSGVSISSSTYYWGWL RQPPGMGLEWTGSIYFTGN TYYNPSLKSRVTISVDTSRN	217	EIVMTQSPATLSVPPGERA TLSCRASQFISSNLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASTRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTI	218

		QFSLKLSSVTAADTAVYYC GSLFGDYGYFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTK VDKRVESKYGPPCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKG LPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEVVESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLS LGK		SSLQSEDFAVYYCQQYNN WPSTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	
[0916]	IAPB62	QVQLVQSGSELKKPGASVK VSCKASGYTFNTYAMNWV RQAPGQGLEWMGWINTNT GNPTYAQGFTGRFVFSLDT SVSTAYLQISSLKAEDTAVY YCARRYFDWLLGAFDIWG QGTMVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTKTYTCNVDHK PSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK	219	DIQMTQSPSSVSASVGDR VTITCRASQGISSWLAWY QQKPGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQA NSFPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	220
	IAPB3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGGISAIFGT	221	DIVMTQSPDSLAVSLGER ATINCKSSQSVLYSSNNK NYLAWYQQKPGQPPKLLI	222

		ANYAQKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSEDTAVYY CARGNSFHALWDYAFDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTKTYTCNVDHK PSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK		YWASTRESGVPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQYYSTPLTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC	
[0917]	IAPB17	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGGIIPIFGN ANYAQKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSEDTAVYY CARTIIYLDYVHILDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK	223	DIVMTQSPDSLAVSLGER ATINCKSSQSVLYSSNNK NYLAWYQQKPGQPPKLLI YWASTRESGVPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQYYSTPLTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC	222
	IAPB23	EVQLLESGGGLVQPGGSLR LSCAASGFTFSNYWMNWV	224	EIVLTQSPATLSLSPGERA TLSCRASQSVSSYLAWYQ	225

		RQAPGKGLEWVSAIRYDGG SKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKDAYPPYSFDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK		QKPGQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSN WPLTFGQGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	
[0918]	IAPB25	EVQLLESGGGLVQPGGSLR LSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGS TYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVY YCAKGDEYYYPDPLDYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTKTYTCNVDHKP SNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVYS VLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK	226	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSYS TPLTFGQGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	227
	IAPB29	EVQLLESGGGLVQPGGSLR	228	DIQMTQSPSSLSASVGDR	227

		LSCAASGFTFSNYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGS TYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVY YCAKEWSSYFGLDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNVDHKPSN TKVDKRVESKYGPPCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGK		VTITCRASQSISSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSYS TPLTFGQGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	
[0919]	IAPB9	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGWISPIFGT ANYAQKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSEDTAVYY CARRYDNFARSGDLDYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPYTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTKTYTCNVDHKP SNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK	229	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSYS TPLTFGQGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	227

[0920]

IAPB55	QLQLQESGPGLVKPSETLSL TCTVSGVSISSSTYYWGWL RQPPGMGLEWTGSIYFTGN TYYNPSLKSRVTISVDTSRN QFSLKLSSVTAADTAVYYC GSLFGDYGYFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTK VDKRVESKYGPPCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKG LPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLS LGK	633	EIVMTQSPATLSVSPGERA TLSCRASQFISSNLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASTRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLQSEDFAVYYCQQYNN WPFTFGPGHCVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	230
IAPB63	QVQLVQSGSELKKPGASVK VSCKASGYTFNTYAMNWV RQAPGQGLEWMGWINTNT GNPTYAQGFTGRFVFSLDT SVSTAYLQISSLKAEDTAVY YCARRYFDWLLGAFDIWG QGTMVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTKTYTCNVDHK PSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK	219	QSALTQPRSVSGSPGHSV TISCTGTSSDVGDYNYVS WYQQRPGKVPKLLIYDVS KRPSGVPDRFSGSKSGNT ASLTISGLQAEDEAIYFCA SYAGNYNVVFGGGTKLT VLGQPKAAPSVTLFPPSSE ELQANKATLVCLISDFYP GAVTVAWKADSSPVKAG VETTTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS	231

[0921]

IAPB64	QVQLVQSGSELKKPGASVK VSCKASGYTFNTYAMNWV RQAPGQGLEWMGWINTNT GNPTYAQGFTGRFVFSLDT SVSTAYLQISSLKAEDTAVY YCARRYFDWLLGAFDIWG QGTMVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTKTYTCNVDHK PSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK	219	QSALTQPRSVSGSPGHSV TISCTGTSSDVGDYNYVS WYQQRPGKVPKLLIYDVS KRPSGVPDRFSGSKSGNT ASLTISGLQAEDEAIYFCS SYAGNYNVVFGGGTKLT VLGQPKAAPSVTLFPPSSE ELQANKATLVCLISDFYP GAVTVAWKADSSPVKAG VETTTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS	232
IAPB65	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGGISAIFGT ANYAQKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSEDTAVYY CARHLHNAIHLDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDLAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK	233	EIVLTQSPATLSLSPGERA TLSCRASQSVSNFLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQGKH WPWTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	234

[0922]

[0923] 4-1全血T细胞的细胞毒性测定中IL1RAP双特异性抗体的评估

[0924] 方法:将肿瘤细胞系LAMA-84用DPBS洗涤,然后用CFSE(重悬于150μLDMSO中并以1:10,000稀释)以10×10^6个细胞/mLCFSE在室温下温育8分钟。染色用HIFBS淬灭并在培养基

中洗涤,然后以2×10^{5}个细胞/mL重悬于完全培养基中。在96孔板的每个孔中混合等体积的全血和CFSE染色的肿瘤细胞。在相应孔中加入抗体(重悬于10μL DPBS中)后,将所有板在37℃和5%CO_2下温育48小时。将未稀释的CD25-PE直接添加到全血的每个孔中,并且在室温下避光温育30分钟。然后将细胞以1500rpm离心5分钟,并且用200μL多物种红色裂解缓冲液裂解,再重复4次。将细胞在DPBS中洗涤一次,并用Live/Dead Near-IR(在DPBS中稀释)染色15分钟(表36)。洗涤每个孔并重悬于FACS缓冲液中,然后在BD FACS CANTO II上采集细胞。

[0925] 表36.全血T细胞的细胞毒性染色批次

[0926]

抗原	通道	克隆	稀释	来源	目录号
CD25	PE	BC96	1:100	Biolegend	302606
CD4	PerCP	RPA-T4	1:100	Biolegend	300528
CD8	APC	HIT8a	1:100	Biolegend	300912
Live/Dead	APC-Cy7	NA*	1:200	Invitrogen	L34976

[0927] *NA=不适用

[0928] FACS CANTO II(Becton,Dickinson and Company,Franklin Lakes,NJ)上的细胞采集限于1×10^{4}个肿瘤细胞。通过在FSC和SSC上进行门控以鉴定细胞群,然后是CFSE阳性肿瘤事件,最后是Live/Dead Near-IR来评估肿瘤细胞毒性,从而评估肿瘤细胞死亡。通过在FSC和SSC上进行门控以鉴定细胞群、CFSE阴性事件、Near-IR阴性事件来评估活细胞,然后评估CD25阳性细胞,从而评估T细胞活化。使用GraphPad Prism6对死亡肿瘤细胞或CD25阳性细胞的百分比作图,并用非线性曲线拟合进行分析。使用非线性混合效应模型在程序"R"中评估另外的统计分析以确定群体EC_{50}值。

[0929] 结果:为了模拟包含sIL1RAP的生理外周全血状况,在利用全血的离体T细胞重定向测定中评估IC3B19(IAPB57×CD3B219)和IC3B34(IAPB57×CD3B376)。将外源添加的IL1RAP$^+$LAMA-84细胞系(2×10^{4}个细胞/孔)添加到健康对照人外周全血(n=15个供体样本)中,用IC3B19、IC3B34和空白臂对照双特异性抗体处理48小时。如图52所示,IC3B19和IC3B34在48小时后离体诱导了类似的T细胞介导的IL1RAP$^+$LAMA-84细胞系的细胞毒性。IC3B19和IC3B34细胞毒性的EC_{50}值,如图52所示,分别为2.097和2.762(表37)。类似地,IC3B19和IC3B34对T细胞活化(CD25)的EC_{50}值,如图53所示,分别为4.237nM和7.825nM(表38)。如图52和图53所示,所有空白臂对照双特异性抗体都没有诱导可检测水平的细胞毒性或T细胞活化。IC3B19和IC3B34之间的细胞毒性和T细胞活化的一般水平是相似的。

[0930] 表37.LAMA-84细胞系中的IC3B19和IC3B34细胞毒性EC50(nM)浓度

[0931]

有效浓度(nM)	IC3B19	IC3B34
EC_{50}	2.097	2.762

[0932] 表38.LAMA-84细胞系中的IC3B19和IC3B34T细胞活化EC50(nM)浓度

[0933]

有效浓度(nM)	IC3B19	IC3B34
EC50	4.237	7.825

[0934] 4-2在全血T细胞的细胞毒性测定中在24小时和48小时评估IL1RAP×CD3双特异性Abs的细胞因子释放

[0935] 方法:将来自实施例4-1的24小时和48小时样本的冷冻上清液在湿冰上解冻。在使

用前,将板在4℃下以500g离心5分钟,然后放回湿冰上。在U形底96孔板(Falcon)中使用MSD稀释剂2以1:2、1:25和1:1000的稀释比制备系列稀释液,以用于ELISA。

[0936] 在离心上清液的同时,根据制造商方案预洗涤MSD测定板(ProInflammatoryPanelIV-Plex,目录号K15049G-4,批号K008572)。通过在1.0mL MSD稀释剂2中重构所提供的校准物来制备标准曲线。将五十微升的每种样本或标准品直接添加至预洗涤的MSD板。随后的温育和洗涤均按照制造商方案进行。在MSD Sector成像仪上读取测定板。

[0937] 使用两种方法来比较IC3B19和IC3B34之间的响应:

[0938] 具有混合效应的线性回归

[0939] 在该方法中,构建线性回归模型,该模型具有通过剂量相互作用对化合物、剂量和化合物的固定效应和考虑成对供体的随机效应。然后在每种浓度下对IC3B19和IC3B34进行事后比较,并对p值进行适当调整以进行多次比较。

[0940] 具有混合效应的非线性(四参数)回归

[0941] 使用非线性回归模型将IC3B19和IC3B34建模在一起,该模型具有关于每种化合物的最小值、最大值、logEC50和斜率的固定效应参数,以及考虑成对供体效应的随机效应项。从这些单独的模型中提取点估计值及其置信区间,并将其绘制出来以进行视觉比较。检验每个参数的显著差异通过以下方式完成:构建使用针对感兴趣的参数的联合估计的模型,然后使用对数似然检验将该模型与原始模型进行比较。详细地说,存在一种模型,该模型具有关于IC3B19最小值、IC3B19最大值、IC3B19logEC50、IC3B19斜率、IC3B34最小值、IC3B34最大值、IC3B34 logEC50和IC3B34斜率的参数。为了检查最小值是否显著不同,构建了第二模型,该模型具有所有相同的参数,但最小值具有单个共享参数。将第一模型的对数似然值(模型拟合数据的总体量度)与第二模型的对数似然值进行比较。如果它们彼此之间没有显著差异,那么我们可以得出结论,最小值彼此之间没有显著差异。类似地,如果对数似然值彼此之间显著不同,那么我们将得出结论,最小值显著不同。

[0942] 在许多情况下,由于以下两个原因之一,模型或参数的比较是不可估计的:1.将难以用数据计算四参数逻辑回归本身,或者2.参数估计之间的差异太大,导致联合模型失效。在第一种情况下,不报告结果,并且结果在汇总表中用“NA”表示。在第二种情况下,也不报告结果,但结果在汇总表中用“Sig.”表示,作为显著的简写。由于这些参数周围的95%置信区间是可单独估计的并且不重叠,我们可认为它们是显著不同的,但确切的p值是未知的。

[0943] 在p值小于或等于0.05时,认为差异具有统计意义上的显著性。所有分析均在R版本3.3.2中进行。

[0944] 结果:IC3B19和IC3B34介导的T细胞和IL1RAP+靶细胞系LAMA-84(内源和外源添加的肿瘤细胞)的结合导致T细胞的细胞因子释放。为了确定IC3B19和IC3B34之间的细胞因子释放差异,评估上清液的来自全血(n=15个供体)的10种促炎细胞因子细胞毒性和添加外源LAMA-84IL1RAP+肿瘤细胞系的T细胞活化测定,如实施例1部分中所讨论的。在评估的10种细胞因子中,除IL-8和IL-12p70之外,大多数细胞因子响应于IC3B19和IC3B34两者而导致可测量的剂量依赖性释放。如表39所示,IL-10、IL-2、TNF-α和INF-γ导致最有效的EC50(nM)释放。此外,大多数细胞因子以及在这两个时间点的IC3B34分子导致统计意义上显著的但不太有效的EC50(nM)。例外是IL-4(24小时)、IL-6(24小时和48小时)、IL-8(24小时和

48小时)、IL-12p70(24小时和48小时)、IL-13(24小时)、INF-γ(24小时和48小时)和TNF-α(24小时),其在IC3B19和IC3B34之间不具有EC50(nM)值的统计意义上显著的差异。

[0945] 表39.IC3B19和IC3B34四参数逻辑回归汇总表。粗体文本表示IC3B19和IC3B34之间EC50(nM)值的统计意义上显著的差异。各个细胞因子释放实验的结果在所示的图编号中示出。

[0946]

细胞因子	图编号	实验	EC50	斜率	最小值	最大值
IL-1β	图 36	24 小时	0.0027	0.3046	0.0268	0.2033
IL-1β	图 37	48 小时	0.0010	0.3951	0.2543	0.0528
IL-2	图 38	24 小时	0.0001	0.0256	0.3103	0.6466
IL-2	图 39	48 小时	Sig.	0.2079	0.0158	0.0008
IL-4	图 40	24 小时	0.2415	0.4668	0.2942	0.0043
IL-4	图 41	48 小时	NA	NA	NA	NA
IL-6	图 42	24 小时	Sig.	0.0819	0.1151	0.5224
IL-6	图 43	48 小时	NA	NA	NA	NA
IL-8	图 44	24 小时	NA	NA	NA	NA
IL-8	图 45	48 小时	NA	NA	NA	NA
IL-10	图 46	24 小时	<0.0001	0.0010	0.3406	0.7036
IL-10	图 47	48 小时	<0.0001	0.2702	0.0011	0.0004
IL-12p70	图 48	24 小时	NA	NA	NA	NA
IL-12p70	图 49	48 小时	NA	NA	NA	NA
IL-13	图 50	24 小时	NA	NA	NA	NA
IL-13	图 51	48 小时	0.0106	0.8268	<0.0001	<0.0001
IFN-γ	图 52	24 小时	0.0065	0.6920	0.4644	0.3179
IFN-γ	图 53	48 小时	0.0266	0.1678	0.2695	0.0319
TNF-α	图 54	24 小时	0.0016	0.0128	0.1443	0.7895
TNF-α	图 55	48 小时	0.0004	0.5553	0.0043	0.5216

[0947]

[0948] 4-3半胱天冬酶的细胞毒性测定中IL1RAP双特异性抗体的评估

[0949] 使用第二类型的细胞毒性测定测量T细胞介导的IC3B19和IC3B34杀伤。半胱天冬酶细胞毒性测定法通过活性半胱天冬酶3/7裂解荧光底物来间接测量细胞杀伤。底物的裂解产生荧光DNA染料,其中荧光局限于细胞核。在整个测定过程中,使用能够在相同坐标下对孔精确成像的10X机动物镜,在每个孔中进行重复荧光测量。基于限定的尺寸限制来鉴定靶细胞群。

[0950] 通过阴性选择从正常健康供体中分离冷冻的PanCD3+T细胞(购自Biological Specialty Corporation,Colmar,PA)。将靶细胞(NCI-H1975细胞,表达IL1RAP的人肺腺癌细胞系)在RPMI 1640/Glutamax(25mM HEPES缓冲液)培养基中培养,该培养基补充有10%热灭活的FBS、1mM丙酮酸钠和0.1mM非必需氨基酸(Life Technologies)。

[0951] 在实验开始前16小时,将靶细胞以20,000个细胞/孔接种在含有补充剂的50μl无酚红RPMI培养基中,实验开始后将其放入经组织培养物处理过的透明平板(Costar)中。使细胞在室温(RT)下温育20分钟以允许细胞均匀分布在孔中,然后使细胞在37℃和5%CO2下温育过夜。

[0952] 在实验当天,对T细胞进行计数,并在含有补充剂的无酚红RPMI培养基中稀释至1.0*10^6个细胞/ml,并与Nuc-ViewTM488半胱天冬酶-3/7底物(Essen Biosciences)混合,

工作浓度为10μM。将100μl混合的T细胞和半胱天冬酶-3/7底物添加到每个孔中,最终浓度为5μM半胱天冬酶-3/7底物。

[0953] 在含有补充剂的无酚红RPMI培养基中以4X最终浓度制备IC3B19(IAPB57×CD3B219)、IC3B34(IAPB57×CD3B376)、CD3B288(空白×CD3B219)和IAPB57×空白(IAPB101)双特异性抗体,并且将50μL抗体添加到每个孔中。在室温下温育20分钟以允许在孔中均匀分布后,将板转移至ZoomIncucyte仪器(EssenBioscience)中。Incucyte仪器位于设定为37℃、5%CO2的加湿培养箱中。

[0954] 为NCI-H1975细胞设计Incucyte上的处理定义。该处理定义清楚地鉴定了靶细胞的半胱天冬酶活性,同时按尺寸排除T细胞。在T0和每六小时进行测量,持续至多120小时。最大信号被确定为出现在处理后72小时,此时分析数据。

[0955] 在完成测定之后,使用NCI-H1975处理定义来分析每块板。从IncucyteZoom软件导出原始荧光数据,并将其粘贴到GraphPadPrism(GraphPadSoftware,Inc.,LaJolla,CA)中。通过计算GraphPad中每个孔的曲线下面积(AUC)来确定半胱天冬酶3/7活性。将AUC值作为Log10nM抗体浓度的函数作图。在非线性回归(S形剂量响应-可变斜率)之后,报告每个浓度响应曲线的EC50(以纳摩尔(nM)为单位)。每个测定包含两个技术重复,每个技术重复中包含四个测量值。

[0956] IC3B19和IC3B34两者而非具有空白臂的双特异性抗体(IAPB57×B23B49或B23B39×CD3B219)在NCI-H1975细胞中诱导靶标特异性细胞毒性(图56)。在该测定中,细胞毒性EC50在IC3B19和IC3B34之间变化三倍,值分别为0.018nM和0.057nM。

[0957] 4-4IAPB57×CD3B376在T细胞人源化NSG小鼠的H1975人NSCLC异种移植物中的功效

[0958] 在用人T细胞人源化的雌性NOD.Cg-Prkdcscid I12rgtm1Wjl/SzJ(NSG)小鼠中的已建立H1975人非小细胞肺癌(NSCLC)异种移植物中评估IAPB57×CD3B376双特异性抗体IC3B34的功效。将IAPB57×CD3B376以0.1mg/kg、0.35mg/kg或1mg/kg或空白×CD3抗体对照在第14天、第18天、第21天和第25天给药,总共4次给药。在肿瘤植入后第29天(其为研究的最后日期),当每组保留十只动物时,计算肿瘤生长抑制(%TGI)。与空白×CD3对照相比观察到统计意义上显著的肿瘤生长抑制的情况如下:对于0.35mg/kg和1mg/kg下的IAPB57×CD3B376,观察到的TGI分别为63%和89%(采用Bonferroni检验的双因素方差分析,p<0.0001,图57)。

[0959] 5 CD33抗体

[0960] 5-1抗原产生

[0961] 在具有或不具有突变的单体形式的人血清白蛋白(HSA)(具有C58S突变的Uniprot P02768)的情况下产生人和食蟹猕猴CD33蛋白,在C末端融合以用于免疫和测定。合成具有六组氨酸标签(SEQ ID NO:596)的编码CD33蛋白质抗原的cDNA并使用标准分子生物学技术将其克隆到肌动蛋白启动子下的哺乳动物分泌表达载体中。

[0962] 将来源于Uniprot P20138(SEQ ID NO:235)的全长人CD33胞外结构域(ECD)(人CD33 ECD)在N末端与信号序列融合,并且具有或不具有HSA,随后在C末端与六组氨酸标签(SEQ ID NO:596)融合,(具有HSA的hCD33 ECD和仅hCD33 ECD)。根据制造商方案使用Expifectamine将人CD33 ECD表达构建体瞬时转染到HEK293衍生细胞Expi293(Gibco/

Thermo Fisher Scientific;Waltham,MA)中。在收获之前,将细胞在37℃下在轨道式摇动器上与8%的CO_2温育5天。通过离心移除所表达的细胞,并且使用固定化的金属亲和色谱法(使用Ni Sepharose 6Fast Flow树脂(GE Healthcare;Little Chalfont,United Kingdom),然后在Dubelcco的磷酸盐盐水缓冲液pH7.2(1xDPBS)中进行Superdex200制备尺寸排阻色谱法(SEC)(GE Healthcare),从培养基中纯化可溶性CD33。将排除任何二硫化物聚集体的SEC洗脱级分合并并无菌过滤以产生用于免疫和CD33测定的最终蛋白质。通过A280测定蛋白质浓度,并且通过SDS-PAGE和分析型SEC(Phenomenex;Torrance,Ca)评估纯化蛋白质的质量。内毒素的测量是使用EndoSafe-PTS色谱柱进行的,一种发色的LAL测定(Charles River;Wilmington,MA)。

[0963] 类似地将人CD33 ECD亚结构域蛋白质、hCD33 V结构域-HSA、hCD33V结构域-his、hCD33 C2结构域-HSA和hCD33 C2结构域-His构建、表达和纯化为全长人CD33 ECD。

[0964] 基于Genbank序列XP_005590138.1,还产生了用于免疫和交叉选择性测定的食蟹猴CD33构建体、食蟹猴CD33 ECD-HSA、食蟹猴CD33-His。食蟹猴CD33蛋白质的表达和纯化与人CD33蛋白质相同。

[0965] 根据制造商的条件,使用SureLink Chromagenic Biotin Labeling试剂盒(SeraCare KPL)将用于筛选的CD33抗原在50mM磷酸钠(pH 7.2)中生物素酰化。简而言之,以生物素与蛋白质的4:1摩尔比将25mM的生物素原液添加到CD33蛋白质中,并且在室温下轻轻旋转温育30分钟,然后切换到4℃再持续2小时。通过缓冲液交换到1xDPBS中来移除未掺入的生物素。通过使用NanoDrop在A280nm和A354nm下测量来测定蛋白质浓度和生物素掺入。上述抗原中的每一种的序列参见表40。

[0966] 表40:抗原序列

[0967]

蛋白质名称	蛋白ID	SEQ ID NO
食蟹猴CD33 ECD-HSA	C33W1	236
人CD33 ECD-HSA	C33W2	237
人CD33-V-HSA	C33W3	238
人CD33-C2-HSA	C33W4	239
人CD33-V-His	C33W8	240
人CD33 C2-His	C33W9	241
人CD33 ECD-His	C33W49	242
食蟹猴CD33 ECD-His	C33W50	243
人CD33全长		244
食蟹猴CD33全长		245

[0968] 5-2表达CD33的同基因细胞系的产生

[0969] 使用慢病毒(Genecopoeia;Rockville,Md)产生表达人和食蟹猴CD33的细胞系,该慢病毒含有全长人CD33或食蟹猴CD33和嘌呤霉素用于选择CD33阳性细胞。用慢病毒颗粒转导对CD33呈阴性的HEK293F细胞(ATCC)以过表达人CD33和食蟹猴CD33。在转导后,通过处理合并的细胞选择阳性表达CD33和抗性标记物的细胞,使其在DMEM+10%的HI FBS(Life Technologies)中生长并补充不同浓度的嘌呤霉素(Life Technologies)。

[0970] 除了HEK产生的细胞系之外,还使用了几个商业细胞系进行结合和细胞毒性测定。

这些包括MOLM13、KG1、SH2、OCIAML3和MV411,并且可购自美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection)或德国微生物菌种保藏中心(Deutsche Sammlung von Mikrooranismen und Zellkulturen),并且在37℃、5%的CO_2下在含有10%FBS的完全RPMI培养基中培养。

[0971] 5-3免疫活动

[0972] OmniRat

[0973] 人免疫球蛋白转基因大鼠品系(OmniRat®;Ligand Pharmaceuticals;San Diego,CA)用于培养人CD33单克隆抗体表达型杂交瘤细胞。OmniRat®含有嵌合人/大鼠IgH基因座(包含22个人V_H,全部的人D和J_H片段以天然构型连接至大鼠C_H基因座)连同完整人IgL基因座(连接至Jκ-Cκ的12个Vκ和连接至Jλ-Cλ的16个Vλ)(参见,例如,Osborn等人,2013年,JImmunol,第190卷,第4期,第1481-1490页)。因此,大鼠表现出大鼠免疫球蛋白的表达降低,并且响应于免疫,引入的人重链和轻链转基因经历类别转换和体细胞突变以产生具有完全人可变区的高亲和力嵌合人/大鼠IgG单克隆抗体。授予Bruggemann等人的PCT公布WO 2014/093908中描述了OmniRat®的制备和用途以及由此类大鼠携带的基因组修饰。

[0974] 当用重组人和食蟹猴CD33(分别为huCD33 ECD-HSA和cyno CD33 ECD-HSA)免疫时,该转基因大鼠产生针对人CD33的嵌合人-大鼠IgG抗体,其中一些也与食蟹猴CD33结合。

[0975] 用huCD33 ECD-HSA和cyno CD33 ECD-HSA交替免疫八只OmniRat。在46天免疫方案后,从所有八只OmniRat收获淋巴结并用于产生杂交瘤。使用标准技术经由结合ELISA和AlphaLISA筛选了81个杂交瘤上清液的96孔板,其中选择了128个杂交瘤上清液用于与huCD33 ECD-HSA和cyno CD33 ECD-HSA特异性结合。128个上清液中的大多数也对结合过表达huCD33或cyCD33的细胞呈阳性。

[0976] 仅用rhuCD33免疫六只另外的OmniRat。在31天免疫方案后,从所有六只OmniRat收获淋巴结并用于产生杂交瘤。使用标准技术经由结合ELISA筛选了30个杂交瘤上清液的96孔板,其中选择了94个杂交瘤上清液用于与huCD33 ECD-HSA和cyno CD33 ECD-HSA特异性结合。从阳性克隆制备杂交瘤裂解物并进行到下述v区克隆。

[0977] OmniMouse

[0978] 人免疫球蛋白转基因小鼠品系(OmniMouse®;Ligand Pharmaceuticals)用于培养人CD33单克隆抗体表达型杂交瘤细胞。OmniMouse®包含嵌合人/大鼠IgH基因座以及完全人IgL基因座。因此,小鼠表现出小鼠免疫球蛋白的表达降低,并且响应于免疫,引入的人重链和轻链转基因经历类别转换和体细胞突变以产生具有完全人可变区的高亲和力嵌合人/大鼠IgG单克隆抗体。

[0979] 当用重组人和食蟹猴CD33(分别为huCD33 ECD-HSA和cyno CD33 ECD-HSA)免疫时,该转基因小鼠产生针对人CD33的嵌合人/大鼠IgG抗体,其中一些也与食蟹猴CD33结合。

[0980] 用huCD33 ECD-HSA和cyno CD33 ECD-HSA交替免疫四只OmniMice。在53天免疫方案后,从所有四只OmniMice收获脾脏和淋巴结并用于产生杂交瘤。经由结合ELISA和AlphaLISA筛选了48个杂交瘤上清液的96孔板,其中选择了8个杂交瘤上清液用于与huCD33 ECD-HSA 和cyno CD33 ECD-HSA特异性结合。从阳性克隆制备杂交瘤裂解物并进行到下述v

区克隆。

[0981] V区克隆

[0982] 按照制造商方案,使用RNeasy 96试剂盒(Qiagen;Hilden,Germany)纯化来自杂交瘤细胞裂解物的总RNA,并且使用Drop Sense定量所得的RNA并将其保存在-80℃下,或使用针对RT-PCR的Invitrogen SuperScript III第一链合成系统(Invitrogen;Carlsbad,CA)合成cDNA。使用分别退火至重链、k链和λ链恒定区的基因特异性引物进行第一链cDNA合成。RT-PCR反应混合物由最多3μg纯化RNA、基因特异性引物、dNTP混合物、反应缓冲液、25mM $MgCl_2$、DTT、RNaseOUT™(40U/μL,Invitrogen)和SuperScript™ III RT(200U/μL,Invitrogen目录号18080-051)组成,在50℃下温育50分钟并在85℃下温育5分钟。将所得单链cDNA保存在-20℃下,或者对单链DNA进行PCR扩增。使用Platinum Pfx聚合酶(Invitrogen)进行PCR反应。使用优化的PCR条件,通过分别退火至重链、k链和λ链的前导序列和恒定区的正向引物和反向引物扩增v区片段。将所得的PCR片段在凝胶上电泳并使用预先设计的引物测序以获得V区序列。收集V区序列的所得.abi文件,并通过Janssen Biologics Discovery创建的SangerV区序列分析程序进行分析。将回收的V区的AA序列记录在内部数据库中,优化密码子并克隆到携带所需人抗体同种型IgG1 F405L和IgG4 PAA的适当恒定区的基于pUnder的表达载体中。成功克隆了总共76种OMNIRat抗体和8种OMNIMouse抗体,并继续进一步表征。下表汇总了在OMNIRat活动中确定的前32个序列(见表41)和在OMNIMouse活动中确定的8个序列(见表42),其中将克隆到IgG1中的OMNIRat抗体中的若干种以及IgG4PAA和来自OMNIMouse活动的全部OMNIRat抗体均克隆到IgG1和IgG4PAA两者中。

[0983] 表41:经由OMNIRat中的CD33免疫鉴定的抗体序列

[0984]

mAb	HC ID	HC 同种型	LC ID
C33B46	C33H108	hulgG1F405L	C33L74
C33B48	C33H80	hulgG1F405L	C33L73
C33B52	C33H42	hulgG1F405L	C33L8
C33B54	C33H44	hulgG1F405L	C33L10
C33B55	C33H45	hulgG1F405L	C33L11
C33B56	C33H46	hulgG1F405L	IAPL24
C33B61	C33H48	hulgG1F405L	C33L58
C33B62	C33H49	hulgG1F405L	C33L59
C33B63	C33H51	hulgG1F405L	C33L34
C33B64	C33H52	hulgG1F405L	N46L109
C33B66	C33H55	hulgG1F405L	C33L42
C33B72	C33H65	hulgG1F405L	C33L47
C33B73	C33H66	hulgG1F405L	C33L60
C33B75	C33H70	hulgG1F405L	N46L109
C33B77	C33H72	hulgG1F405L	C33L40
C33B79	C33H74	hulgG1F405L	C33L38
C33B80	C33H76	hulgG1F405L	C33L39
C33B82	C33H78	hulgG1F405L	C33L57
C33B83	C33H81	hulgG1F405L	C33L53
C33B87	C33H87	hulgG1F405L	C33L35
C33B88	C33H88	hulgG1F405L	C33L61
C33B89	C33H90	hulgG1F405L	C33L51
C33B94	C33H98	hulgG1F405L	C33L69
C33B95	C33H98	hulgG1F405L	IAPL24
C33B96	C33H99	hulgG1F405L	C33L37
C33B101	C33H69	hulgG1F405L	C4LL152
C33B107	C33H68	hulgG1F405L	C33L17
C33B120	C33H87	hulgG1F405L	C33L41
C33B122	C33H92	hulgG1F405L	C33L30
C33B123	C33H91	hulgG1F405L	C33L44
C33B124	C33H73	hulgG1F405L	C33L32
C33B125	C33H84	hulgG1F405L	C33L66
C33B760	C33H45	huIgG4 PAA	C33L11
C33B777	C33H65	huIgG4 PAA	C33L47
C33B778	C33H66	huIgG4 PAA	C33L60
C33B782	C33H72	huIgG4 PAA	C33L40
C33B792	C33H87	huIgG4 PAA	C33L35
C33B799	C33H98	huIgG4 PAA	C33L69
C33B806	C33H69	huIgG4 PAA	C4LL152
C33B830	C33H84	huIgG4 PAA	C33L66

[0985]

C33B836	C33H80	huIgG4 PAA	C33L73
C33B937	C33H66	huIgG4 PAA	C33L132

[0986] HC:重链;LC:轻链

[0987] 表42:经由OMNIMouse中的CD33免疫鉴定的抗体序列

[0988]

mAb	HCID	LCID
C33B901	C33H249	C33L115
C33B902	C33H250	C33L116
C33B903	C33H251	C33L117

C33B904	C33H252	C33L118
C33B905	C33H253	C33L119
C33B906	C33H254	C33L120
C33B907	C33H255	C33L121
C33B908	C33H256	C33L122
C33B909	C33H249	C33L115
C33B910	C33H250	C33L116
C33B911	C33H251	C33L117
C33B912	C33H252	C33L118
C33B913	C33H253	C33L119
C33B914	C33H254	C33L120
C33B915	C33H255	C33L121
C33B916	C33H256	C33L122

[0989] HC:重链;LC:轻链

[0990] 5-4Expi293小规模转染和纯化

[0991] 经由小2ml规模表达和纯化在免疫活动和后续v区克隆(到IgG1 F405L和IgG4PAA)中鉴定的抗体。将Expi293™细胞(ThermoFisher Scientific)以1.25×10^{5}至2.25×10^{5}个活细胞/mL的密度接种到Expi293™ Expression Medium中,并在37℃、7%的CO_2摇动培养箱(INFORS HT Multitron Pro)中的聚碳酸酯、一次性、无菌、通风、无挡板的锥形摇动烧瓶中培养。对于125mL至2L摇瓶中的常规细胞生长,对于具有19mm摇动直径的摇动器,将摇动速度设定为130rpm。当密度达到具有98%至99%存活率的3×10^{6}至5×10^{6}个活细胞/mL的对数生长期时,对细胞进行继代培养。

[0992] 在转染当天,测定活细胞密度和存活率百分比。以3×10^{6}个活细胞/mL的密度转染细胞。为了最佳转染,使用TE缓冲液(10mM的Tris-HCl,1mM EDTA,pH 8.0)中0.1mg/mL浓度的无菌重链和轻链质粒DNA。

[0993] 根据制造商的转染方案(ThermoFisher公布号MAN0007814)转染Expi293™细胞。在24孔深孔板(GE Healthcare)中进行转染。简而言之,用0.1mL OptiMEM™培养基(ThermoFisher Scientific)以下列比率稀释质粒DNA:0.250μg重链DNA:0.750μg轻链DNA:0.5μg pAdvantage。将5μLExpiFectamine™ 293转染试剂稀释,用95μLOptiMEM™培养基轻轻混合,并温育1分钟。将稀释的ExpiFectamine™ 293试剂添加至稀释的DNA,轻轻混合,并将ExpiFectamine™ 293/质粒DNA复合物在室温下温育40分钟。在温育后,将1.8mL的Expi293™细胞添加到复合物中,在37℃、7%的CO_2摇动培养箱中温育过夜。

[0994] 在转染后第1天,加入10μL ExpiFectamine™ 293增强剂1和100μL Expifectamine 293™增强剂2,并且将板放回培养箱中再培养5天。在转染后第6天通过以850×G离心15分钟来收获培养物,然后进行纯化。

[0995] 将上文制备的1.7ml的澄清表达上清液转移到新的2ml的96深孔板。通过将800μl的MabSelect SuRe(GE Healthcare)和DPBS-/-浆液的1:4混合物移取到96孔Acroprep Advance 1μm玻璃滤板(Pall)的每个孔中来制备纯化板。向板施加200mbar的真空压力以去除过量的PBS,随后用800μl新鲜PBS洗涤。施加200mbar的真空压力以去除洗涤缓冲液。然后

将澄清的上清液转移到PBS洗涤过的树脂,轻轻混合并温育15分钟。在温育后,施加200mbar的真空压力以去除上清液。将MabSelect SuRe用PBS洗涤三次,再用25mM乙酸钠(pH5)(TEKNOVA;Hollister,CA)洗涤一次,在洗涤之间施加200mbar的真空压力以去除过量的缓冲液。使用0.1M乙酸钠(pH3.5)洗脱结合至树脂的mAb,并温育10分钟以进行有效解离。将滤板置于96深孔板的顶部,并且经由在1000g下离心2分钟将所洗脱的mAb收集在底板中。加入80μl的2.5M Tris乙酸盐(pH7.2)以中和mAb。将mAb透析到96孔DispoDIALYZER板(Harvard Apparatus;Holliston,Ma)中的PBS过夜,转移到96孔Acroprep Advance 0.2μm Supor滤板(Pall;Port Washington,NY),置于96深孔板的顶部,并通过在台式离心机中以1,500g离心15分钟来过滤蛋白质溶液。使用DropSense仪器(Trinean),通过对滤液进行A280测量来确定蛋白质浓度。

[0996] 表43:CD33 mAb重链和轻链可变区

[0997]

HC ID	SEQ ID NO	氨基酸序列
B23H1	246	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVSWIRQPPGKAL EWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMTNMDPVD TATYYCARLYGFTYGFAYWGQGTLVTVSS
CD3H141	247	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLK TEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS
CD3H219	20	QVQLQQSGPRLVRPSQTLSLTCAISGDSVFNNNAAWSWIRQSPSRG LEWLGRTYYRSKWLYDYAVSVKSRITVNPDTSRNQFTLQLNSVTP EDTALYYCARGYSSSFDYWGQGTLVTVSS
C33H42	248	QLQLQESGPGLVNPSETLSHTCTVSGGSISSSSHYWGWIRQPPGKG LEWIGKIYYSGNTYYNPSLKSRVTISIDTSKNQFSLKMSSVTAADTA VYYCARLADVVVVPAARYFDSWGQGTLVTVSS
C33H44	249	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRG LEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVRSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPE DTAVYHCARETMFRGLMDYWGQGTLVTVSS
C33H45	250	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQSPGKGL EWVAVISYDGSNKYCADSVKGRFTISRDNSKSTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKDFRSLDWLPPDSTSYDGMDVWGQGTTVTVSS
C33H46	251	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYAMNWVRQAPGQG LEWMGWINTNTGNPTYAQAFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED TAVYYCARDREVRDYWGQGTLVTVSS
C33H48	252	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIRSTNYYWGWIRQPPGKG LEWIGTIYYSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARLADVVVVPAARYFDYWGQGILVTVSS
C33H49	253	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIRSSGFYWGWIRQPPRKGL EWIGTIYYSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YFCARLADVVVVPAARYFDNWGQGTLVTVSS
C33H51	254	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISTGRYYWGWIRQPPGKG VIWIGNIYYSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLNSVTAADTA VYYCARLGSLVVVPAAMSFDYWGQGTLVTVSS
C33H52	255	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIRGSSYYWGWVRQPPGKG LEWIGSIYSSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA LYYCARLGSLVVVPAAMSFDYWGQGTLVTVSS
C33H55	256	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGRG LEWIGEIYHSGNTNNSPSLKSRVTISADKSKNQFSLKLSSVTAADTA VYFCARIIAVARYFDSWGQGTLVTVSS
C33H65	257	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVVVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE

[0998]

		DTAVYYCAKDFRDFDWLPPDSTSYHGMDVWGQGTTVTVSS
C33H66	258	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE GTAVYYCAKDFRSFDWLPPDSASYHGMDVWGQGTTVTVSS
C33H68	259	EVQLLESGGGLVQPGGSLGLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGL NWVSAIDYSGNDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKESQLLHGLFEHWGQGILVTVSS
C33H69	26	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGL DWIGSINYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKIQFSLKLRSVTAADTAV YYCARLDGYESPFDYWGQGTLVTVSS
C33H70	261	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIRGSSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYSSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARLGSLVVVPAAMSFDYWGQGTLVTVSS
C33H72	262	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKG LEWVANIKQHGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARDRDLGYFDYWGQGTLVTVSS
C33H73	263	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFTFSSYAMTWVRQAPGKGL EWVSTINISGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCTKGGYSSGPFDYWGQGTLVSVSS
C33H74	264	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASRFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVHYCAKDFRSFDWLPPDSASYHGMDVWGQGTTVTVSS
C33H76	265	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYAMSWVRQAPGKGLE WVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDISKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARTYNSGYYDGDFDYWGQGTLVTVSS
C33H78	266	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAE DTAVYYCAKDFRYFDWLPPDSSSYYGMDVWGQGTTVTVSS
C33H80	267	QVQLVQSGSELRKPGASVKVSCKASGYTFTNYAMNWVRQAPGQG LEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSSAYLQISSLKAED TAMYYCATDRDRGTDYWGQGTLVTVSS
C33H81	268	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSAYGMHWVRQAPGKG LEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE GTAVYYCAKDFRSFDWLPPDSASYHGMDVWGQGTTVTVSS
C33H84	269	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKDFRSFDWLPPDSTSYYGMDVWGQGTTVTVSS
C33H87	270	EVQLVESGGGFVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGL EWVANIKQHGSEKYYVDSVKGRFTISRDNVKNSLYLQMNSLRTED TAVYYCARDRDLGYFDYWGQGTLVTVSS
C33H88	271	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTLTRSAMNWVRQAPGQG LEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVFSLDTSVNTAYLLISSLKTED TAVYYCASDILPGYHEDYWGQGTLVTVSS
C33H90	272	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRG LEWLGRTYYRSKWYNDYALSVQSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPE DTAVYYCAREVAVAASFDYWGQGTLVTVSS
C33H91	273	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSHYWGWIRQPPGVG LEWIGSIYYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA

[0999]

		VYYCARLADIVVVPAARYFDYWGQGTLVTVSS
C33H92	274	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIRSSSYYWGWIRQPPGKGP EWIGSIYSSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLISMTAADTAV FYCARLAATIVVPAARYFDCWGQGTLVTVSS
C33H98	275	EVQLVESGGGFVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGL EWVANIKQHGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARDRDLGYFDYWGQGTLVTVSS
C33H99	276	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMTWVRPAPGKGL EWVANIKRDGGEKYYVDSVKGRFTISRDNAANSLYLQMNSLRVE DTAVYYCARPFYDHFDYWGQGTLVTVSS
C33H10 8	277	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFSTYAMNWVRQAPGQG LEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED TAVYYCARDRDRGTDYWGQGTLVTVSS
C33H24 9	278	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCVASGFTFDDYAIHWVRQAPGKGL EWVSGLSWNGGNIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKTED TAFYYCTKDTPYGDYFDYWGQGTLVTVSS
C33H25 0	279	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAGSGFTFDDYAIHWVRQAPGKGL EWVSGLSWNGGNIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQLNSLKTED TAFYYCAKDSPYGDYFDYWGQGTLVTVSS
C33H25 1	280	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKG LEWVSGIGWSGGSIVYADSVKGRFKISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTALYYCAKDSPYGDFFDYWGQGTLVTVSS
C33H25 2	281	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKG LEWVSGIGWSGGSIVYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTALYYCAKDSPYGDFFDYWGQGTLVTVSS
C33H25 3	282	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCTASGFTFRSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAINGYGDGRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYSCAKDQGFGELFFDYWGQGTLVTVSS
C33H25 4	283	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYYGMHWVRQAPDKG LEWVAVIWFDGNNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDRELLFDYWGQGTLVTVSS
C33H25 5	284	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQVPGEG LEWVSGISWNGGDMVYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRP EDTALYYCVKDMPYFDFLTGSDYYYYGMDVWGQGTTVTVSS
C33H25 6	285	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCATSGFTFSNYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWYVGSHKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDGSLCFDYWGQGTLVTVSS
LC ID	SEQ ID NO	氨基酸序列
B23L3	286	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVDYNGISYMHWYQQKPG QPPKLLIYAASNPESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQIIEDPWTFGQGTKVEIK
CD3L66	287	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQA PRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCA LWYSNLWVFGGGTKLTVL
CD3L15	52	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFVSWYQQHPDKAPK

[1000]

0		VLLYEVSKRPSGVSSRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDQADYHCVSY AGSGTLLFGGGTKLTVL
C33L8	288	SYELTQPPSVSVSPGQTASIICSGDKLGNKYACWYQQKPGQSPVLV IYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAVDEADYYCQAWDS STYVFGTGTKVTVL
C33L10	289	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGSNIGSKSVHWYQQKPGQAPVM VVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWD SSSDVVFGGGTKLTVL
C33L11	290	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGHKLGDKYACWYQQKPGQSPVV VIYKDSKRPSGIPERFSGSNFGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWD SSTVVFGGGTKLTVL
IAPL24	291	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLV IYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDS STVVFGGGTKLTVL
C33L58	292	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLV IYQDYKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDS STYVFGTGTKVTVL
C33L59	293	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLV IYQDYKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQTMDEADYYCQAWDI STYVFGTGTKVTVL
C33L34	294	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQLRPGQSPILVI YQDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TWVFGGGTKLTVL
N46L10 9	295	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLV IYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDS STWVFGGGTKLTVL
C33L42	296	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGIKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSDRPPGIPERFSGSNSGNTATLTITRVEAGDEADYYCQVWDS SSDHVVFGGGTKLTVL
C33L47	297	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVV VIYQDRKRPSGIPERFSGSNFGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWD SSTVVFGGGTKLTVL
C33L60	298	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLV IYQDGKRPSGIPERFSGSNFGNKATLTISGTQAMDEADYYCQAWD RNTVVFGGGTKLTVL
C33L17	299	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQK AGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFILIISSLQAEDVAVY YCQQYYGTPWTFGQGTKVEIK
C4LL15 2	300	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSF PFTFGPGTKVDIK
C33L40	301	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGNKLGAKFASWYQQKPGQSPVLV IYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAVDEADYYCQAWDS STVVFGGGTKLTVL
C33L32	302	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYVRWYQQKTGQSPVL VMYQDSKRPSGIRERFYGSNSGNTATPTISGTQAVDEAEYYCQAW DSSTGVVFGGGTKLTVL
C33L38	303	SYELTQPPSVSVPPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLV

[1001]

		IYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWGR NTVVFGGGTKLTVL
C33L39	304	QSALTQPASVSGSPGQSIPISSTGTSSDDGKNNIVSWYQQHPGKAPK LMIYKDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQADDEADYHCCSY AGASNHVVFGGGTKLTVL
C33L57	305	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDELGNKYACWYQQKPGQSPVVV VYQDRKRPSGIPERFSGSNFGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWD SSTVVFGGGTKLTVL
C33L73	306	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGDYNYVSWYQQHPGKVP KLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSMSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSS YSSSSALEVFGGGTKLTVL
C33L53	307	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLV IYQDNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDS NTVVFGGGTKLTVL
C33L66	308	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYVCWYQQKPGQSPVV VIHQDRKRPSGIPERFSGSNFGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWD SSTVVFGGGTKLTVL
C33L35	309	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGNKYASWYQQKPGQSPVLV IYQDTKRPSGIPERVSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYHCQAWDS STVVFGGGTKLTVL
C33L61	310	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGINSDVGSYDLVSWYQQHPGKAP KLLIYDGSERPSGVFGRFSGSKSDNTTSLTISGLQAEDEAAYYCCSY EVTTTYVVFGGGTKLTVL
C33L51	311	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWSQQKPGQAPVLV VYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDS NSDHVVFGGGTKLTVL
C33L44	312	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLV IYQDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISETQAMDEADYYCQAWDS STYVFGTGTKVTVL
C33L30	313	SYELTQPPSVSVSPGQTVSISCSGDRLGDKYACWYQQKPGQSPVLV IYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDS SSYVFGTGTKVTVL
C33L69	314	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGSKFACWYQQKPGQSPVLVI YQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
C33L37	315	SYVLTQPPSVAVAPGQTARITCGGSNIGKISVHWYQQKAGQAPVL VVHDDRARPSGIPERLSGSNSGTTATLTISRVEVGDEADYYCQVW NSSSVHPVFGGGTKLTVL
C33L74	316	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGDDNYVSWYQQHPGKAP KLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQSEDEADYYCSS YSSSTTLEVFGGGTKLTVL
C33L11 5	317	DIQMTQSPSSVWASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQQPGKAPN LLIYRSSSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQDNS FPYTFGQGTKLEIK
C33L11 6	318	DIQMTQSPSSEWASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYGASSWQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQDN SFPYTFGQGTKLEIK
C33L11	319	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQTVLYSSNNKNYLAWYQQK

7		PGQPPKLLISWASTRKSGVPDRFSGSGSGTDFTLTVSSLQAEDVAVYYCQHYYSTPYTFGQGTKLEIK
C33L118	320	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQTVFYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLISWASTRKSGVPDRFSGSGSGTDFTLTVSSLQAEDVAVYYCQHYYSTPYTFGQGTKLEIK
C33L119	321	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYCCQQYNSYPWTFGQGTKVEIK
C33L120	322	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDELGDMYACWYQQKPGQSPLVVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEAAYYCQTWDTRIAVFGGGTNLTVL
C33L121	323	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNLGNEHVCWYHQKPGQSPVLVIYQNNKRPSGIPERFSGSNSGNTATLSISGTQATDEADYYCQAWDSTTAVFGGGTKLTVL
C33L122	324	SYELTQPPSVSVSPGQTANISCSGVTLGYNYAYWYQQKPGQSPILVISQDTQRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEAAYYCQAWDITTVLFGGGTKLTVL
C33L132	325	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYASWYQQKPGQSPVLVIYQDGKRPSGIPERFSGSNFGNKATLTISGTQAMDEADYYCQAWDRNTVVFGGGTKLTVL
C33L41	326	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGNKYASWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGTKLTVL

[1002]

[1003] 表44:CD33 mAb重链CDR1-3序列

HC ID	CDR1	ID	CDR2	ID	CDR3	ID
B23H1	GFSLSTSGMG	327	IYWDDDK	368	ARLYGFTYGFAY	409
CD3H141	GFTFNTYA	328	IRSKYNNYAT	369	ARHGNFGNSYVSWFAY	410
CD3H219	GDSVFNNNAA	329	TYYRSKWLY	370	ARGYSSSFDY	411
C33H42	GGSISSSSHY	330	IYYSGNT	371	ARLADVVVVPAARYFDS	412
C33H44	GDSVSSNSAA	331	TYYRSKWYN	372	ARETMFRGLMDY	413
C33H45	GFTFSSYG	332	ISYDGSNK	373	AKDFRSLDWLPPDSTSYDGMDV	414
C33H46	GYTFTNYA	333	INTNTGNP	374	ARDREVRDY	415
C33H48	GGSIRSTNYY	334	IYYSGNT	375	ARLADVVVVPAARYFDY	416
C33H49	GGSIRSSGFY	335	IYYSGNT	376	ARLADVVVVPAARYFDN	417
C33H51	GGSISTGRYY	336	IYYSGNT	377	ARLGSLVVVPAAMSFDY	418

[1004]

[1005]

C33H52	GGSIRGSSYY	337	IYSSGNT	378	ARLGSLVVVPAAMSFDY	419
C33H55	GGSISSSNW	338	IYHSGNT	379	ARIIAVARYFDS	420
C33H65	GFTFSSYG	339	ISYDGSNK	380	AKDFRDFDWLPPDSTSYHGMDV	421
C33H66	GFTFSSYG	340	ISYDGSNK	381	AKDFRSFDWLPPDSASYHGMDV	422
C33H68	GFTFSGYA	341	IDYSGNDT	382	AKESQLLHGLFEH	423
C33H69	GGSISSSSYY	342	INYSGST	383	ARLDGYESPFDY	424
C33H70	GGSIRGSSYY	343	IYSSGNT	384	ARLGSLVVVPAAMSFDY	425
C33H72	GFTFSSYW	344	IKQHGSEK	385	ARDRDLGYFDY	426
C33H73	RFTFSSYA	345	INISGGST	386	TKGGYSSGPFDY	427
C33H74	RFTFSSYG	346	ISYDGSNK	387	AKDFRSFDWLPPDSASYHGMDV	428
C33H76	GFTFNYA	347	ISGSGGST	388	ARTYNSGYYDGDFDY	429
C33H78	GFTFSSYG	348	ISYDGSNK	389	AKDFRYFDWLPPDSSSYYGMDV	430
C33H80	GYTFTNYA	349	INTNTGNP	390	ATDRDRGTDY	431
C33H81	GFTFSAYG	350	ISYDGSNK	391	AKDFRSFDWLPPDSASYHGMDV	432
C33H84	GFTFSSYG	351	ISYDGSNK	392	AKDFRSFDWLPPDSTSYYGMDV	433
C33H87	GFTFSSYW	352	IKQHGSEK	393	ARDRDLGYFDY	434
C33H88	GYTLTRSA	353	INTNTGNP	394	ASDILPGYHEDY	435
C33H90	GDSVSSNSAA	354	TYYRSKWYN	395	AREVAVAASFDY	436
C33H91	GGSISSRSHY	355	IYYTGST	396	ARLADIVVVPAARYFDY	437
C33H92	GGSIRSSSYY	356	IYSSGNT	397	ARLAATIVVPAARYFDC	438
C33H98	GFTFSSYW	357	IKQHGSEK	398	ARDRDLGYFDY	439
C33H99	GFTFSSYW	358	IKRDGGEK	399	ARPFYDHFDY	440
C33H108	GYTFSTYA	359	INTNTGNP	400	ARDRDRGTDY	441
C33H249	GFTFDDYA	360	LSWNGGNI	401	TKDTPYGDYFDY	442

C33H250	GFTFDDYA	361	LSWNGGNI	402	AKDSPYGDYFDY	443
C33H251	GFTFDDYA	362	IGWSGGSI	403	AKDSPYGDFFDY	444
C33H252	GFTFDDYA	363	IGWSGGSI	404	AKDSPYGDFFDY	445
C33H253	GFTFRSYA	364	INGYGDGR	405	AKDQGFGELFFDY	446
C33H254	GFTFSYYG	365	IWFDGNNK	406	ARDRELLFDY	447
C33H255	GFTFDDYA	366	ISWNGGDM	407	VKDMPYFDFLTGSDYYYYGMDV	448
C33H256	GFTFSNYG	367	IWYVGSHK	408	ARDGSLCFDY	449

[1006]

[1007] 表45:CD3 mAb轻链CDR1-3序列

LC ID	CDR1	ID	CDR2	ID	CDR3	ID
B23L3	QSVDYNGISY	450	AAS	492	QQIIEDPWT	534
CD3L66	TGAVTTSNY	451	GTN	493	ALWYSNLWV	535
CD3L150	SSNIGTYKF	452	EVS	494	VSYAGSGTLL	536
C33L8	KLGNKY	453	QDS	495	QAWDSSTYV	537
C33L10	NIGSKS	454	DDS	496	QVWDSSSDVV	538
C33L11	KLGDKY	455	KDS	497	QAWDSSTVV	539
IAPL24	KLGDKY	456	QDS	498	QAWDSSTVV	540
C33L58	KLGDKY	457	QDY	499	QAWDSSTYV	541
C33L59	KLGDKY	458	QDY	500	QAWDISTYV	542
C33L34	KLGDKY	459	QDS	501	QAWDSSTWV	543
N46L109	KLGDKY	460	QDS	502	QAWDSSTWV	544
C33L42	NIGIKS	461	DDS	503	QVWDSSSDHVV	545
C33L47	KLGDKY	462	QDR	504	QAWDSSTVV	546
C33L60	KLGDKY	463	QDG	505	QAWDRNTVV	547
C33L17	QSVLYSSNNKNY	464	WAS	506	QQYYGTPWT	548
C4LL152	QGISSW	465	AAS	507	QQANSFPFT	549
C33L40	KLGAKF	466	QDN	508	QAWDSSTVV	550
C33L32	KLGDKY	467	QDS	509	QAWDSSTGVV	551
C33L38	KLGDKY	468	QDN	510	QAWGRNTVV	552
C33L39	SSDDGKNNI	469	KDS	511	CSYAGASNHVV	553
C33L57	ELGNKY	470	QDR	512	QAWDSSTVV	554
C33L73	SSDVGDYNY	471	DVS	513	SSYSSSSALEV	555
C33L53	KLGDKY	472	QDN	514	QAWDSNTVV	556
C33L66	KLGDKY	473	QDR	515	QAWDSSTVV	557
C33L35	KLGNKY	474	QDT	516	QAWDSSTVV	558
C33L61	NSDVGSYDL	475	DGS	517	CSYEVTTTYVV	559
C33L51	NIGSKS	476	DDS	518	QVWDSNSDHVV	560
C33L44	KLGDKY	477	QDS	519	QAWDSSTYV	561

[1008]

[1009]

C33L30	RLGDKY	478	QDS	520	QAWDSSSYV	562
C33L69	KLGSKF	479	QDS	521	QAWDSSTVV	563
C33L37	NIGKIS	480	DDR	522	QVWNSSSVHPV	564
C33L74	SSDVGDDNY	481	DVS	523	SSYSSSTTLEV	565
C33L115	QGISSW	482	RSS	524	QQDNSFPYT	566
C33L116	QGISSW	483	GAS	525	QQDNSFPYT	567
C33L117	QTVLYSSNNKNY	484	WAS	526	QHYYSTPYT	568
C33L118	QTVFYSSNNKNY	485	WAS	527	QHYYSTPYT	569
C33L119	QSISSW	486	KAS	528	QQYNSYPWT	570
C33L120	ELGDMY	487	QDS	529	QTWDTRIAV	571
C33L121	NLGNEH	488	QNN	530	QAWDSTTAV	572
C33L122	TLGYNY	489	QDT	531	QAWDITTVL	573
C33L132	KLGDKY	490	QDG	532	QAWDRNTVV	574
C33L41	KLGNKY	491	QDS	533	QAWDSSTVV	634

[1010] 5-5抗CD33 mAb的表征

[1011] 经由免疫鉴定、克隆的v区并随后表达和纯化的OMNIRat抗体进一步表征与表达CD33的细胞结合以及与重组抗原结合。评估所纯化的抗体与稳定转染的表达人CD33或食蟹猴CD33(如上所述产生)的HEK293F细胞以及作为阴性对照的亲本HEK293F的结合。使用非酶解离缓冲液(Thermo Scientific)从组织培养瓶收获细胞。将烧瓶用PBS冲洗两次,并将解离缓冲液添加到烧瓶中,然后将烧瓶在37℃下温育10分钟,直到细胞变为非贴壁的。将细胞以300g离心5分钟,并以1.0×10^6个细胞/ml重悬于染色缓冲液(Becton Dickinson;Franklin Lakes,NJ)中。将每种细胞类型的50,000个细胞/孔接种于圆底板(Becton Dickinson)中的50μl染色缓冲液中。以3倍稀释度和零(120nM、12nM、1.2nM和0nM)的浓度加入50μl2x浓度的测试mAb或同种型对照,将所得溶液在4℃下温育30分钟。将100μl染色缓冲液加入每个板的所有孔中,将板以300g离心5分钟,去除缓冲液,将200μl染色缓冲液加入每个板的所有孔中,将板以300g离心5分钟,并去除缓冲液。将50μl的2μg/ml的山羊抗人FcAF647二抗(Jackson Immunoresearch;West Grove,PA)加入平板的所有孔中,并将平板在4℃下温育30分钟。将100μl染色缓冲液加入板的所有孔中,将板以300g离心5分钟,并去除缓冲液。将200μl运行缓冲液(运行缓冲液为染色缓冲液、1mMEDTA、0.1%古洛糖醛酸)添加到板的所有孔中,将板以300g离心5分钟,并去除缓冲液。将含有Sytox Green live/dead染料(ThermoFisher)的30μl运行缓冲液添加到具有细胞的所有孔中,并在iQue IntelliCyt流式细胞仪上对板进行读数。在前向与侧向散射中对细胞进行门控以消除碎片,然后对单峰进行门控,然后对排除了Sytox染色的活细胞进行门控。通过AF647通道中的平均荧光强度来评估抗体结合。

[1012] 为了开始评估所纯化的mAb的生物物理结合特性,进行解离速率筛选。测试76种OMNIRat抗CD33 mAb与重组人CD33 ECD-HSA(C33W2)和食蟹猕猴CD33 ECD-HSA(C33W1)蛋白(Janssen生产)的结合,并且通过IBIS MX96 SPRi阵列平台(Carterra;Newton,PA)测量解离速率。在IBIS仪器中使用缔合时间为10分钟的CMD50m传感器芯片(Xantec,lot CMD50m0415.a),经由100g/mL的氨基偶联将山羊抗人Fc IgG(Jackson Immunoresearch,目录号109-005-098)直接固定在乙酸盐缓冲液(pH4.5)中。达到约9000Rus的平均GAH-Fc固定水平。将传感器芯片转移到连续流微点滴器(CFM)单元以10μg/ml捕获每种抗CD33 mAb10分钟。通过单循环动力学在不再生的情况下测量对IBIS SPRi的结合。使用PBST(具有0.005%

Tween的PBS)作为运行缓冲液,按顺序从低浓度(0.46nM)到高浓度(3μM)注射每个抗原浓度系列(3μM,3倍稀释系列)以5分钟的缔合时间和15分钟的解离时间结合所捕获的mAb。引用原始结合数据(.trix文件格式)并用SprintX软件(Wasatch,1.9.3.2版本)进行比对,然后导出(.ibmx文件格式)到Scrubber软件(2.0版本)进行1:1结合动力学分析(Wasatch,2.0.0.33版本)以提取k_{off}结果。

[1013] 下表46汇总了通过与表达人和食蟹猕猴CD33的细胞系以及与重组抗原(其中抗原中的一种抗原的解离速率至少>10e-3)的结合而评估的前32个克隆。在这32个克隆中,除4种之外的所有克隆均显示出可测量的与表达人或食蟹猴的细胞的结合。经由表位分箱和完全动力学分析进一步表征所有32个克隆。

[1014] 表46.来源于OMNIRat的抗CD33抗体的细胞结合和解离速率分析

[1015]

蛋白质 AA ID	Mon %	60nM CD33	6nM CD33	0.6nM CD33	0nM CD33	K_D
C33B48	91.96	400995.84	428948.75	391157.69	91.12	5.47E-05
C33B73	100.00	201493.02	33443.28	4034.64	93.98	9.12E-05
C33B125	98.48	258779.13	79728.78	9203.75	78.26	1.54E-04
C33B55	96.39	188278.42	59155.10	7625.56	105.39	2.15E-04
C33B96	98.75	476040.28	475653.41	187925.80	55.23	2.28E-04
C33B124	100.00	798.33	126.37	90.26	172.03	2.38E-04

[1016]

C33B72	96.94	328194.72	105474.59	12506.85	93.32	2.84E-04
C33B79	100.00	236644.03	41925.89	4988.81	77.78	3.28E-04
C33B77	92.11	241787.16	88691.05	11484.97	69.46	3.37E-04
C33B82	96.21	188508.56	41264.92	5033.60	73.44	3.41E-04
C33B87	100.00	242185.48	79532.87	12547.05	73.65	3.52E-04
C33B80	98.33	5799.64	409.97	114.93	88.88	3.84E-04
C33B101	96.91	268805.28	204984.16	35513.63	70.07	3.98E-04
C33B83	98.07	92956.55	7856.70	1020.48	87.37	4.61E-04
C33B46	95.81	509865.97	447627.97	418017.22	134.53	4.67E-04
C33B94	98.31	200142.00	93852.22	13274.87	89.59	5.38E-04
C33B88	98.36	393148.13	481100.91	274293.53	94.81	8.25E-04
C33B66	98.71	444680.31	313288.41	56628.04	129.73	8.59E-04
C33B120	97.63	190036.14	60357.11	7054.28	92.94	1.40E-03
C33B64	98.13	200158.36	54138.77	7556.04	114.85	1.71E-03
C33B52	96.76	196557.09	46286.13	6751.01	82.46	3.13E-03
C33B56	95.59	143.73	79.73	111.95	138.04	4.02E-03
C33B75	98.68	163795.25	29603.57	4517.81	95.94	4.16E-03
C33B107	96.90	375388.25	339798.53	161369.64	86.54	4.44E-03
C33B63	98.79	247758.77	62221.71	9671.48	86.34	4.57E-03
C33B95	97.77	154556.58	44354.07	6402.00	87.38	5.99E-03
C33B61	98.87	198777.34	38699.10	5308.45	79.84	6.71E-03
C33B89	100.00	315.38	119.12	65.61	70.94	8.11E-03
C33B122	98.49	259183.69	84281.03	14291.17	65.01	8.74E-03
C33B62	99.05	157786.36	37359.44	6092.03	75.00	1.00E-02
C33B123	95.08	224078.95	88155.99	8864.39	71.05	1.03E-02
C33B54	100.00	147753.30	27461.06	3766.69	61.26	2.48E-02

[1017] 表46,续:

[1018]

蛋白质 AA ID	60nM 食蟹猴 CD33	6nM 食蟹猴 CD33	0.6nM 食蟹猴 CD33	0nM 食蟹猴 CD33	结合 K_D 的食蟹猴 CD33
C33B48	56491.32	47326.85	43351.12	94.01	1.20E-04
C33B73	14799.14	6987.92	795.57	72.51	4.08E-04
C33B125	15603.45	11526.47	3458.27	70.22	3.51E-04
C33B55	16020.78	9994.42	2433.94	69.38	1.16E-04
C33B96	37273.19	20087.29	11574.59	86.31	8.19E-04
C33B124	593.00	132.19	77.26	98.41	4.77E-04
C33B72	19422.07	13975.14	3894.84	90.81	7.63E-04
C33B79	15538.97	6427.73	1082.85	63.59	6.82E-03
C33B77	17516.20	11665.49	3601.76	85.23	4.18E-04
C33B82	14269.38	6622.07	1540.09	84.24	6.70E-04
C33B87	19597.18	12652.44	3266.36	103.07	2.28E-04
C33B80	4612.58	248.60	108.93	82.38	2.66E-04
C33B101	48016.75	46115.96	17989.37	79.69	1.06E-04
C33B83	5304.40	687.44	159.37	87.35	2.17E-03

[1019]

C33B46	49840.14	49816.36	49729.78	92.05	1.48E-04
C33B94	16126.84	10782.54	3183.70	87.82	5.37E-04
C33B88	50388.18	43928.95	43940.23	90.13	3.89E-04
C33B66	48905.04	49076.39	42160.22	77.96	9.33E-05
C33B120	13211.32	7865.37	2726.18	75.77	8.54E-04
C33B64	21109.59	9685.04	3102.56	99.82	1.21E-03
C33B52	12582.90	8444.39	2063.44	75.24	1.20E-03
C33B56	104.27	85.94	78.56	83.31	8.46E-04
C33B75	12194.41	5577.80	1709.40	124.32	1.20E-03
C33B107	50325.07	47810.05	36786.69	55.11	1.35E-04
C33B63	18322.71	11642.38	2879.89	87.94	9.47E-04
C33B95	14774.34	9594.12	1637.99	80.81	6.98E-03
C33B61	13552.71	8211.09	1595.90	106.84	1.83E-03
C33B89	47301.14	34193.78	23334.20	112.80	4.65E-05
C33B122	19740.29	13907.32	5838.25	82.53	1.45E-03
C33B62	12737.71	5620.17	1922.97	934.44	1.32E-03
C33B123	10665.93	10404.03	3232.18	61.08	2.74E-03
C33B54	50466.68	43011.75	38091.89	28785.80	1.35E-04

[1020] 然后进一步表征这批mAb以用于完全亲和力分析以及表位分箱。通过ProteOn SPR (Bio-Rad)测量抗CD33 mAb与重组人CD33 ECD-HSA(C33W2)和食蟹猴CD33 ECD-HSA(C33W1)的结合。经由30μg/mL的氨基偶联将山羊抗人FcIgG(Jackson Immunoresearch,目录号109-005-098)直接固定在乙酸盐缓冲液(pH5.0)中,在GLC传感器芯片(Bio-Rad,目录号176-5011)上垂直取向的所有6个配体通道上,流速为30μL/min,在含0.005%Tween-20的PBS中。固定密度平均为约5000应答单位(RU),在不同通道之间具有小于5%的变化。在垂直的配体取向上不同的mAb以0.25μg/ml或0.5μg/ml(160RU至300RU)捕获在抗人Fc IgG表面上,其中第6配体通道作为无配体表面对照。在5倍浓度的3倍稀释系列中,0.3μM浓度的人和食蟹猴CD33-HSA蛋白质作为被分析物飞入,从而在水平取向上与捕获的mAb结合。还在第6通道中注入缓冲液样本以监测捕获的mAb的解离和基线稳定性。以100μL/min的流速监测所有浓度的人和食蟹猴CD33-HSA的解离阶段,持续15分钟以与C33B782结合,持续60分钟以与C33B912结合(与具有hIgG4的C33B904相同),然后使用0.85%磷酸的18秒脉冲再生以去除抗原和所结合的mAb。在从以下减去应答数据之后,通过双重参考处理原始结合数据:1)校

正Ag和空芯片表面之间的非特异性相互作用的中间点;2)校正由于捕获mAb表面随时间的解离所致的基线漂移的缓冲液通道。将每种mAb在所有抗原浓度下的处理数据全局拟合到1:1简单的朗缪尔结合模型,以提取动力学(k_{on},k_{off})和亲和力(K_d)常数的估计值。

[1021] 为了确定这批mAb是否全部结合1个不同的表位或是否存在广泛的表位覆盖率,进行表位分箱实验。使用CMD-200M传感器棱镜芯片,在IBIS SPRi仪器(Carterra)上进行CD33 mAb的竞争性表位分箱。使用单独的连续流微点滴器(CFM),经由氨基偶联将每种抗CD33抗体以10μg/ml直接固定在芯片上的乙酸盐缓冲液(pH4.5)中。然后将印刷的传感器芯片转移到IBIS仪器,使用经典或"夹置"分箱格式进行分箱分析。通过依次注射50nM的人CD33 ECD-HSA(C33W2),然后在133nM的溶液中作为竞争性分析物注射单次抗CD33mAb以在抗原和抗体的每个顺序注射循环之后使固定的抗CD33 mAb与表面再生结合来进行分箱。

[1022] 为了监测再生前后固定化mAb的活性,在实验开始和结束时进行无任何竞争mAb的缓冲液注射以测量抗原单独的结合活性。竞争mAb结合相对于缓冲液(单独的抗原)结合的应答指示溶液中的抗体是阻断还是将抗原夹置结合在固定的mAb。引用原始分箱数据(.trix文件格式)并使用SprintX软件(Wasatch,1.9.3.2版本)归零,然后将其导出(.ibmx文件格式)到分箱软件HtTools.exe(Wasatch,2.0.0.33版本)用于分析。通过移除抗原应答低于20RU的抗体和不自身阻断的抗体来处理数据。竞争mAb应答相对于单独的抗原结合应答进行归一化。归一化应答<0.25的抗体表示阻断剂,归一化应答≥0.25的抗体表示非阻断剂/夹置剂。在组合树状图上使用高度2.5处的切口来预测不同的箱。

[1023] 下表汇总了32种所选mAb的完全动力学分析和表位分箱。总共有8个抗CD33 mAb对人和食蟹猕猴CD33均具有亚纳摩尔亲和力,并且这些mAb对应于3个不同的表位箱,而较大的一批具有一系列亲和力和7个不同的表位箱。

[1024] 表47.来源于OMNIRat的mAb的全动力学分析和表位分箱

[1025]

人 CD33 ECD-HSA					
蛋白质 AA ID	V 区 ID	ka (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	表位箱
C33B48	C33F53	1.62E+06	1.82E-05	1.12E-11	1

C33B46	C33F51	1.45E+06	1.99E-03	1.38E-09	1
C33B66	C33F71	3.85E+04	2.03E-03	5.29E-08	1
C33B107	C33F112	结合/无拟合	结合/无拟合	结合/无拟合	1
C33B88	C33F93	结合/无拟合	结合/无拟合	结合/无拟合	1
C33B96	C33F101	2.26E+05	4.36E-04	1.92E-09	3
C33B101	C33F106	1.62E+05	1.08E-03	6.64E-09	3
C33B73	C33F78	5.59E+05	5.59E-05	1.00E-10	4
C33B125	C33F130	9.92E+05	1.34E-04	1.40E-10	4
C33B55	C33F60	9.85E+05	2.53E-04	2.60E-10	4
C33B82	C33F87	4.45E+05	2.70E-04	6.10E-10	4
C33B83	C33F88	2.70E+05	5.21E-04	1.93E-09	4
C33B75	C33F80	3.85E+05	4.41E-03	1.14E-08	4
C33B123	C33F128	1.02E+06	1.52E-02	1.48E-08	4
C33B52	C33F57	2.06E+05	3.96E-03	1.92E-08	4
C33B61	C33F66	4.89E+05	1.05E-02	2.14E-08	4
C33B62	C33F67	5.07E+05	1.26E-02	2.49E-08	4
C33B64	C33F69	4.33E+05	2.21E-03	5.10E-09	4
C33B63	C33F68	5.33E+05	3.74E-03	7.01E-09	4
C33B122	C33F127	7.47E+05	7.12E-03	9.53E-09	4
C33B72	C33F77	8.71E+05	2.00E-04	2.30E-10	5
C33B79	C33F84	5.15E+05	3.90E-04	7.60E-10	5
C33B77	C33F82	8.28E+05	2.62E-04	3.20E-10	6
C33B87	C33F92	7.20E+05	4.32E-04	6.00E-10	6
C33B94	C33F99	9.22E+05	5.85E-04	6.30E-10	6
C33B95	C33F100	4.82E+05	7.40E-03	1.54E-08	6
C33B120	C33F125	5.75E+05	1.68E-03	2.93E-09	6
C33B89	C33F94	低结合	低结合	低结合	8
C33B54	C33F59	低结合	低结合	低结合	9
C33B124	C33F129	3.57E+05	1.24E-04	3.50E-10	NB
C33B80	C33F85	3.23E+05	4.25E-04	1.32E-09	NB
C33B56	C33F61	低结合	低结合	低结合	NB

[1026]

[1027] 表47,续。

食蟹猴 CD33 ECD-HSA					
蛋白质 AA ID	V 区 ID	ka（1/Ms）	k_d（1/s）	K_D（M）	表位箱
C33B48	C33F53	4.31E+06	1.58E-04	3.66E-11	1
C33B46	C33F51	2.97E+06	3.75E-04	1.26E-10	1
C33B66	C33F71	1.22E+06	2.66E-04	2.17E-10	1
C33B107	C33F112	3.31E+05	7.01E-05	2.12E-10	1
C33B88	C33F93	结合/无拟合	结合/无拟合	结合/无拟合	1
C33B96	C33F101	结合/无拟合	结合/无拟合	结合/无拟合	3
C33B101	C33F106	2.25E+05	2.69E-04	1.20E-09	3
C33B73	C33F78	6.00E+05	5.08E-04	8.46E-10	4

[1028]

[1029]

C33B125	C33F130	1.12E+06	3.39E-04	3.04E-10	4
C33B55	C33F60	1.16E+06	8.37E-05	7.23E-11	4
C33B82	C33F87	5.45E+05	7.51E-04	1.38E-09	4
C33B83	C33F88	2.47E+05	2.88E-03	1.17E-08	4
C33B75	C33F80	6.16E+05	1.32E-03	2.15E-09	4
C33B123	C33F128	1.26E+06	3.39E-03	2.69E-09	4
C33B52	C33F57	3.13E+05	1.48E-03	4.74E-09	4
C33B61	C33F66	7.34E+05	1.62E-03	2.21E-09	4
C33B62	C33F67	8.05E+05	1.49E-03	1.85E-09	4
C33B64	C33F69	5.90E+05	1.01E-03	1.71E-09	4
C33B63	C33F68	7.23E+05	8.80E-04	1.22E-09	4
C33B122	C33F127	结合/无拟合	结合/无拟合	结合/无拟合	4
C33B72	C33F77	9.19E+05	5.40E-04	5.87E-10	5
C33B79	C33F84	5.48E+05	2.20E-03	4.01E-09	5
C33B77	C33F82	1.08E+06	2.66E-04	2.47E-10	6
C33B87	C33F92	1.12E+06	2.64E-04	2.36E-10	6
C33B94	C33F99	1.10E+06	5.20E-04	4.73E-10	6
C33B95	C33F100	8.44E+05	8.06E-03	9.56E-09	6
C33B120	C33F125	8.76E+05	9.02E-04	1.03E-09	6
C33B89	C33F94	2.65E+05	2.01E-04	7.60E-10	8
C33B54	C33F59	1.32E+06	6.37E-04	4.84E-10	9
C33B124	C33F129	4.67E+05	4.72E-04	1.01E-09	NB
C33B80	C33F85	4.92E+05	2.59E-04	5.27E-10	NB
C33B56	C33F61	低结合	低结合	低结合	NB

[1030] OmniMouse批次(总计8种mAb)是单独产生的并进一步表征了与细胞的结合。如上所述进行细胞结合并汇总于下表中。在所测试的8种mAb中,6种直接与表达CD33的细胞结合,而2种不与表达CD33的细胞结合。

[1031] 表48.来源于OMNIMouse的mAb与表达人和食蟹猴的细胞系的细胞结合

[1032]

	亲本				人 CD33			
mAb	60nM	6nM	0.6nM	0nM	60nM	6nM	0.6nM	0nM
C33B909	253.50	206.04	169.77	119.51	176.49	170.25	154.00	191.28
C33B910	193.52	176.14	108.46	190.17	213.55	183.33	151.25	155.29
C33B911	1466.02	389.41	186.22	113.30	237954.27	100333.48	13501.02	114.07
C33B912	977.91	273.07	140.62	124.53	237140.86	101295.70	15726.96	149.54
C33B913	174.49	118.0	123.2	129.0	518952.0	409071.0	204694.1	127.8
C33B914	181.37	142.74	139.10	113.48	304350.88	315129.56	153252.58	185.45
C33B915	101.28	147.65	143.51	100.00	390477.25	362902.66	138398.56	112.22
C33B916	416.08	145.16	115.70	91.75	447815.47	404033.19	192941.55	167.07

[1033]

[1034] 表48,续:

[1035]

	食蟹猴 CD33			
mAb	60nM	6nM	0.6nM	0nM
C33B909	180.33	135.33	115.73	124.03
C33B910	202.42	135.18	116.71	175.97
C33B911	17036.56	7729.14	1935.16	97.94
C33B912	15070.88	7271.38	1726.03	124.69
C33B913	40661.90	36920.95	35224.10	106.19
C33B914	44964.85	33368.26	22086.01	86.76
C33B915	37495.34	35692.21	36165.59	113.92
C33B916	41004.43	33294.78	22790.61	104.43

[1036] 使用上述和下表中汇总的方法,经由对重组抗原的完全动力学分析,对细胞上结合CD33的6种mAb进行进一步生物物理表征。在测试的6种mAb中,1种与人CD33结合为皮摩尔亲和力(C33B912),对食蟹猴CD33具有亚摩尔亲和力,而1种对人CD33具有非常强的亲和力,但对食蟹猴CD33(C33B911)仅具有纳摩尔亲和力。对于人和食蟹猴CD33(C33B913和C33B916),另外两种克隆是亚纳摩尔亲和力,但亲和力均不在C33B912的范围内。

[1037] 表49.来源于OMNIMouse的mAb的完全动力学分析

[1038]

	人 CD33 ECD-HSA			食蟹猴 CD33 ECD-HSA		
mAb	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
C33B911	1.10E+06	4.14E-05	3.78E-11	1.15E+06	1.15E-03	1.00E-09
C33B912	1.42E+06	4.29E-05	3.02E-11	1.50E+06	6.50E-04	4.33E-10
C33B913	6.60E+05	6.40E-04	9.69E-10	2.56E+06	3.08E-04	1.20E-10
C33B914	4.44E+05	9.80E-03	2.21E-08	5.29E+05	2.33E-04	4.40E-10

[1039]

C33B915	2.18E+05	9.89E-04	4.53E-09	3.81E+06	8.93E-05	2.34E-11
C33B916	6.27E+05	4.11E-04	6.55E-10	4.73E+05	4.03E-04	8.52E-10

[1040] 对来源于OMNIMouse的6细胞结合mAb以及先前在早期OMNIRat活动中鉴定的几个对照mAb进行表位分箱实验。基于对人CD33的亚纳摩尔亲和力和不同表位箱的数量来选择对照mAb。分箱软件HtTools在每个实验的基础上分配表位箱编号,因此对已经定义的表位箱具有几个对照对于交叉比较至关重要。两种来源于OMNIMouse的人CD33高亲和力克隆(C33B911和C33B912)均与来自上文箱4的克隆(本实验中箱4)分箱,而亚纳摩尔克隆(C33B916)与C33B836(上述实验中箱1)一起分箱成2。

[1041] 表50:OMNIMouse抗CD33 mAb的表位箱

[1042]

mAb	V区ID	表位箱
C33B915	C33F553	1
C33B916	C33F554	2
C33B836	C33F53	2

C33B914	C33F552	2
C33B913	C33F551	3
C33B806	C33F106	3
C33B911	C33F549	4
C33B912	C33F550	4
C33B778	C33F78	4
C33B830	C33F130	4
C33B782	C33F82	5
C33B792	C33F92	5
C33B799	C33F99	5
C33B760	C33F60	6
C33B777	C33F77	7

[1043] CD33由2个IgG结构域、膜远侧V结构域和膜近侧C2结构域构成。SNPrs12459419可导致CD33前mRNA转录物的选择性另选剪接,以产生在细胞上表达的仅C2形式,因此靶向该结构域可提供临床益处。为了确定mAb能够结合两个结构域中哪一个结构域,使用人CD33 ECD-HSA、人CD33V-HSA和人CD33C2-HSA作为结合抗原,根据上述方案对覆盖4个不同表位箱的具有最高结合能力的6种mAb进行解离速率筛选。如下表所示,先前分组于箱4中的两个克隆均与huCD33C2结构域结合而非huCD33 V结构域,而箱2和箱3中的克隆结合V结构域而非C2结构域。分组到箱5中的两个克隆不结合任一结构域,因此它们的确切结合位置可跨越两个结构域。本实验包括三(3)种市售的mAb(WM53(EMD Millipore;Darmstadt,Germany)、P67.7(Biolegend,San Diego,CA)和LSBio克隆906(LifeSpan Biosciences,Seattle,WA))并全部显示与V结构域结合,但不与C2结构域结合。相对于表51中的C2结构域结合数据查看表42和表45中的表位箱,总共有15种mAb能够潜在地结合人全长蛋白上约25nM至约30pM亲和力范围内的C2结构域。

[1044] 表51.解离速率结构域结合

[1045]

	huCD33 ECD-HSA	huCD33-V-HSA	huCD33-C2-HSA	表位箱
蛋白 ID	k_d (1/s)	k_d (1/s)	k_d (1/s)	
C33B912	1.29E-05	无/低结合应答	6.68E-05	4
C33B778	4.72E-05	无/低结合应答	2.57E-03	4
C33B782	2.58E-04	无/低结合应答	无/低结合应答	5
C33B792	4.27E-04	无/低结合应答	无/低结合应答	5
C33B836	5.52E-05	3.71E-05	无/低结合应答	2
C33B806	1.36E-03	3.18E-03	无/低结合应答	3
WM53	2.37E-03	3.78E-02	无/低结合应答	
P67.7	1.05E-03	2.43E-03	无/低结合应答	
LSBio 克隆 906	2.45E-03	4.34E-02	无/低结合应答	

[1046] 为了支持进一步的体内和体外研究,选择克隆(C33B836、C33B782、C33B778、C33B904、C33B806、C33B830、C33B937、C33B792、C33B760和C33B777)进行放大和fab臂交换以产生具有抗CD3抗体的双特异性分子。将ExpiCHO-S™细胞(ThermoFisher Scientific)以

1.25×10^{5}至2.25×10^{5}个活细胞/mL接种到ExpiCHO™ Expression Medium中,并在37℃、7%的CO_2摇动培养箱(INFORS HT Multitron Pro)中的聚碳酸酯、一次性、无菌、通风、无挡板的锥形摇动烧瓶中培养。对于125mL至2L摇瓶中的常规细胞生长,对于具有19mm摇动直径的摇动器,将摇动速度设定为130rpm。当密度达到具有98%至99%存活率的4×10^{6}至6×10^{6}个活细胞/mL的对数生长期时,对细胞进行继代培养。

[1047] 在转染前两天,将ExpiCHO-S™细胞以1.5×10^{6}个活细胞/mL接种到所需的培养物体积。在转染当天,测定活细胞密度和存活率百分比。以6×10^{6}个活细胞/mL的密度转染细胞。为了最佳转染,使用TE缓冲液(10mM的Tris-HCl,1mM EDTA,pH 8.0)中≥1mg/mL浓度的无菌重链和轻链质粒DNA。

[1048] 根据制造商的Max Titer转染方案(ThermoFisher公布号MAN0014337)转染ExpiCHO-S™细胞。下文所示的所有量和体积均为每mL最终转染培养物体积。简而言之,用0.04mL冷OptiPRO™培养基(ThermoFisher Scientific)以下列比率稀释质粒DNA:0.125μg重链DNA:0.375μg轻链DNA:0.5μg pAdvantage。将6.4μL ExpiFectamine™CHO转染试剂稀释,用0.04mL冷OptiPRO™培养基轻轻混合,并温育1分钟。将稀释的ExpiFectamine™ CHO试剂添加至稀释的DNA,轻轻混合,并将ExpiFectamine™ CHO/质粒DNA复合物在室温下温育5分钟。在温育后,将复合物添加到摇动烧瓶中的ExpiCHO-S™细胞中,并在37℃、7%的CO_2摇动培养箱中温育过夜。

[1049] 对于MaxTiter方案,在转染后第1天,添加6μL的ExpiFectamine™ CHO增强剂和160μL的ExpiCHO™ Feed,并且将烧瓶转移到32℃、7%的CO_2摇动培养箱。在转染后第5天,再次向烧瓶中添加160μL的ExpiCHO™ Feed,并将其摇动放回32℃培养箱中。在转染后第12天收获培养物,以5000rpm离心15分钟并通过0.2μm的Acropak 1500过滤器胶囊(Pall)澄清。

[1050] 使用MabSelect SuRe(GE Healthcare)从所澄清的上清液中纯化表达的抗体。在上样各个培养上清液之前,用1xD-PBS(pH7.2)平衡MabSelect SuRe Protein A柱。通过用1x D-PBS(pH 7.2)充分洗涤来去除未结合的蛋白质。用0.1M的乙酸钠(pH 3.5)洗脱结合的蛋白质。将峰级分用2.5M的Tris(pH 7.2)中和并合并。将所中和的级分池透析到1×dPBS中用于测定和生物物理表征,或者用于双特异性抗体组装。

[1051] 通过测量OD280nm处的吸光度来确定每个洗脱池的蛋白质浓度,并使用基于氨基酸序列的吸光度消光系数进行计算。

[1052] 6CD33×CD3双特异性抗体的制备和功能评价

[1053] 6-1使用纯化的亲本mAb的Fab臂交换

[1054] CD33×CD3双特异性抗体的形成需要两种亲本mAb,一种是对靶标臂具有特异性的(例如CD33),一种是对效应臂具有特异性的(例如CD3)。将CD33 mAb与高亲和力臂(CD3B376:SEQ ID NO:652的VH和SEQ IF NO:661的VL)或低亲和力CD3臂(CD3B450:SEQ ID NO:657的VH和SEQ IF NO:678的VL)重组。这些亲本mAb(CD33臂和CD3臂)是IgG4 PAA形式(Labrijn等人,2013年),其中靶标亲本(CD33)包含409R Genmab突变(IgG4的天然氨基酸),而杀伤亲本(CD3)包含F405L突变和R409K。单特异性抗CD3抗体表达为IgG4,在其Fc区中具有Fc置换S228P、F234A、L235A、F405L和R409K(CD3臂)(根据EU索引进行编号)。如上所述表达和纯化单特异性抗体。纯化后,将亲本CD33抗体与所需亲本CD3抗体在75mM的2-MEA(2-巯基乙胺)中在还原条件下混合,并在31℃下温育5小时或在室温下温育过夜。重组反应基于

摩尔比,其中将设定量的CD33抗体(例如,10mg或约74.6纳摩尔)与CD3抗体(例如,约67.8纳摩尔)组合,其中CD33抗体的添加量比CD3抗体高6%。CD33抗体原液的浓度在0.8mg/mL至6mg/mL之间变化,并且重组反应的体积在每个配对中都不同。重组反应随后用PBS透析过夜以去除还原剂。用过量的CD33抗体(比率)进行CD33×CD3双特异性抗体反应,以使重组后剩余的未反应CD3亲本抗体的量最小化。

[1055] 产生的最终CD33×CD3双特异性抗体以及用于重组反应的亲本mAb(即CD33、CD3或空白)一起列于表47中。

[1056] 选择的CD33命中也与非杀伤臂(空白)配对以产生用于测试目的阴性对照。对于对照双特异性抗体B2M1,产生、纯化IgG4PAA形式的RSV抗体,并将其与CD3臂CD3B219或CD3B376-F405L、R409K组合,以分别产生CD3B288(CD3×空白)和CD3B510(CD3B376×空白);将CD33臂与B23B49组合以产生CD33×空白,如表52所示。

[1057] 表52:CD33×CD3双特异性抗体

[1058]

双特异性 Ab	亲本	HC Pep ID	VH Pep SEQ ID	LC Pep ID	VL Pep SEQ ID
C3CB7	C33B836	C33H80	267	C33L73	306

[1059]

	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
	C33B830	C33H84	269	C33L66	308
C3CB5	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
	C33B806	C33H69	260	C4LL152	300
C3CB4	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
	C33B799	C33H98	275	C33L69	314
C3CB16	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
	C33B792	C33H87	270	C33L35	309
C3CB14	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
	C33B782	C33H72	262	C33L40	301
C3CB12	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
	C33B778	C33H66	258	C33L60	298
C3CB11	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
	C33B777	C33H65	257	C33L47	297
C3CB10	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
	C33B760	C33H45	250	C33L11	290
C3CB8	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
	C33B836	C33H80	267	C33L73	306
C3CB97	CD3B376	CD3H219	652	CD3L150	661
	C33B830	C33H84	269	C33L66	287
C3CB98	CD3B376	CD3H219	652	CD3L150	661
	C33B806	C33H69	260	C4LL152	300
C3CB99	CD3B376	CD3H219	652	CD3L150	661
	C33B799	C33H98	275	C33L69	314
C3CB100	CD3B376	CD3H219	652	CD3L150	661
	C33B792	C33H87	270	C33L35	309
C3CB101	CD3B376	CD3H219	652	CD3L150	661
	C33B782	C33H72	262	C33L40	301
C3CB102	CD3B376	CD3H219	652	CD3L150	661
	C33B778	C33H66	258	C33L60	298
C3CB103	CD3B376	CD3H219	652	CD3L150	661
	C33B777	C33H65	257	C33L47	297
C3CB104	CD3B376	CD3H219	652	CD3L150	661
	C33B760	C33H45	250	C33L11	290
C3CB105	CD3B376	CD3H219	652	CD3L150	661
	C33B836	C33H80	267	C33L73	306
C33B941	B23B49	B23H1	246	B23L3	286
	C33B830	C33H84	269	C33L66	308
C33B942	B23B49	B23H1	246	B23L3	286
	C33B806	C33H69	260	C4LL152	300
C33B943	B23B49	B23H1	246	B23L3	286
	C33B799	C33H98	275	C33L69	314
C33B944	B23B49	B23H1	246	B23L3	286
	C33B792	C33H87	270	C33L35	309
C33B945	B23B49	B23H1	246	B23L3	286
	C33B782	C33H72	262	C33L40	301
C33B946	B23B49	B23H1	246	B23L3	286

[1060]

C33B947	C33B778	C33H66	258	C33L60	298
	B23B49	B23H1	246	B23L3	286
C33B948	C33B777	C33H65	256	C33L47	297
	B23B49	B23H1	246	B23L3	286
C33B949	C33B760	C33H45	250	C33L11	290
	B23B49	B23H1	246	B23L3	286
CD3B288	B23B39	B23H1	246	B23L3	286
	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
CD3B510	B23B39	B23H1	246	B23L3	286
	CD3B376	CD3H219	652	CD3L150	661
C3CB87	C33B903	C33H251	280	C33L117	319
	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
C3CB88	C33B904	C33H252	281	C33L118	320
	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
C3CB89	C33B905	C33H253	282	C33L119	321
	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
C3CB90	C33B907	C33H255	284	C33L121	323
	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
C3CB91	C33B908	C33H256	285	C33L122	324
	CD3B219	CD3H141	247	CD3L66	287
C3CB189	C33B904	C33H252	281	C33L118	320
	CD3B376	CD3H219	652	CD3L150	661

[1061] Pep:肽;Nuc:核苷酸;SEQ ID:SEQ ID NO

[1062] 6-2体外CD33×CD3介导的AML原代样本中AML母细胞的降低和T细胞活化

[1063] 为了进一步评估CD33×CD3双特异性抗体的细胞毒性潜力,使用前四种抗体使用AML患者全血进行离体细胞毒性测定(图61)。在该测定中,将各种双特异性抗体(与CD3臂CD3B219和CD3B376配对的CD33抗体)添加到来自AML患者的稀释全血中48小时的时间段而不提供另外的T细胞,因为该测定依赖于患者血液中自体同源T细胞的存在。在48小时后,将样本用CD3 PerCPCy5.5、CD25 PE、CD33 FITC和CD38 APC(所有抗体均购自Biolegend,San Diego,CA)染色。然后将样本在1xLyse RBC裂解缓冲液(eBioscience)中至少洗涤3次。然后用LIVE/DEAD® Fixable Near-IR Dead Cell Stain缓冲液(Life Technologies)对样本进行染色。通过首先在双特异性抗体存在下定量AML患者癌细胞级分(定义为$CD3^-CD38^+$细胞)中的活$CD33^+$细胞来确定肿瘤细胞毒性的程度。细胞毒性使用以下公式计算为相对于PBS/未处理的对照的百分比:(PBS/未处理的对照中的$CD33^+$%-处理的样本中的$CD33^+$%)/(PBS/未处理的对照中的$CD33^+$%)。将T细胞活化计算为$CD3^+$级分中$CD25^+$事件的百分比。

[1064] 如图61所示,与任一CD3臂(CD3B376和CD3B219)配对的所有CD33先导抗体促进了48小时后与T细胞活化相关的总细胞毒性的剂量依赖性降低。空白臂对照抗体(空白×CD3B219和空白×CD3B376)未能显示出肿瘤细胞毒性或T细胞活化。该结果还表明CD33×CD3双特异性抗体在自体同源环境中起作用。这些结果代表了4个其他AML供体样本(数据未示出)。表53汇总了用CD33×CD3多特异性抗体产生的EC_{50}值。从EC_{50}值可以看出,与CD3臂(C3CB88、C3CB189)配对的C33B904以及与CD3臂(C3CB7、C3CB97)配对的C33B836是最有效的抗体。因此,这4种抗体是进一步表征的焦点。

[1065] 表53:CD33×CD3T细胞介导的离体细胞毒性测定。8种CD33×CD3双特异性抗体的EC_{50}值的汇总

[1066]

双特异性 Ab ID	原代 AML 细胞杀伤 EC_{50}（nM）
C3CB11	3.958
C3CB12	2.635
C3CB7	0.3315
C3CB88	0.6722
C3CB103	4.186
C3CB102	4.973
C3CB97	~0.2316
C3CB189	0.5782

[1067] 6-3CD33×CD3双特异性抗体与CD33的C2结构域结合并诱导表达CD33单核苷酸多态性(SNP)的细胞系的细胞毒性的证实

[1068] 用CD33×CD3双特异性抗体的体外T细胞介导的细胞毒性测定

[1069] 最近的研究显示,单核苷酸多态性(SNP)rs12459419存在于约50％的AML群体中并导致CD33的外显子2的跳越缺失导致了CD33的V结构域的缺失。该研究还显示,与CD33的V结构域结合的Mylotarg在表达SNP的患者中无效,并且因此降低了约50％AML群体的复发风险并改善了存活率(Lamba等人,2017,JCO,CD33SplicingPolymorphismDetermines GemtuzumabOzogamicinResponseinDeNovoAcuteMyeloidLeukemia:Report From Randomized Phase III Children's Oncology Group Trial AAML0531)。鉴于上述研究中Mylotarg的数据,进行体外T细胞介导的细胞毒性测定以评估CD33命中(V结合C33B836与C2结合C33B904)是否与CD3臂(CD3B219或CD3B376)配对介导了表达SNPrs12459419细胞系的杀伤。简而言之,收获效应细胞(panT细胞,购自Biological Speciality),对其计数、洗涤并将其重悬于含10％的FBS(Invitrogen)细胞培养基的RPMI(Invitrogen)中至1×10^6个细胞/ml。用CFSE(Invitrogen)标记靶细胞(KG1、SH2和OCIAML3)并将其重悬于具有10％的FBS的RPMI中至2×10^5个细胞/mL。选择KG1、SH2和OCIAML3以分别表示对于CD33SNPrs12459419突变的野生型、杂合型和纯合型。将效应细胞和CFSE标记的靶细胞在无菌96孔圆底板中以效应细胞:CFSE标记的靶细胞比率(E:T)＝5:1混合。将10μl的Fc阻断剂(ReoProFc片段)以及5μL双特异性抗体等分试样一起添加到含有各种浓度的每个孔中。将培养物在5％的CO_2下于37℃温育48小时。在48小时之后,向样本中添加LIVE/DEAD® Fixable Near-IR Dead Cell Stain缓冲液(Life Technologies),并且在室温下,将培养物在暗处温育20分钟,然后将其洗涤并重悬于100μL至200μL的FAC缓冲液中。使用CANTOII流式细胞仪(BD Biosciences)测定药物诱导的细胞毒性,并使用FlowJo软件或Dive软件(BD Biosciences)进行分析。感兴趣的群体是双阳性CFSE+/活/死+细胞。如图62所示,与空白臂对照(空白×CD3B219和×CD3B376)不同,V结合和C2结合CD33×CD3多特异性抗体在48小时诱导SNP rs12459419突变细胞系KG1的CD33+WT的T细胞重定向细胞毒性。相比之下,与V结合剂C33B836(C3CB97、C3CB7)不同,仅C2结合C33B904配对的双特异性抗体(C3CB189、C3CB88)介导了分别对rs12459419SNP突变为杂合型或纯合型的SH2和OCIAML3细胞系的细胞毒性。为此,对C33B904配对的双特异性抗体(C3CB189、C3CB88)进行进一步分析和表征。总之,这些数据表明,与V结合竞争抗CD33抗体相比,CD33C2结合双特异性抗体(诸如C33B904配对的双特异性抗体)在更广泛的AML患者中具有显示疗效的潜力。

[1070] 6-4在离体全血MOLM-13细胞毒性测定中,离体CD33×CD3介导的MOLM-13和单核细胞中加标的降低

[1071] 为了评估CD33×CD3双特异性抗体在消除MOLM-13细胞和正常人单核细胞中加标时的细胞毒性潜力,利用离体细胞毒性测定,该测定使用具有外源添加的$CD33^+$AML细胞系MOLM-13的正常健康人全血。类似于上述实验,将各种双特异性抗体(与CD3臂CD3B219和CD3B376配对的CD33抗体)添加到来自6个不同正常人供体的稀释全血中48小时的时间段而不提供另外的T细胞,因为该测定依赖于供体血液中自体同源T细胞的存在。在稀释之前,对每个供体的血液中的T细胞的浓度进行计数。然后将血液用CFSE(Invitrogen)标记的MOLM-13细胞稀释,使得效应细胞:靶细胞比率(E:T)为1:5以模拟AML患者样本中的效应细胞:靶细胞比率。在48小后,将样本用CD3 PerCPCy5.5、CD25 PE、CD33 FITC和CD14 Pacific Blue(所有抗体均购自Biolegend)染色。然后将样本在1xLyse RBC裂解缓冲液(eBioscience)中至少洗涤3次。然后用LIVE/DEAD® Fixable Near-IR Dead Cell Stain缓冲液(Life Technologies)对样本进行染色。通过首先在双特异性抗体存在下定量$CD14^+$单核细胞级分中的活$CD33^+$细胞来确定肿瘤细胞毒性的程度。通过对死$CFSE^+$细胞的百分比进行计数来确定MOLM-13细胞的细胞毒性。单核细胞的细胞毒性使用以下公式计算为相对于PBS/未处理的对照的百分比:(PBS/未处理的对照中的$CD33^+$ $CD14^+$%-处理的样本中的$CD33^+CD14^+$%)/(PBS/未处理的对照中的$CD33^+$ $CD14^+$%)。图63中的数据表明,两种CD33×CD3双特异性抗体(与CD3臂CD3B376和CD3B219配对的相同CD33先导C33B904)在48小时后特异性诱导MOLM-13细胞和$CD33^+$单核细胞的细胞毒性。将空白臂对照用作阴性双特异性抗体对照。空白臂对照显示MOLM-13和$CD33^+$单核细胞几乎没有细胞毒性活性。这些数据显示了6个不同正常供体的平均值。MOLM-13和$CD14^+$单核细胞的细胞毒性的平均EC_{50}值示于表54中。

[1072] 表54.CD33×CD3 T细胞介导的离体细胞毒性测定。2种CD33×CD3双特异性抗体的EC_{50}值的汇总。

[1073]

双特异性 Ab ID	MOLM13 杀伤 EC_{50} (nM)	$CD33^+$ $CD14^+$杀伤 EC_{50} (nM)
C3CB189	0.1677	1.156
C3CB88	0.671	0.506

[1074] 6-5CD33×CD3双特异性抗体与食蟹猴的物种交叉反应性的证实

[1075] 在用食蟹猴全血进行的离体细胞毒性测定中,离体CD33×CD3介导的单核细胞的降低

[1076] 为了证实功能交叉反应性并评估CD33×CD3双特异性抗体在消除正常食蟹猴单核细胞时的细胞毒性的潜力,利用使用健康食蟹猴全血的离体细胞毒性测定。类似于上述实验,将各种双特异性抗体(与CD3臂CD3B219和CD3B376配对的CD33抗体)添加到来自6个不同正常食蟹猴供体的稀释全血中48小时的时间段而不提供另外的T细胞,因为该测定依赖于供体血液中自体同源T细胞的存在。在48小后,将样本用CD3 PerCPCy5.5、CD25PE、CD33 FITC和CD14 Pacific Blue(除了购自Miltenyi;Bergisch Gladbach,Germany的CD33抗体之外,所有抗体均购自Biolegend)染色。然后将样本在1xLyseRBC裂解缓冲液(eBioscience)中至少洗涤3次,之后用LIVE/DEAD® Fixable Near-IR Dead Cell Stain缓冲液(Life Technologies)染色。通过首先在双特异性抗体存在下定量$CD14^+$单核

细胞级分中的活$CD33^+$细胞来确定单核细胞的细胞毒性程度。细胞毒性使用以下公式计算为相对于PBS/未处理的对照的百分比:(PBS/未处理的对照中的$CD33^+$ $CD14^+$%-处理的样本中的$CD33^+$ $CD14^+$%)/(PBS/未处理的对照中的$CD33^+$ $CD14^+$%)。将T细胞活化计算为$CD3^+$级分中$CD25^+$事件的百分比。图64中的数据表明,CD33×CD3双特异性抗体(与CD3臂CD3B376和CD3B219配对的相同CD33先导C33B904)在48小时后特异性诱导$CD33^+$单核细胞的细胞毒性以及T细胞活化。将空白臂对照用作阴性双特异性抗体对照,并且显示几乎没有细胞毒性或T细胞活性。表55示出了6个不同的食蟹猴供体的平均值。

[1077] 表55:CD33×CD3 T细胞介导的离体细胞毒性测定。2种CD33×CD3双特异性抗体的EC_{50}值的汇总。

[1078]

蛋白质AAID	$CD33^+CD14^+$杀伤EC_{50}(nM)	T细胞活化EC_{50}(nM)
C3CB189	3.60	0.02
C3CB88	0.89	0.02

[1079] 6-6 C3CB189和C3CB88在T细胞人源化NSG小鼠的MOLM-13人AML异种移植物中的功效

[1080] 在用2千万个T细胞人源化的雌性NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG)小鼠中在已建立荧光素酶转染的弥散的MOLM-13人急性髓性白血病(AML)异种移植物中评估C3CB189和C3CB88的功效。在静脉注射肿瘤植入后的第5天,通过活生物发光成像(BLI)将动物随机分成n=10/组。以0.005mg/kg、0.05mg/kg和0.5mg/kg施用C3CB189和C3CB88或以0.5mg/kg施用空白×CD3抗体对照,每3至4天施用一次,持续6周。

[1081] 在肿瘤植入后的第13天,当每组保留至少八只动物时,计算通过生物发光测定的肿瘤生长抑制(%TGI)。与空白×CD3对照相比,在所有浓度下C3CB189(图65)和C3CB88(图67)均观察到统计意义上显著的肿瘤生长抑制。与用空白×CD3治疗的对照相比,0.005mg/kg、0.05mg/kg和0.5mg/kg的C3CB189分别引发76%、100%和82%的肿瘤生长抑制,并且0.005mg/kg、0.05mg/kg和0.5mg/kg的C3CB88分别引发100%、100%和91%的肿瘤生长抑制。

[1082] 用C3CB189和C3CB88处理导致肿瘤负荷降低和寿命增加(ILS)大于空白×CD3对照组的16天中位生存期。在不同剂量下,用C3CB189处理的动物的中位生存期为19天至27.5天(图66),而用C3CB88处理的动物的中位生存期为26至28.5天(图68)。与对照组相比,0.005mg/kg、0.05mg/kg和0.5mg/kg的C3CB189分别导致19%、72%和50%的寿命增加,并且C3CB88分别导致63%、78%和72%的寿命增加。

[1083] 7 TMEFF2抗体

[1084] 7-1抗原产生

[1085] 人胞外结构域(ECD)TMEFF2基于UniProt登录号Q9UIK5序列产生。ECD构建体被设计成在C末端处具有6XHis-标签(SEQ ID NO:596)和Avi-标签序列(构建体TMEW1;SEQ ID NO:578)。将含有FS2和EGF结构域的构建体(氨基酸151-320)设计为具有6XHis-标签(SEQ ID NO:596)和Avi-标签序列的人血清白蛋白(HSA)融合体(构建体TMEW7;SEQ ID NO:579)。将含有TMEFF2膜近侧结构域(残基230-320)的构建体设计成具有6xHis标签(SEQ ID NO:596)(构建体TMEW19;SEQ ID NO:580)或融合在具有His标签的大鼠IgG1Fc(构建体TMEW20;SEQ ID NO:581)上。TMEFF2的残基230-320含有横跨TMEFF2的残基261-301的EGF结构域。根

据制造商方案,使用Expifectamine将人TMEFF2ECD表达构建体瞬时转染到HEK293衍生细胞Expi293(Gibco/Thermo Fisher Scientific)中。在收获之前,在定轨振荡器上将细胞用8%CO_2在37℃下温育5天。通过离心移除表达的细胞,并且使用固定化金属亲和色谱法,使用Ni Sepharose 6 Fast Flow树脂(GE Healthcare),之后使用Superdex 200制备型尺寸排阻色谱法(SEC)(GE Healthcare)在pH7.2的Dubelcco磷酸盐缓冲液(1XDPBS)中从培养基纯化具有His标签的可溶性TMEFF2蛋白质。所产生的抗原的氨基酸序列在表58中示出。

[1086] 表58.

[1087]

蛋白质 AA ID	说明	氨基酸序列
TMEW1 (SEQ ID NO: 578)	TMEFF2-FL-ECD-His-Avitag	FPTSLSDCQTPTGWNCSGYDDRENDLFLCDTNTC KFDGECLRIGDTVTCVCQFKCNNDYVPVCGSNG ESYQNECYLRQAACKQQSEILVVSEGSCATDAGS GSGDGVHEGSGETSQKETSTCDICQFGAECDEDA EDVWCVCNIDCSQTNFNPLCASDGKSYDNACQI KEASCQKQEKIEVMSLGRCQDNTTTTTKSEDGH YARTDYAENANKLEESAREHHIPCPEHYNGFCM HGKCEHSINMQEPSCRCDAGYTGQHCEKKDYSV LYVVPGPVRFQYVGGGSHHHHHHLNDIFEAQKI EWHE
TMEW7 (SEQ ID NO: 579)	FS2-EGF-Tev-HSA(C34S)-His-Avitag	SGETSQKETSTCDICQFGAECDEDAEDVWCVCNI DCSQTNFNPLCASDGKSYDNACQIKEASCQKQE KIEVMSLGRCQDNTTTTTKSEDGHYARTDYAEN ANKLEESAREHHIPCPEHYNGFCMHGKCEHSIN MQEPSCRCDAGYTGQHCEKKDYSVLYVVPGPV RFQYVGSGSGSENLYFQGVRSSSDAHKSEVAHR FKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVN EVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAC LLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAF KAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTE CCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKEC CEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVES KDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVV LLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEF KPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRY

[1088]

		TKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAK RMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCC TESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHA DICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLK AVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVA ASQAALGLGGGSHHHHHHLNDIFEAQKIEWHE
TMEW19（SEQ ID NO: 580）	spTMEFF2(230-320)G3S-H6	NTTTTTKSEDGHYARTDYAENANKLEESAREHH IPCPEHYNGFCMHGKCEHSINMQEPSCRCDAGYT GQHCEKKDYSVLYVVPGPVRFQYVGGGSHHHH HH
TMEW20（SEQ ID NO: 581）	spTMEFF2(230-320)-G3S-ratIgG1Fc	NTTTTTKSEDGHYARTDYAENANKLEESAREHH IPCPEHYNGFCMHGKCEHSINMQEPSCRCDAGYT GQHCEKKDYSVLYVVPGPVRFQYVGGGSPRNC GGDCKPCICTGSEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKV TCVVVDISQDDPEVHFSWFVDDVEVHTAQTRPP EEQFNSTFRSVSELPILHQDWLNGRTFRCKVTSA AFPSPIEKTISKPEGRTQVPHVYTMSPTKEEMTQN EVSITCMVKGFYPPDIYVEWQMNGQPQENYKNT PPTMDTDGSYFLYSKLNVKKEKWQQGNTFTCSV LHEGLHNHHTEKSLSHSPGKGGGSHHHHHH

[1089] 7-2抗TMEFF2抗体的产生

[1090] 使用表达人免疫球蛋白基因座（OmniRat®）的转基因大鼠来产生抗体

[1091] OmniRat®含有嵌合人/大鼠IgH基因座(包含22个人V_H,全部的人D和J_H片段以天然构型连接至大鼠C_H基因座)连同完整人IgL基因座(连接至Jκ-Cκ的12个Vκ和连接至Jλ-Cλ的16个Vλ)。(参见例如,Osborn等人,2013年,JImmunol,第190卷,第4期,第1481-1490页)。因此,大鼠表现出大鼠免疫球蛋白的表达降低,并且响应于免疫,引入的人重链和轻链转基因经历类别转换和体细胞突变以产生具有完全人可变区的高亲和力嵌合人/大鼠IgG单克隆抗体。WO14/093908中描述了OmniRat®的制备和用途以及由这些大鼠携带的基因组修饰。

[1092] 用人TMEFF2构建体FS2-EGF-Tev-HSA(C34S)-His-Avitag(TMEW7,SEQ ID NO:579)免疫OmniRat,并用构建体spTMEFF2(230-320)G3S-ratIgG1Fc(TMEW20,SEQ ID NO:581)增强。在89天免疫方案后,从大鼠收获淋巴结并用于产生杂交瘤,并且通过ELISA和/或SPARCL(空间接近分析物试剂捕获发光)筛选杂交瘤上清液与人TMEFF2-FL-ECD-His-Avitag(TMEW1)蛋白质的结合。选择若干种上清液用于二次ELISA和SPARCL筛选,筛选与TMEFFECD、FS2-EGF、或仅EGF结构域TMEFF2的结合。基于筛选结果,对若干杂交瘤克隆进行测序、表达和功能表征。

[1093] 从噬菌体展示文库产生抗体

[1094] 使用标准方法从两组从头pIX噬菌体展示文库中选择TMEFF2结合Fab,如Shi等人,J Mol Biol,第397卷,第385-396页,2010年和WO2009/085462中所述。简而言之,通过使人支架多样化来生成两组文库(称为V3.0和V5.0),其中种系VH基因IGHV1-69*01、IGHV3-23*01和IGHV5-51*01经由H3环与人IGHJ-4微小基因重新组合(IGHJ-6微小基因也用于V5.0),并且人种系Vκ基因O12(IGKV1-39*01)、L6(IGKV3-11*01)、A27(IGKV3-20*01)和B3(IGKV4-1*01)与IGKJ-1微小基因重新组合以组装完整的VH和VL结构域。选择在围绕H1、H2、L1、L2和L3环的重链和轻链可变区中的位置用于多样化,这些位置经常与蛋白质和肽抗原接触。在

选定位置处的序列多样性限于在各个IGHV或IGLV基因的IGHV或IGLV种系基因家族中的每个位置处出现的残基。通过针对V3.0文库使用长度为7-14个氨基酸的短至中等大小的合成环以及针对V5.0文库使用长度为6-19个氨基酸的合成环而在H3环处产生多样性。设计在H3处的氨基酸分布,以模仿在人抗体中观察到的氨基酸变异。根据它们的人VH和VL种系基因起源,命名用于生成文库的支架。对于V3.0和V5.0两组,将三个重链文库中的每一个文库与四条种系轻链或四个种系轻链文库组合,以产生用于选择实验的每组文库的12种独特VH:VL组合。

[1095] V区克隆

[1096] 按照制造商方案,使用RNeasy 96试剂盒(Qiagen)纯化来自噬菌体的杂交瘤细胞裂解物的总RNA。使用DropSense定量所得的RNA,并将其保存在-80℃下或用于使用针对RT-PCR的Invitrogen SuperScript III第一链合成系统(Invitrogen;Carlsbad,CA)合成cDNA。使用分别退火至重链、k链和λ链恒定区的基因特异性引物进行第一链cDNA合成。将由最多3μg纯化RNA、基因特异性引物、dNTP混合物、反应缓冲液、25mM $MgCl_2$、DTT、RNaseOUT™(40U/μL,Invitrogen)和SuperScript™ III RT(200U/μL,Invitrogen目录号18080-051)组成的RT-PCR反应混合物在50℃下温育50分钟并在85℃下温育5分钟。将所得单链cDNA保存在-20℃下,或直接用于PCR扩增。使用Platinum Pfx聚合酶(Invitrogen)进行PCR反应。使用优化的PCR条件,通过分别退火至重链、k链和λ链的前导序列和恒定区的正向引物和反向引物扩增v区片段。对所得的PCR片段进行测序,对所回收v区的氨基酸序列进行密码子优化并将其克隆到基于pUnder的表达载体中,该表达载体携带具有S228P、F234A和L235A突变的IgG4恒定区(IgG4PAA同种型)。

[1097] Expi293小规模转染和纯化

[1098] 克隆从免疫运动或噬菌体展示中鉴别的选定抗体并将其表示为IgG1PAA,并且经由2mL小规模纯化。将Expi293™细胞(ThermoFisher Scientific)以1.25×10^5-2.25×10^5个活细胞/mL密度接种在Expi293™表达培养基中,并在37℃下、7%CO_2中在125mL-2L摇瓶中培养。当密度达到具有98%至99%存活率的3×10^6至5×10^6个活细胞/mL的对数生长期时,对细胞进行继代培养。

[1099] 在转染当天,测定活细胞密度和存活率百分比。按照制造商的转染方案(ThermoFisher公布号MAN0007814),以3×106个活细胞/mL的密度使细胞转染。在转染后第6天通过在纯化前以850×G离心15分钟来收获培养物。使用mAb Select Sure树脂(GE Healthcare)从澄清的上清液中纯化抗体,并透析到PBS中。使用DropSense仪器(Trinean),通过对滤液进行A280测量来确定蛋白质浓度。

[1100] 7-3抗TMEFF2抗体的表征

[1101] 抗TMEFF2抗体以高亲和力结合TMEFF2

[1102] 使用Proteon(TMEB674、TMEB675、TMEB 565和TMEB570)或Biacore SPR(TMEB762和TMEB757)评估选定IgG4PAA抗TMEFF2抗体与TMEFF2 ECD(TMEW1:TMEFF2-FL ECD-His-Avitag)和/或膜近侧区(TMEW19:spTMEFF2(230-320)G3S-H6)的结合。结合选定抗体的动力学参数示于表59中。经发现,抗TMEFF2抗体以皮摩尔亲和力结合TMEFF2ECD和TMEFF2膜近侧区两者。

[1103] 表59.

[1104]

抗体	抗原	TMEFF2结构域	ka（1/Ms）	kd（1/s）	KD（nM）
TMEB674	TMEW1	ECD	2.01E+06	1.62E-04	0.10
TMEB674	TMEW19	MP*	8.37E+05	1.75E-04	0.20

[1105]

TMEB675	TMEW1	ECD	2.65E+06	1.53E-04	0.10
TMEB675	TMEW19	MP	9.72E+05	1.58E-04	0.20
TMEB565	TMEW1	ECD	3.84E+05	9.13E-06	0.02
TMEB565	TMEW19	MP	7.77E+05	6.39E-06	0.01
TMEB570	TMEW1	ECD	4.64E+05	5.13E-05	0.11
TMEB570	TMEW19	MP	7.62E+05	4.67E-05	0.06
TMEB762	TMEW1	ECD	5.41E+05	1.74E-04	0.32
TMEB757	TMEW1	ECD	5.42E+05	1.67E-04	0.31
* MP: 膜近侧区					

[1106] ProteOn SPR

[1107] 通过ProteOn SPR(Bio-Rad)测量抗TMEFF2 mAb与ECD和人TMEFF2的膜近侧区的结合。将纯化的mAb(在PBST中稀释至1μg/mL的最终浓度)用作测定中的配体,并且通过Fc捕获固定至山羊抗人(GAH)IgGFc。对于GAHIgGFc的氨基偶联,在注射前立即混合EDC(40mM)和NHS(10mM)的1:1混合物以活化芯片表面并沿竖直取向注射。然后使醋酸盐缓冲液(pH5.0)中的GAH-Fc(以30μg/mL)抗体以30μL/min的流速沿竖直取向在表面上流动300秒。随后通过沿相同取向注射1M乙醇胺(pH8.5)使表面中任何剩余的反应性羧基基团失活。抗体以1μg/mL的浓度用于固定。抗体沿水平方向在表面上流动。将人TMEFF2ECD或膜近侧区以5个浓度(100-600nM范围内的最高浓度)的3倍稀释系列作为分析物沿竖直取向流入,以结合至所捕获的分子。缓冲液样本也沿竖直方向注入第6个通道中以监测基线信号的任何漂移。分别在3分钟和30(或15)分钟内以100μL/min的流速监测所有浓度的缔合相和解离相。使用0.8%磷酸的18秒脉冲将结合表面再生用于下一个相互作用循环以去除结合的抗原。通过从响应数据中减去两组参考数据来处理原始数据:1)点间信号以校正抗原与空芯片表面之间的非特异性相互作用;2)空通道信号(其中仅PBST在芯片上流动)以校正非特异性基线漂移。

[1108] Biacore 8K SPR

[1109] 通过Biacore 8K SPR测量抗TMEFF2 mAb与人TMEFF2ECD的结合。测定的形式是使用高密度抗人Fc表面捕获mAb,然后使用单循环动力学方法注射人TMEFF2浓度滴定。将山羊抗人Fc IgG(Jackson Immunoresearch,目录号109-005-098)经由氨基偶联在10mM醋酸盐缓冲液(pH4.5)中以30μg/mL直接固定在流动池1和2上,在HBSP(GE)缓冲液中以30μL/min的流速直接固定在CM5传感器芯片(GE)上。将mAb在流通池2上以0.5μg/mL(约200-300RU)捕获在抗人FcIgG表面上。然后将运行缓冲液更改为HBSP+100μg/mLBSA。使用单循环动力学方法,从低浓度至高浓度注射浓度为30nM的TMEFF2ECD的3倍稀释系列。在最后一次或最高浓度注射后30分钟时监测解离速率,然后使用0.8%磷酸(Bio-Rad)将表面再生。还完成了捕获相同mAb并使用相同样本运行条件的缓冲液空白运行。通过从响应数据中减去两组参考数据来处理原始数据:1)从样本流通池2中减去参考流通池1,以及2)从实验运行中减去缓冲液空白运行。将每种mAb在所有浓度下的处理数据全局拟合到1:1简单Langmuir结合模型中,以提取动力学(kon,koff)和亲和力(KD)常数的估计值。

[1110] 抗TMEFF2抗体的热稳定性

[1111] 通过DSC(差示扫描量热法)发现,TMEB675示出低于通常的热稳定性特征,其中解折叠开始时Tm＝52℃并且第一热转变(Tm1)为60.4℃。对TMEB675的序列(参见实施例4)的更详细的检查显示,在重链和轻链的框架区内存在体细胞超突变(SHM)。通过DSC亚克隆、表达、纯化和分析多个重新工程化的变体。所得的mAbTMEB762和TMEFB757示出期望的热稳定性特征(分别Tm1＝69.4℃和Tm1＝69.7℃)。与TMEB675相比,TMEB762在重链中具有以下氨基酸修饰:R14P、P20L和H81Q,而TMEFB757在重链中具有以下氨基酸修饰:R14P和P20L。与TMEB675相比,TMEB762在轻链中具有以下氨基酸修饰:A1D和A91P,而TMEFB757在轻链中具有A91P修饰。残基根据Kabat进行编号。TMEB675、TMEB762与TMEFF2ECD结合的动力学参数示于表59中。

[1112] 7-4抗TMEFF2抗体的结构表征

[1113] 使用标准技术获得抗体的cDNA序列和氨基酸翻译。在多肽序列测定中,一些编码可变区或全长抗体的抗体cDNA用标准方法进行密码子优化以大规模表达。

[1114] 表60示出了选定抗TMEFF2抗体的HCDR1和HCDR2氨基酸序列。

[1115] 表61示出了选定抗TMEFF2抗体的HCDR3氨基酸序列。

[1116] 表62示出了选定抗TMEFF2抗体的LCDR1和LCDR2氨基酸序列。

[1117] 表63示出了选定抗TMEFF2抗体的LCDR3氨基酸序列。

[1118] 表64示出了选定抗TMEFF2抗体的VH和VL氨基酸序列。

[1119] 表65示出了选定抗TMEFF2抗体的重链和轻链的SEQ ID NO:。

[1120] 表66示出了选定抗TMEFF2抗体的重链氨基酸序列。

[1121] 表67示出了选定抗TMEFF2抗体的轻链氨基酸序列。

[1122] 表68示出了编码各种抗TMEFF2抗体链的多核苷酸的SEQ ID NO:。

[1123] 表60.

[1124]

mAb	HCDR1 序列	HCDR1 SEQ ID NO:	HCDR2 序列	HCDR2 SEQ ID NO:
TMEB675	SYSMS	582	VISGSGGFTDYADSVKG	584
TMEB570	SYYIS	583	GIIPISGRANYAQKFQG	585
TMEB674	SYSMS	582	VISGGGSFTSYADSVKG	586
TMEB565	SYYIS	583	GIIPISGRANYAQKFQG	585
TMEB762	SYSMS	582	VISGSGGFTDYADSVKG	584
TMEB757	SYSMS	582	VISGSGGFTDYADSVKG	584

[1125] 表61.

[1126]

mAb	HCDR3序列	HCDR3 SEQ ID NO:
TMEB675	MPLNSPHDY	587
TMEB570	DGYSSGRSTTYAFDY	16
TMEB674	MPLNSPHDC	17
TMEB565	DGYSSGRSTTYAFDY	16
TMEB762	MPLNSPHDY	587
TMEB757	MPLNSPHDY	587

[1127] 表62.

[1128]

mAb	LCDR1 氨基酸	LCDR1 SEQ ID NO:	LCDR2 氨基酸	LCDR2 SEQ ID NO:
TMEB675	RASQGIRNDLG	18	AASSLQS	588
TMEB570	RASQSVSTYYLA	19	GASYRAT	21
TMEB674	RASQGIRNDLG	18	AASSLQS	588
TMEB565	RASQGIRNDLG	18	AASSLQS	588
TMEB762	RASQGIRNDLG	18	AASSLQS	588
TMEB757	RASQGIRNDLG	18	AASSLQS	588

[1129] 表63.

[1130]

mAb	LCDR3氨基酸	LCDR3 SEQ ID NO:
TMEB675	LQDYNYALT	22
TMEB570	QQYGHSPIT	23
TMEB674	LQDYNYSLT	24
TMEB565	LQDYNYALT	22
TMEB762	LQDYNYPLT	603
TMEB757	LQDYNYPLT	603

[1131] 表64.

[1132]

抗体	VH 名称	VH 氨基酸序列	VH SEQ ID NO:	VL 名称	VL 氨基酸序列	VL SEQ ID NO:
TMEB675	TMEH411	EVQLLESGGGLVQRGGSLRPSCAASGFTFSSYSMSWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGFTDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYCARMPLNSPHDYWGQGTLVTVSS	25	TMEL127	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQDYNYALTFGGGTKVEIK	28
TMEB570	TMEH396	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYYISWVRQAPGQGLEWMGGIIPISGRANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDGY	589	TMEL112	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSTYYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASYRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGHSPITFGQGTKVEIK	29

[1133]

		SSGRSTTY AFDYWGQ GTLVTVSS				
TMEB674	TMEH410	EVQLLESG GGLVQPPG GSLRLSCA ASGFTFSS YSMSWVR QAPGKGLE WVSVISGG GSFTSYAD SVKGRFTIS RDNSNNTL YLQMSSLR AEDTAFYY CARMPLNS PHDCWGQ GTLVTVSS	27	TMEL126	AIQMTQSPSS LSASVGDRV TITCRASQGI RNDLGWYQ QKPGKAPKL LIYAASSLQS GVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQDYN YSLTFGGGT KVEIR	30
TMEB565	TMEH396	QVQLVQS GAEVKKP GSSVKVSC KASGGTFS SYYISWVR QAPGQGLE WMGGIIPIS GRANYAQ KFQGRVTI TADESTST AYMELSSL RSEDTAVY YCARDGY SSGRSTTY AFDYWGQ GTLVTVSS	589	TMEL111	EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSV ATYYLAWY QQKPGQAPR LLIYGASSRA TGIPDRFSGS GSGTDFTLTI SRLEPEDFA VYYCQQYG YNPITFGQG TKVEIK	31
TMEB762	TMEH459	EVQLLESG GGLVQPG GSLRLSCA ASGFTFSS YSMSWVR QAPGKGLE WVSVISGS GGFTDYA DSVKGRFT ISRDNSKN TLYLQMNS LRAEDTAV YYCARMP LNSPHDY WGQGTLV	604	DL3L129	DIQMTQSPSS LSASVGDRV TITCRASQGI RNDLGWYQ QKPGKAPKL LIYAASSLQS GVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQDYN YPLTFGGGT KVEIK	607

[1134]

		TVSS				
TMEB757	TMEH460	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMSWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGFTDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYCARMPLNSPHDYWGQGTLVTVSS	612	B76L85	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQDYNYPLTFGGGTKVEIK	613

[1135] 表65.

[1136]

抗体	VH 名称	VL 名称	HC 蛋白质 SEQ ID NO:	LC 蛋白质 SEQ ID NO:
TMEB675	TMEH411	TMEL127	32	35
TMEB570	TMEH396	TMEL112	33	36
TMEB674	TMEH410	TMEL126	34	37
TMEB565	TMEH396	TMEL111	33	38
TMEB762	TMEH459	DL3L129	614	615
TMEB757	TMEH460	B76L85	616	617

[1137] 表66.

[1138]

HC 蛋白质 SEQ ID NO:	HC 氨基酸序列
32（TMEB675 HC）	evqllesggglvqrggslrpscaasgftfssysmswvrqapgkglewvsvisgsggftdyadsvkgrftisrdnskntlylhmnslraedtavyycarmplnsphdywgqgtlvtvssastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtktytcnvdhkpsntkvdkrveskygppcppcpapeaaggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiektiskakgqprepqvytlppsqeemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysrltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhytqkslslslgk
33（TMEB570、	qvqlvqsgaevkkpgssvkvsckasggtfssyyiswvrqapgqglewmggiipisgranyaqkfqgrvtitadeststaymelsslrsedtavyycardgyssgrsttyafdywgqgtlvtvssastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtktytcnvdhkpsntkvdkr

TMEB565 HC）	veskygppcppcpapeaaggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiektiskakgqprepqvytlppsqeemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysrltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhytqkslslslgk
34（TMEB674 HC）	evqllesggglvqppggslrlscaasgftfssysmswvrqapgkglewvsvisgggsftsyadsvkgrftisrdnsnntlylqmsslraedtafyycarmplnsphdcwgqgtlvtvssastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtktytcnvdhkpsntkvdkrveskygppcppcpapeaaggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiektiskakgqprepqvytlppsqeemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysrltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhytqkslslslgk
614（TMEB762 HC）	evqllesggglvqpggslrlscaasgftfssysmswvrqapgkglewvsvisgsggftdyadsvkgrftisrdnskntlylqmnslraedtavyycarmplnsphdywgqgtlvtvssastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtktytcnvdhkpsntkvdkrveskygppcppcpapeaaggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiektiskakgqprepqvytlppsqeemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysrltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhytqkslslslgk
616（TMEB757 HC）	evqllesggglvqpggslrlscaasgftfssysmswvrqapgkglewvsvisgsggftdyadsvkgrftisrdnskntlylhmnslraedtavyycarmplnsphdywgqgtlvtvssastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtktytcnvdhkpsntkvdkrveskygppcppcpapeaaggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiektiskakgqprepqvytlppsqeemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysrltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhytqkslslslgk

[1139]

[1140] 表67.

LC 蛋白质 SEQ ID NO:	LC 氨基酸序列
35（TMEB675 LC）	aiqmtqspsslsasvgdrvtitcrasqgirndlgwyqqkpgkapklliyaasslqsgvpsrfsgsgsgtdftltisslqpedfatyyclqdynyaltfgggtkveikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec
36（TMEB570 LC）	eivltqspgtlslspgeratlscrasqsvstyylawyqqkpgqaprlliygasyratgipdrfsgsgsgtdftltisrlepedfavyycqqyghspitfgqgtkveikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec
37（TMEB674 LC）	aiqmtqspsslsasvgdrvtitcrasqgirndlgwyqqkpgkapklliyaasslqsgvpsrfsgsgsgtdftltisslqpedfatyyclqdynysltfgggtkveirrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

[1141]

[1142]

38（TMEB565 LC）	eivltqspgtlslspgeratlscrasqsvatyylawyqqkpgqaprlliygassratgipdrfsgsgsgtdftltisrl epedfavyycqqygynpitfgqgtkveikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkv dnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec
615（TMEB762 LC）	diqmtqspsslsasvgdrvtitcrasqgirndlgwyqqkpgkapklliyaasslqsgvpsrfsgsgsgtdftltis slqpedfatyyclqdynypltfgggtkveikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkv dnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec
617（TMEB757 LC）	aiqmtqspsslsasvgdrvtitcrasqgirndlgwyqqkpgkapklliyaasslqsgvpsrfsgsgsgtdftltis slqpedfatyyclqdynypltfgggtkveikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkv dnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

[1143] 表68.

[1144]

抗体	VH cDNA SEQ ID NO:	VL cDNA SEQ ID NO:	HC cDNA SEQ ID NO:	LC cDNA SEQ ID NO:
TMEB675	39	42	46	49
TMEB570	40	43	47	50
TMEB674	41	44	48	51
TMEB565	40	45	47	590
TMEB762	618	619	620	621
TMEB757	622	623	624	625

[1145] SEQ ID NO:39(TMEB675 VH cDNA)

[1146] Gaggtgcagctgctggaaagcggcggaggcctggtgcagagaggaggaagcctgagacccagctgtgc cgccagcggcttcaccttcagcagctacagcatgagctgggtcaggcaggcccctggcaaaggactggagtgggtg agcgtgattagcggcagcggcggcttcaccgattacgccgacagcgtgaagggcaggttcaccatcagcagggaca atagcaagaacaccctgtacctgcacatgaacagcctgagggccgaggacaccgccgtgtactactgcgccaggat gcccctgaacagccctcacgactactggggccagggaaccctggtgaccgtgtccagc

[1147] SEQ ID NO:40(TMEB570、TMEB565 VHcDNA)

[1148] Caggtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcagcagcgtgaaagtgagctgcaa agcgagcggcggcaccttcagctcctattacattagctgggtgcgccaggcgccgggccagggcctggaatggatg ggtggcattatcccaatcagtgggcgtgctaattatgcgcagaaatttcagggccgcgtgaccattaccgctgatg aaagcaccagcaccgcgtatatggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattattgcgcgcgcga cggctacagtagtggacgtagcacaacatacgcatttgactattggggccagggcaccctggtgaccgtgtcgagt

[1149] SEQ ID NO:41(TMEB674 VH cDNA)

[1150] Gaagtgcagctgctggagagcggaggaggactggtgcagcctcctggcggaagcctgagactgagctg cgccgctagcggcttcaccttcagcagctacagcatgagctgggtgagacaggctcctggcaagggcctggagtgg gtgagcgtgatcagcggcggaggcagctttaccagctacgccgacagcgtgaagggcaggttcaccatcagcaggg acaacagcaacaacaccctgtacctgcagatgagcagcctgagggccgaggacaccgccttctactactgcgccag gatgcccctgaacagcccccatgactgctggggacagggcaccctggtgaccgtgagcagc

[1151] SEQ ID NO:42(TMEB675 VL cDNA)

[1152] Gccatccagatgacccagagccctagcagcctgagcgctagcgtgggcgacagggtgaccatcacctg cagggccagccagggcatcagaaacgacctgggctggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatc

tacgccgccagcagcctgcagagcggagtgcctagcaggttcagcggaagcggcagcggcaccgacttcaccctga
ccatcagcagcctgcagcccgaggacttcgccacctactactgcctgcaggactacaactacgccctgacattcgg
cggcggcaccaaggtggagatcaag

[1153] SEQ ID NO:43(TMEB570 VL cDNA)

[1154] Gaaattgtgctgacccagagcccgggcaccctgagcctgagcccgggcgaacgcgcgaccctgagctg
ccgcgcgagccagagcgtttccacatactacctggcgtggtatcagcagaaaccgggccaggcgccgcgcctgctg
atttacggtgcctcctatcgcgcgaccggcattccggatcgctttagcggcagcggttccggcaccgatttaccc
tgaccattagccgcctggaaccggaagattttgcggtgtattattgccagcagtacggtcacagcccgattactt
tggccagggcaccaaagtggaaatcaaa

[1155] SEQ ID NO:44(TMEB674 VL cDNA)

[1156] Gccatccagatgacccagagccctagcagcctgagcgctagcgtgggcgacagggtgaccatcacctg
cagggccagccagggcatcaggaacgacctgggctggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatc
tacgccgccagcagcctgcagagcggagtgcctagcaggttcagcggcagcggaagcggcaccgacttcaccctga
ccatctccagcctgcagcccgaggacttcgccacctactactgcctgcaggactacaactacagcctgaccttcgg
cggcggcaccaaggtggagatcagg

[1157] SEQ ID NO:45(TMEB565 VL cDNA)

[1158] Gaaattgtgctgacccagagcccgggcaccctgagcctgagcccgggcgaacgcgcgaccctgagctg
ccgcgcgagccagagcgttgccacctattatcttgcgtggtatcagcagaaaccgggccaggcgccgcgcctgctg
atttacggtgcatcctcccgtgcgaccggcattccggatcgctttagcggcagcggttccggcaccgatttaccc
tgaccattagccgcctggaaccggaagattttgcggtgtattattgccagcagtacggctataacccaattacctt
tggccagggcaccaaagtggaaatcaaa

[1159] SEQ ID NO:46(TMEB675 HC cDNA)

[1160] gaggtgcagctgctggaaagcggcggaggcctggtgcagagaggaggaagcctgagacccagctgtgc
cgccagcggcttcaccttcagcagctacagcatgagctgggtcaggcaggcccctggcaaaggactggagtgggtg
agcgtgattagcggcagcggcggcttcaccgattacgccgacagcgtgaagggcaggttcaccatcagcagggaca
atagcaagaacaccctgtacctgcacatgaacagcctgagggccgaggacaccgccgtgtactactgcgccaggat
gcccctgaacagccctcacgactactggggccagggaaccctggtgaccgtgtccagcgcttccaccaagggccca
tccgtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagccgccctgggctgcctggtcaaggact
acttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcct
acagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacgaaaacctacacc
tgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagtccaaatatggtcccccatgcccac
catgcccagcacctgaggccgccgggggaccatcagtcttcctgttcccccaaaacccaaggacactctcatgat
ctcccggaccccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccaggaagaccccgaggtccagttcaactggtac
gtggatggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtca
gcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctccc
gtcctccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacaccctgcccccatcc
caggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtgg
agtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttctt
cctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatgag

gctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctctgggtaaa

[1161] SEQ ID NO:47(TMEB570、TMEB565 HC cDNA)

[1162] caggtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcagcagcgtgaaagtgagctgcaa
agcgagcggcggcaccttcagctcctattacattagctgggtgcgccaggcgccgggccagggcctggaatggatg
ggtggcattatcccaatcagtgggcgtgctaattatgcgcagaaatttcagggccgcgtgaccattaccgctgatg
aaagcaccagcaccgcgtatatggaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattattgcgcgcgcga
cggctacagtagtggacgtagcacaacatacgcatttgactattggggccagggcaccctggtgaccgtgtcgagt
gcttccaccaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagccgccctgg
gctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgca
caccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttg
ggcacgaaaacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagtccaaat
atggtcccccatgcccaccatgcccagcacctgaggccgccgggggaccatcagtcttcctgttcccccaaaaacc
caaggacactctcatgatctcccggacccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccaggaagaccccgag
gtccagttcaactggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagttcaaca
gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggt
ctccaacaaaggcctcccgtcctccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtg
tacaccctgcccccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctacc
ccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctgga
ctccgacggctccttcttcctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtcttctca
tgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctctgggtaaa

[1163] SEQ ID NO:48(TMEB674 HC cDNA)

[1164] gaagtgcagctgctggagagcggaggaggactggtgcagcctcctggcggaagcctgagactgagctg
cgccgctagcggcttcaccttcagcagctacagcatgagctgggtgagacaggctcctggcaagggcctggagtgg
gtgagcgtgatcagcggcggaggcagctttaccagctacgccgacagcgtgaagggcaggttcaccatcagcaggg
acaacagcaacaacaccctgtacctgcagatgagcagcctgagggccgaggacaccgccttctactactgcgccag
gatgcccctgaacagcccccatgactgctggggacagggcaccctggtgaccgtgagcagcgcttccaccaagggc
ccatccgtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagccgccctgggctgcctggtcaagg
actacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgt
cctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacgaaaacctac
acctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagtccaaatatggtcccccatgcc
caccatgcccagcacctgaggccgccgggggaccatcagtcttcctgttcccccaaaacccaaggacactctcat
gatctcccggacccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccaggaagaccccgaggtccagttcaactgg
tacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtgg
tcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcct
cccgtcctccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacaccctgccccca
tcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccg
tggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctt
cttcctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcat
gaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctctgggtaaa

[1165] SEQ ID NO:49(TMEB675 LC cDNA)

[1166] Gccatccagatgacccagagccctagcagcctgagcgctagcgtgggcgacagggtgaccatcacctg
cagggccagccagggcatcagaaacgacctgggctggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatc
tacgccgccagcagcctgcagagcggagtgcctagcaggttcagcggaagcggcagcggcaccgacttcaccctga
ccatcagcagcctgcagcccgaggacttcgccacctactactgcctgcaggactacaactacgccctgacattcgg
cggcggcaccaaggtggagatcaagcgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcag
ttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaagg
tggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcct
cagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggc
ctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

[1167] SEQ ID NO:50(TMEB570 LC cDNA)

[1168] Gaaattgtgctgacccagagcccgggcaccctgagcctgagcccgggcgaacgcgcgaccctgagctg
ccgcgcgagccagagcgtttccacatactacctggcgtggtatcagcagaaaccgggccaggcgccgcgcctgctg
atttacggtgcctcctatcgcgcgaccggcattccggatcgctttagcggcagcggttccggcaccgatttaccc
tgaccattagccgcctggaaccggaagattttgcggtgtattattgccagcagtacggtcacagcccgattacttt
tggccagggcaccaaagtggaaatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgag
cagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgga
aggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacag
cctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcag
ggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

[1169] SEQ ID NO:51(TMEB674 LC cDNA)

[1170] Gccatccagatgacccagagccctagcagcctgagcgctagcgtgggcgacagggtgaccatcacctg
cagggccagccagggcatcaggaacgacctgggctggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatc
tacgccgccagcagcctgcagagcggagtgcctagcaggttcagcggcagcggaagcggcaccgacttcaccctga
ccatctccagcctgcagcccgaggacttcgccacctactactgcctgcaggactacaactacagcctgaccttcgg
cggcggcaccaaggtggagatcaggcgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcag
ttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaagg
tggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcct
cagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggc
ctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

[1171] SEQ ID NO:590(TMEB565 LC cDNA)

[1172] Gaaattgtgctgacccagagcccgggcaccctgagcctgagcccgggcgaacgcgcgaccctgagctg
ccgcgcgagccagagcgttgccacctattatcttgcgtggtatcagcagaaaccgggccaggcgccgcgcctgctg
atttacggtgcatcctcccgtgcgaccggcattccggatcgctttagcggcagcggttccggcaccgatttaccc
tgaccattagccgcctggaaccggaagattttgcggtgtattattgccagcagtacggctataacccaattacctt
tggccagggcaccaaagtggaaatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgag
cagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgga
aggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacag
cctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcag

ggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

[1173] SEQ ID NO:618(TMEB762 VH cDNA)

[1174] gaggtgcagctgctggaaagcggcggaggcctggtgcagcccggaggaagcctgagactcagctgtgc
cgccagcggcttcaccttcagcagctacagcatgagctgggtcaggcaggcccctggcaaaggactggagtgggtg
agcgtgattagcggcagcggcggcttcaccgattacgccgacagcgtgaagggcaggttcaccatcagcagggaca
atagcaagaacaccctgtacctgcagatgaacagcctgagggccgaggacaccgccgtgtactactgcgccaggat
gcccctgaacagccctcacgactactggggccagggaaccctggtgaccgtgtccagc

[1175] SEQ ID NO:619(TMEB762 VL cDNA)

[1176] gacatccagatgacccagagccctagcagcctgagcgctagcgtgggcgacagggtgaccatcacctg
cagggccagccagggcatcagaaacgacctgggctggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatc
tacgccgccagcagcctgcagagcggagtgcctagcaggttcagcggaagcggcagcggcaccgacttcaccctga
ccatcagcagcctgcagcccgaggacttcgccacctactactgcctgcaggactacaactacccccctgacattcgg
cggcggcaccaaggtggagatcaag

[1177] SEQ ID NO:620(TMEB762 HC cDNA)

[1178] gaggtgcagctgctggaaagcggcggaggcctggtgcagcccggaggaagcctgagactcagctgtgc
cgccagcggcttcaccttcagcagctacagcatgagctgggtcaggcaggcccctggcaaaggactggagtgggtg
agcgtgattagcggcagcggcggcttcaccgattacgccgacagcgtgaagggcaggttcaccatcagcagggaca
atagcaagaacaccctgtacctgcagatgaacagcctgagggccgaggacaccgccgtgtactactgcgccaggat
gcccctgaacagccctcacgactactggggccagggaaccctggtgaccgtgtccagcgcttccaccaagggccca
tccgtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagccgccctgggctgcctggtcaaggact
acttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcct
acagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacgaaaacctacact
tgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagtccaaatatggtcccccatgcccac
catgcccagcacctgaggccgccgggggaccatcagtcttcctgttcccccaaaacccaaggacactctcatgat
ctcccggacccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccaggaagaccccgaggtccagttcaactggtac
gtggatggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtca
gcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctccc
gtcctccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacaccctgcccccatcc
caggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtgg
agtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttctt
cctctacagcaggctaaccgtggacaagagcagatggcaggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
gctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctctgggtaaa

[1179] SEQ ID NO:621(TMEB762 LC cDNA)

[1180] gacatccagatgacccagagccctagcagcctgagcgctagcgtgggcgacagggtgaccatcacctg
cagggccagccagggcatcagaaacgacctgggctggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatc
tacgccgccagcagcctgcagagcggagtgcctagcaggttcagcggaagcggcagcggcaccgacttcaccctga
ccatcagcagcctgcagcccgaggacttcgccacctactactgcctgcaggactacaactacccccctgacattcgg
cggcggcaccaaggtggagatcaagcgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcag
ttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaagg

tggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcct
cagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggc
ctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgttag

[1181] SEQ ID NO:622(TMEB757 VH cDNA)

[1182] gaggtgcagctgctggaaagcggcggaggcctggtgcagcccggaggaagcctgagactcagctgtgc
cgccagcggcttcaccttcagcagctacagcatgagctgggtcaggcaggcccctggcaaaggactggagtgggtg
agcgtgattagcggcagcggcggcttcaccgattacgccgacagcgtgaagggcaggttcaccatcagcagggaca
atagcaagaacaccctgtacctgcacatgaacagcctgagggccgaggacaccgccgtgtactactgcgccaggat
gcccctgaacagccctcacgactactggggccagggaaccctggtgaccgtgtccagc

[1183] SEQ ID NO:623(TMEB757 VL cDNA)

[1184] gccatccagatgacccagagccctagcagcctgagcgctagcgtgggcgacagggtgaccatcacctg
cagggccagccagggcatcagaaacgacctgggctggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatc
tacgccgccagcagcctgcagagcggagtgcctagcaggttcagcggaagcggcagcggcaccgacttcaccctga
ccatcagcagcctgcagcccgaggacttcgccacctactactgcctgcaggactacaactacccccctgacattcgg
cggcggcaccaaggtggagatcaag

[1185] SEQ ID NO:624(TMEB757 HC cDNA)

[1186] gaggtgcagctgctggaaagcggcggaggcctggtgcagcccggaggaagcctgagactcagctgtgc
cgccagcggcttcaccttcagcagctacagcatgagctgggtcaggcaggcccctggcaaaggactggagtgggtg
agcgtgattagcggcagcggcggcttcaccgattacgccgacagcgtgaagggcaggttcaccatcagcagggaca
atagcaagaacaccctgtacctgcacatgaacagcctgagggccgaggacaccgccgtgtactactgcgccaggat
gcccctgaacagccctcacgactactggggccagggaaccctggtgaccgtgtccagcgcttccaccaagggccca
tccgtcttcccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagccgccctgggctgcctggtcaaggact
acttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcct
acagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacgaaaacctacact
tgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagtccaaatatggtcccccatgcccac
catgcccagcacctgaggccgccgggggaccatcagtcttcctgttcccccaaaacccaaggacactctcatgat
ctcccggacccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccaggaagaccccgaggtccagttcaactggtac
gtggatggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtca
gcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctccc
gtcctccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacaccctgcccccatcc
caggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtgg
agtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttctt
cctctacagcaggctaaccgtggacaagagcagatggcaggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
gctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctctgggtaaa

[1187] SEQ ID NO:625(TMEB757 LC cDNA)

[1188] gccatccagatgacccagagccctagcagcctgagcgctagcgtgggcgacagggtgaccatcacctg
cagggccagccagggcatcagaaacgacctgggctggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatc
tacgccgccagcagcctgcagagcggagtgcctagcaggttcagcggaagcggcagcggcaccgacttcaccctga
ccatcagcagcctgcagcccgaggacttcgccacctactactgcctgcaggactacaactacccccctgacattcgg

cggcggcaccaaggtggagatcaagcgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcag
ttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaagg
tggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcct
cagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggc
ctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgttag

[1189] 用于选定抗TMEFF2抗体的框架示于表69中。

[1190] 表69.

[1191]

抗体	VH 框架	VH 框架 SEQ ID NO:	VL 框架	VL 框架 SEQ ID NO:
TMEB675	VH3_3-23	53	VKI_L11	55
TMEB570	VH1_1-69	54	VKIII_A27	591
TMEB674	VH3_3-23	53	VKI_L11	55
TMEB565	VH1_1-69	54	VKI_L11	55
TMEB762	VH3_3-23	53	VKI_L11	55
TMEB757	VH3_3-23	53	VKI_L11	55

[1192]

[1193] SEQ ID NO:53(VH3_3-23框架)

[1194] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFT
ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGQGTLVTVSS

[1195] SEQ ID NO:54(VH1_1-69框架)

[1196] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFS SYAISWVRQAPGQGLEWMG GIIPIFGTANYAQKFQG
RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR

[1197] SEQ ID NO:55(VKI_L11框架)

[1198] aiqmtqspsslsasvgdrvtitcrasqgirndlgwyqqkpgkapklliyaasslqsgvpsrfsgsgsg
tdftltisslqpedfatyyclqdynyp

[1199] SEQ ID NO:591(VKIII_A27框架)

[1200] EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSG
TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSP

[1201] 7-5抗TMEFF2抗体的表位作图

[1202] 使用H/D交换进行TMEB570和TMEB675的表位作图。在这些测定法中使用TMEW1(SEQ ID NO:578)作为TMEFF2的来源。

[1203] 通过添加130μL的4M盐酸胍、0.85MTCEP缓冲液(终pH为2.5)并将混合物在10℃下温育3分钟,来使130μL对照缓冲液(50mM磷酸盐、100mM氯化钠,pH为7.4)中的10μgTMEW1变性。然后使用内部填充的胃蛋白酶/蛋白酶XIII(w/w,1:1)柱(2.1mm×30mm)使混合物经受柱上胃蛋白酶/蛋白酶XIII消化。使用UPLC-MS系统分析所得的肽,该系统由

WatersAcquityUPLC偶联到QExactiveTM混合四极-轨道阱质谱仪(Thermo)构成。在50mm×1mmC8柱上,梯度洗脱16.5分钟,从2%至34%的溶剂B(0.2%甲酸乙腈溶液)中分离肽。溶剂A为0.2%甲酸水溶液。注射阀和胃蛋白酶/蛋白酶XIII柱及其相关的连接管位于保持在10℃下的冷却箱内部。第二个切换阀、C8柱及其相关的不锈钢连接管位于另一保持在-6℃下的冷却循环箱内部。通过采用Mascot,针对TMEW1序列搜索MS/MS数据进行肽鉴定。前体和产物离子的质量容差分别为7ppm和0.02Da。

[1204] 将10μL的TMEW1(5μg)、或10μL的TMEW1和TMEB570或TMEB675混合物(5μg:15μg)与120μL的氧化氘标记缓冲液(50mM磷酸钠、100mM氯化钠,pH为7.4)一起在10℃下温育0秒、30秒、360秒、3600秒或14400秒。每个时间点的氢/氘(H/D)交换重复进行两次。通过添加130μL的4M盐酸胍、0.85M的TCEP缓冲液(终pH为2.5)来淬灭氢/氘交换。随后,使淬灭的样本经受如上文所述的柱上胃蛋白酶/蛋白酶XIII消化和LC-MS分析。质谱仪以MS模式记录。

[1205] 使用HDXWorkBench软件处理原始MS数据,以分析H/D交换MS数据(Pascal等人,J.Am.Soc.MassSpectrom.2012年,第23卷,第9期,第1512-1521页)。用氘化肽与其天然形式(t0)之间的平均质量差值来计算氘水平。约97%-99%的蛋白质可映射到特定肽。随着肽交换时间的推移,氘积聚曲线的斜率显示出显著差异。

[1206] TMEB570表位:TMEW1显示出在残基235-249(残基根据SEQ ID NO:575进行编号)处氘吸收适当地降低,例如膜近侧区内的残基HGKCEHSINMQEPSC(SEQ ID NO:592)在与TMEB570结合时不发生H/D交换。

[1207] TMEB675表位:TMEW1显示出在残基252-268(残基根据SEQ ID NO:575进行编号)处氘吸收适当地降低,例如膜近侧区内的残基DAGYTGQHCEKKDYSVL(SEQ ID NO:600)在与TMEB675结合时不发生H/D交换。

[1208] 因此,TMEB570TMEFF2表位残基涵盖HGKCEHSINMQEPSC(SEQ ID NO:592),并且TMEB675表位残基涵盖DAGYTGQHCEKKDYSVL(SEQ ID NO:600)。两种抗体均结合膜近侧区内的TMEFF2。

[1209] 7-6双特异性TMEFF2×CD3抗体的产生

[1210] 选定单特异性抗TMEFF2和抗CD3抗体(参见实施例1-7)表示为IgG4/κ。在抗CD3抗体中进行F405L和R409K置换(EU编号),而抗TMEFF2抗体具有野生型IgG4。除了位置405和409置换之外,IgG4mAb被工程化为具有S228P、F234A和L235A置换。

[1211] 使用蛋白质A柱(HiTrapMabSelectSuRe柱)使用标准方法表达并纯化单特异性抗体。洗脱后,将收集物透析至D-PBS(pH7.2)。

[1212] 通过在体外Fab臂交换中组合单特异性TMEFF2 mAb和单特异性CD3mAb来产生双特异性TMEFF2×CD3抗体,如国际专利公布WO2011/131746中所述。简而言之,将约1-20mg/mL的每种抗体的PBS溶液(pH7-7.4)和75mM2-巯基乙醇胺(2-MEA)以摩尔比1:1混合在一起并在25℃-37℃下温育2-6小时,之后采用标准方法通过透析、渗滤、切向流过滤和/或旋转细胞过滤去除2-MEA。

[1213] 在体外Fab臂交换之后,使用疏水相互作用色谱法进一步纯化双特异性抗体,以使用标准方法最大程度减少残余的亲本抗TMEFF2和抗CD3抗体。

[1214] 表73和表74示出了所产生的双特异性抗体。

[1215] 表73.

[1216]

双特异性抗体	亲本(TMEFF2臂/CD3臂)	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
TMCB132	TMEB675	582	584	587	18	588	22
	CD3B376	662	663	664	671	673	690
TMCB131	TMEB570	583	585	16	19	21	23
	CD3B376	662	663	664	671	673	690
TMCB150	TMEB762	582	584	587	18	588	603
	CD3B376	662	663	664	671	673	690

[1217] 表74.

[1218]

双特异性抗体	亲本(TMEFF2臂/CD3臂)	VH	VL	HC	LC
TMCB132	TMEB675	25	28	32	35
	CD3B376	652	661	640	676
TMCB131	TMEB570	589	29	33	36
	CD3B376	652	661	640	676
TMCB150	TMEB762	604	607	614	615

[1219]

0	CD3B376	652	661	640	676

[1220] 7-7双特异性TMEFF2×CD3抗体的表征

[1221] 通过分析超速离心进行纯度分析(AUC)

[1222] 分析超速离心(AUC)允许测定溶液中大分子的尺寸、形状、聚集状态和可逆相互作用。沉降速度(SV)是一种AUC技术,该技术允许大分子的浓度梯度在离心机旋转时移动到样本夹持器(池)的外半径。这实现沉降系数的测定,该沉降系数是分子的尺寸和形状的因子,并且对于每种分子均是独特的。出于此目的,使用BeckmanOptimaAUC仪器。将样本装载到配备有1.2cm Beckman中心件(额定为50Krpm)和石英窗的离心池中。将离心池装配并扭转至130lbs。将离心池置于An-50(8孔)或An-60(4孔)转子中并置于AUC室内。在开始运行之前,利用室中的转子将AUC的温度平衡至20.5℃并持续至少一小时。对于mAb样本,按以下设置来运行:40Krpm,扫描计数(250次扫描)、扫描收集频率(90秒)、数据分辨率(10μM)、280nm波长。使用直接边界拟合软件SEDANAL分析数据。测量双特异性抗体TMCB150及其亲本mAb的纯度。TMCB150显示出97.1%的单体、2.8%的二聚体单体并且不聚集,如通过AUC满足瞬时表达的研究材料的可接受标准以用于进一步生物物理表征所测定的。TMEB762显示出95.5%单体、4.5%二聚体并且无聚集,而CD3B376显示出97.7%单体和2.2%二聚体,且无聚集。最少两步纯化分子的>5%的聚集体水平可对生物活性、溶解度、稳定性和储存寿命具有显著影响。

[1223] 通过DSC测定的抗TMEFF2/CD3双特异性抗体的构象稳定性

[1224] 通过DSC(差示扫描量热法)测定TMCB150热解折叠,DSC显示在解折叠开始时Tm=52.6℃,第一热转变(Tm1)为61.8℃,第二热转变(Tm2)为67.6℃,并且第三热转变(Tm3)为75.5℃。基于如通过之前DSC所评估的亲本抗体(抗TMEFF2、TMEB762和抗CD3、CD3B376)的热转变特征,TMCB150的Tm1对应于CD3B376FAB解折叠,并且TMCB150的Tm3对应于TMEB762Fab

解折叠转变。

[1225] 血清稳定性

[1226] 开发血清稳定性测定法以评估非特异性或脱靶结合至人血清组分的前导候选物的特性。这可预测较差的药代动力学和生物分布特性。使用基于荧光的色谱法在缓冲液和人血清两者中评估TMCB150的结合和稳定性。用AlexaFluor488缀合物(Invitrogen试剂盒,根据制造商的说明)标记双特异性抗体,将其在Hepes缓冲液和人血清(Sigma,目录号H4522)中在4℃和37℃下温育2天,然后使用配备有荧光检测器的AgilentHPLC系统通过SEC-HPLC进行分析。由每个峰曲线下面积的积分计算聚集体百分比。TMCB150在时间零点在Hepes缓冲液中显示出2.4%聚集,并且在4℃和37℃下两天后分别显示出2.0%和1.3%聚集。在人血清中,TMCB150在时间零点显示出1.7%聚集,并且在4℃和37℃下两天后显示出1.1%聚集。

[1227] 非特异性结合

[1228] 通过生物传感器技术(Biacore 8K)测定前导分子与不相关表面的非特异性结合。使抗体在涂覆有不相关蛋白质的SPR表面上通过。如果抗体显示出与这些不相关表面的显著结合,则预测该抗体具有较差的体内特性并且表现出制造难题。在1μM的最终浓度下测试前导分子。不相关的表面包括带负电的蛋白质(大豆胰蛋白酶抑制剂)、带正电的蛋白质(溶菌酶和β-防御素)、疏水性蛋白质(Rh-整联蛋白a4b7)、人IgG、粘性蛋白质(Rh-CD19)。在该实验中使用适当的对照。前导分子在两个表面上流动,一个表面是空白,另一个表面具有直接固定的分子。应答单位(RU)水平通过从测试表面RU中减去空白RU来确定。TMCB150和亲本mAb的RU在下表中给出。应答单位≥100预测非特异性结合至带电/疏水性/IgG表面的风险高,这将在制造期间产生挑战并转化为不良PK特性。无一种抗体显示出与不相关表面的非特异性结合,这预测制造和体内行为的风险低至无风险。

[1229] 表75.

[1230]

	STI	β-防御素-3	人IgG	溶菌酶	rh-整联蛋白a4b7	rh-CD19
TMCB150	1.6	6.4	7.5	4.2	0	3.4
TMEB762	0	4.1	8.4	4.6	0	3.3
CD3B376	19.5	3.1	0.4	0.2	0	0

[1231] 高浓度稳定性

[1232] 许多单克隆抗体以高浓度(≥100mg/mL)配制以减小注射体积,从而有利于皮下施用。此外,所有单克隆抗体在纯化过程中暴露于瞬时高浓度(≥50mg/mL)。因此,高浓度稳定性是这些分子的关键质量属性。使用具有30kDaMWCO膜的离心超滤装置进行浓缩。将5.1mg至5.3mg的每种蛋白质初始稀释至相同的起始浓度并以4000×g以15分钟的间隔离心。在每个15分钟离心步骤结束时,将浓缩器从离心机中取出并记录剩余样本体积的视觉估计。通过SoloVPE仪器测量浓度。将浓缩的样本在4℃和40℃下温育2周,并且每隔一段时间抽取等分试样以通过分析SEC检查完整性。将TMCB150和亲本mAb(CD3B376和TMEB762)正常浓缩。TMCB150的最终浓度为99.4mg/mL,并且亲本mAb的最终浓度为52.2mg/mL(TMEB762)和52.6mg/mL(CD3B376)。在4℃和40℃下,在2周内浓度保持相同,这表明分子具有良好的固有特性,没有聚集或吸附到eppendorf管的可能性。如由SEC峰积分测量的物质%(A:聚集体;M:单体;F:片段)提供于下表中。在高浓度下,在40℃下保存2周之后,分子是完整的,具有

4%-5%的聚集体和≤0.3%的片段,这预测良好的储存寿命。

[1233] 表76.

[1234]

	时间零点			2周，4℃			2周，40℃		
	A	M	F	A	M	F	A	M	F
TMCB150	0.8	99.2	0	1.4	98.6	0	3.6	96.1	0.3
TMEB762	2.5	97.5	0	2.7	97.3	0	3.1	96.9	0
CD3B376	1.1	98.9	0	2.5	97.5	0	5.1	94.7	0.2

[1235] 通过动力学排斥测定法(KinExA)测定的抗TMEFF2/CD3双特异性抗体的亲和力

[1236] 使用KinExA3200仪器(Sapidyne Instruments,Inc.)来测量双特异性mAbTMCB150及其二价TMEFF2亲本TMEB762 mAb与人TMEFF2胞外结构域(ECD)的溶液平衡亲和力K_D。在pH为7.4的10mMHEPES、150mMNaCl、0.05%表面活性剂P20、0.1%BSA和0.02%NaN3中用恒定浓度的抗TMEFF2 mAb制备人TMEFF2胞外结构域(ECD)的系列稀释液。将反应混合物在室温下温育直至结合相互作用达到平衡。使用KinExA软件模拟确定温育的持续时间。通过在由双丙烯酰胺/吖内酯共聚物(Pierce Biotechnology,Inc.)构成的预活化珠上通过氨基偶联直接共价固定TMEFF2-ECD来制备珠。温育后,在KinExA仪器上运行样本,以通过使混合物通过TMEFF2修饰的珠并使用荧光标记的二抗检测捕获的抗体来评估混合物中的游离抗体。使用KinExAPro软件,以1:1结合模型拟合数据。

[1237] 表77.

[1238]

mAb样本	K_DpM	95%CI,K_DpM
TMCB150	63.6	55.8-71.9
TMEB762	46.1	38.0-55.1

[1239] 抗TMEFF2/CD3双特异性抗体与N末端CD3ε肽的结合亲和力的测量

[1240] 通过使用Biacore8K(GEHealthcare)和抗人Fc生物传感器表面进行的SPR测量动力学速率常数。将抗人免疫球蛋白抗体共价偶联到CM4传感器芯片(GEHealthcare)的表面。在抗人免疫球蛋白传感器芯片上捕获所关注的抗体,之后在含有0.05%表面活性剂P20(Tween™ 20)和100μg/mL BSA的HEPES缓冲盐水中注射不同浓度的N末端CD3ε肽。以100μL/min的速率两次脉冲注射30μL 0.8%磷酸,使表面再生。所报告的数据是含有所捕获抗体的流动池与不含捕获抗体的参考池之间的SPR信号的差异。通过从扣除参考的信号中减去空白注射的数据来去除对信号的额外仪器贡献。通过使用Biaevaluation软件(Biacore,Inc.),用1:1结合模型拟合所有浓度下的缔合相和解离相(全局拟合)来分析数据。将数据报告为平均值+95%CI(置信区间),其通过95%CI的t值*标准差/平行测定数目的平方根计算。

[1241] 表78.

[1242]

mAb样本	平均值 k_{on} (1/Ms)	平均值 k_{off} (1/s)	平均值 K_D，nM	95% CI，K_D pM
TMCB150	3.57E+04	1.03E-03	28.7	24.4-34.3
CD3B376	4.33E+04	1.17E-03	26.9	21.1-34.4

[1243] 7-8双特异性TMEFF2×CD3抗体在T细胞介导的前列腺癌细胞杀伤中是有效的。

[1244] T细胞介导的前列腺癌细胞杀伤

[1245] 评估选定双特异性TMEFF2×CD3抗体介导T细胞介导的前列腺癌细胞杀伤的能力。

[1246] 使用半胱天冬酶细胞毒性测定法测量T细胞介导的TMEFF2×CD3双特异性抗体的杀伤,该测定法通过活性半胱天冬酶3/7裂解荧光底物来间接测量细胞杀伤。底物的裂解产生荧光DNA染料,其中荧光局限于细胞核。在整个测定过程中,使用能够在相同坐标下对孔精确成像的10X机动物镜,在每个孔中进行重复荧光测量。基于限定的尺寸限制和/或通过使用第二标记来鉴定靶细胞群。

[1247] 通过阴性选择从正常健康供体中分离冷冻的PanCD3$^+$T细胞(Biological Specialty Corporation,Colmar,PA)。将表达TMEFF2的前列腺癌细胞(LNCaP-AR)在具有10%HIFBS+补充剂的RPMI 1640(Life Technologies)中培养。在无选择试剂的情况下,将T细胞和靶细胞在无酚红RPMI+10%FBS和补充剂(Life Technologies)中以3:1的效应子与靶标比率(E:T)混合,并且根据制造商指导将0.6μL NucView半胱天冬酶试剂(Essen Bioscience)添加至每mL细胞中。将总体积为0.1mL的细胞添加至透明的96孔平底板(BD Falcon)的适当孔中。在如上所示制备的无酚红RPMI中以2X最终浓度制备TMEFF2×CD3双特异性抗体,并将0.1mL的化合物添加至每个孔。在室温下温育30分钟以最大程度减少孔边缘处的细胞聚集之后,将板转移至保持在37℃、5%CO_2下的Zoom Incucyte仪器(Essen Bioscience)中。

[1248] 根据制造指南为所测试的每种细胞系设计Incucyte上的处理定义。每六小时进行测量,直到观察到半胱天冬酶信号中的平台,之后是从含有最高浓度的测试化合物的孔中的最大信号开始的三次或更多次连续减小。

[1249] 在完成测定之后,使用适当的处理定义来分析每块板。从Incucyte Zoom软件导出原始荧光数据,并将其粘贴到GraphPad Prism(GraphPad Software,Inc.,La Jolla,CA)中。通过计算GraphPad中每个孔的曲线下面积(AUC)来确定半胱天冬酶3/7活性。将AUC值作为Log10nM化合物的函数作图。在非线性回归分析(4参数拟合,最小二乘法)之后报告以纳摩尔(nM)为单位的每条剂量曲线的EC50。每个测定含有最少三个生物平行测定样,并且使用来自五名健康供体的T细胞测试每种细胞系。使用非线性回归模型通过非临床统计进一步分析数据。

[1250] 双特异性TMEFF2×CD3抗体在体内前列腺癌肿瘤模型中是有效的

[1251] 在雄性NSG小鼠中在离体LnCaP前列腺癌模型中测试选定双特异性抗体。对于该研究,在第0天通过皮下注射将在0.2mL/动物中的10^6个LnCaP细胞的50%Cultrex溶液施用于右胁腹。当肿瘤达到约100-150mm^3体积时,将动物随机化,并且在第15天时腹膜注射20^6个T细胞/小鼠。每组十只动物。在注射T细胞后1-3天开始用抗体处理。抗体经腹膜施用,每周两次。在给药之前,所有动物均接受IVIG+Fc阻断剂。评估肿瘤体积和体重,每周两次,直到肿瘤达到约1200mm^3。处理组示于表79中。在这些测定中使用CD3×空白抗体作为阴性对照,该抗体具有CD3结合臂和结合HIVgp120的空白臂。

[1252] 表79.

[1253]

组	处理	剂量
1	CD3×空白	5mg/kg
6	TMCB131（TMEB570×CD3B376）	5mg/kg
7	TMCB131（TMEB570×CD3B376）	0.5mg/kg
8	TMCB132（TMEB675×CD3B376）	5mg/kg
9	TMCB132（TMEB675×CD3B376）	0.5mg/kg

[1254] 表80示出了肿瘤植入后每组在第38天的肿瘤生长抑制百分比。

[1255] 图71示出了肿瘤植入后平均肿瘤体积随时间推移而减小。图72示出了用0.05mg/kg、0.1mg/kg或0.5mg/kg TMEB762×CD3B376处理的每只小鼠的平均肿瘤体积的减小。

[1256] 表80.

[1257]

处理	第38天时的%TGI
CNTO7008（空白×CD3）	
TMCB132（TMEB675×CD3B376）5mg/kg	48
TMCB132（TMEB675×CD3B376）0.5mg/kg	47.7
TMCB131（TMEB570×CD3B376）5mg/kg	23.3
TMCB131（TMEB570×CD3B376）0.5mg/kg	35

[1258] 在用20e6个T细胞人源化的雄性NOD.Cg-Prkdc^{scid}I12rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG)小鼠中的已建立LNCaP异种移植物中评估了TMEB762×CD3B376(TMCB150)的功效。在肿瘤移植后第13天时,通过平均肿瘤体积将动物随机分成各10只动物的组。将0.5mg/kg、0.1mg/kg和0.05mg/kg的TMEB762×CD3B376或0.5mg/kg的空白×CD3B376抗体对照IP给药,每周两次,持续5周。在肿瘤移植后第35天时,当每组保留至少八只动物时,计算由肿瘤体积确定的肿瘤生长抑制(%TGI)。与空白×CD3对照(图72,p≤0.0001)相比,用0.5mg/kg和0.1mg/kg,而不是0.05mg/kg的TMEB762×CD3B376观察到统计意义上显著的肿瘤生长抑制。与空白×CD3处理的对照相比,0.5mg/kg、0.1mg/kg和0.05mg/kg的TMEB762×CDB376分别引发110%、88%和25%的肿瘤生长抑制。0.5mg/kg和0.1mg/kg的TMEB762×CDB376处理分别导致七个和三个完全应答。通过卡尺测量皮下LNCaP肿瘤,每周两次,结果表示为平均肿瘤体积(mm^3)±SEM(每组剩余≥8只小鼠)。

[1259] 响应于施用TMCB132的T细胞活化

[1260] 通过流式细胞术测量LnCaP前列腺癌细胞中的T细胞活化,具体地通过评估用TMCB132处理后72小时的6名单独的正常健康供体(9642、9672、9762、9772、9832、9852)中CD3+/CD8+T细胞的CD25阳性来测量(图73)。响应于在LnCaP前列腺癌细胞上施用TMCB132,观察到以3:1的效应子:靶标比率添加的CD3+pan-T细胞的活化。

[1261] 体外TMCB132的T细胞介导的细胞毒性。

[1262] 使用T细胞介导的细胞毒性测定法,使用Incucyte平台上的实时时光流逝成像来评估体外TMCB132的潜在细胞毒性。在来自健康供体的分离的Pan人CD3+T细胞的存在下,以

3:1的(效应子:靶标)效应子:靶标比率(E:T比率)在TMEFF2阳性细胞系LnCaP中测试TMCB132。通过在96小时的时间段内测量活性半胱天冬酶-3/7的荧光信号来监测凋亡引起的细胞死亡。随着时间的增加,TMCB132促进活LnCaP细胞的剂量依赖性减少。半胱天冬酶-3/7活性或荧光信号的剂量依赖性增强表明在存在T细胞的情况下LnCaP细胞中的细胞死亡(图74)。数据表明,TMCB132在诱导LnCaP肿瘤细胞中T细胞介导的死亡方面是有效的。

[1263] TMCB132在T细胞人源化小鼠中已建立SC人前列腺异种移植物中的功效。

[1264] 在用20e^{6}个T细胞人源化的雄性NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG,TheJacksonLaboratory,BarHarbor,ME)小鼠中的已建立皮下(SC)人前列腺LNCaP异种移植物中评估TMCB132的抗肿瘤功效。在肿瘤移植后第13天时,通过平均肿瘤体积将动物随机分成各10只动物的组。将0.5mg/kg、0.1mg/kg和0.05mg/kg的TMCB132或0.5mg/kg的空白×CD3B219抗体对照IP给药,每周两次,持续4周。在肿瘤移植后第45天时,当每组保留至少七只动物时,计算由肿瘤体积确定的肿瘤生长抑制(%TGI)。与空白×CD3对照(图75,p≤0.0001)相比,用0.5mg/kg和0.1mg/kg和0.05mg/kg的TMCB132观察到统计意义上显著的肿瘤生长抑制。与空白×CD3处理的对照相比,0.5mg/kg、0.1mg/kg和0.05mg/kg的TMCB132分别引发102%、109%和47%的肿瘤生长抑制。0.5mg/kg、0.1mg/kg和0.05mg/kg的TMCB132处理分别导致三个、两个和一个完全应答。

序列表

<110> 詹森生物科技公司

<120> 抗 CD3 抗体及其用途
<130> JBI5135WOPCT1
<150> 62/676,081
<151> 2018-05-24
<160> 729
<170> PatentIn 版本 3.5
<210> 1
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 1
Glu Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Met Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 2
<211> 17
[0001] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 2
Glu Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Met Lys
1 5 10 15
Ser

<210> 3
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 3
Glu Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Leu Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 4
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 4
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10
<210> 5
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 5
Gln Gln Arg Gly Asn Trp Pro Leu Thr
1 5
<210> 6
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 6

[0002]
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 Lys Ser Asp
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Glu Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Met
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 Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Tyr Val Gly Asp Tyr Phe Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 7
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 7

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

<210> 8
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

[0003] <400> 8

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

<210> 9
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 9

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

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 10

[0004]
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 Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Gly Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 11
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 11

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

[0005] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
210 215 220
Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Leu Gly Lys
450

<210> 12
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 12
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 Lys Ser Asp
20 25 30

[0006] Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Glu Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Met
50 55 60
Lys Ser 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 Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Tyr Val Gly Asp Tyr Phe Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser

210 215 220
Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[0007] 385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Leu Gly Lys
450

<210> 13
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 13
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 Lys Ser Asp
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Glu Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Leu

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 Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Tyr Val Gly Asp Tyr Phe Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
210 215 220
Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
[0008] 225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Leu Gly Lys
450

<210> 14
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 14

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 Gln Ser Val Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
His Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
[0009] 65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 15
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 15
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 Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Gly Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
[0010] 145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 16
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 16
Asp Gly Tyr Ser Ser Gly Arg Ser Thr Thr Tyr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10 15
<210> 17
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 17
Met Pro Leu Asn Ser Pro His Asp Cys
1 5
<210> 18
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 18
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly
1 5 10
<210> 19
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 19
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Tyr Tyr Leu Ala
1 5 10

[0011]
<210> 20
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 20
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Arg Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30
Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Val Asn Pro Asp Thr Ser Arg Asn
65 70 75 80
Gln Phe Thr Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 21
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 21
Gly Ala Ser Tyr Arg Ala Thr
1 5
<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 22
Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Ala Leu Thr
1 5
<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0012]

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 23
Gln Gln Tyr Gly His Ser Pro Ile Thr
1 5
<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 24
Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Ser Leu Thr
1 5
<210> 25
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 25
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Arg Gly Gly
1 5 10 15

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

<210> 26
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 26

[0013]
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30
Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Asp
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Asn Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Ile Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Arg Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Leu Asp Gly Tyr Glu Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 27
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 27
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Pro Gly

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

<210> 28
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 28

[0014] Ala Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr 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
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Ala Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 29
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 29
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

<210> 30
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 30

Ala Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
[0015] 20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr 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
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Ser Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Arg
100 105

<210> 31
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 31

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

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

<210> 32
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 32
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Arg Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Pro Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

[0016]
Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Phe Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu His Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Met Pro Leu Asn Ser Pro His Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
210 215 220
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu

225 230 235 240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350
Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[0017] 405 410 415
Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 33
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 33

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Ser Gly Arg Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser 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
Ala Arg Asp Gly Tyr Ser Ser Gly Arg Ser Thr Thr Tyr Ala Phe Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
210 215 220
Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
[0018] 260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Gly Lys
450

<210> 34
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 34

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Pro Gly
1 5 10 15
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser
20 25 30
Tyr Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Val Ser Val Ile Ser Gly Gly Gly Ser Phe Thr Ser Tyr Ala Asp Ser
50 55 60
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Asn Asn Thr Leu
65 70 75 80
Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Met Pro Leu Asn Ser Pro His Asp Cys Trp Gly Gln Gly
[0019] 100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 35
<211> 214
[0020] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 35

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

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 36
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 36

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Tyr
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
[0021] 35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Tyr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly His Ser Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 37
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 37

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

[0022]

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 38
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 38

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Thr Tyr

20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Tyr Asn Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
[0023] 195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 39
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 39

gaggtgcagc tgctggaaag cggcggaggc ctggtgcaga gaggaggaag cctgagaccc 60
agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc agctacagca tgagctgggt caggcaggcc 120
cctggcaaag gactggagtg ggtgagcgtg attagcggca gcggcggctt caccgattac 180
gccgacagcg tgaagggcag gttcaccatc agcagggaca atagcaagaa caccctgtac 240
ctgcacatga acagcctgag ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caggatgccc 300
ctgaacagcc ctcacgacta ctggggccag ggaaccctgg tgaccgtgtc cagc 354

<210> 40
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 40

caggtgcagc tggtgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg 60
agctgcaaag cgagcggcgg caccttcagc tcctattaca ttagctgggt gcgccaggcg 120
ccgggccagg gcctggaatg gatgggtggc attatcccaa tcagtgggcg tgctaattat 180
gcgcagaaat ttcagggccg cgtgaccatt accgctgatg aaagcaccag caccgcgtat 240
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc gcgcgacggc 300
tacagtagtg gacgtagcac aacatacgca tttgactatt ggggccaggg caccctggtg 360
accgtgtcga gt 372

<210> 41
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 41

gaagtgcagc tgctggagag cggaggagga ctggtgcagc ctcctggcgg aagcctgaga 60
ctgagctgcg ccgctagcgg cttcaccttc agcagctaca gcatgagctg ggtgagacag 120
gctcctggca agggcctgga gtgggtgagc gtgatcagcg gcggaggcag ctttaccagc 180
tacgccgaca gcgtgaaggg caggttcacc atcagcaggg acaacagcaa caacaccctg 240
tacctgcaga tgagcagcct gagggccgag gacaccgcct tctactactg cgccaggatg 300
cccctgaaca gcccccatga ctgctgggga cagggcaccc tggtgaccgt gagcagc 357

<210> 42
<211> 321
[0024] <212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 42

gccatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca gggccagcca gggcatcaga aacgacctgg gctggtacca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagagcgg agtgcctagc 180
aggttcagcg gaagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgcctgcag gactacaact acgccctgac attcggcggc 300
ggcaccaagg tggagatcaa g 321

<210> 43
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 43

gaaattgtgc tgacccagag cccgggcacc ctgagcctga gcccgggcga acgcgcgacc 60
ctgagctgcc gcgcgagcca gagcgtttcc acatactacc tggcgtggta tcagcagaaa 120
ccgggccagg cgccgcgcct gctgatttac ggtgcctcct atcgcgcgac cggcattccg 180
gatcgcttta gcggcagcgg ttccggcacc gattttaccc tgaccattag ccgcctggaa 240
ccggaagatt ttgcggtgta ttattgccag cagtacggtc acagcccgat tacttttggc 300

cagggcacca aagtggaaat caaa 324

<210> 44

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 44

gccatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60

atcacctgca gggccagcca gggcatcagg aacgacctgg gctggtacca gcagaagccc 120

ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagagcgg agtgcctagc 180

aggttcagcg gcagcggaag cggcaccgac ttcaccctga ccatctccag cctgcagccc 240

gaggacttcg ccacctacta ctgcctgcag gactacaact acagcctgac cttcggcggc 300

ggcaccaagg tggagatcag g 321

<210> 45

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 45

gaaattgtgc tgacccagag cccgggcacc ctgagcctga gcccgggcga acgcgcgacc 60

[0025] ctgagctgcc gcgcgagcca gagcgttgcc acctattatc ttgcgtggta tcagcagaaa 120

ccgggccagg cgccgcgcct gctgatttac ggtgcatcct cccgtgcgac cggcattccg 180

gatcgcttta gcggcagcgg ttccggcacc gattttaccc tgaccattag ccgcctggaa 240

ccggaagatt ttgcggtgta ttattgccag cagtacggct ataacccaat tacctttggc 300

cagggcacca aagtggaaat caaa 324

<210> 46

<211> 1335

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 46

gaggtgcagc tgctggaaag cggcggaggc ctggtgcaga gaggaggaag cctgagaccc 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc agctacagca tgagctgggt caggcaggcc 120

cctggcaaag gactggagtg ggtgagcgtg attagcggca gcggcggctt caccgattac 180

gccgacagcg tgaagggcag gttcaccatc agcagggaca atagcaagaa caccctgtac 240

ctgcacatga acagcctgag ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caggatgccc 300

ctgaacagcc ctcacgacta ctggggccag ggaaccctgg tgaccgtgtc cagcgcttcc 360

accaagggcc catccgtctt ccccctggcg ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca 420

gccgccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 480

tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 540

tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcacgaa aacctacacc 600

tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagttga gtccaaatat 660

ggtcccccat gcccaccatg cccagcacct gaggccgccg ggggaccatc agtcttcctg 720
ttcccccccaa aacccaagga cactctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg 780
gtggtggacg tgagccagga gaccccgag gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg 840
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt tcaacagcac gtaccgtgtg 900
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag 960
gtctccaaca aaggcctccc gtcctccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020
ccccgagagc cacaggtgta caccctgccc ccatcccagg aggagatgac caagaaccag 1080
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc taccccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200
tccttcttcc tctacagcag gctaaccgtg gacaagagca ggtggcagga ggggaatgtc 1260
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacacagaa gagcctctcc 1320
ctgtctctgg gtaaa 1335

<210> 47
<211> 1353
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 47

caggtgcagc tggtgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg 60
agctgcaaag cgagcggcgg caccttcagc tcctattaca ttagctgggt gcgccaggcg 120
ccgggccagg gcctggaatg gatgggtggc attatcccaa tcagtgggcg tgctaattat 180
[0026] gcgcagaaat ttcagggccg cgtgaccatt accgctgatg aaagcaccag caccgcgtat 240
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc gcgcgacggc 300
tacagtagtg gacgtagcac aacatacgca tttgactatt ggggccaggg caccctggtg 360
accgtgtcga gtgcttccac caagggccca tccgtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg 420
agcacctccg agagcacagc cgccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg 480
gtgacggtgt cgtggaactc aggcgccctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc 540
ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg 600
ggcacgaaaa cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660
agagttgagt ccaaatatgg tcccccatgc ccaccatgcc cagcacctga ggccgccggg 720
ggaccatcag tcttcctgtt cccccaaaa cccaaggaca ctctcatgat ctcccggacc 780
cctgaggtca cgtgcgtggt ggtggacgtg agccaggaag accccgaggt ccagttcaac 840
tggtacgtgg atggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagttc 900
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaacggc 960
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa ggcctcccgt cctccatcga gaaaaccatc 1020
tccaaagcca aagggcagcc ccgagagcca caggtgtaca ccctgccccc atcccaggag 1080
gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta ccccagcgac 1140
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1200
gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaggc taaccgtgga caagagcagg 1260
tggcaggagg ggaatgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1320
acacagaaga gcctctccct gtctctgggt aaa 1353

<210> 48
<211> 1338
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 48
gaagtgcagc tgctggagag cggaggagga ctggtgcagc ctcctggcgg aagcctgaga 60
ctgagctgcg ccgctagcgg cttcaccttc agcagctaca gcatgagctg ggtgagacag 120
gctcctggca agggcctgga gtgggtgagc gtgatcagcg gcggaggcag ctttaccagc 180
tacgccgaca gcgtgaaggg caggttcacc atcagcaggg acaacagcaa caacaccctg 240
tacctgcaga tgagcagcct gagggccgag gacaccgcct tctactactg cgccaggatg 300
cccctgaaca gcccccatga ctgctgggga cagggcaccc tggtgaccgt gagcagcgct 360
tccaccaagg gcccatccgt cttccccctg gcgccctgct ccaggagcac ctccgagagc 420
acagccgccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 540
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac gaaaacctac 600
acctgcaacg tagatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagtccaaa 660
tatggtcccc catgcccacc atgcccagca cctgaggccg ccgggggacc atcagtcttc 720
ctgttccccc caaaacccaa ggacactctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc 780
gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggatggc 840
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt 900
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 960
aaggtctcca acaaaggcct cccgtcctcc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1020
cagccccgag agccacaggt gtacaccctg cccccatccc aggaggagat gaccaagaac 1080
[0027] caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1140
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1200
ggctccttct tcctctacag caggctaacc gtggacaaga gcaggtggca ggaggggaat 1260
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacaca gaagagcctc 1320
tccctgtctc tgggtaaa 1338
<210> 49
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 49
gccatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca gggccagcca gggcatcaga aacgacctgg gctggtacca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagagcgg agtgcctagc 180
aggttcagcg gaagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgcctgcag gactacaact acgccctgac attcggcggc 300
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 50
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 50
gaaattgtgc tgacccagag cccgggcacc ctgagcctga gcccgggcga acgcgcgacc 60
ctgagctgcc gcgcgagcca gagcgtttcc acatactacc tggcgtggta tcagcagaaa 120
ccgggccagg cgccgcgcct gctgatttac ggtgcctcct atcgcgcgac cggcattccg 180
gatcgcttta gcggcagcgg ttccggcacc gattttaccc tgaccattag ccgcctggaa 240
ccggaagatt ttgcggtgta ttattgccag cagtacggtc acagcccgat tacttttggc 300
cagggcacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645
<210> 51
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列
[0028] <220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 51
gccatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca gggccagcca gggcatcagg aacgacctgg gctggtacca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagagcgg agtgcctagc 180
aggttcagcg gcagcggaag cggcaccgac ttcaccctga ccatctccag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgcctgcag gactacaact acagcctgac cttcggcggc 300
ggcaccaagg tggagatcag gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642
<210> 52
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 52
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

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

<210> 53
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 53

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

[0029]

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

<210> 54
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 54

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

35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser 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
Ala Arg

<210> 55
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 55
Ala Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
[0030] Tyr 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
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Pro
85 90 95
<210> 56
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 56
Ser Tyr Trp Ile Ser
1 5
<210> 57
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 57
Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15
Gly

<210> 58
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 58
Asp Tyr Glu Trp Glu Leu Phe Asp Ser Arg Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 59
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 59
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 60
[0031] <211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 60
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 61
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 61
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro
1 5
<210> 62
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 62
Asn Ala Trp Ile Ser
1 5
<210> 63
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 63
Trp Ile Asn Pro Glu Ser Gly Arg Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 64
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 64
Glu Leu Tyr Tyr Leu Val Tyr Ser Thr Tyr Tyr Tyr Ala Phe Asp Tyr
[0032] 1 5 10 15
<210> 65
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 65
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asp Arg Trp Leu Asn
1 5 10
<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 66
Gln Gln Ser Pro Arg Tyr Pro Leu Thr
1 5
<210> 67
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 67
Ser Tyr Asp Ile Ser
1 5
<210> 68
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 68
Gly Ile Ile Pro Ile Glu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 69
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
[0033] <400> 69
Asp Tyr Pro Ala Gly Tyr Gly Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 70
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 70
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10
<210> 71
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 71
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5
<210> 72
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 72
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr
1 5
<210> 73
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 73
Ser Asp Trp Met Ser
1 5
<210> 74
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

[0034] <400> 74
Ala Ile Ser Gly Asn Gly Gly Ser Thr Glu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 75
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 75
Asp Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15
<210> 76
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 76
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 77
<211> 374
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 77

Met Val Leu Trp Glu Ser Pro Arg Gln Cys Ser Ser Trp Thr Leu Cys
1 5 10 15
Glu Gly Phe Cys Trp Leu Leu Leu Leu Pro Val Met Leu Leu Ile Val
20 25 30
Ala Arg Pro Val Lys Leu Ala Ala Phe Pro Thr Ser Leu Ser Asp Cys
35 40 45
Gln Thr Pro Thr Gly Trp Asn Cys Ser Gly Tyr Asp Asp Arg Glu Asn
50 55 60
Asp Leu Phe Leu Cys Asp Thr Asn Thr Cys Lys Phe Asp Gly Glu Cys
65 70 75 80
Leu Arg Ile Gly Asp Thr Val Thr Cys Val Cys Gln Phe Lys Cys Asn
85 90 95
Asn Asp Tyr Val Pro Val Cys Gly Ser Asn Gly Glu Ser Tyr Gln Asn
100 105 110
Glu Cys Tyr Leu Arg Gln Ala Ala Cys Lys Gln Gln Ser Glu Ile Leu
115 120 125
Val Val Ser Glu Gly Ser Cys Ala Thr Asp Ala Gly Ser Gly Ser Gly
[0035] 130 135 140
Asp Gly Val His Glu Gly Ser Gly Glu Thr Ser Gln Lys Glu Thr Ser
145 150 155 160
Thr Cys Asp Ile Cys Gln Phe Gly Ala Glu Cys Asp Glu Asp Ala Glu
165 170 175
Asp Val Trp Cys Val Cys Asn Ile Asp Cys Ser Gln Thr Asn Phe Asn
180 185 190
Pro Leu Cys Ala Ser Asp Gly Lys Ser Tyr Asp Asn Ala Cys Gln Ile
195 200 205
Lys Glu Ala Ser Cys Gln Lys Gln Glu Lys Ile Glu Val Met Ser Leu
210 215 220
Gly Arg Cys Gln Asp Asn Thr Thr Thr Thr Thr Lys Ser Glu Asp Gly
225 230 235 240
His Tyr Ala Arg Thr Asp Tyr Ala Glu Asn Ala Asn Lys Leu Glu Glu
245 250 255
Ser Ala Arg Glu His His Ile Pro Cys Pro Glu His Tyr Asn Gly Phe
260 265 270
Cys Met His Gly Lys Cys Glu His Ser Ile Asn Met Gln Glu Pro Ser
275 280 285
Cys Arg Cys Asp Ala Gly Tyr Thr Gly Gln His Cys Glu Lys Lys Asp
290 295 300
Tyr Ser Val Leu Tyr Val Val Pro Gly Pro Val Arg Phe Gln Tyr Val
305 310 315 320

Leu Ile Ala Ala Val Ile Gly Thr Ile Gln Ile Ala Val Ile Cys Val
325 330 335
Val Val Leu Cys Ile Thr Arg Lys Cys Pro Arg Ser Asn Arg Ile His
340 345 350
Arg Gln Lys Gln Asn Thr Gly His Tyr Ser Ser Asp Asn Thr Thr Arg
355 360 365
Ala Ser Thr Arg Leu Ile
370

<210> 78
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 78
Ser Asp Ala Met His
1 5

<210> 79
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0036] <223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 79
Glu Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 80
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 80
Asp Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Tyr Val Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 81
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 81
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 82
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 82
Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 83
Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 84
<211> 5
<212> PRT
[0037] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 84
Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 85
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 85
Trp Ile Ser Pro Tyr Asn Gly Asn Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 86
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 86
Asp Ser Asp Arg Ser Tyr Asn Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 87
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 87
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Trp Leu Asn
1 5 10
<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 88
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5
<210> 89
[0038] <211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 89
Ser Tyr Trp Ile Gly
1 5
<210> 90
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 90
Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 91
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 91
Gly Leu Pro Ile Trp Tyr Leu Asp Tyr
1 5
<210> 92
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 92
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Ser Asp Leu Ala
1 5 10
<210> 93
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 93
Phe Ala Ser Asn Arg Ala Thr
[0039] 1 5
<210> 94
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 94
Gln Gln Ser Ile Thr Trp Pro Phe Thr
1 5
<210> 95
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 95
Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5
<210> 96
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 96
Trp Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Asn Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 97
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 97
Val Asn Ser Ala Ala Leu Val Trp Glu Arg Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 98
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
[0040] <400> 98
Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 99
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 99
Ala Ser Arg Val Trp His Ala Ser Tyr Gly Tyr Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 100
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 100
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Lys Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 101
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 101
Gln Gln Arg Phe Thr Ala Pro Trp Thr
1 5
<210> 102
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 102
Gly Trp Ala Tyr Asp Arg Gly Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 103
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
[0041] <220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 103
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 104
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 104
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5
<210> 105
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 105

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5
<210> 106
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 106
Ala Tyr His Tyr Ser Lys Gly Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 107
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 107
Asp Tyr Ala Ile Ser
1 5
<210> 108
<211> 17
[0042] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 108
Arg Ile Asp Pro Ile Glu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 109
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 109
Asp Arg Tyr Tyr Tyr Asp Gly Val Tyr Trp Tyr Ser Asp Tyr Phe Asp
1 5 10 15
Tyr

<210> 110
<211> 122
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 110

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

<210> 111
<211> 107
[0043] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 111

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

<210> 112
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 112
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Lys Ser Tyr
20 25 30
Asp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Glu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser 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
Ala Arg Asp Tyr Pro Ala Gly Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115
<210> 113
<211> 108
<212> PRT
[0044] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 113
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95
Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 114
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 114
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 Asp Ser Asp
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Gly Asn Gly Gly Ser Thr Glu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Tyr Gly Met
100 105 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 115
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
[0045] <220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 115
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr 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
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 116
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 116
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 Lys Ser Asp
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Glu Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Tyr Val Gly Asp Tyr Phe Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 117
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0046] <223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 117
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 Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 118
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 118

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

<210> 119
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

[0047] <400> 119
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr 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
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 120
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 120
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

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

<210> 121
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 121

[0048]
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Pro Tyr Asn Gly Asn Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser 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
Ala Arg Asp Ser Asp Arg Ser Tyr Asn Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 122
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 122

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

<210> 123
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 123

[0049]
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Leu Pro Ile Trp Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115

<210> 124
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 124
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 Gln Ser Val Ala Ser Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Phe Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ile Thr Trp Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 125
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 125
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

[0050]
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Asn Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser 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
Ala Arg Val Asn Ser Ala Ala Leu Val Trp Glu Arg Leu Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 126
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 126
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

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

<210> 127
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 127

[0051]
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 Gln Ser Val Ser Lys Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Phe Thr Ala Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 128
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 128

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

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

<210> 129
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 129
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
[0052] Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 130
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 130
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

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

<210> 131
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 131

[0053]
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 132
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 132
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

```
1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Trp Ile Ser Pro Tyr Asn Gly Asn Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser 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
Ala Arg Val Asn Ser Ala Ala Leu Val Trp Glu Arg Leu Asp Tyr Trp
            100                 105                 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
    130                 135                 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
        195                 200                 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
    210                 215                 220
Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
            260                 265                 270
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
                325                 330                 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365
```

[0054]

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445
Lys

<210> 133
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 133
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asp Arg Trp
[0055] 20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr 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
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Pro Arg Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 134
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 134

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Lys Ser Tyr
20 25 30
Asp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Glu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser 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
Ala Arg Asp Tyr Pro Ala Gly Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[0056] 100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 135
<211> 215
[0057] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 135

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

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 136
<211> 452
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 136

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 Asp Ser Asp
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0058] 35 40 45
Ser Ala Ile Ser Gly Asn Gly Gly Ser Thr Glu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Tyr Gly Met
100 105 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
130 135 140
Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys
195 200 205
Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
210 215 220

Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
225 230 235 240
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
325 330 335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

[0059]

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Leu Gly Lys
450

<210> 137
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 137

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

<210> 138
<211> 451
[0060] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 138

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

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
210 215 220
Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

[0061]

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Leu Gly Lys
450

<210> 139
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 139
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 Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
[0062] Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 140
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 140
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Ile Glu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

[0063]

Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
290 295 300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
325 330 335
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
405 410 415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

420 425 430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445
Leu Ser Leu Gly Lys
450

<210> 141
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 141

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

[0064]
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Ser Asp Arg Ser Tyr Asn Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
[0065] 435 440 445

<210> 142
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 142
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Trp
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr 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
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 143
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 143
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
[0066] Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Leu Pro Ile Trp Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser

195 200 205

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

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[0067] 370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 144
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 144

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 Gln Ser Val Ala Ser Asp
20 25 30

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

Tyr Phe Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

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

<210> 145

[0068] <211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 145
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Asn Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser 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
Ala Arg Val Asn Ser Ala Ala Leu Val Trp Glu Arg Leu Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220
Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
[0069] 305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445
Lys

<210> 146
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 146

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser 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
Ala Arg Ala Ser Arg Val Trp His Ala Ser Tyr Gly Tyr Leu Asp Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
[0070] 145 150 155 160
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205
Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220
Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly 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 Ser Gln Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe 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 Gly Leu Pro Ser Ser 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 Gln 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 Arg Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Glu 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 Leu
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 147
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

[0071] <400> 147

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

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 148
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 148

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
[0072] 65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Trp Ala Tyr Asp Arg Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

[0073] Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 149
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 149

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

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

<210> 150
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 150

[0074]
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ala Tyr His Tyr Ser Lys Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

[0075] Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 151
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 151
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

[0076] Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445
Lys

<210> 152
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 152
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp
1 5
<210> 153
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
[0077] <400> 153
Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Tyr Thr
1 5
<210> 154
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 154
Ala Arg Arg Asn Ser Ala Glu Asn Tyr Ala Asp Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 155
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 155
Gln Ser Ile Ser Asn Asp
1 5
<210> 156
<211> 3

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 156
Tyr Ala Ser
1
<210> 157
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 157
Gln Gln Ser Phe Thr Ala Pro Leu Thr
1 5
<210> 158
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
[0078] <400> 158
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala
1 5
<210> 159
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 159
Ile Asn Tyr Gly Gly Gly Ser Lys
1 5
<210> 160
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 160
Ala Lys Asp Tyr Gly Pro Phe Ala Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 161
<211> 6

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 161
Gln Ser Val Asp Asp Trp
1 5
<210> 162
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 162
Thr Ala Ser
1
<210> 163
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
[0079] <400> 163
Gln Gln Tyr His His Trp Pro Leu Thr
1 5
<210> 164
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 164
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Thr Tyr Tyr
1 5 10
<210> 165
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 165
Ile Tyr Phe Thr Gly Ser Thr
1 5
<210> 166
<211> 14

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 166
Ala Lys Glu Asp Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Ser Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 167
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 167
Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
1 5
<210> 168
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
[0080] <400> 168
Ala Ala Ser
1
<210> 169
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 169
Gln Gln Val Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5
<210> 170
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 170
Gly Val Ser Ile Ser Ser Ser Thr Tyr Tyr
1 5 10
<210> 171
<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 171
Ile Tyr Phe Thr Gly Asn Thr
1 5
<210> 172
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 172
Gly Ser Leu Phe Gly Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 173
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
[0081] <400> 173
Gln Phe Ile Ser Ser Asn
1 5
<210> 174
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 174
Gly Ala Ser
1
<210> 175
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 175
Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Ser Thr
1 5
<210> 176
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 176
Gly Tyr Thr Phe Asn Thr Tyr Ala
1 5
<210> 177
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 177
Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro
1 5
<210> 178
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
[0082] <400> 178
Ala Arg Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Gly Ala Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 179
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 179
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5
<210> 180
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 180
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr
1 5
<210> 181
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 181
Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5
<210> 182
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 182
Ile Ser Ala Ile Phe Gly Thr Ala
1 5
<210> 183
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

[0083] <400> 183
Ala Arg Gly Asn Ser Phe His Ala Leu Trp Asp Tyr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10 15
<210> 184
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 184
Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr
1 5 10
<210> 185
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 185
Trp Ala Ser
1
<210> 186
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 186
Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5
<210> 187
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 187
Ile Ile Pro Ile Phe Gly Asn Ala
1 5
<210> 188
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

[0084] <400> 188
Ala Arg Thr Ile Ile Tyr Leu Asp Tyr Val His Ile Leu Asp Tyr
1 5 10 15
<210> 189
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 189
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp
1 5
<210> 190
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 190
Ile Arg Tyr Asp Gly Gly Ser Lys
1 5
<210> 191
<211> 12

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 191
Ala Lys Asp Ala Tyr Pro Pro Tyr Ser Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 192
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 192
Gln Ser Val Ser Ser Tyr
1 5
<210> 193
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
[0085] <400> 193
Asp Ala Ser
1
<210> 194
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 194
Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
1 5
<210> 195
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 195
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5
<210> 196
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 196
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5
<210> 197
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 197
Ala Lys Gly Asp Glu Tyr Tyr Tyr Pro Asp Pro Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 198
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
[0086] <400> 198
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5
<210> 199
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 199
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5
<210> 200
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 200
Ala Lys Glu Trp Ser Ser Tyr Phe Gly Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 201
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 201
Ile Ser Pro Ile Phe Gly Thr Ala
1 5
<210> 202
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 202
Ala Arg Arg Tyr Asp Asn Phe Ala Arg Ser Gly Asp Leu Asp Tyr
1 5 10 15
<210> 203
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
[0087] <400> 203
Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Phe Thr
1 5
<210> 204
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 204
Ser Ser Asp Val Gly Asp Tyr Asn Tyr
1 5
<210> 205
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 205
Asp Val Ser
1
<210> 206
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 206
Ala Ser Tyr Ala Gly Asn Tyr Asn Val Val
1 5 10
<210> 207
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 207
Ser Ser Tyr Ala Gly Asn Tyr Asn Val Val
1 5 10
<210> 208
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
[0088] <400> 208
Ala Arg His Leu His Asn Ala Ile His Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 209
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 209
Gln Ser Val Ser Asn Phe
1 5
<210> 210
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 210
Gln Gln Gly Lys His Trp Pro Trp Thr
1 5
<210> 211
<211> 448

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 211

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Asn Ser Ala Glu Asn Tyr Ala Asp Leu Asp Tyr 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
[0089] 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220
Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 212
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

[0090] <400> 212

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

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 213
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 213

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 Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Asn Tyr Gly Gly Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[0091] 65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Tyr Gly Pro Phe Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
210 215 220
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350
Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415
Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

[0092] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 214
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 214
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 Gln Ser Val Asp Asp Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Thr Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His His Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 215
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 215

[0093]
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30
Thr Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Phe Thr Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Ser Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Lys Glu Asp Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Asn Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220
Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

[0094] Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445
Lys

<210> 216
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 216
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

[0095] Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 217
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 217

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

[0096] Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Val Val Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 218
<211> 214
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 218

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

[0097]

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 219
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 219

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

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe
50 55 60
Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220

[0098]
Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415
Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445
<210> 220
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 220
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 Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr 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
65 70 75 80
[0099] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 221
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 221

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Gly Ile Ser Ala Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser 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
Ala Arg Gly Asn Ser Phe His Ala Leu Trp Asp Tyr Ala Phe Asp Tyr
            100                 105                 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160
```

[0100]

```
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205
Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
    210                 215                 220
Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly 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 Ser Gln Glu
            260                 265                 270
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe 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 Gly Leu Pro Ser Ser 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 Gln 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 Arg Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Glu 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 Leu
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 222
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 222

[0101]
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr

180 185 190
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220
<210> 223
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 223
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Asn Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
[0102] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Thr Ile Ile Tyr Leu Asp Tyr Val His Ile Leu Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220
Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp

260 265 270
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
[0103] 435 440 445
Lys

<210> 224
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 224
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 Asn Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Arg Tyr Asp Gly Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Ala Tyr Pro Pro Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
[0104] 275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 225

<211> 214

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 225

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 Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
[0105] 130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 226
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 226

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

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Gly Asp Glu Tyr Tyr Tyr Pro Asp Pro Leu Asp Tyr 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
[0106] 210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Tyr
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 227
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 227

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr 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
[0107] 65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 228
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 228

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 Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Glu Trp Ser Ser Tyr Phe Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
[0108] 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 229
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 229

[0109]

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

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220
Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

[0110] Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445
Lys

<210> 230
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 230
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Ile Ser Ser Asn
20 25 30

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

[0111] Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 231
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 231

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

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

<210> 232
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 232

[0112]

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

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215
<210> 233
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 233
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ser Ala Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0113] 85 90 95
Ala Arg His Leu His Asn Ala Ile His Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Leu Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

[0114] <210> 234
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 234
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 Gln Ser Val Ser Asn Phe
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Lys His Trp Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 235
<400> 235
000
<210> 236
<400> 236
000
<210> 237
<400> 237
000
<210> 238
[0115] <400> 238
000
<210> 239
<400> 239
000
<210> 240
<400> 240
000
<210> 241
<400> 241
000
<210> 242
<400> 242
000
<210> 243
<400> 243
000
<210> 244
<400> 244
000
<210> 245
<400> 245
000

<210> 246
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 246

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

[0116]

<210> 247
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 247

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 Asn Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn 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> 248
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 248

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

[0117] Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 249
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 249

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

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

<210> 250
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 250

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Cys Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Phe Arg Ser Leu Asp Trp Leu Pro Pro Asp Ser Thr Ser
[0118] 100 105 110
Tyr Asp Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser

<210> 251
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 251

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

85 90 95
Ala Arg Asp Arg Glu Val Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115
<210> 252
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 252
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Ser Thr
20 25 30
Asn Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Thr Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
[0119] Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Leu Ala Asp Val Val Val Val Pro Ala Ala Arg Tyr Phe
100 105 110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 253
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 253
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Ser Ser
20 25 30
Gly Phe Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Thr Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Phe
85 90 95
Cys Ala Arg Leu Ala Asp Val Val Val Val Pro Ala Ala Arg Tyr Phe
100 105 110
Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 254
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 254
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Thr Gly
20 25 30
Arg Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Val Ile
35 40 45
Trp Ile Gly Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
[0120] 65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Leu Gly Ser Leu Val Val Val Pro Ala Ala Met Ser Phe
100 105 110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 255
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 255
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Gly Ser
20 25 30
Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Ser Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Leu Gly Ser Leu Val Val Val Pro Ala Ala Met Ser Phe
100 105 110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 256
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 256

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Asn Asn Ser Pro Ser Leu
50 55 60

[0121] Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Ile Ile Ala Val Ala Arg Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 257
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 257

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Val Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Phe Arg Asp Phe Asp Trp Leu Pro Pro Asp Ser Thr Ser
100 105 110
Tyr His Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser

<210> 258
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 258
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0122] 35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Gly Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Phe Arg Ser Phe Asp Trp Leu Pro Pro Asp Ser Ala Ser
100 105 110
Tyr His Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser

<210> 259
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 259
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Gly Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr

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

<210> 260
<400> 260
000

<210> 261
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

[0123] <400> 261
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Gly Ser
20 25 30
Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Ser Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Leu Gly Ser Leu Val Val Val Pro Ala Ala Met Ser Phe
100 105 110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 262
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 262
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 Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Asn Ile Lys Gln His Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Asp Leu Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115
<210> 263
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0124] <223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 263
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 Arg Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Thr Ile Asn Ile Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Lys Gly Gly Tyr Ser Ser Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Ser Val Ser Ser
115
<210> 264
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 264
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val His Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Phe Arg Ser Phe Asp Trp Leu Pro Pro Asp Ser Ala Ser
100 105 110
Tyr His Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser

<210> 265
<211> 121
[0125] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 265
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 Asn Tyr Ala
20 25 30
Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
35 40 45
Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Thr Tyr Asn Ser Gly Tyr Tyr Asp Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 266
<211> 129

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 266

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

[0126]

<210> 267
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 267

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

115

<210> 268
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 268

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

[0127] Tyr His Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser

<210> 269
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 269

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

Ala Lys Asp Phe Arg Ser Phe Asp Trp Leu Pro Pro Asp Ser Thr Ser
100 105 110
Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser

<210> 270
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 270
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Phe 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
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Asn Ile Lys Gln His Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Val Lys Asn Ser Leu Tyr
[0128] 65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Asp Leu Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115
<210> 271
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 271
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Arg Ser
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe
50 55 60
Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Leu Leu Ile Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ser Asp Ile Leu Pro Gly Tyr His Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 272
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 272

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30
Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
50 55 60

[0129] Leu Ser Val Gln Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80
Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Val Ala Val Ala Ala Ser Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 273
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 273

Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Arg
20 25 30
Ser His Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Val Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Leu Ala Asp Ile Val Val Val Pro Ala Ala Arg Tyr Phe
100 105 110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 274
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 274

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

[0130]

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

<210> 275
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 275

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Phe 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
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Asn Ile Lys Gln His Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Asp Leu Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 276
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 276
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 Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Thr Trp Val Arg Pro Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

[0131]
Ala Asn Ile Lys Arg Asp Gly Gly Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Ala Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Pro Phe Tyr Asp His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 277
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 277
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu 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
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe
50 55 60
Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Asp Arg Gly Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 278
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 278
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0132] 35 40 45
Ser Gly Leu Ser Trp Asn Gly Gly Asn Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Lys Asp Thr Pro Tyr Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 279
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 279
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

<210> 280
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 280
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

[0133] Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Gly Trp Ser Gly Gly Ser Ile Val Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Lys Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Ser Pro Tyr Gly Asp Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 281
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 281
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

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

<210> 282
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 282
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr
[0134] 20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Asn Gly Tyr Gly Asp Gly Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Ser Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Gln Gly Phe Gly Glu Leu Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 283
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 283
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr

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

<210> 284
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 284
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
[0135] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Gly Gly Asp Met Val Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Lys Asp Met Pro Tyr Phe Asp Phe Leu Thr Gly Ser Asp Tyr Tyr
100 105 110
Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser

<210> 285
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 285

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

<210> 286
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

[0136] <400> 286
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asn
20 25 30
Gly Ile Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Pro Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Ile
85 90 95
Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 287
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 287
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly

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

<210> 288
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 288
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
[0137] Thr Ala Ser Ile Ile Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asn Lys Tyr Ala
20 25 30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Val
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Tyr Val
85 90 95
Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 289
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 289
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Ser Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

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

<210> 290
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 290
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly His Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Val Val Ile Tyr
[0138] 35 40 45
Lys Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Phe Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 291
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 291
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 292
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 292
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Tyr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

[0139]
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Tyr Val
85 90 95
Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 293
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 293
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Tyr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Thr Met
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ile Ser Thr Tyr Val
85 90 95
Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 294
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 294
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30
Cys Trp Tyr Gln Leu Arg Pro Gly Gln Ser Pro Ile Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Trp Val
[0140] 85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 295
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 295
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Trp Val
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 296
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 296

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

[0141] <210> 297
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 297

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

<210> 298
<211> 106

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 298

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

<210> 299
<211> 113
<212> PRT
[0142] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 299

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

<210> 300
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 300

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

<210> 301
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

[0143] <220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 301

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

<210> 302
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 302
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Val
20 25 30
Arg Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Met Tyr
35 40 45
Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Arg Glu Arg Phe Tyr Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Pro Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Val
65 70 75 80
Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Gly Val
85 90 95
Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 303
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 303

[0144]
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Pro Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Gly Arg Asn Thr Val Val
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 304
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 304
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

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

<210> 305
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 305
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Glu Leu Gly Asn Lys Tyr Ala
[0145] 20 25 30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Val Val Val Tyr
35 40 45
Gln Asp Arg Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Phe Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 306
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 306
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Asp Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Met Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ser Ser Ser
85 90 95

Ser Ala Leu Glu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 307
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 307

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

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

[0146] Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80

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

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

<210> 308
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 308

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

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Val
20 25 30

Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Val Val Ile His
35 40 45

Gln Asp Arg Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Phe Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 309
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 309

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asn Lys Tyr Ala
20 25 30
Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Val Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
[0147] 65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr His Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 310
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 310

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

85 90 95
Thr Thr Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 311
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 311
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30
His Trp Ser Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Asn Ser Asp His
85 90 95

[0148] Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 312
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 312
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Glu Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Tyr Val
85 90 95
Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 313
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 313

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

<210> 314
[0149] <211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 314

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

<210> 315
<211> 108
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 315
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ala Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Ser Asn Ile Gly Lys Ile Ser Val
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Ala Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val His
35 40 45
Asp Asp Arg Ala Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Thr Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Val Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asn Ser Ser Ser Val His
85 90 95
Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105
<210> 316
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列
[0150] <220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 316
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Asp Asp
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ser Ser Ser
85 90 95
Thr Thr Leu Glu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110
<210> 317
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 317
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Trp Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Arg Ser 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
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Asn Ser Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 318
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 318
[0151] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Glu Trp Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Ser Trp 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
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Asn Ser Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 319
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 319
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

<210> 320
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 320
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
[0152] 1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Thr Val Phe Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Ser Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Val Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His
85 90 95
Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 321
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 321
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

<210> 322
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 322
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
[0153] Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Glu Leu Gly Asp Met Tyr Ala
20 25 30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Leu Val Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Ala Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Asp Thr Arg Ile Ala Val
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Asn Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 323
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 323
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Leu Gly Asn Glu His Val
20 25 30

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

<210> 324
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 324
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Asn Ile Ser Cys Ser Gly Val Thr Leu Gly Tyr Asn Tyr Ala
20 25 30
Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Ile Leu Val Ile Ser

[0154]

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

<210> 325
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 325
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30
Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Gly Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60
Asn Phe Gly Asn Lys Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Arg Asn Thr Val Val
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105
<210> 326
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 326
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asn Lys Tyr Ala
20 25 30
Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

[0155]
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105
<210> 327
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 327
Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly
1 5 10
<210> 328
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 328
Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala

1 5

<210> 329

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 329

Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn Asn Ala Ala

1 5 10

<210> 330

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 330

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser His Tyr

1 5 10

<210> 331

<211> 10

<212> PRT

[0156] <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 331

Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala

1 5 10

<210> 332

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 332

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 333

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 333

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Ala

1 5

<210> 334

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 334

Gly Gly Ser Ile Arg Ser Thr Asn Tyr Tyr

1 5 10

<210> 335

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 335

Gly Gly Ser Ile Arg Ser Ser Gly Phe Tyr

1 5 10

<210> 336

<211> 10

<212> PRT

[0157] <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 336

Gly Gly Ser Ile Ser Thr Gly Arg Tyr Tyr

1 5 10

<210> 337

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 337

Gly Gly Ser Ile Arg Gly Ser Ser Tyr Tyr

1 5 10

<210> 338

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 338

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Asn Trp

1 5

<210> 339

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 339

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 340

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 340

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 341

<211> 8

<212> PRT

[0158] <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 341

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Ala

1 5

<210> 342

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 342

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr

1 5 10

<210> 343

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 343

Gly Gly Ser Ile Arg Gly Ser Ser Tyr Tyr

1 5 10

<210> 344
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 344
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp
1 5

<210> 345
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 345
Arg Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 346
<211> 8
<212> PRT
[0159] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 346
Arg Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 347
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 347
Gly Phe Thr Phe Asn Tyr Ala
1 5

<210> 348
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 348
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5
<210> 349
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 349
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Ala
1 5
<210> 350
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 350
Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr Gly
1 5
<210> 351
<211> 8
<212> PRT
[0160] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 351
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5
<210> 352
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 352
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp
1 5
<210> 353
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 353
Gly Tyr Thr Leu Thr Arg Ser Ala

1 5

<210> 354

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 354

Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala

1 5 10

<210> 355

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 355

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Arg Ser His Tyr

1 5 10

<210> 356

<211> 10

<212> PRT

[0161] <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 356

Gly Gly Ser Ile Arg Ser Ser Ser Tyr Tyr

1 5 10

<210> 357

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 357

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp

1 5

<210> 358

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 358

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp

1 5
<210> 359
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 359
Gly Tyr Thr Phe Ser Thr Tyr Ala
1 5
<210> 360
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 360
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5
<210> 361
<211> 8
<212> PRT
[0162] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 361
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5
<210> 362
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 362
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5
<210> 363
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 363
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala

1 5
<210> 364
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 364
Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Ala
1 5
<210> 365
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 365
Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr Gly
1 5
<210> 366
<211> 8
<212> PRT
[0163] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 366
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5
<210> 367
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 367
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly
1 5
<210> 368
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 368
Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 369

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 369

Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr

1 5 10

<210> 370

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 370

Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr

1 5

<210> 371

<211> 7

<212> PRT

[0164] <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 371

Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr

1 5

<210> 372

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 372

Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn

1 5

<210> 373

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 373

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5
<210> 374
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 374
Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro
1 5
<210> 375
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 375
Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr
1 5
<210> 376
<211> 7
<212> PRT
[0165] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 376
Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr
1 5
<210> 377
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 377
Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr
1 5
<210> 378
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 378
Ile Tyr Ser Ser Gly Asn Thr

1 5
<210> 379
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 379
Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr
1 5
<210> 380
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 380
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5
<210> 381
<211> 8
<212> PRT
[0166] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 381
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5
<210> 382
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 382
Ile Asp Tyr Ser Gly Asn Asp Thr
1 5
<210> 383
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 383
Ile Asn Tyr Ser Gly Ser Thr

1 5
<210> 384
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 384
Ile Tyr Ser Ser Gly Asn Thr
1 5
<210> 385
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 385
Ile Lys Gln His Gly Ser Glu Lys
1 5
<210> 386
<211> 8
<212> PRT
[0167] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 386
Ile Asn Ile Ser Gly Gly Ser Thr
1 5
<210> 387
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 387
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5
<210> 388
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 388
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5
<210> 389
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 389
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5
<210> 390
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 390
Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro
1 5
<210> 391
<211> 8
<212> PRT
[0168] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 391
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5
<210> 392
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 392
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5
<210> 393
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 393
Ile Lys Gln His Gly Ser Glu Lys

1 5
<210> 394
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 394
Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro
1 5
<210> 395
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 395
Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn
1 5
<210> 396
<211> 7
<212> PRT
[0169] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 396
Ile Tyr Tyr Thr Gly Ser Thr
1 5
<210> 397
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 397
Ile Tyr Ser Ser Gly Asn Thr
1 5
<210> 398
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 398
Ile Lys Gln His Gly Ser Glu Lys

1 5

<210> 399

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 399

Ile Lys Arg Asp Gly Gly Glu Lys

1 5

<210> 400

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 400

Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro

1 5

<210> 401

<211> 8

<212> PRT

[0170] <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 401

Leu Ser Trp Asn Gly Gly Asn Ile

1 5

<210> 402

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 402

Leu Ser Trp Asn Gly Gly Asn Ile

1 5

<210> 403

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 403

Ile Gly Trp Ser Gly Gly Ser Ile

1 5
<210> 404
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 404
Ile Gly Trp Ser Gly Gly Ser Ile
1 5
<210> 405
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 405
Ile Asn Gly Tyr Gly Asp Gly Arg
1 5
<210> 406
<211> 8
<212> PRT
[0171] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 406
Ile Trp Phe Asp Gly Asn Asn Lys
1 5
<210> 407
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 407
Ile Ser Trp Asn Gly Gly Asp Met
1 5
<210> 408
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 408
Ile Trp Tyr Val Gly Ser His Lys

1 5

<210> 409
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 409
Ala Arg Leu Tyr Gly Phe Thr Tyr Gly Phe Ala Tyr
1 5 10
<210> 410
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 410
Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10 15
<210> 411
<211> 10
<212> PRT
[0172] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 411
Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 412
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 412
Ala Arg Leu Ala Asp Val Val Val Val Pro Ala Ala Arg Tyr Phe Asp
1 5 10 15
Ser

<210> 413
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 413
Ala Arg Glu Thr Met Phe Arg Gly Leu Met Asp Tyr
1 5 10
<210> 414
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 414
Ala Lys Asp Phe Arg Ser Leu Asp Trp Leu Pro Pro Asp Ser Thr Ser
1 5 10 15
Tyr Asp Gly Met Asp Val
20
<210> 415
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 415
Ala Arg Asp Arg Glu Val Arg Asp Tyr
1 5
<210> 416
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 416
Ala Arg Leu Ala Asp Val Val Val Val Pro Ala Ala Arg Tyr Phe Asp
1 5 10 15
Tyr

<210> 417
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 417
Ala Arg Leu Ala Asp Val Val Val Val Pro Ala Ala Arg Tyr Phe Asp
1 5 10 15
Asn

[0173]

<210> 418
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 418
Ala Arg Leu Gly Ser Leu Val Val Val Pro Ala Ala Met Ser Phe Asp
1 5 10 15
Tyr

<210> 419
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 419
Ala Arg Leu Gly Ser Leu Val Val Val Pro Ala Ala Met Ser Phe Asp
1 5 10 15
Tyr

[0174] <210> 420
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 420
Ala Arg Ile Ile Ala Val Ala Arg Tyr Phe Asp Ser
1 5 10
<210> 421
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 421
Ala Lys Asp Phe Arg Asp Phe Asp Trp Leu Pro Pro Asp Ser Thr Ser
1 5 10 15
Tyr His Gly Met Asp Val
20
<210> 422
<211> 22
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 422
Ala Lys Asp Phe Arg Ser Phe Asp Trp Leu Pro Pro Asp Ser Ala Ser
1 5 10 15
Tyr His Gly Met Asp Val
20
<210> 423
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 423
Ala Lys Glu Ser Gln Leu Leu His Gly Leu Phe Glu His
1 5 10
<210> 424
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0175] <223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 424
Ala Arg Leu Asp Gly Tyr Glu Ser Pro Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 425
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 425
Ala Arg Leu Gly Ser Leu Val Val Val Pro Ala Ala Met Ser Phe Asp
1 5 10 15
Tyr

<210> 426
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 426
Ala Arg Asp Arg Asp Leu Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 427
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 427
Thr Lys Gly Gly Tyr Ser Ser Gly Pro Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 428
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 428
Ala Lys Asp Phe Arg Ser Phe Asp Trp Leu Pro Pro Asp Ser Ala Ser
1 5 10 15
Tyr His Gly Met Asp Val
20

<210> 429
[0176] <211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 429
Ala Arg Thr Tyr Asn Ser Gly Tyr Tyr Asp Gly Asp Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 430
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 430
Ala Lys Asp Phe Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Pro Pro Asp Ser Ser Ser
1 5 10 15
Tyr Tyr Gly Met Asp Val
20

<210> 431
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 431
Ala Thr Asp Arg Asp Arg Gly Thr Asp Tyr
1 5 10
<210> 432
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 432
Ala Lys Asp Phe Arg Ser Phe Asp Trp Leu Pro Pro Asp Ser Ala Ser
1 5 10 15
Tyr His Gly Met Asp Val
20
<210> 433
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
[0177] <400> 433
Ala Lys Asp Phe Arg Ser Phe Asp Trp Leu Pro Pro Asp Ser Thr Ser
1 5 10 15
Tyr Tyr Gly Met Asp Val
20
<210> 434
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 434
Ala Arg Asp Arg Asp Leu Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 435
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 435
Ala Ser Asp Ile Leu Pro Gly Tyr His Glu Asp Tyr
1 5 10

<210> 436
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 436
Ala Arg Glu Val Ala Val Ala Ala Ser Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 437
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 437
Ala Arg Leu Ala Asp Ile Val Val Val Pro Ala Ala Arg Tyr Phe Asp
1 5 10 15
Tyr

<210> 438
<211> 17
[0178] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 438
Ala Arg Leu Ala Ala Thr Ile Val Val Pro Ala Ala Arg Tyr Phe Asp
1 5 10 15
Cys

<210> 439
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 439
Ala Arg Asp Arg Asp Leu Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 440
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 440
Ala Arg Pro Phe Tyr Asp His Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 441
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 441
Ala Arg Asp Arg Asp Arg Gly Thr Asp Tyr
1 5 10
<210> 442
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 442
Thr Lys Asp Thr Pro Tyr Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

[0179]

<210> 443
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 443
Ala Lys Asp Ser Pro Tyr Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 444
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 444
Ala Lys Asp Ser Pro Tyr Gly Asp Phe Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 445
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 445
Ala Lys Asp Ser Pro Tyr Gly Asp Phe Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 446
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 446
Ala Lys Asp Gln Gly Phe Gly Glu Leu Phe Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 447
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 447
Ala Arg Asp Arg Glu Leu Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

[0180]
<210> 448
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 448
Val Lys Asp Met Pro Tyr Phe Asp Phe Leu Thr Gly Ser Asp Tyr Tyr
1 5 10 15
Tyr Tyr Gly Met Asp Val
20
<210> 449
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 449
Ala Arg Asp Gly Ser Leu Cys Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 450
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 450
Gln Ser Val Asp Tyr Asn Gly Ile Ser Tyr
1 5 10
<210> 451
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 451
Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr
1 5
<210> 452
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 452
[0181] Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr Lys Phe
1 5
<210> 453
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 453
Lys Leu Gly Asn Lys Tyr
1 5
<210> 454
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 454
Asn Ile Gly Ser Lys Ser
1 5
<210> 455
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 455
Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 456
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 456
Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 457
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 457

[0182]

Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 458
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 458
Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 459
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 459
Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 460
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 460
Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 461
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 461
Asn Ile Gly Ile Lys Ser
1 5
<210> 462
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 462

[0183] Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 463
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 463
Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 464
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 464
Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr
1 5 10
<210> 465
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 465
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5
<210> 466
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 466
Lys Leu Gly Ala Lys Phe
1 5
<210> 467
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 467
[0184] Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 468
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 468
Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 469
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 469
Ser Ser Asp Asp Gly Lys Asn Asn Ile
1 5
<210> 470
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 470
Glu Leu Gly Asn Lys Tyr
1 5
<210> 471
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 471
Ser Ser Asp Val Gly Asp Tyr Asn Tyr
1 5
<210> 472
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 472
[0185] Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 473
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 473
Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 474
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 474
Lys Leu Gly Asn Lys Tyr
1 5
<210> 475
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 475
Asn Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asp Leu
1 5
<210> 476
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 476
Asn Ile Gly Ser Lys Ser
1 5
<210> 477
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 477

[0186] Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 478
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 478
Arg Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 479
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 479
Lys Leu Gly Ser Lys Phe
1 5
<210> 480
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 480
Asn Ile Gly Lys Ile Ser
1 5
<210> 481
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 481
Ser Ser Asp Val Gly Asp Asp Asn Tyr
1 5
<210> 482
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 482
[0187] Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5
<210> 483
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 483
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5
<210> 484
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 484
Gln Thr Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr
1 5 10
<210> 485
<211> 12
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 485
Gln Thr Val Phe Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr
1 5 10
<210> 486
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 486
Gln Ser Ile Ser Ser Trp
1 5
<210> 487
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 487
[0188] Glu Leu Gly Asp Met Tyr
1 5
<210> 488
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 488
Asn Leu Gly Asn Glu His
1 5
<210> 489
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 489
Thr Leu Gly Tyr Asn Tyr
1 5
<210> 490
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 490
Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5
<210> 491
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 491
Lys Leu Gly Asn Lys Tyr
1 5
<210> 492
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 492
[0189] Ala Ala Ser
1
<210> 493
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 493
Gly Thr Asn
1
<210> 494
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 494
Glu Val Ser
1
<210> 495
<211> 3
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 495
Gln Asp Ser
1
<210> 496
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 496
Asp Asp Ser
1
<210> 497
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 497

[0190] Lys Asp Ser
1
<210> 498
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 498
Gln Asp Ser
1
<210> 499
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 499
Gln Asp Tyr
1
<210> 500
<211> 3
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 500
Gln Asp Tyr
1
<210> 501
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 501
Gln Asp Ser
1
<210> 502
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 502
[0191] Gln Asp Ser
1
<210> 503
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 503
Asp Asp Ser
1
<210> 504
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 504
Gln Asp Arg
1
<210> 505
<211> 3
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 505
Gln Asp Gly
1
<210> 506
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 506
Trp Ala Ser
1
<210> 507
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 507
[0192] Ala Ala Ser
1
<210> 508
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 508
Gln Asp Asn
1
<210> 509
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 509
Gln Asp Ser
1
<210> 510
<211> 3
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 510
Gln Asp Asn
1
<210> 511
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 511
Lys Asp Ser
1
<210> 512
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 512
[0193] Gln Asp Arg
1
<210> 513
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 513
Asp Val Ser
1
<210> 514
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 514
Gln Asp Asn
1
<210> 515
<211> 3
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 515
Gln Asp Arg
1
<210> 516
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 516
Gln Asp Thr
1
<210> 517
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 517
[0194] Asp Gly Ser
1
<210> 518
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 518
Asp Asp Ser
1
<210> 519
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 519
Gln Asp Ser
1
<210> 520
<211> 3
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 520
Gln Asp Ser
1
<210> 521
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 521
Gln Asp Ser
1
<210> 522
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 522

[0195] Asp Asp Arg
1
<210> 523
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 523
Asp Val Ser
1
<210> 524
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 524
Arg Ser Ser
1
<210> 525
<211> 3
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 525
Gly Ala Ser
1
<210> 526
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 526
Trp Ala Ser
1
<210> 527
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 527

[0196]

Trp Ala Ser
1
<210> 528
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 528
Lys Ala Ser
1
<210> 529
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 529
Gln Asp Ser
1
<210> 530
<211> 3
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 530
Gln Asn Asn
1
<210> 531
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 531
Gln Asp Thr
1
<210> 532
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 532
[0197] Gln Asp Gly
1
<210> 533
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 533
Gln Asp Ser
1
<210> 534
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 534
Gln Gln Ile Ile Glu Asp Pro Trp Thr
1 5
<210> 535
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 535
Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1 5
<210> 536
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 536
Val Ser Tyr Ala Gly Ser Gly Thr Leu Leu
1 5 10
<210> 537
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 537

[0198] Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Tyr Val
1 5
<210> 538
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 538
Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Val Val
1 5 10
<210> 539
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 539
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
1 5
<210> 540
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 540
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
1 5
<210> 541
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 541
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Tyr Val
1 5
<210> 542
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 542

[0199] Gln Ala Trp Asp Ile Ser Thr Tyr Val
1 5
<210> 543
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 543
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Trp Val
1 5
<210> 544
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 544
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Trp Val
1 5
<210> 545
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 545
Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val
1 5 10
<210> 546
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 546
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
1 5
<210> 547
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 547
[0200] Gln Ala Trp Asp Arg Asn Thr Val Val
1 5
<210> 548
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 548
Gln Gln Tyr Tyr Gly Thr Pro Trp Thr
1 5
<210> 549
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 549
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr
1 5
<210> 550
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 550
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
1 5
<210> 551
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 551
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Gly Val Val
1 5 10
<210> 552
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 552

[0201] Gln Ala Trp Gly Arg Asn Thr Val Val
1 5
<210> 553
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 553
Cys Ser Tyr Ala Gly Ala Ser Asn His Val Val
1 5 10
<210> 554
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 554
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
1 5
<210> 555
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 555
Ser Ser Tyr Ser Ser Ser Ser Ala Leu Glu Val
1 5 10
<210> 556
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 556
Gln Ala Trp Asp Ser Asn Thr Val Val
1 5
<210> 557
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 557

[0202] Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
1 5
<210> 558
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 558
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
1 5
<210> 559
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 559
Cys Ser Tyr Glu Val Thr Thr Thr Tyr Val Val
1 5 10
<210> 560
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 560
Gln Val Trp Asp Ser Asn Ser Asp His Val Val
1 5 10
<210> 561
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 561
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Tyr Val
1 5
<210> 562
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 562

[0203] Gln Ala Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Val
1 5
<210> 563
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 563
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
1 5
<210> 564
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 564
Gln Val Trp Asn Ser Ser Ser Val His Pro Val
1 5 10
<210> 565
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 565
Ser Ser Tyr Ser Ser Ser Thr Thr Leu Glu Val
1 5 10
<210> 566
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 566
Gln Gln Asp Asn Ser Phe Pro Tyr Thr
1 5
<210> 567
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 567

[0204] Gln Gln Asp Asn Ser Phe Pro Tyr Thr
1 5
<210> 568
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 568
Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 569
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 569
Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 570
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 570
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5
<210> 571
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 571
Gln Thr Trp Asp Thr Arg Ile Ala Val
1 5
<210> 572
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 572
[0205] Gln Ala Trp Asp Ser Thr Thr Ala Val
1 5
<210> 573
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 573
Gln Ala Trp Asp Ile Thr Thr Val Leu
1 5
<210> 574
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 574
Gln Ala Trp Asp Arg Asn Thr Val Val
1 5
<210> 575
<211> 334
<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 575

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

[0206]

```
Ser Tyr Asp Asn Ala Cys Gln Ile Lys Glu Ala Ser Cys Gln Lys Gln
                165                 170                 175
Glu Lys Ile Glu Val Met Ser Leu Gly Arg Cys Gln Asp Asn Thr Thr
            180                 185                 190
Thr Thr Thr Lys Ser Glu Asp Gly His Tyr Ala Arg Thr Asp Tyr Ala
        195                 200                 205
Glu Asn Ala Asn Lys Leu Glu Glu Ser Ala Arg Glu His His Ile Pro
    210                 215                 220
Cys Pro Glu His Tyr Asn Gly Phe Cys Met His Gly Lys Cys Glu His
225                 230                 235                 240
Ser Ile Asn Met Gln Glu Pro Ser Cys Arg Cys Asp Ala Gly Tyr Thr
                245                 250                 255
Gly Gln His Cys Glu Lys Lys Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Val Val Pro
            260                 265                 270
Gly Pro Val Arg Phe Gln Tyr Val Leu Ile Ala Ala Val Ile Gly Thr
        275                 280                 285
Ile Gln Ile Ala Val Ile Cys Val Val Val Leu Cys Ile Thr Arg Lys
    290                 295                 300
Cys Pro Arg Ser Asn Arg Ile His Arg Gln Lys Gln Asn Thr Gly His
305                 310                 315                 320
Tyr Ser Ser Asp Asn Thr Thr Arg Ala Ser Thr Arg Leu Ile
                325                 330
```

<210> 576

<400> 576
000
<210> 577
<211> 41
<212> PRT
<213> 未知
<220>
<223> 未知的描述：TMEFF2 序列
<400> 577
His His Ile Pro Cys Pro Glu His Tyr Asn Gly Phe Cys Met His Gly
1 5 10 15
Lys Cys Glu His Ser Ile Asn Met Gln Glu Pro Ser Cys Arg Cys Asp
20 25 30
Ala Gly Tyr Thr Gly Gln His Cys Glu
35 40
<210> 578
<211> 304
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 578

[0207]
Phe Pro Thr Ser Leu Ser Asp Cys Gln Thr Pro Thr Gly Trp Asn Cys
1 5 10 15
Ser Gly Tyr Asp Asp Arg Glu Asn Asp Leu Phe Leu Cys Asp Thr Asn
20 25 30
Thr Cys Lys Phe Asp Gly Glu Cys Leu Arg Ile Gly Asp Thr Val Thr
35 40 45
Cys Val Cys Gln Phe Lys Cys Asn Asn Asp Tyr Val Pro Val Cys Gly
50 55 60
Ser Asn Gly Glu Ser Tyr Gln Asn Glu Cys Tyr Leu Arg Gln Ala Ala
65 70 75 80
Cys Lys Gln Gln Ser Glu Ile Leu Val Val Ser Glu Gly Ser Cys Ala
85 90 95
Thr Asp Ala Gly Ser Gly Ser Gly Asp Gly Val His Glu Gly Ser Gly
100 105 110
Glu Thr Ser Gln Lys Glu Thr Ser Thr Cys Asp Ile Cys Gln Phe Gly
115 120 125
Ala Glu Cys Asp Glu Asp Ala Glu Asp Val Trp Cys Val Cys Asn Ile
130 135 140
Asp Cys Ser Gln Thr Asn Phe Asn Pro Leu Cys Ala Ser Asp Gly Lys
145 150 155 160
Ser Tyr Asp Asn Ala Cys Gln Ile Lys Glu Ala Ser Cys Gln Lys Gln
165 170 175
Glu Lys Ile Glu Val Met Ser Leu Gly Arg Cys Gln Asp Asn Thr Thr

180 185 190
Thr Thr Thr Lys Ser Glu Asp Gly His Tyr Ala Arg Thr Asp Tyr Ala
195 200 205
Glu Asn Ala Asn Lys Leu Glu Glu Ser Ala Arg Glu His His Ile Pro
210 215 220
Cys Pro Glu His Tyr Asn Gly Phe Cys Met His Gly Lys Cys Glu His
225 230 235 240
Ser Ile Asn Met Gln Glu Pro Ser Cys Arg Cys Asp Ala Gly Tyr Thr
245 250 255
Gly Gln His Cys Glu Lys Lys Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Val Val Pro
260 265 270
Gly Pro Val Arg Phe Gln Tyr Val Gly Gly Gly Ser His His His His
275 280 285
His His Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
290 295 300

<210> 579
<211> 797
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 579

[0208]
Ser Gly Glu Thr Ser Gln Lys Glu Thr Ser Thr Cys Asp Ile Cys Gln
1 5 10 15
Phe Gly Ala Glu Cys Asp Glu Asp Ala Glu Asp Val Trp Cys Val Cys
20 25 30
Asn Ile Asp Cys Ser Gln Thr Asn Phe Asn Pro Leu Cys Ala Ser Asp
35 40 45
Gly Lys Ser Tyr Asp Asn Ala Cys Gln Ile Lys Glu Ala Ser Cys Gln
50 55 60
Lys Gln Glu Lys Ile Glu Val Met Ser Leu Gly Arg Cys Gln Asp Asn
65 70 75 80
Thr Thr Thr Thr Thr Lys Ser Glu Asp Gly His Tyr Ala Arg Thr Asp
85 90 95
Tyr Ala Glu Asn Ala Asn Lys Leu Glu Glu Ser Ala Arg Glu His His
100 105 110
Ile Pro Cys Pro Glu His Tyr Asn Gly Phe Cys Met His Gly Lys Cys
115 120 125
Glu His Ser Ile Asn Met Gln Glu Pro Ser Cys Arg Cys Asp Ala Gly
130 135 140
Tyr Thr Gly Gln His Cys Glu Lys Lys Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Val
145 150 155 160
Val Pro Gly Pro Val Arg Phe Gln Tyr Val Gly Ser Gly Ser Gly Ser
165 170 175
Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Val Arg Ser Ser Ser Asp Ala His Lys

180 185 190
Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
195 200 205
Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe
210 215 220
Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr
225 230 235 240
Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
245 250 255
Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
260 265 270
Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
275 280 285
Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
290 295 300
Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
305 310 315 320
Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr
325 330 335
Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala
340 345 350
Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro
[0209] 355 360 365
Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln
370 375 380
Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys
385 390 395 400
Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe
405 410 415
Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu
420 425 430
Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu
435 440 445
Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys
450 455 460
Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu
465 470 475 480
Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp
485 490 495
Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp
500 505 510
Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
515 520 525
Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
530 535 540

Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
545 550 555 560
Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
565 570 575
Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln
580 585 590
Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr
595 600 605
Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys
610 615 620
Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr
625 630 635 640
Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro
645 650 655
Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
660 665 670
Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
675 680 685
Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu
690 695 700
Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu
705 710 715 720

[0210] Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
725 730 735
Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
740 745 750
Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln
755 760 765
Ala Ala Leu Gly Leu Gly Gly Gly Ser His His His His His His Leu
770 775 780
Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
785 790 795

<210> 580
<211> 101
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 580
Asn Thr Thr Thr Thr Thr Lys Ser Glu Asp Gly His Tyr Ala Arg Thr
1 5 10 15
Asp Tyr Ala Glu Asn Ala Asn Lys Leu Glu Glu Ser Ala Arg Glu His
20 25 30
His Ile Pro Cys Pro Glu His Tyr Asn Gly Phe Cys Met His Gly Lys
35 40 45

Cys Glu His Ser Ile Asn Met Gln Glu Pro Ser Cys Arg Cys Asp Ala
50 55 60
Gly Tyr Thr Gly Gln His Cys Glu Lys Lys Asp Tyr Ser Val Leu Tyr
65 70 75 80
Val Val Pro Gly Pro Val Arg Phe Gln Tyr Val Gly Gly Gly Ser His
85 90 95
His His His His His
100

<210> 581
<211> 333
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 581

Asn Thr Thr Thr Thr Thr Lys Ser Glu Asp Gly His Tyr Ala Arg Thr
1 5 10 15
Asp Tyr Ala Glu Asn Ala Asn Lys Leu Glu Glu Ser Ala Arg Glu His
20 25 30
His Ile Pro Cys Pro Glu His Tyr Asn Gly Phe Cys Met His Gly Lys
35 40 45
Cys Glu His Ser Ile Asn Met Gln Glu Pro Ser Cys Arg Cys Asp Ala

[0211]

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

Ile Thr Cys Met Val Lys Gly Phe Tyr Pro Pro Asp Ile Tyr Val Glu
245 250 255
Trp Gln Met Asn Gly Gln Pro Gln Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Pro Pro
260 265 270
Thr Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Asn Val
275 280 285
Lys Lys Glu Lys Trp Gln Gln Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu
290 295 300
His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser
305 310 315 320
Pro Gly Lys Gly Gly Gly Ser His His His His His His
325 330

<210> 582
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 582
Ser Tyr Ser Met Ser
1 5

<210> 583
[0212] <211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 583
Ser Tyr Tyr Ile Ser
1 5

<210> 584
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 584
Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Phe Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 585
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 585
Gly Ile Ile Pro Ile Ser Gly Arg Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 586
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 586
Val Ile Ser Gly Gly Gly Ser Phe Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 587
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
[0213] <220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 587
Met Pro Leu Asn Ser Pro His Asp Tyr
1 5
<210> 588
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 588
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 589
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 589
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Ser Gly Arg Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser 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
Ala Arg Asp Gly Tyr Ser Ser Gly Arg Ser Thr Thr Tyr Ala Phe Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 590
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 590

[0214]
gaaattgtgc tgacccagag cccgggcacc ctgagcctga gcccgggcga acgcgcgacc 60
ctgagctgcc gcgcgagcca gagcgttgcc acctattatc ttgcgtggta tcagcagaaa 120
ccgggccagg cgccgcgcct gctgatttac ggtgcatcct cccgtgcgac cggcattccg 180
gatcgcttta gcggcagcgg ttccggcacc gattttaccc tgaccattag ccgcctggaa 240
ccggaagatt ttgcggtgta ttattgccag cagtacggct ataacccaat tacctttggc 300
cagggcacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 591
<211> 96
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 591
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

<210> 592
<211> 15
<212> PRT
<213> 未知
<220>
<223> 未知的描述：TMEFF2 序列
<400> 592
His Gly Lys Cys Glu His Ser Ile Asn Met Gln Glu Pro Ser Cys
1 5 10 15

<210> 593
<400> 593
000

<210> 594
<400> 594
000

<210> 595
[0215] <400> 595
000

<210> 596
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成 6xHis 标签
<400> 596
His His His His His His
1 5

<210> 597
<400> 597
000

<210> 598
<400> 598
000

<210> 599
<400> 599
000

<210> 600
<211> 17
<212> PRT

<213> 未知
<220>
<223> 未知的描述：TMEFF2 序列
<400> 600
Asp Ala Gly Tyr Thr Gly Gln His Cys Glu Lys Lys Asp Tyr Ser Val
1 5 10 15
Leu

<210> 601
<211> 330
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 601
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
[0216] 65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 602
<211> 327
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 602

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
[0217] 50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 603
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 603
Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 604
[0218] <211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 604
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
Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Phe Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Met Pro Leu Asn Ser Pro His Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 605

<400> 605
000
<210> 606
<400> 606
000
<210> 607
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 607

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr 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
65 70 75 80

[0219]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 608
<400> 608
000
<210> 609
<400> 609
000
<210> 610
<400> 610
000
<210> 611
<400> 611
000
<210> 612
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 612

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

<210> 613
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

[0220] <400> 613

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

<210> 614
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 614

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
Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Phe Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Met Pro Leu Asn Ser Pro His Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
        115                 120                 125
Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
    130                 135                 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145                 150                 155                 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
                165                 170                 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
            180                 185                 190
Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
        195                 200                 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
    210                 215                 220
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225                 230                 235                 240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
                245                 250                 255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
            260                 265                 270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
        275                 280                 285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
    290                 295                 300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305                 310                 315                 320
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
                325                 330                 335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
            340                 345                 350
Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
        355                 360                 365
```

[0221]

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415
Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 615
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 615

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

[0222]

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

<210> 616
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 616

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
Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Phe Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu His Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Met Pro Leu Asn Ser Pro His Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
[0223] 115 120 125
Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
210 215 220
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350
Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415
Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 617
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

[0224] <220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 617

Ala Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr 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
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 618
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 618

gaggtgcagc tgctggaaag cggcggaggc ctggtgcagc ccggaggaag cctgagactc 60
agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc agctacagca tgagctgggt caggcaggcc 120
cctggcaaag gactggagtg ggtgagcgtg attagcggca gcggcggctt caccgattac 180
gccgacagcg tgaagggcag gttcaccatc agcagggaca atagcaagaa caccctgtac 240
ctgcagatga acagcctgag ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caggatgccc 300
ctgaacagcc ctcacgacta ctggggccag ggaaccctgg tgaccgtgtc cagc 354

<210> 619
[0225] <211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 619

gacatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca gggccagcca gggcatcaga aacgacctgg gctggtacca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagagcgg agtgcctagc 180
aggttcagcg gaagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgcctgcag gactacaact acccccctgac attcggcggc 300
ggcaccaagg tggagatcaa g 321

<210> 620
<211> 1335
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 620

gaggtgcagc tgctggaaag cggcggaggc ctggtgcagc ccggaggaag cctgagactc 60
agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc agctacagca tgagctgggt caggcaggcc 120
cctggcaaag gactggagtg ggtgagcgtg attagcggca gcggcggctt caccgattac 180
gccgacagcg tgaagggcag gttcaccatc agcagggaca atagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgag ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caggatgccc 300
ctgaacagcc ctcacgacta ctggggccag ggaaccctgg tgaccgtgtc cagcgcttcc 360
accaagggcc catccgtctt ccccctggcg ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca 420
gccgccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 480
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 540
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcacgaa aacctacact 600
tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagttga gtccaaatat 660
ggtcccccat gcccaccatg cccagcacct gaggccgccg ggggaccatc agtcttcctg 720
ttcccccaa aacccaagga cactctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg 780
gtggtggacg tgagccagga agaccccgag gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg 840
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt tcaacagcac gtaccgtgtg 900
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag 960
gtctccaaca aaggcctccc gtcctccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020
ccccgagagc cacaggtgta caccctgccc ccatcccagg aggagatgac caagaaccag 1080
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc taccccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200
tccttcttcc tctacagcag gctaaccgtg gacaagagca gatggcagga ggggaatgtc 1260
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacacagaa gagcctctcc 1320
ctgtctctgg gtaaa 1335

<210> 621
<211> 645
<212> DNA

[0226] <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 621

gacatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca gggccagcca gggcatcaga aacgacctgg gctggtacca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagagcgg agtgcctagc 180
aggttcagcg gaagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgcctgcag gactacaact acccccctgac attcggcggc 300
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 622
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 622

gaggtgcagc tgctggaaag cggcggaggc ctggtgcagc ccggaggaag cctgagactc 60

agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc agctacagca tgagctgggt caggcaggcc 120
cctggcaaag gactggagtg ggtgagcgtg attagcggca gcggcggctt caccgattac 180
gccgacagcg tgaagggcag gttcaccatc agcagggaca atagcaagaa caccctgtac 240
ctgcacatga acagcctgag ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caggatgccc 300
ctgaacagcc ctcacgacta ctggggccag ggaaccctgg tgaccgtgtc cagc 354

<210> 623
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 623

gccatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca gggccagcca gggcatcaga aacgacctgg gctggtacca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagagcgg agtgcctagc 180
aggttcagcg gaagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgcctgcag gactacaact acccccctgac attcggcggc 300
ggcaccaagg tggagatcaa g 321

<210> 624
<211> 1335
<212> DNA
<213> 人工序列
[0227] <220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 624

gaggtgcagc tgctggaaag cggcggaggc ctggtgcagc ccggaggaag cctgagactc 60
agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc agctacagca tgagctgggt caggcaggcc 120
cctggcaaag gactggagtg ggtgagcgtg attagcggca gcggcggctt caccgattac 180
gccgacagcg tgaagggcag gttcaccatc agcagggaca atagcaagaa caccctgtac 240
ctgcacatga acagcctgag ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caggatgccc 300
ctgaacagcc ctcacgacta ctggggccag ggaaccctgg tgaccgtgtc cagcgcttcc 360
accaagggcc catccgtctt ccccctggcg ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca 420
gccgccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 480
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 540
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcacgaa aacctacact 600
tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagttga gtccaaatat 660
ggtcccccat gcccaccatg cccagcacct gaggccgccg ggggaccatc agtcttcctg 720
ttcccccaa aacccaagga cactctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg 780
gtggtggacg tgagccagga agaccccgag gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg 840
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt tcaacagcac gtaccgtgtg 900
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag 960
gtctccaaca aaggcctccc gtcctccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020
ccccgagagc cacaggtgta cacctgcccc ccatcccagg aggagatgac caagaaccag 1080
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc taccccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200

tccttcttcc tctacagcag gctaaccgtg gacaagagca gatggcagga ggggaatgtc 1260
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacacagaa gagcctctcc 1320
ctgtctctgg gtaaa 1335

<210> 625
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 625

gccatccaga tgacccagag ccctagcagc ctgagcgcta gcgtgggcga cagggtgacc 60
atcacctgca gggccagcca gggcatcaga aacgacctgg gctggtacca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagagcgg agtgcctagc 180
aggttcagcg gaagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 240
gaggacttcg ccacctacta ctgcctgcag gactacaact acccccctgac attcggcggc 300
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 626
[0228] <211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 626

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

130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
[0229] 305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 627
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 627
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser
[0230] 275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 628
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 628

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
[0231] 245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 629
<211> 91
<212> PRT
<213> 未知
<220>
<223> 未知的描述：TMEFF2 序列
<400> 629
Asn Thr Thr Thr Thr Thr Lys Ser Glu Asp Gly His Tyr Ala Arg Thr
1 5 10 15
Asp Tyr Ala Glu Asn Ala Asn Lys Leu Glu Glu Ser Ala Arg Glu His
20 25 30
His Ile Pro Cys Pro Glu His Tyr Asn Gly Phe Cys Met His Gly Lys

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

<210> 630
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 630
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 631
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

[0232] <400> 631
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 Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Tyr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 632
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 632
Asp Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Tyr Val Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 633
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 633

[0233]
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30
Thr Tyr Tyr Trp Gly Trp Leu Arg Gln Pro Pro Gly Met Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Thr Gly Ser Ile Tyr Phe Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Gly Ser Leu Phe Gly Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

[0234] 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435 440 445

<210> 634

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 634

Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val

1 5

<210> 635

<211> 207

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 635

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

[0235]

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> 636
<211> 104
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 636

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

Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp
100

<210> 637
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 637

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30
Asn Ala Ala Trp Thr Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Val Asn Pro Asp Thr Ser Arg Asn
65 70 75 80
Gln Phe Thr Leu Gln Leu Lys Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ser Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
[0236] 100 105 110
Gly Thr Leu 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
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 Arg Glu Glu Gln 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 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

[0237] <210> 638
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 638
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30
Asn Gly Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Val Asn Pro Asp Thr Ser Arg Asn
65 70 75 80
Gln Phe Thr Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu 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
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 Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

[0238]
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 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> 639
<211> 450
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 639

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

[0239]

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
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 Arg Glu Glu Gln 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 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> 640
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

[0240] <223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 640
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Arg Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30
Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Val Asn Pro Asp Thr Ser Arg Asn
65 70 75 80
Gln Phe Thr Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
[0241] 340 345 350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 641
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 641
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn

```
                20                  25                  30
Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
        35                  40                  45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
    50                  55                  60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Val Asn Pro Asp Thr Ser Arg Asn
65                  70                  75                  80
Gln Phe Thr Leu Gln Leu Lys Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
                85                  90                  95
Tyr Tyr Cys Ser Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu 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
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 Arg Glu Glu Gln 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 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380
```

[0242]

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> 642
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 642

[0243]

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

[0244]

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> 643
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 643

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Arg Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30
Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Val Asn Pro Asp Thr Ser Arg Asn
65 70 75 80
Gln Phe Thr Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu 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

[0245] 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 Arg Glu Glu Gln 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 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> 644
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 644
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30
Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Val Asn Pro Asp Thr Ser Arg Asn
65 70 75 80
[0246] Gln Phe Thr Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
85 90 95
Tyr Tyr Cys Val Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu 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
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 Arg Glu Glu Gln 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 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
[0247] 435 440 445
Gly Lys
450

<210> 645
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 645
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr
20 25 30
Lys Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ala Pro Lys Val
35 40 45
Leu Leu Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Gln Ala Asp Tyr His Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95
Gly Thr Leu Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

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

<210> 646
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 646

[0248]
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr
20 25 30
Lys Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ala Pro Lys Val
35 40 45
Leu Leu Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Gln Ala Asp Tyr His Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95
Gly Thr Leu Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215
<210> 647
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 647
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Arg Asp Ile Gly Thr Tyr
20 25 30
Lys Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ala Pro Lys Val
35 40 45
Leu Leu Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
[0249] Gln Ala Glu Asp Gln Ala Asp Tyr His Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95
Gly Thr Leu Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215
<210> 648
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 648
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Arg Asp Ile Gly Thr Tyr
20 25 30
Lys Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ala Pro Lys Val
35 40 45
Leu Leu Tyr Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Gln Ala Asp Tyr His Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95
Gly Thr Leu Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
[0250] Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215
<210> 649
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 649
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr
20 25 30
Lys Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ala Pro Lys Val
35 40 45
Leu Leu Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Gln Ala Asp Tyr His Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95
Gly Thr Leu Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 650
<211> 216
[0251] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 650

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

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 651
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 651
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30
Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
[0252] 35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Val Asn Pro Asp Thr Ser Arg Asn
65 70 75 80
Gln Phe Thr Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
85 90 95
Tyr Tyr Cys Val Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 652
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 652
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Arg Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30
Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

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

<210> 653
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 653
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30

[0253] Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Val Asn Pro Asp Thr Ser Arg Asn
65 70 75 80
Gln Phe Thr Leu Gln Leu Lys Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ser Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 654
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 654
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30

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

<210> 655
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 655
Gln Val Arg Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
[0254] 20 25 30
Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Thr Val Lys Ser Arg Ile Thr Val Asn Pro Asp Thr Ser Arg Asn
65 70 75 80
Gln Phe Thr Leu Gln Leu Thr Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 656
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 656
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn

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

<210> 657
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 657
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

[0255]
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30
Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80
Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 658
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 658
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

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

<210> 659
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 659

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr

[0256]

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

<210> 660
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 660

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Thr Tyr
20 25 30
Lys Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ala Pro Lys Val

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

<210> 661
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 661
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr
20 25 30
Lys Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ala Pro Lys Val
35 40 45

[0257]
Leu Leu Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Gln Ala Asp Tyr His Cys Val Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95
Gly Thr Leu Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 662
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 662
Asn Asn Asn Ala Ala Trp Ser
1 5
<210> 663
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 663
Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala Val Ser Val
1 5 10 15
Lys Ser

<210> 664
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 664
Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr
1 5
<210> 665
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 665
Asn Asn Asn Gly Ala Trp Ser
[0258] 1 5
<210> 666
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 666
Asn Asn Asn Ala Ala Trp Thr
1 5
<210> 667
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 667
Thr Gly Thr Ser Arg Asp Ile Gly Thr Tyr Lys Phe Val Ser
1 5 10
<210> 668
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 668
Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr Lys Phe Val Ser
1 5 10
<210> 669
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 669
Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser
1 5
<210> 670
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 670
Cys Ser Tyr Ala Gly Ser Gly Thr Leu Leu
[0259] 1 5 10
<210> 671
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 671
Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr Lys Phe Val Ser
1 5 10
<210> 672
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 672
Thr Gly Thr Ser Arg Asp Ile Gly Thr Tyr Lys Phe Val Ser
1 5 10
<210> 673
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 673
Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser
1 5
<210> 674
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 674
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Thr Tyr Lys Phe Val Ser
1 5 10
<210> 675
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 675
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
[0260] 1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30
Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80
Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

[0261] Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 676
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 676
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr
20 25 30
Lys Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ala Pro Lys Val
35 40 45

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

[0262] <210> 677
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 677
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr
20 25 30
Lys Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val
35 40 45
Met Ile Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95
Gly Thr Leu Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125

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

<210> 678
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 678

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr
20 25 30

[0263]

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

<210> 679
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 679

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 Lys Ser Asp
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Glu Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Leu
50 55 60

Lys Ser 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 Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Tyr Val Gly Asp Tyr Phe Asp
100 105 110

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

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

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

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

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

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

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
[0264] 210 215 220

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Leu Gly Lys
450

<210> 680
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 680

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 Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Tyr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
[0265] 50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 681
<211> 124

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 681

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

<210> 682
[0266] <211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 682

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

<210> 683
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 683
Glu Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Leu Lys
1 5 10 15
Ser

<210> 684
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 684
Asp Ala Ser Tyr Arg Ala Thr
1 5
<210> 685
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0267] <223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 685
Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5
<210> 686
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 686
Gln Gln Arg Arg Asn Trp Pro Leu Thr
1 5
<210> 687
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 687
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn

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

<210> 688
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

[0268]

<400> 688
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Arg Asp Ile Gly Thr Tyr
20 25 30
Lys Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ala Pro Lys Val
35 40 45
Leu Leu Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Gln Ala Asp Tyr His Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95
Gly Thr Leu Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 689
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 689
Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala Val Thr Val
1 5 10 15
Lys Ser

<210> 690
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<400> 690
Val Ser Tyr Ala Gly Ser Gly Thr Leu Leu
1 5 10
<210> 691
<400> 691
000
<210> 692
<400> 692
000
<210> 693
<400> 693
000
<210> 694
<400> 694
000
<210> 695
[0269] <400> 695
000
<210> 696
<400> 696
000
<210> 697
<400> 697
000
<210> 698
<400> 698
000
<210> 699
<400> 699
000
<210> 700
<400> 700
000
<210> 701
<400> 701
000
<210> 702
<400> 702
000

<210> 703
<400> 703
000
<210> 704
<400> 704
000
<210> 705
<400> 705
000
<210> 706
<400> 706
000
<210> 707
<400> 707
000
<210> 708
<400> 708
000
<210> 709
<400> 709
000
<210> 710
[0270] <400> 710
000
<210> 711
<211> 326
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 711

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

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

[0271] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 712
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 712
caggtgcagc tgcagcagtc tggccctaga ctcgtgcggc cttcccagac cctgtctctg 60
acctgtgcca tctccggcga ctccgtgttc aacaacaacg ccgcctggtc ctggatccgg 120
cagagccctt ctagaggcct ggaatggctg ggccggacct actaccggtc caagtggctg 180
tacgactacg ccgtgtccgt gaagtcccgg atcaccgtga accctgacac ctcccggaac 240
cagttcaccc tgcagctgaa ctccgtgacc cctgaggaca ccgccctgta ctactgcgcc 300
agaggctact cctcctcctt cgactattgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcctct 360
<210> 713
<211> 330
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 713
cagtctgctc tgacccagcc tgcctccgtg tctggctctc ccggccagtc catcaccatc 60
agctgtaccg gcacctcctc caacatcggc acctacaagt tcgtgtcctg gtatcagcag 120
caccccgaca aggcccccaa agtgctgctg tacgaggtgt ccaagcggcc ctctggcgtg 180
tcctccagat tctccggctc caagtctggc aacaccgcct ccctgaccat cagcggactg 240
caggctgagg accaggccga ctaccactgt gtgtcctacg ctggctctgg caccctgctg 300
tttggcggag gcaccaagct gaccgtgctg 330
<210> 714
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 714
caggtgcagc tgcagcagag cggccccggc ctggtcaagc ccagccagac cctgagcctg 60
acctgcgcca tcagcggcga cagcgtgttc aacaacaacg ccgcctggtc ctggatccgc 120
cagagcccca gccgcggcct ggagtggctg ggccgcacct actaccgcag caagtggctg 180
tacgactacg ccgtgtccgt gaagtcccgc atcaccatca accccgacac cagcaagaac 240
cagttctccc tgcagctgaa cagcgtgacc cccgaggaca ccgccgtgta ctactgcgcc 300
cgcggctaca gcagcagctt cgactactgg ggccagggca ccctggtcac cgtgtccagc 360
<210> 715
<211> 330
[0272] <212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
<400> 715
cagtctgctc tgacccagcc tgcctccgtg tctggctctc ccggccagtc catcaccatc 60
agctgtaccg gcacctcctc caacatcggc acctacaagt tcgtgtcctg gtatcagcag 120
caccccggca aggcccccaa agtgatgatc tacgaggtgt ccaagcggcc ctccggcgtg 180
tccaacagat tctccggctc caagtccggc aacaccgcct ccctgacaat cagcggactg 240
caggccgagg acgaggccga ctactactgt gtgtcctacg ccggctctgg caccctgctg 300
tttggcggcg gaacaaagct gaccgtgctg 330
<210> 716
<211> 4
<212> PRT
<213> 未知
<220>
<223> 未知的描述：ER 保留信号序列
<400> 716
Lys Asp Glu Leu
1
<210> 717
<211> 101
<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 717
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30
Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80
Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg
100
<210> 718
<211> 99
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 718
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[0273] 1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr
20 25 30
Asn Leu Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95
Ser Thr Phe

<210> 719
<211> 750
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 719
Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg
1 5 10 15
Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe
20 25 30
Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Asn Glu

35 40 45

Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Met Lys Ala Phe Leu Asp Glu
50 55 60

Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr Asn Phe Thr Gln Ile
65 70 75 80

Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile
85 90 95

Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Ala His
100 105 110

Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr Ile
115 120 125

Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe
130 135 140

Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Ile Val Pro Pro
145 150 155 160

Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr
165 170 175

Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met
180 185 190

Lys Ile Asn Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys Val
195 200 205

Phe Arg Gly Asn Lys Val Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala Lys Gly
[0274] 210 215 220

Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val Lys
225 230 235 240

Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg Gly
245 250 255

Asn Ile Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly Tyr
260 265 270

Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg Arg Gly Ile Ala Glu Ala Val Gly
275 280 285

Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys
290 295 300

Leu Leu Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Pro Pro Asp Ser Ser Trp Arg
305 310 315 320

Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly Asn
325 330 335

Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Thr Asn Glu Val
340 345 350

Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu Pro
355 360 365

Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe Gly
370 375 380

Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val Arg
385 390 395 400

Ser Phe Gly Thr Leu Lys Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr Ile
405 410 415
Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser Thr
420 425 430
Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala
435 440 445
Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val
450 455 460
Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val His Asn Leu Thr Lys Glu
465 470 475 480
Leu Lys Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser
485 490 495
Trp Thr Lys Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile
500 505 510
Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu
515 520 525
Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn
530 535 540
Lys Phe Ser Gly Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu
545 550 555 560
Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Met Phe Lys Tyr His Leu Thr Val
565 570 575

[0275] Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Ile Val
580 585 590
Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala
595 600 605
Asp Lys Ile Tyr Ser Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys Thr
610 615 620
Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe Thr
625 630 635 640
Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Gln Asp Phe Asp Lys Ser
645 650 655
Asn Pro Ile Val Leu Arg Met Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu
660 665 670
Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg
675 680 685
His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser
690 695 700
Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp
705 710 715 720
Pro Ser Lys Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Tyr Val Ala Ala
725 730 735
Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala
740 745 750

<210> 720

<211> 752
<212> PRT
<213> 小鼠属
<400> 720

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

[0276]

Leu Ser Glu Gln Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Ile Ser Asp Val Val
145 150 155 160
Pro Pro Tyr Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Thr Pro Glu Gly Asp Leu
165 170 175
Val Tyr Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg
180 185 190
Glu Met Lys Ile Ser Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly
195 200 205
Lys Val Phe Arg Gly Asn Met Val Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala
210 215 220
Lys Gly Met Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Val Pro Ala
225 230 235 240
Val Lys Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln
245 250 255
Arg Gly Asn Val Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro
260 265 270
Gly Tyr Pro Ala Asn Glu His Ala Tyr Arg His Glu Leu Thr Asn Ala
275 280 285
Val Gly Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Asp Asp Ala
290 295 300
Gln Lys Leu Leu Glu His Met Gly Gly Pro Ala Pro Pro Asp Ser Ser
305 310 315 320
Trp Lys Gly Gly Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Ala

325 330 335
Gly Asn Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Tyr Thr
340 345 350
Lys Val Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu Lys Gly Ala Leu
355 360 365
Glu Pro Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg Asp Ala Trp Val
370 375 380
Phe Gly Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile
385 390 395 400
Val Arg Ser Phe Gly Thr Leu Lys Lys Lys Gly Arg Arg Pro Arg Arg
405 410 415
Thr Ile Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly
420 425 430
Ser Thr Glu Trp Ala Glu Glu His Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly
435 440 445
Val Ala Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu
450 455 460
Arg Val Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val Tyr Asn Leu Thr
465 470 475 480
Lys Glu Leu Gln Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr
485 490 495
Asp Ser Trp Lys Glu Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ile Gly Met Pro
[0277] 500 505 510
Arg Ile Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln
515 520 525
Arg Leu Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Lys
530 535 540
Thr Asn Lys Val Ser Ser Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr
545 550 555 560
Tyr Glu Leu Val Val Lys Phe Tyr Asp Pro Thr Phe Lys Tyr His Leu
565 570 575
Thr Val Ala Gln Val Arg Gly Ala Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser
580 585 590
Ile Val Leu Pro Phe Asp Cys Gln Ser Tyr Ala Val Ala Leu Lys Lys
595 600 605
Tyr Ala Asp Thr Ile Tyr Asn Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met
610 615 620
Lys Ala Tyr Met Ile Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Asn Asn
625 630 635 640
Phe Thr Asp Val Ala Ser Lys Phe Asn Gln Arg Leu Gln Glu Leu Asp
645 650 655
Lys Ser Asn Pro Ile Leu Leu Arg Ile Met Asn Asp Gln Leu Met Tyr
660 665 670
Leu Glu Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Gly Arg Pro Phe
675 680 685

Tyr Arg His Ile Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly
690 695 700
Glu Ser Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Ser Ser Lys
705 710 715 720
Val Asn Ala Ser Lys Ala Trp Asn Glu Val Lys Arg Gln Ile Ser Ile
725 730 735
Ala Thr Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Arg Glu Val Ala
740 745 750

<210> 721
<211> 750
<212> PRT
<213> 食蟹猕猴(Macaca fascicularis)
<400> 721

Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg
1 5 10 15
Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe
20 25 30
Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Ser Glu
35 40 45
Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Met Lys Ala Phe Leu Asp Glu
50 55 60
Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu His Asn Phe Thr Gln Ile
[0278] 65 70 75 80
Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile
85 90 95
Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Thr His
100 105 110
Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr Ile
115 120 125
Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe
130 135 140
Glu Pro Pro Pro Ala Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Ile Val Pro Pro
145 150 155 160
Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr
165 170 175
Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met
180 185 190
Lys Ile Asn Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys Val
195 200 205
Phe Arg Gly Asn Lys Val Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala Thr Gly
210 215 220
Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Asp Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val Lys
225 230 235 240
Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg Gly
245 250 255

Asn Ile Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly Tyr
260 265 270
Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg Arg Gly Met Ala Glu Ala Val Gly
275 280 285
Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys
290 295 300
Leu Leu Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Ser Pro Asp Ser Ser Trp Arg
305 310 315 320
Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly Asn
325 330 335
Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Thr Ser Glu Val
340 345 350
Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu Pro
355 360 365
Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe Gly
370 375 380
Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val Arg
385 390 395 400
Ser Phe Gly Met Leu Lys Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr Ile
405 410 415
Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser Thr
420 425 430

[0279] Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala
435 440 445
Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val
450 455 460
Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val Tyr Asn Leu Thr Lys Glu
465 470 475 480
Leu Glu Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser
485 490 495
Trp Thr Lys Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile
500 505 510
Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu
515 520 525
Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn
530 535 540
Lys Phe Ser Ser Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu
545 550 555 560
Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Met Phe Lys Tyr His Leu Thr Val
565 570 575
Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Val Val
580 585 590
Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala
595 600 605
Asp Lys Ile Tyr Asn Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys Thr

610 615 620
Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe Thr
625 630 635 640
Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Arg Asp Phe Asp Lys Ser
645 650 655
Asn Pro Ile Leu Leu Arg Met Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu
660 665 670
Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg
675 680 685
His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser
690 695 700
Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp
705 710 715 720
Pro Ser Gln Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Ser Ile Ala Thr
725 730 735
Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala
740 745 750

<210> 722
<211> 76
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0280] <223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 722
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 Lys Ser Asp
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Glu Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
65 70 75

<210> 723
<211> 76
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 723
Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
1 5 10 15
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Tyr Val Gly
20 25 30

Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
35 40 45
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
50 55 60
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
65 70 75
<210> 724
<211> 75
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 724
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
1 5 10 15
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
20 25 30
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
35 40 45
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
50 55 60
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
[0281] 65 70 75
<210> 725
<211> 72
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 725
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 Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
65 70
<210> 726
<211> 72
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 726
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
1 5 10 15
Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
20 25 30
Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
35 40 45
Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
50 55 60
Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
65 70
<210> 727
<211> 70
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<400> 727
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
1 5 10 15
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
[0282] 20 25 30
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
35 40 45
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
50 55 60
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
65 70
<210> 728
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工合成
<220>
<223> 抗体
<400> 728
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30
Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn

65 70 75 80
Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu 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 Ala Ala Gly Ala
225 230 235 240
Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
[0283] 245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala 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 Gln 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 Ser Ser 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 Leu 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> 729
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 抗体片段
<400> 729
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Arg Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30
Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Val Asn Pro Asp Thr Ser Arg Asn
65 70 75 80
Gln Phe Thr Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
[0284] 85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu 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 Ala Ala Gly Ala
225 230 235 240
Ser 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 Ala Glu
260 265 270

[0285]

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 Gln 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 Ser Ser 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 Leu 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

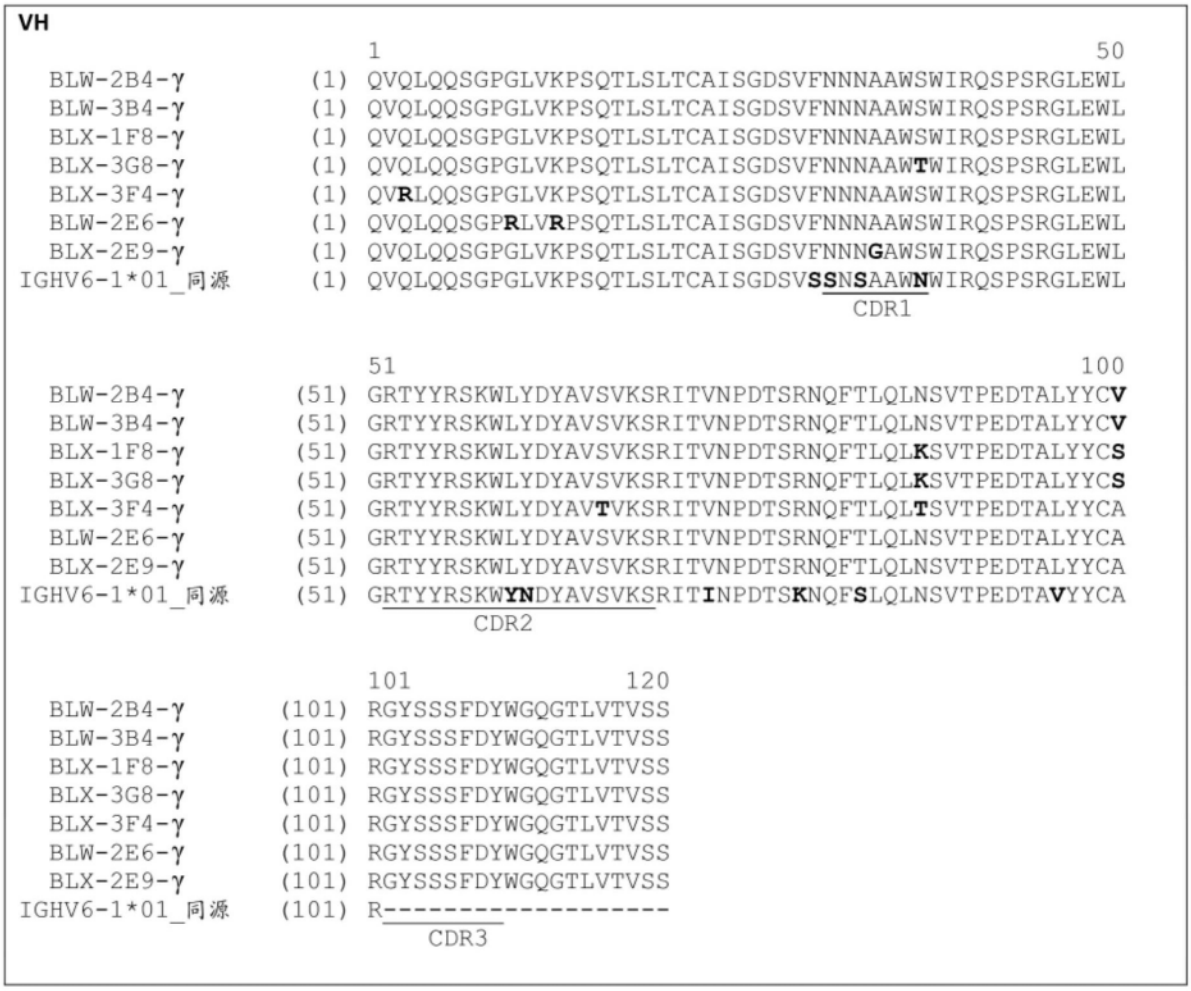

VH
1 50
BLW-2B4-γ (1) QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVFNNNAAWSWIRQSPSRGLEWL
BLW-3B4-γ (1) QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVFNNNAAWSWIRQSPSRGLEWL
BLX-1F8-γ (1) QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVFNNNAAWSWIRQSPSRGLEWL
BLX-3G8-γ (1) QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVFNNNAAWTWIRQSPSRGLEWL
BLX-3F4-γ (1) QVRLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVFNNNAAWSWIRQSPSRGLEWL
BLW-2E6-γ (1) QVQLQQSGPRLVRPSQTLSLTCAISGDSVFNNNAAWSWIRQSPSRGLEWL
BLX-2E9-γ (1) QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVFNNNGAWSWIRQSPSRGLEWL
IGHV6-1*01_同源 (1) QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWL
CDR1
51 100
BLW-2B4-γ (51) GRTYYRSKWLYDYAVSVKSRITVNPDTSRNQFTLQLNSVTPEDTALYYCV
BLW-3B4-γ (51) GRTYYRSKWLYDYAVSVKSRITVNPDTSRNQFTLQLNSVTPEDTALYYCV
BLX-1F8-γ (51) GRTYYRSKWLYDYAVSVKSRITVNPDTSRNQFTLQLKSVTPEDTALYYCS
BLX-3G8-γ (51) GRTYYRSKWLYDYAVSVKSRITVNPDTSRNQFTLQLKSVTPEDTALYYCS
BLX-3F4-γ (51) GRTYYRSKWLYDYAVTVKSRITVNPDTSRNQFTLQLTSVTPEDTALYYCA
BLW-2E6-γ (51) GRTYYRSKWLYDYAVSVKSRITVNPDTSRNQFTLQLNSVTPEDTALYYCA
BLX-2E9-γ (51) GRTYYRSKWLYDYAVSVKSRITVNPDTSRNQFTLQLNSVTPEDTALYYCA
IGHV6-1*01_同源 (51) GRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCA
CDR2
101 120
BLW-2B4-γ (101) RGYSSSFDYWGQGTLVTVSS
BLW-3B4-γ (101) RGYSSSFDYWGQGTLVTVSS
BLX-1F8-γ (101) RGYSSSFDYWGQGTLVTVSS
BLX-3G8-γ (101) RGYSSSFDYWGQGTLVTVSS
BLX-3F4-γ (101) RGYSSSFDYWGQGTLVTVSS
BLW-2E6-γ (101) RGYSSSFDYWGQGTLVTVSS
BLX-2E9-γ (101) RGYSSSFDYWGQGTLVTVSS
IGHV6-1*01_同源 (101) R----------
CDR3

图1A

VL

```
                          1                                                  50
  BLW-2B4-λ         (1)  QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSRDIGTYKFVSWYQQHPDKAPKVLL
  BLW-3B4-λ         (1)  QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSRDIGTYKFVSWYQQHPDKAPKVLL
  BLX-1F8-λ         (1)  QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGTYKFVSWYQQHPDKAPKVLL
  BLW-2E6-λ         (1)  QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFVSWYQQHPDKAPKVLL
  BLX-2E9-λ         (1)  QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFVSWYQQHPDKAPKVLL
  BLX-3F4-λ         (1)  QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFVSWYQQHPDKAPKVLL
  BLX-3G8-λ         (1)  QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFVSWYQQHPDKAPKVLL
IGLV2-23*02_同源    (1)  QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLVSWYQQHPGKAPKLMI
                                              CDR1

                          51                                                 100
  BLW-2B4-λ        (51)  YEVNKRPSGVSSRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDQADYHCCSYAGSGTLL
  BLW-3B4-λ        (51)  YEVSKRPSGVSSRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDQADYHCCSYAGSGTLL
  BLX-1F8-λ        (51)  YEVSKRPSGVSSRFSGSKSDNTASLTISGLQAEDQADYHCCSYAGSGTLL
  BLW-2E6-λ        (51)  YEVSKRPSGVSSRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDQADYHCCSYAGSGTLL
  BLX-2E9-λ        (51)  YEVSKRPSGVSSRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDQADYHCCSYAGSGTLL
  BLX-3F4-λ        (51)  YEVSKRPSGVSSRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDQADYHCCSYAGSGTLL
  BLX-3G8-λ        (51)  YEVSKRPSGVSSRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDQADYHCCSYAGSGTLL
IGLV2-23*02_同源   (51)  YEVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAGSSTF-
                            CDR2                                    CDR3

                          101
  BLW-2B4-λ       (101)  FGGGTKLTVL
  BLW-3B4-λ       (101)  FGGGTKLTVL
  BLX-1F8-λ       (101)  FGGGTKLTVL
  BLW-2E6-λ       (101)  FGGGTKLTVL
  BLX-2E9-λ       (101)  FGGGTKLTVL
  BLX-3F4-λ       (101)  FGGGTKLTVL
  BLX-3G8-λ       (101)  FGGGTKLTVL
IGLV2-23*02_同源  (100)  ----------
```

图1B

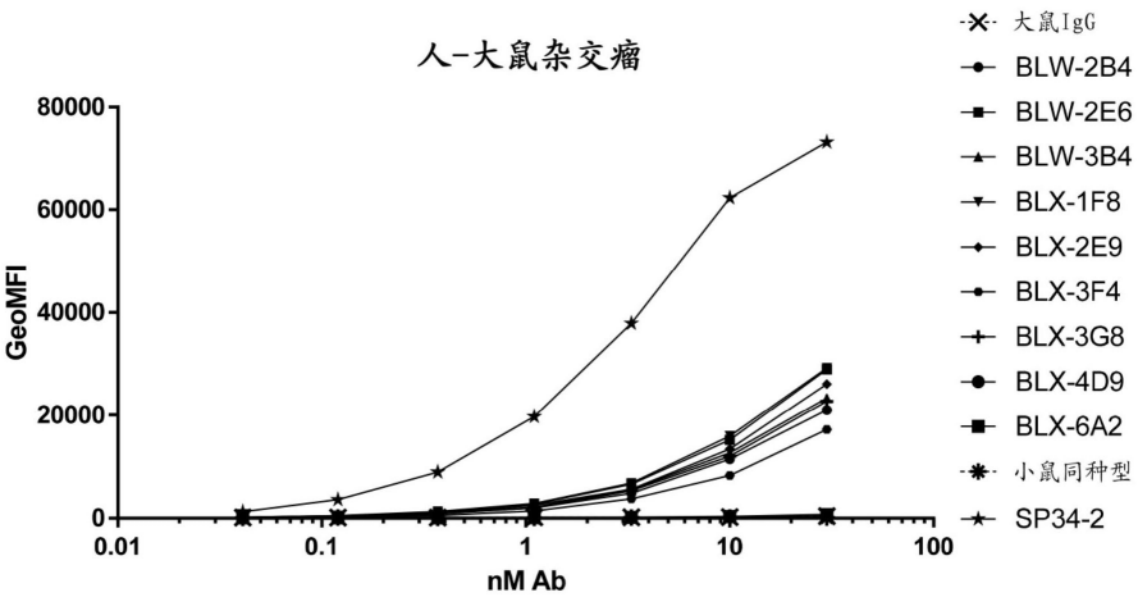


图2

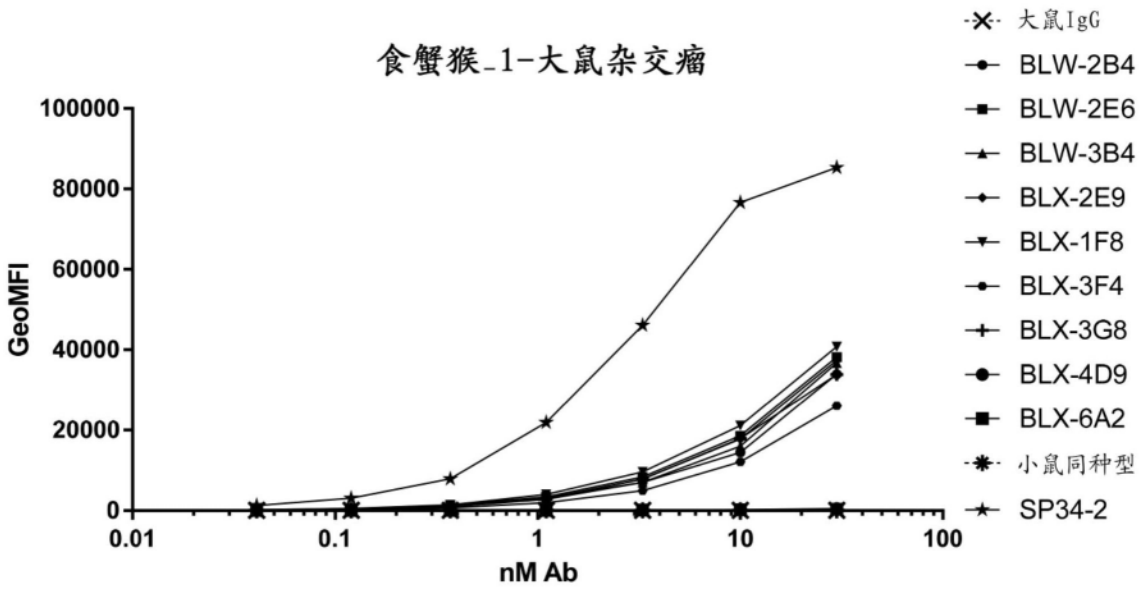

食蟹猴_1-大鼠杂交瘤
GeoMFI
100000
80000
60000
40000
20000
0
0.01
0.1
1
10
100
nM Ab
大鼠IgG
BLW-2B4
BLW-2E6
BLW-3B4
BLX-2E9
BLX-1F8
BLX-3F4
BLX-3G8
BLX-4D9
BLX-6A2
小鼠同种型
SP34-2

图3

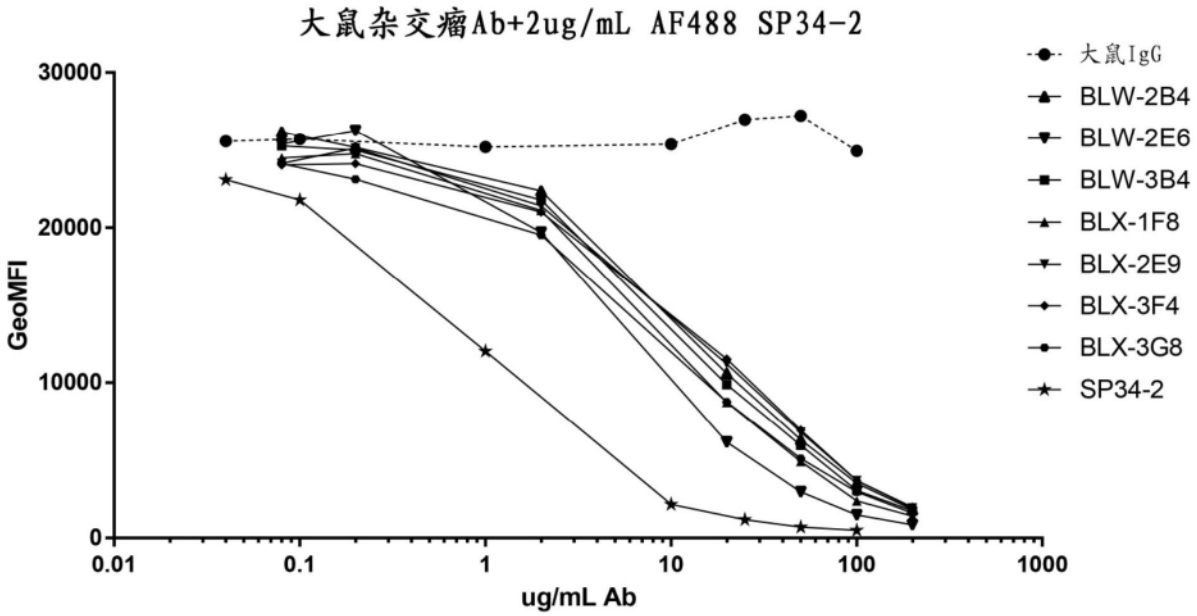

大鼠杂交瘤Ab+2ug/mL AF488 SP34-2
GeoMFI
30000
20000
10000
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
ug/mL Ab
大鼠IgG
BLW-2B4
BLW-2E6
BLW-3B4
BLX-1F8
BLX-2E9
BLX-3F4
BLX-3G8
SP34-2

图4

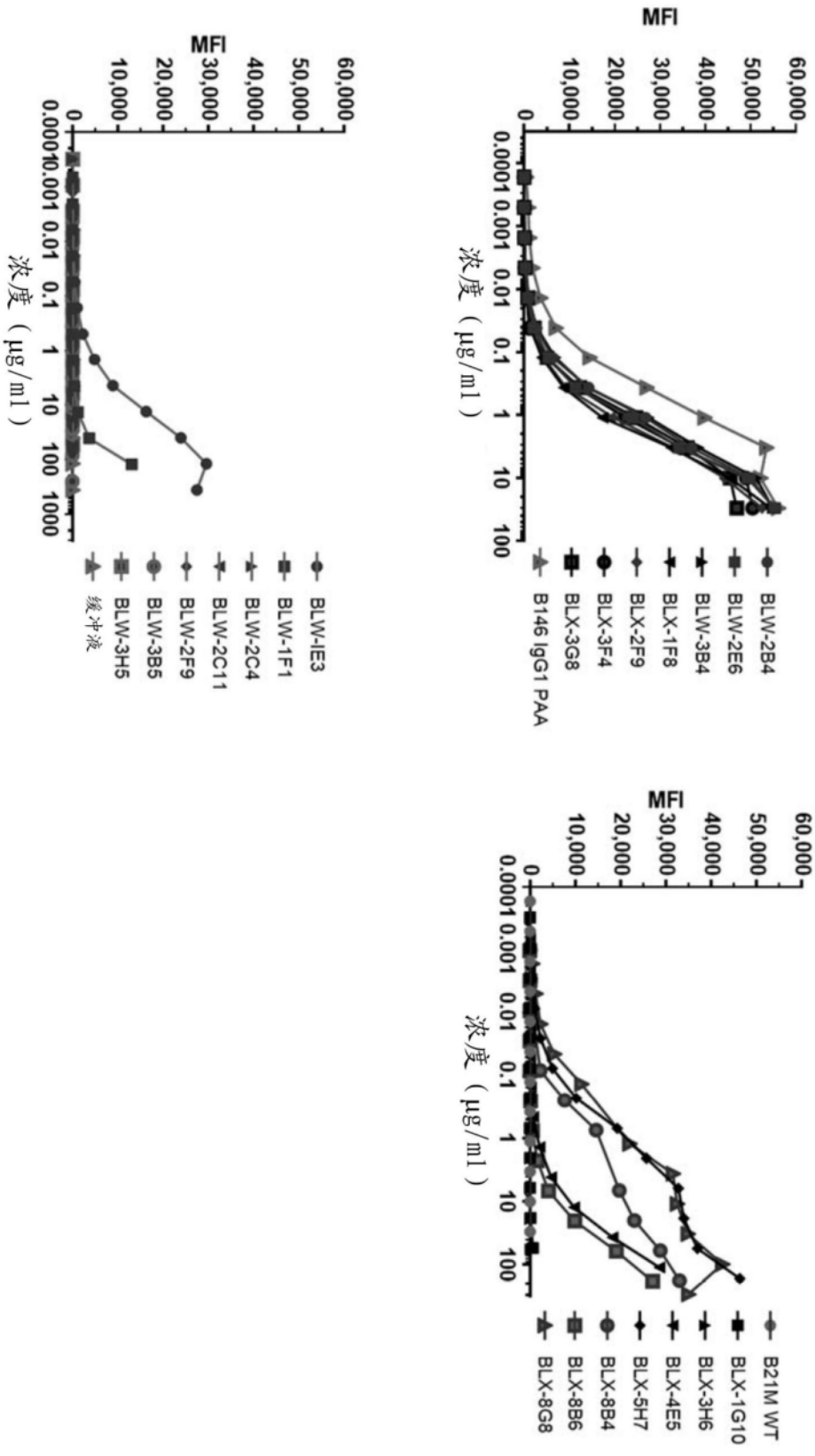

MFI
60,000
50,000
40,000
30,000
20,000
10,000
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100
浓度（μg/ml）
BLW-2B4
BLW-2E6
BLW-3B4
BLX-1F8
BLX-2F9
BLX-3F4
BLX-3G8
B146 IgG1 PAA
MFI
60,000
50,000
40,000
30,000
20,000
10,000
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000
浓度（μg/ml）
BLW-IE3
BLW-1F1
BLW-2C4
BLW-2C11
BLW-2F9
BLW-3B5
BLW-3H5
缓冲液
MFI
60,000
50,000
40,000
30,000
20,000
10,000
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100
浓度（μg/ml）
B21M WT
BLX-1G10
BLX-3H6
BLX-4E5
BLX-5H7
BLX-8B4
BLX-8B6
BLX-8G8

图5

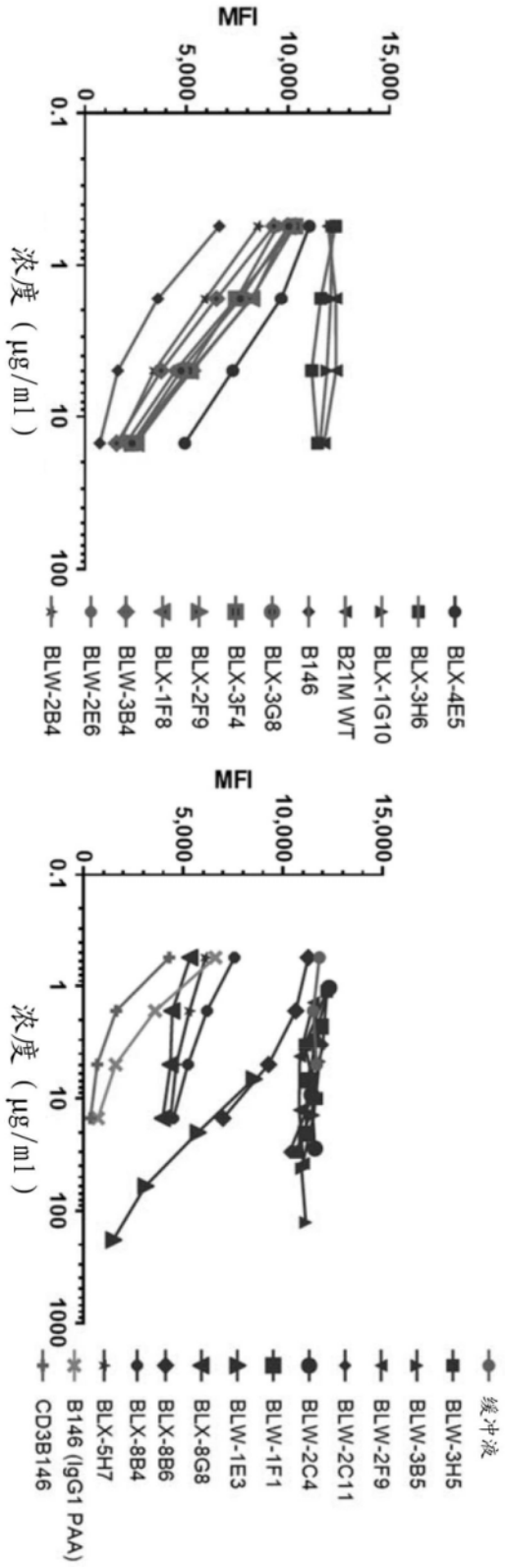

MFI
15,000
10,000
5,000
0
0.1
1
10
100
浓度（μg/ml）
BLX-4E5
BLX-3H6
BLX-1G10
B21M WT
B146
BLX-3G8
BLX-3F4
BLX-2F9
BLX-1F8
BLW-3B4
BLW-2E6
BLW-2B4
MFI
15,000
10,000
5,000
0
0.1
1
10
100
1000
浓度（μg/ml）
缓冲液
BLW-3H5
BLW-3B5
BLW-2F9
BLW-2C11
BLW-2C4
BLW-1F1
BLW-1E3
BLX-8G8
BLX-8B6
BLX-8B4
BLX-5H7
B146 (IgG1 PAA)
CD3B146

图6

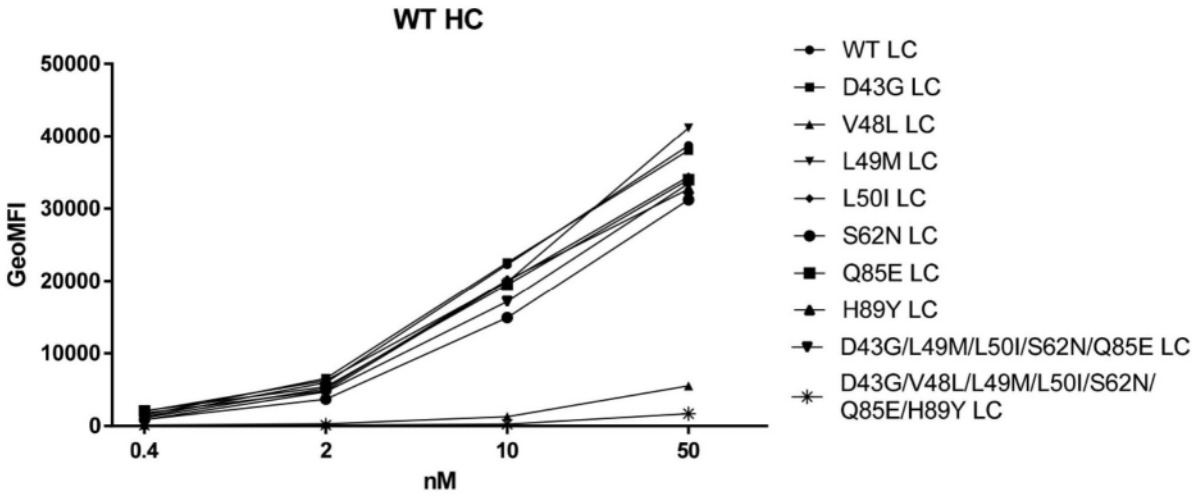

WT HC
GeoMFI
50000
40000
30000
20000
10000
0
0.4
2
10
50
nM
WT LC
D43G LC
V48L LC
L49M LC
L50I LC
S62N LC
Q85E LC
H89Y LC
D43G/L49M/L50I/S62N/Q85E LC
D43G/V48L/L49M/L50I/S62N/
Q85E/H89Y LC

图7

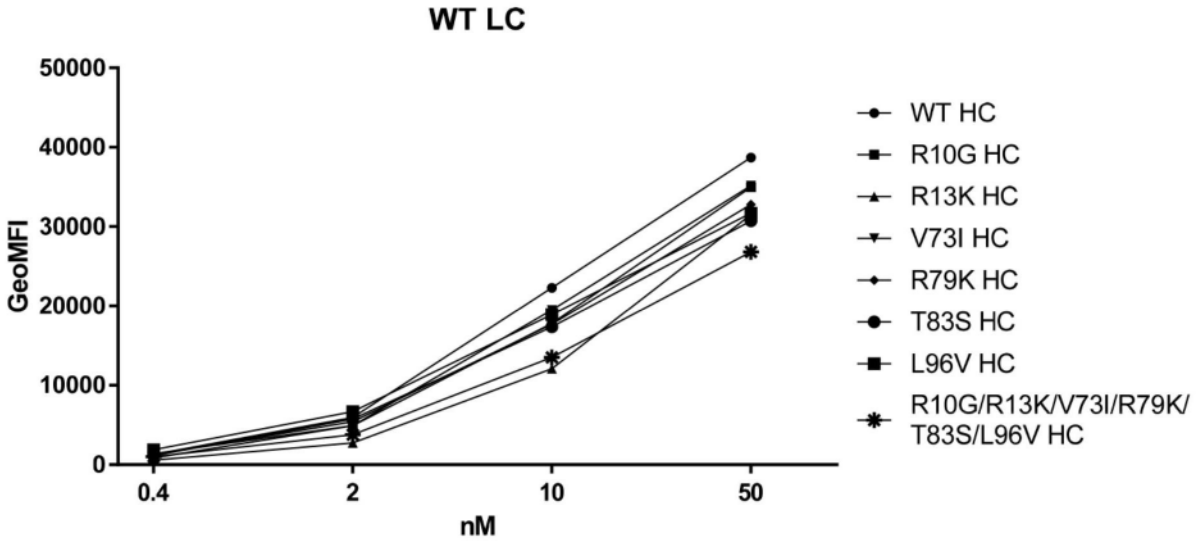

WT LC
GeoMFI
50000
40000
30000
20000
10000
0
0.4
2
10
50
nM
WT HC
R10G HC
R13K HC
V73I HC
R79K HC
T83S HC
L96V HC
R10G/R13K/V73I/R79K/
T83S/L96V HC

图8

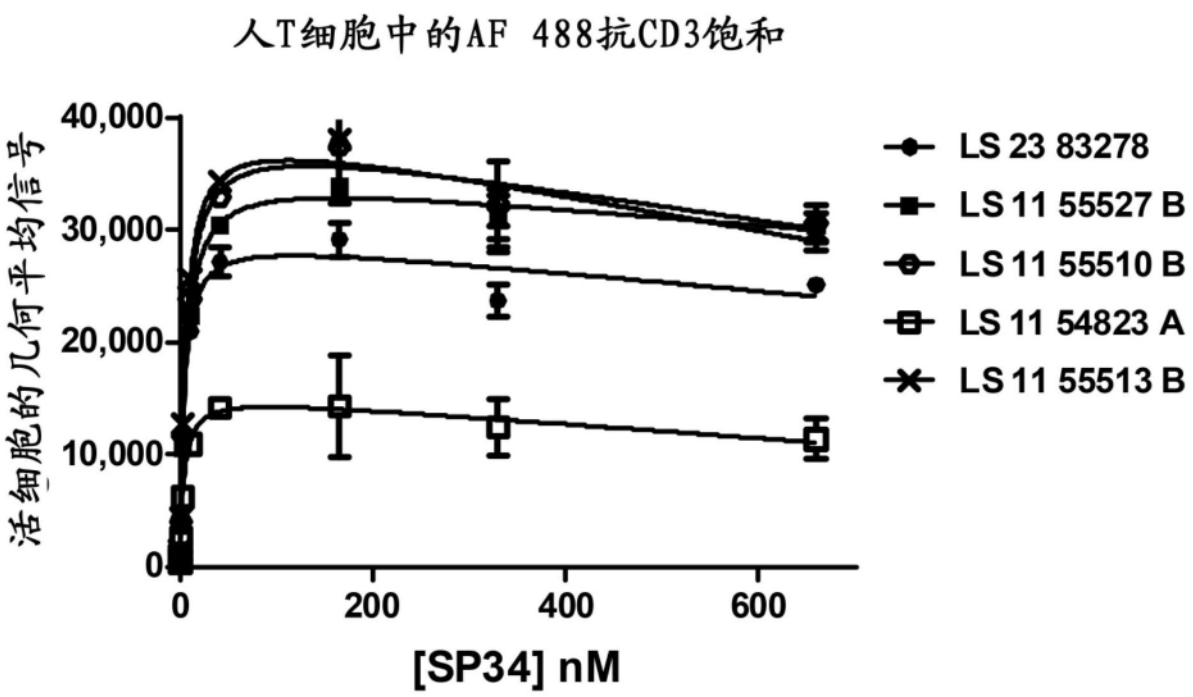

人T细胞中的AF 488抗CD3饱和
活细胞的几何平均信号
40,000
30,000
20,000
10,000
0
0
200
400
600
[SP34] nM
LS 23 83278
LS 11 55527 B
LS 11 55510 B
LS 11 54823 A
LS 11 55513 B

图9

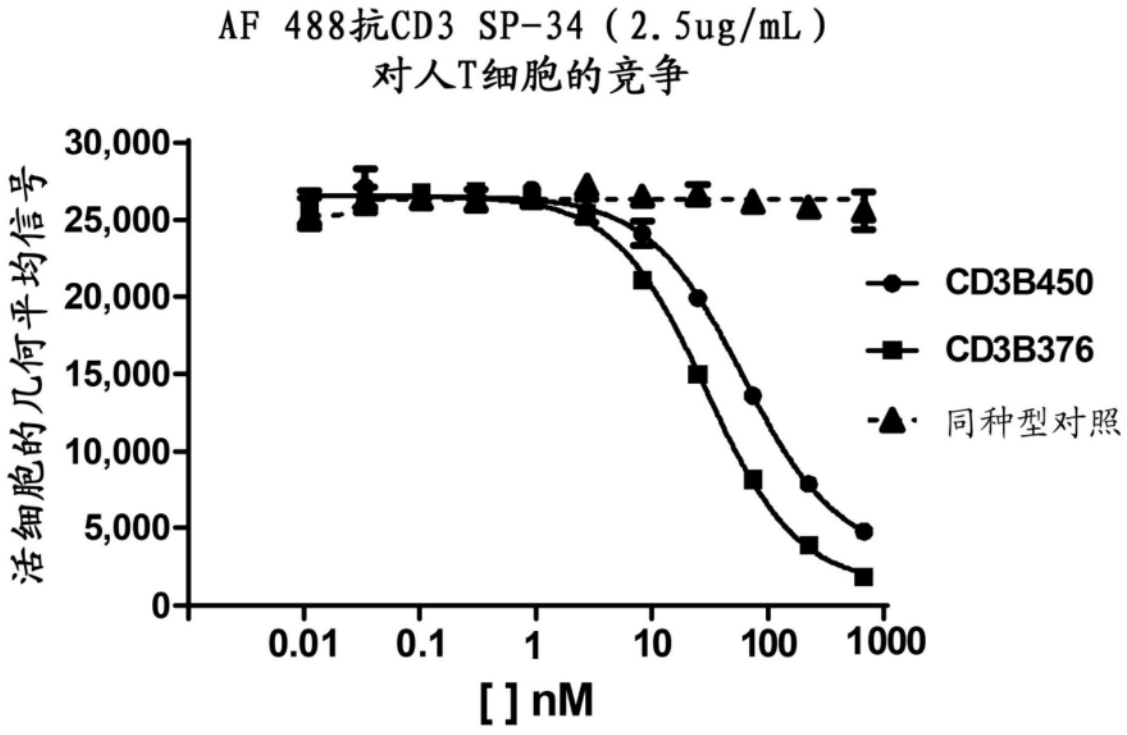

AF 488抗CD3 SP-34（2.5ug/mL）
对人T细胞的竞争
活细胞的几何平均信号
30,000
25,000
20,000
15,000
10,000
5,000
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
[ ] nM
CD3B450
CD3B376
同种型对照

图10

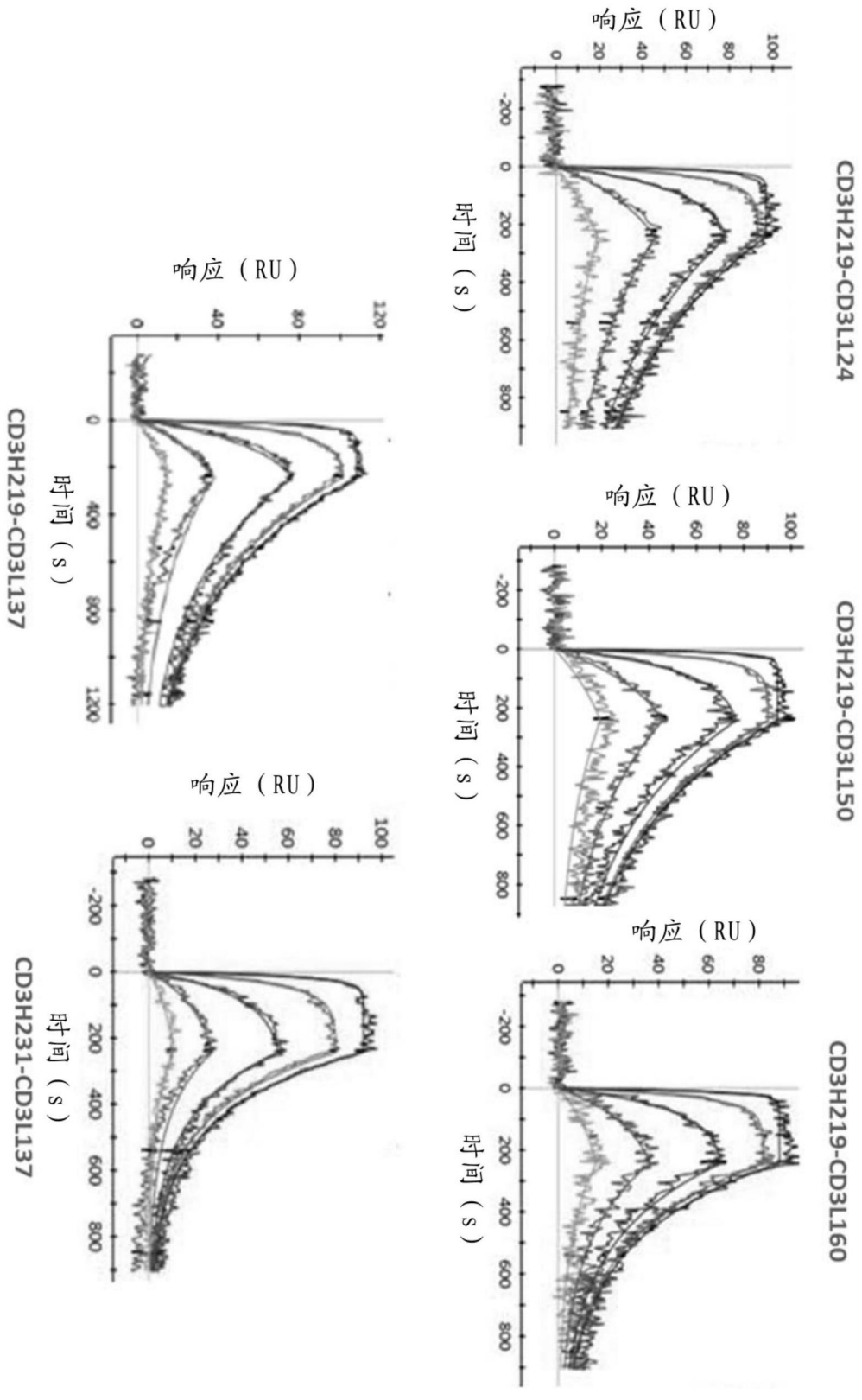

响应（RU）
时间（s）
CD3H219-CD3L124
CD3H219-CD3L150
CD3H219-CD3L160
CD3H219-CD3L137
CD3H231-CD3L137

图11

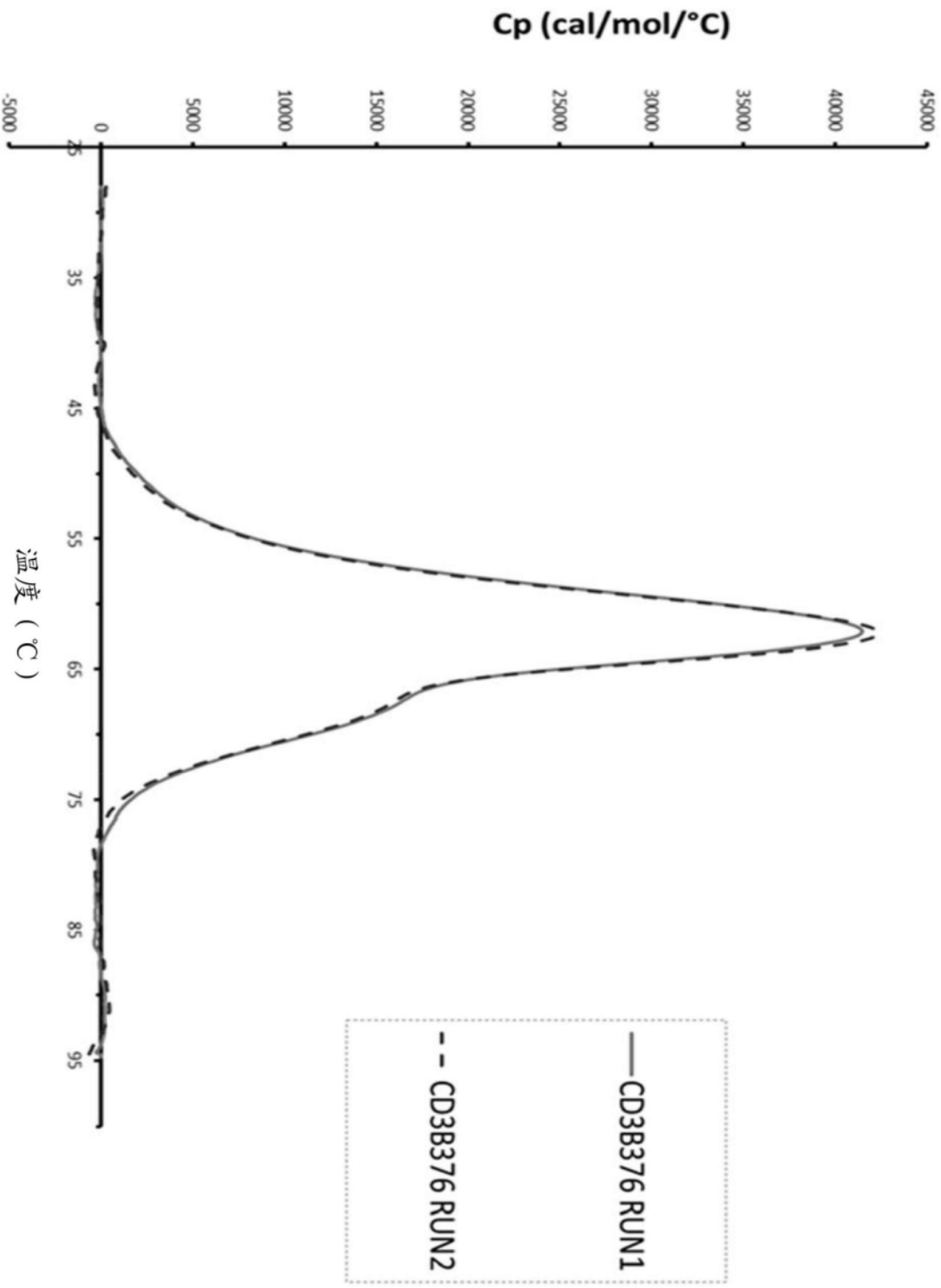

Cp (cal/mol/°C)
-5000
0
5000
10000
15000
20000
25000
30000
35000
40000
45000
25
35
45
55
65
75
85
95
温度（℃）
CD3B376 RUN1
CD3B376 RUN2

图12A

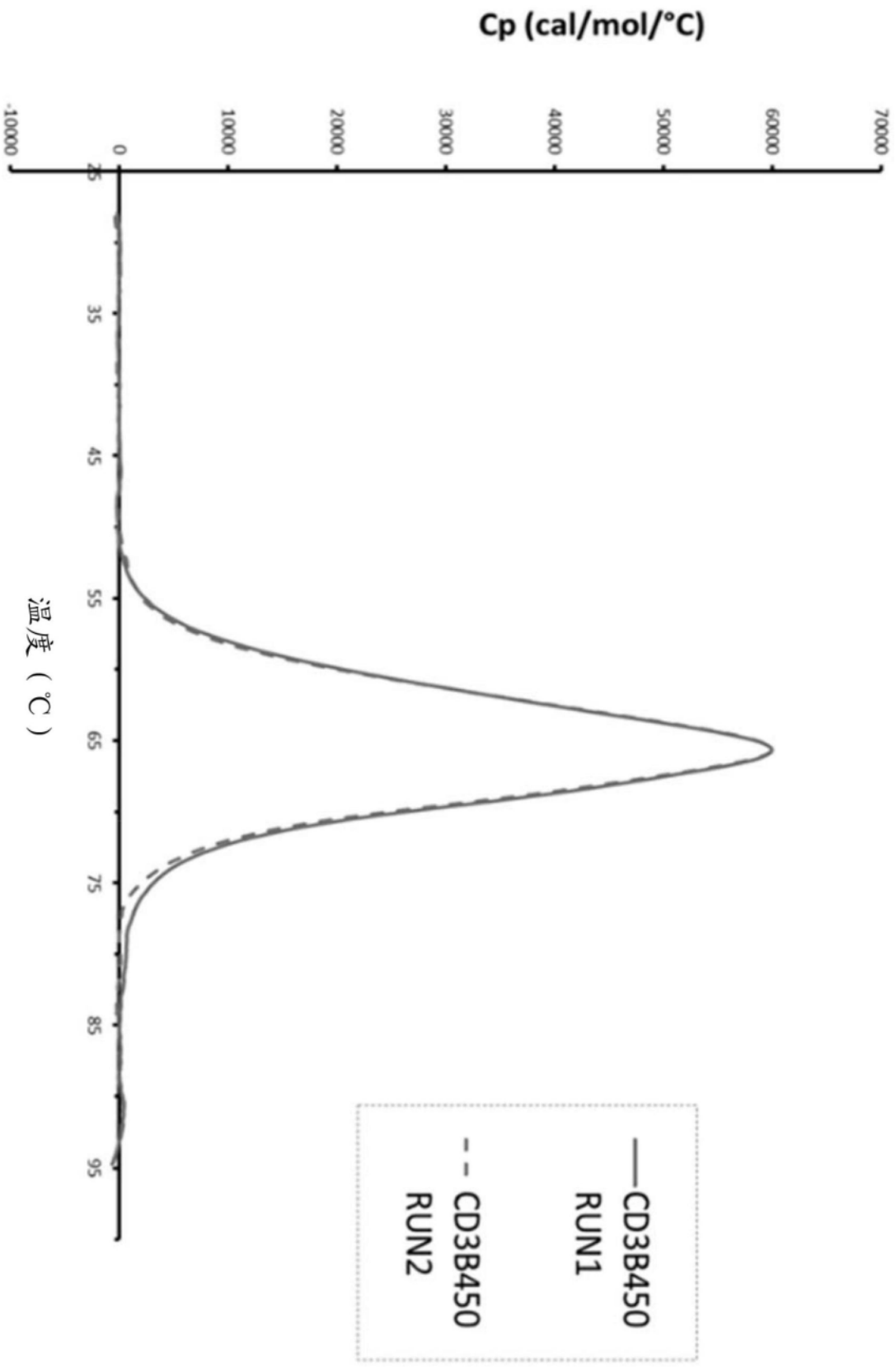

Cp (cal/mol/°C)
-10000
0
10000
20000
30000
40000
50000
60000
70000
25
35
45
55
65
75
85
95
温度（℃）
CD3B450 RUN1
CD3B450 RUN2

图12B

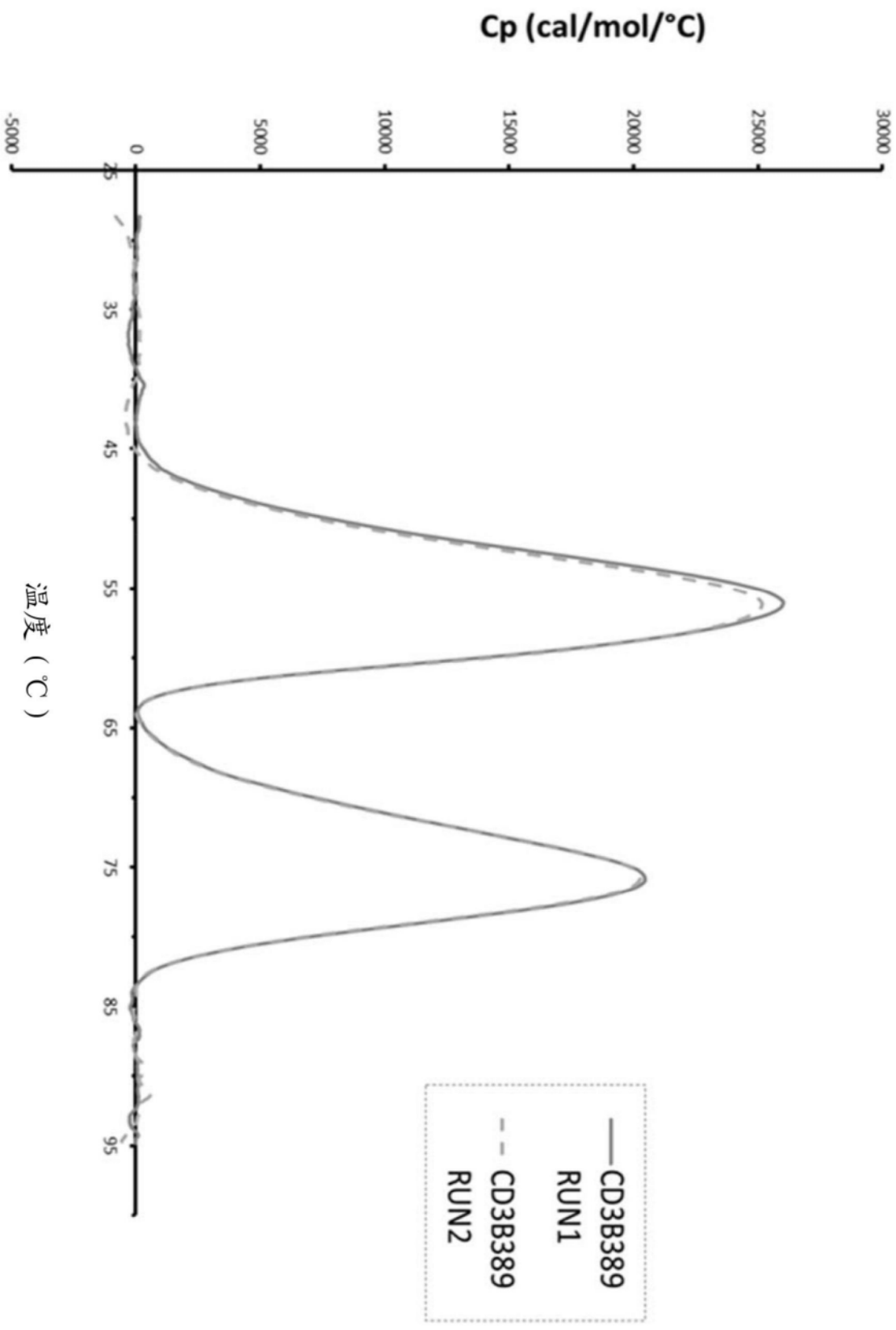

Cp (cal/mol/°C)
-5000
0
5000
10000
15000
20000
25000
30000
25
35
45
55
65
75
85
95
温度（℃）
CD3B389 RUN1
CD3B389 RUN2

图12C

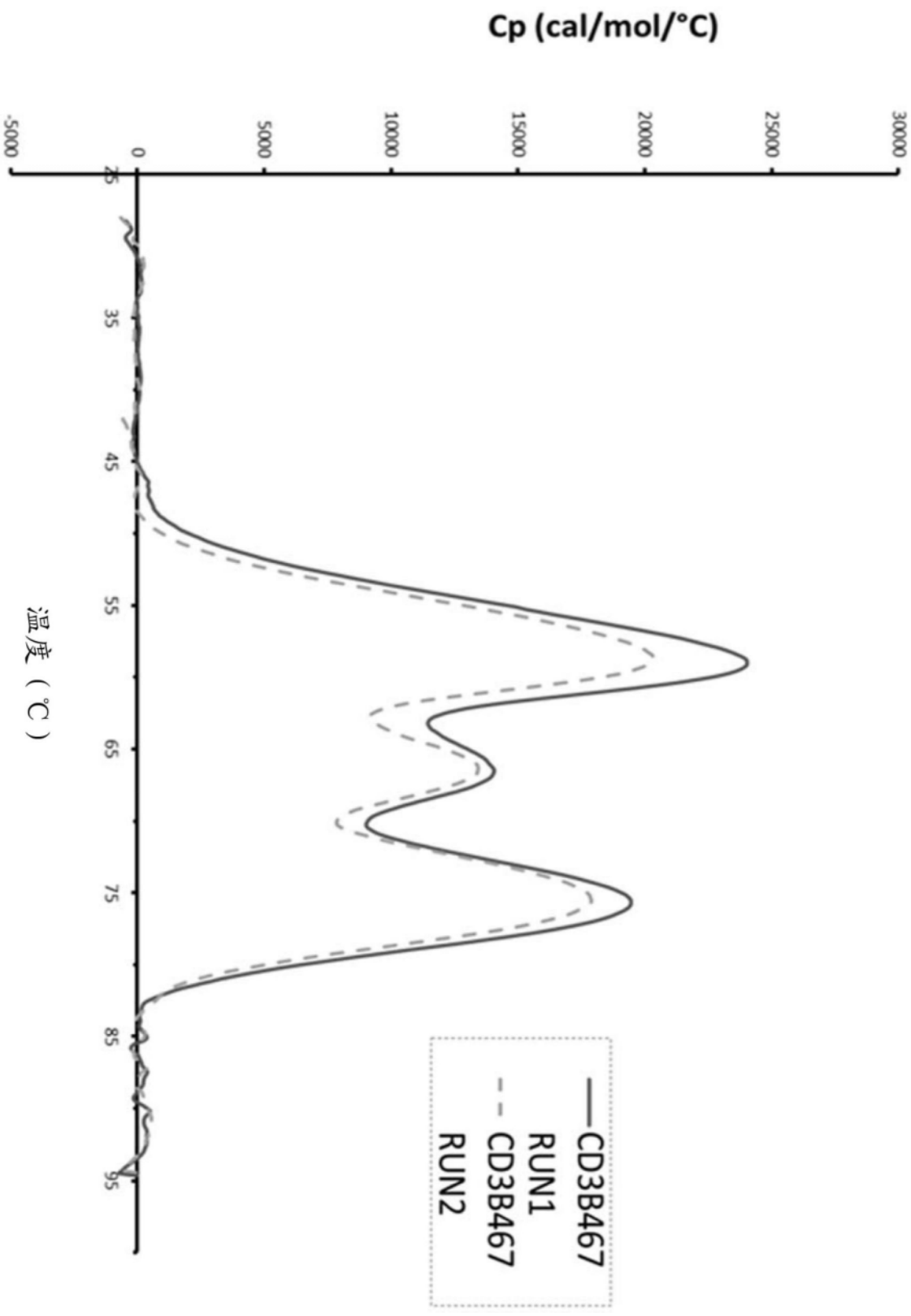

Cp (cal/mol/°C)
-5000
0
5000
10000
15000
20000
25000
30000
25
35
45
55
65
75
85
95
温度（℃）
CD3B467
RUN1
CD3B467
RUN2

图12D

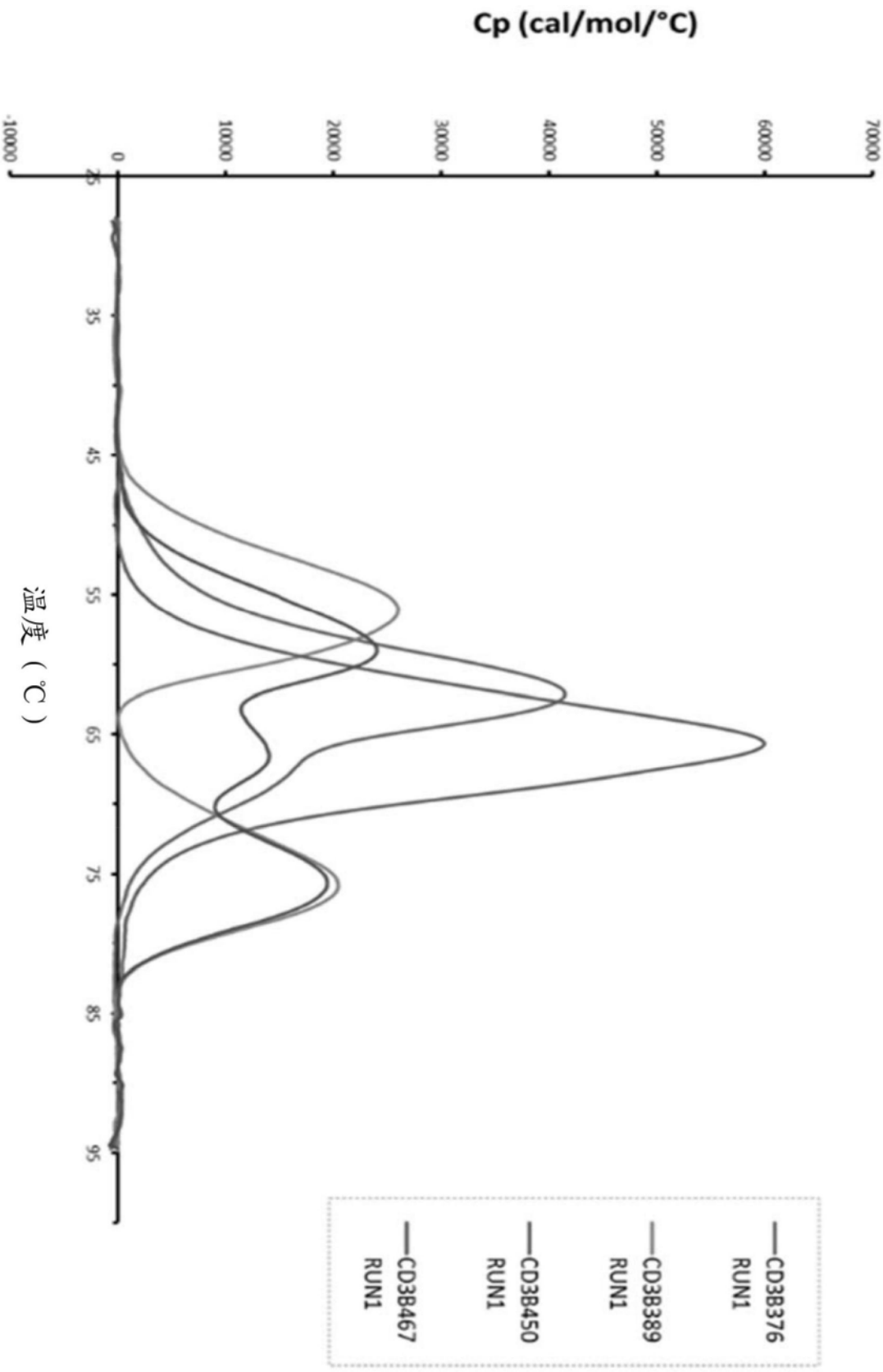

Cp (cal/mol/°C)
-10000
0
10000
20000
30000
40000
50000
60000
70000
25
35
45
55
65
75
85
95
温度（℃）
CD3B376 RUN1
CD3B389 RUN1
CD3B450 RUN1
CD3B467 RUN1

图12E

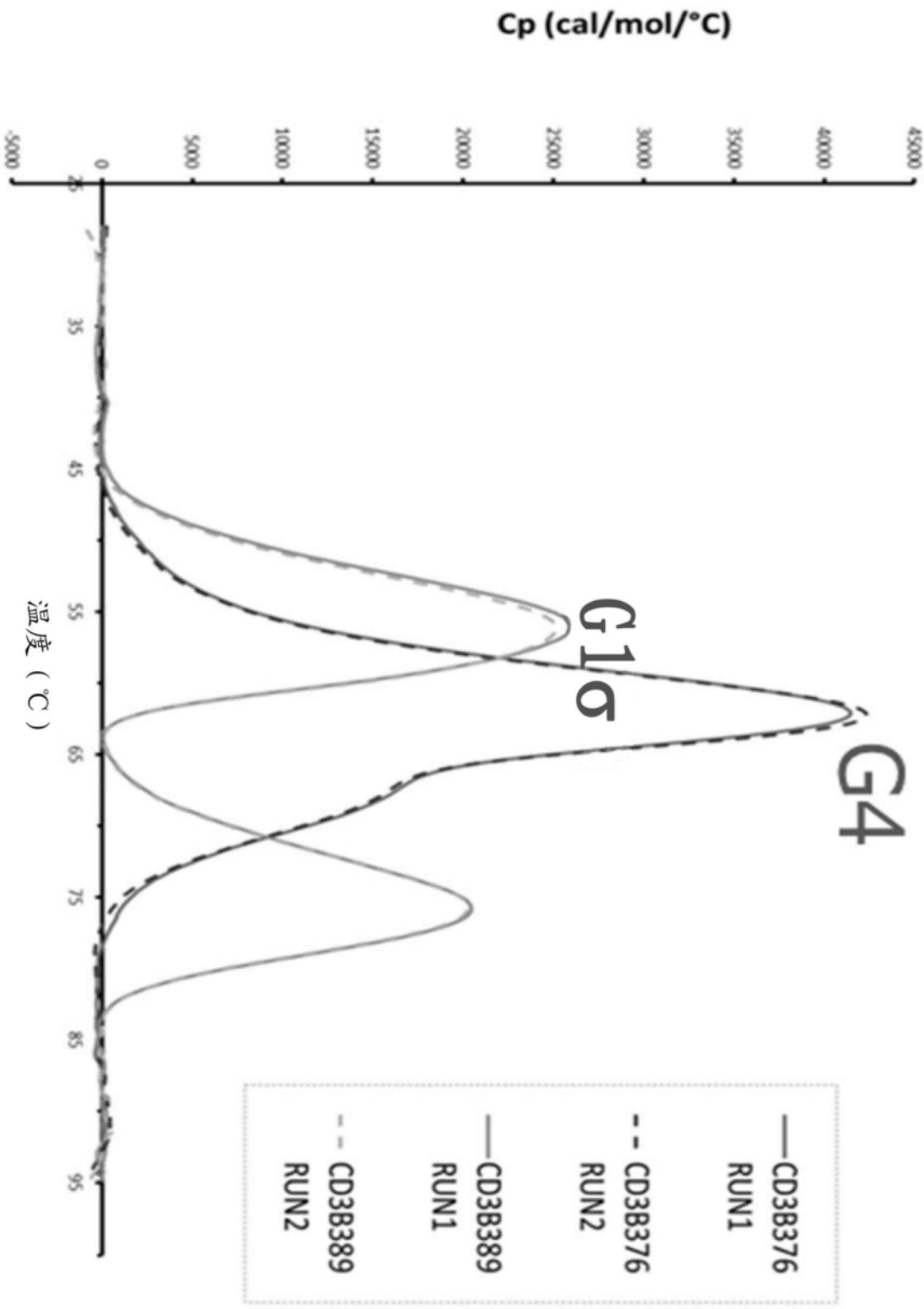

Cp (cal/mol/°C)
-5000
0
5000
10000
15000
20000
25000
30000
35000
40000
45000
25
35
45
55
65
75
85
95
温度（℃）
G1
G4
CD3B376 RUN1
CD3B376 RUN2
CD3B389 RUN1
CD3B389 RUN2

图13A

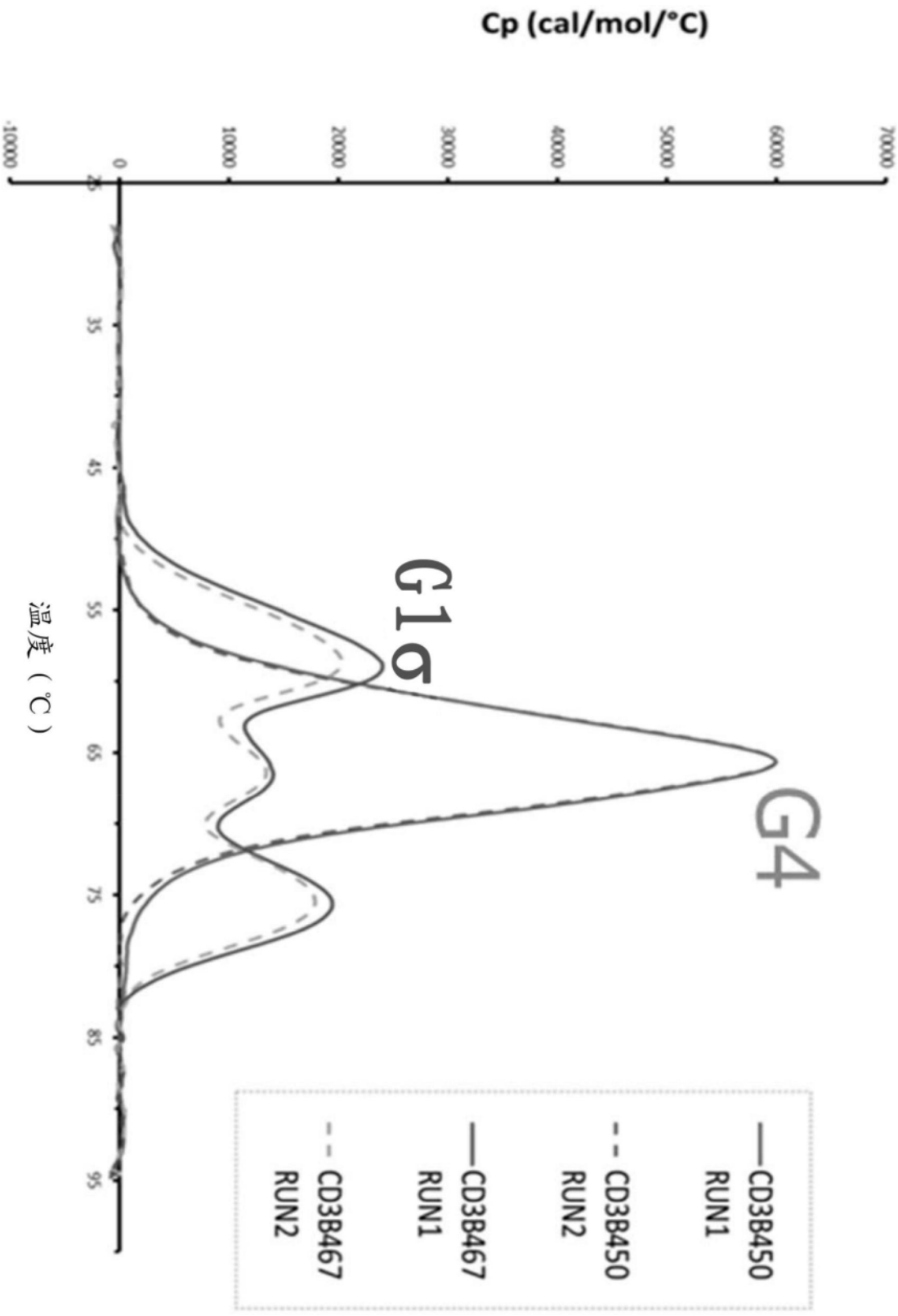

Cp (cal/mol/°C)
-10000
0
10000
20000
30000
40000
50000
60000
70000
25
35
45
55
65
75
85
95
温度（℃）
G1
G4
CD3B450 RUN1
CD3B450 RUN2
CD3B467 RUN1
CD3B467 RUN2

图13B

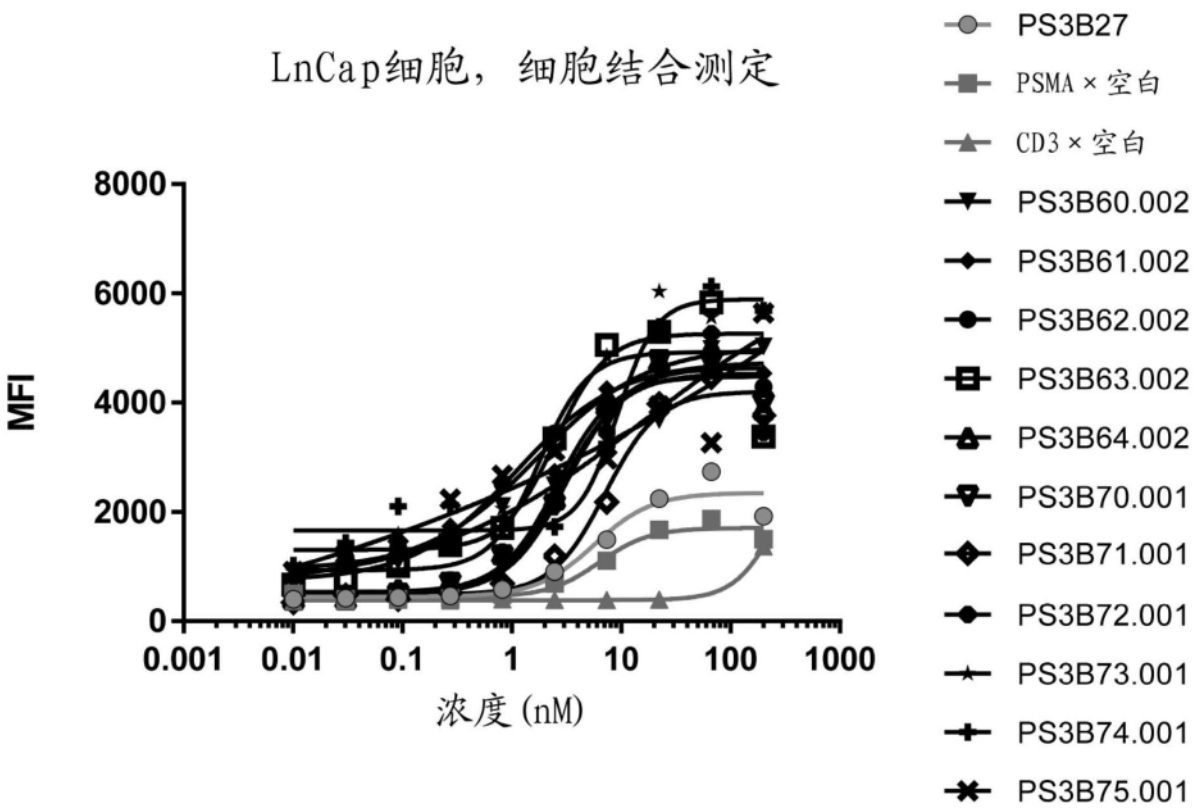

LnCap细胞，细胞结合测定
MFI
8000
6000
4000
2000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
浓度(nM)
PS3B27
PSMA×空白
CD3×空白
PS3B60.002
PS3B61.002
PS3B62.002
PS3B63.002
PS3B64.002
PS3B70.001
PS3B71.001
PS3B72.001
PS3B73.001
PS3B74.001
PS3B75.001

图14

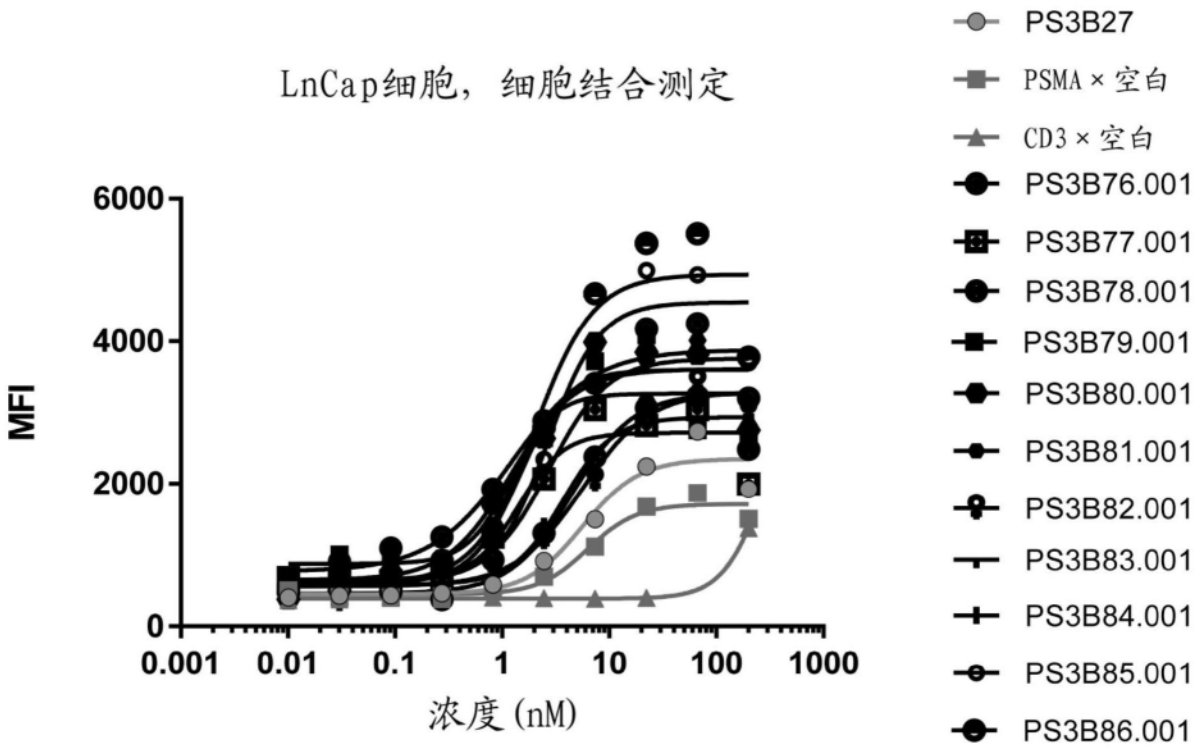

LnCap细胞，细胞结合测定
MFI
6000
4000
2000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
浓度(nM)
PS3B27
PSMA×空白
CD3×空白
PS3B76.001
PS3B77.001
PS3B78.001
PS3B79.001
PS3B80.001
PS3B81.001
PS3B82.001
PS3B83.001
PS3B84.001
PS3B85.001
PS3B86.001

图15

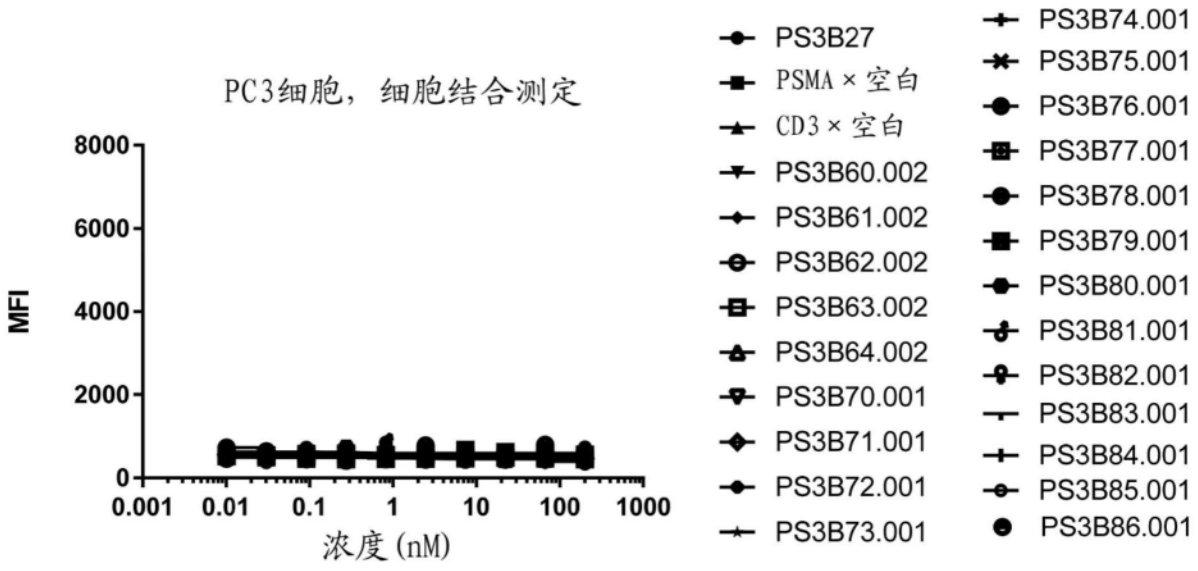

PC3细胞，细胞结合测定
MFI
8000
6000
4000
2000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
浓度(nM)
PS3B27
PSMA × 空白
CD3 × 空白
PS3B60.002
PS3B61.002
PS3B62.002
PS3B63.002
PS3B64.002
PS3B70.001
PS3B71.001
PS3B72.001
PS3B73.001
PS3B74.001
PS3B75.001
PS3B76.001
PS3B77.001
PS3B78.001
PS3B79.001
PS3B80.001
PS3B81.001
PS3B82.001
PS3B83.001
PS3B84.001
PS3B85.001
PS3B86.001

图16

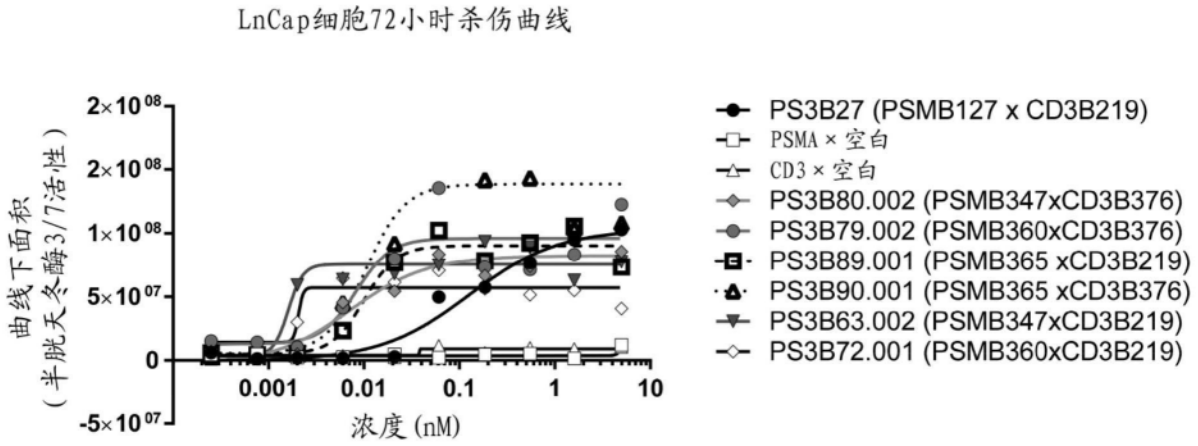

LnCap细胞72小时杀伤曲线
曲线下面积
(半胱天冬酶3/7活性)
2×10 08
2×10 08
1×10 08
5×10 07
0
-5×10 07
0.001
0.01
0.1
1
10
浓度(nM)
PS3B27 (PSMB127 x CD3B219)
PSMA × 空白
CD3 × 空白
PS3B80.002 (PSMB347xCD3B376)
PS3B79.002 (PSMB360xCD3B376)
PS3B89.001 (PSMB365 xCD3B219)
PS3B90.001 (PSMB365 xCD3B376)
PS3B63.002 (PSMB347xCD3B219)
PS3B72.001 (PSMB360xCD3B219)

图17

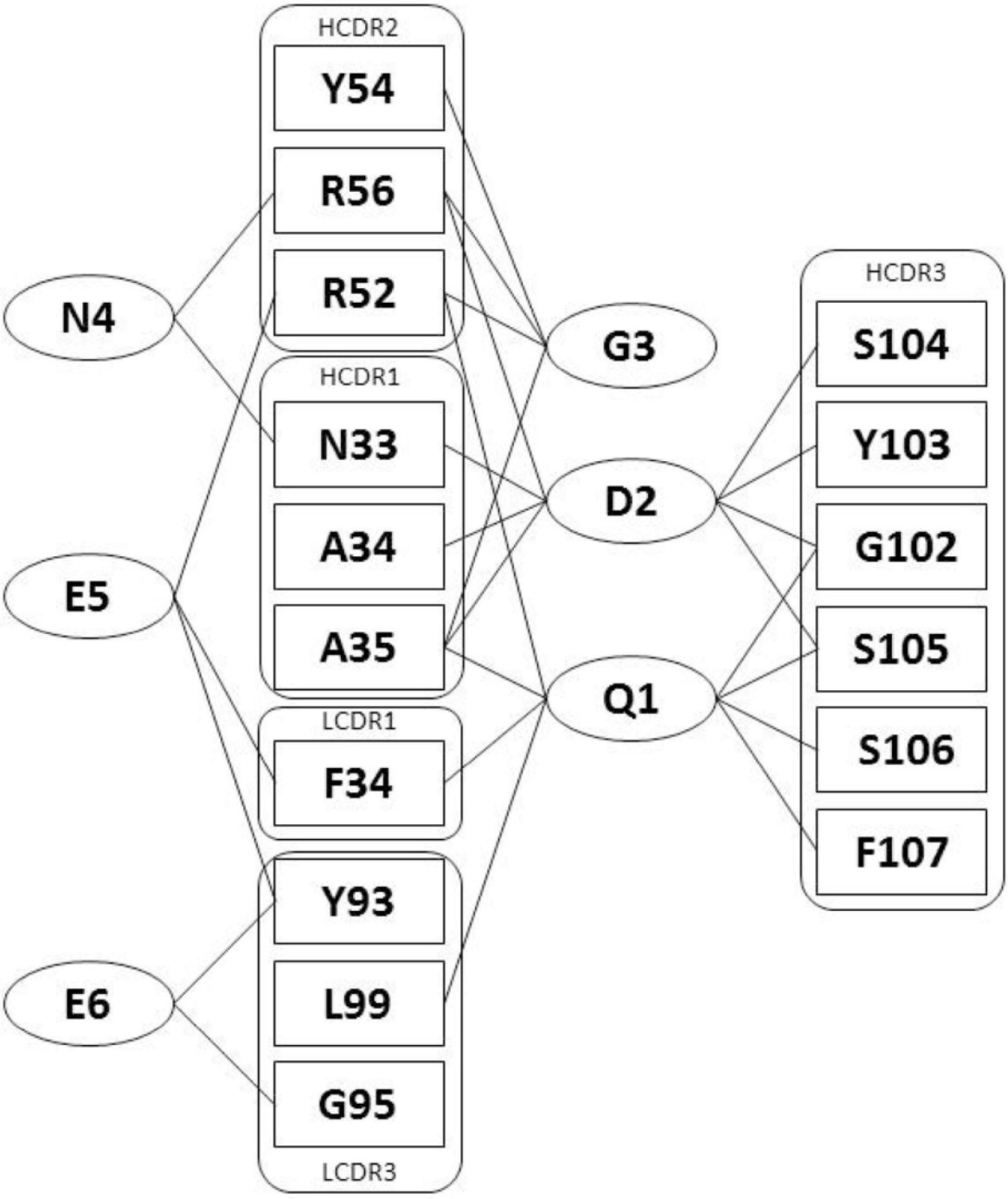

HCDR2
Y54
R56
R52
HCDR1
N33
A34
A35
LCDR1
F34
Y93
L99
G95
LCDR3
N4
E5
E6
G3
D2
Q1
HCDR3
S104
Y103
G102
S105
S106
F107

图18

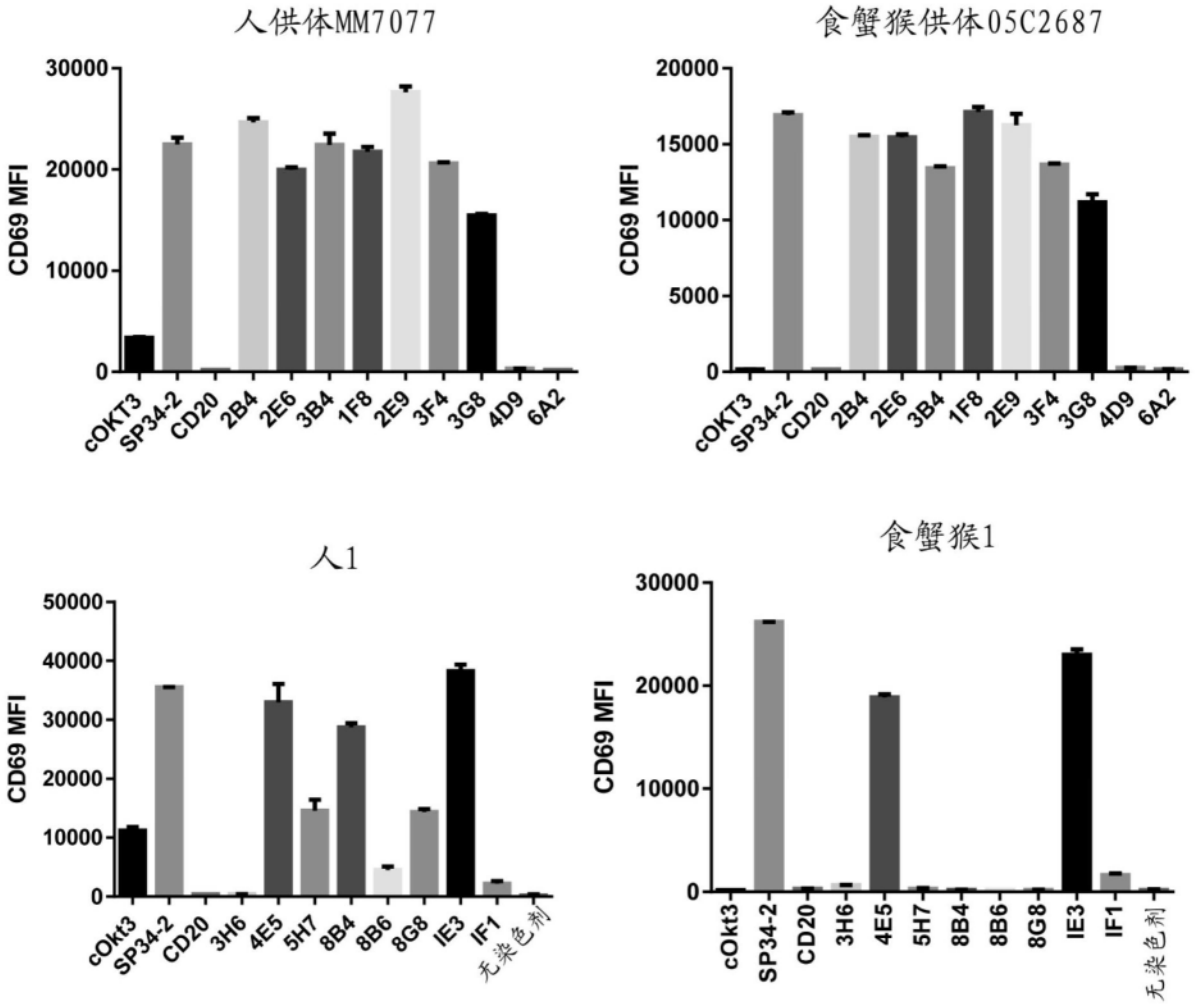

人供体MM7077
CD69 MFI
30000
20000
10000
0
cOKT3
SP34-2
CD20
2B4
2E6
3B4
1F8
2E9
3F4
3G8
4D9
6A2
食蟹猴供体05C2687
CD69 MFI
20000
15000
10000
5000
0
cOKT3
SP34-2
CD20
2B4
2E6
3B4
1F8
2E9
3F4
3G8
4D9
6A2
人1
CD69 MFI
50000
40000
30000
20000
10000
0
cOkt3
SP34-2
CD20
3H6
4E5
5H7
8B4
8B6
8G8
IE3
IF1
无染色剂
食蟹猴1
CD69 MFI
30000
20000
10000
0
cOkt3
SP34-2
CD20
3H6
4E5
5H7
8B4
8B6
8G8
IE3
IF1
无染色剂

图19

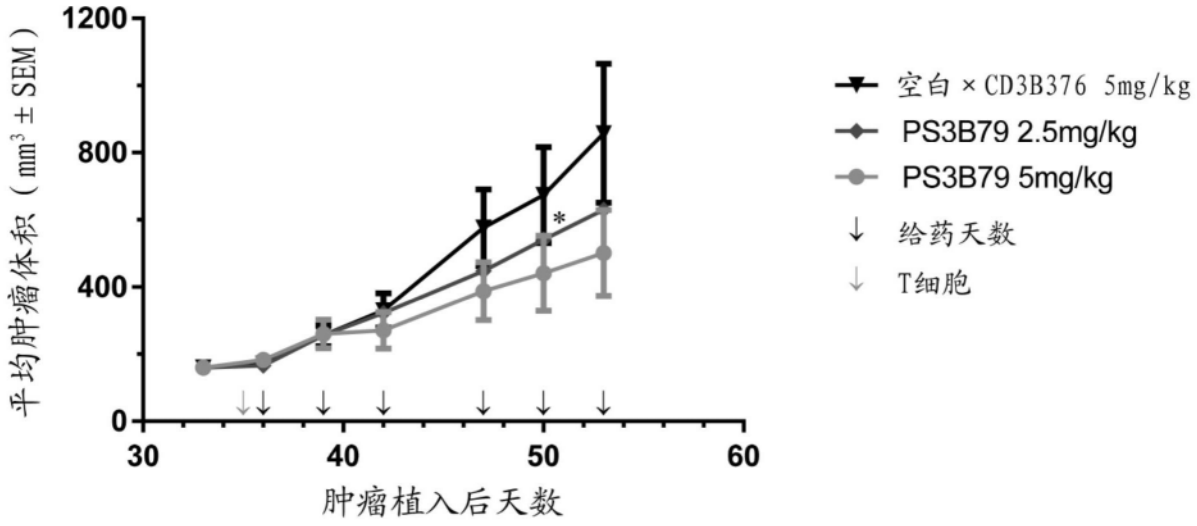

平均肿瘤体积（mm³ ± SEM）
1200
800
400
0
30
40
50
60
肿瘤植入后天数
*
空白 × CD3B376 5mg/kg
PS3B79 2.5mg/kg
PS3B79 5mg/kg
给药天数
T细胞

图20

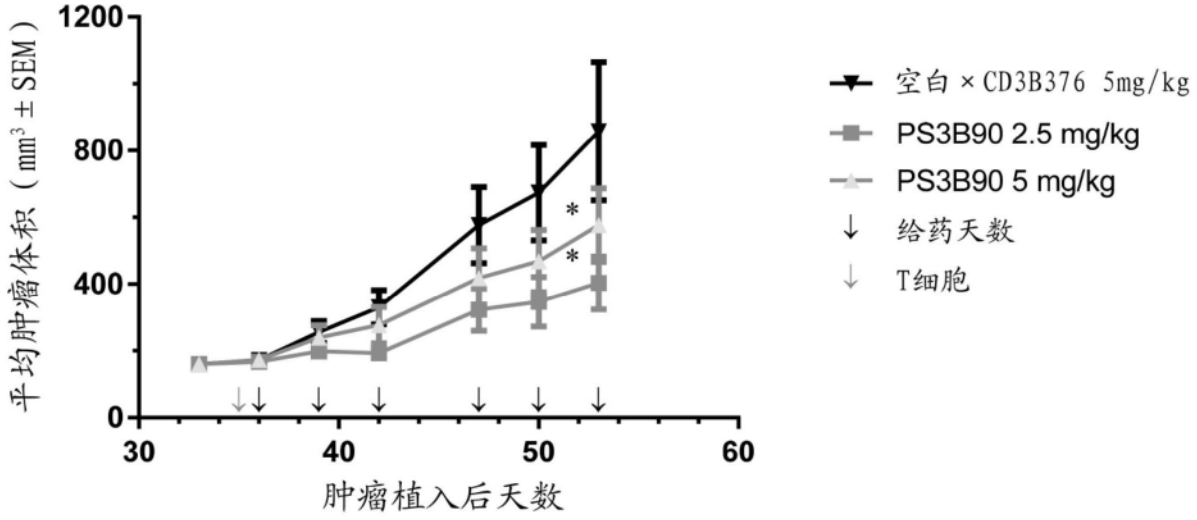

平均肿瘤体积（mm³ ± SEM）
1200
800
400
0
30
40
50
60
肿瘤植入后天数
空白 × CD3B376 5mg/kg
PS3B90 2.5 mg/kg
PS3B90 5 mg/kg
给药天数
T细胞
*
*

图21

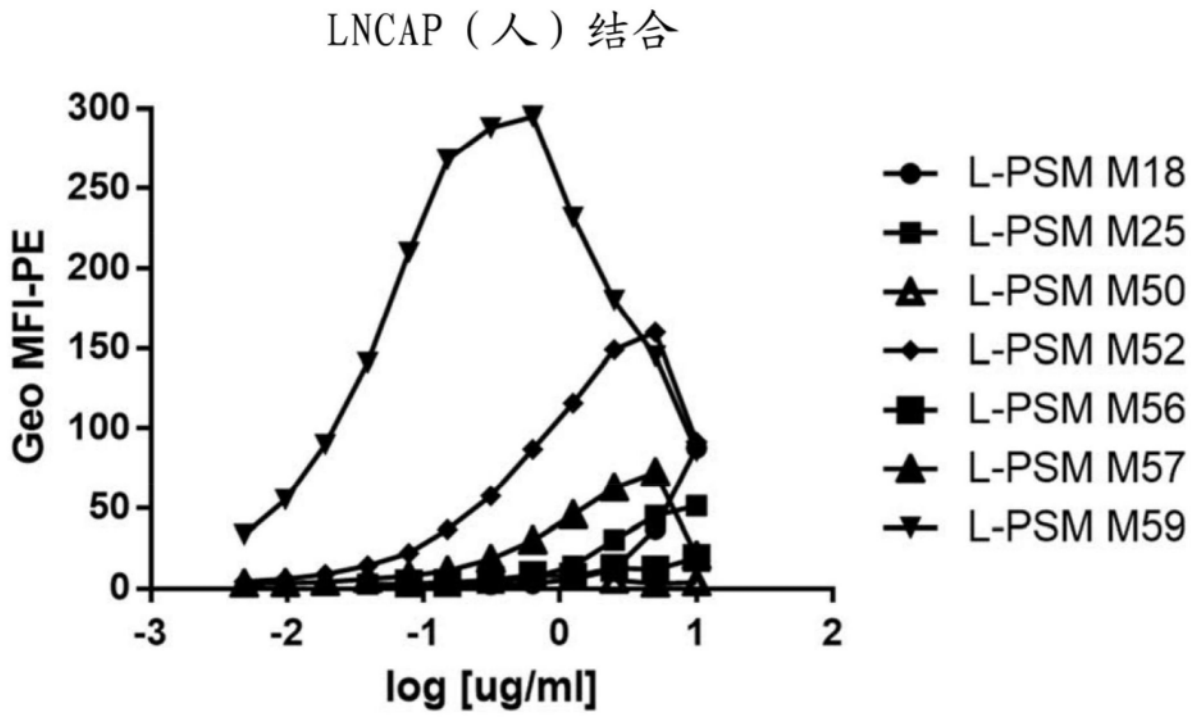

LNCAP（人）结合
Geo MFI-PE
300
250
200
150
100
50
0
-3
-2
-1
0
1
2
log [ug/ml]
L-PSM M18
L-PSM M25
L-PSM M50
L-PSM M52
L-PSM M56
L-PSM M57
L-PSM M59

图22A

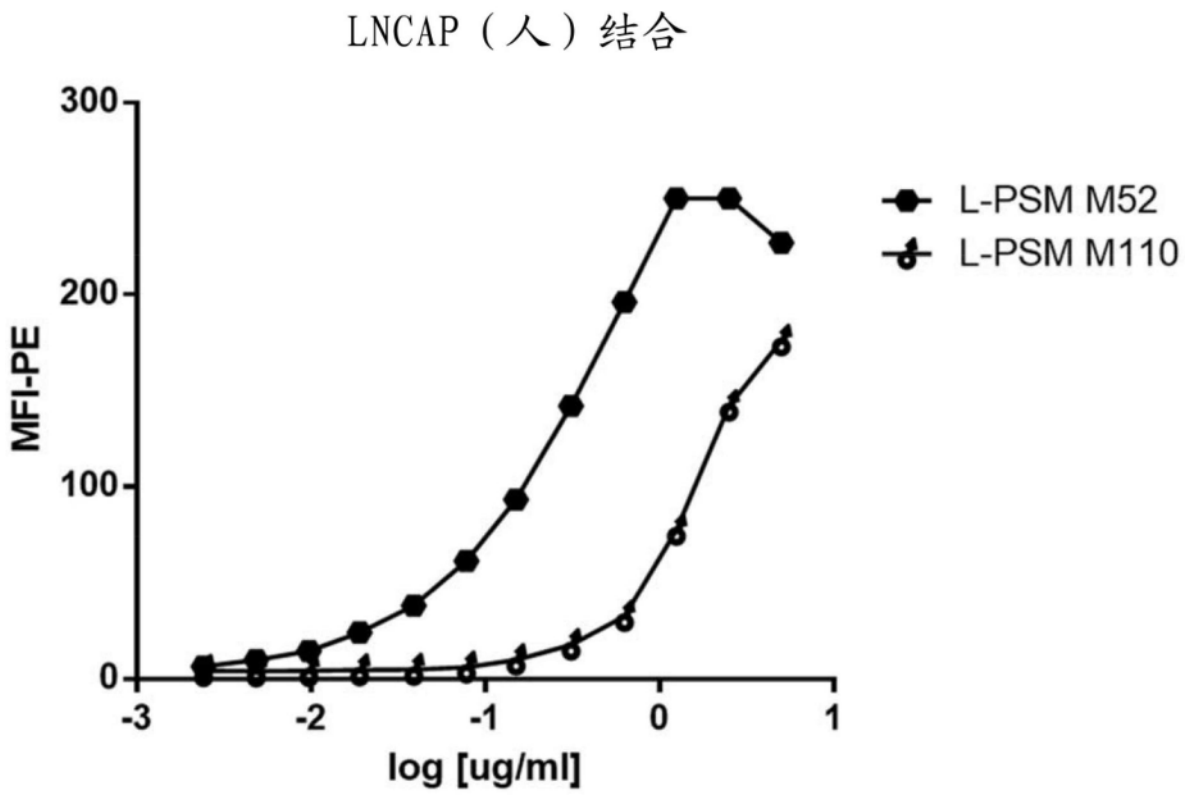

LNCAP（人）结合
300
200
100
0
MFI-PE
-3
-2
-1
0
1
log [ug/ml]
L-PSM M52
L-PSM M110

图22B

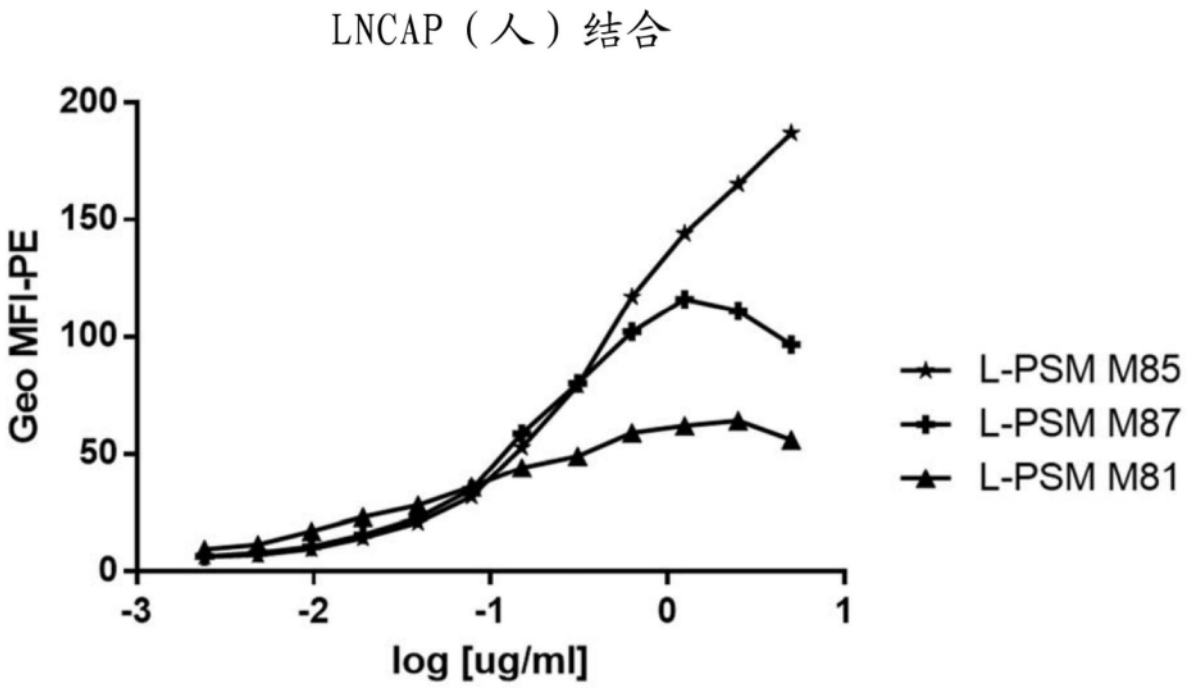

LNCAP（人）结合
200
150
100
50
0
Geo MFI-PE
-3
-2
-1
0
1
log [ug/ml]
L-PSM M85
L-PSM M87
L-PSM M81

图22C

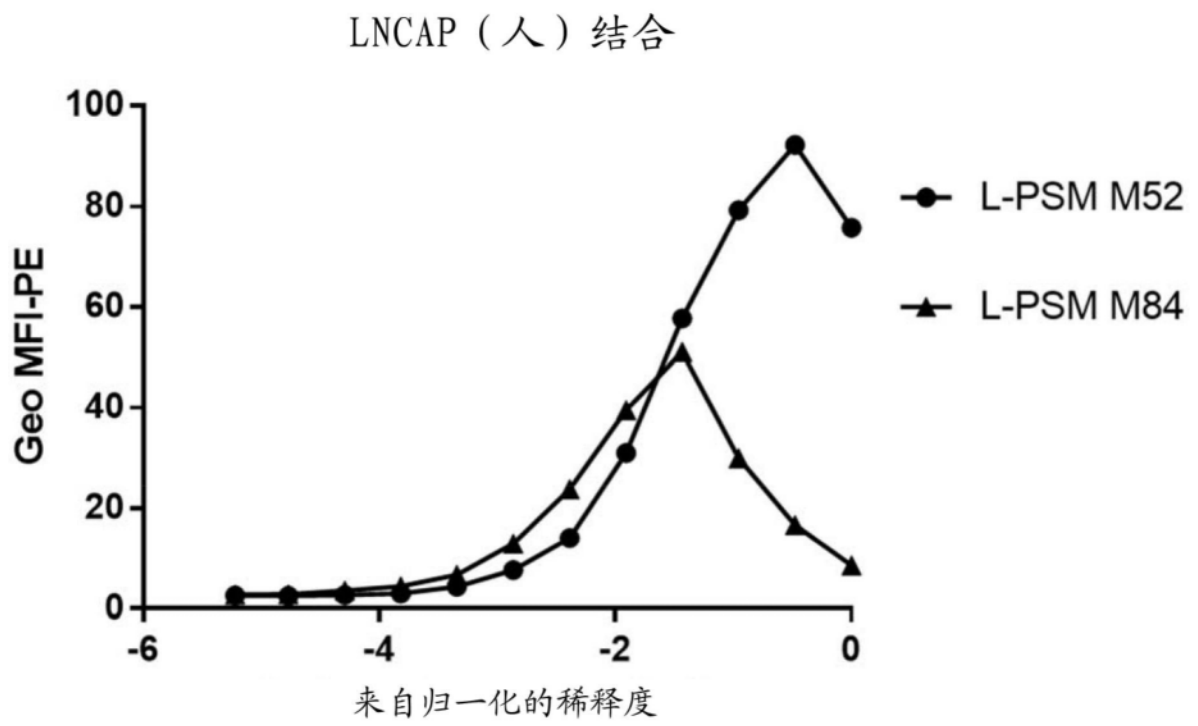

LNCAP（人）结合
Geo MFI-PE
100
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
来自归一化的稀释度
L-PSM M52
L-PSM M84

图22D

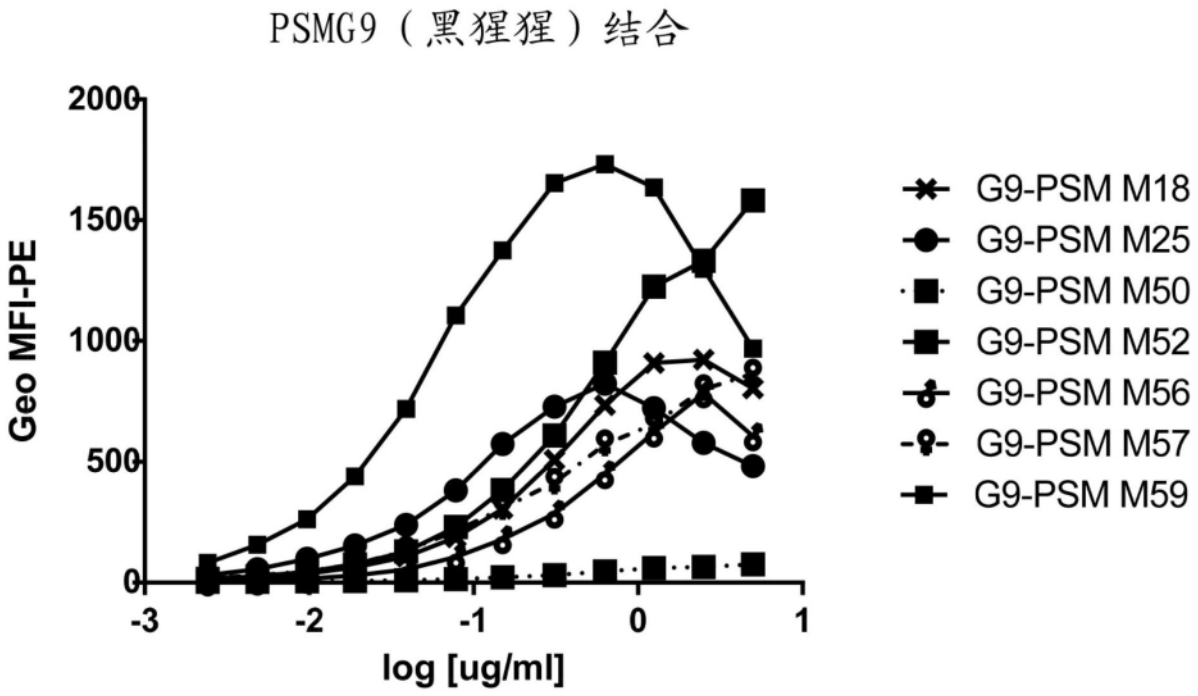

PSMG9（黑猩猩）结合
Geo MFI-PE
2000
1500
1000
500
0
-3
-2
-1
0
1
log [ug/ml]
G9-PSM M18
G9-PSM M25
G9-PSM M50
G9-PSM M52
G9-PSM M56
G9-PSM M57
G9-PSM M59

图23A

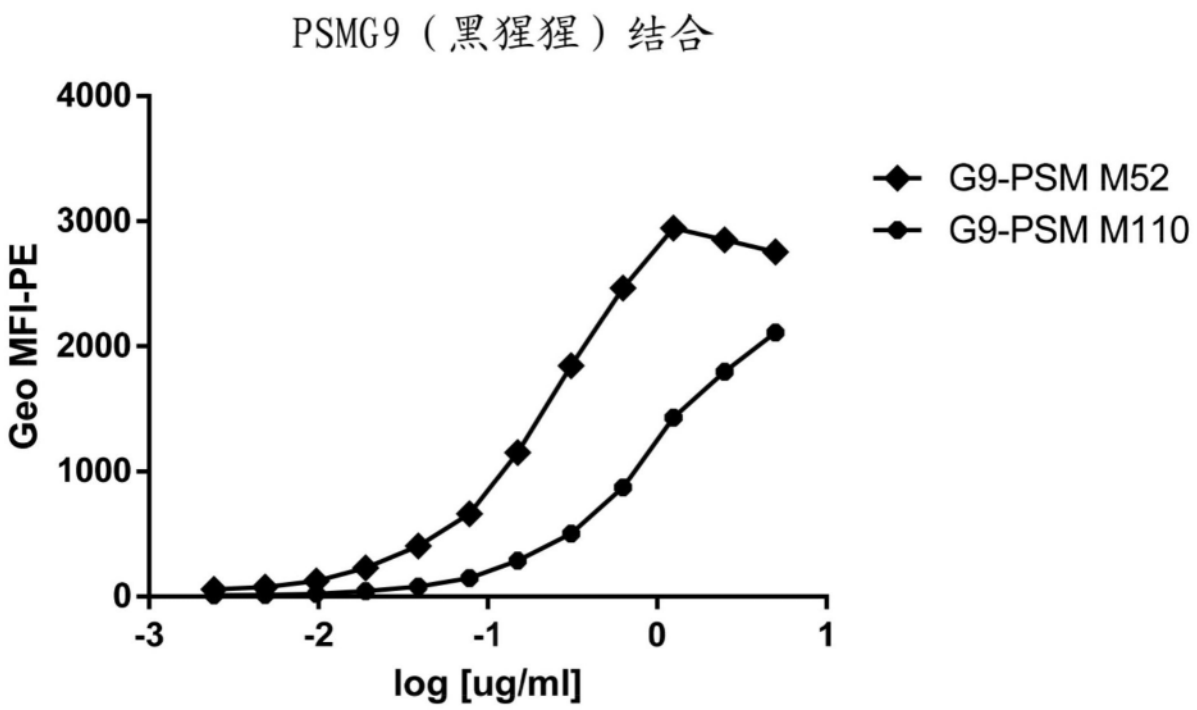

PSMG9（黑猩猩）结合
4000
3000
2000
1000
0
Geo MFI-PE
-3
-2
-1
0
1
log [ug/ml]
G9-PSM M52
G9-PSM M110

图23B

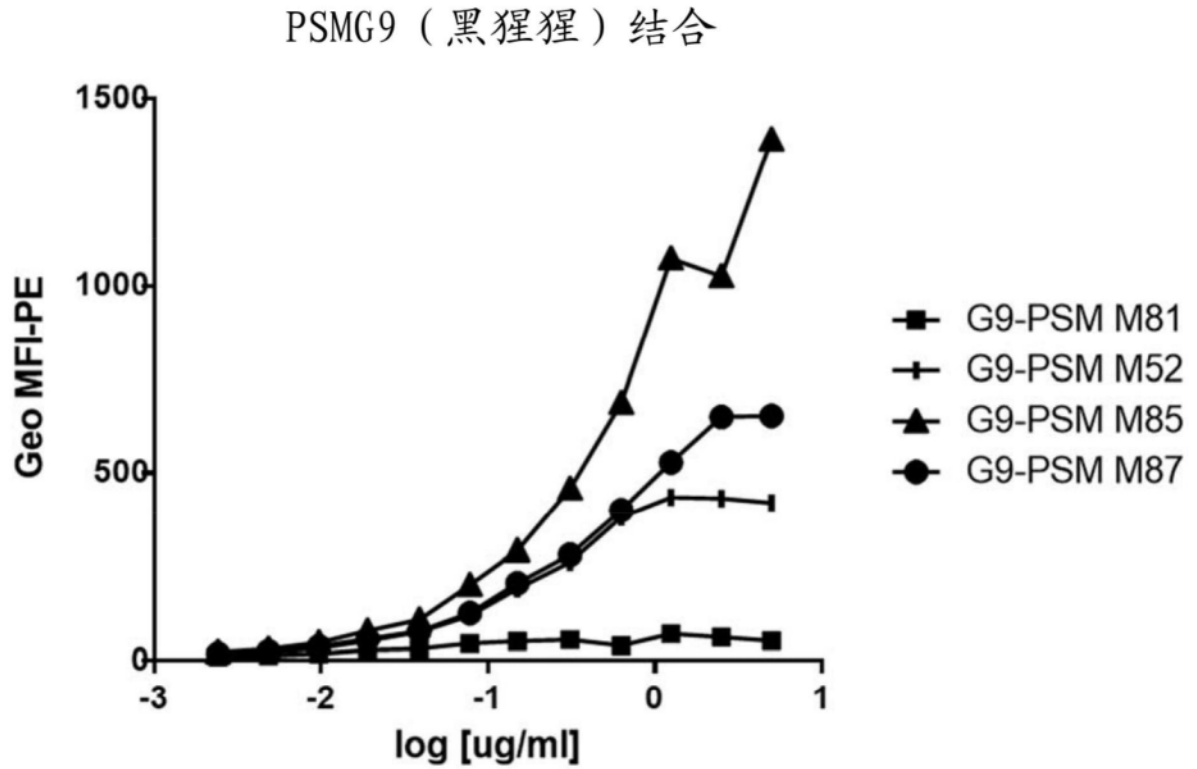

PSMG9（黑猩猩）结合
1500
1000
500
0
Geo MFI-PE
-3
-2
-1
0
1
log [ug/ml]
G9-PSM M81
G9-PSM M52
G9-PSM M85
G9-PSM M87

图23C

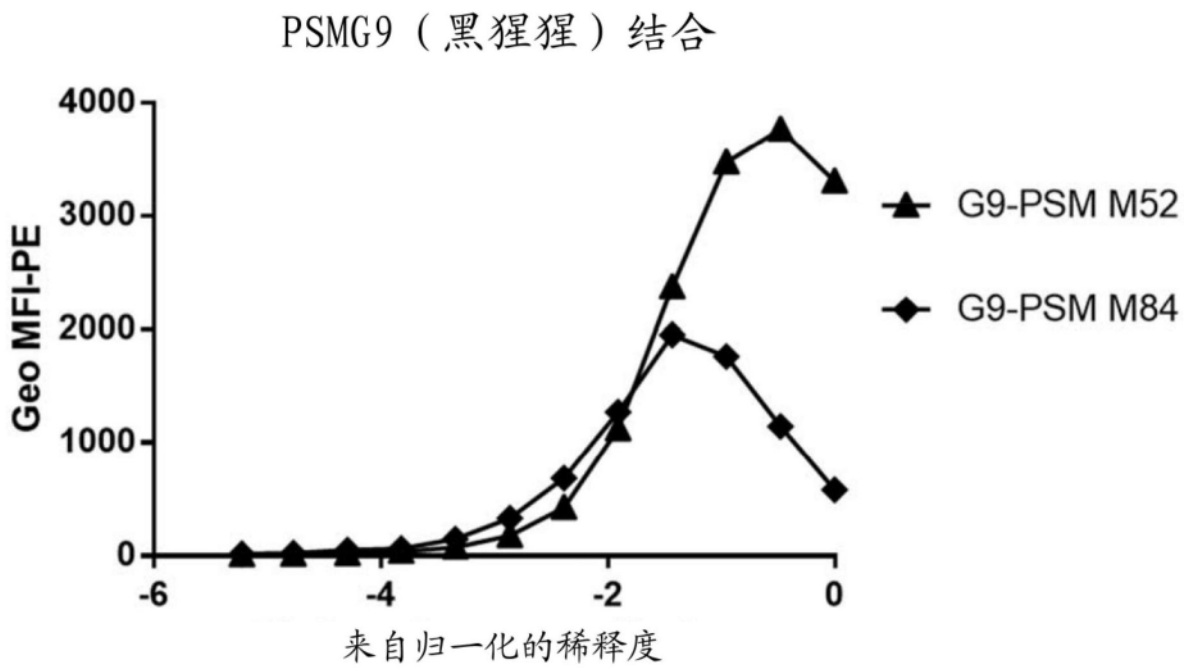

PSMG9（黑猩猩）结合
Geo MFI-PE
4000
3000
2000
1000
0
-6
-4
-2
0
来自归一化的稀释度
G9-PSM M52
G9-PSM M84

图23D

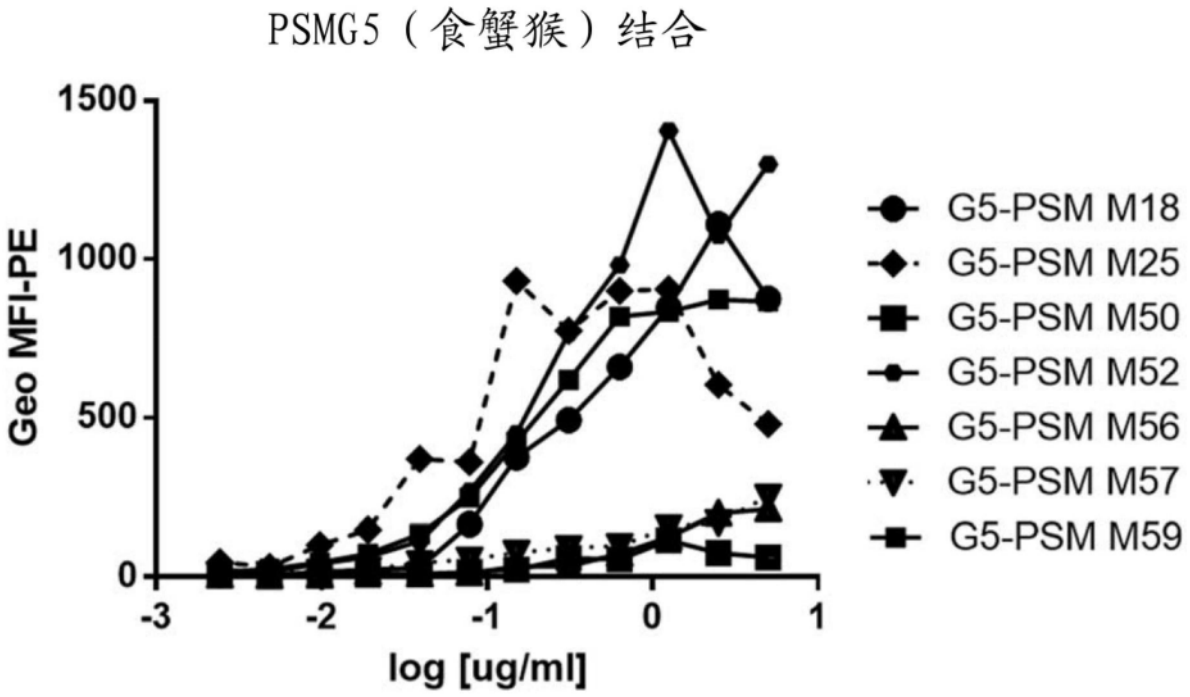

PSMG5（食蟹猴）结合
Geo MFI-PE
1500
1000
500
0
-3
-2
-1
0
1
log [ug/ml]
G5-PSM M18
G5-PSM M25
G5-PSM M50
G5-PSM M52
G5-PSM M56
G5-PSM M57
G5-PSM M59

图24A

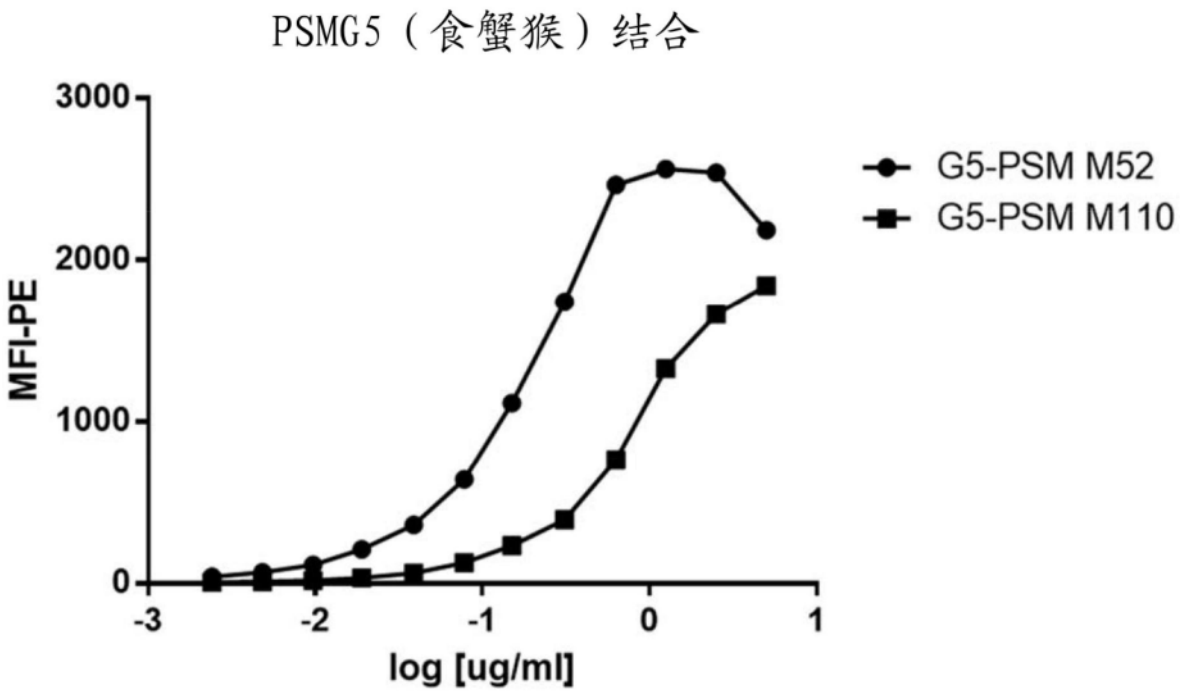

PSMG5（食蟹猴）结合
3000
2000
1000
0
MFI-PE
-3
-2
-1
0
1
log [ug/ml]
G5-PSM M52
G5-PSM M110

图24B

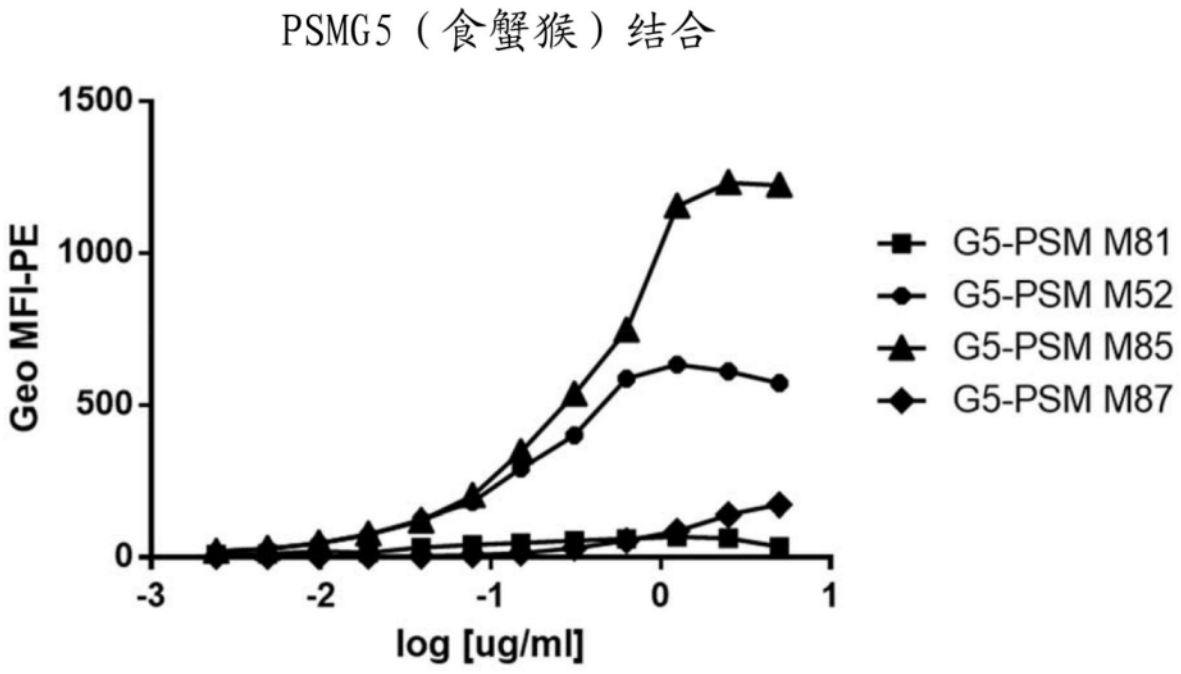

PSMG5（食蟹猴）结合
1500
1000
500
0
Geo MFI-PE
-3
-2
-1
0
1
log [ug/ml]
G5-PSM M81
G5-PSM M52
G5-PSM M85
G5-PSM M87

图24C

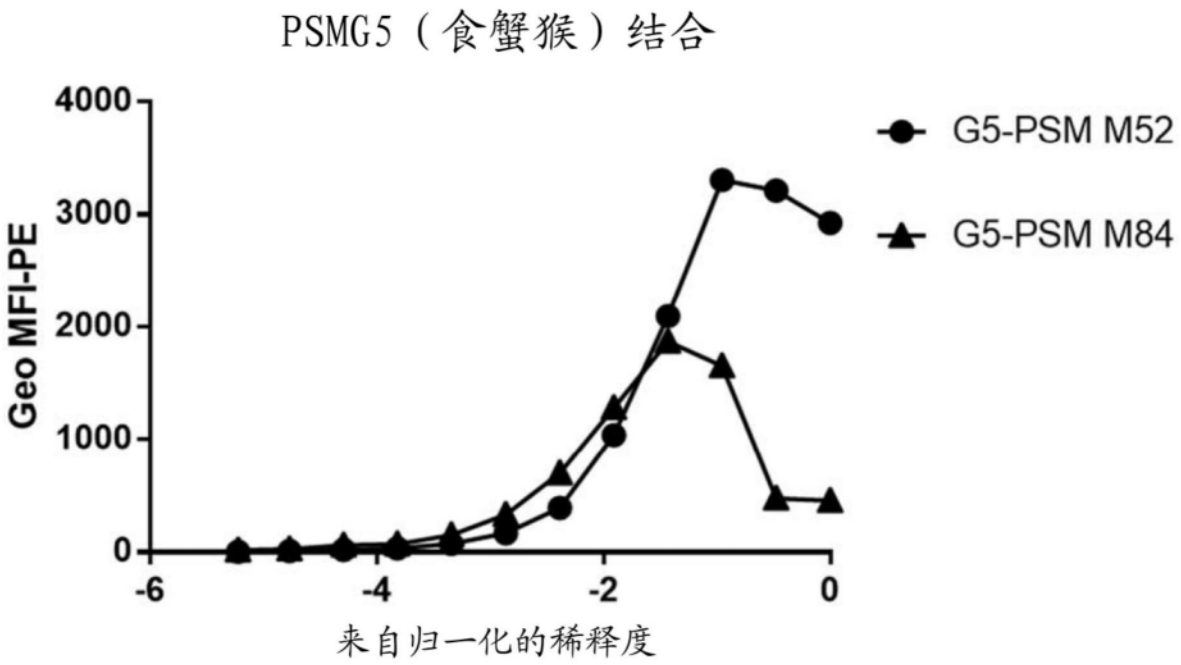

PSMG5（食蟹猴）结合
4000
3000
2000
1000
0
Geo MFI-PE
-6
-4
-2
0
来自归一化的稀释度
G5-PSM M52
G5-PSM M84

图24D

PSMM84 Fab与PSMA结合的总体结构

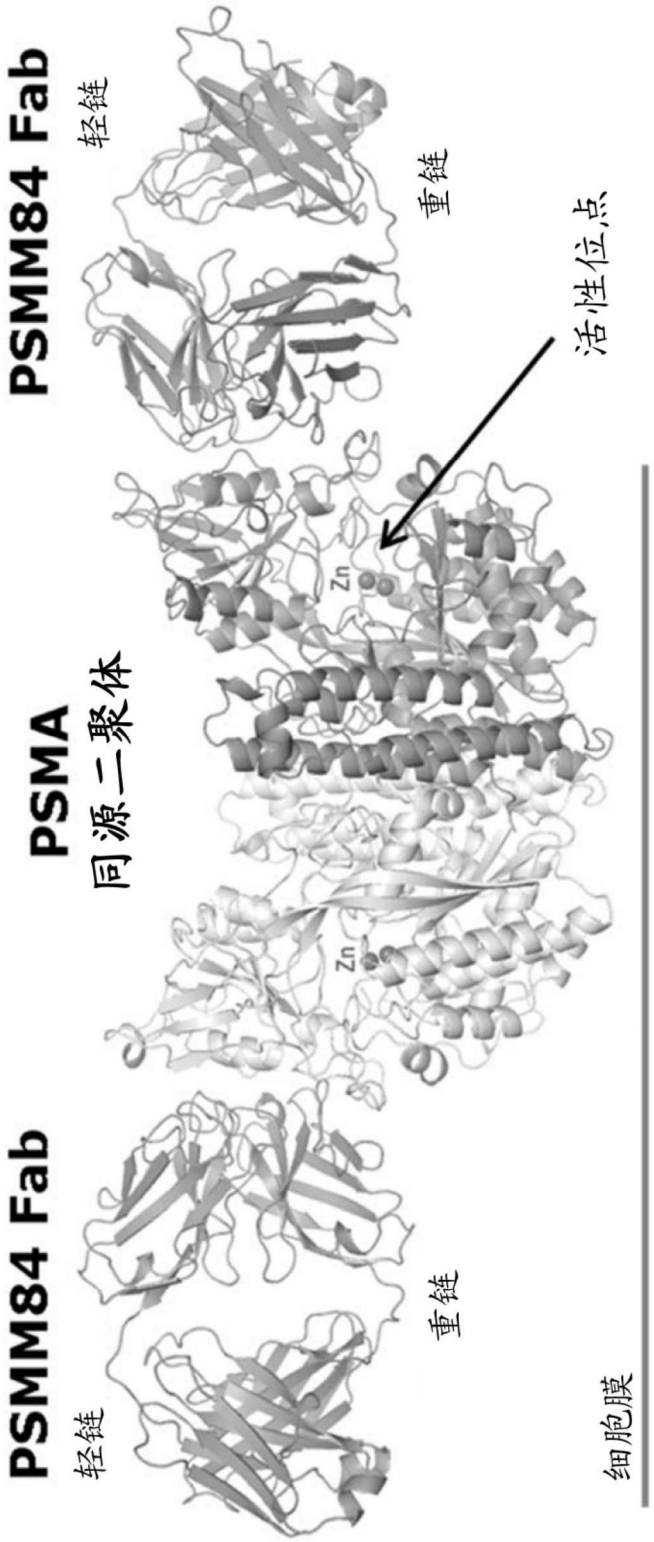


图25

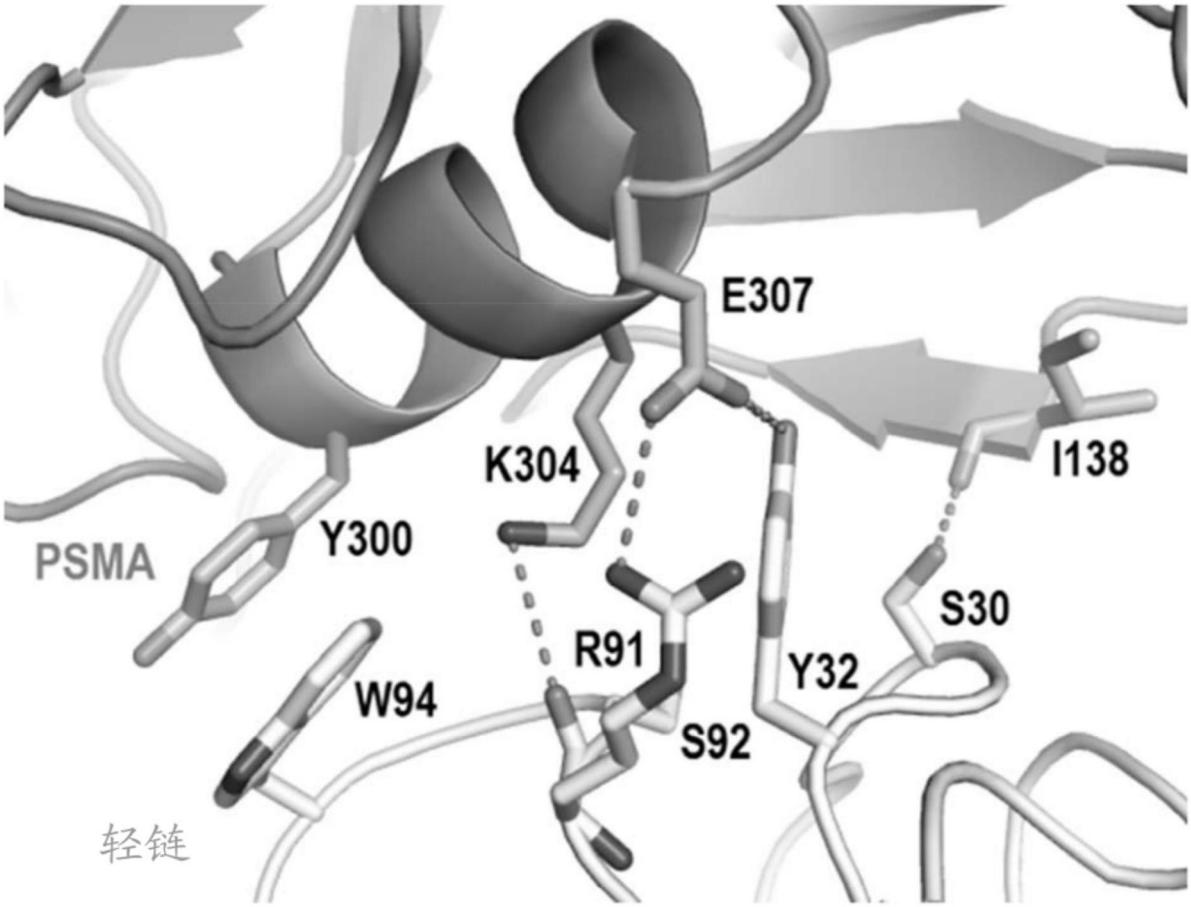

E307
K304
I138
PSMA
Y300
S30
R91
Y32
W94
S92
轻链

图26

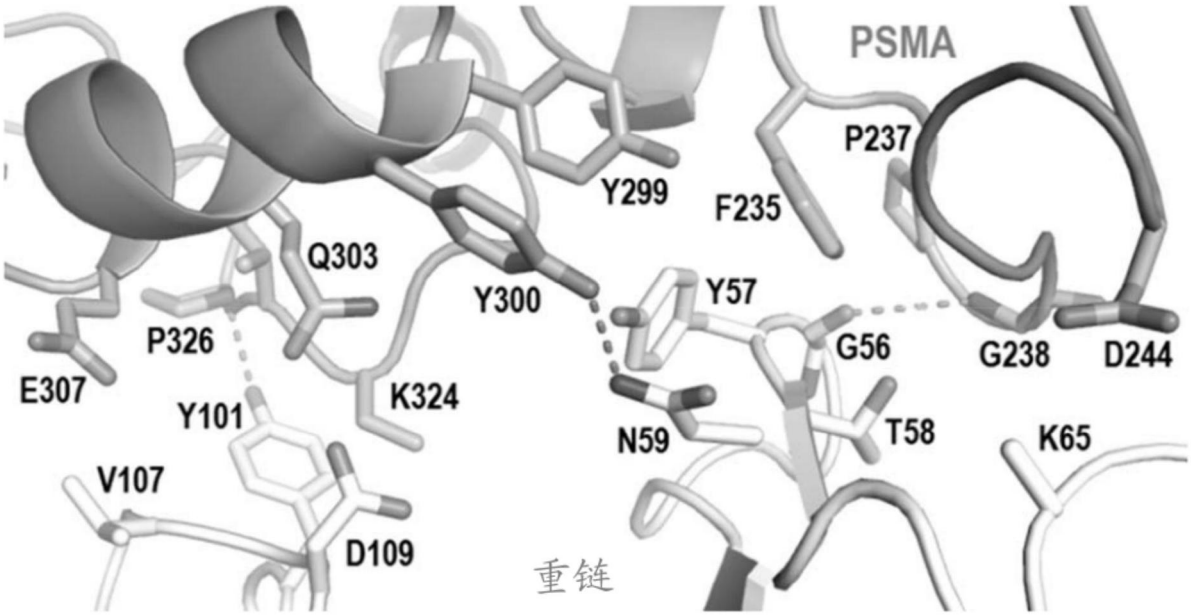
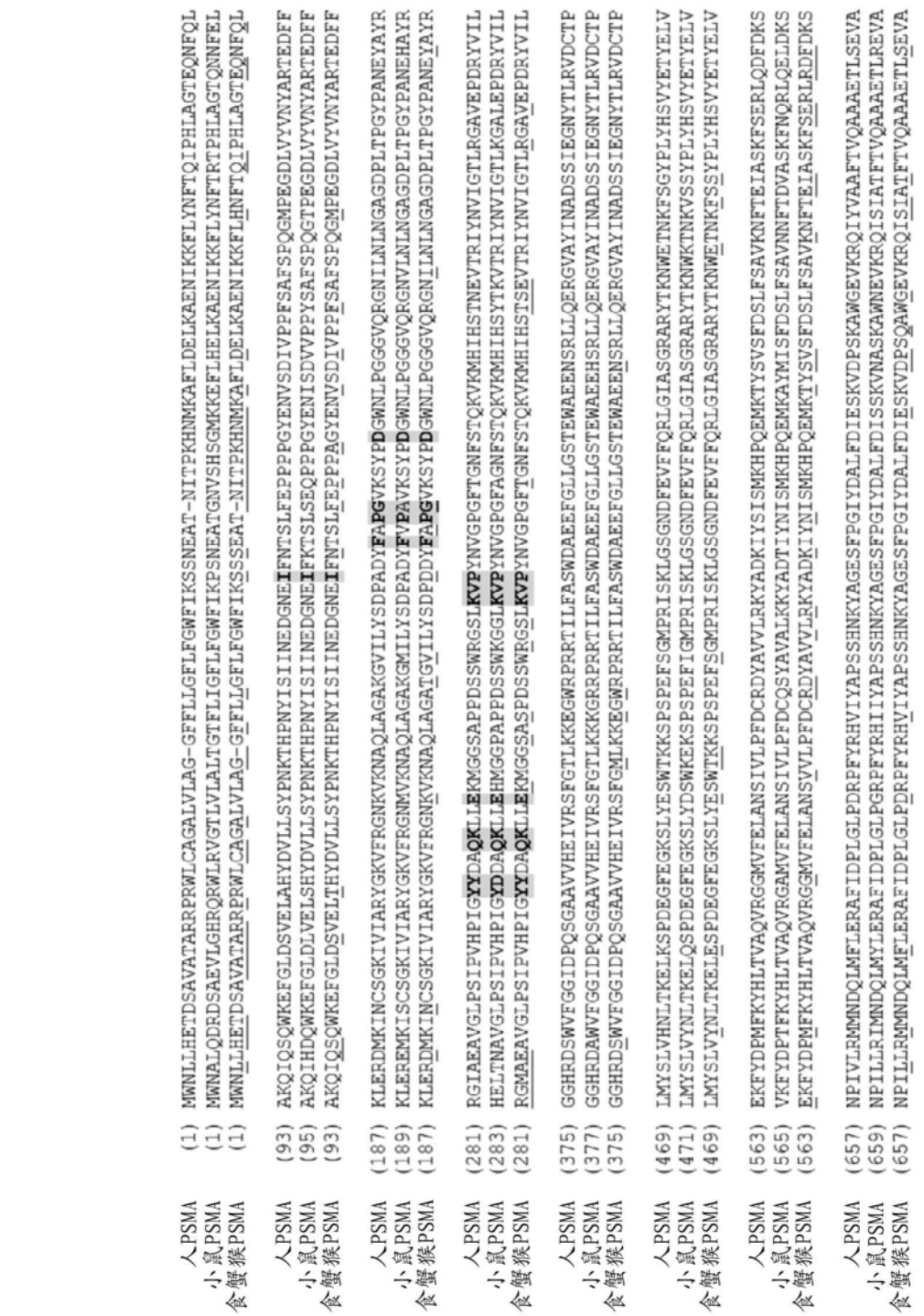

PSMA
P237
Y299
F235
Q303
Y300
Y57
P326
G56
G238
D244
E307
K324
Y101
N59
T58
K65
V107
D109
重链

图27

PSMM84的表位残基



表位残基以阴影示出。序列差异以下划线示出。

图28

PSMM84的互补位残基

图29

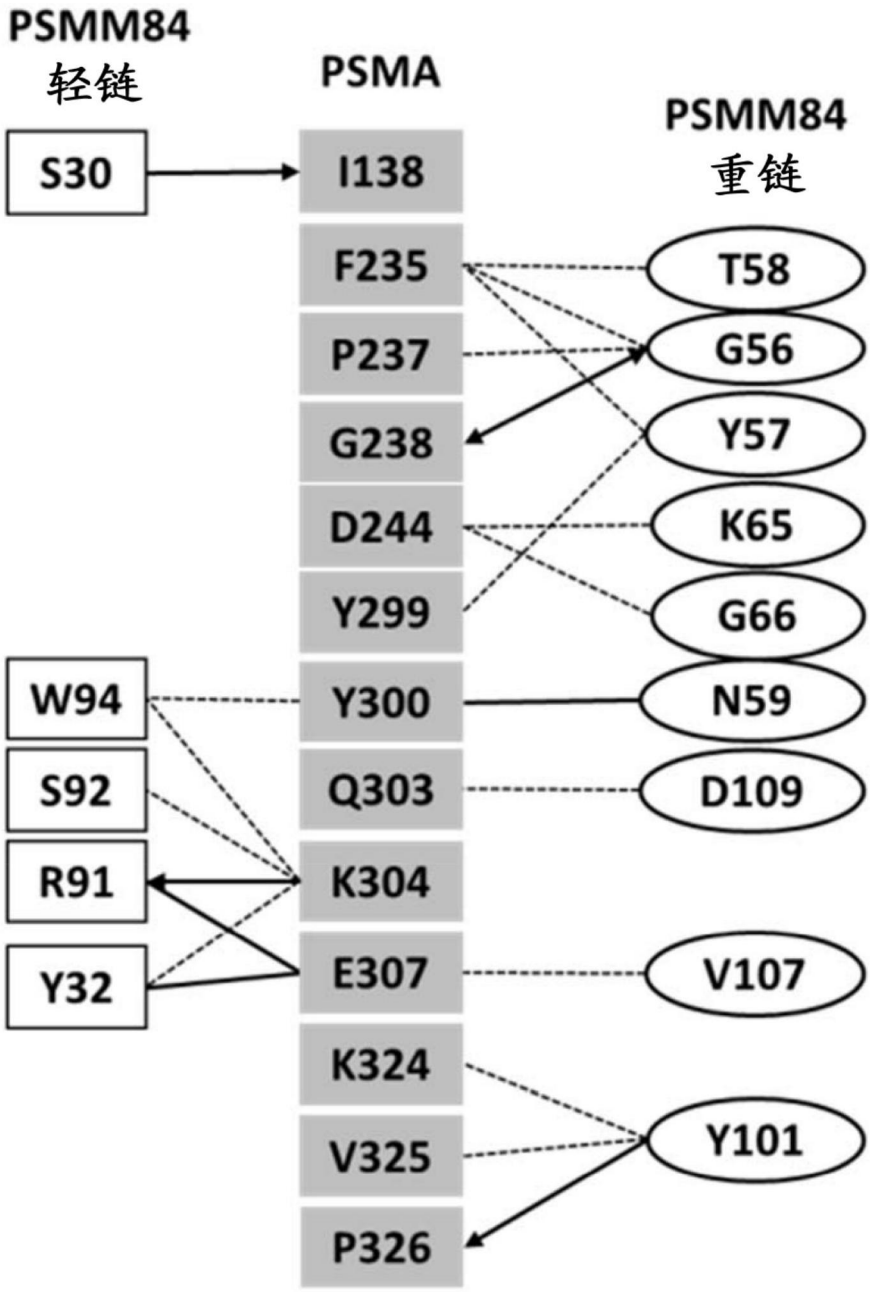
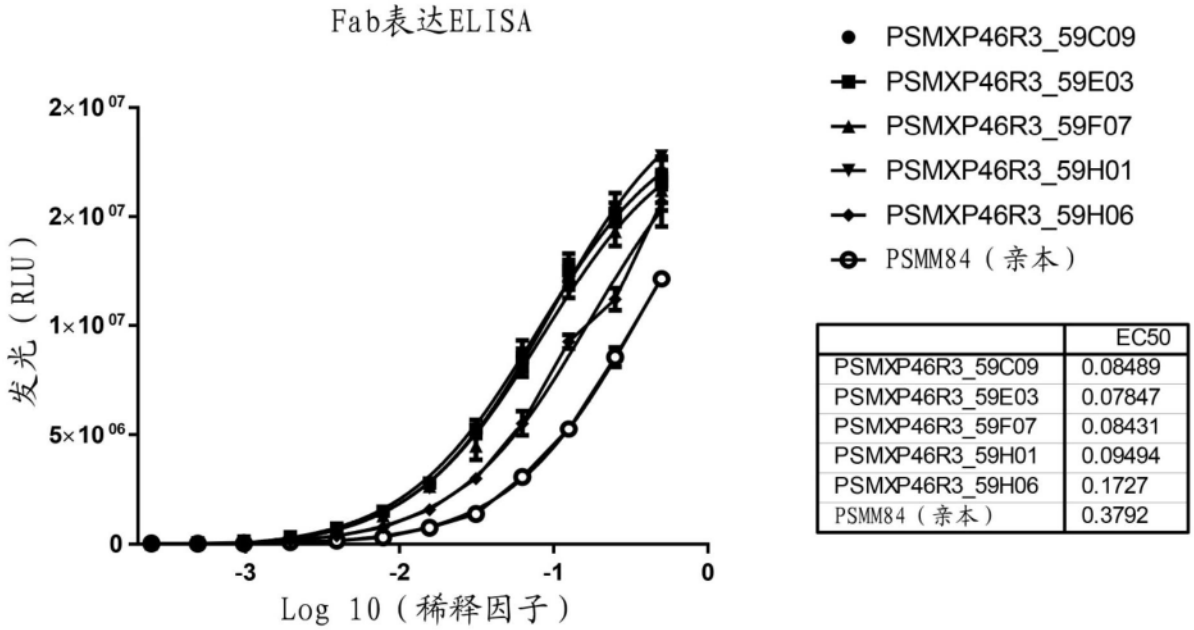
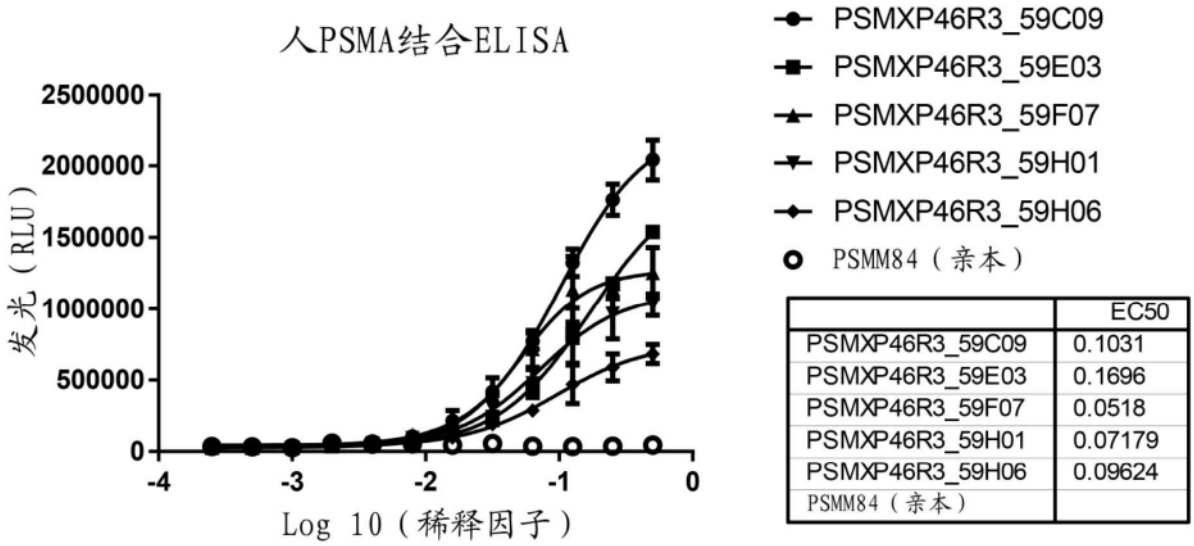

PSMM84
轻链
PSMA
PSMM84
重链
S30
I138
F235
T58
P237
G56
G238
Y57
D244
K65
Y299
G66
W94
Y300
N59
S92
Q303
D109
R91
K304
Y32
E307
V107
K324
Y101
V325
P326

图30



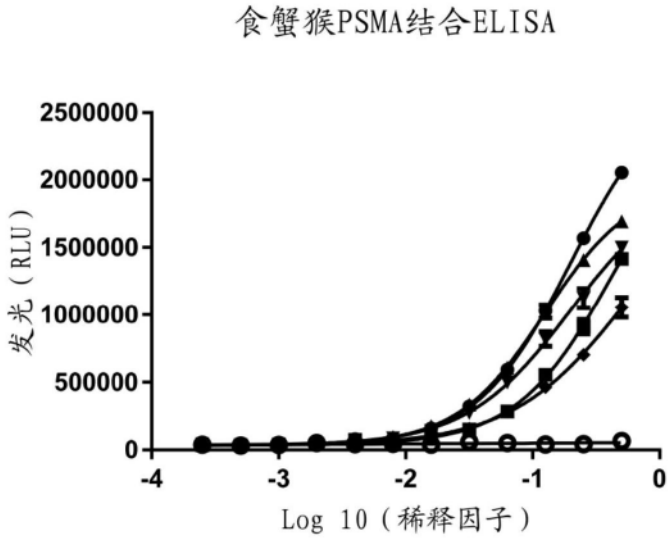
	EC50
PSMXP46R3_59C09	0.08489
PSMXP46R3_59E03	0.07847
PSMXP46R3_59F07	0.08431
PSMXP46R3_59H01	0.09494
PSMXP46R3_59H06	0.1727
PSMM84（亲本）	0.3792

图31



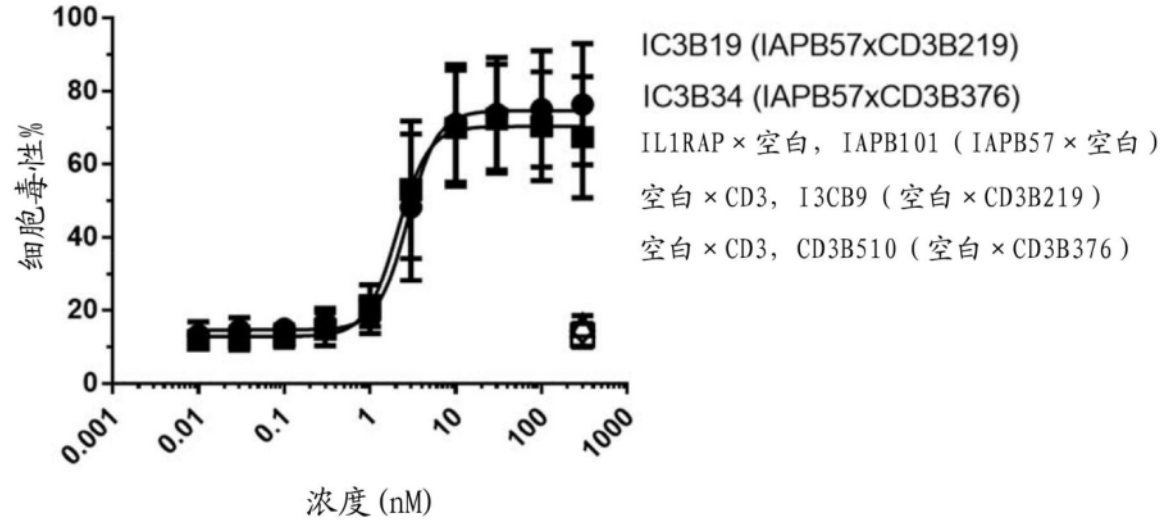
	EC50
PSMXP46R3_59C09	0.1031
PSMXP46R3_59E03	0.1696
PSMXP46R3_59F07	0.0518
PSMXP46R3_59H01	0.07179
PSMXP46R3_59H06	0.09624
PSMM84（亲本）	

图32



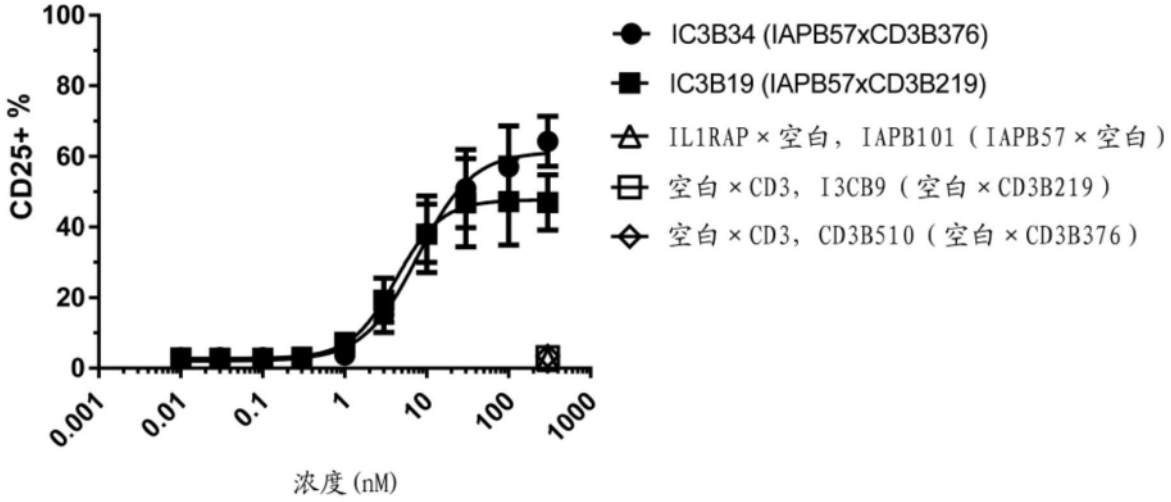
	EC50
PSMXP46R3_59C09	0.1988
PSMXP46R3_59E03	0.4231
PSMXP46R3_59F07	0.1241
PSMXP46R3_59H01	0.1956
PSMXP46R3_59H06	0.6016
PSMM84（亲本）	~ 4.935e+030

图33



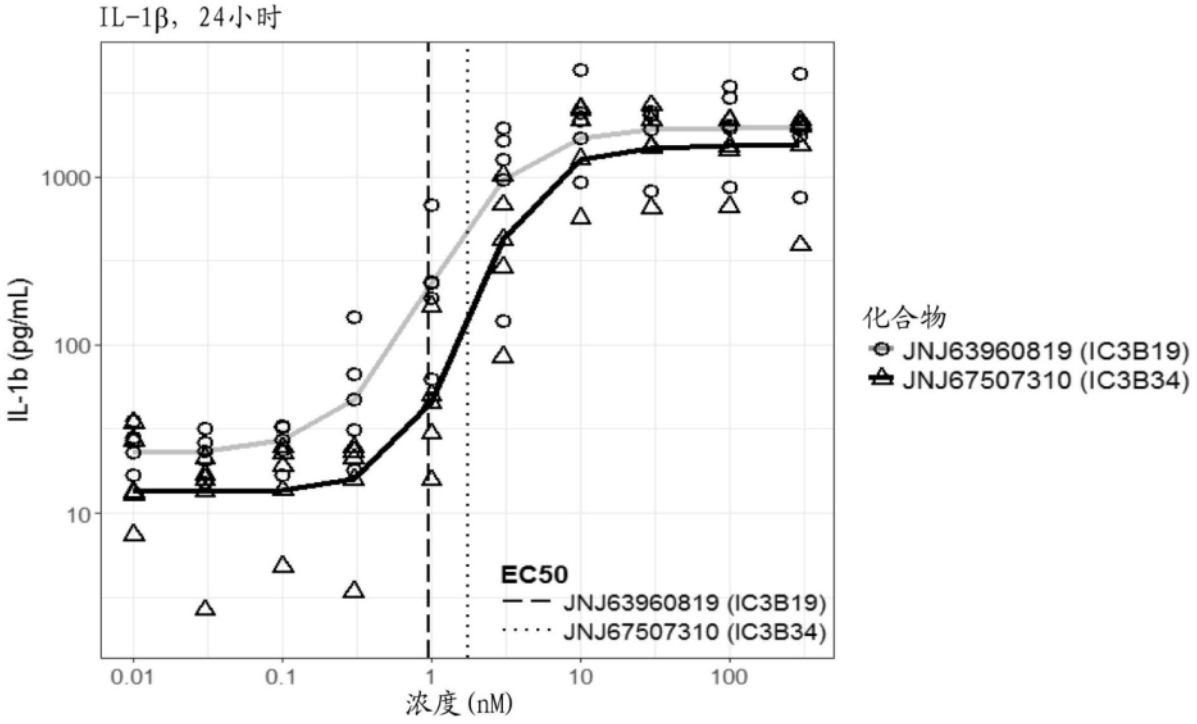
uM	0.0100	0.0300	0.1000	0.3000	1.0000	3.0000	10.0000	30.0000	100.0000	300.0000
ug/mL	0.0015	0.0045	0.0150	0.0450	0.1500	0.4500	1.5000	4.5000	15.0000	45.0000

图34



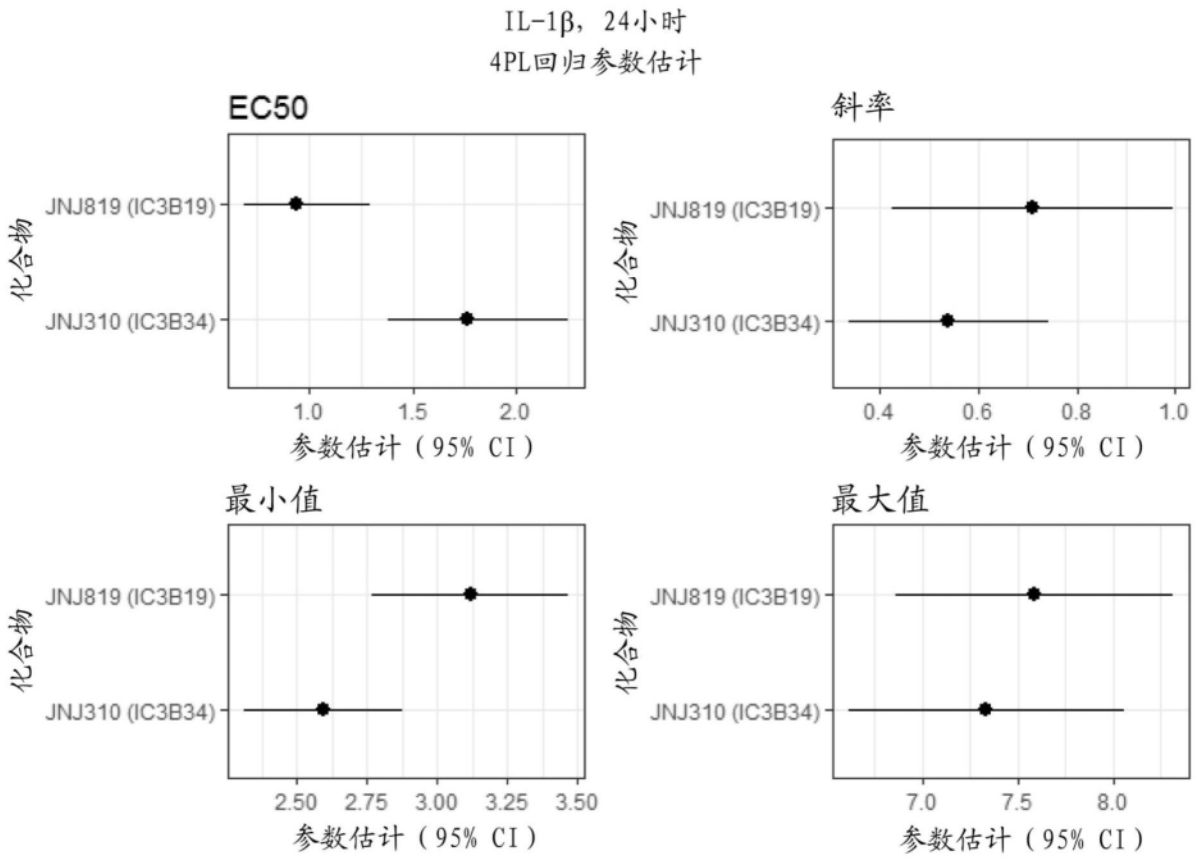
uM	0.0100	0.0300	0.1000	0.3000	1.0000	3.0000	10.0000	30.0000	100.0000	300.0000
ug/mL	0.0015	0.0045	0.0150	0.0450	0.1500	0.4500	1.5000	4.5000	15.0000	45.0000

图35



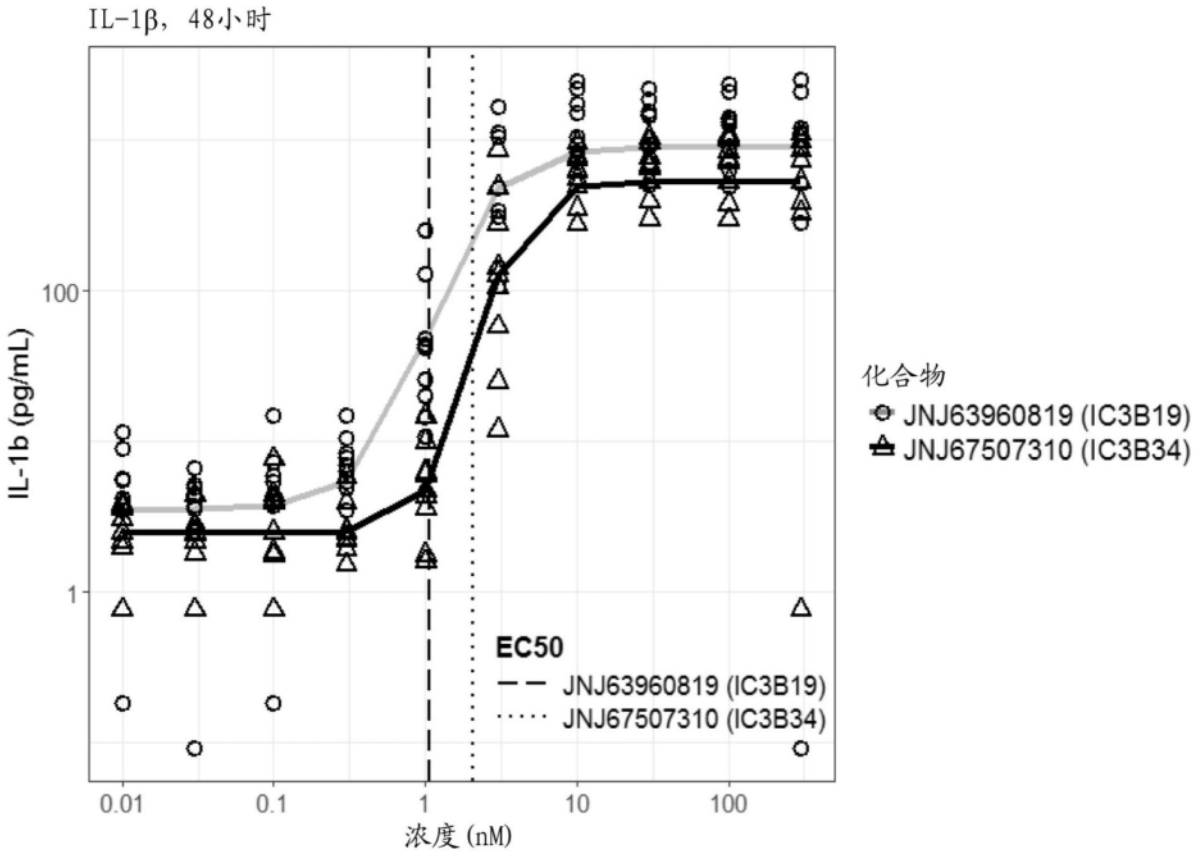
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	-0.414	0.553	0.9439
0.03nM下的差值	-0.718	0.553	0.5723
0.1nM下的差值	-0.537	0.553	0.8182
0.3nM下的差值	-1.227	0.553	0.1172
1nM下的差值	**-1.547**	**0.553**	**0.0281**
3nM下的差值	-0.875	0.553	0.3817
10nM下的差值	-0.248	0.553	0.9983
30nM下的差值	-0.164	0.553	0.9999
100nM下的差值	-0.348	0.553	0.9797
300nM下的差值	-0.281	0.553	0.9955

图36A



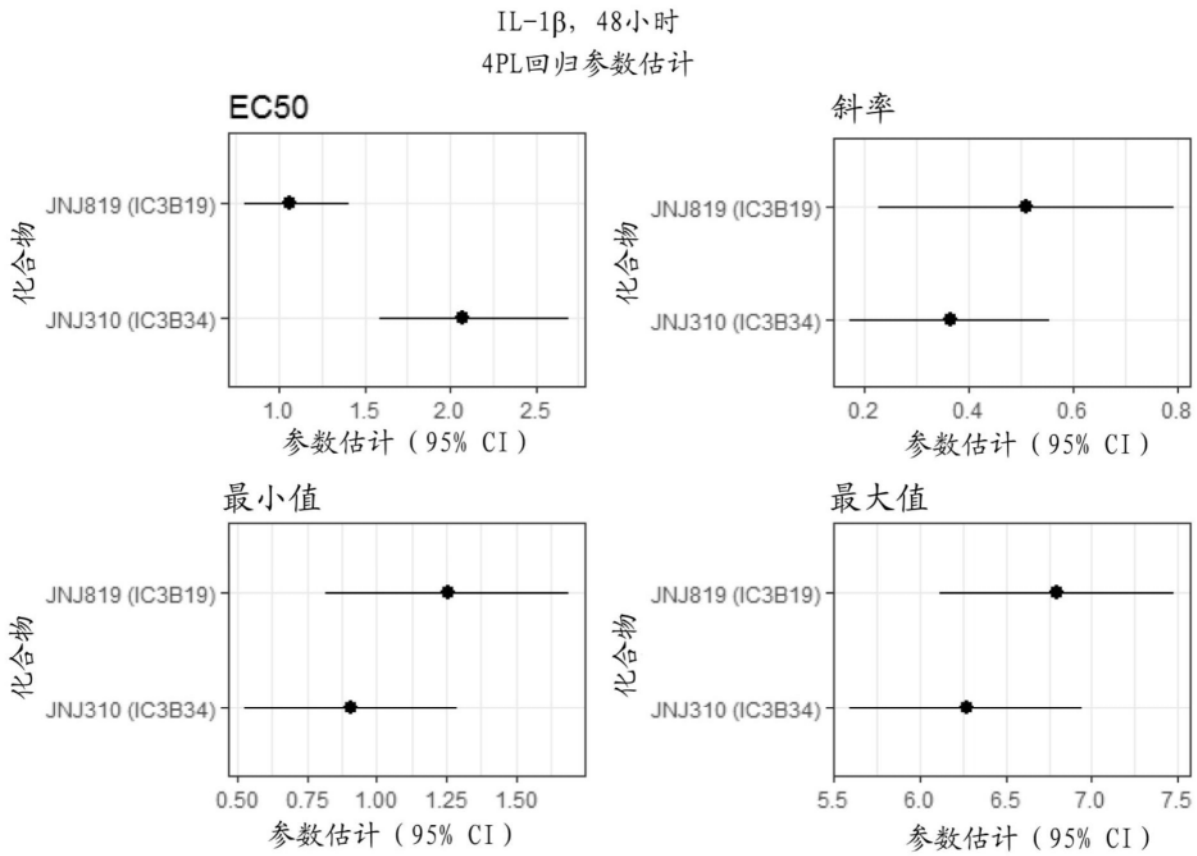
	JNJ819 (IC3B19)	JNJ310 (IC3B34)	p值
EC50	**0.940 (0.682, 1.295)**	**1.763 (1.381, 2.252)**	**0.0027**
斜率	0.710 (0.423, 0.996)	0.540 (0.335, 0.744)	0.3046
最小值	**3.119 (2.769, 3.469)**	**2.592 (2.309, 2.875)**	**0.0268**
最大值	7.589 (6.865, 8.313)	7.335 (6.613, 8.058)	0.2033

图36B



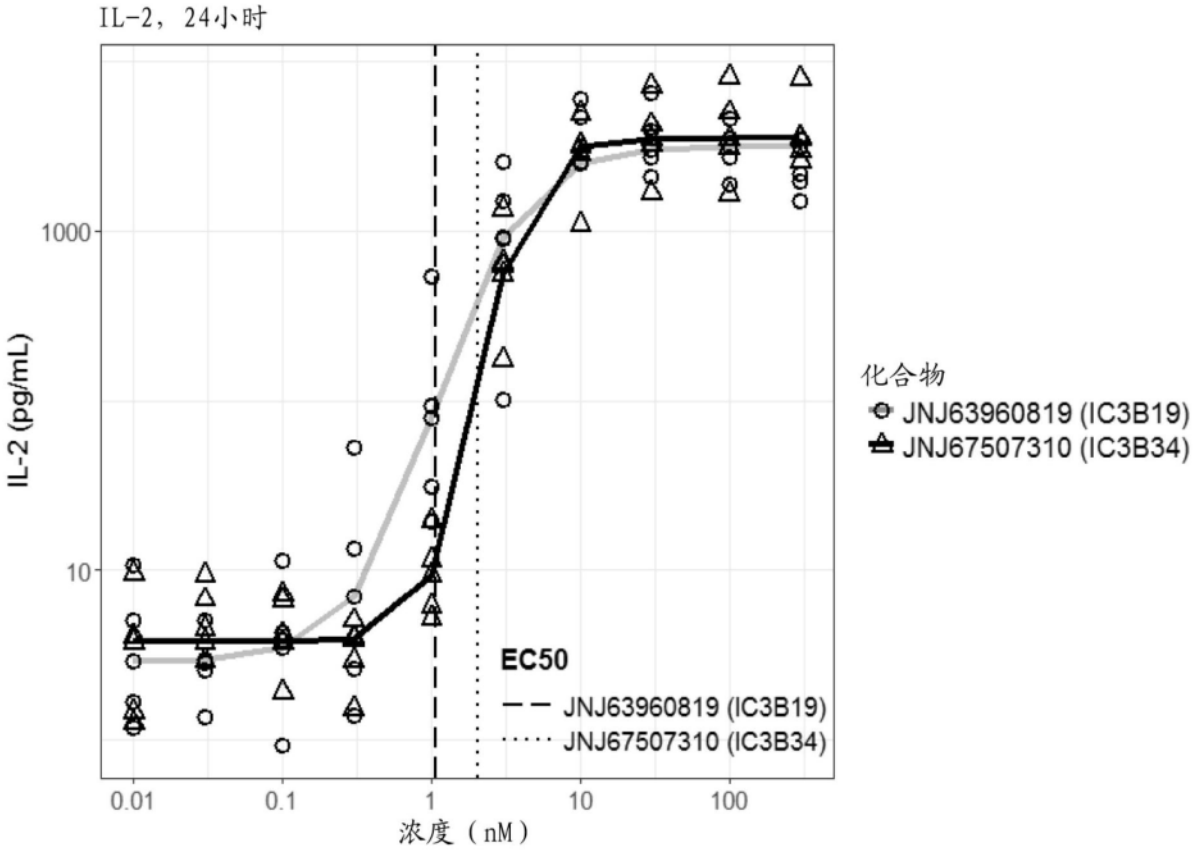
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	-0.431	0.618	0.9976
0.03nM下的差值	-0.183	0.618	1.0000
0.1nM下的差值	-0.321	0.618	0.9998
0.3nM下的差值	-1.020	0.618	0.5913
1nM下的差值	**-2.105**	**0.618**	**0.0064**
3nM下的差值	-1.508	0.618	0.1255
10nM下的差值	-0.806	0.618	0.8424
30nM下的差值	-0.624	0.618	0.9635
100nM下的差值	-0.556	0.618	0.9834
300nM下的差值	-0.049	0.618	1.0000

图37A



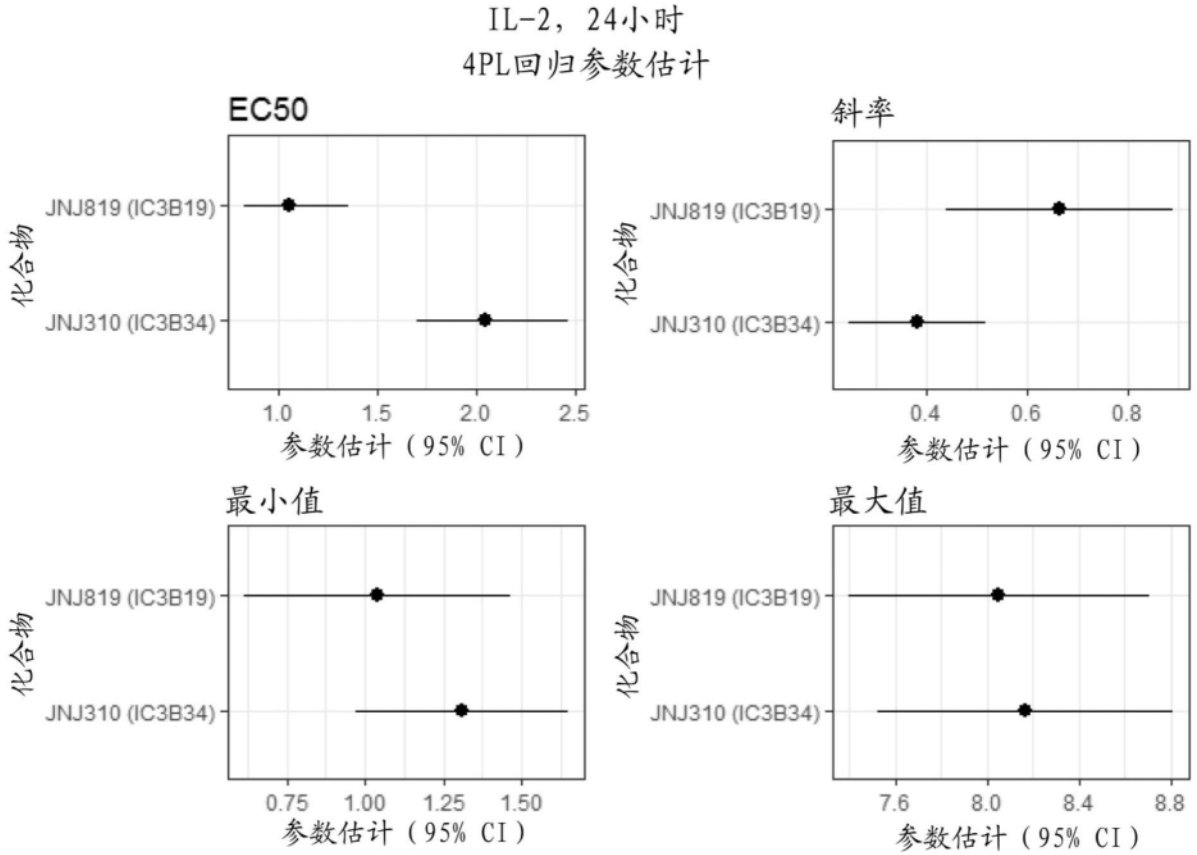
	JNJ819 (IC3B19)	JNJ310 (IC3B34)	p值
EC50	**1.060 (0.798, 1.408)**	**2.068 (1.587, 2.695)**	**0.0010**
斜率	0.512 (0.230, 0.794)	0.365 (0.173, 0.557)	0.3951
最小值	1.254 (0.818, 1.690)	0.905 (0.525, 1.286)	0.2543
最大值	6.798 (6.117, 7.478)	6.268 (5.589, 6.947)	0.0528

图37B



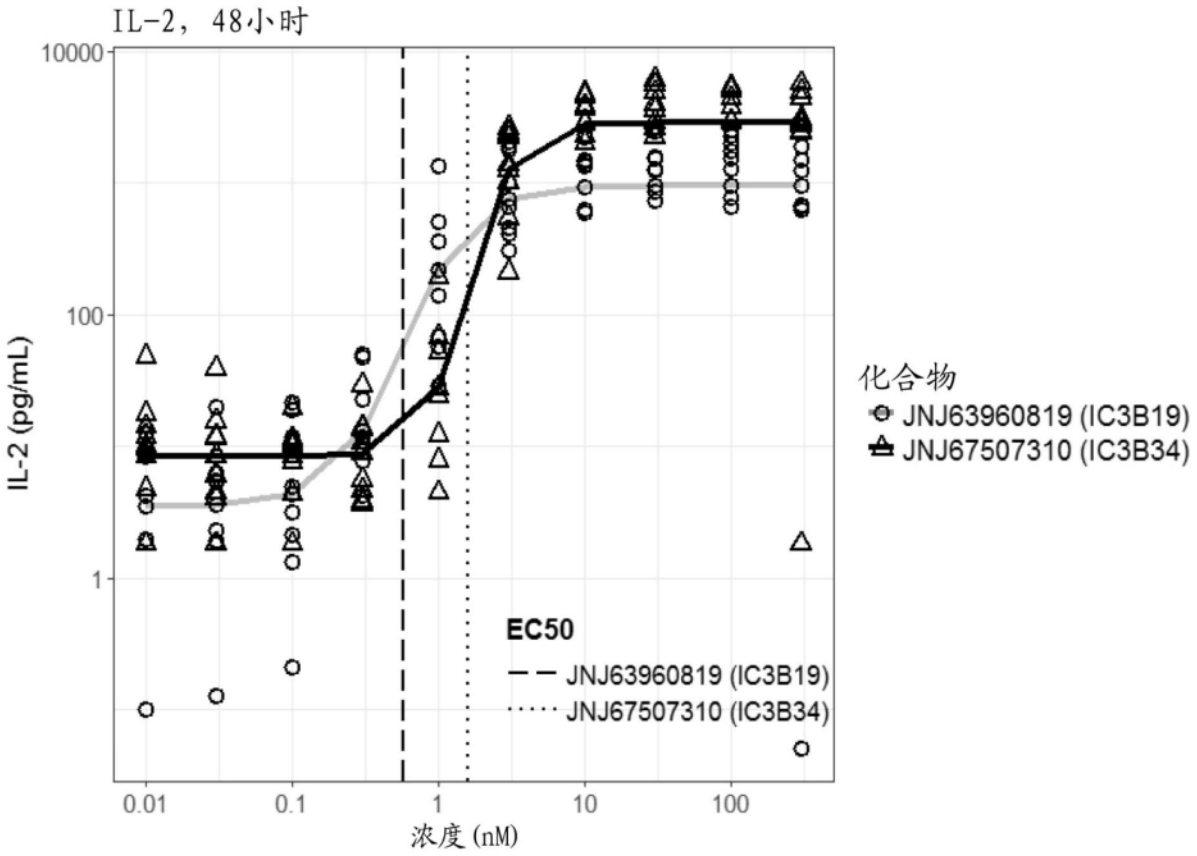
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	-0.105	0.599	1.0000
0.03nM下的差值	0.704	0.599	0.8315
0.1nM下的差值	0.198	0.599	1.0000
0.3nM下的差值	-0.841	0.599	0.6679
1nM下的差值	**-2.095**	**0.599**	**0.0041**
3nM下的差值	-0.330	0.599	0.9989
10nM下的差值	-0.382	0.599	0.9963
30nM下的差值	0.026	0.599	1.0000
100nM下的差值	0.222	0.599	1.0000
300nM下的差值	0.568	0.599	0.9440

图38A



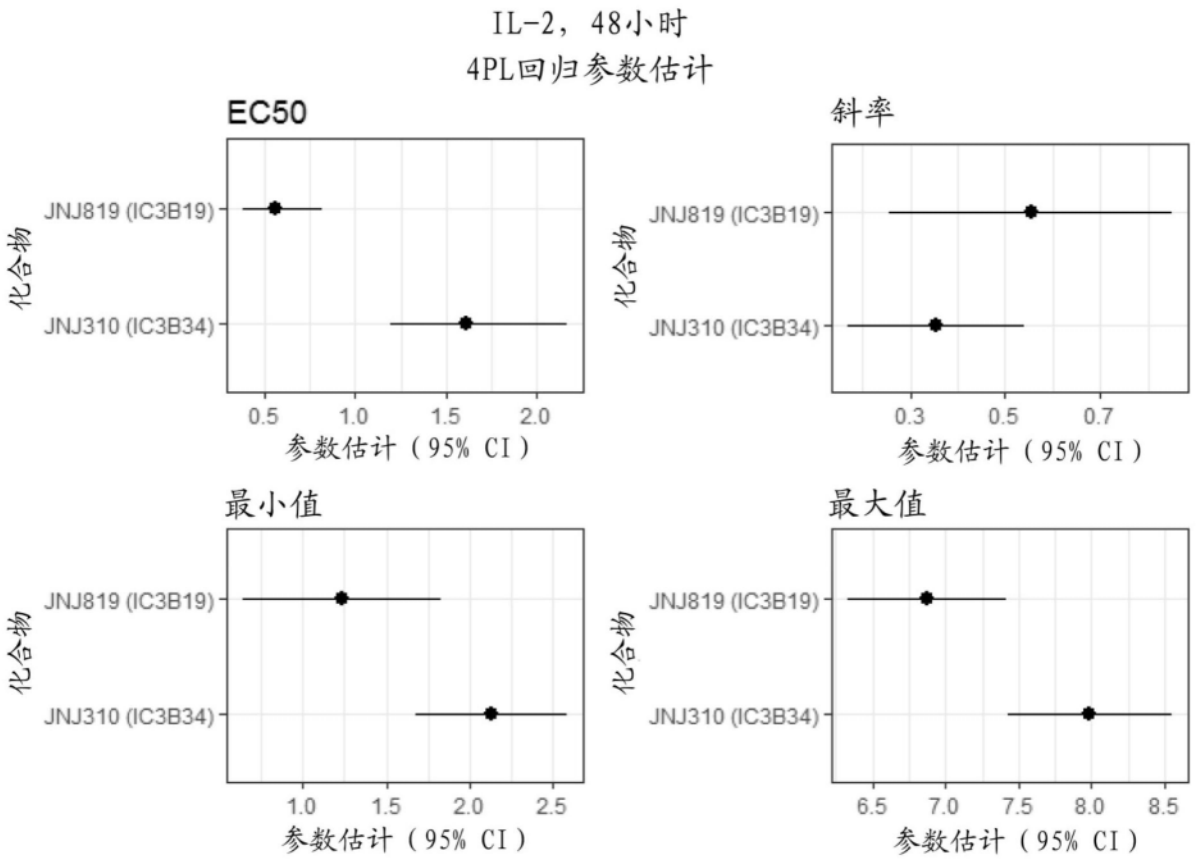
	JNJ819 (IC3B19)	JNJ310 (IC3B34)	p值
EC50	**1.063 (0.829, 1.361)**	**2.044 (1.697, 2.463)**	**0.0001**
斜率	**0.665 (0.440, 0.890)**	**0.383 (0.247, 0.520)**	**0.0256**
最小值	1.038 (0.613, 1.463)	1.311 (0.973, 1.650)	0.3103
最大值	8.053 (7.398, 8.707)	8.168 (7.527, 8.809)	0.6466

图38B



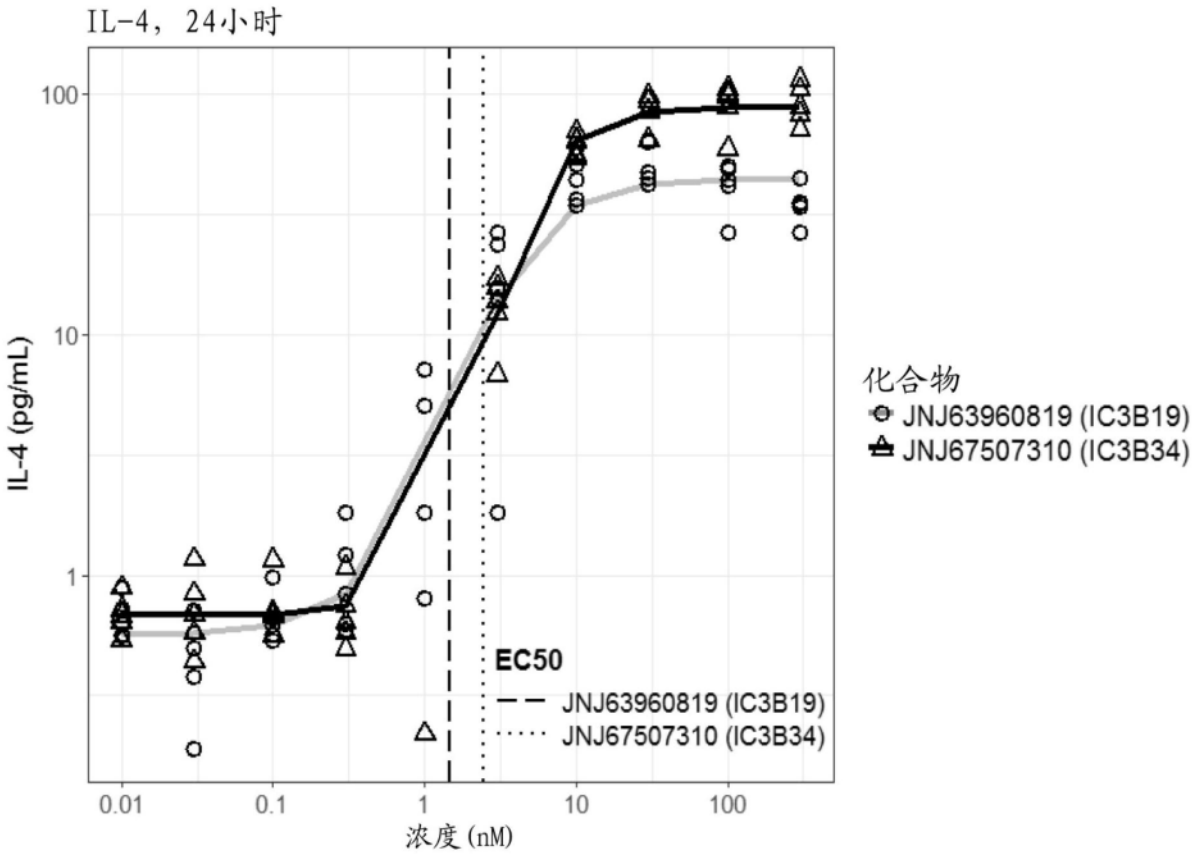
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	0.928	0.676	0.8169
0.03nM下的差值	0.859	0.676	0.8755
0.1nM下的差值	0.737	0.676	0.9485
0.3nM下的差值	-0.567	0.676	0.9917
1nM下的差值	**-1.950**	**0.676**	**0.0370**
3nM下的差值	0.372	0.676	0.9998
10nM下的差值	0.954	0.676	0.7914
30nM下的差值	0.987	0.676	0.7576
100nM下的差值	1.066	0.676	0.6693
300nM下的差值	1.488	0.676	0.2289

图39A



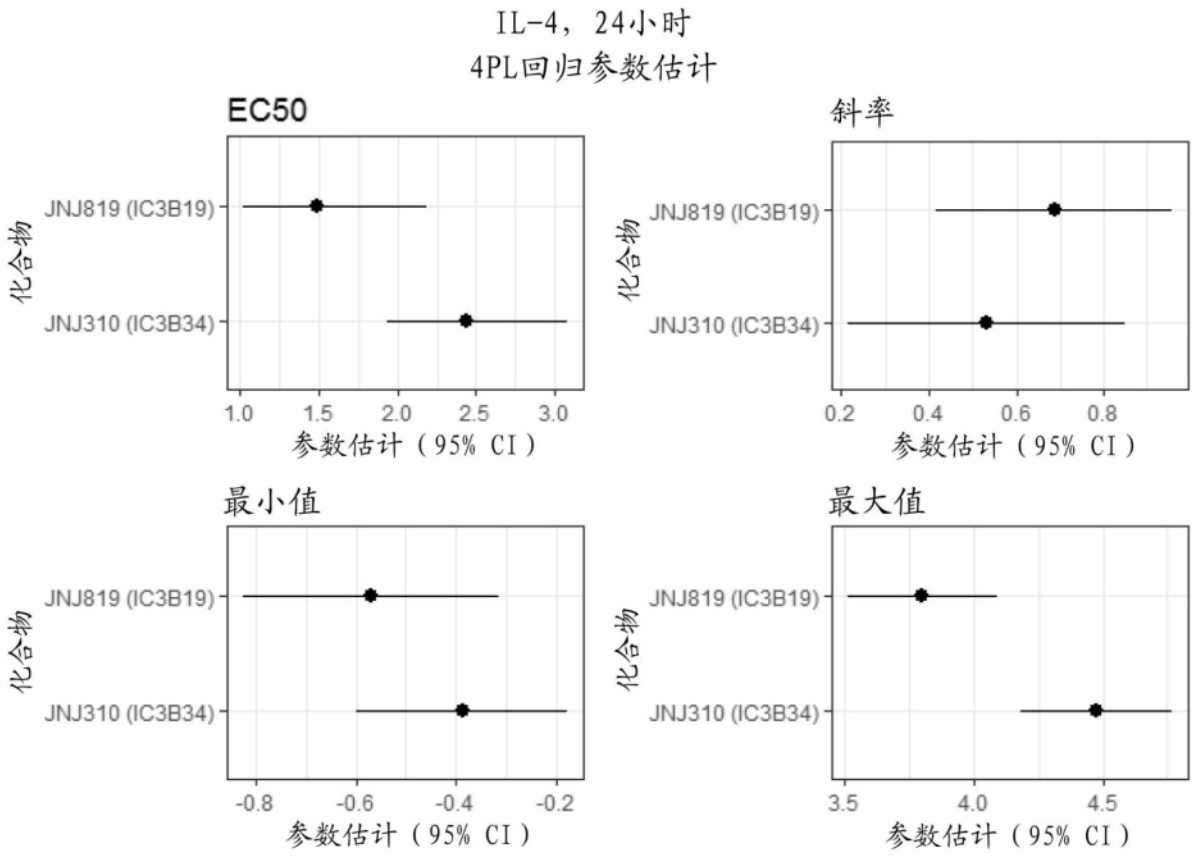
	JNJ819 (IC3B19)	JNJ310 (IC3B34)	p值
EC50	**0.558 (0.380, 0.821)**	**1.611 (1.199, 2.166)**	**Sig.**
斜率	0.554 (0.256, 0.851)	0.353 (0.168, 0.539)	0.2079
最小值	**1.231 (0.638, 1.824)**	**2.129 (1.674, 2.584)**	**0.0158**
最大值	**6.874 (6.327, 7.421)**	**7.988 (7.425, 8.551)**	**0.0008**

图39B



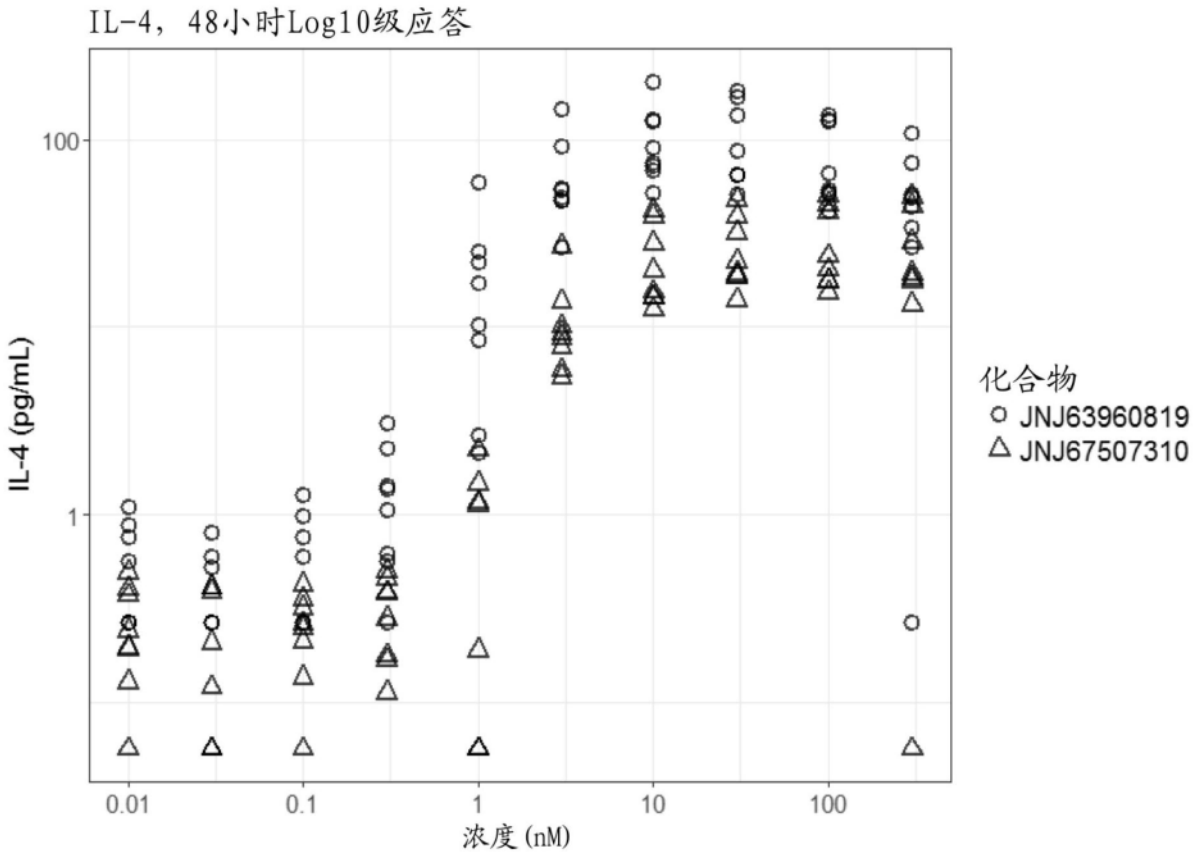
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	-0.010	0.301	1.0000
0.03nM下的差值	0.563	0.301	0.3761
0.1nM下的差值	0.110	0.301	1.0000
0.3nM下的差值	-0.361	0.301	0.8592
3nM下的差值	0.081	0.301	1.0000
10nM下的差值	0.253	0.301	0.9815
30nM下的差值	0.439	0.301	0.6850
100nM下的差值	0.780	0.301	0.0749
300nM下的差值	**1.031**	**0.301**	**0.0054**

图40A



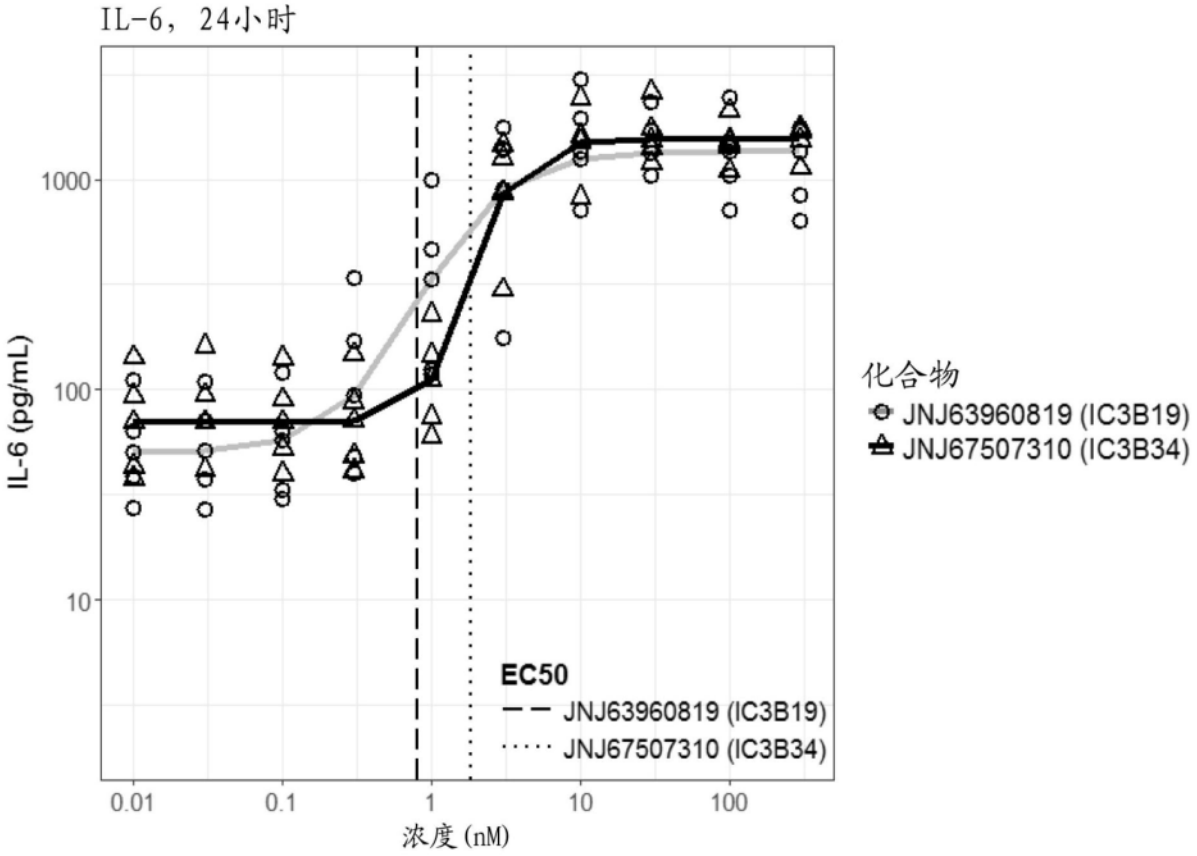
	JNJ819 (IC3B19)	JNJ310 (IC3B34)	p值
EC50	1.493 (1.016, 2.192)	2.440 (1.932, 3.081)	0.2415
斜率	0.686 (0.416, 0.957)	0.532 (0.214, 0.849)	0.4668
最小值	-0.570 (-0.827, -0.313)	-0.387 (-0.598, -0.176)	0.2942
最大值	**3.799 (3.510, 4.088)**	**4.476 (4.183, 4.769)**	**0.0043**

图40B



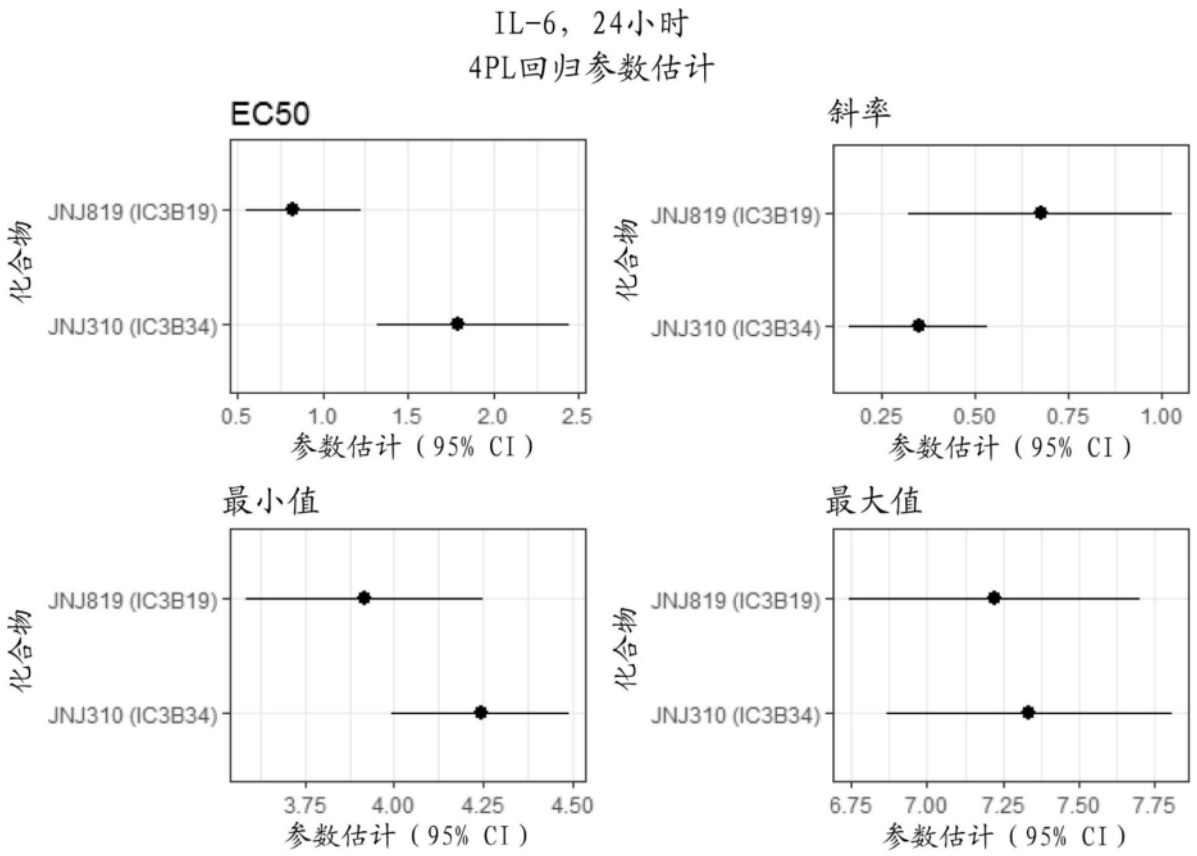
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	-0.756	0.474	0.6568
0.03nM下的差值	-0.882	0.474	0.4482
0.1nM下的差值	-0.795	0.474	0.5915
0.3nM下的差值	**-1.337**	**0.474**	**0.0454**
1nM下的差值	**-3.54**	**0.474**	**<0.0001**
3nM下的差值	**-1.786**	**0.474**	**0.0016**
10nM下的差值	**-1.504**	**0.474**	**0.0146**
30nM下的差值	**-1.329**	**0.474**	**0.0475**
100nM下的差值	-1.043	0.474	0.2301
300nM下的差值	-0.831	0.474	0.5305

图41



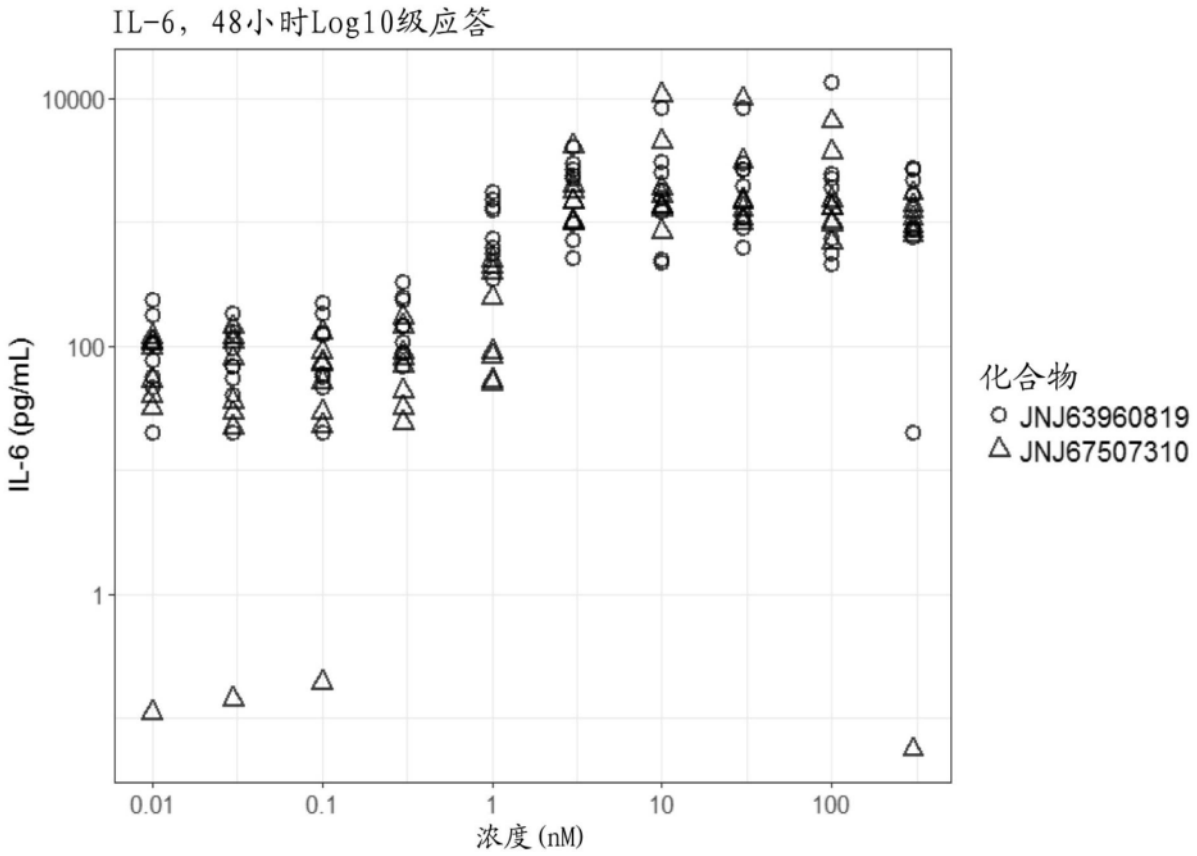
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	0.263	0.456	0.9990
0.03nM下的差值	0.302	0.456	0.9970
0.1nM下的差值	0.304	0.456	0.9968
0.3nM下的差值	-0.367	0.456	0.9866
1nM下的差值	-0.962	0.456	0.2340
3nM下的差值	-0.059	0.456	1.0000
10nM下的差值	-0.037	0.456	1.0000
30nM下的差值	0.056	0.456	1.0000
100nM下的差值	0.156	0.456	1.0000
300nM下的差值	0.314	0.456	0.9958

图42A



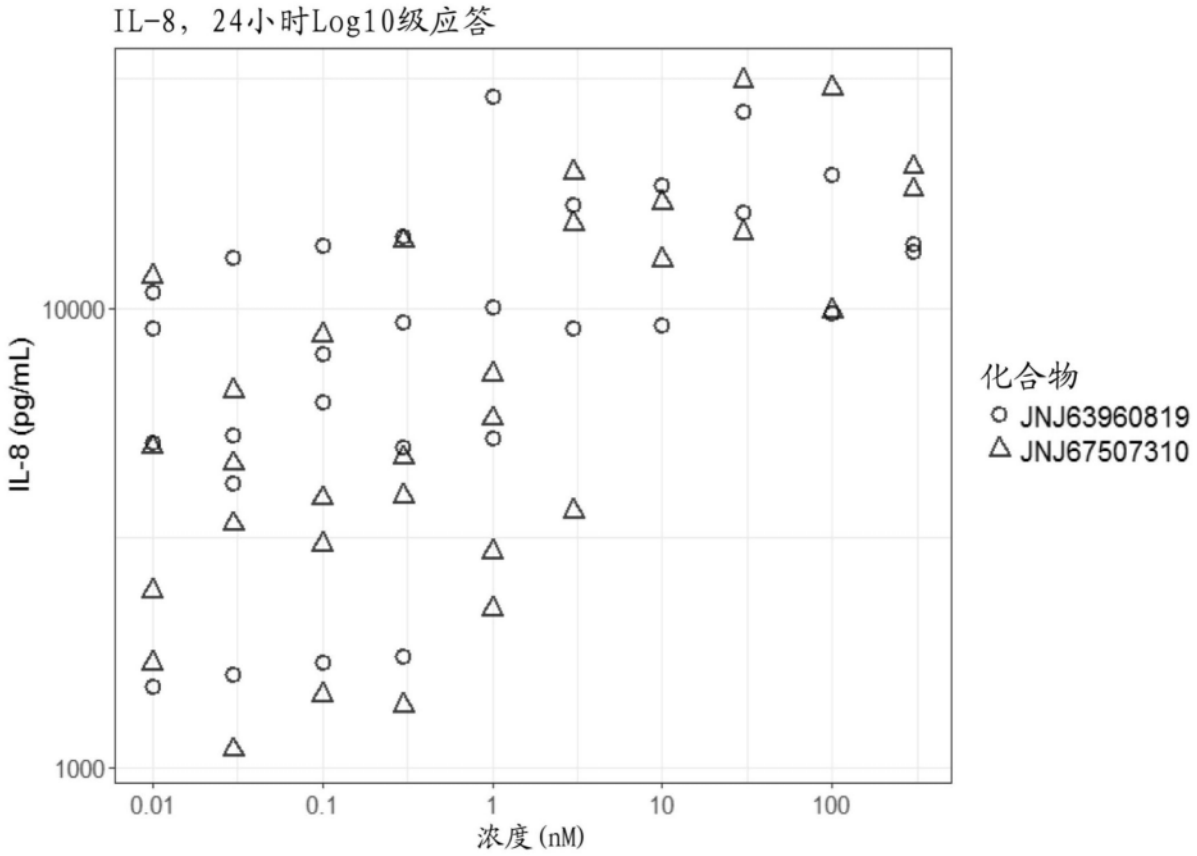
	JNJ819 (IC3B19)	JNJ310 (IC3B34)	p值
EC50	**0.821 (0.549, 1.229)**	**1.796 (1.320, 2.444)**	**Sig.**
斜率	0.678 (0.324, 1.031)	0.349 (0.162, 0.536)	0.0819
最小值	3.917 (3.582, 4.252)	4.243 (3.993, 4.493)	0.1151
最大值	7.221 (6.742, 7.700)	7.337 (6.865, 7.808)	0.5224

图42B



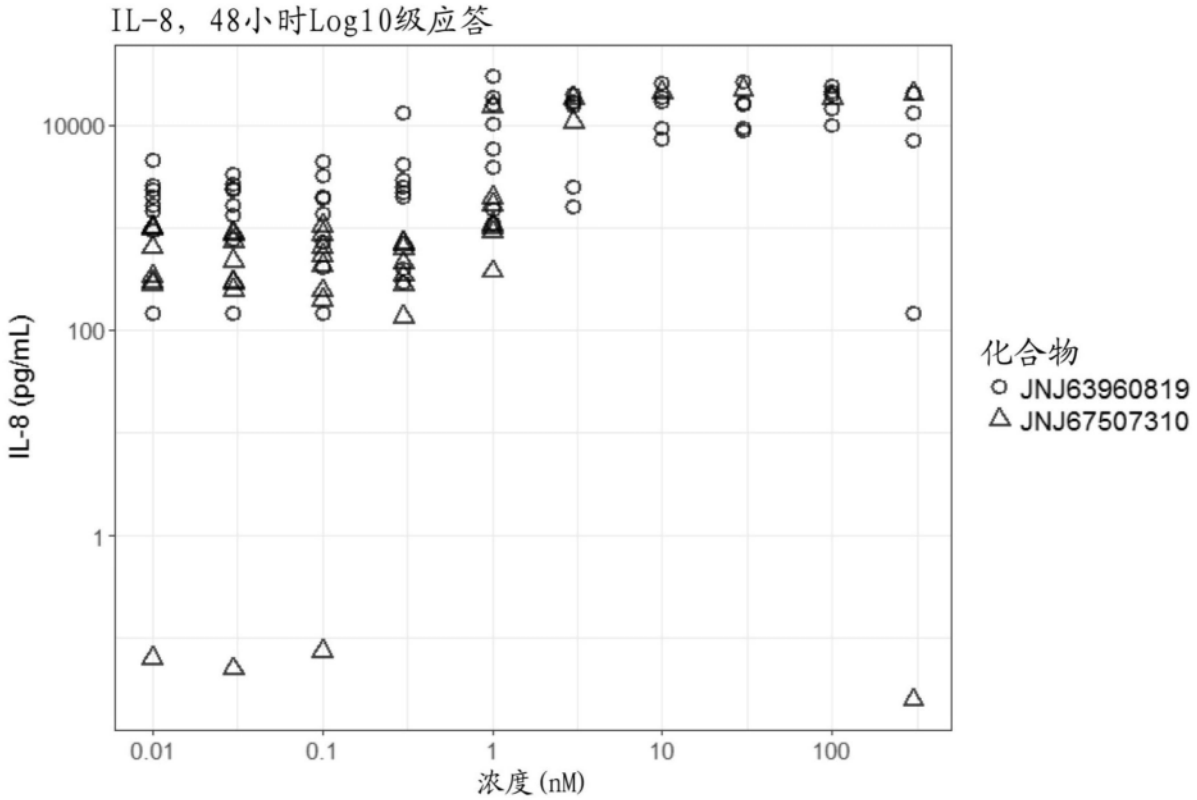
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	-0.948	0.698	0.8438
0.03nM下的差值	-0.875	0.698	0.8982
0.1nM下的差值	-1.071	0.698	0.7261
0.3nM下的差值	-0.811	0.698	0.9349
1nM下的差值	-1.724	0.698	0.1254
3nM下的差值	-0.090	0.698	1.0000
10nM下的差值	0.207	0.698	1.0000
30nM下的差值	-0.061	0.698	1.0000
100nM下的差值	-0.001	0.698	1.0000
300nM下的差值	-1.001	0.698	0.7966

图43



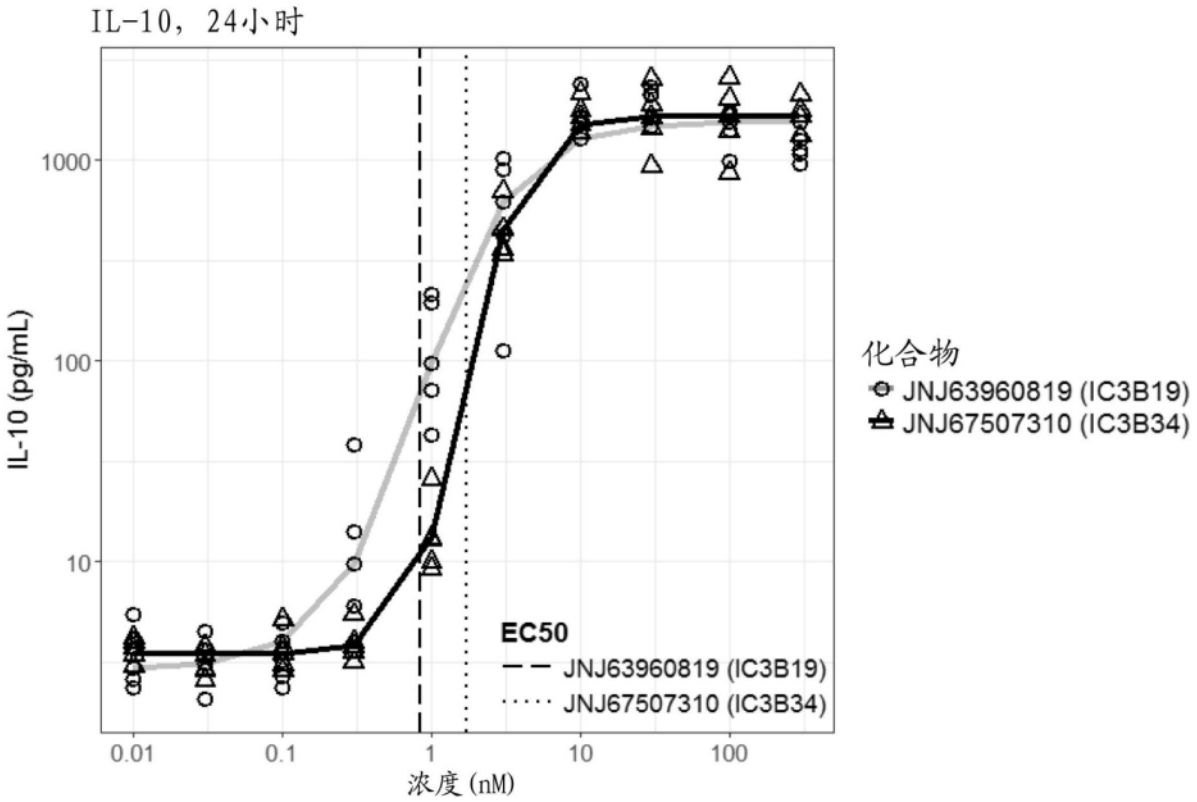
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	-0.285	0.560	0.9985
0.03nM下的差值	-0.349	0.560	0.9927
0.1nM下的差值	-0.512	0.560	0.9192
0.3nM下的差值	-0.299	0.560	0.9977
1nM下的差值	-1.276	0.576	0.1433
3nM下的差值	-0.311	0.621	0.9986
10nM下的差值	0.158	0.649	1.0000
30nM下的差值	0.062	0.649	1.0000
100nM下的差值	0.259	0.649	0.9998
300nM下的差值	0.386	0.649	0.9948

图44



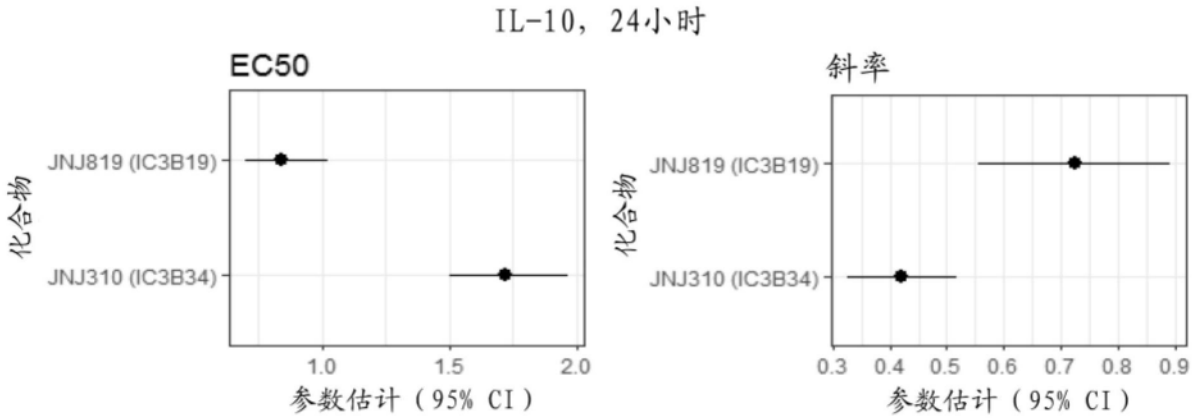
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	-2.073	1.303	0.3365
0.03nM下的差值	-2.198	1.303	0.2873
0.1nM下的差值	-1.972	1.303	0.3811
0.3nM下的差值	-2.753	1.309	0.1302
1nM下的差值	-2.650	1.309	0.1533
3nM下的差值	-0.834	1.419	0.9715
10nM下的差值	-0.880	1.551	0.9766
30nM下的差值	-0.819	1.551	0.9847
100nM下的差值	-1.189	1.551	0.8961
300nM下的差值	-1.909	1.445	0.5029

图45



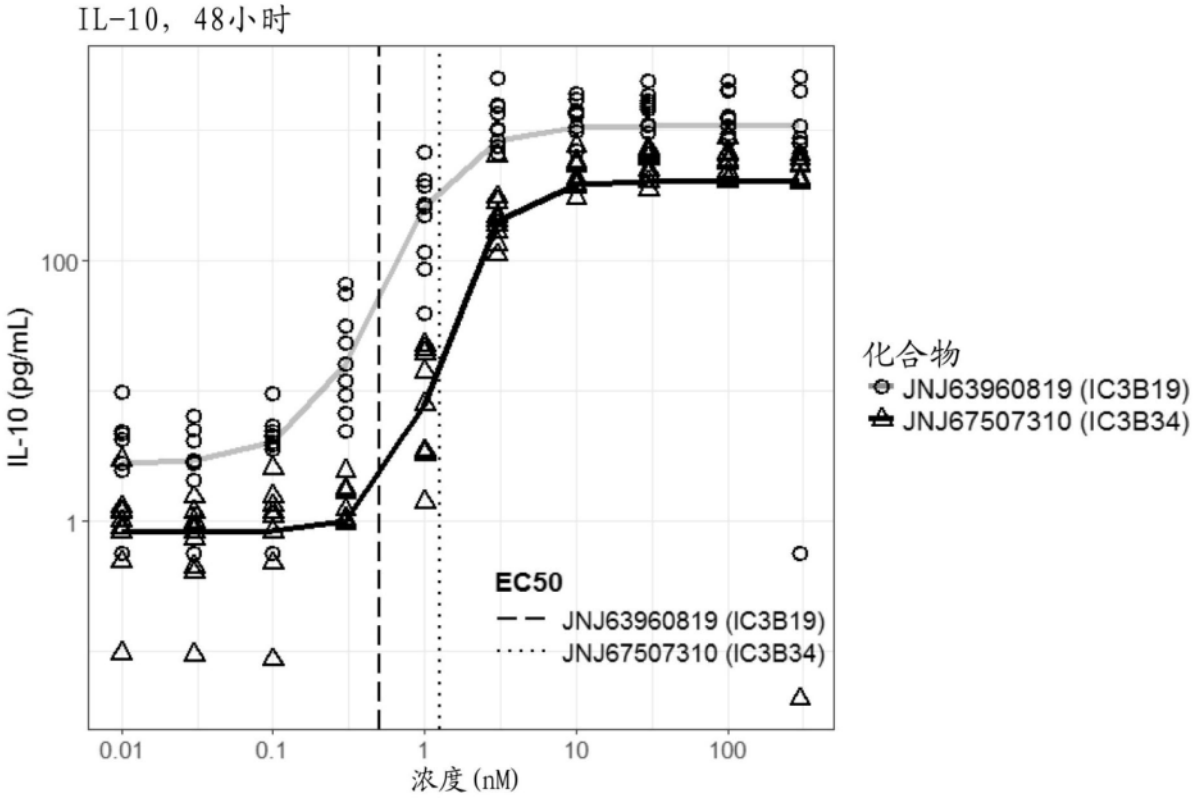
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	0.098	0.325	1.0000
0.03nM下的差值	-0.077	0.325	1.0000
0.1nM下的差值	0.127	0.325	1.0000
0.3nM下的差值	**-0.963**	**0.325**	**0.0293**
1nM下的差值	**-2.09**	**0.325**	**<0.0001**
3nM下的差值	-0.026	0.325	1.0000
10nM下的差值	-0.037	0.325	1.0000
30nM下的差值	-0.245	0.325	0.9967
100nM下的差值	0.098	0.325	1.0000
300nM下的差值	0.375	0.325	0.9308

图46A



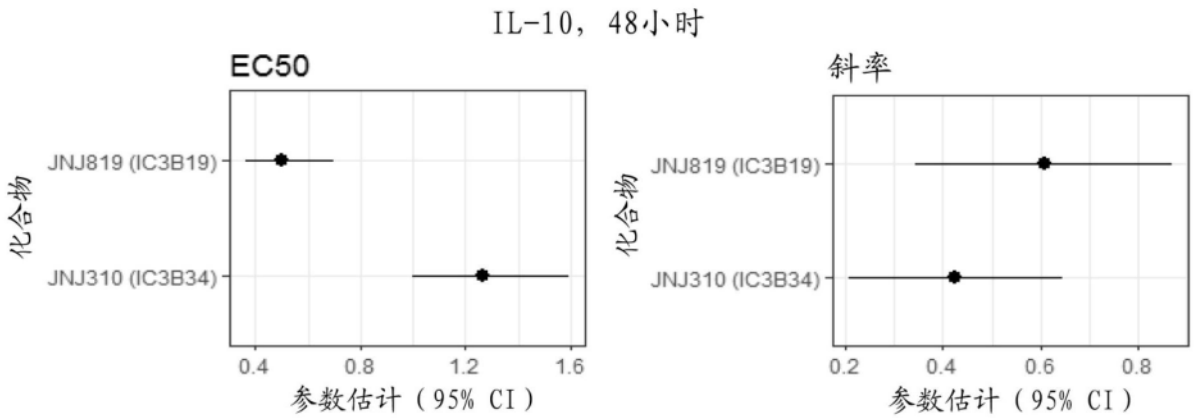
	JNJ819 (IC3B19)	JNJ310 (IC3B34)	p值
EC50	**0.844 (0.698, 1.021)**	**1.718 (1.500, 1.968)**	**<0.0001**
斜率	**0.724 (0.557, 0.892)**	**0.421 (0.325, 0.517)**	**0.0010**
最小值	1.067 (0.775, 1.359)	1.237 (1.020, 1.453)	0.3406
最大值	7.353 (7.070, 7.636)	7.413 (7.140, 7.686)	0.7036

图46B



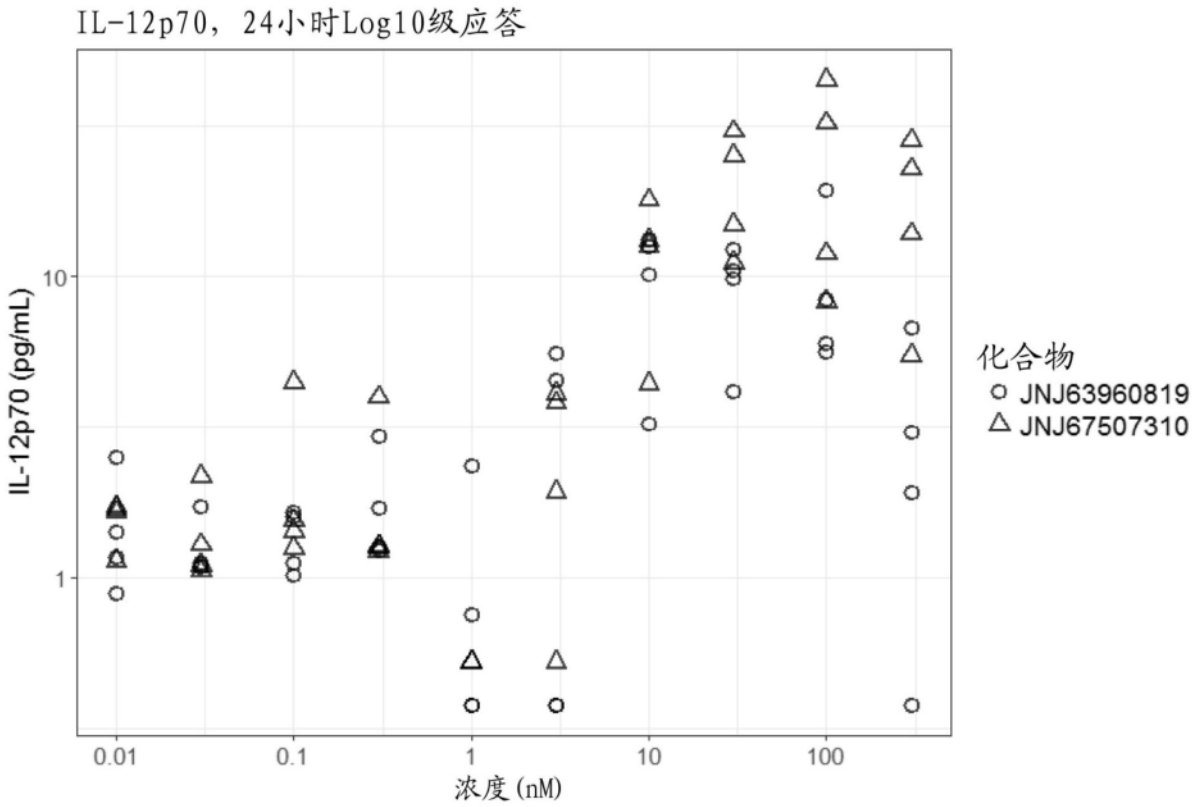
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	-1.404	0.583	0.1405
0.03nM下的差值	-1.391	0.583	0.1484
0.1nM下的差值	-1.472	0.583	0.1043
0.3nM下的差值	**-2.546**	**0.583**	**1e-04**
1nM下的差值	**-3.33**	**0.583**	**<0.0001**
3nM下的差值	**-1.693**	**0.583**	**0.0352**
10nM下的差值	-0.98	0.583	0.5852
30nM下的差值	-1.011	0.583	0.5434
100nM下的差值	-0.898	0.583	0.6952
300nM下的差值	-0.956	0.583	0.6178

图47A



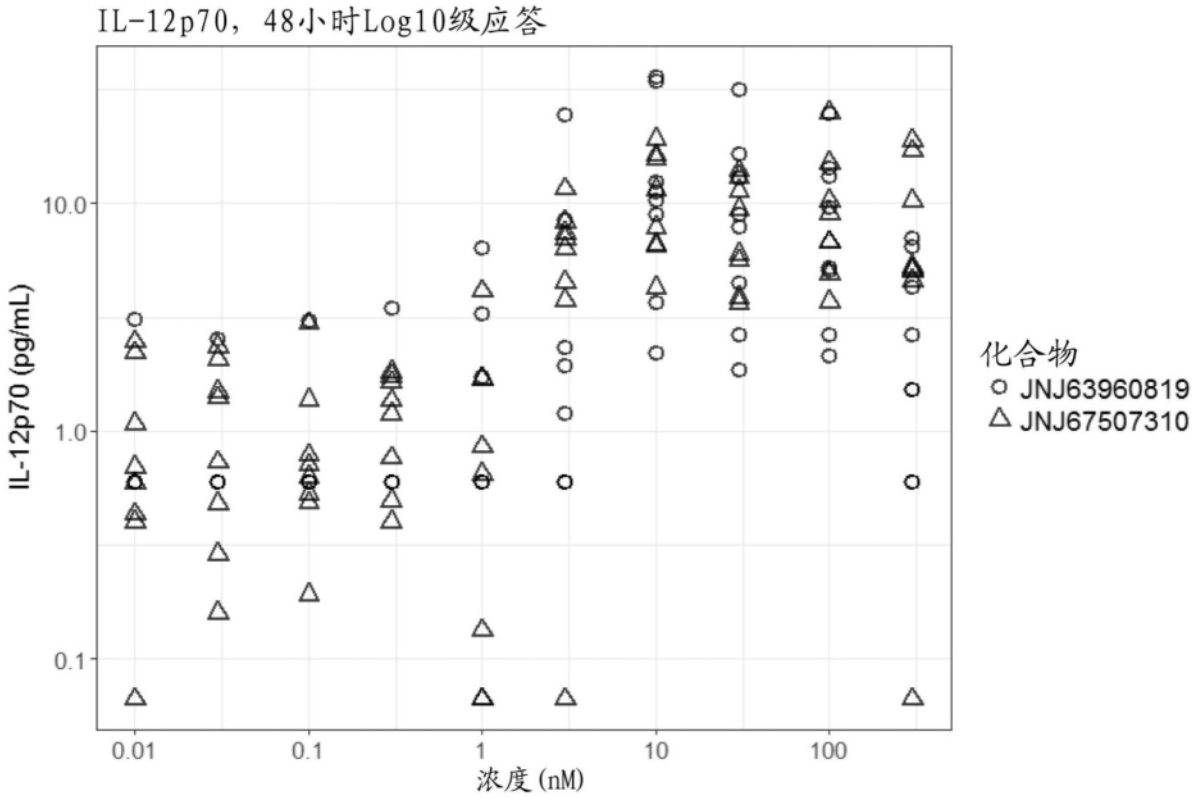
	JNJ819 (IC3B19)	JNJ310 (IC3B34)	p值
EC50	**0.503 (0.362, 0.697)**	**1.263 (1.000, 1.595)**	**<0.0001**
斜率	0.607 (0.344, 0.870)	0.425 (0.206, 0.644)	0.2702
最小值	**1.006 (0.471, 1.540)**	**-0.192 (-0.599, 0.214)**	**0.0011**
最大值	**6.999 (6.459, 7.539)**	**6.004 (5.453, 6.554)**	**0.0004**

图47B



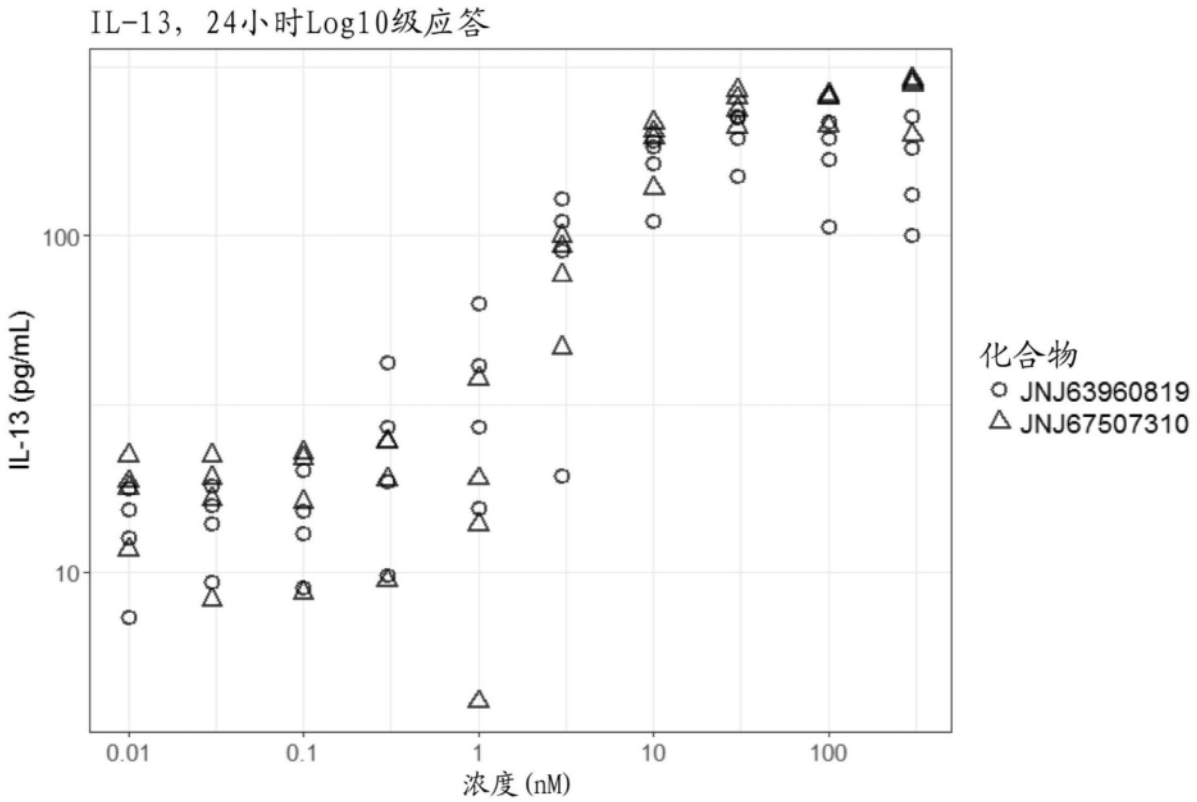
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	0.096	0.485	1.0000
0.03nM下的差值	0.081	0.485	1.0000
0.1nM下的差值	0.351	0.485	0.9953
0.3nM下的差值	0.002	0.485	1.0000
1nM下的差值	-0.302	0.485	0.9986
3nM下的差值	0.369	0.485	0.9931
10nM下的差值	0.216	0.485	0.9999
30nM下的差值	0.792	0.485	0.5672
100nM下的差值	0.814	0.485	0.5321
300nM下的差值	**2.024**	**0.485**	**0.0003**

图48



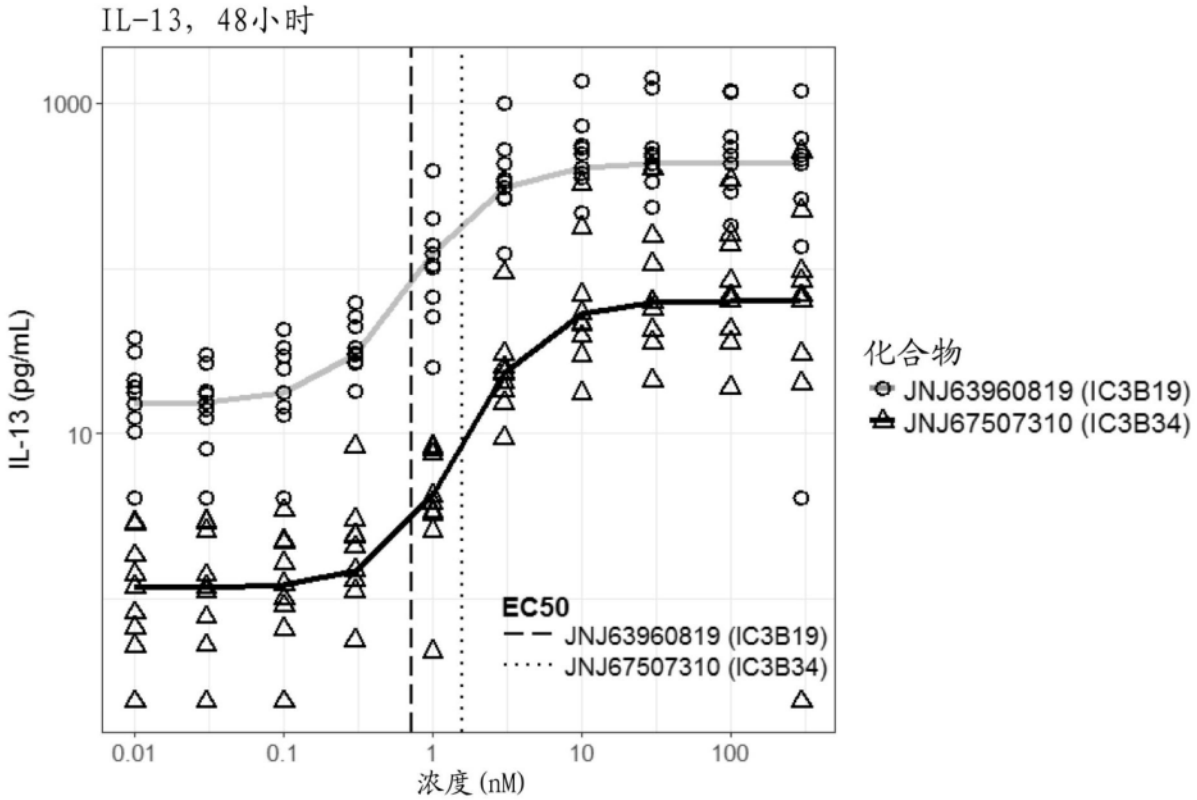
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	-0.140	0.503	1.0000
0.03nM下的差值	0.108	0.503	1.0000
0.1nM下的差值	-0.022	0.503	1.0000
0.3nM下的差值	0.324	0.503	0.9988
1nM下的差值	-0.822	0.503	0.6083
3nM下的差值	0.623	0.503	0.8814
10nM下的差值	-0.059	0.503	1.0000
30nM下的差值	-0.022	0.503	1.0000
100nM下的差值	0.178	0.503	1.0000
300nM下的差值	0.718	0.503	0.7659

图49



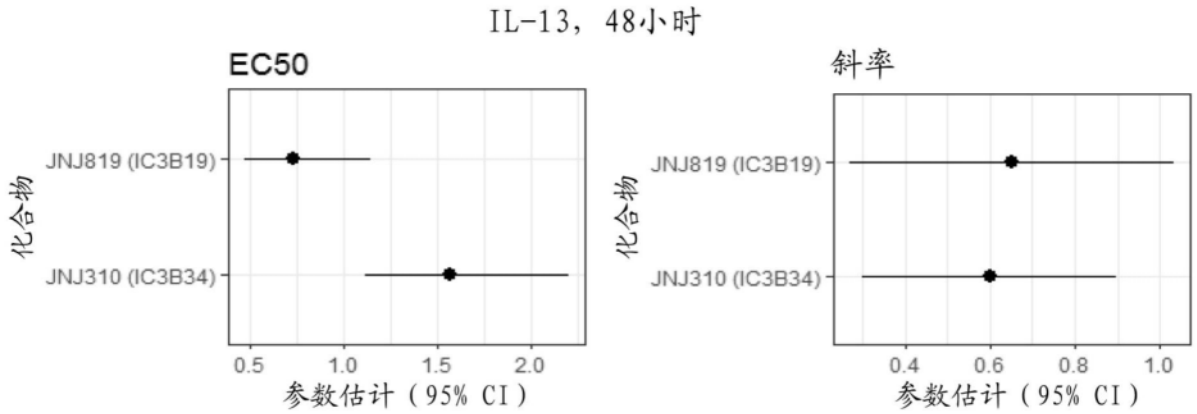
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	0.307	0.312	0.8941
0.03nM下的差值	0.108	0.312	1.0000
0.1nM下的差值	0.161	0.312	0.9985
0.3nM下的差值	-0.170	0.312	0.9978
1nM下的差值	-0.817	0.312	0.0565
3nM下的差值	0.071	0.312	1.0000
10nM下的差值	0.159	0.312	0.9987
30nM下的差值	0.212	0.312	0.9886
100nM下的差值	0.393	0.312	0.7092
300nM下的差值	0.536	0.312	0.3785

图50



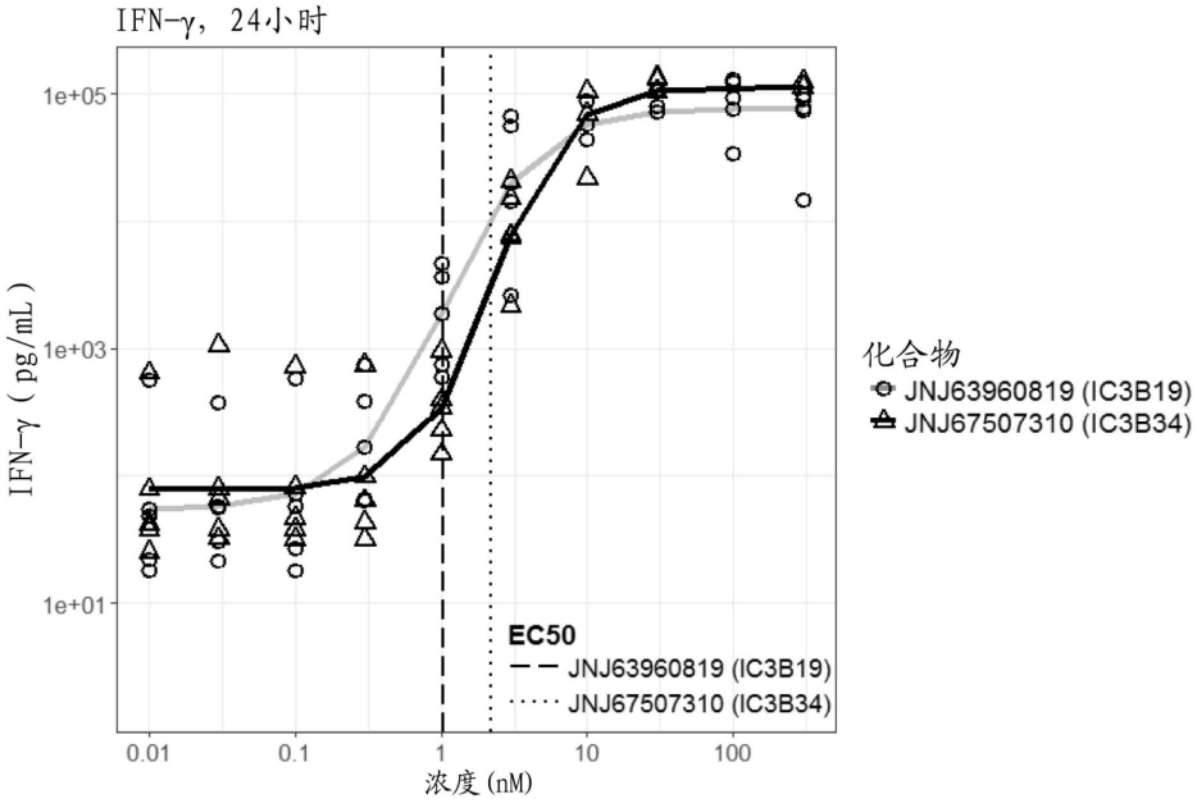
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	**-2.735**	**0.49**	**<0.0001**
0.03nM下的差值	**-2.489**	**0.49**	**<0.0001**
0.1nM下的差值	**-2.726**	**0.49**	**<0.0001**
0.3nM下的差值	**-2.846**	**0.49**	**<0.0001**
1nM下的差值	**-3.337**	**0.49**	**<0.0001**
3nM下的差值	**-2.707**	**0.49**	**<0.0001**
10nM下的差值	**-2.132**	**0.49**	**1e-04**
30nM下的差值	**-2.005**	**0.49**	**4e-04**
100nM下的差值	**-1.869**	**0.49**	**0.0014**
300nM下的差值	**-1.753**	**0.49**	**0.0034**

图51A



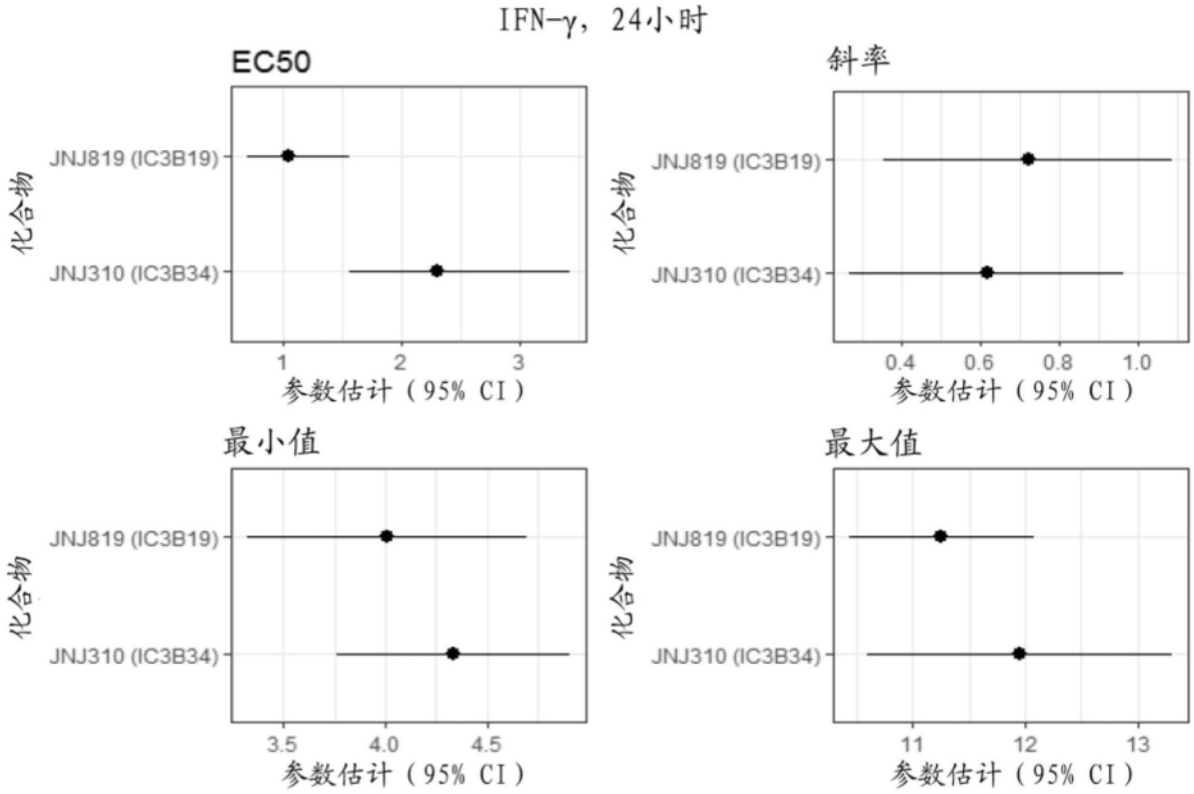
	JNJ819 (IC3B19)	JNJ310 (IC3B34)	p值
EC50	**0.731 (0.467, 1.143)**	**1.564 (1.111, 2.202)**	**0.0106**
斜率	0.651 (0.270, 1.033)	0.599 (0.300, 0.899)	0.8268
最小值	**2.729 (2.341, 3.118)**	**0.162 (-0.165, 0.490)**	**<0.0001**
最大值	**6.077 (5.523, 6.630)**	**4.155 (3.590, 4.721)**	**<0.0001**

图51B



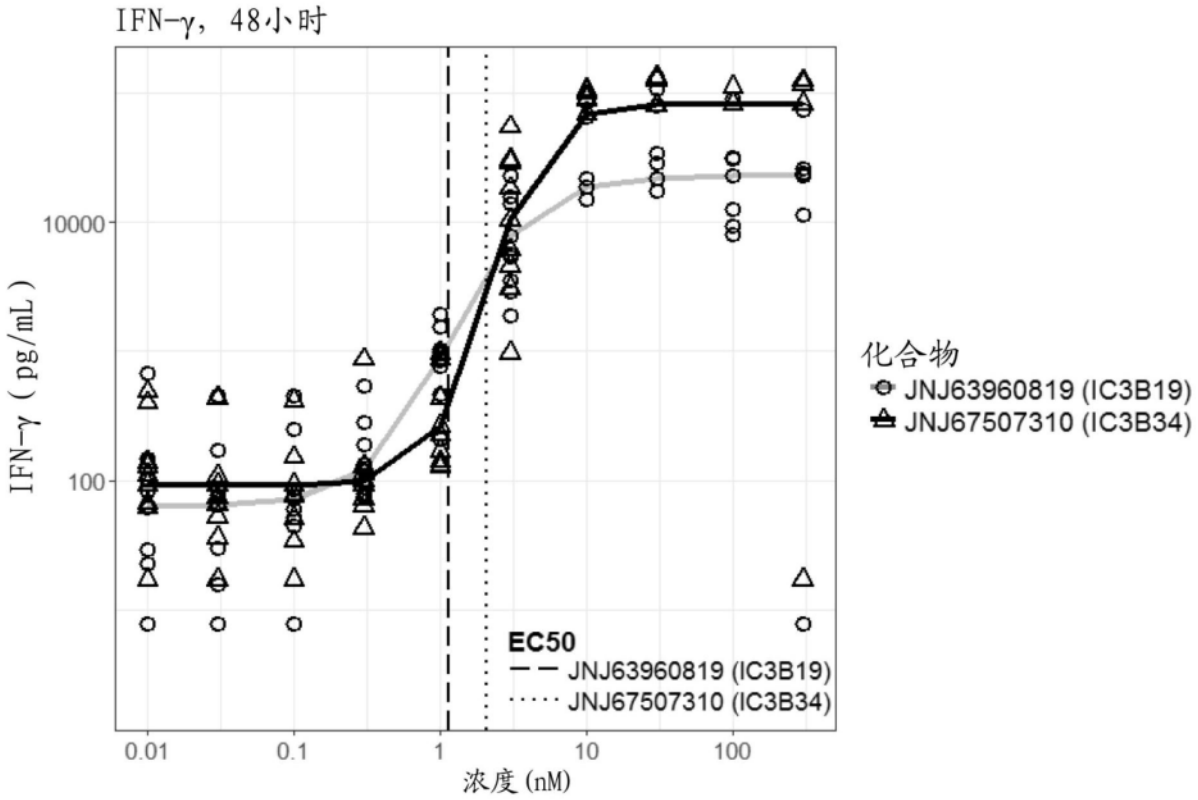
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	0.220	0.927	1.0000
0.03nM下的差值	0.448	0.927	0.9991
0.1nM下的差值	0.225	0.927	1.0000
0.3nM下的差值	-0.735	0.927	0.9718
1nM下的差值	-1.596	0.927	0.4007
3nM下的差值	-0.836	0.927	0.9413
10nM下的差值	-0.060	1.123	1.0000
30nM下的差值	0.538	1.123	0.9992
300nM下的差值	1.510	1.206	0.7439

图52A



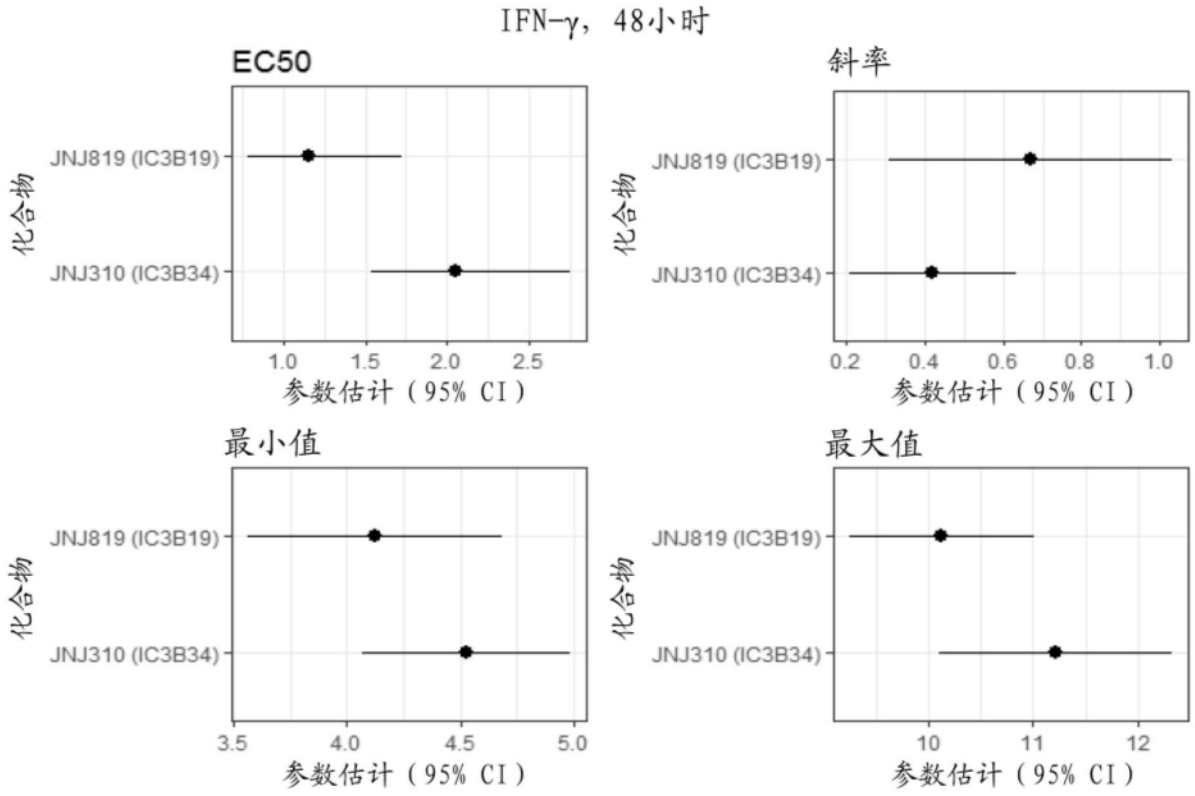
	JNJ819 (IC3B19)	JNJ310 (IC3B34)	p值
EC50	**1.037 (0.693, 1.553)**	**2.304 (1.552, 3.420)**	**0.0065**
斜率	0.722 (0.358, 1.087)	0.617 (0.268, 0.966)	0.6920
最小值	4.007 (3.317, 4.697)	4.335 (3.760, 4.909)	0.4644
最大值	11.258 (10.434, 12.083)	11.952 (10.597, 13.307)	0.3179

图52B



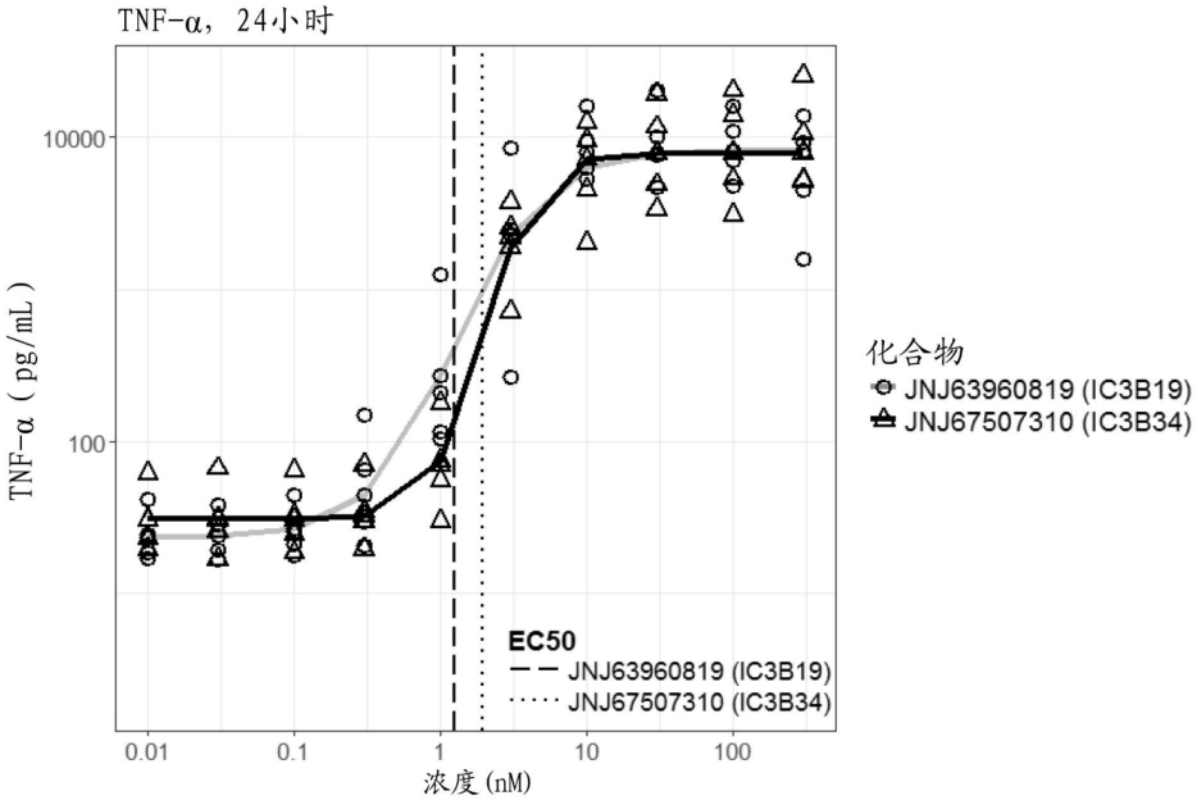
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	0.576	0.699	0.9926
0.03nM下的差值	0.406	0.699	0.9996
0.1nM下的差值	0.034	0.699	1.0000
0.3nM下的差值	-0.329	0.699	0.9999
1nM下的差值	-1.084	0.699	0.6880
3nM下的差值	0.401	0.699	0.9996
10nM下的差值	1.056	0.869	0.9007
30nM下的差值	0.804	0.942	0.9903
100nM下的差值	1.253	1.389	0.9854
300nM下的差值	-0.082	0.922	1.0000

图53A



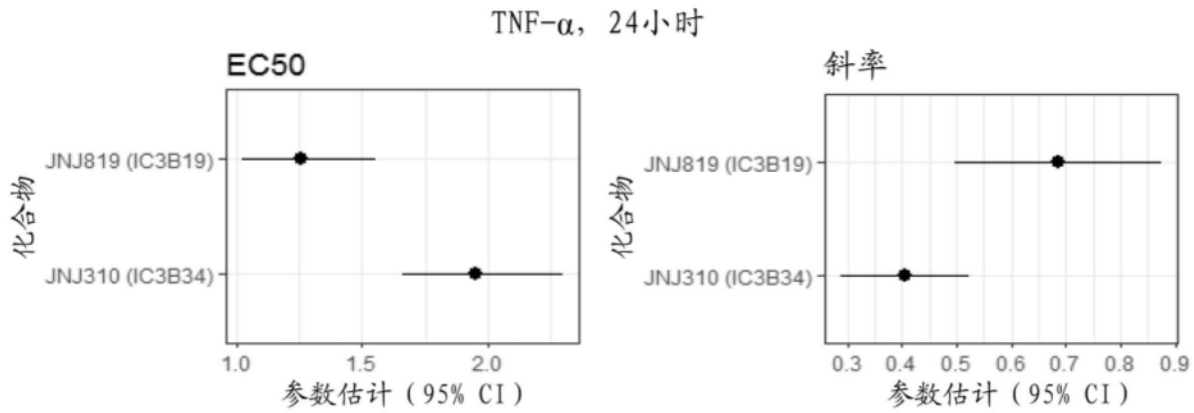
	JNJ819 (IC3B19)	JNJ310 (IC3B34)	p值
EC50	**1.159 (0.779, 1.726)**	**2.056 (1.535, 2.753)**	**0.0266**
斜率	0.671 (0.310, 1.031)	0.420 (0.208, 0.633)	0.1678
最小值	4.123 (3.559, 4.687)	4.527 (4.067, 4.988)	0.2695
最大值	**10.118 (9.235, 11.001)**	**11.218 (10.102, 12.335)**	**0.0319**

图53B



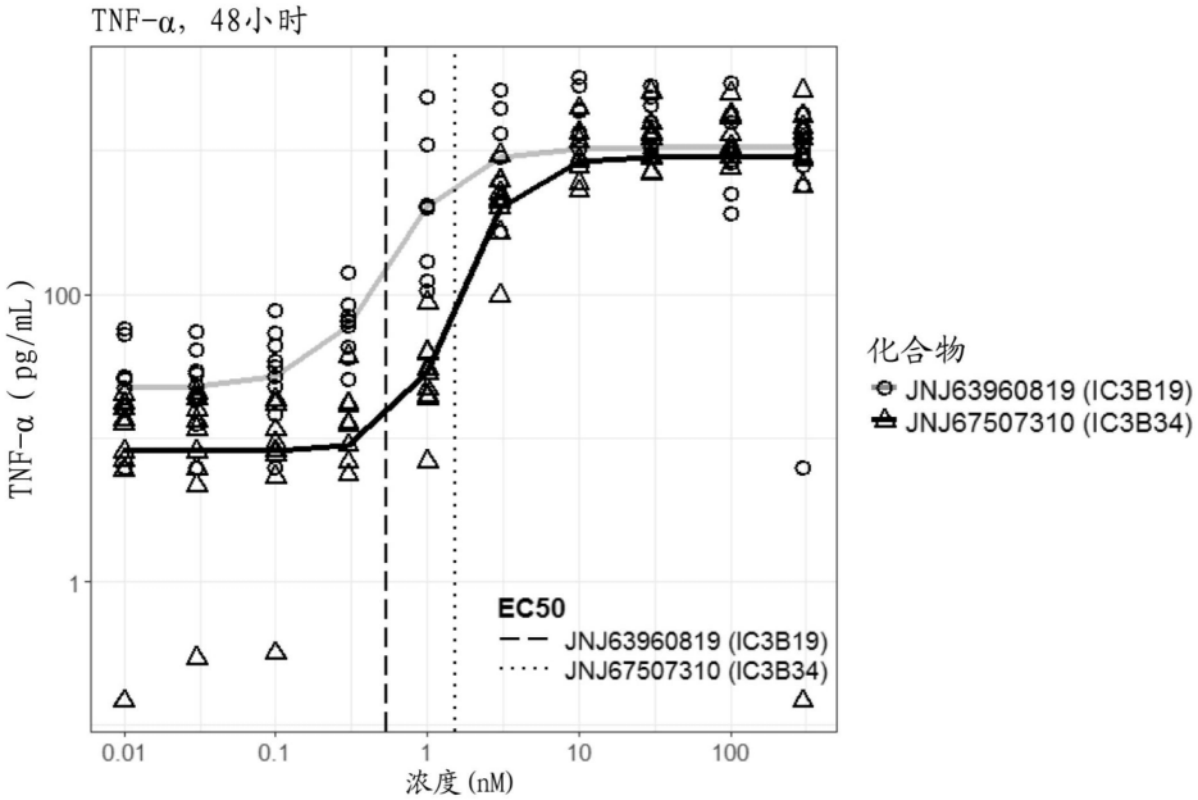
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	0.242	0.53	0.9997
0.03nM下的差值	0.233	0.53	0.9998
0.1nM下的差值	0.203	0.53	0.9999
0.3nM下的差值	-0.362	0.53	0.9918
1nM下的差值	-1.258	0.53	0.1120
3nM下的差值	0.035	0.53	1.0000
10nM下的差值	-0.446	0.53	0.9660
30nM下的差值	-0.175	0.53	1.0000
100nM下的差值	-0.058	0.53	1.0000
300nM下的差值	0.521	0.53	0.9172

图54A



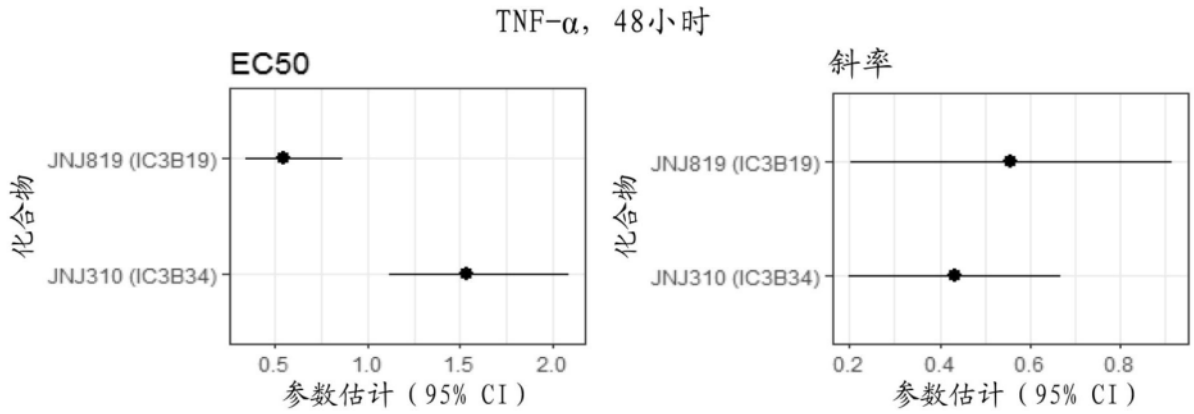
	JNJ819 (IC3B19)	JNJ310 (IC3B34)	p值
EC50	**1.260 (1.022, 1.555)**	**1.952 (1.658, 2.298)**	**0.0016**
斜率	**0.686 (0.495, 0.876)**	**0.405 (0.287, 0.523)**	**0.0128**
最小值	3.151 (2.860, 3.441)	3.425 (3.187, 3.663)	0.1443
最大值	9.019 (8.263, 9.775)	8.973 (8.226, 9.720)	0.7895

图54B



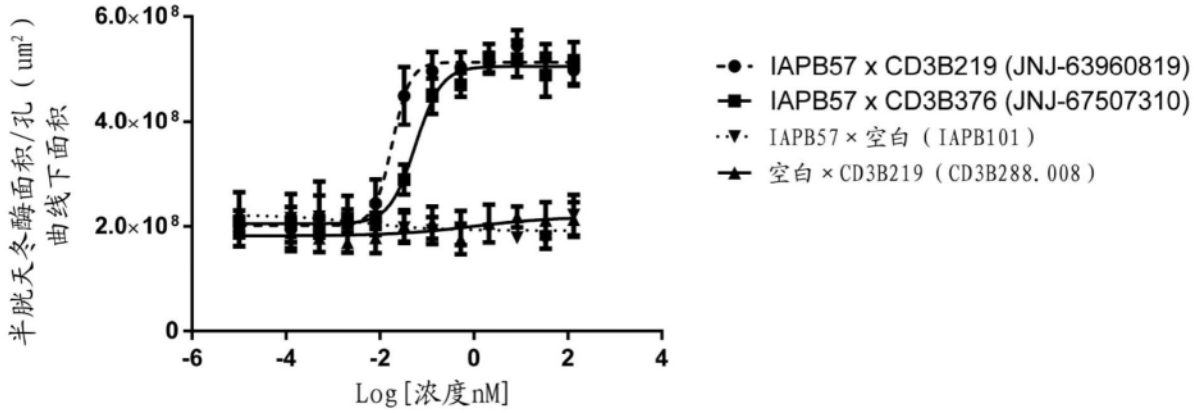
	差值	σ	p值
0.01nM下的差值	-1.21	0.579	0.2840
0.03nM下的差值	-1.099	0.579	0.4088
0.1nM下的差值	-1.365	0.579	0.1560
0.3nM下的差值	-1.471	0.579	0.0982
1nM下的差值	**-2.66**	**0.579**	**<0.0001**
3nM下的差值	-0.718	0.579	0.8826
10nM下的差值	-0.497	0.579	0.9889
30nM下的差值	-0.245	0.579	1.0000
100nM下的差值	0.243	0.579	1.0000
300nM下的差值	-0.33	0.579	0.9996

图55A



	JNJ819 (IC3B19)	JNJ310 (IC3B34)	p值
EC50	**0.546 (0.344, 0.866)**	**1.530 (1.122, 2.087)**	**0.0004**
斜率	0.558 (0.202, 0.915)	0.433 (0.197, 0.668)	0.5553
最小值	**3.116 (2.628, 3.604)**	**2.083 (1.699, 2.467)**	**0.0043**
最大值	6.973 (6.431, 7.515)	6.807 (6.248, 7.365)	0.5216

图55B



	IL1RAP亲和力（nM）	细胞毒性EC_{50}（nM）
JNJ-63960819	0.04	0.018
JNJ-67507310	0.02	0.057

图56

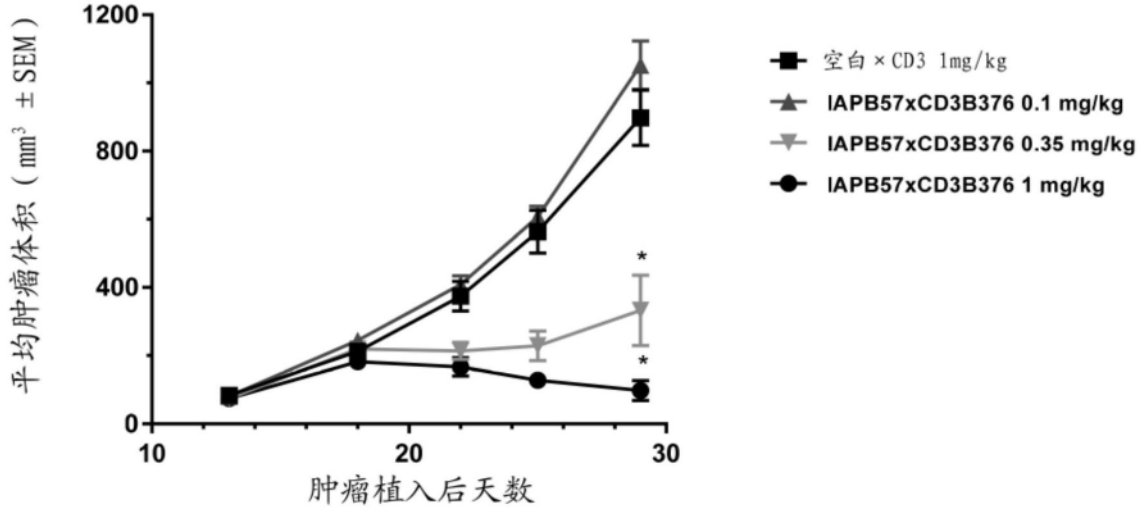

1200
800
400
0
10
20
30
平均肿瘤体积（mm³ ±SEM）
肿瘤植入后天数
空白×CD3 1mg/kg
IAPB57xCD3B376 0.1 mg/kg
IAPB57xCD3B376 0.35 mg/kg
IAPB57xCD3B376 1 mg/kg
*
*

图57

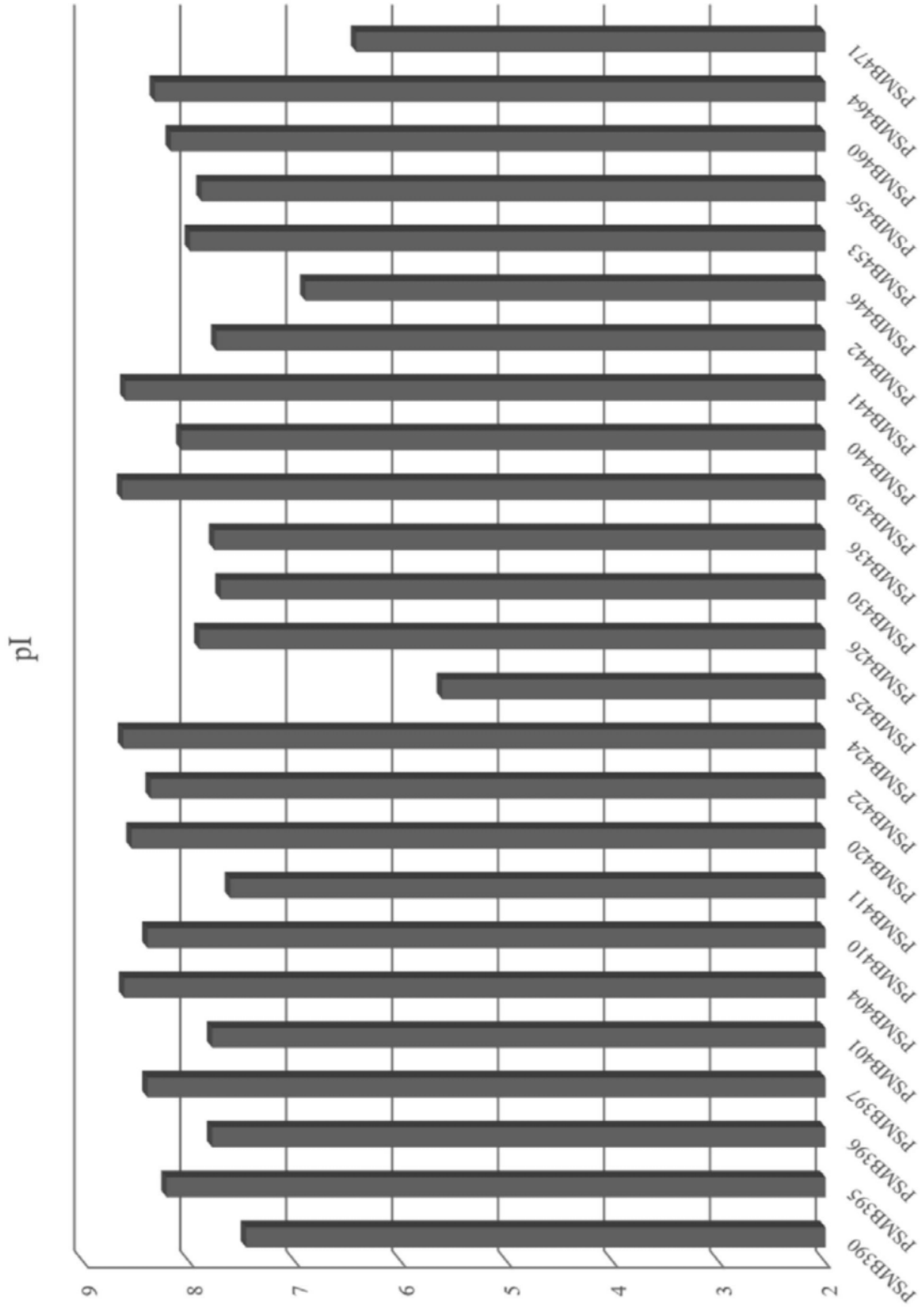

pI
9
8
7
6
5
4
3
2
PSMB471
PSMB464
PSMB460
PSMB456
PSMB453
PSMB446
PSMB442
PSMB441
PSMB440
PSMB439
PSMB436
PSMB430
PSMB426
PSMB425
PSMB424
PSMB422
PSMB420
PSMB411
PSMB410
PSMB404
PSMB401
PSMB397
PSMB396
PSMB395
PSMB390

图58

	mAb
1	PSMB390.001
2	PSMB395.001
3	PSMB396.001
4	PSMB397.001
5	PSMB401.001
6	PSMB404.001
7	PSMB410.001
8	PSMB411.001
9	PSMB420.001
10	PSMB422.001
11	PSMB424.001
12	PSMB425.001
13	PSMB426.001
14	PSMB430.001
15	PSMB436.001
16	PSMB439.001
17	PSMB440.001
18	PSMB441.001
19	PSMB442.001
20	PSMB446.001
21	PSMB453.001
22	PSMB456.001
23	PSMB460.001
24	PSMB464.001
25	PSMB471.001
26	NISTmAb
27	CNTO5825
28	CNTO607

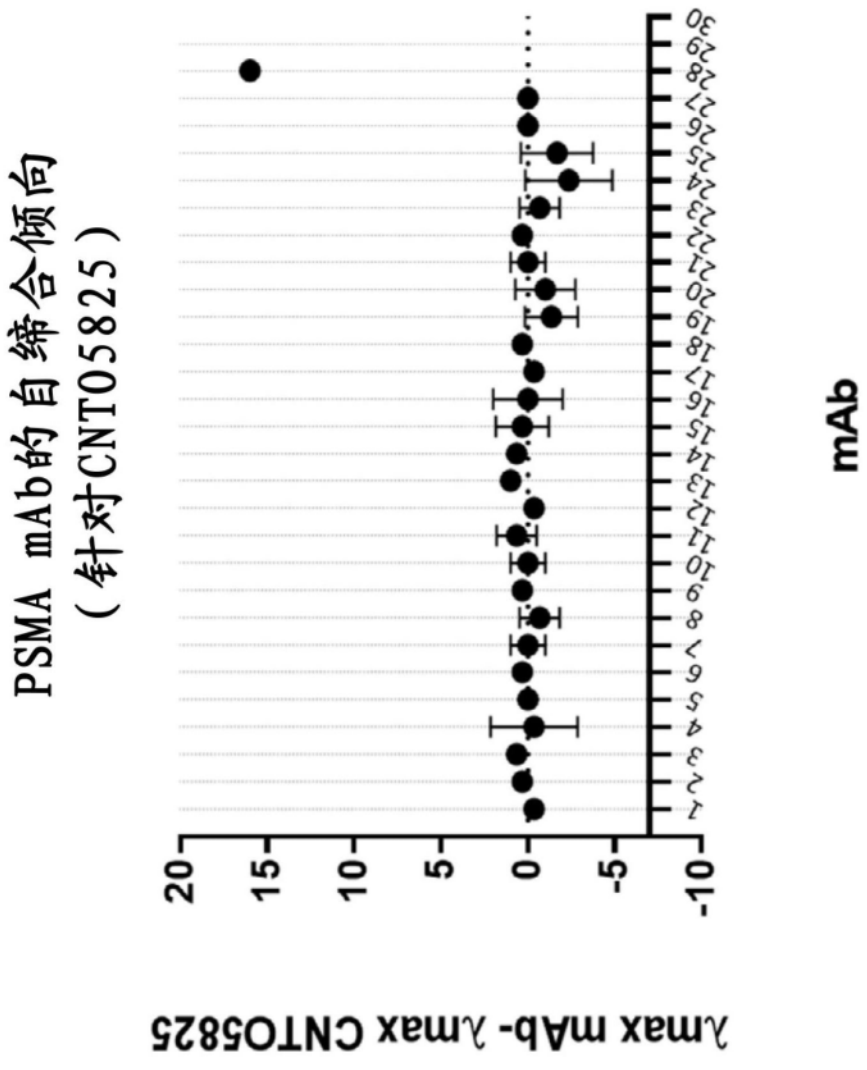


图59

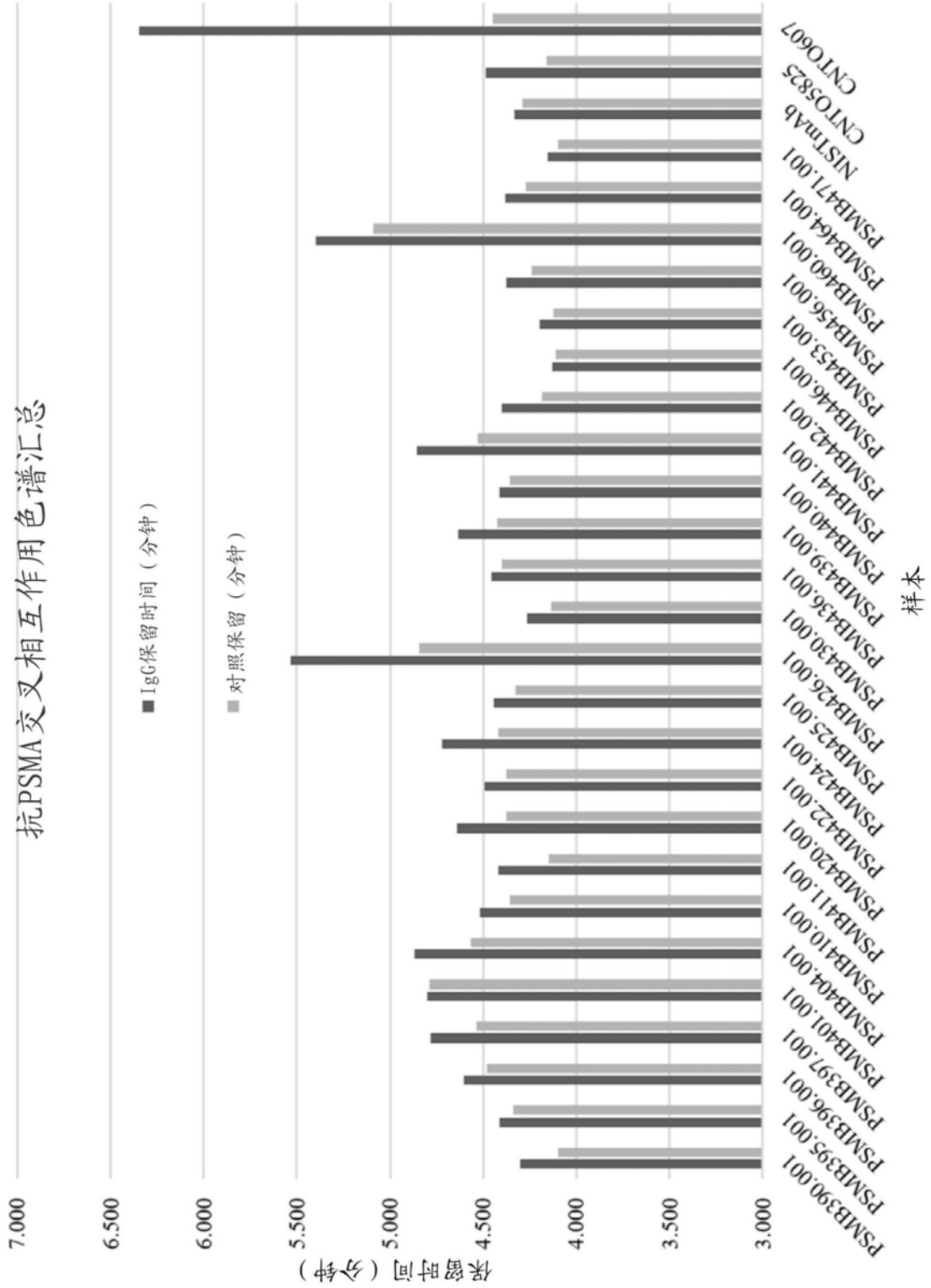

抗PSMA交叉相互作用色谱汇总
IgG保留时间（分钟）
对照保留（分钟）
保留时间（分钟）
7.000
6.500
6.000
5.500
5.000
4.500
4.000
3.500
3.000
样本
PSMB390.001
PSMB395.001
PSMB396.001
PSMB397.001
PSMB401.001
PSMB404.001
PSMB410.001
PSMB411.001
PSMB420.001
PSMB422.001
PSMB424.001
PSMB425.001
PSMB426.001
PSMB430.001
PSMB436.001
PSMB439.001
PSMB440.001
PSMB441.001
PSMB442.001
PSMB446.001
PSMB453.001
PSMB456.001
PSMB460.001
PSMB464.001
PSMB471.001
NISTmAb
CNTO5825
CNTO607

图60

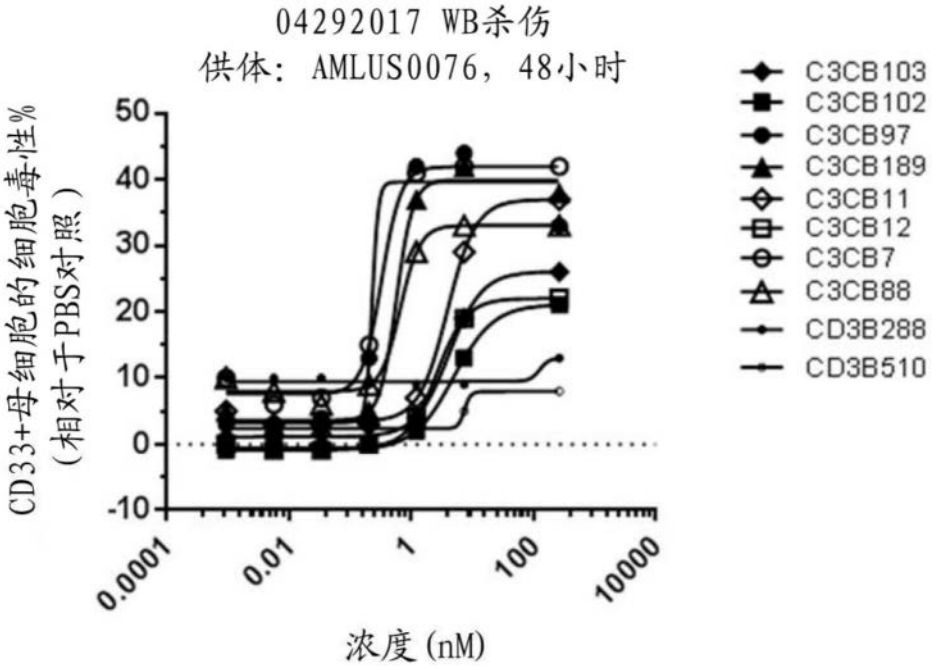

04292017 WB杀伤
供体: AMLUS0076, 48小时
CD33+母细胞的细胞毒性%
(相对于PBS对照)
50
40
30
20
10
0
-10
0.0001
0.01
1
100
10000
浓度(nM)
C3CB103
C3CB102
C3CB97
C3CB189
C3CB11
C3CB12
C3CB7
C3CB88
CD3B288
CD3B510

图61A

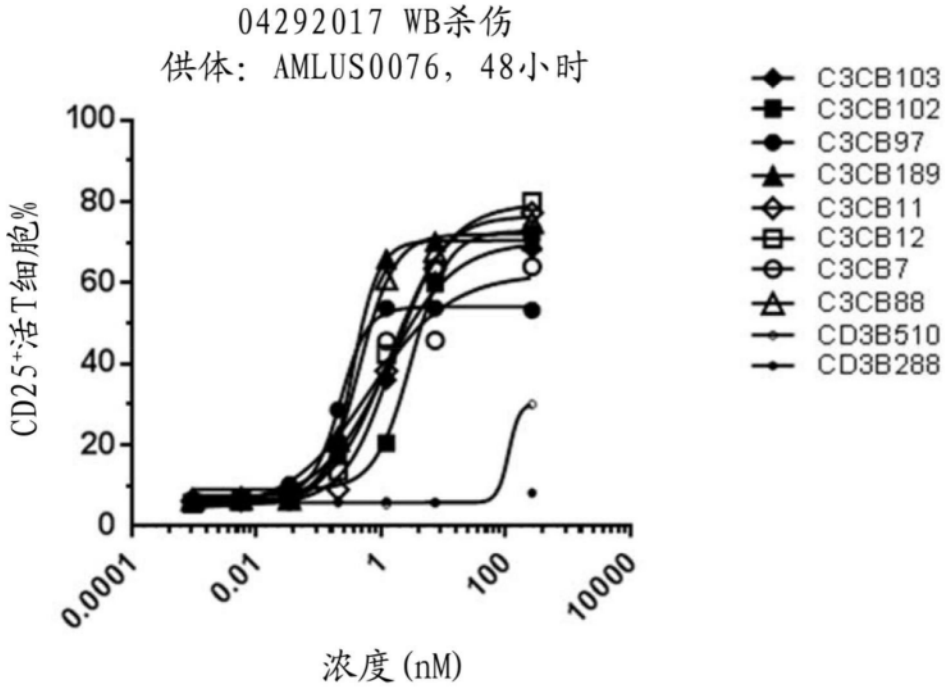

04292017 WB杀伤
供体: AMLUS0076, 48小时
CD25+活T细胞%
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.01
1
100
10000
浓度(nM)
C3CB103
C3CB102
C3CB97
C3CB189
C3CB11
C3CB12
C3CB7
C3CB88
CD3B510
CD3B288

图61B

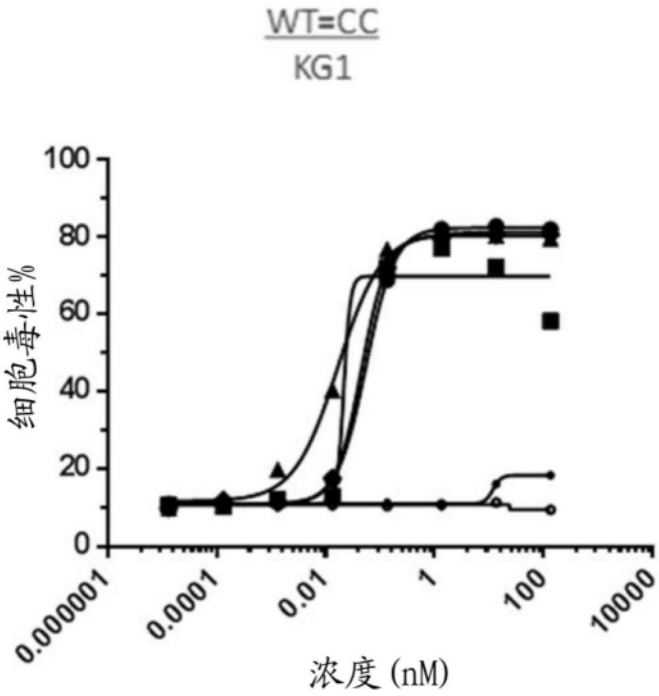

WT=CC
KG1
100
80
60
40
20
0
细胞毒性%
0.000001
0.0001
0.01
1
100
10000
浓度(nM)

图62A

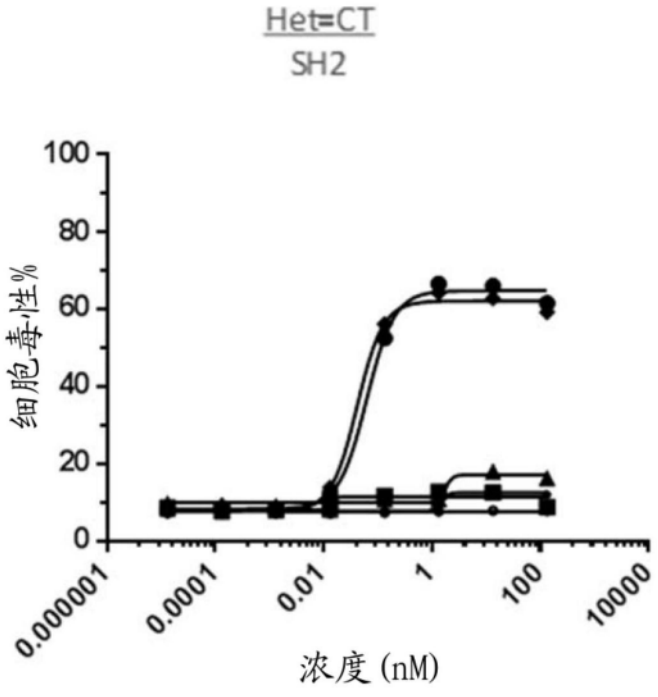

Het=CT
SH2
100
80
60
40
20
0
细胞毒性%
0.000001
0.0001
0.01
1
100
10000
浓度(nM)

图62B

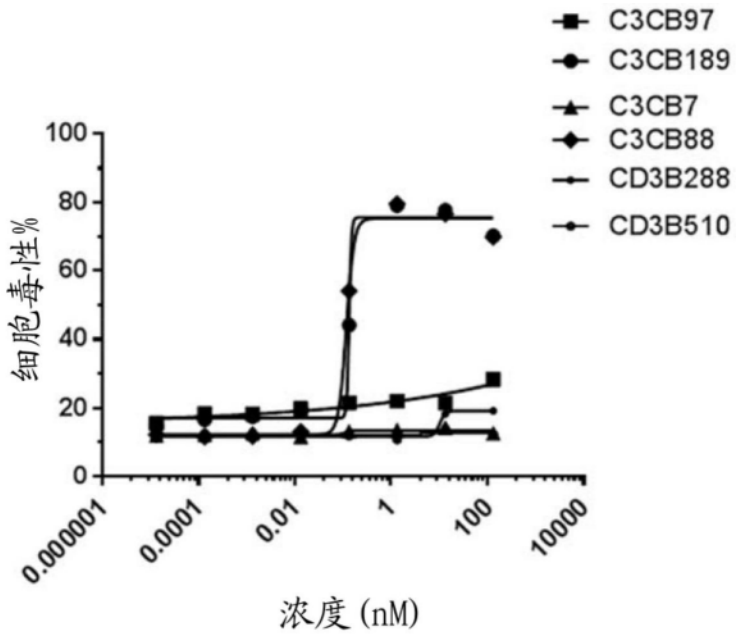

C3CB97
C3CB189
C3CB7
C3CB88
CD3B288
CD3B510
细胞毒性%
100
80
60
40
20
0
0.000001
0.0001
0.01
1
100
10000
浓度(nM)

图62C

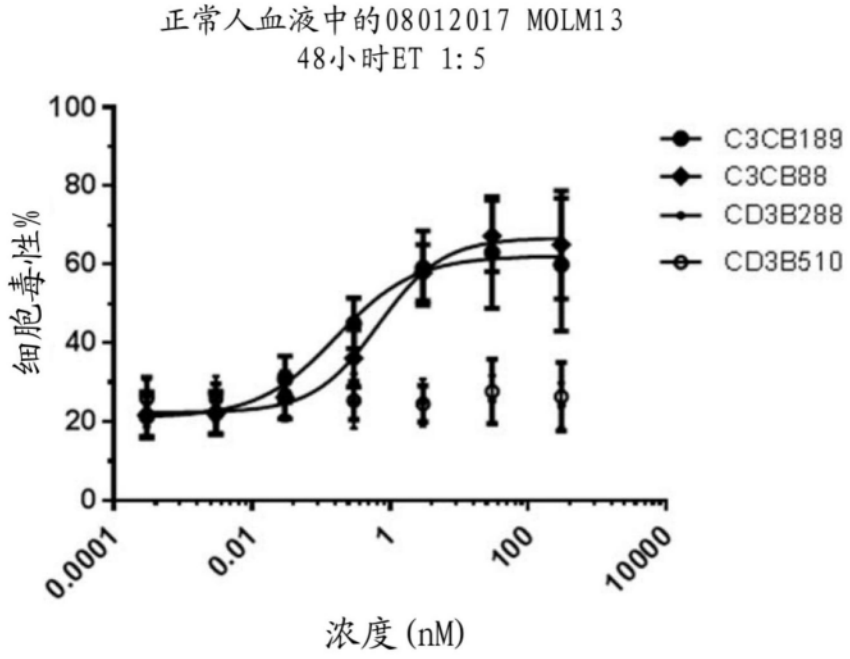

正常人血液中的08012017 MOLM13
48小时ET 1:5
C3CB189
C3CB88
CD3B288
CD3B510
细胞毒性%
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.01
1
100
10000
浓度(nM)

图63A

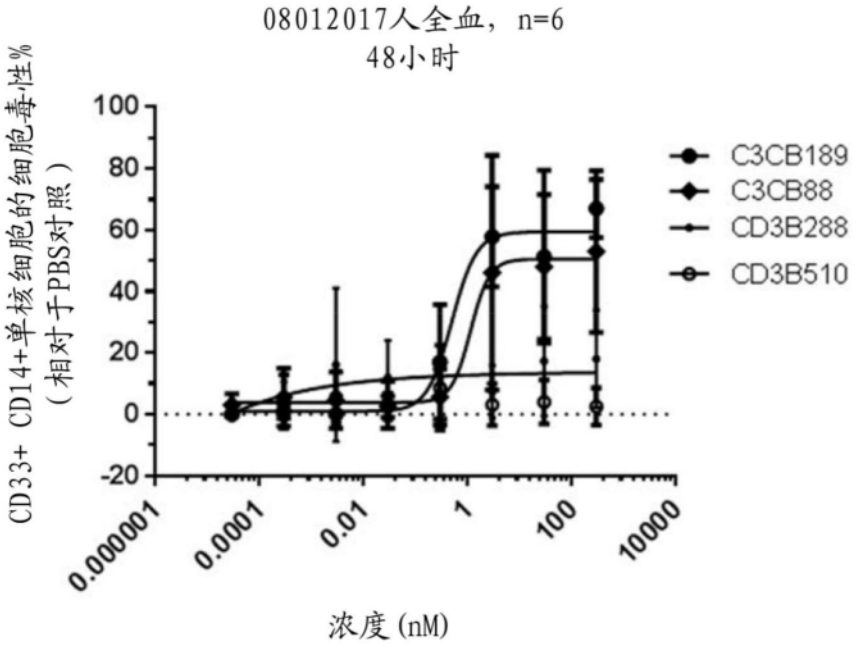

08012017人全血，n=6
48小时
CD33+ CD14+单核细胞的细胞毒性%
（相对于PBS对照）
100
80
60
40
20
0
-20
0.000001
0.0001
0.01
1
100
10000
浓度(nM)
C3CB189
C3CB88
CD3B288
CD3B510

图63B

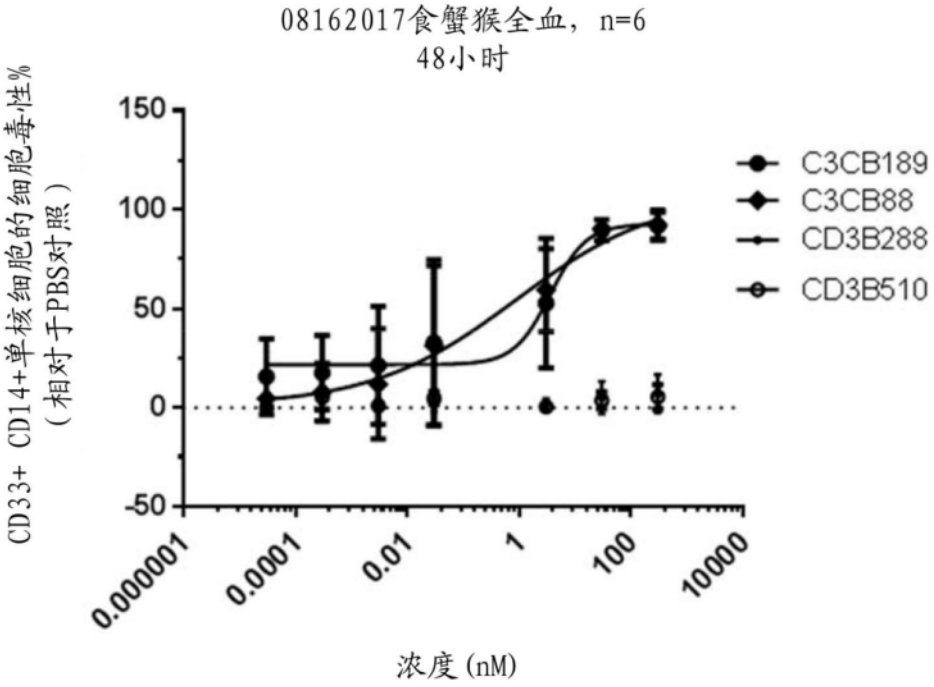

08162017食蟹猴全血，n=6
48小时
CD33+ CD14+单核细胞的细胞毒性%
（相对于PBS对照）
150
100
50
0
-50
0.000001
0.0001
0.01
1
100
10000
浓度(nM)
C3CB189
C3CB88
CD3B288
CD3B510

图64A

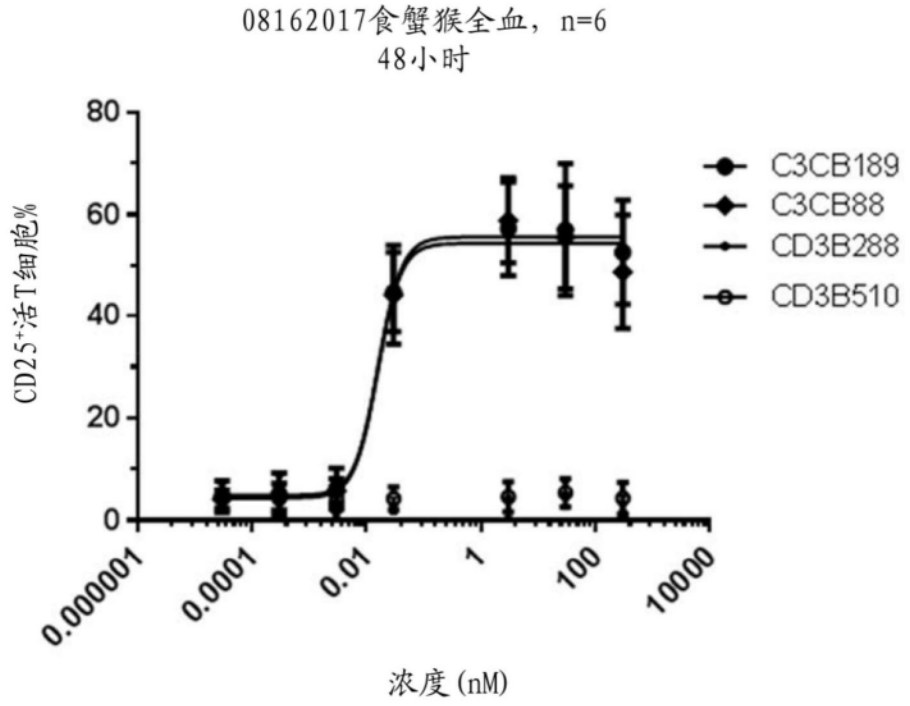

08162017食蟹猴全血，n=6
48小时
CD25+活T细胞%
80
60
40
20
0
0.000001
0.0001
0.01
1
100
10000
浓度(nM)
C3CB189
C3CB88
CD3B288
CD3B510

图64B

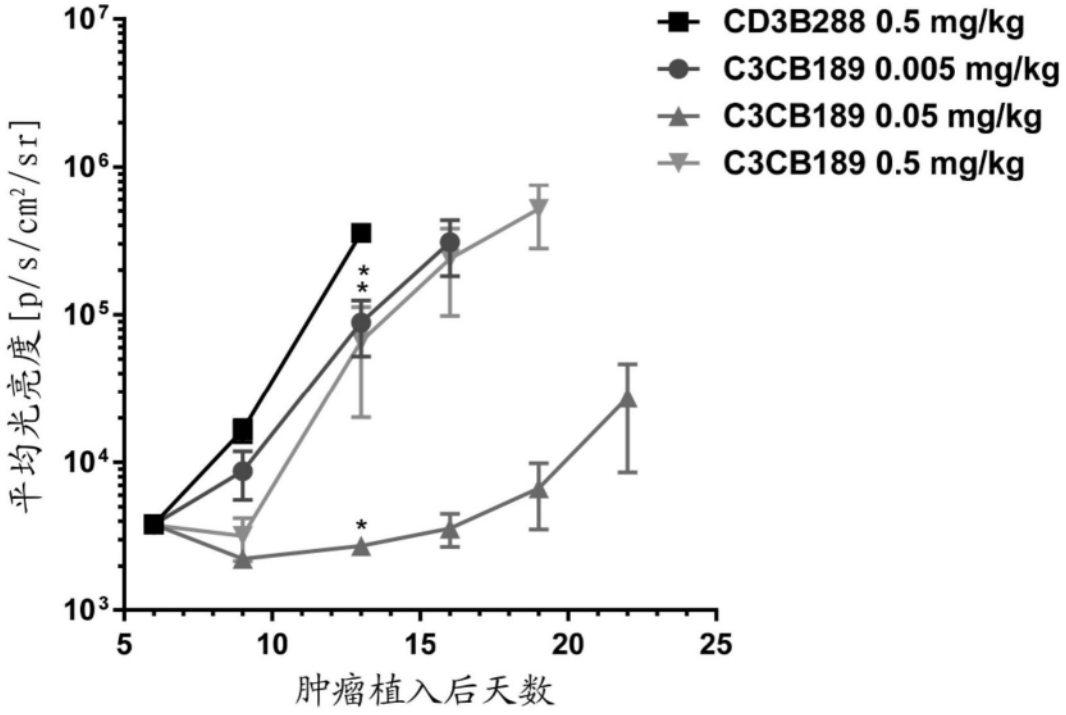

平均光亮度[p/s/cm²/sr]
10⁷
10⁶
10⁵
10⁴
10³
5
10
15
20
25
肿瘤植入后天数
CD3B288 0.5 mg/kg
C3CB189 0.005 mg/kg
C3CB189 0.05 mg/kg
C3CB189 0.5 mg/kg

图65

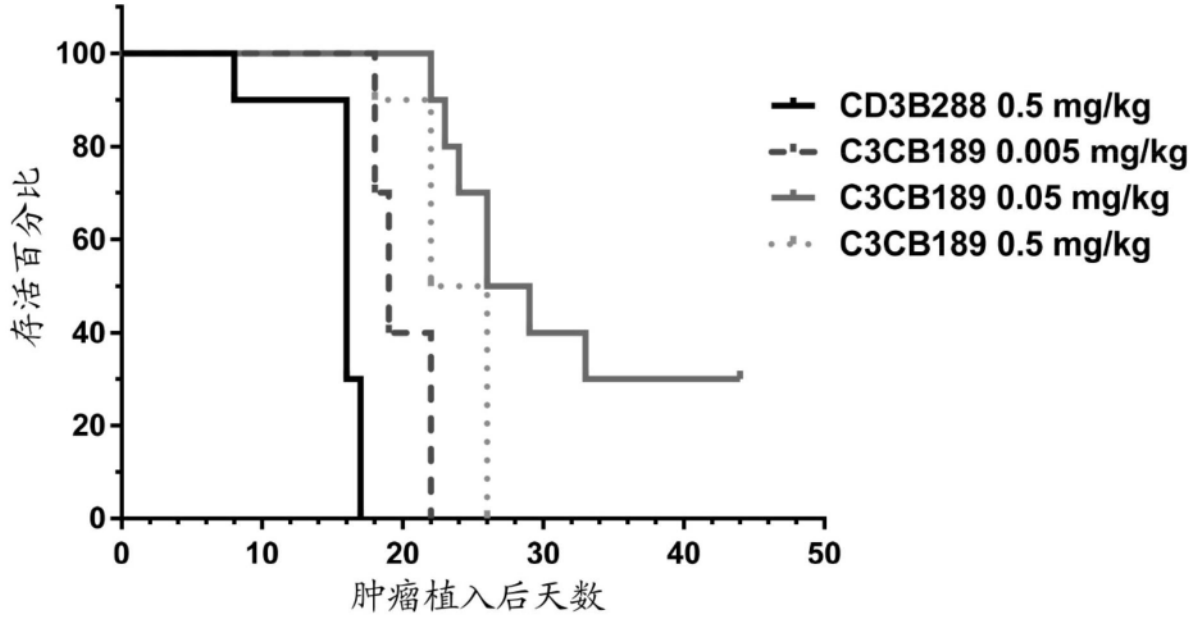

100
80
60
40
20
0
存活百分比
0
10
20
30
40
50
肿瘤植入后天数
CD3B288 0.5 mg/kg
C3CB189 0.005 mg/kg
C3CB189 0.05 mg/kg
C3CB189 0.5 mg/kg

图66

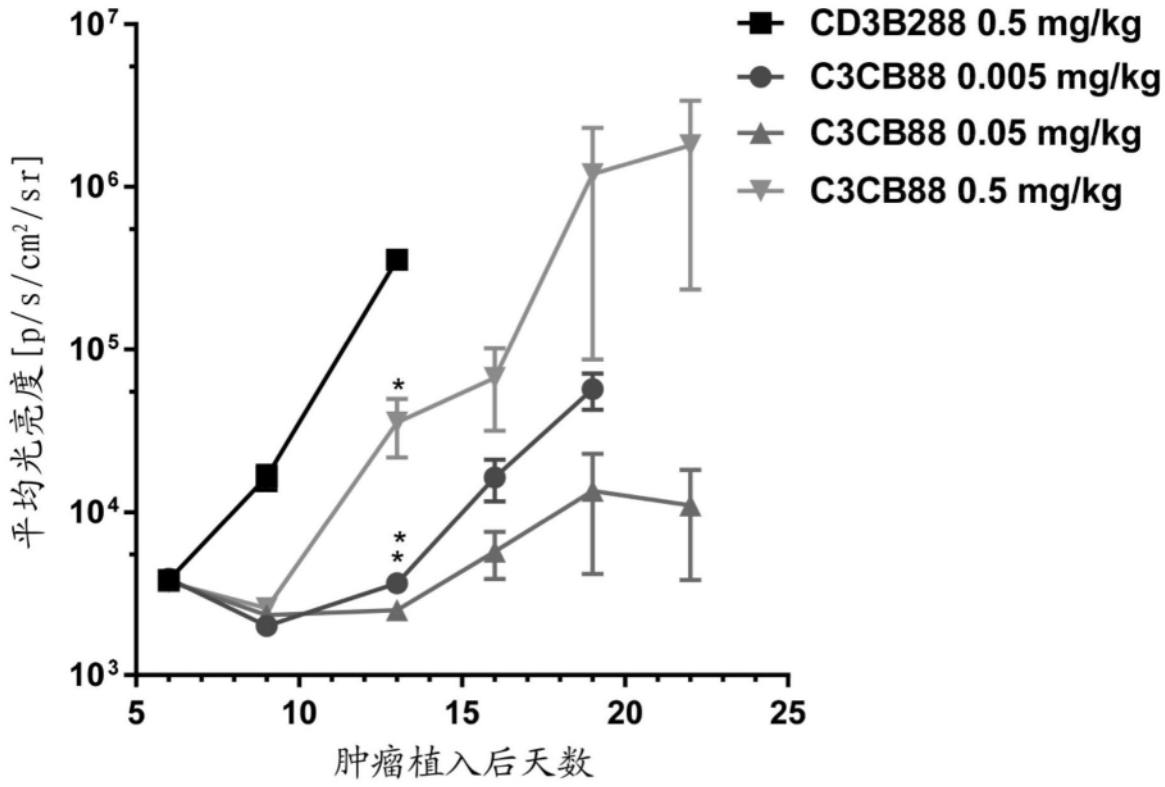

10^7
10^6
10^5
10^4
10^3
平均光亮度[p/s/cm²/sr]
5
10
15
20
25
肿瘤植入后天数
*
**
CD3B288 0.5 mg/kg
C3CB88 0.005 mg/kg
C3CB88 0.05 mg/kg
C3CB88 0.5 mg/kg

图67

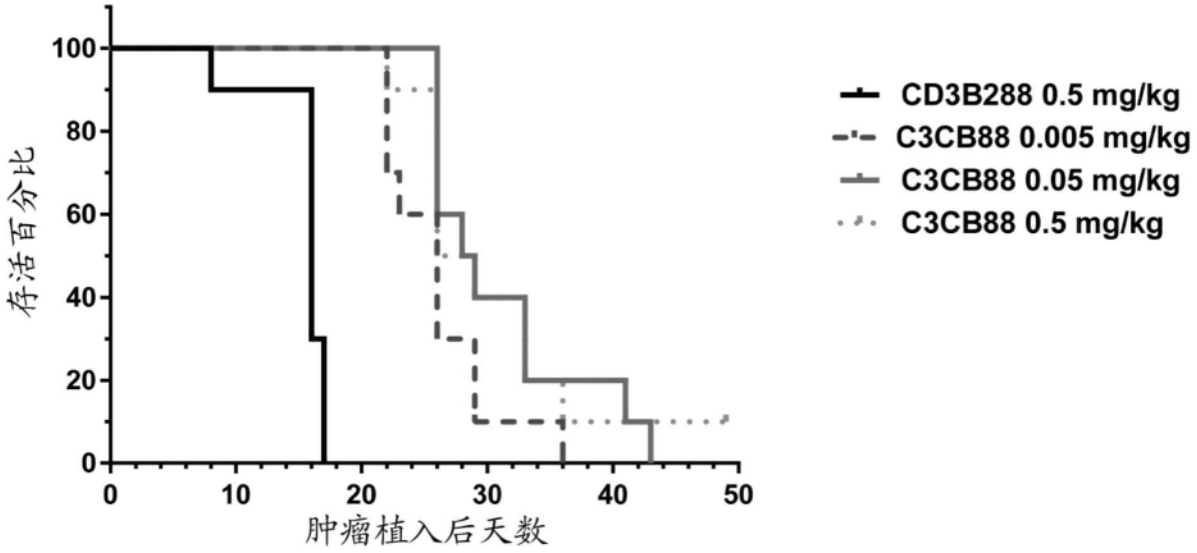


图68

```
25              EVQLLESGGGLVQR-GGSLRPSCAASGFTFS
27              EVQLLESGGGLVQPPGGSLRLSCAASGFTFS
87              EVQLLESGGGLVQP-GGSLRLSCAASGFTFS
89              EVQLLESGGGLVQP-GGSLRLSCAASGFTFS
                ************  ***** **********


25              SYSMSWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGFTDY
27              SYSMSWVRQAPGKGLEWVSVISGGGSFTSY
87              SYSMSWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGFTDY
89              SYSMSWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGFTDY
                ************************.*.**.*


25              ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAED
27              ADSVKGRFTISRDNSNNTLYLQMSSLRAED
87              ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED
89              ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAED
                ***************:*****:*.******


25              TAVYYCARMPLNSPHDYWGQGTLVTVSS
27              TAFYYCARMPLNSPHDCWGQGTLVTVSS
87              TAVYYCARMPLNSPHDYWGQGTLVTVSS
89              TAVYYCARMPLNSPHDYWGQGTLVTVSS
                **.************ ***********
```

图69

```
28          AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIR
30          AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIR
88          DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIR
90          AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIR
             ****************************


28          NDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
30          NDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
88          NDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
90          NDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
            ****************************

28          RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQ
30          RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQ
88          RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQ
90          RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQ
            ****************************

28          DYNYALTFGGGTKVEIK
30          DYNYSLTFGGGTKVEIR
88          DYNYPLTFGGGTKVEIK
90          DYNYPLTFGGGTKVEIK
            ****.***********:
```

图70

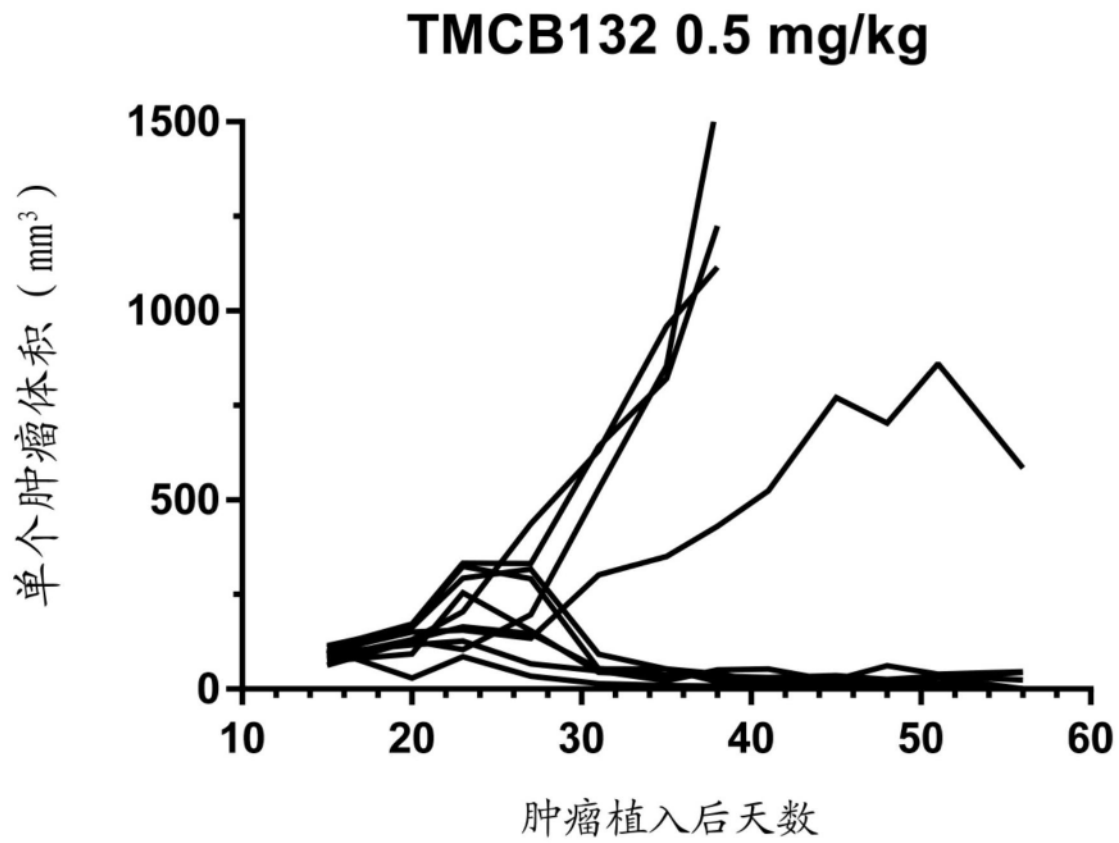
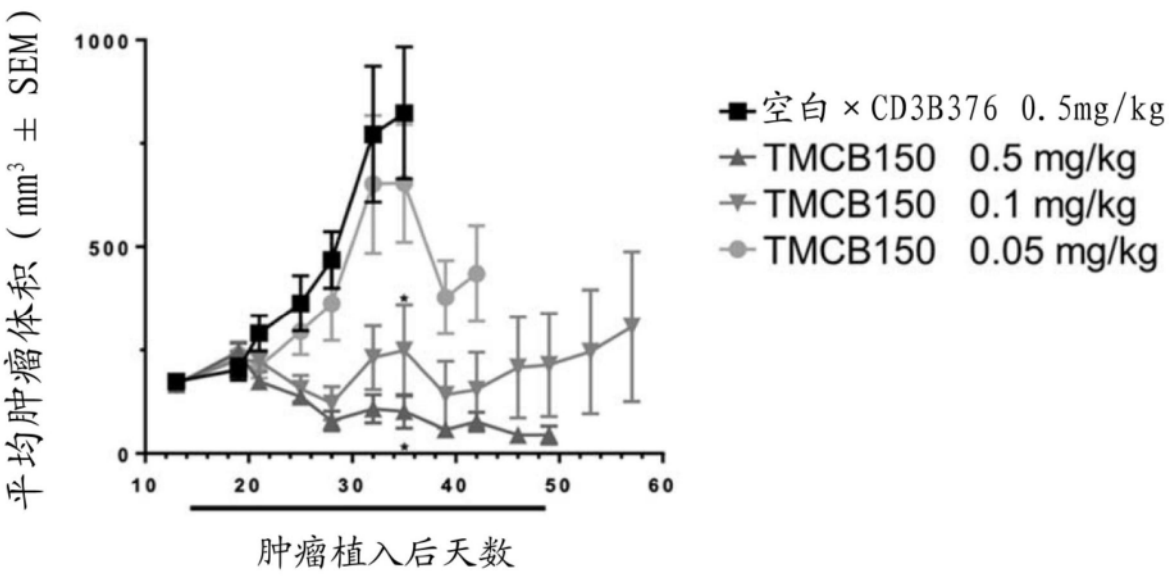


图71



*对于处理对比对照，P≤0.0001，通过线性混合效应分析，之后成对比较来计算。X轴下方的条表示给药周期。

图72

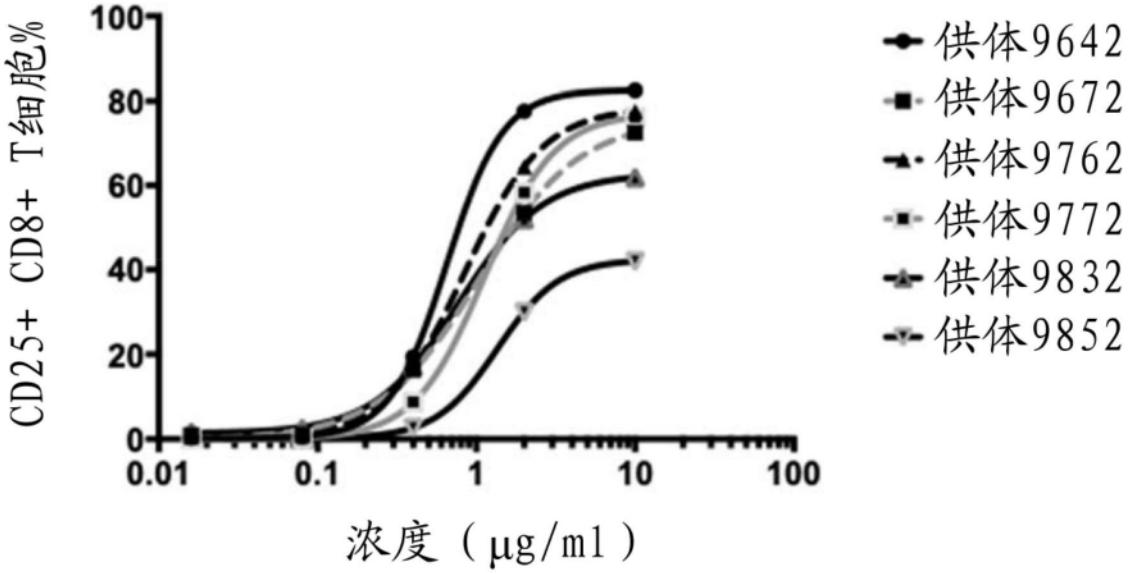

CD25+ CD8+ T细胞%
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
浓度（μg/ml）
供体9642
供体9672
供体9762
供体9772
供体9832
供体9852

图73

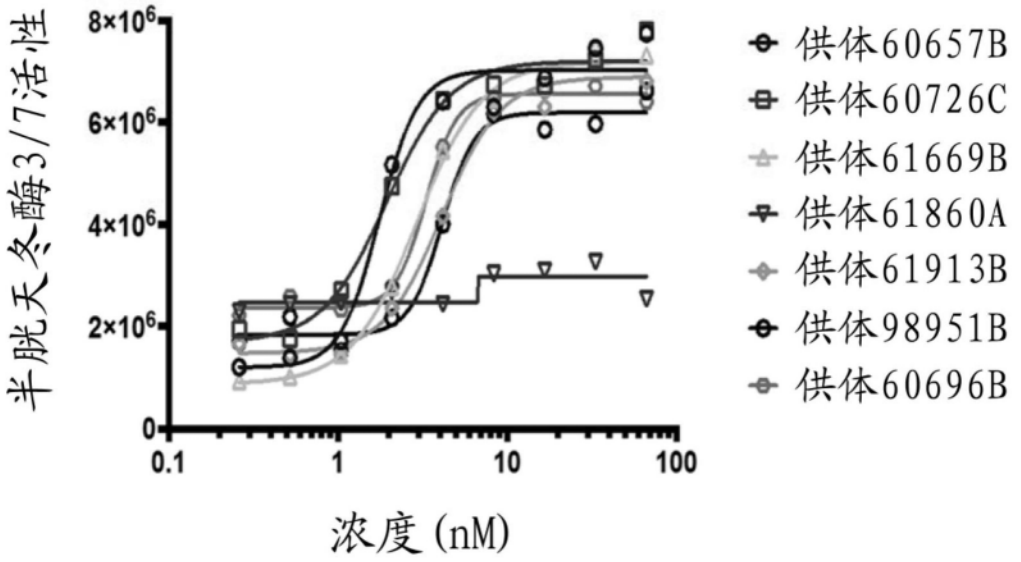

半胱天冬酶3/7活性
8×10^6
6×10^6
4×10^6
2×10^6
0
0.1
1
10
100
浓度(nM)
供体60657B
供体60726C
供体61669B
供体61860A
供体61913B
供体98951B
供体60696B

图74

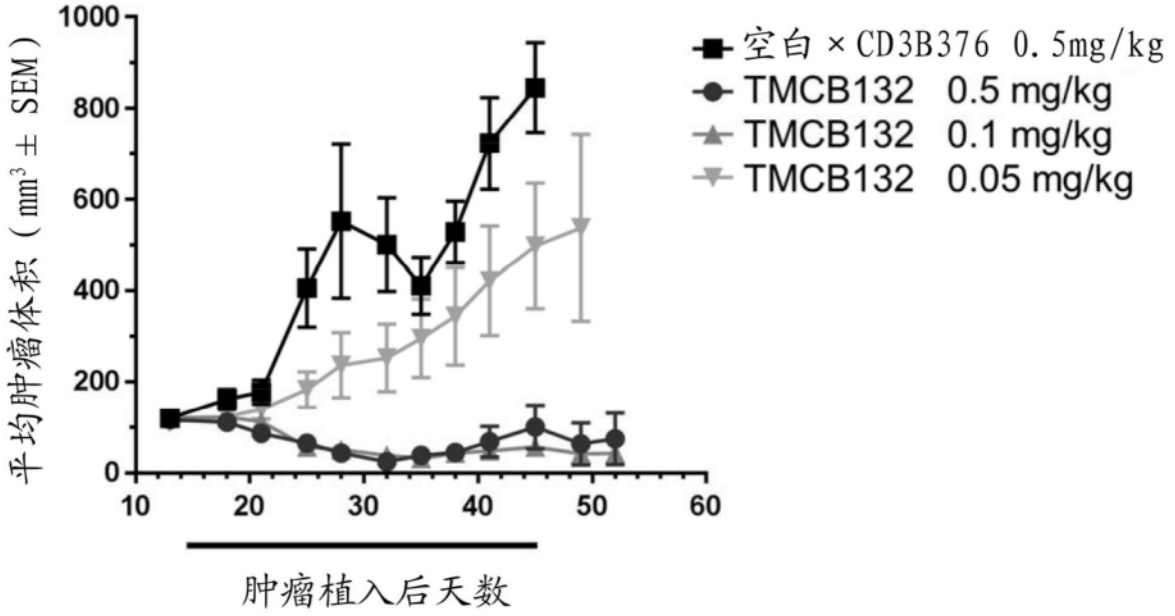

1000
800
600
400
200
0
10
20
30
40
50
60
平均肿瘤体积（mm³ ± SEM）
肿瘤植入后天数
空白 × CD3B376 0.5mg/kg
TMCB132 0.5 mg/kg
TMCB132 0.1 mg/kg
TMCB132 0.05 mg/kg

图75