

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200380106522. X

[51] Int. Cl.

C07K 16/30 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

C07K 19/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/46 (2006.01)

[45] 授权公告日 2008 年 11 月 12 日

[11] 授权公告号 CN 100432105C

[22] 申请日 2003. 12. 16

[21] 申请号 200380106522. X

[30] 优先权

[32] 2002. 12. 17 [33] US [31] 60/433,945

[86] 国际申请 PCT/EP2003/014295 2003. 12. 16

[87] 国际公布 WO2004/055056 英 2004. 7. 1

[85] 进入国家阶段日期 2005. 6. 17

[73] 专利权人 默克专利有限公司

地址 德国达姆施塔特

[72] 发明人 S·D·吉利斯 劳健明

[56] 参考文献

WO0266514 A2 2002. 8. 29

WO9852976 A1 1998. 11. 26

WO0123573 A1 2001. 4. 5

审查员 汪波莉

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 黄草生 林柏楠

权利要求书 1 页 说明书 36 页 附图 8 页

[54] 发明名称

与 GD2 结合的小鼠 14. 18 抗体的人源化抗体
(H14. 18) 以及其与 IL-2 的融合

[57] 摘要

本发明提供了能结合人细胞表面鞘糖脂 GD2 的人源化抗体 H14. 18。抗体包含当向人施用降低它们的免疫原性的经修饰可变区，更具体地，为经修饰的构架区。所述抗体可与治疗剂如 IL-2 偶联并在治疗癌中应用。

1. 衍生自小鼠 14.18 抗体的抗 GD2 抗体，其包含轻链可变区、人轻链恒定区、重链可变区和人重链恒定区，其中所述轻链可变区具有 SEQ ID NO: 1 的氨基酸序列，且所述重链可变区具有 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列。
2. 权利要求 1 的抗 GD2 抗体，其中所述人重链恒定区源自人 IgG1。
3. 权利要求 1 或 2 的抗 GD2 抗体，其中所述人轻链恒定区为人 κ 链或人 λ 链。
4. 抗体-细胞因子融合蛋白，其包含权利要求 1 的抗 GD2 抗体和直接连接至或通过接头肽连接至所述抗体重链恒定区 C 末端的细胞因子分子。
5. 权利要求 4 的抗体-细胞因子融合蛋白，其中细胞因子分子选自 IL-2、IL-12、IL-2 和 IL-12、GM-CSF、干扰素- α 、干扰素- β 、干扰素- γ 、以及淋巴毒素。
6. 权利要求 5 的抗体-细胞因子融合蛋白，其中细胞因子为 IL-2。
7. 权利要求 6 的抗体-细胞因子融合蛋白，其包含 SEQ ID NO: 5 的轻链序列和 SEQ ID NO: 6 的重链序列。
8. DNA 序列，其编码根据权利要求 1-3 中任意一项所述的抗体。
9. DNA 序列，其编码根据权利要求 4-7 中任意一项所述的抗体-细胞因子融合蛋白。
10. 用于治疗 GD2 阳性的肿瘤的药物组合物，其包含根据权利要求 4-7 中任意一项所述的抗体-细胞因子融合蛋白。
11. 根据权利要求 4-7 中任意一项所述的抗体-细胞因子融合蛋白的用途，用于制备治疗 GD2 阳性的肿瘤的药物。

与 GD2 结合的小鼠 14.18 抗体的人源化抗体 (H14.18) 以及其与 IL-2 的融合

本发明总体上涉及经修饰抗体。更具体地，本发明涉及特异结合人细胞表面鞘糖酯 GD2 的具有已降低免疫原性的经修饰抗体，以及它们作为治疗剂的用途。

发明背景

许多年来，在研发基于抗体的治疗中有很大的进展。例如，研究者不仅鉴定了许多癌特异标记物，也鉴定了许多与此类标记物特异结合的抗体。抗体可用于向表达标记物的癌细胞递送特定的分子，例如毒素或免疫刺激物如细胞因子以选择性杀死癌细胞。

14.18 抗体为针对细胞表面鞘糖脂 GD2 的小鼠来源单克隆抗体。GD2 为通常只在神经元细胞外表面膜以显著水平表达的二唾液酸神经节苷酯，其中它暴露于免疫系统是受到血脑屏障限制的。

相反的，许多肿瘤细胞鞘糖酯细胞表面表达具有异常水平。例如，GD2 在广泛的肿瘤细胞表面表达，所述肿瘤细胞包括成神经细胞瘤、成神经管细胞瘤、星形细胞瘤、黑素瘤、小细胞肺癌、骨肉瘤及其它软组织肉瘤。因此，GD2 为用于将免疫刺激性蛋白质结构域靶向肿瘤细胞，以对肿瘤细胞引起有效的免疫反应而破坏它们的一种便利的肿瘤特异标记物。虽然 14.18 小鼠抗体 (m14.18 抗体) 可有助于将此类蛋白质结构域靶向肿瘤细胞，但其小鼠来源的氨基酸序列可降低目的治疗作用。

当施用于患者时，抗体在宿主哺乳动物中具有伴随的免疫原性。当抗体不是自体的时，这更有可能发生。结果基于抗体治疗的有效性常常受到针对治疗性抗体的免疫原性反应的限制。当抗体整个或部分来自与宿主哺

乳动物不同的哺乳动物，例如当抗体来自小鼠且受者为人时，免疫原性反应一般增加。

对于在人中的临床用途，将小鼠来源抗体修饰成与人抗体更接近，以将小鼠来源抗体的免疫原性降低或降到最小可能是有利的。小鼠来源抗体的免疫原性可通过制备嵌合抗体降低，所述嵌合抗体将人抗体的恒定区与小鼠可变结构域进行融合。然而，残留的小鼠可变结构域在人中一般仍具有免疫原性并因此可降低基于抗体治疗的功效。

降低免疫原性的一些方法，如“镶嵌术 (veneering)”及“人源化”涉及导入许多氨基酸替代并可破坏抗体与抗原的结合。m14.18 抗体与 GD2 的结合具有中等亲和力。因此，预计显著降低 m14.18 对 GD2 亲和力的突变使得 m14.18 在人中的治疗性目的的作用降低。因此，本领域需要可有效靶向 GD2 并在施用于人时具有降低免疫原性的治疗性抗体。

发明概述

总体上，本发明提供了在人中具有较低免疫原性但仍保持 m14.18 对人 GD2 结合亲和力的 m14.18 抗体的经修饰形式。

更具体地，本发明提供了 m14.18 抗体的人源化形式 (hu14.18 抗体)，其中一个或多个构架区的一些小鼠特异氨基酸用不同氨基酸替代以降低它们在人中的免疫原性。本发明也提供了 hu14.18 抗体与一种或多种非免疫球蛋白分子融合以增强靶向免疫治疗的作用。

一方面，本发明提供了包括定义了免疫球蛋白轻链可变区 (V_L 区) 的 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的抗体可变区。另一方面，本发明涉及包括定义了免疫球蛋白重链可变区 (V_H 区) 的 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的抗体可变区。在一个实施方案中，本发明提供了 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列与 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列连接的抗体可变区。氨基酸序列可例如通过二硫键或肽键连接。

另一方面，本发明涉及与 GD2 特异结合并包括至少 SEQ ID NO: 1 的第 1-23 位氨基酸、SEQ ID NO: 2 的第 1-25 位氨基酸或 SEQ ID NO: 2 的

第 67-98 位氨基酸的抗体可变区。此类序列定义了 hu14.18 抗体的免疫球蛋白可变区中的构架区。构架区在以下进行更详细的描述。

本发明的一方面涉及用于靶向表面具有 GD2 的细胞并包括向患者施用本发明所述抗体可变区的方法。在一个实施方案中，靶细胞为肿瘤细胞。本发明的另一方面包括编码抗体可变区的核酸或包括此核酸的细胞，所述核酸或包括此核酸的细胞可向患者施用或用于体外蛋白质产生。

本发明也提供了包括本发明所述抗体可变区及至少包含 CH2 结构域的 Fc 部分的多肽、编码多肽的核酸、包括核酸的细胞以及通过向患者施用多肽、核酸或细胞用于靶向表面具有 GD2 的细胞的方法。在本发明的一些实施方案中，Fc 部分来自 IgG1。

有或无插入 Fc 部分的抗体可变区可与非免疫球蛋白分子连接。具体地，非免疫球蛋白分子可为细胞因子，如白细胞介素、造血因子、淋巴因子、干扰素或趋化因子。白细胞介素可为例如白细胞介素-2 或白细胞介素-12。造血因子及淋巴因子可分别为例如粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 及淋巴毒素。干扰素可为例如干扰素- α 、干扰素- β 或干扰素- γ 。在本发明的一些实施方案中，融合蛋白包括第二种非免疫球蛋白分子，如第二种细胞因子。在具体的实施方案中，融合蛋白包括抗体可变区、IL-2 及 IL-12。

可以理解文中描述的多种实施方案的特征不是互相排斥的并可以多种组合及互换存在。

附图描述

图 1A 显示根据本发明所述的免疫球蛋白轻链可变区的氨基酸序列。

图 1B 显示根据本发明所述的免疫球蛋白重链可变区的氨基酸序列。

图 2A-D 显示表达载体的核苷酸序列，包括编码根据本发明所述的免疫球蛋白轻链及免疫球蛋白重链-IL-2 融合蛋白的核酸构建体。

图 3A 显示根据本发明所述的免疫球蛋白轻链的氨基酸序列。

图 3B 显示根据本发明所述的免疫球蛋白重链的氨基酸序列。

发明详述

本发明提供了在人中具有较低免疫原性但仍能特异结合人 GD2 的 m14.18 抗体的经修饰形式。降低的免疫原性是由免疫球蛋白可变结构域中一个或多个经改变氨基酸序列提供的。抗体用于治疗 GD2 阳性肿瘤，特别是当与细胞因子或其它免疫调节剂融合时，抗体用于治疗 GD2 阳性肿瘤。

如文中应用的，术语“抗体”及“免疫球蛋白”理解为表示 (i) 完整抗体（例如，单克隆抗体或多克隆抗体），(ii) 其抗原结合部分，包括例如 Fab 片段、Fab' 片段、(Fab')₂ 片段、Fv 片段、单链抗体结合部位、sFv，(iii) 双特异抗体及其抗原结合部分，和 (iv) 多特异性抗体及其抗原结合部分。

如文中应用的，术语“特异结合”及“特异性结合”理解为表示抗体对特定抗原具有至少约 $10^6 M^{-1}$ ，更优选地至少约 $10^7 M^{-1}$ ，更优选地至少约 $10^8 M^{-1}$ 及最优选地至少约 $10^{10} M^{-1}$ 的结合亲和力。

如文中应用的，术语“构架区”及“FR”理解为表示与互补性决定区 (CDR) 相邻的免疫球蛋白可变区的区域。CDR 为与抗原主要相互作用的免疫球蛋白部分。如图 1 中显示的，V_H 及 V_L 区域均包含四个 FR 并位于氨基酸序列的加框部分。

特别地，对于图 1A (SEQ ID NO: 1) 显示的氨基酸序列，轻链 FR 由自 Asp1 至 Cys23 (huV_LFR1)、自 His39 至 His54 (huV_LFR2)、自 Gly62 至 Cys93 (huV_LFR3) 及自 Phe104 至 Lys113 (huV_LFR4) 的氨基酸序列定义。对于图 1B (SEQ ID NO: 2) 中显示的氨基酸序列，重链 FR 由自 Glu1 至 Ser25 (huV_HFR1)、自 Trp36 至 Gly49 (huV_HFR2)、自 Arg67 至 Ser98 (huV_HFR3) 及自 Trp103 至 Ser113 (huV_HFR4) 的氨基酸序列定义。

本发明的蛋白质序列

本发明以与人细胞表面鞘糖酯 GD2 结合优选地特异结合、并具有衍生自 m14.18 抗体的经修饰区域的抗体为特征。将 V_H 或 V_L 氨基酸序列（或两者的氨基酸序列）进行修饰或人源化以在向人施用，降低它们的免疫

原性。根据本发明，m14.18 抗体例如可用去免疫化 (deimmunization) 的方法进行人源化，所述去免疫化的方法为将潜在的 T 细胞表位通过导入降低肽表位与 MHC II 类分子结合的突变去除或减弱 (参见，例如，WO98/52976 和 WO00/34317)。备选地，将非人 T 细胞表位突变以便它们与在人抗体中存在的人自身表位相对应 (参见，例如，美国专利号 5,712,120)。本发明提供了具有包括至少一个人源化 FR 序列的 V_L 及 V_H 区域的 GD2 抗体，因此在向人施用降低了免疫原性。

I. 重链及轻链可变区

如以上谈及的，hu14.18 包括衍生自 m14.18 抗体的与人 GD2 抗原保持特异结合性的人源化可变区。在本发明的一些实施方案中，hu14.18 抗体的 V_L 区域包括以下多肽：

D-V-V-M-T-Q-T-P-L-S-L-P-V-T-P-G-E-P-A-S-I-S-C-R-S-S-Q-S-L-V-H-R-N-G-N-T-Y-L-H-W-Y-L-Q-K-P-G-Q-S-P-K-L-L-I-H-K-V-S-N-R-F-S-G-V-P-D-R-F-S-G-S-G-S-G-T-D-F-T-L-K-I-S-R-V-E-A-E-D-L-G-V-Y-F-C-S-Q-S-T-H-V-P-P-L-T-F-G-A-G-T-K-L-E-L-K (SEQ ID NO: 1)。

在具体的实施方案中，hu14.18 抗体包括由 SEQ ID NO: 1 的 1 至 23 位残基即 D-V-V-M-T-Q-T-P-L-S-L-P-V-T-P-G-E-P-A-S-I-S-C(hu V_L FR1) 定义的轻链 FR1。

在本发明的其它实施方案中，hu14.18 抗体的 V_H 区域包括以下多肽：

E-V-Q-L-V-Q-S-G-A-E-V-E-K-P-G-A-S-V-K-I-S-C-K-A-S-G-S-S-F-T-G-Y-N-M-N-W-V-R-Q-N-I-G-K-S-L-E-W-I-G-A-I-D-P-Y-Y-G-G-T-S-Y-N-Q-K-F-K-G-R-A-T-L-T-V-D-K-S-T-S-T-A-Y-M-H-L-K-S-L-R-S-E-D-T-A-V-Y-Y-C-V-S-G-M-E-Y-W-G-Q-G-T-S-V-T-V-S-S (SEQ ID NO: 2)。

在具体的实施方案中，hu14.18 抗体包括由 SEQ ID NO: 2 的第 1 至 25 位残基即 E-V-Q-L-V-Q-S-G-A-E-V-E-K-P-G-A-S-V-K-I-S-C-K-A-S(hu V_H FR1) 定义的重链 FR1。在本发明的又一实施方案中，hu14.18 抗体包括由 SEQ ID NO: 2 的第 67 至 98 位残基即 R-A-T-L-T-V-D-K-S-T-S-T-A-Y-M-H-L-K-S-L-R-S-E-D-T-A-V-Y-Y-C-V-

S (huV_HFR3) 表示的重链 FR3。

前述实施方案的多种组合也在本发明的范围内。例如，hu14.18 抗体可包括 SEQ ID NO: 1 所示 V_L 序列及 SEQ ID NO: 2 所示 V_H 序列。取决于 V_L 及 V_H 区域的核酸序列是如何构建的，它们可通过二硫键或肽键连接。一般地，当 V 区的序列是由分别的 DNA 构建体编码时，它们通过二硫键连接。相反地，当 V 区的序列在单链 DNA 构建体上编码时，它们一般通过肽键连接。

本发明也考虑与 GD2 特异结合并至少包括部分人源化 V 区的抗体。例如，hu14.18 抗体可包括由 SEQ ID NO: 1 定义的 V_L 区域及具有至少一个人源化 FR 如 huV_HFR1 或 huV_HFR2 的 V_H 区域。备选地，本发明的抗体可包括由 SEQ ID NO: 2 定义的 V_H 区域及具有至少一个人源化 FR 如 huV_LFR1 的 V_L 区域。hu14.18 抗体也可具有包括至少一个人源化 FR 的 V_H 区域和/或至少一个人源化 FR 的 V_L 区域。

在本发明的某些实施方案中，轻链可变区及重链可变区可分别与免疫球蛋白的轻链恒定区及重链恒定区偶联。免疫球蛋白轻链具有称为 κ 链或 λ 链的恒定区。在本发明的具体实施方案中，轻链恒定区为 κ 链。重链恒定区以及其多种修饰及组合在以下进行详细讨论。

II. Fc 部分

本发明所述的抗体可变区任选的与 Fc 部分融合。如文中应用的，Fc 部分包含来自免疫球蛋白优选人免疫球蛋白的重链恒定区的结构域，包括恒定区的片段、类似物、变体、突变体或衍生物。免疫球蛋白的重链恒定区定义为与重链的至少部分 C-端区域同源的天然存在或人工产生的多肽，包括 CH1、铰合部、CH2、CH3 及对于某些重链类包括 CH4 结构域。“铰合部”区域连接 Fc 部分的 CH1 结构域与 CH2-CH3 区域。所有哺乳动物免疫球蛋白重链的恒定区显示广泛的氨基酸序列相似性。此类免疫球蛋白区域的 DNA 序列是本领域公知的。（参见，例如，Gillies 等人，（1989）*J. Immunol. Meth.* 125: 191）。

在本发明中，Fc 部分一般包括至少 CH2 结构域。例如，Fc 部分可包

括完整的免疫球蛋白重链恒定区 (CH1-铰合部-CH2-CH3)。备选地, Fc 部分可包括所有或部分铰链区、CH2 结构域及 CH3 结构域。

免疫球蛋白的恒定区负责许多重要的抗体效应子功能, 包括 Fc 受体 (FcR) 结合及补体固定。重链恒定区主要有五类, 即 IgA、IgG、IgD、IgE 及 IgM, 每类具有通过同种型定义的特征性效应子功能。

例如, IgG 分为四个 γ 同种型: $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 、 $\gamma 3$ 及 $\gamma 4$, 也分别称为 IgG1、IgG2、IgG3 及 IgG4。IgG 分子可与多类细胞受体相互作用, 所述多类细胞受体包括三类对抗体 IgG 类特异的 Fc γ 受体 (Fc γ R), 即 Fc γ RI、Fc γ RII 及 Fc γ RIII。据报道对 IgG 与 Fc γ R 受体结合重要的序列在 CH2 及 CH3 结构域中。

抗体的血清半衰期是受抗体与 Fc 受体 (FcR) 结合能力的影响。同样, 免疫球蛋白融合蛋白的血清半衰期也受其不能与此类受体结合的影响 (Gillies 等人, *Cancer Research* (1999) 59: 2159-66)。与 IgG1 相比, IgG2 及 IgG4 的 CH2 与 CH3 结构域与 Fc 受体的结合亲和力不能检测到或结合亲和力降低。因此, 特征性抗体的血清半衰期可用来自 IgG2 或 IgG4 同种型的 CH2 和/或 CH3 结构域延长。备选地, 抗体可包括来自 IgG1 或 IgG3 的 CH2 和/或 CH3 结构域, 在所述此类结构域的一个或多个氨基酸进行修饰以降低对 Fc 受体的结合亲和力 (参见, 例如, 美国专利申请 09/256,156, 作为美国专利申请公开 2003-0105294-A1 而公开)。

Fc 部分的铰链区一般与重链恒定区 CH1 结构域的 C-端连接。当包括在本发明的蛋白质中时, 铰合部与天然存在的免疫球蛋白区域同源并一般包括半胱氨酸残基, 所述半胱氨酸残基如在天然免疫球蛋白中那样通过二硫键连接两条重链。人及小鼠免疫球蛋白铰链区的代表性序列可在 ANTIBODY ENGINEERING, a PRACTICAL GUIDE, (Borrebaeck 编辑, W. H. Freeman and Co., 1992) 一书中找到。

本发明的合适铰链区可衍生自 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 及其它免疫球蛋白同种型。IgG1 同种型在铰链区具有允许形成强效及坚固二硫键的两个二硫键。因此, 本发明优选的铰链区来自 IgG1。任选地, 将 IgG1 铰合

部的第一个最 N-端半胱氨酸突变以增强本发明所述抗体或抗体融合蛋白的表达及装配（参见，例如，美国专利申请 10/093,958，作为美国专利申请公开 2003-0044423-A1 而公开）。

与 IgG1 相反，IgG4 的铰链区已知低效形成链间二硫键（Angal 等人，(1993), *Mol. Immunol.* 30: 105-8）。同样，IgG2 铰链区具有四个二硫键，所述四个二硫键在重组系统分泌时趋向于促进寡聚化并可能形成不正确的二硫键。本发明的一个合适的铰链区可衍生自 IgG4 铰链区，优选地包含增强来自重链的部分之间正确形成二硫键的突变（Angal 等人，(1993), *Mol. Immunol.* 30(1) : 105-8）。另一优选的铰链区衍生自 IgG2 铰链部，其中最初的两个半胱氨酸均突变为另一氨基酸，例如，按一般优选的顺序，突变为丝氨酸、丙氨酸、苏氨酸、脯氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、赖氨酸、组氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、甘氨酸、甲硫氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸或硒代半胱氨酸（参见，例如，美国专利申请公开 2003-0044423-A1）。

与本发明抗体可变区融合的 Fc 部分可包含衍生自不同抗体同种型的 CH2 和/或 CH3 结构域及铰链区。例如，Fc 部分可包含 IgG2 或 IgG4 的 CH2 和/或 CH3 结构域及 IgG1 的铰链区。此类杂化（hybrid）Fc 部分的装配在美国专利申请公开 2003-0044423-A1 中已有描述。

当与本发明所述的抗体可变区融合时，Fc 部分优选包含通常用于延长 Fc 融合蛋白血清半衰期的一个或多个氨基酸修饰。此类氨基酸修饰包括基本降低或去除 Fc 受体结合或补体固定活性的突变。例如，一类此种突变去除免疫球蛋白重链 Fc 部分的糖基化位点。在 IgG1 中，糖基化位点为 Asn297（参见，例如，美国专利申请 10/310,719，作为美国专利申请公开 2003-0166163-A1 而公开）。

III. 融合连接区（junction region）

本发明的抗体可变区可任选地与非免疫球蛋白部分直接或间接地例如通过接头肽（例如， $(\text{Gly}_4\text{-Ser})_3$ (SEQ ID NO: 3)) 连接或融合。如在美国专利申请公开 2003-0166877-A1 中描述的，所公开融合蛋白的免疫原性

可通过损坏融合接头或接头表位与 T 细胞受体的相互作用而降低。甚至在两种人蛋白质如人 Fc 及人 IL-2 之间的融合中，融合接头或接头表位周围的区域包括通常在人身体中不存在的肽序列，并因此可具有免疫原性。接头表位的免疫原性，例如可通过在融合接头附近导入一个或多个糖基化位点而降低，或如在美国专利公开 2003-0166877-A1 中描述的通过鉴定跨越接头的候选 T 细胞表位以及改变接头附近的氨基酸以降低候选 T 细胞表位与 T 细胞受体相互作用的能力而降低。

蛋白质的血清半衰期也可通过将突变导入到融合连接区而增加。例如，在与非免疫球蛋白部分融合的包括 CH3 结构域蛋白质中，CH3 结构域的 C-端赖氨酸可改变为另一个氨基酸如丙氨酸，如此可使所产生融合蛋白的血清半衰期相当程度的延长。

在某些实施方案中，融合接头的蛋白酶切割是令人希望的。因此，基因间区域可包括编码蛋白酶切割位点的核苷酸序列。可将介于免疫球蛋白与细胞因子之间的此位点设计为在靶位点提供细胞因子蛋白水解释放的位点。例如，纤溶酶及胰蛋白酶在赖氨酸及精氨酸残基后的蛋白酶可接近的位点处切割是公知的。其它位点特异性内切蛋白酶及其识别的氨基酸序列是公知的。

IV. 用 hu14.18 抗体融合蛋白治疗人疾病

本发明所述的抗体可变区可与诊断剂和/或治疗剂连接。所述制剂可与抗体融合以产生融合蛋白。备选地，所述制剂可与抗体化学偶联以产生免疫偶联物 (immuno-conjugate)。例如，所述制剂可为毒素、放射标记、显像剂、免疫刺激物等。

本发明所述的抗体可变区可与细胞因子连接。优选的细胞因子包括白细胞介素如白细胞介素-2 (IL-2)、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16 及 IL-18、造血因子如粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 及红细胞生成素、肿瘤坏死因子 (TNF) 如 TNF、淋巴因子如淋巴毒素、代谢过程的调节剂如瘦素 (leptin)、干扰素如干扰素 α 、干扰素 β 、干扰素 γ 以及趋化因子。

优选地，抗体-细胞因子融合蛋白或免疫偶联物显示细胞因子生物学活性。在一个实施方案中，抗体可变结构域与 IL-2 融合。优选地，如在美国专利申请公开 2003-0166163-A1 中描述的，将在 IL-2 分子内的几个氨基酸进行突变以降低毒性。

例如，图 3A 及 3B 显示根据本发明所述抗体融合蛋白具体实施方案的氨基酸序列。具体地，图 3A 显示包括可变区及恒定区的人源化免疫球蛋白轻链的肽序列。图 3B 显示与 IL-2 连接的人源化免疫球蛋白重链的肽序列。所述多肽提供了能特异结合 GD2 并刺激免疫系统的人源化抗体融合蛋白。

任选地，蛋白质复合体可进一步包括第二种试剂，如第二种细胞因子。在一个实施方案中，hu14.18 抗体融合蛋白包括 IL-12 及 IL-2。包含免疫球蛋白结构域及两种不同细胞因子的蛋白质复合体的构建在美国专利号 6,617,135 中进行了详细描述。

本发明的融合蛋白在治疗人疾病如癌中是有用的。在治疗人肿瘤时，每个患者用 0.1 至 100 毫克/平方米的剂量，通过输注或皮下注射施用包含本发明所述 V 区的抗体-IL-2 融合蛋白是特别有用的。在优选的实施方案中，每个患者用 1 至 10 毫克/平方米，以及更优选地，每个患者用约 3 至 6 毫克/平方米的剂量，通过输注或皮下注射施用包含本发明所述 V 区的抗体-IL-2 融合蛋白是特别有用的。

临床研究显示在施用 hu14.18-IL-2 后，融合蛋白保留通过 IL-2 受体活化 IL-2 反应性细胞的能力并保留结合 GD2-阳性肿瘤细胞并向它们的表面递呈 IL-2 的能力。此外，向癌患者施用 hu14.18-IL-2 融合蛋白导致令人惊讶的大量患者疾病进展的稳定（参见实施例 1）。

本发明的药学组合物可以固体、半固体或液体剂型的形式，例如丸剂、胶囊剂、粉剂、液体剂、悬液剂等等应用，优选适合用于施用精确剂量的单位剂型。组合物包括常规药学载体或赋形剂，此外，可包括其它医学试剂、药学试剂、载体、佐剂等。此类赋形剂可包括其它蛋白质，例如人血清白蛋白或血浆蛋白质。制备此类剂型的实际方法是已知的或对本领域技

术人员是显然的。在任何情况下，预施用的组合物或剂型包含对需要治疗的受试者达到预期效应的有效量的活性组分。

对所述组合物的施用可通过施用显示此类活性的制剂所采用的任何公认方式进行。此类方法包括经口、肠胃外或局部施用以及全身形式施用。可药用载体的静脉内注射是优选的施用方法（参见实施例1）。

当然，施用的活性化合物的量取决于需要治疗的受试者、所受痛苦的严重度、施用方式及开处方医生的诊断。

本发明的核酸

I. hu14.18 抗体构建体

本发明也以能表达每种以上蛋白质的核酸为特征。例如，它们包括这样的核酸，所述核酸编码 SEQ ID NO: 1 列出的氨基酸序列；SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列；包括 huV_LFR1 氨基酸序列的 hu14.18 抗体 V_L 区域；包括 huV_HFR1 氨基酸序列的 hu14.18 抗体 V_H 区域；包括 huV_HFR3 氨基酸序列的 hu14.18 抗体 V_H 区域以及包含含有至少一个前述人源化 FR 序列的 hu14.18 抗体和一种或多种治疗剂的融合蛋白。

本发明所述的 hu14.18 抗体可通过基因工程技术产生；即通过形成编码包含本发明所述目的 FR 的 GD2 特异抗体的核酸构建体。在一个实施方案中，编码特征性抗体的基因构建体自 5' 至 3' 方向包括编码包括至少一个人源化 FR 的重链可变区的 DNA 片段及编码重链恒定区的 DNA 片段。在另一实施方案中，编码细胞因子的另一 DNA 片段与编码重链恒定区的 DNA 片段的 3' 端融合。在不同的实施方案中，基因构建体自 5' 至 3' 方向包括：编码包括至少一个人源化 FR 的重链可变区的 DNA 片段及编码细胞因子的 DNA 片段。备选地，本发明所述的核酸自 5' 至 3' 方向可包括：编码包括至少一个人源化 FR 的轻链可变区的 DNA 片段及编码细胞因子的 DNA 片段。在一些实施方案中，编码细胞因子的核酸与编码恒定区基因（例如 CH3 外显子）的 3' 端符合读框地直接连接或通过基因间区域（例如，通过适当接头，如通过编码 (Gly₄-Ser)₃ 的 DNA (SEQ ID NO: 3)) 连接。

II. hu14.18 抗体构建体的表达

将编码本发明蛋白质的核酸装配或插入到一个或多个表达载体用于导入到在其中表达的适当受体细胞。核酸导入到表达载体可通过标准分子生物学技术完成。优选的表达载体包括来自在细菌或哺乳动物细胞中可表达所编码蛋白质的载体。

根据本发明，抗体可变区重链优选与对应的轻链在同一细胞中共表达。对包含多个多肽链的融合蛋白，可应用多个表达载体。例如，用两个表达载体的共转染方法常常导致将两个载体均递呈到一个靶细胞。备选地，用编码多个多肽的单一载体在同一细胞中共表达有时是有用的。

例如，图 2A-D 显示均编码根据本发明所述的免疫球蛋白重链及轻链的单一载体的核酸序列。该载体也包括与免疫球蛋白重链 3' 端融合的编码 IL-2 的核酸。因此，当导入到细胞中时，仅此载体即可提供特异与 GD2 结合并刺激免疫功能的人源化抗体-IL-2 融合蛋白。

此外，以单链分子表达本发明所述的蛋白质是方便的。例如，抗体可变区可作为单链抗体或任选地与非免疫球蛋白融合的 sFv 而表达。在另一实施方案中，将重链（有或无经融合的细胞因子）与轻（或重）链配对物（有或无经融合的细胞因子）组合以形成单价及二价免疫偶联物。

受体细胞系优选为淋巴样细胞，如骨髓瘤（或杂交瘤）。骨髓瘤可合成、装配并分泌由经转染基因编码的免疫球蛋白并可使蛋白质糖基化。特别优选的受体细胞为一般不产生内源性免疫球蛋白的 Sp2/0 骨髓瘤。当转染时，细胞只产生通过由经转染基因构建体编码的免疫球蛋白。经转染骨髓瘤可在培养液中生长或在小鼠的腹膜内生长，其中可自腹水获得经分泌的免疫偶联物。其它淋巴样细胞如 B 淋巴细胞也可用作受体细胞。

用包含编码嵌合 Ig 链的核酸构建体的载体转染淋巴样细胞有几种方法。向淋巴样细胞导入载体的优选途径为通过球芽融合（参见，例如，Gillies 等人，（1989）*Biotechnol.* 7: 798-804）。备选的方法包括电穿孔或磷酸钙沉淀。产生免疫偶联物的其它有用方法包括制备编码 RNA 序列的构建体以及它在适当的体内或体外系统中的翻译。本发明所述的蛋白质一旦表达，

可通过标准蛋白质纯化步骤进行收获(参见,例如,美国专利号 5,650,150)。

III. 通过基因治疗治疗癌

本发明所述的核酸可用作基因治疗剂用于治疗癌及其它疾病,其中定向免疫系统至特异细胞型是令人希望的。例如,细胞可自人或动物中取出,并且可将编码本发明所述抗体的一个或多个核酸转染到细胞中。然后将细胞重新导入到人或动物中。经转染细胞可为正常细胞或癌细胞。备选地,核酸可原位导入到细胞中。然后人或动物对癌细胞产生免疫反应,所述免疫反应可治愈或减轻癌的严重度。与适当调节元件偶联以促进在哺乳动物细胞中表达的本发明抗体可变区,可通过任何多种技术转染到细胞中,所述多种技术包括通过磷酸钙、“基因枪”、腺病毒载体、阳离子脂质体、反转录病毒载体或任何其它有效的转染方法。

在本发明的具体实施方案中, hu14.18 抗体用于体内选择性地向靶细胞递送细胞因子,从而细胞因子可产生局部生物学效应如局部炎症反应、刺激 T 细胞的生长及活化或 ADCC 活性。将治疗有效量的抗体施用到具有靶细胞的受试者的循环系统中。

本发明进一步通过非限制性实施例进行阐述。

实施例

实施例 1

hu14.18-IL2 的纯化及制剂

在一个研究中, hu14.18-IL2 自 NS/O 细胞表达,将组织培养上清液收获,并将 hu14.18-IL2 蛋白质依次进行纯化,所述次序为 Abx 经混合树脂柱层析、重组 A 蛋白层析及 Q 琼脂糖柱层析,接着通过 Pellicon 2 切向流透析渗透将缓冲液交换为制剂缓冲液。此纯化的步骤在以下详细描述。病毒失活及去除步骤交叉在这些纯化步骤中,在以下进行描述。病毒失活及去除步骤对纯化本身不是必需的,但用于满足调控原因。

将包含 hu14.18-IL2 的两升 NS/O 组织培养上清液用 1M 醋酸将 pH 调整到 5.9 并用于 Abx 柱 (J. T. Baker); 用 10 mM MES、100 mM 醋酸钠

pH 6.2 洗；并用 500 mM 醋酸钠 pH 7 洗脱。将此材料装到重组 A 蛋白柱 (Pharmacia) 上；用 100 mM 磷酸钠、150 mM NaCl pH 7 洗；用 100 mM 磷酸钠、150 mM NaCl pH 6 洗；用 10 mM 磷酸钠 pH 7 洗；并用 100 mM 磷酸钠、150 mM NaCl pH 3.5 洗脱。经洗脱材料的 pH 为 4.2。为促进病毒失活，将此 pH 降到 3.8 并将此制备物孵育 30 分钟，然后将 pH 用 1M NaOH 中和到 7。为去除核酸，将此材料装到 Q 琼脂糖柱 (Pharmacia) 上并用 100 mM 磷酸钠、150 mM NaCl pH 7 洗。核酸结合到柱上，而蛋白质在流出液及洗液中发现，将此步骤重复直到 A280 返回到基线。按照制造者说明，进行 Pellicon 2 渗滤 (Millipore)，以便将最终 hu14.18-IL2 材料置于以下剂型中。

1 甘露醇	4%
2 盐酸精氨酸 USP/NF	100 mM
3. 柠檬酸 USP-FCC	5 mM
4. 多乙氧基醚	0.01% (w. v)

将制剂缓冲液的 pH 用 1 M NaOH 调整到 7。

作为最终步骤，将制备物通过具有分子量截筛 (cutoff) 为 180,000 道尔顿的 Viresolve 180 膜 (Millipore) 过滤。这具有“磨光”材料的效应，结果去除了聚集的二聚体及较高数量级的寡聚物。

实施例 2

hu14.18-IL-2 融合蛋白的抗肿瘤活性

I 期临床试验中观察到的

为评估 hu14.18-IL-2 的安全性及效力，进行了 I 期临床试验。适应症患者组织学上确定为外科上及医学上不能治愈的黑素瘤。这些患者可患有可测定的或可评估的转移性疾病，或他们在远端转移或区域再发性疾病的外科切除术后无疾病征象。只包括具有多发性（两次或多次）局部或区域性再发的患者，如果患者以前具有淋巴结参与的征象以及如果每次复发间隔为至少 2 个月。所有患者需要具有足够的骨髓功能（由白细胞总数(WBC) >

3,500/ml, 或有粒白细胞总数 $>2000/\text{ml}$, 血小板 $>100,000/\text{ml}$ 及血红蛋白 $>10.0\text{g}/\text{dl}$ 定义), 足够的肝功能[由天冬氨酸转氨酶 (AST) $< 3 \times$ 正常值及总胆红素 $< 2.0 \text{ mg}/\text{dl}$ 定义]以及足够的肾功能 (由血清肌酸酐 $< 2.0 \text{ mg}/\text{dl}$ 或肌酸酐清除率 > 60 毫升/分钟定义)。所有患者通过皮质脑电描记 (ECOG) 行为表现状态为 0 或 1 且寿命至少 12 周。在研究前 4 周内, 接受化学治疗、放射治疗或其它免疫抑制治疗的患者除外。患者以前可患有中枢神经系统 (CNS) 转移, 如果已经过了治疗, 则在开始本研究前, 必需至少稳定 4 周。征得了所有患者的同意。

将此 I 期临床设计为标签公开、非随机剂量按比例上升研究, 其中 3 至 6 患者的组每天按以下剂量水平: 0.8、1.6、3.2、4.8、6.0 或 $7.5\text{mg}/\text{m}^2$ 接受 hu14.18-IL-2。在每个疗程的第一周, 连续 3 天对住院患者进行 4 小时静脉内 (IV) 输注施用 hu14.18-IL-2。hu14.18-IL-2 融合蛋白以包含 4% 甘露醇; 盐酸精氨酸, 100 mM; 柠檬酸, 5 mM 及 0.01% 吐温 80 的剂型以 pH 7 向患者施用。完成第三次输注后大约 24 小时, 如果稳定, 患者自医院出院。副作用及毒性按 NCI Common Toxicity Criteria (第 2.0 版) 及威斯康辛大学综合性癌中心用于 IL-2 分级量表 (行为表现状态、体重增加及温度) 进行分级。剂量限制性毒性 (Dose-limiting toxicity; DLT) 按发生 3 级或 4 级毒性而不是 3 级淋巴细胞减少、高胆红素血症、低磷酸盐血或高血糖定义。最大耐受剂量 (MTD) 由在第 1 疗程中六个患者中两个患有 DLT 的剂量水平定义。3 级治疗相关毒性的患者在第 2 疗程以 50% 剂量降低继续治疗前, 需要恢复到至少 1 级。具有 $\geq 25\%$ 疾病进展的患者自研究中去除。具有稳定疾病的患者施用第 2 疗程。

在患者中评估了 hu14.18-IL-2 的药物代谢动力学特性。在最初 4 小时输注 (第 1 疗程, 第 1 天) 后立即对来自所有 33 个患者的系列样本的 hu14.18-IL-2 水平进行评估时, 发现半衰期为 3.7 小时 (\pm SD 为 0.9 小时)。这介于它的 2 个组分的半衰期之间 (对 IL-2 大约为 45 分钟及对嵌合 m14.18 抗体约为 3 天), 并与在小鼠中观察到的嵌合 m14.18-IL-2 的半衰期是可比较的。自这些患者血清中清除 hu14.18-IL-2 后, 不能检测到 IL-2 及 hu14.18 抗体组分。第 1 疗程期间, 血清峰及曲线下面积 (AUC) 显示显

著的剂量依赖性升高 ($p < 0.001$)。

在本研究中对三十三个患者进行了治疗。表 1 列出了临床结果。两个患者 (6%) 只完成第 1 疗程 3 天中的前 2 天。在治疗的第 2 天, 这些患者中的一个 (剂量水平 3) 患 3 级高胆红素血症, 另一个患者 (剂量水平 6) 患需要继续治疗的 3 级缺氧和低血压。这两个患者疾病有所发展, 没有接受治疗的第二疗程。十九个患者 (58%) 在治疗的第一个疗程后疾病稳定并接受治疗的第二疗程。由于第 1 疗程的有害作用, 五个患者 (所有患者的 15%) 在第 2 疗程需要降低 50% 剂量。十七个患者 (所有患者的 52%) 完成了第 2 疗程。一个患者 (剂量水平 4) 在第 2 疗程期间拒绝接受最终输注, 在第 2 疗程期间一个患者 (剂量水平 6) 由于低血压保持最终输注。在治疗的第二疗程后, 八个患者 (所有患者的 24%) 具有稳定的疾病。结果表明在令人惊讶的大量患者中 hu14.18-IL-2 稳定了疾病进程。

在治疗的第 2 疗程后, 33 个患者中八个疾病稳定, 在完成方案治疗后, 此 8 个患者中 4 个持续为无进展性疾病征象 (1 个疾病稳定及 3 个无疾病征象) 达 20-52 个月。

在复发或转移的外科切除术后, 参与研究的 33 个患者中 5 个无可检测的疾病。此五个患者中的两个有疾病进展, 而其余 3 个患者持续无疾病征象 (20-52 个月)。此发现与低负荷患者中最可能自免疫治疗介入中获得临床益处的假设一致。在治疗的两个疗程后, 另一患者在肺小结中具有客观降低, 但由于在远结中的生长, 总的疾病反应分类为疾病进展。在 hu14.18-IL-2 治疗后将结切除并且患者在 3 年期间没有疾病进展。

表 1

临床结果

	患者数
完成第 1 疗程的患者	31
第 1 疗程后疾病稳定	19
降低 50% 剂量用于第 2 疗程	5
完成第 2 疗程的患者	17
第 2 疗程后疾病稳定	8

I期临床试验中通过 hu14.18-IL-2 的体内免疫刺激

对用 hu14.18-IL-2 治疗的患者的免疫刺激指征也进行检查。在第 2-4 天发生外周血淋巴细胞减少，接着在第 5-22 天恢复到淋巴细胞增多。此两种变化为剂量依赖性（分别为 $p < 0.01$ 及 $p < 0.05$ ）。对第 1 疗程在 5、8、15 及 22 天淋巴细胞计数显著高于基线。对第 2 疗程（疗程 1 的 29 天）基线淋巴细胞计数比第 1 疗程基线淋巴细胞计数升高，表明治疗的第一疗程的作用在 29 天仍存在。此外，对此 12 个患者，在第 2 疗程期间的 5、8 及 15 天淋巴细胞计数高于在第 1 疗程期间的 5、8 及 15 天的对应值。

hu14.18-IL-2 治疗第一周后，淋巴细胞表面表型显示 CD16+ 及 CD56+ 淋巴细胞（自然杀伤（NK）细胞标记）增多。在第 1 疗程的第 29 天（第 2 疗程第 1 天）此作用仍存在。对于第 19-33 号患者（每天接受 $4.8-7.5\text{mg}/\text{m}^2$ ），除第 1 天及第 8 天外，还在第 15 天及第 22 天，对淋巴细胞表面表型进行确定。此分析证明在第 8、15 及 22 天，CD56 及 CD56/CD16 共表达细胞的增加保持显著升高（ $p < 0.01$ ）。

作为免疫活化的测量标记，获得了第 13-33 号患者的 C-反应性蛋白（CRP）水平并获得了完成第 1 疗程的 31 个患者的可溶性 IL-2 受体（sIL-2R）水平。与每个疗程的基线相比，在第 1 疗程及第 2 疗程治疗的第 3-5 天，存在平均 CRP 的显著增加。到每个治疗疗程的第 8 天，此 CRP 的增加复原到基线水平。在第 1 疗程及第 2 疗程期间，hu14.18-IL-2 输注后开始 24 小时，sIL-2R 水平比基线显著增加，此增加持续到第 8 天。发现 sIL-2R 的增加是剂量依赖性的（ $p = 0.014$ ）。对两个疗程中接受同样剂量的患者，对第 2 疗程的 sIL-2R 值与第 1 疗程中的对应值相比增加 1-5 天（ $p < 0.05$ ）。

将表达 GD2 并结合 hu14.18-IL-2 的 LA-N-5 成神经细胞瘤细胞系用于评估来自完成第 1 疗程的 31 个患者的外周血单核细胞（PBMC）中 IL-2 活化的 NK 功能及抗体依赖性细胞毒性（ADCC）。对此两次测定，与第 1 天相比，自第 8 天通过淋巴细胞介导的杀伤显著增加。接受如第 1 疗程相同剂量的第 2 疗程的 12 个患者，显示与在第 1 疗程期间获得的 ADCC

结果非常相似。发现第 2 疗程与第 1 疗程不同的唯一参数为第 1 天在存在 IL-2 时杀伤增强，表明此测定中杀伤增强在第 29 天（第 2 疗程，第 1 天）保持升高。

由于 LA-N-5 靶对新鲜 NK 细胞具有相对抗性，它用于测定 IL-2 增强的杀伤及 ADCC。然而，由培养基（体外不添加 IL-2）中新鲜 PBMC 介导 LA-N-5 的弱杀伤在第 8 天并不比第 1 天显著地大。

在第 1、8、15 及 22 天，用 NK 易感的 K562 靶细胞系对第 19-33 号患者进行了标准 NK 测定。与第 1 天相比，在第 8 天及第 22 天，观察到当在培养基中或在存在时 IL-2 检测时，NK 裂解 K562 靶细胞显著增加。对来自经选择患者的血清样本也进行评估以确定功能性 IL-2 活性及功能性抗-GD2 抗体。

用 hu14.18-IL-2 输注后获得的患者血清显示其对 IL-2 反应性 Tf-1b 细胞系存在经 IL-2 诱导的增殖。在输注 4 小时后，最初 4 小时期间看到增殖的进展性增加。到此输注后 16 小时，值复原到基线，与 hu14.18-IL-2 大约 4 小时的血清半衰期一致。通过流式细胞术对来自此时间点的血清样本也检查保留 IL-2 组分及其抗 GD2 抗体活性的完整 hu14.18-IL-2 免疫细胞因子 (IC) 的存在。在 IC 输注后，在患者血清样本中可检测到能结合 M21 细胞系 (GD2 阳性) 的 hu14.18-IL-2。在 4 小时输注后的最初 4 小时期间，能结合 M21 的 IC 量进行性增加，然后降低，也与约 4 小时的半衰期一致。最后，用来自患者的样本进行体外测定以确定施用 hu14.18-IL-2 导致的体内情况是否与需要实现 ADCC 一致。当将 hu14.18-IL-2 加入到细胞毒性测定时，来自第 8 天的 PBMC 显示对 GD2+靶细胞的 ADCC 增强。来自第 8 天的 PBMC 进行与此相同的 ADCC 测定，然而，不是向测定中加入 hu14.18-IL-2，而是加入在 hu14.18-IL-2 施用前或施用后获得的来自患者的血清。与在输注前获得的血清观察到的结果相比，在经施用 hu14.18-IL-2 后获得的血清中存在时，第 2 疗程第 8 天获得自患者的 PBMC 能介导杀 LA-N-5 细胞系作用增强。因此 IV 施用后，患者中循环的 hu14.18-IL-2 能通过来自同一患者的 hu14.18-IL-2 体内活化的 PBMC 促进 ADCC。

总之，这些结果表明存在与此 hu14.18-IL-2 治疗相关的免疫学变化，所述免疫学变化包括淋巴细胞计数增加、CD16+及 CD56+ PBMC 的百分数增加、NK 裂解增加及 ADCC 增加。免疫活化的其它证据包括 CRP 及 sIL-2R 的血清水平增加。血清及 PBMC 的实验室分析显示 IV 施用后，患者血清中循环的 hu14.18-IL-2 分子保持通过 IL-2 受体活化 IL-2 反应性细胞的能力、保持结合 GD2 阳性肿瘤细胞的能力以及向它们表面递送 IL-2 的能力，如通过流式细胞术检测到的。NK 细胞的体内活化是基于它们体外介导 NK 及 ADCC 功能的能力。此外，由施用于这些患者的 hu14.18-IL-2 体内活化的 NK 细胞能通过这些同一患者血清中循环的 hu14.18-IL-2 的促进而介导 ADCC。因此，在此研究在所有患者中达到了达到免疫活化的情况。

序列表

<110> 默克专利有限公司

<120> 与 GD2 结合的小鼠 14.18 抗体的人源化抗体 (H14.18) 以及其与 IL-2 的融合

<130> LEX-023

<150> US 60/433,945

<151> 2002-12-17

<160> 6

<170> PatentIn 版本 3.1

<210> 1

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化免疫球蛋白轻链可变区

<400> 1

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Arg
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile His Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110

Lys

<210> 2
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人源化免疫球蛋白重链可变区

<400> 2

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Ser Ser Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Asn Ile Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Val Ser Gly Met Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
 100 105 110

Ser

<210> 3
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

660

tagaatgaag ttgcctgtta ggctggtggt gctgatgttc tggattcctg gtgaggagag
720

agggaaagtga gggaggagaa tggacagggg gcaggagcac tgaatcccat tgctcattcc
780

atgtatctgg catgggtgag aagatgggtc ttatcctcca gcatggggcc tctggggatga
840

atacttgтта gagggaggtt ccagatggga acatgtgcta таатгаагат таtгааатgg
900

atgcctggga tggтсtааgt аатgccttag ааgtgactag асacttgcaa тtcacttttt
960

ttggtaagaa gagattttta ggctataaaa ааatgttatg тааааатааа сgatcacagt
1020

tgaaataaaa аааааатата аггатgttca tgaattttgt gtataactat gtattttctct
1080

ctcattgttt cagcttcctt ааgсgacgtg gtgatgacc agacccccct gtccttgccc
1140

gtgacccccg gсgagccccг сtccatctcc tgcagatcta gtcagagtct tgtacaccgt
1200

aatggaaaca cctatttaca ttggтacctg сagaagccag gccagtctcc ааagctcctg
1260

attcaciaaag тttccaaccg атттtctggg gtcccagaca ggttcagtgg cagtggatca
1320

gggacagatt tcacactcaa gatcagcaga gtggaggctg аггатctggg агттtatttc
1380

tgттtсtсaaa gtacacatgt tcctccgctc acgttcggtg сtgggaccaa gctggagctg
1440

aaacgtatta gtgtgtcagg gtttcacaag агggactaaa gacatgtcag сtatgtgtga
1500

ctaattgгtaa tgтсactaag сtgсgggatc ссgcaattct ааactctgag ggggtcggat
1560

gacgtggcca тtсттtgсct ааagcattga gtttactgca агgtcagaaa агсатgсaaa
1620

gccctcagaa тggctgсaaa gagctccaac ааасaattt агаactttat таaggаатag
1680

ggggaagcta ggaagaaact caaaacatca agattttaaa tacgcttctt ggtctccttg
1740

ctataattat ctgggataag catgctggtt totgtctgtc cctaacatgc cctgtgatta
1800

tccgcaaaca acacacccaa gggcagaact ttgttactta aacaccatcc tgtttgcttc
1860

tttcctcagg aactgtggct gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct gatgagcagt
1920

tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa cttctatccc agagaggcca
1980

aagtacagtg gaaggtggat aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag agtgtcacag
2040

agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg agcaaagcag
2100

actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg agctcgcccc
2160

tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt agagggagaa gtgccccac ctgctcctca
2220

gttcagcct gacccccctc catcctttgg cctctgacct tttttccaca ggggacctac
2280

ccctattgcg gtctccagc tcctctttca cctcaccccc ctctctctcc ttggctttaa
2340

ttatgcta atgtggaggag aatgaataaa taaagtgaat ctttgcacct gtggtttctc
2400

tctttcctca atttaataat tattatctgt tgtttaccaa ctactcaatt tctcttataa
2460

gggactaaat atgtagtcat cctaaggcgc ataaccattt ataaaaatca tccttcattc
2520

tattttacce tatcatcctc tgcaagacag tcctccctca aaccacaag ccttctgtcc
2580

tcacagtccc ctgggccatg gtaggagaga cttgcttctt tgttttcccc tcctcagcaa
2640

gccctcatag tcctttttaa gggtgacagg tcttaaggctc atatatcctt tgattcaatt
2700

ccctgggaat caaccaaggc aaatttttca aaagaagaaa cctgctataa agagaatcat
2760

tcattgcaac atgatataaa ataacaacac aataaaagca attaaataaa caaacaatag
2820

ggaaatgttt aagtcatca tggtagctag acttaatgga atgtcatgcc ttatttacat
2880

ttttaaacag gtactgaggg actcctgtct gccaaaggcc gtattgagta ctttccacaa
2940

cctaatttaa tccacactat actgtgagat taaaaacatt cattaatggt ttgcaaaggt
3000

tctataaagc tgagagacaa atatattcta taactcagca atcccacttc tagggctgat
3060

cgacgttgac attgattatt gactagttat taatagtaat caattacggg gtcattagtt
3120

catagcccat atatggagtt ccgctgtaca taacttacgg taaatggccc gctggctga
3180

ccgccaacg acccccgccc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat agtaacgcca
3240

atagggactt tcattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc ccaactggca
3300

gtacatcaag tgtatcatat gccaaagtac cccctattg acgtcaatga cggtaaattg
3360

cccgcctggc attatgcca gtacatgacc ttatgggact ttctacttg gcagtacac
3420

tacgtattag tcatcgctat taccatgggt atgcggtttt ggcagtacat caatgggcgt
3480

ggatagcggg ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt caatgggagt
3540

ttgttttggc accaaaatca acgggacttt ccaaaatgtc gtaacaacte cgcaccattg
3600

acgcaaatgg gcggtaggcg tgtacgggtg gaggtctata taagcagagc tctctggcta
3660

actacagaac ccaactgctta actggcttat cgaaattaat acgactcact atagggagac
3720

ccaagctcct cgaggctaga atgaagttgc ctgttaggct gttgggtgctg atgttctgga

3780

ttcctgggtga ggagagaggg aagtgagggg ggagaatgga cagggagcag gagcactgaa
3840

tcccattgct cattccatgt atctggcatg ggtgagaaga tgggtcttat cctccagcat
3900

ggggcctctg ggggtgaatac ttgttagagg gaggttccag atgggaacat gtgctataat
3960

gaagattatg aatggatgc ctgggatggt ctaagtaatg ccttagaagt gactagacac
4020

ttgcaattca ctttttttgg taagaagaga tttttaggct ataaaaaaaa gttatgtaaa
4080

aataaacgat cacagttgaa ataaaaaaaa aatataagga tgttcatgaa ttttgtgtat
4140

aactatgtat ttctctctca ttgtttcagc ttccttaagc gaggtgcagc tgggtgcagtc
4200

cggcgcccag gtggagaagc ccggcgccctc cgtgaagatc tcttgcaagg cctccggctc
4260

ctccttcacc ggctacaaca tgaactgggt gcgccagaac atcggcaagt ccttgagtg
4320

gatcggcgcc atcgaccctt actacggcgg cacctcctac aaccagaagt tcaagggccg
4380

cgccaccctg accgtggaca agtccacctc caccgcctac atgcacctga agtccctgcg
4440

ctccgaggac accgcccgtg actactgcgt gtccggcatg gagtactggg gccagggcac
4500

ctccgtgacc gtgtcctccg gtaagctttt ctggggcagg ccaggcctga ccttggcttt
4560

ggggcagggg gggggctaag gtgaggcagg tggcgccagc caggtgcaca cccaatgcc
4620

atgagcccag aactggacg ctgaacctcg cggacagtta agaaccagg ggcctctgcg
4680

ccctgggccc agctctgtcc cacaccgcg tcacatggca ccacctctct tgcagcctcc
4740

accaagggcc catcggcttt ccccctggca cctcctcca agagcacctc tgggggcaca
4800

gcccgcctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac
4860

tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttccccgctg tcctacagtc ctcaggactc
4920

tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc
4980

tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agagagttgg tgagaggcca
5040

gcacagggag ggaggggtgtc tgctggaagc caggctcagc gctcctgcct ggacgcaccc
5100

cggctatgca gtcccagtc agggcagcaa ggcaggcccc gtctgcctct tcacccggag
5160

gcctctgccc gccccactca tgctcagggg gagggctctc tggctttttc cccaggctct
5220

gggcaggcac aggctaggtg cccctaacc aggcctgca cacaaagggg cagggtgctgg
5280

gctcagacct gccaaagacc atatccggga ggaccctgcc cctgacctaa gccaccccca
5340

aaggccaaac tctccactcc ctcagctcgg acacctctc tcctcccaga ttccagtaac
5400

tccaatctt ctctctgcag agcccaaate ttgtgacaaa actcacacat gccaccctg
5460

cccaggtaag ccagcccagg cctcgccctc cagctcaagg cgggacaggt gccctagagt
5520

agcctgcac cagggacagg ccccagccgg gtgctgacac gtccacctcc atctcttct
5580

cagcacctga actcctgggg ggaccgtcag tcttctctt cccccaaaa cccaaggaca
5640

ccctcatgat ctcccggacc cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag
5700

accctgaggt caagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagaca
5760

agccgcggga ggagcagtac aacagcacgt accgtgtggt cagcgtctc accgtcctgc
5820

accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gcctcccag
5880

ccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aagggtgggac ccgtgggggtg cgagggccac
5940

atggacagag gccggctcgg cccaccctct gccctgagag tgaccgctgt accaacctct
6000

gtccctacag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc acgggaggag
6060

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc
6120

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg
6180

ctggactccg acggctcctt ctctctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg
6240

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg
6300

cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa gcccactt caagttctac aaagaaaaca
6360

cagctgcaac tggagcatct cctgctggat ctccagatga ttctgaatgg aattaacaac
6420

tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc acattcaagt tctacatgcc caagaaggcc
6480

acagagctca aacatctcca gtgtctagag gaggaactca aacctctgga ggaagtgcta
6540

aacctcgctc agagcaaaaa ctccactta agacctaggg acttaatcag caatatcaac
6600

gtaatagttc tggaactaaa gggatccgaa acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag
6660

acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga tggattacct tttgtcaaag catcatctca
6720

acactaactt gataattaag tgctcgaggg atccagacat gataagatac attgatgagt
6780

ttggacaaac cacaactaga atgcagtgaa aaaaatgctt tatttgtgaa atttgtgatg
6840

ctattgcttt atttgtaacc attagaagct gcaataaaca agttaacaac aacaattgca

6900

ttcattttat gtttcagggt cagggggagg tgtgggaggt tttttaaagc aagtaaaacc
6960

tctacaaatg tggataggct gattatgata ctgcctcgcg cgtttcgggtg atgacgggtga
7020

aaacctctga cacatgcagc tcccggagac ggtcacagct tgtctgtaag cggatgccgg
7080

gagcagacaa gcccgtcagg gcgcgtcagc ggggtgttggc ggggtgtcggg gcgcagccat
7140

gaccagtcga cgtagcgata gcggagtgtg tactggctta actatgcggc atcagagcag
7200

attgtactga gagtgcacca tatgcgggtgt gaaataccgc acagatgcgt aaggagaaaa
7260

taccgcatca ggcgctcttc cgcttcctcg ctactgact cgctgcgctc ggtcgttcgg
7320

ctgcggcgag cggtatcagc tcaactcaaag gcggtaatac ggttatccac agaatacagg
7380

gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag
7440

gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga
7500

cgctcaagtc agaggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggc gtttccccct
7560

ggaagetccc tcgtgcgctc tcctgttccg accctgcgcg ttaccggata cctgtccgcc
7620

tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct caatgctcac gctgtaggta tctcagttcg
7680

gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc
7740

tgcccttat ccggtaacta tcgtcttgag tccaaccggg taagacacga cttatcgcca
7800

ctggcagcag ccaactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag
7860

ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagga cagtatttgg tatctgcgct
7920

ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc
7980

accgctggta gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaagga
8040

tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggctctgacg ctcagtggaa cgaaaactca
8100

cgtaagggga ttttggtcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat cottttaaat
8160

taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagttac
8220

caatgcttaa tcagtgaggc acctatctca gcgatctgtc tatttcggtc atccatagtt
8280

gcctgactcc ccgtcgtgta gataactacg atacgggagg gcttaccatc tggccccagt
8340

gctgcaatga taccgcgaga cccacgctca ccggctccag atttatcagc aataaaccag
8400

ccagccggaa gggccgagcg cagaagtggc cctgcaactt tatccgcctc catccagtct
8460

attaattggt gccgggaagc tagagtaagt agttcgccag ttaatagttt gcgcaacggt
8520

gttgccattg ctgcaggcat cgtggtgtca cgctcgtcgt ttggtatggc ttcattcagc
8580

tccggttccc aacgatcaag gcgagttaca tgatccccca tgttgtgcaa aaaagcggtt
8640

agctccttcg gtcctccgat cgttgtcaga agtaagttgg ccgcagtgtt atcaactcatg
8700

gttatggcag cactgcataa ttctcttact gtcatgcat ccgtaagatg cttttctgtg
8760

actggtgagt actcaaccaa gtcattctga gaatagtgtg tgccggcgacc gagttgctct
8820

tgccccgcgt caacacggga taataccgcg ccacatagca gaactttaa agtgctcatc
8880

attggaaaac gttcttcggg gcgaaaactc tcaaggatct taccgctggt gagatccagt
8940

togatgtaac ccaactcgtgc acccaactga tcttcagcat cttttacttt caccagcgtt
9000

tctgggtgag caaaaacagg aaggcaaaat gccgcaaaaa aggaataag ggcgacacgg
9060

aatgttgaa tactcatact cttccttttt caatattatt gaagcattta tcagggttat
9120

tgtctcatga gcggatacat atttgaatgt atttagaaaa ataaacaaat aggggttccg
9180

cgcacatttc cccgaaaagt gccacctgac gtctaagaaa ccattattat catgacatta
9240

acctataaaa ataggcgtat cacgaggccc tttcgtcttc aagaattccg atccagacat
9300

gataagatac attgatgagt ttggacaaac cacaactaga atgcagtga aaaaatgctt
9360

tatttgtgaa atttgtgatg ctattgcttt atttgtaacc attagaagct gcaataaaca
9420

agttaacaac aacaattgca ttcattttat gtttcagggt cagggggagg tgtgggaggt
9480

tttttaaagc aagtaaaacc tctacaaatg tgggtatggct gattatgatc taaagccagc
9540

aaaagtccca tgggtottata aaaatgcata gctttcggag gggagcagag aacttgaaag
9600

catcttcctg ttagtctttc ttctcgtaga ccttaaattc atacttgatt cctttttcct
9660

cctggacctc agagaggacg cctgggtatt ctgggagaag tttatatttc cccaaatcaa
9720

tttctgggaa aaacgtgtca ctttcaaatt cctgcatgat ccttgtcaca aagagtctga
9780

ggtggcctgg ttgattcatg gcttcctggg aaacagaact gcctccgact atccaaacca
9840

tgtctacttt acttgccaat tccggttggt caataagtct taaggcatca tccaaacttt
9900

tggcaagaaa atgagctcct cgtgggtggt ctttgagttc tctactgaga actatattaa
9960

ttctgtcctt taaaggtcga ttcttctcag gaatggagaa ccaggttttc ctaccataa

Pro Lys Leu Leu Ile His Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
 85 90 95

Thr His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
 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> 6
 <211> 575
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人源化免疫球蛋白重链和 IL-2

<400> 6

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Ser Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Asn Ile Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Val Ser Gly Met Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
100 105 110

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
130 135 140

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
145 150 155 160

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
165 170 175

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

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
195 200 205

Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 275 280 285

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 305 310 315 320

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
 340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 405 410 415

人源化免疫球蛋白轻链可变区

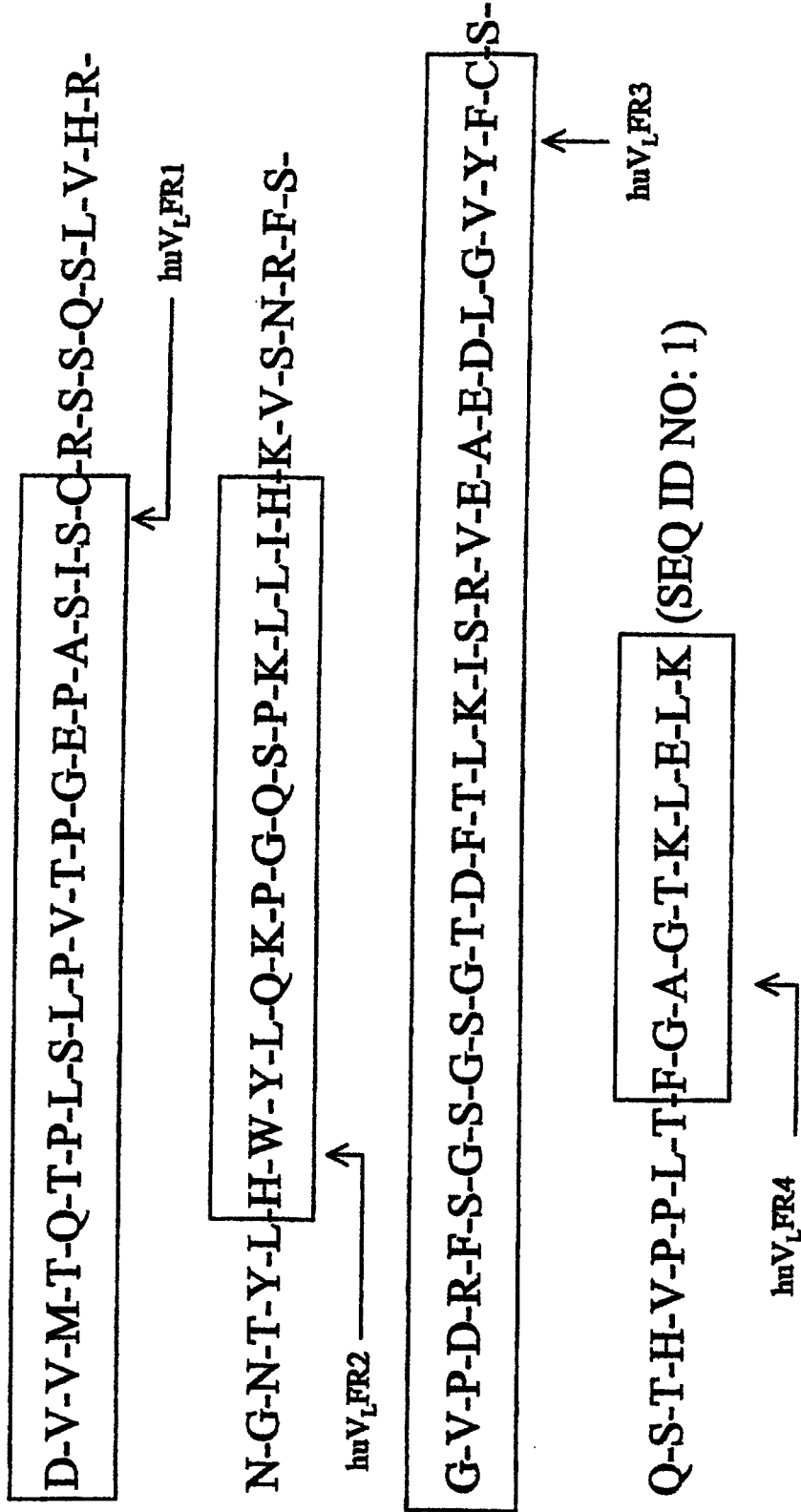


图 1A

人源化免疫球蛋白重链可变区

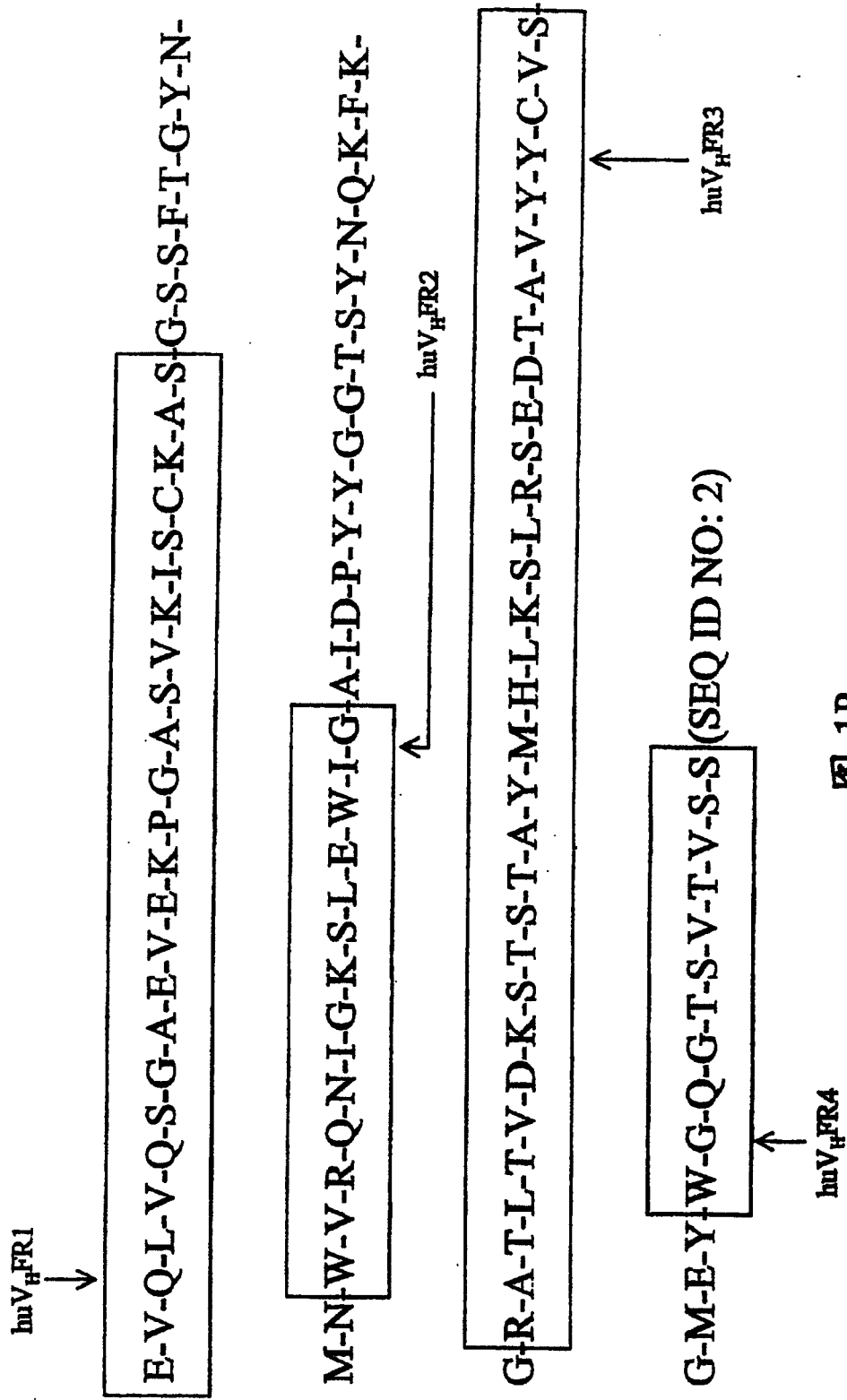


图 1B

表达载体的核苷酸序列

GTGCACTTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCAT
 ATATGGAGTTCGCGTTACATAAECTACGGTAAATGGCCCCGCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCC
 GCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCATTGACGTC
 AATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTA
 CGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCCGCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTAT
 GGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTG
 GCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGTTTTGACTCAGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTTGA
 CGTCAATGGGAGTTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCAAAATGTGTAACAACTCCGC
 CCCATTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCTCTGGC
 TAACTACAGAACCCACTGCTTAACTGGCTTATCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGAGACCCTC
 TAGAATGAAGTTCGCTGTTAGGCTGTTGGTGTGATGTTCTGGATTCTGGTGAGGAGAGAGGGAA
 GTGAGGGAGGAGAATGACAGGGAGCAGGAGCACTGAATCCCATTGCTCATTCCATGTATCTGGC
 ATGGGTGAGAAGATGGGTCTTATCCTCCAGCATGGGGCCTCTGGGGTGAATACTTGTTAGAGGGGA
 GGTTCAGATGGGAACATGTGCTATAATGAAGATTATGAAATGGATGCCTGGGATGGTCTAAGTA
 ATGCCTAGAAAGTACTAGACACTTGCATTCACTTTTTTTGGTAAGAAGAGATTTTAGGCTATA
 AAAAAATGTTATGTAAAAATAAACGATCACAGTTGAAATAAAAAAAAATATAAGGATGTTTCATG
 AATTTGTGTATAACTATGTATTTCTCTCTCATTGTTTCAGCTTCTTAAGCGACGTGGTGATGACC
 CAGACCCCTGTCCCTGCCGTGACCCCGGGGAGCCCGCTCCATCTCCTGCAGATCTAGTCAG
 AGTCTGTACACCGTAATGGAAACACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAAGCCAGGCCAGTCTCCA
 AAGCTCCTGATTCACAAAGTTTCCAACCGATTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGG
 TCAGGGACAGATTTACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGT
 TCTCAAAAGTACACATGTTCTCCGCTCACGTTCCGGTGGTGGACCAAGCTGGAGCTGAAACGTATT
 AGTGTGTACAGGTTTACAAAGAGGGACTAAAGACATGTCAGCTATGTGTGACTAATGGTAATGTC
 ACTAAGCTGCGGATCCCGCAATCTAACTCTGAGGGGGTCCGATGAOCTGGCCATTCTTTGCT
 AAAGCATTGAGTTACTGCAAGGTCAGAAAAGCATGCAAAGCCCTCAGAATGGCTGCAAAAGAGCT
 CCAACAAAACAATTAGAACTTTAAGGAATAGGGGAAGCTAGGAAGAAAACCTCAAAACATCA
 AGATTTAAATAAGCTTCTGGTCTCCTTGCTATAATTTATCTGGGATAAGCATGCTGTTTTCTGTCT
 GFCCTAACATGCCCTGTGATTATCCGCAAAACAACACACCCAAAGGCAGAACTTTGTTACTTAAAC
 ACCATCCTGTTTGTCTTCTCCTCAGGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCACTTCCCGCCATCTG
 ATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGG
 CCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAG
 CAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAAGCAGACTACG
 AGAAACACAAAGTCTACGCTGCGAAGTCAACCACTCAGGGCCTGAGCTGCGCCGTCACAAAGAGC
 TTCAACAGGGGAGAGTGTAGAGGGAGAAGTCCCCCACTGCTCCTCAGTTCCAGCCTGACCCCC
 TCCCATCCTTTGGCCTCTGACCCTTTTTCCACAGGGGACCTACCCCTATTGCGGTCTCCAGCTCAT
 CTTTCACTCACCCCTCCTCCTTGGCTTAAATTAAGTAAATGTTGGAGGAGAATGAATAAAT
 AAAGTGAATCTTTGCACCTGTGGTTTTCTCTTTTCTCAATTTAATAATTATTCTGTTGTTACCA
 ACTACTCAATTTCTTATAAGGGACTAAATATGTAGTCACTCCTAAGGGGCATAAACCATTTATAAA
 AATCATCCTTCAATTTTACCTATCATCTCTGCAAGACAGTCTCCTCAAACCCACAAGCC
 TTCTGTCTCACAGTCCCTGGGCCATGGTAGGAGAGACTTGCTTCTTGTTTTCCCTCCTCAGCA
 AGCCTCATAGTCTTTTTAAGGGTGACAGGTCTTACGGTCAATATCTTTGATTCAATTCCTGG
 GAATCAACCAAGGCAAATTTTTCAAAAAGAGAACTGCTATAAAGAGAATCATTCAATTGCAACA
 TGATATAAAATAACAACAATAAAAGCAATTAATAAACAACAATAGGGAAATGTTAAGTTC
 ATCATGGTACTTAGACTTAATGGAATGTCATGCCTTATTTACATTTTTAAACAGGTACTGAGGGAC
 TCTGTCTGCCAAGGGCGTATTGAGTACTTCCACAACCTAATTTAATCCACTATACTGTGAG
 ATTAAAAAATTCAATTAATAATGTTGCAAAGTCTATAAAGCTGAGAGACAAATATATTCTATAAC
 TCAGCAATCCACTTCTAGGGTCGATCGACGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATC
 AATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCATATATGGAGTCCGCGTTACATAAECTACGGTAAATGG
 CCCGCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCATAGT
 AACGCCAATAGGGACTTTCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCACTTGGC
 AGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCCG

图 2A

CTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATIAGTC
 ATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCA
 CGGGGATTTCCAAAGTCTCCACCCCAATTGACGTCAATGGGAGTTTGTGTTTGGCACCAAAATCAACGG
 GACTTTCCAAATGTCTAACAACCTCCGCCCAATTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGGTGTACGGTG
 GGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCTCTGGCTAACTACAGAACCCACTGCTTAACTGGCTATCGAAA
 TTAATACGACTCACTATAGGGAGACCCAAGCTCCTOGAGGCTAGAATGAAGTTGCGCTGTAGGCTG
 TTGGTCTGATGTTCTGGATTCTGGTGAGGAGAGAGGGAAAGTGAGGGAGGAGAATGGACAGGGG
 GCAGGAGCACTGAATCCCAATTGCTCATTCCATGTATCTGGCATGGGTGAGAAGATGGGTCTTATCC
 TCCAGCATGGGGCTCTGGGGTGAATCTTGTAGAGGGAGGTTCCAGATGGGAACATGTCTAT
 AATGAAGATTATGAAATGGATGCCTGGGATGGTCTAAGTAAATGCCTTAGAAGTGACTAGACACTT
 GCAATTCACITTTTTTGGTAAGAAGAGATTTTAGGCTATAAAAAAATGTTATGTAAAAATAAACG
 ATCACAGTTGAAATAAAAAAATAAAGGATGTTTATGAAATTTGTGTATAACTATGTATTTCT
 CTCTCATTGTTTCAGCTTCTTAAAGGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGGABAAGC
 CCGGCGCTCCGTGAAGATCTCTGCAAGGCTCCGGCTCTCTTCAACCGCTACAACATGAACT
 GGTTGCGCCAGAACAATCGGCAAGTCCCTGGAGTGGATCGGCGCCATCGACCCCTACTACGGCGC
 ACCTCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCGCGCCACCCCTGACCGTGGACAAGTCCACCTCCACCGC
 CTACATGCACCTGAAGTCCCTGCGCTCCGAGGACACCCCGGTGTACTACTGCGTGTCCGGCATGGA
 GTACTGGGCCAGGGCACCTCCGTGACCGTGTCTCCGGTAAAGCTTTCTGGGGCAGGGCCAGGCT
 GACTTGGCTTTGGGGCAGGGAGGGGGCTAAGGTGAGGCAGGTGGCGCCAGCCAGGTGCACACCC
 AATGCCCATGAGCCAGACACTGGAAGCTGAACTCCGGGACAGTTAAGAACCCAGGGGCTCTG
 CGCCCTGGGCCAGCTCTGTCCACACCGGGTACATGGCACCACCTCTCTTGCAGCTCCACCA
 AGGGCCATCGGTCTTCCCGCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCTCTGG
 GCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGGCGCTGACCA
 CGGGCTGCACACCTTCCCGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA
 CGGTCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAACAAGCCGCAAC
 ACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGGTGAGAGGCCAGCACAGGGAGGGAGGGTGTCTGTGGAAGCC
 AGGCTCAGGGCTCTGCTGGACGATCCCGCTATGCAAGTCCAGTCCAGGGCAGCAAGGCAGG
 CCGCTCTGCTCTTCAACCGGAGGCTCTGCGCGCCCACTCATGCTCAGGGAGAGGGTCTTCTG
 GCTTTTTCCCAAGGCTCTGGGCAGGCACAGGCTAGGTGCGCCTAACCCAGGCTGCACACAAAGG
 GGCAGGTGCTGGGCTCAGACTGCCAAGAGCCATATCCGGGAGGACCCCTGCCCTGACCTAAGCC
 CACCCCAAAGGCCAAACTCTCACTCCCTCAGCTCGGACACCTTCTCTCTCCAGATTCCAGTAA
 CTCCCAATCTCTCTCTGACAGAGCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCACCGGTGCCAG
 GTAAGCCAGCCAGGCTCGCCCTCCAGCTCAAGGGGGACAGGTGCCCTAGAGTACGCTGAACTCT
 CAGGGACAGGCCCCAGCCGGTGTGACACGCTCACTCCATCTCTTCTCAGCACCTGAACTCTCT
 GGGGGACCGTCACTCTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCC
 TGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCGTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACG
 TGGACGGGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCGCGGGAGGAGCAGTACAAAGAGCGTAA
 CCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA
 AGGTCTCCAACAAGCCCTCCAGCCCAATCGAGAAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGTGGGACC
 CGTGGGGTGGGAGGGGCCATGAGACAGAGGCCGGCTGGGCCACCCCTCTGCCCTGAGAGTGAACG
 CTGTAACCAACCTCTGTCCCTACAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGCCCCATCAC
 GGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAAGCTGACCTGCTGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGAC
 ATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCGGGAGAACAACTACAAGACCCAGCCCTCCCGTGT
 GGACTCCGACGGCTCTCTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAAGAGCAGGTGGCAGCAGG
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGAAAGAGCTCT
 CCTGTCCCGGTAAAGCCCAACTTCAAGTTCTACAAAGAAAACACAGCTGCAACTGGAGCAT
 CTCTGCTGGATCTCCAGATGATTCTGAATGGAATTAACAATAAAGAAATCCAAACTCACCCAGG
 ATGCTCACATTCAGTTCTACATGCCAAGAAGGCCACAGAGCTCAAACATCTCCAGTGTCTAGAG
 GAGGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGTAAACCTCGCTCAGAGCAAAAACTTCCACTTAAGACC
 TAGGGACTTAATCAGCAATATCAAGTAAATAGTCTGGAACATAAAGGATCCGAAAACAACATTA
 TGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTTGT

图 2B

AAAGCATCATCTCAACACTAACTTGATAATTAAGTGCTCGAGGGATCCAGACATGATAAGATACA
TTGATGAGTTTGGACAAACCACAACACTAGAATGCAGTGAAAAAATGCTTTATTTGTGAAAATTTGTG
ATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTAGAAGCTGCAATAAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATT
ATTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGAGGTTGTTGGAGGTTTTTTAAAGCAAGTAAAACTCTACAAAT
GTGGTATGGCTGATTATGATCCTGCTCGCGCTTTCCGGTGATGACGGTGAAAACTCTGACACAT
GCAGTCCCGGAGACGGTCAAGCTTGTCTGTAAGCGGATGCCGGGAGCAGACAAGCCCGTCAGG
GCGCTCAGCGGTTGTTGGCGGGTGTGGGGGCGAGCCATGACCCAGTCACGTAGCGATAGCGGA
GTGTATACTGGCTTAACTATGCGGCAACAGAGCAGATTGTAAGAGAGTGCACCATATGCGGTGTG
AAATACCGCACAGATGCGTAAGGAGAAAAATACCGCATCAGGCGCTCTTCCGCTTCTCGCTCACTG
ACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCCGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGT
TATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAAGCCAGCAAAAAGCCAG
GAACCGTAAAAAAGCCGCTTGTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCAAA
AAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTTGGCGAAAACCGACAGGACTATAAAGATACCGGCGTTTTCCCT
CTGGAAGCTCCCTCGTGGCTCTCTGTTCCGACCCCTGCCGCTTACCGGATACTGTCCGCTTCT
CCCTTCCGGAAGCGTGGCGCTTTCTCAATGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTT
CGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGACGAAACCCCGTTACAGCCGACCGCTGCGGCTTATCCGGTAAAC
TATCGTCTTGAGTCCAACCCGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGTTAACAGG
ATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTA
CACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGG
TAGCTCTTGATCCGGCAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGAAGCAGCAGATG
TACCGCGCAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTG
GAACGAAAACTCAGTTAAGGGATTTTGGTATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGATCCT
TTTTAAATAAAAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATGAGTAAACTTGGTCTGACAGTTA
CCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCGTTCAATCATAGTTGCCTGA
CTCCCGTCTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATA
CGCGAGACCCACGCTCACCGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCGA
GCGCAGAAGTGGTCCCTGCAACTTTATCCGCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAG
AGTAAATAGTTCCGCAAGTAAATAGTTTGGCAACGTTGTTGCCATTGCTGCAGGCATCGTGGTGT
ACGCTCGTCTTGGTATGGCTTCAATCAGTCCGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATC
CCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAAGTTGGC
CGCAGTGTATCACTCATGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGA
TGCTTTCTGTGACTGGTGAAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAAATAGTGTATGCGGGACCGAGT
TGCTTTGCCGGGTCACACCGGATAATACCGGCCACATAGCAGAACTTTAAAAAGTGTCTATC
ATTGAAAAAGTTCTTCGGGGCGAAAACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATG
TAACCACTCGTGCACCCAACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAA
AAACAGGAAGGCAAAATGCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCAT
ACTCTTCTTTTCAATATTATTGAAGCATTATCAGGGTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTT
GAAATGATTTAGAAAAATAAACAAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCGAAAAAGTCCACCTGA
CGTCAAGAAACCATTATTATCATGACATTAACCTATAAAAAATAGGCGTATCACGAGGCGCTTTCCG
TCTCAAGAATTCCGATCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCAACTAGA
ATGCAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTAGAA
GCTGCAATAAAACAAGTTAACAACAACAATTGCAATTCATTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGAGGTTG
GGGAGTTTTTTAAAGCAAGTAAACCTCTACAAATGTGGTATGGCTGATTATGATCTAAAGCCAG
CAAAAATCCCATGGTCTTATAAAAAATGCAATAGCTTTCCGAGGGGAGCAGAGAACTTGAAAGCATC
TTCTGTAGTCTTTCTTCTGAGACCTTAAATTCATCTGATTCCTTTTTTCTCTGACCTCAG
AGAGGACGCTGGGATTTCTGGGAGAAGTTTATATTTCCCAAAATCAATTTCTGGGAAAAACGTTG
CAGTTTCAAATTCCTGATGATCCTTGTACAAAGAGTCTGAGGTGGCCTGGTTGATTGATGGCTTC
CTGGTAAACAGAACTGCTCCGACTATCCAAACCATGTCTACTTTACTTCCCAATTCGGTGTGTTCA
ATAAGTCTTAAAGGCATCATCCAACTTTGGCAAGAAAAATGAGCTCCTCGTGGTGGTTCTTTGAGT
TCTCTACTGAGAACTATATTAATCTGTCTTAAAGGTCGATTCTTCTCAGGAATGGAGAACCAG

图 2C

GTTTTCTAACCATAATCACCAGATTCTGTTTACCTTCCACTGAAGAGGTTGTGGTCATTCTTTGGA
AGTACTTGAACTCGTTCTGAGCGGAGGCCAGGGTCGGTCTCCGTTCTTGCCAATCCCCATATTTG
GGACACGGCGACGATGCAATTCAATGGTCGAACCATGAGGGCACCAAGCTAGCTTTTTCAAAAG
CCTAGGCCTCCAAAAAGCCTCCTCACTACTTCTGGAATAGCTCAGAGGCGAGGGCGCCTCGGCC
TCTGCATAAATAAAAAAATTAGTCAGCCATGGGGCGGAGAATGGGCGGAAGTGGGCGGAGTTAG
GGGCGGATGGGCGGAGTTAGGGGCGGACTATGGTTGCTGACTAATTGAGATGCATGCTTTGCA
TACTTCTGCCTGCTGGGGAGCCTGGGGACTTTCCACACCTGGTTGCTGACTAATTGAGATGCATGC
TTTGCATACTTCTGCCTGCTGGGGAGCCTGGGGACTTTCCACACCCTAACTGACACACATTCCACA
(SEQ ID NO: 4)

图 2D

人源化免疫球蛋白轻链

D-V-V-M-T-Q-T-P-L-S-L-P-V-T-P-G-E-P-A-S-I-S-C-R-S-S-Q-S-L-V-H-R-N-G-N-T-Y-

L-H-W-Y-L-Q-K-P-G-Q-S-P-K-L-L-I-H-K-V-S-N-R-F-S-G-V-P-D-R-F-S-G-S-G-S-G-T-

D-F-T-L-K-I-S-R-V-E-A-E-D-L-G-V-Y-F-C-S-Q-S-T-H-V-P-P-L-T-F-G-A-G-T-K-L-E-

L-K-R-T-V-A-A-P-S-V-F-I-F-P-P-S-D-E-Q-L-K-S-G-T-A-S-V-V-C-L-L-N-N-F-Y-P-R-

E-A-K-V-Q-W-K-V-D-N-A-L-Q-S-G-N-S-Q-E-S-V-T-E-Q-D-S-K-D-S-T-Y-S-L-S-S-T-

L-T-L-S-K-A-D-Y-E-K-H-K-V-Y-A-C-E-V-T-H-Q-G-L-S-S-P-V-T-K-S-F-N-R-G-E-C

(SEQ ID NO: 5)

图 3A

人源化免疫球蛋白重链-II-2

E-V-Q-L-V-Q-S-G-A-E-V-E-K-P-G-A-S-V-K-I-S-C-K-A-S-G-S-F-T-G-Y-N-M-N-W-V-R-Q-N-I-G-K-S-L-E-W-I-G-
 A-I-D-P-Y-Y-G-G-T-S-Y-N-Q-K-F-K-G-R-A-T-L-T-V-D-K-S-T-S-T-A-Y-M-H-L-K-S-L-R-S-E-D-T-A-V-Y-Y-C-V-S-
 G-M-E-Y-W-G-Q-G-T-S-V-T-V-S-S-A-S-T-K-G-P-S-V-F-P-L-A-P-S-S-K-S-T-S-G-G-T-A-A-L-G-C-L-V-K-D-Y-F-P-
 E-P-V-T-V-S-W-N-S-G-A-L-T-S-G-V-H-T-F-P-A-V-L-Q-S-S-G-L-Y-S-L-S-V-V-T-V-P-S-S-S-L-G-T-Q-T-Y-I-C-N-
 V-N-H-K-P-S-N-T-K-V-D-K-R-V-E-P-K-S-C-D-K-T-H-T-C-P-P-C-P-A-P-E-L-L-G-G-P-S-V-F-L-F-P-P-K-P-K-D-T-L-
 M-I-S-R-T-P-E-V-T-C-V-V-D-V-S-H-E-D-P-E-V-K-F-N-W-Y-V-D-G-V-E-V-H-N-A-K-T-K-P-R-E-B-Q-Y-N-S-T-Y-
 R-V-V-S-V-L-T-V-L-H-Q-D-W-L-N-G-K-E-Y-K-C-K-V-S-N-K-A-L-P-A-P-I-E-K-T-I-S-K-A-K-G-Q-P-R-E-P-Q-V-Y-
 T-L-P-P-S-R-E-B-M-T-K-N-Q-V-S-L-T-C-L-V-K-G-F-Y-P-S-D-I-A-V-E-W-E-S-N-G-Q-P-E-N-N-Y-K-T-T-P-P-V-L-D-
 S-D-G-S-F-F-L-Y-S-K-L-T-V-D-K-S-R-W-Q-Q-G-N-V-F-S-C-S-V-M-H-E-A-L-H-N-H-Y-T-Q-K-S-L-S-L-S-P-G-A-P-
 T-S-S-T-K-K-T-Q-L-Q-L-E-H-L-L-L-D-L-Q-M-I-L-N-G-I-N-N-Y-K-N-P-K-L-T-R-M-L-T-F-K-F-Y-M-P-K-K-A-T-
 E-L-K-H-L-Q-C-L-E-B-B-L-K-P-L-E-B-V-L-N-L-A-Q-S-K-N-F-H-L-R-P-R-D-L-I-S-N-I-N-V-I-V-L-E-L-K-G-S-B-T-T-
 F-M-C-E-Y-A-D-E-T-A-T-I-V-B-F-L-N-R-W-I-T-F-C-Q-S-I-I-S-T-L-T (SEQ ID NO: 6)

图 3B