(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 111712261 B
(45)授权公告日 2024.08.09

(21)申请号 201980012411.3
(22)申请日 2019.02.08
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111712261 A
(43)申请公布日 2020.09.25
(30)优先权数据
62/628,088 2018.02.08 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.08.07
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/017251 2019.02.08
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/157308 EN 2019.08.15
(73)专利权人 豪夫迈·罗氏有限公司
地址 瑞士巴塞尔
(72)发明人 D·埃勒曼 T·T·云蒂拉
T·N·隆巴纳 D·斯拉格
C·施皮斯
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 岑晓东
(51)Int.Cl.
A61K 39/395(2006.01)
C07K 1/113(2006.01)
C07K 16/10(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
C07K 16/32(2006.01)
C07K 16/46(2006.01)
A61K 47/68(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)
(56)对比文件
WO 2012143524 A2,2012.10.26
WO 2013026831 A1,2013.02.28
审查员 邓雪霞

权利要求书5页 说明书94页
序列表128页 附图59页

(54)发明名称

双特异性抗原结合分子和使用方法

(57)摘要

本发明提供具有对第一靶抗原(例如T细胞抗原,诸如CD3)特异性的单价臂和对第二靶抗原(例如肿瘤抗原,诸如HER2)特异性的二价臂的双特异性抗原结合分子。双特异性抗原结合分子在治疗病症,诸如癌症(例如HER2阳性癌症)中是有用的。本发明还特征在于生成双特异性抗原结合分子的方法,使用双特异性抗原结合分子治疗病症的方法,和包括双特异性抗原结合分子的组合物。

CN 111712261 B

1.一种特异性结合CD3和HER2的包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:

(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,该Fab_A特异性结合CD3,该Fab_A包含VH_A区和VL_A区;

(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个特异性结合HER2,该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区;且

(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域,

其中,

(1)该VH_A区如SEQ ID NO:7的氨基酸序列所示,该VL_A区如SEQ ID NO:8的氨基酸序列所示,该VH_{B1}区如SEQ ID NO:24的氨基酸序列所示,该VL_{B1}区如SEQ ID NO:27的氨基酸序列所示,该VH_{B2}区如SEQ ID NO:24的氨基酸序列所示,且该VL_{B2}区如SEQ ID NO:27的氨基酸序列所示;

(2)该VH_A区如SEQ ID NO:7的氨基酸序列所示,该VL_A区如SEQ ID NO:8的氨基酸序列所示,该VH_{B1}区如SEQ ID NO:33的氨基酸序列所示,该VL_{B1}区如SEQ ID NO:25的氨基酸序列所示,VH_{B2}区如SEQ ID NO:33的氨基酸序列所示,且该VL_{B2}区如SEQ ID NO:25的氨基酸序列所示;

(3)该VH_A区如SEQ ID NO:7的氨基酸序列所示,该VL_A区如SEQ ID NO:8的氨基酸序列所示,该VH_{B1}区如SEQ ID NO:44的氨基酸序列所示,该VL_{B1}区如SEQ ID NO:48的氨基酸序列所示,该VH_{B2}区如SEQ ID NO:44的氨基酸序列所示,且该VL_{B2}区如SEQ ID NO:48的氨基酸序列所示;或

(4)该VH_A区如SEQ ID NO:7的氨基酸序列所示,该VL_A区如SEQ ID NO:8的氨基酸序列所示,该VH_{B1}区如SEQ ID NO:41的氨基酸序列所示,该VL_{B1}区如SEQ ID NO:49的氨基酸序列所示,该VH_{B2}区如SEQ ID NO:41的氨基酸序列所示,且该VL_{B2}区如SEQ ID NO:49的氨基酸序列所示。

2.权利要求1的双特异性抗原结合分子,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}结合HER2的域IV。

3.权利要求1的双特异性抗原结合分子,其中:

(a)该VH_A区如SEQ ID NO:7的氨基酸序列所示,且该VL_A区如SEQ ID NO:8的氨基酸序列所示;

(b)该VH_{B1}区如SEQ ID NO:24的氨基酸序列所示,且该VL_{B1}区如SEQ ID NO:27的氨基酸序列所示;且

(c)该VH_{B2}区如SEQ ID NO:24的氨基酸序列所示,且该VL_{B2}区如SEQ ID NO:27的氨基酸序列所示。

4.权利要求1的双特异性抗原结合分子,其中:

(a)该VH_A区如SEQ ID NO:7的氨基酸序列所示,且该VL_A区如SEQ ID NO:8的氨基酸序列所示;

(b)该VH_{B1}区如SEQ ID NO:33的氨基酸序列所示,且该VL_{B1}区如SEQ ID NO:25的氨基酸序列所示;且

(c)该VH_{B2}区如SEQ ID NO:33的氨基酸序列所示,且该VL_{B2}区如SEQ ID NO:25的氨基酸序列所示。

5.权利要求1的双特异性抗原结合分子,其中:

(a)该VH_A区如SEQ ID NO:7的氨基酸序列所示,且该VL_A区如SEQ ID NO:8的氨基酸序列所示;

(b)该VH_{B1}区如SEQ ID NO:44的氨基酸序列所示,且该VL_{B1}区如SEQ ID NO:48的氨基酸序列所示;且

(c)该VH_{B2}区如SEQ ID NO:44的氨基酸序列所示,且该VL_{B2}区如SEQ ID NO:48的氨基酸序列所示。

6.权利要求1的双特异性抗原结合分子,其中:

(a)该VH_A区如SEQ ID NO:7的氨基酸序列所示,且该VL_A区如SEQ ID NO:8的氨基酸序列所示;

(b)该VH_{B1}区如SEQ ID NO:41的氨基酸序列所示,且该VL_{B1}区如SEQ ID NO:49的氨基酸序列所示;且

(c)该VH_{B2}区如SEQ ID NO:41的氨基酸序列所示,且该VL_{B2}区如SEQ ID NO:49的氨基酸序列所示。

7.权利要求1-6任一项的双特异性抗原结合分子,其中该Fc域是IgG Fc域。

8.权利要求7的双特异性抗原结合分子,其中该IgG Fc域是IgG_1或IgG_4 Fc域。

9.权利要求1-6任一项的双特异性抗原结合分子,其中该Fc域是人Fc域。

10.权利要求1-6任一项的双特异性抗原结合分子,其中该Fc域包含降低对Fc受体的结合和/或效应器功能的一处或多处氨基酸替代。

11.权利要求10的双特异性抗原结合分子,其中该降低对Fc受体的结合和/或效应器功能的一处或多处氨基酸替代在依照EU编号系统编号的N297处。

12.权利要求11的双特异性抗原结合分子,其中该第一Fc亚基和该第二Fc亚基每个包含依照EU编号系统编号的氨基酸替代N297G。

13.权利要求10的双特异性抗原结合分子,其中该降低对Fc受体的结合和/或效应器功能的一处或多处氨基酸替代在选自由依照EU编号系统编号的L234,L235,和P329组成的组的位置处。

14.权利要求13的双特异性抗原结合分子,其中该第一Fc亚基和该第二Fc亚基每个包含选自由依照EU编号系统编号的L234A,L235A,和P329G组成的组的氨基酸替代。

15.权利要求1-6任一项的双特异性抗原结合分子,其中该Fc域包含配置成促进该第一Fc亚基与该第二Fc亚基的联合的修饰,且其中该第二Fc亚基的CH3域中的氨基酸残基用具有更大侧链体积的氨基酸残基替换,由此生成该第二Fc亚基的CH3域内的隆起,其可放置在该第一Fc亚基的CH3域内的空腔中,且该第一Fc亚基的CH3域中的氨基酸残基用具有更小侧链体积的氨基酸残基替换,由此生成该第一Fc亚基的CH3域内的空腔,其内可放置该第二Fc亚基的CH3域内的隆起。

16.权利要求15的双特异性抗原结合分子,其中该第二Fc亚基的CH3域包含依照EU编号系统编号的T366处的氨基酸替代,且该第一Fc亚基的CH3域包含依照EU编号系统编号的T366,L368,和/或Y407中一个,两个,或所有三个处的氨基酸替代。

17.权利要求16的双特异性抗原结合分子,其中该第二Fc亚基的CH3域包含依照EU编号系统编号的氨基酸替代T366W,且该第一Fc亚基的CH3域包含依照EU编号系统编号的T366S,

L368A,和/或Y407V中一处,两处,或所有三处氨基酸替代。

18.权利要求1-6任一项的双特异性抗原结合分子,其中该Fab_{B2}的C端经由肽接头与该Fab_{B1}的N端融合。

19.权利要求18的双特异性抗原结合分子,其中该肽接头长度为5至20个氨基酸。

20.权利要求18的双特异性抗原结合分子,其中该肽接头长度为5至20个氨基酸且包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列。

21.一种分离的核酸,其编码权利要求1-20任一项的特异性结合CD3和HER2的双特异性抗原结合分子。

22.一种表达载体,其包含权利要求21的分离的核酸。

23.一种用于生成权利要求1-20任一项的双特异性抗原结合分子的宿主细胞,其包含权利要求21的分离的核酸或权利要求22的表达载体。

24.权利要求23的宿主细胞,其中该宿主细胞是哺乳动物细胞。

25.权利要求24的宿主细胞,其中该哺乳动物细胞是中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。

26.权利要求23的宿主细胞,其中该宿主细胞是原核细胞。

27.权利要求26的宿主细胞,其中该原核细胞是大肠杆菌细胞。

28.一种生成权利要求1-20任一项的双特异性抗原结合分子的方法,该方法包含在培养培养基中培养权利要求23-27任一项的宿主细胞。

29.权利要求28的方法,其中该方法进一步包含自该宿主细胞或该培养培养基回收该双特异性抗原结合分子。

30.一种分离的核酸套组,其编码权利要求1-20任一项的特异性结合CD3和HER2的双特异性抗原结合分子。

31.一种表达载体套组,其中该套组中的每种表达载体包含权利要求30的分离的核酸套组的分离的核酸。

32.一种用于生成权利要求1-20任一项的双特异性抗原结合分子的宿主细胞套组,其中该套组中的每种宿主细胞包含权利要求30的分离的核酸套组的分离的核酸或权利要求31的表达载体套组的表达载体。

33.权利要求32的宿主细胞套组,其中该宿主细胞包含哺乳动物细胞或原核细胞。

34.权利要求33的宿主细胞套组,其中该哺乳动物细胞是CHO细胞,或其中该原核细胞是大肠杆菌细胞。

35.一种生成权利要求1-20任一项的双特异性抗原结合分子的方法,该方法包含在培养培养基中培养权利要求32-34任一项的宿主细胞套组。

36.权利要求35的方法,其中该方法进一步包含自该宿主细胞套组或该培养培养基回收该双特异性抗原结合分子。

37.一种免疫缀合物,其包含权利要求1-20任一项的双特异性抗原结合分子和细胞毒剂。

38.一种组合物,其包含权利要求1-20任一项的双特异性抗原结合分子和药学可接受载剂。

39.一种组合物,其包含权利要求1-20任一项的双特异性抗原结合分子和药学可接受赋形剂。

40.一种组合物,其包含权利要求1-20任一项的双特异性抗原结合分子和药学可接受稀释剂。

41.权利要求38-40任一项的组合物,其中该组合物进一步包含PD-1轴结合拮抗剂或另外的治疗剂。

42.权利要求1-20任一项的双特异性抗原结合分子在制造用于在有需要的受试者中治疗HER2阳性癌症或延迟HER2阳性癌症进展或用于在具有HER2阳性癌症的受试者中增强免疫功能的药物中的用途。

43.权利要求42的用途,其中该HER2阳性癌症特征在于以200,000或更多拷贝每细胞的平均拷贝数表达HER2的肿瘤细胞。

44.权利要求42的用途,其中该HER2阳性癌症选自由乳腺癌,胃癌,结肠直肠癌,非小细胞肺癌,肾癌,膀胱癌,胰腺癌,前列腺癌,肝癌,头和颈癌,黑素瘤,卵巢癌,间皮瘤,成胶质细胞瘤,子宫内膜癌,和骨肉瘤组成的组。

45.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为以0.01mg/kg至10mg/kg的剂量施用。

46.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为以0.1mg/kg至10mg/kg的剂量施用。

47.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为以1mg/kg的剂量施用。

48.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为与PD-1轴结合拮抗剂和/或另外的治疗剂组合施用。

49.权利要求48的用途,其中要与施用该双特异性抗原结合分子并行,在施用该双特异性抗原结合分子前或后施用该PD-1轴结合拮抗剂或另外的治疗剂。

50.权利要求48的用途,其中该PD-1轴结合拮抗剂选自由PD-L1结合拮抗剂,PD-1结合拮抗剂,和PD-L2结合拮抗剂组成的组。

51.权利要求50的用途,其中该PD-1轴结合拮抗剂是:

(i)PD-L1结合拮抗剂,其中该PD-L1结合拮抗剂选自由MPDL3280A(阿特珠单抗),MDX-1105,MEDI4736(度伐单抗),和MSB0010718C(阿维单抗)组成的组;

(ii)PD-1结合拮抗剂,其中该PD-1结合拮抗剂选自由MDX-1106(纳武单抗),MK-3475(派姆单抗),MEDI-0680(AMP-514),PDR001(斯巴达珠单抗),REGN2810(西米普利单抗),和BGB-108组成的组;或

(iii)PD-L2结合拮抗剂,其中该PD-L2结合拮抗剂是抗体或免疫粘附素。

52.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为皮下施用。

53.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为静脉内施用。

54.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为肌肉内施用。

55.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为表面施用。

56.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为口服施用。

57.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为经皮施用。

58.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为腹膜内施用。

59.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为眶内施用。

60.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为通过植入施用。

61.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为通过吸入施用。

62.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为鞘内施用。

63.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为室内施用。

64.权利要求42-44任一项的用途,其中该双特异性抗原结合分子配制为鼻内施用。

65.权利要求42-44任一项的用途,其中该受试者是人。

66.一种用于在受试者中治疗HER2阳性癌症或延迟HER2阳性癌症进展的试剂盒,其包含:

(a)权利要求38-41任一项的组合物;和

(b)包含关于该组合物用于在受试者中治疗HER2阳性癌症或延迟HER2阳性癌症进展的用法说明书的包装插页。

67.权利要求66的试剂盒,其中该HER2阳性癌症特征在于以200,000或更多拷贝每细胞的平均拷贝数表达HER2的肿瘤细胞。

双特异性抗原结合分子和使用方法

[0001] 序列表

[0002] 本申请含有序列表,已经以ASCII格式电子提交且据此通过援引完整收录。2019年2月6日创建的所述ASCII拷贝命名为50474-162WO2_Sequence_Listing_02.06.19_ST25且大小为293,645个字节。

发明领域

[0003] 本发明一般涉及双特异性抗原结合分子,其组合物,和用于治疗疾病,诸如癌症的方法。

[0004] 发明背景

[0005] 操纵患者中的特定细胞类型之间的细胞-对-细胞接触代表一种有希望的用于治疗各种疾病状况的办法。例如,具有两种臂(每种对不同靶抗原特异性)的双特异性抗原结合分子(例如双特异性抗体)因它们使得免疫细胞与靶细胞接触的能力而处于开发之中。此类双特异性抗体已经在多种病症中显示希望,诸如癌症,其中已经在临床试验中观察到有力的免疫介导的对肿瘤靶细胞的杀伤。为了赋予肿瘤特异性,已经设计了双特异性抗体的肿瘤靶向臂来靶向在肿瘤细胞上过表达的抗原。

[0006] 现有的双特异性抗体可能具有数项限制,包括半衰期短和对健康组织的毒性。依赖靶抗原的肿瘤细胞过表达的双特异性抗体常常杀死表达正常水平的该抗原的健康的非肿瘤细胞。此类中靶,脱肿瘤效应通过约束得到受试者耐受的最大剂量而限制双特异性抗体疗法的治疗指数。如此,本领域对于开发对靶细胞或组织的选择性增强的双特异性抗原结合分子(例如双特异性抗体)存在未满足的需求。

[0007] 发明概述

[0008] 本发明涉及具有单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子(例如具有单价臂和二价臂的T细胞依赖性双特异性(TDB)抗体)。

[0009] 在一个方面,本发明特征是一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含第一抗原结合模块,其中该第一抗原结合模块的C端与第一Fc亚基的N端融合;(b)该二价臂包含第二抗原结合模块和第三抗原结合模块,其中该第三抗原结合模块的C端与该第二抗原结合模块的N端融合,且该第二抗原结合模块的C端与第二Fc亚基的N端融合;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域,其中该第一抗原结合模块能够特异性结合第一靶抗原,且该第二抗原结合模块和该第三抗原结合模块每个能够特异性结合第二靶细胞抗原。在一些实施方案中,该第一靶抗原是活化性T细胞抗原,诸如CD3,和/或该第二靶细胞抗原是肿瘤抗原(例如HER2)。在一些实施方案中,该肿瘤抗原在(a)受试者中的肿瘤细胞和(b)受试者中的至少一种类型的非肿瘤细胞上表达。

[0010] 在一些实施方案中,该非肿瘤细胞对该肿瘤细胞上的肿瘤抗原拷贝数的比率是1:10至1:1,000(例如1:100至1:200)。在一些实施方案中,该肿瘤抗原拷贝数是非肿瘤细胞上的10^2至10^5和肿瘤细胞上的10^3至10^7。

[0011] 在一些实施方案中,该肿瘤细胞(例如HER2阳性肿瘤细胞)上的肿瘤抗原拷贝数

(例如平均肿瘤抗原拷贝数,例如HER2拷贝数,例如平均HER2拷贝数)大于10^5每细胞(例如10^5至10^7每细胞,或10^5至10^6每细胞)。在一些实施方案中,该肿瘤抗原拷贝数(例如平均肿瘤抗原拷贝数,例如HER2拷贝数,例如平均HER2拷贝数)≥200,000每肿瘤细胞(例如HER2阳性肿瘤细胞)。在一些实施方案中,该肿瘤抗原拷贝数(例如平均肿瘤抗原拷贝数,例如HER2拷贝数,例如平均HER2拷贝数)≤200,000每非肿瘤细胞(例如非癌性细胞,例如健康细胞)。

[0012] 在一些实施方案中,该第二抗原结合模块和/或该第三抗原结合模块的单价结合亲和力(K_D)是10nM至100nM(例如20nM至90nM,30nM至80nM,40nM至60nM,例如25nM至55nM)。在一个实施方案中,该第二抗原结合模块和/或该第三抗原结合模块的单价结合亲和力(K_D)是20nM至50nM。在一个实施方案中,该第二抗原结合模块和该第三抗原结合模块的单价结合亲和力(K_D)是20nM至50nM。

[0013] 在一些实施方案中,该第二抗原结合模块的单价K_D是使用表面等离振子共振(例如BIACORE®表面等离振子共振)测量的Fab格式的该第二抗原结合模块的K_D且其中该第三抗原结合模块的单价K_D是使用表面等离振子共振(例如BIACORE®表面等离振子共振)测量的Fab格式的该第三抗原结合模块的K_D。

[0014] 在一些实施方案中,该第二抗原结合模块和/或该第三抗原结合模块的单价解离速率是10^{-3}/秒至10^{-1}/秒(例如10^{-2}/秒至30^{-2}/秒)。在一些实施方案中,该第一抗原结合模块的单价K_D是10nM至100nM(例如20nM至90nM,20nM至80nM,30nM至70nM,或40nM至60nM)。

[0015] 在任何前述实施方案中,该第一抗原结合模块可以是包含可变重链(VH_A)区和可变轻链(VL_A)区的Fab分子(Fab_A);该第二抗原结合模块是包含可变重链(VH_{B1})区和可变轻链(VL_{B1})区的Fab分子(Fab_{B1});和/或该第三抗原结合模块是包含可变重链(VH_{B2})区和可变轻链(VL_{B2})区的Fab分子(Fab_{B2})。如此,在一些实施方案中,该第一抗原结合模块是包含VH_A区和VL_A区的Fab_A,该第二抗原结合模块是包含VH_{B1}区和VL_{B1}区的Fab_{B1},且第三抗原结合模块是包含VH_{B2}区和VL_{B2}区的Fab_{B2}。

[0016] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和该VH_{B2}分享至少95%序列同一性。另外/或者,该VL_{B1}和该VL_{B2}分享至少95%序列同一性。另外/或者,该VH_{B1}和该VH_{B2}分享至少95%序列同一性和/或该VL_{B1}和该VL_{B2}分享至少95%序列同一性。

[0017] 在一些实施方案中,该VH_{B1}区和/或该VH_{B2}区包含依照Kabat编号系统的N54,D98,F100,和/或Y102中一个,两个,三个,或所有四个残基处的氨基酸替代。例如,该VH_{B1}区和/或该VH_{B2}区可特征是下面的残基中一个,两个,三个,四个,或所有五个处的氨基酸替代:依照Kabat编号系统的N54E,D98A,D98T,F100A,和/或Y102V。

[0018] 在一些实施方案中,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区包含依照Kabat编号系统的N30,Y55,和/或H91中一个,两个,或所有三个残基处的氨基酸替代。例如,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区可特征是下面的残基中一个,两个,或所有三个处的氨基酸替代:N30S,Y55E,和/或H91A。

[0019] 在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子特征是VH_{B1}区,其包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:17具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:17的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:17

的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:18具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:18的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:18的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0020] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:17具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:17的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:17的100％序列同一性);且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:18具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:18的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:18的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列;且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0021] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:17具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:17的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:17的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:18具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:18的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:18的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0022] 在一些实施方案中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:17具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:17的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少97％序列同一性,

与SEQ ID NO:17的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:17的100％序列同一性);且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:18具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:18的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:18的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列;且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0023] 在一些实施方案中,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区包含H91处的氨基酸替代。例如,在一些实施方案中,H91残基用具有非极性侧链的氨基酸替代。在一些实施方案中,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区包含氨基酸替代H91A。在一些实施方案中,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区包含Y55处的氨基酸替代。例如,在一些实施方案中,Y55残基用具有酸性侧链的氨基酸替代。在一些实施方案中,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区包含氨基酸替代Y55E。在一些实施方案中,该VH_{B1}区和/或该VH_{B2}区包含F100和/或Y102处的氨基酸替代。例如,在一些实施方案中,F100残基和/或Y102残基用具有非极性侧链的氨基酸替代。在一些实施方案中,该VH_{B1}区和/或该VH_{B2}区包含氨基酸替代F100A和/或Y102V。

[0024] 在一些实施方案中,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区包含一个或多个易感性修理残基,例如包含氨基酸替代N30S的一个或多个易感性修理残基。另外/或者,该VH_{B1}区和/或该VH_{B2}区可特征是一个或多个易感性修理残基,例如包含选自由N54E,D98A,和D98T组成的组的一处或多处氨基酸替代的一个或多个易感性修理残基。

[0025] 在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子特征是一种VH_{B1}区,其包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:24具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:24的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:24的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:27具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:27的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:27的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5 H91A-1Fab-IgG TDB)。

[0026] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:24具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:24的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少97％序列同一性,

与SEQ ID NO:24的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:24的100％序列同一性);且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:27具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:27的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:27的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5 H91A-1Fab-IgG TDB)。

[0027] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:24具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:24的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:24的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:27具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:27的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:27的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5 H91A-1Fab-IgG TDB)。

[0028] 在一些实施方案中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:24具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:24的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:24的100％序列同一性);且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:27具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:27的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:27的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5 H91A-1Fab-IgG TDB)。

[0029] 在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子特征是VH_{B1}区,其包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID

NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:33具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:33的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:33的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:25的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:25的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5D98A.F100A.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0030] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:33具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:33的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:33的100%序列同一性);且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:25的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:25的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列;且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5D98A.F100A.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0031] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:33具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:33的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:33的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:25的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少99%序列同一性,或与SEQ ID

NO:25的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5 D98A.F100A.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0032] 在一些实施方案中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:33具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:33的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:33的100％序列同一性);且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:25具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:25的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:25的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列;且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5 D98A.F100A.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0033] 在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子特征是VH_{B1}区,其包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB)。

[0034] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99％序列同一性,或与SEQ

ID NO:41的100％序列同一性)；且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB)。

[0035] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB)。

[0036] 在一些实施方案中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100％序列同一性)；且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB)。

[0037] 在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子特征是VH_{B1}区,其包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实

施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0038] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100%序列同一性);且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0039] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99%序列同一性,或与SEQ ID

NO:48的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0040] 在一些实施方案中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100％序列同一性);且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0041] 在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子特征是VH_{B1}区,其包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB)。

[0042] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97％序列同一性,

与SEQ ID NO:41的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100％序列同一性);且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB)。

[0043] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5 N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB)。

[0044] 在一些实施方案中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100％序列同一性);且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB)。

[0045] 在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子特征是VH_{B1}区,其包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID

NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。在一些实施方案中该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0046] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100%序列同一性);且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0047] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97%序列同一性,与SEQ

ID NO:49的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5 N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0048] 在一些实施方案中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100％序列同一性);且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0049] 在一些实施方案中,任何前述实施方案的双特异性抗原结合分子特征是VH_A区,其包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:7的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:7的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:7的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:7的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:7的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_A区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:8的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:8的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:8的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:8的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:8的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗CD3双特异性抗原结合分子(例如抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB,例如具有40G5c CD3结合域的抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB)。

[0050] 在一些实施方案中,该VH_A包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_A包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例

如与SEQ ID NO:7的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:7的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:7的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:7的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:7的100％序列同一性);且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:8的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:8的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:8的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:8的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:8的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗CD3双特异性抗原结合分子(例如抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB,例如具有40G5c CD3结合域的抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB)。

[0051] 在另一个方面,本发明特征是一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95％序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95％序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:17具有至少95％序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:18具有至少95％序列同一性的氨基酸序列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:17具有至少95％序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:18具有至少95％序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0052] 在另一个方面,本发明提供一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:22的氨基酸

序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:24具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:27具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:24具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:27具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0053] 在还有另一个方面,本发明特征是一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:33具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:33具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列。

[0054] 在另一个方面,本发明特征是一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的

N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

[0055] 在另一个方面,本发明特征是一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗CD3/HER2双特异性抗原结合分子(例如抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB,例如具有一个40G5c CD3结合域和两个4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V HER2结合域的抗CD3/HER21Fab-IgG TDB)。

[0056] 在还有另一个方面,本发明提供一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗CD3/HER2双特异性抗原结合分子(例如抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB,例如具有一个40G5c CD3结合域和两个4D5 N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T HER2结合域的抗CD3/HER21Fab-IgG TDB)。

[0057] 在另一个方面,本发明特征是一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序

列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗CD3/HER2双特异性抗原结合分子(例如抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB,例如具有一个40G5c CD3结合域和两个4D5 N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V HER2结合域的抗CD3/HER21Fab-IgG TDB)。

[0058] 在任何前述方面的一些实施方案中,该Fc域是IgG Fc域(例如IgG_1或IgG_4Fc域)。该Fc域可以是人Fc域。在一些实施方案中,该Fc域包含降低对Fc受体的结合和/或效应器功能的一处或多处氨基酸替代。例如,在一些实施方案中,该降低对Fc受体的结合和/或效应器功能的一处或多处氨基酸替代在选自L234,L235,和P329的组的一个或多个位置处(例如其中该第一Fc亚基和该第二Fc亚基每个包含氨基酸替代L234A,L235A和P329G)。在一些实施方案中,该降低对Fc受体的结合和/或效应器功能的一处或多处氨基酸替代在N297处(例如N297G)。在一些实施方案中,该Fc受体是Fc γ受体。在一些实施方案中,该效应器功能是抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)。

[0059] 在任何前述方面的一些实施方案中,该Fc域包含配置成促进该第一Fc亚基与该第二Fc亚基的联合的修饰。在一些实施方案中,该第二Fc亚基的CH3域中的氨基酸残基用具有更大侧链体积的氨基酸残基替换,由此生成该第二Fc亚基的CH3域内的隆起,其可放置在该第一Fc亚基的CH3域内的空腔中,且该第一Fc亚基的CH3域中的氨基酸残基用具有更小侧链体积的氨基酸残基替换,由此生成该第一Fc亚基的CH3域内的空腔,其内可放置该第二Fc亚基的CH3域内的隆起。在一些实施方案中,该第二Fc亚基的CH3域包含氨基酸替代T366,且该第一Fc亚基的CH3域包含T366,L368,和/或Y407中一个,两个,或所有三个处的氨基酸替代。在一些实施方案中,该第二Fc亚基的CH3域包含氨基酸替代T366W,且该第一Fc亚基的CH3域包含T366S,L368A,和/或Y407V中一处,两处,或所有三处氨基酸替代。

[0060] 在任何前述方面的一些实施方案中,该第三抗原结合模块的C端经由肽接头与该第二抗原结合模块的N端融合。该肽接头可以是长度为5-20个氨基酸(例如长度为5-10,10-15,或15-20,例如5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,或20个氨基酸)。

[0061] 在一些实施方案中,该肽接头包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:55具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:55的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:55的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:55的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:55的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:55的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:59具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:59的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:59的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:59的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:59的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:59的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:63具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:63的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:63的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:63的至

少98％序列同一性,与SEQ ID NO:63的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:63的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:83具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:83的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:83的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:83的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:83的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:83的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:85具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:85的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:85的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:85的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:85的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:85的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:87具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:87的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:87的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:87的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:87的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:87的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:89具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:89的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:89的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:89的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:89的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:89的100％序列同一性)。

[0062] 在一些实施方案中,该肽接头包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:56具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:56的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:56的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:56的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:56的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:56的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:60具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:60的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:60的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:60的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:60的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:60的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:64具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:64的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:64的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:64的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:64的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:64的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:84具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:84的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:84的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:84的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:84的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:84的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:86具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:86的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:86的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:86的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:86的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:86的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:88具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:88的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:88的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:88的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:88的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:88的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:90具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:90的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:90的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:90的至少98％序列同一

性,与SEQ ID NO:90的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:90的100%序列同一性)。

[0063] 在另一个方面,本发明特征是一种分离的核酸,其编码任何前述方面的双特异性抗原结合分子。

[0064] 在另一个方面,本发明提供一种载体,其包含编码任何前述方面的双特异性抗原结合分子的分离的核酸。

[0065] 在另一个方面,本发明提供一种宿主细胞(例如分离的宿主细胞),其包含载体,该载体包含编码任何前述方面的双特异性抗原结合分子的分离的核酸。在一些实施方案中,该宿主细胞是哺乳动物细胞(例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞)。在其它实施方案中,该宿主细胞是原核细胞(例如大肠杆菌细胞)。

[0066] 在另一个方面,本发明特征是一种生成任何前述方面的双特异性抗原结合分子的方法。在一些实施方案中,该方法包含在培养培养基中培养任何上文描述的宿主细胞(例如包含载体的宿主细胞,该载体包含编码任何前述方面的双特异性抗原结合分子的分离的核酸)。在一些实施方案中,该方法进一步包含自该宿主细胞或该培养培养基回收该双特异性抗原结合分子。

[0067] 在另一个方面,本发明特征是一种分离的核酸套组,其编码任何前述方面的双特异性抗原结合分子(例如包含两种,三种,四种,或更多种编码任何前述方面的双特异性抗原结合分子的分离的核酸的套组)。在一些实施方案中,分离的核酸套组包括第一分离的核酸和第二分离的核酸,其中该第一分离的核酸编码该双特异性抗原结合分子的第一臂的一种或多种氨基酸序列且该第二分离的核酸编码该双特异性抗原结合分子的第二臂的一种或多种氨基酸序列。

[0068] 在另一个方面,本发明提供一种载体套组,其中该套组中的每种载体包含分离的核酸套组的分离的核酸,其中该分离的核酸套组编码任何前述方面的双特异性抗原结合分子(例如包含两种,三种,四种,或更多种编码任何前述方面的双特异性抗原结合分子的分离的核酸的套组)。

[0069] 在另一个方面,本发明提供一种宿主细胞套组(例如分离的宿主细胞套组)。在一些实施方案中,该套组中的每种宿主细胞包含分离的核酸套组的分离的核酸,其中该分离的核酸套组编码任何前述方面的双特异性抗原结合分子(例如包含两种,三种,四种,或更多种编码任何前述方面的双特异性抗原结合分子的分离的核酸的套组)。在一些实施方案中,该套组中的每种宿主细胞包含载体,该载体包含分离的核酸套组的分离的核酸,其中该分离的核酸套组编码任何前述方面的双特异性抗原结合分子的(例如包含两种,三种,四种,或更多种编码任何前述方面的双特异性抗原结合分子的分离的核酸的套组)。在一些实施方案中,该宿主细胞套组包含哺乳动物细胞(例如CHO细胞)。在一些实施方案中,该宿主细胞套组包含原核细胞(例如大肠杆菌细胞)。

[0070] 在另一个方面,本发明提供一种生成任何前述方面的双特异性抗原结合分子的方法,其中该方法包含在培养培养基中培养前述方面的宿主细胞套组。在一些实施方案中,该方法进一步包含自该宿主细胞套组或该培养培养基回收该双特异性抗原结合分子。

[0071] 在另一个方面,本发明特征是一种免疫缀合物,其包含任何前述方面的双特异性抗原结合分子和细胞毒剂。

[0072] 在还有另一个方面,本发明提供一种组合物,其包含任何前述方面的双特异性抗

原结合分子。在一些实施方案中,该组合物进一步包含药学可接受载剂,赋形剂,或稀释剂。例如,在一些实施方案中,该组合物是药学组合物。在一些实施方案中,该组合物进一步包含PD-1轴结合拮抗剂或另外的治疗剂。

[0073] 在另一个方面,本发明特征是前述方面任一项的双特异性抗原结合分子,供作为药物使用。例如,在一些实施方案中,本文中描述的双特异性抗原结合分子供在有需要的受试者中治疗细胞增殖性病症(例如癌症)或自身免疫病症或延迟细胞增殖性病症(例如癌症)或自身免疫病症进展中使用。在一些实施方案中,任何前述方面的双特异性抗原结合分子供在具有细胞增殖性病症(例如癌症,例如HER2阳性癌症)或自身免疫病症的受试者中增强免疫功能中使用。

[0074] 在另一个方面,本发明特征是任何前述方面的双特异性抗原结合分子在制造用于治疗病症或延迟病症进展的药物中的用途。在另一个方面,本发明特征是任何前述方面的双特异性抗原结合分子在制造用于在具有病症的受试者中增强免疫功能的药物中的用途。在一些实施方案中,该病症是细胞增殖性病症(例如癌症,例如HER2阳性癌症)或自身免疫病症。

[0075] 在还有另一个方面,本发明特征是一种在有需要的受试者中治疗病症或延迟病症进展的方法,该方法包含对该受试者施用任何前述方面的双特异性抗原结合分子。在另一个方面,本发明提供一种在具有病症的受试者中增强免疫功能的方法,该方法包含对该受试者施用任何前述方面的双特异性抗原结合分子。在一些实施方案中,该病症是细胞增殖性病症(例如癌症,例如HER2阳性癌症)或自身免疫病症。

[0076] 在另一个方面,本发明特征是一种在有需要的受试者中治疗病症或延迟病症进展的方法,其中该方法包含:(a)测定肿瘤细胞上HER2的表达,其中该肿瘤细胞以200,000或更多拷贝每细胞的平均拷贝数表达HER2;并(b)对该受试者施用任何前述方面的双特异性抗原结合分子。在一些实施方案中,该病症是细胞增殖性病症(例如癌症,例如HER2阳性癌症)或自身免疫病症。

[0077] 在另一个方面,本发明提供一种在具有病症的受试者中增强免疫功能的方法,其中该方法包含:(a)测定肿瘤细胞上HER2的表达,其中该肿瘤细胞以200,000或更多拷贝每细胞的平均拷贝数表达HER2;并(b)对该受试者施用任何前述方面的双特异性抗原结合分子。在一些实施方案中,该病症是细胞增殖性病症(例如癌症,例如HER2阳性癌症)或自身免疫病症。

[0078] 在任何前述方面的一些实施方案中,该癌症选自由乳腺癌,胃癌,结肠直肠癌,非小细胞肺癌,肾癌,膀胱癌,胰腺癌,前列腺癌,肝癌,头和颈癌,黑素瘤,卵巢癌,间皮瘤,成胶质细胞瘤,子宫内膜癌,和骨肉瘤组成的组。在一些实施方案中,该癌症是HER2阳性癌症(例如HER2阳性乳腺癌,HER2阳性胃癌,HER2阳性结肠直肠癌,HER2阳性非小细胞肺癌,HER2阳性肾癌,HER2阳性膀胱癌,HER2阳性胰腺癌,HER2阳性前列腺癌,HER2阳性肝癌,HER2阳性头和颈癌,HER2阳性黑素瘤,HER2阳性卵巢癌,HER2阳性间皮瘤,HER2阳性成胶质细胞瘤,HER2阳性子宫内膜癌,或HER2阳性骨肉瘤)。

[0079] 在一些实施方案中,该HER2阳性癌症(例如该HER2阳性乳腺癌,该HER2阳性胃癌,该HER2阳性结肠直肠癌,该HER2阳性非小细胞肺癌,该HER2阳性肾癌,该HER2阳性膀胱癌,该HER2阳性胰腺癌,该HER2阳性前列腺癌,该HER2阳性肝癌,该HER2阳性头和颈癌,该HER2

阳性黑素瘤,该HER2阳性卵巢癌,该HER2阳性间皮瘤,该HER2阳性成胶质细胞瘤,该HER2阳性子宫内膜癌,或该HER2阳性骨肉瘤)特征在于以至少200,000每细胞(例如至少250,000个HER2拷贝每个细胞,至少300,000个HER2拷贝每个细胞,至少400,000个HER2拷贝每个细胞,至少500,000个HER2拷贝每个细胞,至少600,000个HER2拷贝每个细胞,至少700,000个HER2拷贝每个细胞,至少750,000个HER2拷贝每个细胞,至少800,000个HER2拷贝每个细胞,至少900,000个HER2拷贝每个细胞,至少1,000,000个HER2拷贝每个细胞,至少1,200,000个HER2拷贝每个细胞,至少1,500,000个HER2拷贝每个细胞,至少2,000,000个HER2拷贝每个细胞,至少2,500,000个HER2拷贝每个细胞,至少3,000,000个HER2拷贝每个细胞,或更多,例如200,000至3,000,000个HER2拷贝每个细胞,250,000至2,500,000个HER2拷贝每个细胞,300,000至2,000,000个HER2拷贝每个细胞,400,000至1,500,000个HER2拷贝每个细胞,或500,000至1,000,000个HER2拷贝每个细胞,例如200,000至1,000,000个HER2拷贝每个细胞(例如200,000至250,000个HER2拷贝每个细胞,250,000至300,000个HER2拷贝每个细胞,300,000至400,000个HER2拷贝每个细胞,400,000至500,000个HER2拷贝每个细胞,500,000至750,000个HER2拷贝每个细胞,或750,000至1,000,000个HER2拷贝每个细胞)或1,000,000至3,000,000个HER2拷贝每个细胞(例如1,000,000至1,500,000个HER2拷贝每个细胞,1,500,000至2,000,000个HER2拷贝每个细胞,2,000,000至2,500,000个HER2拷贝每个细胞,或2,500,000至3,000,000个HER2拷贝每个细胞)的拷贝数(例如平均拷贝数)表达HER2的肿瘤细胞。

[0080] 在任何前述方面的一些实施方案中,以约0.01mg/kg至约10mg/kg(例如约0.1mg/kg至约10mg/kg,例如约1mg/kg)的剂量将该双特异性抗原结合分子施用于该受试者。

[0081] 在一些实施方案中,将PD-1轴结合拮抗剂和/或另外的治疗剂施用于该受试者。在一些实施方案中,在施用该双特异性抗原结合分子前或后施用该PD-1轴结合拮抗剂或另外的治疗剂。在一些实施方案中,与该双特异性抗原结合分子并行施用该PD-1轴结合拮抗剂或另外的治疗剂。在一些实施方案中,该PD-1轴结合拮抗剂选自由PD-L1结合拮抗剂(例如阿特珠单抗(MPDL3280A),YW243.55.S70,MDX-1105,MEDI4736(度伐单抗),和MSB0010718C(阿维单抗)),PD-1结合拮抗剂(例如MDX-1106(纳武单抗),MK-3475(派姆单抗),CT-011(匹迪单抗),MEDI-0680(AMP-514),PDR001(斯巴达珠单抗),REGN2810(西米普利单抗),和BGB-108),和PD-L2结合拮抗剂(例如抗体或免疫粘附素)组成的组。

[0082] 在一些实施方案中,皮下,静脉内,肌肉内,表面,口服,经皮,腹膜内,眶内,通过植入,通过吸入,鞘内,室内,或鼻内施用该双特异性抗原结合分子。例如,在一些实施方案中,皮下施用该双特异性抗原结合分子。在其它实施方案中,静脉内施用该双特异性抗原结合分子。

[0083] 在任何前述方面的一些实施方案中,该受试者是人。

[0084] 在另一个方面,本发明特征是一种试剂盒,其包含:(a)包含任何前述方面的双特异性抗原结合分子的组合物;和(b)包含关于将该组合物施用于受试者以治疗病症(例如细胞增殖性病症(例如癌症)或自身免疫病症)或延迟病症(例如细胞增殖性病症(例如癌症)或自身免疫病症)进展的用法说明书的包装插页。在一些实施方案中,该组合物进一步包含药学可接受载剂,赋形剂,或稀释剂。

[0085] 附图简述

[0086] 图1是免疫印迹,显示SKBR3细胞和MCF7细胞的HER2蛋白的相对表达。

[0087] 图2A-2F是多幅图,显示各种单价HER2 TDB(IgG TDB)分子对SKBR3细胞(空心方形)和MCF7细胞(实心点)的相对杀伤的剂量响应曲线。作为均值±标准偏差表示数据。图2A是一幅图,显示野生型4D5 IgG TDB抗体(曲妥珠单抗)的靶细胞杀伤的剂量响应曲线。图2B是一幅图,显示4D5抗体变体Y55E.Y102V-TDB的靶细胞杀伤的剂量响应曲线。图2C是一幅图,显示4D5抗体变体Y55E.D98A.F100A.Y102V-IgG TDB的靶细胞杀伤的剂量响应曲线。图2D是一幅图,显示4D5抗体变体D98A.F100A.Y102V-IgG TDB的靶细胞杀伤的剂量响应曲线。图2E是一幅图,显示4D5抗体变体H91A-IgG TDB的靶细胞杀伤的剂量响应曲线。图2F是一幅图,显示4D5抗体变体Y100A-IgG TDB的靶细胞杀伤的剂量响应曲线。

[0088] 图3是1Fab-IgG TDB格式的代表性三价抗体的示意图。抗体特征是具有两个抗HER2结合模块的二价臂和具有一个抗CD3结合模块的单价臂。

[0089] 图4A是一幅图,显示相对于野生型4D5 IgG TDB抗体量化各种1Fab-IgG TDB抗体对SKBR3的结合的剂量响应曲线,如通过流式细胞术量化的。实心下指三角形代表该野生型4D5 IgG TDB抗体(曲妥珠单抗);实心方形代表4D5抗体变体H91A-IgG TDB;实心上指三角形代表4D5抗体变体D98A.F100A.Y102V-IgG TDB;空心下指三角形代表4D5抗体变体Y102V-IgG TDB;而空心菱形代表4D5抗体变体Y55E.Y102V-IgG TDB。

[0090] 图4B是一幅图,显示相对于野生型4D5 IgG TDB抗体量化各种1Fab-IgG TDB抗体对MCF7的结合的剂量响应曲线,如通过流式细胞术量化的。实心下指三角形代表野生型4D5 IgG TDB抗体(曲妥珠单抗);实心方形代表4D5抗体变体H91A-IgG TDB;实心上指三角形代表4D5抗体变体D98A.F100A.Y102V-IgG TDB;空心下指三角形代表4D5抗体变体Y102V-IgG TDB;而空心菱形代表4D5抗体变体Y55E.Y102V-IgG TDB。

[0091] 图5A是一幅图,显示相对于野生型4D5 IgG TDB抗体,各种1Fab-IgG TDB抗体所致SKBR3细胞中对凋亡的诱导,如随时间的通过胱天蛋白酶3/7活性量化的。实心点代表野生型4D5 IgG TDB抗体(曲妥珠单抗);空心方形代表4D5抗体变体H91A-IgG TDB;实心三角形代表4D5抗体变体D98A.F100A.Y102V-IgG TDB;空心三角形代表4D5抗体变体Y102V-IgG TDB;而空心菱形代表4D5抗体变体Y55E.Y102V-IgG TDB。作为均值±标准偏差表示数据。

[0092] 图5B是一幅图,显示相对于野生型4D5 IgG TDB抗体,各种1Fab-IgG TDB抗体所致MCF7细胞中对凋亡的诱导,如通过随时间胱天蛋白酶3/7活性量化的。实心点代表野生型4D5 IgG TDB抗体(曲妥珠单抗);空心方形代表4D5抗体变体H91A-IgG TDB;实心三角形代表4D5抗体变体D98A.F100A.Y102V-IgG TDB;空心三角形代表4D5抗体变体Y102V-IgG TDB;而空心菱形代表4D5抗体变体Y55E.Y102V-IgG TDB。作为均值±标准偏差表示数据。

[0093] 图6A是一幅图,显示相对于野生型4D5 IgG TDB抗体,SKBR3细胞中响应与50ng/mL各种1Fab-IgG TDB抗体一起温育的细胞毒性,如通过CELLTITER-GLO®测定法测量的。第一条柱(在左边)代表野生型4D5 TDB抗体(曲妥珠单抗);第二条柱代表4D5抗体变体H91A-IgG TDB;第三条柱代表4D5抗体变体D98A.F100A.Y102V-IgG TDB;第四条柱代表4D5抗体变体Y102V-IgG TDB;而第五条柱(在右边)代表4D5抗体变体Y55E.Y102V-IgG TDB。作为均值±标准偏差表示数据。

[0094] 图6B是一幅图,显示相对于野生型4D5 IgG TDB抗体,MCF7细胞中响应与50ng/mL各种1Fab-IgG TDB抗体一起温育的细胞毒性,如通过CELLTITER-GLO®测定法测量

的。第一条柱(在左边)代表野生型4D5 TDB抗体(曲妥珠单抗);第二条柱代表4D5抗体变体H91A-IgG TDB;第三条柱代表4D5抗体变体D98A.F100A.Y102V-IgG TDB;第四条柱代表4D5抗体变体Y102V-IgG TDB;而第五条柱(在右边)代表4D5抗体变体Y55E.Y102V-IgG TDB。作为均值±标准偏差表示数据。

[0095] 图6C是一幅图,显示相对于野生型4D5 IgG TDB抗体,MCF7细胞中响应与50μg/mL各种1Fab-IgG TDB抗体一起温育的细胞毒性,如通过CELLTITER-GLO®测定法测量的。第一条柱(在左边)代表野生型4D5 TDB抗体(曲妥珠单抗);第二条柱代表4D5抗体变体H91A-IgG TDB;第三条柱代表4D5抗体变体D98A.F100A.Y102V-IgG TDB;第四条柱代表4D5抗体变体Y102V-IgG TDB;而第五条柱(在右边)代表4D5抗体变体Y55E.Y102V-IgG TDB。作为均值±标准偏差表示数据。

[0096] 图7A是一幅图,显示相对于野生型4D5 IgG TDB抗体(曲妥珠单抗;实心三角形),量化各种1Fab-IgG TDB抗体对SKBR3细胞的结合的剂量响应曲线,如通过流式细胞术量化的。空心三角形代表4D5抗体变体Y55E.H91A-1Fab-IgG TDB;方形代表4D5抗体变体Y100Aa-1Fab-IgG TDB;而圆形代表4D5抗体变体H91A.N30A-1Fab-IgG TDB。

[0097] 图7B是一幅图,显示相对于野生型4D5 IgG TDB抗体(曲妥珠单抗;实心三角形),量化各种1Fab-IgG TDB抗体对MCF7细胞的结合的剂量响应曲线,如通过流式细胞术量化的。空心三角形代表4D5抗体变体Y55E.H91A-1Fab-IgG TDB;方形代表4D5抗体变体Y100Aa-1Fab-IgG TDB;而圆形代表4D5抗体变体H91A.N30A-1Fab-IgG TDB。

[0098] 图8是一幅图,显示量化各种1Fab-IgG TDB抗体对SKBR3细胞的细胞毒性的剂量响应曲线,如通过CELLTITER-GLO®测定法测量的。空心方形代表4D5抗体变体H91A-1Fab-IgG TDB;实心方形代表4D5抗体变体Y100Aa-1Fab-IgG TDB;而圆形代表4D5抗体变体H91A.N30A-1Fab-IgG TDB。作为均值±标准偏差表示数据。

[0099] 图9是一幅图,显示相对于4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体比较4D5 IgG TDB抗体的细胞毒性的剂量响应曲线。SKBR3细胞和MCF7细胞中由4D5 IgG TDB抗体诱导的细胞毒性分别通过实心圆形和实心方形来代表。SKBR3细胞和MCF7细胞中由4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体诱导的细胞毒性分别通过空心三角形和空心方形来代表。作为均值±标准偏差表示数据。

[0100] 图10是一幅图,显示90种乳腺癌细胞系中ErbB2 RNA表达的RNA-seq分析的结果。细胞系分类为低ErbB2表达,中ErbB2表达,和高ErbB2表达细胞系。

[0101] 图11A是一幅图,显示4D5 IgG TDB抗体在50ng/mL浓度时对低ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-436,PC3,MCF7/neo-cl3,MDA-MB-231,LS1034,和HT55),中ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-453,MDA-MB-175-VII,JIMT-1,和MKN7),和高ErbB2表达细胞系(MDA-MB-361,SKBR3,BT474-M1,SK-OV-3,和KPL4)的细胞毒性。作为均值±标准偏差表示数据。

[0102] 图11B是一幅图,显示4D5 IgG TDB抗体在50μg/mL浓度时对低ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-436,PC3,MCF7/neo-cl3,MDA-MB-231,LS1034,和HT55),中ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-453,MDA-MB-175-VII,JIMT-1,和MKN7),和高ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-361,SKBR3,BT474-M1,SK-OV-3,和KPL4)的细胞毒性。作为均值±标准偏差表示数据。

[0103] 图11C是一幅图,显示4D5 TDB抗体在50ng/mL浓度时对与低ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-436,PC3,MCF7/neo-cl3,MDA-MB-231,LS1034,和HT55),中ErbB2表达性细胞系

(MDA-MB-453,MDA-MB-175-VII,JIMT-1,和MKN7),和高ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-361,SKBR3,BT474-M1,SK-OV-3,和KPL4)一起培养的人$CD8^+$T细胞的活化的影响。通过CD69和CD45的双重表达测量T细胞活化。作为均值±标准偏差表示数据。

[0104] 图11D是免疫印迹,显示图11A-11C中呈现的每种细胞系的HER2蛋白质表达。

[0105] 图12A是一幅图,显示4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体在50ng/mL浓度时对低ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-436,PC3,MCF7/neo-c13,MDA-MB-231,LS1034,和HT55),中ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-453,MDA-MB-175-VII,JIMT-1,和MKN7),和高ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-361,SKBR3,BT474-M1,SK-OV-3,和KPL4)的细胞毒性。作为均值±标准偏差表示数据。

[0106] 图12B是一幅图,显示4D5 H91A-1Fab-IgG TDB1Fab-IgG TDB抗体在50μg/mL浓度时对低ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-436,PC3,MCF7/neo-c13,MDA-MB-231,LS1034,和HT55),中ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-453,MDA-MB-175-VII,JIMT-1,和MKN7),和高Erb2表达性细胞系(MDA-MB-361,SKBR3,BT474-M1,SK-OV-3,和KPL4)的细胞毒性。作为均值±标准偏差表示数据。

[0107] 图12C是一幅图,显示4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体在50ng/mL浓度时对与低ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-436,PC3,MCF7/neo-c13,MDA-MB-231,LS1034,和HT55),中ErbB2表达性细胞系(MDA-MB-453,MDA-MB-175-VII,JIMT-1,和MKN7),和高Erb2表达性细胞系(MDA-MB-361,SKBR3,BT474-M1,SK-OV-3,和KPL4)一起培养的人$CD8^+$T细胞的活化的影响。通过CD69和CD45的双重表达测量T细胞活化。作为均值±标准偏差表示数据。

[0108] 图12D是免疫印迹,显示图12A-12C中呈现的每种细胞系的HER2蛋白质表达。

[0109] 图13是一幅图,显示量化4D5 H91A-IgG TDB抗体(方形)和4D5H91A-1Fab-IgG TDB抗体(圆形)对HBL-100细胞的细胞毒性的剂量响应曲线。

[0110] 图14A是一幅图,显示量化多个浓度的4D5 H91A-IgG TDB抗体随时间对HBL-100细胞的细胞毒性的剂量响应曲线。实心圆形代表剂量5,000ng/mL4D5 H91A-IgG TDB,空心方形代表剂量500ng/mL 4D5 H91A-IgG TDB,实心上指三角形代表剂量50ng/mL 4D5 H91A-IgG TDB,空心下指三角形代表剂量5ng/mL 4D5 H91A-IgG TDB,空心菱形代表剂量0.5ng/mL 4D5H91A-IgG TDB,而实心菱形代表未治疗对照。

[0111] 图14B是一幅图,显示量化多个浓度的4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体随时间对HBL-100细胞的细胞毒性的剂量响应曲线。实心圆形代表剂量5,000ng/mL 4D5 H91A-1Fab-IgG TDB,空心方形代表剂量500ng/mL 4D5H91A-1Fab-IgG TDB,实心上指三角形代表剂量50ng/mL 4D5H91A-1Fab-IgG TDB,空心下指三角形代表剂量5ng/mL 4D5H91A-1Fab-IgG TDB,空心菱形代表剂量0.5ng/mL 4D5 H91A-1Fab-IgG TDB,而实心菱形代表未治疗对照。

[0112] 图15A是一套图,显示4D5 H91A-IgG TDB和4D5 H91A-1Fab-IgG TDB对从左到右表达递增量的HER2的细胞系的杀伤效果,如通过下面的免疫印迹和柱形图显示。

[0113] 图15B是一系列显微照片,显示相对HER2表达的IHC和FISH检测测定法的结果。

[0114] 图15C是一幅图,显示4D5 H91A-1Fab-IgG TDB对图15B中表征的细胞的杀伤。

[0115] 图16是免疫印迹,显示MCF7细胞,HT55细胞,和HER2扩增的KPL4细胞中的HER2蛋白质表达。

[0116] 图17是格子图,显示补充有人PBMC的小鼠中随各种剂量4D5H91A-1Fab-IgG TDB抗体或野生型4D5 TDB抗体治疗过程的KPL4肿瘤体积。具有已建立的KPL4肿瘤的小鼠在第0天

接受单剂静脉内指定剂量。格子中的每幅小图描绘一个剂量组,如通过小图标头指示的。粗体实心黑色线代表每个剂量组的拟合肿瘤体积。短划粗体线代表接受组氨酸缓冲液媒介的对照组的拟合肿瘤体积。带有空心圆形的短划线代表个体动物。带有实心点的实心线代表自研究移除的动物。短划水平灰色线标记肿瘤体积500mm^3。

[0117] 图18是格子图,显示补充有人PBMC的小鼠中随各种剂量4D5H91A-1Fab-IgG TDB抗体或野生型4D5 IgG TDB抗体治疗过程的HT55肿瘤体积。具有已建立的HT55肿瘤的小鼠在第0天接受单剂静脉内指定剂量。格子中的每幅小图描绘一个剂量组,如通过小图标头指示的。粗体实心黑色线代表每个剂量组的拟合肿瘤体积。短划粗体线代表接受组氨酸缓冲液媒介的对照组的拟合肿瘤体积。带有空心圆形的短划线代表个体动物。带有实心点的实心线代表自研究移除的动物。短划水平灰色线标记肿瘤体积500mm^3。

[0118] 图19是格子图,显示补充有人PBMC的小鼠中随各种剂量4D5D98A.F100A.Y102V-1Fab-IgG TDB抗体或野生型4D5 IgG TDB抗体治疗过程的KPL4肿瘤体积。具有已建立的KPL4肿瘤的小鼠在第0天接受单剂静脉内指定剂量。格子中的每幅小图描绘一个剂量组,如通过小图标头指示的。粗体实心黑色线代表每个剂量组的拟合肿瘤体积。短划粗体线代表接受组氨酸缓冲液媒介的对照组的拟合肿瘤体积。带有空心圆形的短划线代表个体动物。带有实心点的实心线代表自研究移除的动物。短划水平红色线标记肿瘤体积500mm^3。

[0119] 图20是一幅图,显示量化4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体(实心圆形)和4D5 D98A.F100A.Y102V-1Fab-IgG TDB抗体(空心方形)对SKBR3细胞的细胞毒性的剂量响应曲线。作为均值±标准偏差表示数据。

[0120] 图21A是一幅图,显示4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体对高HER2表达性细胞系(n=20)的杀伤。高HER2表达性细胞系特征在于ErbB2 RNA的高表达。作为均值±标准偏差表示数据。

[0121] 图21B是一幅图,显示4D5 D98A.F100A.Y102V-1Fab-IgG TDB抗体对高HER2表达性细胞系(n=20)的杀伤。高HER2表达性细胞系特征在于ErbB2RNA的高表达。作为均值±标准偏差表示数据。

[0122] 图22是一幅图,显示4D5 D98A.F100.Y102V-1Fab-IgG TDB抗体相对于4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体对高HER2表达性细胞系的相对杀伤效力。数据派生自图20A和20B。

[0123] 图23A是一幅图,显示4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体对中HER2表达性细胞系(n=12)的杀伤。提供对SKBR3细胞的杀伤作为阳性对照。中HER2表达性细胞系特征在于ErbB2 RNA的中表达。作为均值±标准偏差表示数据。

[0124] 图23B是一幅图,显示4D5 D98A.F100A.Y102V-1Fab-IgG TDB抗体对中HER2表达性细胞系(n=12)的杀伤。提供对SKBR3细胞的杀伤作为阳性对照。中HER2表达性细胞系特征在于ErbB2 RNA的中表达。作为均值±标准偏差表示数据。

[0125] 图24是一幅图,显示4D5 D98A.F100.Y102V-1Fab-IgG TDB抗体相对于4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体对中HER2表达性细胞系的相对杀伤效力。数据派生自图22A和22B。

[0126] 图25A是一幅图,显示4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体对低HER2表达性细胞系(n=12)的杀伤。提供对SKBR3细胞的杀伤作为阳性对照。低HER2表达性细胞系特征在于ErbB2 RNA的低表达。作为均值±标准偏差表示数据。

[0127] 图25B是一幅图,显示4D5 D98A.F100A.Y102V-1Fab-IgG TDB抗体对低HER2表达性

细胞系(n＝12)的杀伤。提供对SKBR3细胞的杀伤作为阳性对照。低HER2表达性细胞系特征在于ErbB2 RNA的低表达。作为均值±标准偏差表示数据。

[0128] 图26是一幅图,显示4D5 D98A.F100.Y102V-1Fab-IgG TDB抗体相对于4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体对低HER2表达性细胞系的相对杀伤效力。数据派生自图24A和24B。

[0129] 图27A是示意图,显示图27B中测试的两种肽接头的位置和序列。每种肽接头融合远端Fab的恒定重链(CH)区的C端与近端Fab的可变重链(VH)区的N端。在图27B中,DKTHTGGGGSGG(SEQ ID NO:52)通过空心方形来代表,而DKTHT(SEQ ID NO:50)通过实心圆形来代表。

[0130] 图27B是一幅图,显示量化具有DKTHTGGGGSGG接头的4D5H91A-1Fab-IgG TDB抗体(空心方形)相对于具有DKTHT接头的4D5H91A-1Fab-IgG TDB抗体(实心圆形)对MCF7细胞的结合的剂量响应曲线。作为均值±标准偏差表示数据。

[0131] 图27C是一幅图,显示量化具有DKTHTGGGGSGG接头的4D5H91A-1Fab-IgG TDB抗体(空心方形)相对于具有DKTHT接头的4D5H91A-1Fab-IgG TDB抗体(实心圆形)对SKBR3细胞的杀伤的剂量响应曲线。作为均值±标准偏差表示数据。

[0132] 图28A是一系列免疫印迹,显示随时间抗HER2-CD3 1Fab-IgG对SKBR3细胞的$pAKT^{S473}$和pHER3的表达的影响。

[0133] 图28B是一幅图,显示量化SKBR3细胞响应用抗HER2-CD3 1Fab-IgG,抗HER2-CD3 IgG TDB,和曲妥珠单抗处理的存活力的剂量响应曲线。

[0134] 图29A是传感图,显示野生型4D5 Fab对直接固定化的人HER2(胞外域;Novus Biologicals)的结合动力学,如使用BIACORE®表面等离振子共振测量的。野生型4D5 Fab样品浓度范围为0.27 nM至200 nm,3倍稀释。

[0135] 图29B是传感图,显示4D5 Y55E.Y102V-Fab对直接固定化的人HER2(胞外域;Novus Biologicals)的结合动力学,如使用BIACORE®表面等离振子共振测量。4D5 Y55E.Y102V-Fab样品浓度范围为0.27 nM至200 nm,3倍稀释。

[0136] 图29C是传感图,显示4D5 D98A.F100A.Y102V-Fab对直接固定化的人HER2(胞外域;Novus Biologicals)的结合动力学,如使用BIACORE®表面等离振子共振测量。4D5 D98A.F100A.Y102V-Fab样品浓度范围为0.27 nM至200nm,3倍稀释。

[0137] 图29D是传感图,显示4D5 H91A-Fab对直接固定化的人HER2(胞外域;Novus Biologicals)的结合动力学,如使用BIACORE®表面等离振子共振测量的。4D5 H91A-Fab样品浓度范围为0.27 nM至200 nm,3倍稀释。

[0138] 图30A是传感图,显示4D5 N30S-Fab对直接固定化的人HER2(胞外域;Novus Biologicals)的结合动力学,如使用BIACORE®表面等离振子共振测量的。4D5 N30S-Fab样品浓度范围为0.27 nM至200 nm,3倍稀释。

[0139] 图30B是传感图,显示4D5 N54E.D98T-Fab对直接固定化的人HER2(胞外域;Novus Biologicals)的结合动力学,如使用BIACORE®表面等离振子共振测量的。4D5 N54E.D98T-Fab样品浓度范围为0.27 nM至200 nm,3倍稀释。

[0140] 图30C是传感图,显示4D5 N30S.N54E.D98T-Fab对直接固定化的人HER2(胞外域;Novus Biologicals)的结合动力学,如使用BIACORE®表面等离振子共振测量的。4D5

N30S.N54E.D98T-Fab样品浓度范围为0.27 nM至200nm,3倍稀释。

[0141] 图31A是传感图,显示4D5 N30S.Y55E.N54E.D98T.Y102V-Fab对直接固定化的人HER2(胞外域;Novus Biologicals)的结合动力学,如使用BIACORE® 表面等离振子共振测量的。4D5N30S.Y55E.N54E.D98T.Y102V-Fab样品浓度范围为0.27nM至200nm,3倍稀释。

[0142] 图31B是传感图,显示4D5 N30S.N54E.D98T.F100A.Y102V-Fab对直接固定化的人HER2(胞外域;Novus Biologicals)的结合动力学,如使用BIACORE® 表面等离振子共振测量的。4D5N30S.N54E.D98T.F100A.Y102V-Fab样品浓度范围为0.27nM至200nm,3倍稀释。

[0143] 图31C是传感图,显示4D5 N30S.H91A.N54E.D98T-Fab对直接固定化的人HER2(胞外域;Novus Biologicals)的结合动力学,如使用BIACORE®表面等离振子共振测量的。4D5 N30S.H91A.N54E.D98T-Fab样品浓度范围为0.27nM至200nm,3倍稀释。

[0144] 图32A-32K是一系列传感图,显示4D5 IgG TDB抗体对人HER2的结合动力学,如使用BIACORE®表面等离振子共振测量的。图32A是显示野生型4D5 IgG TDB的结合动力学的传感图;图32B是显示4D5 H91A-IgG TDB的结合动力学的传感图;图32C是显示4D5 Y55E.H91A-IgG TDB的结合动力学的传感图;图32D是显示4D5 Y55E.D98A.F100A.Y102V-IgG TDB的结合动力学的传感图;图32E是显示4D5 D98A.F100A.Y102V-IgG TDB的结合动力学的传感图;图32F是显示4D5 H91A.D98A.F100A.Y102V-IgG TDB的结合动力学的传感图;图32G是显示4D5 Y55E.H91A.D98A.F100A.Y102V-IgG TDB的结合动力学的传感图;图32H是显示4D5 Y55E.Y102V-IgG TDB的结合动力学的传感图;图32I是显示4D5 Y102V-IgG TDB的结合动力学的传感图;图32J是显示4D5 H91A.Y102V-IgG TDB的结合动力学的传感图;而图32K是显示4D5 Y55E.H91A.Y102V-IgG TDB的结合动力学的传感图。

[0145] 图33A是一幅图,显示量化4D5Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB(批次1)抗体(空心方形);4D5Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB抗体(实心方形);4D5Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB(批次2)抗体(空心面下三角形);或4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体(实心面上三角形)对SKBR3细胞的杀伤的剂量响应曲线。

[0146] 图33B是一幅图,显示量化4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB(批次1)抗体(空心方形);4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB抗体(实心方形);4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB(批次2)抗体(空心面下三角形);或4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体(实心面上三角形)对MCF7细胞杀伤的剂量响应曲线。

[0147] 图34A是一幅图,显示量化各种1Fab-IgG TDB变体对SKBR8细胞的结合的剂量响应曲线,如通过流式细胞术测量的。空心方形代表4D5Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB(批次1)抗体;实心方形代表4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB抗体;空心面下三角形代表4D5Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB(批次2)抗体;而实心面上三角形代表4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体。

[0148] 图34B是一幅图,显示量化各种1Fab-IgG TDB变体对MCF7细胞的结合的剂量响应曲线,如通过流式细胞术测量的。空心方形代表4D5Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB(批次1)抗体;实心方形代表4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB抗体;空心面下三角形代表4D5Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB(批次2)抗体;而实心面上三角形代表4D5 H91A-1Fab-IgG TDB抗体。

[0149] 图35A是示意图,显示具有单价高亲和力结合的抗HER2-CD3 IgG-TDB的结合和活性。

[0150] 图35B是示意图,显示具有单价低亲和力结合的抗HER2-CD3 IgG-TDB的结合和活性。

[0151] 图35C是示意图,显示由于抗HER2-CD3 1Fab-IgG TDB的亲合力,适宜亲和力(单价K_D 20-50nM)的二价HER2结合导致对HER2过表达细胞的高结合。

[0152] 图36提供HER2胞外域(ECD)的晶体结构并突显不同HER2抗体结合的区域。

[0153] 图37是一幅图,显示量化38E4v1 4D5-H91A 1Fab-IgG TDB对SKBR3靶细胞(空心圆形);40G5c 4D5-H91A 1Fab-IgG TDB对SKBR3靶细胞(实心圆形);38E4v1 4D5-H91A 1Fab-IgG TDB对MCF7靶细胞(空心方形);和40G5c4D5-H91A 1Fab-IgG TDB对MCF7靶细胞(实心方形)的杀伤的剂量响应曲线。

[0154] 图38A是一幅图,显示4D5 H91A 1Fab-IgG TDB和4D5 IgG TDB-诱导的HER2不依赖性T细胞活化的水平,如在HER2表达性细胞存在和缺失下测试的。

[0155] 图38B是一幅图,显示4D5 H91A 1Fab-IgG TDB和4D5 IgG TDB诱导的HER2不依赖性T细胞活化的水平,如在二价抗CD3 OKT3存在和缺失下测试的。

[0156] 图38C是一系列图,显示炎症(C反应蛋白;CRP),T细胞活化(淋巴细胞边缘化),和肝损害(丙氨酸和天冬氨酸氨基转移酶;ALT和AST)的血液标志物,如对食蟹猴给药H91A 1Fab-IgG TDB或媒介对照后2天和8天测量的。

[0157] 图38D是图和汇总表,显示自以20mg/kg和3mg/kg剂量给药H91A1Fab-IgG TDB的食蟹猴通过ELISA检测的PK参数。

[0158] 图38E是一幅图,显示给药后7天和14天并使用指定稀释度提交健康供体PBMC和SKBR3细胞达24小时的H91A 1Fab-IgG TDB食蟹猴血清水平。使用新鲜4D5-H91A 1Fab-IgG TDB的稀释液进行平行实验(对照)。

[0159] 图39是一幅图,显示各种氨基酸替代对4D5抗HER2 Fab变体的结合亲和力的影响。

[0160] 发明详述

[0161] I.定义

[0162] 如本文中使用的,术语“约”指此技术领域中的技术人员容易知道的相应数值的常规误差范围。本文中提到“约”数值或参数包括(且描述)涉及该数值或参数本身的实施方案。

[0163] “亲和力”指分子(例如抗体)的单一结合位点与其结合配偶体(例如抗原)之间全部非共价相互作用总和的强度。除非另有指示,如本文中使用的,“结合亲和力”指反映结合对的成员(例如抗体和抗原)之间1:1相互作用的内在结合亲和力。分子X对其配偶体Y的亲和力通常可以用平衡解离常数(K_D)来表述。亲和力可以通过本领域知道的常用方法来测量,包括本文中所描述的方法。下文描述了用于测量结合亲和力的具体的说明性和例示性的实施方案。

[0164] 如本文中使用的,术语“特异性结合”,或“对……特异性的”指可测量且可再现的相互作用,诸如靶物和抗体之间的结合,其确定在存在分子(包括生物学分子)的异质群体的情况中靶物的存在。例如,特异性结合靶物(其可以是表位)的抗体是以比其结合其它靶物更大的亲和力,亲合力,更容易,和/或以更大的持续时间结合此靶物的抗体。在一个实施

方案中,抗体结合无关靶物的程度小于抗体结合靶物的约10%,如例如通过放射性免疫测定法(RIA)测量的。在某些实施方案中,特异性结合靶物的抗体具有≤1μM,≤100nM,≤10nM,≤1nM,或≤0.1nM的平衡解离常数(K_D)。在某些实施方案中,抗体特异性结合蛋白质上在来自不同物种的蛋白质间保守的表位。在另一个实施方案中,特异性结合可以包括但不需要排他结合。

[0165] 本文中的术语"抗体"以最广义使用,并且涵盖各种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体,多克隆抗体,多特异性抗体(例如双特异性抗体),和抗体片段,只要它们展现出期望的抗原结合活性。

[0166] "抗体片段"指与完整抗体不同的分子,其包含完整抗体中结合完整抗体所结合抗原的部分。抗体片段的例子包括但不限于Fv,Fab,Fab',Fab'-SH,$F(ab')_2$;双抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如scFv);和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0167] "抗原结合模块"表示特异性结合靶表位,抗原,配体,或受体的化合物或分子的一部分。特征是抗原结合模块的分子包括但不限于抗体(例如单克隆,多克隆,重组,人源化,和嵌合抗体),抗体片段或其部分(例如Fab片段,Fab'_2,scFv抗体,SMIP,域抗体,双抗体,微型抗体(minibody),scFv-Fc,亲和体(affibody),纳米抗体(nanobody),和抗体的VH和/或VL域),受体,配体,适体,和具有已鉴定的结合配偶的其它分子。"亲和力成熟的"抗体指在一个或多个高变区(HVR)中具有一处或多处改变的抗体,与不拥有此类改变的亲本抗体相比,此类改变导致该抗体对抗原的亲和力改善。

[0168] 如本文中使用的,例如在双特异性抗原结合分子的单价臂的背景中,术语"单价"指具有单个抗原结合模块的分子或其部分(例如抗原结合分子的一部分,例如双特异性抗原结合分子的两个臂之一)。如此,单价分子或其部分能够特异性结合恰好一个抗原。双特异性抗体的二价臂的两个抗原结合模块之一(例如1Fab-IgG TDB的HER2抗原结合模块之一)的"单价结合亲和力"或"单价K_D"指处于单价形式,即作为能够特异性结合两种不同抗原的双特异性抗体的单价臂或作为Fab分子的抗原结合模块的结合亲和力。

[0169] 如本文中使用的,例如在双特异性抗原结合分子的二价臂的背景中,术语"二价"指具有恰好两个抗原结合模块(其中每个能够特异性结合一个抗原)的分子或其部分(例如抗原结合分子的一部分,例如双特异性抗原结合分子的两个臂之一)。如此,二价分子或其部分能够特异性结合两个抗原或相同抗原上的两个不同表位(例如在单个肿瘤细胞的表面上表达的两个HER2抗原)。

[0170] 如本文中所使用的,术语"分化簇3"或"CD3"指来自任何脊椎动物来源(包括哺乳动物,诸如灵长类(例如人)和啮齿类(例如小鼠和大鼠))的任何天然CD3,除非另有说明,包括例如CD3ε,CD3γ,CD3α,和CD3β链。该术语涵盖"全长",未加工的CD3(例如未加工的或未修饰的CD3ε或CD3γ)以及自细胞中加工得到的任何形式的CD3。该术语还涵盖天然存在的CD3变体,包括例如剪接变体或等位变体。CD3包括例如长度为207个氨基酸的人CD3ε蛋白(NCBI RefSeq No.NP_000724)和长度为182个氨基酸的人CD3γ蛋白(NCBI RefSeq No.NP_000064)。

[0171] 术语"抗CD3抗体"和"结合CD3的抗体"指能够以足够亲和力结合CD3,使得该抗体可作为诊断剂和/或治疗剂用于靶向CD3的抗体。在一个实施方案中,根据例如通过放射免疫测定法(RIA)的测量,抗CD3抗体结合无关的,非CD3的蛋白质的程度小于该抗体对CD3的

结合的约10％。在某些实施方案中,结合CD3的抗体具有≤1μM,≤100nM,≤10nM,≤1nM,≤0.1nM,≤0.01nM,或≤0.001nM(例如10^{-8}M或更少,例如10^{-8}M到10^{-13}M,例如10^{-9}M到10^{-13}M)的解离常数(K_D)。在某些实施方案中,抗CD3抗体结合在来自不同物种的CD3中保守的CD3表位。

[0172] 术语“Fc区”或“Fc域”在本文中可互换使用,指免疫球蛋白重链中至少含有恒定区一部分的C端区。该术语包括天然序列Fc区和变体Fc区。在一个实施方案中,人IgG重链Fc区自Cys226,或自Pro230延伸至重链的羧基端。然而,Fc区的C端赖氨酸(Lys447)可以存在或不存在。该术语涵盖截短的Fc区,诸如那些具有C端截短的(例如ΔGK截短,例如如Hu,et al.,Biotechnol.Prog.2017,33:786-794和Jiang,et al.,J.Pharm.Sci.2016,105:2066-2072中描述的)。除非本文中另有规定,Fc区或恒定区中的氨基酸残基的编号方式依照EU编号系统,又称作EU索引,如记载于Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD,1991。如本文中使用的,Fc域的“亚基”指形成二聚体Fc域的两条多肽之一,即包含免疫球蛋白重链的C端恒定区,能够稳定自我联合的多肽。在一个实施方案中,IgG Fc域的亚基包含IgG CH2和IgG CH3恒定域。

[0173] “框架”或“FR”指除高变区(HVR)残基外的可变域残基。一般地,可变域的FR由4个FR域组成:FR1,FR2,FR3,和FR4。因而,HVR和FR序列在VH(或VL)中一般以如下的顺序出现:FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

[0174] 术语“全长抗体”,“完整抗体”,和“全抗体”在本文中可互换使用,指与天然抗体结构具有基本上类似的结构或者具有含有如本文中所限定的Fc区的重链的抗体。

[0175] “人抗体”指拥有与由人或人细胞生成的或利用人抗体全集或其它人抗体编码序列自非人来源衍生的抗体的氨基酸序列对应的氨基酸序列的抗体。人抗体的此定义明确排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。人抗体可使用本领域已知的多种技术来生成,包括噬菌体展示文库(Hoogenboom and Winter,J.Mol.Biol.227:381(1991);Marks et al.,J.Mol.Biol.222:581(1991))。还可用于制备人单克隆抗体的是以下文献中记载的方法:Cole et al.,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,p.77(1985);Boerner et al.,J.Immunol.147(1):86-95(1991)。还可参见van Dijk and van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.,5:368-74(2001)。可通过给已经修饰以应答抗原性攻击而生成人抗体但其内源基因座已经失去能力的转基因动物例如经过免疫的异种小鼠(xenomice)施用抗原来制备人抗体(参见例如美国专利No.6,075,181和6,150,584,关于XENOMOUSE™技术)。还可参见例如Li et al.,Proc.Natl.Ascad.Sci.USA,103:3557-3562(2006),关于经人B-细胞杂交瘤技术生成的人抗体。

[0176] “人共有框架”是代表人免疫球蛋白VL或VH框架序列的选集中最常发生的氨基酸残基的框架。一般地,人免疫球蛋白VL或VH序列的选集来自可变域序列的亚组。一般地,序列的亚组是如Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,NIH Publication 91-3242,Bethesda MD(1991),vols.1-3中的亚组。在一个实施方案中,对于VL,亚组是如Kabat等人,见上文中的亚组卡帕I。在一个实施方案中,对于VH,亚组是如Kabat等人,见上文中的亚组III。

[0177] “人源化”抗体指包含来自非人HVR的氨基酸残基和来自人FR的氨基酸残基的嵌合

抗体。在某些实施方案中,人源化抗体会包含至少一个,通常两个基本上整个可变域,其中所有或基本上所有HVR(例如,CDR)对应于非人抗体的那些,且所有或基本上所有FR对应于人抗体的那些。任选地,人源化抗体可以至少包含自人抗体衍生的抗体恒定区的一部分。抗体,例如非人抗体的"人源化形式"指已经经历人源化的抗体。

[0178] 如本文中使用的,术语"单克隆抗体"指从一群基本上同质的抗体获得的抗体,即构成群体的各个抗体是相同的和/或结合相同表位,除了例如含有天然存在的突变或在单克隆抗体制备物的生成期间发生的可能的变体抗体外,此类变体一般以极小量存在。与通常包含针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制备物不同,单克隆抗体制备物的每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。如此,修饰语"单克隆"指示抗体自一群基本上同质的抗体获得的特性,而不应解释为要求通过任何特定方法来生成抗体。例如,可以通过多种技术来生成要依照本发明使用的单克隆抗体,包括但不限于杂交瘤方法,重组DNA方法,噬菌体展示方法,和利用含有所有或部分人免疫球蛋白基因座的转基因动物的方法,本文中描述了用于生成单克隆抗体的此类方法和其它例示性方法。

[0179] "天然抗体"指具有不同结构的天然存在的免疫球蛋白分子。例如,天然IgG抗体是约150,000道尔顿的异四聚糖蛋白,由二硫化物键合的两条相同轻链和两条相同重链构成。从N至C端,每条重链具有一个可变区(VH),又称作可变重域或重链可变域,接着是三个恒定域(CH1,CH2,和CH3)。类似地,从N至C端,每条轻链具有一个可变区(VL),又称作可变轻域或轻链可变域,接着是一个恒定轻(CL)域。根据其恒定域氨基酸序列,抗体轻链可归入两种类型中的一种,称作卡帕(κ)和拉姆达(λ)。

[0180] 如本文中使用的,术语"高变区"或"HVR"指抗体可变域中在序列上高变的("互补决定区"或"CDR")和/或形成结构上限定的环("高变环")和/或含有抗原接触残基("抗原接触")的每个区。一般地,抗体包含6个HVR:三个在VH中(H1,H2,H3),且三个在VL中(L1,L2,L3)。本文中的例示性HVR包括:

[0181] (a)高变环,存在于氨基酸残基26-32(L1),50-52(L2),91-96(L3),26-32(H1),53-55(H2),和96-101(H3)(Chothia and Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987));

[0182] (b)CDR,存在于氨基酸残基24-34(L1),50-56(L2),89-97(L3),31-35b(H1),50-65(H2),和95-102(H3)(Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991));

[0183] (c)抗原接触,存在于氨基酸残基27c-36(L1),46-55(L2),89-96(L3),30-35b(H1),47-58(H2),和93-101(H3)(MacCallum et al.,J.Mol.Biol.262:732-745(1996));和(d)(a),(b),和/或(c)的组合,包括HVR氨基酸残基46-56(L2),47-56(L2),48-56(L2),49-56(L2),26-35(H1),26-35b(H1),49-65(H2),93-102(H3),和94-102(H3)。

[0184] 除非另有说明,HVR残基及可变域中的其它残基(例如FR残基)在本文中是依照Kabat等人,见上文编号的。

[0185] 术语"可变区"或"可变域"指抗体重或轻链中牵涉抗体结合抗原的域。天然抗体的重链和轻链可变域(分别为VH和VL)一般具有类似的结构,其中每个域包含4个保守的框架区(FR)和3个高变区(HVR)。(见例如Kindt et al.,Kuby Immunology,6th ed.,W.H.Freeman and Co.,page 91(2007))。单个VH或VL域可以足以赋予抗原结合特异性。此外,可以分别使

用来自结合抗原的抗体的VH或VL域筛选互补VL或VH域的文库来分离结合特定抗原的抗体。见例如,Portolano et al.,J.Immunol.150:880-887(1993);Clarkson et al.,Nature 352:624-628(1991)。

[0186] “免疫缀合物”是与一种或多种异源分子,包括但不限于细胞毒剂缀合的抗体。

[0187] “分离的”抗体指已经与其天然环境的组分分开的抗体。在一些实施方案中,抗体纯化至大于95%或99%的纯度,如通过例如电泳(例如,SDS-PAGE,等电聚焦(IEF),毛细管电泳)或层析(例如,离子交换或反相HPLC)测定的。关于用于评估抗体纯度的方法的综述,见例如Flatman et al.,J.Chromatogr.B848:79-87(2007)。

[0188] 关于参照多肽序列的“百分比(%)氨基酸序列同一性”定义为比对序列并在必要时引入缺口以获取最大百分比序列同一性后,且不将任何保守替代视为序列同一性的一部分时,候选序列中与参照多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分率。为测定百分比氨基酸序列同一性目的的对比可以以本领域技术范围内的多种方式进行,例如使用公众可得到的计算机软件,诸如BLAST,BLAST-2,ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以决定用于比对序列的合适参数,包括对所比较序列全长获得最大对比所需的任何算法。然而,为了本文中的目的,%氨基酸序列同一性值是使用序列比较计算机程序ALIGN-2产生的。ALIGN-2序列比较计算机程序由Genentech,Inc.编写,并且源代码已经连同用户文档一起提交给美国版权局(US Copyright Office,Washington D.C.,20559),其中其以美国版权注册号TXU510087注册。公众自Genentech,Inc.,South San Francisco,California可获得ALIGN-2程序,或者可以从源代码编译。ALIGN2程序应当编译成在UNIX操作系统,包括数码UNIX V4.0D上使用。所有序列比较参数由ALIGN-2程序设定且不变。

[0189] 在采用ALIGN-2来比较氨基酸序列的情况中,给定氨基酸序列A相对于(to),与(with),或针对(against)给定氨基酸序列B的%氨基酸序列同一性(或者可表述为具有或包含相对于,与,或针对给定氨基酸序列B的某一%氨基酸序列同一性的给定氨基酸序列A)如下计算:

[0190] 分数X/Y乘100

[0191] 其中X是由序列比对程序ALIGN-2在该程序的A和B比对中评分为相同匹配的氨基酸残基数,且其中Y是B中的氨基酸残基总数。应当领会,若氨基酸序列A的长度与氨基酸序列B的长度不相等,则A相对于B的%氨基酸序列同一性将不等于B相对于A的%氨基酸序列同一性。除非另有明确说明,本文中所使用的所有%氨基酸序列同一性值都是依照上一段所述,使用ALIGN-2计算机程序获得的。

[0192] 如本文中使用的,术语“易感性修理”(及其任何语法演变)指配置成增强抗体的化学稳定性(例如脱酰胺和/或异构化比率降低)的氨基酸替代,例如通过将倾向于脱酰胺或异构化的氨基酸残基用相对惰性的氨基酸残基替换或通过将倾向于脱酰胺或异构化的残基侧翼的氨基酸用相对惰性的氨基酸残基替换。降低脱酰胺的易感性修理的例子包括将天冬酰胺用丝氨酸或谷氨酸替代(例如N30S或N54E)。降低异构化的易感性修理的例子包括将天冬氨酸用丙氨酸或苏氨酸替代(例如D98A或D98T)。

[0193] “分离的”核酸指已经与其天然环境的组分分开的核酸分子。分离的核酸包括通常含有核酸分子的细胞中含有的核酸分子,但是核酸分子在染色体外或在与其天然染色体位置不同的染色体位置处存在。

[0194] “编码抗CD3抗体的分离的核酸”指编码抗体重和轻链(或其片段)的一种或多种核酸分子,包括单一载体或不同载体中的此类核酸分子,和存在于宿主细胞中的一个或多个位置的此类核酸分子。

[0195] 如本文中使用的,术语“载体”指能够增殖与其连接的另一种核酸的核酸分子。该术语包括作为自身复制型核酸结构的载体及整合入接受其导入的宿主细胞的基因组中的载体。某些载体能够指导与其可操作连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。

[0196] 术语“宿主细胞”,“宿主细胞系”,和“宿主细胞培养物”可互换使用,并且指已经导入外源核酸的细胞,包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“经转化的细胞”,其包括原代的经转化的细胞及自其衍生的后代而不考虑传代的次数。后代在核酸内容物上可以与亲本细胞不完全相同,而是可以含有突变。本文中包括具有与在初始转化细胞中筛选或选择的相同功能或生物学活性的突变体后代。

[0197] 术语“包装插页”用于指治疗产品的商业包装中通常包含的用法说明书,其含有关于涉及此类治疗产品应用的适应症,用法,剂量,施用,联合疗法,禁忌症和/或警告的信息。

[0198] 术语“药物配制剂”指处于如下的形式,使得允许其中含有的活性组分的生物学活性是有效的,且不含对会接受配制剂施用的受试者具有不可接受的毒性的另外的成分的制剂。

[0199] “药学可接受载剂”指药物配制剂中与活性组分不同的,且对受试者无毒的组分。药学可接受载剂包括但不限于缓冲剂,赋形剂,稳定剂,或防腐剂。

[0200] 如本文中使用的,“施用”指将一定剂量的化合物(例如本发明的抗CD3抗体或编码本发明的抗CD3抗体的核酸)或组合物(例如药物组合物,例如包含本发明的抗CD3抗体的药物组合物)给予受试者的方法。本文所述方法中利用的组合物可以例如肌肉内,静脉内,皮内,经皮,动脉内,腹膜内,病灶内,颅内,关节内,前列腺内,胸膜内,气管内,鼻内,玻璃体内,阴道内,直肠内,表面,肿瘤内,腹膜内,皮下,结膜下,膀胱内,经粘膜,心包内,脐内,眼内,口服,表面,局部,通过吸入,通过注射,通过输注,通过连续输注,通过直接浸浴靶细胞的局部灌注,通过导管,通过灌洗,以霜剂,或以脂质组合物来施用。施用的方法可以根据多种因素(例如所施用的化合物或组合物和所治疗的疾患,疾病,或病症的严重性)而变化。

[0201] 如本文中使用的,“治疗/处理”(及其语法变型)指试图改变所治疗个体的自然进程的临床干预,可以是为了预防或在临床病理学的进程中进行。治疗的期望效果包括但不限于预防疾病的发生或复发,缓解症状,削弱疾病的任何直接或间接病理学后果,预防转移,减缓疾病进展的速率,改善或减轻疾病状态,及免除或改善预后。在一些实施方案中,使用本发明的抗体来延迟疾病的形成或减缓疾病的进展。

[0202] 如本文中使用的,“延迟病症或疾病的进展”意指推迟,阻碍,减缓,延迟,稳定,和/或延缓疾病或病症(例如细胞增殖性病症,例如癌症)的形成。根据疾病史和/或治疗的受试者,此延迟可以是不同时间长度的。如对于本领域技术人员明显的是,充分或显著的延迟实质上可以涵盖预防,因为个体不形成疾病。例如,可以延迟晚期癌症,诸如转移的发生

[0203] “降低”或“抑制”表示引起例如20%或更多,50%或更多,或75%,85%,90%,95%,或更多总体降低的能力。在某些实施方案中,降低或抑制可以指抗体的由抗体Fc区介导的效应器功能,此类效应器功能具体包括补体依赖性细胞毒性(CDC),抗体依赖性细胞的

细胞毒性(ADCC),和抗体依赖性细胞的吞噬(ADCP)。

[0204] “受试者”或“个体”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于驯养的动物(例如,牛,绵羊,猫,犬,和马),灵长类(例如,人和非人灵长类诸如猴),家兔,和啮齿类(例如,小鼠和大鼠)。在某些实施方案中,个体或受试者是人。

[0205] “病症”是会受益于治疗的任何状况,包括但不限于慢性和急性病症或疾病,包括那些使哺乳动物易患所讨论病症的病理状况。

[0206] 术语“细胞增殖性病症”和“增殖性病症”指与一定程度的异常细胞增殖有关的病症。在一个实施方案中,细胞增殖性病症是癌症。在一个实施方案中,细胞增殖性病症是肿瘤。

[0207] 术语“癌症”和“癌性”指向或描述哺乳动物中典型地以不受调节的细胞生长为特征的生理状况。此定义中包括良性和恶性癌症。“早期癌症”或“早期肿瘤”指非侵入性的或转移性的,或者归为0期,I期,或II期癌症的癌症。癌症的例子包括但不限于乳腺癌,胃癌,结肠直肠癌,非小细胞肺癌,非霍奇金氏淋巴瘤(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,头和颈癌,黑素瘤,卵巢癌,间皮瘤,成胶质细胞瘤,生发中心B细胞样(GCB)弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),活化的B细胞样(ABC)DLBCL,滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),急性髓样白血病(AML),慢性淋巴样白血病(CLL),边缘区淋巴瘤(MZL),小淋巴细胞性白血病(SLL),淋巴浆细胞性淋巴瘤(LL),瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(WM),中枢神经系统淋巴瘤(CNSL),伯基特氏淋巴瘤(BL),B细胞前淋巴细胞性白血病,脾边缘区淋巴瘤,毛细胞白血病,脾淋巴瘤/白血病,脾弥漫性红髓小B细胞性淋巴瘤,毛细胞白血病变体,α重链病,γ重链病,μ重链病,浆细胞骨髓瘤,骨的孤立性浆细胞瘤,髓外浆细胞瘤,粘膜相关淋巴样组织的结外边缘区淋巴瘤(MALT淋巴瘤),结边缘区淋巴瘤,儿科结边缘区淋巴瘤,儿科滤泡性淋巴瘤,原发性皮肤滤泡性中心淋巴瘤,富于T细胞/组织细胞的大B细胞淋巴瘤,中枢神经系统的原发性DLBCL,原发性皮肤DLBCL(腿型),老年人的埃巴二氏病毒(EBV)阳性DLBCL,与慢性炎症有关的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,间变性淋巴瘤激酶(ALK)阳性大B细胞淋巴瘤,成浆细胞性淋巴瘤,HHV8相关多中心卡斯特尔曼(Castleman)病中引起的大B细胞淋巴瘤,原发性渗出性淋巴瘤,不可归类的,具有弥漫性大B细胞淋巴瘤和伯基特淋巴瘤之间的中间特征的大B细胞淋巴瘤,或不可归类的,具有弥漫性大B细胞淋巴瘤和经典霍奇金淋巴瘤之间的中间特征的大B细胞淋巴瘤))。在一些实施方案中,该癌症是HER2阳性癌症(例如HER2阳性乳腺癌或HER2阳性胃癌)。

[0208] 术语“HER2阳性”癌症包含具有高于正常的HER2水平的癌细胞。HER2阳性癌症的例子包括HER2阳性乳腺癌和HER2阳性胃癌。任选地,HER2阳性癌症具有2+或3+的免疫组织化学(IHC)得分和/或≥2.0的原位杂交(ISH)扩增比率。

[0209] 如本文中使用的,术语“肿瘤”指所有赘生性(neoplastic)细胞生长和增殖,无论是恶性的还是良性的,及所有癌前(pre-cancerous)和癌性细胞和组织。术语“癌症”,“癌性”,“细胞增殖性病症”,“增殖性病症”和“肿瘤”在本文中提到时并不互相排斥。

[0210] 如本文中使用的,术语“肿瘤抗原”可理解为那些在肿瘤细胞上呈递的抗原。这些抗原可以以胞外部分在细胞表面上呈递,该胞外部分常常与该分子的跨膜和细胞质部分组合。这些抗原有时可以仅由肿瘤细胞呈递且决不由正常细胞呈递。肿瘤抗原可以在肿瘤细

胞上排外地表达,或者可以代表与正常细胞相比的肿瘤特异性突变。在这种情况中,它们称作肿瘤特异性抗原。更常见的是由肿瘤细胞和正常细胞呈递的肿瘤抗原,而且它们称作肿瘤相关抗原。这些肿瘤相关抗原可以与正常细胞相比过表达,或者由于与正常组织相比肿瘤组织的较不紧实的结构而在肿瘤细胞中对于抗体结合是可及的。

[0211] 化合物(例如本发明的双特异性抗原结合分子)或其组合物(例如药物组合物)的"有效量"是实现期望的治疗或预防结果(诸如特定病症(例如细胞增殖性病症,例如癌症)的可测量改善或预防)所需要的至少最小量。本文中的有效量可以随诸如患者的疾病状态,年龄,性别,和重量,和抗体引发个体中期望的应答的能力等因素而变化。有效量也是治疗性有益效果超过处理的任何毒性或不利效果的量。为了预防性使用,有益或期望的结果包括如下的结果,诸如消除或降低风险,减轻严重性,或延迟疾病的发作,包括疾病的生物化学,组织学和/或行为症状,其并发症和疾病形成期间呈现的中间病理学表型。为了治疗性使用,有益或期望的结果包括如下的临床结果,诸如减少源自疾病的一种或多种症状,提高那些患有疾病的对象的生命质量,降低治疗疾病需要的其它药物的剂量,增强另一种药物的效果(诸如经由靶向),延迟疾病的进展,和/或延长存活。在癌症或肿瘤的情况中,有效量的药物在减少癌细胞的数目;降低肿瘤大小;抑制(即在一定程度上减缓或者期望地停止)癌细胞浸润入外周器官中;抑制(即在一定程度上减缓且期望地停止)肿瘤转移;在一定程度上抑制肿瘤生长;和/或在一定程度上减轻一种或多种与病症有关的症状中可以具有效果。可以在一次或多次施用中施用有效量。出于本发明的目的,药物,化合物,或药物组合物的有效量是足以直接或间接实现预防或治疗性处理的量。如在临床背景中理解的,可以在与或不与另一种药物,化合物,或药物组合物联合的情况中实现有效量的药物,化合物,或药物组合物。如此,可以在施用一种或多种治疗剂的背景中考虑"有效量",并且如果与一种或多种其它药剂联合可以实现或者实现期望的结果的话,可以认为单一药剂以有效量给予。

[0212] 术语"PD-1轴结合拮抗剂"指如下的分子,其抑制PD-1轴结合配偶与一种或多种其结合配偶相互作用,从而去除源自PD-1信号传导轴上的信号传导的T细胞功能障碍,一项结果是恢复或增强T细胞功能。如本文中使用的,PD-1轴结合拮抗剂包括PD-1结合拮抗剂和PD-L1结合拮抗剂以及干扰PD-L1和PD-1之间的相互作用的分子(例如PD-L2-Fc融合物)。

[0213] 如本文中使用的,"PD-1结合拮抗剂"是降低,阻断,抑制,消除或干扰源自PD-1与一种或多种其结合配偶,诸如PD-L1和/或PD-L2的相互作用的信号转导的分子。在一些实施方案中,PD-1结合拮抗剂是抑制PD-1对其结合配偶的结合的分子。在一个具体方面,PD-1结合拮抗剂抑制PD-1对PD-L1和/或PD-L2的结合。例如,PD-1结合拮抗剂包括降低,阻断,抑制,消除或干扰源自PD-1与PD-L1和/或PD-L2的相互作用的信号转导的抗PD-1抗体和其抗原结合片段,免疫粘附素,融合蛋白,寡肽,小分子拮抗剂,多核苷酸拮抗剂,和其它分子。在一个实施方案中,PD-1结合拮抗剂降低由或经由T淋巴细胞和其它细胞上表达的细胞表面蛋白质介导的经由PD-1或PD-L1的负信号,从而使得功能障碍性T细胞不太功能障碍性。在一些实施方案中,PD-1结合拮抗剂是抗PD-1抗体。在一个具体方面,PD-1结合拮抗剂是本文中描述的MDX-1106(尼鲁单抗)。在另一个具体方面,PD-1结合拮抗剂是本文中描述的MK-3475(派姆单抗)。在另一个具体方面,PD-1结合拮抗剂是本文中描述的CT-011(匹迪单抗)。在另一个具体方面,PD-1结合拮抗剂是MEDI-0680(AMP-514)。在另一个具体方面,PD-1结合

拮抗剂是PDR001(spartalizumab)。在另一个具体方面,PD-1结合拮抗剂是REGN2810(cemiplimab)。在另一个具体方面,PD-1结合拮抗剂是BGB-108。在另一个具体方面,PD-1结合拮抗剂是本文中描述的AMP-224。

[0214] 如本文中使用的,“PD-L1结合拮抗剂”是降低,阻断,抑制,消除或干扰源自PD-L1与一种或多种其结合配偶,诸如PD-1和/或B7-1的相互作用的信号转导的分子。在一些实施方案中,PD-L1结合拮抗剂是抑制PD-L1对其结合配偶的结合的分子。在一个具体方面,PD-L1结合拮抗剂抑制PD-L1对PD-1和/或B7-1的结合。在一些实施方案中,PD-L1结合拮抗剂包括降低,阻断,抑制,消除或干扰源自PD-L1与一种或多种其结合配偶,诸如PD-1和/或B7-1的相互作用的信号转导的抗PD-L1抗体和其抗原结合片段,免疫粘附素,融合蛋白,寡肽,小分子拮抗剂,多核苷酸拮抗剂,和其它分子。在一个实施方案中,PD-L1结合拮抗剂降低由或经由T淋巴细胞和其它细胞上表达的细胞表面蛋白质介导的经由PD-L1或PD-1的负信号,从而使得功能障碍性T细胞不太功能障碍性(例如增强对抗原识别的效应器应答)。在一些实施方案中,PD-L1结合拮抗剂是抗PD-L1抗体。在一个具体方面,抗PD-L1抗体是本文中描述的YW243.55.S70。在另一个具体方面,抗PD-L1抗体是本文中描述的MDX-1105。在仍有另一个具体方面,抗PD-L1抗体是本文中描述的阿特珠单抗(CAS注册号:1422185-06-5),也称作MPDL3280A。在仍有另一个具体方面,抗PD-L1抗体是本文中描述的MEDI4736(度伐单抗)。在仍有另一个具体方面,抗PD-L1抗体是本文中描述的MSB0010718C(阿维单抗)。

[0215] 术语“编程性死亡配体1”和“PD-L1”在本文中指天然序列PD-L1多肽,多肽变体(即PD-L1多肽变体),和天然序列多肽和多肽变体的片段(其在本文中进一步定义)。本文中描述的PD-L1多肽可以是自多种来源,诸如自人组织类型或自另一来源分离,或通过重组或合成方法制备的。

[0216] “天然序列PD-L1多肽”包含与自自然界衍生的相应PD-L1多肽具有相同氨基酸序列的多肽。

[0217] “PD-L1多肽变体”或其变异意指与如本文中公开的任何天然序列PD-L1多肽序列具有至少约80%氨基酸序列同一性的PD-L1多肽,一般是活性PD-L1多肽,如本文中定义的。例如,此类PD-L1多肽变体包括如下的PD-L1多肽,其中在天然氨基酸序列的N或C端处添加或删除一个或多个氨基酸残基。通常,PD-L1多肽变体会与如本文中公开的天然序列PD-L1多肽序列具有至少约80%氨基酸序列同一性,或者至少约81%,82%,83%,84%,85%,86%,87%,88%,89%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%氨基酸序列同一性。通常,PD-L1多肽变体的长度是至少约10个氨基酸,或者长度是至少约20,30,40,50,60,70,80,90,100,110,120,130,140,150,160,170,180,190,200,210,220,230,240,250,260,270,280,281,282,283,284,285,286,287,288,或289个氨基酸,或更多个。任选地,PD-L1变体多肽会具有与天然PD-L1多肽序列相比不超过一处保守氨基酸替代,或者与天然PD-L1多肽序列相比不超过2,3,4,5,6,7,8,9,或10处保守氨基酸替代。

[0218] 术语“PD-L2结合拮抗剂”指降低,阻断,抑制,消除或干扰源自PD-L2与一种或多种其结合配偶,诸如PD-1的相互作用的信号转导的分子。在一些实施方案中,PD-L2结合拮抗剂是抑制PD-L2对一种或多种其结合配偶的结合的分子。在一个具体方面,PD-L2结合拮抗剂抑制PD-L2对PD-1的结合。在一些实施方案中,PD-L2结合拮抗剂包括降低,阻断,抑制,消除或干扰源自PD-L2与一种或多种其结合配偶,诸如PD-1的相互作用的信号转导的抗PD-L2

抗体,其抗原结合片段,免疫粘附素,融合蛋白,寡肽和其它分子。在一个实施方案中,PD-L2结合拮抗剂降低由或经由T淋巴细胞上表达的介导经由PD-L2的信号传导的细胞表面蛋白质介导的负共刺激信号,从而使得功能障碍性T细胞不太功能障碍性(例如增强对抗原识别的效应器应答)。在一些实施方案中,PD-L2结合拮抗剂是免疫粘附素。

[0219] II.组合物

[0220] 在一个方面,本发明部分基于双特异性抗原结合分子(例如双特异性抗体)。在某些实施方案中,该双特异性抗原结合分子具有能够特异性结合第一抗原(例如T细胞抗原,例如CD3)的单价臂和能够特异性结合两个另外的抗原(例如肿瘤抗原,例如两个HER2抗原)的二价臂。例如,该二价臂可包含两个抗原结合模块,每个能够特异性结合靶抗原(例如HER2)以提高该双特异性抗原结合分子对表达高水平的该靶抗原的细胞的亲合力。本发明的双特异性抗原结合分子是有用的,例如对于治疗细胞增殖性病症(例如癌症)或自身免疫病症或延迟细胞增殖性病症(例如癌症)或自身免疫病症进展,或对于在具有此类病症的受试者中增强免疫功能。

[0221] 本发明的1Fab-IgG TDB以高效力选择性杀伤过表达靶定肿瘤抗原的肿瘤细胞,而赦免表达少量的靶定肿瘤抗原的细胞,例如正常或健康人组织的细胞。选择性基于两个低亲和力抗肿瘤抗原Fab臂对过表达肿瘤抗原的细胞上的高靶物密度的亲合力。升高的对肿瘤抗原过表达性细胞的选择性减轻TDB的中靶不利影响。例如,使用HER2作为靶定肿瘤抗原,具有对HER2的单价高亲和力结合的抗HER2-IgG TDB结合HER2过表达性细胞和表达低水平的HER2的细胞二者。这种TDB的治疗指数基于高HER2密度所致在HER2过表达性细胞上的更高活性。在高TDB剂量,高亲和力IgG1 HER2-TDB能影响表达低水平的HER2的细胞且因此具有在正常组织上的中靶脱肿瘤自身免疫的风险(图35A)。改造HER2结合臂以具有更低的亲和力导致HER2过表达性细胞和表达低水平的HER2的细胞二者中更低的结合和TDB活性,但是并不改善选择性(图35B)。处于适宜亲和力(单价K_D~20-50nM)的二价HER2结合导致抗HER2 1Fab-IgG TDB的亲合力所致对HER2过表达性细胞的高结合。亲合效应依赖于高HER2密度,因此1Fab-IgG TDB并不结合表达低水平的HER2的细胞,例如正常或健康人组织的细胞。由于细胞结合与TDB募集T细胞活性的能力有关,因此抗HER2 1Fab-IgG TDB仅仅选择性杀伤过表达HER2的细胞并降低了诱导正常组织上的中靶脱肿瘤自身免疫的风险(图35C)。

[0222] 例示性双特异性抗原结合分子

[0223] 在一个方面,本发明提供分离的双特异性抗原结合分子(例如双特异性抗体)具有单价臂和二价臂。例如,在一个方面,本发明提供一种具有单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中(a)该单价臂包含第一抗原结合模块,且(b)该二价臂包含第二抗原结合模块和第三抗原结合模块。在一些实施方案中,该第一抗原结合模块的C端与第一Fc亚基的N端融合,该第三抗原结合模块的C端与该第二抗原结合模块的N端融合,且该第二抗原结合模块的C端与第二Fc亚基的N端融合。在一些实施方案中,该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,该第一抗原结合模块能够特异性结合第一靶细胞抗原,且该第二抗原结合模块和该第三抗原结合模块每个能够特异性结合第二靶细胞抗原(例如在该第二靶细胞抗原上的相同的表位或在不同的表位)。

[0224] 该第一抗原结合模块可以是包含可变重链(VH_A)区和可变轻链(VL_A)区的Fab分子(Fab_A);该第二抗原结合模块可以是包含可变重链(VH_{B1})区和可变轻链(VL_{B1})区的Fab分子

(Fab_{B1})；和/或该第三抗原结合模块可以是包含可变重链(VH_{B2})区和可变轻链(VL_{B2})区的Fab分子(Fab_{B2})。如此，在一些情况中，该第一抗原结合模块可以是包含VH_A区和VL_A区的Fab_A，该第二抗原结合模块可以是包含VH_{B1}区和VL_{B1}区的Fab_{B1}，且第三抗原结合模块可以是包含VH_{B2}区和VL_{B2}区的Fab_{B2}。该VH_{B1}和该VH_{B2}可分享至少95％序列同一性(例如95％，96％，97％，98％，99％，或100％序列同一性)。另外/或者，该VL_{B1}和该VL_{B2}可分享至少95％序列同一性(例如95％，96％，97％，98％，99％，或100％序列同一性)。

[0225] 1Fab-IgG分子指一种具有第一抗原结合模块，第二抗原结合模块，和第三抗原结合模块的双特异性抗原结合分子，其中该第一抗原结合模块是包含VH_A区和VL_A区的Fab_A，该第二抗原结合模块是包含VH_{B1}区和VL_{B1}区的Fab_{B1}，且该第三抗原结合模块是包含VH_{B2}区和VL_{B2}区的Fab_{B2}，其中该VH_{B1}和该VH_{B2}分享至少95％序列同一性(例如95％，96％，97％，98％，99％，或100％序列同一性)，且该VL_{B1}和该VL_{B2}分享至少95％序列同一性(例如95％，96％，97％，98％，99％，或100％序列同一性)。1Fab-IgG分子具有包含结合第一靶抗原的该第一抗原结合模块的单价臂和包含该第二和第三抗原结合模块的二价臂，其中该第二和第三抗原结合分子中每个特异性结合第二靶细胞抗原。在一些实施方案中，1Fab-IgG分子是1Fab-IgG T细胞依赖性双特异性分子(1Fab-IgG TDB)，其中该单价臂特异性结合T细胞的表面上的抗原，且该二价臂的每个抗原结合模块特异性结合第二靶细胞(例如肿瘤细胞)的表面上的抗原。与具有标准二价IgG格式的TDB(IgG TDB)一样，1Fab-IgG TDB募集细胞毒性T细胞来杀伤表达靶定抗原的细胞。

[0226] 例如，抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB具有特异性结合CD3(例如T细胞的表面上的CD3分子)的单价臂和具有每个特异性结合HER2(例如肿瘤细胞的表面上的HER2分子)的两个抗原结合模块的二价臂。该二价臂上的两个抗原结合模块可结合相同的表位，或该二价臂上的每个抗原结合模块可结合相同的抗原上的不同的表位。在一个实施方案中，该二价臂与4D5结合相同的表位。在一个实施方案中，该二价臂结合HER2的域IV。在一个实施方案中，该单价臂上对CD3特异性的抗原结合模块是40G5c Fab，且该二价臂上对HER2特异性的两个抗原结合模块每个是4D5 Fab的变体。本文中例示了特定实施方案。

[0227] 本发明的双特异性抗原结合分子能提供升高的对优先表达高密度的抗原(例如肿瘤抗原)的细胞的敏感性，其在许多情况中降低对健康组织的损害(例如通过活化T细胞以啮合肿瘤细胞而非表达低水平的肿瘤抗原的健康细胞)。因而，在一些实施方案中，肿瘤抗原在(a)受试者中的肿瘤细胞和(b)受试者中的至少一种类型的非肿瘤细胞(例如以比它在肿瘤细胞上的表达更低的密度)上表达。在一些实施方案中，该非肿瘤细胞对该肿瘤细胞上的肿瘤抗原拷贝数的比率是1:2至1:1,000,000(例如1:3至1:500,000,1:4至1:100,000,1:5至1:50,000,1:6至1:40,000,1:7至1:20,000,1:8至1:10,000,1:9至1:5,000,1:10至1:1,000,1:20至1:500,1:50至1:400,或1:100至1:200,例如1:2至1:10,1:10至1:20,1:20至1:50,1:50至1:100,1:100至1:200,1:200至1:300,1:300至1:400,1:400至1:500,1:500至1:600,1:600至1:700,1:700至1:800,1:800至1:900,1:900至1:1,000,1:1,000至1:5,000,1:5,000至1:10,000,1:10,000至1:50,000,1:50,000至1:100,000,1:100,000至1:500,000,或1:500,000至1:1,000,000,例如约1:2,约1:3,约1:4,约1:5,约1:6,约1:7,约1:8,约1:9,约1:10,约1:15,约1:20,约1:25,约1:30,约1:35,约1:40,约1:50,约1:60,约1:70,约1:80,约1:90,约1:100,约1:125,约1:150,约1:175,约1:200,约1:300,约1:400,约1:500,约1:1,

000,约1:10,000,约1:100,000,或约1:1,000,000)。

[0228] 在一些实施方案中,非肿瘤细胞上的肿瘤抗原拷贝数是10^1至10^6(例如10^1至10^6,10^1至10^5,10^1至10^4,10^1至10^3,10^1至10^2,10^2至10^6,10^2至10^5,10^2至10^4,10^2至10^3,10^3至10^6,10^3至10^5,10^3至10^4,10^4至10^6,10^4至10^5,或10^5至10^6,例如约10^1,10^2,10^3,10^4,10^5,或10^6)。在一些实施方案中,肿瘤细胞上的肿瘤抗原拷贝数是10^2至10^7(例如10^2至10^7,10^2至10^6,10^2至10^5,10^2至10^4,10^2至10^3,10^3至10^7,10^3至10^6,10^3至10^5,10^3至10^4,10^4至10^7,10^4至10^6,10^4至10^5,10^5至10^7,10^5至10^6,或10^6至10^7,例如约10^2,10^3,10^4,10^5,10^6,或10^7)。

[0229] 在一些实施方案中,该肿瘤抗原拷贝数是非肿瘤细胞上的10^1至10^6和肿瘤细胞上的10^2至10^8(例如非肿瘤细胞上的10^2至10^5和肿瘤细胞上的10^3至10^7,非肿瘤细胞上的10^2至10^5和肿瘤细胞上的10^4至10^7,非肿瘤细胞上的10^3至10^5和肿瘤细胞上的10^5至10^7,非肿瘤细胞上的10^3至10^4和肿瘤细胞上的10^5至10^6,或非肿瘤细胞上的10^4至10^5和肿瘤细胞上的10^6至10^7)。

[0230] 在一些实施方案中,该肿瘤抗原拷贝数(例如平均肿瘤抗原拷贝数,例如HER2拷贝数,例如平均HER2拷贝数)是非肿瘤细胞上的10^1至2.0x 10^5和肿瘤细胞上的至少2.0x 10^5。

[0231] 受到本发明的抗原结合分子结合的肿瘤细胞可以以至少200,000每细胞(例如至少250,000个HER2拷贝每个细胞,至少300,000个HER2拷贝每个细胞,至少400,000个HER2拷贝每个细胞,至少500,000个HER2拷贝每个细胞,至少600,000个HER2拷贝每个细胞,至少700,000个HER2拷贝每个细胞,至少750,000个HER2拷贝每个细胞,至少800,000个HER2拷贝每个细胞,至少900,000个HER2拷贝每个细胞,至少1,000,000个HER2拷贝每个细胞,至少1,200,000个HER2拷贝每个细胞,至少1,500,000个HER2拷贝每个细胞,至少2,000,000个HER2拷贝每个细胞,至少2,500,000个HER2拷贝每个细胞,至少3,000,000个HER2拷贝每个细胞,或更多,例如200,000至3,000,000个HER2拷贝每个细胞,250,000至2,500,000个HER2拷贝每个细胞,300,000至2,000,000个HER2拷贝每个细胞,400,000至1,500,000个HER2拷贝每个细胞,或500,000至1,000,000个HER2拷贝每个细胞,例如200,000至1,000,000个HER2拷贝每个细胞(例如200,000至250,000个HER2拷贝每个细胞,250,000至300,000个HER2拷贝每个细胞,300,000至400,000个HER2拷贝每个细胞,400,000至500,000个HER2拷贝每个细胞,500,000至750,000个HER2拷贝每个细胞,或750,000至1,000,000个HER2拷贝每个细胞)或1,000,000至3,000,000个HER2拷贝每个细胞(例如1,000,000至1,500,000个HER2拷贝每个细胞,1,500,000至2,000,000个HER2拷贝每个细胞,2,000,000至2,500,000个HER2拷贝每个细胞,或2,500,000至3,000,000个HER2拷贝每个细胞)的拷贝数(例如平均拷贝数)表达HER2。如此,在本发明的抗原结合分子结合后,相对于具有很少或无HER2表达(例如少于200,000个HER2拷贝每个细胞,例如0至200,000个HER2拷贝每个细胞,0至150,000个HER2拷贝每个细胞,0至100,000个HER2拷贝每个细胞,0至50,000个HER2拷贝每个细胞,0至20,000个HER2拷贝每个细胞,0至10,000个HER2拷贝每个细胞,0至5,000个HER2拷贝每个细胞,或0至1,000个HER2拷贝每个细胞)的非肿瘤细胞,T细胞可优先杀伤(例如选择性杀伤)具有任何上述HER2表达特征的HER2阳性肿瘤细胞。

[0232] 可以使用本领域已知的或本文中描述的任何合适的手段来量化肿瘤抗原拷贝数(例如平均肿瘤抗原拷贝数,例如HER2拷贝数,例如平均HER2拷贝数)。例如,可以通过流式细胞术(例如使用已知的等效可溶性荧光染料(MESF)分子的珠)使用荧光定量来量化HER2

拷贝数。

[0233] 在一些实施方案中,该第二抗原结合模块和/或该第三抗原结合模块的单价结合亲和力(K_D)是10nM至100nM(例如20nM至90nM,30nM至80nM,40nM至60nM,例如25nM至55nM)。在一个实施方案中,该第二抗原结合模块和/或该第三抗原结合模块的单价结合亲和力(K_D)是20nM至50nM。在一个实施方案中,该第二抗原结合模块和该第三抗原结合模块的单价结合亲和力(K_D)是20nM至50nM。

[0234] 在一些实施方案中,该第二抗原结合模块和/或该第三抗原结合模块的单价解离速率是10^{-3}/秒至10^{-1}/秒(例如10^{-2}/秒至30^{-2}/秒)。

[0235] 在一些实施方案中,第一靶抗原是活化性T细胞抗原,诸如CD3。多种T细胞抗原结合模块是本领域已知的且适合于作为本发明的一部分使用。例如,在本发明的某些实施方案中,合适的第一抗原结合模块是抗体克隆40G5c,或其片段和/或变体,例如如美国公开文本No.2015/0166661中描述的,通过援引将其完整收入本文中。在特定实施方案中,该第一抗原结合模块是抗CD3 Fab(例如40G5c),其包含SEQ ID NO:1的HVR-H1,SEQ ID NO:2的HVR-H2,SEQ ID NO:3的HVR-H3,SEQ ID NO:4的HVR-L1,SEQ ID NO:5的HVR-L2,和SEQ ID NO:6的HVR-L3。在一些实施方案中,该第一抗原结合模块是抗CD3 Fab(例如40G5c),其包含SEQ ID NO:7的VH和SEQ ID NO:8的VL。40G5c的氨基酸序列还在表1中提供。

[0236] 表1:与例示性抗体克隆的高变区(HVR)和可变区重(VH)和轻(VL)链氨基酸序列对应的SEQ ID NO

[0237]

	HVR						V	
	H1	H2	H3	L1	L2	L3	VH	VL
40G5c	1	2	3	4	5	6	7	8
4D5共有	11	12	13	14	15	16	17	18

[0238]

4D5野生型(曲妥珠单抗)	11	19	20	21	22	23	24	25
4D5-H91A	11	19	20	21	22	26	24	27
4D5-Y55E.Y102V	11	19	28	21	29	23	30	31
4D5-D98A.F100A.Y102V	11	19	32	21	22	23	33	25
4D5-D98T.F100A.Y102V	11	19	34	21	22	23	35	25
4D5-N30S.N54E.D98T	11	36	37	38	22	23	39	40
4D5-N30S.H91A.N54E.D98T	11	36	37	38	22	26	41	42
4D5-H91A.N54E.D98T	11	36	37	21	22	26	41	27
4D5-N30S.Y55E.N54E.D98T.Y102V	11	36	43	38	29	23	44	45
4D5-N30S	11	19	20	38	22	23	24	40
4D5-N54E.D98T	11	36	37	21	22	23	41	25
4D5-N30S.N54E.D98T.F100A.Y102V	11	36	34	38	22	23	46	40
4D5-N30S.N54E.D98A.F100A.Y102V	11	36	32	38	22	23	47	40
4D5-Y55E.H91A.N54E.D98T	11	36	37	21	29	26	41	48
4D5-Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V	11	36	43	21	29	26	44	48
4D5-N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T	11	36	37	38	29	26	41	49
4D5-N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V	11	36	43	38	29	26	44	49
4D5-Y102V	11	19	28	21	22	23	30	25
4D5-N30A.H91A	11	19	20	53	22	26	24	54
4D5-Y55E.H91A	11	19	20	21	29	26	24	48
4D5-D98A.F100A.Y102V	11	19	32	21	22	23	33	25
4D5-Y55E.D98A.F100A.Y102V	11	19	32	21	29	23	33	31

[0239] 在一些实施方案中,该第一抗原结合模块结合人CD3多肽或食蟹猴CD3多肽。在一

些实施方案中,该人CD3多肽或该食蟹猴CD3多肽分别是人CD3ε多肽或食蟹猴CD3ε多肽。在一些实施方案中,该人CD3多肽或该食蟹猴CD3多肽分别是人CD3γ多肽或食蟹猴CD3γ多肽。另外的结合CD3的抗原结合模块(例如Fab分子)是本领域已知的且描述于例如美国公开文本No.2015/0166661,而且可以调适作为本发明的一部分使用。

[0240] 在一些实施方案中,该第一抗原结合模块的单价K_D以250nM或更低的K_D结合该人CD3ε多肽。在一些实施方案中,该抗CD3抗体以100nM或更低的K_D结合该人CD3ε多肽。在一些实施方案中,该抗CD3抗体以15nM或更低的K_D结合该人CD3ε多肽。在一些实施方案中,该抗CD3抗体以10nM或更低的K_D结合该人CD3ε多肽。在一些实施方案中,该抗CD3抗体以5nM或更低的K_D结合该人CD3ε多肽。在一些实施方案中,该第一抗原结合模块的单价K_D是10nM至100nM(例如20nM至90nM,20nM至80nM,30nM至70nM,或40nM至60nM)。

[0241] 在一些实施方案中,该第二靶细胞抗原是肿瘤抗原。

[0242] 该肿瘤抗原可以是HER2。一种合适的结合HER2的第二和/或第三抗原结合模块是抗体4D5,或其片段和/或变体。4D5的氨基酸序列,和其替代变体在表1中显示且描述于例如美国公开文本No.2015/0166661,通过援引将其完整收入本文中。在一个实施方案中,该第二和/或第三抗原结合模块与抗体4D5(其人源化型式称作曲妥珠单抗(HERCEPTIN®;Genentech,Inc.,South San Francisco,CA),Molina,et al.,Cancer Research 2001,61(12):4744-4749)结合相同的表位。在一个实施方案中,该第二和该第三抗原结合模块与抗体4D5结合相同的表位。

[0243] 在一个实施方案中,该第二和/或第三抗原结合模块与抗体2C4(其人源化型式称作帕妥珠单抗(PERJETA®;Genentech,Inc.,South San Francisco,CA),Franklin et al.,Cancer Cell 2004,5:317-328)结合相同的表位。在一个实施方案中,该第二和该第三抗原结合模块与抗体2C4结合相同的表位。

[0244] 在一个实施方案中,该第二和/或第三抗原结合模块与抗体7C2(美国专利No.9,518,118)结合相同的表位。在一个实施方案中,该第二和该第三抗原结合模块与抗体7C2结合相同的表位。

[0245] 图36提供HER2 ECD的晶体结构并突显不同的HER2抗体结合的区域。4D5结合HER2的域IV中最接近细胞膜的蛋白质区域的表位。2C4结合HER2的域II中距离hu4D5结合的区域50埃的表位。7C2结合HER2的域I中距离受到hu4D5结合的HER2区域100埃的表位。

[0246] 在一个实施方案中,该第二和/或第三抗原结合模块结合HER2的域IV。在一个实施方案中,该第二和该第三抗原结合模块结合HER2的域IV。在一个实施方案中,该第二和/或第三抗原结合模块结合HER2的域II。在一个实施方案中,该第二和该第三抗原结合模块结合HER2的域II。

[0247] 在一个实施方案中,该第二和/或第三抗原结合模块结合HER2的域I。在一个实施方案中,该第二和该第三抗原结合模块结合HER2的域I。

[0248] 在一个实施方案中,该第二结合模块结合HER2的域IV且该第三抗原结合模块结合HER2的域I。

[0249] 在一个实施方案中,该第二结合模块结合HER2的域IV且该第三抗原结合模块结合HER2的域II。

[0250] 在一个实施方案中,该第二结合模块结合HER2的域II且该第三抗原结合模块结合

HER2的域I。

[0251] 在一些实施方案中,任何前述实施方案的双特异性抗原结合分子特征是包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个的VH_A区:(a)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:7的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:7的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:7的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:7的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:7的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_A区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:8的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:8的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:8的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:8的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:8的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗CD3双特异性抗原结合分子(例如抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB,例如具有40G5c CD3结合域的抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB)。

[0252] 在一些实施方案中,该VH_A包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_A包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:7的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:7的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:7的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:7的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:7的100%序列同一性);且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:8的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:8的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:8的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:8的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:8的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗CD3双特异性抗原结合分子(例如抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB,例如具有40G5c CD3结合域的抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB)。

[0253] 在一些实施方案中,该VH_{B1}区和/或该VH_{B2}区包含依照Kabat编号系统的N54,D98,F100,和/或Y102中一个,两个,三个,或所有四个残基处的氨基酸替代。例如,该VH_{B1}区和/或该VH_{B2}区可特征是下面的残基中一个,两个,三个,四个,或所有五个处的氨基酸替代:依照Kabat编号系统的N54E,D98A,D98T,F100A,和/或Y102V。

[0254] 在一些实施方案中,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区包含依照Kabat编号系统的N30,Y55,和/或H91中一个,两个,或所有三个残基处的氨基酸替代。例如,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区可特征是下面的残基中一个,两个,或所有三个处的氨基酸替代:N30S,Y55E,和/或H91A。

[0255] 在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子特征是包含下面的HVR中一个,两

个,或所有三个的VH_{B1}区:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:17具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:17的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:17的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:18具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:18的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:18的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0256] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:17具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:17的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:17的100%序列同一性);且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:18具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:18的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:18的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列;且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0257] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:17具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:17的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:17的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:18具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:18的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:18的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0258] 在一些实施方案中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的

HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:17具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:17的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:17的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:17的100%序列同一性);且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:18具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:18的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:18的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:18的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列;且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0259] 在一些实施方案中,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区包含H91处的氨基酸替代。例如,在一些实施方案中,该H91残基用具有非极性侧链的氨基酸替代。在一些实施方案中,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区包含氨基酸替代H91A。在一些实施方案中,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区包含Y55处的氨基酸替代。例如,在一些实施方案中,该Y55残基用具有酸性侧链的氨基酸替代。在一些实施方案中,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区包含氨基酸替代Y55E。在一些实施方案中,该VH_{B1}区和/或该VH_{B2}区包含F100和/或Y102处的氨基酸替代。例如,在一些实施方案中,该F100残基和/或该Y102残基用具有非极性侧链的氨基酸替代。在一些实施方案中,该VH_{B1}区和/或该VH_{B2}区包含氨基酸替代F100A和/或Y102V。

[0260] 在该双特异性抗原结合模块的一些实施方案中,该VL_{B1}区和/或该VL_{B2}区包含一个或多个易感性修理残基,例如包含氨基酸替代N30S的一个或多个易感性修理残基。另外/或者,该VH_{B1}区和/或该VH_{B2}区可特征是一个或多个易感性修理残基,例如包含选自由N54E,D98A,和D98T组成的组的一处或多处氨基酸替代的一个或多个易感性修理残基。

[0261] 该双特异性抗原结合分子可特征是该第二和/或第三抗原结合模块的轻链的残基H91处的突变(例如H91A)。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子特征是包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个的VH_{B1}区:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:24具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:24的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:24的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:27具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:27的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:27的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0262] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的

HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:24具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:24的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:24的100%序列同一性);且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:27具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:27的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:27的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0263] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:24具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:24的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:24的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:27具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:27的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:27的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0264] 在一些情况中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:24具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:24的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:24的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:24的100%序列同一性);且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:27具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:27的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:27的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:27的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5 H91A-1Fab-IgG TDB)。

[0265] 在其它情况中,该双特异性抗原结合分子可特征是该第二和/或第三抗原结合模块的重链的残基D98,F100,和Y102处的突变(例如D98A,F100A,和Y102V)。在一些实施方案

中,该双特异性抗原结合分子特征是包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个的VH_{B1}区:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:33具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:33的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:33的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:25的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:25的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列。

[0266] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:33具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:33的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:33的100%序列同一性);且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:25的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:25的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列;且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列。

[0267] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:33具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:33的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:33的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:25的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:25的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列。

[0268] 在一些实施方案中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:33具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:33的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:33的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:33的100%序列同一性);且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:25的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:25的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:25的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列;且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5D98A.F100A.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0269] 在其它实施方案中,该双特异性抗原结合分子可特征是该第二和/或第三抗原结合模块的轻链的残基Y55和H91处和重链的残基N54和D98处的突变(例如Y55E,H91A,N54E,和D98T)。在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子特征是包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个的VH_{B1}区:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

[0270] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100%序列同一性);且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97%

序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

[0271] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

[0272] 在一些实施方案中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100%序列同一性);且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB)。

[0273] 在其它实施方案中,该双特异性抗原结合分子可特征是该第二和/或第三抗原结合模块的轻链的残基Y55和H91处和重链的残基N54,D98,和Y102处的突变(例如Y55E,H91A,N54E,D98T,和Y102)。在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子特征是包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个的VH_{B1}区:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸

序列。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

[0274] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100%序列同一性);且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

[0275] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

[0276] 在一些实施方案中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ

ID NO:44的100％序列同一性)；且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:48的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:48的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:48的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列；且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0277] 在其它实施方案中,该双特异性抗原结合分子可特征是该第二和/或第三抗原结合模块的轻链的残基N30,Y55,和H91处和重链的残基N54和D98处的突变(例如N30S,Y55E,H91A,N54E,和D98T)。在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子特征是包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个的VH_{B1}区:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0278] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3；且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100％序列同一性)；且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100％序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列；且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0279] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96％序列同一

性,与SEQ ID NO:41的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0280] 在一些实施方案中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:41的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:41的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:41的100%序列同一性);且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB)。

[0281] 在其它实施方案中,该双特异性抗原结合分子可特征是该第二和/或第三抗原结合模块的轻链的残基N30,Y55,和H91处和重链的残基N54,D98,和Y102处的突变(例如N30S,Y55E,H91A,N54E,D98T,和Y102V)。在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子特征是包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个的VH_{B1}区:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0282] 在一些实施方案中,该VH_{B1}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100%序列同一性);且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100%序列同一性)。例如,在一些实施方案中,该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0283] 在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,或(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含下面的HVR中一个,两个,或所有三个:(a)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,或(c)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0284] 在一些实施方案中,该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:44的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:44的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:44的100%序列同一性);且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:49的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:49的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:49的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗HER2双特异性抗原结合分子(例如4D5N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB)。

[0285] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:30具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:30的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:31具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:31的序列。

[0286] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:35具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:35的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:25的序列。

[0287] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:39具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:39的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:40具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:40的序列。

[0288] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:41的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:42具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:42的序列。

[0289] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21

的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:41的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:27具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:27的序列。

[0290] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:44的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:45具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:45的序列。

[0291] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:24具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:24的序列和该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:40具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:40的序列。

[0292] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:41的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:25的序列。

[0293] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:46具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨

基酸序列或SEQ ID NO:46的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:40具有至少95％序列同一性(例如至少96％,至少97％,至少98％,至少99％序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:40的序列。

[0294] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:47具有至少95％序列同一性(例如至少96％,至少97％,至少98％,至少99％序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:47的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:40具有至少95％序列同一性(例如至少96％,至少97％,至少98％,至少99％序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:40的序列。

[0295] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:30具有至少95％序列同一性(例如至少96％,至少97％,至少98％,至少99％序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:30的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:25具有至少95％序列同一性(例如至少96％,至少97％,至少98％,至少99％序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:25的序列。

[0296] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:24具有至少95％序列同一性(例如至少96％,至少97％,至少98％,至少99％序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:24的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:54具有至少95％序列同一性(例如至少96％,至少97％,至少98％,至少99％序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:54的序列。

[0297] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:24具有至少95％序列同一性(例如至少96％,至少97％,至少98％,至少99％序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:24的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:48具有至少95％序列同一性(例如至少96％,至少97％,至少98％,至少99％序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:48的序列。

[0298] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ ID NO:33具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:33的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:25的序列。

[0299] 在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含下面的HVR:(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H3;且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含下面的HVR:(d)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(f)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该VH_{B1}和/或该VH_{B2}包含与SEQ IDNO:33具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:33的序列且该VL_{B1}和/或该VL_{B2}包含与SEQ ID NO:31具有至少95%序列同一性(例如至少96%,至少97%,至少98%,至少99%序列同一性)的氨基酸序列或SEQ ID NO:31的序列。

[0300] 在另一个方面,本发明特征是一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:17具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:18具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:17具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:18具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0301] 在另一个方面,本发明提供一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:24具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:27具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:24具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:27具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0302] 在还有另一个方面,本发明特征是一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:33具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:33具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且

该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列。

[0303] 在另一个方面,本发明特征是一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ IDNO:26的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且该VL_A区包含SEQID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

[0304] 在另一个方面,本发明特征是一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序

列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:48具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗CD3/HER2双特异性抗原结合分子(例如抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB,例如具有一个40G5c CD3结合域和两个4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V HER2结合域的抗CD3/HER21Fab-IgG TDB)。

[0305] 在还有另一个方面,本发明提供一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗CD3/HER2双特异性抗原结合分子(例如抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB,例如具有一个40G5c CD3结合域和两个4D5 N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T HER2结合域的抗CD3/HER21Fab-IgG TDB)。

[0306] 在另一个方面,本发明特征是一种包含单价臂和二价臂的双特异性抗原结合分子,其中:(a)该单价臂包含Fab_A,其中该Fab_A的C端与第一Fc亚基的N端融合,且其中该Fab_A包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L3;(b)该二价臂包含Fab_{B1}和Fab_{B2},其中该Fab_{B2}的C端与该Fab_{B1}的

N端融合,且该Fab_{B1}的C端与第二Fc亚基的N端融合,其中该Fab_{B1}和该Fab_{B2}每个包含下面的HVR:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,(iii)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3,(iv)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(v)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L3;且(c)该第一Fc亚基与该第二Fc亚基联合以形成Fc域。在一些实施方案中,(a)该Fab_A包含VH_A区和VL_A区,其中该VH_A区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_A区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;(b)该Fab_{B1}包含VH_{B1}区和VL_{B1}区,其中该VH_{B1}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列;且(c)该Fab_{B2}包含VH_{B2}区和VL_{B2}区,其中该VH_{B2}区包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列同一性的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含与SEQ ID NO:49具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,(a)该VH_A区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,且该VL_A区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;(b)该VH_{B1}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,且该VL_{B1}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列;且(c)该VH_{B2}区包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,且该VL_{B2}区包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。例如,在一些实施方案中,该双特异性抗原结合分子是抗CD3/HER2双特异性抗原结合分子(例如抗CD3/HER2 1Fab-IgG TDB,例如具有一个40G5c CD3结合域和两个4D5 N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V HER2结合域的抗CD3/HER21Fab-IgG TDB)。

[0307] 融合第二和第三抗原结合模块的肽接头

[0308] 在一些实施方案中,本发明的双特异性抗原结合分子特征是一种结构,其中该第三抗原结合模块的C端经由肽接头与该第二抗原结合模块的N端融合。该肽接头可以是长度为5-20个氨基酸(例如长度为5-10,10-15,或15-20,例如5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,或20个氨基酸)。在一些实施方案中,该肽接头是可变重链铰链区的天然氨基酸序列(例如DKTHT;SEQ ID NO:50)。或者,在一些实施方案中,该肽接头包括G_4SG_2接头(SEQ ID NO:51)。在一些实施方案中,该肽接头包含G_4SG_2接头和该铰链区(例如SEQ ID NO:52)。

[0309] 有和无G_4SG_2接头的包含该第二和第三抗原结合模块重链的例示性重链多肽的氨基酸序列在表2中提供。

[0310] 表2:与构成包括和没有G_4SG_2接头的例示性1Fab-IgG TDB分子的Fc域,第二抗原结合模块重链区,和第三抗原结合模块重链区的多肽对应的SEQ ID NO。下文显示的序列包括铰链序列,作为融合该第二和第三抗原结合模块重链的该接头肽的一部分。

[0311]

	没有 G_4SG_2	包括 G_4SG_2
4D5共有	55	56
4D5野生型(曲妥珠单抗)	57	58
4D5 H91A	59	60
4D5 Y55E.Y102V	61	62
4D5 D98A.F100A.Y102V	63	64
4D5 D98T.F100A.Y102V	65	66
4D5 N30S.N54E.D98T	67	68

[0312]

4D5 N30S.H91A.N54E.D98T	69	70
4D5 H91A.N54E.D98T	71	72
4D5 N30S.Y55E.N54E.D98T.Y102V	73	74
4D5 N30S	75	76
4D5 N54E.D98T	77	78
4D5 N30S.N54E.D98T.F100A.Y102V	79	80
4D5 N30S.N54E.D98A.F100A.Y102V	81	82
4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T	83	84
4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V	85	86
4D5 N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T	87	88
4D5 N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V	89	90

[0313] 特别是,本发明的双特异性抗原结合分子可特征是一种包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的肽接头。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:55具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:55的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:55的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:55的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:55的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:55的100%序列同一性)。在其它情况中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:59具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:59的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:59的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:59的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:59的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:59的100%序列同一性)。或者,该抗原结合分子可包含与SEQ ID NO:63具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:63的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:63的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:63的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:63的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:63的100%序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:83具有至少95%序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:83的至少96%序列同一性,与SEQ ID NO:83的至少97%序列同一性,与SEQ ID NO:83的至少98%序列同一性,与SEQ ID NO:83的至少99%序列同一性,或与SEQ ID NO:83的100%序列同一性)。在其它情况中,该

抗原结合分子包含与SEQ ID NO:85具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:85的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:85的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:85的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:85的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:85的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:87具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:87的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:87的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:87的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:87的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:87的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:89具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:89的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:89的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:89的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:89的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:89的100％序列同一性)。

[0314] 在其它情况中,该肽接头包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列。该抗原结合分子可包含与SEQ ID NO:56具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:56的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:56的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:56的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:56的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:56的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子可包含与SEQ ID NO:60具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:60的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:60的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:60的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:60的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:60的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:64具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:64的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:64的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:64的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:64的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:64的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:84具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:84的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:84的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:84的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:84的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:84的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:86具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:86的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:86的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:86的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:86的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:86的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:88具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:88的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:88的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:88的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:88的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:88的100％序列同一性)。在一些实施方案中,该抗原结合分子包含与SEQ ID NO:90具有至少95％序列同一性的氨基酸序列(例如与SEQ ID NO:90的至少96％序列同一性,与SEQ ID NO:90的至少97％序列同一性,与SEQ ID NO:90的至少98％序列同一性,与SEQ ID NO:90的至少99％序列同一性,或与SEQ ID NO:90的100％序列同一性)。

[0315] Fc域

[0316] 本发明的双特异性抗原结合分子可以特征是Fc域。Fc域可以是IgG Fc域(例如IgG_1或IgG_4 Fc域)。例如,Fc域可以是人Fc域。在一些实施方案中,Fc域包含降低对Fc受体的

结合和/或效应器功能的一处或多处氨基酸替代。例如,在一些实施方案中,降低对Fc受体的结合和/或效应器功能的一处或多处氨基酸替代在选自L234,L235,和P329的组的一个或多个位置处(例如其中第一Fc亚基和第二Fc亚基每个包含氨基酸替代L234A,L235A和P329G)。Fc受体可以是例如Fcγ受体。如此,本发明的双特异性抗原结合分子可以配置成降低抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)。

[0317] 在一些情况中,Fc域包含配置成促进第一Fc亚基与第二Fc亚基的联合的修饰。可以利用双特异性抗体的"节-入-穴"工程来生成含有节的第一臂和含有穴的第二臂,第一臂的节可以在第二臂的穴中结合。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体的节可以是单价臂(例如抗CD3臂)。或者,本发明的多特异性抗体的节可以是二价臂(例如抗肿瘤臂)。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体的穴可以是单价臂(例如抗CD3臂)。或者,本发明的多特异性抗体的穴可以是二价臂(例如抗肿瘤臂)。还可以使用免疫球蛋白交换(也称作Fab域交换或CrossMab格式)技术来改造双特异性抗体(见例如WO2009/080253;Schaefer et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,108:11187-11192(2011))。也可以如下生成双特异性抗体,即通过改造静电操纵效应以生成抗体Fc异二聚体分子(WO 2009/089004A1);交联两个或更多个抗体或片段(见例如美国专利No.4,676,980,和Brennan et al.,Science,229:81(1985));或通过使用亮氨酸拉链以生成双特异性抗体(见例如Kostelny et al.,J.Immunol.,148(5):1547-1553(1992))。

[0318] 可以将第二Fc亚基的CH3域中的氨基酸残基用具有更大侧链体积的氨基酸残基替换,由此生成第二Fc亚基的CH3域内的隆起(例如节),其可放置在第一Fc亚基的CH3域内的空腔(例如穴)中,并且可以将第一Fc亚基的CH3域中的氨基酸残基用具有更小侧链体积的氨基酸残基替换,由此生成第一Fc亚基的CH3域内的空腔(例如穴),其内可放置第二Fc亚基的CH3域内的隆起(例如节)。在一些实施方案中,第二Fc亚基的CH3域包含T366处的氨基酸替代,且第一Fc亚基的CH3域包含T366,L368,和/或Y407中一个,两个,或所有三个处的氨基酸替代。在一些实施方案中,第二Fc亚基的CH3域包含氨基酸替代T366W,且第一Fc亚基的CH3域包含T366S,L368A,和/或Y407V中一处,两处,或所有三处氨基酸替代。

[0319] 明确涵盖的是,供本文中列举的任何情况中使用的此类双特异性抗原结合分子或本文中描述的其它抗体可以单一地或组合地具有下文1-6节中描述的任何特征。

[0320] 1.抗体亲和力

[0321] 在某些情况中,双特异性抗原结合分子具有≤1μM,≤100nM,≤10nM,≤1nM,≤0.1nM,≤0.01nM,或≤0.001nM的平衡解离常数(K_D)(例如10^{-8}M或更少,例如10^{-8}M至10^{-13}M,例如,10^{-9}M至10^{-13}M)。

[0322] 在一种情况中,K_D是通过放射性标记抗原结合测定法(RIA)来测量的。在一种情况中,用Fab型式的感兴趣抗体及其抗原实施RIA。例如,通过在存在未标记抗原的滴定系列的情况中用最小浓度的(^{125}I)标记抗原平衡Fab,然后用抗Fab抗体包被板捕捉结合的抗原来测量Fab对抗原的溶液结合亲和力(见例如Chen et al.,J.Mol.Biol.293:865-881(1999))。为了建立测定法的条件,将MICROTITER®多孔板(Thermo Scientific)用50mM碳酸钠(pH 9.6)中的5μg/ml捕捉用抗Fab抗体(Cappel Labs)包被过夜,随后用PBS中的2%(w/v)牛血清清蛋白于室温(约23℃)封闭2-5小时。在非吸附板(Nunc#269620)中,将100pM或26pM[^{125}I]-抗原与连续稀释的感兴趣Fab(例如与Presta et al.,Cancer Res.57:

4593-4599(1997)中抗VEGF抗体,Fab-12的评估一致)混合。然后将感兴趣的Fab温育过夜;然而,温育可持续更长时间(例如约65小时)以确保达到平衡。此后,将混合物转移至捕捉板,于室温温育(例如1小时)。然后除去溶液,并用PBS中的0.1%聚山梨酯20(TWEEN-20®)洗板8次。平板干燥后,加入150μl/孔闪烁液(MICROSCINT-20™;Packard),然后在TOPCOUNT™伽马计数器(Packard)上对平板计数10分钟。选择各Fab给出小于或等于最大结合之20%的浓度用于竞争性结合测定法。

[0323] 依照另一种情况,K_D是使用BIACORE®表面等离振子共振测定法测量的。例如,于25℃使用固定化抗原CM5芯片在约10个响应单位(RU)使用BIACORE®-2000或BIACORE®-3000(BIACORE®,Inc.,Piscataway,NJ)实施测定法。在一种情况中,依照供应商的用法说明书用盐酸N-乙基-N'-(3-二甲氨基丙基)-碳二亚胺(EDC)和N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)活化羧甲基化右旋糖苷生物传感器芯片(CM5,BIACORE®,Inc.)。将抗原用10mM乙酸钠pH 4.8稀释至5μg/ml(约0.2μM),然后以5μl/分钟的流速注射以获得约10个响应单位(RU)的偶联蛋白质。注入抗原后,注入1M乙醇胺以封闭未反应基团。为了进行动力学测量,于25℃以约25μl/分钟的流速注入在含0.05%聚山梨酯20(TWEEN-20™)表面活性剂的PBS(PBST)中两倍连续稀释的Fab(0.78nM至500nM)。使用简单一对一朗格缪尔(Langmuir)结合模型(BIACORE® Evaluation Software version 3.2)通过同时拟合结合和解离传感图计算结合速率(k_{on})和解离速率(k_{off})。平衡解离常数(K_D)以比率k_{off}/k_{on}计算。见例如Chen et al.,J.Mol.Biol.293:865-881(1999)。如果根据上文表面等离振子共振测定法,结合速率超过$10^6 M^{-1}s^{-1}$,那么结合速率可使用荧光淬灭技术来测定,即根据分光计诸如配备了断流装置的分光光度计(Aviv Instruments)或8000系列SLM-AMINCO™分光光度计(ThermoSpectronic)中用搅拌比色杯的测量,在存在浓度渐增的抗原的情况中,测量PBS pH 7.2中20nM抗抗原抗体(Fab形式)于25℃的荧光发射强度(激发=295nm;发射=340nm,16nm带通)的升高或降低。

[0324] 2.抗体片段

[0325] 在某些情况中,本文中提供的双特异性抗原结合分子是包括一种或多种抗体片段。抗体片段包括但不限于Fab,Fab',Fab'-SH,$F(ab')_2$,Fv,和scFv片段,及下文所描述的其它片段。关于某些抗体片段的综述,见Hudson et al.,Nat.Med.9:129-134(2003)。关于scFv片段的综述,见例如Pluckthün,于The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg和Moore编,(Springer-Verlag,New York),第269-315页(1994);还可见WO 93/16185;及美国专利No.5,571,894和5,587,458。关于包含补救受体结合表位残基,并且具有延长的体内半衰期的Fab和$F(ab')_2$片段的讨论,见美国专利No.5,869,046。

[0326] 双抗体是具有两个抗原结合位点的抗体片段,其可以是二价的或双特异性的。见例如EP 404,097;WO 1993/01161;Hudson et al.,Nat.Med.9:129-134(2003);及Hollinger et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448(1993)。三抗体和四抗体也记载于Hudson et al.,Nat.Med.9:129-134(2003)。

[0327] 单域抗体是包含抗体的整个或部分重链可变域或整个或部分轻链可变域的抗体片段。在某些情况中,单域抗体是人单域抗体(Domantis,Inc.,Waltham,MA;见例如美国专利No.6,248,516)。

[0328] 可以通过多种技术,包括但不限于对完整抗体的蛋白水解消化及重组宿主细胞(例如大肠杆菌或噬菌体)的生成来生成抗体片段,如本文中所描述的。

[0329] 3.嵌合抗体和人源化抗体

[0330] 在某些情况中,本文中提供的双特异性抗原结合分子是嵌合抗体。某些嵌合抗体记载于例如美国专利No.4,816,567;及Morrison et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984))。在一个例子中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,自小鼠,大鼠,仓鼠,家兔,或非人灵长类,诸如猴衍生的可变区)和人恒定区。在又一个例子中,嵌合抗体是"类转换的"抗体,其中类或亚类已经自亲本抗体的类或亚类改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0331] 在某些情况中,嵌合抗体是人源化抗体。通常,将非人抗体人源化以降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。一般地,人源化抗体包含一个或多个可变域,其中HVR,例如CDR(或其部分)自非人抗体衍生,而FR(或其部分)自人抗体序列衍生。任选地,人源化抗体还会至少包含人恒定区的一部分。在一些情况中,将人源化抗体中的一些FR残基用来自非人抗体(例如衍生HVR残基的抗体)的相应残基替代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0332] 人源化抗体及其生成方法综述于例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008),并且进一步记载于例如Riechmann et al.,Nature332:323-329(1988);Queen et al.,Proc.Natl Acad.Sci.USA 86:10029-10033(1989);美国专利No.5,821,337,7,527,791,6,982,321和7,087,409;Kashmiri et al.,Methods 36:25-34(2005)(描述了特异性决定区(SDR)嫁接);Padlan,Mol.Immunol.28:489-498(1991)(描述了"重修表面");Dall'Acqua et al.,Methods36:43-60(2005)(描述了"FR改组");及Osbourn et al.,Methods 36:61-68(2005)和Klimka et al.,Br.J.Cancer,83:252-260(2000)(描述了FR改组的"引导选择"方法)。

[0333] 可以用于人源化的人框架区包括但不限于:使用"最佳拟合(best-fit)"方法选择的框架区(见例如Sims et al.,J.Immunol.151:2296(1993));自轻或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列衍生的框架区(见例如Carter et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);及Presta et al.,J.Immunol.,151:2623(1993));人成熟的(体细胞突变的)框架区或人种系框架区(见例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008));和通过筛选FR文库衍生的框架区(见例如Baca et al.,J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997)及Rosok et al.,J.Biol.Chem.271:22611-22618(1996))。

[0334] 4.人抗体

[0335] 在某些情况中,本文中提供的双特异性抗原结合分子是人抗体。可以使用本领域中已知的多种技术来生成人抗体。一般地,人抗体记载于van Dijk和van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.5:368-74(2001)及Lonberg,Curr.Opin.Immunol.20:450-459(2008)。

[0336] 可以通过对转基因动物施用免疫原来制备人抗体,所述转基因动物已经修饰为响应抗原性攻击而生成完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。此类动物通常含有所有或部分人免疫球蛋白基因座,其替换内源免疫球蛋白基因座,或者其在染色体外存在或随机整合入动物的染色体中。在此类转基因小鼠中,一般已经将内源免疫球蛋白基因座灭活。关于

自转基因动物获得人抗体的方法的综述,见Lonberg,Nat.Biotech.23:1117-1125(2005)。还可见例如美国专利No.6,075,181和6,150,584,其描述了XENOMOUSE™技术;美国专利No.5,770,429,其描述了HUMAB®技术;美国专利No.7,041,870,其描述了K-M MOUSE®技术,和美国专利申请公开文本No.US 2007/0061900,其描述了VELOCIMOUSE®技术)。可以例如通过与不同人恒定区组合进一步修饰来自由此类动物生成的完整抗体的人可变区。

[0337] 也可以通过基于杂交瘤的方法生成人抗体。已经描述了用于生成人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人异骨髓瘤细胞系(见例如Kozbor J.Immunol.,133:3001(1984);Brodeur et al.,Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications,第51-63页(Marcel Dekker,Inc.,New York,1987);及Boerner et al.,J.Immunol.,147:86(1991))。经由人B细胞杂交瘤技术生成的人抗体也记载于Li et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,103:3557-3562(2006)。其它方法包括那些例如记载于美国专利No.7,189,826(其描述了自杂交瘤细胞系生成单克隆人IgM抗体)和Ni,Xiandai Mianyixue,26(4):265-268(2006)(其描述了人-人杂交瘤)的。人杂交瘤技术(Trioma技术)也记载于Vollmers和Brandlein,Histology and Histopathology,20(3):927-937(2005)及Vollmers和Brandlein,Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology,27(3):185-91(2005)。

[0338] 也可以通过分离自人衍生的噬菌体展示文库选择的Fv克隆可变域序列生成人抗体。然后,可以将此类可变域序列与期望的人恒定域组合。下文描述了自抗体文库选择人抗体的技术。

[0339] 5.文库衍生的抗体

[0340] 可以通过对组合文库筛选具有期望的一种或多种活性的抗体来分离本发明的双特异性抗原结合分子。例如,用于生成噬菌体展示文库并对此类文库筛选拥有期望结合特征的抗体的多种方法是本领域中已知的。此类方法综述于例如Hoogenboom et al.,于Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien等编,Human Press,Totowa,NJ,2001),并且进一步记载于例如McCafferty et al.,Nature 348:552-554;Clackson et al.,Nature 352:624-628(1991);Marks et al.,J.Mol.Biol.222:581-597(1992);Marks和Bradbury,于Methods in Molecular Biology 248:161-175(Lo编,Human Press,Totowa,NJ,2003);Sidhu et al.,J.Mol.Biol.338(2):299-310(2004);Lee et al.,J.Mol.Biol.340(5):1073-1093(2004);Fellouse,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101(34):12467-12472(2004);及Lee et al.,J.Immunol.Methods 284(1-2):119-132(2004)。

[0341] 在某些噬菌体展示方法中,将VH和VL基因的全集分别通过聚合酶链式反应(PCR)克隆,并在噬菌体文库中随机重组,然后可以对所述噬菌体文库筛选抗原结合噬菌体,如记载于Winter et al.,Ann.Rev.Immunol.,12:433-455(1994)的。噬菌体通常以单链Fv(scFv)片段或以Fab片段展示抗体片段。来自经免疫的来源的文库提供针对免疫原的高亲和力抗体,而不需要构建杂交瘤。或者,可以(例如自人)克隆天然全集以在没有任何免疫的情况中提供针对一大批非自身和还有自身抗原的抗体的单一来源,如由Griffiths et al.,EMBO J,12:725-734(1993)描述的。最后,也可以通过自干细胞克隆未重排的V基因区段,并使用含有随机序列的PCR引物编码高度可变的CDR3区并在体外实现重排来合成生成未免疫文库,如由Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.,227:381-388(1992)所描述的。描述

人抗体噬菌体文库的专利公开文本包括例如:美国专利No.5,750,373,和美国专利公开文本No.2005/0079574,2005/0119455,2005/0266000,2007/0117126,2007/0160598,2007/0237764,2007/0292936和2009/0002360。

[0342] 认为自人抗体文库分离的抗体或抗体片段是本文中的人抗体或人抗体片段。

[0343] 6.抗原结合分子变体

[0344] 在某些情况中,涵盖本发明的双特异性抗原结合分子的氨基酸序列变体。例如,可以期望改善抗体的结合亲和力和/或其它生物学特性。可以通过将合适的修饰引入编码抗体的核苷酸序列中,或者通过肽合成来制备抗体的氨基酸序列变体。此类修饰包括例如对抗体的氨基酸序列内的残基的删除,和/或插入和/或替代。可以进行删除,插入,和替代的任何组合以得到最终的构建体,只要最终的构建体拥有期望的特征,例如,抗原结合。

[0345] 在某些实施方案中,本发明的双特异性抗原结合分子包含VH/VL区和/或CH1/CL区中的一处或多处修饰以推动正确的重/轻链配对。在一些实施方案中,本发明的双特异性抗原结合分子包含Fc区中的一处或多处修饰以推动双特异性抗原结合分子的两种臂的异二聚化。此类VH/VL区,CH1/CL区,和/或FC区中的修饰描述于国际专利公开号WO 2016/172485,通过援引将其完整收入本文。

[0346] A.替代,插入,和删除变体

[0347] 在某些情况中,提供了具有一处或多处氨基酸替代的抗原结合模块变体。替代诱变感兴趣的位点包括HVR和FR。保守替代在表3中在“优选的替代”的标题下显示。更实质的变化在表3中在“例示性替代”的标题下提供,并且如下文参照氨基酸侧链类别进一步描述的。可以将氨基酸替代引入感兴趣的抗体中,并且对产物筛选期望的活性,例如保留/改善的抗原结合,降低的免疫原性,或改善的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)或补体依赖性细胞毒性(CDC)。

[0348] 表3:例示性和优选的氨基酸替代

[0349]

初始残基	例示性替代	优选的替代
Ala(A)	Val;Leu;Ile	Val
Arg(R)	Lys;Gln;Asn	Lys
Asn(N)	Gln;His;Asp,Lys;Arg	Gln
Asp(D)	Glu;Asn	Glu
Cys(C)	Ser;Ala	Ser
Gln(Q)	Asn;Glu	Asn
Glu(E)	Asp;Gln	Asp
Gly(G)	Ala	Ala
His(H)	Asn;Gln;Lys;Arg	Arg
Ile(I)	Leu;Val;Met;Ala;Phe;正亮氨酸	Leu
Leu(L)	正亮氨酸;Ile;Val;Met;Ala;Phe	Ile
Lys(K)	Arg;Gln;Asn	Arg
Met(M)	Leu;Phe;Ile	Leu
Phe(F)	Trp;Leu;Val;Ile;Ala;Tyr	Tyr
Pro(P)	Ala	Ala

Ser(S)	Thr	Thr
Thr(T)	Val;Ser	Ser
Trp(W)	Tyr;Phe	Tyr
Tyr(Y)	Trp;Phe;Thr;Ser	Phe
Val(V)	Ile;Leu;Met;Phe;Ala;正亮氨酸	Leu

[0350] 依照共同的侧链特性,氨基酸可以如下分组:

[0351] (1)疏水性的:正亮氨酸,Met,Ala,Val,Leu,Ile;

[0352] (2)中性,亲水性的:Cys,Ser,Thr,Asn,Gln;

[0353] (3)酸性的:Asp,Glu;

[0354] (4)碱性的:His,Lys,Arg;

[0355] (5)影响链取向的残基:Gly,Pro;或

[0356] (6)芳香族的:Trp,Tyr,Phe。

[0357] 非保守替代会需要用这些类别之一的成员替换另一个类别的。

[0358] 一类替代变体牵涉替代亲本抗体(例如人源化或人抗体)的一个或多个高变区残基。一般地,为进一步研究选择的所得变体相对于亲本抗体会具有某些生物学特性的改变(例如改善)(例如升高的亲和力和/或降低的免疫原性)和/或会基本上保留亲本抗体的某些生物学特性。例示性的替代变体是亲和力成熟的抗体,其可以例如使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术诸如本文中所描述的那些技术来方便地生成。简言之,将一个或多个HVR残基突变,并将变体抗体在噬菌体上展示,并对其筛选特定的生物学活性(例如结合亲和力)。

[0359] 可以对HVR做出变化(例如,替代),例如以改善抗体亲和力。可以对HVR“热点”,即由在体细胞成熟过程期间以高频率经历突变的密码子编码的残基(见例如Chowdhury,Methods Mol.Biol.207:179-196(2008)),和/或接触抗原的残基做出此类变化,其中对所得的变体VH或VL测试结合亲和力。通过次级文库的构建和再选择进行的亲和力成熟已经记载于例如Hoogenboom等,于Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien等编,Human Press,Totowa,NJ,(2001))。在亲和力成熟的一些情况中,通过多种方法(例如,易错PCR,链改组,或寡核苷酸指导的诱变)将多样性引入为成熟选择的可变基因。然后,创建次级文库。然后,筛选文库以鉴定具有期望的亲和力的任何抗体变体。另一种引入多样性的方法牵涉HVR指导的方法,其中将几个HVR残基(例如,一次4-6个残基)随机化。可以例如使用丙氨酸扫描诱变或建模来特异性鉴定牵涉抗原结合的HVR残基。特别地,经常靶向CDR-H3和CDR-L3。

[0360] 在某些情况中,可以在一个或多个HVR内发生替代,插入,或删除,只要此类变化不实质性降低抗体结合抗原的能力。例如,可以对HVR做出保守变化(例如,保守替代,如本文中提供的),其不实质性降低结合亲和力。例如,此类变化可以在HVR中的抗原接触残基以外。在上文提供的变体VH和VL序列的某些情况中,每个HVR是未改变的,或者含有不超过1,2或3处氨基酸替代。

[0361] 一种可用于鉴定抗体中可以作为诱变靶位的残基或区域的方法称作“丙氨酸扫描诱变”,如由Cunningham和Wells(1989)Science,244:1081-1085所描述的。在此方法中,将残基或靶残基的组(例如,带电荷的残基诸如Arg,Asp,His,Lys,和Glu)鉴定,并用中性或带

负电荷的氨基酸(例如,丙氨酸或多丙氨酸)替换以测定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可以在对初始替代表明功能敏感性的氨基酸位置引入进一步的替代。或者/另外,利用抗原-抗体复合物的晶体结构来鉴定抗体与抗原间的接触点。作为替代的候选,可以靶向或消除此类接触残基和邻近残基。可以筛选变体以确定它们是否含有期望的特性。

[0362] 氨基酸序列插入包括长度范围为1个残基至含有100或更多个残基的多肽的氨基和/或羧基端融合,及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的例子包括具有N端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的其它插入变体包括抗体的N或C端与酶(例如对于ADEPT)或延长抗体的血清半衰期的多肽的融合物。

[0363] B.糖基化变体

[0364] 在某些情况中,可以改变本发明的抗原结合分子以提高或降低抗体糖基化的程度。可以通过改变氨基酸序列,使得创建或消除一个或多个糖基化位点来方便地实现对本发明的抗体的糖基化位点的添加或删除。

[0365] 在抗原结合分子包含Fc区的情况中,可以改变其附着的碳水化合物。由哺乳动物细胞生成的天然抗体通常包含分支的,双触角寡糖,其一般通过N连接附着于Fc区的CH2域的Asn297。见例如Wright et al.,TIBTECH 15:26-32(1997)。寡糖可以包括各种碳水化合物,例如,甘露糖,N-乙酰葡糖胺(GlcNAc),半乳糖,和唾液酸,以及附着于双触角寡糖结构"主干"中的GlcNAc的岩藻糖。在一些情况中,可以对本发明抗体中的寡糖进行修饰以创建具有某些改善的特性的抗体变体。

[0366] 在一种情况中,提供了抗原结合分子变体,其具有缺乏附着(直接或间接)于Fc区的岩藻糖的碳水化合物结构。例如,此类抗体中的岩藻糖量可以是1%至80%,1%至65%,5%至65%或20%至40%。通过相对于附着于Asn297的所有糖结构(例如,复合的,杂合的和高甘露糖的结构)的总和,计算Asn297处糖链内岩藻糖的平均量来测定岩藻糖量,如通过MALDI-TOF质谱术测量的,例如如记载于WO 2008/077546的。Asn297指位于Fc区中的约第297位(Fc区残基的EU编号方式)的天冬酰胺残基;然而,Asn297也可以由于抗体中的微小序列变异而位于第297位上游或下游约±3个氨基酸,即在第294位和第300位之间。此类岩藻糖基化变体可以具有改善的ADCC功能。见例如美国公开文本No.US 2003/0157108和US 2004/0093621。涉及"脱岩藻糖基化的"或"岩藻糖缺乏的"抗体变体的出版物的例子包括:US 2003/0157108;WO 2000/61739;WO 2001/29246;US 2003/0115614;US 2002/0164328;US 2004/0093621;US2004/0132140;US 2004/0110704;US 2004/0110282;US 2004/0109865;WO2003/085119;WO 2003/084570;WO 2005/035586;WO 2005/035778;WO2005/053742;WO2002/031140;Okazaki et al.,J.Mol.Biol.336:1239-1249(2004);Yamane-Ohnuki et al.,Biotech.Bioeng.87:614(2004)。能够生成脱岩藻糖基化抗体的细胞系的例子包括蛋白质岩藻糖基化缺陷的Lec13 CHO细胞(Ripka et al.,Arch.Biochem.Biophys.249:533-545(1986);美国专利申请No US 2003/0157108A1;及WO 2004/056312A1,Adams等人,尤其在实施例11),和敲除细胞系,诸如α-1,6-岩藻糖基转移酶基因FUT8敲除CHO细胞(见例如Yamane-Ohnuki et al.,Biotech.Bioeng.87:614(2004);Kanda,Y.et al.,Biotechnol.Bioeng.,94(4):680-688(2006);及WO2003/085107)。

[0367] 进一步提供了具有两分型寡糖的抗原结合分子变体,例如其中附着于抗体Fc区的双触角寡糖是通过GlcNAc两分的。此类抗体变体可以具有降低的岩藻糖基化和/或改善的

ADCC功能。此类抗体变体的例子记载于例如WO2003/011878;美国专利No.6,602,684;及US 2005/0123546。还提供了在附着于Fc区的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的抗体变体。此类抗体变体可以具有改善的CDC功能。此类抗体变体记载于例如WO 1997/30087;WO1998/58964;及WO 1999/22764。

[0368] C.Fc区变体

[0369] 在某些情况中,可以将一处或多处氨基酸修饰引入本发明的抗体的Fc区中,由此生成Fc区变体。Fc区变体可以包含在一个或多个氨基酸位置包含氨基酸修饰(例如替代)的人Fc区序列(例如,人IgG1,IgG2,IgG3或IgG4 Fc区)。

[0370] 在某些情况中,本发明涵盖拥有一些但不是所有效应器功能的抗体变体,所述效应器功能使其成为如下应用的期望候选物,其中抗体的体内半衰期是重要的,而某些效应器功能(诸如补体和ADCC)是不必要的或有害的。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定法以确认CDC和/或ADCC活性的降低/消减。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合测定法以确保抗体缺乏Fcγ R结合(因此有可能缺乏ADCC活性),但是保留FcRn结合能力。介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达Fcγ RIII,而单核细胞表达Fcγ RI,Fcγ RII和Fcγ RIII。在Ravetch和Kinet,Annu.Rev.Immunol.9:457-492(1991)的第464页上的表3中汇总了造血细胞上的FcR表达。评估感兴趣分子的ADCC活性的体外测定法的非限制性例子记载于美国专利No.5,500,362(见例如Hellstrom,I.et al.,Proc.Natl Acad.Sci.USA 83:7059-7063(1986))和Hellstrom,I et al.,Proc.Natl Acad.Sci.USA82:1499-1502(1985);美国专利No.5,821,337(见Bruggemann,M.et al.,J.Exp.Med.166:1351-1361(1987))。或者,可以采用非放射性测定方法(见例如用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定法(CellTechnology,Inc.Mountain View,CA;和CYTOTOX 96®非放射性细胞毒性测定法(Promega,Madison,WI))。对于此类测定法有用的效应细胞包括外周血单个核细胞(PBMC)和天然杀伤(NK)细胞。或者/另外,可以在体内评估感兴趣分子的ADCC活性,例如在动物模型中,诸如披露于Clynes et al.,Proc.Natl Acad.Sci.USA 95:652-656(1998)的。也可以实施C1q结合测定法以确认抗体不能结合C1q,并且因此缺乏CDC活性。见例如WO 2006/029879和WO2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体激活,可以实施CDC测定法(见例如Gazzano-Santoro et al.,J.Immunol.Methods 202:163(1996);Cragg et al.,Blood 101:1045-1052(2003);及Cragg et al.,Blood 103:2738-2743(2004))。也可以使用本领域中已知的方法来实施FcRn结合和体内清除/半衰期测定(见例如Petkova et al.,Int'l.Immunol.18(12):1759-1769(2006))。

[0371] 具有降低的效应器功能的抗体包括那些具有Fc区残基238,265,269,270,297,327和329中的一个或多个的替代的(美国专利No.6,737,056和8,219,149)。此类Fc突变体包括在氨基酸位置265,269,270,297和327中的两处或更多处具有替代的Fc突变体,包括残基265和297替代成丙氨酸的所谓的"DANA"Fc突变体(美国专利No.7,332,581和8,219,149)。

[0372] 描述了具有改善的或降低的对FcR的结合的某些抗体变体(见例如美国专利No.6,737,056;WO 2004/056312,及Shields et al.,J.Biol.Chem.9(2):6591-6604(2001))。

[0373] 在某些情况中,抗体变体包含具有改善ADCC的一处或多处氨基酸替代,例如Fc区的位置298,333,和/或334(残基的EU编号方式)的替代的Fc区。

[0374] 在一些情况中,对Fc区做出改变,其导致改变的(即,改善的或降低的)C1q结合和/

或补体依赖性细胞毒性(CDC),例如,如记载于美国专利No.6,194,551,WO 99/51642,及Idusogie et al.,J.Immunol.164:4178-4184(2000)的。

[0375] 具有延长的半衰期和改善的对新生儿Fc受体(FcRn)的结合的抗体记载于US2005/0014934A1(Hinton等人),新生儿Fc受体(FcRn)负责将母体IgG转移至胎儿(Guyer et al.,J.Immunol.117:587(1976)及Kim et al.,J.Immunol.24:249(1994))。那些抗体包含其中具有改善Fc区对FcRn结合的一处或多处替代的Fc区。此类Fc变体包括那些在Fc区残基238,256,265,272,286,303,305,307,311,312,317,340,356,360,362,376,378,380,382,413,424或434中的一处或多处具有替代,例如,Fc区残基434的替代的(美国专利No.7,371,826)。

[0376] 还可见Duncan和Winter,Nature 322:738-40(1988);美国专利No.5,648,260;美国专利No.5,624,821;及WO 94/29351,其关注Fc区变体的其它例子。

[0377] D.经半胱氨酸工程化改造的抗体变体

[0378] 在某些情况中,可以期望创建经半胱氨酸工程化改造的抗体,例如,“thioMAb”,其中抗体的一个或多个残基用半胱氨酸残基替代。在具体的情况中,替代的残基存在于抗体的可接近位点。通过用半胱氨酸替代那些残基,反应性硫醇基团由此定位于抗体的可接近位点,并且可以用于将抗体与其它模块,诸如药物模块或接头-药物模块缀合,以创建免疫缀合物,如本文中进一步描述的。在某些情况中,可以用半胱氨酸替代下列残基之任一个或多个:轻链的V205(Kabat编号方式);重链的A118(EU编号方式);和重链Fc区的S400(EU编号方式)。可以如例如美国专利No.7,521,541所述生成经半胱氨酸工程化改造的抗体。

[0379] E.抗体衍生物

[0380] 在某些情况中,可以进一步修饰本文中提供的抗体以含有本领域知道的且易于获得的额外非蛋白质性质模块。适合于抗体衍生化的模块包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性例子包括但不限于聚乙二醇(PEG),乙二醇/丙二醇共聚物,羧甲基纤维素,右旋糖苷,聚乙烯醇,聚乙烯吡咯烷酮,聚-1,3-二氧戊环,聚-1,3,6-三噁烷,乙烯/马来酸酐共聚物,聚氨基酸(均聚物或随机共聚物),和右旋糖苷或聚(n-乙烯吡咯烷酮)聚乙二醇,丙二醇均聚物,环氧丙烷/环氧乙烷共聚物,聚氧乙烯化多元醇(例如甘油),聚乙烯醇及其混合物。由于其在水中的稳定性,聚乙二醇丙醛在生产中可能具有优势。聚合物可以是任何分子量,而且可以是分支的或不分支的。附着到抗体上的聚合物数目可以变化,而且如果附着了超过一个聚合物,那么它们可以是相同或不同的分子。一般而言,可根据下列考虑来确定用于衍生化的聚合物的数目和/或类型,包括但不限于抗体要改进的具体特性或功能,抗体衍生物是否将用于指定条件下的治疗等。

[0381] 在另一种情况中,提供了抗体和可以通过暴露于辐射选择性加热的非蛋白质性质模块的缀合物。在一种情况中,非蛋白质性质模块是碳纳米管(Kam et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102:11600-11605(2005))。辐射可以是任何波长的,并且包括但不限于对普通细胞没有损害,但是将非蛋白质性质模块加热至抗体-非蛋白质性质模块附近的细胞被杀死的温度的波长。

[0382] F.免疫缀合物

[0383] 本发明还提供了包含与一种或多种细胞毒剂,诸如化疗剂或药物,生长抑制剂,毒素(例如蛋白质毒素,细菌,真菌,植物或动物起源的酶活性毒素,或其片段),或放射性同位

素缀合的双特异性抗原结合分子的免疫缀合物。

[0384] 在一种情况中,免疫缀合物是抗体-药物缀合物(ADC),其中抗体与一种或多种药物缀合,包括但不限于美登木素生物碱(见美国专利No.5,208,020,5,416,064和欧洲专利EP 0 425 235B1);auristatin诸如单甲基auristatin药物模块DE和DF(MMAE和MMAF)(见美国专利No.5,635,483和5,780,588及7,498,298);多拉司他汀(dolastatin);加利车霉素(calicheamicin)或其衍生物(见美国专利No.5,712,374,5,714,586,5,739,116,5,767,285,5,770,701,5,770,710,5,773,001和5,877,296;Hinman et al.,Cancer Res.53:3336-3342(1993);及Lode et al.,Cancer Res.58:2925-2928(1998));蒽环类抗生素诸如道诺霉素(daunomycin)或多柔比星(doxorubicin)(见Kratz et al.,Current Med.Chem.13:477-523(2006);Jeffrey et al.,Bioorganic&Med.Chem.Letters16:358-362(2006);Torgov et al.,Bioconj.Chem.16:717-721(2005);Nagy et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 97:829-834(2000);Dubowchik et al.,Bioorg.&Med.Chem.Letters 12:1529-1532(2002);King et al.,J.Med.Chem.45:4336-4343(2002);及美国专利No.6,630,579);甲氨蝶呤;长春地辛(vindesine);紫杉烷(taxane)诸如多西他赛(docetaxel),帕利他赛,larotaxel,tesetaxel,和ortataxel;单端孢霉素(trichothecene);和CC1065。

[0385] 在另一种情况中,免疫缀合物包含与酶活性毒素或其片段缀合的如本文中所描述的抗体,所述酶活性毒素包括但不限于白喉A链,白喉毒素的非结合活性片段,外毒素A链(来自铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)),蓖麻毒蛋白(ricin)A链,相思豆毒蛋白(abrin)A链,蒴莲根毒蛋白(modeccin)A链,α-帚曲霉素(sarcin),油桐(Aleurites fordii)毒蛋白,香石竹(dianthin)毒蛋白,美洲商陆(Phytolaca americana)蛋白(PAPI,PAPII和PAP-S),苦瓜(Momordica charantia)抑制物,麻疯树毒蛋白(curcin),巴豆毒蛋白(crotin),肥皂草(sapaonaria officinalis)抑制剂,白树毒蛋白(gelonin),丝林霉素(mitogellin),局限曲菌素(restrictocin),酚霉素(phenomycin),依诺霉素(enomycin)和单端孢菌素(tricothecenes)。

[0386] 在另一种情况中,免疫缀合物包含与放射性原子缀合以形成放射性缀合物的如本文中所描述的抗体。多种放射性同位素可用于生成放射性缀合物。例子包括At^{211},I^{131},I^{125},Y^{90},Re^{186},Re^{188},Sm^{153},Bi^{212},P^{32},Pb^{212}和Lu的放射性同位素。在使用放射性缀合物进行检测时,它可以包含供闪烁法研究用的放射性原子,例如tc99m或I123,或供核磁共振(NMR)成像(又称为磁共振成像,MRI)用的自旋标记物,诸如再一次的碘-123,碘-131,铟-111,氟-19,碳-13,氮-15,氧-17,钆,锰或铁。

[0387] 可以使用多种双功能蛋白质偶联剂来生成抗体和细胞毒剂的缀合物,诸如N-琥珀酰亚氨基3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP),琥珀酰亚氨基-4-(N-马来酰亚氨基甲基)环己烷-1-羧酸酯(SMCC),亚氨基硫烷(IT),亚氨酸酯(诸如盐酸己二酰亚氨酸二甲酯),活性酯类(诸如辛二酸二琥珀酰亚氨基酯),醛类(诸如戊二醛),双叠氮化合物(诸如双(对-叠氮苯甲酰基)己二胺),双重氮衍生物(诸如双(对-重氮苯甲酰基)-乙二胺),二异硫氰酸酯(诸如甲苯2,6-二异氰酸酯),和双活性氟化合物(诸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)的双功能衍生物。例如,可以如Vitetta et al.,Science 238:1098(1987)中所述制备蓖麻毒蛋白免疫毒素。碳-14标记的1-异硫氰酸苄基-3-甲基二亚乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)是用于将放射性

核苷酸与抗体缀合的例示性螯合剂。参见WO94/11026。接头可以是便于在细胞中释放细胞毒性药物的“可切割接头”。例如,可使用酸不稳定接头,肽酶敏感性接头,光不稳定接头,二甲基接头或含二硫化物接头(Chari et al.,Cancer Res 52:127-131(1992);美国专利No.5,208,020)。

[0388] 本文中的免疫缀合物或ADC明确涵盖,但不限于用交联试剂制备的此类缀合物,所述交联试剂包括但不限于BMPS,EMCS,GMBS,HBVS,LC-SMCC,MBS,MPBH,SBAP,SIA,SIAB,SMCC,SMPB,SMPH,sulfo-EMCS,sulfo-GMBS,sulfo-KMUS,sulfo-MBS,sulfo-SIAB,sulfo-SMCC,sulfo-SMPB,和SVSB(琥珀酰亚氨基-(4-乙烯基砜)苯甲酸酯),它们是商品化的(例如,来自Pierce Biotechnology,Inc.,Rockford,IL.,U.S.A)。

[0389] III.重组方法和组合物

[0390] 可以使用重组方法和组合物来生成本发明的双特异性抗原结合分子,例如如美国专利No.4,816,567和美国公开文本No.2013/0078249中所述,通过援引将其完整收入本文。在一个实施方案中,提供了编码本文中描述的双特异性抗原结合分子的分离的核酸(例如多核苷酸)。此类核酸可以编码包含双特异性抗原结合分子VL的氨基酸序列和/或包含双特异性抗原结合分子VH的氨基酸序列(例如双特异性抗原结合分子的任一臂的轻和/或重链)。在又一个实施方案中,提供了包含此类核酸的一种或多种载体(例如表达载体)。

[0391] 可以将编码本发明的双特异性抗原结合分子的多核苷酸作为单一多核苷酸分子或作为共表达的多种(例如两种或更多种)多核苷酸表达。由共表达的多核苷酸编码的多肽可以经由例如二硫键或其它手段联合以形成功能性双特异性抗原结合分子。例如,抗原结合模块的轻链部分可以与双特异性抗原结合分子中包含抗原结合模块重链部分,Fc域亚基和任选地另一个抗原结合模块的部分由分开的多核苷酸编码。当共表达时,重链多肽会与轻链多肽联合以形成抗原结合模块。在另一个例子中,双特异性抗原结合分子中包含两个Fc域亚基之一和任选地一个或多个抗原结合模块的部分可以与T细胞活化性双特异性抗原结合分子中包含两个Fc域亚基中另一个和任选地抗原结合模块的部分由分开的多核苷酸编码。当共表达时,Fc域亚基会联合以形成Fc域。

[0392] 在某些实施方案中,本发明的分离的多核苷酸编码包含第一和第二抗原结合模块和由两个亚基组成的Fc域的双特异性抗原结合分子的片段,。在一个实施方案中,本发明的分离的多核苷酸编码第一抗原结合模块和Fc域的亚基。在另一个实施方案,本发明的分离的多核苷酸编码第二抗原结合模块的重链和Fc域的亚基。在一个更加具体的实施方案中,分离的多核苷酸编码多肽,其中Fab重链与Fc域亚基分享C端肽键。在还有另一个实施方案中,本发明的分离的多核苷酸编码第三抗原结合模块的重链,第二抗原结合模块的重链,和Fc域的亚基。在一些实施方案中,第二和第三抗原结合模块的轻链与重链区共表达并联合以形成Fab域。

[0393] 在又一个实施方案中,提供了包含此类核酸的宿主细胞。在一个此类实施方案中,宿主细胞包含(例如已经用下列载体转化):(1)包含核酸的载体,所述核酸编码包含双特异性抗原结合分子的至少一种VL的氨基酸序列和包含抗体的双特异性抗原结合分子的至少一种VH的氨基酸序列,或(2)第一载体和第二载体,所述第一载体包含编码包含双特异性抗原结合分子的VL的氨基酸序列的核酸,所述第二载体包含编码包含双特异性抗原结合分子的VH的氨基酸序列的核酸。在一个实施方案中,宿主细胞是真核的,例如中国仓鼠卵巢

(CHO)细胞或淋巴样细胞。在一个实施方案中,提供了生成双特异性抗原结合分子的方法,其中该方法包含在适合于抗体表达的条件下培养如上文提供的包含编码双特异性抗原结合分子的核酸的宿主细胞,并任选地自宿主细胞(或宿主细胞培养液)回收抗体。

[0394] 对于双特异性抗原结合分子的重组生成,将编码双特异性抗原结合分子的多核苷酸(例如如上文所描述的)分离,并插入一种或多种载体中,以在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。可以使用常规规程将此类核酸容易地分离并测序(例如,通过使用寡核苷酸探针来进行,所述寡核苷酸探针能够特异性结合编码双特异性抗原结合分子的重和轻链的基因)。

[0395] 适合于克隆或表达双特异性抗原结合分子编码载体的宿主细胞包括本文中描述的原核或真核细胞。例如,可以在细菌中生成抗体,特别是在不需要糖基化和Fc效应器功能时。对于抗体片段和多肽在细菌中的表达,见例如美国专利No.5,648,237,5,789,199,和5,840,523(还可见Charlton,Methods in Molecular Biology,Vol.248(B.K.C.Lo,ed.,Humana Press,Totowa,NJ,2003),pp.245-254,其描述了抗体片段在大肠杆菌中的表达)。表达后,可以将抗体在可溶性级分中自细菌细胞团糊分离,并可以进一步纯化。

[0396] IV.药物配制剂

[0397] 以冻干配制剂或水溶液的形式通过混合具有期望纯度的双特异性抗原结合分子与任选的药学可接受载剂,赋形剂,或稳定剂来制备本发明的双特异性抗原结合分子的治疗配制剂供贮存。关于配制剂的一般信息参见例如Gilman et al.(eds.)The Pharmacological Bases of Therapeutics,8th Ed.,Pergamon Press,1990;A.Gennaro(ed.),Remington's Pharmaceutical Sciences,18th Edition,Mack Publishing Co.,Pennsylvania,1990;Avis et al.(eds.)Pharmaceutical Dosage Forms:Parenteral Medications Dekker,New York,1993;Lieberman et al.(eds.)Pharmaceutical Dosage Forms:Tablets Dekker,New York,1990;Lieberman et al.(eds.),Pharmaceutical Dosage Forms:Disperse Systems Dekker,New York,1990;及Walters(ed.)Dermatological and Transdermal Formulations(Drugs and the Pharmaceutical Sciences),Vol 119,Marcel Dekker,2002。

[0398] 可接受载剂,赋形剂,或稳定剂在所采用的剂量和浓度对接受者是无毒的,而且包括缓冲剂,诸如磷酸盐,柠檬酸盐,和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(诸如氯化十八烷基二甲基苄基铵;氯化己烷双胺;苯扎氯铵;苄索氯铵;酚,丁醇或苯甲醇;对羟基苯甲酸烃基酯,诸如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,诸如血清清蛋白,明胶,或免疫球蛋白;亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,诸如甘氨酸,谷氨酰胺,天冬酰胺,组氨酸,精氨酸,或赖氨酸;单糖,二糖,和其它碳水化合物,包括葡萄糖,甘露糖,或糊精;螯合剂,诸如EDTA;糖,诸如蔗糖,甘露醇,海藻糖或山梨醇;成盐反荷离子,诸如钠;金属复合物(例如Zn-蛋白质复合物);和/或非离子表面活性剂,诸如TWEEN™,PLURONICS™,或聚乙二醇(PEG)。

[0399] 本文中的配制剂还可含有多于一种活性化合物,优选活性互补且彼此没有不利影响的那些。此类药物的类型和有效量取决于例如配制剂中存在的拮抗剂的量和类型,和受试者的临床参数。

[0400] 活性组分还可包载于例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中(例如分

别是羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊),在胶状药物投递系统中(例如脂质体,清蛋白微球体,微乳剂,纳米颗粒和纳米胶囊)或在粗滴乳状液中。此类技术披露于Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition,Osol,A.Ed.(1980)。

[0401] 可制备持续释放制剂。持续释放制剂的合适例子包括含有拮抗剂的固体疏水性聚合物的半透性基质,该基质为成形制品形式,例如膜或微胶囊。持续释放基质的例子包括聚酯,水凝胶(例如聚(2-羟乙基-甲基丙烯酸酯),或聚(乙烯醇)),聚交酯(美国专利No.3,773,919),L-谷氨酸和L-谷氨酸γ-乙酯的共聚物,不可降解的乙烯-乙酸乙烯,可降解的乳酸-乙醇酸共聚物诸如LUPRON DEPOT™(由乳酸-乙醇酸共聚物和醋酸亮丙瑞林构成的可注射微球体),和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。

[0402] 用于体内施用的配制剂必须是无菌的。这容易通过穿过无菌滤膜过滤来实现。

[0403] V.治疗方法

[0404] 可以在本文中描述的任何治疗方法中使用本发明的任何双特异性抗原结合分子(例如具有能够特异性结合第一抗原的单价臂和能够特异性结合两个第二抗原的二价臂的双特异性抗原结合分子)或其组合物。

[0405] 在一个方面,提供了双特异性抗原结合分子,供作为药物使用。例如,在一些实施方案中,本文中描述的双特异性抗原结合分子供在有需要的受试者中治疗细胞增殖性病症(例如癌症)或自身免疫病症或延迟其进展中使用。在一些实施方案中,任何前述方面的双特异性抗原结合分子供在具有细胞增殖性病症(例如癌症)或自身免疫病症的受试者中增强免疫功能中使用。在某些实施方案中,本发明提供双特异性抗原结合分子,供在具有细胞增殖性病症或自身免疫病症的个体中增强免疫功能的方法中使用,包含对该个体施用有效量的该双特异性抗原结合分子以活化效应细胞(例如T细胞,例如CD8+和/或CD4+T细胞),扩充(增加)效应细胞群体,减少靶细胞群体(例如表达受到本发明的双特异性抗原结合分子识别的第二靶细胞抗原的细胞群体),和/或杀伤靶细胞(例如靶肿瘤细胞)。

[0406] 本发明特征是本发明的双特异性抗原结合分子在制造用于治疗病症,诸如细胞增殖性病症(例如癌症)或自身免疫病症或延迟其进展的药物中的用途。在又一个实施方案中,该药物供治疗细胞增殖性病症或自身免疫病症的方法使用,包含对具有细胞增殖性病症或自身免疫病症的个体施用有效量的该药物。在一个此类实施方案中,该方法进一步包含对该受试者施用有效量的至少一种另外的治疗剂,例如如下文描述的。在又一个实施方案中,该药物用于活化效应细胞(例如T细胞,例如CD8+和/或CD4+T细胞),扩充(增加)效应细胞群体,减少靶细胞群体(例如表达受到本发明的双特异性抗原结合分子识别的第二靶细胞抗原的细胞群体),和/或杀伤靶细胞(例如靶肿瘤细胞)。

[0407] 在又一个方面,本发明提供一种在有需要的受试者中治疗病症或延迟其进展的方法,该方法包含对该受试者施用任何前述方面的双特异性抗原结合分子。在一个实施方案中,该方法包含对具有此类细胞增殖性病症或自身免疫病症的受试者施用有效量的双特异性抗原结合分子(例如具有抗CD3单价臂和抗肿瘤细胞抗原二价臂的双特异性抗原结合分子)。在一个此类实施方案中,该方法进一步包含对该个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂,例如如下文描述的。

[0408] 在另一个方面,本发明提供一种在具有病症的受试者中增强免疫功能的方法,该方法包含对该受试者施用任何前述方面的双特异性抗原结合分子(例如具有抗CD3单价臂

和抗肿瘤细胞抗原二价臂的双特异性抗原结合分子)。在一些实施方案中,该病症是细胞增殖性病症(例如癌症)或自身免疫病症。在某些实施方案中,该方法包括施用有效量的该双特异性抗原结合分子以活化效应细胞(例如T细胞,例如CD8+和/或CD4+T细胞),扩充(增加)效应细胞群体,减少靶细胞群体(例如表达受到本发明的双特异性抗原结合分子识别的第二靶细胞抗原的细胞群体),和/或杀伤靶细胞(例如靶肿瘤细胞)。

[0409] 在一些实施方案中,本文中提供的双特异性抗原结合分子,其组合物,和使用方法用于治疗癌症,诸如乳腺癌,胃癌,结肠直肠癌,非小细胞肺癌,非霍奇金氏淋巴瘤(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,头和颈癌,黑素瘤,卵巢癌,间皮瘤,成胶质细胞瘤,生发中心B细胞样(GCB)弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),活化的B细胞样(ABC)DLBCL,滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),急性髓样白血病(AML),慢性淋巴样白血病(CLL),边缘区淋巴瘤(MZL),小淋巴细胞性白血病(SLL),淋巴浆细胞性淋巴瘤(LL),瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(WM),中枢神经系统淋巴瘤(CNSL),伯基特氏淋巴瘤(BL),B细胞前淋巴细胞性白血病,脾边缘区淋巴瘤,毛细胞白血病,脾淋巴瘤/白血病,脾弥漫性红髓小B细胞性淋巴瘤,毛细胞白血病变体,α重链病,γ重链病,μ重链病,浆细胞骨髓瘤,骨的孤立性浆细胞瘤,髓外浆细胞瘤,粘膜相关淋巴样组织的结外边缘区淋巴瘤(MALT淋巴瘤),结边缘区淋巴瘤,儿科结边缘区淋巴瘤,儿科滤泡性淋巴瘤,原发性皮肤滤泡性中心淋巴瘤,富于T细胞/组织细胞的大B细胞淋巴瘤,中枢神经系统的原发性DLBCL,原发性皮肤DLBCL(腿型),老年人的埃巴二氏病毒(EBV)阳性DLBCL,与慢性炎症有关的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,间变性淋巴瘤激酶(ALK)阳性大B细胞淋巴瘤,成浆细胞性淋巴瘤,HHV8相关多中心卡斯特尔曼(Castleman)病中引起的大B细胞淋巴瘤,原发性渗出性淋巴瘤,不可归类的,具有弥漫性大B细胞淋巴瘤和伯基特淋巴瘤之间的中间特征的大B细胞淋巴瘤,或不可归类的,具有弥漫性大B细胞淋巴瘤和经典霍奇金淋巴瘤之间的中间特征的大B细胞淋巴瘤。在一些实施方案中,本文中提供的双特异性抗原结合分子,其组合物,和使用方法用于治疗HER2阳性癌症(例如HER2阳性乳腺癌或HER2阳性胃癌)。

[0410] 本发明进一步提供组合疗法,包括平行或作为复合方案的一部分施用的双特异性抗原结合分子及一种或多种另外的治疗剂(例如一种,两种,三种,四种,五种,或更多种另外的治疗剂)的施用。在一个实施方案中,与一种或多种生物学修饰剂共施用双特异性抗原结合分子,该生物学修饰剂选自BCL-2抑制剂(例如GDC-0199/ABT-199),来那度胺(REVLIMID®),PI3Kδ抑制剂(诸如idelalisib(ZYDELIG®)),针对活化性共刺激分子,例如CD40,CD226,CD28,OX40(例如AgonOX),GITR,CD137(也称作TNFRSF9,4-1BB,或ILA),CD27(例如CDX-1127),HVEM,或CD127的激动剂,例如激动性抗体,针对抑制性共刺激分子,例如CTLA-4(也称作CD152),PD-1,TIM-3,BTLA,VISTA,LAG-3,B7-H3,B7-H4,IDO(例如1-甲基-D-色氨酸(也称作1-D-MT)),TIGIT,MICA/B,GITR(例如TRX518)或精氨酸酶的拮抗剂,例如拮抗性抗体,ipilimumab(也称作MDX-010,MDX-101,或YERVOY®),tremelimumab(也称作ticilimumab或CP-675,206,urelumab(也称作BMS-663513),MGA271,针对TGF-β的拮抗剂,例如metelimumab(也称作CAT-192),fresolimumab(也称作GC1008),LY2157299k,和表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞(例如细胞毒性T细胞)的过继转移,例如包含显性负面TGF-β受体,例如显性负面TGF-βII型受体的T细胞的过继转移。

[0411] 在一个特定实施方案中,生物学修饰剂是PD-1轴结合拮抗剂。在一些实施方案中,在施用双特异性抗原结合分子前或后施用PD-1轴结合拮抗剂或另外的治疗剂。在一些实施方案中,与双特异性抗原结合分子并行施用PD-1轴结合拮抗剂或另外的治疗剂。在一些实施方案中,PD-1轴结合拮抗剂选自由PD-L1结合拮抗剂(例如阿特珠单抗(MPDL3280A),YW243.55.S70,MDX-1105,MEDI4736(度伐单抗),和MSB0010718C(阿维单抗)),PD-1结合拮抗剂(例如MDX-1106(纳武单抗),MK-3475(派姆单抗),CT-011(匹迪单抗),MEDI-0680(AMP-514),PDR001(斯巴达珠单抗),REGN2810(西米普利单抗),和BGB-108),和PD-L2结合拮抗剂(例如抗体或免疫粘附素)组成的组。

[0412] 另外/或者,可以与一种或多种化疗剂共施用本发明的双特异性抗原结合分子(例如作为治疗具有细胞增殖性病症,例如癌症的受试者的方法的一部分)。

[0413] 在又一个方面,本发明提供一种用于治疗HER2阳性癌症的方法。在一个实施方案中,该方法包含对具有HER2阳性癌症的个体施用有效量的本发明的双特异性抗原结合分子,诸如具有二价抗HER2臂和单价抗CD3臂的1Fab-IgG TDB分子。在一个特定实施方案中,当在患者中以有效量施用时抗HER2臂拥有可接受的毒性概况。在一个实施方案中,具有可接受的毒性概况的1Fab-IgG TDB分子的抗CD3臂是低亲和力抗CD3抗原结合模块。在一个实施方案中,具有可接受的毒性概况的1Fab-IgG TDB的抗CD3抗原结合模块是4OG5c。

[0414] 在一个特定实施方案中,HER2阳性癌症是HER2阳性乳腺癌或HER2阳性胃癌。HER2阳性癌症(例如HER2阳性乳腺癌或HER2阳性胃癌)可以特征在于以至少200,000每细胞(例如至少250,000个HER2拷贝每个细胞,至少300,000个HER2拷贝每个细胞,至少400,000个HER2拷贝每个细胞,至少500,000个HER2拷贝每个细胞,至少600,000个HER2拷贝每个细胞,至少700,000个HER2拷贝每个细胞,至少750,000个HER2拷贝每个细胞,至少800,000个HER2拷贝每个细胞,至少900,000个HER2拷贝每个细胞,至少1,000,000个HER2拷贝每个细胞,至少1,200,000个HER2拷贝每个细胞,至少1,500,000个HER2拷贝每个细胞,至少2,000,000个HER2拷贝每个细胞,至少2,500,000个HER2拷贝每个细胞,至少3,000,000个HER2拷贝每个细胞,或更多,例如200,000至2,000,000个HER2拷贝每个细胞,300,000至1,500,000个HER2拷贝每个细胞,400,000至1,200,000个HER2拷贝每个细胞,或500,000至1,000,000个HER2拷贝每个细胞,例如200,000至1,000,000个HER2拷贝每个细胞(例如200,000至250,000个HER2拷贝每个细胞,250,000至300,000个HER2拷贝每个细胞,300,000至400,000个HER2拷贝每个细胞,400,000至500,000个HER2拷贝每个细胞,500,000至750,000个HER2拷贝每个细胞,或750,000至1,000,000个HER2拷贝每个细胞)或1,000,000至3,000,000个HER2拷贝每个细胞(例如1,000,000至1,500,000个HER2拷贝每个细胞,1,500,000至2,000,000个HER2拷贝每个细胞,2,000,000至2,500,000个HER2拷贝每个细胞,或2,500,000至3,000,000个HER2拷贝每个细胞)的拷贝数(例如平均拷贝数)表达HER2的肿瘤细胞。

[0415] 在一个实施方案中,与一种或多种另外的靶向HER途径的治疗剂共施用抗HER2双特异性抗原结合分子。在一个实施方案中,靶向HER途径的治疗剂选自EGFR抑制剂,HER2抑制剂,HER3抑制剂,和/或HER4抑制剂。在一个实施方案中,与选自曲妥珠单抗(HERCEPTIN®),T-DM1(KADCYLA®)和帕妥珠单抗(PERJETA®)的一种或多种另外的治疗剂共施用HER2 TDB(例如1Fab-IgG TDB)。在一个实施方案中,与曲妥珠单抗共施用抗HER2/CD3双特异性抗原结合分子。在一个实施方案中,与T-DM1共施用抗HER2/CD3双特

异性抗原结合分子。在一个实施方案中,与帕妥珠单抗共施用抗HER2/CD3双特异性抗原结合分子。在一个实施方案中,与曲妥珠单抗和帕妥珠单抗共施用抗HER2/CD3双特异性抗原结合分子。在一个实施方案中,与T-DM1和帕妥珠单抗共施用抗HER2/CD3双特异性抗原结合分子。

[0416] 上文记录的此类组合疗法涵盖组合施用(其中两种或更多种治疗剂包含在同一配制剂或分开的配制剂中),和分开施用(其中可以在一种或多种另外的治疗剂的施用之前,同时,和/或之后发生本发明的双特异性抗原结合分子的施用)。在一个实施方案中,抗体的施用和另外的治疗剂的施用彼此在约1个月内,或在约1,2或3周内,或在约1,2,3,4,5,或6天内发生。

[0417] 可以通过任何合适的手段来施用本发明的双特异性抗原结合分子(和/或任何另外的治疗剂),包括皮下,静脉内,肌肉内,表面,口服,经皮,腹膜内,眶内,通过植入,通过吸入,鞘内,室内,或鼻内。例如,在一些实施方案中,皮下施用双特异性抗原结合分子。在其它实施方案中,静脉内施用双特异性抗原结合分子。在一些实施方案中,通过皮下注射施用的双特异性抗原结合分子在患者中展现比通过静脉内注射施用的相同双特异性抗原结合分子要少的毒性反应。部分根据施用是短暂的还是长期的,剂量给药可以是通过任何合适的路径,例如通过注射,诸如静脉内或皮下注射。本文中涵盖各种剂量给药日程表,包括但不限于单次施用或在多个时间点里的多次施用,推注施用,和脉冲输注。

[0418] 本发明的双特异性抗原结合分子可以以一种符合优秀的医学实践的方式配制,定剂量,和施用。在此背景中考虑的因素包括所治疗的特定病症,所治疗的特定哺乳动物,受试者个体的临床状况,病症的起因,药剂投递部位,施用方法,施用日程表,和医学从业人员知道的其它因素。双特异性抗原结合分子无需但任选与一种或多种目前用于预防或治疗所讨论病症的药剂一起配制。此类其它药剂的有效量取决于配制剂中存在的抗体的量,病症或治疗的类型,和上文讨论的其它因素。这些通常以本文所述相同的剂量和施用路径使用,或以约1-99%的本文所述剂量使用,或以凭经验/临床上确定为适宜的任何剂量和任何路径使用。

[0419] 为了预防或治疗疾病,本发明的双特异性抗原结合分子(当单独或与一种或多种其它另外的治疗剂组合使用时)的适宜剂量会取决于要治疗的疾病的类型,疾病的严重性和病程,施用双特异性抗原结合分子是预防还是治疗目的,之前的疗法,患者的临床史和对双特异性抗原结合分子的响应,和主治医师的斟酌。在一次或一系列的治疗中恰当地将双特异性抗原结合分子施用于患者。

[0420] 作为一般建议,施用于人的双特异性抗原结合分子的治疗有效量会在约0.01至约100mg/kg患者体重的范围中,无论是通过一次或多次施用。在一些实施方案中,所使用的双特异性抗原结合分子为例如每天施用约0.01至约45mg/kg,约0.01至约40mg/kg,约0.01至约35mg/kg,约0.01至约30mg/kg,约0.01至约25mg/kg,约0.01至约20mg/kg,约0.01至约15mg/kg,约0.01至约10mg/kg,约0.01至约5mg/kg,或约0.01至约1mg/kg。在一个实施方案中,在21天周期的第1天以约100mg,约200mg,约300mg,约400mg,约500mg,约600mg,约700mg,约800mg,约900mg,约1000mg,约1100mg,约1200mg,约1300mg或约1400mg的剂量将本文中描述的双特异性抗原结合分子施用于人。该剂量可以作为单剂或作为多剂(例如2或3剂)施用,诸如输注。对于几天或更长时间上的重复施用,根据状况,治疗通常会持续直至疾

病症状发生期望的阻抑。抗体的一种例示性剂量会在约0.05mg/kg至约10mg/kg的范围中。如此,可以将一剂或多剂约0.5mg/kg,2.0mg/kg,4.0mg/kg,或10mg/kg(或其任意组合)施用于受试者。此类剂量可间歇施用,例如每周或每三周(例如使得患者接受约2至约20剂,或例如约6剂抗体)。可以施用较高的初始加载剂,接着是较低的一或多剂。此疗法的进展易于通过常规技术和测定法来监测。在本发明的任何前述方面的一些实施方案中,受试者,患者,或个体是人。

[0421] VI.试剂盒

[0422] 本文中提供的试剂盒,其包括本文中描述的一种或多种组合物(例如包括本文中描述的任何一种或多种双特异性抗原结合分子和药学可接受载剂的组合物)和关于将该组合物施用于受试者以治疗病症或延迟病症进展的包装插页(例如细胞增殖性病症(例如癌症,诸如乳腺癌,胃癌,结肠直肠癌,非小细胞肺癌,非霍奇金氏淋巴瘤(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,头和颈癌,黑素瘤,卵巢癌,间皮瘤,成胶质细胞瘤,生发中心B细胞样(GCB)弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),活化的B细胞样(ABC)DLBCL,滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),急性髓样白血病(AML),慢性淋巴样白血病(CLL),边缘区淋巴瘤(MZL),小淋巴细胞性白血病(SLL),淋巴浆细胞性淋巴瘤(LL),瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(WM),中枢神经系统淋巴瘤(CNSL),伯基特氏淋巴瘤(BL),B细胞前淋巴细胞性白血病,脾边缘区淋巴瘤,毛细胞白血病,脾淋巴瘤/白血病,脾弥漫性红髓小B细胞性淋巴瘤,毛细胞白血病变体,α重链病,γ重链病,μ重链病,浆细胞骨髓瘤,骨的孤立性浆细胞瘤,髓外浆细胞瘤,粘膜相关淋巴样组织的结外边缘区淋巴瘤(MALT淋巴瘤),结边缘区淋巴瘤,儿科结边缘区淋巴瘤,儿科滤泡性淋巴瘤,原发性皮肤滤泡性中心淋巴瘤,富于T细胞/组织细胞的大B细胞淋巴瘤,中枢神经系统的原发性DLBCL,原发性皮肤DLBCL(腿型),老年人的埃巴二氏病毒(EBV)阳性DLBCL,与慢性炎症有关的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,间变性淋巴瘤激酶(ALK)阳性大B细胞淋巴瘤,成浆细胞性淋巴瘤,HHV8相关多中心卡斯特尔曼(Castleman)病中引起的大B细胞淋巴瘤,原发性渗出性淋巴瘤,不可归类的,具有弥漫性大B细胞淋巴瘤和伯基特淋巴瘤之间的中间特征的大B细胞淋巴瘤,或不可归类的,具有弥漫性大B细胞淋巴瘤和经典霍奇金淋巴瘤之间的中间特征的大B细胞淋巴瘤。在一些实施方案中,该癌症是HER2阳性癌症(例如HER2阳性乳腺癌或HER2阳性胃癌)。另外/或者,试剂盒可包括关于将该组合物施用于受试者以治疗自身免疫病症或延迟自身免疫病症进展的包装插页。

实施例

[0423] 下面是本发明的方法和组合物的实施例。理解的是,鉴于上文提供的一般性描述,可以实践各种其它实施方案。

[0424] 实施例1:材料和方法

[0425] 基因合成

[0426] Fab

[0427] 通过轻链和重链可变域的基因合成获得编码抗HER2(4D5-8;Carter et al., Proc.Natl.Acad.Sci.USA.1992,89:4285-4289)Fab的变体的基因。在Expi293TTM细胞中以30mL规模生成抗HER2.4D5 Fab和变体并使用抗Flag亲和树脂分批纯化。在一个3x PBS清洗

步骤后,用50mM磷酸(pH 3.0)洗脱Fab,用20x PBS(pH 11.0)中和,并过滤。所有Fab为≥95%纯并通过质谱术验证。

[0428] IgG TDB和1Fab-IgG TDB

[0429] 如先前所述(Dillon et al.,MAbs 2017,9:213-230)生成节(抗HER2.N297G.节(4D5-8和变体);Kelley and O'Connell,Biochemistry 1993,32:6828-6835)和穴(抗CD3.N297G.穴(40G5c,除非另有规定))半抗体。对于1Fab-IgG TDB构建物,抗HER2 Fab(E1-T225)的编码区就在抗HER2.节序列的编码区前面且在有或无它们之间的G4SGG接头的情况下合成。

[0430] 1Fab-IgG TDB的萤光素酶融合物

[0431] 将萤光素酶(AAG54095.1)K18-D185的成熟蛋白序列C端融合至抗HER2.hu4D5轻链。使用BIACORE®T200(GE Healthcare)和下文描述的方法,有和无萤光素酶轻链融合物的抗HER2.hu4D5 Fab产生与HER2相似的结合动力学。

[0432] 抗体表达和纯化

[0433] 如下生成IgG TDB,1Fab-IgG TDB,和1Fab-IgG TDB的萤光素酶融合物。以≥1L规模在CHO细胞中生成半抗体抗HER2.hu4D5.节和变体和抗CD3.40G5c.穴并通过MAbSelect SuRe(GE Healthcare)纯化。如Junttila et al.,Cancer Res.2014,74:5561-5571;Spiess et al.,Nat.Biotechnol.2013,31:753-758中所述实施自半抗体组装双特异性IgG TDB,1Fab-IgG TDB,或1Fab-IgG TDB萤光素酶融合物。

[0434] HER2 Western印迹分析

[0435] 使用Cell Signaling Technology裂解缓冲液生成细胞裂解物。使用BCA测定试剂(Pierce目录号23228和23224)量化蛋白质。将40μg蛋白质加载到SDS-PAGE凝胶上并使用HER2抗体(Dako目录号A0485)进行检测。

[0436] 免疫组织化学(IHC)

[0437] 使用带有Ventana DAB检测的Ventana Ultraview-Benchmark系统用抗Her-2/neu(Ventana Medical Systems,克隆4B5,Tuscan,AZ)家兔单克隆一抗对5μm福尔马林固定,石蜡包埋组织样品和组织微阵列(TMA)样品实施针对HER2的免疫组织化学。使用ASCO-CAP推荐的临床HER2评分指南将染色结果评分为0,1+,2+,或3+。

[0438] 荧光原位杂交(FISH)

[0439] 探针

[0440] 由Core Diagnostics使用可商购的,得到FDA批准的HER2 FISH探针(PathVysion,Abbott Molecular)进行细胞系TMA的分析。PathVysion HER-2DNA探针混合物由两种经标记的DNA探针组成。在SpectrumOrange中标记跨越整个HER2基因的LSI HER2探针。在SpectrumGreen中标记CEP17探针并杂交至位于染色体17(17p11.1-q11.1)的着丝粒的α卫星DNA。包括CEP17探针容许测定HER2基因的相对拷贝数。

[0441] 测定法

[0442] 将来自TMA块的5μm厚FFPE切片提交如先前所述且带有修改的FISH分析。在于56℃温育过夜后,将载片在CitroSolv的三次清洗中脱石蜡,每次5分钟,通过两次酒精清洗来脱水并风干。随后,将FFPE切片在预处理试剂(Abbott Molecular,IL)中于80℃温育30分钟,然后用蛋白酶II(Abbott Molecular,IL)处理,之后是另外的在水和酒精系列中的清洗。然

后将干燥的载片与探针一起于76℃共变性6分钟并于37℃杂交过夜(ThermoBrite;Abbott Molecular)。以与先前所述相似的方式进行杂交后清洗和复染色。

[0443] 使用配备有计算机驱动的成像系统(BioView Duet,BioView Ltd.)的荧光显微镜查看切片。为HER2和CEP17杂交信号枚举来自每份样品的最少50个非交叠肿瘤细胞。使用当前的HER2评分标准和指南进行载片的分析。如果细胞系具有2或更大的HER2对CEP17比率或具有HER2对CEP17比率小于2的细胞中超过6个信号每个核的平均HER2拷贝数的话,认为它是FISH阳性的。具有小于2的HER2对CEP17比率和小于4个信号每个核的平均HER2拷贝数的样品认为是阴性的而具有小于2的HER2对CEP17比率和4至6个信号每个核的平均HER2拷贝数的样品认为是含糊的。

[0444] 细胞HER2结合测定法

[0445] 1Fab-IgG的萤光素酶融合物的细胞结合--直接结合测定法:

[0446] 将细胞(SKBR3:40,000个每孔,MCF7:200,000个每孔)分配入96平底白色无菌组织培养物处理板(Thermo Scientific;目录号136101)并容许贴壁过夜。然后用结合缓冲液(PBS+3%BSA+0.05%叠氮化钠;pH 7.2)清洗细胞,并将结合缓冲液中不同浓度(0.002nM至100nM)的TDB萤光素酶融合蛋白添加至每个孔。然后将板于4℃温育4小时并随后用结合缓冲液清洗3次。最后一次清洗后,将含有50μl萤光素酶底物(New England Biolab,目录号E3300L)的20μl结合缓冲液添加至每个孔。在Perkin Elmer Envision读板仪上读取发光值。使用GraphPad Prism model,“One Site-Specific Binding”拟合结合数据以确定抗体的结合亲和力。

[0447] 1Fab-IgG的萤光素酶融合物的细胞结合--竞争结合测定法:

[0448] 如上文所述分配和清洗细胞。为了测量竞争性结合,在结合缓冲液中混合固定浓度的TDB萤光素酶融合蛋白(15nM 4D5-WT或50nM 4D5-H91A)与递增浓度的TDB(0.007nM-400nM)并添加至细胞。如上文所述将板于4℃温育4小时,清洗,和读数。使用该GraphPad Prism model,“One Site-Fit Ki”拟合结合数据以确定抗体的结合亲和力。

[0449] 通过流式细胞术的细胞结合

[0450] 在50μL FACS缓冲液(含1%BSA,2mM EDTA的PBS)中在96孔U底板中以100,000个细胞每孔分配MCF7和SKBR3细胞。始于50μg/mL或10μg/mL在FACS缓冲液中1:5连续稀释测试项并与细胞一起在冰上温育30分钟。将细胞用FACS缓冲液清洗2次并在100μL在FACS缓冲液中1:200稀释的Alexa 647山羊抗人IgG,Fcγ片段(Jackson ImmunoResearch,目录号109-606-098)中重悬浮并在冰上温育30分钟。将细胞在100μL含有1:100稀释的碘化丙啶(PI;eBioscience,目录号00-6990-50)的FACS缓冲液中重悬浮并在BD FACSCaliber上分析。

[0451] 血细胞分级

[0452] 使用淋巴细胞分离介质(MP Biomedicals)自健康志愿者的血液分出外周血单个核细胞(PBMC)。通过负选择使用人$CD8^+$分离试剂盒(Miltenyi Biotec,目录号130-094-156)自PBMC提取$CD8^+$细胞。

[0453] T细胞活化

[0454] 所有用于流式细胞术细胞染色的抗体都是自BD Biosciences(San Jose,CA)获得的。将人PBMC和靶细胞(10:1比)在测试项存在下在平底96孔板(BD)中温育24小时。温育后,将细胞转移至新的V底96孔板。将细胞用抗CD8-FITC,抗CD69-PE,和抗CD25-APC染色。通过

流式细胞术在CD8+T细胞上检测CD69和CD25表面表达。报告CD8+CD69+CD25+的百分比作为T细胞活化。为了测定HER2不依赖性T细胞活化,将Jurkat-Dual NF-κB/IRF报告细胞(Invivogen,目录号jktd-isnf)与TDB或OKT CD3抗体一起于37℃温育24小时。自每个孔取出10μL上清液并添加至白色透明底96孔板。将100μL Quantiluc溶液(Invivogen)添加至收获的上清液并在Perkin Elmer Envision读板仪上读取板。

[0455] 体外凋亡

[0456] 将靶细胞在培养培养基中以10,000个细胞每孔分配入透明底96黑色孔板(Corning,目录号3904)并在37℃,5%CO_2温箱中放置过夜。将测试项,50,000个纯化的$CD8^+$细胞,和胱天蛋白酶3/7试剂(Essen,目录号4440)的1:1000稀释液添加至预分配的细胞并放置入Incucyte变焦。在40小时里每4小时收集图像并分析每mm^2凋亡事件的数目。

[0457] 细胞存活力

[0458] 细胞在补充有10%FBS,青霉素(100U/mL),链霉素(100μg/mL),和L-谷氨酸(0.2mM)的RPMI中生长至汇合。用基于PBS的细胞解离介质解离细胞并以10,000个细胞每孔的密度分配入黑色透明底96孔板。第4天,丢弃培养基并将板用PBS清洗2次。添加100μL CELLTITER-GLO®发光细胞存活力试剂(Promega,目录号G7570)并如说明书中所述在光度计上读取板。

[0459] 乳腺癌细胞增殖

[0460] 以3:1效应:靶比使用$CD8^+$细胞作为效应细胞。使用CELLTITER-GLO® 发光细胞存活力测定法(Promega)检测乳腺癌细胞增殖/存活力。对于测定法,在96孔板中分配15x 10^3个细胞每孔并温育过夜进行细胞附着,之后是处理。

[0461] 体内功效

[0462] 自Jackson Laboratory获得雌性NOD scid伽马(NSG)小鼠。在小鼠中使用人PBMC作为效应细胞。使用淋巴细胞分离介质(MP Biomedical,LLC,Salon,Ohio)自健康供体的血液纯化PBMC并于-80℃冻存。在转移入小鼠前融化PBMC并在含有10%FBS的RPMI培养基中于37℃,5%CO_2培养过夜。肿瘤细胞接种后1天在100μL体积的Hank氏平衡盐溶液(HBSS)缓冲液中以10x 10^6个细胞每只小鼠的浓度将PBMC腹膜内接种入小鼠。为了评估在治疗HER2扩增的乳腺癌中的功效,在HBSS/MATRIGEL®中经由皮下施用在右胸乳房脂肪垫中给动物接种3x 10^6个KPL-4肿瘤细胞。为了评估在治疗低HER2表达性肿瘤中的活性,在HBSS中对动物皮下接种5x 10^6个HT55肿瘤细胞。如图例中所示在第0天静脉内施用单剂治疗。

[0463] 食蟹猴安全性和药动学(PK)研究

[0464] 将11只雌性食蟹猴(Macaca fascicularis;给药开始时的年龄和重量范围为24-60个月和2-5kg)随机指派至3个组。动物接受媒介对照(N=3)或3mg/kg的抗HER2-CD3 4D4-H91A 1Fab-IgG TDB(N=3),或20mg/kg的TDB(N=5),经由2mL/kg/hr的1小时静脉内输注。一天两次对动物监测任何异常和疼痛或痛苦的迹象。另外的终点包括食物消耗,体重,体检,体温,呼吸率,和心率。

[0465] PK分析

[0466] 在贯穿研究的多个时间收集食蟹猴血液以评估药动学。容许血液于室温凝结至少30分钟。在收集1小时内于2-8℃以约1500-2000x g将样品离心。收集血清,保存于-60℃至-80℃直至运输进行分析。通过GRIP ELISA(Yang et al.,Journal of Immunological

Methods 2008,335:8-20)分析血清PK样品。使用非隔室分析(WinNonlin,5.2.1版;Pharsight Corporation,Mountain View,CA)使用血清浓度-时间概况来评估下面的PK参数:定义为血清浓度-时间曲线下面积(AUC)的总药物暴露,抗体清除(CL),和观察最大血清浓度(Cmax)。分开分析每只动物,并作为均值±标准偏差(SD)汇总每个剂量组的结果。

[0467] 临床病理学

[0468] 在给药前阶段期间至少两次和在研究第2和8天将血液收集入装有抗凝剂柠檬酸钠(用于凝血测试)或EDTA钾(用于血液学测试)的管。

[0469] *BIACORE®*

[0470] 在BIACORE® T200或8K仪器(GE Healthcare)上使用表面等离振子共振测量抗HER2 Fab或抗HER2/CD3 T细胞依赖性双特异性(TDB)抗体的结合动力学。使用运行缓冲液10mM HEPES,pH 7.2,150mM NaCl,0.05%Tween 20,和1mM EDTA(HBS-EP缓冲液),于37℃以30μL/min的流速实施所有动力学实验。在CM5传感器芯片上经由基于胺的偶联固定化人HER2胞外域(ECD;Sino Biologicals 10004-H08H或Novus Biologicals NBP1-94702)或食蟹猴HER2 ECD。对于人HER2 ECD,使用范围为0.27至200nM的抗HER2 Fab或TDB的3倍浓度系列来分析结合。对于食蟹猴HER2 ECD,使用范围为87.8至1000nM的抗HER2 Fab的1.5倍浓度系列来分析结合。记录结合HER2的传感图,使用注射时间180秒,继以解离时间300秒,用50mM HCl再生表面。使用1:1朗格缪尔(Langmuir)结合分析对抗原结合抗体观察的所有传感图,4D5Fab变体结合食蟹猴HER2除外,这使用稳态结合模型来计算动力学和结合常数。由于测量对食蟹猴HER2的弱亲和力需要高Fab浓度,因此在实验前将所有Fab变体缓冲液交换入HBS-EP缓冲液以防止缓冲液影响和确保精确测量。通过质谱术验证所有4D5变体的质量。

[0471] 实施例2:抗HER2/CD3 IgG TDB的HER2亲和力对于杀伤活性具有直接影响,但是对于对HER2过表达性细胞的选择性没有

[0472] 对于每种结合臂是单价的抗HER2/CD3双特异性抗体已经显示在HER2扩增的体外和体内乳腺癌模型中具有强健活性。然而,这种IgGTDB格式还保留针对表达低水平的HER2的细胞系的低水平活性,与正常HER2阳性人上皮细胞相似。想要提高抗HER2/CD3 TDB对HER2扩增的细胞的选择性,从而最小化中靶脱肿瘤活性的风险并由此提高HER2靶向性TDB的治疗指数。首先,调查HER2亲和力对于IgG TDB对HER2扩增的细胞的选择性的影响。生成具有范围为0.3至213nM的作为Fab的单价结合亲和力的抗HER2 4D5的多种变体(表4)。对于所有变体,降低亲和力的主要驱动力是解离速率(k_d)的升高(即更快),而结合速率(k_a)保持不变。

[0473] 表4:4D5变体的单价结合亲和力

[0474]

抗HER2 (4D5) Fab	k_a (1/Ms, 1E+5)	k_d (1/s, 1E-3)	K_D (nM)	K_D比 (变体/WT)
WT (曲妥珠单抗)	8.74±1.74	0.25±0.03	0.30±0.01	1.0
Y102V	9.28±0.34	0.30±0.02	0.32±0.03	1.1
Y55E.Y102V	5.83±1.04	1.43±0.10	2.60±0.34	8.7
Y55E.D98A.F100A.Y102V	11.5±3.34	15.6±2.58	14.0±2.08	47
D98A.F100A.Y102V	10.1±1.47	22.8±2.12	22.7±2.07	76
H91A	7.07±2.43	33.6±6.54	49.3±8.57	164
Y55E.H91A	5.10±0.20	87.5±3.60	172±13.2	573
Y100aA	4.61±1.27	91.9±11.2	213±81.8	710
N30A.H91A	5.75±0.56	201±19.1	353±62.7	1177

[0475] 对于初级选择性测试,使用SKBR3和MCF7作为模型细胞系。SKBR3是HER2扩增的乳腺癌细胞系,而MCF7是表达低水平的HER2的乳腺癌细胞系(图1),与在非癌性细胞,诸如培养的心肌细胞中检测到的水平相似(Junttila et al.,Cancer Res.74(19):5561-5571,2014)。SKBR3和MCF7细胞中HER2的细胞膜拷贝数已经分别报告是$2x10^6$每细胞和$1.5x10^4$每细胞(Aguilar et al.,Oncogene 18(44):6050-6062,1999)。降低HER2结合亲和力逐渐降低抗HER2IgG TDB对SKBR3和MCF7细胞系二者的杀伤活性(图2A-2F)。具有49nM或更高的对HER2的亲和力的IgG TDB的杀伤活性实际上消除。在SKBR3和MCF7细胞中观察到相似水平的活性降低。总之,单价HER2亲和力在抗HER2/CD3 IgG TDB的活性中发挥关键作用,但是不影响对HER2过表达性细胞的选择性。

[0476] 实施例3:表征二价低亲和力HER2结合对于对HER2过表达性细胞的选择性的影响

[0477] 基于单价4D5亲和力变体构建具有二价HER2结合和单价CD3结合的抗体(1Fab-IgG TDB格式)(图3)。对1Fab-IgG TDB测试对SKBR3细胞(图4A和7A)和MCF7细胞(图4B和7B)的细胞结合和介导SKBR3和MCF7细胞的凋亡(图5A和5B)和杀伤(图6A-6C和8)的能力。多种4D5 1Fab-IgG TDB变体展现与具有基于野生型4D5(曲妥珠单抗)的单价高亲和力HER2臂的对照IgG TDB相比相似的对SKBR3和MCF7细胞的结合(图4A和4B)。与单价高亲和力HER2IgG TDB格式相比,Y55E.H91A,Y100aA,或N30A.H91A替代(分别为172,213,和353nM的单价K_D)在1Fab-IgG TDB格式中导致实质性降低的细胞结合(图7A和7B)。更低的结合反映为实质性降低的SKBR3细胞的杀伤(图8)。Y102V和Y55E.Y102V替代(分别为0.3和2.6nM的单价K_D)在1Fab-IgG TDB格式中导致与对照IgG TDB相比相似的对SKBR3和MCF7细胞系二者的结合(图4A和4B)。与细胞结合一致,Y102V和Y55E.Y102V 1Fab-IgG TDB变体在杀伤低HER2表达性MCF7细胞中展现实质性效力,提示这些修饰并不改善对HER2过表达性细胞的选择性(图5A,5B,6B,和6C)。

[0478] D98A.F100A.Y102V和H91A(分别为23和49nM的单价K_D),两种4D5变体保留对SKBR3细胞的高细胞结合,同时仅仅展现最低限度的对MCF7细胞的结合(图4A,4B,5A,和5B)。这种细胞结合反映为杀伤活性。特别是,D98A.F100A.Y102V和H91A 1Fab-IgG TDB变体诱导有力

的SKBR3细胞的凋亡和杀伤,但是不能介导低HER2表达性MCF7细胞的杀伤,尽管浓度很高(50ng/mL至50μg/mL)。单价高HER2亲和力HER2-IgG TDB的体外活性已经报告在~10ng/mL浓度时饱和(Junttila et al.,Cancer Res.74(19):5561-5571,2014)。这些结果提示1Fab-IgG TDB相对于常规抗体增强的亲合力能实现增强的对HER2过表达性细胞的选择性。导致选择性升高的单价亲和力(K_D)的窗口在作为Fab测量的20-50nM的范围中。更小的亲和力降低并不改善选择性而更大的亲和力降低显著损害TDB的效力。

[0479] 实施例4:表征1Fab-IgG TDB格式对HER2过表达性细胞的增强的选择性

[0480] 选择4D5的H91A-1Fab-IgG TDB变体来进一步分析体外活性。一项剂量响应研究展现4D5 H91A-1Fab-IgG TDB对SKBR3的活性与单价高HER2亲和力IgG TDB相比几乎相同(图9;分别为EC_{50} 6.9和6.3pM)。与IgG TDB形成对比,没有看到任何剂量水平的1Fab-IgG TDB针对MCF7细胞的活性(图9)。将90种乳腺癌细胞系任意分拆至高(>400标准化读出每千碱基转录物长度每百万定位读出(nRPKM)),中(50-400nRPKM),和低(<50nRPKM)。基于HER2-RNA表达的HER2表达性细胞报告于Klijn 2015(图10;Klijn et al.,Nat.Biotechnol.33(3):306-312,2015)。将选择性研究扩充至15种具有可变HER2表达水平的细胞系。在高剂量水平(50ng/mL),对于单价高HER2亲和力IgG TDB没有看到T细胞活化和HER2表达之间清楚的相关性(图11A-11D)。与之形成鲜明对比,当测试H91A亲和力变体1Fab-IgG TDB时,仅仅在具有最高HER2表达水平的细胞系中诱导T细胞活化(图12A-12D)。类似地,靶细胞杀伤限于高HER2表达性细胞系及1Fab-IgG TDB分子,而高HER2亲和力IgG TDB在以高剂量水平使用时还在诱导低HER2表达性细胞的杀伤中广泛有活性(图11A-11D和12A-12D)。50ng/mL剂量的对照IgG TDB诱导T细胞活化和低HER2表达性细胞的杀伤,而50μg/ml 1Fab-IgG TDB并不影响低HER2表达性细胞的存活力。因此,1Fab-IgG TDB分子相对于对照IgG TDB对HER2的选择性的改善计算为≥1000倍。

[0481] 在自肺,皮肤,和乳腺组织衍生的人非癌症细胞系中进一步测试活性。通过流式细胞术在所有测试的非癌性细胞中确认了低水平HER2表达。表5显示这些细胞的表征和IgG TDB和1Fab-IgG TDB的结合。

[0482] 表5:对低HER2表达性人非癌症细胞的结合

[0483]

细胞系	组织来源	HER2 MFI*	IgG TDB EC_{50}	IgG TDB MED**	1Fab-IgG TDB MED**
MRC-5	正常肺	74	无活性	无活性	无活性
HBL-100	上皮	60	2 ng/mL	5 ng/mL	无活性
BEAS-2B	正常肺	33	无活性	无活性	无活性
Hs 888.Sk	正常皮肤	35	7 ng/mL	50 ng/mL	无活性
hTERT-HME1	正常乳腺+hTERT	9	32 ng/mL	50 ng/mL	无活性
Kd	正常成纤维细胞唇	46	无活性	无活性	无活性
HMEC-1	微血管内皮包皮	15	无活性	50 ng/mL	无活性

[0484] *MFI＝均值荧光强度

[0485] **MED＝最小有效剂量水平

[0486] H91A亲和力变体1Fab-IgG TDB在≤5μg/mL的浓度没有展现针对测试的8种细胞任一的凋亡活性。与HBL-100细胞一起培养的1Fab-IgG TDB和IgG TDB之间剂量-响应曲线的一项代表性比较显示H91A-IgG TDB有力杀伤低HER2表达性HBL-100细胞,与H91A-1Fab-IgG TDB形成对比(图13)。动力学测定法确认随时间H91A-IgG TDB对HBL-100的杀伤的剂量依赖性且进一步展现H91A-1Fab-IgG TDB诱导的杀伤在70小时的过程里是最低限度的(图14A和14B)。这些结果展现在高HER2表达性细胞系的杀伤中1Fab-IgG TDB的体外效力与单价高HER2亲和力IgG TDB相似。然而,1Fab-IgG TDB对测试的任何低HER2表达性细胞系没有可检测的活性,提示它对HER2过表达性细胞是选择性的。

[0487] 然后调查H91A亲和力变体1Fab-IgG TDB的活性所需要的HER2表达水平的阈。在将1Fab-IgG TDB与具有各种HER2表达概况的13种靶细胞系一起温育后,在以大于200,000个HER2分子每细胞的拷贝数表达HER2的靶细胞中观察到杀伤(图15A)。特别是,在所有表达HER2 RNA≥489nRPKM的细胞系(即以≥290,579的拷贝数表达HER2的细胞系)中检测到强健杀伤活性。在所有表达HER2 RNA≤260nRPKM的细胞系(即以≤146,208的拷贝数表达HER2的细胞系)中检测到最低限度的活性。使用Quantum-Alexa647 MESF珠通过FACS量化每种细胞系的HER2拷贝数,结果汇总于下文表6。

[0488] 表6:测试1Fab-IgG TDB杀伤的多种细胞系的HER2拷贝数

[0489]

细胞系	均值HER2拷贝数	标准偏差	%标准偏差
HCC1187	38,436	3,238	8%
NCI-H522	26,954	198	1%
VP267	70,761	7,515	11%
EFM-19	38,479	51	0%
ZFR-75-1	58,337	18,222	31%

NUGC-4	59,298	3,020	5%
YMB-1	69,655	964	1%
SNU-216	175,357	1,819	1%
OE-33	146,208	68,969	47%
EFM-192C	290,579	34,503	12%
HCC202	368,513	82,560	22%
SKBR3	774,501	109,335	14%
Calu-3	525,657	42,062	8%
HT55	26,337	1,157	4%
KPL4	636,978	31,743	5%
CHO-K1	0	0	0%

[0490] 以得到临床验证并用于患者选择的HER2诊断性测试进一步校准(benchmark)活性。在测试的20种细胞系中,使用H91A亲和力变体1Fab-IgG TDB仅仅在IHC 3+,FISH+细胞系中看到实质性杀伤活性(图15B和15C)。

[0491] 实施例5:评估1Fab-IgG TDB对HER2过表达性肿瘤的体内选择性

[0492] 评估H91A亲和力变体1Fab-IgG TDB的体内活性。对补充有人PBMC的NSG小鼠移植HER2扩增的KPL4肿瘤或HT55肿瘤,它们与MCF7细胞表达相似水平的HER2(图16)。H91A-1Fab-IgG TDB响应单剂0.5-5mg/kg而诱导剂量降低(图17),而单价高HER2亲和力IgG TDB在0.05mg/kg剂量时诱导降低,指示1Fab-IgG TDB的体内活性要低约10倍。正如基于体外结果预期的,在HT55肿瘤的处理中检测到较低的活性(图18)。单价高HER2亲和力IgG TDB在单剂0.1mg/kg时诱导HT55肿瘤消退。H91A-1Fab-IgG TDB在以≤50mg/kg的剂量处理HT55肿瘤时并不具有任何抗肿瘤活性。这些结果展现两种分子在治疗HER2扩增的肿瘤中均高度有力且为HER2扩增的癌症中基于HER2表达水平的积极(positive)治疗指数提供支持。H91A-1Fab-IgG TDB HER2 TDB展现与表达正常,低水平(例如与正常人组织相似)的HER2的肿瘤相比≥100倍的对HER2扩增的肿瘤的体内选择性。

[0493] 实施例6:为增强的选择性调整HER2亲和力

[0494] 选择以1Fab-IgG TDB格式展现改善的选择性的两种4D5变体,D98A.F100A.Y102V和H91A(分别为23和49nM的单价K_D),进行扩展表征以鉴定最佳亲和力来实现对HER2过表达性细胞的最大选择性。在针对SKBR3细胞的一项体外剂量响应测定法中,D98A.F100A.Y102V和H91A变体展现接近相同的活性(图20)。这两种分子在HER2的扩增的KPL4肿瘤异种移植物的处理中在0.5mg/kg剂量展现强健抗肿瘤活性(图17和19)。通过以高浓度(50ng/mL)的1Fab-IgG TDB变体H91A-1FabIg(图21A,23A,和25A)和D98A.F100A.Y102V(图21B,23B,和25B)处理表达高,中,或低水平的HER2的多种细胞系,扩展体外活性测定法。细胞系对两种分子的响应一般是相似的。然而,观察到清楚的趋势,其中D98A.F100A.Y102V变体的效力与H91A变体相比更高(图22,24,和26)。由于在低HER2表达性细胞中能检测到这种趋势,因此确定以49nM的单价K_D结合HER2的4D5 HVR中的H91A替代导致对HER2过表达性细胞的最大选择性。

[0495] 实施例7:表征接头序列长度的影响

[0496] 为了量化融合抗HER2 Fab的接头序列的长度在重链二价HER2结合和活性中的影

响,测试两种接头序列(图27A)。先前的实验中的所有1Fab-IgG TDB分子包括延长的接头序列(DKTHTGGGGSGG,SEQ ID NO:52),其中包括自远端Fab的上部IgG1铰链衍生的天然DKTHT序列(SEQ ID NO:50),接着是GGGGSGG延伸(SEQ ID NO:51)。与具有天然DKTHT序列(SEQ ID NO:50)的接头的1Fab-IgG TDB分子比较延长的接头序列。使用H91A-1Fab-IgG TDB测试接头的影响。没有观察到对SKBR3或MCF7细胞的结合的差异(图27B和27C)。SKBR3杀伤中的体外剂量响应以及更宽泛的细胞系活性筛选展现变体之间接近相同的活性。相对于延长的接头而言,天然接头变体在KPL4和HT55肿瘤异种移植物的处理中性能相似。这些数据提示具有范围为K_D 23nM至49nM的对HER2的单价亲和力的抗HER2 1Fab-IgG TDB展现有利的活性概况。在这些研究中,使用H91A 4D5变体(K_D 49nM)实现了对HER2过表达性细胞的最大选择性。

[0497] 实施例8:曲妥珠单抗的T细胞不依赖性抗信号传导效应在具有对HER2的二价低亲和力结合的1Fab-IgG TDB分子中减弱

[0498] 曲妥珠单抗对HER2扩增的癌细胞中过表达的HER2的结合导致由失调的HER2-HER3复合物启动的组成性配体不依赖性PI3K信号传导的强健干扰(Junttila et al.,Cancer Res.74(19):5561-5571,2014)。1Fab-IgG TDB分子以二价形式结合HER2。与1Fab-IgG TDB一起温育对SKBR3细胞的体外处理导致瞬时的非持久的pAKT降低,没有可检测的对HER3磷酸化的影响(图28A)。另外,单价高HER2亲和力IgG TDB和二价低HER2亲和力1Fab-IgG TDB均不实质性影响SKBR3细胞的增殖/存活力(图28B)。总之,对HER2的二价低亲和力结合并不抑制HER2扩增的细胞的增殖。

[0499] 实施例9:组合4D5抗体变体与易感性修理变体

[0500] 为了增强4D5抗体亲和力变体的稳定性,引入易感性修理。为了降低脱酰胺,将4D5轻链残基N30用丝氨酸残基替代(N30S),并将4D5重链残基N54用谷氨酸残基替代(N54E)。为了降低异构化,将4D5重链残基D98用丙氨酸残基(D98A)和/或苏氨酸残基(D98T)替代。通过BIACORE®量化野生型4D5 Fab及其亲和力变体(4D5 Y55E.Y102V-Fab,4D5 D98A.F100A.Y102V-Fab,和4D5 H91A-Fab;图29A-29D);易感性修理变体(4D5 N30S-Fab,4D5N54E.D98T-Fab,和N30S.N54E.D98T-Fab;图30A-30C);和具有易感性修理的亲和力变体(4D5 N30S.Y55E.N54E.D98T.Y102V-Fab,4D5N30S.N54E.D98A.F100A.Y102V-Fab,和4D5 H91A.N30S.N54E.D98T-Fab;图31A-31C)的结合亲和力。

[0501] 生成并表征具有易感性修理的4D5亲和力变体。通过质谱术测量每种4D5 Fab变体的分子量(MW;道尔顿)并通过大小排阻层析术(SEC)量化聚集的程度。结果显示于下文表7。在观察和预期值之间观察到MW的差异与C端赖氨酸裁剪有关。

[0502] 表7:质谱术和SEC实验的结果

[0503]

4D5 Fab	观察MW	预期MW	ΔMW	%单体
WT	48,605	48,773	-128	99.11
H91A	48,539	48,667	-128	97.89
Y55E.Y102V	48,507	48,635	-128	96.28

[0504]

D98A.F100A.Y102V	48,421	48,549	-128	99.28
D98T.F100A.Y102V	48,451	48,579	-128	98.71
N30S.N54E.D98T	48,579	48,707	-128	98.69
N30S.H91A.N54E.D98T	48,513	48,641	-128	98.86
H91A.N54E.D98T	48,540	48,668	-128	99.03
N30S.Y55E.N54E.D98T.Y102V	48,442	48,570	-128	99.65
N30S	48,578	48,706	-128	95.13
N54E.D98T	48,606	48,734	-128	97.16
N30S.N54E.D98A.F100A.Y102V	48,409	48,537	-128	97.24
N30S.N54E.D98T.F100A.Y102V	48,439	48,567	-128	98.67

[0505] 通过联合单价4D5臂与抗CD3(40G5c N297G)臂(见例如美国公开文本No.2015/095392,通过援引将其完整收入本文中),将4D5亲和力变体的变体定格式为IgG TDB抗体。通过BIACORE®对抗体测试对人HER2的结合。结果显示于图32A-32K并汇总于下文表8。

[0506] 表8:4D5 IgG TDB抗体对人HER2的结合特征

[0507]

抗HER2变体(IgG TDB)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM) Hu HER2	K_D比 (变体/WT)	Rmax (RU)	χ^2 (RU^2)
H91A.D98A.F100A.Y102V	—	—	—	—	—	—
Y55E.H91A.D98A.F100A.Y102V	—	—	—	—	—	—
Y55E.H91A.Y102V	—	—	—	—	—	—
WT	3.20E+05	2.75E-04	0.86	1	42.4	6.02
Y102V	2.59E+05	3.27E-04	1.26	1.5	41.2	4.58
Y55E.Y102V	1.82E+05	1.30E-03	7.15	8.3	36.7	2.93
Y55E.D98A.F100A.Y102V	2.65E+05	1.12E-02	42.1	48.8	33.1	4.11
D98A.F100A.Y102V	3.12E+05	1.51E-02	48.5	56.3	32.8	6.24
H91A	2.37E+05	2.17E-02	91.6	106.3	28.6	2.28
H91A.Y102V	2.61E+05	3.17E-02	121	140.4	25.4	2.07
Y55E.H91A	1.55E+05	4.67E-02	301	349.2	12.2	2.26

[0508] 在H91A.D98T.F100A.Y102V-IgG TDB,Y55E.H91A.D98A.F100A.Y102V-IgG TDB,或Y55E.H91A.Y102V-IgG TDB变体中没有检测到结合。一般地,较低的K_D值(较强的结合亲和力)很大程度上与较低的解离速率有关。在IgG TDB格式中,观察到与Fab格式相比弱约2倍的亲和力(表9和10)。然而,当使用K_D比时,其中4D5变体的K_D除以4D5野生型的K_D,结果是相对一致的值,IgG TDB或Fab格式任一的H91A变体为100-200。

[0509] 表9:易感性修理4D5 Fab分子对人HER2的结合特征

[0510]

4D5 Fab	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)	K_D比 (变体/WT)	R_{max} (RU)	χ^2 (RU^2)
N30S.N54E.D98T	1.07E+6	6.18E-5	0.06	0.23	42.1	0.681
N54E.D98T	9.62E+5	6.89E-5	0.07	0.29	40.9	0.722
WT	1.02E+6	2.54E-4	0.25	1	43	0.544
N30S	1.05E+6	2.82E-4	0.27	1.07	41.2	0.656
Y55E.Y102V	6.60E+5	1.46E-3	2.21	8.84	42.3	0.555
H91A.N54E.D98T	7.82E+5	5.02E-3	6.42	25.7	39.6	0.185
N30S.H91A.N54E.D98T	8.22E+5	6.55E-3	7.97	31.9	39.7	0.15
N30S.N54E.D98T.F100A.Y102V	7.39E+5	6.76E-3	9.15	36.6	38.3	0.185
N30S.N54E.D98A.F100A.Y102V	7.58E+5	9.58E-3	12.6	50.4	37.2	0.235
D98T.F100A.Y102V	1.14E+6	1.47E-2	12.9	51.6	38.9	0.212
D98A.F100A.Y102V	1.14E+6	2.37E-2	20.7	82.8	37.7	0.319
H91A	6.63E+5	2.82E-2	42.6	170	36	0.281
Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V	6.42E+5	3.18E-2	49.5	198	35.8	0.113

[0511] 生成Fab格式的一组4D5变体以获得一系列亲和力,用于IgG TDB(表9)或1Fab-IgG TDB(表10)格式任一的筛选。因为在H91A变体中最想要亲和力和动力学,所以着手消除这种变体中可能的分子易感性。易感性包括轻链位置HVR-L1中的N(30)T和重链位置HVR-H2中的N(54)G和HVR-H3中的D(98)G。目标是防止可能的D(98)G异构化和可能的N(30)T和N(54)G脱酰胺。首先,使用理性设计来筛选变体。然而,组合弱亲和力变体与高亲和力变体并不产生预测的亲和力,而且两种或三种变体的组合甚至产生不可预测的结果,如图38中图示的。例如,Y55E典型地将亲和力减弱3.5至20倍,但是在一种情况中产生亲和力的小幅升高。H91A将亲和力减弱91至163倍而Y102V或是提高亲和力或是并不改变亲和力。因此,使用N30S.N54E.D98A/T测试一个小矩阵以修理分子易感性。N30S被用来防止HVR-L1中可能的脱酰胺且对亲和力具有小到没有影响。N54E.D98T将亲和力提高至0.07nM,所以需要亲和力减弱性突变来实现约50nM的K_D。经由在易感性修理以外使用亲和力突变Y55E,H91A,和/或Y102V,鉴定了两种具有与H91A相似的动力学的变体(表10)。4D5 N30S.Y55E.H91A.HC-N54E.D98T-Fab特征是所有三处易感性中的修理,而4D5 Y55E.H91A.HC-N54E.D98T.Y102V-Fab特征是两个易感性修理残基,而且均具有约50nM的K_D。另一种变体,4D5N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-Fab展示始终略微更快的解离速率且具有70nM的K_D。

[0512] 表10:易感性修理4D5 Fab分子对人HER2的结合特征

[0513]

4D5 Fab	k_a (1/Ms, E+5)	k_d (1/s, E-3)	K_D (nM)	K_D比 (变体/WT)
WT	8.74 ± 1.74	0.25 ± 0.03	0.30 ± 0.01	1.0
N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T	6.76 ± 1.41	32.8 ± 4.07	49.2 ± 5.06	164
H91A	7.07 ± 2.43	33.6 ± 6.54	49.3 ± 8.57	164
Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V	5.98 ± 0.18	32.2 ± 1.45	54.0 ± 2.51	180
N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V	6.34 ± 0.33	44.0 ± 1.97	69.8 ± 6.95	233
Y55E.H91A.N54E.D98T	1.85 ± 0.49	22.7 ± 3.25	126 ± 18.0	420

[0514] 如表11中显示的,野生型4D5 Fab对食蟹猴HER2的单价亲和力(3.3nM)比对人HER2的(0.3nM)弱大致10倍。4D5 H91A-Fab亲和力变体和易感性修理变体展示大于300nM的对食蟹猴HER2的单价亲和力(表12)。然而,食蟹猴变体4D5 H91A-Fab和4D5野生型的对食蟹猴HER2蛋白的K_D的比大致是100-200,在以人格式观察到的相似范围内。

[0515] 表11:易感性修理4D5 Fab分子对食蟹猴HER2的结合特征

[0516]

4D5 Fab	K_D (nM)	K_D比 (变体/WT)	食蟹猴K_D (nM)	人K_D (nM)	食蟹猴/人K_D
WT	3.35	1	3.35	0.30	11.2
H91A	334	100	325	49.3	6.77
Y55E.H91A.N54E.D98T	≥ 770	230	≥728	126	≥6.11
Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V	≥ 710	212	≥692	54.0	≥13.1
N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T	420	125	400	49.2	8.54

[0517]

N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V	452	134	429	69.8	6.48

[0518] 实施例10:表征4D5易感性修理亲和力变体

[0519] 选择数种4D5易感性修理亲和力变体用于进一步表征。Y55E.H91A.N54E.D98T和Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V变体定格式成具有天然(短)接头(铰链;DKTHT)的1Fab-IgG TDB抗体并在剂量响应测定法中与H91A-1Fab-IgG TDB比较以量化SKBR3(图33A)或MCF7(图33B)靶细胞的杀伤。对每个孔接种1.5x 10^4个SKBR3或MCF7靶细胞并以1:3效应:靶比与PMBC衍生的$CD8^+$效应细胞共培养。结果汇总于下文表12。

[0520] 表12:选定4D5 1Fab-IgG TDB变体的SKBR3靶细胞杀伤

[0521]

4D5 1Fab-IgG TDB	SKBR3 IC_{50} (ng/mL)	MCF7 IC_{50} (ng/mL)
Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V	2.61	>1,000
Y55E.H91A.N54E.D98T	1.63	>1,000
Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V	1.83	>1,000
H91A	2.01	>1,000

[0522] 还通过流式细胞术表征4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T-1Fab-IgG TDB和4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V抗体对SKBR3细胞(图34A)和MCF7细胞(图34B)的结合。一般地,4D5 Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V-1Fab-IgG TDB就细胞毒性和对SKBR3细胞和MCF7细胞的结合而言与4D5 H91A-1Fab-IgG TDB相似。

[0523] 实施例11:细胞结合亲和力

[0524] 为了更为详细了解二价HER2啮合或亲合力对基于细胞的亲和力的贡献,测定4D5-WT 1Fab-IgG TDB和4D5-H91A 1Fab-IgG TDB分子对SKBR3,MCF7,和经转染而以与MCF7相当的水平表达食蟹猴HER2的细胞的表观亲和力(表13)。尽管作为单价Fab时4D5和亲和力减弱的4D5-H91A变体之间有164倍差异,但是1Fab-IgG分子对SKBR3细胞的基于细胞的结合亲和力是相当的,如通过直接细胞结合或竞争结合测定法测定的。4D5-H91A 1Fab-IgG TDB对在SKBR3细胞上表达的HER2的表观亲和力在1.5-5nM的范围中,与通过BIACORE®测量的它的单价Fab亲和力相比高~10倍。这个结果提示低单价Fab亲和力能通过由二价结合细胞背景中的HER2介导的亲合力来补偿。与之对比,4D5-H91A 1Fab-IgG TDB并不展现对MCF7或食蟹猴HER2表达性细胞的实质性结合(在直接细胞结合中二者的K_D均>100nM且在竞争结合中没有检测到结合),提示这些细胞上较低的HER2拷贝数不足以实现二价HER2啮合。结果汇总于表13。

[0525] 表13:1Fab-IgG TDB对食蟹猴HER2的结合亲和力

[0526]

1Fab IgG	K_D (nM)		
	SKBR3	MCF7	CHO-cynoHER2高
WT	3.26±1.22	11.57±5.91	1.51±0.15
H91A	5.02±1.96	>100	>100
N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T	5.08±1.22	>100	>100

[0527] 还评估CD3结合亲和力对TDB介导的靶细胞杀伤的影响。将具有低亲和力40G5c抗CD3臂的4D5-H91A 1Fab-IgG TDB("40G5c 4D5-H91A 1Fab-IgG TDB";CD3 K_D~50nM)与类似的具有高亲和力38E4v1抗CD3臂的4D5-H91A1Fab-IgG TDB("38E4v1 4D5-H91A 1Fab-IgG TDB";CD3 K_D~1nM)比较。在使用高HER2表达性靶细胞系SKBR3的体外细胞杀伤测定法中,40G5c4D5-H91A 1Fab-IgG TDB展示与38E4v1 4D5-H91A 1Fab-IgG TDB相似的靶细胞杀伤效力(图37)。与之对比,在类似的使用低HER2表达性靶细胞系MCF7的测定法中,38E4v1 4D5-H91A 1Fab-IgG TDB比40G5c 4D5-H91A1Fab-IgG TDB实质性更加有力杀伤靶细胞,后

者展示很少的细胞杀伤能力。汇总于下文表14的这些结果显示低抗CD3结合剧烈增强4D5-H91A 1Fab-IgG TDB选择性杀伤表达高水平的HER2的细胞的能力。

[0528] 表14:CD3结合亲和力对4D5-H91A 1Fab-IgG TDB介导的靶细胞杀伤的影响

[0529]

抗CD3克隆	细胞系	IC_{50}(ng/mL)	IC_{50}(pM)
40G5c(低亲和力)	MCF7	>1,000	>1,000
40G5c(低亲和力)	SKBR3	4.2	28
38E4v1(高亲和力)	MCF7	150	970
38E4v1(高亲和力)	SKBR3	11	1.8

[0530] 实施例12:高剂量的4D5-H91A 1Fab-IgG TDB并不导致HER2不依赖性T细胞活化

[0531] 在TDB中已经通过Fc区中的N297G替代减弱Fcγ R结合。为了确认TDB并不在高浓度诱导靶物不依赖性T细胞活化,使用Jurkat报告细胞系(图38A)。在HER2表达性细胞存在下用TDB刺激报告细胞时检测到强健信号。4D5-WTIgG TDB和4D5 H91A 1Fab-IgG TDB均不在HER2缺失下活化T细胞。将高水平的TDB掺入人PBMC(图38B)。二价抗CD3(OKT-3)在≥10ng/ml浓度诱导T细胞活化,而在100μg/ml浓度没有检测到T细胞活化,指示两种TDB格式均不在高浓度诱导HER2不依赖性T细胞活化。

[0532] 实施例13:4D5-H91A 1Fab-IgG TDB在食蟹猴中具有有限的药理学活性且得到较好耐受

[0533] 食蟹猴组织表达低水平的HER2,与人正常组织相似。4D5-H91A1Fab-IgG TDB并不实质性结合表达低至中等水平的食蟹猴HER2的细胞或诱导其凋亡(表13)。为了测试4D5-H91A 1Fab-IgG TDB的耐受性,设计单剂耐受性研究来研究食蟹猴中的药效学活性(PD)和药动学(PK)。对雌性猴用缓慢静脉内输注给予3mg/kg(N=3)和20mg/kg(N=5)剂量水平。耐受性/PK/PD读出包括临床观察,临床化学,血液学,细胞因子,和PK。该分析中不包括组织病理学。在临床观察(体重,心率,温度,呼吸率)中检测到无或最低限度测试项相关变化。典型的TDB相关药理学和临床病理学响应(Bargou et al.,Science2008,321:974-977;Lutterbuese et al.,Proc.Nat.Acad.Sci.2010,107(28):12605-12610)惊人地缺失(图38C)。C反应蛋白(CRP;急性期反应物和炎症标志物)水平保持于背景水平。没有检测到淋巴细胞边缘化,肝酶(丙氨酸和天冬氨酸氨基转移酶;ALT和AST)升高或外周血细胞因子升高(未显示),尽管TDB剂量较高。综上所述,4D5-H91A 1Fab-IgG TDB在食蟹猴中在高剂量水平得到较好耐受并展现有限的药理学活性。

[0534] 对测试的两种剂量水平均确认了TDB暴露且PK特征正常(图38D)。暴露接近与剂量成比例且维持直至最后评估的时间点(14天)。为了确认TDB在食蟹猴中没有灭活,自以20mg/kg TDB给药后7天和14天收获的样品回收血清等分试样,并使用血清稀释液来介导体外SKBR3细胞杀伤,其中使用健康供体人T细胞(图38E)。未稀释的样品中的测量TDB血清浓度分别是第7天和第14天样品的193和65μg/mL。给药后14天血清的100倍稀释液诱导与在以高(1μg/ml)浓度(这通常足以饱和活性)使用新鲜TDB的平行杀伤测定法中实现的最大活性相比相似水平的SKBR3杀伤。总之,这一数据提示正常食蟹猴组织中的低HER2表达不足以触发表达低水平的HER2的正常组织上的T细胞活化或脱肿瘤T细胞活性。

[0001] 序列表

[0002] <110> 豪夫迈·罗氏有限公司

[0003] <120> 双特异性抗原结合分子和使用方法

[0004] <130> 50474-162WO2

[0005] <150> 62/628,088

[0006] <151> 2018-02-08

[0007] <160> 98

[0008] <170> PatentIn version 3.5

[0009] <210> 1

[0010] <211> 5

[0011] <212> PRT

[0012] <213> 人工序列

[0013] <220>

[0014] <223> 合成构建物

[0015] <400> 1

[0016] Asn Tyr Tyr Ile His

[0017] 1 5

[0018] <210> 2

[0019] <211> 17

[0020] <212> PRT

[0021] <213> 人工序列

[0022] <220>

[0023] <223> 合成构建物

[0024] <400> 2

[0025] Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

[0026] 1 5 10 15

[0027] Gly

[0028] <210> 3

[0029] <211> 10

[0030] <212> PRT

[0031] <213> 人工序列

[0032] <220>

[0033] <223> 合成构建物

[0034] <400> 3

[0035] Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr

[0036] 1 5 10

[0037] <210> 4

[0038] <211> 17

[0039] <212> PRT

[0040] <213> 人工序列

[0041] <220>

[0042] <223> 合成构建物

[0043] <400> 4

[0044] Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

[0045] 1 5 10 15

[0046] Ala

[0047] <210> 5

[0048] <211> 7

[0049] <212> PRT

[0050] <213> 人工序列

[0051] <220>

[0052] <223> 合成构建物

[0053] <400> 5

[0054] Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

[0055] 1 5

[0056] <210> 6

[0057] <211> 8

[0058] <212> PRT

[0059] <213> 人工序列

[0060] <220>

[0061] <223> 合成构建物

[0062] <400> 6

[0063] Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr

[0064] 1 5

[0065] <210> 7

[0066] <211> 119

[0067] <212> PRT

[0068] <213> 人工序列

[0069] <220>

[0070] <223> 合成构建物

[0071] <400> 7

[0072] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

[0073] 1 5 10 15

[0074] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

[0075] 20 25 30

[0076] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

[0077] 35 40 45

[0078] Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[0079] 50 55 60
[0080] Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[0081] 65 70 75 80
[0082] Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0083] 85 90 95
[0084] Ala Arg Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[0085] 100 105 110
[0086] Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0087] 115
[0088] <210> 8
[0089] <211> 112
[0090] <212> PRT
[0091] <213> 人工序列
[0092] <220>
[0093] <223> 合成构建物
[0094] <400> 8
[0095] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
[0096] 1 5 10 15
[0097] Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
[0098] 20 25 30
[0099] Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
[0100] 35 40 45
[0101] Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
[0102] 50 55 60
[0103] Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
[0104] 65 70 75 80
[0105] Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
[0106] 85 90 95
[0107] Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[0108] 100 105 110
[0109] <210> 9
[0110] <211> 119
[0111] <212> PRT
[0112] <213> 人工序列
[0113] <220>
[0114] <223> 合成构建物
[0115] <400> 9
[0116] Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

[0117] 1 5 10 15

[0118] Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

[0119] 20 25 30

[0120] Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

[0121] 35 40 45

[0122] Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

[0123] 50 55 60

[0124] Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

[0125] 65 70 75 80

[0126] Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

[0127] 85 90 95

[0128] Ala Arg Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

[0129] 100 105 110

[0130] Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

[0131] 115

[0132] <210> 10

[0133] <211> 112

[0134] <212> PRT

[0135] <213> 人工序列

[0136] <220>

[0137] <223> 合成构建物

[0138] <400> 10

[0139] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly

[0140] 1 5 10 15

[0141] Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

[0142] 20 25 30

[0143] Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

[0144] 35 40 45

[0145] Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

[0146] 50 55 60

[0147] Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

[0148] 65 70 75 80

[0149] Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln

[0150] 85 90 95

[0151] Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

[0152] 100 105 110

[0153] <210> 11

[0154] <211> 5

[0155] <212> PRT

[0156] <213> 人工序列

[0157] <220>

[0158] <223> 合成构建物

[0159] <400> 11

[0160] Asp Thr Tyr Ile His

[0161] 1 5

[0162] <210> 12

[0163] <211> 17

[0164] <212> PRT

[0165] <213> 人工序列

[0166] <220>

[0167] <223> 合成构建物

[0168] <220>

[0169] <221> 混杂特征

[0170] <222> (6)..(6)

[0171] <223> Xaa 是 Asn 或 Glu

[0172] <400> 12

[0173] Arg Ile Tyr Pro Thr Xaa Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys

[0174] 1 5 10 15

[0175] Gly

[0176] <210> 13

[0177] <211> 11

[0178] <212> PRT

[0179] <213> 人工序列

[0180] <220>

[0181] <223> 合成构建物

[0182] <220>

[0183] <221> 混杂特征

[0184] <222> (4)..(4)

[0185] <223> Xaa 是 Asp, Ala, 或 Thr

[0186] <220>

[0187] <221> 混杂特征

[0188] <222> (6)..(6)

[0189] <223> Xaa 是 Phe 或 Ala

[0190] <220>

[0191] <221> 混杂特征

[0192] <222> (11)..(11)

[0193] <223> Xaa 是 Tyr 或 Val

[0194] <400> 13

[0195] Trp Gly Gly Xaa Gly Xaa Tyr Ala Met Asp Xaa
[0196] 1 5 10
[0197] <210> 14
[0198] <211> 11
[0199] <212> PRT
[0200] <213> 人工序列
[0201] <220>
[0202] <223> 合成构建物
[0203] <220>
[0204] <221> 混杂特征
[0205] <222> (7)..(7)
[0206] <223> Xaa 是 Asn, Ser, 或 Ala
[0207] <400> 14
[0208] Arg Ala Ser Gln Asp Val Xaa Thr Ala Val Ala
[0209] 1 5 10
[0210] <210> 15
[0211] <211> 7
[0212] <212> PRT
[0213] <213> 人工序列
[0214] <220>
[0215] <223> 合成构建物
[0216] <220>
[0217] <221> 混杂特征
[0218] <222> (6)..(6)
[0219] <223> Xaa 是 Tyr 或 Glu
[0220] <400> 15
[0221] Ser Ala Ser Phe Leu Xaa Ser
[0222] 1 5
[0223] <210> 16
[0224] <211> 9
[0225] <212> PRT
[0226] <213> 人工序列
[0227] <220>
[0228] <223> 合成构建物
[0229] <220>
[0230] <221> 混杂特征
[0231] <222> (3)..(3)
[0232] <223> Xaa 是 His 或 Ala
[0233] <400> 16

[0234] Gln Gln Xaa Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
[0235] 1 5
[0236] <210> 17
[0237] <211> 120
[0238] <212> PRT
[0239] <213> 人工序列
[0240] <220>
[0241] <223> 合成构建物
[0242] <220>
[0243] <221> 混杂特征
[0244] <222> (55)..(55)
[0245] <223> Xaa 是 Asn 或 Glu
[0246] <220>
[0247] <221> 混杂特征
[0248] <222> (102)..(102)
[0249] <223> Xaa 是 Asp, Ala, 或 Thr
[0250] <220>
[0251] <221> 混杂特征
[0252] <222> (104)..(104)
[0253] <223> Xaa 是 Phe 或 Ala
[0254] <220>
[0255] <221> 混杂特征
[0256] <222> (109)..(109)
[0257] <223> Xaa 是 Tyr 或 Val
[0258] <400> 17
[0259] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0260] 1 5 10 15
[0261] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[0262] 20 25 30
[0263] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0264] 35 40 45
[0265] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Xaa Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[0266] 50 55 60
[0267] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[0268] 65 70 75 80
[0269] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0270] 85 90 95
[0271] Ser Arg Trp Gly Gly Xaa Gly Xaa Tyr Ala Met Asp Xaa Trp Gly Gln
[0272] 100 105 110

[0273] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0274] 115 120
[0275] <210> 18
[0276] <211> 107
[0277] <212> PRT
[0278] <213> 人工序列
[0279] <220>
[0280] <223> 合成构建物
[0281] <220>
[0282] <221> 混杂特征
[0283] <222> (30)..(30)
[0284] <223> Xaa 是 Asn, Ser, 或 Ala
[0285] <220>
[0286] <221> 混杂特征
[0287] <222> (55)..(55)
[0288] <223> Xaa 是 Tyr 或 Glu
[0289] <220>
[0290] <221> 混杂特征
[0291] <222> (91)..(91)
[0292] <223> Xaa 是 His 或 Ala
[0293] <400> 18
[0294] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0295] 1 5 10 15
[0296] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Xaa Thr Ala
[0297] 20 25 30
[0298] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[0299] 35 40 45
[0300] Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Xaa Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0301] 50 55 60
[0302] Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0303] 65 70 75 80
[0304] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Xaa Tyr Thr Thr Pro Pro
[0305] 85 90 95
[0306] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[0307] 100 105
[0308] <210> 19
[0309] <211> 17
[0310] <212> PRT
[0311] <213> 人工序列

[0312] <220>

[0313] <223> 合成构建物

[0314] <400> 19

[0315] Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys

[0316] 1 5 10 15

[0317] Gly

[0318] <210> 20

[0319] <211> 11

[0320] <212> PRT

[0321] <213> 人工序列

[0322] <220>

[0323] <223> 合成构建物

[0324] <400> 20

[0325] Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

[0326] 1 5 10

[0327] <210> 21

[0328] <211> 11

[0329] <212> PRT

[0330] <213> 人工序列

[0331] <220>

[0332] <223> 合成构建物

[0333] <400> 21

[0334] Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala

[0335] 1 5 10

[0336] <210> 22

[0337] <211> 7

[0338] <212> PRT

[0339] <213> 人工序列

[0340] <220>

[0341] <223> 合成构建物

[0342] <400> 22

[0343] Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser

[0344] 1 5

[0345] <210> 23

[0346] <211> 9

[0347] <212> PRT

[0348] <213> 人工序列

[0349] <220>

[0350] <223> 合成构建物

[0351] <400> 23

[0352] Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

[0353] 1 5

[0354] <210> 24

[0355] <211> 120

[0356] <212> PRT

[0357] <213> 人工序列

[0358] <220>

[0359] <223> 合成构建物

[0360] <400> 24

[0361] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[0362] 1 5 10 15

[0363] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[0364] 20 25 30

[0365] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0366] 35 40 45

[0367] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[0368] 50 55 60

[0369] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[0370] 65 70 75 80

[0371] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0372] 85 90 95

[0373] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

[0374] 100 105 110

[0375] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[0376] 115 120

[0377] <210> 25

[0378] <211> 107

[0379] <212> PRT

[0380] <213> 人工序列

[0381] <220>

[0382] <223> 合成构建物

[0383] <400> 25

[0384] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0385] 1 5 10 15

[0386] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala

[0387] 20 25 30

[0388] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

[0389] 35 40 45

[0390] Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0391] 50 55 60
[0392] Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0393] 65 70 75 80
[0394] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
[0395] 85 90 95
[0396] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[0397] 100 105
[0398] <210> 26
[0399] <211> 9
[0400] <212> PRT
[0401] <213> 人工序列
[0402] <220>
[0403] <223> 合成构建物
[0404] <400> 26
[0405] Gln Gln Ala Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
[0406] 1 5
[0407] <210> 27
[0408] <211> 107
[0409] <212> PRT
[0410] <213> 人工序列
[0411] <220>
[0412] <223> 合成构建物
[0413] <400> 27
[0414] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0415] 1 5 10 15
[0416] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
[0417] 20 25 30
[0418] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[0419] 35 40 45
[0420] Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0421] 50 55 60
[0422] Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0423] 65 70 75 80
[0424] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Tyr Thr Thr Pro Pro
[0425] 85 90 95
[0426] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[0427] 100 105
[0428] <210> 28

[0429] <211> 11
[0430] <212> PRT
[0431] <213> 人工序列
[0432] <220>
[0433] <223> 合成构建物
[0434] <400> 28
[0435] Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val
[0436] 1 5 10
[0437] <210> 29
[0438] <211> 7
[0439] <212> PRT
[0440] <213> 人工序列
[0441] <220>
[0442] <223> 合成构建物
[0443] <400> 29
[0444] Ser Ala Ser Phe Leu Glu Ser
[0445] 1 5
[0446] <210> 30
[0447] <211> 120
[0448] <212> PRT
[0449] <213> 人工序列
[0450] <220>
[0451] <223> 合成构建物
[0452] <400> 30
[0453] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0454] 1 5 10 15
[0455] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[0456] 20 25 30
[0457] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0458] 35 40 45
[0459] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[0460] 50 55 60
[0461] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[0462] 65 70 75 80
[0463] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0464] 85 90 95
[0465] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[0466] 100 105 110
[0467] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[0468] 115 120

[0469] <210> 31

[0470] <211> 107

[0471] <212> PRT

[0472] <213> 人工序列

[0473] <220>

[0474] <223> 合成构建物

[0475] <400> 31

[0476] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0477] 1 5 10 15

[0478] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala

[0479] 20 25 30

[0480] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

[0481] 35 40 45

[0482] Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[0483] 50 55 60

[0484] Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

[0485] 65 70 75 80

[0486] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro

[0487] 85 90 95

[0488] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

[0489] 100 105

[0490] <210> 32

[0491] <211> 11

[0492] <212> PRT

[0493] <213> 人工序列

[0494] <220>

[0495] <223> 合成构建物

[0496] <400> 32

[0497] Trp Gly Gly Ala Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val

[0498] 1 5 10

[0499] <210> 33

[0500] <211> 120

[0501] <212> PRT

[0502] <213> 人工序列

[0503] <220>

[0504] <223> 合成构建物

[0505] <400> 33

[0506] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[0507] 1 5 10 15

[0508] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[0509] 20 25 30

[0510] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0511] 35 40 45

[0512] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[0513] 50 55 60

[0514] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[0515] 65 70 75 80

[0516] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0517] 85 90 95

[0518] Ser Arg Trp Gly Gly Ala Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln

[0519] 100 105 110

[0520] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[0521] 115 120

[0522] <210> 34

[0523] <211> 11

[0524] <212> PRT

[0525] <213> 人工序列

[0526] <220>

[0527] <223> 合成构建物

[0528] <400> 34

[0529] Trp Gly Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val

[0530] 1 5 10

[0531] <210> 35

[0532] <211> 120

[0533] <212> PRT

[0534] <213> 人工序列

[0535] <220>

[0536] <223> 合成构建物

[0537] <400> 35

[0538] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[0539] 1 5 10 15

[0540] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[0541] 20 25 30

[0542] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0543] 35 40 45

[0544] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[0545] 50 55 60

[0546] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[0547] 65 70 75 80
[0548] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0549] 85 90 95
[0550] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[0551] 100 105 110
[0552] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0553] 115 120
[0554] <210> 36
[0555] <211> 17
[0556] <212> PRT
[0557] <213> 人工序列
[0558] <220>
[0559] <223> 合成构建物
[0560] <400> 36
[0561] Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[0562] 1 5 10 15
[0563] Gly
[0564] <210> 37
[0565] <211> 11
[0566] <212> PRT
[0567] <213> 人工序列
[0568] <220>
[0569] <223> 合成构建物
[0570] <400> 37
[0571] Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
[0572] 1 5 10
[0573] <210> 38
[0574] <211> 11
[0575] <212> PRT
[0576] <213> 人工序列
[0577] <220>
[0578] <223> 合成构建物
[0579] <400> 38
[0580] Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
[0581] 1 5 10
[0582] <210> 39
[0583] <211> 120
[0584] <212> PRT

[0585] <213> 人工序列

[0586] <220>

[0587] <223> 合成构建物

[0588] <400> 39

[0589] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[0590] 1 5 10 15

[0591] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[0592] 20 25 30

[0593] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0594] 35 40 45

[0595] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[0596] 50 55 60

[0597] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[0598] 65 70 75 80

[0599] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0600] 85 90 95

[0601] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

[0602] 100 105 110

[0603] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[0604] 115 120

[0605] <210> 40

[0606] <211> 107

[0607] <212> PRT

[0608] <213> 人工序列

[0609] <220>

[0610] <223> 合成构建物

[0611] <400> 40

[0612] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0613] 1 5 10 15

[0614] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

[0615] 20 25 30

[0616] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

[0617] 35 40 45

[0618] Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[0619] 50 55 60

[0620] Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

[0621] 65 70 75 80

[0622] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro

[0623] 85 90 95

[0624] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[0625] 100 105
[0626] <210> 41
[0627] <211> 120
[0628] <212> PRT
[0629] <213> 人工序列
[0630] <220>
[0631] <223> 合成构建物
[0632] <400> 41
[0633] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0634] 1 5 10 15
[0635] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[0636] 20 25 30
[0637] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0638] 35 40 45
[0639] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[0640] 50 55 60
[0641] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[0642] 65 70 75 80
[0643] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0644] 85 90 95
[0645] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[0646] 100 105 110
[0647] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0648] 115 120
[0649] <210> 42
[0650] <211> 107
[0651] <212> PRT
[0652] <213> 人工序列
[0653] <220>
[0654] <223> 合成构建物
[0655] <400> 42
[0656] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0657] 1 5 10 15
[0658] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
[0659] 20 25 30
[0660] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[0661] 35 40 45
[0662] Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[0663] 50 55 60

[0664] Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

[0665] 65 70 75 80

[0666] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Tyr Thr Thr Pro Pro

[0667] 85 90 95

[0668] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

[0669] 100 105

[0670] <210> 43

[0671] <211> 11

[0672] <212> PRT

[0673] <213> 人工序列

[0674] <220>

[0675] <223> 合成构建物

[0676] <400> 43

[0677] Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val

[0678] 1 5 10

[0679] <210> 44

[0680] <211> 120

[0681] <212> PRT

[0682] <213> 人工序列

[0683] <220>

[0684] <223> 合成构建物

[0685] <400> 44

[0686] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[0687] 1 5 10 15

[0688] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[0689] 20 25 30

[0690] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0691] 35 40 45

[0692] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[0693] 50 55 60

[0694] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[0695] 65 70 75 80

[0696] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0697] 85 90 95

[0698] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln

[0699] 100 105 110

[0700] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[0701] 115 120

[0702] <210> 45

[0703] <211> 107

[0704] <212> PRT

[0705] <213> 人工序列

[0706] <220>

[0707] <223> 合成构建物

[0708] <400> 45

[0709] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0710] 1 5 10 15

[0711] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

[0712] 20 25 30

[0713] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

[0714] 35 40 45

[0715] Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[0716] 50 55 60

[0717] Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

[0718] 65 70 75 80

[0719] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro

[0720] 85 90 95

[0721] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

[0722] 100 105

[0723] <210> 46

[0724] <211> 120

[0725] <212> PRT

[0726] <213> 人工序列

[0727] <220>

[0728] <223> 合成构建物

[0729] <400> 46

[0730] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[0731] 1 5 10 15

[0732] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[0733] 20 25 30

[0734] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0735] 35 40 45

[0736] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[0737] 50 55 60

[0738] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[0739] 65 70 75 80

[0740] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0741] 85 90 95

[0742] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln

[0743] 100 105 110

[0744] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[0745] 115 120

[0746] <210> 47

[0747] <211> 120

[0748] <212> PRT

[0749] <213> 人工序列

[0750] <220>

[0751] <223> 合成构建物

[0752] <400> 47

[0753] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[0754] 1 5 10 15

[0755] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[0756] 20 25 30

[0757] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0758] 35 40 45

[0759] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[0760] 50 55 60

[0761] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[0762] 65 70 75 80

[0763] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0764] 85 90 95

[0765] Ser Arg Trp Gly Gly Ala Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln

[0766] 100 105 110

[0767] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[0768] 115 120

[0769] <210> 48

[0770] <211> 107

[0771] <212> PRT

[0772] <213> 人工序列

[0773] <220>

[0774] <223> 合成构建物

[0775] <400> 48

[0776] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0777] 1 5 10 15

[0778] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala

[0779] 20 25 30

[0780] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[0781] 35 40 45
[0782] Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0783] 50 55 60
[0784] Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0785] 65 70 75 80
[0786] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Tyr Thr Thr Pro Pro
[0787] 85 90 95
[0788] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[0789] 100 105
[0790] <210> 49
[0791] <211> 107
[0792] <212> PRT
[0793] <213> 人工序列
[0794] <220>
[0795] <223> 合成构建物
[0796] <400> 49
[0797] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0798] 1 5 10 15
[0799] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
[0800] 20 25 30
[0801] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[0802] 35 40 45
[0803] Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0804] 50 55 60
[0805] Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0806] 65 70 75 80
[0807] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Tyr Thr Thr Pro Pro
[0808] 85 90 95
[0809] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[0810] 100 105
[0811] <210> 50
[0812] <211> 5
[0813] <212> PRT
[0814] <213> 人工序列
[0815] <220>
[0816] <223> 合成构建物
[0817] <400> 50
[0818] Asp Lys Thr His Thr

[0819] 1 5

[0820] <210> 51

[0821] <211> 7

[0822] <212> PRT

[0823] <213> 人工序列

[0824] <220>

[0825] <223> 合成构建物

[0826] <400> 51

[0827] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

[0828] 1 5

[0829] <210> 52

[0830] <211> 12

[0831] <212> PRT

[0832] <213> 人工序列

[0833] <220>

[0834] <223> 合成构建物

[0835] <400> 52

[0836] Asp Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

[0837] 1 5 10

[0838] <210> 53

[0839] <211> 11

[0840] <212> PRT

[0841] <213> 人工序列

[0842] <220>

[0843] <223> 合成构建物

[0844] <400> 53

[0845] Arg Ala Ser Gln Asp Val Ala Thr Ala Val Ala

[0846] 1 5 10

[0847] <210> 54

[0848] <211> 107

[0849] <212> PRT

[0850] <213> 人工序列

[0851] <220>

[0852] <223> 合成构建物

[0853] <400> 54

[0854] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0855] 1 5 10 15

[0856] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ala Thr Ala

[0857] 20 25 30

[0858] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[0859] 35 40 45
[0860] Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0861] 50 55 60
[0862] Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0863] 65 70 75 80
[0864] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Tyr Thr Thr Pro Pro
[0865] 85 90 95
[0866] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[0867] 100 105
[0868] <210> 55
[0869] <211> 678
[0870] <212> PRT
[0871] <213> 人工序列
[0872] <220>
[0873] <223> 合成构建物
[0874] <400> 55
[0875] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0876] 1 5 10 15
[0877] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[0878] 20 25 30
[0879] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0880] 35 40 45
[0881] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[0882] 50 55 60
[0883] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[0884] 65 70 75 80
[0885] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0886] 85 90 95
[0887] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[0888] 100 105 110
[0889] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[0890] 115 120 125
[0891] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[0892] 130 135 140
[0893] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[0894] 145 150 155 160
[0895] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[0896] 165 170 175

[0897] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[0898] 180 185 190
[0899] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[0900] 195 200 205
[0901] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[0902] 210 215 220
[0903] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[0904] 225 230 235 240
[0905] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[0906] 245 250 255
[0907] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[0908] 260 265 270
[0909] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[0910] 275 280 285
[0911] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[0912] 290 295 300
[0913] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[0914] 305 310 315 320
[0915] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[0916] 325 330 335
[0917] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[0918] 340 345 350
[0919] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[0920] 355 360 365
[0921] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[0922] 370 375 380
[0923] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[0924] 385 390 395 400
[0925] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[0926] 405 410 415
[0927] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[0928] 420 425 430
[0929] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[0930] 435 440 445
[0931] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[0932] 450 455 460
[0933] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[0934] 465 470 475 480
[0935] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

[0936] 485 490 495

[0937] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

[0938] 500 505 510

[0939] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly

[0940] 515 520 525

[0941] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

[0942] 530 535 540

[0943] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

[0944] 545 550 555 560

[0945] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

[0946] 565 570 575

[0947] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

[0948] 580 585 590

[0949] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

[0950] 595 600 605

[0951] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

[0952] 610 615 620

[0953] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

[0954] 625 630 635 640

[0955] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

[0956] 645 650 655

[0957] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

[0958] 660 665 670

[0959] Ser Leu Ser Pro Gly Lys

[0960] 675

[0961] <210> 56

[0962] <211> 685

[0963] <212> PRT

[0964] <213> 人工序列

[0965] <220>

[0966] <223> 合成构建物

[0967] <400> 56

[0968] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[0969] 1 5 10 15

[0970] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[0971] 20 25 30

[0972] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0973] 35 40 45

[0974] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[0975] 50 55 60

[0976] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[0977] 65 70 75 80

[0978] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0979] 85 90 95

[0980] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

[0981] 100 105 110

[0982] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

[0983] 115 120 125

[0984] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

[0985] 130 135 140

[0986] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[0987] 145 150 155 160

[0988] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

[0989] 165 170 175

[0990] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[0991] 180 185 190

[0992] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[0993] 195 200 205

[0994] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[0995] 210 215 220

[0996] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

[0997] 225 230 235 240

[0998] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser

[0999] 245 250 255

[1000] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val

[1001] 260 265 270

[1002] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro

[1003] 275 280 285

[1004] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr

[1005] 290 295 300

[1006] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser

[1007] 305 310 315 320

[1008] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly

[1009] 325 330 335

[1010] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

[1011] 340 345 350

[1012] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro

[1013] 355 360 365

[1014] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[1015] 370 375 380
[1016] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[1017] 385 390 395 400
[1018] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[1019] 405 410 415
[1020] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[1021] 420 425 430
[1022] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[1023] 435 440 445
[1024] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[1025] 450 455 460
[1026] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[1027] 465 470 475 480
[1028] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[1029] 485 490 495
[1030] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[1031] 500 505 510
[1032] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[1033] 515 520 525
[1034] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[1035] 530 535 540
[1036] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[1037] 545 550 555 560
[1038] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[1039] 565 570 575
[1040] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[1041] 580 585 590
[1042] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[1043] 595 600 605
[1044] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[1045] 610 615 620
[1046] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[1047] 625 630 635 640
[1048] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[1049] 645 650 655
[1050] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[1051] 660 665 670
[1052] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

[1053] 675 680 685

[1054] <210> 57

[1055] <211> 678

[1056] <212> PRT

[1057] <213> 人工序列

[1058] <220>

[1059] <223> 合成构建物

[1060] <400> 57

[1061] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[1062] 1 5 10 15

[1063] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[1064] 20 25 30

[1065] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[1066] 35 40 45

[1067] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[1068] 50 55 60

[1069] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[1070] 65 70 75 80

[1071] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[1072] 85 90 95

[1073] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

[1074] 100 105 110

[1075] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

[1076] 115 120 125

[1077] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

[1078] 130 135 140

[1079] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[1080] 145 150 155 160

[1081] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

[1082] 165 170 175

[1083] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[1084] 180 185 190

[1085] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[1086] 195 200 205

[1087] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[1088] 210 215 220

[1089] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

[1090] 225 230 235 240

[1091] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn

[1092] 245 250 255
[1093] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[1094] 260 265 270
[1095] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[1096] 275 280 285
[1097] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[1098] 290 295 300
[1099] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[1100] 305 310 315 320
[1101] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[1102] 325 330 335
[1103] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[1104] 340 345 350
[1105] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[1106] 355 360 365
[1107] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[1108] 370 375 380
[1109] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[1110] 385 390 395 400
[1111] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[1112] 405 410 415
[1113] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[1114] 420 425 430
[1115] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[1116] 435 440 445
[1117] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[1118] 450 455 460
[1119] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[1120] 465 470 475 480
[1121] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[1122] 485 490 495
[1123] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[1124] 500 505 510
[1125] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[1126] 515 520 525
[1127] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[1128] 530 535 540
[1129] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[1130] 545 550 555 560

[1131] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[1132] 565 570 575
[1133] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[1134] 580 585 590
[1135] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[1136] 595 600 605
[1137] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[1138] 610 615 620
[1139] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[1140] 625 630 635 640
[1141] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[1142] 645 650 655
[1143] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[1144] 660 665 670
[1145] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1146] 675
[1147] <210> 58
[1148] <211> 685
[1149] <212> PRT
[1150] <213> 人工序列
[1151] <220>
[1152] <223> 合成构建物
[1153] <400> 58
[1154] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1155] 1 5 10 15
[1156] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[1157] 20 25 30
[1158] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1159] 35 40 45
[1160] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[1161] 50 55 60
[1162] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[1163] 65 70 75 80
[1164] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1165] 85 90 95
[1166] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[1167] 100 105 110
[1168] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[1169] 115 120 125

[1170] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[1171] 130 135 140
[1172] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[1173] 145 150 155 160
[1174] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[1175] 165 170 175
[1176] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[1177] 180 185 190
[1178] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[1179] 195 200 205
[1180] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[1181] 210 215 220
[1182] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[1183] 225 230 235 240
[1184] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[1185] 245 250 255
[1186] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[1187] 260 265 270
[1188] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[1189] 275 280 285
[1190] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[1191] 290 295 300
[1192] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[1193] 305 310 315 320
[1194] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[1195] 325 330 335
[1196] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[1197] 340 345 350
[1198] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[1199] 355 360 365
[1200] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[1201] 370 375 380
[1202] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[1203] 385 390 395 400
[1204] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[1205] 405 410 415
[1206] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[1207] 420 425 430
[1208] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys

[1209] 435 440 445

[1210] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys

[1211] 450 455 460

[1212] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu

[1213] 465 470 475 480

[1214] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

[1215] 485 490 495

[1216] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

[1217] 500 505 510

[1218] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

[1219] 515 520 525

[1220] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

[1221] 530 535 540

[1222] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

[1223] 545 550 555 560

[1224] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

[1225] 565 570 575

[1226] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

[1227] 580 585 590

[1228] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys

[1229] 595 600 605

[1230] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

[1231] 610 615 620

[1232] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

[1233] 625 630 635 640

[1234] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

[1235] 645 650 655

[1236] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

[1237] 660 665 670

[1238] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

[1239] 675 680 685

[1240] <210> 59

[1241] <211> 678

[1242] <212> PRT

[1243] <213> 人工序列

[1244] <220>

[1245] <223> 合成构建物

[1246] <400> 59

[1247] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[1248] 1 5 10 15

[1249] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[1250] 20 25 30

[1251] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[1252] 35 40 45

[1253] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[1254] 50 55 60

[1255] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[1256] 65 70 75 80

[1257] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[1258] 85 90 95

[1259] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln

[1260] 100 105 110

[1261] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

[1262] 115 120 125

[1263] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

[1264] 130 135 140

[1265] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[1266] 145 150 155 160

[1267] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

[1268] 165 170 175

[1269] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[1270] 180 185 190

[1271] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[1272] 195 200 205

[1273] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[1274] 210 215 220

[1275] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

[1276] 225 230 235 240

[1277] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn

[1278] 245 250 255

[1279] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

[1280] 260 265 270

[1281] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr

[1282] 275 280 285

[1283] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys

[1284] 290 295 300

[1285] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala

[1286] 305 310 315 320

[1287] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[1288] 325 330 335
[1289] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[1290] 340 345 350
[1291] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[1292] 355 360 365
[1293] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[1294] 370 375 380
[1295] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[1296] 385 390 395 400
[1297] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[1298] 405 410 415
[1299] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[1300] 420 425 430
[1301] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[1302] 435 440 445
[1303] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[1304] 450 455 460
[1305] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[1306] 465 470 475 480
[1307] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[1308] 485 490 495
[1309] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[1310] 500 505 510
[1311] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[1312] 515 520 525
[1313] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[1314] 530 535 540
[1315] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[1316] 545 550 555 560
[1317] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[1318] 565 570 575
[1319] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[1320] 580 585 590
[1321] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[1322] 595 600 605
[1323] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[1324] 610 615 620
[1325] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

[1326] 625 630 635 640
[1327] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[1328] 645 650 655
[1329] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[1330] 660 665 670
[1331] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1332] 675
[1333] <210> 60
[1334] <211> 685
[1335] <212> PRT
[1336] <213> 人工序列
[1337] <220>
[1338] <223> 合成构建物
[1339] <400> 60
[1340] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1341] 1 5 10 15
[1342] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[1343] 20 25 30
[1344] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1345] 35 40 45
[1346] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[1347] 50 55 60
[1348] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[1349] 65 70 75 80
[1350] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1351] 85 90 95
[1352] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[1353] 100 105 110
[1354] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[1355] 115 120 125
[1356] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[1357] 130 135 140
[1358] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[1359] 145 150 155 160
[1360] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[1361] 165 170 175
[1362] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[1363] 180 185 190
[1364] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[1365] 195 200 205
[1366] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[1367] 210 215 220
[1368] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[1369] 225 230 235 240
[1370] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[1371] 245 250 255
[1372] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[1373] 260 265 270
[1374] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[1375] 275 280 285
[1376] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[1377] 290 295 300
[1378] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[1379] 305 310 315 320
[1380] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[1381] 325 330 335
[1382] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[1383] 340 345 350
[1384] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[1385] 355 360 365
[1386] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[1387] 370 375 380
[1388] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[1389] 385 390 395 400
[1390] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[1391] 405 410 415
[1392] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[1393] 420 425 430
[1394] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[1395] 435 440 445
[1396] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[1397] 450 455 460
[1398] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[1399] 465 470 475 480
[1400] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[1401] 485 490 495
[1402] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[1403] 500 505 510

[1404] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[1405] 515 520 525
[1406] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[1407] 530 535 540
[1408] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[1409] 545 550 555 560
[1410] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[1411] 565 570 575
[1412] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[1413] 580 585 590
[1414] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[1415] 595 600 605
[1416] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[1417] 610 615 620
[1418] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[1419] 625 630 635 640
[1420] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[1421] 645 650 655
[1422] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[1423] 660 665 670
[1424] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1425] 675 680 685
[1426] <210> 61
[1427] <211> 678
[1428] <212> PRT
[1429] <213> 人工序列
[1430] <220>
[1431] <223> 合成构建物
[1432] <400> 61
[1433] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1434] 1 5 10 15
[1435] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[1436] 20 25 30
[1437] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1438] 35 40 45
[1439] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[1440] 50 55 60
[1441] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[1442] 65 70 75 80

[1443] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1444] 85 90 95
[1445] Ser Arg Trp Gly Gly Ala Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[1446] 100 105 110
[1447] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[1448] 115 120 125
[1449] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[1450] 130 135 140
[1451] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[1452] 145 150 155 160
[1453] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[1454] 165 170 175
[1455] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[1456] 180 185 190
[1457] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[1458] 195 200 205
[1459] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[1460] 210 215 220
[1461] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[1462] 225 230 235 240
[1463] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[1464] 245 250 255
[1465] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[1466] 260 265 270
[1467] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[1468] 275 280 285
[1469] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[1470] 290 295 300
[1471] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[1472] 305 310 315 320
[1473] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[1474] 325 330 335
[1475] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[1476] 340 345 350
[1477] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[1478] 355 360 365
[1479] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[1480] 370 375 380
[1481] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr

[1482] 385 390 395 400
[1483] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[1484] 405 410 415
[1485] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[1486] 420 425 430
[1487] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[1488] 435 440 445
[1489] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[1490] 450 455 460
[1491] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[1492] 465 470 475 480
[1493] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[1494] 485 490 495
[1495] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[1496] 500 505 510
[1497] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[1498] 515 520 525
[1499] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[1500] 530 535 540
[1501] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[1502] 545 550 555 560
[1503] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[1504] 565 570 575
[1505] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[1506] 580 585 590
[1507] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[1508] 595 600 605
[1509] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[1510] 610 615 620
[1511] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[1512] 625 630 635 640
[1513] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[1514] 645 650 655
[1515] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[1516] 660 665 670
[1517] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1518] 675
[1519] <210> 62
[1520] <211> 685

[1521] <212> PRT

[1522] <213> 人工序列

[1523] <220>

[1524] <223> 合成构建物

[1525] <400> 62

[1526] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[1527] 1 5 10 15

[1528] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[1529] 20 25 30

[1530] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[1531] 35 40 45

[1532] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[1533] 50 55 60

[1534] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[1535] 65 70 75 80

[1536] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[1537] 85 90 95

[1538] Ser Arg Trp Gly Gly Ala Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln

[1539] 100 105 110

[1540] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

[1541] 115 120 125

[1542] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

[1543] 130 135 140

[1544] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[1545] 145 150 155 160

[1546] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

[1547] 165 170 175

[1548] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[1549] 180 185 190

[1550] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[1551] 195 200 205

[1552] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[1553] 210 215 220

[1554] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

[1555] 225 230 235 240

[1556] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser

[1557] 245 250 255

[1558] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val

[1559] 260 265 270

[1560] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[1561] 275 280 285
[1562] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[1563] 290 295 300
[1564] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[1565] 305 310 315 320
[1566] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[1567] 325 330 335
[1568] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[1569] 340 345 350
[1570] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[1571] 355 360 365
[1572] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[1573] 370 375 380
[1574] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[1575] 385 390 395 400
[1576] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[1577] 405 410 415
[1578] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[1579] 420 425 430
[1580] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[1581] 435 440 445
[1582] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[1583] 450 455 460
[1584] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[1585] 465 470 475 480
[1586] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[1587] 485 490 495
[1588] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[1589] 500 505 510
[1590] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[1591] 515 520 525
[1592] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[1593] 530 535 540
[1594] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[1595] 545 550 555 560
[1596] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[1597] 565 570 575
[1598] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

[1599] 580 585 590
[1600] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[1601] 595 600 605
[1602] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[1603] 610 615 620
[1604] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[1605] 625 630 635 640
[1606] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[1607] 645 650 655
[1608] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[1609] 660 665 670
[1610] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1611] 675 680 685
[1612] <210> 63
[1613] <211> 678
[1614] <212> PRT
[1615] <213> 人工序列
[1616] <220>
[1617] <223> 合成构建物
[1618] <400> 63
[1619] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1620] 1 5 10 15
[1621] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[1622] 20 25 30
[1623] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1624] 35 40 45
[1625] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[1626] 50 55 60
[1627] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[1628] 65 70 75 80
[1629] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1630] 85 90 95
[1631] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[1632] 100 105 110
[1633] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[1634] 115 120 125
[1635] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[1636] 130 135 140
[1637] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[1638] 145 150 155 160
[1639] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[1640] 165 170 175
[1641] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[1642] 180 185 190
[1643] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[1644] 195 200 205
[1645] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[1646] 210 215 220
[1647] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[1648] 225 230 235 240
[1649] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[1650] 245 250 255
[1651] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[1652] 260 265 270
[1653] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[1654] 275 280 285
[1655] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[1656] 290 295 300
[1657] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[1658] 305 310 315 320
[1659] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[1660] 325 330 335
[1661] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[1662] 340 345 350
[1663] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[1664] 355 360 365
[1665] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[1666] 370 375 380
[1667] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[1668] 385 390 395 400
[1669] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[1670] 405 410 415
[1671] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[1672] 420 425 430
[1673] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[1674] 435 440 445
[1675] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[1676] 450 455 460

[1677] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[1678] 465 470 475 480
[1679] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[1680] 485 490 495
[1681] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[1682] 500 505 510
[1683] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[1684] 515 520 525
[1685] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[1686] 530 535 540
[1687] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[1688] 545 550 555 560
[1689] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[1690] 565 570 575
[1691] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[1692] 580 585 590
[1693] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[1694] 595 600 605
[1695] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[1696] 610 615 620
[1697] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[1698] 625 630 635 640
[1699] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[1700] 645 650 655
[1701] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[1702] 660 665 670
[1703] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1704] 675
[1705] <210> 64
[1706] <211> 685
[1707] <212> PRT
[1708] <213> 人工序列
[1709] <220>
[1710] <223> 合成构建物
[1711] <400> 64
[1712] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1713] 1 5 10 15
[1714] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[1715] 20 25 30

[1716] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1717] 35 40 45
[1718] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[1719] 50 55 60
[1720] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[1721] 65 70 75 80
[1722] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1723] 85 90 95
[1724] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[1725] 100 105 110
[1726] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[1727] 115 120 125
[1728] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[1729] 130 135 140
[1730] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[1731] 145 150 155 160
[1732] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[1733] 165 170 175
[1734] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[1735] 180 185 190
[1736] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[1737] 195 200 205
[1738] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[1739] 210 215 220
[1740] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[1741] 225 230 235 240
[1742] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[1743] 245 250 255
[1744] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[1745] 260 265 270
[1746] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[1747] 275 280 285
[1748] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[1749] 290 295 300
[1750] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[1751] 305 310 315 320
[1752] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[1753] 325 330 335
[1754] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

[1755] 340 345 350
[1756] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[1757] 355 360 365
[1758] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[1759] 370 375 380
[1760] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[1761] 385 390 395 400
[1762] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[1763] 405 410 415
[1764] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[1765] 420 425 430
[1766] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[1767] 435 440 445
[1768] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[1769] 450 455 460
[1770] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[1771] 465 470 475 480
[1772] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[1773] 485 490 495
[1774] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[1775] 500 505 510
[1776] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[1777] 515 520 525
[1778] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[1779] 530 535 540
[1780] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[1781] 545 550 555 560
[1782] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[1783] 565 570 575
[1784] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[1785] 580 585 590
[1786] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[1787] 595 600 605
[1788] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[1789] 610 615 620
[1790] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[1791] 625 630 635 640
[1792] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[1793] 645 650 655

[1794] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[1795] 660 665 670
[1796] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1797] 675 680 685
[1798] <210> 65
[1799] <211> 678
[1800] <212> PRT
[1801] <213> 人工序列
[1802] <220>
[1803] <223> 合成构建物
[1804] <400> 65
[1805] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1806] 1 5 10 15
[1807] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[1808] 20 25 30
[1809] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1810] 35 40 45
[1811] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[1812] 50 55 60
[1813] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[1814] 65 70 75 80
[1815] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1816] 85 90 95
[1817] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[1818] 100 105 110
[1819] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[1820] 115 120 125
[1821] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[1822] 130 135 140
[1823] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[1824] 145 150 155 160
[1825] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[1826] 165 170 175
[1827] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[1828] 180 185 190
[1829] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[1830] 195 200 205
[1831] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[1832] 210 215 220

[1833] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[1834] 225 230 235 240
[1835] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[1836] 245 250 255
[1837] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[1838] 260 265 270
[1839] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[1840] 275 280 285
[1841] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[1842] 290 295 300
[1843] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[1844] 305 310 315 320
[1845] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[1846] 325 330 335
[1847] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[1848] 340 345 350
[1849] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[1850] 355 360 365
[1851] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[1852] 370 375 380
[1853] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[1854] 385 390 395 400
[1855] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[1856] 405 410 415
[1857] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[1858] 420 425 430
[1859] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[1860] 435 440 445
[1861] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[1862] 450 455 460
[1863] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[1864] 465 470 475 480
[1865] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[1866] 485 490 495
[1867] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[1868] 500 505 510
[1869] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[1870] 515 520 525
[1871] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

[1872] 530 535 540
[1873] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[1874] 545 550 555 560
[1875] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[1876] 565 570 575
[1877] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[1878] 580 585 590
[1879] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[1880] 595 600 605
[1881] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[1882] 610 615 620
[1883] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[1884] 625 630 635 640
[1885] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[1886] 645 650 655
[1887] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[1888] 660 665 670
[1889] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1890] 675
[1891] <210> 66
[1892] <211> 685
[1893] <212> PRT
[1894] <213> 人工序列
[1895] <220>
[1896] <223> 合成构建物
[1897] <400> 66
[1898] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1899] 1 5 10 15
[1900] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[1901] 20 25 30
[1902] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1903] 35 40 45
[1904] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[1905] 50 55 60
[1906] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[1907] 65 70 75 80
[1908] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1909] 85 90 95
[1910] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

[1911] 100 105 110
[1912] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[1913] 115 120 125
[1914] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[1915] 130 135 140
[1916] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[1917] 145 150 155 160
[1918] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[1919] 165 170 175
[1920] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[1921] 180 185 190
[1922] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[1923] 195 200 205
[1924] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[1925] 210 215 220
[1926] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[1927] 225 230 235 240
[1928] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[1929] 245 250 255
[1930] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[1931] 260 265 270
[1932] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[1933] 275 280 285
[1934] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[1935] 290 295 300
[1936] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[1937] 305 310 315 320
[1938] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[1939] 325 330 335
[1940] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[1941] 340 345 350
[1942] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[1943] 355 360 365
[1944] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[1945] 370 375 380
[1946] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[1947] 385 390 395 400
[1948] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[1949] 405 410 415

[1950] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[1951] 420 425 430
[1952] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[1953] 435 440 445
[1954] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[1955] 450 455 460
[1956] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[1957] 465 470 475 480
[1958] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[1959] 485 490 495
[1960] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[1961] 500 505 510
[1962] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[1963] 515 520 525
[1964] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[1965] 530 535 540
[1966] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[1967] 545 550 555 560
[1968] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[1969] 565 570 575
[1970] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[1971] 580 585 590
[1972] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[1973] 595 600 605
[1974] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[1975] 610 615 620
[1976] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[1977] 625 630 635 640
[1978] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[1979] 645 650 655
[1980] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[1981] 660 665 670
[1982] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1983] 675 680 685
[1984] <210> 67
[1985] <211> 678
[1986] <212> PRT
[1987] <213> 人工序列
[1988] <220>

[1989] <223> 合成构建物

[1990] <400> 67

[1991] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[1992] 1 5 10 15

[1993] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[1994] 20 25 30

[1995] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[1996] 35 40 45

[1997] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[1998] 50 55 60

[1999] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[2000] 65 70 75 80

[2001] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[2002] 85 90 95

[2003] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

[2004] 100 105 110

[2005] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

[2006] 115 120 125

[2007] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

[2008] 130 135 140

[2009] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[2010] 145 150 155 160

[2011] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

[2012] 165 170 175

[2013] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[2014] 180 185 190

[2015] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[2016] 195 200 205

[2017] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[2018] 210 215 220

[2019] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

[2020] 225 230 235 240

[2021] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn

[2022] 245 250 255

[2023] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

[2024] 260 265 270

[2025] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr

[2026] 275 280 285

[2027] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys

[2028] 290 295 300
[2029] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[2030] 305 310 315 320
[2031] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[2032] 325 330 335
[2033] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[2034] 340 345 350
[2035] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[2036] 355 360 365
[2037] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[2038] 370 375 380
[2039] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[2040] 385 390 395 400
[2041] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[2042] 405 410 415
[2043] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[2044] 420 425 430
[2045] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[2046] 435 440 445
[2047] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[2048] 450 455 460
[2049] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[2050] 465 470 475 480
[2051] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[2052] 485 490 495
[2053] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[2054] 500 505 510
[2055] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[2056] 515 520 525
[2057] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[2058] 530 535 540
[2059] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[2060] 545 550 555 560
[2061] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[2062] 565 570 575
[2063] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[2064] 580 585 590
[2065] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[2066] 595 600 605

[2067] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[2068] 610 615 620
[2069] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[2070] 625 630 635 640
[2071] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[2072] 645 650 655
[2073] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[2074] 660 665 670
[2075] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[2076] 675
[2077] <210> 68
[2078] <211> 685
[2079] <212> PRT
[2080] <213> 人工序列
[2081] <220>
[2082] <223> 合成构建物
[2083] <400> 68
[2084] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2085] 1 5 10 15
[2086] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[2087] 20 25 30
[2088] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[2089] 35 40 45
[2090] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[2091] 50 55 60
[2092] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[2093] 65 70 75 80
[2094] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2095] 85 90 95
[2096] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[2097] 100 105 110
[2098] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[2099] 115 120 125
[2100] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[2101] 130 135 140
[2102] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[2103] 145 150 155 160
[2104] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[2105] 165 170 175

[2106] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[2107] 180 185 190
[2108] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[2109] 195 200 205
[2110] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[2111] 210 215 220
[2112] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[2113] 225 230 235 240
[2114] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[2115] 245 250 255
[2116] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[2117] 260 265 270
[2118] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[2119] 275 280 285
[2120] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[2121] 290 295 300
[2122] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[2123] 305 310 315 320
[2124] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[2125] 325 330 335
[2126] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[2127] 340 345 350
[2128] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[2129] 355 360 365
[2130] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[2131] 370 375 380
[2132] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[2133] 385 390 395 400
[2134] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[2135] 405 410 415
[2136] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[2137] 420 425 430
[2138] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[2139] 435 440 445
[2140] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[2141] 450 455 460
[2142] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[2143] 465 470 475 480
[2144] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

[2145] 485 490 495
[2146] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[2147] 500 505 510
[2148] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[2149] 515 520 525
[2150] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[2151] 530 535 540
[2152] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[2153] 545 550 555 560
[2154] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[2155] 565 570 575
[2156] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[2157] 580 585 590
[2158] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[2159] 595 600 605
[2160] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[2161] 610 615 620
[2162] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[2163] 625 630 635 640
[2164] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[2165] 645 650 655
[2166] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[2167] 660 665 670
[2168] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[2169] 675 680 685
[2170] <210> 69
[2171] <211> 678
[2172] <212> PRT
[2173] <213> 人工序列
[2174] <220>
[2175] <223> 合成构建物
[2176] <400> 69
[2177] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2178] 1 5 10 15
[2179] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[2180] 20 25 30
[2181] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[2182] 35 40 45
[2183] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[2184] 50 55 60

[2185] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[2186] 65 70 75 80

[2187] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[2188] 85 90 95

[2189] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

[2190] 100 105 110

[2191] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

[2192] 115 120 125

[2193] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

[2194] 130 135 140

[2195] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[2196] 145 150 155 160

[2197] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

[2198] 165 170 175

[2199] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[2200] 180 185 190

[2201] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[2202] 195 200 205

[2203] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[2204] 210 215 220

[2205] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

[2206] 225 230 235 240

[2207] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn

[2208] 245 250 255

[2209] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

[2210] 260 265 270

[2211] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr

[2212] 275 280 285

[2213] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys

[2214] 290 295 300

[2215] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala

[2216] 305 310 315 320

[2217] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp

[2218] 325 330 335

[2219] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

[2220] 340 345 350

[2221] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly

[2222] 355 360 365

[2223] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[2224] 370 375 380
[2225] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[2226] 385 390 395 400
[2227] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[2228] 405 410 415
[2229] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[2230] 420 425 430
[2231] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[2232] 435 440 445
[2233] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[2234] 450 455 460
[2235] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[2236] 465 470 475 480
[2237] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[2238] 485 490 495
[2239] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[2240] 500 505 510
[2241] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[2242] 515 520 525
[2243] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[2244] 530 535 540
[2245] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[2246] 545 550 555 560
[2247] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[2248] 565 570 575
[2249] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[2250] 580 585 590
[2251] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[2252] 595 600 605
[2253] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[2254] 610 615 620
[2255] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[2256] 625 630 635 640
[2257] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[2258] 645 650 655
[2259] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[2260] 660 665 670
[2261] Ser Leu Ser Pro Gly Lys

[2262] 675

[2263] <210> 70

[2264] <211> 685

[2265] <212> PRT

[2266] <213> 人工序列

[2267] <220>

[2268] <223> 合成构建物

[2269] <400> 70

[2270] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[2271] 1 5 10 15

[2272] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[2273] 20 25 30

[2274] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[2275] 35 40 45

[2276] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[2277] 50 55 60

[2278] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[2279] 65 70 75 80

[2280] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[2281] 85 90 95

[2282] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

[2283] 100 105 110

[2284] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

[2285] 115 120 125

[2286] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

[2287] 130 135 140

[2288] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[2289] 145 150 155 160

[2290] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

[2291] 165 170 175

[2292] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[2293] 180 185 190

[2294] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[2295] 195 200 205

[2296] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[2297] 210 215 220

[2298] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

[2299] 225 230 235 240

[2300] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser

[2301] 245 250 255
[2302] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[2303] 260 265 270
[2304] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[2305] 275 280 285
[2306] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[2307] 290 295 300
[2308] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[2309] 305 310 315 320
[2310] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[2311] 325 330 335
[2312] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[2313] 340 345 350
[2314] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[2315] 355 360 365
[2316] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[2317] 370 375 380
[2318] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[2319] 385 390 395 400
[2320] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[2321] 405 410 415
[2322] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[2323] 420 425 430
[2324] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[2325] 435 440 445
[2326] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[2327] 450 455 460
[2328] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[2329] 465 470 475 480
[2330] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[2331] 485 490 495
[2332] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[2333] 500 505 510
[2334] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[2335] 515 520 525
[2336] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[2337] 530 535 540
[2338] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[2339] 545 550 555 560

[2340] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[2341] 565 570 575
[2342] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[2343] 580 585 590
[2344] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[2345] 595 600 605
[2346] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[2347] 610 615 620
[2348] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[2349] 625 630 635 640
[2350] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[2351] 645 650 655
[2352] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[2353] 660 665 670
[2354] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[2355] 675 680 685
[2356] <210> 71
[2357] <211> 678
[2358] <212> PRT
[2359] <213> 人工序列
[2360] <220>
[2361] <223> 合成构建物
[2362] <400> 71
[2363] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2364] 1 5 10 15
[2365] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[2366] 20 25 30
[2367] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[2368] 35 40 45
[2369] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[2370] 50 55 60
[2371] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[2372] 65 70 75 80
[2373] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2374] 85 90 95
[2375] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[2376] 100 105 110
[2377] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[2378] 115 120 125

[2379] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[2380] 130 135 140
[2381] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[2382] 145 150 155 160
[2383] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[2384] 165 170 175
[2385] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[2386] 180 185 190
[2387] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[2388] 195 200 205
[2389] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[2390] 210 215 220
[2391] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[2392] 225 230 235 240
[2393] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[2394] 245 250 255
[2395] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[2396] 260 265 270
[2397] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[2398] 275 280 285
[2399] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[2400] 290 295 300
[2401] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[2402] 305 310 315 320
[2403] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[2404] 325 330 335
[2405] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[2406] 340 345 350
[2407] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[2408] 355 360 365
[2409] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[2410] 370 375 380
[2411] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[2412] 385 390 395 400
[2413] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[2414] 405 410 415
[2415] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[2416] 420 425 430
[2417] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro

[2418] 435 440 445
[2419] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[2420] 450 455 460
[2421] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[2422] 465 470 475 480
[2423] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[2424] 485 490 495
[2425] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[2426] 500 505 510
[2427] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[2428] 515 520 525
[2429] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[2430] 530 535 540
[2431] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[2432] 545 550 555 560
[2433] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[2434] 565 570 575
[2435] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[2436] 580 585 590
[2437] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[2438] 595 600 605
[2439] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[2440] 610 615 620
[2441] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[2442] 625 630 635 640
[2443] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[2444] 645 650 655
[2445] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[2446] 660 665 670
[2447] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[2448] 675
[2449] <210> 72
[2450] <211> 685
[2451] <212> PRT
[2452] <213> 人工序列
[2453] <220>
[2454] <223> 合成构建物
[2455] <400> 72
[2456] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[2457] 1 5 10 15
[2458] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[2459] 20 25 30
[2460] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[2461] 35 40 45
[2462] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[2463] 50 55 60
[2464] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[2465] 65 70 75 80
[2466] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2467] 85 90 95
[2468] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[2469] 100 105 110
[2470] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[2471] 115 120 125
[2472] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[2473] 130 135 140
[2474] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[2475] 145 150 155 160
[2476] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[2477] 165 170 175
[2478] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[2479] 180 185 190
[2480] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[2481] 195 200 205
[2482] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[2483] 210 215 220
[2484] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[2485] 225 230 235 240
[2486] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[2487] 245 250 255
[2488] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[2489] 260 265 270
[2490] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[2491] 275 280 285
[2492] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[2493] 290 295 300
[2494] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[2495] 305 310 315 320

[2496] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[2497] 325 330 335
[2498] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[2499] 340 345 350
[2500] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[2501] 355 360 365
[2502] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[2503] 370 375 380
[2504] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[2505] 385 390 395 400
[2506] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[2507] 405 410 415
[2508] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[2509] 420 425 430
[2510] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[2511] 435 440 445
[2512] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[2513] 450 455 460
[2514] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[2515] 465 470 475 480
[2516] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[2517] 485 490 495
[2518] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[2519] 500 505 510
[2520] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[2521] 515 520 525
[2522] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[2523] 530 535 540
[2524] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[2525] 545 550 555 560
[2526] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[2527] 565 570 575
[2528] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[2529] 580 585 590
[2530] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[2531] 595 600 605
[2532] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[2533] 610 615 620
[2534] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

[2535] 625 630 635 640
[2536] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[2537] 645 650 655
[2538] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[2539] 660 665 670
[2540] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[2541] 675 680 685
[2542] <210> 73
[2543] <211> 678
[2544] <212> PRT
[2545] <213> 人工序列
[2546] <220>
[2547] <223> 合成构建物
[2548] <400> 73
[2549] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2550] 1 5 10 15
[2551] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[2552] 20 25 30
[2553] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[2554] 35 40 45
[2555] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[2556] 50 55 60
[2557] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[2558] 65 70 75 80
[2559] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2560] 85 90 95
[2561] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[2562] 100 105 110
[2563] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[2564] 115 120 125
[2565] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[2566] 130 135 140
[2567] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[2568] 145 150 155 160
[2569] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[2570] 165 170 175
[2571] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[2572] 180 185 190
[2573] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[2574] 195 200 205
[2575] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[2576] 210 215 220
[2577] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[2578] 225 230 235 240
[2579] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[2580] 245 250 255
[2581] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[2582] 260 265 270
[2583] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[2584] 275 280 285
[2585] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[2586] 290 295 300
[2587] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[2588] 305 310 315 320
[2589] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[2590] 325 330 335
[2591] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[2592] 340 345 350
[2593] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[2594] 355 360 365
[2595] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[2596] 370 375 380
[2597] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[2598] 385 390 395 400
[2599] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[2600] 405 410 415
[2601] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[2602] 420 425 430
[2603] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[2604] 435 440 445
[2605] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[2606] 450 455 460
[2607] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[2608] 465 470 475 480
[2609] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[2610] 485 490 495
[2611] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[2612] 500 505 510

[2613] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[2614] 515 520 525
[2615] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[2616] 530 535 540
[2617] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[2618] 545 550 555 560
[2619] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[2620] 565 570 575
[2621] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[2622] 580 585 590
[2623] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[2624] 595 600 605
[2625] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[2626] 610 615 620
[2627] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[2628] 625 630 635 640
[2629] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[2630] 645 650 655
[2631] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[2632] 660 665 670
[2633] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[2634] 675
[2635] <210> 74
[2636] <211> 685
[2637] <212> PRT
[2638] <213> 人工序列
[2639] <220>
[2640] <223> 合成构建物
[2641] <400> 74
[2642] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2643] 1 5 10 15
[2644] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[2645] 20 25 30
[2646] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[2647] 35 40 45
[2648] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[2649] 50 55 60
[2650] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[2651] 65 70 75 80

[2652] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2653] 85 90 95
[2654] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[2655] 100 105 110
[2656] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[2657] 115 120 125
[2658] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[2659] 130 135 140
[2660] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[2661] 145 150 155 160
[2662] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[2663] 165 170 175
[2664] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[2665] 180 185 190
[2666] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[2667] 195 200 205
[2668] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[2669] 210 215 220
[2670] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[2671] 225 230 235 240
[2672] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[2673] 245 250 255
[2674] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[2675] 260 265 270
[2676] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[2677] 275 280 285
[2678] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[2679] 290 295 300
[2680] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[2681] 305 310 315 320
[2682] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[2683] 325 330 335
[2684] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[2685] 340 345 350
[2686] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[2687] 355 360 365
[2688] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[2689] 370 375 380
[2690] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala

[2691] 385 390 395 400
[2692] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[2693] 405 410 415
[2694] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[2695] 420 425 430
[2696] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[2697] 435 440 445
[2698] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[2699] 450 455 460
[2700] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[2701] 465 470 475 480
[2702] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[2703] 485 490 495
[2704] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[2705] 500 505 510
[2706] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[2707] 515 520 525
[2708] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[2709] 530 535 540
[2710] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[2711] 545 550 555 560
[2712] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[2713] 565 570 575
[2714] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[2715] 580 585 590
[2716] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[2717] 595 600 605
[2718] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[2719] 610 615 620
[2720] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[2721] 625 630 635 640
[2722] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[2723] 645 650 655
[2724] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[2725] 660 665 670
[2726] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[2727] 675 680 685
[2728] <210> 75
[2729] <211> 678

[2730] <212> PRT

[2731] <213> 人工序列

[2732] <220>

[2733] <223> 合成构建物

[2734] <400> 75

[2735] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[2736] 1 5 10 15

[2737] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[2738] 20 25 30

[2739] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[2740] 35 40 45

[2741] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[2742] 50 55 60

[2743] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[2744] 65 70 75 80

[2745] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[2746] 85 90 95

[2747] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

[2748] 100 105 110

[2749] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

[2750] 115 120 125

[2751] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

[2752] 130 135 140

[2753] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[2754] 145 150 155 160

[2755] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

[2756] 165 170 175

[2757] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[2758] 180 185 190

[2759] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[2760] 195 200 205

[2761] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[2762] 210 215 220

[2763] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

[2764] 225 230 235 240

[2765] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn

[2766] 245 250 255

[2767] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

[2768] 260 265 270

[2769] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[2770] 275 280 285
[2771] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[2772] 290 295 300
[2773] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[2774] 305 310 315 320
[2775] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[2776] 325 330 335
[2777] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[2778] 340 345 350
[2779] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[2780] 355 360 365
[2781] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[2782] 370 375 380
[2783] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[2784] 385 390 395 400
[2785] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[2786] 405 410 415
[2787] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[2788] 420 425 430
[2789] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[2790] 435 440 445
[2791] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[2792] 450 455 460
[2793] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[2794] 465 470 475 480
[2795] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[2796] 485 490 495
[2797] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[2798] 500 505 510
[2799] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[2800] 515 520 525
[2801] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[2802] 530 535 540
[2803] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[2804] 545 550 555 560
[2805] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[2806] 565 570 575
[2807] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

[2808] 580 585 590
[2809] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[2810] 595 600 605
[2811] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[2812] 610 615 620
[2813] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[2814] 625 630 635 640
[2815] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[2816] 645 650 655
[2817] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[2818] 660 665 670
[2819] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[2820] 675
[2821] <210> 76
[2822] <211> 685
[2823] <212> PRT
[2824] <213> 人工序列
[2825] <220>
[2826] <223> 合成构建物
[2827] <400> 76
[2828] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2829] 1 5 10 15
[2830] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[2831] 20 25 30
[2832] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[2833] 35 40 45
[2834] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[2835] 50 55 60
[2836] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[2837] 65 70 75 80
[2838] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2839] 85 90 95
[2840] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[2841] 100 105 110
[2842] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[2843] 115 120 125
[2844] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[2845] 130 135 140
[2846] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[2847] 145 150 155 160
[2848] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[2849] 165 170 175
[2850] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[2851] 180 185 190
[2852] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[2853] 195 200 205
[2854] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[2855] 210 215 220
[2856] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[2857] 225 230 235 240
[2858] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[2859] 245 250 255
[2860] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[2861] 260 265 270
[2862] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[2863] 275 280 285
[2864] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[2865] 290 295 300
[2866] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[2867] 305 310 315 320
[2868] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[2869] 325 330 335
[2870] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[2871] 340 345 350
[2872] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[2873] 355 360 365
[2874] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[2875] 370 375 380
[2876] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[2877] 385 390 395 400
[2878] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[2879] 405 410 415
[2880] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[2881] 420 425 430
[2882] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[2883] 435 440 445
[2884] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[2885] 450 455 460

[2886] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[2887] 465 470 475 480
[2888] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[2889] 485 490 495
[2890] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[2891] 500 505 510
[2892] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[2893] 515 520 525
[2894] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[2895] 530 535 540
[2896] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[2897] 545 550 555 560
[2898] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[2899] 565 570 575
[2900] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[2901] 580 585 590
[2902] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[2903] 595 600 605
[2904] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[2905] 610 615 620
[2906] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[2907] 625 630 635 640
[2908] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[2909] 645 650 655
[2910] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[2911] 660 665 670
[2912] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[2913] 675 680 685
[2914] <210> 77
[2915] <211> 678
[2916] <212> PRT
[2917] <213> 人工序列
[2918] <220>
[2919] <223> 合成构建物
[2920] <400> 77
[2921] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2922] 1 5 10 15
[2923] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[2924] 20 25 30

[2925] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[2926] 35 40 45
[2927] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[2928] 50 55 60
[2929] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[2930] 65 70 75 80
[2931] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2932] 85 90 95
[2933] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[2934] 100 105 110
[2935] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[2936] 115 120 125
[2937] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[2938] 130 135 140
[2939] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[2940] 145 150 155 160
[2941] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[2942] 165 170 175
[2943] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[2944] 180 185 190
[2945] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[2946] 195 200 205
[2947] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[2948] 210 215 220
[2949] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[2950] 225 230 235 240
[2951] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[2952] 245 250 255
[2953] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[2954] 260 265 270
[2955] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[2956] 275 280 285
[2957] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[2958] 290 295 300
[2959] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[2960] 305 310 315 320
[2961] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[2962] 325 330 335
[2963] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

[2964] 340 345 350
[2965] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[2966] 355 360 365
[2967] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[2968] 370 375 380
[2969] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[2970] 385 390 395 400
[2971] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[2972] 405 410 415
[2973] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[2974] 420 425 430
[2975] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[2976] 435 440 445
[2977] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[2978] 450 455 460
[2979] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[2980] 465 470 475 480
[2981] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[2982] 485 490 495
[2983] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[2984] 500 505 510
[2985] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[2986] 515 520 525
[2987] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[2988] 530 535 540
[2989] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[2990] 545 550 555 560
[2991] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[2992] 565 570 575
[2993] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[2994] 580 585 590
[2995] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[2996] 595 600 605
[2997] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[2998] 610 615 620
[2999] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[3000] 625 630 635 640
[3001] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[3002] 645 650 655

[3003] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[3004] 660 665 670
[3005] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[3006] 675
[3007] <210> 78
[3008] <211> 685
[3009] <212> PRT
[3010] <213> 人工序列
[3011] <220>
[3012] <223> 合成构建物
[3013] <400> 78
[3014] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[3015] 1 5 10 15
[3016] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[3017] 20 25 30
[3018] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3019] 35 40 45
[3020] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[3021] 50 55 60
[3022] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[3023] 65 70 75 80
[3024] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3025] 85 90 95
[3026] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[3027] 100 105 110
[3028] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[3029] 115 120 125
[3030] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[3031] 130 135 140
[3032] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[3033] 145 150 155 160
[3034] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[3035] 165 170 175
[3036] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[3037] 180 185 190
[3038] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[3039] 195 200 205
[3040] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[3041] 210 215 220

[3042] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[3043] 225 230 235 240
[3044] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[3045] 245 250 255
[3046] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[3047] 260 265 270
[3048] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[3049] 275 280 285
[3050] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[3051] 290 295 300
[3052] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[3053] 305 310 315 320
[3054] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[3055] 325 330 335
[3056] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[3057] 340 345 350
[3058] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[3059] 355 360 365
[3060] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[3061] 370 375 380
[3062] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[3063] 385 390 395 400
[3064] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[3065] 405 410 415
[3066] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[3067] 420 425 430
[3068] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[3069] 435 440 445
[3070] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[3071] 450 455 460
[3072] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[3073] 465 470 475 480
[3074] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[3075] 485 490 495
[3076] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[3077] 500 505 510
[3078] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[3079] 515 520 525
[3080] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

[3081] 530 535 540
[3082] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[3083] 545 550 555 560
[3084] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[3085] 565 570 575
[3086] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[3087] 580 585 590
[3088] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[3089] 595 600 605
[3090] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[3091] 610 615 620
[3092] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[3093] 625 630 635 640
[3094] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[3095] 645 650 655
[3096] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[3097] 660 665 670
[3098] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[3099] 675 680 685
[3100] <210> 79
[3101] <211> 678
[3102] <212> PRT
[3103] <213> 人工序列
[3104] <220>
[3105] <223> 合成构建物
[3106] <400> 79
[3107] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[3108] 1 5 10 15
[3109] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[3110] 20 25 30
[3111] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3112] 35 40 45
[3113] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[3114] 50 55 60
[3115] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[3116] 65 70 75 80
[3117] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3118] 85 90 95
[3119] Ser Arg Trp Gly Gly Ala Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln

[3120] 100 105 110
[3121] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[3122] 115 120 125
[3123] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[3124] 130 135 140
[3125] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[3126] 145 150 155 160
[3127] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[3128] 165 170 175
[3129] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[3130] 180 185 190
[3131] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[3132] 195 200 205
[3133] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[3134] 210 215 220
[3135] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[3136] 225 230 235 240
[3137] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[3138] 245 250 255
[3139] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[3140] 260 265 270
[3141] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[3142] 275 280 285
[3143] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[3144] 290 295 300
[3145] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[3146] 305 310 315 320
[3147] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[3148] 325 330 335
[3149] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[3150] 340 345 350
[3151] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[3152] 355 360 365
[3153] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[3154] 370 375 380
[3155] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[3156] 385 390 395 400
[3157] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[3158] 405 410 415

[3159] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[3160] 420 425 430
[3161] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[3162] 435 440 445
[3163] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[3164] 450 455 460
[3165] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[3166] 465 470 475 480
[3167] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[3168] 485 490 495
[3169] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[3170] 500 505 510
[3171] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[3172] 515 520 525
[3173] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[3174] 530 535 540
[3175] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[3176] 545 550 555 560
[3177] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[3178] 565 570 575
[3179] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[3180] 580 585 590
[3181] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[3182] 595 600 605
[3183] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[3184] 610 615 620
[3185] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[3186] 625 630 635 640
[3187] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[3188] 645 650 655
[3189] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[3190] 660 665 670
[3191] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[3192] 675
[3193] <210> 80
[3194] <211> 685
[3195] <212> PRT
[3196] <213> 人工序列
[3197] <220>

[3198] <223> 合成构建物

[3199] <400> 80

[3200] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[3201] 1 5 10 15
[3202] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[3203] 20 25 30
[3204] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3205] 35 40 45
[3206] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[3207] 50 55 60
[3208] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[3209] 65 70 75 80
[3210] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3211] 85 90 95
[3212] Ser Arg Trp Gly Gly Ala Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[3213] 100 105 110
[3214] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[3215] 115 120 125
[3216] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[3217] 130 135 140
[3218] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[3219] 145 150 155 160
[3220] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[3221] 165 170 175
[3222] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[3223] 180 185 190
[3224] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[3225] 195 200 205
[3226] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[3227] 210 215 220
[3228] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[3229] 225 230 235 240
[3230] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[3231] 245 250 255
[3232] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[3233] 260 265 270
[3234] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[3235] 275 280 285
[3236] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr

[3237] 290 295 300
[3238] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[3239] 305 310 315 320
[3240] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[3241] 325 330 335
[3242] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[3243] 340 345 350
[3244] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[3245] 355 360 365
[3246] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[3247] 370 375 380
[3248] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[3249] 385 390 395 400
[3250] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[3251] 405 410 415
[3252] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[3253] 420 425 430
[3254] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[3255] 435 440 445
[3256] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[3257] 450 455 460
[3258] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[3259] 465 470 475 480
[3260] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[3261] 485 490 495
[3262] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[3263] 500 505 510
[3264] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[3265] 515 520 525
[3266] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[3267] 530 535 540
[3268] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[3269] 545 550 555 560
[3270] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[3271] 565 570 575
[3272] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[3273] 580 585 590
[3274] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[3275] 595 600 605

[3276] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[3277] 610 615 620
[3278] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[3279] 625 630 635 640
[3280] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[3281] 645 650 655
[3282] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[3283] 660 665 670
[3284] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[3285] 675 680 685
[3286] <210> 81
[3287] <211> 678
[3288] <212> PRT
[3289] <213> 人工序列
[3290] <220>
[3291] <223> 合成构建物
[3292] <400> 81
[3293] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[3294] 1 5 10 15
[3295] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[3296] 20 25 30
[3297] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3298] 35 40 45
[3299] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[3300] 50 55 60
[3301] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[3302] 65 70 75 80
[3303] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3304] 85 90 95
[3305] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[3306] 100 105 110
[3307] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[3308] 115 120 125
[3309] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[3310] 130 135 140
[3311] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[3312] 145 150 155 160
[3313] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[3314] 165 170 175

[3315] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[3316] 180 185 190
[3317] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[3318] 195 200 205
[3319] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[3320] 210 215 220
[3321] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[3322] 225 230 235 240
[3323] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[3324] 245 250 255
[3325] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[3326] 260 265 270
[3327] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[3328] 275 280 285
[3329] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[3330] 290 295 300
[3331] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[3332] 305 310 315 320
[3333] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[3334] 325 330 335
[3335] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[3336] 340 345 350
[3337] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[3338] 355 360 365
[3339] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[3340] 370 375 380
[3341] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[3342] 385 390 395 400
[3343] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[3344] 405 410 415
[3345] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[3346] 420 425 430
[3347] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[3348] 435 440 445
[3349] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[3350] 450 455 460
[3351] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[3352] 465 470 475 480
[3353] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

[3354] 485 490 495
[3355] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[3356] 500 505 510
[3357] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[3358] 515 520 525
[3359] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[3360] 530 535 540
[3361] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[3362] 545 550 555 560
[3363] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[3364] 565 570 575
[3365] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[3366] 580 585 590
[3367] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[3368] 595 600 605
[3369] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[3370] 610 615 620
[3371] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[3372] 625 630 635 640
[3373] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[3374] 645 650 655
[3375] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[3376] 660 665 670
[3377] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[3378] 675
[3379] <210> 82
[3380] <211> 685
[3381] <212> PRT
[3382] <213> 人工序列
[3383] <220>
[3384] <223> 合成构建物
[3385] <400> 82
[3386] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[3387] 1 5 10 15
[3388] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[3389] 20 25 30
[3390] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3391] 35 40 45
[3392] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[3393] 50 55 60

[3394] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[3395] 65 70 75 80

[3396] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[3397] 85 90 95

[3398] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

[3399] 100 105 110

[3400] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

[3401] 115 120 125

[3402] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

[3403] 130 135 140

[3404] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[3405] 145 150 155 160

[3406] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

[3407] 165 170 175

[3408] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[3409] 180 185 190

[3410] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[3411] 195 200 205

[3412] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[3413] 210 215 220

[3414] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

[3415] 225 230 235 240

[3416] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser

[3417] 245 250 255

[3418] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val

[3419] 260 265 270

[3420] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro

[3421] 275 280 285

[3422] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr

[3423] 290 295 300

[3424] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser

[3425] 305 310 315 320

[3426] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly

[3427] 325 330 335

[3428] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

[3429] 340 345 350

[3430] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro

[3431] 355 360 365

[3432] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[3433] 370 375 380
[3434] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[3435] 385 390 395 400
[3436] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[3437] 405 410 415
[3438] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[3439] 420 425 430
[3440] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[3441] 435 440 445
[3442] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[3443] 450 455 460
[3444] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[3445] 465 470 475 480
[3446] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[3447] 485 490 495
[3448] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[3449] 500 505 510
[3450] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[3451] 515 520 525
[3452] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[3453] 530 535 540
[3454] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[3455] 545 550 555 560
[3456] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[3457] 565 570 575
[3458] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[3459] 580 585 590
[3460] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[3461] 595 600 605
[3462] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[3463] 610 615 620
[3464] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[3465] 625 630 635 640
[3466] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[3467] 645 650 655
[3468] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[3469] 660 665 670
[3470] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

[3471] 675 680 685

[3472] <210> 83

[3473] <211> 678

[3474] <212> PRT

[3475] <213> 人工序列

[3476] <220>

[3477] <223> 合成构建物

[3478] <400> 83

[3479] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[3480] 1 5 10 15

[3481] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[3482] 20 25 30

[3483] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[3484] 35 40 45

[3485] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[3486] 50 55 60

[3487] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[3488] 65 70 75 80

[3489] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[3490] 85 90 95

[3491] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln

[3492] 100 105 110

[3493] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

[3494] 115 120 125

[3495] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

[3496] 130 135 140

[3497] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[3498] 145 150 155 160

[3499] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

[3500] 165 170 175

[3501] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[3502] 180 185 190

[3503] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[3504] 195 200 205

[3505] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[3506] 210 215 220

[3507] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

[3508] 225 230 235 240

[3509] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn

[3510] 245 250 255

[3511] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

[3512] 260 265 270

[3513] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr

[3514] 275 280 285

[3515] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys

[3516] 290 295 300

[3517] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala

[3518] 305 310 315 320

[3519] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp

[3520] 325 330 335

[3521] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

[3522] 340 345 350

[3523] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly

[3524] 355 360 365

[3525] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro

[3526] 370 375 380

[3527] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr

[3528] 385 390 395 400

[3529] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val

[3530] 405 410 415

[3531] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn

[3532] 420 425 430

[3533] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro

[3534] 435 440 445

[3535] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

[3536] 450 455 460

[3537] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

[3538] 465 470 475 480

[3539] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

[3540] 485 490 495

[3541] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

[3542] 500 505 510

[3543] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly

[3544] 515 520 525

[3545] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

[3546] 530 535 540

[3547] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

[3548] 545 550 555 560

[3549] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[3550] 565 570 575
[3551] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[3552] 580 585 590
[3553] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[3554] 595 600 605
[3555] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[3556] 610 615 620
[3557] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[3558] 625 630 635 640
[3559] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[3560] 645 650 655
[3561] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[3562] 660 665 670
[3563] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[3564] 675
[3565] <210> 84
[3566] <211> 685
[3567] <212> PRT
[3568] <213> 人工序列
[3569] <220>
[3570] <223> 合成构建物
[3571] <400> 84
[3572] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[3573] 1 5 10 15
[3574] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[3575] 20 25 30
[3576] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3577] 35 40 45
[3578] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[3579] 50 55 60
[3580] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[3581] 65 70 75 80
[3582] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3583] 85 90 95
[3584] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[3585] 100 105 110
[3586] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[3587] 115 120 125

[3588] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[3589] 130 135 140
[3590] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[3591] 145 150 155 160
[3592] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[3593] 165 170 175
[3594] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[3595] 180 185 190
[3596] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[3597] 195 200 205
[3598] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[3599] 210 215 220
[3600] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[3601] 225 230 235 240
[3602] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[3603] 245 250 255
[3604] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[3605] 260 265 270
[3606] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[3607] 275 280 285
[3608] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[3609] 290 295 300
[3610] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[3611] 305 310 315 320
[3612] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[3613] 325 330 335
[3614] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[3615] 340 345 350
[3616] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[3617] 355 360 365
[3618] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[3619] 370 375 380
[3620] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[3621] 385 390 395 400
[3622] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[3623] 405 410 415
[3624] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[3625] 420 425 430
[3626] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys

[3627] 435 440 445

[3628] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys

[3629] 450 455 460

[3630] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu

[3631] 465 470 475 480

[3632] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

[3633] 485 490 495

[3634] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

[3635] 500 505 510

[3636] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

[3637] 515 520 525

[3638] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

[3639] 530 535 540

[3640] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

[3641] 545 550 555 560

[3642] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

[3643] 565 570 575

[3644] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

[3645] 580 585 590

[3646] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys

[3647] 595 600 605

[3648] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

[3649] 610 615 620

[3650] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

[3651] 625 630 635 640

[3652] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

[3653] 645 650 655

[3654] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

[3655] 660 665 670

[3656] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

[3657] 675 680 685

[3658] <210> 85

[3659] <211> 678

[3660] <212> PRT

[3661] <213> 人工序列

[3662] <220>

[3663] <223> 合成构建物

[3664] <400> 85

[3665] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[3666] 1 5 10 15
[3667] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[3668] 20 25 30
[3669] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3670] 35 40 45
[3671] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[3672] 50 55 60
[3673] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[3674] 65 70 75 80
[3675] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3676] 85 90 95
[3677] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[3678] 100 105 110
[3679] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[3680] 115 120 125
[3681] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[3682] 130 135 140
[3683] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[3684] 145 150 155 160
[3685] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[3686] 165 170 175
[3687] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[3688] 180 185 190
[3689] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[3690] 195 200 205
[3691] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[3692] 210 215 220
[3693] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[3694] 225 230 235 240
[3695] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[3696] 245 250 255
[3697] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[3698] 260 265 270
[3699] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[3700] 275 280 285
[3701] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[3702] 290 295 300
[3703] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[3704] 305 310 315 320

[3705] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[3706] 325 330 335
[3707] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[3708] 340 345 350
[3709] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[3710] 355 360 365
[3711] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[3712] 370 375 380
[3713] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[3714] 385 390 395 400
[3715] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[3716] 405 410 415
[3717] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[3718] 420 425 430
[3719] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[3720] 435 440 445
[3721] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[3722] 450 455 460
[3723] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[3724] 465 470 475 480
[3725] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[3726] 485 490 495
[3727] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[3728] 500 505 510
[3729] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[3730] 515 520 525
[3731] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[3732] 530 535 540
[3733] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[3734] 545 550 555 560
[3735] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[3736] 565 570 575
[3737] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[3738] 580 585 590
[3739] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[3740] 595 600 605
[3741] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[3742] 610 615 620
[3743] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

[3744] 625 630 635 640
[3745] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[3746] 645 650 655
[3747] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[3748] 660 665 670
[3749] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[3750] 675
[3751] <210> 86
[3752] <211> 685
[3753] <212> PRT
[3754] <213> 人工序列
[3755] <220>
[3756] <223> 合成构建物
[3757] <400> 86
[3758] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[3759] 1 5 10 15
[3760] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[3761] 20 25 30
[3762] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3763] 35 40 45
[3764] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[3765] 50 55 60
[3766] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[3767] 65 70 75 80
[3768] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3769] 85 90 95
[3770] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[3771] 100 105 110
[3772] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[3773] 115 120 125
[3774] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[3775] 130 135 140
[3776] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[3777] 145 150 155 160
[3778] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[3779] 165 170 175
[3780] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[3781] 180 185 190
[3782] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[3783] 195 200 205

[3784] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[3785] 210 215 220

[3786] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

[3787] 225 230 235 240

[3788] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser

[3789] 245 250 255

[3790] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val

[3791] 260 265 270

[3792] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro

[3793] 275 280 285

[3794] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr

[3795] 290 295 300

[3796] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser

[3797] 305 310 315 320

[3798] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly

[3799] 325 330 335

[3800] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

[3801] 340 345 350

[3802] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro

[3803] 355 360 365

[3804] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val

[3805] 370 375 380

[3806] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala

[3807] 385 390 395 400

[3808] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly

[3809] 405 410 415

[3810] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly

[3811] 420 425 430

[3812] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys

[3813] 435 440 445

[3814] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys

[3815] 450 455 460

[3816] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu

[3817] 465 470 475 480

[3818] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

[3819] 485 490 495

[3820] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

[3821] 500 505 510

[3822] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[3823] 515 520 525
[3824] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[3825] 530 535 540
[3826] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[3827] 545 550 555 560
[3828] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[3829] 565 570 575
[3830] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[3831] 580 585 590
[3832] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[3833] 595 600 605
[3834] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[3835] 610 615 620
[3836] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[3837] 625 630 635 640
[3838] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[3839] 645 650 655
[3840] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[3841] 660 665 670
[3842] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[3843] 675 680 685
[3844] <210> 87
[3845] <211> 678
[3846] <212> PRT
[3847] <213> 人工序列
[3848] <220>
[3849] <223> 合成构建物
[3850] <400> 87
[3851] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[3852] 1 5 10 15
[3853] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[3854] 20 25 30
[3855] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3856] 35 40 45
[3857] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[3858] 50 55 60
[3859] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[3860] 65 70 75 80

[3861] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3862] 85 90 95
[3863] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[3864] 100 105 110
[3865] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[3866] 115 120 125
[3867] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[3868] 130 135 140
[3869] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[3870] 145 150 155 160
[3871] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[3872] 165 170 175
[3873] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[3874] 180 185 190
[3875] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[3876] 195 200 205
[3877] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[3878] 210 215 220
[3879] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[3880] 225 230 235 240
[3881] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[3882] 245 250 255
[3883] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[3884] 260 265 270
[3885] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[3886] 275 280 285
[3887] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[3888] 290 295 300
[3889] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[3890] 305 310 315 320
[3891] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[3892] 325 330 335
[3893] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[3894] 340 345 350
[3895] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[3896] 355 360 365
[3897] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[3898] 370 375 380
[3899] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr

[3900] 385 390 395 400
[3901] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[3902] 405 410 415
[3903] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[3904] 420 425 430
[3905] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[3906] 435 440 445
[3907] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[3908] 450 455 460
[3909] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[3910] 465 470 475 480
[3911] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[3912] 485 490 495
[3913] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[3914] 500 505 510
[3915] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[3916] 515 520 525
[3917] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[3918] 530 535 540
[3919] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[3920] 545 550 555 560
[3921] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[3922] 565 570 575
[3923] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[3924] 580 585 590
[3925] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[3926] 595 600 605
[3927] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[3928] 610 615 620
[3929] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[3930] 625 630 635 640
[3931] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[3932] 645 650 655
[3933] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[3934] 660 665 670
[3935] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[3936] 675
[3937] <210> 88
[3938] <211> 685

[3939] <212> PRT

[3940] <213> 人工序列

[3941] <220>

[3942] <223> 合成构建物

[3943] <400> 88

[3944] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[3945] 1 5 10 15

[3946] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[3947] 20 25 30

[3948] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[3949] 35 40 45

[3950] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Glu Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[3951] 50 55 60

[3952] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[3953] 65 70 75 80

[3954] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[3955] 85 90 95

[3956] Ser Arg Trp Gly Gly Thr Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln

[3957] 100 105 110

[3958] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

[3959] 115 120 125

[3960] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

[3961] 130 135 140

[3962] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[3963] 145 150 155 160

[3964] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

[3965] 165 170 175

[3966] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[3967] 180 185 190

[3968] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[3969] 195 200 205

[3970] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[3971] 210 215 220

[3972] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

[3973] 225 230 235 240

[3974] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser

[3975] 245 250 255

[3976] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val

[3977] 260 265 270

[3978] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[3979] 275 280 285
[3980] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[3981] 290 295 300
[3982] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[3983] 305 310 315 320
[3984] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[3985] 325 330 335
[3986] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[3987] 340 345 350
[3988] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[3989] 355 360 365
[3990] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[3991] 370 375 380
[3992] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[3993] 385 390 395 400
[3994] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[3995] 405 410 415
[3996] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[3997] 420 425 430
[3998] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[3999] 435 440 445
[4000] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[4001] 450 455 460
[4002] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[4003] 465 470 475 480
[4004] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[4005] 485 490 495
[4006] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[4007] 500 505 510
[4008] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[4009] 515 520 525
[4010] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[4011] 530 535 540
[4012] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[4013] 545 550 555 560
[4014] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[4015] 565 570 575
[4016] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

[4017] 580 585 590
[4018] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[4019] 595 600 605
[4020] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[4021] 610 615 620
[4022] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[4023] 625 630 635 640
[4024] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[4025] 645 650 655
[4026] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[4027] 660 665 670
[4028] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[4029] 675 680 685
[4030] <210> 89
[4031] <211> 678
[4032] <212> PRT
[4033] <213> 人工序列
[4034] <220>
[4035] <223> 合成构建物
[4036] <400> 89
[4037] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[4038] 1 5 10 15
[4039] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[4040] 20 25 30
[4041] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4042] 35 40 45
[4043] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[4044] 50 55 60
[4045] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[4046] 65 70 75 80
[4047] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4048] 85 90 95
[4049] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[4050] 100 105 110
[4051] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[4052] 115 120 125
[4053] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[4054] 130 135 140
[4055] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[4056] 145 150 155 160
[4057] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[4058] 165 170 175
[4059] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[4060] 180 185 190
[4061] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[4062] 195 200 205
[4063] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[4064] 210 215 220
[4065] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[4066] 225 230 235 240
[4067] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[4068] 245 250 255
[4069] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[4070] 260 265 270
[4071] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[4072] 275 280 285
[4073] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[4074] 290 295 300
[4075] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[4076] 305 310 315 320
[4077] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[4078] 325 330 335
[4079] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[4080] 340 345 350
[4081] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[4082] 355 360 365
[4083] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[4084] 370 375 380
[4085] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[4086] 385 390 395 400
[4087] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[4088] 405 410 415
[4089] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[4090] 420 425 430
[4091] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[4092] 435 440 445
[4093] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[4094] 450 455 460

[4095] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[4096] 465 470 475 480
[4097] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[4098] 485 490 495
[4099] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[4100] 500 505 510
[4101] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[4102] 515 520 525
[4103] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[4104] 530 535 540
[4105] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[4106] 545 550 555 560
[4107] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[4108] 565 570 575
[4109] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[4110] 580 585 590
[4111] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[4112] 595 600 605
[4113] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[4114] 610 615 620
[4115] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[4116] 625 630 635 640
[4117] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[4118] 645 650 655
[4119] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[4120] 660 665 670
[4121] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[4122] 675
[4123] <210> 90
[4124] <211> 685
[4125] <212> PRT
[4126] <213> 人工序列
[4127] <220>
[4128] <223> 合成构建物
[4129] <400> 90
[4130] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[4131] 1 5 10 15
[4132] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[4133] 20 25 30

[4134] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4135] 35 40 45
[4136] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[4137] 50 55 60
[4138] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[4139] 65 70 75 80
[4140] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4141] 85 90 95
[4142] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[4143] 100 105 110
[4144] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[4145] 115 120 125
[4146] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[4147] 130 135 140
[4148] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[4149] 145 150 155 160
[4150] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[4151] 165 170 175
[4152] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[4153] 180 185 190
[4154] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[4155] 195 200 205
[4156] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[4157] 210 215 220
[4158] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[4159] 225 230 235 240
[4160] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[4161] 245 250 255
[4162] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[4163] 260 265 270
[4164] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[4165] 275 280 285
[4166] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[4167] 290 295 300
[4168] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[4169] 305 310 315 320
[4170] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[4171] 325 330 335
[4172] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

[4173] 340 345 350
[4174] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[4175] 355 360 365
[4176] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[4177] 370 375 380
[4178] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[4179] 385 390 395 400
[4180] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[4181] 405 410 415
[4182] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[4183] 420 425 430
[4184] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[4185] 435 440 445
[4186] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[4187] 450 455 460
[4188] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[4189] 465 470 475 480
[4190] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[4191] 485 490 495
[4192] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[4193] 500 505 510
[4194] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[4195] 515 520 525
[4196] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[4197] 530 535 540
[4198] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[4199] 545 550 555 560
[4200] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[4201] 565 570 575
[4202] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[4203] 580 585 590
[4204] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[4205] 595 600 605
[4206] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[4207] 610 615 620
[4208] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[4209] 625 630 635 640
[4210] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[4211] 645 650 655

[4212] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[4213] 660 665 670
[4214] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[4215] 675 680 685
[4216] <210> 91
[4217] <211> 678
[4218] <212> PRT
[4219] <213> 人工序列
[4220] <220>
[4221] <223> 合成构建物
[4222] <400> 91
[4223] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[4224] 1 5 10 15
[4225] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[4226] 20 25 30
[4227] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4228] 35 40 45
[4229] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[4230] 50 55 60
[4231] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[4232] 65 70 75 80
[4233] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4234] 85 90 95
[4235] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[4236] 100 105 110
[4237] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[4238] 115 120 125
[4239] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[4240] 130 135 140
[4241] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[4242] 145 150 155 160
[4243] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[4244] 165 170 175
[4245] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[4246] 180 185 190
[4247] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[4248] 195 200 205
[4249] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[4250] 210 215 220

[4251] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[4252] 225 230 235 240
[4253] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[4254] 245 250 255
[4255] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[4256] 260 265 270
[4257] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[4258] 275 280 285
[4259] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[4260] 290 295 300
[4261] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[4262] 305 310 315 320
[4263] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[4264] 325 330 335
[4265] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[4266] 340 345 350
[4267] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[4268] 355 360 365
[4269] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[4270] 370 375 380
[4271] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[4272] 385 390 395 400
[4273] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[4274] 405 410 415
[4275] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[4276] 420 425 430
[4277] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[4278] 435 440 445
[4279] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[4280] 450 455 460
[4281] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[4282] 465 470 475 480
[4283] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[4284] 485 490 495
[4285] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[4286] 500 505 510
[4287] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[4288] 515 520 525
[4289] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

[4290] 530 535 540
[4291] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[4292] 545 550 555 560
[4293] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[4294] 565 570 575
[4295] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[4296] 580 585 590
[4297] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[4298] 595 600 605
[4299] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[4300] 610 615 620
[4301] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[4302] 625 630 635 640
[4303] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[4304] 645 650 655
[4305] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[4306] 660 665 670
[4307] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[4308] 675
[4309] <210> 92
[4310] <211> 685
[4311] <212> PRT
[4312] <213> 人工序列
[4313] <220>
[4314] <223> 合成构建物
[4315] <400> 92
[4316] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[4317] 1 5 10 15
[4318] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[4319] 20 25 30
[4320] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4321] 35 40 45
[4322] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[4323] 50 55 60
[4324] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[4325] 65 70 75 80
[4326] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4327] 85 90 95
[4328] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

[4329] 100 105 110
[4330] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[4331] 115 120 125
[4332] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[4333] 130 135 140
[4334] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[4335] 145 150 155 160
[4336] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[4337] 165 170 175
[4338] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[4339] 180 185 190
[4340] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[4341] 195 200 205
[4342] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[4343] 210 215 220
[4344] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[4345] 225 230 235 240
[4346] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[4347] 245 250 255
[4348] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[4349] 260 265 270
[4350] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[4351] 275 280 285
[4352] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[4353] 290 295 300
[4354] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[4355] 305 310 315 320
[4356] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[4357] 325 330 335
[4358] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[4359] 340 345 350
[4360] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[4361] 355 360 365
[4362] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[4363] 370 375 380
[4364] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[4365] 385 390 395 400
[4366] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[4367] 405 410 415

[4368] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[4369] 420 425 430
[4370] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[4371] 435 440 445
[4372] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[4373] 450 455 460
[4374] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[4375] 465 470 475 480
[4376] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[4377] 485 490 495
[4378] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[4379] 500 505 510
[4380] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[4381] 515 520 525
[4382] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[4383] 530 535 540
[4384] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[4385] 545 550 555 560
[4386] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[4387] 565 570 575
[4388] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[4389] 580 585 590
[4390] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[4391] 595 600 605
[4392] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[4393] 610 615 620
[4394] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[4395] 625 630 635 640
[4396] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[4397] 645 650 655
[4398] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[4399] 660 665 670
[4400] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[4401] 675 680 685
[4402] <210> 93
[4403] <211> 678
[4404] <212> PRT
[4405] <213> 人工序列
[4406] <220>

[4407] <223> 合成构建物

[4408] <400> 93

[4409] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[4410] 1 5 10 15
[4411] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[4412] 20 25 30
[4413] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4414] 35 40 45
[4415] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[4416] 50 55 60
[4417] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[4418] 65 70 75 80
[4419] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4420] 85 90 95
[4421] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[4422] 100 105 110
[4423] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[4424] 115 120 125
[4425] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[4426] 130 135 140
[4427] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[4428] 145 150 155 160
[4429] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[4430] 165 170 175
[4431] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[4432] 180 185 190
[4433] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[4434] 195 200 205
[4435] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[4436] 210 215 220
[4437] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[4438] 225 230 235 240
[4439] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[4440] 245 250 255
[4441] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[4442] 260 265 270
[4443] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[4444] 275 280 285
[4445] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys

[4446] 290 295 300

[4447] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala

[4448] 305 310 315 320

[4449] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp

[4450] 325 330 335

[4451] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

[4452] 340 345 350

[4453] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly

[4454] 355 360 365

[4455] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro

[4456] 370 375 380

[4457] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr

[4458] 385 390 395 400

[4459] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val

[4460] 405 410 415

[4461] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn

[4462] 420 425 430

[4463] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro

[4464] 435 440 445

[4465] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

[4466] 450 455 460

[4467] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

[4468] 465 470 475 480

[4469] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

[4470] 485 490 495

[4471] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

[4472] 500 505 510

[4473] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly

[4474] 515 520 525

[4475] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

[4476] 530 535 540

[4477] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

[4478] 545 550 555 560

[4479] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

[4480] 565 570 575

[4481] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

[4482] 580 585 590

[4483] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

[4484] 595 600 605

[4485] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[4486] 610 615 620
[4487] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[4488] 625 630 635 640
[4489] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[4490] 645 650 655
[4491] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[4492] 660 665 670
[4493] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[4494] 675
[4495] <210> 94
[4496] <211> 685
[4497] <212> PRT
[4498] <213> 人工序列
[4499] <220>
[4500] <223> 合成构建物
[4501] <400> 94
[4502] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[4503] 1 5 10 15
[4504] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[4505] 20 25 30
[4506] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4507] 35 40 45
[4508] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[4509] 50 55 60
[4510] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[4511] 65 70 75 80
[4512] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4513] 85 90 95
[4514] Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
[4515] 100 105 110
[4516] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[4517] 115 120 125
[4518] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[4519] 130 135 140
[4520] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[4521] 145 150 155 160
[4522] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[4523] 165 170 175

[4524] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[4525] 180 185 190
[4526] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[4527] 195 200 205
[4528] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[4529] 210 215 220
[4530] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val
[4531] 225 230 235 240
[4532] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
[4533] 245 250 255
[4534] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[4535] 260 265 270
[4536] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[4537] 275 280 285
[4538] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[4539] 290 295 300
[4540] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[4541] 305 310 315 320
[4542] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[4543] 325 330 335
[4544] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[4545] 340 345 350
[4546] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[4547] 355 360 365
[4548] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[4549] 370 375 380
[4550] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[4551] 385 390 395 400
[4552] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[4553] 405 410 415
[4554] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[4555] 420 425 430
[4556] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[4557] 435 440 445
[4558] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[4559] 450 455 460
[4560] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[4561] 465 470 475 480
[4562] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

[4563] 485 490 495
[4564] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[4565] 500 505 510
[4566] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[4567] 515 520 525
[4568] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[4569] 530 535 540
[4570] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[4571] 545 550 555 560
[4572] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[4573] 565 570 575
[4574] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[4575] 580 585 590
[4576] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[4577] 595 600 605
[4578] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[4579] 610 615 620
[4580] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[4581] 625 630 635 640
[4582] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[4583] 645 650 655
[4584] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[4585] 660 665 670
[4586] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[4587] 675 680 685
[4588] <210> 95
[4589] <211> 678
[4590] <212> PRT
[4591] <213> 人工序列
[4592] <220>
[4593] <223> 合成构建物
[4594] <400> 95
[4595] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[4596] 1 5 10 15
[4597] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[4598] 20 25 30
[4599] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4600] 35 40 45
[4601] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[4602] 50 55 60
[4603] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[4604] 65 70 75 80
[4605] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4606] 85 90 95
[4607] Ser Arg Trp Gly Gly Ala Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[4608] 100 105 110
[4609] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[4610] 115 120 125
[4611] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[4612] 130 135 140
[4613] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[4614] 145 150 155 160
[4615] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[4616] 165 170 175
[4617] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[4618] 180 185 190
[4619] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[4620] 195 200 205
[4621] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[4622] 210 215 220
[4623] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[4624] 225 230 235 240
[4625] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[4626] 245 250 255
[4627] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[4628] 260 265 270
[4629] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[4630] 275 280 285
[4631] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[4632] 290 295 300
[4633] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[4634] 305 310 315 320
[4635] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[4636] 325 330 335
[4637] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[4638] 340 345 350
[4639] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[4640] 355 360 365

[4641] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[4642] 370 375 380
[4643] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[4644] 385 390 395 400
[4645] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[4646] 405 410 415
[4647] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[4648] 420 425 430
[4649] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[4650] 435 440 445
[4651] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[4652] 450 455 460
[4653] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[4654] 465 470 475 480
[4655] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[4656] 485 490 495
[4657] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[4658] 500 505 510
[4659] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly
[4660] 515 520 525
[4661] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[4662] 530 535 540
[4663] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[4664] 545 550 555 560
[4665] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[4666] 565 570 575
[4667] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[4668] 580 585 590
[4669] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[4670] 595 600 605
[4671] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[4672] 610 615 620
[4673] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[4674] 625 630 635 640
[4675] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[4676] 645 650 655
[4677] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[4678] 660 665 670
[4679] Ser Leu Ser Pro Gly Lys

[4680] 675

[4681] <210> 96

[4682] <211> 685

[4683] <212> PRT

[4684] <213> 人工序列

[4685] <220>

[4686] <223> 合成构建物

[4687] <400> 96

[4688] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[4689] 1 5 10 15

[4690] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[4691] 20 25 30

[4692] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[4693] 35 40 45

[4694] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[4695] 50 55 60

[4696] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[4697] 65 70 75 80

[4698] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[4699] 85 90 95

[4700] Ser Arg Trp Gly Gly Ala Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln

[4701] 100 105 110

[4702] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

[4703] 115 120 125

[4704] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

[4705] 130 135 140

[4706] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[4707] 145 150 155 160

[4708] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

[4709] 165 170 175

[4710] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[4711] 180 185 190

[4712] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[4713] 195 200 205

[4714] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[4715] 210 215 220

[4716] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

[4717] 225 230 235 240

[4718] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser

[4719] 245 250 255
[4720] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val
[4721] 260 265 270
[4722] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro
[4723] 275 280 285
[4724] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
[4725] 290 295 300
[4726] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
[4727] 305 310 315 320
[4728] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[4729] 325 330 335
[4730] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[4731] 340 345 350
[4732] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[4733] 355 360 365
[4734] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[4735] 370 375 380
[4736] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[4737] 385 390 395 400
[4738] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[4739] 405 410 415
[4740] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[4741] 420 425 430
[4742] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[4743] 435 440 445
[4744] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[4745] 450 455 460
[4746] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[4747] 465 470 475 480
[4748] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[4749] 485 490 495
[4750] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[4751] 500 505 510
[4752] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[4753] 515 520 525
[4754] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[4755] 530 535 540
[4756] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[4757] 545 550 555 560

[4758] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[4759] 565 570 575
[4760] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[4761] 580 585 590
[4762] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[4763] 595 600 605
[4764] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[4765] 610 615 620
[4766] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
[4767] 625 630 635 640
[4768] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
[4769] 645 650 655
[4770] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
[4771] 660 665 670
[4772] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[4773] 675 680 685
[4774] <210> 97
[4775] <211> 678
[4776] <212> PRT
[4777] <213> 人工序列
[4778] <220>
[4779] <223> 合成构建物
[4780] <400> 97
[4781] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[4782] 1 5 10 15
[4783] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[4784] 20 25 30
[4785] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4786] 35 40 45
[4787] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
[4788] 50 55 60
[4789] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[4790] 65 70 75 80
[4791] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4792] 85 90 95
[4793] Ser Arg Trp Gly Gly Ala Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
[4794] 100 105 110
[4795] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[4796] 115 120 125

[4797] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
[4798] 130 135 140
[4799] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
[4800] 145 150 155 160
[4801] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
[4802] 165 170 175
[4803] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
[4804] 180 185 190
[4805] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
[4806] 195 200 205
[4807] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
[4808] 210 215 220
[4809] Lys Thr His Thr Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[4810] 225 230 235 240
[4811] Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn
[4812] 245 250 255
[4813] Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
[4814] 260 265 270
[4815] Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr
[4816] 275 280 285
[4817] Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
[4818] 290 295 300
[4819] Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[4820] 305 310 315 320
[4821] Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
[4822] 325 330 335
[4823] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
[4824] 340 345 350
[4825] Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[4826] 355 360 365
[4827] Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[4828] 370 375 380
[4829] Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[4830] 385 390 395 400
[4831] Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[4832] 405 410 415
[4833] Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[4834] 420 425 430
[4835] Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro

[4836] 435 440 445

[4837] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

[4838] 450 455 460

[4839] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

[4840] 465 470 475 480

[4841] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

[4842] 485 490 495

[4843] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

[4844] 500 505 510

[4845] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly

[4846] 515 520 525

[4847] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

[4848] 530 535 540

[4849] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

[4850] 545 550 555 560

[4851] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

[4852] 565 570 575

[4853] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

[4854] 580 585 590

[4855] Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

[4856] 595 600 605

[4857] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

[4858] 610 615 620

[4859] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

[4860] 625 630 635 640

[4861] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

[4862] 645 650 655

[4863] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

[4864] 660 665 670

[4865] Ser Leu Ser Pro Gly Lys

[4866] 675

[4867] <210> 98

[4868] <211> 685

[4869] <212> PRT

[4870] <213> 人工序列

[4871] <220>

[4872] <223> 合成构建物

[4873] <400> 98

[4874] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[4875] 1 5 10 15

[4876] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

[4877] 20 25 30

[4878] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[4879] 35 40 45

[4880] Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[4881] 50 55 60

[4882] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

[4883] 65 70 75 80

[4884] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[4885] 85 90 95

[4886] Ser Arg Trp Gly Gly Ala Gly Ala Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln

[4887] 100 105 110

[4888] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

[4889] 115 120 125

[4890] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

[4891] 130 135 140

[4892] Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

[4893] 145 150 155 160

[4894] Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

[4895] 165 170 175

[4896] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

[4897] 180 185 190

[4898] Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

[4899] 195 200 205

[4900] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

[4901] 210 215 220

[4902] Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val

[4903] 225 230 235 240

[4904] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser

[4905] 245 250 255

[4906] Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val

[4907] 260 265 270

[4908] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro

[4909] 275 280 285

[4910] Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr

[4911] 290 295 300

[4912] Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser

[4913] 305 310 315 320

[4914] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly
[4915] 325 330 335
[4916] Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[4917] 340 345 350
[4918] Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
[4919] 355 360 365
[4920] Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
[4921] 370 375 380
[4922] Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
[4923] 385 390 395 400
[4924] Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
[4925] 405 410 415
[4926] Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
[4927] 420 425 430
[4928] Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
[4929] 435 440 445
[4930] Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
[4931] 450 455 460
[4932] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
[4933] 465 470 475 480
[4934] Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
[4935] 485 490 495
[4936] Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
[4937] 500 505 510
[4938] Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
[4939] 515 520 525
[4940] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
[4941] 530 535 540
[4942] Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
[4943] 545 550 555 560
[4944] Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
[4945] 565 570 575
[4946] Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
[4947] 580 585 590
[4948] Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
[4949] 595 600 605
[4950] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[4951] 610 615 620
[4952] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

[4953] 625 630 635 640

[4954] Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

[4955] 645 650 655

[4956] Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

[4957] 660 665 670

[4958] His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

[4959] 675 680 685

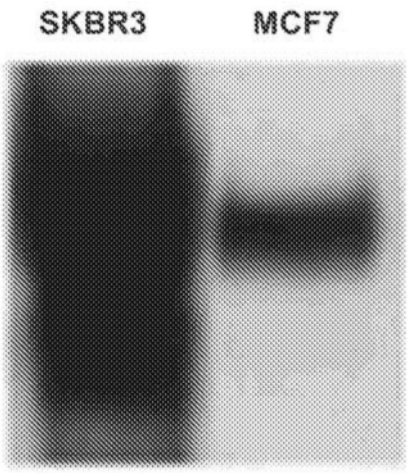

SKBR3
MCF7

图1

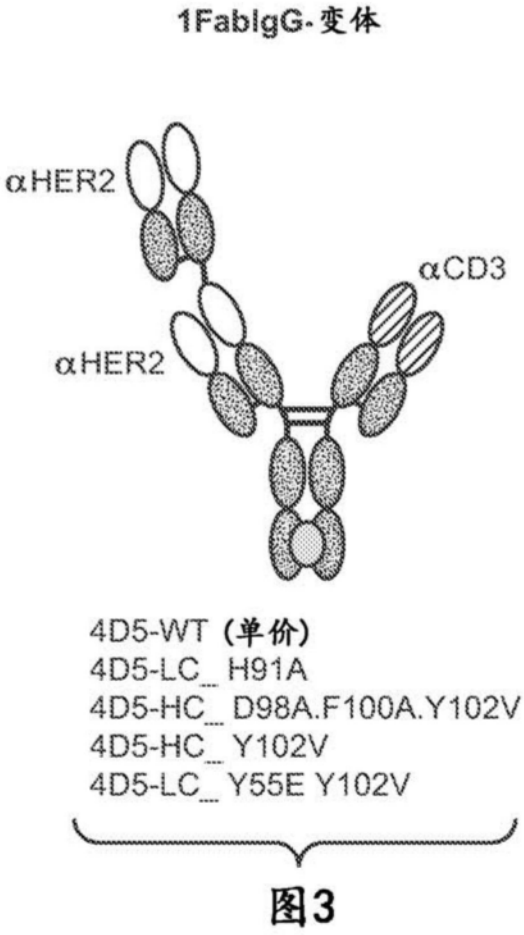

1FabIgG-变体
αHER2
αCD3
αHER2
4D5-WT (单价)
4D5-LC_ H91A
4D5-HC_ D98A.F100A.Y102V
4D5-HC_ Y102V
4D5-LC_ Y55E Y102V
图3

图3

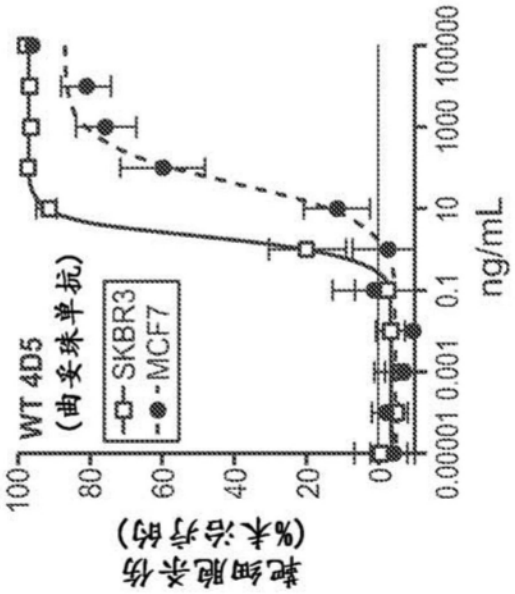

WT 4D5
(曲妥珠单抗)
SKBR3
MCF7
靶细胞杀伤
(%未治疗的)
ng/mL
0.00001
0.001
0.1
10
1000
100000
0
20
40
60
80
100

图2A

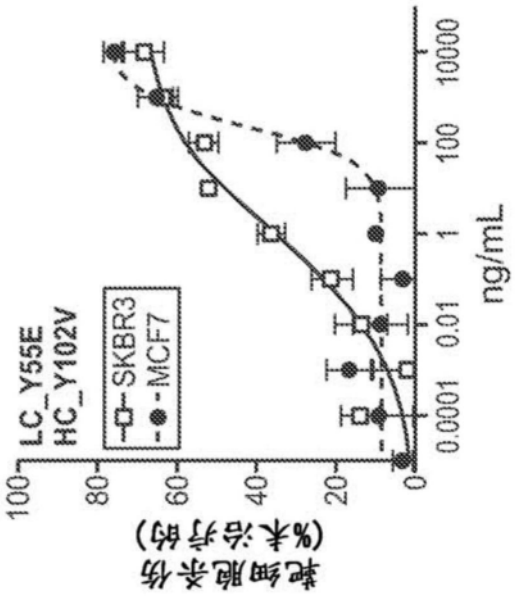

LC_Y55E
HC_Y102V
SKBR3
MCF7
靶细胞杀伤
(%未治疗的)
ng/mL
0.0001
0.01
1
100
10000
0
20
40
60
80
100

图2B

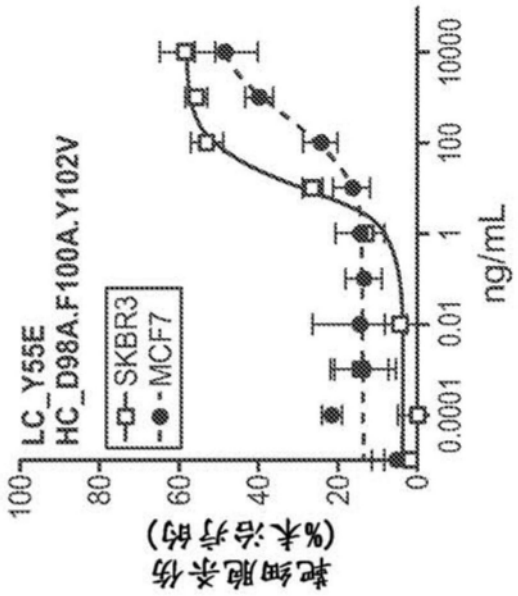

LC_Y55E
HC_D98A.F100A.Y102V
SKBR3
MCF7
靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.01
1
100
10000
ng/mL

图2C

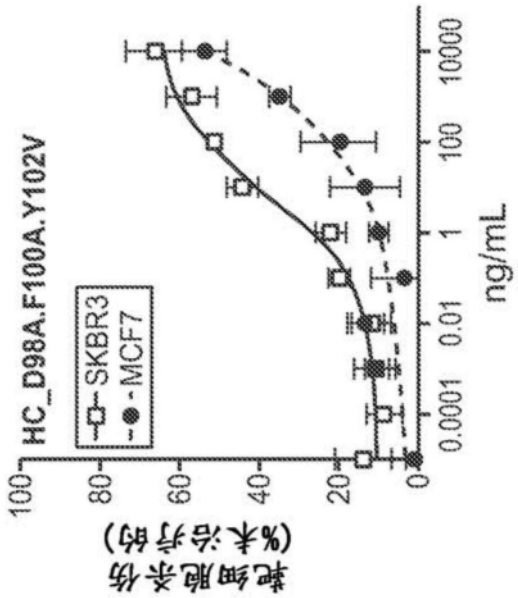

HC_D98A.F100A.Y102V
SKBR3
MCF7
靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.01
1
100
10000
ng/mL

图2D

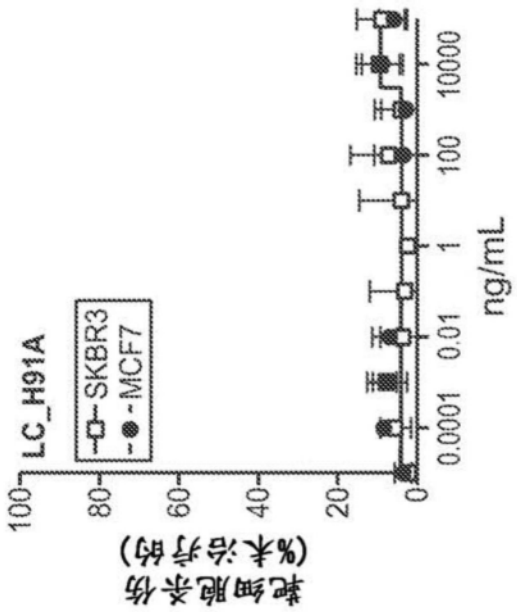

LC_H91A
SKBR3
MCF7
靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.01
1
100
10000
ng/mL

图2E

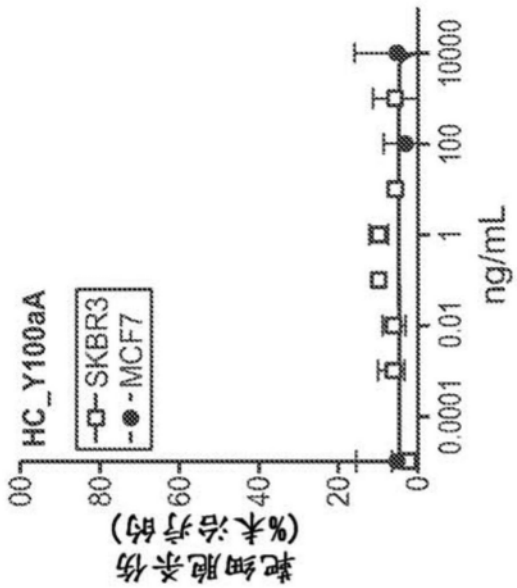

HC_Y100aA
SKBR3
MCF7
靶细胞杀伤
(%未治疗的)
00
80
60
40
20
0
0.0001
0.01
1
100
10000
ng/mL

图2F

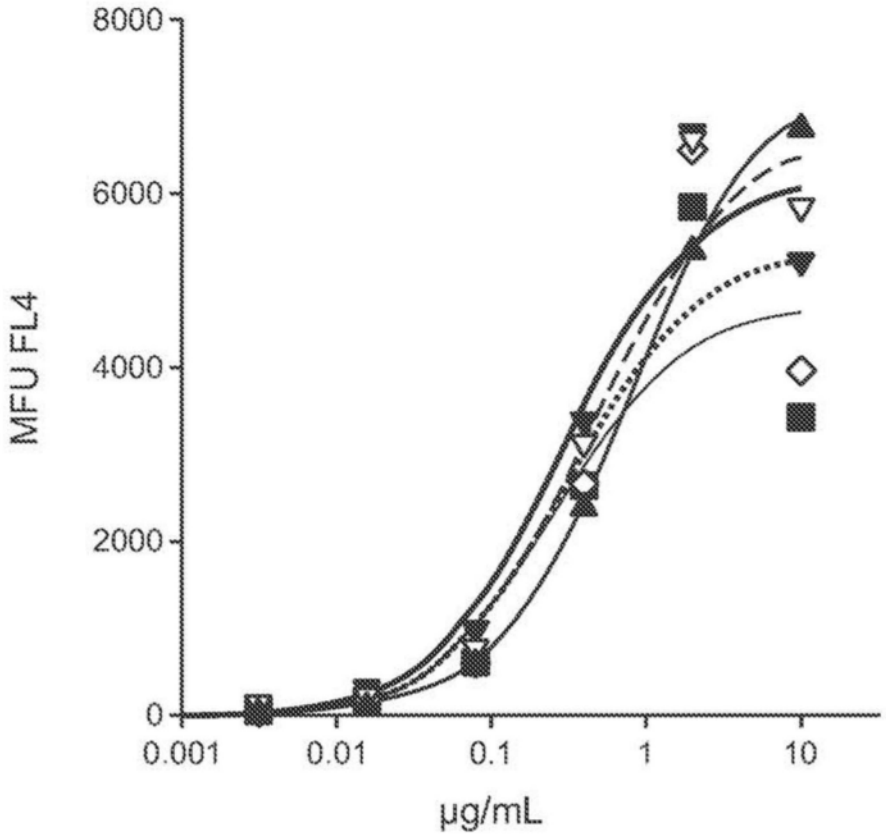


图4A

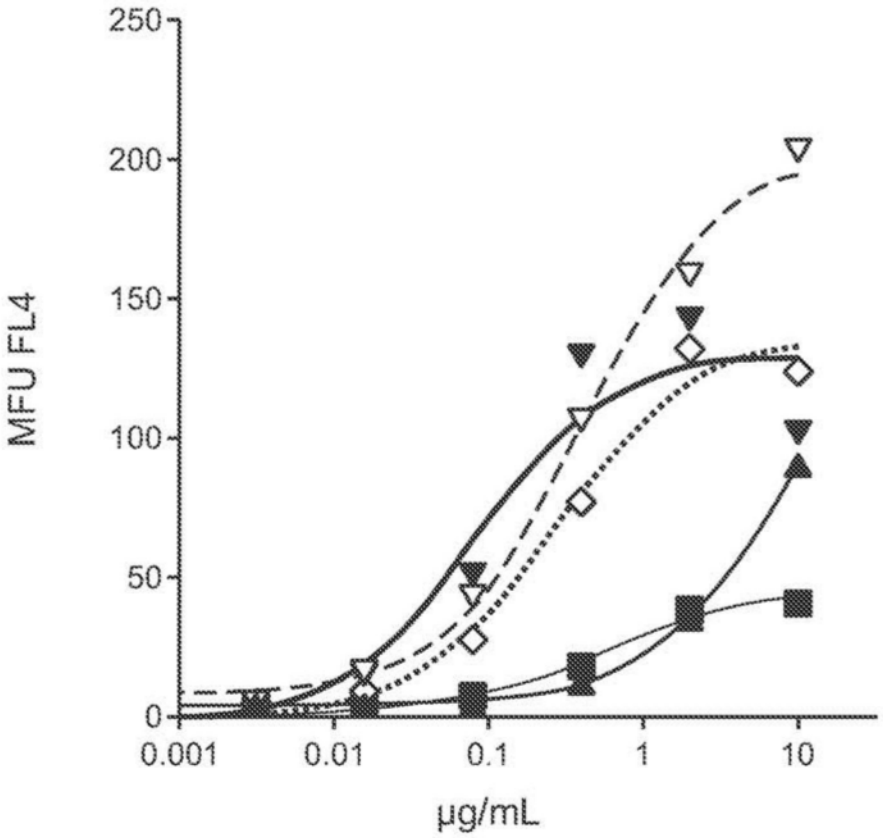


图4B

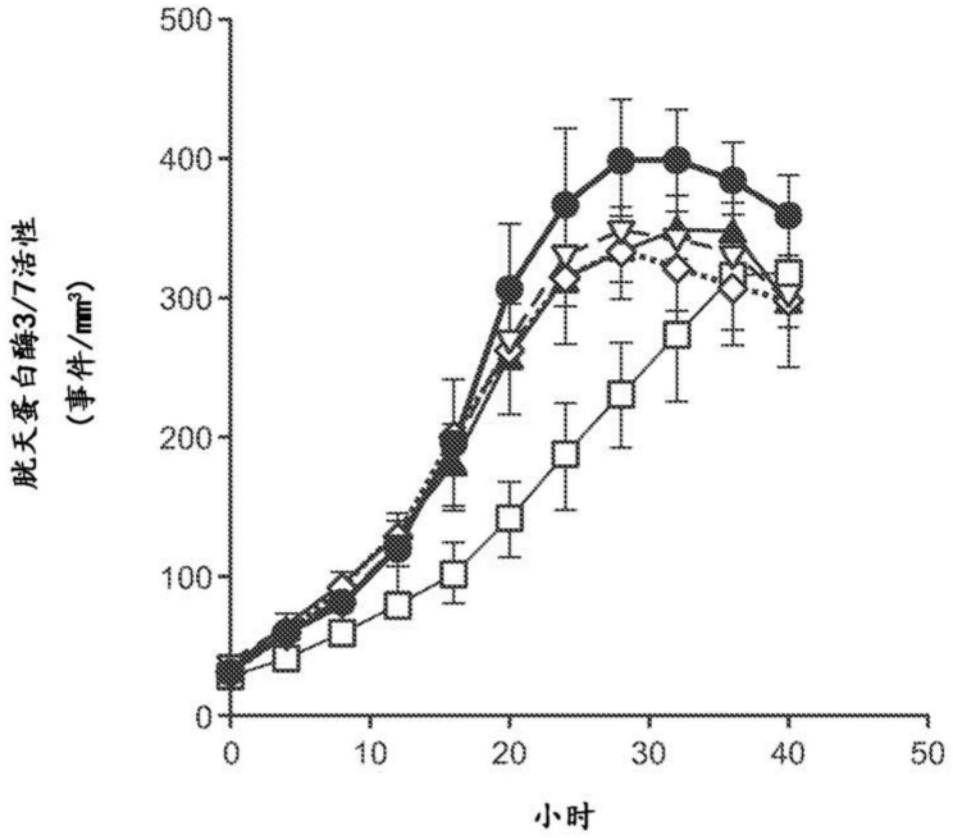


图5A

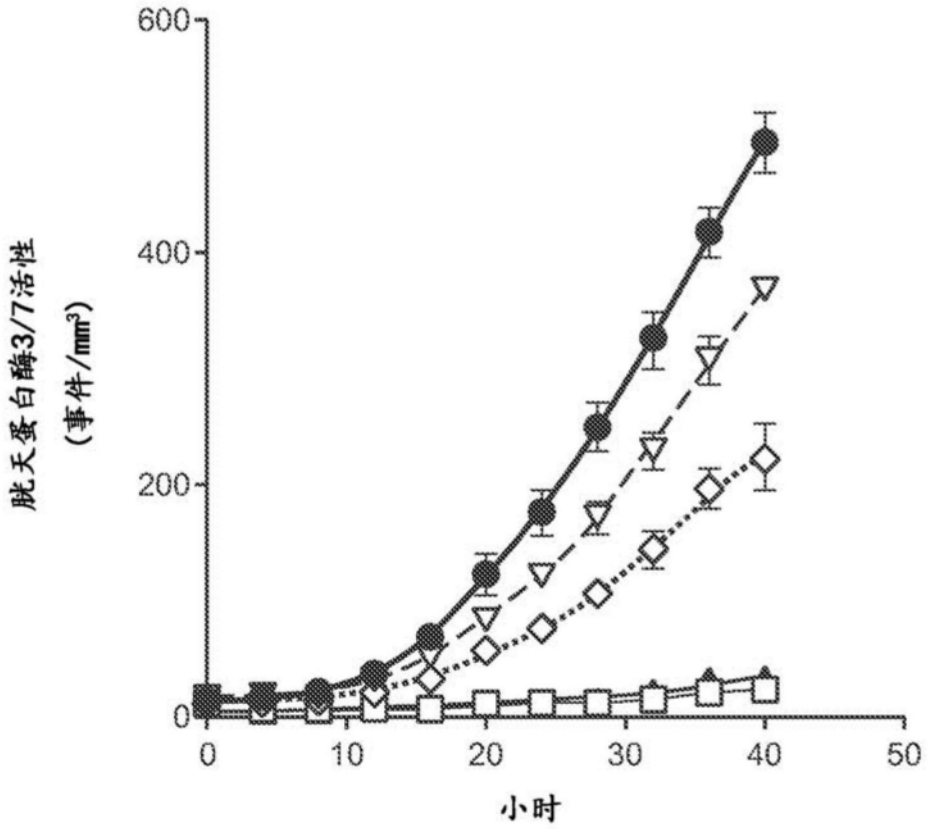

600
400
200
0
0
10
20
30
40
50
小时
胱天蛋白酶3/7活性
(事件/mm³)

图5B

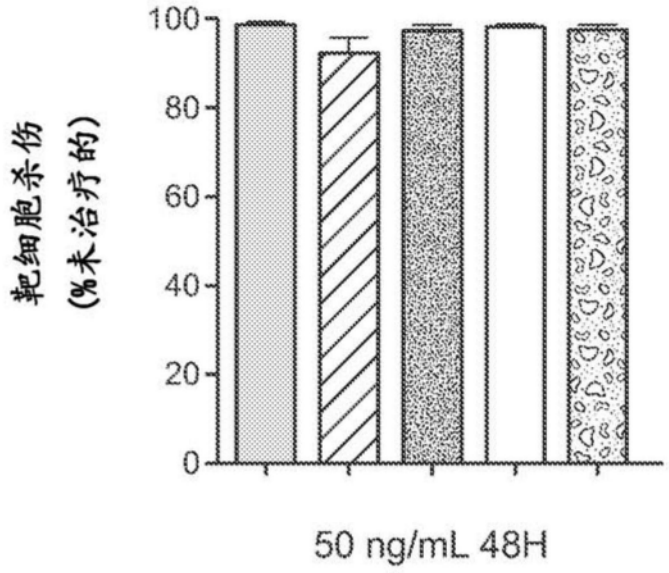

100
80
60
40
20
0
靶细胞杀伤
(%未治疗的)
50 ng/mL 48H

图6A

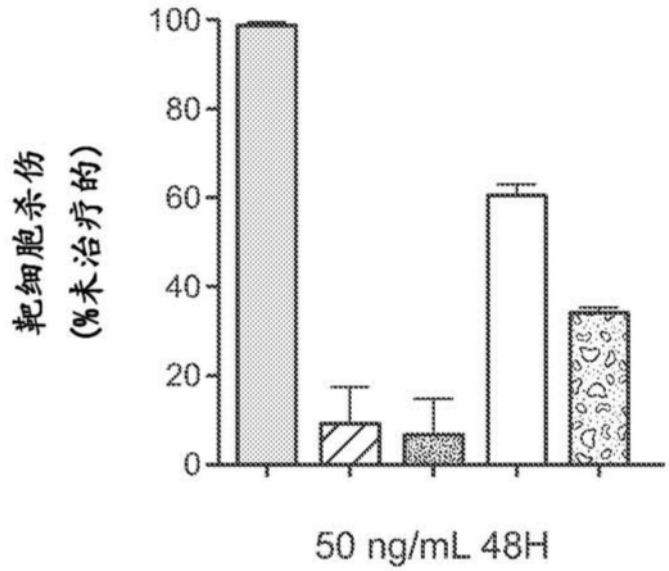

靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
50 ng/mL 48H

图6B

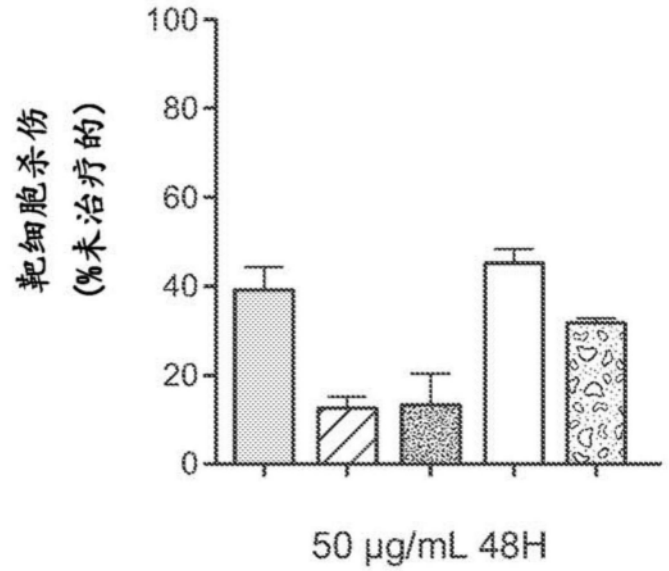

靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
50 μg/mL 48H

图6C

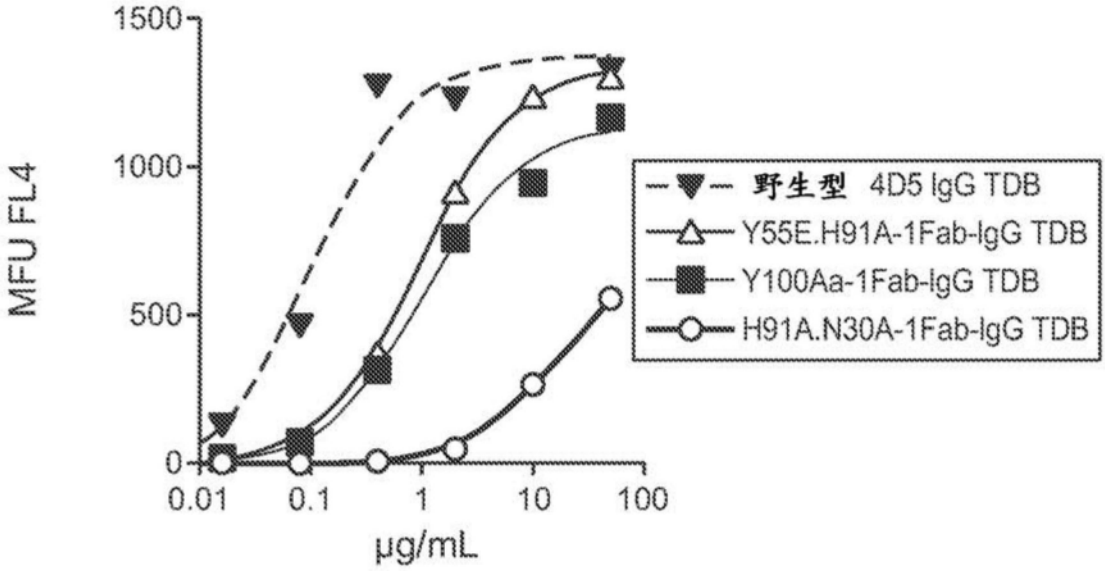

1500
1000
500
0
MFU FL4
0.01
0.1
1
10
100
µg/mL
野生型 4D5 IgG TDB
Y55E.H91A-1Fab-IgG TDB
Y100Aa-1Fab-IgG TDB
H91A.N30A-1Fab-IgG TDB

图7A

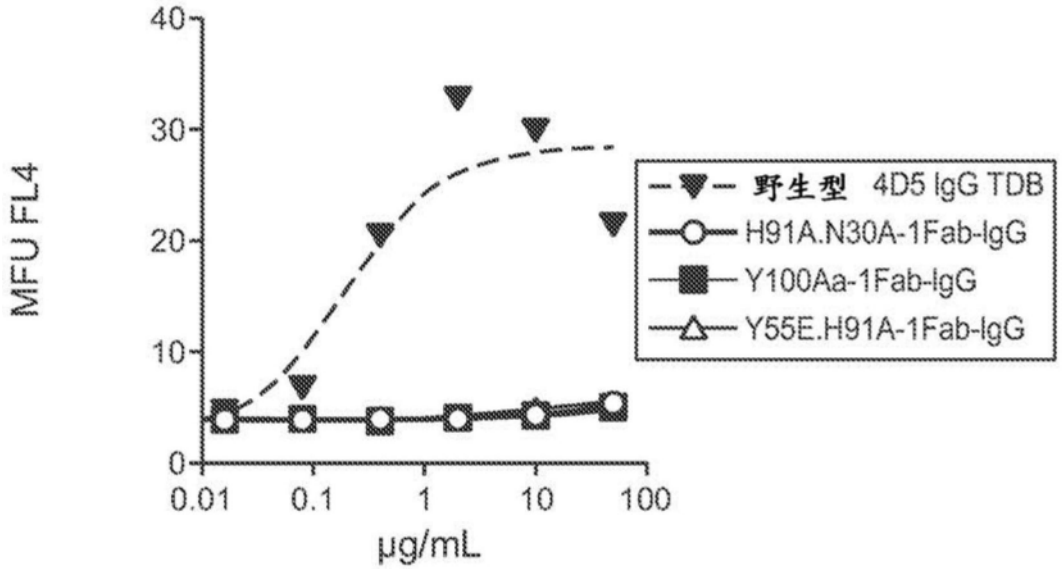

40
30
20
10
0
MFU FL4
0.01
0.1
1
10
100
µg/mL
野生型 4D5 IgG TDB
H91A.N30A-1Fab-IgG
Y100Aa-1Fab-IgG
Y55E.H91A-1Fab-IgG

图7B

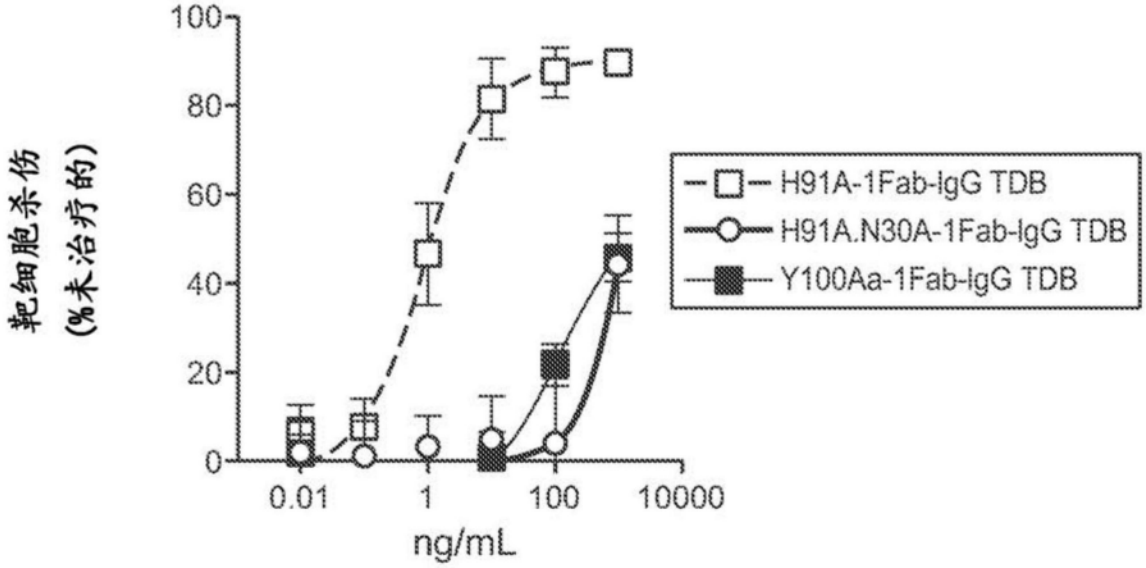

靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
0.01
1
100
10000
ng/mL
H91A-1Fab-IgG TDB
H91A.N30A-1Fab-IgG TDB
Y100Aa-1Fab-IgG TDB

图8

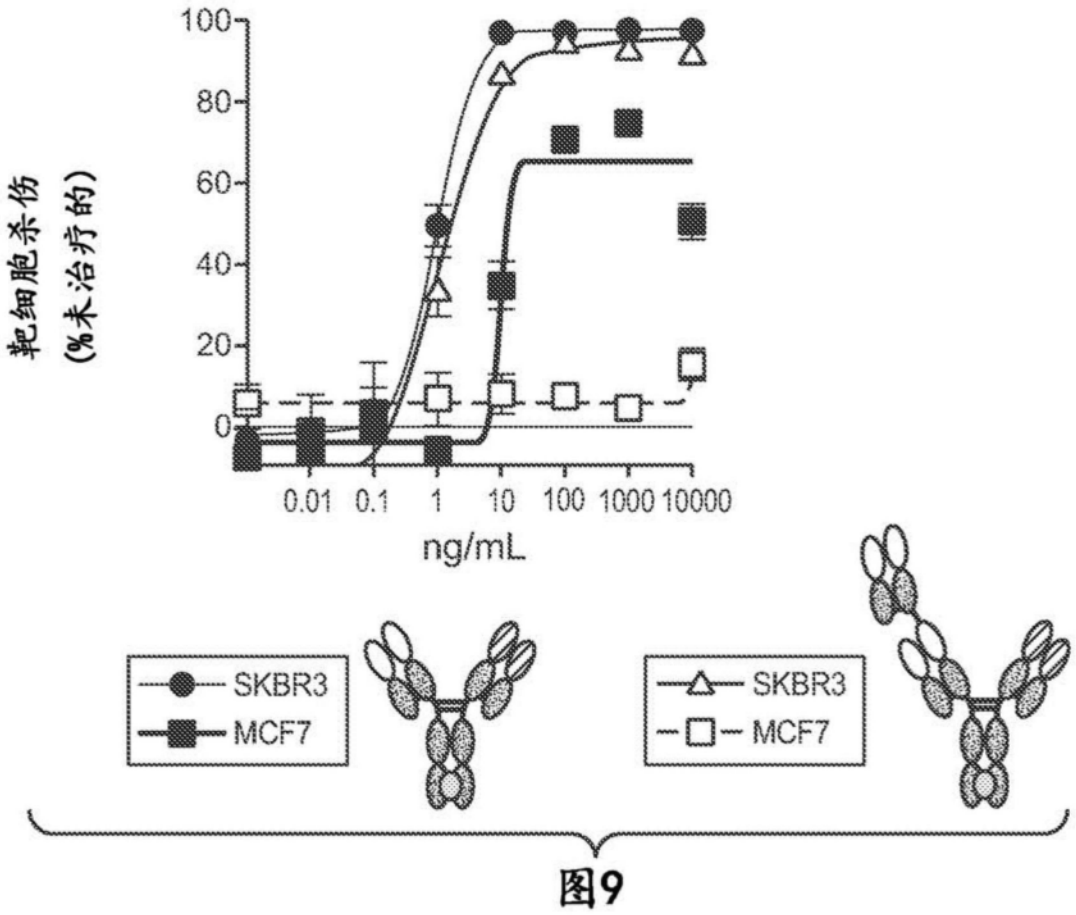

靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
ng/mL
SKBR3
MCF7
SKBR3
MCF7
图9

图9

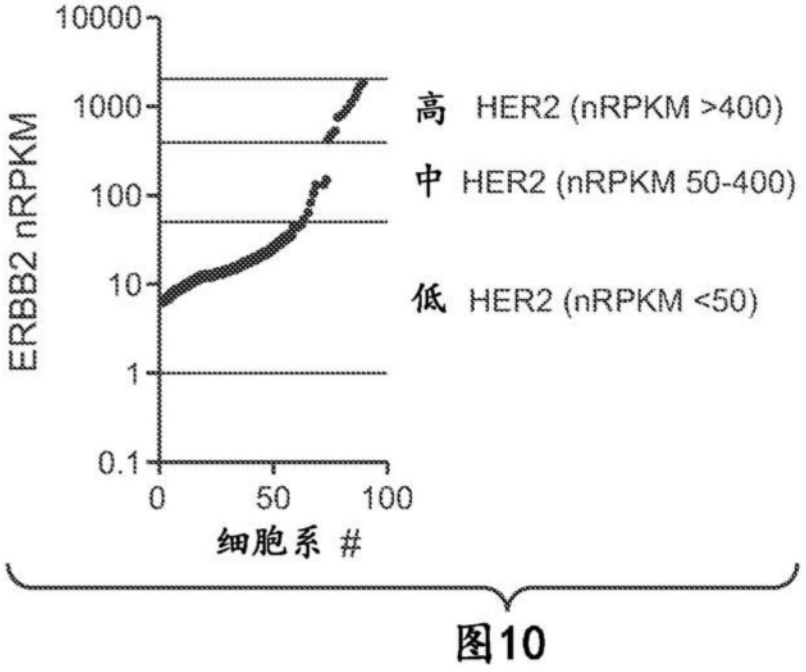

10000
1000
100
10
1
0.1
ERBB2 nRPKM
0
50
100
细胞系 #
高 HER2 (nRPKM >400)
中 HER2 (nRPKM 50-400)
低 HER2 (nRPKM <50)

图10

图10

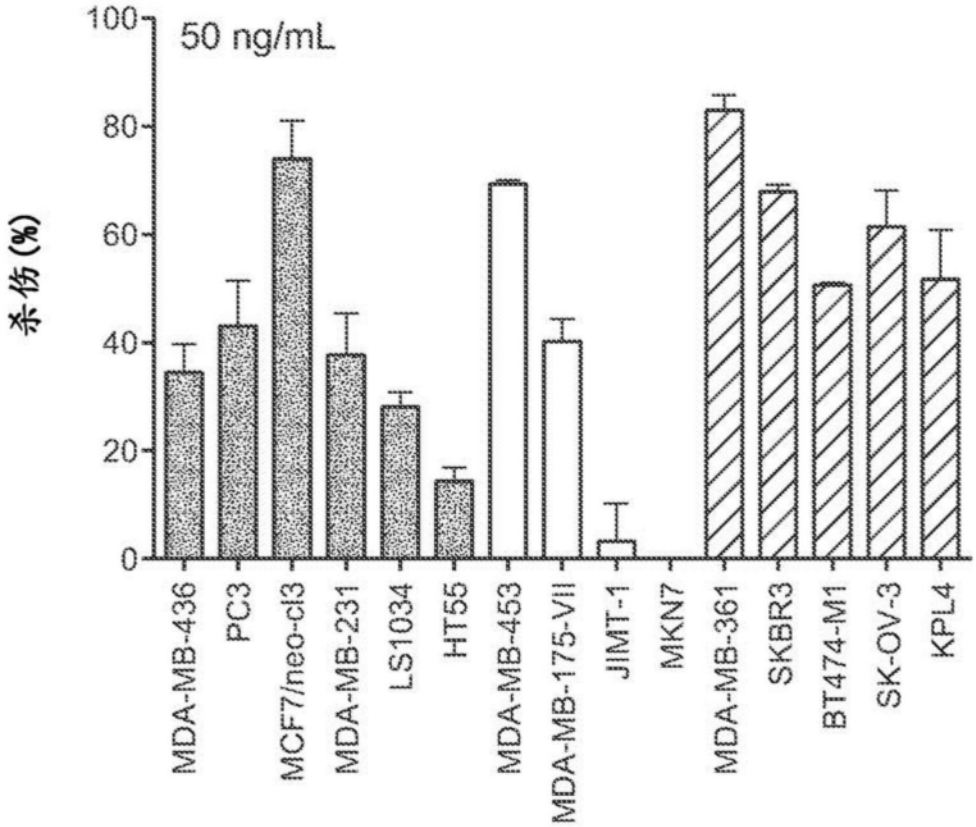

50 ng/mL
杀伤(%)
100
80
60
40
20
0
MDA-MB-436
PC3
MCF7/neo-cl3
MDA-MB-231
LS1034
HT55
MDA-MB-453
MDA-MB-175-VII
JIMT-1
MKN7
MDA-MB-361
SKBR3
BT474-M1
SK-OV-3
KPL4

图11A

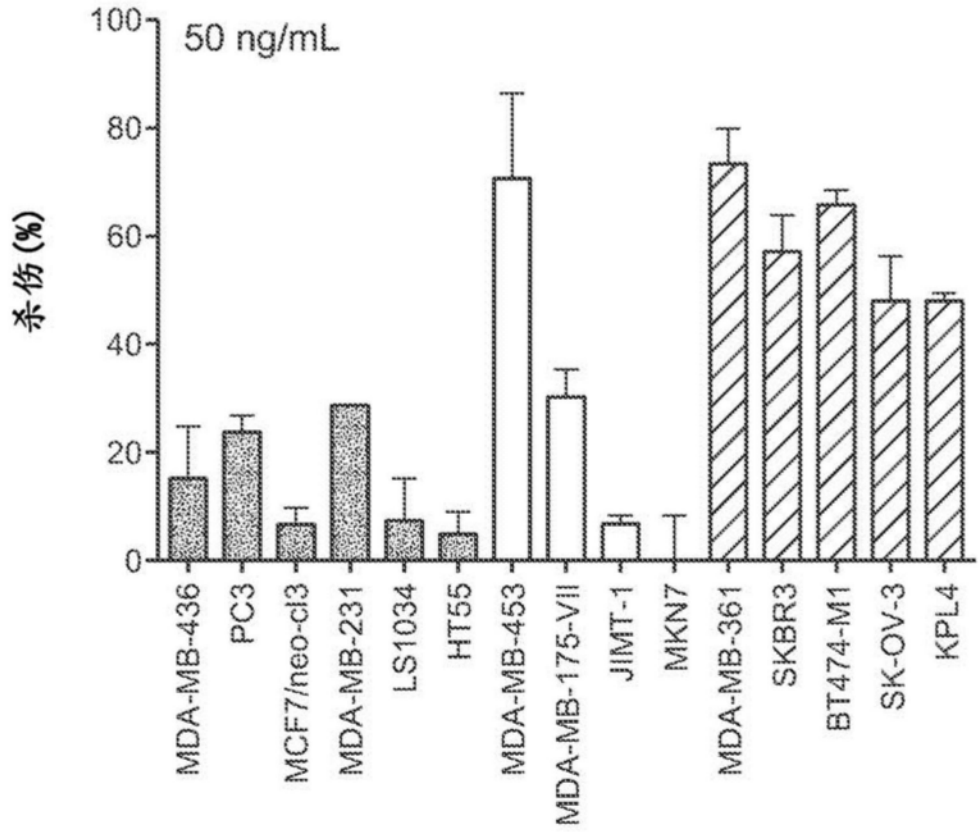

50 ng/mL
杀伤(%)
100
80
60
40
20
0
MDA-MB-436
PC3
MCF7/neo-cl3
MDA-MB-231
LS1034
HT55
MDA-MB-453
MDA-MB-175-VII
JIMT-1
MKN7
MDA-MB-361
SKBR3
BT474-M1
SK-OV-3
KPL4

图11B

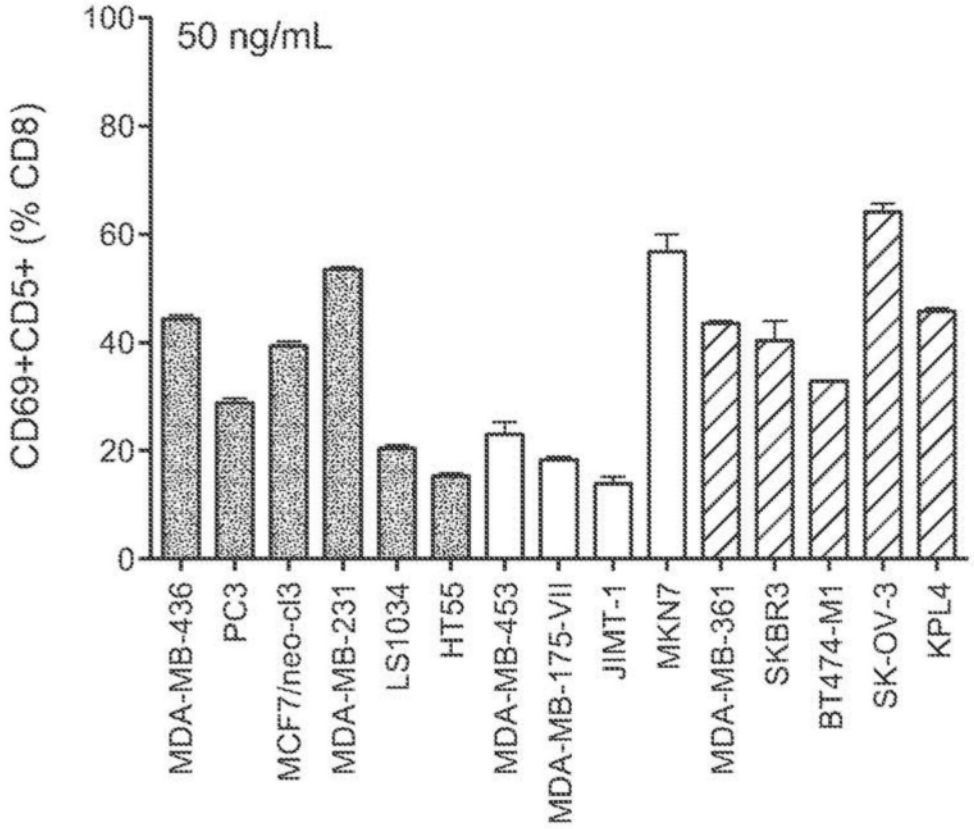


图11C

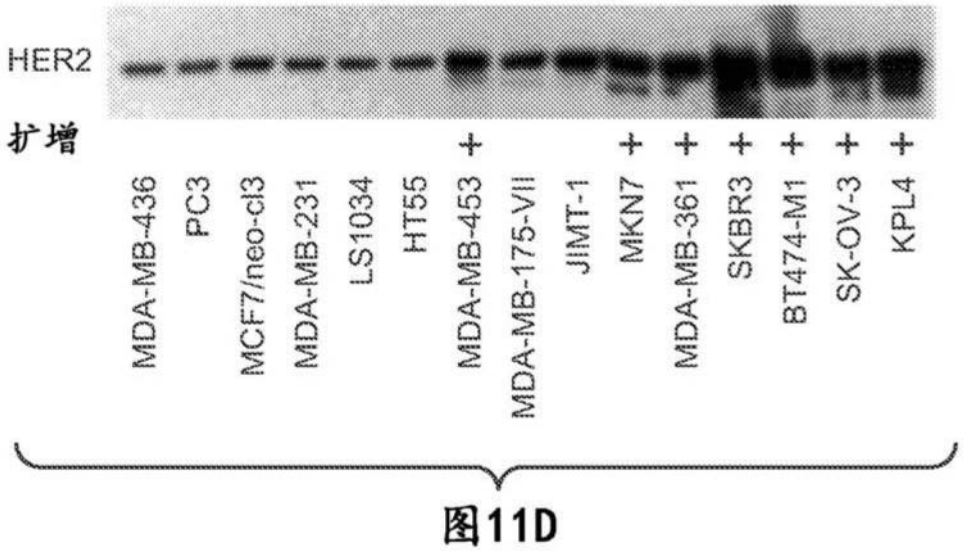


图11D

图11D

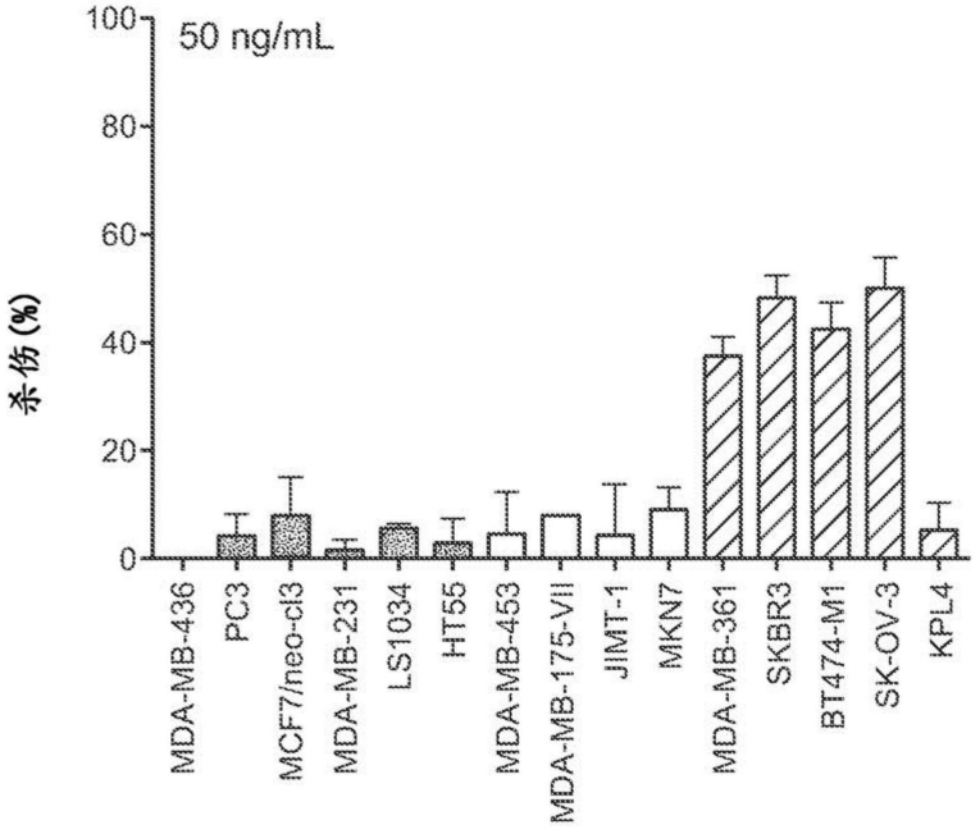

50 ng/mL
杀伤(%)
100
80
60
40
20
0
MDA-MB-436
PC3
MCF7/neo-cl3
MDA-MB-231
LS1034
HT55
MDA-MB-453
MDA-MB-175-VII
JIMT-1
MKN7
MDA-MB-361
SKBR3
BT474-M1
SK-OV-3
KPL4

图12A

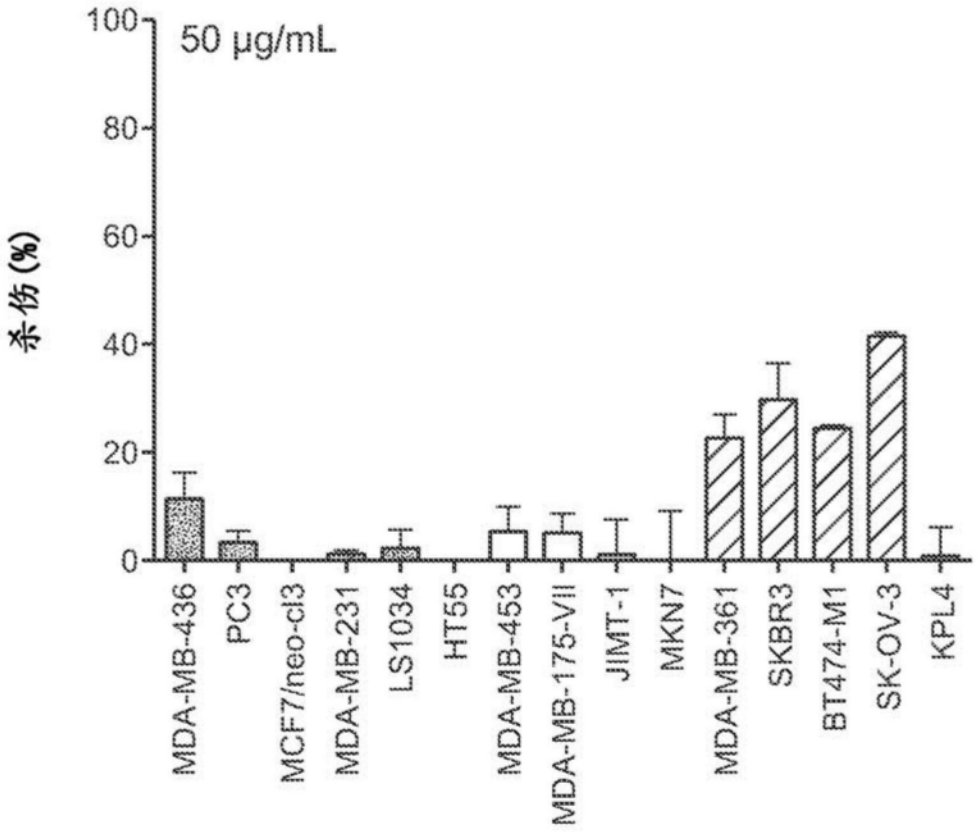

50 μg/mL
杀伤(%)
100
80
60
40
20
0
MDA-MB-436
PC3
MCF7/neo-cl3
MDA-MB-231
LS1034
HT55
MDA-MB-453
MDA-MB-175-VII
JIMT-1
MKN7
MDA-MB-361
SKBR3
BT474-M1
SK-OV-3
KPL4

图12B

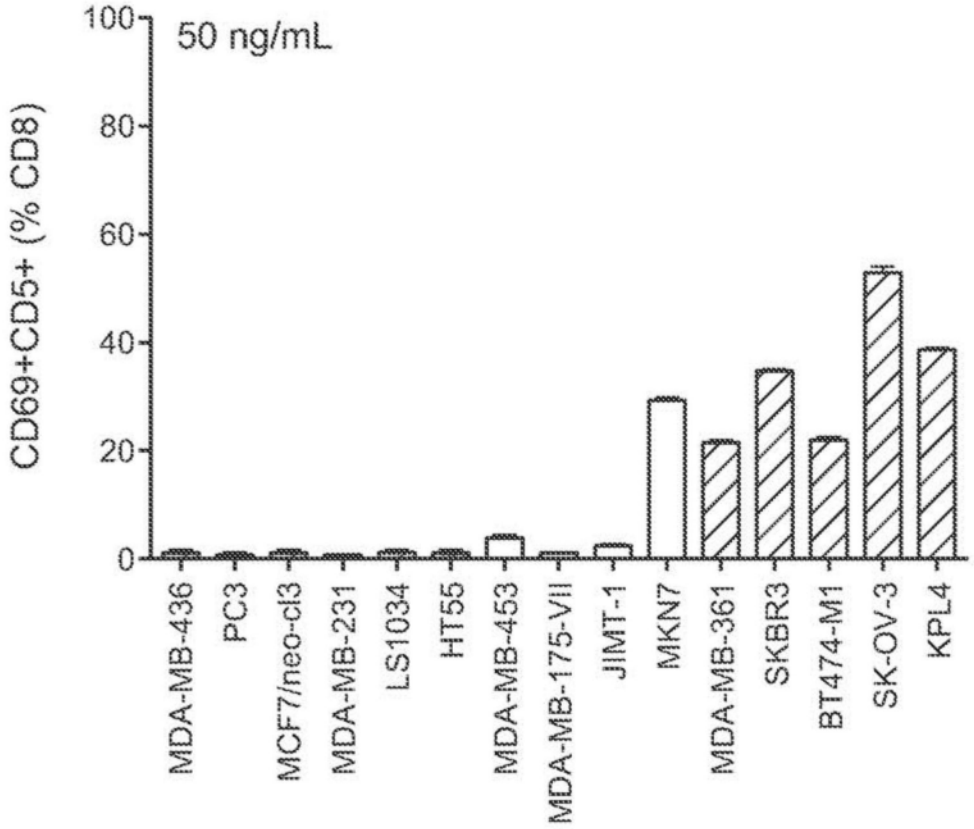

50 ng/mL
CD69+CD5+ (% CD8)
100
80
60
40
20
0
MDA-MB-436
PC3
MCF7/neo-cl3
MDA-MB-231
LS1034
HT55
MDA-MB-453
MDA-MB-175-VII
JIMT-1
MKN7
MDA-MB-361
SKBR3
BT474-M1
SK-OV-3
KPL4

图12C

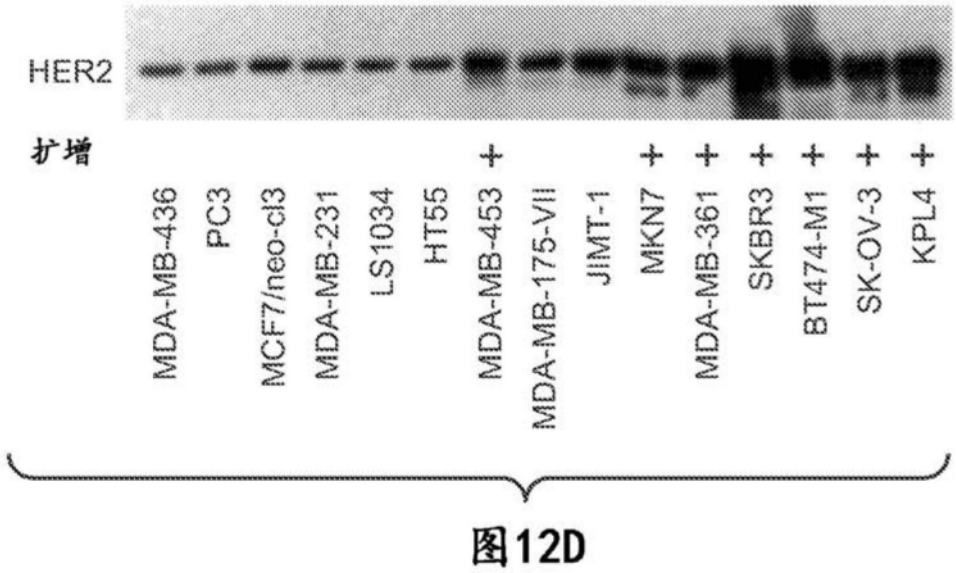

HER2
扩增
MDA-MB-436
PC3
MCF7/neo-cl3
MDA-MB-231
LS1034
HT55
MDA-MB-453 +
MDA-MB-175-VII
JIMT-1
MKN7 +
MDA-MB-361 +
SKBR3 +
BT474-M1 +
SK-OV-3 +
KPL4 +

图12D

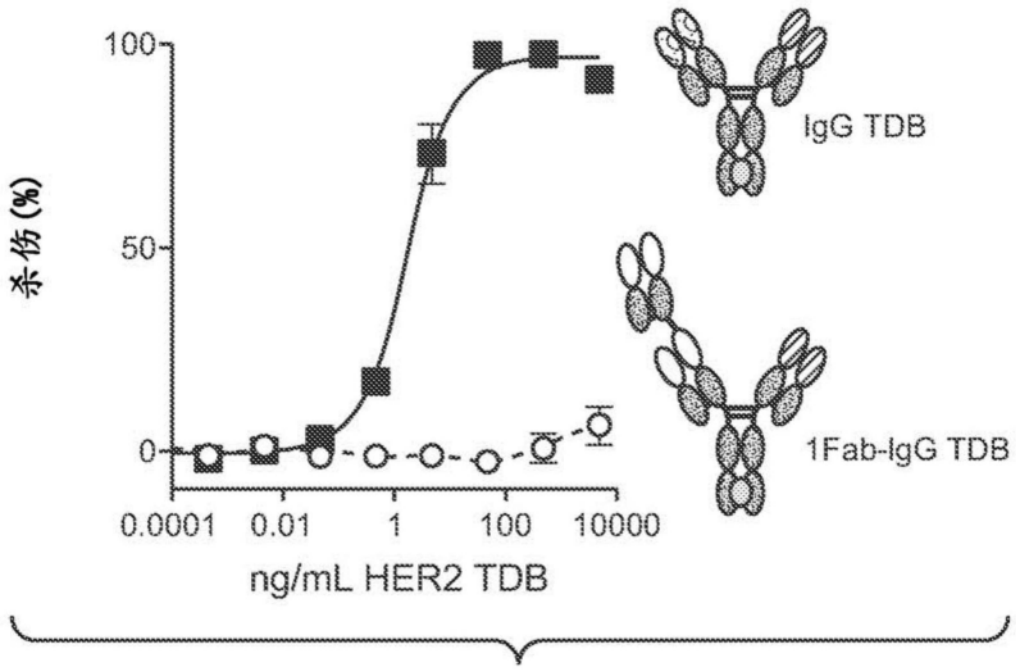

100
50
0
杀伤(%)
0.0001
0.01
1
100
10000
ng/mL HER2 TDB
IgG TDB
1Fab-IgG TDB

图13

图13

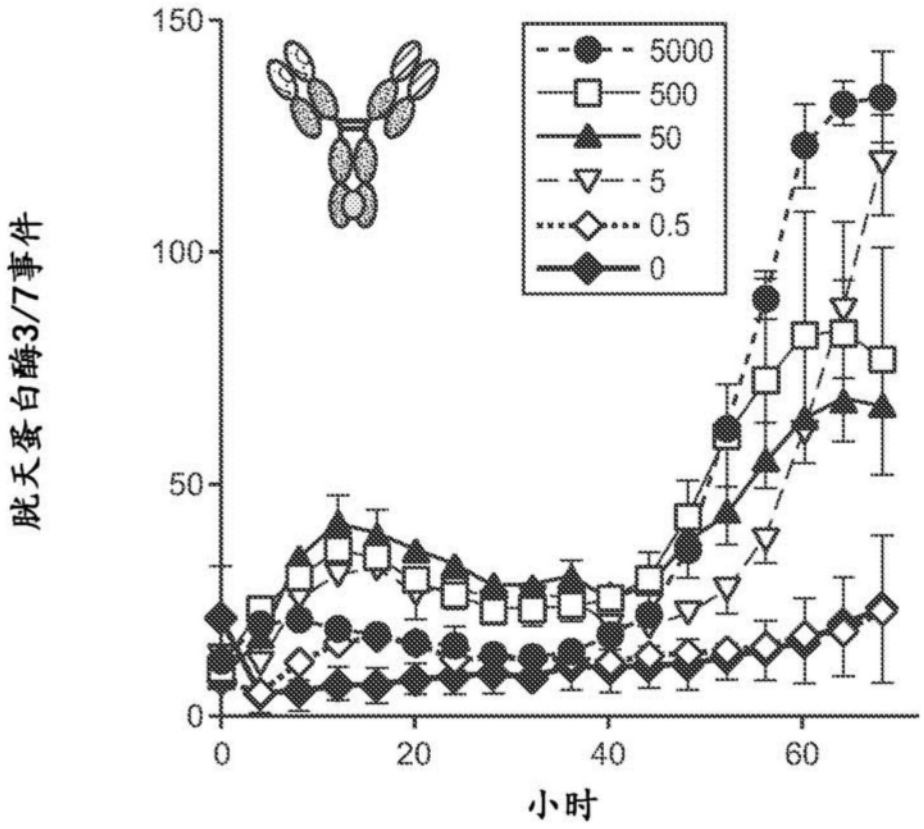


图14A

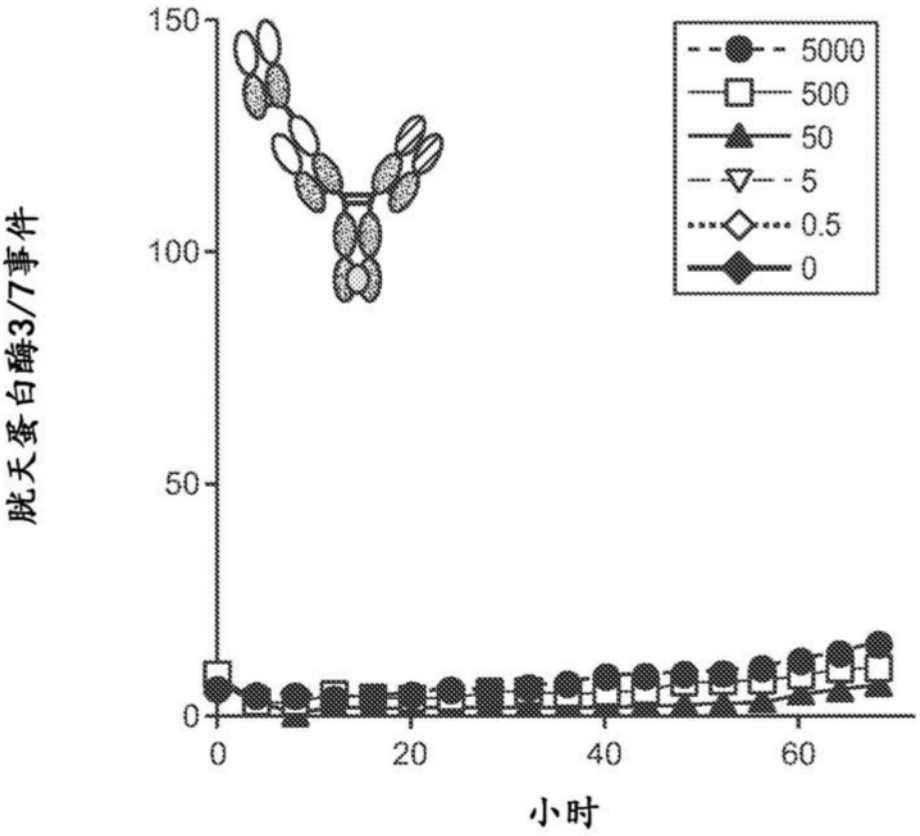


图14B

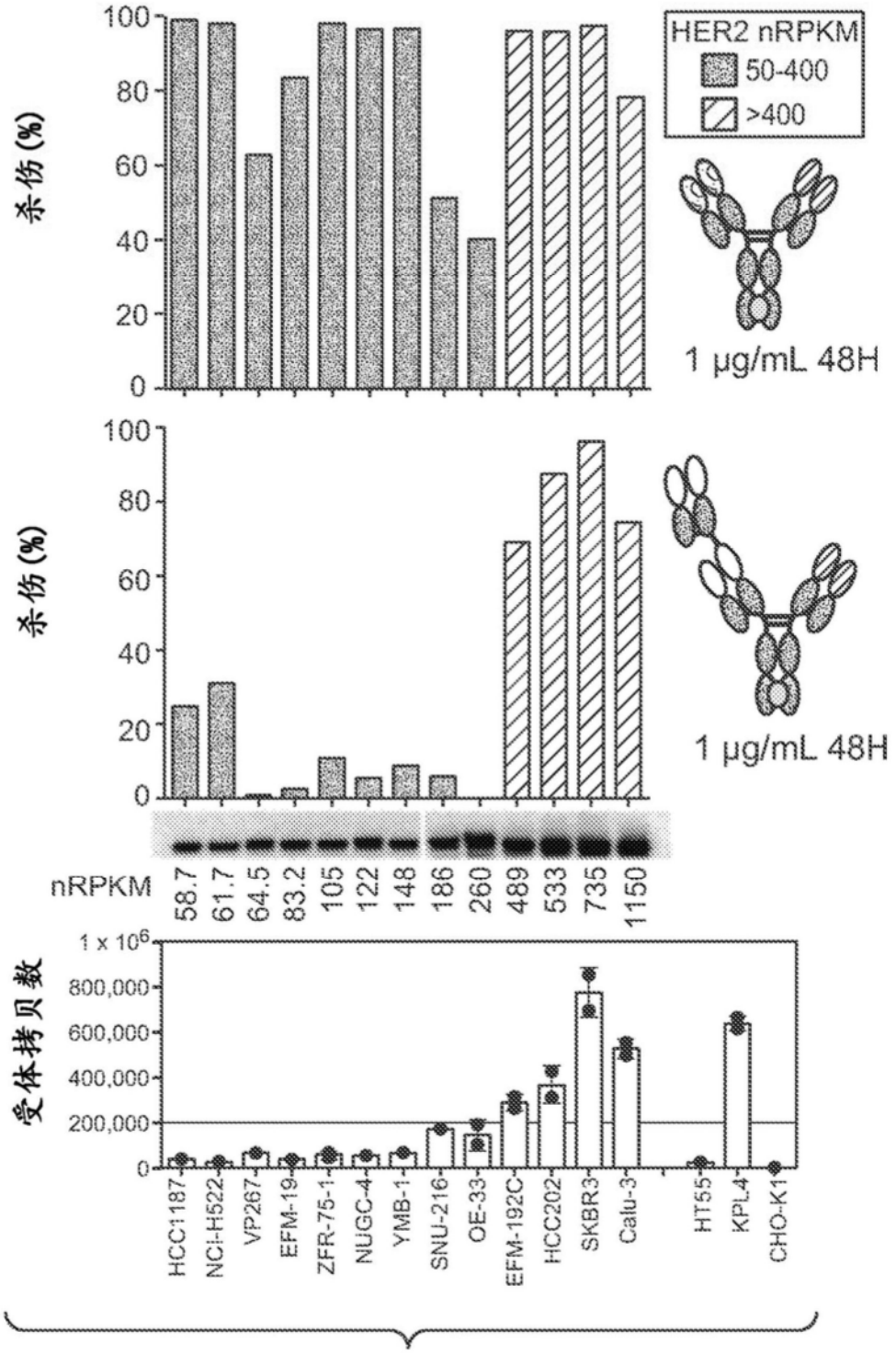

杀伤(%)
100
80
60
40
20
0
HER2 nRPKM
50-400
>400
1 μg/mL 48H
杀伤(%)
1 μg/mL 48H
nRPKM
58.7
61.7
64.5
83.2
105
122
148
186
260
489
533
735
1150
受体拷贝数
1 x 10^6
800,000
600,000
400,000
200,000
0
HCC1187
NCI-H522
VP267
EFM-19
ZFR-75-1
NUGC-4
YMB-1
SNU-216
OE-33
EFM-192C
HCC202
SKBR3
Calu-3
HT55
KPL4
CHO-K1

图15A

图15A

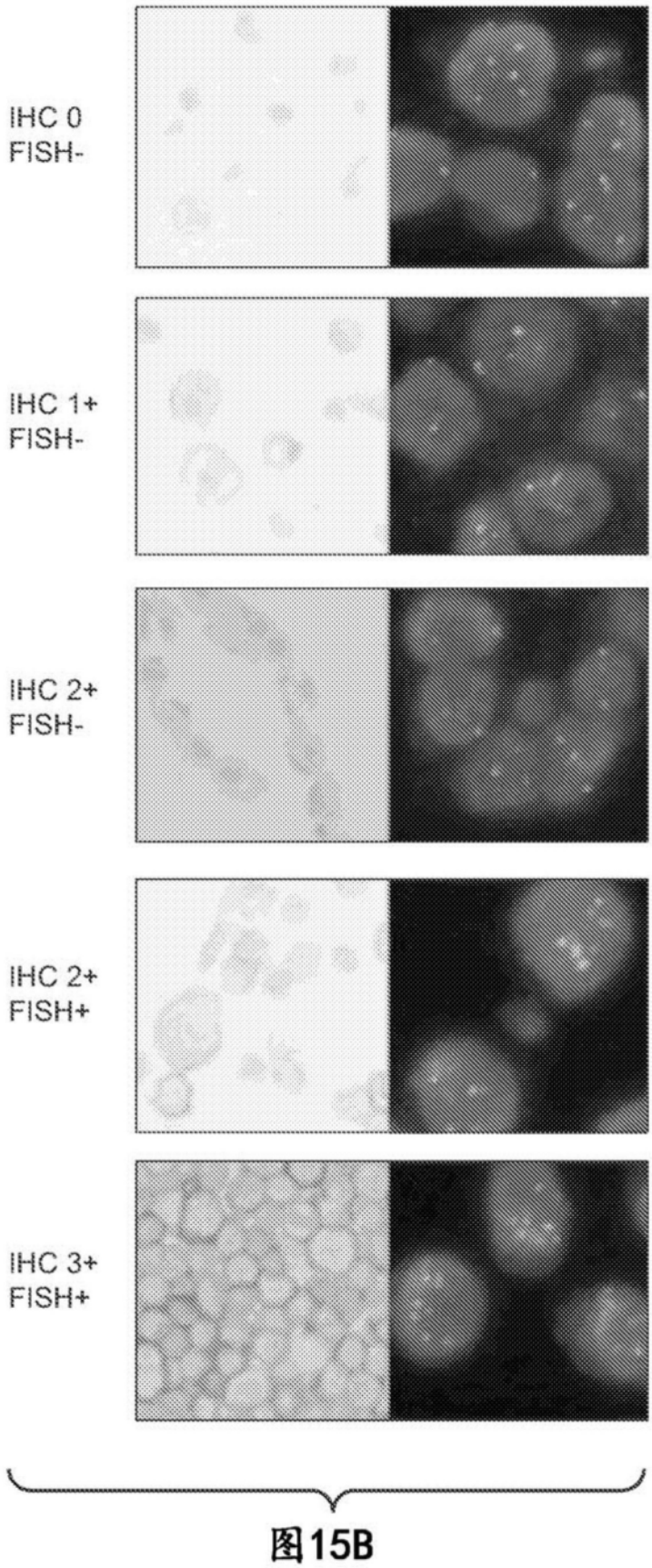


图15B

图15B

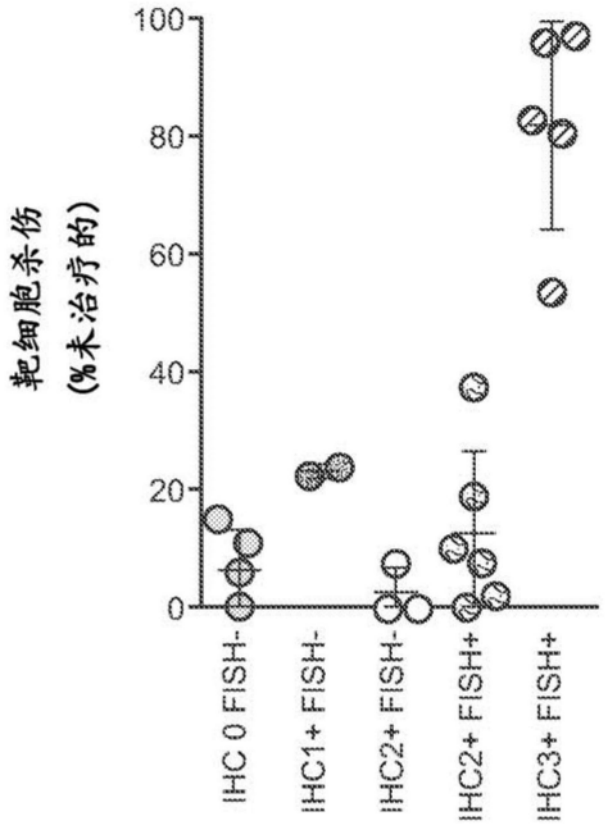

靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
IHC 0 FISH-
IHC1+ FISH-
IHC2+ FISH-
IHC2+ FISH+
IHC3+ FISH+

图15C

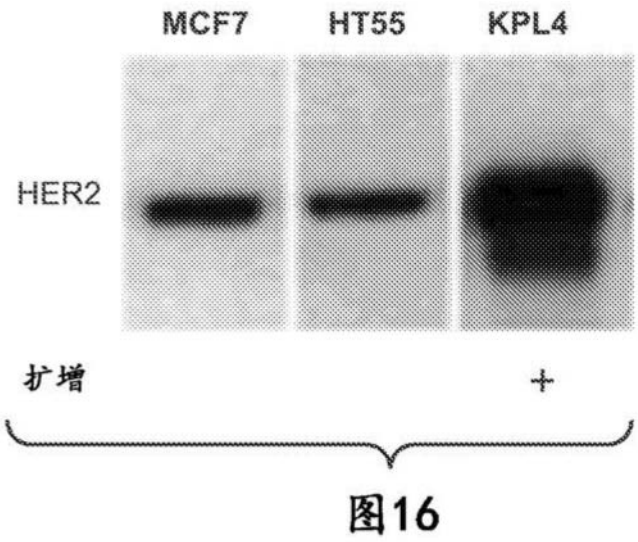

MCF7
HT55
KPL4
HER2
扩增
+
图16

图16

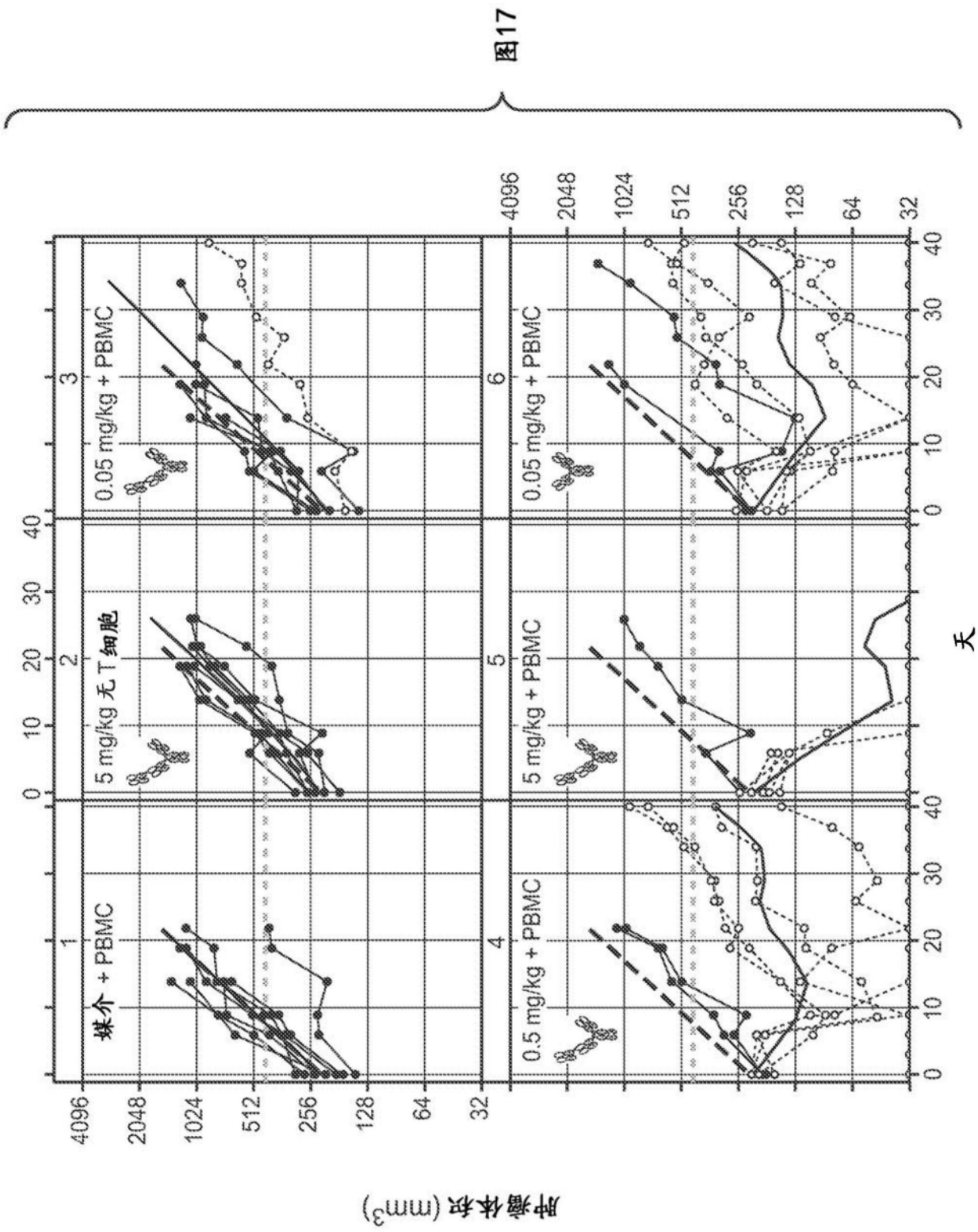

图17
肿瘤体积 (mm^3)
天
媒介 + PBMC
5 mg/kg 无 T 细胞
0.05 mg/kg + PBMC
0.5 mg/kg + PBMC
5 mg/kg + PBMC
0.05 mg/kg + PBMC
1
2
3
4
5
6
4096
2048
1024
512
256
128
64
32
0
10
20
30
40

图17

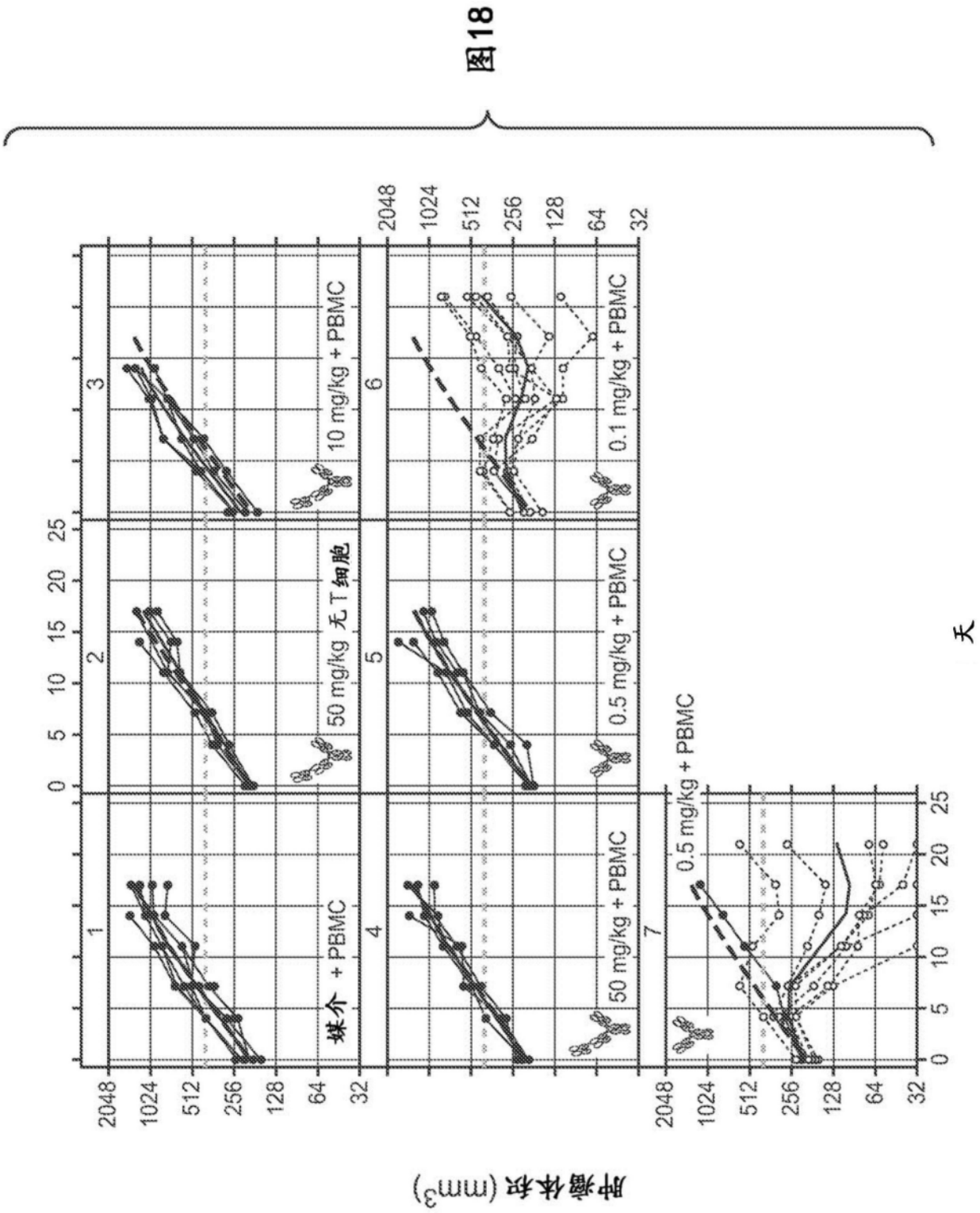

图18
肿瘤体积 (mm^3)
天
媒介 + PBMC
50 mg/kg 无 T 细胞
10 mg/kg + PBMC
50 mg/kg + PBMC
0.5 mg/kg + PBMC
0.1 mg/kg + PBMC
0.5 mg/kg + PBMC
2048
1024
512
256
128
64
32
0
5
10
15
20
25
1
2
3
4
5
6
7

图18

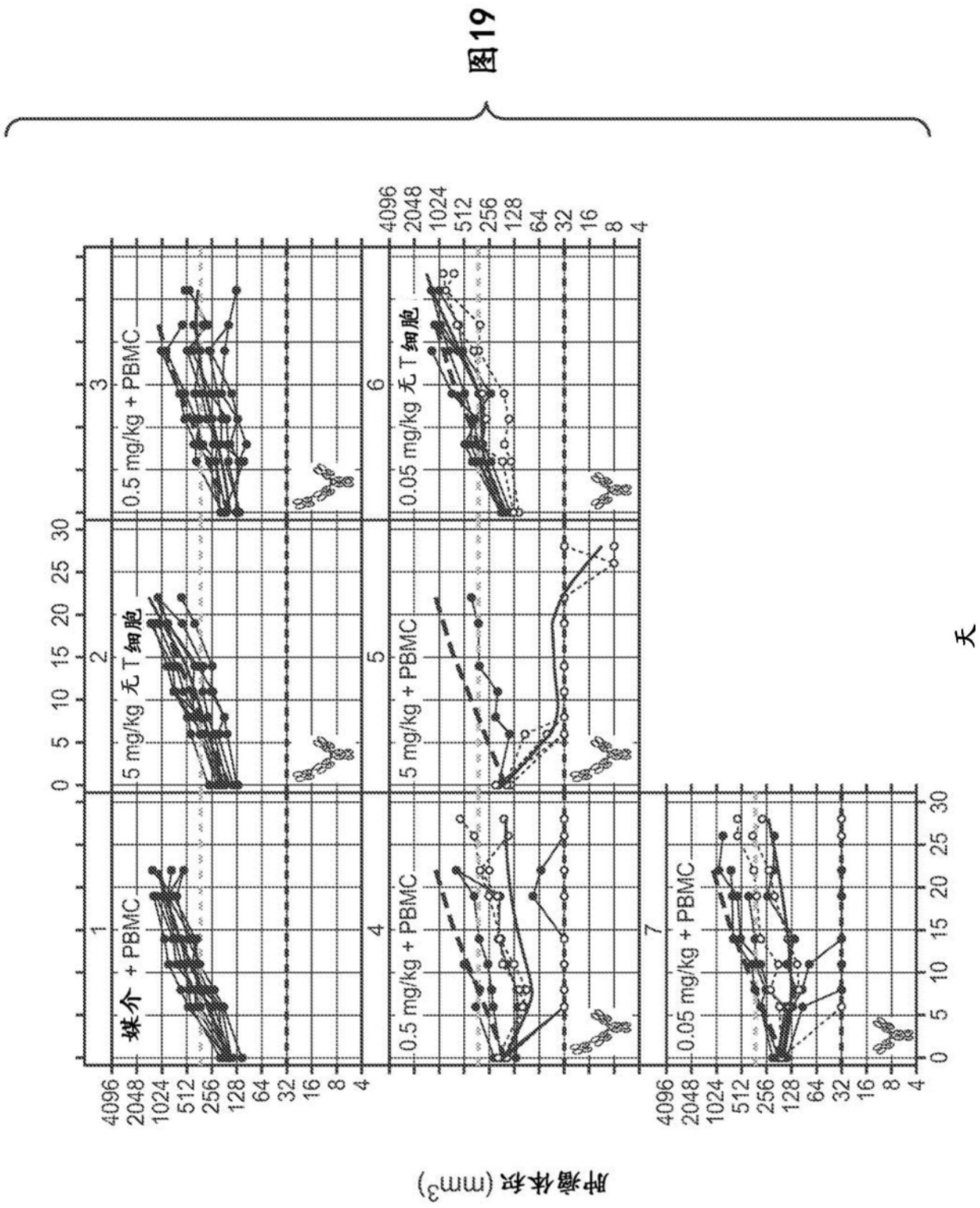

图19
媒介 + PBMC
5 mg/kg 无 T 细胞
0.5 mg/kg + PBMC
0.05 mg/kg 无 T 细胞
0.5 mg/kg + PBMC
5 mg/kg + PBMC
0.05 mg/kg + PBMC
肿瘤体积 (mm3)
天
4096
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
0
5
10
15
20
25
30
1
2
3
4
5
6
7

图19

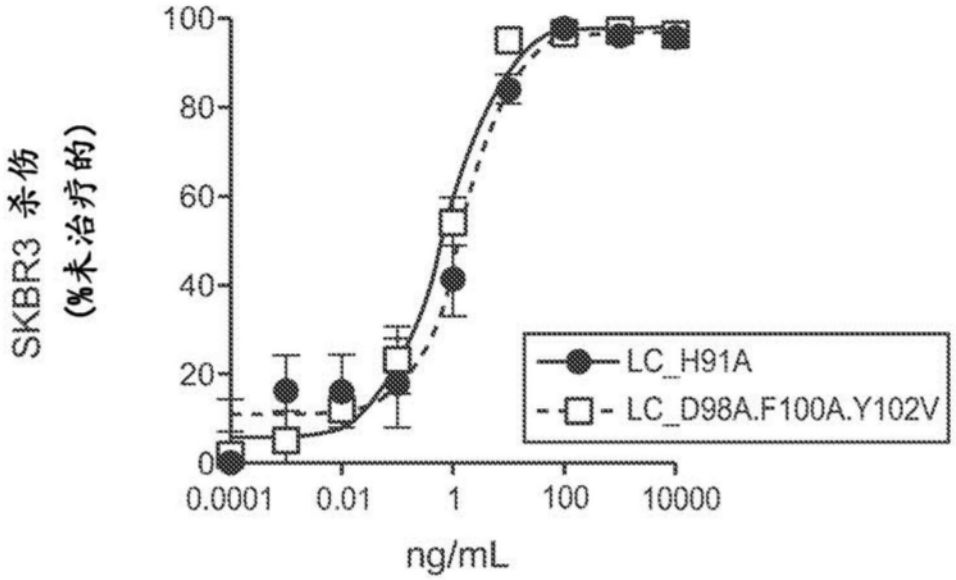

SKBR3 杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.01
1
100
10000
ng/mL
LC_H91A
LC_D98A.F100A.Y102V

图20

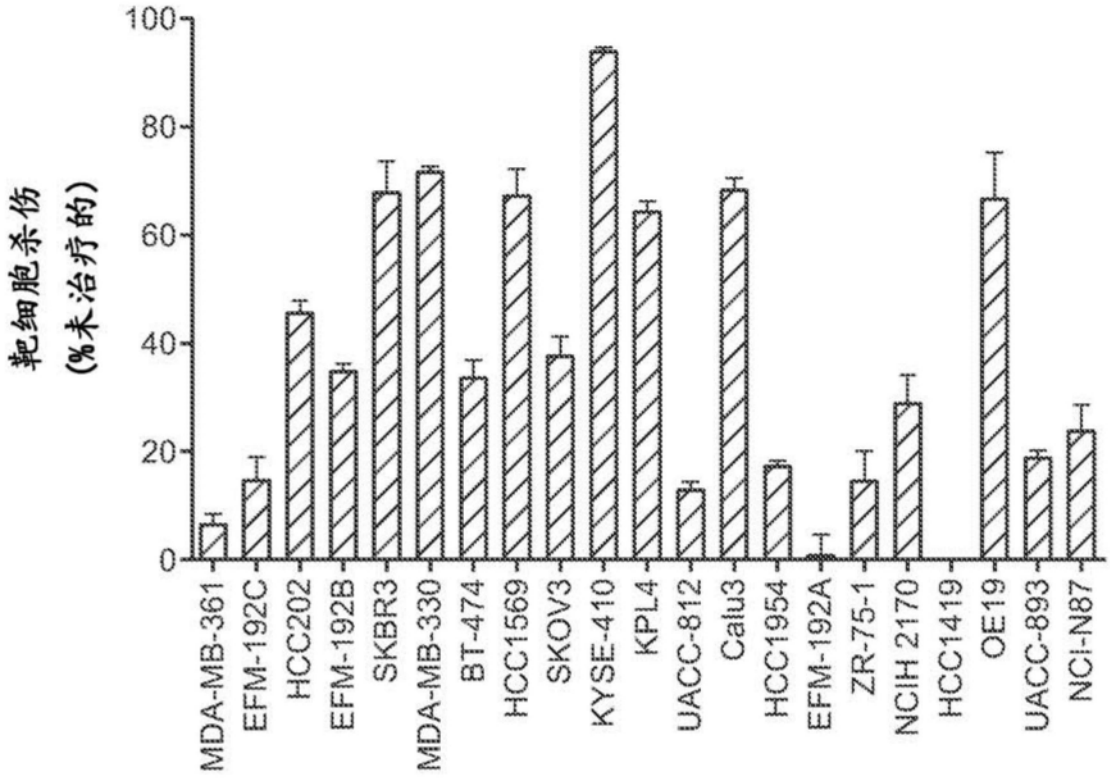

靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
MDA-MB-361
EFM-192C
HCC202
EFM-192B
SKBR3
MDA-MB-330
BT-474
HCC1569
SKOV3
KYSE-410
KPL4
UACC-812
Calu3
HCC1954
EFM-192A
ZR-75-1
NCIH 2170
HCC1419
OE19
UACC-893
NCI-N87

图21A

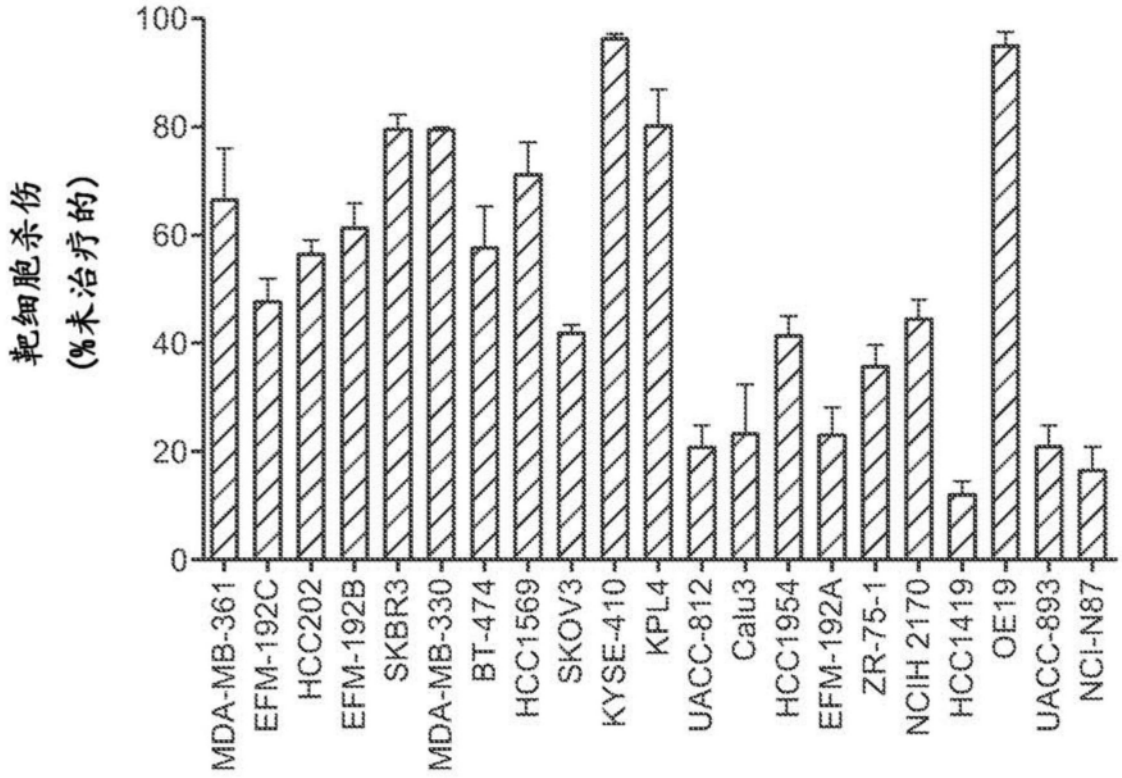

靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
MDA-MB-361
EFM-192C
HCC202
EFM-192B
SKBR3
MDA-MB-330
BT-474
HCC1569
SKOV3
KYSE-410
KPL4
UACC-812
Calu3
HCC1954
EFM-192A
ZR-75-1
NCIH 2170
HCC1419
OE19
UACC-893
NCI-N87

图21B

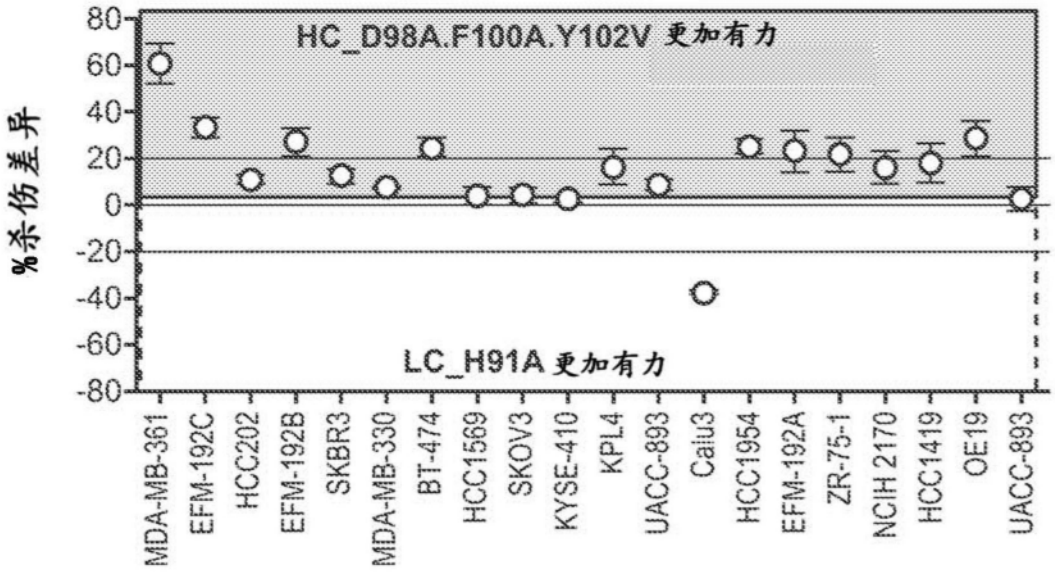

%杀伤差异
HC_D98A.F100A.Y102V 更加有力
LC_H91A 更加有力
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
MDA-MB-361
EFM-192C
HCC202
EFM-192B
SKBR3
MDA-MB-330
BT-474
HCC1569
SKOV3
KYSE-410
KPL4
UACC-893
Calu3
HCC1954
EFM-192A
ZR-75-1
NCIH 2170
HCC1419
OE19
UACC-893

图22

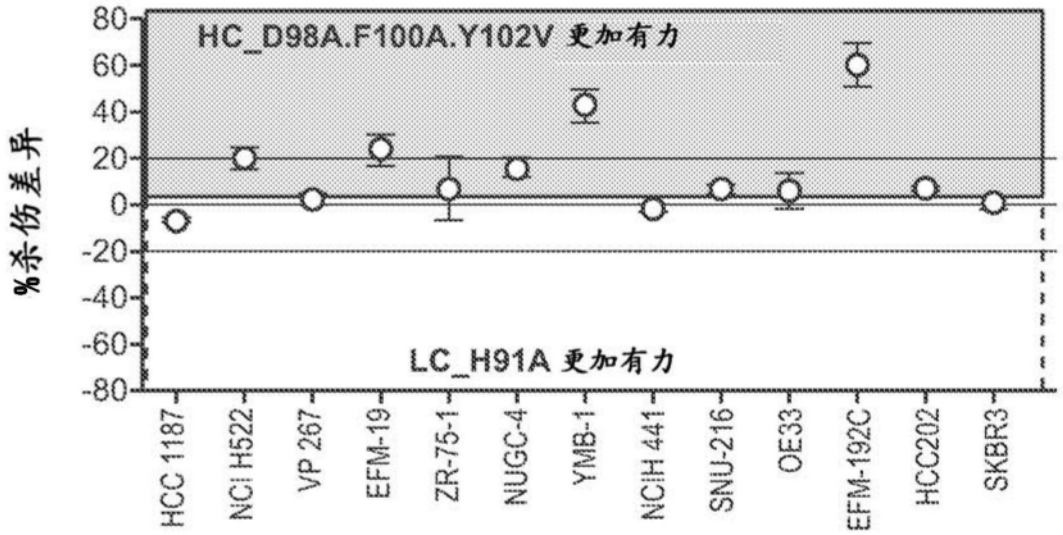

HC_D98A.F100A.Y102V 更加有力
LC_H91A 更加有力
%杀伤差异
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
HCC 1187
NCI H522
VP 267
EFM-19
ZR-75-1
NUGC-4
YMB-1
NCIH 441
SNU-216
OE33
EFM-192C
HCC202
SKBR3

图24

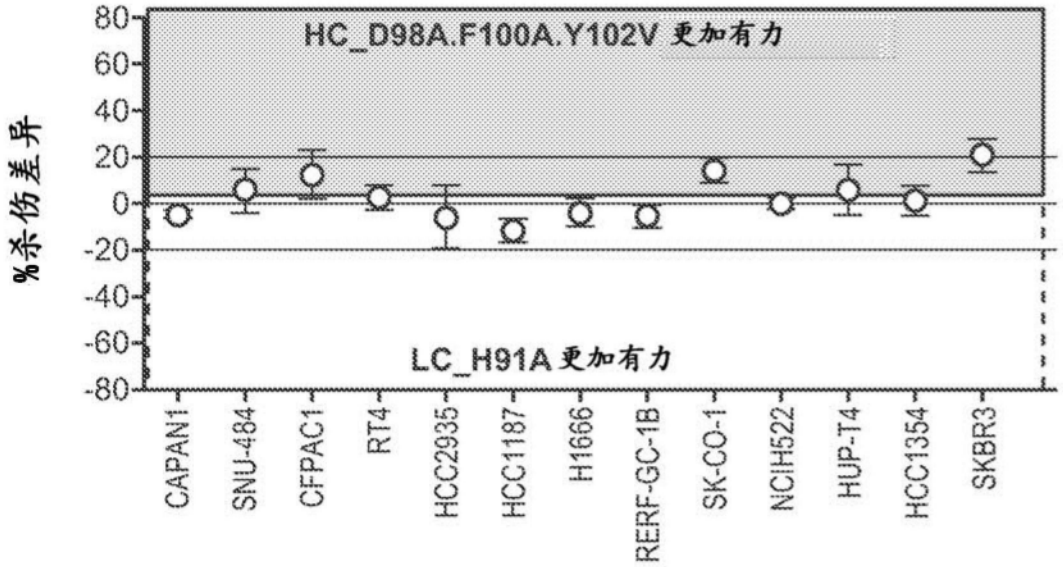

HC_D98A.F100A.Y102V 更加有力
LC_H91A 更加有力
%杀伤差异
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
CAPAN1
SNU-484
CFPAC1
RT4
HCC2935
HCC1187
H1666
RERF-GC-1B
SK-CO-1
NCIH522
HUP-T4
HCC1354
SKBR3

图26

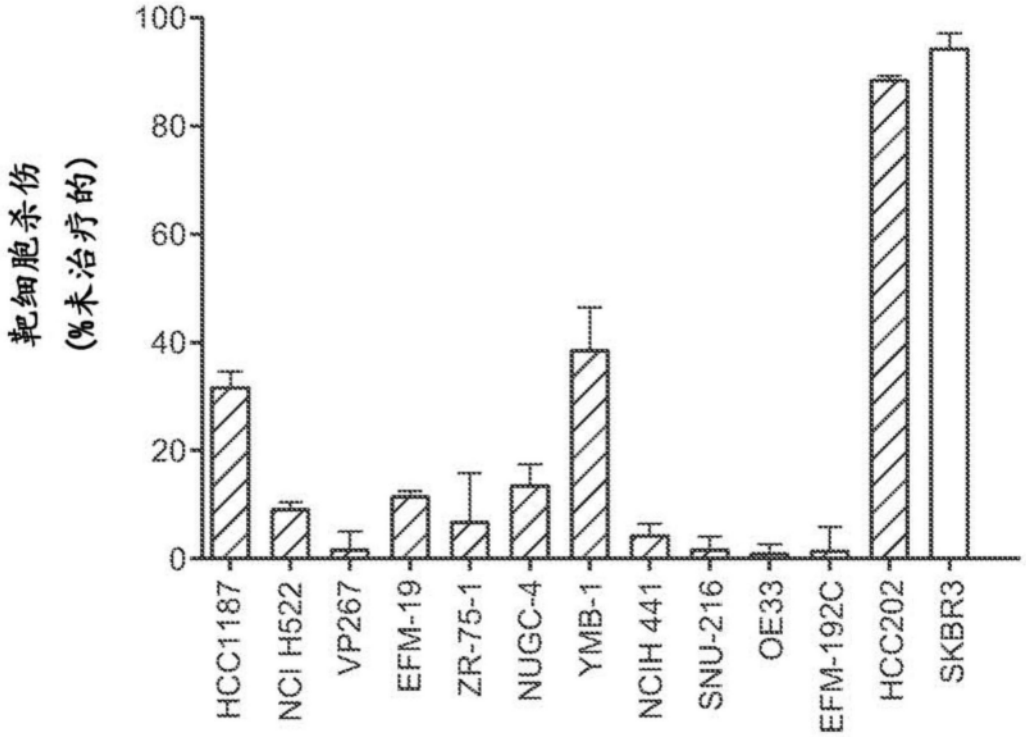

靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
HCC1187
NCI H522
VP267
EFM-19
ZR-75-1
NUGC-4
YMB-1
NCIH 441
SNU-216
OE33
EFM-192C
HCC202
SKBR3

图23A

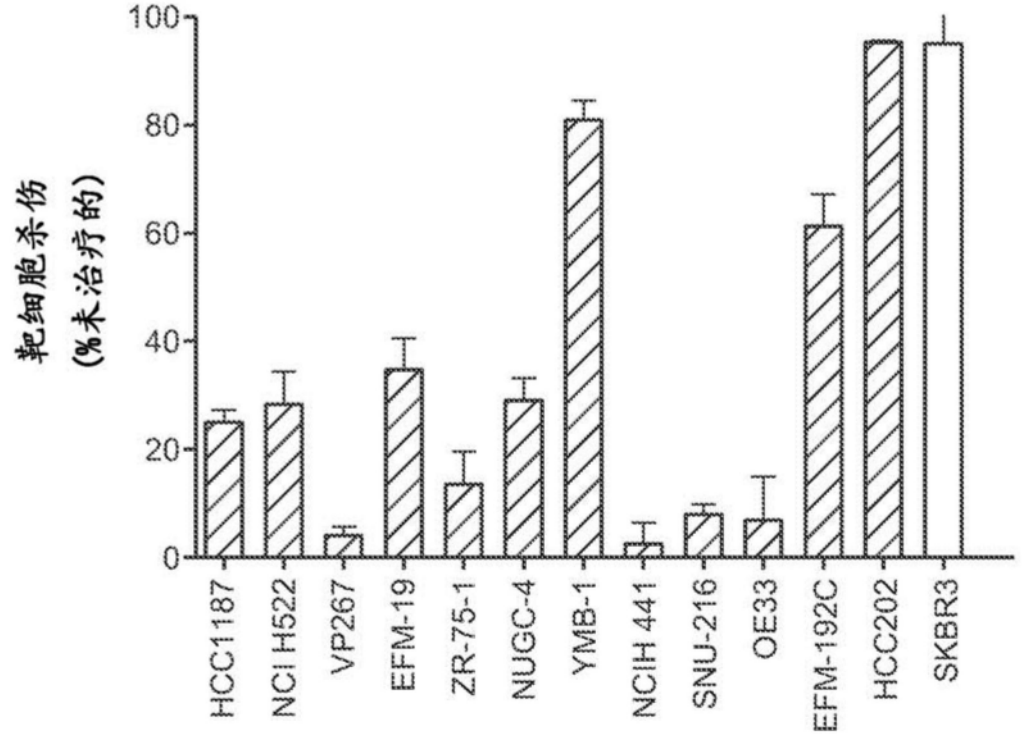

靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
HCC1187
NCI H522
VP267
EFM-19
ZR-75-1
NUGC-4
YMB-1
NCIH 441
SNU-216
OE33
EFM-192C
HCC202
SKBR3

图23B

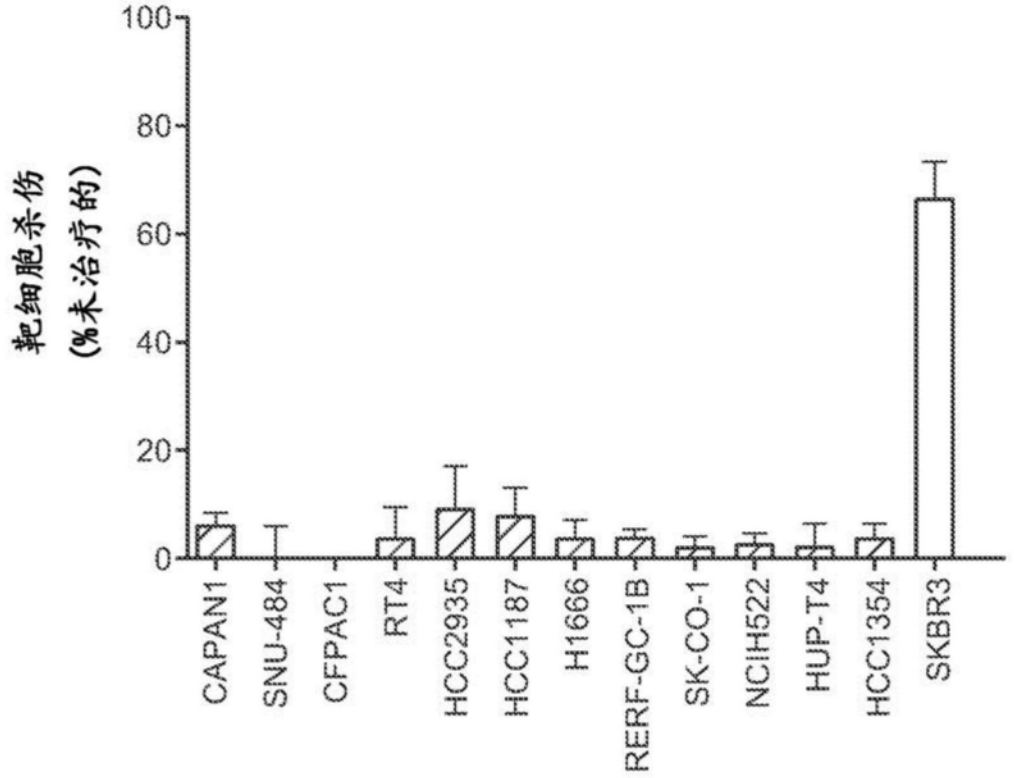

靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
CAPAN1
SNU-484
CFPAC1
RT4
HCC2935
HCC1187
H1666
RERF-GC-1B
SK-CO-1
NCIH522
HUP-T4
HCC1354
SKBR3

图25A

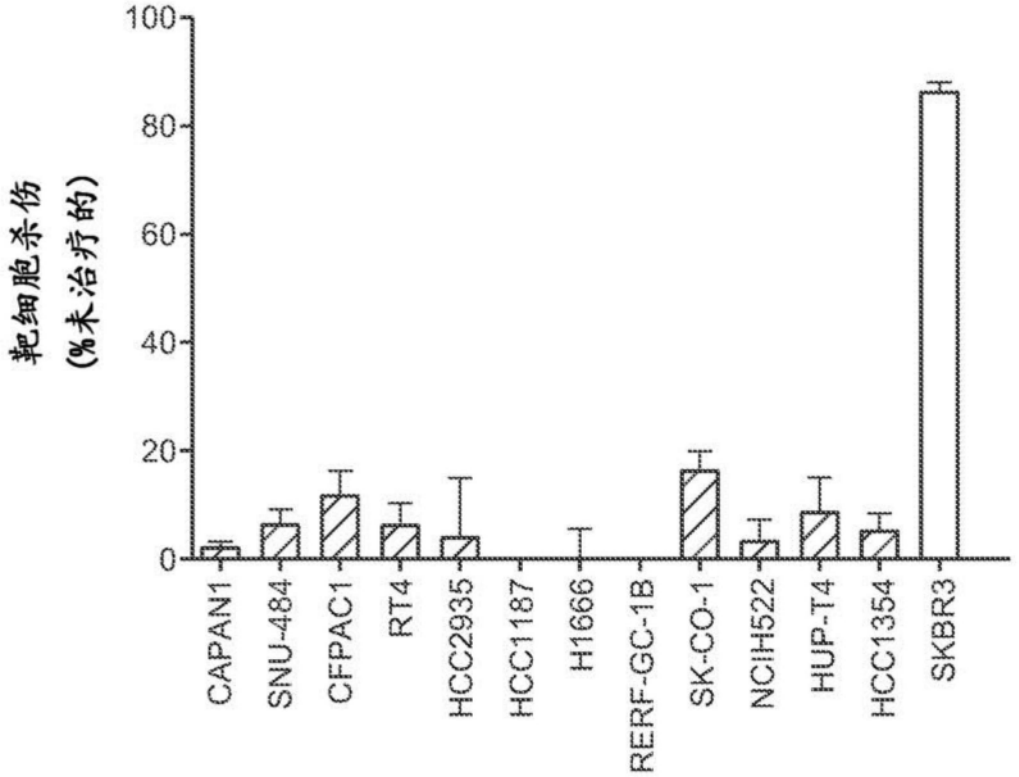

靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
CAPAN1
SNU-484
CFPAC1
RT4
HCC2935
HCC1187
H1666
RERF-GC-1B
SK-CO-1
NCIH522
HUP-T4
HCC1354
SKBR3

图25B

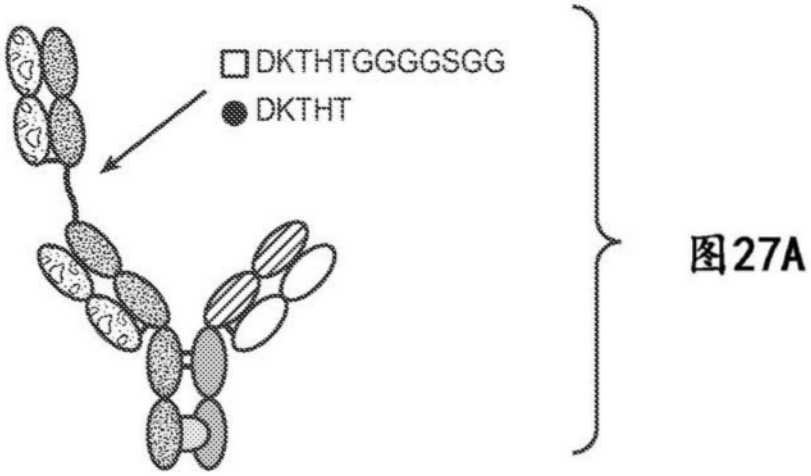

DKTHTGGGGSGG
DKTHT
图27A

图27A

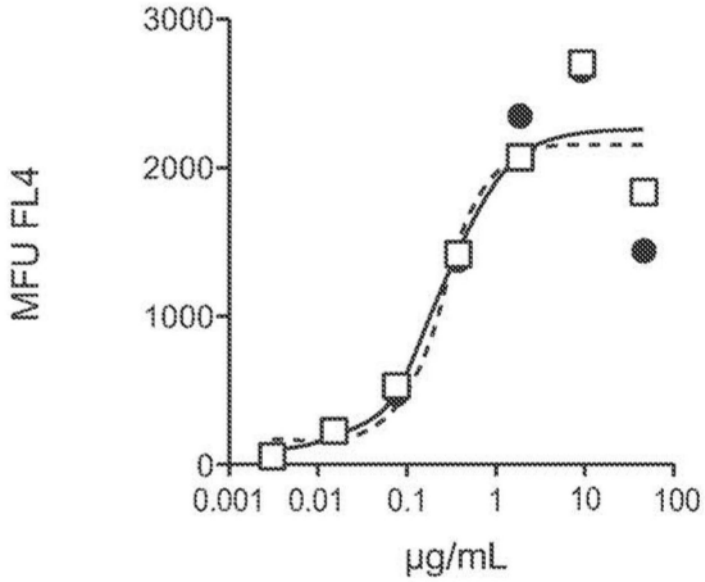

3000
2000
1000
0
MFU FL4
0.001
0.01
0.1
1
10
100
µg/mL

图27B

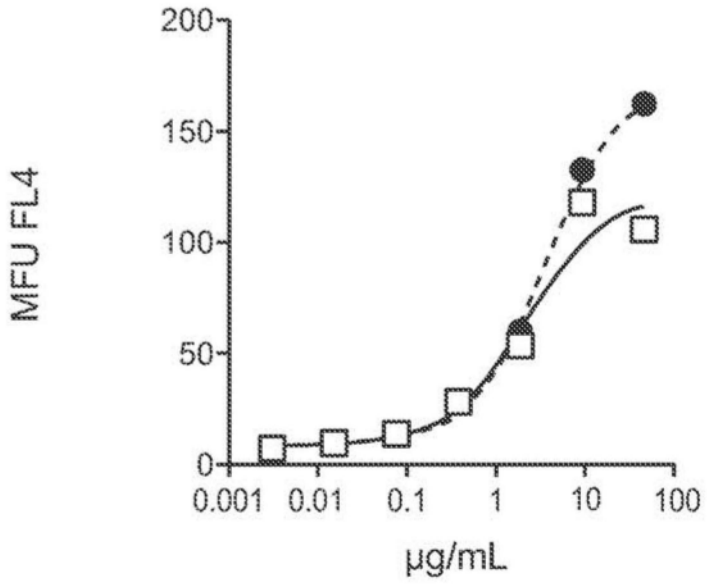


图27C

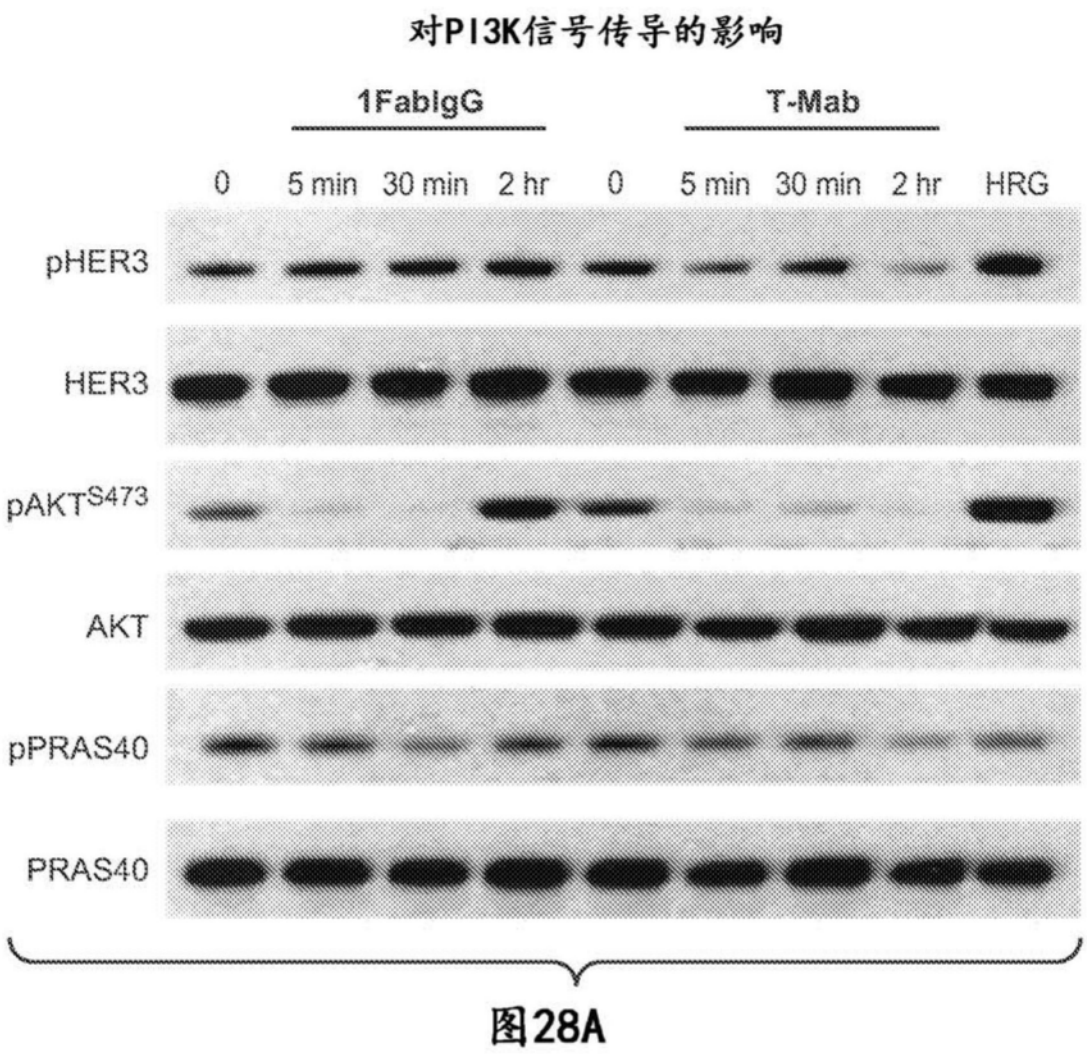

对PI3K信号传导的影响
1FabIgG
T-Mab
0
5 min
30 min
2 hr
0
5 min
30 min
2 hr
HRG
pHER3
HER3
pAKTS473
AKT
pPRAS40
PRAS40
图28A

图28A

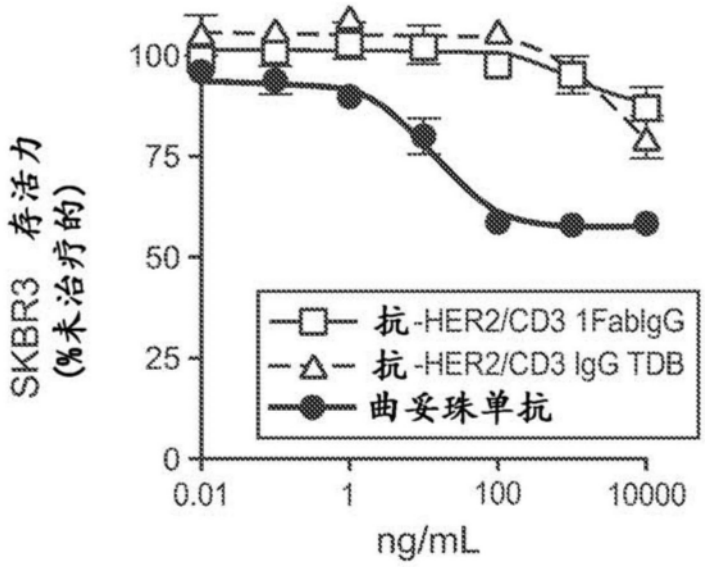

SKBR3 存活力
(%未治疗的)
100
75
50
25
0
0.01
1
100
10000
ng/mL
抗-HER2/CD3 1FabIgG
抗-HER2/CD3 IgG TDB
曲妥珠单抗

图28B

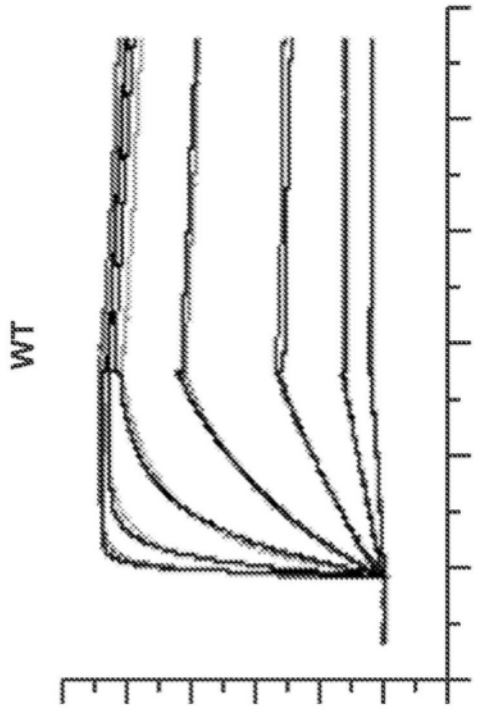

WT

图29A

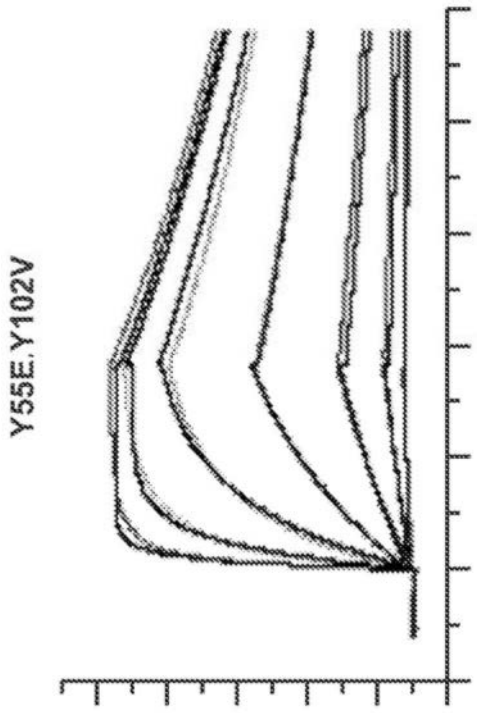


图29B

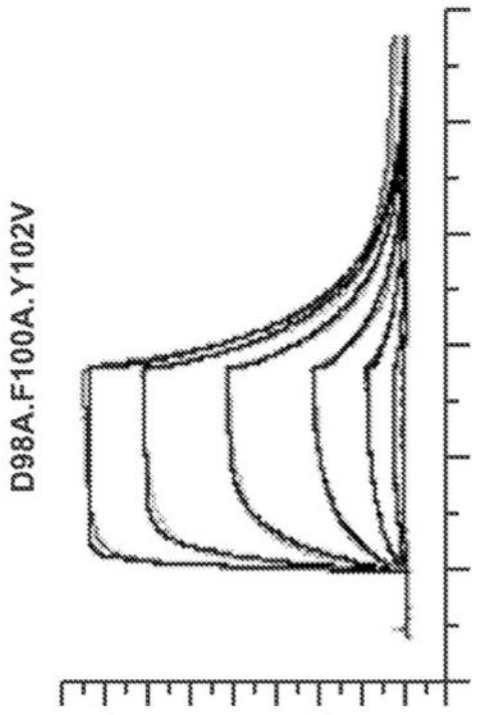


图29C

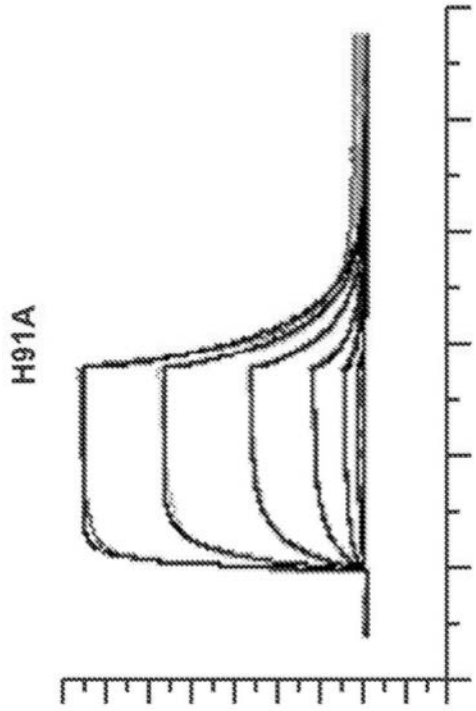


图29D

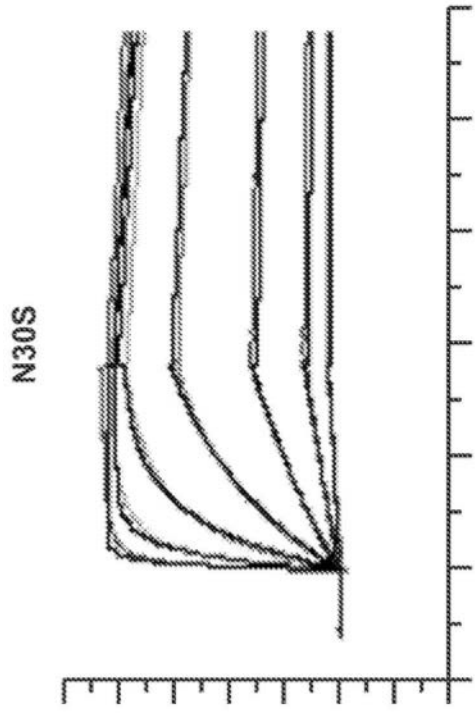


图30A

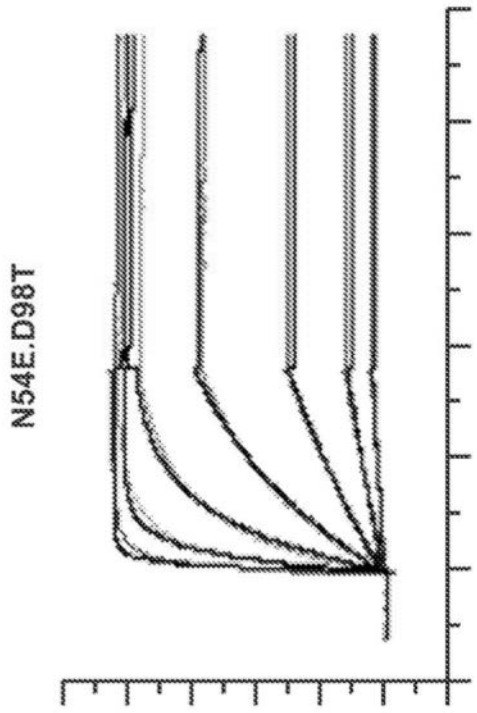


图30B

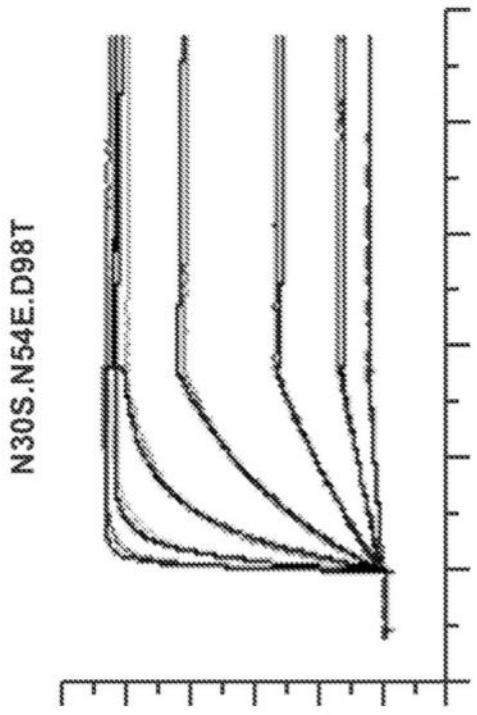


图30C

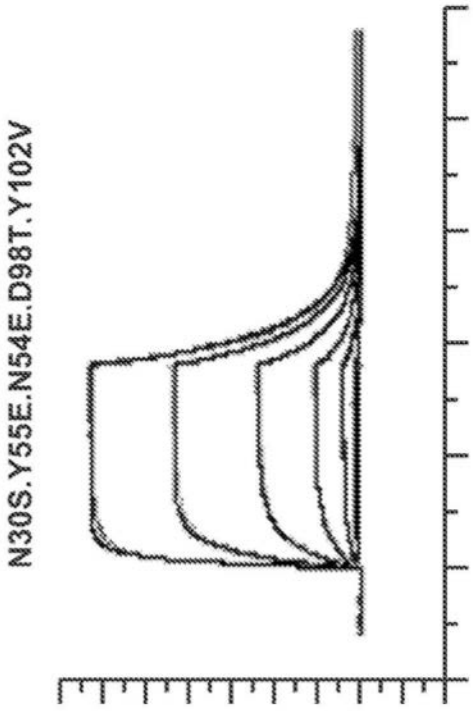


图31A

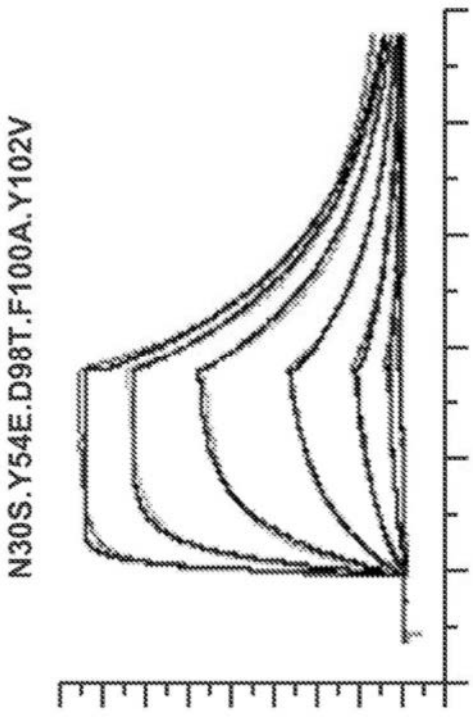


图31B

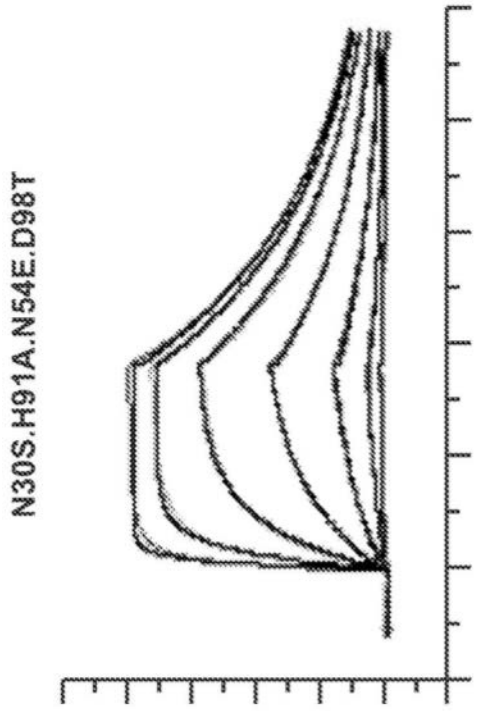


图31C

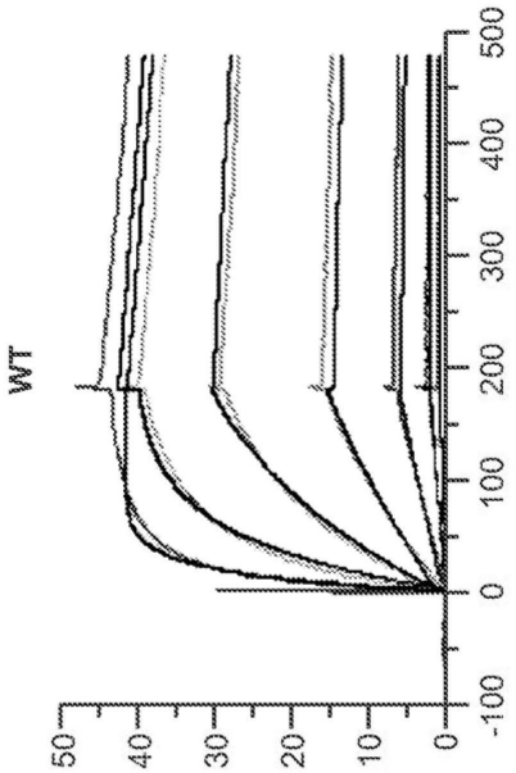


图32A

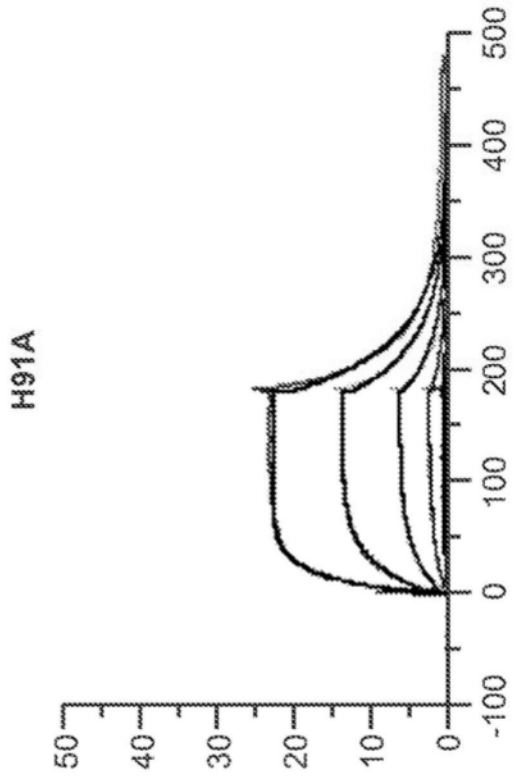

H91A
50
40
30
20
10
0
-100
0
100
200
300
400
500

图32B

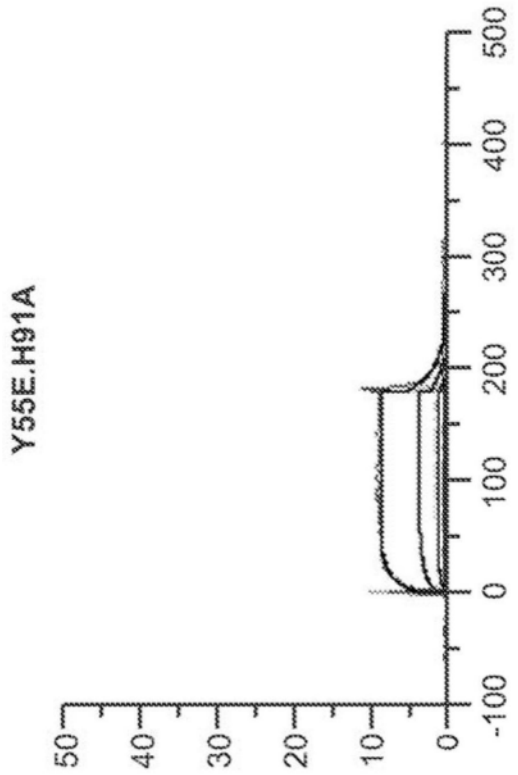

Y55E.H91A
50
40
30
20
10
0
-100
0
100
200
300
400
500

图32C

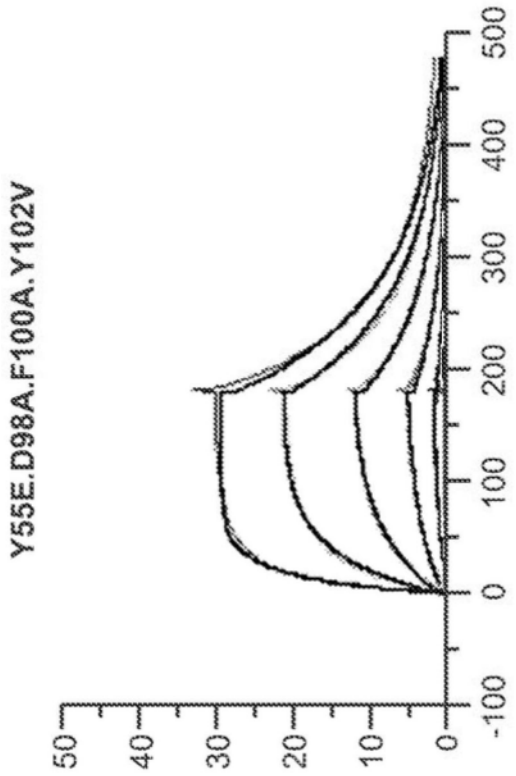

Y55E.D98A.F100A.Y102V
50
40
30
20
10
0
-100
0
100
200
300
400
500

图32D

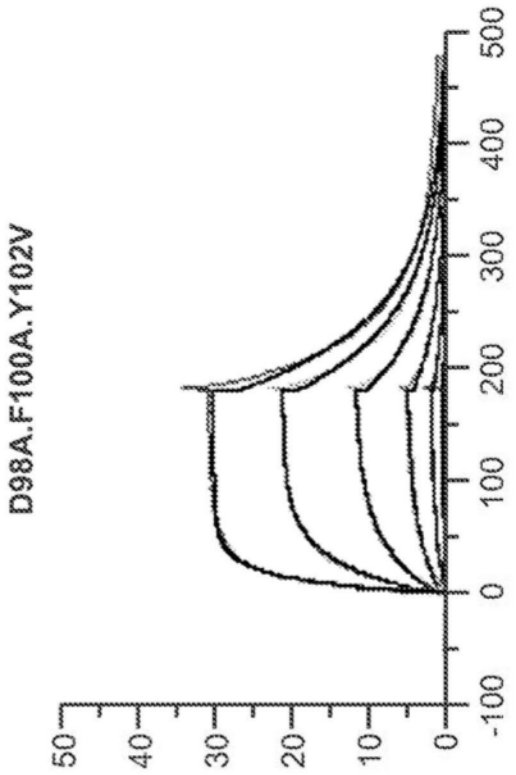

D98A.F100A.Y102V
50
40
30
20
10
0
-100
0
100
200
300
400
500

图32E

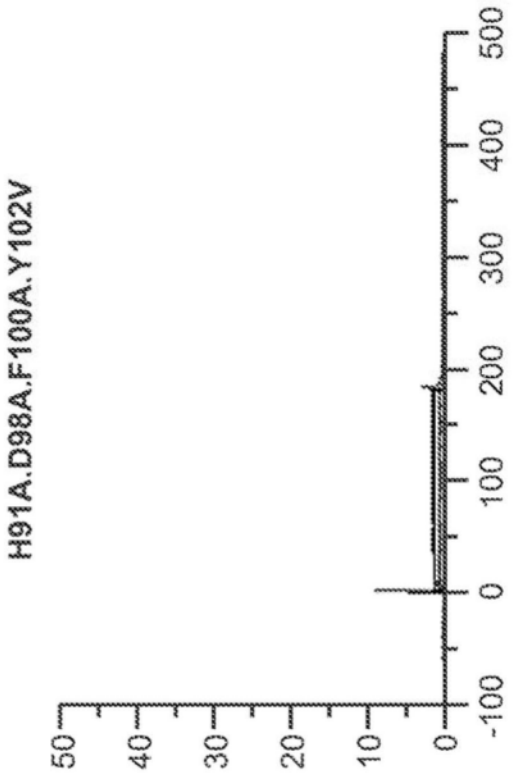

H91A.D98A.F100A.Y102V
50
40
30
20
10
0
-100
0
100
200
300
400
500

图32F

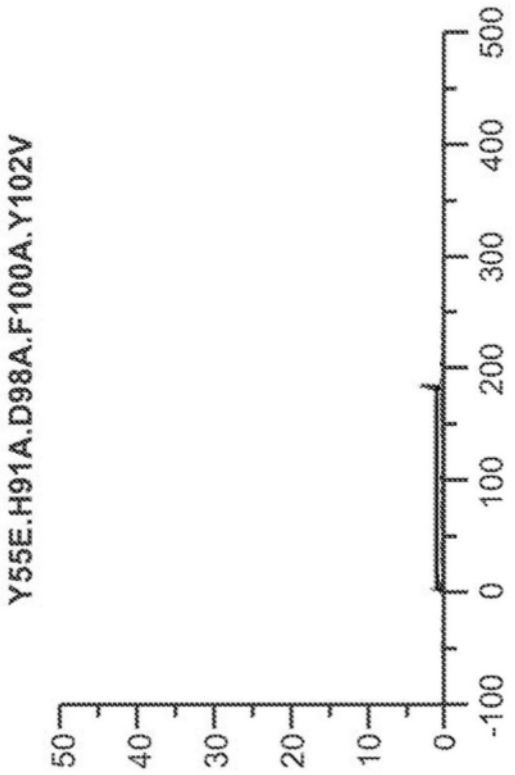

Y55E.H91A.D98A.F100A.Y102V
50
40
30
20
10
0
-100
0
100
200
300
400
500

图32G

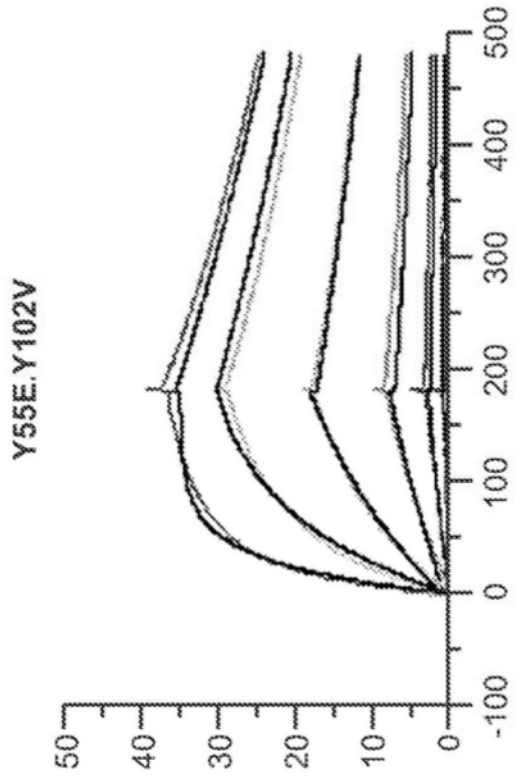

Y55E.Y102V
50
40
30
20
10
0
-100
0
100
200
300
400
500

图32H

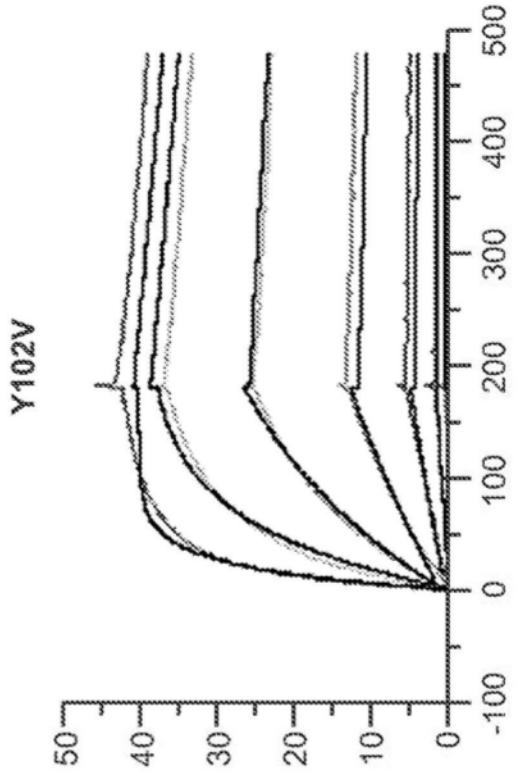

Y102V
50
40
30
20
10
0
-100
0
100
200
300
400
500

图32I

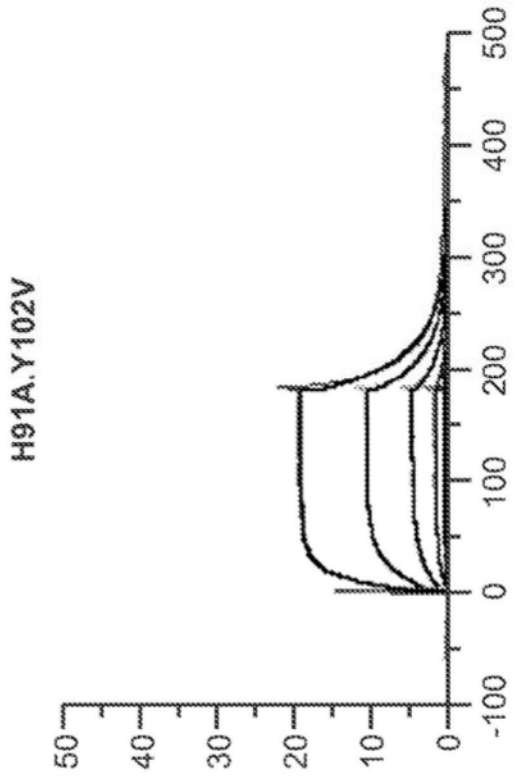

H91A.Y102V
50
40
30
20
10
0
-100
0
100
200
300
400
500

图32J

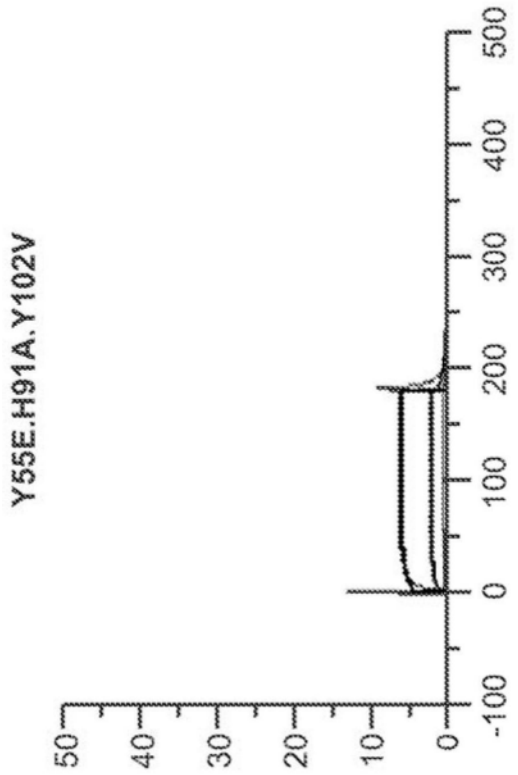

Y55E.H91A.Y102V
50
40
30
20
10
0
-100
0
100
200
300
400
500

图32K

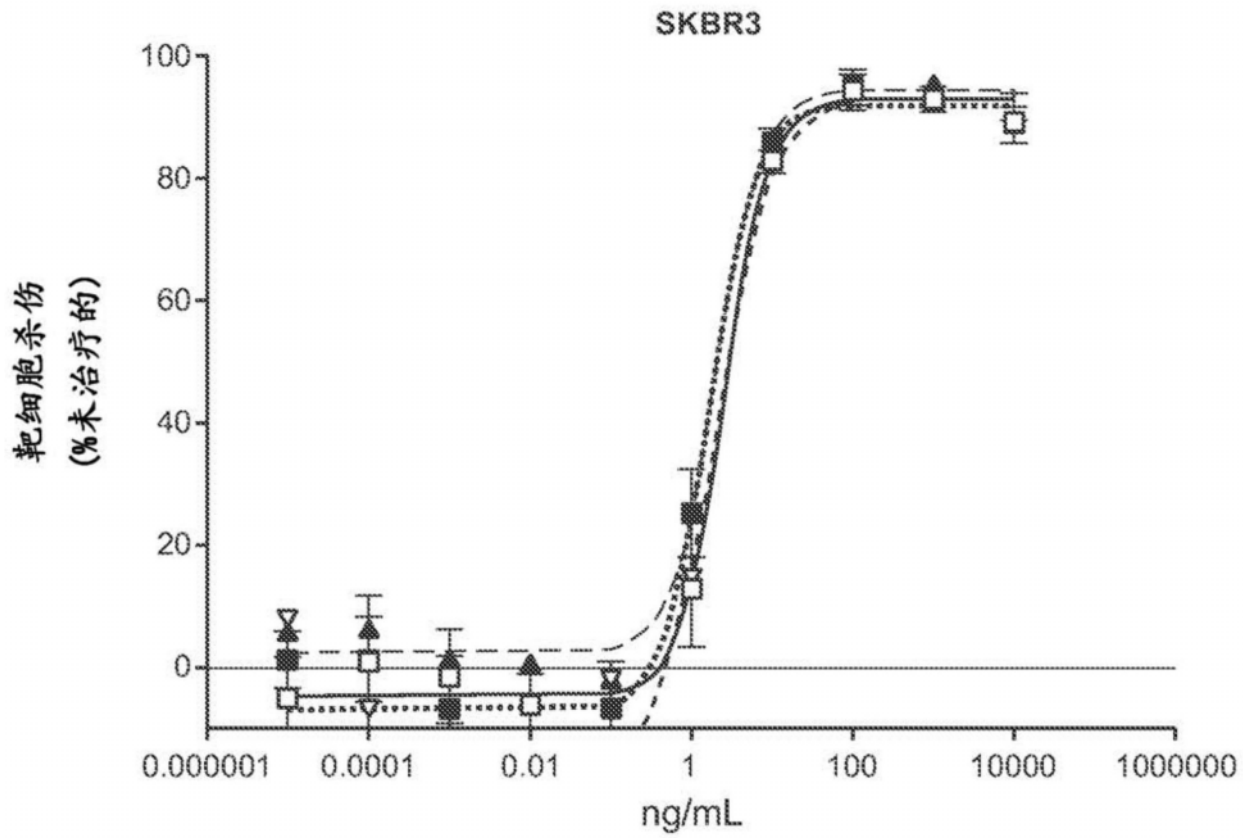

SKBR3
靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
0.000001
0.0001
0.01
1
100
10000
1000000
ng/mL

图33A

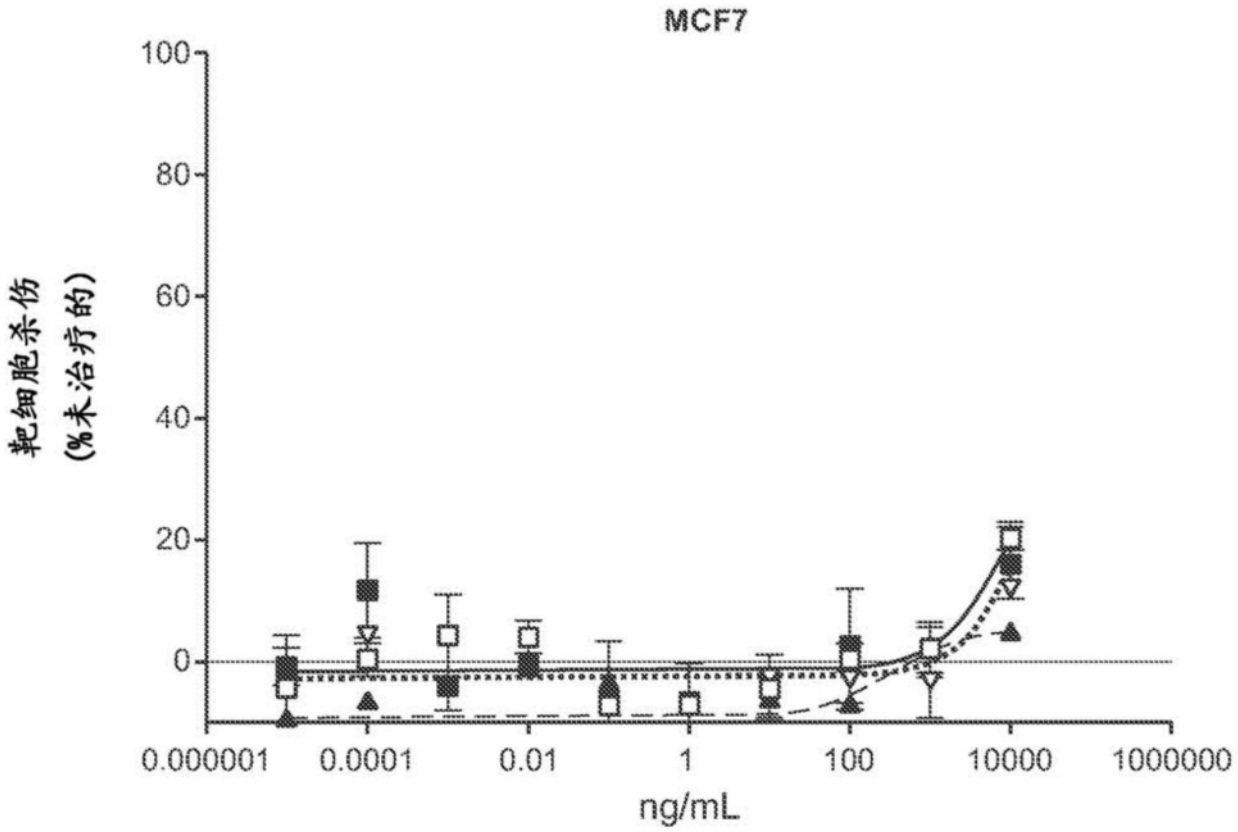

MCF7
靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
0.000001
0.0001
0.01
1
100
10000
1000000
ng/mL

图33B

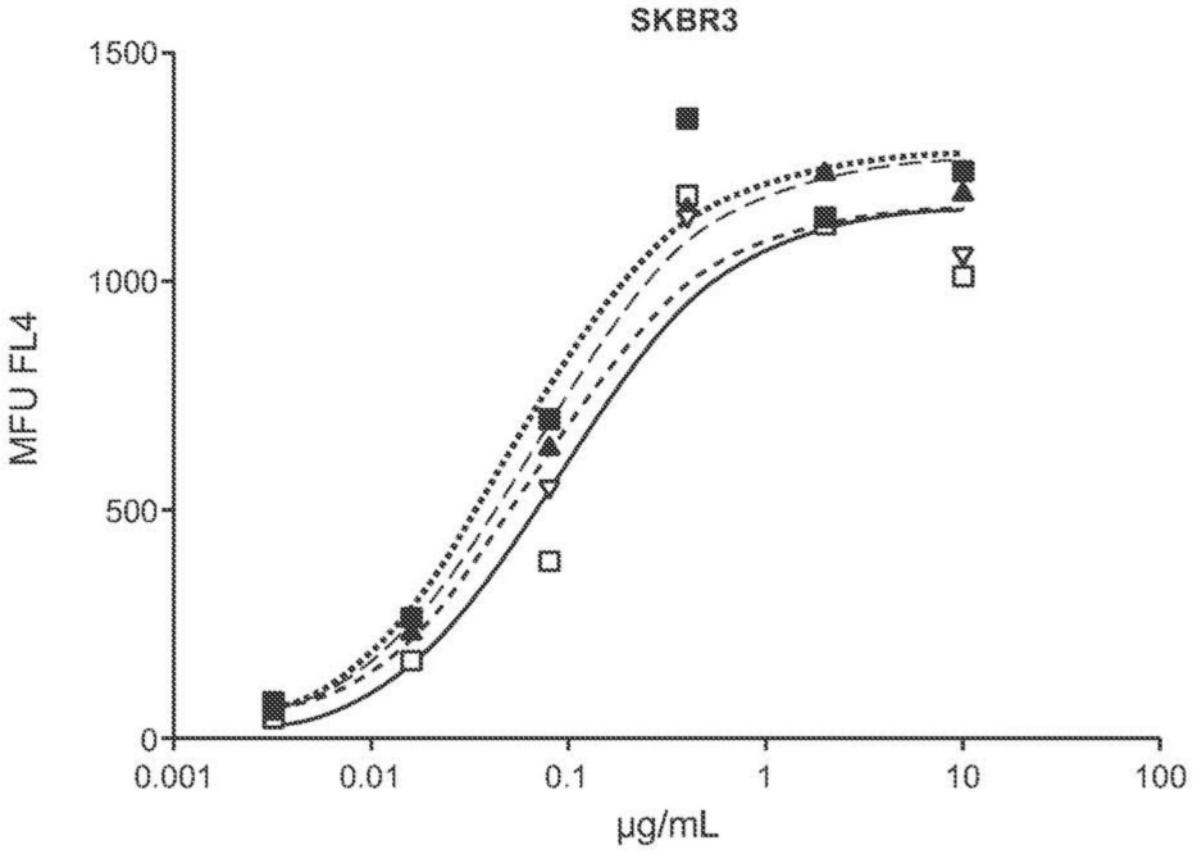


图34A

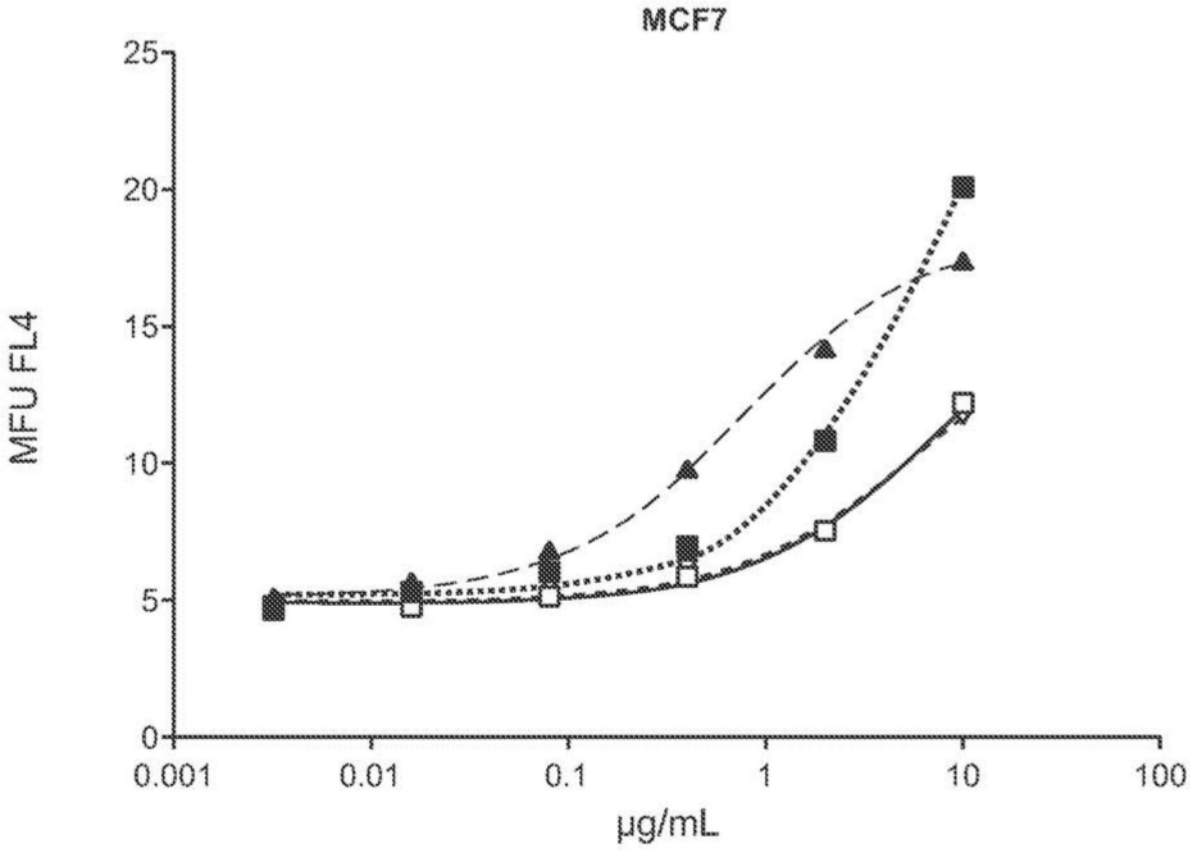


图34B

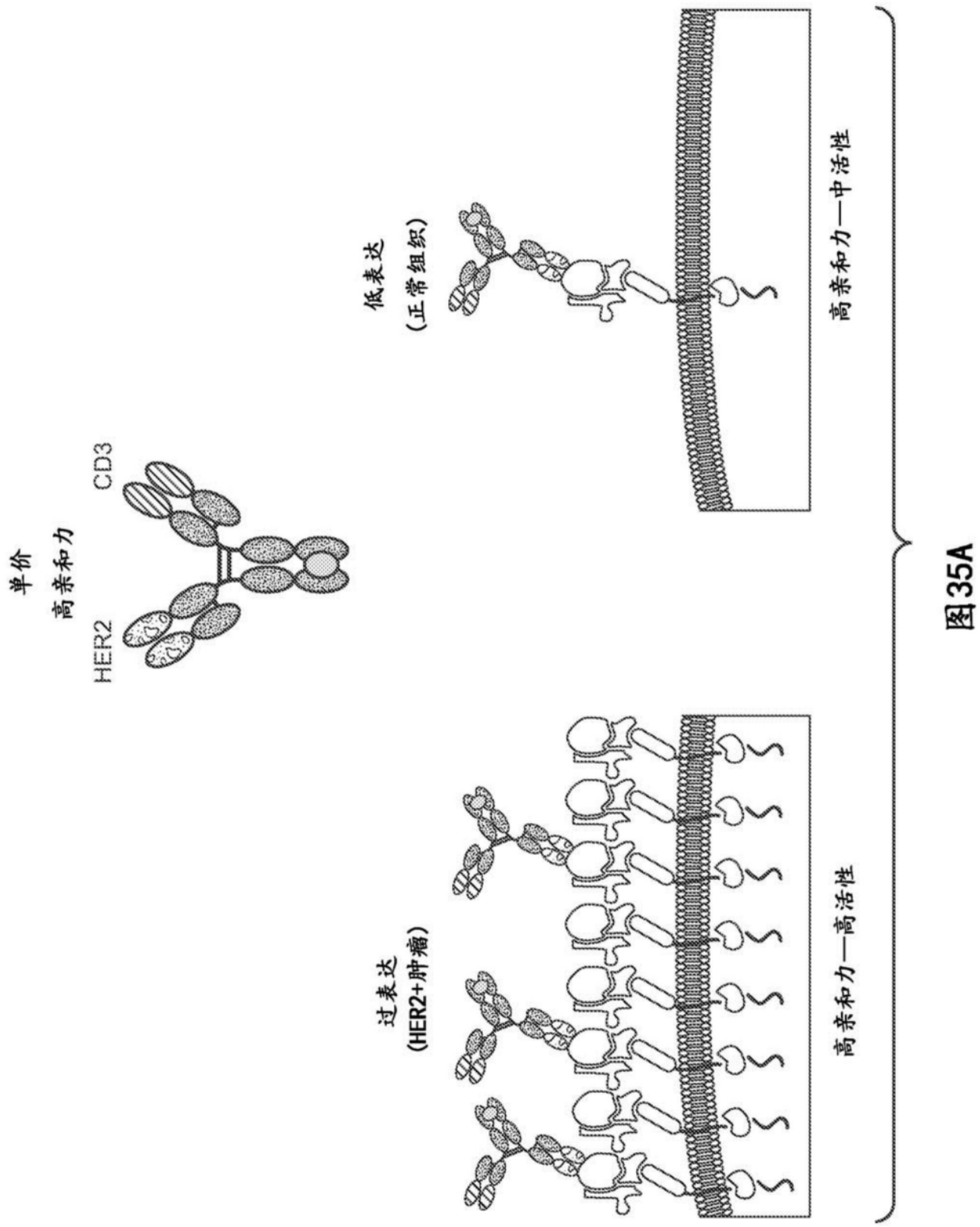


图35A

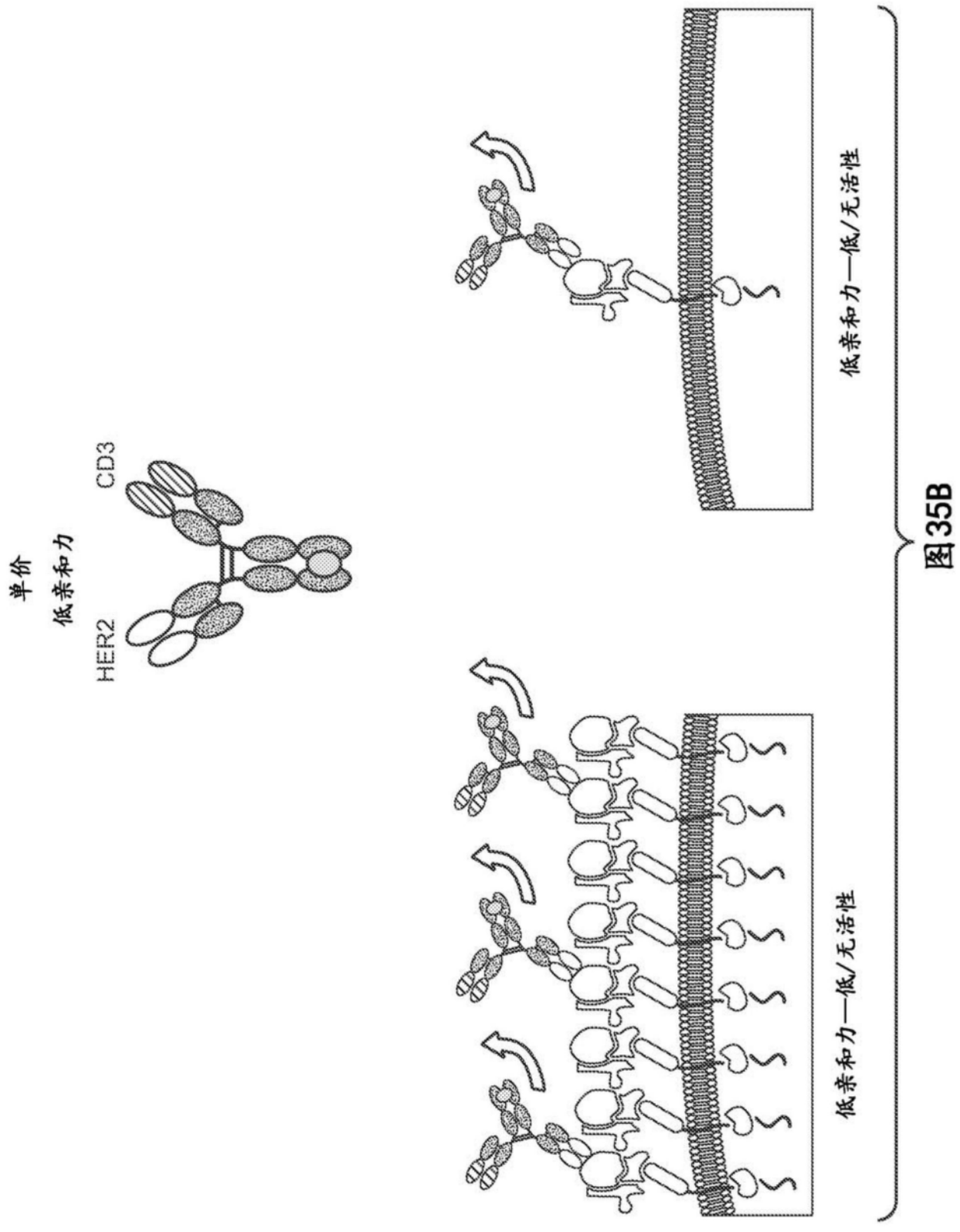


图35B

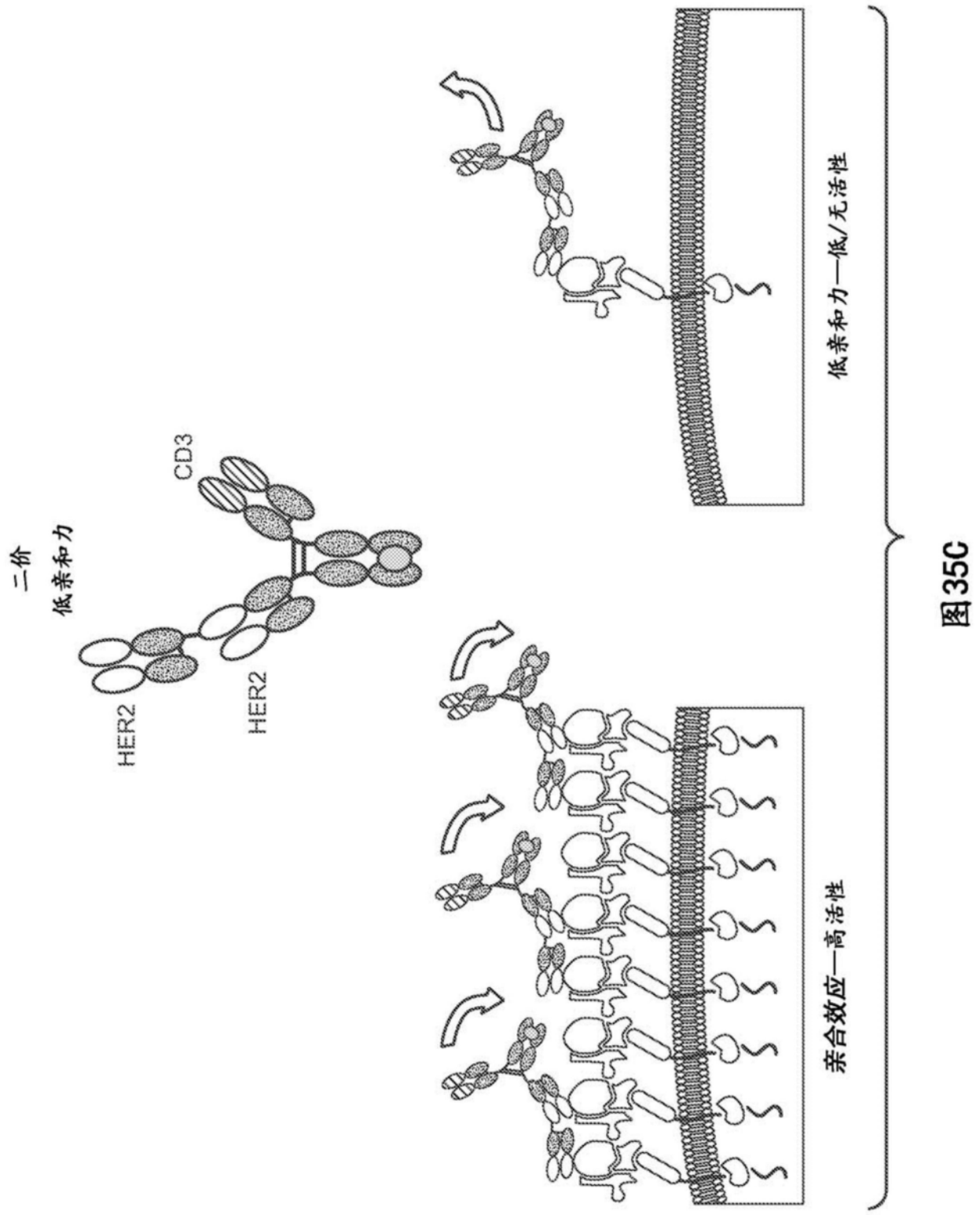


图35C

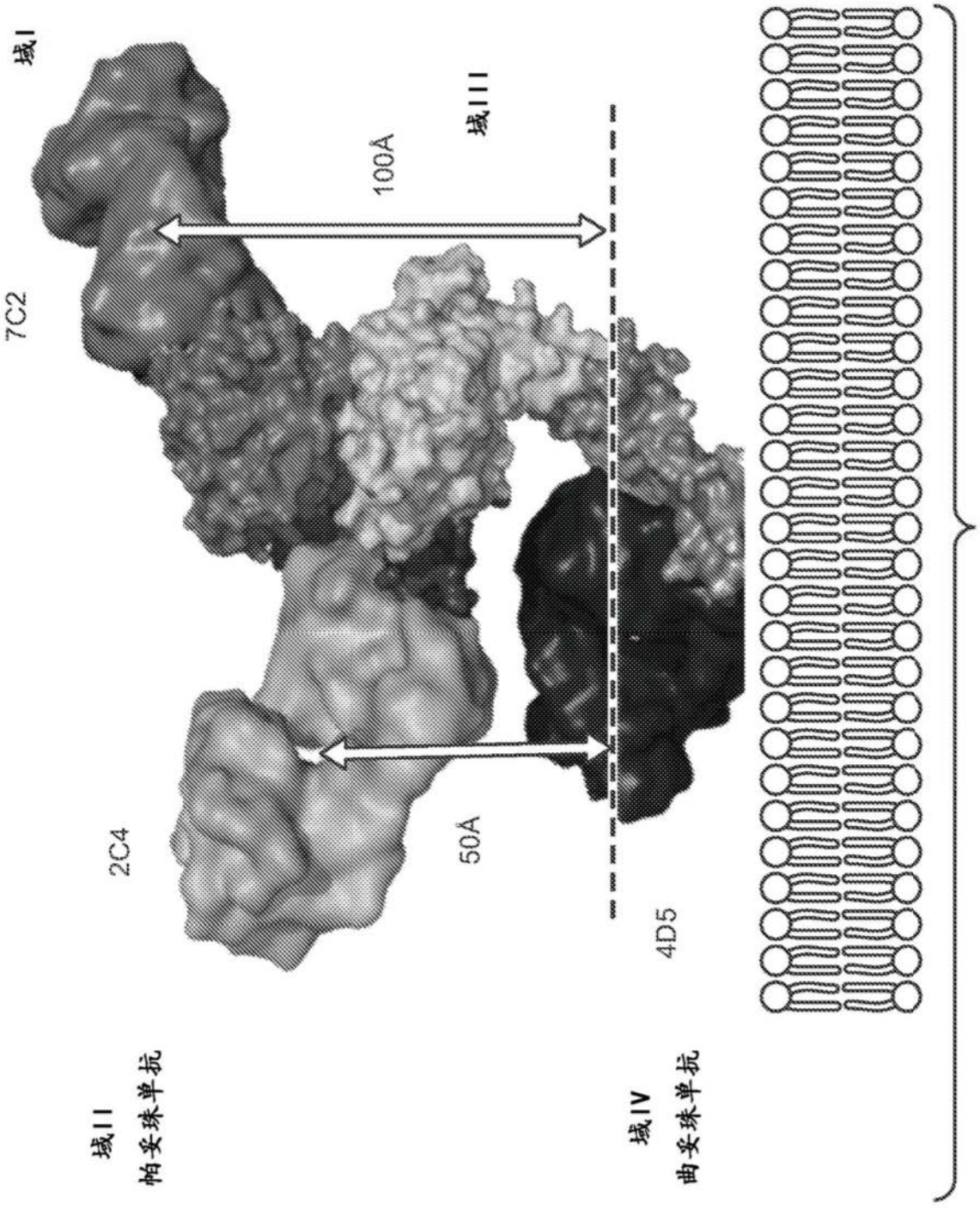


图36

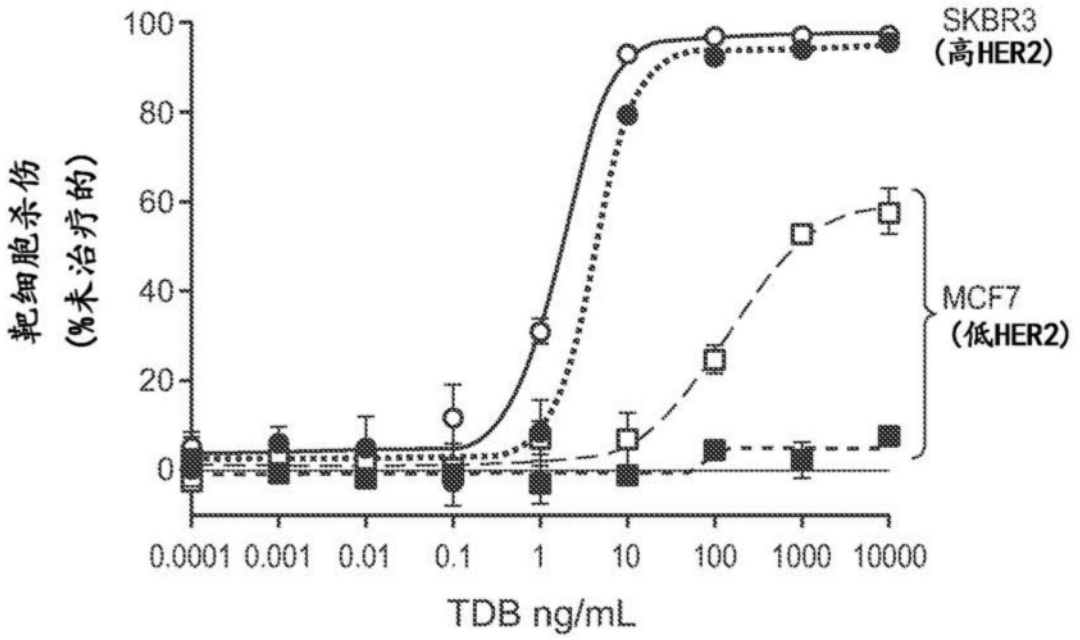

靶细胞杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
SKBR3
(高HER2)
MCF7
(低HER2)
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000 10000
TDB ng/mL

图37

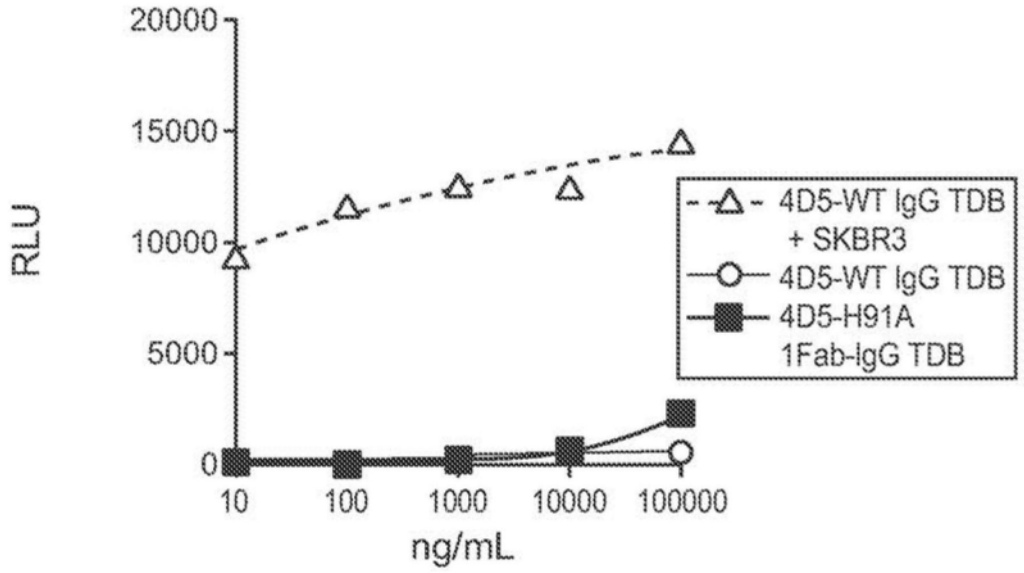

RLU
20000
15000
10000
5000
0
4D5-WT IgG TDB
+ SKBR3
4D5-WT IgG TDB
4D5-H91A
1Fab-IgG TDB
10 100 1000 10000 100000
ng/mL

图38A

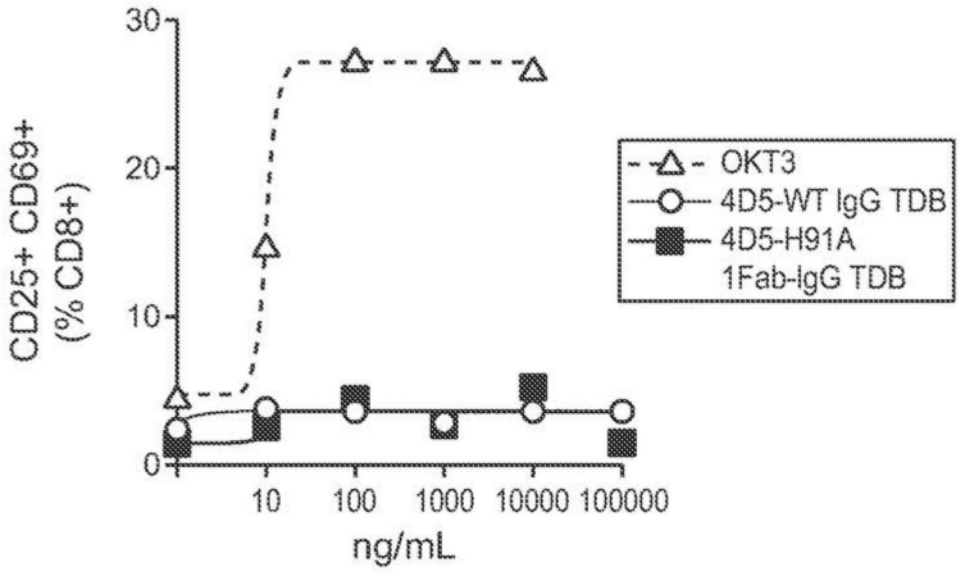

30
20
10
0
CD25+ CD69+
(% CD8+)
10
100
1000
10000
100000
ng/mL
OKT3
4D5-WT IgG TDB
4D5-H91A
1Fab-IgG TDB

图38B

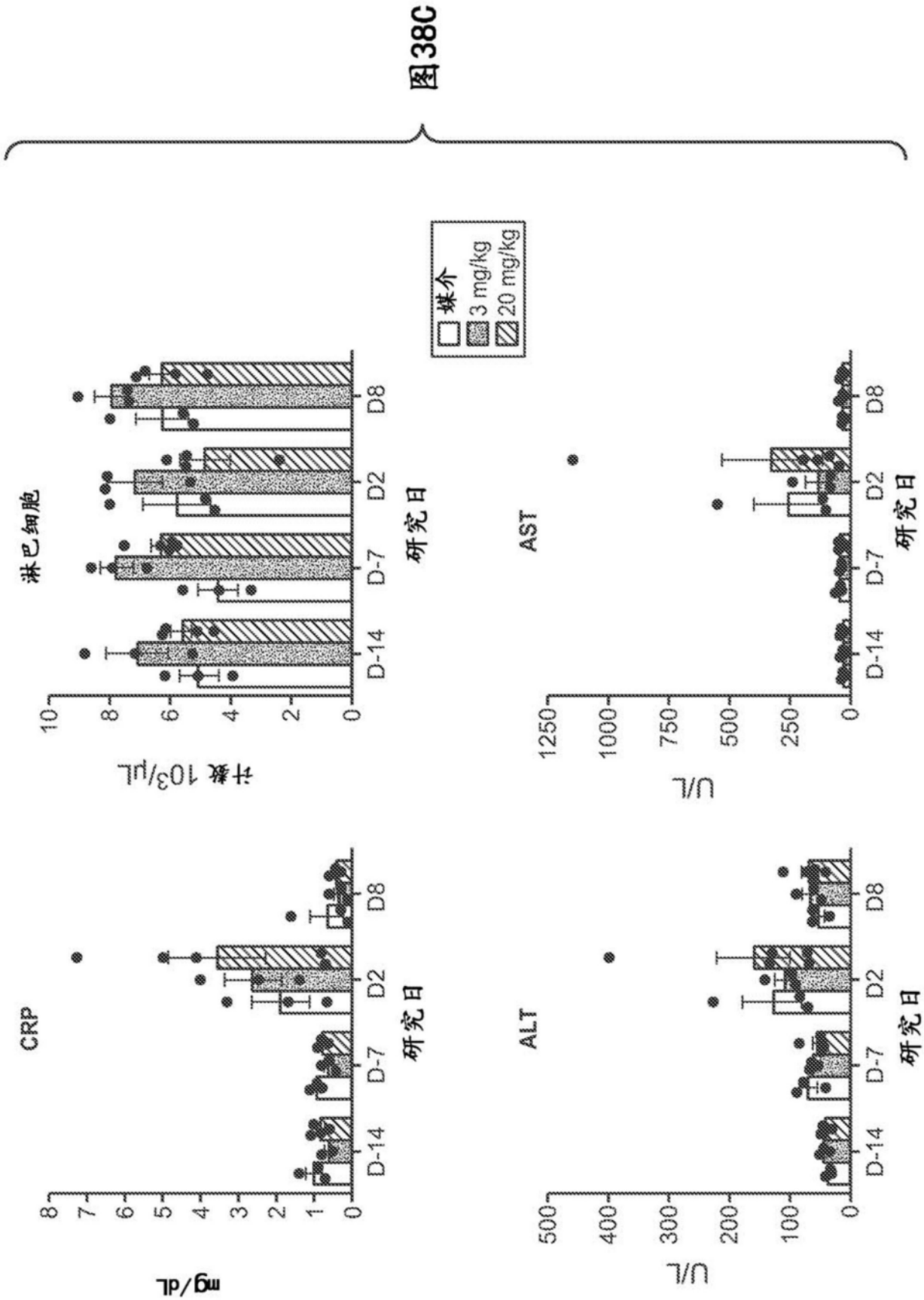
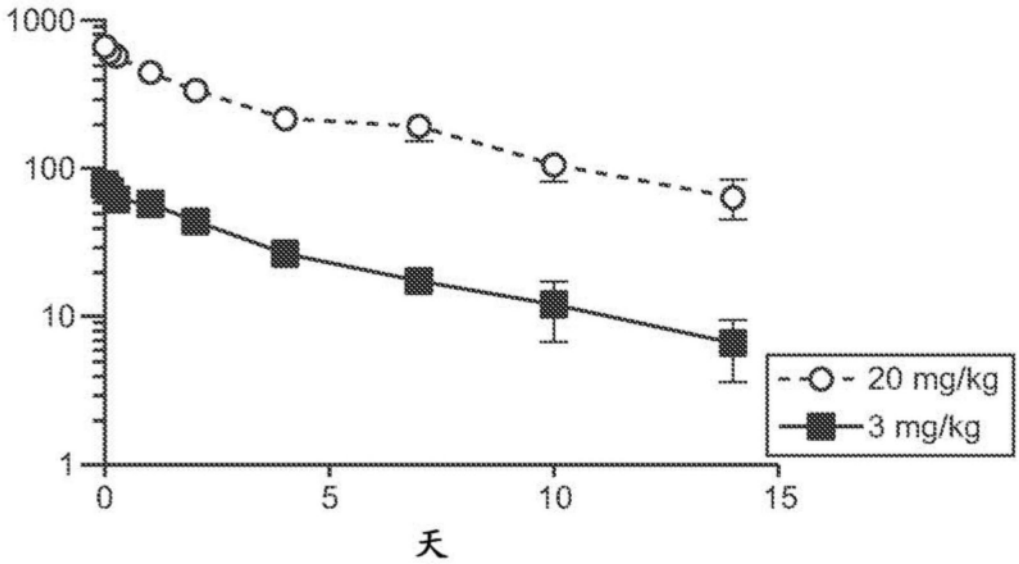

图38C
淋巴细胞
计数 10³/μL
研究日
媒介
3 mg/kg
20 mg/kg
AST
U/L
CRP
mg/dL
ALT
D-14
D-7
D2
D8

图38C



剂量水平	Cmax (μg/mL)	AUC (μg/mL- 天)	CL (mL/ 天 /kg)
3 mg/kg	74.8 ± 1.0	379 ± 65	8.1 ± 1.3
20 mg/kg	716 ± 38	3351 ± 538	6.1 ± 1.0

图38D

图38D

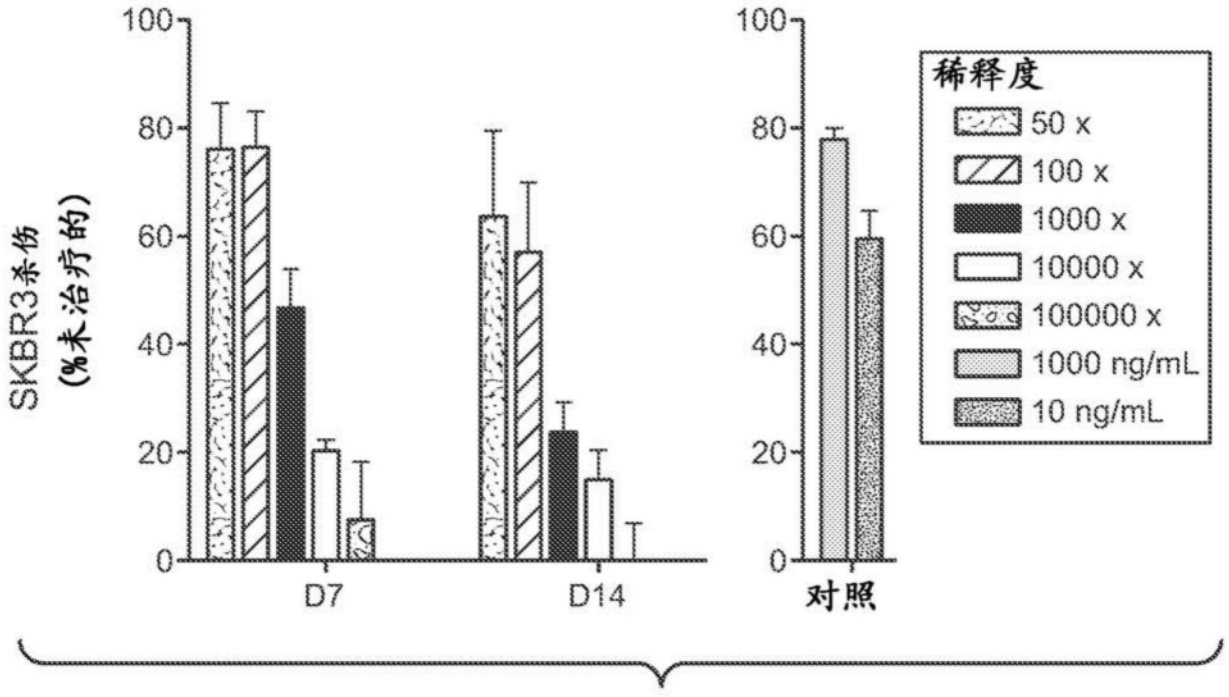

SKBR3杀伤
(%未治疗的)
100
80
60
40
20
0
D7
D14
对照
稀释度
50 x
100 x
1000 x
10000 x
100000 x
1000 ng/mL
10 ng/mL

图38E

图38E

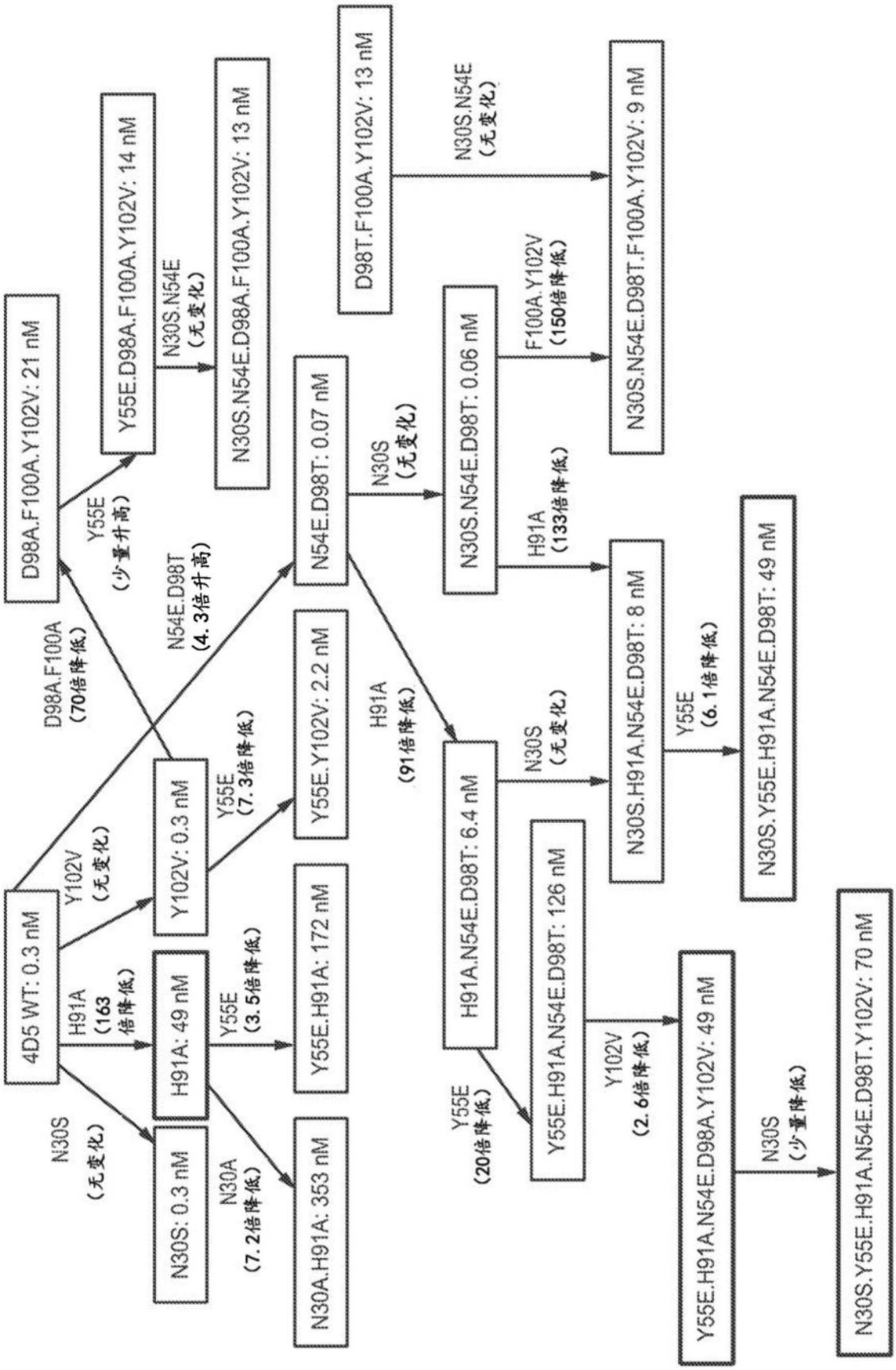

4D5 WT: 0.3 nM
H91A (163倍降低)
N30S (无变化)
Y102V (无变化)
N30S: 0.3 nM
H91A: 49 nM
Y102V: 0.3 nM
N30A (7.2倍降低)
Y55E (3.5倍降低)
Y55E (7.3倍降低)
N30A.H91A: 353 nM
Y55E.H91A: 172 nM
Y55E.Y102V: 2.2 nM
D98A.F100A (70倍降低)
N54E.D98T (4.3倍升高)
Y55E (少量升高)
D98A.F100A.Y102V: 21 nM
Y55E.D98A.F100A.Y102V: 14 nM
N30S.N54E (无变化)
N30S.N54E.D98A.F100A.Y102V: 13 nM
N54E.D98T: 0.07 nM
H91A (91倍降低)
N30S (无变化)
H91A.N54E.D98T: 6.4 nM
Y55E (20倍降低)
N30S (无变化)
Y55E.H91A.N54E.D98T: 126 nM
Y102V (2.6倍降低)
N30S.N54E.D98T: 0.06 nM
H91A (133倍降低)
F100A.Y102V (150倍降低)
D98T.F100A.Y102V: 13 nM
N30S.N54E (无变化)
N30S.H91A.N54E.D98T: 8 nM
Y55E (6.1倍降低)
N30S.N54E.D98T.F100A.Y102V: 9 nM
N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T: 49 nM
Y55E.H91A.N54E.D98A.Y102V: 49 nM
N30S (少量降低)
N30S.Y55E.H91A.N54E.D98T.Y102V: 70 nM

图39