



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110167963 B

(45) 授权公告日 2024. 06. 14

(21) 申请号 201780073449.2

(22) 申请日 2017.11.30

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110167963 A

(43) 申请公布日 2019.08.23

(30) 优先权数据
62/428,634 2016.12.01 US
62/473,738 2017.03.20 US
62/567,318 2017.10.03 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.05.23

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/064041 2017.11.30

(87) PCT国际申请的公布数据
W02018/102597 EN 2018.06.07

(73) 专利权人 瑞泽恩制药公司
地址 美国纽约州

(72) 发明人 J·M·奥兰格 J·阿林内
A·J·墨菲 G·D·扬科普洛斯

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所
11247
专利代理师 柴云峰 黄革生

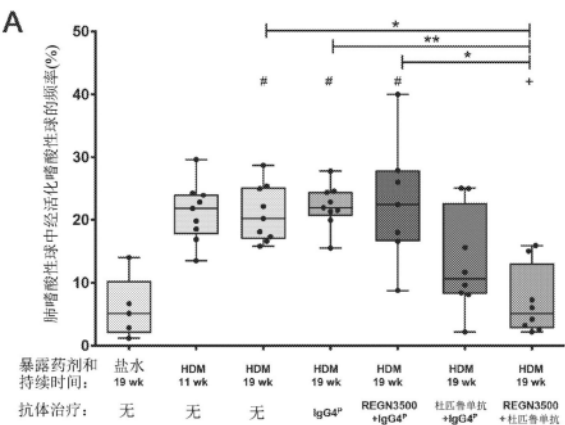
(51) Int.Cl.
C07K 16/24 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
C07K 14/715 (2006.01)

(56) 对比文件
EP 3027015 A1,2016.06.08
Anonymous等.Evaluation of SAR440340
and as Combination Therapy With Dupilumab
in Moderate-to Severe Asthma Patients.
《ClinicalTrials.gov》.2018,

审查员 张婷
权利要求书2页 说明书66页
序列表114页 附图10页

(54) 发明名称
治疗发炎病况的方法

(57) 摘要
本发明提供用于治疗与升高的IL-33和IL-4含量相关或部分地由其引起的发炎疾病或病况、具体来说发炎肺病症的方法。本发明的所述方法包括单独或与一个或多个治疗有效剂量的IL-4R拮抗剂组合向有需要的个体施用一个或多个治疗有效剂量的IL-33拮抗剂。在某些实施例中,本发明的所述方法包括使用所述拮抗剂来治疗部分地由增强的IL-33介导的信号传导和IL-4介导的信号传导介导的任一发炎疾病或病况。



1. 白细胞介素-33 (IL-33) 拮抗剂与白细胞介素-4受体 (IL-4R) 拮抗剂组合在制备药物中的用途, 所述药物用于降低过敏原诱发的肺发炎的严重性,

其中所述IL-33拮抗剂是包括重链可变区 (HCVR) 和轻链可变区 (LCVR) 的单克隆抗体, 所述重链可变区包含三个重链互补决定区 (HCDR): HCDR1、HCDR2和HCDR3, 所述三个重链互补决定区分别由SEQ ID NO: 276、278和280的氨基酸序列组成, 所述轻链可变区包含三个轻链互补决定区 (LCDR): LCDR1、LCDR2和LCDR3, 所述三个轻链互补决定区分别由SEQ ID NO: 284、286和288的氨基酸序列组成, 及

其中所述IL-4R拮抗剂是包括HCVR和LCVR的单克隆抗体, 所述HCVR包含三个HCDR: HCDR1、HCDR2和HCDR3, 所述三个HCDR分别由SEQ ID NO: 339、340和341的氨基酸序列组成, 所述LCVR包含三个LCDR: LCDR1、LCDR2和LCDR3, 所述三个LCDR分别由SEQ ID NO: 342、343和344的氨基酸序列组成。

2. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述药物用于患有气喘的受试者。

3. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述药物用于患有慢性阻塞性肺病 (COPD) 的受试者。

4. 根据权利要求1所述的用途, 其中包含IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂的药物与一种或多种用于减轻所述发炎疾病或病症的其它治疗剂组合使用。

5. 根据权利要求4所述的用途, 其中所述一种或多种其它治疗剂选自自由以下组成的群组: 非类固醇抗炎剂 (NSAID)、皮质类固醇、支气管扩张剂、抗组织胺、肾上腺素、去充血剂、胸腺基质淋巴生成素 (TSLP) 拮抗剂、IL-1拮抗剂、IL-8拮抗剂、IL-13拮抗剂、不同IL-4拮抗剂、IL-4/IL-13双重拮抗剂、IL-33/IL-13双重拮抗剂、IL-5拮抗剂、IL-6拮抗剂、IL-12/23拮抗剂、IL-22拮抗剂、IL-25拮抗剂、IL-17拮抗剂、IL-31拮抗剂、TNF抑制剂、IgE抑制剂、白三烯抑制剂、口服PDE4抑制剂、甲基黄嘌呤、奈多罗米钠、色甘酸钠、长效 β_2 激动剂 (LABA)、长效蕈毒碱拮抗剂 (LAMA)、吸入皮质类固醇 (ICS) 和另一IL-33拮抗剂。

6. 根据权利要求5所述的用途, 其中所述另一IL-33拮抗剂选自自由以下组成的群组: 针对IL-33的不同抗体、基于IL-33受体的不同阱、ST2抗体、可溶性ST2受体、针对除ST2以外的IL-33受体的拮抗剂、IL-1RAcP拮抗剂和与IL-33/ST2复合物发生相互作用的抗体。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的用途, 其中所述IL-33拮抗剂和所述IL-4R拮抗剂分开调配。

8. 根据权利要求1-6中任一项所述的用途, 其中所述IL-33拮抗剂和所述IL-4R拮抗剂共调配。

9. 根据权利要求1-6中任一项所述的用途, 其中所述IL-33拮抗剂和所述IL-4R拮抗剂被调配以经皮下、静脉内、肌内或鼻内施用于受试者。

10. 根据权利要求1-6中任一项所述的用途, 其中所述IL-33拮抗剂包括HCVR和LCVR, 所述HCVR由SEQ ID NO: 274的氨基酸序列组成或由与SEQ ID NO: 274的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的序列组成, 所述LCVR由SEQ ID NO: 282的氨基酸序列组成或由与SEQ ID NO: 282的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的序列组成。

11. 根据权利要求1-6中任一项所述的用途, 其中所述IL-4R拮抗剂包括HCVR和LCVR, 所述HCVR由SEQ ID NO: 337的氨基酸序列组成或由与SEQ ID NO: 337的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的序列组成, 所述LCVR由SEQ ID NO: 338的氨基酸序列组成或由与SEQ ID

N0:338的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的序列组成。

12.根据权利要求1-6中任一项所述的用途,其中所述IL-33拮抗剂包括由SEQ ID NO:274的氨基酸序列组成的HCVR和由SEQ ID NO:282的氨基酸序列组成的LCVR,并且其中所述IL-4R拮抗剂包括由SEQ ID NO:337的氨基酸序列组成的HCVR和由SEQ ID NO:338的氨基酸序列组成的LCVR。

治疗发炎病况的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及治疗发炎病况的方法,其包括单独或与白细胞介素-4(IL-4)拮抗剂组合向有需要的个体施用治疗有效量的白细胞介素-33(IL-33)拮抗剂。更特定来说,本发明涉及通过单独或与白细胞介素-4R(IL-4R)抗体组合施用治疗有效量的白细胞介素-33(IL-33)抗体来治疗发炎或阻塞性肺疾病或病症。

背景技术

[0002] 发炎是始于宿主的保护性反应,但其通常可以引起全身性病状。例如气喘、过敏和慢性阻塞性肺病(COPD)等发炎性肺病在发达国家正在增加,从而对健康照护成本造成巨大后果。若干种发炎细胞和其调介剂参与所述疾病的发展和进展。在某些情形下,所述疾病反映2型免疫性的结果,其特征为组织经嗜酸性球、嗜碱性球、肥大细胞、CD4+T辅助2(Th2)细胞、第2组先天淋巴样细胞(ILC2)、白细胞介素-4(IL-4)和/或IL-13诱发的巨噬细胞浸润,以及血清IgE升高和细胞介素IL-4、IL-5、IL-9和IL-13增加。

[0003] 据信在发炎性肺病中起作用的一种细胞介素是白细胞介素-33(IL-33),其是由受损的上皮组织响应危害(例如过敏原、病毒或吸烟)而释放的促发炎细胞介素。IL-33是白细胞介素-1(IL-1)家族的成员,其可以有效驱动T辅助细胞-2(Th2)相关细胞介素(例如,IL-4)的产生。IL-33是由多种细胞类型表达,所述细胞包括纤维母细胞、肥大细胞、树突细胞、巨噬细胞、成骨细胞、内皮细胞和上皮细胞。白细胞介素-33(IL-33)是ST2(有时称作“致肿瘤抑制因子2”) (类铎/白细胞介素-1受体超家族成员)的配体,其与辅助蛋白IL-1RAcP(“白细胞介素-1受体辅助蛋白”,综述参见例如Kakkar和Lee,《自然综述-药物发现》(Nature Reviews-Drug Discovery) 7(10):827-840(2008),Schmitz等人,《免疫》(Immunity) 23:479-490(2005);Liewet等人,《自然综述-免疫学》(Nature Reviews-Immunology) 10:103-110(2010);US 2010/0260770;US 2009/0041718) 缔合。在ST2/IL-1RAcP由IL-33活化之后,信号传导级联借助下游分子(例如MyD88(髓样分化因子88)和TRAF6(TNF受体相关因子6))被触发,从而尤其导致NF κ B(核因子- κ B)的活化。IL-33信号传导已经被视为多种疾病和病症(包括本文所公开的发炎性肺病)中的因素。(Liewet等人,《自然综述-免疫学》(Nature Reviews-Immunology) 10:103-110(2010))。IL-33信号传导的抑制剂已阐述于以下各项中:例如US9,453,072;US8187596;US2013/17373761;US2014/0212412;US2014/0271658;US2014/0271642;US2014/0004107;W02015/099175;W02015/106080;W02011/031600;W02014/164959;W02014/152195;W02013/165894;W02013/173761;EP1725261;EP1081592IA1;和EP2850103A2。

[0004] 白细胞介素-4(IL-4,也称为B细胞刺激因子或BSF-1)还一直被视为驱动过敏和2型T辅助细胞(Th2)极化发炎过程的关键细胞介素。已显示IL-4具有广谱生物活性,包括生长刺激T细胞、肥大细胞、颗粒球、巨核细胞和红血球。IL-4诱导静息B细胞中II类主要组织相容性复合分子的表达,并且增强受刺激B细胞对IgE和IgG1同型的分泌。IL-4的生物活性是由IL-4的特定细胞表面受体介导的。人类IL-4受体 α (hIL-4R)(SEQ ID NO:347)阐述于

(例如)美国专利第5,599,905号、第5,767,065号和第5,840,869号中。针对hIL-4R的抗体阐述于美国专利第5,717,072号、第7,186,809号和第7,605,237号中。使用针对hIL-4R的抗体的方法阐述于美国专利第5,714,146号、第5,985,280号、第6,716,587号和第9,290,574号中。

[0005] 用于治疗肺炎疾病的当前疗法在罹患(例如)气喘和慢性阻塞性肺病(COPD)的患者中、特别是在减轻恶化方面为安全性和功效的改良留有显著空间。尽管抗发炎和支气管扩张剂药物的多种吸入型组合可用,但许多患者继续经历恶化。恶化可能需要使用全身性皮质类固醇,所述皮质类固醇由于其广泛免疫中和能力而有效,但充满了不期望的副作用,包括骨损失和感染。若干生物疗法(其大部分靶向单一免疫调介剂)正处于针对气喘和COPD的晚期研发中。然而,由于发炎环境的复杂性,所述药剂的使用将可能受限。

[0006] 因此,业内急需用于治疗/或预防发炎性肺病的疗法的新颖组合,例如本文所阐述的那些。

发明内容

[0007] 根据本发明的某些方面,提供用于治疗发炎疾病或病症或与所述发炎疾病或病症相关的至少一种症状的方法,所述方法包括向有需要的患者向有需要的个体施用一个或多个剂量的治疗有效量的单独白细胞介素-33(IL-33)拮抗剂或其与一个或多个剂量的治疗有效量的白细胞介素-4(IL-4)拮抗剂的组合或包含IL-33拮抗剂和IL-4 α 拮抗剂的药物组合物。在一个实施例中,与施用单独IL-33拮抗剂或单独IL-4拮抗剂所观察到的相比,与IL-4拮抗剂组合施用IL-33拮抗剂引起增强的治疗功效。

[0008] 在某些实施例中,IL-33拮抗剂是能阻断、减弱或以其它方式干扰IL-33信号传导和/或IL-33与细胞受体(例如ST2)或共受体(例如IL-1RAcP)或其复合物之间的相互作用的任一药剂。上文中的任一个可以阻断或抑制IL-33的至少一种生物活性。

[0009] 在某些实施例中,IL-33拮抗剂是结合至IL-33或与IL-33发生相互作用并且阻断IL-33与其受体ST2的相互作用并且预防或阻止ST2与共受体IL-1RAcP发生相互作用或阻止信号传导复合物形成的抗体。在一个实施例中,IL-33拮抗剂是特异性结合至人类IL-33或与人类IL-33特定地相互作用的单株抗体。在一个实施例中,IL-33拮抗剂是特异性结合至人类IL-33或与人类IL-33特定地相互作用的基于受体的阱。

[0010] 在一个实施例中,IL-4拮抗剂是白细胞介素-4受体(IL-4R)拮抗剂。

[0011] 在一个实施例中,IL-4R拮抗剂是任一结合至IL-4R α 或IL-4R配体或与IL-4R α 或IL-4R配体相互作用且抑制或减弱1型和/或2型IL-4受体的正常生物信号传导功能的药剂。在一个实施例中,IL-4R拮抗剂是特异性结合至人类IL-4R α 的单株抗体。在一个实施例中,IL-4R拮抗剂是结合IL-4R α 并且阻断通过I型或II型受体的IL-4和IL-13介导的信号传导的单株抗体。在一个实施例中,特异性结合至人类IL-4R α 并且阻断IL-4和IL-13介导的信号传导的单株抗体是杜匹鲁单抗(dupilumab)或其生物等效物。在一个实施例中,治疗发炎病症或病况的方法是借助使用具有SEQ ID NO:274/282的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对的REGN3500和具有SEQ ID NO:337/338的HCVR/LCVR氨基酸序列对的杜匹鲁单抗的组合来实现。

[0012] 在一个实施例中,可以通过本发明方法治疗的发炎疾病或病症选自自由以下组成的

群组：气喘、慢性阻塞性肺病 (COPD)、气喘和COPD重叠综合症 (ACOS)、异位性皮肤炎、鼻息肉、过敏反应、慢性支气管炎、肺气肿、伴或不伴鼻息肉的慢性鼻窦炎、发炎性肠病、克罗恩氏病 (Crohn's disease)、溃疡性结肠炎、过敏性肺炎、多发性硬化、关节炎 (, 包括骨关节炎、类风湿性关节炎、或牛皮癣性关节炎)、过敏性鼻炎、纤维变性、嗜酸性球性食道炎、血管炎、荨麻疹、许-施二氏综合症 (Churg Strauss syndrome)、发炎性疼痛和牛皮癣。

[0013] 在一个实施例中, 气喘是嗜酸性球性气喘。

[0014] 在一个实施例中, 气喘是非嗜酸性球性气喘。

[0015] 在一个实施例中, 气喘是过敏性气喘。

[0016] 在一个实施例中, 气喘是非过敏性气喘。

[0017] 在一个实施例中, 气喘是严重难治性气喘。

[0018] 在一个实施例中, 气喘是类固醇抗性气喘。

[0019] 在一个实施例中, 气喘是类固醇敏感性气喘。

[0020] 在一个实施例中, 气喘是类固醇难治性气喘。

[0021] 在一个实施例中, 气喘是气喘恶化。

[0022] 在一个实施例中, 发炎疾病或病症的严重性、持续时间或发生频率减轻或降低, 或与所述发炎疾病或病症相关的至少一种症状的严重性、持续时间或发生频率减轻或降低。

[0023] 在一个实施例中, 单独或与一个或多个剂量的治疗有效量的IL-4R拮抗剂组合向有需要的个体施用治疗有效量的一个或多个剂量的IL-33拮抗剂引起增强的治疗功效, 如通过以下参数中的任何一个或多个所测量:

[0024] a) 组织试样中以下中的一个或多个的频率降低: 嗜酸性球、经活化的B细胞、经活化的CD8T细胞; 或CD4/CD8T细胞的比率降低;

[0025] b) 以下中的一个或多个的降低: 组织试样中的白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-4 (IL-4)、白细胞介素-5 (IL-5)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-13 (IL-13)、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 或肿瘤坏死因子 α (TNF α) 含量; 或

[0026] c) 以下中的一个或多个的基因表达程度的降低: 组织试样中的I14、I15、I16、I19、I113、I11r11、I113ra2、tnf、Tgfb1、Ccl2、Ccl11、Ccl24、Col15a1或Col24a1。

[0027] 在一个实施例中, 单独或与一个或多个剂量的治疗有效量的IL-4R拮抗剂组合向有需要的个体施用治疗有效量的一个或多个剂量的IL-33拮抗剂引起增强的治疗功效, 如通过以下中的一个或多个进一步测量:

[0028] d) 血清IgE含量的降低

[0029] e) 肺中杯状细胞化生的降低;

[0030] f) 肺实变的改良; 或

[0031] g) 肺中上皮下纤维变性的降低。

[0032] 在一个实施例中, 组织试样是从肺获得。

[0033] 在一个实施例中, 组织试样选自自由肝脏、肾脏、心脏或全血组成的群组。在某些实施例中, 血球、血清或血浆可以用于测量上述参数中的一个或多个。

[0034] 在一个实施例中, 可以通过本发明方法治疗的慢性阻塞性肺病因以下中的一个或多个而恶化: 气喘、病毒疾病、细菌感染、暴露于过敏原、暴露于化学品或化学烟雾或暴露于环境刺激物或空气污染。

[0035] 在相关实施例中,可以通过本发明方法治疗的气喘因以下中的一个或多个而恶化:病毒疾病、细菌感染、暴露于过敏原、暴露于化学品或化学烟雾或暴露于环境刺激物或空气污染。

[0036] 在某一实施例中,可以通过本发明方法治疗的气喘选自以下组成的群组:嗜酸性球性气喘、非嗜酸性球性气喘、类固醇抗性气喘和类固醇敏感性气喘。

[0037] 在一个实施例中,可以通过本发明方法治疗的慢性阻塞性肺病部分地由香烟烟雾引起或恶化。

[0038] 在一个实施例中,罹患可以通过本发明方法治疗的慢性阻塞性肺病的患者可以或可以不展现嗜酸性球数量的增加。

[0039] 在一个实施例中,罹患可以通过本发明方法治疗的气喘和COPD重叠综合症 (ACOS) 的患者可以或可以不展现嗜酸性球数量的增加。

[0040] 本发明的第二方面提供治疗发炎疾病或病症或与所述发炎疾病或病症相关的至少一种症状,其是通过与治疗有效量的白细胞介素-33 (IL-33) 拮抗剂 (例如IL-33抗体或IL-33拮) 和治疗有效量的白细胞介素-4 (IL-4) 拮抗剂 (例如IL-4R抗体,例如杜匹鲁单抗) 或其治疗等效物组合施用有效量的一种或多种可以用于减轻发炎疾病或病症或发炎疾病或病症的至少一种症状的其它治疗剂达成。

[0041] 在一个实施例中,一种或多种其它治疗剂选自以下组成的群组:非类固醇抗炎剂 (NSAID)、皮质类固醇 (例如吸入皮质类固醇或ICS)、长效 β 2肾上腺素激动剂 (LABA)、长效蕈毒碱拮抗剂 (LAMA)、支气管扩张剂、抗组织胺、肾上腺素、去充血剂、胸腺基质淋巴生成素 (TSLP) 拮抗剂、IL-1拮抗剂、IL-8拮抗剂、IL-13拮抗剂、不同IL-4拮抗剂、IL-4/IL-13双重拮抗剂、IL-33/IL-13双重拮抗剂、IL-5拮抗剂、IL-6拮抗剂、IL-12/23拮抗剂、IL-22拮抗剂、IL-25拮抗剂、IL-17拮抗剂、IL-31拮抗剂、TNF抑制剂、IgE抑制剂、白三烯抑制剂、口服PDE4抑制剂、甲基黄嘌呤、奈多罗米钠 (nedocromil sodium)、色甘酸钠、长效 β 2激动剂和另一IL-33拮抗剂 (例如抗IL-33的不同抗体、基于IL-33受体的不同拮、ST2拮抗剂 (包括针对ST2的抗体或可溶性ST2受体),或针对除ST2以外的另一IL-33受体的拮抗剂,或IL-1RAcP拮抗剂 (包括抗IL-1RAcP的抗体),或与IL-33/ST2复合物相互作用的抗体)。

[0042] 在一些实施例中,本发明提供治疗中度至严重慢性阻塞性肺病 (COPD) 的方法,其包括除背景疗法 (包括 (例如) 吸入皮质类固醇 (ICS) 和/或长效 β 2肾上腺素激动剂 (LABA) 和/或长效蕈毒碱拮抗剂 (LAMA)) 以外,伴随施用IL-4R拮抗剂 (例如杜匹鲁单抗) 和IL-33拮抗剂 (例如REGN3500)。

[0043] 在某些实施例中,本发明提供降低“气喘失控” (LOAC) 事件的发生率的方法,其包括利用IL-4R拮抗剂 (例如杜匹鲁单抗) 与IL-33拮抗剂 (例如REGN3500) 的组合治疗罹患气喘的患者。在某些实施例中,组合使用IL-4R拮抗剂与IL-33拮抗剂提供比施用单独IL-4R拮抗剂或单独IL-33拮抗剂更有效的结果。

[0044] 在相关实施例中,与IL-4R拮抗剂组合施用IL-33拮抗剂引起1型免疫反应的增加和/或由疾病或由疾病或过敏的致病物质引发的2型免疫反应的降低。

[0045] 本发明的第三方面提供治疗纤维变性疾病或病症或与纤维变性疾病或病症相关的至少一种症状的方法,所述方法包括向有需要的患者施用特异性结合至IL-33的IL-33拮抗剂 (IL-33抗体或IL-33拮) 和特异性结合至IL-4R α 的抗体或其抗原结合片段的组合或包

含IL-33拮抗剂和IL-4 α 拮抗剂的药物组合物,其中所述纤维变性疾病或病症的严重性或持续时间减轻或降低,或与纤维变性疾病或病症相关的至少一种症状的严重性、持续时间或发生频率减轻或降低。在一个实施例中,利用IL-33拮抗剂与IL-4R拮抗剂的组合治疗纤维变性疾病可以使得纤维变性组织恢复至其正常状态。

[0046] 在一个实施例中,可以通过与本文所阐述的IL-4R α 抗体组合施用本发明的抗IL-33和IL-4R拮抗剂(例如IL-33抗体或IL-33拮)来治疗的纤维变性疾病或病症包括肺纤维变性(例如,特发性肺纤维变性、博来霉素(bleomycin)诱发的肺纤维变性、石棉诱发的肺纤维变性和闭塞性细支气管炎综合症)、慢性气喘、与急性肺损伤和急性呼吸窘迫相关的纤维变性(例如,细菌性肺炎诱发的纤维变性、创伤诱发的纤维变性、病毒肺炎诱发的纤维变性、呼吸机诱发的纤维变性、非肺败血症诱发的纤维变性和抽吸诱发的纤维变性)、硅肺病、辐射诱发的纤维变性、慢性阻塞性肺病(COPD,其可以或可以不与暴露于一手或二手香烟烟雾相关,部分地由其造成或由其引起)、硬皮症、眼部纤维变性、皮肤纤维变性(例如,硬皮症)、肝纤维变性(例如,硬化、酒精诱发的肝纤维变性、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、胆管损伤、原发性胆汁性硬化、感染诱发或病毒诱发的肝纤维变性、自体免疫肝炎、肾脏(肾)纤维变性、心脏纤维变性、动脉粥样硬化、支架再狭窄和骨髓纤维变性。

[0047] 本发明的第四方面提供预防过敏反应或降低过敏反应的严重性的方法,所述方法包括与一个或多个剂量的治疗有效量的IL-4R拮抗剂组合向有需要的个体施用一个或多个剂量的治疗有效量的IL-33拮抗剂,其中与施用单独IL-33拮抗剂或单独IL-4R拮抗剂所观察到的相比,所述组合的施用引起对于预防过敏反应或降低过敏反应的严重性增强的治疗功效。与IL-4R拮抗剂组合经IL-33拮抗剂治疗的个体可以展示降低的对过敏原的敏感性或减少的针对过敏原的过敏反应,或在施用IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂的组合或包含所述拮抗剂的组合物之后可以不经对过敏原的任何敏感性或过敏反应或对过敏原的过敏性反应。

[0048] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33拮抗剂是特异性结合至人类IL-33或与人类IL-33特定地相互作用的单株抗体或其抗原结合片段。IL-33抗体或其抗原结合片段可以阻断IL-33和ST2的相互作用,或其可以容许IL-33以低亲和力结合至ST2受体。如此,可以阻止ST2与IL-1RAcP发生相互作用。因此,本发明的IL-33抗体尤其可以用于抑制IL-33介导的信号传导并且可以用于治疗由IL-33活性和/或信号传导造成或与其相关的疾病和病症。

[0049] 在一个实施例中,IL-33抗体或其抗原结合片段在施用患有过敏原诱发的肺炎炎的哺乳动物时可以降低嗜酸性球、CD4⁺T细胞、B细胞、T细胞群体中的ST2⁺/CD4⁺细胞中的一个或多个的频率,或降低肺中CD4/CD8T细胞的比率。

[0050] 在一个实施例中,IL-33抗体或其抗原结合片段在施用患有过敏原诱发的肺炎炎的哺乳动物时降低肺中的IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-13、Ccl2、Ccl11、Ccl12或MCP-1中的一个或多个的表达程度。

[0051] 在一个实施例中,IL-33抗体或其抗原结合片段在施用患有过敏原诱发的肺炎炎的哺乳动物时降低肺中的血清IgE含量、杯状细胞化生或上皮胶原蛋白厚度。

[0052] 在某些实施例中,可以用于本发明方法中的特异性结合至人类IL-33的IL-33抗体或其抗原结合片段包含三条重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3),所述重链CDR含于选自由以下

组成的群组的重链可变区 (HCVR) 氨基酸序列内:SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290和308;并且包含三条轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3),所述轻链CDR含于选自由以下组成的群组的轻链可变区 (LCVR) 氨基酸序列内:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298和316。

[0053] 在某些实施例中,可以用于本发明方法中的特异性结合至人类IL-33的IL-33抗体或其抗原结合片段包含具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性的基本类似序列的重链可变区 (HCVR):SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290和308。

[0054] 根据某些实施例,用于本发明方法中的抗IL-33抗体或其抗原结合片段包含具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性的基本类似序列的轻链可变区 (LCVR):SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298和316。

[0055] 根据某些实施例,用于本发明方法中的抗IL-33抗体或其抗原结合片段包含选自由以下组成的群组的HCVR和LCVR (HCVR/LCVR) 序列对:SEQ ID NO:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298和308/316。

[0056] 根据某些实施例,用于本发明方法中的抗IL-33抗体或其抗原结合片段包含具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性的基本类似序列的重链CDR3 (HCDR3) 结构域:SEQ ID NO:8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296和314;和具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性的基本类似序列的轻链CDR3 (LCDR3) 结构域:SEQ ID NO:16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304和322。

[0057] 根据某些实施例,用于本发明方法中的抗IL-33抗体或其抗原结合片段包含选自由以下组成的群组的HCDR3/LCDR3氨基酸序列对:SEQ ID NO:8/16、24/32、40/48、56/64、72/80、88/96、104/112、120/128、136/144、152/160、168/176、184/192、200/208、216/224、232/240、248/256、264/272、280/288、296/304和314/322。

[0058] 根据某些实施例,用于本发明方法中的抗IL-33抗体或其抗原结合片段进一步包含具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性的基本类似序列的重链CDR1 (HCDR1) 结构域:SEQ ID NO:4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292和310;具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性的基本类似序列的重链CDR2 (HCDR2) 结构域:SEQ ID NO:6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294和312;具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性的基本类似序列的轻链CDR1 (LCDR1) 结构域:SEQ ID NO:12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300和318;和具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性的基本类似序列的轻链CDR2 (LCDR2) 结

构域:SEQ ID NO:14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302和320。

[0059] 可以用于本发明方法中的某些非限制性、例示性抗IL-33抗体和抗原结合片段包含HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3结构域,其分别具有选自以下组成的群组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4-6-8-12-14-16(例如H1M9559N);20-22-24-28-30-32(例如H1M9566N);36-38-40-44-46-48(例如H1M9568N);52-54-56-60-62-64(例如H4H9629P);68-70-72-76-78-80(例如H4H9633P);84-86-88-92-94-96(例如H4H9640P);100-102-104-108-110-112(例如H4H9659P);116-118-120-124-126-128(例如H4H9660P);132-134-136-140-142-144(例如H4H9662P);148-150-152-156-158-160(例如,H4H9663P);164-166-168-172-174-176(例如H4H9664P);180-182-184-188-190-192(例如,H4H9665P);196-198-200-204-206-208(例如H4H9666P);212-214-216-220-222-224(例如H4H9667P);228-230-232-236-238-240(例如H4H9670P);244-246-248-252-254-256(例如H4H9671P);260-262-264-268-270-272(例如H4H9672P);276-278-280-284-286-288(例如H4H9675P);292-294-296-300-302-304(例如H4H9676P);和310-312-314-318-320-322(H1M9565N)。

[0060] 根据某些实施例,用于本发明方法中的用于(例如)治疗发炎病况的抗IL-33抗体或其抗原结合片段包含含于选自以下组成的群组的重链和轻链可变区(HCVR/LCVR)序列内的重链和轻链CDR结构域:SEQ ID NO:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298和308/316。鉴别HCVR和LCVR氨基酸序列内的CDR的方法和技术是本领域众所周知的并且可以用于鉴别本文所公开的指定HCVR和/或LCVR氨基酸序列内的CDR。可以用于鉴别CDR的边界的例示性惯例包括(例如)Kabat定义、Chothia定义和AbM定义。概括来说,Kabat定义是基于序列可变性,Chothia定义是基于结构环区的位置,并且AbM定义是介于Kabat方法与Chothia方法之间的折中。例如参见,Kabat,“免疫目的的蛋白质序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest),”美国国立卫生研究院(National Institutes of Health),马里兰州贝塞斯达(Bethesda,Md.)(1991);A1-Lazikani等人,《分子生物学期刊》(J.Mol.Biol.)273:927-948(1997);和Martin等人,《美国国立科学院院报》(Proc.Natl.Acad.Sci.)USA86:9268-9272(1989)。公开数据库还可以用于鉴别抗体内的CDR序列。

[0061] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33抗体或抗原结合片段包含SEQ ID NO:274/282的HCVR/LCVR氨基酸序列对的重链和轻链CDR。

[0062] 在相关实施例中,用于本发明方法中的IL-33抗体或抗原结合片段包含分别SEQ ID NO:276-278-280-284-286-288的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3结构域。

[0063] 在一个实施例中,用于本发明方法中的特异性结合人类白细胞介素-33(IL-33)的抗体或抗原结合片段包含:(a)具有SEQ ID NO:274的氨基酸序列的重链可变区(HCVR);和(b)具有SEQ ID NO:282的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)。

[0064] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33抗体或抗原结合片段包含SEQ ID NO:274/282的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

[0065] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33抗体或其抗原结合片段与在SEQ ID NO:349的约位置1至约位置12范围内的氨基酸序列和/或与在SEQ ID NO:349的约位置50至

约位置94范围内的氨基酸序列发生相互作用,如通过氢/氘交换所测定。

[0066] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33抗体或其抗原结合片段与在SEQ ID NO:348的约位置112至约位置123范围内的氨基酸序列和/或与在SEQ ID NO:348的约位置161至约位置205范围内的氨基酸序列发生相互作用,如通过氢/氘交换所测定。

[0067] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33抗体或其抗原结合片段与SEQ ID NO:350的氨基酸序列或与SEQ ID NO:351的氨基酸序列发生相互作用,或与SEQ ID NO:350和351发生相互作用,如通过氢/氘交换所测定。

[0068] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33抗体或其抗原结合片段与包含SEQ ID NO:274/282的HCVR/LCVR氨基酸序列对的参考抗体竞争结合至IL-33。

[0069] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33抗体或其抗原结合片段结合至IL-33上与包含SEQ ID NO:274/282的HCVR/LCVR氨基酸序列对的参考抗体相同的表位。

[0070] 在第五方面中,本发明提供编码用于本发明方法中的抗IL-33抗体或其抗原结合片段的核酸分子。本发明还涵盖携带本发明核酸的重组体表达载体和引入所述载体的宿主细胞,也涵盖通过在允许产生抗体的条件下培养宿主细胞产生抗体和回收所产生抗体的方法。

[0071] 在一个实施例中,本发明提供使用特异性结合至人类IL-33的抗体或其片段的方法,所述抗体或其片段包含由选自由以下组成的群组的核酸序列或与所述核酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同源性的基本一致序列编码的HCVR:SEQ ID NO:1、17、33、49、65、81、97、113、129、145、161、177、193、209、225、241、257、273、289和307。

[0072] 本发明还提供使用特异性结合至人类IL-33的抗体或其片段的方法,所述抗体或其片段包含由选自由以下组成的群组的核酸序列或与所述核酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同源性的基本一致序列编码的LCVR:SEQ ID NO:9、25、41、57、73、89、105、121、137、153、169、185、201、217、233、249、265、281、297和315。

[0073] 本发明还提供使用特异性结合至人类IL-33的抗体或抗体的抗原结合片段的方法,所述抗体或抗体的抗原结合片段包含由选自由以下组成的群组的核苷酸序列或与所述核苷酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同源性的基本一致序列编码的HCDR3结构域:SEQ ID NO:7、23、39、55、71、87、103、119、135、151、167、183、199、215、231、247、263、279、295和313;和由选自由以下组成的群组的核苷酸序列或与所述核苷酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同源性的基本一致序列编码的LCDR3结构域:SEQ ID NO:15、31、47、63、79、95、111、127、143、159、175、191、207、223、239、255、271、287、303和321。

[0074] 本发明还提供使用特异性结合至人类IL-33的抗体或其片段的方法,所述抗体或其片段进一步包含由选自由以下组成的群组的核苷酸序列或与所述核苷酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同源性的基本一致序列编码的HCDR1结构域:SEQ ID NO:3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、179、195、211、227、243、259、275、291和309;由选自由以下组成的群组的核苷酸序列或与所述核苷酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同源性的基本一致序列编码的HCDR2结构域:SEQ ID NO:5、21、37、53、69、85、101、117、133、149、165、181、197、213、229、245、261、277、293和311;由选自由以下组成的群组的核苷酸序列或与所述核苷酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少

99%同源性的基本一致序列编码的LCDRI结构域:SEQ ID NO:11、27、43、59、75、91、107、123、139、155、171、187、203、219、235、251、267、283、299和317;和由选自以下组成的群组的核苷酸序列或与所述核苷酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同源性的基本一致序列编码的LCDR2结构域:SEQ ID NO:13、29、45、61、77、93、109、125、141、157、173、189、205、221、237、253、269、285、301和319。

[0075] 根据某些实施例,本发明方法提供特异性结合至人类IL-33的抗体或其片段的用途,所述抗体或其片段包含由以下核酸序列编码的重链和轻链CDR序列:SEQ ID NO:1和9(例如H1M9559N)、17和25(例如H1M9566N)、33和41(例如H1M9568N)、49和57(例如H4H9629P)、65和73(例如H4H9633P)、81和89(例如H4H9640P)、97和105(例如H4H9659P)、113和121(例如H4H9660P)、129和137(例如H4H9662P)、145和153(例如H4H9663P)、161和169(例如H4H9664P)、177和185(例如H4H9665P)、193和201(例如H4H9666P)、209和217(例如H4H9667P)、225和233(例如H4H9670P)、241和249(例如H4H9671P)、257和265(例如H4H9672P)、273和281(例如H4H9675P)、289和297(例如H4H9676P)、或307和315(H1M9565N)。

[0076] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33拮抗剂是基于IL-33受体的阱,例如本文所阐述的那些(参见图1)。

[0077] 在一个实施例中,基于IL-33受体的阱包含附接至多聚化结构域(M)的第一IL-33结合结构域(D1),其中D1包含ST2蛋白的IL-33结合部分。

[0078] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33阱进一步包含附接至D1和/或M的第二IL-33结合结构域(D2),其中D2包含IL-1RAcP蛋白的细胞外部分。在一个实施例中,D1附接至M的N末端。在一个实施例中,D1附接至M的C末端。在一个实施例中,D2附接至M的N末端。在一个实施例中,D2附接至M的C末端。在一个实施例中,D1附接至D2的N末端,并且其中D2附接至M的N末端。

[0079] 在一个实施例中,D1包含SEQ ID NO:328或329的氨基酸序列或与其具有至少90%一致性的氨基酸序列。在一个实施例中,D2包含SEQ ID NO:330或331的氨基酸序列或与其具有至少90%一致性的氨基酸序列。

[0080] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33拮抗剂包含附接至第一多聚化结构域(M1)的第一IL-33结合结构域(D1)和附接至第二多聚化结构域(M2)的第二IL-33结合结构域(D2),其中D1和/或D2结构域包含选自ST2和IL-1RAcP组成的群组的受体的IL-33结合部分。

[0081] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33拮抗剂包含附接至D1或M1的第三IL-33结合结构域(D3),并且其中D3包含选自ST2和IL-1RAcP组成的群组的受体的IL-33结合部分。

[0082] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33拮抗剂包含附接至D2或M2的第四IL-33结合结构域(D4),并且其中D4包含选自ST2和IL-1RAcP组成的群组的受体的IL-33结合部分。

[0083] 在一个实施例中,D1附接至M1的N末端,并且D2附接至M2的N末端。

[0084] 在一个实施例中,D3附接至D1的N末端。

[0085] 在一个实施例中,D3附接至M1的C末端。

[0086] 在一个实施例中,D4附接至D2的N末端。

- [0087] 在一个实施例中,D4附接至M2的C末端。
- [0088] 在一个实施例中,D3附接至D1的N末端,并且D1附接至M1的N末端;并且其中D4附接至D2的N末端,并且D2附接至M2的N末端。
- [0089] 在一个实施例中,D3与D4一致或基本一致并且其中D1与D2一致或基本一致。
- [0090] 在一个实施例中,D3和D4各自包含ST2蛋白的IL-33结合部分;并且其中D1和D2各自包含IL-1RAcP蛋白的细胞外部分。
- [0091] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-33拮抗剂包含选自以下组成的群组的氨基酸序列:SEQ ID NO:323、324、325、326和327。
- [0092] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-4拮抗剂是白细胞介素-4受体(IL-4R)拮抗剂。
- [0093] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-4R拮抗剂是结合IL-4R α 并且阻止IL-4和/或IL-13与1型或2型IL-4受体发生相互作用的抗体或其抗原结合片段。
- [0094] 在相关实施例中,用于本发明方法中的IL-4R抗体或其抗原结合片段阻止IL-4和/或IL-13与1型和2型IL-4受体发生相互作用。
- [0095] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-4R拮抗剂是特异性结合至人类IL-4R α 的单株抗体。
- [0096] 在一个实施例中,用于本发明方法中的特异性结合至人类IL-4R α 的单株抗体是杜匹鲁单抗或其生物等效物。
- [0097] 在某一实施例中,用于本发明方法中的IL-4R抗体或其抗原结合片段包括包含SEQ ID NO:335或SEQ ID NO:337的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)的重链互补决定区(HCDR),和包含SEQ ID NO:336或SEQ ID NO:338的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)的轻链互补决定区(LCDR)。
- [0098] 在相关实施例中,用于本发明方法中的IL-4R抗体或其抗原结合片段包含三条HCDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三条LCDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中HCDR1包含SEQ ID NO:339的氨基酸序列,HCDR2包含SEQ ID NO:340的氨基酸序列;HCDR3包含SEQ ID NO:341的氨基酸序列;LCDR1包含SEQ ID NO:342的氨基酸序列;LCDR2包含SEQ ID NO:343的氨基酸序列;并且LCDR3包含SEQ ID NO:344的氨基酸序列。
- [0099] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-4R抗体或其抗原结合片段包括包含SEQ ID NO:335或SEQ ID NO:337的氨基酸序列的HCVR和包含SEQ ID NO:336或SEQ ID NO:338的氨基酸序列的LCVR。
- [0100] 在一个实施例中,用于本发明方法中的IL-4R抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:335/336或SEQ ID NO:337/338的HCVR/LCVR氨基酸序列对。
- [0101] 在相关实施例中,用于本发明方法中的IL-4R拮抗剂是杜匹鲁单抗(SEQ ID NO:337/338)或其生物等效物。
- [0102] 在某些实施例中,IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂是在分开调配物中施用。
- [0103] 在某些实施例中,IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂经共调配用于施用至有需要的患者。
- [0104] 在某些实施例中,IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂是经皮下、静脉内、肌肉内或鼻内施用于个体。

[0105] 本发明的IL-33和IL-4R抗体可以具有全长(例如,IgG1或IgG4抗体)或可以仅包含抗原结合部分(例如,Fab、F(ab')₂或scFv片段),并且可以经改质以影响功能,例如以消除残余效应物功能(Reddy等人,2000,《免疫学杂志》(J. Immunol.) 164:1925-1933)。

[0106] 在一个实施例中,特异性结合至人类白细胞介素-33或人类IL-4R的抗体是经分离的完整人类单株抗体。

[0107] 在第六方面中,本发明提供药物组合物,其包含特异性结合IL-33的重组体人类抗体或其片段或阗或特异性结合IL-4R的抗体和药学上可接受的载体。在相关方面中,本发明涉及组合物,所述组合物是抗IL-33抗体或IL-33阗或特异性结合IL-4R的抗体和一种或多种其它治疗剂的组合。在一个实施例中,一种或多种其它治疗剂是有效地与IL-33拮抗剂和/或IL-4R拮抗剂中的任一个或其两个组合的任一药剂。可以有效地与IL-33拮抗剂和/或IL-4R拮抗剂组合的例示性药剂包括(但不限于)抑制IL-33活性和/或IL-4活性的其它药剂(包括其它抗体或其抗原结合片段、肽抑制剂、小分子拮抗剂等),和/或不直接结合IL-33或IL-4或IL-4R但会干扰、阻断或减弱IL-33或IL-4介导的信号传导的药剂。在一个实施例中,所述一种或多种其它治疗剂可以选自由以下组成的群组:非类固醇抗炎剂(NSAID)、皮质类固醇(例如吸入皮质类固醇)、支气管扩张剂、抗组织胺、肾上腺素、去充血剂、胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)拮抗剂、IL-1拮抗剂、IL-8拮抗剂、IL-13拮抗剂、不同IL-4拮抗剂、IL-4/IL-13双重拮抗剂、IL-33/IL-13双重拮抗剂、IL-5拮抗剂、IL-6拮抗剂、IL-12/23拮抗剂、IL-22拮抗剂、IL-25拮抗剂、IL-17拮抗剂、IL-31拮抗剂、TNF抑制剂、IgE抑制剂、白三烯抑制剂、口服PDE4抑制剂、甲基黄嘌呤、奈多罗米钠、色甘酸钠、长效β₂激动剂(LABA)、长效蕈毒碱拮抗剂(LAMA)、吸入皮质类固醇(ICS)和另一IL-33或IL-4拮抗剂或针对IL-33或IL-4或IL-4R的不同抗体,和另一IL-33拮抗剂。

[0108] 在某些实施例中,细胞介素拮抗剂可以是与细胞介素自身或与细胞介素的受体或与包含细胞介素和其受体二者的复合物发生相互作用的小分子抑制剂(合成或天然衍生)或蛋白质(例如抗体)。本文别处公开涉及本发明的抗IL-33抗体和/或IL-4R抗体的其它组合疗法和共调配物。

[0109] 在又一方面中,本发明提供使用抗IL-33拮抗剂(例如IL-33抗体或IL-33阗)和IL-4R抗体或本发明的一种或多种抗体的抗原结合部分来抑制IL-33和/或IL-4信号传导活性的治疗方法,其中所述治疗方法包括单独或与IL-4R抗体或本发明的一种或多种抗体的抗原结合片段组合施用治疗有效量的包含IL-33抗体或IL-33阗的药物组合物。所治疗病症为通过去除、抑制或降低IL-33和/或IL-4信号传导而经改良、改善、抑制或预防的任一疾病或病况。本发明的抗IL-33和/或IL-4R拮抗剂在一起使用时可以用于阻断IL-33与IL-33结合配体之间和IL-4与IL-4结合配体之间的相互作用或以其它方式抑制IL-33和IL-4的信号传导活性。在一个实施例中,IL-4R拮抗剂是结合至IL-4Rα并且如此阻止通过I型或II型受体的IL-4和IL-13信号传导的抗体。在一个实施例中,IL-4Rα拮抗剂是杜匹鲁单抗或其生物等效物。鉴于杜匹鲁单抗对IL-4和IL-13二者的双重阻断活性,人们相信当与本发明的IL-33拮抗剂组合使用时,组合治疗方案将增强对部分地由通过IL-4、IL-13和IL-33信号传导路径的信号传导引起的不期望的炎症活性的抑制,所述不期望的炎症活性可以在炎症期间出现。

[0110] 在一个实施例中,IL-33拮抗剂是特异性结合至IL-33并且阻断IL-33和其受体ST2

(也称为IL1RL1)的相互作用的抗体或其抗原结合片段。

[0111] 在一个实施例中,特异性结合至IL-33的抗体或其抗原结合片段包含三条重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3),所述重链CDR含于选自由以下组成的群组的重链可变区(HCVR)氨基酸序列内:SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290和308;并且包含三条轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),所述轻链CDR含于选自由以下组成的群组的轻链可变区(LCVR)氨基酸序列内:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298和316。

[0112] 在一个实施例中,特异性结合至IL-33的抗体或其抗原结合片段包含具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列的重链可变区(HCVR):SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290和308。

[0113] 在一个实施例中,特异性结合至IL-33的抗体或其抗原结合片段包含具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR):SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298和316。

[0114] 在一个实施例中,特异性结合至IL-33的抗体或其抗原结合片段包含:

[0115] (a) 具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列的HCDR1结构域:SEQ ID NO:4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292和310;

[0116] (b) 具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列的HCDR2结构域:SEQ ID NO:6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294和312;

[0117] (c) 具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列的HCDR3结构域:SEQ ID NO:8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296和314;

[0118] (d) 具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列的LCDR1结构域:SEQ ID NO:12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284和318;

[0119] (e) 具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列的LCDR2结构域:SEQ ID NO:14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286和320;

[0120] (f) 具有选自由以下组成的群组的氨基酸序列的LCDR3结构域:SEQ ID NO:16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288和322。

[0121] 在一个实施例中,特异性结合至IL-33的抗体或其抗原结合片段包含选自由以下组成的群组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO:SEQ ID NO:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298和308/316。

[0122] 本发明还包括单独IL-33拮抗剂或其与IL-4R拮抗剂的组合的用途,其用于制造用以治疗患者中与IL-33和/或IL-4活性或信号传导相关或由其造成的疾病或病症的药物。在一个实施例中,患者中与IL-33活性和/或IL-4活性相关或由其造成的疾病或病症是发炎疾病或病症,其中所述发炎疾病或病症选自由以下组成的群组:气喘(嗜酸性球性或非嗜酸性球性)、慢性阻塞性肺病(COPD)、气喘和COPD重叠综合症(ACOS)、异位性皮肤炎、鼻息肉、过敏反应、慢性支气管炎、肺气肿、伴或不伴鼻息肉的慢性鼻窦炎、发炎性肠病、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、过敏性肺炎、多发性硬化、关节炎(包括骨关节炎、类风湿性关节炎和牛皮癣性关节炎)、过敏性鼻炎、纤维变性、嗜酸性球性食道炎、血管炎、荨麻疹、许-施二氏综合症、发炎性疼痛和牛皮癣。本发明还包括治疗有效量的IL-33拮抗剂与治疗有效量的IL-4R拮抗

剂的组合,其用于治疗发炎疾病或病症或发炎疾病或病症的至少一种症状,其中与施用单独IL-33拮抗剂或单独IL-4R拮抗剂所观察到的相比,与IL-4R拮抗剂组合施用IL-33拮抗剂可以引起增强的治疗功效。本文所论述的任一方法还涵盖使用IL-33和/或IL-4R拮抗剂(例如,抗体)来治疗或用于治疗结合所述方法论述的疾病、病症和/或症状。

[0123] 从接下来所详述阐述的综述将明了其它实施例。

附图说明

[0124] 图1显示IL-33拮抗剂的个别组分相对于彼此的四种例示性布置。图A显示其中第一IL-33结合结构域(D1)附接至第一多聚化结构域(M1)的N末端并且第二IL-33结合结构域(D2)附接至第二多聚化结构域(M2)的N末端的布置。D1显示为白盒并且D2显示为黑盒,以指示D1和D2源于不同的IL-33结合蛋白。图B显示其中第一IL-33结合结构域(D1)附接至第一多聚化结构域(M1)的N末端并且第二IL-33结合结构域(D2)附接至第二多聚化结构域(M2)的C末端的布置。D1显示为白盒并且D2显示为黑盒,以指示D1和D2源于不同的IL-33结合蛋白。图C和图D显示包含四个IL-33结合结构域D1、D2、D3和D4的布置。在所述布置中,D3-D1-M1和D4-D2-M2是串联附接,其中D3附接至D1的N末端,并且D1附接至M1的N末端;并且D4附接至D2的N末端,并且D2附接至M2的N末端。在图C中,D3和D4彼此一致或基本一致,并且D1和D2彼此一致或基本一致。在图D中,D1和D4彼此一致或基本一致,并且D3和D2彼此一致或基本一致。

[0125] 图2显示HDM暴露诱导IL-33-、IL-4-和IL-4R α 三重人类化和野生型小鼠的肺中经活化的嗜酸性球的类似增加。统计显著性是通过二因子ANOVA以及图基多重比较测试(Tukey's multiple comparisons test)来测定。使用以下符号来指示统计显著差异:“*”星号标记盐水暴露和HDM暴露的相同基因型小鼠之间的比较;“&”和号符号标记小鼠的相应盐水暴露或HDM暴露的野生型组的比较。增加的符号数值指示增加的显著性: $1\times=p\leq 0.05$; $2\times=p\leq 0.01$; $3\times=p\leq 0.001$; $4\times=p\leq 0.0001$ 。缩写:WT=野生型。所有小鼠都具有混合的C57BL/6NTac/129S6SvEvTac背景。

[0126] 图3显示REGN3500和杜匹鲁单抗的组合施用可以阻断HDM暴露诱发的相对肺重量增加。相对肺重量表示为肺湿重(以mg计)对体重(以g计)的比率。统计显著性是通过克-瓦二氏单因子(Kruskal-Wallis one-way)ANOVA以及邓恩多重比较事后测试(Dunn's multiple comparison post hoc test)来测定。使用以下符号来指示统计显著差异:“*”星号标记在所有19周HDM暴露组之间的比较;并且“#”标签标记盐水-暴露的未治疗动物与所有其它组的比较。增加的符号数值指示增加的显著性: $1\times=p\leq 0.05$; $2\times=p\leq 0.01$; $3\times=p\leq 0.001$ 。缩写:wk=周;IgG4P=同型对照抗体,REGN1945。

[0127] 图4A和图4B显示REGN3500和杜匹鲁单抗单独和以组合对HDM暴露诱发的肺嗜酸性球性浸润的效应。统计显著性是通过克-瓦二氏单因子ANOVA以及邓恩多重比较事后测试来测定。使用以下符号来指示统计显著差异:“*”星号标记在所有19周HDM暴露组之间的比较;“#”标签标记盐水暴露的未经治疗动物与所有其它组的比较;并且“+”加号标记11周HDM暴露的未经治疗动物与所有其它组的比较。增加的符号数值指示增加的显著性: $1\times=p\leq 0.05$; $2\times=p\leq 0.01$; $3\times=p\leq 0.001$; $4\times=p\leq 0.0001$ 。缩写:wk=周;IgG4P=同型对照抗体,REGN1945。

[0128] 图5显示REGN3500单独或与杜匹鲁单抗组合可以阻断HDM暴露诱发的ST2+CD4+T细胞的肺浸润。统计显著性是通过单因子ANOVA以及图基多重比较事后测试来测定。使用以下符号来指示统计显著差异：“*”星号标记在所有19周HDM暴露组之间的比较；“#”标签标记盐水暴露的未经治疗动物与所有其它组的比较；并且“+”加号标记11周HDM暴露的未经治疗动物与所有其它组的比较。增加的符号数值指示增加的显著性： $1 \times = p \leq 0.05$ ； $2 \times = p \leq 0.01$ ； $3 \times = p \leq 0.001$ ； $4 \times = p \leq 0.0001$ 。缩写：wk=周；IgG4P=同型对照抗体，REGN1945。

[0129] 图6显示REGN3500和杜匹鲁单抗的组合施用可以阻断HDM暴露诱发的MPO肺蛋白质（嗜中性球浸润的标记物）含量增加。统计显著性是通过克-瓦二氏单因子ANOVA以及邓恩多重比较事后测试来测定。使用以下符号来指示统计显著差异：“*”星号标记在所有19周HDM暴露组之间的比较；并且“#”标签标记盐水暴露的未经治疗动物与所有其它组的比较。增加的符号数值指示增加的显著性： $1 \times = p \leq 0.05$ ； $2 \times = p \leq 0.01$ ； $3 \times = p \leq 0.001$ 。缩写：wk=周；IgG4P=同型对照抗体，REGN1945。

[0130] 图7A和图7B显示REGN3500和杜匹鲁单抗单独或以组合对HDM暴露诱发的肺IL-5和IL-6蛋白质含量的增加的效应。收集肺（右肺的前叶和中叶）并且通过多重免疫分析来测量IL-5(A)和IL-6(B)蛋白质含量。肺组织IL-5和IL-6蛋白质含量表示为蛋白质量(pg)/肺叶。统计显著性是通过克-瓦二氏单因子ANOVA以及邓恩多重比较事后测试来测定。使用以下符号来指示统计显著差异：“*”星号标记在所有19周HDM暴露组之间的比较；并且“#”标签标记盐水暴露的未经治疗动物与所有其它组的比较。增加的符号数值指示增加的显著性： $1 \times = p \leq 0.05$ ； $2 \times = p \leq 0.01$ ； $3 \times = p \leq 0.001$ 。缩写：wk=周；IgG4P=同型对照抗体，REGN1945。

[0131] 图8显示REGN3500单独或与杜匹鲁单抗组合可以阻断HDM暴露诱发的循环SAA蛋白质含量的增加。在最后抗体注射之后4天，通过心脏穿刺收集全血并分离血清。使用市售ELISA试剂盒测量循环SAA蛋白质含量。循环SAA蛋白质含量表示为SAA蛋白质量(μg)/mL血清。统计显著性是通过克-瓦二氏单因子ANOVA以及邓恩多重比较事后测试来测定。使用以下符号来指示统计显著差异：“*”星号标记在所有19周HDM暴露组之间的比较；并且“#”标签标记盐水暴露的未经治疗动物与所有其它组的比较。增加的符号数值指示增加的显著性： $1 \times = p \leq 0.05$ ； $2 \times = p \leq 0.01$ ； $3 \times = p \leq 0.001$ 。缩写：wk=周；IgG4P=同型对照抗体，REGN1945。

[0132] 图9显示循环IgE蛋白质含量因应HDM暴露而增加。通过心脏穿刺收集全血并分离血清。使用市售ELISA试剂盒测量循环IgE蛋白质含量。循环IgE蛋白质含量表示为IgE蛋白量(μg)/mL血清。统计显著性是通过克-瓦二氏单因子ANOVA以及邓恩多重比较事后测试来测定。使用以下符号来指示统计显著差异：“*”星号标记在所有19周HDM暴露组之间的比较；并且“#”标签标记盐水暴露的未经治疗动物与所有其它组的比较。增加的符号数值指示增加的显著性： $1 \times = p \leq 0.05$ ； $2 \times = p \leq 0.01$ ； $3 \times = p \leq 0.001$ 。缩写：wk=周；IgG4P=同型对照抗体，REGN1945。

具体实施方式

[0133] 在阐述本发明之前，应了解本发明并不限于所述的具体方法和实验条件，是因为所述方法和条件可能有所变化。还应了解，本文所使用的术语仅仅出于阐述具体实施例的目的，并且并非打算加以限制，是因为本发明的范围将仅仅受限于随附权利要求书。

[0134] 除非另外定义,否则本文所用全部技术和科学术语都具有与本发明所属领域的技术人员通常所了解相同的含义。如本文所用,术语“约”在参考具体列举数值使用时意味着所述值可以从列举值变化不超过1%。例如,如本文所用,表述“约100”包括99和101和其间的的所有值(例如,99.1、99.2、99.3、99.4等)。

[0135] 尽管类似于或等效于本文所述的那些方法和材料的任何方法和材料可以用于实践或测试本发明,但现在阐述优选方法和材料。本说明书中所提到的所有专利、申请和非专利公开案以全文引用方式并入本文中。

[0136] 定义

[0137] 如本文所用术语“白细胞介素-33”、“IL-33”等是指人类IL-33蛋白质并且涵盖270个氨基酸、全长、未处理的IL-33(例如参见,SEQ ID NO:348或UniProtKB登录号095760),以及由在细胞中的处理产生的IL-33的任一形式(例如参见,SEQ ID NO:349,其含有全长蛋白质的氨基酸残基112-270)。IL-33的其它处理形式阐述于Lefrançois等人(Lefrançois等人,(2012),《美国国立科学院院报》(Proc.Natl.Acad.Sci.)109(5):1693-1678)中。所述术语还涵盖IL-33的天然变体,例如,剪接变体(例如参见,Hong等人,(2011),《生物化学杂志》(J.Biol.Chem.)286(22):20078-20086)或等位基因变体或IL-33的任何其它同种型,例如阐述于W02016/156440中的那些。除非明确指定为来自非人类物种,否则本文中对蛋白质、多肽和蛋白质片段的所有提到都打算指相应蛋白质、多肽或蛋白质片段的人类型式。

[0138] 如本文所用,表述“IL-33拮抗剂”意指能阻断、减弱或以其它方式干扰IL-33信号传导和/或IL-33与细胞表面受体(例如,ST2,也称为IL1RL1)或共受体(例如IL1-RAcP)或其复合物之间的相互作用的任一药剂。例如,“IL-33拮抗剂”(也称作“IL-33抑制剂”或“IL-33阻断剂”)包括以下中的任一个:(1)结合至IL-33或与IL-33发生相互作用的药剂;或(2)结合至IL-33受体(有时称作“致肿瘤抑制因子”或“ST2”;也称为“IL1RL1”)或与IL-33受体发生相互作用的药剂;或(3)结合至IL-33共受体(白细胞介素-1受体辅助蛋白或IL1-RAcP)或与IL-33共受体发生相互作用的药剂;或(4)结合至IL-33/ST2的复合物的药剂;或(5)结合至ST2/IL-1RAcP或与ST2/IL-1RAcP发生相互作用的药剂。上述中的任一个可以抑制或减弱IL-33的至少一种生物活性,例如(但不限于)在IL-33结合至其受体/共受体复合物时出现的生物信号传导功能。

[0139] 在一个实施例中,“IL-33拮抗剂”是特异性结合至IL-33或与IL-33发生相互作用并且阻止IL-33结合至ST2并且如此可以阻止ST2与共受体IL-1RAcP发生相互作用的抗体。在一个实施例中,“IL-33拮抗剂”是特异性结合至ST2或ST2/IL-1RAcP复合物并且阻止IL-33结合至ST2或ST2/IL1-RAcP受体复合物的抗体。在一个实施例中,“IL-33拮抗剂”是结合至IL-33/ST2复合物并且然后阻止ST2与IL-1RAcP共受体发生相互作用的抗体。在一个实施例中,“IL-33拮抗剂”是结合至IL-33并且可以容许低亲和力结合至ST2但同时所述低亲和力结合可以阻止ST2随后与共受体IL-1RAcP发生相互作用的抗体。

[0140] “IL-33拮抗剂”还可以是例如可溶性ST2受体或基于IL-33受体的阱等药剂,例如本文所阐述和公开于US2014/0271642中的那些。阻断IL-33介导的信号传导的任一药剂都视为“IL-33拮抗剂”。“IL-33拮抗剂”可以是小的有机分子、蛋白质(例如抗体或其片段或基于IL-33受体的可溶性阱(如本文所阐述))或核酸(例如反义分子或siRNA)。如本文所用,“结合IL-33的抗体”或“抗IL-33抗体”包括结合人类IL-33蛋白质或其生物活性片段(例如

参见SEQ ID NO:348、349、350和351)的抗体和其抗原结合片段。

[0141] 如本文所用表述“白细胞介素-4受体”或“IL-4R”是指具有SEQ ID NO:347的氨基酸序列的人类IL-4R α 受体。

[0142] 如本文所用,“IL-4R拮抗剂”(在本文也称作“IL-4R抑制剂”、“IL-4R α 拮抗剂”、“IL-4R阻断剂”、“IL-4R α 阻断剂”等)是任一结合至IL-4R α 或IL-4R配体或与IL-4R α 或IL-4R配体发生相互作用并且抑制或减弱1型和/或2型IL-4受体的正常生物信号传导功能的药剂。1型IL-4受体是包含IL-4R α 链和 γ c链的二聚体受体。2型IL-4受体是包含IL-4R α 链和IL-13R α 1链的二聚体受体。1型IL-4受体与IL-4发生相互作用并且由IL-4刺激,而2型IL-4受体与IL-4和IL-13发生相互作用并且由IL-4和IL-13二者刺激。因此,可以用于本发明方法中的IL-4R拮抗剂可以通过阻断IL-4介导的信号传导、IL-13介导的信号传导或IL-4和IL-13介导的信号传导二者起作用。本发明的IL-4R拮抗剂由此可以阻止IL-4和/或IL-13与1型或2型受体发生相互作用。IL-4R拮抗剂的类别的非限制性实例包括小分子IL-4R抑制剂、抗IL-4R适配体、基于肽的IL-4R抑制剂(例如,“肽体”分子)、“受体体”(例如,包含IL-4R组分的配体结合结构域的经改造分子)和特异性结合人类IL-4R α 的抗体或抗体的抗原结合片段。如本文所用,IL-4R拮抗剂还包括特异性结合IL-4和/或IL-13的抗原结合蛋白。

[0143] 如本文所用术语“抗体”意指特异性结合至特定抗原(例如,IL-33或IL-4R)或与所述特定抗原发生相互作用并且包含至少一个互补决定区(CDR)的任一抗原结合分子或分子复合物。术语“抗体”包括包含四条多肽链(两条重(H)链和两条轻(L)链通过二硫键互连)的免疫球蛋白分子以及其多聚体(例如,IgM)。每一重链包含重链可变区(在本文中缩写为HCVR或V_H)和重链恒定区。重链恒定区包含三个结构域:C_H1、C_H2和C_H3。每一轻链包含轻链可变区(在本文中缩写为LCVR或V_L)和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个结构域(C_L1)。可以将V_H和V_L区进一步细分成超变区(称为互补决定区(CDR)),其中散布有更保守的区(称为框架区(FR))。每一V_H和V_L由三个CDR和四个FR构成,其从氨基末端至羧基末端按以下顺序布置:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本发明的不同实施例中,抗IL-33抗体(或其抗原结合部分)或抗IL-4R抗体的FR与人类种系序列可能一致或可以经天然或人工修饰。可以基于两种或更多种CDR的并行分析来定义氨基酸共有序列。

[0144] 如本文所用术语“抗体”还包括完整抗体分子的抗原结合片段。如本文所用术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括任何特异性结合抗原从而形成复合物的天然存在、可以酶促方式获得、合成或经遗传改造的多肽或糖蛋白。可以使用任何适宜标准技术(例如蛋白质分解消化或涉及操纵和表达编码抗体可变和任选的恒定结构域的DNA的重组遗传改造技术)从(例如)完整抗体分子衍生抗体的抗原结合片段。所述DNA已为人所知和/或可以容易的从(例如)商业来源、DNA库(包括(例如)噬菌体-抗体库)获得或可以进行合成。可以对DNA进行测序并以化学方式或通过使用分子生物学技术进行操纵,以(例如)将一个或多个可变和/或恒定结构域布置成适宜构形,或引入密码子、产生半胱氨酸残基、修饰、添加或缺失氨基酸等。

[0145] 抗原结合片段的非限制性实例包括:(i)Fab片段;(ii)F(ab')₂片段;(iii)Fd片段;(iv)Fv片段;(v)单链Fv(scFv)分子;(vi)dAb片段;和(vii)由模仿抗体的超可变区(例如,经分离互补决定区(CDR),例如CDR3肽)的氨基酸残基组成的最小识别单元,或限制型FR3-CDR3-FR4肽。其它经改造分子(例如结构域特异性抗体、单结构域抗体、结构域缺失的

抗体、嵌合抗体、CDR移植抗体、双价抗体、三价抗体、四价抗体、微抗体、纳米抗体(例如单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小型模组免疫医药(SMIP)和鲨鱼可变IgNAR结构域)也涵盖在如本文所用的表述“抗原结合片段”内。

[0146] 抗体的抗原结合片段通常将包含至少一个可变结构域。可变结构域可以具有任何大小或氨基酸组合成并且通常将包含至少一个毗邻一个或多个框架序列或与所述一个或多个框架序列同框的CDR。在具有与 V_L 结构域缔合的 V_H 结构域的抗原结合片段中, V_H 和 V_L 结构域可以相对于彼此以任一适宜布置定位。例如,可变区可以是二聚体并且含有 V_H - V_H 、 V_H - V_L 或 V_L - V_L 二聚体。或者,抗体的抗原结合片段可以含有单体 V_H 或 V_L 结构域。

[0147] 在某些实施例中,抗体的抗原结合片段可以含有至少一个共价连接到至少一个恒定结构域的可变结构域。可以存在于本发明抗体的抗原结合片段内的可变和恒定结构域的非限制性例示性构形包括:(i) V_H - C_H1 ; (ii) V_H - C_H2 ; (iii) V_H - C_H3 ; (iv) V_H - C_H1 - C_H2 ; (v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (vi) V_H - C_H2 - C_H3 ; (vii) V_H - C_L ; (viii) V_L - C_H1 ; (ix) V_L - C_H2 ; (x) V_L - C_H3 ; (xi) V_L - C_H1 - C_H2 ; (xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (xiii) V_L - C_H2 - C_H3 ;和(xiv) V_L - C_L 。在可变和恒定结构域的任一构形(包括上文所列示例性构形中的任一个)中,可变和恒定结构域可以彼此直接连接或可以通过完整或部分铰链或连接体区来连接。铰链区可以由在单一多肽分子中在毗邻可变和/或恒定结构域之间产生挠性或半挠性链接的至少2个(例如,5个、10个、15个、20个、40个、60个或更多个)氨基酸组成。此外,本发明的抗体的抗原结合片段可以包含具有任一上文所列示可变和恒定结构域构形的同源二聚体或异源二聚体(或其它多聚体),所述二聚体或多聚体彼此和/或与一个或多个单体 V_H 或 V_L 结构域(例如,通过二硫键)非共价缔合。

[0148] 就完整抗体分子来说,抗原结合片段可以是单特异性或多特异性(例如,双特异性)。多特异性抗体的抗原结合片段通常将包含至少两个不同可变结构域,其中每一可变结构域能特异性结合至单独抗原或同一抗原上的不同表位。可以使用业内可用的常规技术对任一多特异性抗体形式(包括本文所公开的例示性双特异性抗体形式)进行调适以在本发明的抗体的抗原结合片段的情况下使用。例如,本发明包括包含使用双特异性抗体(其中免疫球蛋白的一个臂特异性针对IL-4R α 或其片段或免疫球蛋白特异性针对IL-33或其片段并且免疫球蛋白的另一臂特异性针对第二治疗靶标或偶联至治疗性部分)的方法。可以在本发明的背景下使用的例示性双特异性形式包括(但不限于)(例如)基于scFv的或双价抗体双特异性形式、IgG-scFv融合物、双重可变结构域(DVD)-Ig、四价体瘤(Quadroma)、突出物进入孔洞(knobs-into-holes)、共用轻链(例如,具有突出物进入孔洞的共用轻链等)、CrossMab、CrossFab、(SEED)体、白氨酸拉链、Duobody、IgG1/IgG2、双重作用Fab(DAF)-IgG和Mab²双特异性形式(例如参见,Klein等人2012,mAbs 4:6,1-11,和其中所引用的参考文献,对于上述形式的综述)。还可以使用肽/核酸偶联来构筑双特异性抗体,例如,其中使用具有正交化学反应性的非天然氨基酸来生成位点特异性抗体-寡核苷酸偶联物,所述偶联物然后自组装成具有所定义组成、化合价和几何形状的多聚体复合物。(例如参见,Kazane等人,《美国化学学会杂志》(J. Am. Chem. Soc.) [电子版:2012年12月4日])。

[0149] 在本发明的某些实施例中,本发明的抗IL-33和IL-4R抗体是人类抗体。如本文所用术语“人类抗体”打算包括具有源于人类种系免疫球蛋白序列的可变和恒定区的抗体。本发明的人类抗体可以包括并非由人类种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如通过体外随机诱变或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变),例如在CDR并且尤其

CDR中。然而,如本文所用术语“人类抗体”并非打算包括源自另一哺乳动物物种(例如小鼠)种系的CDR序列已移植至人类框架序列上的抗体。所述术语包括在非人类哺乳动物中或在非人类哺乳动物的细胞中重组产生的抗体。所述术语并非打算包括自人类个体分离或在人类个体中生成的抗体。

[0150] 在一些实施例中,本发明的抗体可以是重组体人类抗体。如本文所用术语“重组体人类抗体”打算包括通过重组方式制备、表达、产生或分离的所有人类抗体,例如使用转染至宿主细胞中的重组体表达载体表达的抗体(下文进一步所述)、从重组体分离的抗体、组合人类抗体库(下文进一步所述)、从针对人类免疫球蛋白基因转基因的动物(例如,小鼠)分离的抗体(例如参见,Taylor等人(1992)《核酸研究》(Nucl.Acids Res.) 20:6287-6295),或通过任何其它涉及人类免疫球蛋白基因序列剪接为其它DNA序列的方式来制备、表达、产生或分离的抗体。所述重组体人类抗体具有源于人类种系免疫球蛋白序列的可变和恒定区。然而,在某些实施例中,可以使所述重组人类抗体经受体外诱变(或,当使用人类Ig序列的转基因动物时,经受体内体细胞诱变),并且因此重组抗体的 V_H 和 V_L 区的氨基酸序列尽管源自人类种系 V_H 和 V_L 序列并与其相关,但其是可以不天然存在于人类体内抗体种系谱内的序列。

[0151] 人类抗体可以与铰链异质性相关的两种形式存在。在一种形式中,免疫球蛋白分子包含其中二聚体通过链间重链二硫键保持在一起的约150-160kDa的稳定四链构筑体。在第二种形式中,二聚体并非通过链间二硫键连接并且形成由共价偶合的轻链和重链(半抗体)构成的约75-80kDa的分子。所述形式即使在亲和纯化之后也极难分离。

[0152] 在多种完整IgG同型中出现第二种形式的频率归因于(但不限于)与抗体的铰链区同型相关的结构差异。人类IgG4铰链的铰链区中的单一氨基酸取代可以将第二种形式的出现(Angal等人(1993)《分子免疫学》(Molecular Immunology) 30:105)显著降低至使用人类IgG1铰链通常所观察到的水平。本发明涵盖在(例如)产生中在铰链、 C_H2 或 C_H3 区中具有一个或多个可能合意的突变以改良期望抗体形式的产率的抗体。

[0153] 本发明的抗体可以是经分离抗体。如本文所用“经分离抗体”意指已经鉴别并从其天然环境的至少一种组分中分离和/或回收的抗体。例如,出于本发明的目的,已经从生物体的至少一种组分或从其中天然存在或天然产生抗体的组织或细胞中分离或去除的抗体为“经分离抗体”。经分离抗体还包括原位在重组体细胞内的抗体。经分离抗体是已经受至少一个纯化或分离步骤的抗体。根据某些实施例,经分离抗体基本上可以不含其它细胞材料和/或化学品。

[0154] 本发明包括中和和/或阻断抗IL-33抗体和IL-4R抗体。如本文所用“中和”或“阻断”抗体打算指结合至靶标分子(例如IL-33或IL-4R)达成如下的抗体:(i) 干扰靶标分子与其受体(在IL-33抗体的情形下)或其配体(在IL-4R抗体的情形下)之间的相互作用;和/或(ii) 抑制靶标分子的至少一种生物功能,例如信号传导。由IL-33或IL-4R中和或阻断抗体造成的抑制无需完整,只要其可以使用适当分析来检测即可。

[0155] 与衍生抗体的相应种系序列相比,本文所公开的抗体可以在重链和轻链可变结构域的框架和/或CDR区中包含一个或多个氨基酸取代、插入和/或缺失。所述突变可以容易地通过将本文所公开的氨基酸序列与可以从(例如)公共抗体序列数据库获得的种系序列比较来确定。本发明包括源于本文所公开的任一氨基酸序列的抗体和其抗原结合片段,其中

一个或多个框架和/或CDR区内的一个或多个氨基酸突变成衍生抗体的种系序列的相应残基,或突变成另一人类种系序列的相应残基,或突变成相应种系残基的保守氨基酸取代(所述序列变化在本文中统称作“种系突变”)。本领域的技术人员以本文所公开的重链和轻链可变区序列开始可以容易产生众多包含一个或多个个别种系突变或其组合的抗体和抗原结合片段。在某些实施例中, V_H 和/或 V_L 结构域内的所有框架和/或CDR残基突变回成见于衍生抗体的原始种系序列中的残基。在其它实施例中,仅仅某些残基突变回成原始种系序列,例如,仅仅见于FR1的前8个氨基酸内或见于FR4的后8个氨基酸内的突变残基,或仅仅见于CDR1、CDR2或CDR3内的突变残基。在其它实施例中,一个或多个框架和/或CDR残基突变成不同种系序列(即,与原始衍生抗体的种系序列不同的种系序列)的相应残基。另外,本发明的抗体可以含有框架和/或CDR区内的两种或更多种种系突变的任一组合,例如,其中某些个别残基突变成具体种系序列的相应残基,而与原始种系序列不同的某些其它残基维持或突变成不同种系序列的相应残基。在获得之后,容易测试含有一个或多个种系突变的抗体和抗原结合片段的一种或多种期望性质,例如,改良的结合特异性、增加的结合亲和力、改良或增强的拮抗性或激动性生物性质(任选的)、降低的免疫原性等。以这种一般方式获得的抗体和抗原结合片段涵盖在本发明内。

[0156] 本发明还包括包含本文所公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中的任一个的具有一个或多个保守取代的变体的抗体。例如,本发明包括含有相对于本文所公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中的任一个具有(例如)10个或更少个、8个或更少个、6个或更少个、4个或更少个等保守氨基酸取代的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的抗体。

[0157] 术语“表位”是指与抗体分子的可变区中的特定抗原结合位点(称为互补位)发生相互作用的抗原性决定子。单一抗原可以具有超过一个表位。因此,不同抗体可以结合至抗原上的不同区域并且可以具有不同的生物效应。表位可以是构象或线性的。构象表位是由来自线性多肽链的不同区段的在空间上并置的氨基酸产生。线性表位是由多肽链中的毗邻氨基酸残基所产生的。在某些情形中,表位可以包括抗原上的糖、磷酸基或磺酰基的部分。

[0158] 术语“基本一致性”或“基本一致”在指核酸或其片段时指示,在与具有适当核苷酸插入或缺失的另一核酸(或其互补链)最佳比对时,在至少约95%、且更优选至少约96%、97%、98%或99%的核苷酸碱基中存在核苷酸序列一致性,如通过序列一致性的任何众所周知的算法所测量,例如FASTA、BLAST或Gap,如下文所论述。在某些情形中,与参考核酸分子具有基本一致性的核酸分子可以编码与参考核酸分子所编码的多肽具有相同或基本类似的氨基酸序列的多肽。

[0159] 在应用至多肽时,术语“基本类似性”或“基本类似”意味着两个肽序列在通过(例如)程序GAP或BESTFIT使用缺省空位权重进行最佳比对时共有至少95%序列一致性、甚至更优选地至少98%或99%序列一致性。优选地,不一致残基位置因保守氨基酸取代而不同。“保守氨基酸取代”是氨基酸残基由含有具有类似化学性质(例如,电荷或疏水性)的侧链(R基团)的另一氨基酸残基取代的。一般来说,保守氨基酸取代将不会基本上改变蛋白质的功能性质。如果两个或更多个氨基酸序列因保守取代而彼此不同,那么可以向上调节序列一致性百分比或类似性程度以校正取代的保守性质。进行这一调节的方式是那些本领域的技术人员众所周知的。参见(例如)Pearson(1994)《分子生物学方法》(Methods Mol.Biol.) 24:307-331,其以引用方式并入本文中。含有具有类似化学性质的侧链的氨基酸的基团的

实例包括(1)脂肪族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、白氨酸和异白氨酸;(2)脂肪族-羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;(3)含有酰胺的侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;(4)芳香族侧链:苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;(5)碱性侧链:赖氨酸、精氨酸和组氨酸;(6)酸性侧链:天冬氨酸盐和谷氨酸盐和(7)含硫侧链是半胱氨酸和甲硫氨酸。优选保守氨基酸取代基团为:缬氨酸-白氨酸-异白氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸、谷氨酸-天冬氨酸和天冬酰胺-谷氨酰胺。或者,保守替代是在如Gonnet等人(1992)《科学》(Science) 256:1443-1445中所公开的PAM250对数似然矩阵中具有正值的任一变化,所述文献以引用方式并入本文中。“中等保守”替代是在PAM250对数似然矩阵中具有非负值的任一变化。

[0160] 多肽序列类似性(其也称作序列一致性)通常是使用序列分析软件来测量。蛋白质分析软件使用指配给多个取代、缺失和其它修饰(包括保守氨基酸取代)的类似性的测量来匹配类似序列。举例来说,GCG软件含有例如Gap和Bestfit等程序,所述程序可以与缺省参数一起使用来测定密切相关多肽(例如来自生物体的不同物种的同源多肽)之间或野生型蛋白质与其突变蛋白之间的序列同源性或序列一致性。例如参见,GCG 6.1版。多肽序列也可以使用FASTA使用缺省或推荐参数(GCG 6.1版中的程序)来比较。FASTA(例如FASTA2和FASTA3)提供询问与搜索序列之间的最佳重叠的区的比对和序列一致性百分比(Pearson (2000),参见上文)。在比较本发明序列与含有来自不同生物体的大量序列的数据库时的另一优选算法是电脑程序BLAST,尤其BLASTP或TBLASTN,其使用缺省参数。例如参见Altschul等人(1990)《分子生物学期刊》(J.Mol.Biol.) 215:403-410和Altschul等人(1997)《核酸研究》(Nucleic Acids Res.) 25:3389-402,其各自以引用方式并入本文。

[0161] 如本文所用“疾病或病症”是可以利用本发明的IL-33和IL-4拮抗剂来治疗的任一病况。如本文所用“发炎疾病或病症”是指病状全部或部分地由(例如)免疫系统细胞的数量变化、迁移速率变化或活化变化引起的疾病、病症或病理学病况。免疫系统的细胞包括(例如)T细胞、B细胞、单核球或巨噬细胞、先天淋巴样细胞、抗原呈递细胞(APC)、树突细胞、小神经胶质细胞、NK细胞、嗜中性球、嗜酸性球、肥大细胞或特别是与免疫学相关的任何其它细胞(例如,产生细胞介素的内皮或上皮细胞)。如本文所用,在一个实施例中,“发炎疾病或病症”选自由以下组成的群组的免疫病症或病况:气喘(包括类固醇抗性气喘、类固醇敏感性气喘、嗜酸性球性气喘或非嗜酸性球性气喘)、过敏、重度过敏、多发性硬化、发炎性肠病(例如克罗恩氏病或溃疡性结肠炎)、慢性阻塞性肺病(COPD,其可以或可以不与暴露于一手或二手香烟烟雾相关,部分地由其造成,或由其引起)、气喘和COPD重叠综合症(ACOS)、嗜酸性球性食道炎、慢性支气管炎、肺气肿、伴或不伴鼻窦肉的慢性鼻窦炎、狼疮、异位性皮炎、牛皮癣、硬皮症和其它纤维变性疾病、修格连氏综合症(sjogren's syndrome)、血管炎(贝西氏病(behcet's disease)、巨细胞动脉炎、亨-舍二氏紫癜(Henoch-Schonlein purpura)和许-施二氏综合症)、发炎性疼痛和关节炎。在一个实施例中,关节炎选自由以下组成的群组:类风湿性关节炎、骨关节炎和牛皮癣性关节炎。

[0162] 在一个实施例中,“发炎疾病或病症”是包含1型反应和/或2型反应的免疫病症或病况。

[0163] “1型免疫反应”是通过以下来定义:T辅助1(T_H1)细胞和 T_H17 细胞、细胞毒性T细胞、第1组和第3组先天淋巴样细胞(ILC)和免疫球蛋白M(IgM)、IgA和特定IgG抗体类别和细胞介素(包括(例如)TNF、IL-1 β 和IL-6)。这种效应物反应介导对许多微生物(包括细菌、病毒、

真菌和原生动物)的免疫性。1型免疫性的要素也有助于维持肿瘤免疫监督。

[0164] “2型免疫反应”是以下列为特征:CD4+T辅助2(T_H2)细胞、第2组先天淋巴样细胞(ILC)、嗜酸性球、嗜碱性球、肥大细胞、IL-4和/或IL-13活化的巨噬细胞、IgE抗体亚类和细胞介素(包括(例如)IL-4、IL-5、IL-9、IL-13、胸腺基质淋巴生成素、IL-25和IL-33)。2型免疫性因加强障壁防御而提供抵抗大型细胞外寄生虫的保护。2型免疫反应的要素也有助于维持代谢稳态并且促进损伤后的组织重塑。这种类型的反应也可以因应过敏原而开始。

[0165] 如本文所用片语“抑制或减弱IL-33介导的信号传导”是指相对于IL-33在不存在如本文所阐述的拮抗剂(例如IL-33抗体或IL-33拮)下刺激通过ST2和IL-1RAcP的信号转导的程度,IL-33在存在如本文所阐述的拮抗剂(例如IL-33抗体或IL-33拮)下刺激通过其受体ST2和共受体IL-1RAcP的信号转导的程度有所减少。如本文所用片语“抑制或减弱IL-4R介导的信号传导”是指相对于IL-4在不存在如本文所阐述的拮抗剂(例如IL-4或IL-4R抗体)下刺激通过1型和/或2型IL-4受体的信号转导的程度,IL-4在存在如本文所阐述的拮抗剂(例如IL-4或IL-4R抗体)下刺激通过1型和/或2型IL-4受体的信号转导的程度有所减少。为了检验抑制的程度,用潜在抑制剂/拮抗剂处理试样并将其与没有抑制剂/拮抗剂的对照试样进行比较。将对照试样(即,未经拮抗剂处理)指配为100%的相对活性值。当相对于对照的活性值为约90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%或20%或更低时达成抑制。抑制的终点可以包含(例如)发炎或细胞去粒、分泌或活化(例如细胞介素的释放)的指示物的预定量或百分比。对通过ST2和IL-1RAcP的IL-33信号转导的抑制可以通过在体外分析(例如本领域的技术人员已知的那些)中分析IL-33信号转导来测定。另外,可以使用体内分析来确定分子是否为IL-33的拮抗剂。例如,可以使用体内分析来评估抗IL-33的抗体对关于人类IL-33的表达为同型接合的过敏原敏感型动物中的肺发炎的效应。在用过敏原敏化动物之后,用本发明的抗IL-33抗体或阴性同型对照抗体来治疗动物的子集。之后,将动物处死并收集肺用于细胞浸润的评估以及细胞介素测量(IL-4和IL-5)。作为拮抗剂有效的IL-33抗体应展示肺中发炎细胞减少的趋势,以及细胞介素(例如IL-4和IL-5)减少的趋势。可以实施类似分析以评估IL-4R拮抗剂在体外或体内阻断IL-4结合至1型和/或2型受体之后的信号转导的能力。此外,可以修改上述分析中的任一个以比较使用单独IL-33拮抗剂、单独IL-4或IL-4R拮抗剂的效应或使用IL-33拮抗剂和IL-4或IL-4R拮抗剂一起的组合的效应。

[0166] 在另一方面中,本发明提供降低有需要的个体中气喘或COPD或气喘或COPD恶化的发生率或复发的方法,其包括与包含IL-33拮抗剂的药物组合物组合向所述个体施用包含白细胞介素-4受体(IL-4R)拮抗剂的药物组合物。如本文所用,表述“气喘或COPD恶化”意指气喘或COPD的一个或多个症状或标记的严重性和/或频率和/或持续时间的增加。“气喘或COPD恶化”还包括需要针对气喘或COPD的治疗性介入(例如,类固醇治疗、吸入皮质类固醇治疗、住院等)和或可以通过所述治疗性介入治疗的个体的呼吸健康的任何劣化。

[0167] 气喘或COPD恶化的“发生率或复发的降低”意味着已接受本发明药物组合物的个体在治疗后经历比治疗前更少的气喘或COPD恶化(即,少至少一次恶化),或在开始本发明药物组合物的治疗后不经历气喘或COPD恶化达至少4周(例如,4周、6周、8周、12周、14周或更多个周)。气喘或COPD恶化的“发生率或复发的降低”或者意味着与未接受本发明药物组合物的个体相比,在施用本发明药物组合物之后,个体经历气喘或COPD恶化的似然度降低

至少10% (例如,10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%或更多)。

[0168] 如本文所用“纤维变性疾病或病症”是指涉及组织或器官中的过量纤维性结缔组织的病况。“纤维变性”是指病理过程,其包括结缔组织形成瘢痕和过度产生细胞外基质作为对组织损害的反应。如本文所用可以通过施用本发明的抗IL-33和IL-4拮抗剂治疗的例示性“纤维变性疾病或病症”包括肺纤维变性(例如,特发性肺纤维变性、博来霉素诱发的肺纤维变性、石棉诱发的肺纤维变性和闭塞性细支气管炎综合症)、慢性气喘、与急性肺损伤和急性呼吸窘迫相关的纤维变性(例如,细菌性肺炎诱发的纤维变性、创伤诱发的纤维变性、病毒肺炎诱发的纤维变性、呼吸机诱发的纤维变性、非肺败血症诱发的纤维变性和抽吸诱发的纤维变性)、硅肺病、辐射诱发的纤维变性、慢性阻塞性肺病(COPD,其可以或可以不与暴露于一手或二手香烟烟雾相关,部分地由所述暴露造成或由所述暴露引起)、硬皮症、眼部纤维变性、皮肤纤维变性(例如,硬皮症)、肝纤维变性(例如,硬化、酒精诱发的肝纤维变性、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、胆管损伤、原发性胆汁性硬化、感染诱发或病毒诱发的肝纤维变性、自体免疫肝炎、肾脏(肾)纤维变性、心脏纤维变性、动脉粥样硬化、支架再狭窄和骨髓纤维变性。尽管气喘和COPD通常被视为发炎病况,但也已知每一个展现纤维变性病症的性质。

[0169] 对治疗或疗法(例如包含IL-33拮抗剂(例如,IL-33或ST2结合拮抗剂)或IL-4拮抗剂的治疗)的患者的“反应”或患者的“反应性”是指从所述治疗或由于所述治疗给予具有发生IL-33介导的病症(例如,气喘、COPD、ACOS、鼻息肉或肺纤维变性,例如,特发性肺纤维变性)的风险或患有所述病症的患者临床或治疗益处。所述益处可以包括患者来自拮抗剂治疗或由所述治疗引起的细胞或生物反应、完全反应、部分反应、稳定疾病(无进展或反复)或后来复发的反应。本领域的技术人员将能容易地确定患者是否具有反应性。例如,罹患气喘并且对包含IL-33拮抗剂和/或IL-4拮抗剂的治疗具有反应性的患者可显示以下例示性症状中的一个或多个的可观察和/或可测量的降低或不存在:复发性喘鸣、咳嗽、呼吸困难、胸部压迫感、夜间发生或恶化的症状、由冷空气、锻炼或暴露于过敏原触发的症状。

[0170] 另外,“增强的治疗功效”可以通过以下来测定:在与当使用单独IL-33拮抗剂或IL-4R拮抗剂时所达成的结果比较时,评估利用IL-33拮抗剂加IL-4R拮抗剂的组合治疗是否使得疾病或病症的至少一种症状显著改善或如本文所测量生物参数(例如肺发炎、细胞介素释放等)中的至少一个改善。如本申请中所阐述的功效的任一生物测量都可以用于测定治疗功效或其增强。

[0171] IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂

[0172] 本发明方法包括与治疗有效量的IL-4R拮抗剂组合向罹患发炎疾病或病症的患者施用治疗有效量的IL-33拮抗剂。

[0173] IL-33拮抗剂

[0174] 术语“人类白细胞介素-33”或“人类IL-33”或“hIL-33”或“IL-33”是指具有270个氨基酸的全长未处理的IL-33(例如参见,SEQ ID NO:348或UniProtKB登录号095760)或其生物活性片段,以及由细胞中的处理产生的IL-33的任一形式(例如参见,SEQ ID NO:349,其含有全长蛋白质的氨基酸残基112-270)。所述术语还涵盖IL-33的天然变体,例如,剪接变体(例如参见,Hong等人,(2011),《生物化学杂志》(J.Biol.Chem.) 286(22):20078-20086)或等位基因变体或IL-33的任何其它同种型,例如阐述于W02016/156440中的IL-33

的氧化或还原形式。可以由本发明的抗体或其抗原结合片段或本发明的IL-33拮抗剂中和、抑制、阻断、废除、减弱、减少或干扰的IL-33的活性包括(但不限于)抑制IL-33受体介导的信号传导或抑制IL-33介导的炎症。

[0175] 如本文所用,“IL-33拮抗剂”(在本文也称作“IL-33抑制剂”或“IL-33阻断剂”等)是任何抑制IL-33与其一种或多种结合配体发生相互作用并且如此可以抑制IL-33介导的信号传导的药剂。例如,“IL-33拮抗剂”可以结合至以下各项和/或与以下各项发生相互作用:IL-33或IL-33受体(称作“致肿瘤抑制因子”(“ST2”))或IL-33共受体(称作“白细胞介素-1受体辅助蛋白”(“IL-1RAcP”))或以下中的任一个的复合物:IL-33/ST2或ST2/IL-1RAcP,并且如此可以抑制IL-33介导的信号传导。

[0176] IL-33拮抗剂的类别的非限制性实例包括小分子IL-33抑制剂或受体拮抗剂,或在严格条件下与编码IL-33或IL-33受体或共受体的核酸序列(例如,短干扰RNA(siRNA)或成簇规律间隔短回文重复RNA(CRISPR-RNA或crRNA),包括具有crRNA和tracrRNA序列的单导向RNA(sgRNA),如Mali等人(《科学》(Science.) 339:823-26,2013)中所阐述,所述文献是以全文引用方式并入本文中)杂交的核酸。其它IL-33拮抗剂包括包含IL-33受体(例如ST2)的配体结合部分、IL-33结合支架分子(例如,DARPin、HEAT重复蛋白、ARM重复蛋白、三角形四肽重复蛋白、基于纤网蛋白的支架构筑体和基于天然重复蛋白的其它支架等[例如参见,Boersma和Pluckthun,2011,《生物技术近期述评》(Curr.Opin.Biotechnol.) 22:849-857,和其中所引用的参考文献])和抗IL-33适配体或其部分的蛋白质。

[0177] IL-33抗体

[0178] 根据某些实施例,可以用于本发明的背景中的IL-33拮抗剂或抑制剂是特异性结合人类IL-33的抗IL-33抗体或抗体的抗原结合片段。用于本文所述方法中的例示性抗IL-33抗体的氨基酸序列标识符显示于表1中并且编码所述IL-33抗体的核酸序列标识符显示于表2中。

[0179] 在一个实施例中,用于本发明方法中的本文所述抗IL-33抗体公开于US9,453,072中,所述案是以全文引用方式并入。

[0180] 根据某些实施例,用于本发明方法中的抗IL-33抗体特异性结合至IL-33。术语“特异性结合”等意味着抗体或其抗原结合片段与抗原形成在生理学条件下相对稳定的复合物。用于确定抗体是否特异性结合至抗原的方法为本领域众所周知的并且包括(例如)平衡透析、表面等离子共振等。例如,如在本发明背景下使用的“特异性结合”IL-33的抗体包括以如下 K_D 结合至IL-33或其生物活性部分的抗体:小于约1000nM、小于约500nM、小于约300nM、小于约200nM、小于约100nM、小于约90nM、小于约80nM、小于约70nM、小于约60nM、小于约50nM、小于约40nM、小于约30nM、小于约20nM、小于约10nM、小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于约2nM、小于约1nM或小于约0.5nM,如在表面等离子共振分析中所测量。然而,特异性结合IL-33的分离抗体可以与其它抗原(例如来自其它(非人类)物种的IL-IL-33分子)具有交叉反应性。

[0181] 根据本发明的某些例示性实施例,IL-33拮抗剂为抗IL-33抗体或其抗原结合片段,所述抗原结合片段包含包括如美国专利第9,453,072号中和本文所公开的表1中所阐述的抗IL-33抗体的任一氨基酸序列的重链可变区(HCVR)、轻链可变区(LCVR)和/或互补决定区(CDR)。在某些实施例中,IL-33拮抗剂是具有阐述于US9,453,072中的参考抗体的结合特

征的抗IL-33抗体。在某些例示性实施例中,可以用于本发明方法背景中的抗IL-33抗体或其抗原结合片段包括包含SEQ ID NO:274的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)的重链互补决定区(HCDR)和包含SEQ ID NO:282的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)的轻链互补决定区(LCDR)。根据某些实施例,抗IL-33抗体或其抗原结合片段包含三条HCDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三条LCDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中HCDR1包含SEQ ID NO:276的氨基酸序列;HCDR2包含SEQ ID NO:278的氨基酸序列;HCDR3包含SEQ ID NO:280的氨基酸序列;LCDR1包含SEQ ID NO:284的氨基酸序列;LCDR2包含SEQ ID NO:286的氨基酸序列;并且LCDR3包含SEQ ID NO:288的氨基酸序列。在再其它实施例中,抗IL-33抗体或其抗原结合片段包括包含SEQ ID NO:274的HCVR和包含SEQ ID NO:282的LCVR。

[0182] 在一个实施例中,IL-33拮抗剂为称作REGN3500的IL-33抗体,其包含具有SEQ ID NO:274的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:282的氨基酸序列的LCVR和分别具有SEQ ID NO:276-278-280的氨基酸序列的重链互补决定区(HCDR1-HCDR2-HCDR3)和分别具有SEQ ID NO:284-286-288的氨基酸序列的轻链互补决定区(LCDR1-LCDR2-LCDR3)。

[0183] 可以用于本文所阐述方法中的其它抗IL-33抗体和其抗原结合片段公开于EP1725261、US8187596、W02011031600、W02015099175、W02015106080 (ANB020)、US2016/0168242、W02016/077381、W02016/077366或W02016/156440中,所述案件各自以全文引用方式并入本文中。

[0184] IL-33阱

[0185] 根据某些实施例,可以在本发明背景下使用的IL-33拮抗剂或抑制剂是基于IL-33受体的阱,例如本文所阐述的那些。

[0186] 本文所阐述的IL-33阱包含至少一个IL-33结合结构域,所述结构域包含IL-33受体蛋白(命名为ST2)的IL-33结合部分。在某些实施例中,IL-33阱进一步包含IL-33共受体(命名为IL-1受体辅助蛋白或IL-1RAcP)的细胞外部分。IL-33阱还可以含有至少一种多聚化组分,所述组分用于使所述阱的多种组分彼此连接。IL-33阱的多种组分阐述于下文中并且显示于图1中。

[0187] 在一个实施例中,用于本发明方法中的本文所述的IL-33阱公开于US2014/0271642和W02014/152195中,所述案件以全文引用方式并入本文中。

[0188] 简言之,IL-33阱包含附接至多聚化结构域(M)的第一IL-33结合结构域(D1)。在某些实施例中,本发明的IL-33拮抗剂包含附接至D1和/或M的第二IL-33结合结构域(D2)。根据某些实施例,D1包含ST2蛋白的IL-33结合部分。根据某些实施例,D2包含IL-1RAcP蛋白的细胞外部分。

[0189] IL-33阱的个别组分可以相对于彼此以多种使得功能拮抗剂分子能结合IL-33的方式布置。例如,D1和/或D2可以附接至M的N末端。在其它实施例中,D1和/或D2附接至M的C末端。在再其它实施例中,D1附接至D2的N末端,并且D2附接至M的N末端,从而引起自由式D1-D2-M表示的拮抗剂分子的N末端至C末端的串联式融合(in-line fusion)。个别组分的其它定向于本文别处于图1中公开。

[0190] 用于本发明方法中的IL-33阱的非限制性实例显示于表3a和3b中,并且包括命名为“hST2-hFc”、“hST2-mFc”、“hST2-hIL1RAcP-mFc”、“hST2-hIL1RAcP-hFc”和“mST2-mIL1RAcP-mFc”的IL-33阱。这些分别对应于SEQ ID NO:323、324、325、326和327。本发明包

括具有与本文所述的例示性的基于IL-33受体的阱(例如SEQ ID NO:323、324、325、326和327)中的任一个至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的氨基酸序列的基于IL-33受体的阱。

[0191] 可以使用标准分子生物技术(例如,重组体DNA技术)来构筑本发明IL-33阱或其变体中的任一个。

[0192] 用于本发明方法中的IL-33阱包含至少一个IL-33结合结构域(在本文中有时以名称“D”或“D1”、“D2”等来提到)。在某些实施例中,IL-33结合结构域包含ST2蛋白的IL-33结合部分。ST2蛋白的IL-33结合部分可以包含ST2蛋白的所有或一部分细胞外结构域或由其组成。在某些实施例中,ST2蛋白为人类ST2蛋白。如本文所用“人类ST2蛋白”是指如登录号NP_057316.3的氨基酸1-556中所显示(还显示为SEQ ID NO:352)的ST2蛋白。在某些实施例中,ST2蛋白为来自非人类物种的ST2蛋白(例如,小鼠ST2、猴ST2等)。ST2蛋白的例示性IL-33结合部分在本文阐述为SEQ ID NO:328的氨基酸序列(对应于人类ST2的细胞外结构域[NCBI登录号NP_057316.3的K19-S328])。ST2蛋白的IL-33结合部分的其它实例在本文阐述为SEQ ID NO:329的氨基酸序列(对应于小鼠ST2的细胞外结构域[NCBI登录号P14719的S27-R332])。

[0193] 在某些实施例中,IL-33结合结构域包含IL-1RAcP蛋白的细胞外部分。在某些实施例中,IL-1RAcP蛋白为人类IL-1RAcP蛋白。如本文所用“人类IL-1RAcP蛋白”是指具有SEQ ID NO:353的氨基酸序列的IL-1RAcP蛋白。在某些实施例中,IL-1RAcP蛋白为来自非人类物种的IL-1RAcP蛋白(例如,小鼠IL-1RAcP、猴IL-1RAcP等)。IL-1RAcP蛋白的例示性细胞外部分在本文阐述为SEQ ID NO:330的氨基酸序列(对应于人类IL-1RAcP的细胞外结构域[NCBI登录号Q9NPH3的S21-E359])。IL-1RAcP蛋白的细胞外部分的另一实例在本文阐述为SEQ ID NO:331的氨基酸序列(对应于小鼠IL-1RAcP的细胞外结构域[NCBI登录号Q61730的S21-E359])。

[0194] 本发明包括包含D1和/或D2组分的IL-33阱,所述D1和/或D2组分具有与本文所述的例示性IL-33结合结构域组分氨基酸序列(例如,SEQ ID NO:328、329、330和331)中的任一个至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的氨基酸序列。

[0195] 本发明的IL-33拮抗剂还包含至少一个多聚化结构域(在本文中有时以缩写“M”、“M1”、“M2”等来提到)。概括来说,本发明的多聚化结构域用于使IL-33拮抗剂的多种组分(例如,IL-33结合结构域)彼此连接。如本文所用,“多聚化结构域”是任何能(共价或非共价地)与相同或类似结构或组分的第二巨分子缔合的巨分子。例如,多聚化结构域可以是包含免疫球蛋白C_H3结构域的多肽。多聚化结构域的非限制性实例是免疫球蛋白的Fc部分,例如,选自以下的IgG的Fc结构域:同型IgG1、IgG2、IgG3和IgG4以及每一同型组内的任一异型。

[0196] 可以用于本发明IL-33拮抗剂中的非限制性例示性多聚化结构域包括人类IgG1 Fc(SEQ ID NO:332)或小鼠IgG2a Fc(SEQ ID NO:333)。本发明包括包含M组分的IL-33拮抗剂,所述M组分具有与本文所述的例示性M组分氨基酸序列(例如,SEQ ID NO:332或333)中的任一个至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的氨基酸序列。

[0197] 在某些实施例中,本发明的IL-33拮抗剂包含两个多聚化结构域M1和M2,其中M1和M2彼此一致。例如,M1可以是具有特定氨基酸序列的Fc结构域,并且M2为具有与M1相同的氨基酸序列的Fc结构域。

[0198] 本发明的IL-33拮抗剂的个别组分(例如,D1、D2、M等)可以相对于彼此以多种方式布置。所有上述布置的非限制性实例示意性地阐释于图1中。

[0199] 用于本发明方法中的包含两个多聚化结构域(M1和M2)和四个IL-33结合结构域(D1、D2、D3和D4)的IL-33拮抗剂的非限制性阐释性实例也显示于图1布置C和D中。

[0200] 本发明的IL-33拮抗剂的个别组分(例如,D1、D2、M1、M2等)可以彼此直接附接(例如,D1和/或D2可以直接附接至M等);或者,所述个别组分可以通过连接体组分彼此附接(例如,D1和/或D2可以通过在个别组分之间定向的连接体附接至M;D1可以通过连接体附接至D2;等)。在本文所公开布置中的任一个中,其中一种组分阐述为“附接”至另一组分,所述附接可以通过连接体(即使未特定指定如此)。如本文所用,“连接体”是任何将两种多肽组分接合在一起的分子。

[0201] 用于本发明方法中的IL-33拮抗剂的生物特征阐述于US2014/0271642和W02014/152195中,所述案件是以全文引用方式并入本文中。

[0202] 其它IL-33拮抗剂

[0203] 结合IL-33和/或其受体(ST2和/或IL-1RAcP)并且阻断配体-受体相互作用的多肽被视为IL-33拮抗剂并且公开于W02014/152195中,所述案是以全文引用方式并入。可以用作IL-33拮抗剂并且可以用于本发明方法中的其它药剂包括免疫黏附素、肽体和可溶性ST2或其衍生物;抗IL-33受体抗体(例如,抗ST2抗体,例如,AMG-282(Amgen)或STLM15(Janssen)或阐述于W02012/113813、W0 2013/173761、W0 2013/165894、US8,444,987或US7,452,980中的任一抗ST2抗体,所述案件各自以全文引用方式并入本文中。用于本发明方法中的其它IL-33拮抗剂包括ST2-Fc蛋白质,例如阐述于W02013/173761或W02013/165894中的那些,所述案件各自以全文引用方式并入本文中。

[0204] IL-4R拮抗剂

[0205] 如本文所用,“IL-4R拮抗剂”(在本文还称作“IL-4R抑制剂”、“IL-4R α 拮抗剂”、“IL-4R阻断剂”、“IL-4R α 阻断剂”等)是任何结合至IL-4R α 或IL-4R配体或与所述配体发生相互作用并且抑制或减弱1型和/或2型IL-4受体的正常生物信号传导功能的药剂。如本文所用术语“人类IL-4R”或“hIL-4R”是指具有SEQ ID NO:347的氨基酸序列的IL-4R或其生物活性片段。1型IL-4受体是包含IL-4R α 链和 γ c链的二聚体受体。2型IL-4受体是包含IL-4R α 链和IL-13R α 1链的二聚体受体。1型IL-4受体与IL-4发生相互作用并且受IL-4刺激,而2型IL-4受体与IL-4和IL-13发生相互作用并且受IL-4和IL-13刺激。因此,可以用于本发明方法中的IL-4R拮抗剂可以通过阻断IL-4介导的信号传导、IL-13介导的信号传导或IL-4和IL-13介导的信号传导来起作用。本发明的IL-4R拮抗剂可以由此阻止IL-4和/或IL-13与1型或2型受体发生相互作用。

[0206] IL-4R拮抗剂的类别的非限制性实例包括小分子IL-4R拮抗剂、IL-4R表达或活性的基于核酸的抑制剂(例如,siRNA或反义)、与IL-4R特异性相互作用的基于肽的分子(例如,肽体)、“受体体”(例如,包含IL-4R组分的配体-结合结构域的经改造分子)、IL-4R结合支架分子(例如,DARPin、HEAT重复蛋白、ARM重复蛋白、三角形四肽重复蛋白、基于纤网蛋白

的支架构筑体和基于天然重复蛋白的其它支架等[例如参见,Boersma和Pluckthun,2011,《当前生物技术》(Curr.Opin.Biotechnol.) 22:849-857,和其中所引用的参考文献]) 和抗IL-4R适配体或其部分。根据某些实施例,可以在本发明的背景下使用的IL-4R拮抗剂是特异性结合人类IL-4R的抗IL-4R抗体或抗体的抗原结合片段。

[0207] 在一个实施例中,用于本发明方法中的公开于本文中的抗IL-4R抗体是杜匹鲁单抗(还参见美国专利第7,605,237号;第7,608,693号和第9,290,574号)。

[0208] 抗IL-4R抗体

[0209] 根据本发明的某些例示性实施例,IL-4R拮抗剂是特异性结合至IL-4R α 的抗IL-4R α 抗体或其抗原结合片段。术语“特异性结合”等意味着抗体或其抗原结合片段与抗原形成在生理学条件下相对稳定的复合物。用于确定抗体是否特异性结合至抗原的方法为本领域众所周知的并且包括(例如)平衡透析、表面等离子共振等。例如,如在本发明背景下使用的“特异性结合”IL-4R α 的抗体包括以如下 K_D 结合IL-4R α 或其生物活性部分的抗体:小于约1000nM、小于约500nM、小于约300nM、小于约200nM、小于约100nM、小于约90nM、小于约80nM、小于约70nM、小于约60nM、小于约50nM、小于约40nM、小于约30nM、小于约20nM、小于约10nM、小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于约2nM、小于约1nM或小于约0.5nM,如在表面等离子共振分析中所测量。然而,特异性结合人类IL-4R α 的经分离抗体可以与其它抗原(例如来自其它(非人类)物种的IL-4R α 分子)具有交叉反应性。

[0210] 根据本发明的某些例示性实施例,IL-4R拮抗剂为抗IL-4R α 抗体或其抗原结合片段,所述抗原结合片段包括包含如美国专利第7,605,237号和第7,608,693号中所阐述的抗IL-4R抗体的任一氨基酸序列的重链可变区(HCVR)、轻链可变区(LCVR)和/或互补决定区(CDR)。在某些实施例中,IL-4R拮抗剂是具有参考抗体(在本文称作杜匹鲁单抗)(参见US7,605,237和US7,608,693)的结合特征的抗IL-4R抗体。在某些例示性实施例中,可以在本发明方法的背景下使用的抗IL-4R α 抗体或其抗原结合片段包含包含SEQ ID NO:337的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)的重链互补决定区(HCDR)和包含SEQ ID NO:338的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)的轻链互补决定区(LCDR)。根据某些实施例,抗IL-4R α 抗体或其抗原结合片段包含三条HCDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三条LCDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中HCDR1包含SEQ ID NO:339的氨基酸序列;HCDR2包含SEQ ID NO:340的氨基酸序列;HCDR3包含SEQ ID NO:341的氨基酸序列;LCDR1包含SEQ ID NO:342的氨基酸序列;LCDR2包含SEQ ID NO:343的氨基酸序列;并且LCDR3包含SEQ ID NO:344的氨基酸序列。在再其它实施例中,抗IL-4R抗体或其抗原结合片段包括包含SEQ ID NO:337的HCVR和包含SEQ ID NO:338的LCVR。在再其它实施例中,抗IL-4R抗体或其抗原结合片段包括包含SEQ ID NO:335的HCVR和包含SEQ ID NO:336的LCVR。在再其它实施例中,抗IL-4R抗体或其抗原结合片段包含如SEQ ID NO:345中所阐述的重链(HC)氨基酸序列和如SEQ ID NO:346中所阐述的轻链(LC)氨基酸序列。根据某些例示性实施例,本发明方法包括在业内以杜匹鲁单抗提到和知晓的抗IL-4R α 抗体或其生物等效物的使用。杜匹鲁单抗包含具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:338的氨基酸序列的LCVR和分别具有SEQ ID NO:339-340-341的氨基酸序列的重链互补决定区(HCDR1-HCDR2-HCDR3)和分别具有SEQ ID NO:342-343-344的氨基酸序列的轻链互补决定区(LCDR1-LCDR2-LCDR3)。

[0211] 可以在本发明方法的背景下使用的其它抗IL-4R α 抗体包括(例如)在业内以

AMG317提到和知晓的抗体 (Corren等人, 2010,《美国呼吸与重症监护医学杂志》(Am J Respir Crit Care Med.), 181 (8):788-796) 或MEDI 9314, 或如美国专利第7,186,809号、美国专利第7,605,237号、美国专利第7,638,606号、美国专利第8,092,804号、美国专利第8,679,487号或美国专利第8,877,189号中所阐述的任一抗IL-4R α 抗体。

[0212] 抗IL-4和/或抗IL-33抗体的pH依赖性特征

[0213] 在本发明方法的背景下使用的抗IL-4R α 和IL-33抗体可以具有pH依赖性结合特征。例如,与中性pH相比,在酸性pH下用于本发明方法中的抗IL-4R α 抗体或抗IL-33抗体可以分别展现降低的与IL-4R α 或IL-33的结合。或者,与中性pH相比,在酸性pH下本发明的抗IL-4R α 抗体或本发明的抗IL-33抗体可以展现增强的与其抗原的结合。表述“酸性pH”包括小于约6.2的pH值,例如,约6.0、5.95、5.9、5.85、5.8、5.75、5.7、5.65、5.6、5.55、5.5、5.45、5.4、5.35、5.3、5.25、5.2、5.15、5.1、5.05、5.0或更小。如本文所用,表述“中性pH”意指约7.0至约7.4的pH。表述“中性pH”包括约7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35和7.4的pH值。

[0214] 在某些情形中,“与中性pH相比在酸性pH下与IL-4R α 的结合降低”或“与中性pH相比在酸性pH下与IL-33的结合降低”是以在酸性pH下抗体分别结合至IL-4R α 或IL-33的K_D值对在中性pH下抗体分别结合至IL-4R α ,或IL-33的K_D值的比率来表述(或反之亦然)。例如,出于本发明的目的,如果抗体或其抗原结合片段展现约3.0或更大的酸性/中性K_D比,那么所述抗体或其抗原结合片段可以视为展现“与中性pH相比在酸性pH下与IL-4R α 的结合降低”或“与中性pH相比在酸性pH下与IL-33的结合降低”。在某些例示性实施例中,本发明的抗体或抗原结合片段的酸性/中性K_D比可以是约3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5、11.0、11.5、12.0、12.5、13.0、13.5、14.0、14.5、15.0、20.0、25.0、30.0、40.0、50.0、60.0、70.0、100.0或更大。

[0215] 具有pH依赖性结合特征的抗体可以通过(例如)筛选与中性pH相比在酸性pH下与特定抗原的结合降低(或增强)的抗体群体获得。另外,在氨基酸层面上修饰抗原结合结构域可以得到具有pH依赖性特征的抗体。例如,通过用组氨酸残基取代抗原结合结构域(例如,在CDR内)的一个或多个氨基酸,可以获得相对于中性pH在酸性pH下具有降低的抗原结合的抗体。如本文所用,表述“酸性pH”意指6.0或更小的pH。

[0216] 用于组合疗法中的IL-33和IL-4R拮抗剂的生物效应

[0217] 本发明包括IL-33拮抗剂与IL-4R拮抗剂组合用于治疗发炎病况的用途。在一个实施例中,与当单独使用每一抗体作为单一疗法时所获得的结果相比,在动物纤维变性和肺发炎模型中与抗IL4R抗体组合使用抗IL-33抗体展示增强的功效。

[0218] 例如,在本文所阐述的动物模型(称作肺发炎和纤维变性的屋尘螨(HDM)模型)中,肺中某些细胞介素的含量显著升高。这包括IL-4、IL-5、IL-6、IL-1 β 和MCP-1的升高。在施用屋尘螨过敏原之后小鼠肺中IL-13和TNF α 的含量也有增加的趋势。然而,当在这种模型中测试时,IL-33抗体和IL-4R抗体的组合使用可以降低所治疗的小鼠的肺中细胞介素IL-4、IL-5、IL-6、IL-13、IL-1 β 、MCP-1和TNF α 的含量。利用抗IL-33和抗IL-4R抗体的组合所观察到的对肺细胞介素含量的效应大于任一个别抗体在单独使用时的治疗,如实例4中所显示。

[0219] 另外,在接受屋尘小鼠过敏原的小鼠中,细胞介素基因、趋化介素基因和胶原蛋白基因(包括I14、I113、I16、Cc12、Tgfb1、I113ra2和Col24a1)的含量升高。这种模型中存在

IL15、IL19、Cc111、Cc124、Tnf、Il1r11和Col15a1的含量增加的趋势。与利用任一单独抗体的治疗所观察到的程度相比,在利用抗IL-33抗体和抗IL-4R抗体的组合治疗之后,IL16、Cc12、Cc111和Cc124的表达显著降低。与利用任一单独抗体的治疗相比,当用抗IL-33抗体加抗IL-4R抗体治疗小鼠时,也存在IL14、IL15、IL13、IL19、Tnf、Tgfb7、Il1r11、Il13ra2、Col15a1和Col124a1降低的趋势。

[0220] 当在屋尘螨模型中对肺细胞浸润进行分析时,观察到与抗IL-33加抗IL-4R抗体的组合使用相关的另一生物效应。如实例4中所显示,在接受屋尘螨过敏原的小鼠中,嗜酸性球、经活化的B细胞、经活化的CD8细胞、ST2+CD4+T细胞的频率和CD4/CD8T细胞比率显著更高。在给予屋尘螨过敏原的小鼠的肺中也存在经活化的CD4+T细胞的频率增加的趋势。与当单独使用任一抗体时所观察到的相比,在经抗IL-33抗体加抗IL-4R抗体治疗的小鼠中存在嗜酸性球、经活化的B细胞、经活化的CD8细胞、ST2+CD4+T细胞的频率和CD4/CD8T细胞比率降低的趋势。

[0221] 另外,接受屋尘螨过敏原的小鼠也显示其肺中杯状细胞化生的增加。类似地,在这一小鼠模型中也存在肺实变(肺泡空间中固体或液体物质的累积)和上皮下纤维变性(肺上皮下方过量间质胶原蛋白沉积)的增加。与当单独使用两种抗体中的任一个时所观察到的结果相比,用抗IL-33抗体与抗IL-4R抗体的组合治疗所述小鼠可以引起杯状细胞化生和上皮下胶原蛋白厚度的减少和肺实变的显著减少。

[0222] 接受屋尘螨过敏原的小鼠也展示循环IgE含量的增加以及屋尘螨(HDM)特异性IgG1增加的趋势。与当单独使用任一抗体时所观察到的IgE和HDM特异性IgG1的含量相比,施用抗IL-33抗体和IL-4R抗体二者引起血清IgE含量的显著降低和HDM特异性IgG1降低的趋势。

[0223] 作为组合疗法用于治疗发炎肺病症或病况的IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂(例如本文所阐述的抗体)可以抑制或减弱IL-33介导的信号传导和IL-4R介导的信号传导并且其在本文所阐述的HDM模型中可以展现所观察到的生物性质中的一个或多个,例如,(1)在哺乳动物中由于暴露于过敏原而升高的细胞介素含量(例如IL-4或IL-5)降低;(2)对由短期或长期暴露于过敏原(例如屋尘螨(HDM))引起的肺发炎的抑制;(3)由短期或长期暴露于过敏原(例如屋尘螨(HDM))引起的细胞肺浸润的减少;(4)复杂性肺整体病理学的改良。

[0224] 测量IL-33介导的信号传导或IL-4R介导的信号传导的抑制可以在基于细胞的生物分析中测量,并且意味着抗IL-33抗体或其抗原结合片段或抗IL-4R抗体或其抗原结合片段抑制或减少在表达IL-33受体或IL-4受体和因应IL-33结合或IL-4结合产生可检测信号的报导子元件的细胞中产生的信号。例如,本发明包括以如下 IC_{50} 分别阻断表达人类ST2的细胞中或表达IL-4受体的细胞中IL-33介导的信号传导或IL-4介导的信号传导的抗体和其抗原结合片段:小于约2nM、小于约1nM、小于约900pM、小于约800pM、小于约700pM、小于约600pM、小于约500pM、小于约400pM、小于约350pM、小于约300pM、小于约250pM、小于约200pM、小于约150pM、小于约100pM、小于约90pM、小于约80pM、小于约70pM、小于约60pM、小于约50pM、小于约40pM、小于约30pM、小于约20pM或小于约10pM,如在基于细胞的阻断生物分析中所测量。

[0225] 本发明的抗体可以展示上述生物效应中的一个或多个或其任一组合。本领域的技术人员根据本发明的综述(包括本文的工作实例)将明了本发明抗体的其它生物效应。与

IL-4拮抗剂组合使用其它IL-33拮抗剂可以展示类似效应。

[0226] 药物组合物和施用

[0227] 本发明提供包含本发明的IL-33拮抗剂和/或IL-4R拮抗剂的药物组合物。IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂可以在分开组合物中调配,或其可以在一种组合物中共调配。将本发明药物组合物与适宜载体、赋形剂和其它提供改良的转移、递送、耐受性等的试剂一起调配。大量适当调配物可以参见所有医药化学家已知的处方集:《雷明顿药物科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences), Mack Publishing Company, 宾夕法尼亚州伊斯顿 (Easton, PA)。所述调配物包括(例如)粉剂、糊剂、软膏剂、凝胶剂、蜡状物、油状物、脂质、含有脂质(阳离子或阴离子)的囊泡(例如LIPOFECTIN™, Life Technologies, 加利福尼亚州卡尔斯巴德 (Carlsbad, CA))、DNA偶联物、无水吸收糊剂、水包油和油包水乳液、乳液carbowax(多个分子重量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含有carbowax的半固体混合物。还参见Powell等人“《肠胃外调配物的赋形剂概述》(Compendium of excipients for parenteral formulations)”PDA(1998)《药物科学技术杂志》(J Pharm Sci Technol) 52:238-311。

[0228] 施用至患者的抗体的剂量可以视患者的年龄和体型、目标疾病、病况、施用途径等而变化。优选剂量通常是根据体重或体表面积来计算。当使用本发明抗体来治疗成年患者中与IL-33活性和/或IL-4相关的病况或疾病时,可以有利地静脉内施用本发明的抗体,其通常以约0.01mg/kg体重至约20mg/kg体重、更优选地约0.02mg/kg体重至约7mg/kg体重、约0.03mg/kg体重至约5mg/kg体重或约0.05mg/kg体重至约3mg/kg体重的单一剂量施用。视病况的严重性,可以调节治疗的频率和持续时间。施用抗IL-33抗体的有效剂量和时间表可以凭经验来确定;例如,可以通过定期评估来监测患者进展,并且因此调节剂量。此外,可以使用本领域众所周知的方法来实施剂量的种间比例缩放(例如,Mordenti等人,1991,《药物研究》(Pharmaceut. Res.) 8:1351)。

[0229] 多种递送系统是已知的并且可以用于施用本发明药物组合物,例如,脂质体、微粒、微胶囊包裹、能表达突变病毒的重组细胞、受体介导的胞吞作用(例如参见,Wu等人,1987,《生物化学杂志》(J. Biol. Chem.) 262:4429-4432)。引入方法包括(但不限于)皮内、肌肉内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外和经口途径。组合物可以通过任一便捷途径来施用,例如通过输注或浓注注射,通过经上皮或皮肤黏膜内衬(例如,口腔黏膜、直肠和肠黏膜等)吸收,并且可以与其它生物活性剂一起施用。施用可以是全身性或局部的。

[0230] 本发明药物组合物可以利用标准针头和注射器经皮下或静脉内来递送。另外,就皮下递送来说,笔型递送装置可以容易地用于递送本发明药物组合物。这一笔型递送装置可以是可重复使用的或抛弃式的。可重复使用的笔型递送装置通常利用含有药物组合物的可替换筒柱。在筒柱内的所有药物组合物都施用并且筒柱变空之后,变空筒柱可以便于丢弃并被含有药物组合物的新筒柱替代。笔型递送装置然后可重复使用。在抛弃式笔型递送装置中,不存在可替换筒柱。而是,抛弃式笔型递送装置预装有装在装置内的贮存器中的药物组合物。在将贮存器的药物组合物卸空之后,丢弃整个装置。

[0231] 众多可重复使用的笔型和自动注射器型递送装置可以用于皮下递送本发明药物组合物。实例包括(但不限于)AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., 英国伍德斯托克 (Woodstock, UK))、DISETRONIC™笔 (Disetronic Medical Systems, 瑞士波道夫 (Bergdorf, Switzerland))、HUMALOG MIX 75/25™笔、HUMALOG™笔、HUMALIN 70/30™笔 (Eli Lilly and

Co., 印第安纳州印第安纳波利斯 (Indianapolis, IN))、NOVOPENTM I、II和III (Novo Nordisk, 丹麦哥本哈根 (Copenhagen, Denmark))、NOVOPEN JUNIORTM (Novo Nordisk, 丹麦哥本哈根 (Copenhagen, Denmark))、BDTM笔 (Becton Dickinson, 新泽西州富兰克林湖 (Franklin Lakes, NJ))、OPTIPENTM、OPTIPEN PROTM、OPTIPEN STARLETTM和OPTICLIKTM (sanofi-aventis, 德国法兰克福 (Frankfurt, Germany)), 不一而足。可以用于递送本发明药物组合物的抛弃式笔型递送装置的实例包括 (但不限于) SOLOSTARTM笔 (sanofi-aventis)、FLEXPENTM (Novo Nordisk) 和KWIKPENTM (Eli Lilly)、SURECLICKTM自动注射器 (Amgen, 加利福尼亚州橡树城 (Thousand Oaks, CA))、PENLETTM (Haselmeier, 德国斯图加特 (Stuttgart, Germany))、EPIPEN (Dey, L.P.) 和HUMIRATM笔 (Abbott Labs, Abbott Park IL), 不一而足。

[0232] 在某些情形中, 可以在控释系统中递送药物组合物。在一个实施例中, 可以使用帮浦 (参见Langer, supra; Sefton, 1987, CRC《生物医学工程评论》(Crit. Ref. Biomed. Eng.) 14:201)。在另一实施例中, 可以使用聚合物材料; 参见《控制释放的医学应用》(Medical Applications of Controlled Release), Langer和Wise (编辑), 1974, CRC Pres., 国佛罗里达州伯克莱屯 (Boca Raton, Florida)。在又一实施例中, 可以将控释系统置于组合物靶附近, 因此仅需要全身剂量的一部分 (例如, 参见Goodson, 《控制释放的医学应用》(Medical Applications of Controlled Release), 同上, 第2卷, 第115-138页 (1984))。其它控释系统论述于Langer, 1990, 《科学》(Science) 249:1527-1533的综述中。

[0233] 可注射制剂可以包括用于静脉内、皮下、皮内和肌内注射、点滴输注等的剂型。所述可注射制剂可以通过众所周知的方法来制备。例如, 可以通过 (例如) 在注射惯用的无菌水性介质或油性介质中溶解、悬浮或乳化上述抗体或其盐来制备可注射制剂。作为注射用的水性介质, 存在 (例如) 生理盐水、含有葡萄糖和其它辅助剂的等渗溶液等, 其可以与适当增溶剂 (例如醇 (例如, 乙醇)、多元醇 (例如, 丙二醇、聚乙二醇))、非离子表面活性剂 [例如, 聚山梨酯80、HCO-50 (氢化蓖麻油的聚氧乙烯 (50mol) 加合物)] 等组合使用。作为油性介质, 可以采用 (例如) 芝麻油、大豆油等, 其可以与例如苯甲酸苄酯、苄醇等的增溶剂组合使用。由此制备的注射剂优选地填充在适当安瓿中。

[0234] 有利地, 将上述用于经口或肠胃外使用的药物组合物制备成呈适于适合活性成分的剂量的单位剂量的剂型。所述呈单位剂量的剂型包括 (例如) 锭剂、丸剂、胶囊、注射剂 (安瓿)、栓剂等。单位剂量中所含有的上述拮抗剂的量通常为约5mg/剂型至约500mg/剂型; 尤其在注射剂形式的情况下, 优选地上述拮抗剂是以约5mg至约100mg包含在内, 并且对于其它剂型所述拮抗剂是以约10mg至约250mg包含在内。

[0235] 剂量

[0236] 根据本发明方法施用至个体的IL-33和IL-4R拮抗剂的量通常为治疗有效量。如本文所用, 片语“治疗有效量”意指IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂在组合使用时引起以下中的一个或多个显著变化的量: (a) 发炎的预防; (b) 发炎的治疗或发炎严重性的降低; (c) 以下中的一个或多个的频率降低: 肺中嗜酸性球、经活化的B细胞、经活化的CD8T细胞; 或CD4/CD8T细胞比率降低; (d) 以下中的一个或多个的降低: 肺中白细胞介素-1 β (IL-1 β) 含量、白细胞介素-4 (IL-4) 含量、白细胞介素-5 (IL-5) 含量、白细胞介素-6 (IL-6) 含量、白细胞介素-13 (IL-13) 含量、单核球趋化蛋白-1 (MCP-1) 含量或肿瘤坏死因子 α (TNF α) 含量; (e) 以下中的

一个或多个的基因表达程度的降低:肺中的IL4、IL5、IL6、IL9、IL13、IL13ra2、tnf、Tgfb1、Ccl2、Ccl11、Ccl24、Col15a1或Col24a1; (f) 血清IgE含量的降低; (g) 肺中杯状细胞化生的降低; 或 (h) 肺实变的降低, 如本文所阐述。尽管施用任一单独IL-33拮抗剂或单独IL-4R拮抗剂可以引起积极治疗效应(如使用一个或多个上述参数所测量), 但与使用利用单独IL-33拮抗剂或单独IL-4R拮抗剂的单一疗法所观察到的相比, 组合使用IL-33和IL-4R拮抗剂将显示所述参数中的任何一个或多个的显著改良(例如加性或协同效应)。

[0237] 在IL-33拮抗剂或IL-4R拮抗剂的情形下, 治疗有效量可以是约0.05mg至约600mg, 例如, 约0.05mg、约0.1mg、约1.0mg、约1.5mg、约2.0mg、约10mg、约20mg、约30mg、约40mg、约50mg、约60mg、约70mg、约80mg、约90mg、约100mg、约110mg、约120mg、约130mg、约140mg、约150mg、约160mg、约170mg、约180mg、约190mg、约200mg、约210mg、约220mg、约230mg、约240mg、约250mg、约260mg、约270mg、约280mg、约290mg、约300mg、约310mg、约320mg、约330mg、约340mg、约350mg、约360mg、约370mg、约380mg、约390mg、约400mg、约410mg、约420mg、约430mg、约440mg、约450mg、约460mg、约470mg、约480mg、约490mg、约500mg、约510mg、约520mg、约530mg、约540mg、约550mg、约560mg、约570mg、约580mg、约590mg或约600mg。在某些实施例中, 与IL-33拮抗剂组合将75mg、150mg、200mg或300mg IL-4R拮抗剂施用至个体。在某些实施例中, 与IL-4R拮抗剂组合将75mg、150mg、200mg或300mg IL-33拮抗剂施用至个体。

[0238] 含于个别剂量内的IL-33拮抗剂或IL-4R拮抗剂的量可以毫克抗体/公斤患者体重(即, mg/kg)表示。例如, 可以将IL-33拮抗剂或IL-4R拮抗剂以约0.0001mg/kg至约25mg/kg患者体重的剂量施用患者。在某些实施例中, 可以将IL-4R和IL-33拮抗剂中的每一者以约0.1mg/kg、0.3mg/kg、1.0mg/kg、3.0mg/kg或10mg/kg的剂量施用。

[0239] IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂的组合可经皮下、静脉内、肌内或鼻内施用至个体。其可同时或依序施用。

[0240] 抗体的治疗用途

[0241] 本发明人实施的使用小鼠模型系统的实验有助于鉴别多种可以通过组合的IL-33和IL-4R拮抗作用来治疗、预防和/或改善的疾病和病况。例如, 在肺炎和纤维变性的屋尘螨模型中, 与当单独使用每一抗体作为单一疗法时所获得的结果相比, 利用IL-33抗体和IL-4R抗体的组合治疗可以降低肺中的细胞介素含量、减少肺中的肺细胞浸润(嗜酸性球、经活化的B细胞、经活化的CD8阳性细胞、ST2+CD4+T细胞和CD4/CD8T细胞比率), 以及改良肺实变和上皮纤维变性。

[0242] 本发明的抗体尤其可以用于治疗、预防和/或改善任何与IL-33表达和IL-4表达、信号传导或活性相关或由其介导或可以通过阻断IL-33与IL-33受体(例如, ST2)之间的相互作用或阻断IL-4与IL-4受体之间的相互作用或以其它方式抑制IL-33和IL-4活性和/或信号传导来治疗的疾病或病症。在某些实施例中, IL-4R拮抗剂为结合至IL-4R α 或与其相互作用并且如此阻断通过IL-4R 1型和2型受体的IL-4和IL-13信号传导路径的抗体。因此, 与IL-33拮抗剂组合使用这一双重IL-4和IL-13拮抗剂在施用患有部分地由所有三条信号传导路径介导的炎症病况的患者时可以提供其它临床益处。例如, 本发明提供用于治疗以下的方法: 气喘(过敏性气喘、非过敏性气喘、严重难治性气喘、气喘恶化、类固醇抗性或类固醇难治性气喘、类固醇敏感性气喘、嗜酸性球性气喘或非嗜酸性球性气喘等)、慢性阻塞性

肺病 (COPD) 和 COPD 恶化、气喘和 COPD 重叠综合症 (ACOS)、慢性支气管炎、肺气肿、过敏性鼻炎、异位性皮肤炎、荨麻疹、牛皮癣、过敏、过敏性鼻炎、伴或不伴鼻息肉的慢性鼻窦炎、嗜酸性球性食道炎、重度过敏、心血管疾病、中枢神经系统疾病、疼痛 (包括发炎性疼痛)、关节炎 (例如, 类风湿性关节炎、骨关节炎、牛皮癣性关节炎等)、巨细胞动脉炎、血管炎 (贝西氏病和许-施二氏综合症)、亨-舍二氏紫癜、多发性硬化、发炎性肠病症 (例如克罗恩氏病或溃疡性结肠炎)、狼疮、修格连氏综合症和部分地由 IL-33 和/或 IL-4 信号传导介导的其它发炎疾病或病症。

[0243] 本发明的抗体还可以用于治疗、预防和/或改善一种或多种纤维变性疾病或病症。可以通过施用本发明的抗 IL-33 和 IL-4R 拮抗剂治疗的例示性纤维变性疾病或病症包括肺纤维变性 (例如, 特发性肺纤维变性、博来霉素诱发的肺纤维变性、石棉诱发的肺纤维变性和闭塞性细支气管炎综合症)、与急性肺损伤和急性呼吸窘迫相关的纤维变性 (例如, 细菌性肺炎诱发的纤维变性、创伤诱发的纤维变性、病毒肺炎诱发的纤维变性、呼吸机诱发的纤维变性、非肺败血症诱发的纤维变性和抽吸诱发的纤维变性)、硅肺病、辐射诱发的纤维变性、硬皮症、眼部纤维变性、皮肤纤维变性 (例如, 硬皮症)、肝纤维变性 (例如, 硬化、酒精诱发的肝纤维变性、非酒精性脂肪肝炎 (NASH)、胆管损伤、原发性胆汁性硬化、感染诱发或病毒诱发的肝纤维变性、自体免疫肝炎、肾脏 (肾) 纤维变性、心脏纤维变性、动脉粥样硬化、支架再狭窄和骨髓纤维变性。

[0244] 在本文所阐述的治疗方法的背景下, 抗 IL-33 抗体和 IL-4R 抗体可以一起施用 (即, 作为唯一治疗方案) 或与一种或多种其它治疗剂 (其实例在本文别处有阐述) 组合。

[0245] 组合疗法

[0246] 本发明包括包含本文所述抗 IL-33 拮抗剂和 IL-4R 拮抗剂中的任一个的组合物和治疗调配物与一种或多种其它治疗活性组分的组合的用途, 和包括向有需要的个体施用所述组合的治疗方法。如本文所用, 表述“与……组合”意味着所述其它治疗剂是在包含 IL-33 拮抗剂和 IL-4R 拮抗剂的药物组合物之前、之后或同时施用。术语“与……组合”还包括 IL-4R 拮抗剂和 IL-33 拮抗剂和一种或多种其它治疗剂的依序或伴随施用。本发明包括其中本发明的 IL-33 拮抗剂和 IL-4R 拮抗剂是与所述一种或多种其它治疗活性组分中的一个或多个共调配的药物组合物。

[0247] 例如, 当在包含 IL-33 拮抗剂和 IL-4R 拮抗剂的药物组合物“之前”施用时, 所述其它治疗剂可以在施用包含 IL-33 拮抗剂和 IL-4R 拮抗剂的药物组合物之前约 72 小时、约 60 小时、约 48 小时、约 36 小时、约 24 小时、约 12 小时、约 10 小时、约 8 小时、约 6 小时、约 4 小时、约 2 小时、约 1 小时、约 30 分钟、约 15 分钟或约 10 分钟施用。当在包含 IL-33 拮抗剂和 IL-4R 拮抗剂的药物组合物“之后”施用时, 所述其它治疗剂可以在施用包含 IL-33 拮抗剂和 IL-4R 拮抗剂的药物组合物之后约 10 分钟、约 15 分钟、约 30 分钟、约 1 小时、约 2 小时、约 4 小时、约 6 小时、约 8 小时、约 10 小时、约 12 小时、约 24 小时、约 36 小时、约 48 小时、约 60 小时或约 72 小时施用。与包含 IL-33 拮抗剂和 IL-4R 拮抗剂的药物组合物“同时”施用意味着所述其它治疗剂是在施用包含 IL-33 拮抗剂和 IL-4R 拮抗剂的药物组合物少于 5 分钟内 (之前、之后或同时) 在分开剂型中施用至个体, 或以同时包含所述其它治疗剂、IL-33 拮抗剂和 IL-4R 拮抗剂的单一组合剂量调配物施用至个体。

[0248] 其它治疗剂可以是 (例如) 另一 IL-33 拮抗剂、另一 IL-4R 拮抗剂、IL-1 拮抗剂 (包括

(例如)如US 6,927,044中所阐述的IL-1拮抗剂、IL-6拮抗剂、IL-6R拮抗剂(包括(例如)如US 7,582,298中所阐述的抗IL-6R抗体)、IL-13拮抗剂、TNF拮抗剂、IL-8拮抗剂、IL-9拮抗剂、IL-17拮抗剂、IL-5拮抗剂(例如美泊利单抗(mepolizumab)或**NUCALA®**)、IgE拮抗剂(例如奥马佐单抗(omalizumab)或**XOLAIR®**)、CD48拮抗剂、IL-31拮抗剂(包括(例如)如US7,531,637中所阐述者)、胸腺基质淋巴生成素(TSLP)拮抗剂(包括(例如)如US 2011/027468中所阐述者)、干扰素 γ (IFN γ)、抗生素、皮质类固醇(包括吸入皮质类固醇或ICS)、长效 β 2肾上腺素激动剂(LABA)、长效蕈毒碱拮抗剂(LAMA)、他克莫司(tacrolimus)、吡美莫司(pimecrolimus)、环孢菌素(cyclosporine)、硫唑嘌呤(azathioprine)、胺甲蝶呤(methotrexate)、色甘酸钠、蛋白酶抑制剂、抗组胺或其组合。

[0249] 施用方案

[0250] 根据本发明的某些实施例,可以经定义时程向个体施用多个剂量的IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂(或包含IL-33拮抗剂、IL-4R拮抗剂和任一本文所提到的其它治疗活性剂的组合的药物组合物)。本发明的这一方面的方法包括向个体依序施用多个剂量的本发明的IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂。如本文所用,“依序施用”意指每一剂量的IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂是在不同时间点(例如,在由预定间隔(例如,小时、天、周或月)分开的不同日期)施用至个体。本发明包括包含向患者依序施用单一初始剂量的IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂、随后一个或多个第二剂量的IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂和任选的随后一个或多个第三剂量的IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂的方法。

[0251] 术语“初始剂量”、“第二剂量”和“第三剂量”是指本发明的IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂施用的时间顺序。因此,“初始剂量”是在开始治疗方案时施用的剂量(还称作“基线剂量”);“第二剂量”是在初始剂量之后施用的剂量;并且“第三剂量”是在第二剂量之后施用的剂量。初始、第二和第三剂量可都含有相同量的IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂,但通常可以在施用频次方面彼此不同。然而在某些实施例中,在治疗过程期间含于初始、第二和/或第三剂量内的IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂的量彼此不同(例如,上调或下调(如果适当))。在某些实施例中,在治疗方案开始作为“负载体量”施用两个或更多个(例如,2个、3个、4个或5个)剂量,随后以较不频繁的基础施用后续剂量(例如,“维持剂量”)。

[0252] 在本发明的某些例示性实施例中,每一第二和/或第三剂量是在紧接于前面的剂量之后1周至26周(例如,1周、1 $\frac{1}{2}$ 周、2周、2 $\frac{1}{2}$ 周、3周、3 $\frac{1}{2}$ 周、4周、4 $\frac{1}{2}$ 周、5周、5 $\frac{1}{2}$ 周、6周、6 $\frac{1}{2}$ 周、7周、7 $\frac{1}{2}$ 周、8周、8 $\frac{1}{2}$ 周、9周、9 $\frac{1}{2}$ 周、10周、10 $\frac{1}{2}$ 周、11周、11 $\frac{1}{2}$ 周、12周、12 $\frac{1}{2}$ 周、13周、13 $\frac{1}{2}$ 周、14周、14 $\frac{1}{2}$ 周、15周、15 $\frac{1}{2}$ 周、16周、16 $\frac{1}{2}$ 周、17周、17 $\frac{1}{2}$ 周、18周、18 $\frac{1}{2}$ 周、19周、19 $\frac{1}{2}$ 周、20周、20 $\frac{1}{2}$ 周、21周、21 $\frac{1}{2}$ 周、22周、22 $\frac{1}{2}$ 周、23周、23 $\frac{1}{2}$ 周、24周、24 $\frac{1}{2}$ 周、25周、25 $\frac{1}{2}$ 周、26周、26 $\frac{1}{2}$ 周或更多周)施用。如本文所用片语“紧接于前面的剂量”意指在多次施用的序列中,在无介入剂量的序列中在施用下一紧接剂量之前施用患者的IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂的剂量。

[0253] 根据本发明的这一方面的方法可以包括向患者施用任一数量的第二和/或第三剂量的IL-33拮抗剂和IL-4R拮抗剂。例如,在某些实施例中,仅向患者施用单一第二剂量。在其它实施例中,向患者施用两个或更多个(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个或更多个)第二剂量。同样,在某些实施例中,仅向患者施用单一第三剂量。在其它实施例中,向患者施用两个或更多个(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个或更多个)第三剂量。

[0254] 在涉及多个第二剂量的实施例中,每一第二剂量可以与其它第二剂量相同的频率施用。例如,每一第二剂量可以在紧接于前面的剂量之后1周至2周或1个月至2个月施用患者。类似地,在涉及多个第三剂量的实施例中,每一第三剂量可以与其它第三剂量相同的频率施用。例如,每一第三剂量可以在紧接于前面的剂量之后2周至12周施用患者。在本发明的某些实施例中,在治疗方案的过程中施用患者的第二和/或第三剂量的频率可以变化。医师还可以在治疗过程中视临床检查后个别患者的需要来调节施用频率。

[0255] 本发明包括如下施用方案:其中以第一频率(例如,一周一次、每两周一次、每三周一次、一月一次、每两个月一次等)向患者施用2至6个负载体量,随后以较不频繁的基础向患者施用两个或更多个维持剂量。例如,根据本发明的这一方面,如果以一月一次的频率施用负载体量,那么可以每六周一次、每两个月一次、每三个月一次等向患者施用维持剂量。

[0256] 实例

[0257] 提出以下实例以便为本领域的技术人员提供如何制备和使用本发明方法和组合物的完整公开内容和说明,并且所述实例并非打算限制本发明人视为其发明的范围。已努力确保所用数值(例如量、温度等)的精确性,但应考虑一些误差和偏差。除非另外指示,否则份数是重量份数,分子量是重量平均分子量,温度是以摄氏度表示,并且压力为大气压力或接近大气压力。

[0258] 实例1. 针对人类IL-33的人类抗体的生成

[0259] 如美国专利第9,453,072号中所阐述来生成人类抗IL-33抗体。表1阐述所选抗IL-33抗体的重链和轻链可变区氨基酸序列对和CDR序列和其相应抗体标识符。表2阐述编码所选抗IL-33抗体的重链和轻链可变区氨基酸序列对和CDR序列的核酸序列和其相应抗体标识符。

[0260] 表1氨基酸序列标识符

抗体命名	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1M9559N	2	4	6	8	10	12	14	16
H1M9566N	18	20	22	24	26	28	30	32
H1M9568N	34	36	38	40	42	44	46	48
H4H9629P	50	52	54	56	58	60	62	64
H4H9633P	66	68	70	72	74	76	78	80
H4H9640P	82	84	86	88	90	92	94	96
H4H9659P	98	100	102	104	106	108	110	112
H4H9660P	114	116	118	120	122	124	126	128
H4H9662P	130	132	134	136	138	140	142	144
H4H9663P	146	148	150	152	154	156	158	160
H4H9664P	162	164	166	168	170	172	174	176
H4H9665P	178	180	182	184	186	188	190	192
H4H9666P	194	196	198	200	202	204	206	208
H4H9667P	210	212	214	216	218	220	222	224
H4H9670P	226	228	230	232	234	236	238	240
H4H9671P	242	244	246	248	250	252	254	256
H4H9672P	258	260	262	264	266	268	270	272
H4H9675P	274	276	278	280	282	284	286	288
H4H9676P	290	292	294	296	298	300	302	304
H1M9565N	308	310	312	314	316	318	320	322

[0262] 表2核酸序列标识符

[0263]

	SEQ ID NO:							
抗体名称	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1M9559N	1	3	5	7	9	11	13	15

[0264]

H1M9566N	17	19	21	23	25	27	29	31
H1M9568N	33	35	37	39	41	43	45	47
H4H9629P	49	51	53	55	57	59	61	63
H4H9633P	65	67	69	71	73	75	77	79
H4H9640P	81	83	85	87	89	91	93	95
H4H9659P	97	99	101	103	105	107	109	111
H4H9660P	113	115	117	119	121	123	125	127
H4H9662P	129	131	133	135	137	139	141	143
H4H9663P	145	147	149	151	153	155	157	159
H4H9664P	161	163	165	167	169	171	173	175
H4H9665P	177	179	181	183	185	187	189	191
H4H9666P	193	195	197	199	201	203	205	207
H4H9667P	209	211	213	215	217	219	221	223
H4H9670P	225	227	229	231	233	235	237	239
H4H9671P	241	243	245	247	249	251	253	255
H4H9672P	257	259	261	263	265	267	269	271
H4H9675P	273	275	277	279	281	283	285	287
H4H9676P	289	291	293	295	297	299	301	303
H1M9565N	307	309	311	313	315	317	319	321

[0265] 抗体在本文通常是根根据以下命名法来提到:Fc前缀(例如“H1M”或“H4H”),随后数值标识符(例如“9559”、“9566”或“9629”,如表1中所显示),随后“P”或“N”后缀。因此,根据这一命名法,抗体在本文可以称作(例如)“H1M9559N”、“H1M9566N”、“H4H9629P”等。本文所用抗体名称上的H1M和H4H前缀指示抗体的具体Fc区同型。例如,“H1M”抗体具有小鼠IgG1 Fc,而“H4H”抗体具有人类IgG4 Fc。如本领域的技术人员将了解,可以将具有具体Fc同型的抗体转化为具有不同Fc同型的抗体(例如,可以将具有小鼠IgG1 Fc的抗体转化为具有人类IgG4的抗体等),但在任一事件中,由表1中所显示数值标识符指示的可变结构域(包括CDR)将保持相同,并且预计无论Fc结构域的性质如何,结合性质都一致或基本类似。

[0266] 实例2:IL-33拮抗剂(IL-33拮)的构筑

[0267] 如美国专利公开案第2014/0271642号中所阐述来生成人类抗IL-33拮。表3a阐述IL-33拮的多种组分的氨基酸序列标识符的概要并且表3b阐述拮的全长氨基酸序列。

[0268] 使用标准分子生物技术来构筑本发明的5种不同例示性IL-33拮抗剂。第一IL-33拮抗剂(hST2-hFc,SEQ ID NO:323)由融合于人类IgG1 Fc区(SEQ ID NO:332)的C末端至N末端的人类ST2的可溶性细胞外区(SEQ ID NO:328)组成。第二IL-33拮抗剂(hST2-mFc,SEQ ID NO:324)由融合于小鼠IgG2a Fc区(SEQ ID NO:333)的C末端至N末端的人类ST2的可溶性细胞外区(SEQ ID NO:328)组成。第三IL-33拮抗剂(hST2-hIL1RAcP-mFc,SEQ ID NO:325)由具有位于其N末端的人类ST2(SEQ ID NO:328)、随后人类IL-1RAcP的细胞外区(SEQ ID NO:330)、随后位于其C末端的小鼠IgG2a Fc(SEQ ID NO:333)的串联式融合组成。第四IL-33拮抗剂(mST2-mIL1RAcP-mFc,SEQ ID NO:326)由具有位于其N末端的小鼠ST2(SEQ ID NO:329)、随后小鼠IL-1RAcP的细胞外区(SEQ ID NO:331)、随后位于其C末端的小鼠IgG2a Fc(SEQ ID NO:333)的串联式融合组成。第五IL-33拮抗剂(hST2-hIL1RAcP-hFc,SEQ ID NO:327)由具有位于其N末端的SEQ ID NO:328的人类ST2、随后人类IL-1RAcP的细胞外区(SEQ ID NO:330)、随后位于其C末端的人类IgG1 Fc(SEQ ID NO:332)的串联式融合组成。

表3a阐述不同IL-33拮抗剂和其组分部分的概要阐述。表3b阐述IL-33拮抗剂和其组分部分的氨基酸序列。

[0269] 表3a: IL-33拮抗剂和其组分部分的概要

IL-33 拮抗剂	完整拮抗剂分子的氨基酸序列	D1 组分	D2 组分	M 组分
hST2-hFc	SEQ ID NO: 323	细胞外人类 ST2 (SEQ ID NO:328)	不存在	人类 IgG1 Fc (SEQ ID NO:332)
hST2-mFc	SEQ ID NO: 324	细胞外人类 ST2 (SEQ ID NO:328)	不存在	小鼠 IgG2a Fc (SEQ ID NO:333)
hST2-hIL1RAcP-mFc	SEQ ID NO: 325	细胞外人类 ST2 (SEQ ID NO:328)	细胞外人类 IL-1RAcP (SEQ ID NO:330)	小鼠 IgG2a Fc (SEQ ID NO:333)
mST2-mIL1RAcP-mFc	SEQ ID NO: 326	细胞外小鼠 ST2 (SEQ ID NO:329)	细胞外小鼠 IL-1RAcP (SEQ ID NO:331)	小鼠 IgG2a Fc (SEQ ID NO:333)
hST2-hIL1RAcP-hFc	SEQ ID NO: 327	细胞外人类 ST2 (SEQ ID NO:328)	细胞外人类 IL-1RAcP (SEQ ID NO:330)	人类 IgG1 Fc (SEQ ID NO:332)

[0272] 表3b:氨基酸序列

标识符	序列
SEQ ID NO: 323 (hST2-hFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKSIPTQERNRVFA SGQLLKFLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYL MYSTVSGSEKNSKIYCTIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFL VIDNVMTEADAGDYTCFKIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFSFLFPVIG APAQNEIKEVEIGKNANLTCSACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEP RIQQEEGQNQSFSNGLACLDMLRIADVKEEDLLLQYDCLALNLHGLR RHTVRLSRKNPIDHHSKTHTCPPCPAPELIGGPSVFLFPPPKDITLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 324 (hST2-mFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKSIPTQERNRVFA SGQLLKFLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYL MYSTVSGSEKNSKIYCTIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFL VIDNVMTEADAGDYTCFKIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFSFLFPVIG APAQNEIKEVEIGKNANLTCSACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEP RIQQEEGQNQSFSNGLACLDMLRIADVKEEDLLLQYDCLALNLHGLR RHTVRLSRKNPIDHHSSEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLIGGPSVFIFPPKIKDV LMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNVEVHTAQTQTHREDYNST LRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRT PGK

[0274]

SEQ ID NO: 325 (hST2-hIL1RAc P-mFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKS IPTQERNRVFA SGQLLKFLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYL MYSTVSGSEKNSKIYCP TIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFL VIDNVMTE DAGDYTCCKFIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFSLFPVIG APAQNEIKEVEIGKNANLTCSACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEP RIQQEEGQNQSFSNGLACLDMLVRIADVKEEDLLLQYDCLALNLHGLR RHTVRLSRKNPIDHHSSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFL KFNYSTAHSAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPT LLNDTGNYTCMLRNTTYCSKVAFPLEV VQKDS CFNSPMKLPVHKLYIEY GIQRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMG CYKIQNFNNVIPEGMNLSFLIALI SNNGN YTCVV TYPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVV YEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISH SRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVQKQVPA PRYTVESGEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLIGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIV TCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QH QDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEE MTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSY FMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
SEQ ID NO: 326 (mST2-mIL1R AcP-mFc)	SKSSWGLENEALIVRCPRGRSTYPVEWYYS DTNESIPTQKRNRIFVSRD RLKFLPARVEDSGIYACVIRSPNLNKTGYLNV TIHKKPPSCNIPDYL MYST VRGSDKNFKITCPTIDLYNWTAPVQWFKNCKALQEPRFRAHRSYLFIDN VTHDDEGDYTCQFTHAENG TNYIVTATRSFTVEEKGF SMFPVITNPPYN HTMEVEIGKPASIACSACFGKGSHFLADVLWQINKTVVG NFGEARIQEE EGRNESSNDMDCLTSVL RITGVTEKDL SLEYDCLALNLHGMIRHTIRLR RKQPIDHR SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKYNYSTA HSSGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTG N YTCMLRNTTYCSKVAFPLEV VQKDS CFNSAMRFPVHKMYIEHGIHKITC PNVDGYFPSSVKPSVTWYKGCTEIVDFHNVLP EGMNLSFFIPLVSNNGN YTCVV TYPENGRLFHLTRITVTVKVVGSPKDALPPQIYSPNDRVVEKEP GEELVIPCKVYFSFIMDSHNEVWWTIDGKKPDDVTVDITINESVSYSSTE DETRTQILSIKKVTPEDLRRNYVCHARNTKGEAEQAAKVQKQVIPRYT VESGEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLIGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVV VDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH Q DWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTK KQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMY S KLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

[0275]

SEQ ID NO: 327 (hST2-hIL1RAc P-hFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKS IPTQERNRVFA SGQLLKFLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYL MYSTVSGSEKNSKIY CPTIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFL VIDNVMTEADAGDYTCCKFIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFS LFPVIG APAQNEIKEVEIGKNANLTCSACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEP RIQQEEGQNQSFSNGLACLD MVLRIADVKEEDLLLQYDCLALNLHGLR RHTVRLSRKNPIDHHSSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFL KFNYSTAHSAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPT LLNDTGNYTCMLRNTTYCSK VAFPLEVVQKDSCFN SPMKLPVHKLYIEY GIQRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMG CYKI QNFNNVIPEGMNL SFLIALI SNNGNYTCVVTYPE NGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSPNDHV YEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISH SRTEDETRTQILSIKKVTS EDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVQKQVPA PRYTVEDKTHTCPPCPAPELIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 328 (人类 ST2 细胞 外结构域)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKS IPTQERNRVFA SGQLLKFLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYL MYSTVSGSEKNSKIY CPTIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFL VIDNVMTEADAGDYTCCKFIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFS LFPVIG APAQNEIKEVEIGKNANLTCSACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEP RIQQEEGQNQSFSNGLACLD MVLRIADVKEEDLLLQYDCLALNLHGLR RHTVRLSRKNPIDHHS
SEQ ID NO: 329 (小鼠 ST2 细胞 外结构域)	SKSSWGLENEALIVRCPRQGRSTYPVEWYYS DTNES IPTQKRNRIFVSRD RLKFLPARVEDSGIYACVIRSPNLNKTGYLNV TIHKKPPSCNIPDYL MYST VRGSDKNFKITCPTIDLYNWTAPVQWFKNCKALQEPRFRAHRSYLFIDN VTHDDEGDYTCQFTHAENG TNYIVTATRSFTVEEKGF SMFPVITNPPYN HTMEVEIGKPASIACSACFGKGSHFLADVLWQINKTVVGNFGGEARIQEE EGRNESSSNDMDCLTSVLRITGVTEKDLSLEYDCLALNLHGMIRHTIRLR RKQPIDHR
SEQ ID NO: 330 (人类 IL1RAcP 细胞外结构域)	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIW YWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCMLRNT TYCSK VAFPLEVVQKDSCFN SPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDGYFPS SVKPTITWYMG CYKI QNFNNVIPEGMNL SFLIALISNNGNYTCVVTYPE NGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSPNDHV VYEKEPGEELLIPCTV YFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIK KVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVQKQVPA PRYTVE
SEQ ID NO: 331 (小鼠 IL1RAcP 细胞外结构域)	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIW YWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCMLRNT TYCSK VAFPLEVVQKDSCFN SAMRFPVHKMYIEHGIHKITCPNVDGYFP SSVKPSVTWYKGC TEIVDFHNVLPEGMNL SFFIPLVSNNNGNYTCVVTYPE ENGRLFHLTRTVTVKVVGSPKDALPPQIYSPNDRVVYEKEPGEELVIPCK VYFSFIMDSHNEVWWTIDGKKPDDVTVDITINESVSYSSTEDETRTQILSI KKVTPEDLRRNYVCHARNTKGEAEQAAKVQKQVIPPRYTVE

[0276]	SEQ ID NO: 332 (人类 IgG1 Fc)	DKTHTCPPCPAPELIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	SEQ ID NO: 333 (小鼠 IgG2a Fc)	EPRGPTIKPCPPCKCPAPNLIGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVDVS EDDPDVQISWVFNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMS GKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGYSYFMYSKLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	SEQ ID NO: 334 (食蟹猴(<i>M. fascicularis</i>) IL-33-6His)	SITGISPITESLASLSTYNDQSITFALEDESYEIYVEDLKDKKKDKVLLSY YESQHPSES GDGVDGKMLMVTLSPTKDFWLQANNKEHSVELHKCEK PLPDQAFFVLHNRSFNCVSFECKTDPGVFIGVDNHLALIKVDYSENLG SENILFKLSEILEHHHHHH

[0277] 实例3: IL-4R拮抗性抗体

[0278] 如美国专利第7,608,693号中所阐述来生成人类抗IL-4R抗体。以下实例中所使用的例示性IL-4R抗体为特异性针对小鼠IL-4R的小鼠抗体并且具有以下氨基酸序列: 包含SEQ ID NO:335的重链可变区(HCVR)和包含SEQ ID NO:336的轻链可变结构域(LCVR)。人类抗IL-4R抗体(称作杜匹鲁单抗)特异性结合至人类IL-4R α 并且包括包含SEQ ID NO:337的重链可变区(HCVR)和包含SEQ ID NO:338的轻链可变区(LCVR)、包含SEQ ID NO:339的重链互补决定区1(HCDR1)、包含SEQ ID NO:340的HCDR2、包含SEQ ID NO:341的HCDR3、包含SEQ ID NO:342的轻链互补决定区1(LCDR1)、包含SEQ ID NO:343的LCDR2和包含SEQ ID NO:344的LCDR3。杜匹鲁单抗的全长重链显示为SEQ ID NO:345并且全长轻链显示为SEQ ID NO:346。

[0279] 实例4: 用于研究IL-33在肺发炎中的作用的慢性屋尘螨(HDM)诱发的纤维变性和严重肺发炎模型-抗IL-33抗体、IL-4R抗体或二者的组合的功效的比较。

[0280] 慢性发炎气道疾病是主要由重复暴露于过敏原或其它病原体引起的气道发炎复发发作的结果。在人类中,所述长期危害诱导大量病状,所述病状包括免疫细胞的肺浸润、增加的细胞介素产生、黏液产生和胶原蛋白沉积(Hirota, (2013)《胸科》(Chest). 9月;144(3):1026-32.; Postma, (2015),《新英格兰医学杂志》(N Engl J Med.), 9月24日;373(13):1241-9)。这伴有强烈气道重塑的发炎细胞介素和免疫细胞浸润增加导致气道窄化、对吸入触发物(例如过敏原或病原体)的高反应性、气道阻塞和肺功能丧失。

[0281] 为了测定抗IL-33抑制在相关体内模型中的效应,在对于人类IL-33(代替小鼠IL-33)的表达为同型接合的小鼠(IL-33HumIn小鼠;参见美国专利公开案第2015/0320021号和第2015/0320022号)中实施慢性屋尘螨提取物(HDM)诱发的纤维变性和严重肺发炎和重塑研究。长期HDM提取物暴露诱发严重肺发炎,从而导致显著细胞浸润、细胞介素表达和重塑。在这一模型中比较抗IL-33抗体、抗小鼠IL-4R α 抗体或二者的组合的功效。这一研究中所使用的抗小鼠IL-4R α 抗体命名为M1M1875N并且包含SEQ ID NO:335/336的HCVR/LCVR氨基酸序列对。这一研究中所使用的抗IL-33抗体命名为H4H9675P并且包含SEQ ID NO:274/282的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

[0282] 每周3天鼻内施用IL-33HumIn小鼠50 μ g屋尘螨提取物(HDM; Greer, 编号XPB70D3A2.5)(在20 μ L 1X磷酸盐缓冲盐水(PBS)或20 μ L 1X PBS中稀释)达15周。每周3天将

在20 μ L 1X PBS中稀释的50 μ g HDM提取物施用第二对照组的IL-33HumIn小鼠达11周,以评估在抗体治疗开始时疾病的严重性。在11周HDM攻击后开始并且然后每周两次用25mg/kg抗IL-33抗体H4H9675P、抗小鼠IL-4R α 抗体M1M1875N、两种抗体的组合或同型对照抗体皮下注射四组HDM攻击的小鼠,直至HDM攻击结束为止(4周抗体治疗)。在研究的第108天,将所有小鼠处死并且收集其肺。各组小鼠的实验投药和治疗方案显示于表4中。

[0283] 表4: 各组小鼠的实验投药和治疗方案

群组	小鼠	鼻内攻击	鼻内攻击的时长	抗体
1	IL-33 HumIn 小鼠	1X PBS	15 周	无
2	IL-33 HumIn 小鼠	于 20 μ L 1X PBS 中的 50 μ g HDM	11 周	无
3	IL-33 HumIn 小鼠	于 20 μ L 1X PBS 中的 50 μ g HDM	15 周	无
4	IL-33 HumIn 小鼠	于 20 μ L 1X PBS 中的 50 μ g HDM	15 周	同型对照抗体
5	IL-33 HumIn 小鼠	于 20 μ L 1X PBS 中的 50 μ g HDM	15 周	抗 IL-33 抗体 (H4H9675P)
6	IL-33 HumIn 小鼠	于 20 μ L 1X PBS 中的 50 μ g HDM	15 周	抗 IL-4R α 抗体 (M1M1875N)
7	IL-33 HumIn 小鼠	于 20 μ L 1X PBS 中的 50 μ g HDM	15 周	抗 IL-33 (H4H9675P)抗体 + 抗 IL-4R α (M1M1875N)抗体

[0285] 肺收集用于细胞介素分析:

[0286] 人类肺病的发展已涉及肺中升高的关键调介剂(例如原型2型细胞介素IL-4、IL-5和IL-13)以及更表征1型免疫反应的细胞介素(例如IL-1 β 或TNF α)含量(Gandhi, (2016)《自然·评论·药物发现》(Nat Rev Drug Discov)1月;15(1):35-50.;Barnes, (2008),《自然免疫学综述》(Nat Rev Immunol),3月;8(3):183-92。在本研究中测量肺中所述发炎细胞介素的含量。

[0287] 在放血之后,去除每一小鼠右肺的前叶和中叶并将置于含有补充有1X Halt蛋白酶抑制剂混合剂(Thermo Scientific,编号87786)的组织蛋白质提取试剂(1X T-PER试剂;Pierce,编号78510)的溶液的管中。所有其它步骤都在冰上实施。针对每一试样调节T-PER试剂(含有蛋白酶抑制剂混合剂)的体积以使1:7(w/v)组织与T-PER比率匹配。使用TissueLyser II(Qiagen编号85300)机械破坏肺试样。将所得溶解物离心成沉淀物碎片。将含有可溶性蛋白质提取物的上清液转移至新管中并在4 $^{\circ}$ C下储存直至另一分析为止。

[0288] 使用Bradford分析测量肺蛋白质提取物中的总蛋白质含量。对于所述分析,将10 μ L稀释的提取物试样一式两份平铺于96孔板中并将其与200 μ L 1X Dye试剂(Biorad,编号500-0006)混合。使用牛血清白蛋白(BSA;Sigma,编号A7979)的连续稀释液(在1X T-Per试剂中以700 μ g/mL开始)作为标准品来测定提取物的蛋白质浓度。在室温下培育5分钟后,在Molecular Devices SpectraMax M5板读取仪上测量595nm下的吸光度。使用GraphPad PrismTM软件实施基于BSA标准来测定总肺提取物蛋白质含量的数据分析。

[0289] 使用Proinflammatory Panel 1(小鼠)多重免疫分析试剂盒(MesoScale Discovery,编号K15048G-2)和惯用小鼠6plex Multi-Spot[®]免疫分析试剂盒(MesoScale

Discovery, 编号K152A41-4) 根据制造商的说明书测量肺蛋白质提取物中的细胞介素浓度。简言之, 将50 μ L/孔校准剂和试样(在稀释剂41中稀释)添加至经捕获抗体预涂覆的板中并且在室温下培育同时以700rpm振荡2小时。然后用含有0.05% (w/v) Tween-20的1X PBS将各板洗涤3次, 随后添加25 μ L在稀释剂45中稀释的检测抗体溶液。在振荡的同时在室温下培育2小时后, 将板洗涤3次, 并且将150 μ L 2 \times 读取缓冲液添加至每一孔中。在MSD Sceptor[®] 仪器上立即读取电化学发光。使用GraphPad Prism软件实施数据分析。

[0290] 将每一组中所有小鼠的肺总蛋白质提取物的每一细胞介素浓度正规化为通过Bradford分析测量提取物的总蛋白质含量, 并针对每一组表示为平均pg细胞介素/mg总肺蛋白质 (pg/mg肺蛋白质, \pm SD), 如表5中所显示。

[0291] 肺细胞介素分析:

[0292] 如表5中所显示, 在联合或未联合同型对照抗体治疗接受HDM达15周的IL-33HumIn小鼠肺中释放的细胞介素和趋化介素IL-4、IL-5、IL-6、IL-1 β 和MCP-1的含量显著高于经单独1X PBS攻击的IL-33HumIn小鼠。类似地, 在接受HDM达15周的IL-33HumIn小鼠的肺中存在细胞介素IL-13和TNF α 释放增加的趋势。相比之下, 与在长期HDM攻击的最后四周期间与同型对照抗体一起施用HDM的IL-33HumIn小鼠相比, 在这一时间段期间经抗IL-33和抗小鼠IL-4R α 抗体的组合治疗的IL-33HumIn小鼠肺中IL-6、IL-13和MCP-1的含量存在显著降低。与在长期HDM攻击的最后四周期间与同型对照抗体一起施用HDM的IL-33HumIn小鼠相比, 在这一时间段期间经抗IL-33和抗小鼠IL-4R α 抗体的组合治疗的IL-33HumIn小鼠肺中IL-4、IL-5、IL-1 β 和TNF α 的含量存在降低的趋势。利用组合抗IL-33和抗小鼠IL-4R α 抗体所观察到的对肺细胞介素的效应大于用任一个别单独抗体的治疗。

[0293] 表5: 肺蛋白质提取物中的细胞介素浓度

实验组	肺蛋白质 提取物中的 平均 [IL-4] (pg/mg 肺 蛋白质) (±SD)	肺蛋白质 提取物中的 平均 [IL-5] (pg/mg 肺 蛋白质) (±SD)	肺蛋白质 提取物中的 平均 [IL-13] (pg/mg 肺 蛋白质) (±SD)	肺蛋白质 提取物中的 平均 [IL-6] (pg/mg 肺 蛋白质) (±SD)	肺蛋白质 提取物中的 平均 [IL-1β] (pg/mg 肺 蛋白质) (±SD)	肺蛋白质 提取物中的 平均 [TNFα] (pg/mg 肺 蛋白质) (±SD)	肺蛋白质 提取物中的 平均 [MCP-1] (pg/mg 肺 蛋白质) (±SD)
1. 1X PBS 攻击 (n=5)	0.13 (±0.17)	0.80 (±1.41)	ND	4.75 (±3.39)	1.97 (±1.67)	2.86 (±1.01)	4.12 (±1.12)
2. HDM 攻击 11 周(n=4)	5.71 (±3.76) *	7.31 (±3.67)	0.20 (±0.03)	293.1 (±139.3) *	181.8 (±131.0) *	17.39 (±8.90)	43.06 (±24.21)
3. HDM 攻击 15 周(n=4)	2.70 (±1.71)	5.13 (±3.20)	0.19 (±0.03)	308.3 (±390.1)	51.79 (±16.97)	15.38 (±8.11)	105.6 (±106.5) *
4. HDM 攻击 15 周+同型 对照抗体 (n=4)	5.46 (±3.38) **	7.00 (±4.50) *	0.22 (±0.02)	395.0 (±270.1) **	162.3 (±166.5) **	19.57 (±14.81)	141.7 (±126.3) **
5. HDM 攻击 15 周+ 抗 IL-33 抗体 (n=5)	1.15 (±1.38)	1.93 (±1.90)	0.20 (±0.02)	136.8 (±164.1)	122.9 (±194.1)	17.05 (±4.48) *	16.64 (±6.40)
6. HDM 攻击 15 周+ 抗小鼠 IL-4Rα 抗 体(n=5)	2.88 (±2.43)	13.13 (±12.81) **	0.16 (±0.03)	18.24 (±12.43)	26.73 (±20.94)	7.85 (±4.89)	11.63 (±8.69)
7. HDM 攻击 15 周+ 抗 IL-33 + 抗小鼠 IL-4Rα 抗 体(n=5)	0.47 (±0.13)	0.73 (±0.37)	0.10 (±0.05) ††	7.46 (±2.52) †	3.722 (±1.59)	3.07 (±1.34)	4.62 (±1.27) ††

[0296] 注意:指示通过克-瓦二氏单因子ANOVA以及邓恩多重比较事后测试测定的统计显著性(*=p<0.05,**=p<0.01,与第1组:IL33HumIn小鼠,盐水攻击相比;†p<0.05,††p<0.01,与第4组:IL33Humin小鼠,HDM攻击15周+同型对照抗体相比)。ND:未测定。

[0297] 肺收集用于基因表达分析

[0298] 在放血之后,去除每一小鼠右肺的副叶,将其置于含有400μL RNA Later(Ambion,编号AM7020)的管中并在-20℃下储存直至处理为止。在TRIzol中均质化组织并且使用氯仿进行相分离。使用Microarrays总RNA分离试剂盒(Life Technologies的Ambion,编号AM1839)的MagMAX™-96根据制造商的说明书纯化含有总RNA的水相。使用来自上文所列示MagMAX试剂盒的MagMAX™Turbo™DNase缓冲液和TURBO DNase去除基因组DNA。使用

SuperScript®VIL0™ Master Mix(Life Technologies的Invitrogen,编号11755500)将 mRNA(至多2.5μg)反转录为cDNA。将cDNA稀释至2ng/μL并使用ABI 7900HT序列检测系统(Applied Biosystems)用**TaqMan®**Gene Expression Master Mix(Life Technologies的Applied Biosystems,编号4369542)和相关探针(Life Technologies;小鼠B2m:Mm00437762_m1;小鼠I14:Mm00445259_m1;小鼠I15:Mm00439646_m1;小鼠I113:Mm00434204_m1;小鼠I19:Mm00434305_m1;小鼠I16:Mm00446190_m1;小鼠Cc12:Mm00441242_m1;小鼠Cc111:Mm00441238_m1;小鼠Cc124:Mm00444701_m1;小鼠Tnf:Mm00443258_m1;小鼠Tgfb1:Mm01178820_m1;小鼠I11r11:Mm00516117_m1;小鼠I113ra2:Mm00515166_m1;小鼠Col15a1:Mm00456584_m1;小鼠Col24a1:Mm01323744_m1)扩增10ng cDNA。使用B2m作为内部对照基因来正规化任何cDNA输入差异。用于正规化所有试样的参考组为第1组试样(“1X PBS攻击”)的平均值。将每一基因的表达正规化为相同试样内的B2m表达并相对于参考组中其正规化表达来表示(平均值±SD),如表6中所显示。

[0299] 肺基因表达分析

[0300] 如表6中所显示,与经单独1X PBS攻击的IL-33HumIn小鼠相比,联合或未联合同型对照抗体的治疗接受HDM达15周的IL-33HumIn小鼠肺中细胞介素、趋化介素和胶原蛋白基因I14、I113、I16、Cc12、Tgfb1、I113ra2和Col24a1的表达程度显著增加。类似地,接受HDM达15周的IL-33HumIn小鼠肺中存在基因I15、I19、Cc111、Cc124、Tnf、I11r11和Col15a1的表达增加的趋势。

[0301] 相比之下,与在长期HDM攻击的最后四周期间与同型对照抗体一起施用HDM的IL-33HumIn小鼠相比,在这一时间段期间经抗IL-33和抗小鼠IL-4Rα抗体的组合治疗的IL-33HumIn小鼠肺中I16、Cc12、Cc111和Cc124的表达程度显著降低。与在长期HDM攻击的最后四周期间与同型对照抗体一起施用HDM的IL-33HumIn小鼠相比,在这一时间段期间经抗IL-33和抗小鼠IL-4Rα抗体的组合治疗的小鼠中存在I14、I15、I113、I19、Tnf、Tgfb1、I11r11、I113ra2、Col15a1和Col24a1表达程度降低的趋势。对利用组合抗IL-33和抗小鼠IL-4Rα抗体所观察到的基因表达的效应大于用任一个别单独抗体的治疗。

[0302] 表6:小鼠肺中的基因表达(TaqMan)。

[0303]

实验组	肺中的 平均相 对 <i>Il4</i> 表 达(±SD)	肺中的 平均相 对 <i>Il5</i> 表 达(±SD)	肺中的 平均相 对 <i>Il13</i> 表 达(±SD)	肺中的 平均相 对 <i>Il9</i> 表 达(±SD)	肺中的 平均相 对 <i>Il6</i> 表 达(±SD)	肺中的 平均相 对 <i>Ccl2</i> 表达 (±SD)	肺中的 平均相 对 <i>Ccl11</i> 表达 (±SD)	肺中的 平均相 对 <i>Ccl24</i> 表达 (±SD)
1. 1X PBS 攻击(n=5)	1.03 (±0.28)	1.54 (±1.61)	4.51 (±7.59)	15.91 (±34.81)	1.25 (±1.09)	1.20 (±0.93)	1.24 (±1.07)	1.05 (±0.33)
2. HDM 攻 击 11 周 (n=4)	12.78 (±8.45) *	7.13 (±3.49)	114.1 (±68.3) *	38.66 (±30.04)	9.12 (±1.65)	18.86 (±8.40)	13.36 (±5.05)	15.44 (±12.02)
3. HDM 攻 击 15 周 (n=4)	6.27 (±3.39)	4.20 (±1.51)	58.05 (±31.61)	30.63 (±20.54)	8.92 (±4.55)	22.61 (±13.37) *	8.65 (±3.20)	4.58 (±1.91)
4. HDM 攻 击 15 周+同 型对照抗 体(n=4)	10.98 (±5.46) *	5.50 (±3.16)	92.51 (±75.96) *	19.51 (±10.29)	13.80 (±6.98) **	24.53 (±9.13) **	12.14 (±7.82)	12.41 (±8.73)
5. HDM 攻 击 15 周+ 抗 IL-33 抗 体(n=5)	2.80 (±3.11)	1.74 (±1.11)	12.91 (±12.93)	0.00 (±0.00)	3.87 (±3.00)	5.20 (±2.44)	6.21 (±3.55)	1.45 (±2.09)
6. HDM 攻 击 15 周+ 抗小鼠 IL-4Rα 抗 体(n=5)	1.87 (±1.03)	7.98 (±6.52)	69.56 (±66.86) *	63.50 (±92.04)	2.77 (±1.39)	2.97 (±1.86)	1.00 (±0.18)	0.44 (±0.34)
7. HDM 攻 击 15 周+ 抗 IL-33 + 抗小鼠 IL-4Rα 抗 体(n=5)	1.37 (±0.35)	1.56 (±0.97)	9.34 (±3.10)	0.57 (±1.27)	1.04 (±0.31) ††	1.08 (±0.24) ††§	0.72 (±0.28) [†]	0.15 (±0.10) ††

[0304] 表6续:小鼠肺中的基因表达 (TaqMan)。

[0305]

实验组	肺中的平 均相对 <i>Tnf</i> 表达(±SD)	肺中的平 均相对 <i>Tgfb1</i> 表 达(±SD)	肺中的平 均相对 <i>Il1rl1</i> 表 达(±SD)	肺中的平 均相对 <i>Il13ra2</i> 表 达(±SD)	肺中的平 均相对 <i>Col15a1</i> 表 达(±SD)	肺中的平 均相对 <i>Col24a1</i> 表 达(±SD)
1. 1X PBS 攻击(n=5)	1.02 (±0.24)	1.00 (±0.11)	1.11 (±0.58)	1.59 (±1.96)	1.00 (±0.10)	1.02 (±0.16)

[0306]	2. HDM 攻击 11 周 (n=4)	1.45 (±0.41)	1.40 (±0.27)	3.03 (±0.88) *	48.43 (±34.21)	2.75 (±0.96)	24.55 (±7.97) **
	3. HDM 攻击 15 周 (n=4)	1.58 (±0.43)	1.32 (±0.33)	2.53 (±0.79) *	32.07 (±13.45)	3.00 (±1.22)	17.25 (±5.29) *
	4. HDM 攻击 15 周+同型对照抗体(n=4)	1.59 (±0.78)	1.37 (±0.12) *	3.45 (±1.48) *	52.02 (±40.63)	3.80 (±0.96) *	23.58 (±6.18) ***
	5. HDM 攻击 15 周+抗 IL-33 抗体(n=5)	1.38 (±0.27)	1.22 (±0.24)	0.99 (±0.47)	13.54 (±12.25)	1.64 (±0.30)	10.58 (±5.42)
	6. HDM 攻击 15 周+抗小鼠 IL-4Rα 抗体(n=5)	1.00 (±0.25)	1.13 (±0.20)	3.38 (±1.97)	1.89 (±0.59)	1.24 (±0.28)	7.08 (±4.56)
	7. HDM 攻击 15 周+抗 IL-33 + 抗小鼠 IL-4Rα 抗体(n=5)	0.68 (±0.08) [§]	1.09 (±0.12)	1.12 (±0.57)	1.89 (±0.27)	0.74 (±0.21) ^{††§}	1.76 (±0.15) [†]

[0307] 注意:指示通过克-瓦二氏单因子ANOVA以及邓恩多重比较事后测试测定的统计显著性 (*= $p < 0.05$, **= $p < 0.01$, ***= $p < 0.01$, 与第1组:IL33HumIn小鼠,盐水攻击相比;[§] $p < 0.05$, ^{§§} $p < 0.01$, 与第3组:IL33Humin小鼠,HDM攻击15周相比;[†] $p < 0.05$, ^{††} $p < 0.01$, 与第4组:IL33Humin小鼠,HDM攻击15周+同型对照抗体相比)。

[0308] 肺收集用于肺细胞浸润分析

[0309] 在多发气道炎症疾病(包括气喘和COPD)中观察到免疫细胞的肺浸润。嗜中性肺炎与气喘患者中的肺功能降低和严重组织重塑(Wenzel等人,(2012),《自然医学》(Nat Med)18(5):716-725)和COPD患者中的肺损害增加(Meijer等人,(2013),《临床免疫学专家综述》(Expert Rev.Clin.Immunol.)9(11):1055-1068)相关。嗜酸性球形肺炎是通常见于异位性疾病中的2型发炎的标志(Jacobsen等人,(2014),《临床和实验性过敏》(Clin.Exp.,Allergy),44(9):1119-1136)。在人类中,在患有肉芽肿性肺病和其它慢性发炎病况的患者中观察到高CD4/CD8比率(Costabel等人,(1997),《欧洲呼吸杂志》(Eur.Respir.J.)10(12):2699-2700;Guo等人,(2011),《临床生物化学年鉴》(Ann.Clin.Biochem),48(第4部分):344-351)。本研究使用流式细胞术来测定HDM暴露的小鼠肺中细胞浸润的程度。

[0310] 在放血之后,去除每一小鼠右肺的尾状叶,将其切碎成大小为约2mm至3mm的立方体,并且然后将其置于含有20 μ g/mL DNase (Roche,编号10104159001)和0.7U/mL在汉氏平衡盐溶液(HBSS)(Gibco,编号14025)中稀释的Liberase TH(Roche,编号05401151001)的溶液的管中,将其在37℃水浴中培育20分钟并且每5分钟进行涡旋。通过添加乙二胺四乙酸(EDTA,Gibco,编号15575)(最终浓度为10mM)来终止反应。随后使用gentleMACS离解器®

(MiltenyiBiotec, 编号130-095-937) 离解每一肺, 然后借助70 μ m过滤器过滤并离心。将所得肺沉淀物再悬浮于1mL 1 \times 红血球溶解缓冲液 (Sigma, 编号R7757) 中以去除红血球。在室温下培育3分钟后, 添加3mL 1X DMEM以去活化红血球溶解缓冲液。然后将细胞悬浮液离心, 并将所得细胞沉淀物再悬浮于5mL MACS缓冲液 (autoMACS运行缓冲液; MiltenyiBiotec, 编号130-091-221) 中。借助70 μ m过滤器过滤再悬浮试样并将1 $\times 10^6$ 个细胞/孔平铺于96孔V形底部板中。然后对细胞进行离心并在1X PBS中洗涤沉淀物。在第二次离心之后, 将细胞沉淀物再悬浮于100 μ L在1X PBS中以1:500稀释的 **LIVE/DEAD[®]**可固定蓝色死细胞染色剂 (Life Technologies, 编号L23105) 中以测定细胞活力并在室温下在避光的同时培育20分钟。在1X PBS中洗涤一次之后, 在4 $^{\circ}$ C下将细胞在含有10 μ g/mL经纯化大鼠抗小鼠CD16/CD32 Fc Block (纯系: 2.4G2; BD Biosciences, 编号553142) 的MACS缓冲液的溶液中培育10分钟。然后在4 $^{\circ}$ C下在避光的同时将细胞于在MACS缓冲液中稀释的适当2 \times 抗体混合物 (阐述于中表7) 中培育30分钟。在抗体培育之后, 将细胞在MACS缓冲液中洗涤两次, 将其再悬浮于BD CytoFix (BD Biosciences, 编号554655) 中并且然后在4 $^{\circ}$ C下在避光的同时培育15分钟。随后洗涤细胞, 将其再悬浮于MACS缓冲液中, 并且然后将其转移至BD FACS管 (BD Biosciences, 编号352235) 用于通过流式细胞术分析细胞浸润。

[0311] CD4和CD8 T细胞是定义为分别为活的CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻和活的CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁻、CD8⁺的细胞。经活化的CD4 T细胞是定义为活的CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻和CD69⁺的细胞。经活化的CD8 T细胞是定义为活的CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁻、CD8⁺和CD69⁺的细胞。经活化的B细胞是定义为活的CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁻、CD19⁺和CD69⁺的细胞。ST2+CD4+T细胞是定义为活的CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁺、CD19⁻、ST2⁺和CD4⁺的细胞。嗜酸性球是定义为活的CD45⁺、GR1⁻、CD11c^{Lo}、SiglecF^{hi}。肺泡巨噬细胞是定义为活的CD45⁺、GR1⁻、CD11c^{Hi}、SiglecF^{hi}。经活化的细胞的数据表示为亲本群体内经活化的细胞 (CD69⁺) 的频率 (CD4, \pm SD)。ST2+CD4+T细胞的数据表示为T细胞 (定义为活的CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁺和CD19⁻的细胞) 的频率。嗜酸性球和肺泡巨噬细胞的数据表示为活细胞的频率。CD4/CD8 T细胞比率计算为活群体内CD4 T的频率对CD8 T细胞的频率的比率。所有数据都显示于表8中。

[0312] 表7: 用于流式细胞术分析的抗体

[0313]	抗体	荧光染料	制造商	目录号	最终稀释度
	CD45.2	PerCP-Cy5.5	eBioscience	45-0454	1/800
[0314]	Siglec-F	BV 421	BD	562681	1/200
	F4/80	APC	eBioscience	17-4801-82	1/200
	Ly6G	BUV395	BD	563978	1/200
	Ly6C	PE-Cy7	BD	560593	1/100
	CD11c	PE	eBioscience	12-0114-82	1/200
	CD11b	FITC	eBioscience	53-0112-82	1/200
	CD19	BV650	BD	562701	1/400
	CD3	PE-Cy7	BD	552774	1/200
	CD4	BV421	BioLegend	100438	1/200
	CD8	BUV 395	BD	563786	1/400
	NKp46 (CD335)	FITC	eBioscience	11-3351	1/800
	CD69	PE	eBioscience	12-0691	1/200
	CD25	BV510	BioLegend	102042	1/200
	ST2	APC	BioLegend	145306	1/200

[0315] 肺细胞浸润分析:

[0316] 如表8中所显示,联合或未联合同型对照抗体的治疗接受HDM达15周的IL-33HumIn小鼠肺中嗜酸性球、经活化的B细胞、经活化的CD8细胞、ST2+CD4+T细胞的频率和CD4/CD8T细胞比率显著高于经单独1X PBS攻击的IL-33HumIn小鼠。类似地,在接受HDM达15周的IL-33HumIn小鼠肺中存在经活化的CD4T细胞的频率增加的趋势。在不存在或存在同型对照抗体治疗下接受HDM达15周的IL-33HumIn小鼠肺中存在肺泡巨噬细胞的频率降低的趋势,如通过流式细胞术检测。与在长期HDM攻击的最后四周期间与同型对照抗体一起施用HDM的IL-33HumIn小鼠相比,在此时间段期间经抗IL-33和抗小鼠IL-4R α 抗体的组合治疗的IL-33HumIn小鼠肺中肺泡巨噬细胞的频率显著增加。类似地,与在长期HDM攻击的最后四周期间与同型对照抗体一起施用HDM的IL-33HumIn小鼠相比,在这一时间段期间经抗IL-33和抗小鼠IL-4R α 抗体的组合治疗的小鼠的肺中存在嗜酸性球、经活化的CD4和CD8 T细胞、经活化的B细胞、ST2+CD4+T细胞的频率以及CD4/CD8T细胞比率降低的趋势。对针对组合抗IL-33和抗小鼠IL-4R α 抗体所观察到的肺中嗜酸性球、肺泡巨噬细胞、经活化的CD8T细胞、ST2+CD4+T细胞的频率和CD4/CD8比率的效应显示与用任一个别单独抗体的治疗相比功效提高的趋势。

[0317] 表8:如通过流式细胞术测定的肺细胞浸润的频率

[0318]

实验组	活群体中嗜酸性球的平均频率(±SD)	活群体中肺泡巨噬细胞的平均频率(±SD)	平均CD4/CD8 T细胞比率(±SD)	CD4 T细胞群体中经活化的细胞的平均频率(±SD)	CD8 T细胞群体中经活化的细胞的平均频率(±SD)	B细胞群体中经活化的细胞的平均频率(±SD)	T细胞群体中ST2+CD4+细胞的平均频率(±SD)
1. 1X PBS 攻击(n=5)	1.45 (±0.92)	5.05 (±1.64)	3.00 (±1.48)	13.12 (±9.89)	3.26 (±1.64)	0.39 (±1.17)	3.25 (±4.15)
2. HDM 攻击 11 周 (n=4)	17.08 (±3.94) *	2.34 (±0.93)	6.42 (±2.71)	49.95 (±8.76)	9.58 (±7.44)	4.67 (±1.47) **	32.60 (±12.23)
3. HDM 攻击 15 周 (n=4)	15.40 (±3.99) *	4.92 (±1.55)	6.95 (±0.71) **	58.53 (±5.76)	15.68 (±3.03) *	3.70 (±1.44) *	37.33 (±8.98) *
4. HDM 攻击 15 周+同型对照抗体(n=4)	15.00 (±3.35) *	2.33 (±1.60)	7.49 (±1.28) *	57.75 (±7.64)	14.59 (±3.82)	3.90 (±1.48) *	37.96 (±16.71) *
5. HDM 攻击 15 周+抗 IL-33 抗体(n=5)	8.51 (±7.52)	7.44 (±4.18)	4.03 (±1.28)	48.22 (±5.66)	13.86 (±5.21)	1.72 (±0.72)	19.24 (±5.72)
6. HDM 攻击 15 周+抗小鼠 IL-4Rα 抗体(n=5)	12.30 (±7.83)	9.93 (±5.18)	5.56 (±2.22)	53.42 (±6.52)	13.11 (±6.26)	2.14 (±1.23)	35.01 (±9.83) *
7. HDM 攻击 15 周+抗 IL-33 + 抗小鼠 IL-4Rα 抗体(n=5)	3.78 (±1.60)	14.64 (±3.86) †	2.96 (±0.93)	42.52 (±9.79)	7.90 (±1.30)	1.74 (±0.91)	11.78 (±3.73)

[0319] 注意:指示通过克-瓦二氏单因子ANOVA以及邓恩多重比较事后测试测定的统计显著性 (*= $p < 0.05$, **= $p < 0.01$, 与第1组:IL33HumIn小鼠,盐水攻击相比;† $p < 0.05$,与第4组:IL33Humin小鼠,HDM攻击15周+同型对照抗体相比)。

[0320] 肺收集用于量化组织病理学:

[0321] 在这一模型中观察到的发炎型式伴有HDM暴露的肺中广泛并且严重的结构变化,并且有证据表明杯状细胞化生、上皮下胶原蛋白沉积和显著肺实变的增加。所述病理学是促成肺功能下降和气道高反应性的人类发炎性呼吸疾病的已知特征 (James, (2007)《欧洲呼吸杂志》(EurRespir J.), 7月;30(1):134-55;Jeong, (2007)《放射影像学》(Radiographics)5月至6月;27(3):617-37)。

[0322] 在放血之后,去除左肺并将其置于含有3mL 4% (w/v) 多聚甲醛 (Boston Bioproducts, 编号BM-155) 于1X磷酸盐缓冲盐水中的溶液的板中并在室温下储存3天。然后将肺试样吸干并将其转移至含有70%乙醇的管用于组织学分析。将试样发送至Histoserv, Inc (Germantown, MD) 用于石蜡包埋、切片和过碘酸希夫 (periodic acid Schiff, PAS) 或苏木精-伊红 (Hematoxylin and Eosin, H&E) 染色。

[0323] 杯状细胞化生的量化:

[0324] 杯状细胞化生和黏液分泌过多是许多肺病(包括气喘、慢性阻塞性肺病和囊性纤维变性)的标志(Boucherat, (2013)《实验性肺研究》(Exp Lung Res.) 2013年5月-6月;39(4-5):207-16)。过量黏液产生导致气道阻塞并且影响人类的若干重要结果(例如肺功能、健康相关生活品质、恶化、住院和死亡率)(Ramos, FL等人, (2014),《国际慢性阻塞性肺病杂志》(Int J Chron Obstruct Pulmon Dis), 1月24日;9:139-150)。在1毫米长度的初级支气管中对PAS阳性杯状细胞和总上皮细胞进行计数。杯状细胞化生表示为1毫米支气管上皮中PAS阳性细胞的频率(% , \pm SD), 如表9中所显示。

[0325] 肺实变的量化:

[0326] “肺实变”定义为肺泡空间中固体或液体物质的累积。肺实变是复合终点,可能反映细胞浸润、增生和黏液产生的组合,其在本文用作整体病理学的量度。在Movat pentachrome染色的石蜡包埋肺切片上使用ImageJ软件(NIH, Bethesda, MD)量化由晶体占据的肺区域的分數。使用粒子分析功能,测量切片中的总肺面积以及所述切片中的实变面积。实变肺区域的分數是通过两个测量值的比率给出,如表9中所显示。

[0327] 上皮下纤维变性的量化

[0328] “上皮下纤维变性”是定义为在肺上皮下方沉积过量间质胶原蛋白(Redington等人, (1997),《胸腔》(Thorax), 四月;52(4):310-312)。已报导增加的上皮下纤维变性与人类的气喘特别相关(Boulet等人, (1997)《胸科》(Chest), 七月;112(1):45-52;James, AL和Wenzel, S., (2007),《欧洲呼吸杂志》(Eur Respir J), 7月, 30(1):134-155)。在本模型中,在麦森三色(Masson's trichrome)染色的石蜡包埋肺切片上使用HaLo软件(Indica Labs, NM)测量上皮下纤维变性。使用“层厚度”工具,跨越1毫米的初级支气管以约30 μ m间隔多次记录支气管上皮下方胶原蛋白层的厚度。上皮下纤维变性表示为上皮下胶原蛋白层的平均厚度(μ m, \pm SD), 如表9中所显示。

[0329] 肺组织病理学的分析:

[0330] 如表9中所显示,与经单独1X PBS攻击的IL-33HumIn小鼠相比,在联合或未联合同型对照抗体的治疗接受HDM达15周的IL-33HumIn小鼠肺中存在杯状细胞化生增加的趋势。类似地,在接受HDM达15周的IL-33HumIn小鼠中肺实变以及上皮下胶原蛋白厚度显著增加。

[0331] 相比之下,与在长期HDM攻击的最后四周期间与同型对照抗体一起施用HDM的IL-33HumIn小鼠相比,在这一时间段期间经抗IL-33和抗小鼠IL-4 α 抗体的组合治疗的IL-33HumIn小鼠中存在杯状细胞化生和上皮下胶原蛋白厚度降低和肺实变显著降低的趋势。针对组合抗IL-33和抗小鼠IL-4 α 抗体所观察到的杯状细胞化生、肺实变和上皮下胶原蛋白厚度的效应显示与用任一个别单独抗体的治疗相比功效提高的趋势。

[0332] 表9:小鼠肺中组织病理学的量化

[0333]	实验组	平均杯状细胞化生 (% PAS 阳性细胞) (\pm SD)	平均肺实变 (% \pm SD)	平均上皮下胶原 蛋白厚度(μ m) (\pm SD)
	1. 1X PBS 攻击(n=5)	32.94 (\pm 43.61)	6.97 (\pm 3.72)	25.90 (\pm 4.00)
	2. HDM 攻击 11 周(n=4)	59.98 (\pm 39.01)	70.70 (\pm 12.94)	81.76 (\pm 25.37) *
	3. HDM 攻击 15 周(n=4)	92.15 (\pm 10.16)	83.21 (\pm 3.65) **	82.12 (\pm 23.04) *
	4. HDM 攻击 15 周+同型对照 抗体(n=4)	81.60 (\pm 17.56)	84.16 (\pm 5.85) **	63.11 (\pm 11.87)
	5. HDM 攻击 15 周+ 抗 IL-33 抗体(n=5)	39.22 (\pm 18.93)	58.82 (\pm 18.26)	70.99 (\pm 23.85)
	6. HDM 攻击 15 周+抗小鼠 IL-4R α 抗体(n=5)	79.82 (\pm 25.02)	57.79 (\pm 18.72)	57.62 (\pm 15.34)
	7. HDM 攻击 15 周+抗 IL-33 + 抗小鼠 IL-4R α 抗体(n=5)	19.69 (\pm 8.80)	35.01 (\pm 20.68)	48.19 (\pm 18.58)

[0334] 注意:指示通过克-瓦二氏单因子ANOVA以及邓恩多重比较事后测试测定的统计显著性(**= $p < 0.01$,与第1组:IL33 HumIn小鼠,盐水攻击相比)。

[0335] 血清收集用于IgE和HDM特异性IgG1含量测量:

[0336] 为了测定每一小鼠的血清试样中的总IgE浓度,根据制造商的说明书使用夹心ELISA OPTeia试剂盒(BD Biosciences,编号555248)。稀释血清试样并与涂布于96孔板上的抗IgE捕获抗体一起培育。通过生物素化抗小鼠IgE二级抗体检测总IgE。使用经纯化山葵过氧化酶(HRP)标记的小鼠IgE作为标准品。使用色素原3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)(BD OPTeia受质试剂集合,BD,编号555214)来检测HRP活性。然后添加1M硫酸的终止溶液,并且在Molecular Devices SpectraMax M5板读取仪上测量450nm下的吸光度。使用Prism™软件实施数据分析。每一实验组的血清中循环IgE含量的平均量表示为ng/mL(\pm SD),如表10中所显示。

[0337] 利用ELISA测定每一小鼠的血清试样中的HDM特异性IgG1含量。将HDM(Greer,编号XPB70D3A2.5)涂布的板与连续稀释的小鼠血清试样一起培育,随后与大鼠抗小鼠IgG1-HRP偶联抗体(BD Biosciences,编号559626)一起培育。利用TMB溶液对所有试样进行显影并如上文所阐述进行分析。血清中循环IgG1的相对含量表示为效价单位(效价单位是通过将所测得OD乘以达成大于两倍背景的OD450所需要的稀释系数来计算)。每一实验组的血清中的平均循环HDM特异性IgG1含量表示为效价 $\times 10^6$ (\pm SD),如表10中所显示。

[0338] 循环IgE和HDM特异性IgG1含量的分析

[0339] 如表10中所显示,与经单独1X PBS攻击的IL-33 HumIn小鼠相比,在联合或未联合同型对照抗体的治疗接受HDM达15周的IL-33 HumIn小鼠的血清中循环IgE含量显著增加。类似地,在接受HDM达15周的IL-33 HumIn小鼠的血清中存在循环HDM特异性IgG1含量增加的趋势。相比之下,与施用HDM与同型对照抗体的IL-33 HumIn小鼠相比,在长期HDM攻击的最后四周期间经抗IL-33和抗小鼠IL-4R α 抗体的组合治疗的IL-33 HumIn小鼠的血清中存在循环IgE含量显著降低和循环HDM特异性IgG1含量降低的趋势。

[0340] 表10:小鼠血清中循环IgE和HDM特异性IgG1的含量。

[0341]	实验组	平均循环 IgE 含量($\mu\text{g/mL}$) ($\pm\text{SD}$)	平均循环 HDM 特异性 IgG1 含量(效价 $\times 10^6$) ($\pm\text{SD}$)
	1. 1X PBS 攻击(n=5)	2.16 (± 2.02)	ND
	2. HDM 攻击 11 周(n=4)	50.16 (± 8.35)	1.18 (± 0.15)
	3. HDM 攻击 15 周(n=4)	131.38 (± 106.84) *	1.88 (± 0.81)
	4. HDM 攻击 15 周+同型对照 抗体(n=4)	193.07 (± 78.96) ***	1.62 (± 0.62)
	5. HDM 攻击 15 周+抗 IL-33 抗体(n=5)	45.74 (± 45.74)	1.76 (± 0.98)
	6. HDM 攻击 15 周+抗小鼠 IL-4R α 抗体(n=5)	11.12 (± 8.65)	0.99 (± 0.56)
	7. HDM 攻击 15 周+抗 IL-33 + 抗小鼠 IL-4R α 抗体(n=5)	6.45 (± 5.79) \uparrow	0.75 (± 0.30)

[0342] 注意:指示通过克-瓦二氏单因子ANOVA以及邓恩多重比较事后测试测定的统计显著性(*= $p < 0.05$, **= $p < 0.01$, ***= $p < 0.001$, 与第1组:IL33 HumIn小鼠, 盐水攻击相比; $\uparrow p < 0.05$, 与第4组:IL33 Humin小鼠, HDM攻击15周+同型对照抗体相比)。ND:未测定。

[0343] 在严重、混合型发炎的背景下开始的H4H9675P和抗mIL-4R α 治疗的组合可以改良所测量的所有发炎参数,几乎降低至基线水准。另外,在一些最致命终点(包括复杂肺整体病理学、杯状细胞化生、肺细胞浸润和细胞介素含量)上观察到加性效应。因此,同时阻断两条路径可以在严重混合发炎和组织病理学的情况下影响多种发炎介导剂,并将多个参数正规化为基线。

[0344] 实例5:通过氢氘交换对结合至IL33的H4H9675P的表位定位

[0345] 为了测定由抗IL33抗体H4H9675P识别的人类IL33的表位,针对与人类IL33共复合的抗体实施氢-氘(H/D)交换研究。对于所述实验,使用表达有C末端六聚组氨酸标签(SEQ ID NO:356)的重组体人类IL33。H/D交换方法的一般阐述已阐述于Ehring等人(1999)《分析生物化学》(Analytical Biochemistry) 267 (2):252-259和Engen和Smith(2001)《分析化学》(Anal.Chem.) 73:256A-265A中。在积体Waters HDX/MS平台上实施H/D交换实验,所述平台由以下组成:用于氘标记的Leaptec HDX PAL系统、用于试样消化和负载的Waters Acquity M-Class(辅助溶剂管理器)、用于分析型管柱梯度的Waters Acquity M-Class(μ 二元溶剂管理器)和用于消化性肽质量测量的Synapt G2-Si质谱仪。

[0346] 在于D₂O中的10mM PBS缓冲液(pD 7.0)(等效于pH 6.6)中制备标记溶液。为进行氘标记,将3.8 μL hIL33-MMH(96pmol/ μL)或以1:1摩尔比与抗体预混合的hIL33-MMH与56.2 μL D₂O标记溶液一起培育多个时间点(2min、10min和未氘化对照=0sec)。通过将50 μL 试样转移至50 μL 预冷冻的含0.2M TCEP、6M盐酸胍的100mM磷酸盐缓冲液(pH 2.5)(淬灭缓冲液)淬灭氘化,并将混合试样在1.0 $^{\circ}\text{C}$ 下培育两分钟。然后将淬灭试样注射至Waters HDX管理器中用于在线胃蛋白酶/蛋白酶XIII消化。在0 $^{\circ}\text{C}$ 下使消化肽陷获至ACQUITYUPLC BEH C18 1.7 μm , 2.1 \times 5mm VanGuard预管柱上并使用5%-40%B的9分钟梯度分离在ACQUITY UPLC BEH C18 1.7 μm , 1.0 \times 50mm管柱上溶析(移动相A:0.1%甲酸水溶液,移动相B:于乙腈中的0.1%甲酸)。将质谱仪设为37V的锥电压、0.5s的扫描时间和50-1700Th的质荷比范围。

[0347] 为了鉴别来自hIL33-MMH的肽,处理未氘化试样的LC-MS^E数据并通过Waters ProteinLynx Global Server(PLGS)软件针对数据库(包括人类IL33、胃蛋白酶和其随机化序列)进行搜索。将经鉴别肽输入至DynamX软件并且通过两个准则进行过滤:1)每个氨基酸

的最小产物为0.3,和2)复制档案临限值为3。DynamX软件然后跨越多个时间点基于滞留时间和高质量准确度(<10ppm)自动测定每一肽的氘吸收,其中在每一时间点有3个复制。

[0348] 使用与MS^E数据采集耦合的在线胃蛋白酶/蛋白酶XIII管柱,在不存在或存在H4H9675P下鉴别来自hIL33-MMH的总共68种肽,代表95%序列覆盖率。11种肽在结合至H4H9675P时具有显著降低的氘化吸收(质心 Δ 值>0.4道尔顿(dalton),并且p值<0.05)并且列示于表11中。所记录肽质量对应于三个重复的质心MH⁺质量的平均值。所述肽(对应于SEQ ID NO:349的氨基酸1-12和50-94)因H4H9675P的结合而具有较慢氘化速率。所述经鉴别残基还对应于人类IL-33的残基112-123和161-205,如通过Uniprot条目095760所定义(IL33_人类;还参见SEQ ID NO:348)。所述数据支持SEQ ID NO:348的氨基酸残基112-123和161-205或SEQ ID NO:349的氨基酸残基1-12和50-94,其至少部分地定义IL-33中针对抗体H4H9675P的结合区。

[0349] 表11. 在结合至H4H9675P之后具有显著降低的氘化的人类IL33肽

基于 SEQ ID NO: 349 的残 基数	2 min 氘化			10 min 氘化			
	IL33 质心 MH ⁺	IL33+H4H9675P 质心 MH ⁺	Δ	IL33 质心 MH ⁺	IL33+H4H9675P 质心 MH ⁺	Δ	
[0350]	1-9	893.43±0.06	891.89±0.02	-1.54	893.60±0.03	892.00±0.08	-1.60
	1-10	1023.15±0.06	1021.53±0.05	-1.62	1023.31±0.01	1021.69±0.03	-1.63
	1-11	1186.18±0.06	1184.39±0.13	-1.80	1186.43±0.02	1184.61±0.03	-1.82
	1-12	1300.27±0.07	1297.88±0.04	-2.39	1300.60±0.03	1298.65±0.01	-1.95
[0351]	50-61	1458.12±0.06	1456.36±0.00	-1.75	1458.27±0.08	1456.34±0.01	-1.93
	52-67	1791.16±0.12	1789.89±0.25	-1.27	1791.20±0.02	1790.27±0.02	-0.93
	52-72	2353.80±0.12	2351.27±0.05	-2.53	2353.89±0.03	2351.95±0.10	-1.94
	53-70	1945.19±0.10	1944.26±0.07	-0.93	1945.25±0.02	1944.84±0.03	-0.41
	53-72	2189.95±0.13	2188.03±0.03	-1.92	2190.02±0.02	2188.58±0.04	-1.44
	71-81	1253.89±0.07	1253.08±0.18	-0.81	1254.07±0.02	1253.52±0.16	-0.55
	71-94	2815.35±0.05	2814.48±0.00	-0.87	2816.06±0.12	2815.10±0.12	-0.96

[0352] 实例6:在使用IL-33-、IL-4-和IL-4R α -人类化小鼠的19周过敏原诱发的肺发炎模型中IL-33抗体(REGN3500)和IL-4R抗体(杜匹鲁单抗)单独或组合的效应

[0353] 在上文实例4中使用对于人类IL-33的表达为同型接合的小鼠代替小鼠IL-33(IL-33HumIn小鼠;参见美国专利公开案第2015/0320021号和第2015/0320022号)首先测试单独IL-33抗体、单独IL-4R抗体或两种抗体的组合的效应。在这一模型中比较完整人类抗IL-33抗体(REGN3500)和抗小鼠IL-4R α 抗体或二者的组合并且结果阐述于实例4中。

[0354] 因为人类抗IL-33抗体(REGN3500)和人类抗IL-4R抗体(杜匹鲁单抗)都不结合其相应鼠类靶标蛋白质,所以生成经遗传修饰小鼠,其中小鼠IL-33、IL-4和IL-4R α 的胞外域经相应人类序列(I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}I133^{hu/hu})替代。验证I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}I133^{hu/hu}小鼠品可以作为使用4周的HDM暴露诱发的肺发炎模型研究REGN3500和杜匹鲁单抗施用的效应的工具。在这一模型中,HDM暴露的I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}I133^{hu/hu}小鼠展示类似于野生型小鼠的免疫反应,如通过评估嗜酸性球性肺浸润所评估。

[0355] 实施下述研究来确定同时阻断IL-33和IL-4/IL-13路径对肺发炎的影响是否可以大于阻断任一单独路径。在这一研究中,将I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}I133^{hu/hu}小鼠鼻内(IN)暴露于HDM或盐水达19周。在11周HDM暴露之后将I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}I133^{hu/hu}小鼠的对照组处死,来

评估抗体治疗开始时的疾病严重性。19周的HDM暴露的小鼠不接受抗体治疗或从第12周至第19周HDM暴露接受每周两次的皮下(SC)抗体注射达总共8周和16个剂量。以11mg/kg的最终蛋白质剂量施用以下抗体:(a) 11mg/kg同型对照抗体,(b) 1mg/kg REGN3500+10mg/kg同型对照抗体(c) 10mg/kg杜匹鲁单抗+1mg/kg同型对照抗体或(d) 1mg/kg REGN3500+10mg/kg杜匹鲁单抗。针对气道发炎的以下病理学标记物评估REGN3500和杜匹鲁单抗治疗单独或以组合对HDM暴露的小鼠的效应:

[0356] -整体病理学(相对肺重量)

[0357] -1型发炎细胞(嗜中性球,通过嗜中性球标记物髓过氧化物酶[MPO]的肺蛋白质含量来量化)和2型发炎细胞(总的和经活化的[CD11c^{Hi}]嗜酸性球和ST2⁺CD4⁺T细胞,通过流式细胞术来量化)的肺组织浸润

[0358] -发炎细胞介素肺蛋白质含量(人类IL-4和小鼠IL-5、IL-6、IL-1 β 、TNF α 、IFN γ 、GR α 和MCP-1,通过免疫分析来量化)

[0359] -发炎的全身性标记物血清类淀粉蛋白A[SAA]蛋白质的循环含量(通过免疫分析来量化)

[0360] 材料和方法

[0361] 测试系统

[0362] IL-33-、IL-4-和IL-4R α 胞外域-人类化小鼠

[0363] REGN3500和杜匹鲁单抗分别不结合小鼠IL-33或小鼠IL-4R α 。因此,为测试单独REGN3500和杜匹鲁单抗和其组合,生成经遗传修饰的小鼠,其中小鼠IL-33、IL-4和IL-4R α 的胞外域经相应人类序列(I14ra^{hu/hu}I^{hu/hu}I^{hu/hu})替代。使用Regeneron Pharmaceuticals (Valenzuela, DM等人《自然-生物技术》(Nat Biotechnol.) 2003年6月21日(6):652-9, Poueymirou, WT等人《自然-生物技术》(Nat Biotechnol.) 2007年1月25日(1):91-9)的**VelociGene®**技术通过将先前描述的IL-4/IL-4R α 胞外域人类化小鼠品系I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}与先前描述的IL-33人类化品系I133^{hu/hu}杂交生成这种三重人类化小鼠品系。

[0364] 肺炎小鼠模型

[0365] 小鼠肺炎模型采用重复鼻内(IN)暴露于HDM提取物,所述提取物用作屋尘螨过敏原的来源(Johnson等人;《美国呼吸与重症监护医学杂志》(American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine);(2004)2月1日;169(3):378-85),其为人类室内过敏的显著原因(Calderon等人,(2015),屋尘螨引起的呼吸道过敏:我们真正知道什么?《过敏与临床免疫学杂志》(Respiratory allergy caused by house dust mites:What do we really know?J Allergy Clin Immunol.) 2015年7月;136(1):38-48)。据报导长期暴露于HDM诱导严重肺炎,从而引起显著肺细胞浸润、细胞介素表达和重塑。具体来说,已展示长期暴露于HDM的小鼠展现混合1型/2型表型的肺炎,例如由1型和2型发炎细胞(分别为嗜中性球和嗜酸性球)的组织浸润、增加的血清IgE、增加的血清HDM特异性IgG1以及2型发炎细胞介素(例如IL-5和IL-13)的诱导(Johnson等人(2004),《美国呼吸与重症监护医学杂志》(American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine);2月1日;169(3):378-85;Johnson等人(2011).《公共科学图书馆》(PloS ONE.) 1月20日;6(1):e16175;Llop-Guevara等人(2008),《公共科学图书馆》(PloS ONE),6月11日;3(6):e2426。

[0366] 实验设计

[0367] 四周HDM暴露诱发的肺发炎模型

[0368] 将表12中所指示基因型的雌性小鼠随机化为2个组,每一基因型一只。每周3次IN施用盐水(20 μ L)或在20 μ L盐水溶液中稀释的50 μ g HDM达4周。所有小鼠品系都具有混合C57BL/6NTac/129S6SvEvTac背景。在最后暴露后4天将小鼠处死,收集肺并测定嗜酸性球形肺浸润。

[0369] 表12:针对4周HDM模型的实验方案

群组	基因型	N	暴露试剂	暴露的持续时间(周)
A	野生型	3	20 μ L 盐水	4
B	野生型	5	50 μ g HDM	4
C	<i>Il33^{hu/hu}</i>	5	20 μ L 盐水	4
D	<i>Il33^{hu/hu}</i>	5	50 μ g HDM	4

[0370]

E	<i>Il4ra^{hu/hu}</i>	5	20 μ L 盐水	4
F	<i>Il4ra^{hu/hu}</i>	5	50 μ g HDM	4
G	<i>Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu}</i>	5	20 μ L 盐水	4
H	<i>Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu}</i>	5	50 μ g HDM	4
I	<i>Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu} Il33^{hu/hu}</i>	4	20 μ L 盐水	4
J	<i>Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu} Il33^{hu/hu}</i>	5	50 μ g HDM	4

[0371] 野生型=C57BL/6NTac/129S6SvEvTac

[0372] 19周HDM暴露诱发的肺发炎模型

[0373] 用于这一研究中的*Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu} Il33^{hu/hu}*小鼠具有混合背景C57BL/6NTac(72%)/129S6SvEvTac(28%);将雌性小鼠随机化为7个分开组。每一组小鼠的HDM暴露和治疗或对照投药方案显示于表13中。每周3次IN施用盐水(20 μ L)或在20 μ L盐水溶液中的50 μ g HDM稀释液达19周。在11周HDM暴露后将对照组的*Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu} Il33^{hu/hu}*小鼠处死以评估抗体治疗开始时的疾病严重性。19周的HDM暴露的小鼠不接受抗体治疗,或从HDM暴露的第12周至第19周接受每周两次的皮下(SC)注射达总共16个抗体剂量,如表13中所指示。简言之,以11mg/kg的最终蛋白质剂量施用以下抗体:11mg/kg同型对照抗体(D组)、1mg/kg REGN3500+10mg/kg同型对照抗体(E组)、10mg/kg杜匹鲁单抗+1mg/kg同型对照抗体(F组)或1mg/kg REGN3500+10mg/kg杜匹鲁单抗(G组)。出于这一文件的目的,双重抗体治疗组(D-G)将仅由治疗抗体(REGN3500和/或杜匹鲁单抗)来鉴别。在所述研究的第134天,最后IN暴露和抗体注射之后4天,将所有小鼠处死,通过心脏穿刺收集血液,并且收集肺用于分析。

[0374] 表13:针对19周HDM模型的实验方案

[0375]	群组	N	暴露试剂	暴露的持续时间 (周)	抗体施用	抗体剂量 (mg/kg)
	A	5	20 μ L 盐水	19	无	无
	B	9	50 μ g HDM	11	无	无
	C	9	50 μ g HDM	19	无	无
	D	9	50 μ g HDM	19	IgG4 ^P 组	11
	E	7	50 μ g HDM	19	REGN3500 + IgG4 ^P 对照	1 + 10
	F	8	50 μ g HDM	19	杜匹鲁单抗 + IgG4 ^P 对照	10 + 1
	G	8	50 μ g HDM	19	REGN3500 + 杜匹鲁单抗	1 + 10

[0376] IgG4^P对照 = 同型匹配的对照抗体, REGN1945。

[0377] 小鼠饲养

[0378] 对于每一实验的整个持续时间, 将动物在标准条件下圈养在Regeneron动物设施中, 并且在置于研究之前将其驯化至少7天。所有动物实验都是根据Regeneron的动物照护和使用委员会(Institutional Animal Care and Use Committee)的指南来实施。

[0379] 特定程序

[0380] 相对肺重量测量

[0381] 在处死之前记录终点体重测量。在放血之后, 去除每一小鼠的左肺并且将其置于含有4%多聚甲醛溶液的管中。在Mettler Toledo New Classic MS量表上记录每一小鼠左肺的湿重。为了测定相对肺重量, 通过将肺湿重除以体重计算肺湿重(以mg计)对体重(以g计)的比率。

[0382] 细胞肺浸润的分析

[0383] 在放血之后, 去除每一小鼠右肺的尾状叶, 将其置于含有20 μ g/mL DNase I和0.7U/mL Liberase TH稀释于汉氏平衡盐溶液(HBSS)中的溶液的管中, 并且将其切成大小约2mm至3mm的碎片。然后将含有切粒肺叶的管在37 $^{\circ}$ C水浴中培育20分钟。通过添加最终浓度10mM的乙二胺四乙酸(EDTA)终止反应。然后将试样转移至gentleMACS C管。然后, 添加2mL autoMACS缓冲液并且随后使用gentleMACSTM离解器(Miltenyi Biotec)离解试样以形成单细胞悬浮液。然后将管离心并且将所得沉淀物再悬浮于4mL 1 \times 红血球溶解缓冲液中以溶解红血球。在室温下培育3分钟之后, 添加2.5倍体积的1X DPBS以去活化红血球溶解缓冲液。然后将细胞悬浮液离心, 并将所得细胞沉淀物再悬浮于1mL DPBS中。借助50 μ m杯型filcon各自过滤再悬浮试样并且将其转移至2mL深孔板。以400 \times g将板离心4min并将每一试样再悬浮于1mL DPBS中。将约 1.5×10^6 个细胞/孔平铺于96孔U形底部板中。然后将细胞离心并将细胞沉淀物再悬浮于100 μ L在1X DPBS中以1:500稀释的LIVE/DEAD Fixable Dead Cell Stain以测定细胞活力。在避光的同时在室温下将细胞与活力染料一起培育15分钟。在1X DPBS中洗涤一次之后, 在4 $^{\circ}$ C下将细胞与在50 μ L autoMACS缓冲液中以1:50稀释的经纯化大鼠抗小鼠CD16/CD32Fc阻断剂一起培育15分钟。然后在避光的同时在4 $^{\circ}$ C下将细胞于在Brilliant染色缓冲液中稀释的适当2 \times 抗体混合物(阐述于表14中)培育30分钟。在抗体培育后, 将细胞在autoMACS缓冲液中洗涤两次, 再悬浮于在1X DPBS中1:4稀释的BD CytoFix中并且然后在避光的同时在4 $^{\circ}$ C下培育15分钟。随后洗涤细胞并将其再悬浮于autoMACS缓冲液中。然后借助30-40 μ m的AcroPrep Advance 96过滤器板将细胞悬浮液过滤至新的U形底部板中。在使用HTS附接的LSR Fortessa X-20细胞分析仪(BD Biosciences)上获取试样数据。使用FlowJo X软件(Tree Star, OR)实施数据分析并且使用GraphPad

Prism™ (GraphPad Software, CA) 实施统计分析。

[0384] 针对嗜酸性球 (总的和经活化的) 的门控策略

[0385] 嗜酸性球定义为完整、单一、活的细胞 (低LIVE/DEAD活力染料信号) CD45⁺、F4/80⁺、Ly6G⁻、SiglecF⁺。嗜酸性球的数据表示为活细胞的频率。在嗜酸性球群体内, 经活化的嗜酸性球定义为完整、单一、活的CD45⁺、F4/80⁺、Ly6G⁻、SiglecF⁺、CD11c^{hi}并且表示为总嗜酸性球的频率。

[0386] 针对ST2⁺CD4⁺T细胞的门控策略

[0387] ST2⁺CD4⁺T细胞定义为完整、单一、活的CD45⁺、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻、ST2⁺。ST2⁺CD4⁺T细胞的数据表示为CD4⁺T细胞 (完整、单一、活的CD45⁺、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻) 的频率。

[0388] 表14: 用于流式细胞术分析的抗体

抗体	荧光染料	制造商	目录号	批号	最终稀释度
混合物 1: 总的和经活化的嗜酸性球					
CD45	Alexa Fluor 700	BioLegend	103128	B191240/ B211311	1/200
Siglec-F	BV421	BD	562681	4234913/ 6007723	1/200
F4/80	PE	BD	565410	5168713/ 5257914	1/500
Ly6G	BUV395	BD	563978	5156800/ 7103737	1/200
CD11c	PerCP-Cy5.5	BD	560584	5148566/7074758	1/200
混合物 2: ST2⁺ CD4⁺ T 细胞					
CD45	Alexa Fluor 700	BioLegend	103128	B211311	1/200
CD19	BUV737	BD	564296	6315651	1/200
ST2	PerCP-eFluor710	eBioscience	H6-9335-82	E17254-105	1/200
CD3	PE-Cy7	BD	552774	7074769	1/200
CD8	BUV395	BD	563786	6245983	1/200
CD4	BV786	BD	563331	7075503	1/200

[0390] 肺蛋白质含量的测定

[0391] 在放血之后, 将每一小鼠右肺的前叶和中叶去除, 称重, 并将其置于含有补充有蛋白酶抑制剂混合剂的组织蛋白质提取试剂 (T-PER) 的溶液的管中。为达成最终1:8 (w/v) 的肺组织重量对T-PER体积比率, 每mg组织添加8μL T-PER溶液 (含有蛋白酶抑制剂混合剂)。使用TissueLyser II机械均质化肺试样。将所得溶解物离心成沉淀物碎片。将含有可溶性蛋白质提取物的上清液转移至新管并在4℃下储存直至进一步分析为止。细胞介素和MPO浓度表示为蛋白质的总量/所检验叶 (分别为ng/肺叶和μg/肺叶)。

[0392] 细胞介素多重免疫分析

[0393] 使用多重免疫分析试剂盒 (Custom小鼠10-Plex, MSD) 根据制造商的说明书测量肺蛋白质提取物中的小鼠细胞介素 (IL-5、IL-13、IL-6、IL-1β、IL-12p70、TNFα、IFN γ、GROα和MCP-1) 浓度。简言之, 稀释肺均质物试样并在经捕获抗体预涂覆的板上培育。使用制造商提供的校准剂蛋白质作为标准品。通过与读取缓冲液一起培育的加标签检测抗体检测均质物中的细胞介素。在MSD Sceptor®仪器上立即读取电化学发光。使用GraphPad Prism软件实施数据分析。将每一分析的线性范围内的标准品最低浓度定义为相应细胞介素的分析的量化下限 (LLOQ)。所测试个别细胞介素的LLOQ值是如下: IFN γ = 0.2pg/mL, IL-1β = 1.6pg/mL, IL-5 = 0.2pg/mL, IL-6 = 1.4pg/mL, IL-12p70 = 125.8pg/mL, IL-13 = 24.4pg/mL, GROα: 0.5pg/mL, MCP-1 = 9.8pg/mL, TNFα = 2.4pg/mL。

[0394] 人类IL-4ELISA

[0395] 使用夹心ELISA试剂盒根据制造商的说明书(人类IL-4Quantikine ELISA,R&D Systems)测量肺蛋白质提取物中的人类IL-4浓度。简言之,稀释肺均质物并在经抗人类IL-4捕获抗体预涂覆的96孔板上培育。使用经纯化人类IL-4作为标准品。使用HRP偶联的抗人类IL-4检测抗体检测所捕获人类IL-4。使用色素原3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)检测HRP活性。然后添加终止溶液,并在Molecular Devices SpectraMax M5板读取仪上测量450nm下的光学密度(OD_{450})。使用GraphPad Prism软件实施数据分析。将所述分析的线性范围内的标准品最低浓度定义为分析的 $LL0Q=31.25\text{pg/mL}$ 。

[0396] MPO ELISA

[0397] 使用夹心ELISA试剂盒根据制造商的说明书(小鼠MPO ELISA试剂盒,Hycult Biotech)测量肺蛋白质提取物中的MPO浓度。简言之,稀释肺均质物并在经抗MPO捕获抗体预涂覆的96孔板上培育。使用经纯化小鼠MPO作为标准品。使用生物素化抗小鼠MPO检测抗体检测所捕获MPO。使用经纯化HRP偶联的链霉亲和素来检测生物素化抗小鼠MPO。使用色素原3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)检测HRP活性。然后添加终止溶液,并在Molecular Devices SpectraMax M5板读取仪上测量450nm下的光学密度(OD_{450})。使用GraphPad Prism软件实施数据分析。将分析的线性范围内的最低标准浓度定义为所述分析的 $LL0Q=156.3\text{ng/mL}$ 。

[0398] 血清收集

[0399] 在研究结束时通过心脏穿刺将全血收集至微试管中。通过使血液在室温下不受干扰至少30分钟使血液凝固。通过在4℃下以 $18,000\times g$ 离心10分钟沉淀凝固血液和细胞物。将所得上清液(称为血清)转移至清洁聚丙烯板并且使用其来测定循环抗体含量,如下文所阐述。

[0400] 通过ELISA测定血清中的SAA含量

[0401] 使用商业免疫分析(Quantikine ELISA,R&D Systems)根据制造商的说明书测定每一小鼠血清试样中的总SAA浓度。简言之,稀释血清试样并在先前经单珠抗小鼠SAA捕获抗体涂覆的96孔板上培育。使用重组体小鼠SAA作为标准品。使用HRP偶联的多珠抗小鼠SAA检测抗体检测所捕获SAA。使用比色HRP受质TMB检测HRP活性。然后添加稀盐酸的终止溶液,并在Molecular Devices SpectraMax M5板读取仪上测量 OD_{450} 。将每一试样的血清中循环SAA的浓度测定为 ng/mL 并且描绘为 $\mu\text{g/mL}$ 。使用GraphPad Prism软件实施数据分析。将分析的线性范围内的最低标准浓度定义为所述分析的 $LL0Q=31.2\text{ng/mL}$ 。

[0402] 通过ELISA测定血清IgE含量

[0403] 使用比色夹心ELISA OPTeia试剂盒根据制造商的说明书测定每一小鼠的血清试样中的总IgE浓度。简言之,稀释血清试样并在先前经抗IgE捕获抗体涂覆的96孔板上培育。使用经纯化小鼠IgE作为标准品。使用生物素化抗小鼠IgE检测抗体检测所捕获IgE。使用经纯化HRP偶联的链霉亲和素来检测生物素化抗小鼠IgE。使用TMB检测HRP活性。然后添加2N硫酸的终止溶液,并在Molecular Devices SpectraMax M5板读取仪上测量 OD_{450} 。每一试样的血清中循环IgE的浓度表示为 $\mu\text{g/mL}$ 。使用GraphPad Prism软件实施数据分析。将分析的线性范围内的最低标准浓度定义为所述分析的 $LL0Q=78.15\text{ng/mL}$ 。

[0404] 通过ELISA测定血清HDM特异性IgG1含量

[0405] 研发比色ELISA分析来测定血清试样中的HDM特异性IgG1的含量。在4℃下用于磷酸盐缓冲液盐水(PBS)中的4μg/mL浓度的HDM将板涂覆过夜,洗涤,在室温下用0.5%BSA于PBS中的溶液封阻1小时,并与连续稀释的小鼠血清试样一起培育。在室温下1小时后,洗涤板并通过在室温下与大鼠抗小鼠IgG1 HRP偶联抗体一起培育1小时来检测捕获至板上的IgG1抗体。使用TMB检测HRP活性。然后添加2N硫酸的终止溶液,并且在Molecular Devices SpectraMax M5板读取仪上测量OD₄₅₀。血清中的IgG1相对含量表示为效价单位。效价单位是通过将所测量OD₄₅₀乘以达成大于2倍背景OD₄₅₀的OD₄₅₀读取所需要的稀释系数来计算。使用GraphPad Prism软件实施数据分析。将分析中所使用的最低稀释系数定义为分析的LLOQ=100。

[0406] 通过ELISA测定人类靶标特异性IgG4抗体含量

[0407] 使用为检测人类IgG4抗体而研发的比色夹心ELISA来测定每一小鼠的血清试样中的人类抗体(REGN3500、杜匹鲁单抗或IgG4^P同型对照)的浓度。在4℃下在PBS中用2μg/mL浓度的特异性针对打算测量的人类抗体的抗原(即用以捕获REGN3500的人类IL-33(REGN3931)、用以捕获REGN668的人类IL-4Rα(REGN560)、用以捕获REGN1945的Natural Field 1)将微量滴定孔涂覆过夜。用于DPBS中的0.05%Tween 20将孔洗涤四次,在室温下用5%BSA于DPBS中的溶液封阻3小时并与连续稀释的小鼠血清试样或连续稀释的校准标准品一起培育。使用经纯化抗体(REGN3500、REGN668和IgG4^P对照抗体)作为校准和量化血清中相应抗体浓度的标准品。在室温下1小时之后,将板洗涤7次并且使用生物素化小鼠抗人类IgG4特异性单株抗体检测捕获至板上的人类IgG4,随后与偶联链霉亲和素的Poly HR一起培育。使用TMB受质根据制造商的说明书检测HRP活性。10分钟后,使用Molecular Devices SpectraMax多模式板读取仪在450nm下测量吸光度。用于校准的标准品(REGN3500、REGN668或IgG4^P对照抗体)的最低浓度(0.002μg/mL)定义为这一分析的LLOQ。使用GraphPad Prism™(GraphPad Software,CA)实施数据分析。每一试样的血清中人类抗体的浓度表示为μg/mL。

[0408] 统计学分析

[0409] 使用GraphPad Prism 7.0版(GraphPad Software,CA)实施统计学分析。

[0410] 来自4周HDM暴露模型中IL-33-、IL-4-和IL-4Rα-人类化小鼠的表征的数据的统计学分析

[0411] 通过二因子方差分析(ANOVA)、随后用于多重比较的图基事后测试来解释结果。当p≤0.05时将差异视为统计学显著。

[0412] 来自19周HDM暴露诱发的肺炎模型中的REGN3500/杜匹鲁单抗治疗的数据的统计学分析

[0413] 使用Shapiro-Wilk测试评估数据的常态性。如果数据通过常态性测试,并且不同组的标准偏差彼此并非统计不同(如通过Brown-Forsythe测试所评估),那么通过单因子ANOVA、随后用于多重比较的图基事后测试来解释结果。如果数据没有能通过常态性测试,或标准偏差显著不同,那么使用Kruskal-Wallis测试、随后用于多重比较的邓恩事后测试来解释结果。当p≤0.05时将差异视为统计学显著。

[0414] 结果

[0415] IL-33-、IL-4-和IL-4Rα胞外域-人类化小鼠的描述

[0416] 每周3次将野生型、I133^{hu/hu}-和I14ra^{hu/hu}-单一人类化、I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}双重人类化和I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}I133^{hu/hu}三重人类化小鼠IN暴露于盐水或HDM达4周。在最后暴露之后4天将小鼠处死并且收集肺来评估经活化的嗜酸性球的肺浸润(通过高CD11c表达来鉴别)。个别小鼠数据和统计学分析提供于图2中。三重人类化I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}I133^{hu/hu}小鼠显示类似于野生型小鼠的对HDM的稳健反应,如通过在4周HDM暴露之后肺组织中经活化的嗜酸性球的频率显著增加所指示。I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}I133^{hu/hu}和野生型小鼠在不存在HDM暴露(盐水暴露的对照小鼠)下也显示肺组织中经活化的嗜酸性球的类似频率。在比较HDM暴露的野生型小鼠与来自任一所测试人类化小鼠品系的HDM暴露的小鼠(I14ra^{hu/hu}单一人类化小鼠除外)时没有观察到统计显著性差异。I14ra^{hu/hu}小鼠中经活化的嗜酸性球性肺浸润的百分比没有HDM暴露诱发的统计学显著性增加可能归因于小鼠IL-4不通过人类IL-4R α 受体发信号的事实。另一方面,人类IL-33已经显示通过鼠类受体复合物(REGN3500-MX-16069)发信号。另外,在比较盐水暴露的野生型小鼠与来自任一所测试人类化小鼠品系的盐水暴露的小鼠时没有观察到统计显著性差异。所述发现验证用作小鼠HDM暴露诱发的肺炎模型的I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}I133^{hu/hu}小鼠品系。

[0417] 在19周HDM暴露的小鼠中REGN3500和杜匹鲁单抗治疗的效应

[0418] 每周3次将I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}I133^{hu/hu}小鼠IN暴露于盐水或HDM达11周或19周。四组19周HDM暴露的小鼠从第12周至第19周接受每周两次的SC抗体注射;所有其它组都不接受治疗(无,浅灰色盒)。以11mg/kg的最终蛋白质剂量单独或组合施用抗体,如下所示:11mg/kg同型对照抗体、1mg/kg REGN3500+10mg/kg同型对照抗体、10mg/kg杜匹鲁单抗+1mg/kg同型对照抗体或1mg/kg REGN3500+10mg/kg杜匹鲁单抗。在11周暴露之后将一队小鼠处死以测定抗体治疗开始时的发炎概况(11周暴露组)。在第134天(最后暴露和抗体注射之后4天)将其它4个队列处死(19周暴露组)。通过心脏穿刺收集全血用于血清分离并且收集肺用于进一步分析。除非另外说明,否则所有组皆都含相同品系的小鼠(I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}I133^{hu/hu})。

[0419] 整体肺病理学的分析

[0420] 与盐水暴露的对照小鼠相比,在19周HDM暴露的小鼠中相对肺重量显著增加(图3)。这可能归因于增加的细胞浸润、胶原蛋白沉积、肌肉肥大和黏液产生。与施用同型对照抗体的小鼠相比,在HDM暴露的小鼠中,REGN3500和杜匹鲁单抗的组合施用显著阻断HDM暴露诱发的相对肺重量增加(图3)。在用单独REGN3500投药的HDM暴露的小鼠中也观察到相对肺重量降低的趋势。

[0421] 肺细胞浸润的分析

[0422] 在最后抗体注射之后4天,收集小鼠肺并将右肺的尾状叶离解成单一细胞悬浮液用于嗜酸性球的流式细胞术分析。嗜酸性球是定义为完整、单一、活的CD45⁺、F4/80⁺、Ly6G⁻、SiglecF⁺并且经活化的嗜酸性球进一步定义为CD11c^{hi}。经活化的嗜酸性球的肺浸润是报告为(A)中总肺嗜酸性球的频率(%)并且总体肺嗜酸性球性浸润是报告为活的(完整、单一、活的)细胞中总肺嗜酸性球的频率(%)。与盐水暴露的对照小鼠相比,暴露于HDM达19周显著增加了细胞肺浸润(如通过用于检测总的和经活化的肺嗜酸性球的流式细胞术所评估)(图4A和4B)和肺ST2⁺CD4⁺T细胞(ST2⁺CD4⁺T细胞是定义为完整、单一、活的CD45⁺、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻、ST2⁺并且报告为CD4⁺T细胞的频率)(图5),或通过用于检测肺MPO蛋白质含

量(作为嗜中性球的标记物)的免疫分析(MPO蛋白质含量是通过酶联免疫吸附分析测量。肺MPO蛋白质含量表示为MPO蛋白量(μg)/肺叶)(图6)。

[0423] 与施用同型对照抗体相比,在19周HDM暴露的小鼠中组合施用REGN3500和杜匹鲁单抗而非任一单独抗体可以显著降低经活化的嗜酸性球的肺浸润程度。值得注意地,与对应于治疗开始的11周HDM暴露诱发的程度相比,在组合施用REGN3500和杜匹鲁单抗的小鼠中经活化的嗜酸性球的肺浸润程度也显著降低(图4A)。尽管施用任一单独抗体没有引起显著效应,但在施用杜匹鲁单抗的小鼠中观察到经活化的嗜酸性球的肺浸润降低的趋势。组合施用REGN3500和杜匹鲁单抗的HDM暴露的小鼠也显示HDM诱发的总嗜酸性球的肺浸润降低的趋势(图4B)。

[0424] 与施用同型对照的小鼠中的程度相比和与治疗开始时11周HDM暴露诱发的程度相比,在单独或与杜匹鲁单抗组合施用REGN3500的19周HDM暴露的小鼠中, $\text{ST2}^+\text{CD4}^+$ T细胞的肺浸润程度显著降低(图5)。对于单独REGN3500和与杜匹鲁单抗组合观察到类似的浸润阻断(在1.02倍内的平均频率),指示这一病理学主要是由IL-33驱动。

[0425] 类似于嗜酸性球性浸润,组合施用REGN3500和杜匹鲁单抗显示比任一单独抗体更强的阻断嗜中性肺浸润的效应。与同型对照相比,通过组合施用REGN3500和杜匹鲁单抗可以显著阻断HDM暴露诱发的髓过氧化物酶(MPO)(嗜中性球浸润的标记物)的肺蛋白质含量增加(图6)。尽管施用任一单独抗体没有引起显著效应,但在施用REGN3500的小鼠中观察到肺MPO蛋白质含量降低的趋势。

[0426] 肺组织细胞介素含量分析

[0427] 针对小鼠细胞介素IL-5、IL-13、IL-6、IL- 1β 、IL-12p70、 $\text{TNF}\alpha$ 、 $\text{IFN}\gamma$ 、 $\text{GR0}\alpha$ 和MCP-1和针对人类细胞介素hIL-4评估HDM暴露和抗体治疗对肺蛋白质含量(总蛋白质/叶)的效应。

[0428] 收集肺(右肺前叶和中叶)并且通过多重免疫分析测量所指示小鼠细胞介素的蛋白质含量。使用市售ELISA试剂盒检测人类IL-4蛋白质含量(hIL-4)。通过多重免疫分析测量IL-5(图7A)和IL-6(图7B)蛋白质含量。将肺组织细胞介素蛋白质含量计算为蛋白量(pg)/肺叶。生成伪彩色热图(本文没有显示)以表示在浅黄色至深蓝色范围内的相对细胞介素。通过将每一单独细胞介素的最低和最高记录平均肺蛋白质含量分别定义为0%(浅黄色)和100%(深蓝色)产生相对肺细胞介素含量的范围。相对肺细胞介素蛋白质含量(%)是通过数值和热图中的色彩来指示。统计显著性是通过克-瓦二氏单因子ANOVA以及邓恩多重比较事后测试来测定。

[0429] IL-12p70的结果低于所有组的量化下限并且因此在本文没有作报告。

[0430] 与盐水暴露的对照小鼠相比,八种细胞介素(hIL-4、IL-5、IL-6、IL-13、IL- 1β 、 $\text{TNF}\alpha$ 、 $\text{GR0}\alpha$ 和MCP-1)显示因应于19周HDM暴露的肺蛋白质含量显著增加。与盐水暴露的对照小鼠相比,仅 $\text{IFN}\gamma$ 没有显示因应于19周HDM暴露的肺蛋白质含量显著增加,与施用同型对照抗体的19周HDM暴露的小鼠相比, $\text{IFN}\gamma$ 含量也没有受治疗抗体施用影响。与施用同型对照抗体的小鼠相比,通过组合施用REGN3500和杜匹鲁单抗显著阻断了HDM暴露诱发的5种细胞介素(hIL-4、IL-6、 $\text{TNF}\alpha$ 、 $\text{GR0}\alpha$ 和MCP-1)的肺蛋白质含量增加,但通过施用任一单独抗体没有阻断。

[0431] 与施用同型对照抗体的小鼠相比,通过组合的REGN3500和杜匹鲁单抗治疗,另外2

种HDM暴露反应性细胞介素 (IL-5和IL-1 β) 显示阻断的趋势,其中肺蛋白质含量分别降低83%和78% (图7A和7B)。施用个别抗体引起IL-5和IL-1 β 含量较不显著降低的趋势。

[0432] SAA(发炎的全身性标记物)的分析

[0433] 在最后暴露和抗体注射之后4天,通过心脏穿刺收集全血并分离血清。使用市售ELISA试剂盒测量循环SAA蛋白质含量。循环SAA蛋白质含量表示为SAA蛋白量(μ g)/mL血清。与盐水暴露的对照小鼠相比,在19周HDM暴露的小鼠中发炎的全身性标记物SAA的循环蛋白质含量显著增加(图8)。

[0434] 在单独或与杜匹鲁单抗组合施用REGN3500的小鼠中HDM暴露诱发的循环SAA含量的增加显著降低(图8),而在施用单独杜匹鲁单抗的小鼠中观察到循环SAA含量降低的趋势。

[0435] 在HDM暴露后体液过敏反应的量化

[0436] 在最后暴露和抗体注射之后4天,通过心脏穿刺收集全血并分离血清。使用市售ELISA试剂盒测量循环IgE蛋白质含量。循环IgE蛋白质含量表示为IgE蛋白量(μ g)/mL血清。

[0437] 通过HDM暴露引发体液过敏反应,如在研究结束时(第134天)通过循环IgE(表15)和HDM特异性IgG1(表9)的含量所评估。

[0438] 与盐水暴露的对照小鼠相比,在19周HDM暴露的小鼠中IgE的循环蛋白质含量显著增加(图9)。循环HDM特异性IgG1的平均效价从 $1.14\text{E}+02$ (在盐水暴露的对照小鼠中)增加至在 $1.37\text{E}+06$ 至 $2.43\text{E}+06$ 范围内的水平(在暴露于HDM达19周的小鼠中)(表15)。对于所述终点中的任一个没有观察到REGN3500、杜匹鲁单抗或组合治疗的统计学显著效应,但在施用REGN3500和杜匹鲁单抗的组合的小鼠中观察到血清IgE含量降低的趋势。

[0439] 表15:血清中HDM特异性IgG1的浓度的概要

血清中的 HDM 特 异性 IgG1 (效价)	盐水 19 周	HDM 11 周	HDM 19 周				
			无抗体	IgG4 ^P	REGN350 0 + IgG4 ^P	杜匹鲁单 抗 + IgG4 ^P	REGN350 0 + 杜匹鲁 单抗
平均值	$1.14\text{E}+02$	$2.19\text{E}+06$	$2.43\text{E}+06$	$2.14\text{E}+06$	$1.47\text{E}+06$	$1.37\text{E}+06$	$1.21\text{E}+06$
SD	$6.15\text{E}+01$	$1.07\text{E}+06$	$9.81\text{E}+05$	$5.60\text{E}+05$	$1.17\text{E}+06$	$5.79\text{E}+05$	$5.29\text{E}+05$

[0441] 血清中人类抗体浓度的量化

[0442] 在研究结束时(第134天)(最后抗体施用后4天),通过靶标特异性抗人类IgG4 ELISA测定人类IgG4^P抗体(IgG4^P同型对照、REGN3500和杜匹鲁单抗)的血清浓度。人类IgG4抗体的平均浓度概述于表16中。

[0443] 表16:研究结束时的人类抗体血清含量

[0444]

	血清抗体含量, 平均值 \pm SD ($\mu\text{g/mL}$)						
	19 wk 盐水	11 wk HDM	19 wk HDM	19 wk HDM IgG4 ^P (11 mg/kg)	19 wk HDM REGN3500 (1 mg/kg) + IgG4 ^P (10 mg/kg)	19 wk HDM 杜匹鲁单抗(10 mg/kg) + IgG4 ^P (1 mg/kg)	19 wk HDM REGN3500 (1 mg/kg) + 杜匹鲁单抗(10 mg/kg)
REGN3500	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	n/t	11.4 \pm 10.1	n/t	12.7 \pm 8.8
杜匹鲁单抗	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	n/t	n/t	8.0 \pm 13.5	48.9 \pm 27.9
IgG4 ^P	0.0 \pm 0.0 ^a	<LLOQ	<LLOQ	54.5 \pm 63.9	88.6 \pm 76.0	0.1 \pm 0.1	n/t

[0445] ^a这一组中的一只小鼠的血清IgG4^P含量>LLOQ,因此此处报告约整值。

[0446] 概要

[0447] 与仅暴露于盐水的对照小鼠相比,在未治疗时或在施用IgG4^P同型对照抗体之后,暴露于HDM达19周的小鼠展示发炎的所有14种测量病理学标记物(一种肺IFN γ 含量除外)都显著增加。

[0448] 与同型对照抗体相比,REGN3500和杜匹鲁单抗的组合施用显著阻断了所测试HDM暴露反应性终点的10/13(相对肺重量、经活化的嗜酸性球的肺浸润、嗜中性球[MPO含量]和ST2⁺CD4⁺T细胞、细胞介素hIL-4、IL-6、TNF α 、GR α 和MCP-1的肺蛋白质含量,和血清中SAA的含量)。另外,经活化的嗜酸性球和ST2⁺CD4⁺T细胞的肺浸润程度显著降低至低于在对应于抗体治疗开始的11周HDM暴露的小鼠中所观察到的那些的程度。在这一模型中施用单独杜匹鲁单抗没有显著阻断13种所测试HDM暴露反应性终点中的任一个,而施用单独REGN3500显著阻断了2个测试终点:ST2⁺CD4⁺T细胞肺浸润和循环SAA含量。对于所述2个终点,由单独REGN3500介导的阻断类似于由REGN3500与杜匹鲁单抗的组合介导的阻断,表明所述病理学标记物主要是由IL-33驱动。

[0449] REGN3500和杜匹鲁单抗的组合施用显示阻断针对另外3个HDM暴露反应性终点的HDM暴露诱发的反应的趋势而未达成统计显著性(嗜酸性球[总]的肺浸润、细胞介素IL-5和IL-1 β 的肺蛋白质含量,和IgE的血清蛋白质含量)。对于所述标记物,利用REGN3500或杜匹鲁单抗的个别抗体治疗通常引起比组合治疗更弱的降低。

[0450] 在研究结束时,所有抗体治疗组都与可检测的血清靶标特异性人类IgG4抗体的含量相关。在持续8周每周两次用任一单独治疗抗体或其组合投药的小鼠中,在研究结束时,REGN3500的平均血清浓度分别为11.4 \pm 10.1 $\mu\text{g/mL}$ 和12.7 \pm 8.8 $\mu\text{g/mL}$,并且杜匹鲁单抗的平均血清浓度分别为8.0 \pm 13.5 $\mu\text{g/mL}$ 和48.9 \pm 27.9 $\mu\text{g/mL}$ 。

[0451] 总之,与利用任一单独抗体的治疗相比,在使用I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}I133^{hu/hu}小鼠的19周HDM暴露诱发的肺发炎模型中REGN3500和杜匹鲁单抗的组合治疗更显著的改良了几乎所有的测试肺病状和发炎标记物。

[0452] 结论

[0453] 与利用任一单独抗体的治疗相比,在使用I14ra^{hu/hu}I14^{hu/hu}I133^{hu/hu}小鼠的19周HDM暴露诱发的肺发炎模型中REGN3500和杜匹鲁单抗的组合治疗更显著的改良了几乎所有的测试肺病状和发炎标记物。

[0454] 实例7:对SAR440340/REGN3500或杜匹鲁单抗在中度至严重COPD患者中单独使用

时和以组合疗法使用时的评估

[0455] 研究设计

[0456] 这一研究是随机化、双盲、安慰剂对照、平行组、24周概念验证研究,其用来评估IL-33单株抗体(SAR440340/REGN3500)、IL-4R单株抗体(杜匹鲁单抗,也称为**DUPIXENT®**)在患有中度至严重慢性阻塞性肺病(COPD)的患者中在各自单独使用时或在组合使用时的功效、安全性和耐受性。

[0457] 总共832名个体将参与所述研究。所述研究将由四个组组成,一个组为皮下(SC)施用单独抗IL-33单株抗体(SAR440340/REGN3500)的患者;第二组为皮下施用单独抗IL-4R单株抗体(杜匹鲁单抗)的患者;第三组为皮下共施用SAR440340/REGN3500和杜匹鲁单抗二者的患者;并且第四组为安慰剂。

[0458] 第1组中的患者将持续24周每2周接受2次SAR440340/REGN3500的SC注射并且持续24周每2周以1次SC注射共施用杜匹鲁单抗安慰剂;第2组中的患者将持续24周每2周接受1次杜匹鲁单抗的SC注射并且持续24周每2周以2次SC注射共施用SAR440340/REGN3500安慰剂;第3组中的患者将持续24周每2周接受2次SAR440340/REGN3500的SC注射并且持续24周每2周以1次SC注射共施用杜匹鲁单抗;第4组中的患者将持续24周每2周接受分别以2次和1次SC注射施用的SAR440340/REGN3500和杜匹鲁单抗的匹配安慰剂。

[0459] 研究目标

[0460] 这一研究的主要目标是测定并比较白细胞介素-33抗体(SAR440340/REGN3500)、白细胞介素-4受体单株抗体(杜匹鲁单抗)和二者共施用(与安慰剂相比)持续24周在患有中度至严重慢性阻塞性肺病(COPD)并且已经吸入皮质类固醇(ICS)和/或长效 β 2肾上腺素激动剂(LABA)和/或长效蕈毒碱拮抗剂(LAMA)背景疗法(双重或三重疗法)治疗的患者中对改良呼吸功能的效应,如通过支气管扩张剂后的一秒努力呼吸容积(FEV1)所评估。

[0461] 次要目标将为评估SAR440340/REGN3500、杜匹鲁单抗和二者共施用(各自与安慰剂相比)在持续24周治疗的情况下对中度至严重COPD急性恶化(AECOPD)的发生率的效应。

[0462] 另一次次要目标是评估SAR440340/REGN3500、杜匹鲁单抗和二者共施用(各自与安慰剂相比)对以下的效应:支气管扩张剂前的FEV1(持续24周);从基线至第一中度或严重AECOPD事件的持续时间(持续24周);COPD临床症状的评估;安全性和耐受性。

[0463] 纳入准则

[0464] 研究的纳入准则如下:(1)患者患有中度至严重慢性阻塞性肺病(COPD)(支气管扩张剂后的一秒努力呼吸容积(FEV1)努力肺活量(FVC) $<70\%$ 并且支气管扩张剂后的FEV1%经预测 $<80\%$ 但 $\geq 30\%$);(2)患者在筛选访视1和访视2/随机化时具有 ≥ 10 的COPD评估测试(CAT)评分;(3)患者报告慢性支气管炎的体征和症状史(慢性排痰性咳嗽在当年持续3个月,直至在已排除慢性咳嗽的其它原因(例如胃食道回流、慢性鼻窦炎、支气管扩张)的患者中进行筛选);(4)患者在一年内在筛选之前记载 ≥ 2 次的中度恶化或 ≥ 1 次的严重恶化的历史;(5)患者在访视2/随机化之前利用标准照护背景疗法持续3个月,并且在筛选访视1之前以稳定剂量持续至少1个月,包括:双重疗法:长效 β 激动剂(LABA)+长效蕈毒碱拮抗剂(LAMA)或吸入皮质类固醇(ICS)+LABA或ICS+LAMA;或三重疗法:ICS+LABA+LAMA;(6)签署书面知情同意书;和(7)具有 ≥ 10 包/年的吸烟史的现时吸烟者或曾吸烟者。

[0465] 排除准则

[0466] 研究的排除准则如下：(1) 年龄 ≤ 40 岁或 > 75 岁；(2) 患者的身体质量指数 (BMI) < 16 ；(3) 患者在随机化前6个月内诊断出患有COPD；(4) 目前气喘诊断是根据全球气喘防治倡议 (GINA) 指南；(5) 诊断出除COPD以外的显著肺病 (例如，肺纤维变性、类肉瘤病、间质肺病、肺高血压、支气管扩张、伴多血管炎的嗜酸性球性肉芽肿、基于双相气道正压的显著睡眠呼吸暂停等) 或与升高的外周嗜酸性球计数相关另一肺病或全身性疾病；(6) 诊断出 α -1抗胰蛋白酶缺乏；(7) 需要长期 (> 15 小时/天) 氧支持的晚期COPD；(8) 患者在筛选前4周内患有中度或严重的COPD事件急性恶化；(9) 在筛选/访视1前4周内或在筛选时段期间，患者经历上呼吸道或下呼吸道感染；(10) 先前具有肺切除术或肺减容手术的历史或计划进行肺切除术或肺减容手术；(11) 患者具有对生物药物具有全身性高敏感性反应的历史。

[0467] 实例8. SAR440340/REGN3500或杜匹鲁单抗在中度至严重气喘患者中在单独使用时和在作为组合疗法使用时的评估

[0468] 研究设计

[0469] 这一研究是随机化、双盲、安慰剂对照、平行组、12周概念验证 (PoC) 研究，其用于评估SAR440340/REGN3500、杜匹鲁单抗 (也称为 **DUPIXENT®**) 和SAR440340和杜匹鲁单抗的共施用在患有中度至严重气喘并且基于吸入皮质类固醇 (ICS) 加长效 β 2肾上腺素激动剂 (LABA) 疗法未得到充分控制的患者中的功效、安全性和耐受性。

[0470] 总共800名个体将参与这一研究。所述研究将由四个组组成，一个组为皮下 (SC) 施用单独抗IL-33单株抗体 (SAR440340/REGN3500) 的患者；第二组为皮下施用单独抗IL-4R单株抗体 (杜匹鲁单抗) 的患者；第三组为皮下共施用SAR440340/REGN3500和杜匹鲁单抗的患者；并且第四组为安慰剂。

[0471] 第1组中的患者将接受持续12周每2周以2次皮下 (SC) 注射施用的SAR440340/REGN3500和持续12周每2周以1次SC注射进行的杜匹鲁单抗安慰剂的共施用；第2组中的患者将接受持续12周每2周以1次SC注射施用的杜匹鲁单抗和持续12周每2周以2次SC注射进行的SAR440340/REGN3500安慰剂的共施用；第3组中的患者将接受持续12周每2周以2次SC注射施用的SAR440340/REGN3500和持续12周每2周以1次SC注射施用的杜匹鲁单抗的共施用；第4组中的患者将接受持续12周每2周分别以2次和1次SC注射施用的SAR440340/REGN3500和杜匹鲁单抗的匹配安慰剂的共施用。

[0472] 研究目标

[0473] 主要研究目标是评估与安慰剂相比SAR440340/REGN3500联合或不联合杜匹鲁单抗对降低“气喘失控” (LOAC) 事件的发生率的效应。

[0474] 次要研究目标将为评估与安慰剂相比SAR440340/REGN3500和SAR440340/REGN3500和杜匹鲁单抗的共施用对一秒努力呼吸容积 (FEV1) 的效应；评估与SAR440340/REGN3500相比和与杜匹鲁单抗相比共施用SAR440340/REGN3500和杜匹鲁单抗对FEV1的效应；评估与单独SAR440340/REGN3500和单独杜匹鲁单抗相比同时施用SAR440340/REGN3500和杜匹鲁单抗对降低LOAC的效应；和评估单独SAR440340/REGN3500和其与杜匹鲁单抗共施用的安全性和耐受性。

[0475] 纳入准则

[0476] 研究的纳入准则如下：(1) 成年患者 (18岁和以上)，医师基于全球气喘防治倡议 (GINA) 2016指南诊断出气喘持续至少12个月，利用以下准则所述患者的气喘基于ICS/LABA

组合疗法部分地受控或不受控:在访视1前,现有治疗利用中等至高剂量吸入皮质类固醇(ICS)(每天两次(BID) $\geq 250\text{mcg}$ 的丙酸氟替卡松(fluticasone propionate)或等效ICS日剂量至最大值 2000mcg /天的丙酸氟替卡松或临床相当),并且与作为第二控制剂的长效 β -激动剂(LABA)组合,所述第二控制剂持续至少3个月,其中稳定剂量 ≥ 1 个月;(2)支气管扩张剂前的一秒努力呼吸容积(FEV1)为在访视2/基线时所预测正常值的 $\geq 50\%$ 但 $\leq 85\%$;(3)在筛选期间在施用2喷至4喷($200\text{-}400\text{mcg}$)沙丁胺醇/舒喘灵(albuterol/salbutamol)或左旋沙丁胺醇/左旋舒喘灵(levsalbutamol/levosalbutamol)之后,FEV1的可逆性为至少 12% 和 200mL (在同一访视期间容许至多3次机会,并且在患者耐受的情况下舒缓医药最多为12喷);在访视1/筛选前6个月内,在比较2次可接受的呼吸测量定评估时,记载有支气管扩张剂前的FEV1具有 20% 可变性的历史;或在访视1/筛选前12个月内,对乙酰甲胆碱(methacholine)具有阳性气道高反应性,这两个视为可接受地满足这一纳入准则;(4)在访视1前1年内必须经历以下事件中的任一个至少一次:针对恶化气喘利用全身性类固醇(经口或肠胃外)进行治疗,或针对恶化气喘进行住院或紧急医疗照护访视;(5)签署书面知情同意书。

[0477] 排除准则

[0478] 所述研究的排除准则如下:(1)患者 <18 岁或 >70 岁(即,在筛选访视时达到71岁的年龄);(2)患者的身体质量指数(BMI) <16 ;(3)可损害肺功能的慢性肺病(例如,慢性阻塞性肺病[COPD]或特发性肺纤维变性[IPF]);(4)威胁生命的气喘(即,需要插管的严重恶化)的历史;(5)可干扰IMP的评估的共病疾病;(6)患者在其筛选访视1前的4周内具有以下事件中的任一个:针对恶化气喘利用1或多次全身性(经口和/或肠胃外)类固醇爆裂进行治疗,或针对恶化气喘进行住院或紧急医疗照护访视;(7)在V2/随机化时,气喘控制问卷5问题版本(Asthma Control Questionnaire 5-question version, ACQ-5)评分 <1.25 或 >3.0 。在筛选时段期间,最高 ≤ 4 的ACQ-5是可接受的;(8)在访视1前130天内使用抗免疫球蛋白E(IgE)疗法(例如,奥马佐单抗[Xolair®]),或在访视1前2个月或5个半衰期内使用任何其它生物疗法(包括抗IL5mAb)或全身性免疫抑制剂(例如,氨甲喋呤)来治疗发炎疾病或自体免疫疾病(例如,类风湿性关节炎、发炎性肠病、原发性胆汁性硬化、全身性红斑狼疮、多发性硬化等)和其它疾病,以更长者为准;(9)患者具有对生物药物有全身性高敏感性反应的历史;(10)患者在访视1前2年内处于支气管热形成术中或开始所述支气管热形成术,或在筛选时段或随机化治疗时段期间计划开始疗法;(11)现时吸烟者或在访视1前的6个月内停止吸烟;(12)具有 >10 吸烟积累指数(pack-years)的吸烟史的先前吸烟者。

序列表

- <110> 瑞泽恩制药公司 (Regeneron Pharmaceuticals, Inc.)
 Jamie Orengo
 Jeanne Allinne
 Andrew Murphy
 George Yancopoulos
- <120> 治疗发炎病况的方法
- <130> 10142W001
- <150> 62/428, 634
- <151> 2016-12-01
- <150> 62/473, 738
- <151> 2017-03-30
- <150> 62/567, 318
- <151> 2017-10-03
- <160> 356
- <170> FastSEQ, Windows 版本 4.0
- <210> 1
- <211> 366
- <212> DNA
- [0001] <213> 人工序列
- <220>
- <223> 合成
- <400> 1
- ```

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agttatggca tgcattgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagaaa taaatactat 180
acagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaattg acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagagg 300
tatatcagca gctattatgg ggggttcgac ccctggggcc agggagccct ggtcaccgtc 360
tcctca

```
- <210> 2
- <211> 122
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 合成
- <400> 2
- ```

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20           25           30

```

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

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 3

ggattcacct tcagtagtta tggc

24

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1

5

<210> 5

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 5

atatggtatg atggaagaaa taaa

24

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 6

[0002]

[0003]

Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys

1 5

<210> 7

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 7

gcgagagaga ggtatatcag cagctattat ggggggttcg acccc 45

<210> 8

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 8

Ala Arg Glu Arg Tyr Ile Ser Ser Tyr Tyr Gly Gly Phe Asp Pro

1 5 10 15

<210> 9

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 9

gacatccaga tgaccagtc tccatctcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtc gggattagt agttggtag cctggtagc gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaggtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac ttteggccct 300
 gggaccaaac tggatatcaa g 321

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile

	35	40	45	
	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60	
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
	65	70	75	80
	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe			
	85	90	95	
	Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys			
	100	105		
	<210> 11			
	<211> 18			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 11			
	cagggtatta gtagttgg		18	
	<210> 12			
	<211> 6			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
[0004]	<223> 合成			
	<400> 12			
	Gln Gly Ile Ser Ser Trp			
	1	5		
	<210> 13			
	<211> 9			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 13			
	gctgcatcc		9	
	<210> 14			
	<211> 3			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 14			
	Ala Ala Ser			
	1			
	<210> 15			

<211> 27
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 15
 caacaggcta acagtttccc attcact 27
 <210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 16
 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr
 1 5
 <210> 17
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 17
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggagac ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagc agctatgcca tgagctgggt ccgccagget 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagtt attagtggta gtggaagtag cacagactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatt tccagagaca attccaggga cacgctgcat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaacgttc 300
 tactacttct acggttttga cgtctggggc caagggacca cggtcaccgt ctcctca 357
 <210> 18
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 18
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asp Thr Leu His	
	65 70 75 80	
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
	Ala Lys Thr Phe Tyr Tyr Phe Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly	
	100 105 110	
	Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
	115	
	<210> 19	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 19	
	ggattcacct tcagcagcta tgcc	24
	<210> 20	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
[0006]	<400> 20	
	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala	
	1 5	
	<210> 21	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 21	
	attagtggta gtggaagtag caca	24
	<210> 22	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 22	
	Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr	
	1 5	
	<210> 23	
	<211> 36	

<212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 23
 gcgaaaacgt tctactactt ctacggtttg gacgtc 36
 <210> 24
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 24
 Ala Lys Thr Phe Tyr Tyr Phe Tyr Gly Leu Asp Val
 1 5 10
 <210> 25
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 25
 [0007] gacatccaga tgaccacgtc tccatcctcc ctgtctgcat ctttaagaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcgagtca gggcattagc aattatttag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagtgc ctaaggtcct aatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180
 cggttcagtg gcagtggatc tgggacagtt ttcactctca ccatcagcag cctgcagact 240
 gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tatagcagtg cccattcac ttctggccct 300
 gggaccaaag tggatatcaa a 321
 <210> 26
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 26
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Arg
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Val Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Val Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Thr

	65	70	75	80
	Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Ser Ser Ala Pro Phe			
		85	90	95
	Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys			
		100	105	
	<210> 27			
	<211> 18			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 27			
	cagggcatta gcaattat			18
	<210> 28			
	<211> 6			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 28			
	Gln Gly Ile Ser Asn Tyr			
[0008]	1	5		
	<210> 29			
	<211> 9			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 29			
	gctgcatcc			9
	<210> 30			
	<211> 3			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 30			
	Ala Ala Ser			
	1			
	<210> 31			
	<211> 27			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			

<223> 合成	
<400> 31	
caaaagtata gcagtgcgcc attcact	27
<210> 32	
<211> 9	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成	
<400> 32	
Gln Lys Tyr Ser Ser Ala Pro Phe Thr	
1 5	
<210> 33	
<211> 351	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成	
<400> 33	
cagggtcttc tgggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggccac agtgaaggtc 60	
tcctgcaagg cttctggatc cactttcacc ggctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120	
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta acaatggtgg cacaaactat 180	
gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240	
atggaattga gcaggctgag atctgacgac acggccgtat attactgtgc gagagagttg 300	
cggtataact ggaagtcctg gggccaggga accctgggtca ccgtctcctc a 351	
<210> 34	
<211> 117	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成	
<400> 34	
Gln Val Leu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
1 5 10 15	
Thr Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Ser Thr Phe Thr Gly Tyr	
20 25 30	
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
35 40 45	
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe	
50 55 60	
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr	
65 70 75 80	
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
85 90 95	

[0009]

	Ala Arg Glu Leu Arg Tyr Asn Trp Lys Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu	
	100 105 110	
	Val Thr Val Ser Ser	
	115	
	<210> 35	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 35	
	ggatccactt tcaccggcta ctat	24
	<210> 36	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 36	
	Gly Ser Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr	
	1 5	
[0010]	<210> 37	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 37	
	atcaacccta acaatggtgg caca	24
	<210> 38	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 38	
	Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr	
	1 5	
	<210> 39	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	

[0011]	<400> 39	
	gcgagagagt tgcggtataa ctggaagtcc	30
	<210> 40	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 40	
	Ala Arg Glu Leu Arg Tyr Asn Trp Lys Ser	
	1 5 10	
	<210> 41	
	<211> 324	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 41	
	gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagtcacc 60	
	ctctcctgca gggccagtc gagtggtggc aggccctact tagcctggta ccaacagata 120	
	cctggccagg ctcccaggt cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tgacatccca 180	
	gacaggttca gtggcaatgg gtcctgggaca gacttcactc tcaccatcag tagactggag 240	
	cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatgata attccctta tacttttggc 300	
	caggggacca ggctggagat caaa	324
	<210> 42	
	<211> 108	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 42	
	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
	1 5 10 15	
	Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Arg Pro	
	20 25 30	
	Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu	
	35 40 45	
	Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Asp Ile Pro Asp Arg Phe Ser	
	50 55 60	
	Gly Asn Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu	
	65 70 75 80	
	Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Ser Pro	
	85 90 95	
	Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys	

	100	105
	<210> 43	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 43	
	cagagtgttg gcaggcccta c	21
	<210> 44	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 44	
	Gln Ser Val Gly Arg Pro Tyr	
	1 5	
	<210> 45	
	<211> 9	
	<212> DNA	
[0012]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 45	
	ggtgcatcc	9
	<210> 46	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 46	
	Gly Ala Ser	
	1	
	<210> 47	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 47	
	cagcagtatg ataattcccc ttatact	27
	<210> 48	

<211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 48
 Gln Gln Tyr Asp Asn Ser Pro Tyr Thr
 1 5
 <210> 49
 <211> 366
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 49
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacaac ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttaga agctttgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggaagg ggctggaatt ggtctcagat ctcaggacta gtggtggtag tacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gctcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaagccac 300
 tatagacca gctggttcgg gggctttgac tactggggcc aggggaaccct ggctactgtc 360
 tectca 366
 [0013]
 <210> 50
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 50
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Phe
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val
 35 40 45
 Ser Asp Leu Arg Thr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Ser His Tyr Ser Thr Ser Trp Phe Gly Gly Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

	115	120
	<210> 51	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 51	
	ggattcacct ttagaagctt tgcc	24
	<210> 52	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 52	
	Gly Phe Thr Phe Arg Ser Phe Ala	
	1 5	
	<210> 53	
	<211> 24	
	<212> DNA	
[0014]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 53	
	ctcaggacta gtggtggtag taca	24
	<210> 54	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 54	
	Leu Arg Thr Ser Gly Gly Ser Thr	
	1 5	
	<210> 55	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 55	
	gcgaaaagcc actatagcac cagctggttc gggggctttg actac	45
	<210> 56	

<211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 56

Ala Lys Ser His Tyr Ser Thr Ser Trp Phe Gly Gly Phe Asp Tyr
 1 5 10 15

<210> 57
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 57

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgctt ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtc gggtttttagc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcattccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcaccaa cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac ttctggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

[0015]

<210> 58
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 58

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

<210> 59
 <211> 18

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 59	
	cagggtttta gcagctgg	18
	<210> 60	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 60	
	Gln Gly Phe Ser Ser Trp	
	1 5	
	<210> 61	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
[0016]	<400> 61	
	gctgcatcc	9
	<210> 62	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 62	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 63	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 63	
	caacaggcta acagtttccc tctcact	27
	<210> 64	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	

[0017]

<220>
 <223> 合成
 <400> 64
 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 65
 <211> 366
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 65
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacgttttagc agctatgtca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaagt attagtggta atggtggtag cacaaactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
 ctggaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaatcactg 300
 ggaactacca cgactttttt ggggtttgac tattggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
 tcctca 366
 <210> 66
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 66
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Val Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Gly Asn Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
 65 70 75 80
 Leu Glu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Ser Leu Gly Thr Thr Thr Thr Phe Leu Gly Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 67
 <211> 24

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 67	
	ggattcacgt ttagcagcta tgtc	24
	<210> 68	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 68	
	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Val	
	1 5	
	<210> 69	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 69	
[0018]	attagtggta atggtggtag caca	24
	<210> 70	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 70	
	Ile Ser Gly Asn Gly Gly Ser Thr	
	1 5	
	<210> 71	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 71	
	gcgaaatcac tgggaactac cacgactttt ttggggtttg actat	45
	<210> 72	
	<211> 15	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	

<220>

<223> 合成

<400> 72

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

1

5

10

15

<210> 73

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 73

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtc ggggtattagc agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacatat ttcactetca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 74

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

20

25

30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35

40

45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu

85

90

95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 75

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

[0019]

	<223> 合成	
	<400> 75	
	cagggtatta gcagctgg	18
	<210> 76	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 76	
	Gln Gly Ile Ser Ser Trp	
	1 5	
	<210> 77	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 77	
	gctgcatcc	9
	<210> 78	
[0020]	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 78	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 79	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 79	
	caacaggcta acagtttccc tctcact	27
	<210> 80	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 80	

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 81

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 81

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcgagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agttattact ggagctggat ccggcagccc 120
ccagggaagg gactggagtt gattgggtat atttattaca gtgggagcac caattataac 180
ccctccctca agagtcgagt caccatatct gtagacacgt ccaagaacca cttctccctg 240
aagctgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtatatt actgtgcgag atcccagtat 300
accagtagtt ggtacggttc ttttgatata tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360
tca 363

<210> 82

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

[0021]

<400> 82

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

<210> 83

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

	<223> 合成	
	<400> 83	
	ggtggctcca tcagtagtta ttac	24
	<210> 84	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 84	
	Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr	
	1 5	
	<210> 85	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 85	
	atttattaca gtgggagcac c	21
	<210> 86	
[0022]	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 86	
	Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr	
	1 5	
	<210> 87	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 87	
	gcgagatccc agtataccag tagttggtac ggttcttttg atatc	45
	<210> 88	
	<211> 15	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 88	

[0023]

Ala Arg Ser Gln Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Ser Phe Asp Ile
 1 5 10 15
 <210> 89
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 89
 gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtca gggattatgc acctggtttag cctggtttca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tacaagggtg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggccagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtggac gtcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa a 321
 <210> 90
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 90
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Thr Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Pro Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 91
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 91
 cagggtatta gcacctgg 18

	<210> 92	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 92	
	Gln Gly Ile Ser Thr Trp	
	1 5	
	<210> 93	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 93	
	gctgcatcc	9
	<210> 94	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
[0024]	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 94	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 95	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 95	
	caacaggcta acagtttccc gtggacg	27
	<210> 96	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 96	
	Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Trp Thr	
	1 5	
	<210> 97	

<211> 366
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 97
 caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cctctgggta cacctttaac agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagctccc acaatggtaa cagtcactat 180
 gtacagaagt tccagggcag agtctccatg accacagaca catccacgag tacagcctac 240
 atggaactga ggagccttag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagacactcg 300
 tataccacca gctggtacgg gggttttgac tattggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
 tcctca 366
 <210> 98
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 98
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Ser Ser His Asn Gly Asn Ser His Tyr Val Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Ser Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg His Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 99
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 99
 ggttacacct ttaacagcta tggt 24

[0025]

	<210> 100	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 100	
	Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr Gly	
	1 5	
	<210> 101	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 101	
	atcagctccc acaatggtaa cagt	24
	<210> 102	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
[0026]	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 102	
	Ile Ser Ser His Asn Gly Asn Ser	
	1 5	
	<210> 103	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 103	
	gcgagacact cgtataccac cagctggtac gggggttttg actat	45
	<210> 104	
	<211> 15	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 104	
	Ala Arg His Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr	
	1 5 10 15	
	<210> 105	

<211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 105
 gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtca gggtttttagc agctggtttag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctacgctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggtcagat ttcactetca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac ttctggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321
 <210> 106
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 106
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Phe Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 107
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 107
 cagggtttta gcagctgg 18
 <210> 108
 <211> 6
 <212> PRT

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 108	
	Gln Gly Phe Ser Ser Trp	
	1 5	
	<210> 109	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 109	
	gctgcatcc	9
	<210> 110	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 110	
[0028]	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 111	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 111	
	caacaggcta acagtttccc tctcact	27
	<210> 112	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 112	
	Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr	
	1 5	
	<210> 113	
	<211> 366	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

<220>

<223> 合成

<400> 113

gaggtgcagc tgggtggagtc cgggggaggc ttggttcagc cggggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggaat caccttgagc agctatggca tgagctgggt ccgccaggt 120
 ccagggaagg gactggagtg ggtcgcaccc atttttggtg gtggtggtgg ccatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcacatg tccagagaca attccaagaa cacgtgtat 240
 ttgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attattgtgc gaaagatcga 300
 tacagtggga gctactacgg aggttttgac tactggggcc ggggaaccct ggtcaccgtc 360
 tcctca 366

<210> 114

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 114

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

<210> 115

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 115

ggaatcacct tgagcagcta tggc 24

<210> 116

<211> 8

[0029]

	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 116	
	Gly Ile Thr Leu Ser Ser Tyr Gly	
	1 5	
	<210> 117	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 117	
	atTTTTGGTA GTGGTGGTGG CCCA	24
	<210> 118	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 118	
[0030]	Ile Phe Gly Ser Gly Gly Gly Pro	
	1 5	
	<210> 119	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 119	
	gcgaaagatc gatacagtgg gagctactac ggaggttttg actac	45
	<210> 120	
	<211> 15	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 120	
	Ala Lys Asp Arg Tyr Ser Gly Ser Tyr Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr	
	1 5 10 15	
	<210> 121	
	<211> 321	
	<212> DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 121

```
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggggtattacc agctggtag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctacactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaaactgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaacattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctcctac tticggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321
```

<210> 122

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 122

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1          5          10          15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Thr Ser Trp
          20          25          30
[0031] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Thr Leu Leu Ile
          35          40          45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
          50          55          60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65          70          75          80
Glu His Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro
          85          90          95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100          105
```

<210> 123

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 123

```
cagggtatta ccagctgg 18
```

<210> 124

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

	<223> 合成	
	<400> 124	
	Gln Gly Ile Thr Ser Trp	
	1 5	
	<210> 125	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 125	
	gctgcatcc	9
	<210> 126	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 126	
	Ala Ala Ser	
	1	
[0032]	<210> 127	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 127	
	caacaggcta acagtttccc tcctact	27
	<210> 128	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 128	
	Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro Thr	
	1 5	
	<210> 129	
	<211> 366	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	

<400> 129
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctaagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agttatgcct tgacctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctctttt attagtggta gtgggtggtag gccattctac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa catgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccatat attactgtgc gaagtcctg 300
 tataccacca gctggtacgg ggggttcgac tcctggggcc aggggaaccct ggtcaccgtc 360
 tcctca 366

<210> 130

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 130

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

[0033]

<210> 131

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 131

ggattcacct ttagcagtta tgcc 24

<210> 132

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

	<223> 合成	
	<400> 132	
	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala	
	1 5	
	<210> 133	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 133	
	attagtggta gtggtggtag gcca	24
	<210> 134	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 134	
	Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Pro	
	1 5	
[0034]	<210> 135	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 135	
	gcgaagtcctc tgtataccac cagctggtac ggggggttcg actcc	45
	<210> 136	
	<211> 15	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 136	
	Ala Lys Ser Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ser	
	1 5 10 15	
	<210> 137	
	<211> 321	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	

<400> 137
 gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtc ggggtgtcgc agctggtag cctggatatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ttgtcaacag tctaacagtt tccctttcac tctcgccct 300
 gggaccaaag tggatatcaa a 321
 <210> 138
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 138
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Val Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Phe Pro Phe
 85 90 95
 Thr Leu Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105
 <210> 139
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 139
 cagggtgtcg tcagctgg 18
 <210> 140
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 140
 Gln Gly Val Val Ser Trp

	1	5	
	<210> 141		
	<211> 9		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		
	<400> 141		
	gctgcatcc		9
	<210> 142		
	<211> 3		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		
	<400> 142		
	Ala Ala Ser		
	1		
	<210> 143		
	<211> 24		
	<212> DNA		
[0036]	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		
	<400> 143		
	caacagtcta acagtttccc tttc		24
	<210> 144		
	<211> 8		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		
	<400> 144		
	Gln Gln Ser Asn Ser Phe Pro Phe		
	1	5	
	<210> 145		
	<211> 366		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		
	<400> 145		
	caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgaa gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60		
	tcttgaagg cttctggata caccttcacc ggccactata tgtactggat gcgacaggcc 120		

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta acagtgggtg cacaaactat 180
 gcacagaagt ttcaggacag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
 atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagggaga 300
 tatggcagta gctggtacgg ggggtttgag tactggggcc agggaaccct ggtcacgcgc 360
 tcctca 366
 <210> 146
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 146
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly His
 20 25 30
 Tyr Met Tyr Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Arg Tyr Gly Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Glu Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 147
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 147
 ggatacacct tcaccggcca ctat 24
 <210> 148
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 148
 Gly Tyr Thr Phe Thr Gly His Tyr

	1	5	
	<210> 149		
	<211> 24		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		
	<400> 149		
	atcaacccta acagtgggtgg caca		24
	<210> 150		
	<211> 8		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		
	<400> 150		
	Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr		
	1	5	
	<210> 151		
	<211> 45		
	<212> DNA		
[0038]	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		
	<400> 151		
	gcgagaggga gatatggcag tagctggtac ggggggtttg agtac		45
	<210> 152		
	<211> 15		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		
	<400> 152		
	Ala Arg Gly Arg Tyr Gly Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Glu Tyr		
	1	5	10 15
	<210> 153		
	<211> 321		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		
	<400> 153		
	gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc 60		
	atcacttgtc gggcgagtca ggggtattacc agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120		

gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcagccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacggat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagacttta caacttacta ttgtcaacag gcttacagtc tccctctcac ttccggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 154

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 154

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

[0039]

<210> 155

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 155

cagggtatta ccagctgg 18

<210> 156

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 156

Gln Gly Ile Thr Ser Trp
 1 5

<210> 157

<211> 9

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 157	
	gctgcagcc	9
	<210> 158	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 158	
	Ala Ala Ala	
	1	
	<210> 159	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 159	
[0040]	caacaggett acagtctccc tctcact	27
	<210> 160	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 160	
	Gln Gln Ala Tyr Ser Leu Pro Leu Thr	
	1 5	
	<210> 161	
	<211> 366	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 161	
	caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60	
	tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggct tgcactgggt ccgccagtct 120	
	ccaggcaagg ggctggaatg ggtggcactt atatcatatg acggaagtaa taaatactat 180	
	gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgtat 240	
	ctgcaaataa acagcctgag acctgaggac acggctggat atttctgtgc gaaatcccta 300	

tatacaacca gctgtgtacgg gggcttttgac tattgggggcc aggggaaccct ggtcaccgtc 360
tctctca 366

<210> 162
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 162

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Leu His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Leu Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Gly Tyr Phe Cys
85 90 95
[0041] Ala Lys Ser Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 163
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 163

ggattcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 164
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 164

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 165
<211> 24

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 165	
	atatcatatg acggaagtaa taaa	24
	<210> 166	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 166	
	Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys	
	1 5	
	<210> 167	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
[0042]	<400> 167	
	gcgaaatccc tatatacaac cagctggtac gggggctttg actat	45
	<210> 168	
	<211> 15	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 168	
	Ala Lys Ser Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr	
	1 5 10 15	
	<210> 169	
	<211> 321	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 169	
	gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60	
	atcacttgtc gggcgagtca gggatttaga agctggtttag cctggatatca gcaaaaacca 120	
	gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcgtccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180	
	aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240	
	gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctccac tticggccct 300	

	gggaccaaag tggatatcaa a	321
	<210> 170	
	<211> 107	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 170	
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly	
	1 5 10 15	
	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Trp	
	20 25 30	
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile	
	35 40 45	
	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
	50 55 60	
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
	65 70 75 80	
	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro	
	85 90 95	
	Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys	
	100 105	
[0043]	<210> 171	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 171	
	cagggtatta gaagctgg	18
	<210> 172	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 172	
	Gln Gly Ile Arg Ser Trp	
	1 5	
	<210> 173	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

[0044]	<223> 合成	
	<400> 173	
	gctgcgtcc	9
	<210> 174	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 174	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 175	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 175	
	caacaggcta acagtttccc tcccact	27
	<210> 176	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 176	
	Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro Thr	
	1 5	
	<210> 177	
	<211> 366	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 177	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60	
	tcctgtgcag cctctgggtt caccttcagc aactatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120	
	ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact atcagtggca gtggtgataa cacatactac 180	
	gcagactccg tgcagggccg gtccaccatc tccagaggcc attccaagaa cacgctgtat 240	
	ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaacctacg 300	
	tatagcagaa gctggtacgg tgcttttgat ttctggggcc aagggacaat ggtcaccgtc 360	
	tettca	366
	<210> 178	

<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 178
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Gly His Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Pro Thr Tyr Ser Arg Ser Trp Tyr Gly Ala Phe Asp Phe Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

[0045]

<210> 179
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 179
gggttcacct tcagcaacta tgcc
<210> 180
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 180
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala
1 5
<210> 181
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

24

<223> 合成
 <400> 181
 atcagtggca gtggtgataa caca 24
 <210> 182
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 182
 Ile Ser Gly Ser Gly Asp Asn Thr
 1 5
 <210> 183
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 183
 gcgaaacctta cgtatagcag aagctggtac ggtgcttttg atttc 45
 <210> 184
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 184
 Ala Lys Pro Thr Tyr Ser Arg Ser Trp Tyr Gly Ala Phe Asp Phe
 1 5 10 15
 <210> 185
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 185
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc agctgggttag cctgggtatca gcagaaaccg 120
 gggaaagccc ctcaactcct gatctatgct gcatccagat tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttctggg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacaatt tccattcac ttctggccct 300
 gggaccaaaag tggatatcaa a 321
 <210> 186
 <211> 107

[0046]

	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 186	
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly	
	1 5 10 15	
	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp	
	20 25 30	
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Ile	
	35 40 45	
	Tyr Ala Ala Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Trp Gly	
	50 55 60	
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
	65 70 75 80	
	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Asn Phe Pro Phe	
	85 90 95	
	Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys	
	100 105	
	<210> 187	
	<211> 18	
	<212> DNA	
[0047]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 187	
	cagggtatta gcagctgg	18
	<210> 188	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 188	
	Gln Gly Ile Ser Ser Trp	
	1 5	
	<210> 189	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 189	
	gctgcatcc	9

	<210> 190	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 190	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 191	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 191	
	caacaggcta acaatttccc attcact	27
	<210> 192	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
[0048]	<223> 合成	
	<400> 192	
	Gln Gln Ala Asn Asn Phe Pro Phe Thr	
	1 5	
	<210> 193	
	<211> 366	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 193	
	caggttcagc tggatgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60	
	tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agttatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120	
	cctggacaag gccttgagtg gatgggatgg atccgcgctt acaatgggta cacaaactat 180	
	gcacagaagt ttcagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgaa caccgcctac 240	
	atggagctga ggaccctgaa ttctgacgat acggccggtt attactgtgc gagagatcga 300	
	tatagtggga gcttccacgg taactttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360	
	tcctca	366
	<210> 194	
	<211> 122	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	

[0049]

<220>
 <223> 合成
 <400> 194
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Arg Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Thr Leu Asn Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Arg Tyr Ser Gly Ser Phe His Gly Asn Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 195
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成
 <400> 195
 ggttacacct ttaccagtta tggt

24

<210> 196
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成
 <400> 196
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly
 1 5

<210> 197
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成
 <400> 197
 atccgcgctt acaatggta caca

24

<210> 198
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 198
 Ile Arg Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr
 1 5
 <210> 199
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 199
 gcgagagatc gatatagtgg gagcttccac ggtaactttg actac 45
 <210> 200
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 200
 Ala Arg Asp Arg Tyr Ser Gly Ser Phe His Gly Asn Phe Asp Tyr
 1 5 10 15
 <210> 201
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 201
 gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcgt ctgtaggaga cagagtgacc 60
 atcacttgtc gggcgagtca gggatatttc agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaggtcct aatctatgct gcatccaatt tggaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt taccgctcac ttctggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321
 <210> 202
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

[0050]

	<223> 合成	
	<400> 202	
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly	
	1 5 10 15	
	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Phe Ser Trp	
	20 25 30	
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile	
	35 40 45	
	Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
	50 55 60	
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
	65 70 75 80	
	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Leu Pro Leu	
	85 90 95	
	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	
	100 105	
	<210> 203	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
[0051]	<223> 合成	
	<400> 203	
	cagggtatattt tcagctgg	18
	<210> 204	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 204	
	Gln Gly Ile Phe Ser Trp	
	1 5	
	<210> 205	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 205	
	gctgcatcc	9
	<210> 206	
	<211> 3	
	<212> PRT	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 206	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 207	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 207	
	caacaggeta acagtttacc gctcact	27
	<210> 208	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 208	
[0052]	Gln Gln Ala Asn Ser Leu Pro Leu Thr	
	1 5	
	<210> 209	
	<211> 366	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 209	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60	
	tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctattcta tgcactgggt ccgccaggct 120	
	ccaggggaagg gactggaata tgtttcaact attaataata atgggggatac cacatattat 180	
	gcagactctg tgaagggcag attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240	
	cttcaactgg gcagcctgag acctgaggac atggetgtgt attactgtgc gagacagacg 300	
	tataccagca gctggtacgg ggggttcgac tcctggggcc aggggaaccct ggtcaccgtc 360	
	tcctca	366
	<210> 210	
	<211> 122	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 210	

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

<210> 211

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 211

ggattcacct tcagtaccta ttct

24

<210> 212

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 212

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ser

1 5

<210> 213

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 213

attaataata atggggatac caca

24

<210> 214

<211> 8

<212> PRT

[0053]

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 214	
	Ile Asn Asn Asn Gly Asp Thr Thr	
	1 5	
	<210> 215	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 215	
	gcgagacaga cgtataccag cagctggtac ggggggttcg actcc	45
	<210> 216	
	<211> 15	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 216	
[0054]	Ala Arg Gln Thr Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ser	
	1 5 10 15	
	<210> 217	
	<211> 321	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 217	
	gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggcca cagagtcacc 60	
	atcacttgtc gggcgagtc ggggtattacc agctggtttag cctgggtatca gcagaaacca 120	
	gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccaatt tgcaaagtgg ggtcccatca 180	
	aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaccag cctgcagcct 240	
	gaggattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtc tcccattcac tticggccct 300	
	gggaccaaag tggatatcaa a 321	
	<210> 218	
	<211> 107	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 218	
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly	

	1	5	10	15
	Asp Arg Val Thr	Ile Thr Cys Arg	Ala Ser Gln Gly	Ile Thr Ser Trp
	20	25	30	
	Leu Ala Trp Tyr	Gln Gln Lys Pro	Gly Lys Ala Pro	Lys Leu Leu Ile
	35	40	45	
	Tyr Ala Ala Ser	Asn Leu Gln Ser	Gly Val Pro Ser	Arg Phe Ser Gly
	50	55	60	
	Ser Gly Ser Gly	Thr Asp Phe Thr	Leu Thr Ile Thr	Ser Leu Gln Pro
	65	70	75	80
	Glu Asp Phe Ala	Thr Tyr Tyr Cys	Gln Gln Ala Asn	Ser Leu Pro Phe
	85	90	95	
	Thr Phe Gly Pro	Gly Thr Lys Val	Asp Ile Lys	
	100	105		
	<210> 219			
	<211> 18			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 219			
	cagggtatta ccagctgg			18
[0055]	<210> 220			
	<211> 6			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 220			
	Gln Gly Ile Thr	Ser Trp		
	1	5		
	<210> 221			
	<211> 9			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 221			
	gctgcatcc			9
	<210> 222			
	<211> 3			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			

	<400> 222	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 223	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 223	
	caacaggcta acagtctccc attcact	27
	<210> 224	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 224	
	Gln Gln Ala Asn Ser Leu Pro Phe Thr	
	1 5	
	<210> 225	
[0056]	<211> 366	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 225	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60	
	tcctgtgcag cctctggatt cacccttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccagget 120	
	ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggcag cacatactac 180	
	gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa ctgcgtgtat 240	
	ctgcaattga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaagacgctg 300	
	tatactacca gctggtacgg gggcttcag cactggggcc agggcacctt ggtcactgtc 360	
	tcctca 366	
	<210> 226	
	<211> 122	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 226	
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
	1 5 10 15	
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Tyr	

	20	25	30
	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35	40	45
	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
	50	55	60
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr		
	65	70	75
	Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90	95
	Ala Lys Thr Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Gln His Trp		
	100	105	110
	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
	115	120	
	<210> 227		
	<211> 24		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		
	<400> 227		
	ggattcaccc ttagcageta tgcc		24
[0057]	<210> 228		
	<211> 8		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		
	<400> 228		
	Gly Phe Thr Leu Ser Ser Tyr Ala		
	1	5	
	<210> 229		
	<211> 24		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		
	<400> 229		
	attagtggta gtggtggcag caca		24
	<210> 230		
	<211> 8		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成		

	<400> 230	
	Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr	
	1 5	
	<210> 231	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 231	
	gcgaagacgc tgtatactac cagctggtac gggggcttcc agcac	45
	<210> 232	
	<211> 15	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 232	
	Ala Lys Thr Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Gln His	
	1 5 10 15	
	<210> 233	
[0058]	<211> 321	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 233	
	gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctataggaga cagagtcacc 60	
	atcacttgtc gggcgagtca gggaatcagc agttggttag cctggtatca gcagaaacca 120	
	gggaaagtcc ctaagctcct gatctatgct gcgtcctctt tgcaaagtgg gttcccatca 180	
	aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagtag cctgcagccc 240	
	gaagattttg caacttacta ttgtcaacag actcacagtt tcccgtggac ggtcggccaa 300	
	gggaccaagg tggaaatcaa a 321	
	<210> 234	
	<211> 107	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 234	
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Ile Gly	
	1 5 10 15	
	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp	
	20 25 30	

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

<210> 235

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 235

cagggaatca gcagttgg

18

<210> 236

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 236

Gln Gly Ile Ser Ser Trp

1

5

<210> 237

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 237

gctgcgtcc

9

<210> 238

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 238

Ala Ala Ser

1

[0059]

<210> 239
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 239
 caacagactc acagtttccc gtgg 24
 <210> 240
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 240
 Gln Gln Thr His Ser Phe Pro Trp
 1 5
 <210> 241
 <211> 366
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 [0060] <223> 合成
 <400> 241
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacccttagg agctatttca tgacctgggt ccgccaggtt 120
 ccagggaagg ggctggaggg ggtctcagct attagtggca ttagtggtgg cacatactac 180
 acagactccg ttaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat atttctgtgc gagaacgggtg 300
 tatagtagta gttactacgg gggtcttcag cactggggcc agggcacccct ggtcacccgc 360
 tcctca 366
 <210> 242
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 242
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Arg Ser Tyr
 20 25 30
 Phe Met Thr Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Gly Val
 35 40 45

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

<210> 243

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 243

ggattcaccc ttaggagcta tttc

24

<210> 244

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 244

Gly Phe Thr Leu Arg Ser Tyr Phe

1

5

<210> 245

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 245

attagtggca ttagtggtgg caca

24

<210> 246

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 246

Ile Ser Gly Ile Ser Gly Gly Thr

1

5

[0061]

[0062]

<210> 247
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 247
 gcgagaacgg tgtatagtag tagttactac gggggtcttc agcac 45
 <210> 248
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 248
 Ala Arg Thr Val Tyr Ser Ser Ser Tyr Tyr Gly Gly Phe Gln His
 1 5 10 15
 <210> 249
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 249
 gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgtat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtca ggggtattagc agttggtttag cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgtt gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag actaacagtt tccctctcac ttteggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321
 <210> 250
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 250
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Val Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

<212> DNA

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 255	
	caacagacta acagtttccc tctcact	27
	<210> 256	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 256	
	Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Leu Thr	
	1 5	
	<210> 257	
	<211> 366	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 257	
[0064]	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60	
	tcctgtgcag cctctggatt cacccttagg agttatgtca tgtactgggt ccgccagggt 120	
	ccaggaagg ggctggaggg ggtctcaggt attagtggca gtagtgggtg cacatactac 180	
	acagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240	
	ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggccgtat atttctgtgc gagatcgggtg 300	
	tatagtacca cctggtacgg gggcttccag cactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360	
	tcctca 366	
	<210> 258	
	<211> 122	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 258	
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
	1 5 10 15	
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Arg Ser Tyr	
	20 25 30	
	Val Met Tyr Trp Val Arg Gln Gly Pro Gly Lys Gly Leu Glu Gly Val	
	35 40 45	
	Ser Gly Ile Ser Gly Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val	
	50 55 60	
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe	

	65	70	75	80
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys			
		85	90	95
	Ala Arg Ser Val Tyr Ser Thr Thr Trp Tyr Gly Gly Phe Gln His Trp			
		100	105	110
	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
	115	120		
	<210> 259			
	<211> 24			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 259			
	ggattcaccc ttaggagtta tgtc			24
	<210> 260			
	<211> 8			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 260			
[0065]	Gly Phe Thr Leu Arg Ser Tyr Val			
	1 5			
	<210> 261			
	<211> 24			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 261			
	attagtggca gtagtggtgg caca			24
	<210> 262			
	<211> 8			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成			
	<400> 262			
	Ile Ser Gly Ser Ser Gly Gly Thr			
	1 5			
	<210> 263			
	<211> 45			
	<212> DNA			

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 263	
	gcgagatcgg tgtatagtac cacctggtac gggggcttcc agcac	45
	<210> 264	
	<211> 15	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 264	
	Ala Arg Ser Val Tyr Ser Thr Thr Trp Tyr Gly Gly Phe Gln His	
	1 5 10 15	
	<210> 265	
	<211> 321	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 265	
[0066]	gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgtat ctgtgggaga cagagtcacc 60	
	atcacttgtc gggcgagtc ggttattagc agttggttag cctgggtatca gctgaaacca 120	
	gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180	
	aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcgg cctgcagcct 240	
	gaagattttg cagtttacta ttgtcaacag actaacagtt tccctctcac tttcggcgga 300	
	gggaccaagg tggagatcaa a 321	
	<210> 266	
	<211> 107	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 266	
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Val Ser Val Gly	
	1 5 10 15	
	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Ser Ser Trp	
	20 25 30	
	Leu Ala Trp Tyr Gln Leu Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
	35 40 45	
	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
	50 55 60	
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro	
	65 70 75 80	

	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Leu	
	85 90 95	
	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	
	100 105	
	<210> 267	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 267	
	caggttatta gcagttgg	18
	<210> 268	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 268	
	Gln Val Ile Ser Ser Trp	
	1 5	
[0067]	<210> 269	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 269	
	gctgcatcc	9
	<210> 270	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 270	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 271	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	

[0068]	<400> 271	
	caacagacta acagtttccc tctcact	27
	<210> 272	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 272	
	Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Leu Thr	
	1 5	
	<210> 273	
	<211> 366	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 273	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaaac ttggaacagc ctgggggggtc ccttagactc 60	
	tcctgtacag cctctggatt caccttttagc agatctgcca tgaactgggt ccgccgggct 120	
	ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagga attagtggta gtggtggtcg aacatactac 180	
	gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa tacgtatat 240	
	ctgcaaatga acagcctgag cgccgaggac acggccgcat attactgtgc gaaagattcg 300	
	tatactacca gttggtacgg aggtatggac gtctggggcc acgggaccac ggtcaccgtc 360	
	tcctca	366
	<210> 274	
	<211> 122	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 274	
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asn Leu Glu Gln Pro Gly Gly	
	1 5 10 15	
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser	
	20 25 30	
	Ala Met Asn Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
	35 40 45	
	Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
	50 55 60	
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
	65 70 75 80	
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Ser Ala Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	

[0069]

Ala Lys Asp Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110
 Gly His Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 275
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 275
 ggattcacct ttagcagatc tgcc
 <210> 276
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 276
 Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ala
 1 5
 <210> 277
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 277
 attagtggta gtggtggtcg aaca
 <210> 278
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 278
 Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Thr
 1 5
 <210> 279
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成

24

24

<400> 279
 gcgaaagatt cgtatactac cagttggtac ggaggtatgg acgtc 45
 <210> 280
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 280
 Ala Lys Asp Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Met Asp Val
 1 5 10 15
 <210> 281
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 281
 gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtc gggatatttc agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120
 ggaaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcttccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
 agattcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaggattttg caatttacta ttgtcaacag gctaacagtg tcccgatcac ctteggccaa 300
 gggacacgac tggagattaa a 321
 <210> 282
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 282
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Phe Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Val Pro Ile
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

	100	105
	<210> 283	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 283	
	cagggtatatt tcagctgg	18
	<210> 284	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 284	
	Gln Gly Ile Phe Ser Trp	
	1 5	
	<210> 285	
	<211> 9	
	<212> DNA	
[0071]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 285	
	gctgcttcc	9
	<210> 286	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 286	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 287	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 287	
	caacaggcta acagtgtccc gatcacc	27
	<210> 288	

<211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 288
 Gln Gln Ala Asn Ser Val Pro Ile Thr
 1 5
 <210> 289
 <211> 366
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 289
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgttcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgaactgggt ccgccaggct 120
 ccaggaagg ggctggagtg ggtcaccgct attagtggca gtggtggtgg cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa ctgcgtgttt 240
 ctgcaattga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaacaaacg 300
 tataccagca gctggtacgg tggctttgat atctggggcc aggggacaaat ggtcaccgtc 360
 tcttca 366
 [0072]
 <210> 290
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 290
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Thr Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Phe
 65 70 75 80
 Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gln Thr Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

	115	120
	<210> 291	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 291	
	ggattcacct ttagcagcta tgcc	24
	<210> 292	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 292	
	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala	
	1 5	
	<210> 293	
	<211> 24	
	<212> DNA	
[0073]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 293	
	attagtggca gtggtggtgg caca	24
	<210> 294	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 294	
	Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr	
	1 5	
	<210> 295	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 295	
	gcgaaacaaa cgtataccag cagctggtac ggtggctttg atatc	45
	<210> 296	

<211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 296

Ala Lys Gln Thr Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 297

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 297

gacatccaga tgaccagtc gccatcttcc gtgtccgcgt ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtc gggttttagt tcttggttag cctggtatca gcagatacca 120
 gggaaagccc ccaagtcct gatctatgct gcatcaaggt tgcaaagtgg ggtcccatcc 180
 aggttccgcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaggattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgcacac tttcgcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

[0074]

<210> 298

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 298

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Phe Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Arg Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 299

	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 299	
	cagggtttta gttcctgg	18
	<210> 300	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 300	
	Gln Gly Phe Ser Ser Trp	
	1 5	
	<210> 301	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
[0075]	<223> 合成	
	<400> 301	
	gctgcatca	9
	<210> 302	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 302	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 303	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 303	
	caacaggcta acagtttccc gctcact	27
	<210> 304	
	<211> 9	
	<212> PRT	

<213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 304
 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 305
 <211> 167
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 305
 Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Ser Leu Ala Ser Leu Ser
 1 5 10 15
 Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr
 20 25 30
 Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Lys Lys Lys Asp Lys Val
 35 40 45
 Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Ser Glu Ser Gly Asp
 50 55 60
 Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp
 65 70 75 80
 Phe Trp Leu Gln Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys
 85 90 95
 Cys Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Arg
 100 105 110
 Ser Phe Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe
 115 120 125
 Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Tyr Ser
 130 135 140
 Glu Asn Leu Gly Ser Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Ile Leu
 145 150 155 160
 Glu His His His His His His
 165
 <210> 306
 <211> 167
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 306
 Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Ser Leu Ala Ser Leu Ser
 1 5 10 15

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

[0077]

<210> 307

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 307

caggtcacct tgaaggagtc tggctctgtg ctggtgaaac ccacagagag cctcacgctg 60
 acctgtccg tctctggatt ctcactcagt aatgttagaa tgggtgtgag ctggatccgt 120
 cagtccccag ggaaggccct ggagtggctt gcacacattt tttcgaatga cgaaaaatcc 180
 tacaccacat ctctgaagac caggctcacc atctccaagg acacctccag aagccagggtg 240
 gtccttacca tgaccgacat ggaccctggg gacacagcca catattactg tgcacggata 300
 cggaatttgg cctttaatta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 308

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 308

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Thr Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Val
 20 25 30

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

<210> 309

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 309

ggattctcac tcagtaatgt tagaatgggt

30

<210> 310

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 310

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Val Arg Met Gly

1 5 10

<210> 311

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 311

atTTTTtcga atgacgaaaa a

21

<210> 312

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

[0078]

[0079]

<400> 312
 Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys
 1 5
 <210> 313
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 313
 gcacggatac ggaatttggc ctttaattac 30
 <210> 314
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 314
 Ala Arg Ile Arg Asn Leu Ala Phe Asn Tyr
 1 5 10
 <210> 315
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 315
 gacttcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
 atcaactgca agtccagcca gagtgtgtta cacaggtcca gcaataagaa ctacttagct 120
 tggatcagc agaagccagg acagcctcct aacctgctca ttactgggc atctaccgg 180
 gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagatit cactctcacc 240
 atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatggtact 300
 ctatttactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatcaaa 339
 <210> 316
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成
 <400> 316
 Asp Phe Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu His Arg
 20 25 30

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

<210> 317

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 317

cagagtgtgt tacacaggtc cagcaataag aactac

36

<210> 318

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 318

Gln Ser Val Leu His Arg Ser Ser Asn Lys Asn Tyr

1

5

10

<210> 319

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 319

tgggcatct

9

<210> 320

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 320

[0080]

	Trp Ala Ser	
	1	
	<210> 321	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 321	
	cagcaatatt atgtactct atttact	27
	<210> 322	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成	
	<400> 322	
	Gln Gln Tyr Tyr Gly Thr Leu Phe Thr	
	1 5	
	<210> 323	
	<211> 537	
	<212> PRT	
[0081]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> hST2-hFc	
	<400> 323	
	Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val	
	1 5 10 15	
	Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr	
	20 25 30	
	Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe	
	35 40 45	
	Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser	
	50 55 60	
	Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly	
	65 70 75 80	
	Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro	
	85 90 95	
	Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys	
	100 105 110	
	Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu	
	115 120 125	
	Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His	
	130 135 140	

[0082]

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

	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
				500					505					510		
	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
			515					520					525			
	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys							
			530					535								
	<210>		324													
	<211>		543													
	<212>		PRT													
	<213>		人工序列													
	<220>															
	<223>		hST2-mFc													
	<400>		324													
	Lys	Phe	Ser	Lys	Gln	Ser	Trp	Gly	Leu	Glu	Asn	Glu	Ala	Leu	Ile	Val
	1			5				10						15		
	Arg	Cys	Pro	Arg	Gln	Gly	Lys	Pro	Ser	Tyr	Thr	Val	Asp	Trp	Tyr	Tyr
				20				25					30			
	Ser	Gln	Thr	Asn	Lys	Ser	Ile	Pro	Thr	Gln	Glu	Arg	Asn	Arg	Val	Phe
			35				40						45			
	Ala	Ser	Gly	Gln	Leu	Leu	Lys	Phe	Leu	Pro	Ala	Ala	Val	Ala	Asp	Ser
			50				55						60			
[0083]	Gly	Ile	Tyr	Thr	Cys	Ile	Val	Arg	Ser	Pro	Thr	Phe	Asn	Arg	Thr	Gly
	65				70				75					80		
	Tyr	Ala	Asn	Val	Thr	Ile	Tyr	Lys	Lys	Gln	Ser	Asp	Cys	Asn	Val	Pro
				85					90					95		
	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ser	Thr	Val	Ser	Gly	Ser	Glu	Lys	Asn	Ser	Lys
			100					105						110		
	Ile	Tyr	Cys	Pro	Thr	Ile	Asp	Leu	Tyr	Asn	Trp	Thr	Ala	Pro	Leu	Glu
			115					120						125		
	Trp	Phe	Lys	Asn	Cys	Gln	Ala	Leu	Gln	Gly	Ser	Arg	Tyr	Arg	Ala	His
			130				135						140			
	Lys	Ser	Phe	Leu	Val	Ile	Asp	Asn	Val	Met	Thr	Glu	Asp	Ala	Gly	Asp
	145				150					155					160	
	Tyr	Thr	Cys	Lys	Phe	Ile	His	Asn	Glu	Asn	Gly	Ala	Asn	Tyr	Ser	Val
				165					170					175		
	Thr	Ala	Thr	Arg	Ser	Phe	Thr	Val	Lys	Asp	Glu	Gln	Gly	Phe	Ser	Leu
				180					185					190		
	Phe	Pro	Val	Ile	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asn	Glu	Ile	Lys	Glu	Val	Glu
			195					200						205		
	Ile	Gly	Lys	Asn	Ala	Asn	Leu	Thr	Cys	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Lys	Gly
			210				215						220			
	Thr	Gln	Phe	Leu	Ala	Ala	Val	Leu	Trp	Gln	Leu	Asn	Gly	Thr	Lys	Ile
	225				230					235					240	
	Thr	Asp	Phe	Gly	Glu	Pro	Arg	Ile	Gln	Gln	Glu	Glu	Gly	Gln	Asn	Gln

	245	250	255
	Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile Ala		
	260	265	270
	Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala Leu		
	275	280	285
	Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys Asn		
	290	295	300
	Pro Ile Asp His His Ser Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys		
	305	310	315
	Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		
	325	330	335
	Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser		
	340	345	350
	Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp		
	355	360	365
	Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln		
	370	375	380
	Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser		
	385	390	395
	Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys		
	405	410	415
[0084]	Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile		
	420	425	430
	Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro		
	435	440	445
	Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met		
	450	455	460
	Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn		
	465	470	475
	Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser		
	485	490	495
	Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn		
	500	505	510
	Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu		
	515	520	525
	His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys		
	530	535	540
	<210> 325		
	<211> 884		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> hST2-hIL1RAcP-mFc		
	<400> 325		

[0085]

Lys	Phe	Ser	Lys	Gln	Ser	Trp	Gly	Leu	Glu	Asn	Glu	Ala	Leu	Ile	Val
1				5					10					15	
Arg	Cys	Pro	Arg	Gln	Gly	Lys	Pro	Ser	Tyr	Thr	Val	Asp	Trp	Tyr	Tyr
			20					25					30		
Ser	Gln	Thr	Asn	Lys	Ser	Ile	Pro	Thr	Gln	Glu	Arg	Asn	Arg	Val	Phe
		35					40					45			
Ala	Ser	Gly	Gln	Leu	Leu	Lys	Phe	Leu	Pro	Ala	Ala	Val	Ala	Asp	Ser
	50					55					60				
Gly	Ile	Tyr	Thr	Cys	Ile	Val	Arg	Ser	Pro	Thr	Phe	Asn	Arg	Thr	Gly
65					70					75				80	
Tyr	Ala	Asn	Val	Thr	Ile	Tyr	Lys	Lys	Gln	Ser	Asp	Cys	Asn	Val	Pro
				85					90					95	
Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ser	Thr	Val	Ser	Gly	Ser	Glu	Lys	Asn	Ser	Lys
		100						105					110		
Ile	Tyr	Cys	Pro	Thr	Ile	Asp	Leu	Tyr	Asn	Trp	Thr	Ala	Pro	Leu	Glu
	115					120						125			
Trp	Phe	Lys	Asn	Cys	Gln	Ala	Leu	Gln	Gly	Ser	Arg	Tyr	Arg	Ala	His
	130					135					140				
Lys	Ser	Phe	Leu	Val	Ile	Asp	Asn	Val	Met	Thr	Glu	Asp	Ala	Gly	Asp
145					150					155				160	
Tyr	Thr	Cys	Lys	Phe	Ile	His	Asn	Glu	Asn	Gly	Ala	Asn	Tyr	Ser	Val
				165						170				175	
Thr	Ala	Thr	Arg	Ser	Phe	Thr	Val	Lys	Asp	Glu	Gln	Gly	Phe	Ser	Leu
		180						185					190		
Phe	Pro	Val	Ile	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asn	Glu	Ile	Lys	Glu	Val	Glu
		195					200					205			
Ile	Gly	Lys	Asn	Ala	Asn	Leu	Thr	Cys	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Lys	Gly
	210					215					220				
Thr	Gln	Phe	Leu	Ala	Ala	Val	Leu	Trp	Gln	Leu	Asn	Gly	Thr	Lys	Ile
225				230						235				240	
Thr	Asp	Phe	Gly	Glu	Pro	Arg	Ile	Gln	Gln	Glu	Glu	Gly	Gln	Asn	Gln
			245						250					255	
Ser	Phe	Ser	Asn	Gly	Leu	Ala	Cys	Leu	Asp	Met	Val	Leu	Arg	Ile	Ala
			260						265				270		
Asp	Val	Lys	Glu	Glu	Asp	Leu	Leu	Leu	Gln	Tyr	Asp	Cys	Leu	Ala	Leu
	275					280						285			
Asn	Leu	His	Gly	Leu	Arg	Arg	His	Thr	Val	Arg	Leu	Ser	Arg	Lys	Asn
	290					295						300			
Pro	Ile	Asp	His	His	Ser	Ser	Glu	Arg	Cys	Asp	Asp	Trp	Gly	Leu	Asp
305				310						315				320	
Thr	Met	Arg	Gln	Ile	Gln	Val	Phe	Glu	Asp	Glu	Pro	Ala	Arg	Ile	Lys
			325						330					335	
Cys	Pro	Leu	Phe	Glu	His	Phe	Leu	Lys	Phe	Asn	Tyr	Ser	Thr	Ala	His
			340						345					350	

[0086]

Ser Ala Gly Leu Thr Leu Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp		
355	360	365
Leu Glu Glu Pro Ile Asn Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys		
370	375	380
Glu Lys Asp Val Leu Trp Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly		
385	390	395
Asn Tyr Thr Cys Met Leu Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala		
405	410	415
Phe Pro Leu Glu Val Val Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met		
420	425	430
Lys Leu Pro Val His Lys Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile		
435	440	445
Thr Cys Pro Asn Val Asp Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr		
450	455	460
Ile Thr Trp Tyr Met Gly Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val		
465	470	475
Ile Pro Glu Gly Met Asn Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn		
485	490	495
Asn Gly Asn Tyr Thr Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr		
500	505	510
Phe His Leu Thr Arg Thr Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys		
515	520	525
Asn Ala Val Pro Pro Val Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr		
530	535	540
Glu Lys Glu Pro Gly Glu Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe		
545	550	555
Ser Phe Leu Met Asp Ser Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly		
565	570	575
Lys Lys Pro Asp Asp Ile Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile		
580	585	590
Ser His Ser Arg Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile		
595	600	605
Lys Lys Val Thr Ser Glu Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala		
610	615	620
Arg Ser Ala Lys Gly Glu Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys		
625	630	635
Val Pro Ala Pro Arg Tyr Thr Val Glu Ser Gly Glu Pro Arg Gly Pro		
645	650	655
Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu		
660	665	670
Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu		
675	680	685
Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
690	695	700

[0087]

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

				100					105					110			
	Cys	Pro	Thr	Ile	Asp	Leu	Tyr	Asn	Trp	Thr	Ala	Pro	Val	Gln	Trp	Phe	
				115					120					125			
	Lys	Asn	Cys	Lys	Ala	Leu	Gln	Glu	Pro	Arg	Phe	Arg	Ala	His	Arg	Ser	
				130					135					140			
	Tyr	Leu	Phe	Ile	Asp	Asn	Val	Thr	His	Asp	Asp	Glu	Gly	Asp	Tyr	Thr	
	145					150					155					160	
	Cys	Gln	Phe	Thr	His	Ala	Glu	Asn	Gly	Thr	Asn	Tyr	Ile	Val	Thr	Ala	
						165					170					175	
	Thr	Arg	Ser	Phe	Thr	Val	Glu	Glu	Lys	Gly	Phe	Ser	Met	Phe	Pro	Val	
				180						185					190		
	Ile	Thr	Asn	Pro	Pro	Tyr	Asn	His	Thr	Met	Glu	Val	Glu	Ile	Gly	Lys	
				195					200					205			
	Pro	Ala	Ser	Ile	Ala	Cys	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Lys	Gly	Ser	His	Phe	
				210					215					220			
	Leu	Ala	Asp	Val	Leu	Trp	Gln	Ile	Asn	Lys	Thr	Val	Val	Gly	Asn	Phe	
	225					230					235					240	
	Gly	Glu	Ala	Arg	Ile	Gln	Glu	Glu	Glu	Gly	Arg	Asn	Glu	Ser	Ser	Ser	
						245					250					255	
	Asn	Asp	Met	Asp	Cys	Leu	Thr	Ser	Val	Leu	Arg	Ile	Thr	Gly	Val	Thr	
				260						265						270	
[0088]	Glu	Lys	Asp	Leu	Ser	Leu	Glu	Tyr	Asp	Cys	Leu	Ala	Leu	Asn	Leu	His	
				275						280					285		
	Gly	Met	Ile	Arg	His	Thr	Ile	Arg	Leu	Arg	Arg	Lys	Gln	Pro	Ile	Asp	
				290					295					300			
	His	Arg	Ser	Glu	Arg	Cys	Asp	Asp	Trp	Gly	Leu	Asp	Thr	Met	Arg	Gln	
	305					310					315					320	
	Ile	Gln	Val	Phe	Glu	Asp	Glu	Pro	Ala	Arg	Ile	Lys	Cys	Pro	Leu	Phe	
						325					330					335	
	Glu	His	Phe	Leu	Lys	Tyr	Asn	Tyr	Ser	Thr	Ala	His	Ser	Ser	Gly	Leu	
				340						345					350		
	Thr	Leu	Ile	Trp	Tyr	Trp	Thr	Arg	Gln	Asp	Arg	Asp	Leu	Glu	Glu	Pro	
				355					360					365			
	Ile	Asn	Phe	Arg	Leu	Pro	Glu	Asn	Arg	Ile	Ser	Lys	Glu	Lys	Asp	Val	
				370					375				380				
	Leu	Trp	Phe	Arg	Pro	Thr	Leu	Leu	Asn	Asp	Thr	Gly	Asn	Tyr	Thr	Cys	
	385					390					395					400	
	Met	Leu	Arg	Asn	Thr	Thr	Tyr	Cys	Ser	Lys	Val	Ala	Phe	Pro	Leu	Glu	
						405					410					415	
	Val	Val	Gln	Lys	Asp	Ser	Cys	Phe	Asn	Ser	Ala	Met	Arg	Phe	Pro	Val	
				420						425				430			
	His	Lys	Met	Tyr	Ile	Glu	His	Gly	Ile	His	Lys	Ile	Thr	Cys	Pro	Asn	
				435					440					445			
	Val	Asp	Gly	Tyr	Phe	Pro	Ser	Ser	Val	Lys	Pro	Ser	Val	Thr	Trp	Tyr	

[0089]

450	455	460
Lys Gly Cys Thr Glu Ile Val Asp Phe His Asn Val Leu Pro Glu Gly		
465	470	475
Met Asn Leu Ser Phe Phe Ile Pro Leu Val Ser Asn Asn Gly Asn Tyr		
485	490	495
Thr Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Leu Phe His Leu Thr		
500	505	510
Arg Thr Val Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asp Ala Leu Pro		
515	520	525
Pro Gln Ile Tyr Ser Pro Asn Asp Arg Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro		
530	535	540
Gly Glu Glu Leu Val Ile Pro Cys Lys Val Tyr Phe Ser Phe Ile Met		
545	550	555
Asp Ser His Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp		
565	570	575
Asp Val Thr Val Asp Ile Thr Ile Asn Glu Ser Val Ser Tyr Ser Ser		
580	585	590
Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr		
595	600	605
Pro Glu Asp Leu Arg Arg Asn Tyr Val Cys His Ala Arg Asn Thr Lys		
610	615	620
Gly Glu Ala Glu Gln Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Ile Pro Pro		
625	630	635
Arg Tyr Thr Val Glu Ser Gly Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro		
645	650	655
Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser		
660	665	670
Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu		
675	680	685
Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro		
690	695	700
Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala		
705	710	715
Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val		
725	730	735
Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe		
740	745	750
Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr		
755	760	765
Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu		
770	775	780
Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys		
785	790	795
Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn		800

	805	810	815
Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp			
820	825	830	
Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys			
835	840	845	
Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly			
850	855	860	
Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys			
865	870	875	880
<210> 327			
<211> 876			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> hST2-hL1RAcP-hFc			
<400> 327			
Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val			
1	5	10	15
Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr			
20	25	30	
Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe			
35	40	45	
Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser			
50	55	60	
Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly			
65	70	75	80
Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro			
85	90	95	
Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys			
100	105	110	
Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu			
115	120	125	
Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His			
130	135	140	
Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp			
145	150	155	160
Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val			
165	170	175	
Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser Leu			
180	185	190	
Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val Glu			
195	200	205	
Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly			
210	215	220	

[0090]

[0091]

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

Lys	Lys	Pro	Asp	Asp	Ile	Thr	Ile	Asp	Val	Thr	Ile	Asn	Glu	Ser	Ile	
580				585				590								
Ser	His	Ser	Arg	Thr	Glu	Asp	Glu	Thr	Arg	Thr	Gln	Ile	Leu	Ser	Ile	
595				600				605								
Lys	Lys	Val	Thr	Ser	Glu	Asp	Leu	Lys	Arg	Ser	Tyr	Val	Cys	His	Ala	
610				615				620								
Arg	Ser	Ala	Lys	Gly	Glu	Val	Ala	Lys	Ala	Ala	Lys	Val	Lys	Gln	Lys	
625				630				635				640				
Val	Pro	Ala	Pro	Arg	Tyr	Thr	Val	Glu	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	
645				650				655								
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	
660				665				670								
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	
675				680				685								
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	
690				695				700								
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	
705				710				715				720				
Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	
725				730				735								
Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	
740				745				750								
Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	
755				760				765								
Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	
770				775				780								
Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	
785				790				795				800				
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	
805				810				815								
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	
820				825				830								
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	
835				840				845								
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	
850				855				860								
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys					
865				870				875								
<210> 328																
<211> 310																
<212> PRT																
<213> 人工序列																
<220>																
<223> 人类 ST2 细胞外结构域																

<400> 328
 Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val
 1 5 10 15
 Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr
 20 25 30
 Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe
 35 40 45
 Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser
 50 55 60
 Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly
 65 70 75 80
 Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro
 85 90 95
 Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys
 100 105 110
 Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu
 115 120 125
 Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His
 130 135 140
 Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp
 145 150 155 160
 Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val
 [0093] 165 170 175
 Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser Leu
 180 185 190
 Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val Glu
 195 200 205
 Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly
 210 215 220
 Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr Lys Ile
 225 230 235 240
 Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln Asn Gln
 245 250 255
 Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile Ala
 260 265 270
 Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala Leu
 275 280 285
 Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys Asn
 290 295 300
 Pro Ile Asp His His Ser
 305 310
 <210> 329
 <211> 306
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠 ST2 细胞外结构域

<400> 329

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

[0094]

<210> 330
 <211> 339
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人类 IL1RAcP 细胞外结构域
 <400> 330
 Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln
 1 5 10 15
 Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His
 20 25 30
 Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala Gly Leu Thr Leu
 35 40 45
 Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro Ile Asn
 50 55 60
 Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val Leu Trp
 65 70 75 80
 Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu
 85 90 95
 Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val
 100 105 110
 Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu Pro Val His Lys
 115 120 125
 Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp
 130 135 140
 Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr Trp Tyr Met Gly
 145 150 155 160
 Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro Glu Gly Met Asn
 165 170 175
 Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys
 180 185 190
 Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His Leu Thr Arg Thr
 195 200 205
 Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala Val Pro Pro Val
 210 215 220
 Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
 225 230 235 240
 Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe Leu Met Asp Ser
 245 250 255
 Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Ile
 260 265 270
 Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His Ser Arg Thr Glu
 275 280 285
 Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Ser Glu

[0095]

290 295 300
 Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly Glu
 305 310 315 320
 Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro Ala Pro Arg Tyr
 325 330 335
 Thr Val Glu

 <210> 331
 <211> 339
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 小鼠 IL1RAcP 细胞外结构域
 <400> 331
 Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln
 1 5 10 15
 Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His
 20 25 30
 Phe Leu Lys Tyr Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ser Gly Leu Thr Leu
 35 40 45
 Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro Ile Asn
 50 55 60
 Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val Leu Trp
 65 70 75 80
 Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu
 85 90 95
 Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val
 100 105 110
 Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Ala Met Arg Phe Pro Val His Lys
 115 120 125
 Met Tyr Ile Glu His Gly Ile His Lys Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp
 130 135 140
 Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Ser Val Thr Trp Tyr Lys Gly
 145 150 155 160
 Cys Thr Glu Ile Val Asp Phe His Asn Val Leu Pro Glu Gly Met Asn
 165 170 175
 Leu Ser Phe Phe Ile Pro Leu Val Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys
 180 185 190
 Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Leu Phe His Leu Thr Arg Thr
 195 200 205
 Val Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asp Ala Leu Pro Pro Gln
 210 215 220
 Ile Tyr Ser Pro Asn Asp Arg Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
 225 230 235 240

Glu Leu Val Ile Pro Cys Lys Val Tyr Phe Ser Phe Ile Met Asp Ser
 245 250 255
 His Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Val
 260 265 270
 Thr Val Asp Ile Thr Ile Asn Glu Ser Val Ser Tyr Ser Ser Thr Glu
 275 280 285
 Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Pro Glu
 290 295 300
 Asp Leu Arg Arg Asn Tyr Val Cys His Ala Arg Asn Thr Lys Gly Glu
 305 310 315 320
 Ala Glu Gln Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Ile Pro Pro Arg Tyr
 325 330 335
 Thr Val Glu

<210> 332

<211> 227

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人类 IgG1 Fc

<400> 332

[0097]

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

	180	185	190
	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
	195	200	205
	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
	210	215	220
	Pro Gly Lys		
	225		
	<210> 333		
	<211> 233		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 小鼠 IgG2a Fc		
	<400> 333		
	Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro		
	1	5	10
	Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys		
	20	25	30
	Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val		
	35	40	45
	Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe		
	50	55	60
[0098]	Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu		
	65	70	75
	Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His		
	85	90	95
	Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys		
	100	105	110
	Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser		
	115	120	125
	Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met		
	130	135	140
	Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro		
	145	150	155
	Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn		
	165	170	175
	Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met		
	180	185	190
	Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser		
	195	200	205
	Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr		
	210	215	220
	Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys		
	225	230	

<210> 334
 <211> 167
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 食蟹猴 IL-33-6His
 <400> 334
 Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Ser Leu Ala Ser Leu Ser
 1 5 10 15
 Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr
 20 25 30
 Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Lys Lys Lys Asp Lys Val
 35 40 45
 Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Ser Glu Ser Gly Asp
 50 55 60
 Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp
 65 70 75 80
 Phe Trp Leu Gln Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys
 85 90 95
 Cys Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Arg
 100 105 110
 [0099] Ser Phe Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe
 115 120 125
 Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Tyr Ser
 130 135 140
 Glu Asn Leu Gly Ser Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Ile Leu
 145 150 155 160
 Glu His His His His His His
 165
 <210> 335
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> HCVR-小鼠代用 IL-4R Ab
 <400> 335
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Arg Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Asn Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Pro Asn Asn Gly Asp Asn Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Glu	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Gly	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Arg	Asp	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	Thr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
	35						40					45			
Ser	Ser	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
50						55				60					

	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
	65					70				75					80	
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95		
	Ala	Lys	Asp	Arg	Leu	Ser	Ile	Thr	Ile	Arg	Pro	Arg	Tyr	Tyr	Gly	Leu
				100					105					110		
	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser				
		115						120								
	<210>	338														
	<211>	112														
	<212>	PRT														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<223>	杜匹鲁单抗 LCVR														
	<400>	338														
	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly
	1				5				10					15		
	Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Tyr	Ser
				20					25					30		
	Ile	Gly	Tyr	Asn	Tyr	Leu	Asp	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Ser	Gly	Gln	Ser
				35				40					45			
[0101]	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Gly	Ser	Asn	Arg	Ala	Ser	Gly	Val	Pro
		50				55						60				
	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
	65				70					75					80	
	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Phe	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Ala
					85					90				95		
	Leu	Gln	Thr	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
				100					105					110		
	<210>	339														
	<211>	8														
	<212>	PRT														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<223>	杜匹鲁单抗 HCDR1														
	<400>	339														
	Gly	Phe	Thr	Phe	Arg	Asp	Tyr	Ala								
	1				5											
	<210>	340														
	<211>	8														
	<212>	PRT														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<223>	杜匹鲁单抗 HCDR2														

<400> 340
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr
1 5
<210> 341
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 杜匹鲁单抗 HCDR3
<400> 341
Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
1 5 10 15
Asp Val

<210> 342
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 杜匹鲁单抗 LCDR1
<400> 342
[0102] Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ile Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10
<210> 343
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 杜匹鲁单抗 LCDR2
<400> 343
Leu Gly Ser
1
<210> 344
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 杜匹鲁单抗 LCDR3
<400> 344
Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 345
<211> 451
<212> PRT

<213> 人工序列
 <220>
 <223> 杜匹鲁单抗重链
 <400> 345
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Glu Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 115 120 125
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
 130 135 140
 Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 145 150 155 160
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 165 170 175
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 180 185 190
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys
 195 200 205
 Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
 210 215 220
 Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320

[0103]

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Leu Gly
 450
 <210> 346
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 杜匹鲁单抗轻链
 <400> 346
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
 Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ser Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Phe Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

[0104]

145	150	155	160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser			
	165	170	175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu			
	180	185	190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser			
	195	200	205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
210	215		
<210> 347			
<211> 207			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人类 IL-4R α			
<400> 347			
Met Lys Val Leu Gln Glu Pro Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile			
1	5	10	15
Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met Asn Gly Pro Thr Asn Cys Ser Thr Glu			
	20	25	30
Leu Arg Leu Leu Tyr Gln Leu Val Phe Leu Leu Ser Glu Ala His Thr			
	35	40	45
Cys Ile Pro Glu Asn Asn Gly Gly Ala Gly Cys Val Cys His Leu Leu			
50	55	60	
Met Asp Asp Val Val Ser Ala Asp Asn Tyr Thr Leu Asp Leu Trp Ala			
65	70	75	80
Gly Gln Gln Leu Leu Trp Lys Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val			
	85	90	95
Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp			
	100	105	110
Thr Leu Leu Leu Thr Trp Ser Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu			
	115	120	125
Tyr Asn His Leu Thr Tyr Ala Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro			
130	135	140	
Ala Asp Phe Arg Ile Tyr Asn Val Thr Tyr Leu Glu Pro Ser Leu Arg			
145	150	155	160
Ile Ala Ala Ser Thr Leu Lys Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val			
	165	170	175
Arg Ala Trp Ala Gln Cys Tyr Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro			
	180	185	190
Ser Thr Lys Trp His Asn Ser Tyr Arg Glu Pro Phe Glu Gln His			
	195	200	205
<210> 348			
<211> 270			

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> hIL33_095760 (在蛋白质分解处理的前)
<400> 348
Met Lys Pro Lys Met Lys Tyr Ser Thr Asn Lys Ile Ser Thr Ala Lys
1 5 10 15
Trp Lys Asn Thr Ala Ser Lys Ala Leu Cys Phe Lys Leu Gly Lys Ser
20 25 30
Gln Gln Lys Ala Lys Glu Val Cys Pro Met Tyr Phe Met Lys Leu Arg
35 40 45
Ser Gly Leu Met Ile Lys Lys Glu Ala Cys Tyr Phe Arg Arg Glu Thr
50 55 60
Thr Lys Arg Pro Ser Leu Lys Thr Gly Arg Lys His Lys Arg His Leu
65 70 75 80
Val Leu Ala Ala Cys Gln Gln Gln Ser Thr Val Glu Cys Phe Ala Phe
85 90 95
Gly Ile Ser Gly Val Gln Lys Tyr Thr Arg Ala Leu His Asp Ser Ser
100 105 110
Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Thr
115 120 125
Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr Glu
130 135 140
Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys Val Leu
145 150 155 160
Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly Asp Gly
165 170 175
Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp Phe
180 185 190
Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys Cys
195 200 205
Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Met His
210 215 220
Ser Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe Ile
225 230 235 240
Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser Ser Glu
245 250 255
Asn Leu Cys Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr
260 265 270
<210> 349
<211> 159
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

hIL33_成熟_肽(在蛋白质分解处理的后)

<400> 349

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

[0107]

<210> 350

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> SEQ ID NO: 349 的氨基酸残基 1-12; 也对应于 SEQ ID NO: 348
(Uniprot 095760)的残基 112-123

<400> 350

Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu
1 5 10

<210> 351

<211> 87

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> SEQ ID NO: 349 的氨基酸残基 50-94; 也对应于 SEQ ID NO: 348
(Uniprot 095760)的残基 161-205

<400> 351

Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile

[0108]

```

      1           5           10           15
Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu
      20           25           30
Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys Val Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser
      35           40           45
Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly Asp Gly Val Asp Gly Lys Met Leu
      50           55           60
Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp Phe Trp Leu His Ala Asn Asn
      65           70           75           80
Lys Glu His Ser Val Glu Leu
      85
<210> 352
<211> 556
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人类 ST2 (参见 GenBank 登录号 NP_057316)
<400> 352
Met Gly Phe Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Met Tyr Ser Thr
      1           5           10           15
Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu
      20           25           30
Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp
      35           40           45
Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg
      50           55           60
Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala
      65           70           75           80
Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg
      85           90           95
Thr Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn
      100          105          110
Val Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn
      115          120          125
Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro
      130          135          140
Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg
      145          150          155          160
Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala
      165          170          175
Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr
      180          185          190
Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe
      195          200          205

```

[0109]

```

Ser Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu
 210                      215                      220
Val Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly
 225                      230                      235                      240
Lys Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr
                      245                      250                      255
Lys Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln
                      260                      265                      270
Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg
                      275                      280                      285
Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu
                      290                      295                      300
Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg
 305                      310                      315                      320
Lys Asn Pro Ile Asp His His Ser Ile Tyr Cys Ile Ile Ala Val Cys
                      325                      330                      335
Ser Val Phe Leu Met Leu Ile Asn Val Leu Val Ile Ile Leu Lys Met
                      340                      345                      350
Phe Trp Ile Glu Ala Thr Leu Leu Trp Arg Asp Ile Ala Lys Pro Tyr
                      355                      360                      365
Lys Thr Arg Asn Asp Gly Lys Leu Tyr Asp Ala Tyr Val Val Tyr Pro
                      370                      375                      380
Arg Asn Tyr Lys Ser Ser Thr Asp Gly Ala Ser Arg Val Glu His Phe
 385                      390                      395                      400
Val His Gln Ile Leu Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Cys Gly Tyr Thr
                      405                      410                      415
Leu Cys Ile Tyr Gly Arg Asp Met Leu Pro Gly Glu Asp Val Val Thr
                      420                      425                      430
Ala Val Glu Thr Asn Ile Arg Lys Ser Arg Arg His Ile Phe Ile Leu
                      435                      440                      445
Thr Pro Gln Ile Thr His Asn Lys Glu Phe Ala Tyr Glu Gln Glu Val
                      450                      455                      460
Ala Leu His Cys Ala Leu Ile Gln Asn Asp Ala Lys Val Ile Leu Ile
 465                      470                      475                      480
Glu Met Glu Ala Leu Ser Glu Leu Asp Met Leu Gln Ala Glu Ala Leu
                      485                      490                      495
Gln Asp Ser Leu Gln His Leu Met Lys Val Gln Gly Thr Ile Lys Trp
                      500                      505                      510
Arg Glu Asp His Ile Ala Asn Lys Arg Ser Leu Asn Ser Lys Phe Trp
                      515                      520                      525
Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Ser Lys Ile Pro Arg Lys
                      530                      535                      540
Ala Ser Ser Leu Thr Pro Leu Ala Ala Gln Lys Gln
 545                      550                      555

```

<210> 353
 <211> 570
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人类 IL-1RAcP (参见 GenBank 登录号 Q9NPH3)

<400> 353
 Met Thr Leu Leu Trp Cys Val Val Ser Leu Tyr Phe Tyr Gly Ile Leu
 1 5 10 15
 Gln Ser Asp Ala Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met
 20 25 30
 Arg Gln Ile Gln Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro
 35 40 45
 Leu Phe Glu His Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala
 50 55 60
 Gly Leu Thr Leu Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu
 65 70 75 80
 Glu Pro Ile Asn Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys
 85 90 95
 Asp Val Leu Trp Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr
 100 105 110
 Thr Cys Met Leu Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro
 115 120 125
 Leu Glu Val Val Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu
 130 135 140
 Pro Val His Lys Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys
 145 150 155 160
 Pro Asn Val Asp Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr
 165 170 175
 Trp Tyr Met Gly Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro
 180 185 190
 Glu Gly Met Asn Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly
 195 200 205
 Asn Tyr Thr Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His
 210 215 220
 Leu Thr Arg Thr Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala
 225 230 235 240
 Val Pro Pro Val Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys
 245 250 255
 Glu Pro Gly Glu Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe
 260 265 270
 Leu Met Asp Ser Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys
 275 280 285

[0110]

[0111]

Pro Asp Asp Ile Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His
 290 295 300
 Ser Arg Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys
 305 310 315 320
 Val Thr Ser Glu Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser
 325 330 335
 Ala Lys Gly Glu Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro
 340 345 350
 Ala Pro Arg Tyr Thr Val Glu Leu Ala Cys Gly Phe Gly Ala Thr Val
 355 360 365
 Leu Leu Val Val Ile Leu Ile Val Val Tyr His Val Tyr Trp Leu Glu
 370 375 380
 Met Val Leu Phe Tyr Arg Ala His Phe Gly Thr Asp Glu Thr Ile Leu
 385 390 395 400
 Asp Gly Lys Glu Tyr Asp Ile Tyr Val Ser Tyr Ala Arg Asn Ala Glu
 405 410 415
 Glu Glu Glu Phe Val Leu Leu Thr Leu Arg Gly Val Leu Glu Asn Glu
 420 425 430
 Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Phe Asp Arg Asp Ser Leu Pro Gly Gly
 435 440 445
 Ile Val Thr Asp Glu Thr Leu Ser Phe Ile Gln Lys Ser Arg Arg Leu
 450 455 460
 Leu Val Val Leu Ser Pro Asn Tyr Val Leu Gln Gly Thr Gln Ala Leu
 465 470 475 480
 Leu Glu Leu Lys Ala Gly Leu Glu Asn Met Ala Ser Arg Gly Asn Ile
 485 490 495
 Asn Val Ile Leu Val Gln Tyr Lys Ala Val Lys Glu Thr Lys Val Lys
 500 505 510
 Glu Leu Lys Arg Ala Lys Thr Val Leu Thr Val Ile Lys Trp Lys Gly
 515 520 525
 Glu Lys Ser Lys Tyr Pro Gln Gly Arg Phe Trp Lys Gln Leu Gln Val
 530 535 540
 Ala Met Pro Val Lys Lys Ser Pro Arg Arg Ser Ser Ser Asp Glu Gln
 545 550 555 560
 Gly Leu Ser Tyr Ser Ser Leu Lys Asn Val
 565 570
 <210> 354
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> H4H9675P 的 HC
 <400> 354
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asn Leu Glu Gln Pro Gly Gly

[0112]

1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser			
20	25	30	
Ala Met Asn Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ser Ala Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Lys Asp Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Met Asp Val Trp			
100	105	110	
Gly His Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro			
115	120	125	
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr			
130	135	140	
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr			
145	150	155	160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro			
165	170	175	
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr			
180	185	190	
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp			
195	200	205	
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr			
210	215	220	
Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro			
225	230	235	240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser			
245	250	255	
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp			
260	265	270	
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn			
275	280	285	
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val			
290	295	300	
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
305	310	315	320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys			
325	330	335	
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
340	345	350	
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			

355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys		
405	410	415
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly		
435	440	445
Lys		

<210> 355

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> H4H9675P 的 LC

<400> 355

[0113]

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 356
 <211> 166
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 具有 HEXA-HIS 标签的人类 IL-33 (GENBANK 登录号 095760 的氨基酸 112-270)

<400> 356

Met Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu
 1 5 10 15
 Ser Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser
 20 25 30

[0114] Tyr Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys
 35 40 45
 Val Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly
 50 55 60
 Asp Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys
 65 70 75 80
 Asp Phe Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His
 85 90 95
 Lys Cys Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn
 100 105 110
 Met His Ser Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val
 115 120 125
 Phe Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser
 130 135 140
 Ser Glu Asn Leu Cys Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr
 145 150 155 160
 His His His His His His
 165

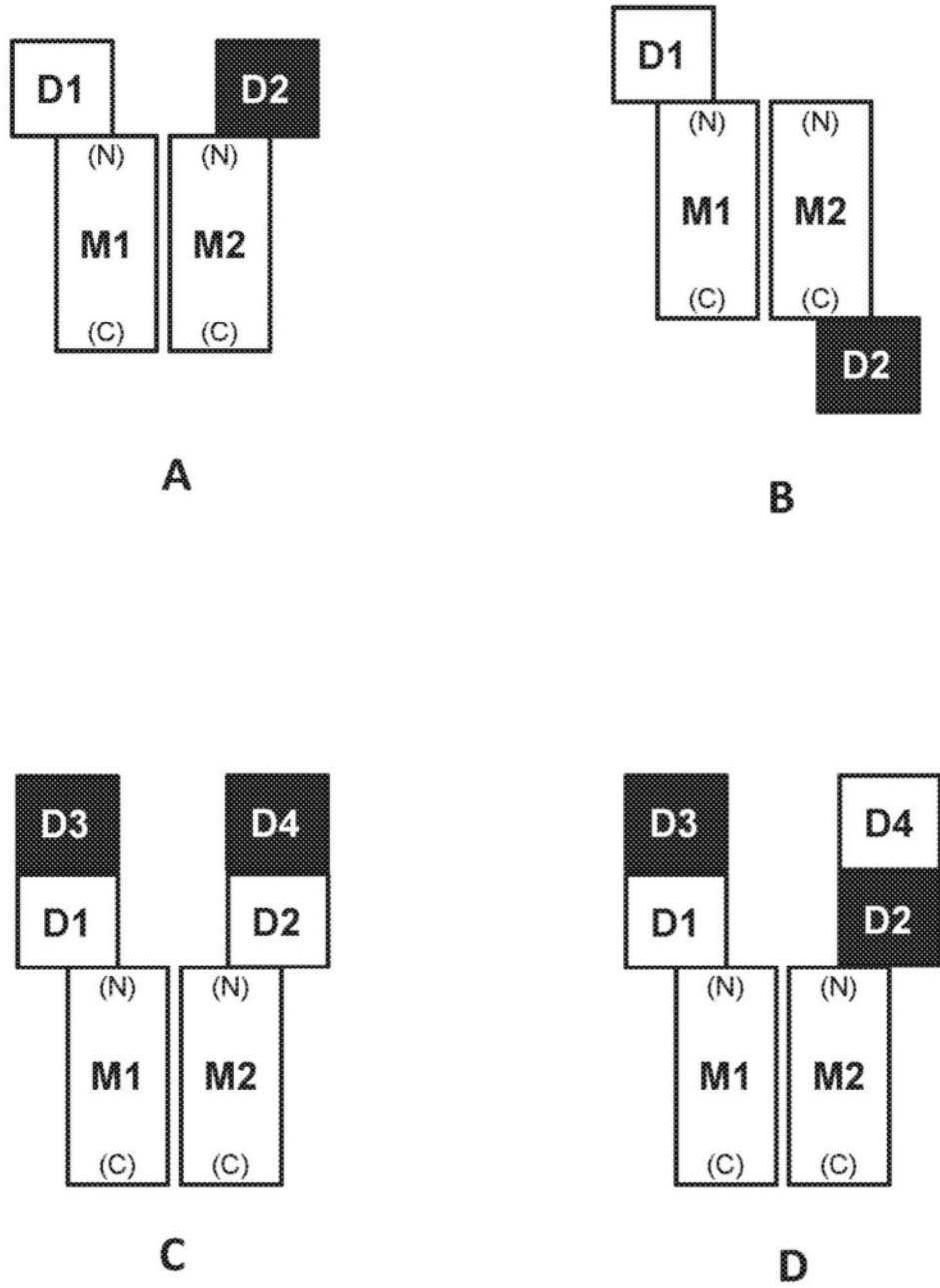


图1

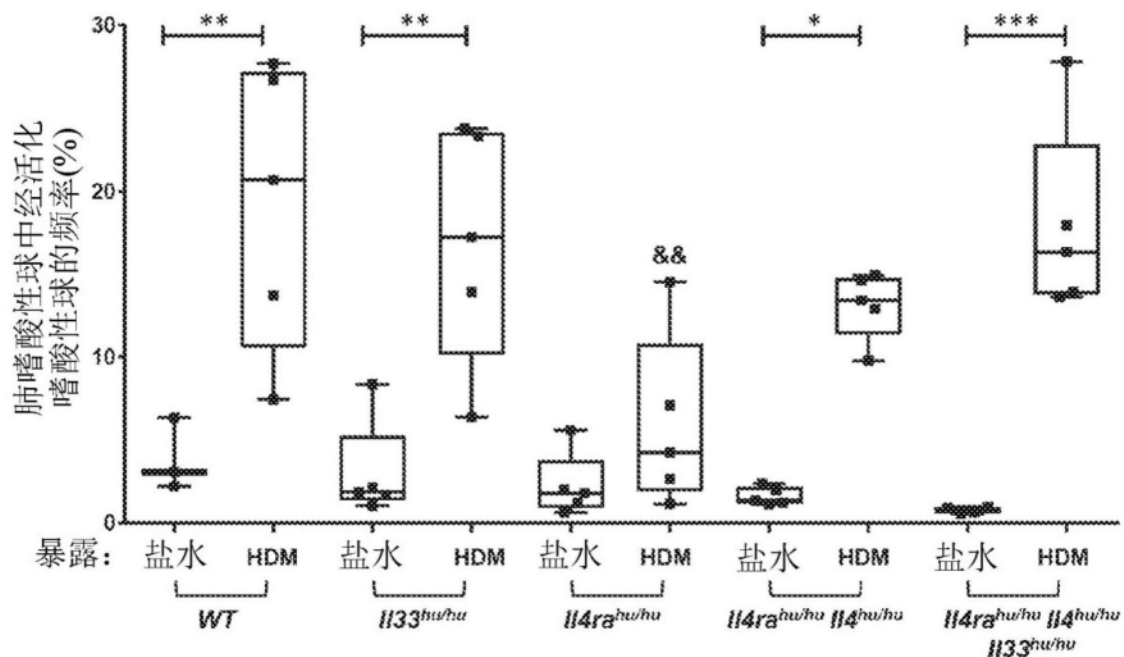


图2

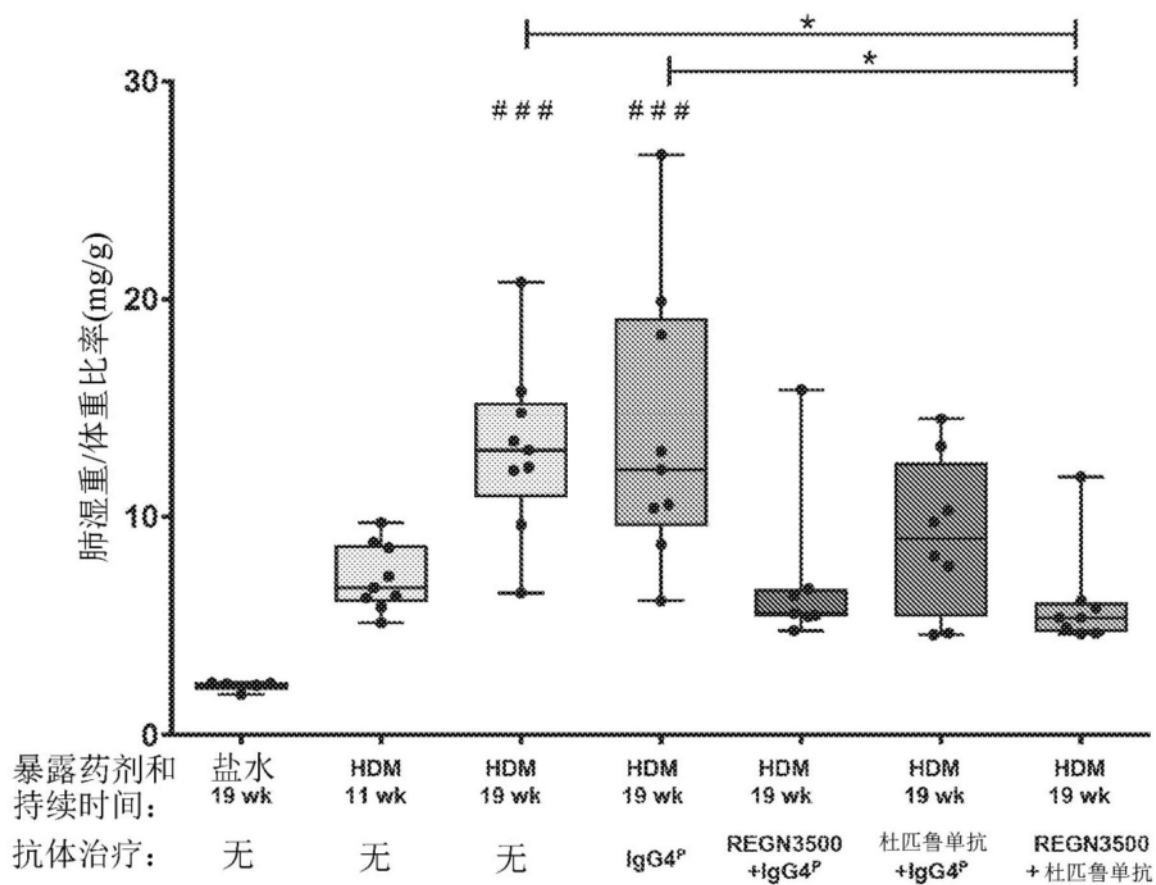


图3

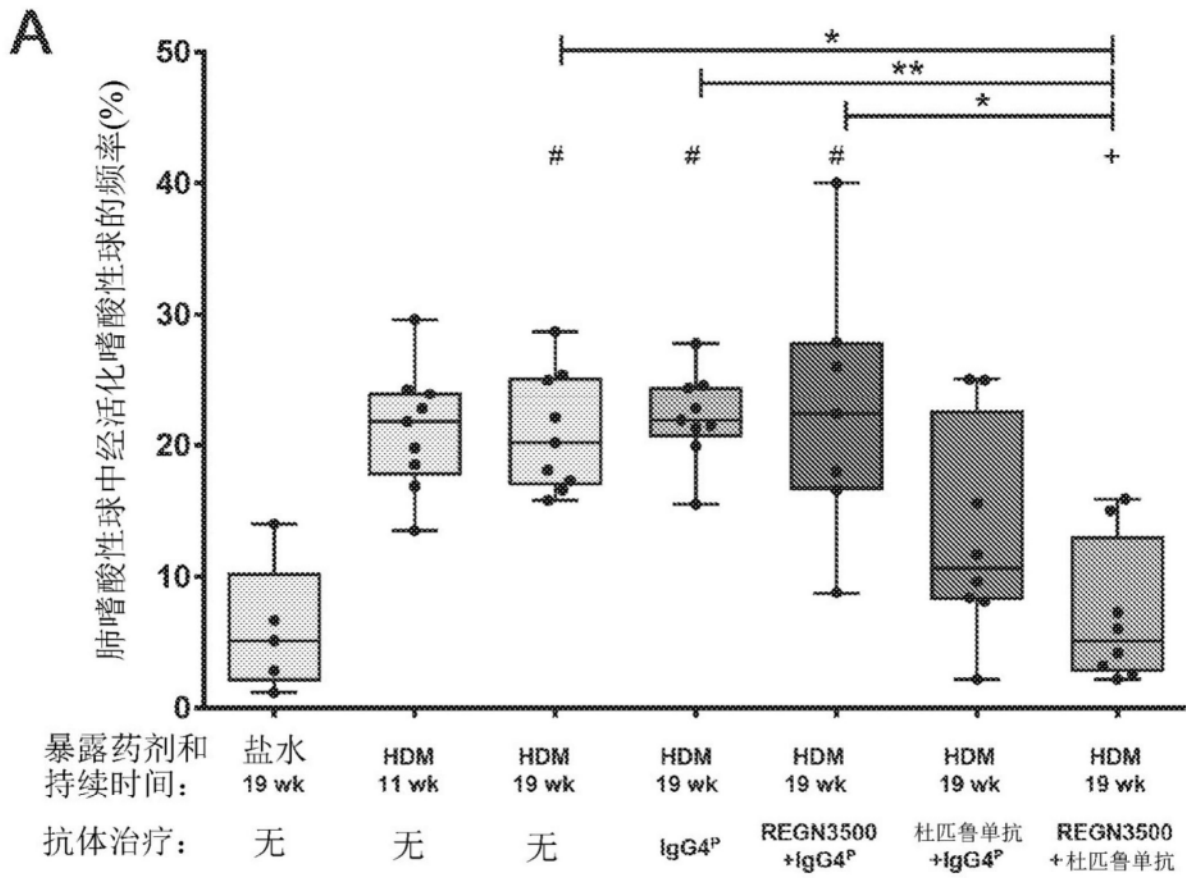


图4A

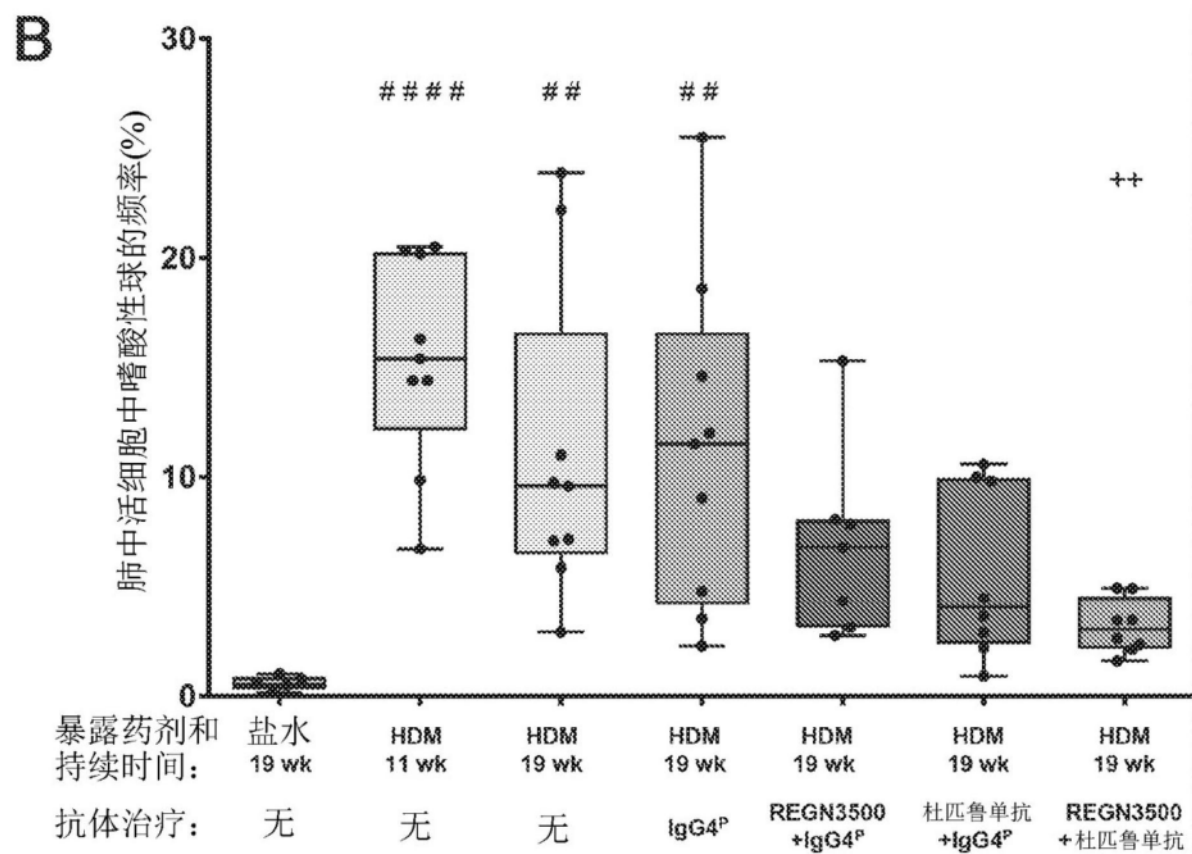


图4B

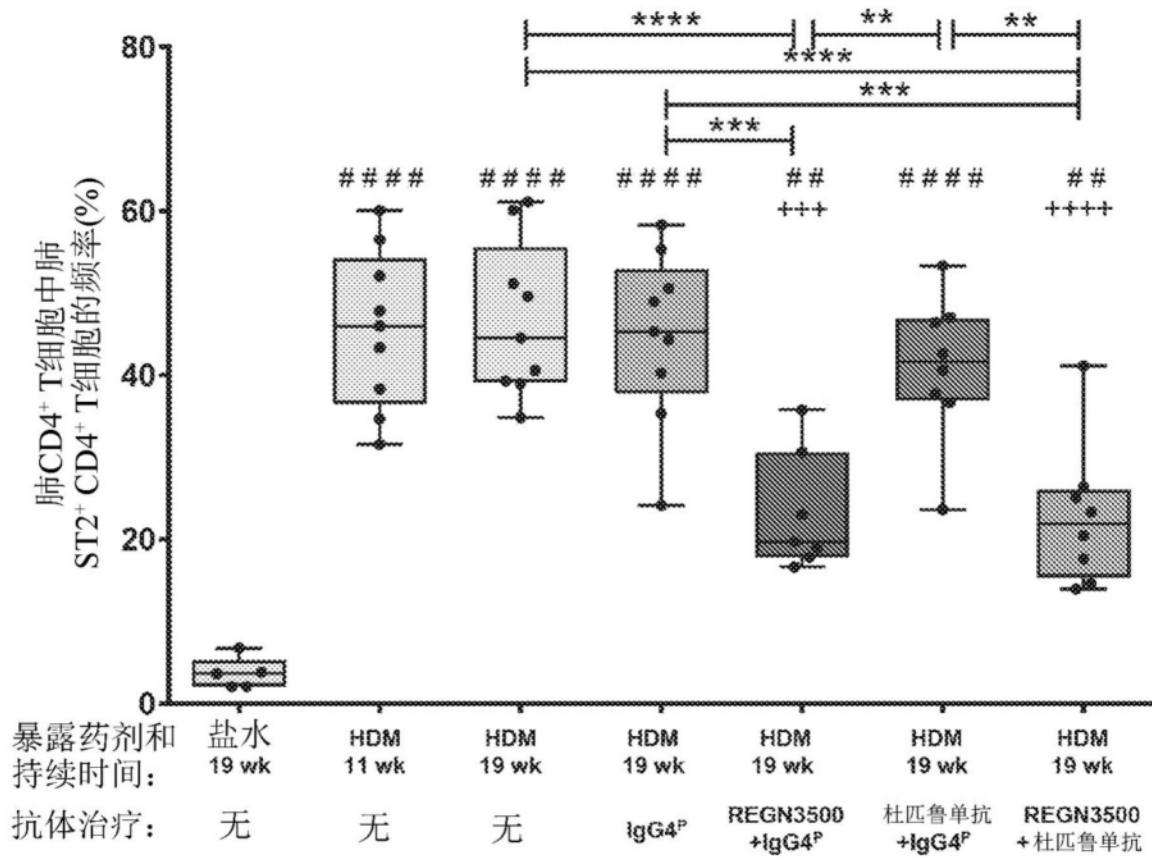


图5

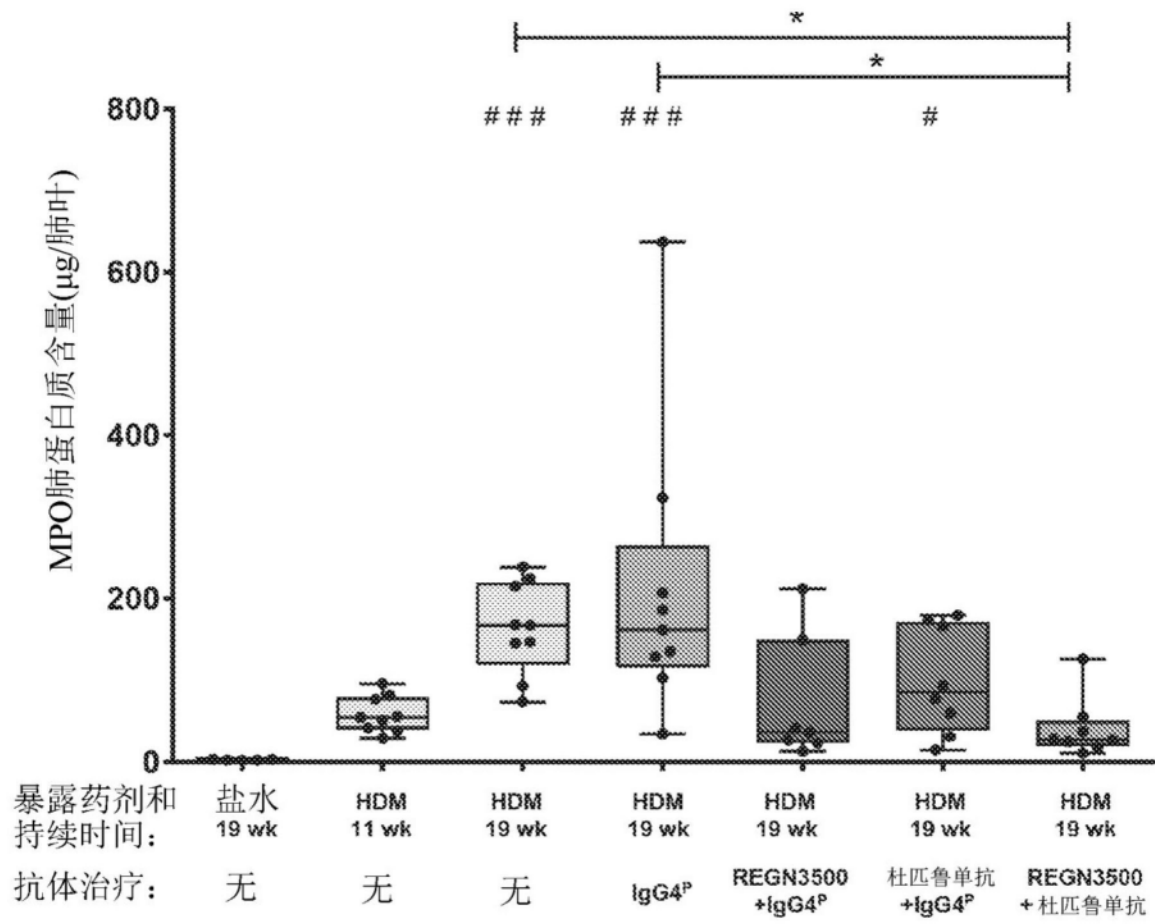


图6

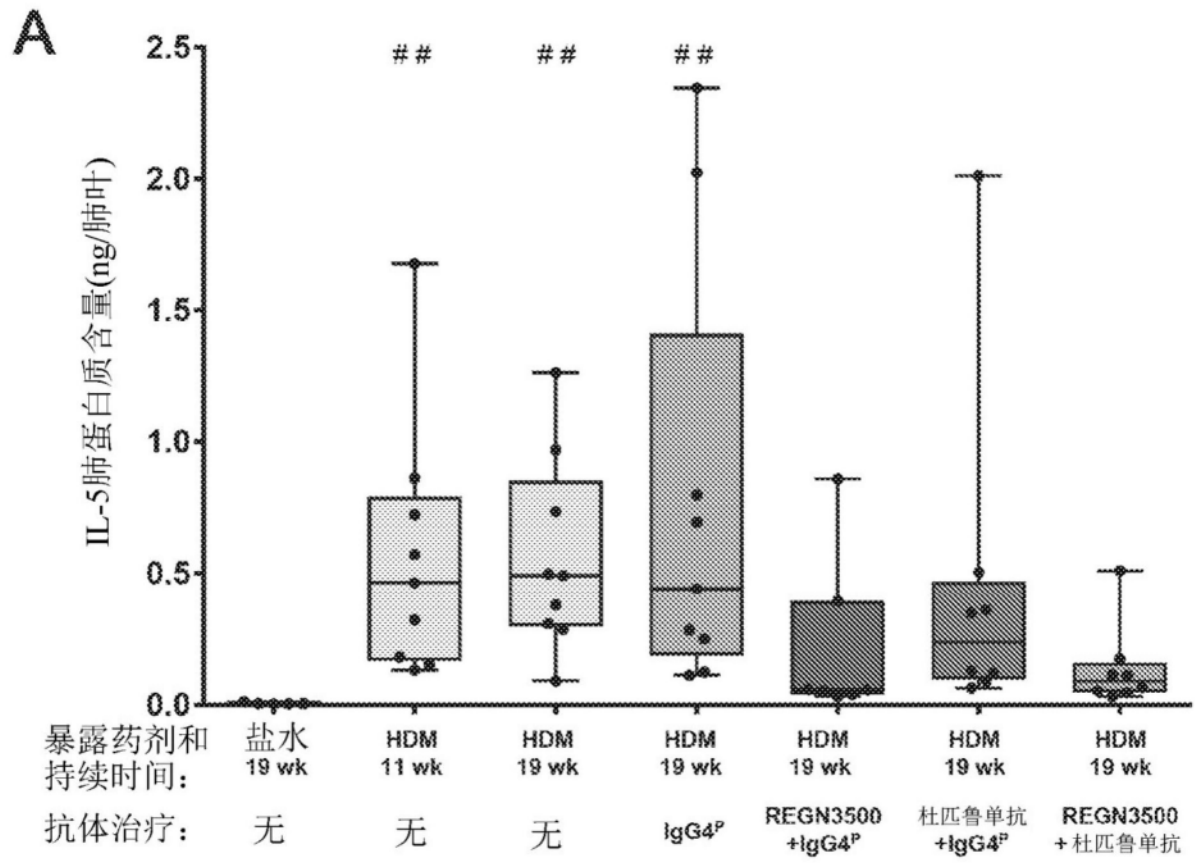


图7A

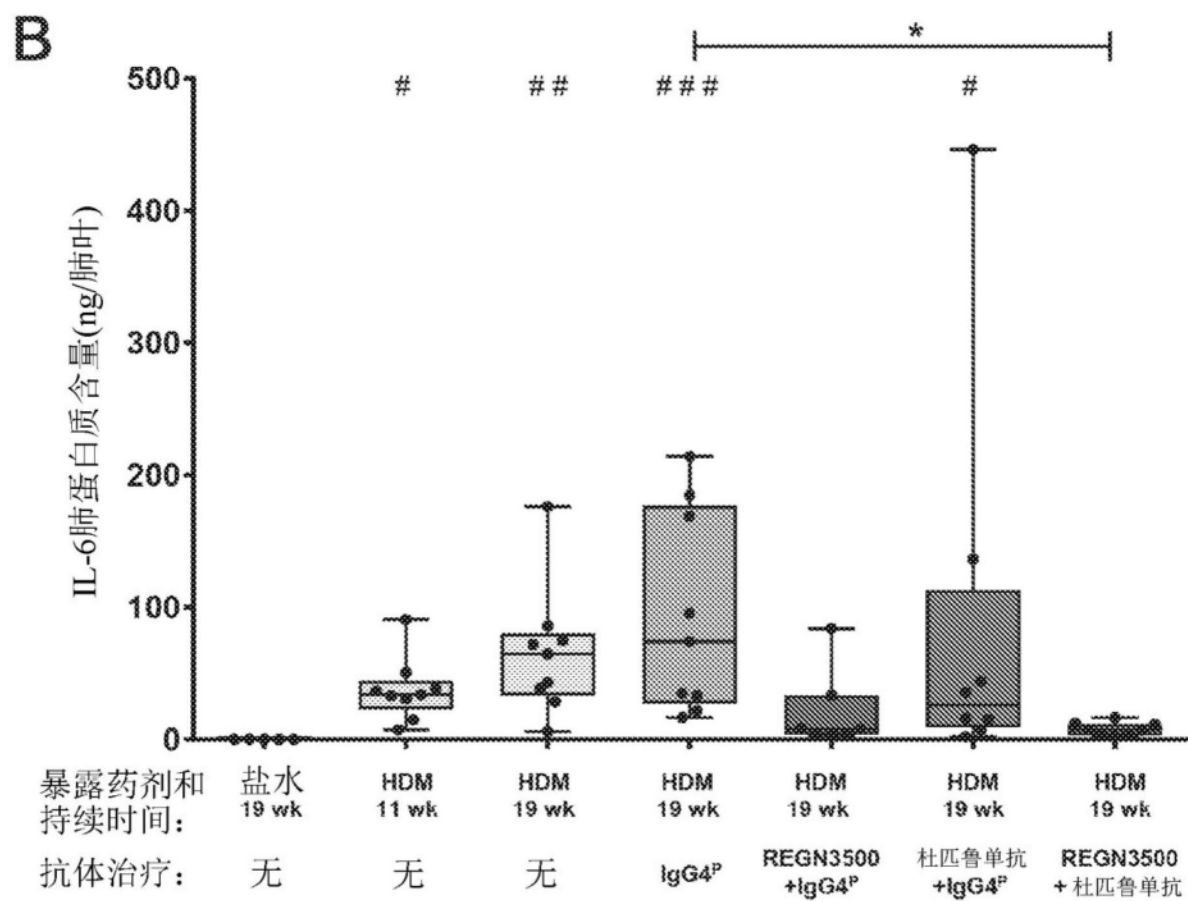


图7B

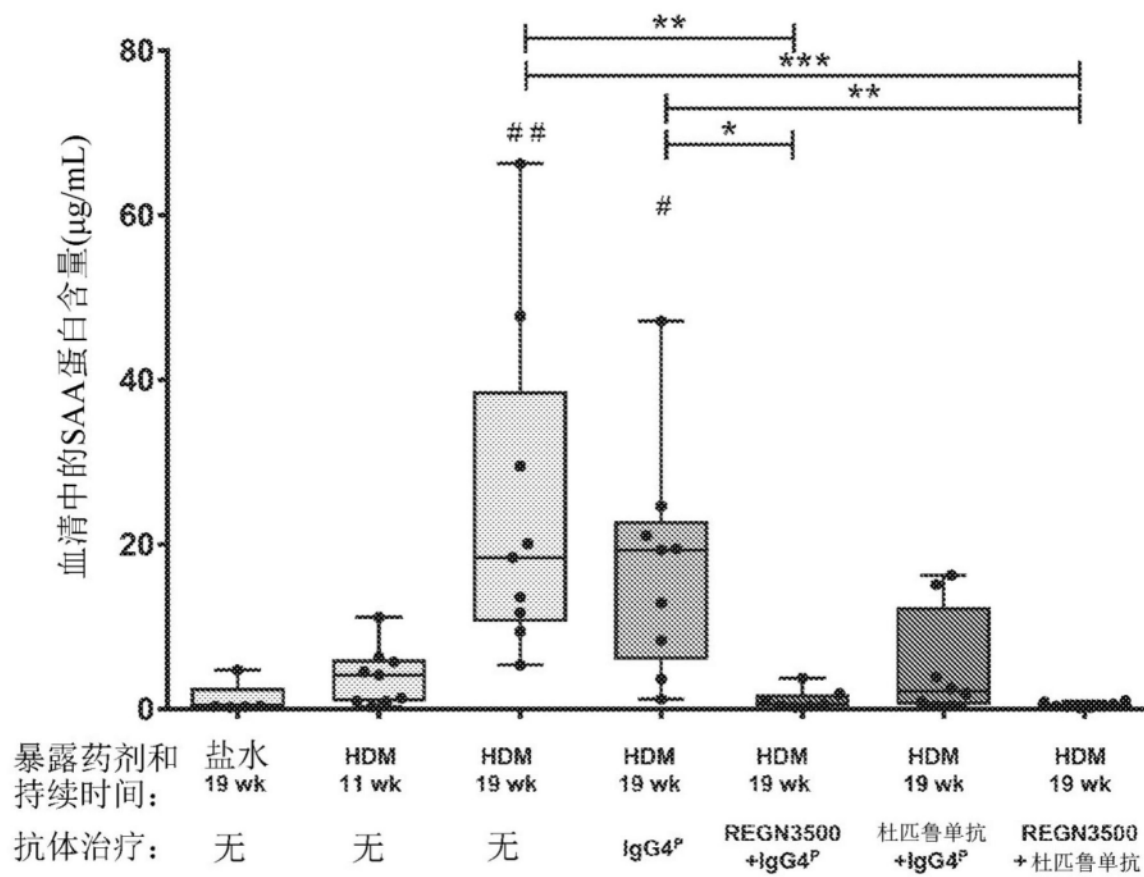


图8

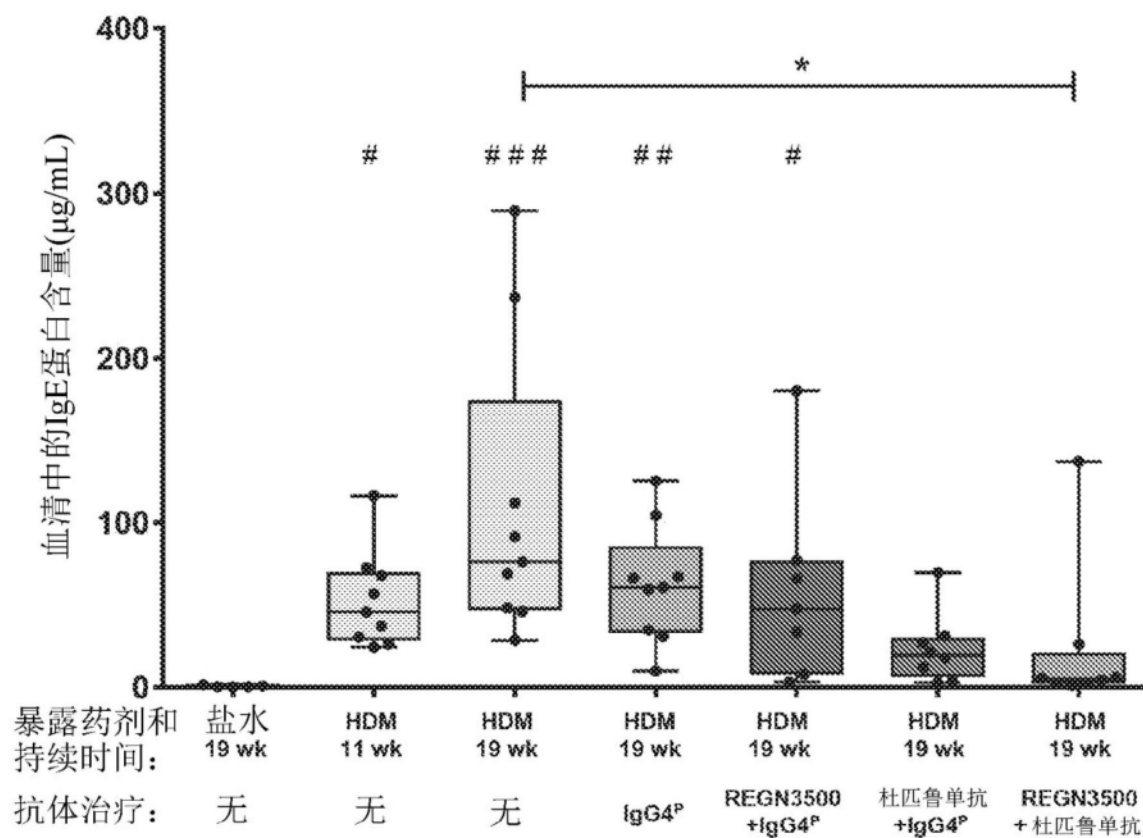


图9