



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112368015 B

(45) 授权公告日 2025. 04. 29

(21) 申请号 201980039800.5
(22) 申请日 2019.06.17
(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112368015 A
(43) 申请公布日 2021.02.12

C07K 14/54 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01)

(30) 优先权数据
62/686,481 2018.06.18 US
62/809,496 2019.02.22 US
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.12.11
(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/037558 2019.06.17
(87) PCT国际申请的公布数据
W02019/246004 EN 2019.12.26

(56) 对比文件
CN 105198999 A, 2015.12.30
WO 2017158436 A1, 2017.09.21
Haomin Huang et al..A novel strategy to produce high level and high purity of bioactive IL15 fusion proteins from mammalian cells.《Protein Expr Purif》.2018,第148卷摘要、第30页左栏第1段-第32页左栏第2段、第35-38页讨论部分.

(73) 专利权人 安维达生物科技公司
地址 美国加利福尼亚州圣卡洛西市泰勒路521号
(72) 发明人 钟子洋 叶帆 马修·西格
黄嘉宁 埃里克·寥 伊娜·李
(74) 专利代理机构 北京植德律师事务所 11780
专利代理师 唐华东

Haomin Huang et al..A novel strategy to produce high level and high purity of bioactive IL15 fusion proteins from mammalian cells.《Protein Expr Purif》.2018,第148卷摘要、第30页左栏第1段-第32页左栏第2段、第35-38页讨论部分. (续)

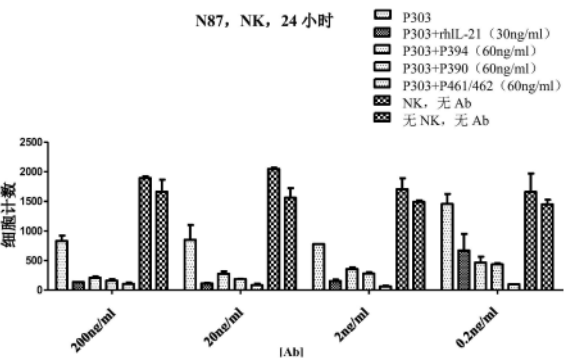
审查员 陈小燕

(51) Int.Cl.
A61K 38/19 (2006.01)
A61K 38/20 (2006.01)
C07K 14/52 (2006.01)

权利要求书2页 说明书107页
序列表112页 附图35页

(54) 发明名称
细胞因子融合蛋白及其用途
(57) 摘要

本申请提供了融合蛋白,所述融合蛋白包括融合至白蛋白结合部分的细胞因子。所述融合蛋白还可包括抗原结合部分诸如治疗性抗体。本申请还提供了制备和使用所述融合蛋白的方法。本申请还提供了治疗方法,所述治疗方法包括施用融合蛋白和第二药剂,所述融合蛋白包括融合至半衰期延长结构域的细胞因子。



[接上页]

(56) 对比文件

Adam Walker et al..Anti-serum albumin domain antibodies in the development of highly potent, efficacious and long-acting interferon.《Protein Eng Des Sel》.2010,第23卷(第4期),摘要、第272页左栏第2

段-第277页左栏第2段.

Elham Adabi et al..Evaluation of an Albumin-Binding Domain Protein Fused to Recombinant Human IL-2 and Its Effects on the Bioactivity and Serum Half-Life of the Cytokine.《Iran Biomed J》.2016,第21卷(第2期),摘要、第78-79页材料与方法部分.

1. 一种融合蛋白,包括:a) 细胞因子,和b) 白蛋白结合部分,其中所述细胞因子选自IL-21、IL-33、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15;

其中,所述白蛋白结合部分包括与白蛋白特异性结合的单结构域抗体,所述与白蛋白特异性结合的单结构域抗体包括:

1) 由氨基酸序列SEQ ID NO: 90构成的CDR1;

由氨基酸序列SEQ ID NO: 91构成的CDR2;

由氨基酸序列SEQ ID NO: 92构成的CDR3;

或2) 选自SEQ ID NO: 67或168中的任一项的氨基酸序列。

2. 一种融合蛋白,包括:a) 融合至如权利要求1所述的白蛋白结合部分的细胞因子,和b) 抗原结合部分,其中所述细胞因子选自IL-21、IL-33、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15。

3. 根据权利要求1或2所述的融合蛋白,其中所述细胞因子选自IL-21、IL-33。

4. 根据权利要求3所述的融合蛋白,其中所述细胞因子是IL-21。

5. 根据权利要求4所述的融合蛋白,其中所述IL-21的氨基酸序列如SEQ ID NO: 1、2、126、171或172中任一项所示。

6. 根据权利要求3所述的融合蛋白,其中所述细胞因子是IL-33。

7. 根据权利要求1-2、4-6中任一项所述的融合蛋白,其中所述白蛋白结合部分融合至所述细胞因子的C末端。

8. 根据权利要求1-2、4-6中任一项所述的融合蛋白,其中所述白蛋白结合部分融合至所述细胞因子的N末端。

9. 根据权利要求1-2、4-6中任一项所述的融合蛋白,其中所述细胞因子和所述白蛋白结合部分通过第一接头连接。

10. 根据权利要求9所述的融合蛋白,其中所述第一接头选自SEQ ID NO: 12-26或158-159。

11. 根据权利要求10所述的融合蛋白,其中所述第一接头是柔性接头。

12. 根据权利要求10所述的融合蛋白,其中所述第一接头是刚性接头。

13. 根据权利要求1-2、4-6、10-12中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO: 120-122、129-132、134、135、137-154或160-164中的任一项所示。

14. 根据权利要求2中任一项所述的融合蛋白,其中所述抗原结合部分通过第二接头融合至所述融合至白蛋白结合部分的细胞因子。

15. 根据权利要求2中任一项所述的融合蛋白,其中所述抗原结合部分与肿瘤抗原结合。

16. 根据权利要求15所述的融合蛋白,其中所述肿瘤抗原选自间皮素、GPA33、Her-2、EGFR或CD20。

17. 根据权利要求15所述的融合蛋白,其中所述肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA或BCMA。

18. 一种药物组合物,包括根据权利要求1至17中任一项所述的融合蛋白。

19. 权利要求1-17中任一项所述的融合蛋白或权利要求18所述的药物组合物在制备治疗疾病的药物中的应用,其中所述疾病是癌症,所述癌症选自肺癌、淋巴瘤、胃癌或结肠癌。

20. 根据权利要求19所述的应用,所述药物还包括第二药剂。

21. 根据权利要求20所述的应用,其中所述第二药剂包括治疗性抗体、第二细胞因子或化疗剂。

22. 根据权利要求20所述的应用,其中所述第二药剂包括免疫检查点抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂或免疫细胞。

23. 根据权利要求19-22中任一项所述的应用,其中所述癌症选自肺癌或胃癌。

24. 根据权利要求19-22中任一项所述的应用,其中所述融合蛋白中的所述细胞因子选自IL-21、IL-33、与IL-15 α 或其片段结合的IL-15。

25. 根据权利要求24所述的应用,其中所述药物包括第二药剂,并且其中所述第二药剂是治疗性抗体。

26. 根据权利要求25所述的应用,其中所述治疗性抗体与肿瘤抗原结合,所述肿瘤抗原选自间皮素、GPA33、Her-2、EGFR或CD20。

27. 根据权利要求25所述的应用,其中所述治疗性抗体与肿瘤抗原结合,所述肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA或BCMA。

28. 根据权利要求26所述的应用,其中所述治疗性抗体与间皮素结合。

29. 根据权利要求26所述的应用,其中所述治疗性抗体与Her-2结合。

30. 根据权利要求24所述的应用,其中所述药物包括第二药剂,并且其中所述第二药剂是免疫检查点抑制剂。

31. 根据权利要求30所述的应用,其中所述免疫检查点抑制剂是选自PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、4-1BB、CD47、TIGIT、GITR、TIM3、LAG3、CD27或B7H4的免疫检查点蛋白的抑制剂。

32. 根据权利要求31所述的应用,其中所述免疫检查点抑制剂是与PD-1结合的抗体。

33. 根据权利要求31所述的应用,其中所述免疫检查点抑制剂是与CTLA4结合的抗体。

34. 根据权利要求24所述的应用,其中所述药物包括第二药剂,并且其中所述第二药剂是第二细胞因子。

35. 根据权利要求34所述的应用,其中所述融合蛋白中的所述细胞因子是IL-21,并且其中所述第二细胞因子选自IL-7、与IL-15 α 结合的IL-15。

细胞因子融合蛋白及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2018年6月18日提交的美国临时申请第62/686,481号和2019年2月22日提交的美国临时申请第62/809,496号的优先权。上述申请全文以引用方式并入本文以用于所有目的。

发明领域

[0003] 本申请涉及融合蛋白、其制备方法,以及通过施用融合蛋白治疗疾病和病症的方法。

[0004] 发明背景

[0005] 细胞因子疗法是刺激免疫系统以诱导针对疾病(例如癌症或感染)的免疫应答的有效策略。然而,施用给患者的细胞因子通常半衰期较短。例如,白细胞介素-21可刺激各种免疫细胞(诸如T细胞、B细胞和NK细胞)并增强其抗肿瘤活性。据报道,重组IL-21经静脉给药后半衰期仅为约一到三小时。参见Schmidt H, Clin. Cancer Res. 2010年11月1日;第16卷第21期:第5312-5319页。

[0006] 因此,需要开发能有效治疗疾病的新细胞因子治疗剂。

[0007] 本文所引用的所有出版物、专利、专利申请和专利申请公布的公开内容均以引用方式整体并入本文。

发明内容

[0008] 本申请提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)细胞因子,和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb)。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,融合蛋白还包括抗原结合部分。

[0009] 本申请还提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”),和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,抗原结合部分融合至细胞因子-ALBBM的C末端。在一些实施方案中,抗原结合部分融合至细胞因子-ALBBM的N末端。在一些实施方案中,抗原结合部分通过第二接头融合至细胞因子-ALBBM。在一些实施方案中,第二接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第二接头是可切割的。在一些实施方案中,可切割接头是基质金属蛋白酶、豆荚蛋白、蛋白裂解酶或尿激酶敏感型接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-45和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原结合。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自间皮素(“MSLN”)、GPA33、Her-2、EGFR和CD20。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA和BCMA。在一些实施方案中,抗原结合部分是抗体或其片段。在一些实施方案中,抗原结合部分包括单结构域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,抗原结合部分包括V_H单结构域抗体。在一些实施方案中,sdAb与间皮素结合。

[0010] 在根据上述融合蛋白中任一项的一些实施方案中,细胞因子是IL-21。在一些实施方案中,IL-21包括SEQ ID NO:1、2、126、171或172所示的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:1、2、126、171或172具有至少约80% (诸如,至少约为80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。

[0011] 在根据上述融合蛋白中任一项的一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。

[0012] 在根据上述融合蛋白中任一项的一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。

[0013] 在根据上述融合蛋白中任一项的一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11中任一项的核酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80% (诸如,至少约为80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。

[0014] 在根据上述融合蛋白中任一项的一些实施方案中,白蛋白结合部分包括单结构域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,sdAb是V_HH单结构域抗体。

[0015] 在根据上述融合蛋白中任一项的一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的C末端。

[0016] 在根据上述融合蛋白中任一项的一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端。

[0017] 在根据上述融合蛋白中任一项的一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。

[0018] 本申请还提供了包括任何上述融合蛋白的药物组合物。

[0019] 本申请还提供了一种治疗个体中的疾病或病症的方法,包括向个体施用任何上述融合蛋白药物组合物。在一些实施方案中,所述方法还包括施用第二药剂。

[0020] 本申请还提供了一种治疗个体中的疾病或病症的方法,包括向个体施用a)融合蛋白,该融合蛋白包括i)细胞因子和ii)融合至该细胞因子的半衰期延长结构域;和b)第二药剂。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是白蛋白结合部分。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是白蛋白。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是Fc片段。在一些实施方案中,Fc片段选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4 Fc片段或其变体。在一些实施方案中,Fc片段是IgG1 Fc片段或其变体。在一些实施方案中,IgG1 Fc片段或其变体包括297位置的突变,其中297位置的氨基酸突变是丙氨酸、天冬氨酸或甘氨酸。在一些实施方案中,所述个体是人。在一些实施方案中,所述疾病或病症选自癌症、炎症病症和感染。

[0021] 在根据上述方法中任一项的一些实施方案中,所述疾病或病症是炎症疾病。在一些实施方案中,所述细胞因子是IL-22。在一些实施方案中,所述疾病选自溃疡性结肠炎、克罗恩病,或溃疡性回肠炎,和肠移植抗宿主病。

[0022] 在根据上述方法中任一项的一些实施方案中,所述疾病或病症是癌症。在一些实施方案中,所述癌症是实体瘤或液体瘤。在一些实施方案中,所述癌症选自间皮瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、淋巴瘤、白血病、头颈癌、肝癌、食管癌、胃癌和结肠直肠癌。在一些实施方案中,所述癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。在一些实施方案中,所述细胞因子选

自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15和IL-33。

[0023] 在根据上述方法中任一项的一些实施方案中,融合蛋白以约每三周一次至约每周两次的频率施用。

[0024] 在根据上述方法中任一项的一些实施方案中,每次施用的融合蛋白的量约为100ng/kg至约10mg/kg。

[0025] 在根据上述方法中任一项的一些实施方案中,所述融合蛋白经胃肠外施用至个体。在一些实施方案中,所述融合蛋白经静脉内或皮下施用至个体。

[0026] 在根据上述方法中任一项的一些实施方案中,每个治疗周期施用融合蛋白至少约一周至六个月。

[0027] 在根据上述方法中任一项的一些实施方案中,所述第二药剂包括治疗性抗体、免疫检查点抑制剂、第二细胞因子、化疗剂、酪氨酸激酶抑制剂或免疫细胞。在一些实施方案中,所述第二药剂是治疗性抗体。在一些实施方案中,所述治疗性抗体与肿瘤抗原结合。在一些实施方案中,所述肿瘤抗原选自间皮素(MSLN)、GPA33、Her-2(ERBB2)、EGFR和CD20(MS4A1)。在一些实施方案中,所述肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA和BCMA。在一些实施方案中,所述肿瘤抗原是间皮素。在一些实施方案中,所述第二药剂是抗间皮素抗体或其片段。在一些实施方案中,所述抗间皮素抗体或其片段包括含有抗间皮素重链可变区(抗MSLN V_H)的单链抗体,其中:a)抗MSLN V_H包括含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的CDR1、含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的CDR3,或在CDR中总共包括至多3、2或1个氨基酸取代的变体;或b)抗MSLN V_H包括含有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的CDR1、含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的CDR3,或在CDR中总共包括至多3、2或1个氨基酸取代的变体。在一些实施方案中,与间皮素结合的第二药剂以约每月一次至约每周两次的频率施用。在一些实施方案中,每次施用的第二药剂的量约为100ng/kg至约100mg/kg。在一些实施方案中,所述第二药剂是免疫检查点调节剂。在一些实施方案中,所述免疫检查点调节剂是免疫检查点蛋白抑制剂,所述免疫检查点蛋白选自PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、CD47、TIGIT、GITR、TIM3、LAG3、CD27、4-1BB和B7H4。在一些实施方案中,所述免疫检查点蛋白是PD-1。在一些实施方案中,所述第二药剂是抗PD-1抗体或其片段。在一些实施方案中,每次施用的第二药剂的量约为1 μ g/kg至约100mg/kg。在一些实施方案中,所述第二药剂是第二细胞因子。在一些实施方案中,所述融合蛋白中的细胞因子是IL-21,并且其中第二细胞因子选自IL-7、IL-15、与IL-15R α 结合的IL-15或其半衰期延长变体。在一些实施方案中,所述第二药剂是免疫细胞。在一些实施方案中,所述免疫细胞包括T细胞或NK细胞。在一些实施方案中,所述免疫细胞包括表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞、表达修饰的T细胞受体(TCR)的T细胞或从肿瘤中分离的T细胞。在一些实施方案中,所述第二药剂是酪氨酸激酶抑制剂。在一些实施方案中,所述第二药剂经胃肠外或口服施用至个体。在一些实施方案中,所述第二药剂经胃肠外施用至个体。在一些实施方案中,所述第二药剂经静脉内施用至个体。

[0028] 在根据上述方法中任一项的一些实施方案中,将融合蛋白和第二药剂同时、并行或依次施用至个体。

附图说明

[0029] 图1描绘了本文所提供的示例性IL-21融合蛋白。

[0030] 图2描绘了示例性IL-21融合蛋白表达载体的组装,其中白蛋白结合分子是抗HSA抗体。

[0031] 图3描绘了示例性IL-21融合蛋白表达载体的组装,其中白蛋白结合分子是与HSA结合的ABD。

[0032] 图4示出了与人、猴或小鼠血清白蛋白相互作用时抗HSA抗体P367的 K_D 。将P394-hgG1 Fc融合蛋白加载到蛋白A生物传感器上并浸入人、猴或小鼠血清白蛋白。有色线条表示血清白蛋白在400nM(深蓝色)、200nM(深红色)和100nM(浅蓝色)的不同浓度下的结合反应。用全局拟合(红色)分析实验数据以确定 K_D 。

[0033] 图5示出了与重组IL-21相比,抗HSA IL-21缀合物P390和P394信号传导效力。

[0034] 图6A示出了在存在P390、P394和P461/P462以及抗间皮素抗体P303时PBMC针对N87细胞的ADCC活性。图6B示出了在存在P390、P394和P461/P462以及抗间皮素抗体P303时PBMC针对H226细胞的ADCC活性。图6C示出了在存在不同剂量的P390、P394、P461/P462和P461/P463以及3ng/mL P303时PBMC针对N87细胞的ADCC活性。图6D示出了在存在不同剂量的P390、P394、P461/P462和P461/P463以及20ng/mL P303时PBMC针对H226细胞的ADCC活性。

[0035] 图7A示出了IL-21-抗HSA融合蛋白变体P394、P593、P636、P637、P744、P748、P750、P751和P783作用下的STAT3信号传导。图7B和图7C示出了当以固定剂量的抗MSLN抗体(P303)滴定IL-21-抗HSA融合蛋白变体P394、P593、P636、P637、P744、P748、P750、P751和P783时,NK细胞介导的针对NCI-N87肿瘤细胞的ADCC。

[0036] 图8描绘了3 μ g重组人IL-21、3 μ g P325(人IL-21非相关纳米抗体)以及3 μ g或30 μ g P394(人IL-21-抗HSA)在小鼠中的药代动力学比较。

[0037] 图9A、图9F和图9G描绘了显示IL-21-抗HSA融合蛋白P394(即AWT-P394)、P593(即AWT-P593)和P748的染色状态的SDS-PAGE照片。图9F和图9G中,箭头表示完整的靶蛋白,星号表示被切割的蛋白。图9B描绘了AWT-P394 IL-21-抗HSA融合蛋白的代表性色谱图。图9C描绘了在pH 4.0和pH 7.5时AWT-P593的 T_{onset} 的对比。图9D描绘了AWT-P394和AWT-P593的 T_{onset} 。图9E描绘了人IL-21受体与IL-21-抗HSA融合蛋白AWT-P394或AWT-P593的结合。

[0038] 图10A描绘了在pH 4.0和pH 7.5时AWT-P593的 T_{onset} 对比。图10B描绘了AWT-P394和AWT-P593的 T_{onset} 对比。图10C描绘了在pH 7.4和pH 5.5时人源化抗AWT-P610(即P610)与人血清白蛋白或猴血清白蛋白的结合。图10D描绘了抗白蛋白抗体AWT-P367与其人源化形式AWT-P494的 T_{onset} 对比。图10E描绘了抗白蛋白抗体AWT-P342与其人源化形式AWT-P610的 T_{onset} 对比。图10D描绘了抗HSA抗体AWT-367及其人源化抗AWT-P494与人、猴或小鼠白蛋白的结合。图10E描绘了AWT-P367或AWT-494与人、猴或小鼠白蛋白结合的 K_D 。

[0039] 图11描绘了经NK细胞单独处理或与研究药物联合处理后N87细胞的剩余细胞数目。

[0040] 图12描绘了经NK细胞单独处理或与a)单独的赫赛汀,b)单独的P303FF(即P303F),c)赫赛汀和P303FF,或d)赫赛汀、P303FF和IL-21-抗HSA融合蛋白P394联合处理后N87细胞的剩余细胞数目。

[0041] 图13描绘了经NK细胞与a) Retuxan,b) Retuxan和P394,c) Retuxan和IL-15融合蛋

白P480,或d)Retuxan和IL-15联合处理后死亡Preiffer细胞的百分比。

[0042] 图14描绘了经NK细胞与a)P303F,b)P303F和重组人IL-21(即rhIL-21),c)P303F和P480,或d)P303F和重组人IL-15(即rhIL-15)联合处理后N87细胞的剩余细胞数目。

[0043] 图15描绘了经NK细胞与a)P480,b)P597,或c)rIL-15联合处理后N87细胞的剩余细胞数目(上图)以及三种药物的IC₅₀(下图)。

[0044] 图16描绘了经NK细胞与a)抗间皮素抗体P129(即,R2G12)和P126(即,人IL-21-R2G12-IgG1融合体),b)P129和IL-21,c)P129和P107(人IL-21-IgG1融合体),d)P129和P325(人IL-21-R2D2融合体),或e)P129和P286/288(人IL-21-R3C7-IgG1-R2G12)联合处理后H226细胞的剩余细胞数目。

[0045] 图17描绘了经NK细胞与a)P197和P390,或b)P197和P394联合处理后N87细胞的剩余细胞数目。

[0046] 图18A至图18B描绘了在与不同药物一起温育后PBMC分泌的IFN- γ (图18A)和IL-6(图18B)的水平。

[0047] 图19A至图19B描绘了在给予抗CTLA-4、IL-21-抗HSA融合蛋白(P394)、抗HSA-IL-15 α /IL-15融合蛋白(P597)或这些药剂的组合后,MC38小鼠同系肿瘤模型中肿瘤体积的变化。

[0048] 图20描绘了经IL-21-抗HSA融合蛋白(P394)、抗HSA-IL-15 α /IL-15融合蛋白(P597)或这些药剂联合处理后MC38小鼠同系肿瘤模型中肿瘤体积的变化。

[0049] 图21描绘了经a)100 μ g抗PD-1抗体,b)25 μ g P390,c)100 μ g抗PD-1抗体和25 μ g P390,或d)100 μ g抗PD-1抗体和5 μ g P390处理后MC38同系模型的动物模型中肿瘤体积的变化。

[0050] 图22描绘了经a)25 μ g P394,b)100 μ g P303F,c)100 μ g P303F和25 μ g P394,或d)100 μ g P303F和5 μ g P394处理后荷N87肿瘤NSG小鼠的动物模型中肿瘤体积的变化。

[0051] 图23描绘了经a)25 μ g P394,b)20 μ g赫赛汀,c)20 μ g赫赛汀和25 μ g P394,或d)20 μ g赫赛汀和5 μ g P394处理后荷N87肿瘤NSG小鼠的动物模型中肿瘤体积的变化。

[0052] 图24描绘了经100 μ g P303F单独或与a)25 μ g P390,b)5 μ g P390,或c)2.5 μ grmIL-21联合处理后荷N87肿瘤SCID小鼠的动物模型中肿瘤体积的变化。

[0053] 图25描绘了经25 μ g P390或12.5 μ g rmIL-21处理后MC38同系模型的动物模型中肿瘤体积的变化。

[0054] 图26描绘了经单独的抗PD-1抗体、单独的P390或抗PD-1抗体和P390联合处理后CT-26/MSLN动物模型中肿瘤体积的变化。

[0055] 图27描绘了在单独的抗PD-1抗体、单独的P394或抗PD-1抗体和P394联合处理后MC38同系模型的动物模型中肿瘤体积的变化。

[0056] 图28描绘了经抗HSA-IL-33融合蛋白(P380)处理后MC38小鼠同系肿瘤模型中肿瘤体积的变化。

[0057] 图29A至图29B描绘了经P390处理后颗粒酶B阳性NK细胞(图29A)和颗粒酶B阳性CD8 T细胞(图29B)的百分比变化。

[0058] 图30A至图30C描绘了经单独的抗PD-1抗体或抗PD-1抗体与P390联合处理后CD8 T细胞(图30A)、CD4 T细胞(图30B)和NK细胞(图30C)中IL-21受体表达水平的变化。

[0059] 图31描绘了经单独的抗PD-1抗体、单独的P390、抗PD-1抗体和P390联合、或抗PD-1抗体和rmIL-21联合处理后脾中分泌IFN- γ 的免疫细胞的细胞数目。

[0060] 图32描绘了经IL-21-抗HSA-抗MSLN融合蛋白(P375)处理后CT26/MSLN小鼠同系肿瘤模型中肿瘤体积的变化。

[0061] 图33描绘了经抗MSLN-抗HSA-IL-15R α /IL-15融合蛋白(P669)处理后荷N87肿瘤NSG小鼠的动物模型中肿瘤体积的变化。

[0062] 图34描绘了各种IL-21融合蛋白具有相似的信号传导效力。

[0063] 图35描绘了各种IL-21融合蛋白具有相似的ADCC活性。

具体实施方式

[0064] 本申请涉及包括细胞因子和半衰期延长结构域的融合蛋白。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,融合蛋白包括:a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”),和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。

[0065] 本申请还提供了治疗疾病或病症(例如癌症或炎症性疾病)的方法,包括施用如上所述的融合蛋白。在一些实施方案中,方法包括施用a)包括i)细胞因子和ii)半衰期延长结构域的融合蛋白,和b)第二药剂。示例性第二药剂包括但不限于治疗剂、免疫检查点抑制剂、第二细胞因子、酪氨酸激酶抑制剂、化疗剂或免疫细胞。

[0066] 本申请还提供了包括本文所述的双特异性抗体的组合物、试剂盒和制造制品及其制备方法。

[0067] I. 定义

[0068] 术语“抗体”以其最广泛的含义使用,并且涵盖各种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)、全长抗体及其抗原结合片段,只要它们表现出期望的抗原结合活性。术语“抗体部分”指全长抗体或其抗原结合片段。

[0069] “分离的”抗体(或构建体)是从其(例如,天然的或重组的)生产环境的组分中鉴定、分离和/或回收的抗体。优选地,分离的多肽不与来自其产生环境的任何其他组分结合。其产生环境的污染组分,诸如由重组转染细胞产生的污染组分,为通常会干扰抗体的研究、诊断或治疗用途的物质,并且可以包括酶、激素和其他蛋白质或非蛋白质溶质。在优选的实施方案中,多肽将被纯化至:(1)大于抗体的95重量%,例如由Lowry法测定,并且在一些实施方案中,大于99重量%;(2)足以通过使用旋杯测序仪获得N末端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度;或(3)使用考马斯蓝或优选银染色经非还原或还原条件下的SDS-PAGE确认达到均一。分离的抗体(或构建体)包括重组细胞内的原位抗体,因为抗体的天然环境中的至少一种组分将不存在。然而通常情况下,分离的多肽、抗体或构建体将通过至少一个纯化步骤制备。

[0070] 全长抗体包括两条重链和两条轻链。轻链和重链的可变区负责抗原结合。重链和轻链的可变结构域可分别称为“V_H”和“V_L”。两条链中的可变区通常含有三个高度可变的环,称为互补决定区(CDR)(轻链(LC)CDR,包括LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;重链(HC)CDR,包括HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3)。本文公开的抗体和抗原结合片段的CDR边界可以按照Kabat、Chothia或Al-Lazikani的惯例来定义或划分(Al-Lazikani 1997;Chothia 1985;Chothia

1987; Chothia 1989; Kabat 1987; Kabat 1991)。重链或轻链的三个CDR插入侧翼延伸段(称为框架区(FR))之间,框架区比CDR更加高度保守,并形成支架以支撑超变环。重链和轻链的恒定区不参与抗原结合,但表现出各种效应子功能。抗体基于其重链恒定区的氨基酸序列被分类。抗体的五种主要类别或同种型为IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,其特征分别在于存在 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 重链。几种主要抗体类别被分成亚类,例如IgG1(γ 1重链)、IgG2(γ 2重链)、IgG3(γ 3重链)、IgG4(γ 4重链)、IgA1(α 1重链)或IgA2(α 2重链)。

[0071] 术语“全长抗体”、“完整抗体”或“全抗体”可互换使用,指与抗体片段相对的基本上完整形式的抗体。具体地,全长4链抗体包括具有含Fc区的重链和轻链的抗体。全长重链抗体包括重链可变结构域(诸如 V_H H)和Fc区。恒定结构域可为天然序列恒定结构域(例如,人天然序列恒定结构域)或其氨基酸序列变体。在一些情况下,完整抗体可具有一种或多种效应子功能。

[0072] 抗体的“可变区”或“可变结构域”是指抗体的重链或轻链的氨基末端结构域。重链和轻链的可变结构域可分别称为“VH”和“VL”。这些结构域通常是抗体最可变的部分(相对于相同类别的其他抗体)并且含有抗原结合位点。仅来自骆驼科物种的重链抗体具有单个重链可变区,被称为“ V_H H”。因此 V_H H是特殊类型的VH。

[0073] 如本文所用,术语“抗原结合片段”指抗体片段,包括例如双抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段、二硫键稳定Fv片段(dsFv)、(dsFv)₂、双特异性dsFv(dsFv-dsFv')、二硫键稳定双抗体(ds双抗体)、单链Fv(scFv)、scFv二聚体(二价双抗体)、由包括一个或多个CDR的抗体的一部分形成的多特异性抗体、骆驼化单结构域抗体、纳米抗体、结构域抗体、二价结构域抗体或与抗原结合但不包括完整抗体结构的任何其他抗体片段。抗原结合片段能够与亲本抗体或亲本抗体片段(例如亲本scFv)所结合的相同抗原结合。在一些实施方案中,抗原结合片段可包括来自特定人抗体并嫁接到一个或多个不同人抗体的框架区的一个或多个CDR。

[0074] “Fv”是含有完整抗原识别位点和抗原结合位点的最小抗体片段。该片段由紧密、非共价结合的一个重链可变区结构域和一个轻链可变区结构域的二聚体组成。这两个结构域折叠后产生六个超变环(重链和轻链各3个环),为抗原结合贡献氨基酸残基并为抗体赋予抗原结合特异性。然而,即使是单个可变结构域(或只包括特异性针对某抗原的三个CDR的半个Fv)也具有识别和结合抗原的能力,但亲和力低于整个结合位点。

[0075] “单链Fv”,也缩写为“sFv”或“scFv”,是包括连接成单一多肽链的 V_H 和 V_L 抗体结构域的抗体片段。在一些实施方案中,scFv多肽还包括 V_H 和 V_L 结构域之间的多肽接头,使得scFv形成用于抗原结合的期望结构。关于scFv的综述参见例如Plückthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Rosenberg和Moore编辑, Springer-Verlag, New York, 第113卷, 第269-315页, 1994年。

[0076] 术语“重链抗体”或“HCAb”是指包括重链但缺乏通常在4链抗体中常见的轻链的功能性抗体。已知骆驼科动物(诸如骆驼、美洲驼或羊驼)产生HCAb。

[0077] 术语“单结构域抗体”或“sdAb”指具有三个互补决定区(CDR)的单一抗原结合多肽。sdAb能够单独与抗原结合而不与对应的含CDR的多肽配对。在一些情况下,单结构域抗体改造自骆驼科HCAb,并且其重链可变结构域在本文中被称作“ V_H H”(重链抗体的重链的可变结构域)。骆驼科动物sdAb是已知最小的抗原结合抗体片段之一(参见例如Hammers-

Casterman等人,Nature,第363卷:第446-448页,1993年;Greenberg等人,Nature,第374卷:第168-173页,1995年;Hassanzadeh-Ghassaeh等人,Nanomedicine (Lond),第8卷:第1013-1026页,2013年)。碱性V_HH从N末端到C末端具有以下结构:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4,其中FR1至FR4分别指框架区1至4,并且其中CDR1至CDR3指互补决定区1至3。

[0078] 本文所用的术语“超变区”、“HVR”或“HV”指抗体可变结构域的序列上高度可变和/或形成结构上定义的环的区域。通常,单结构域抗体包括三个HVR(或CDR):HVR1(或CDR1)、HVR2(或CDR2)和HVR3(或CDR3)。HVR3(或CDR3)在三种HVR中最具多样性,并被认为在赋予抗体精细特异性中发挥独特作用。参见,例如Hammers-Casterman等人,Nature,第363卷:第446-448页,1993年;Sheriff等人,Nature Struct.Biol.,第3卷:第733-736页,1996年。

[0079] 如本文所用,术语“CDR”或“互补决定区”意指在重链和轻链多肽的可变区内均有发现的非邻接抗原结合位点。这些特定区域已描述于:Kabat等人,J.Biol.Chem.,第252卷:第6609-6616页,1977年;Kabat等人,美国卫生与公众服务部,“Sequences of proteins of immunological interest”,1991年;Chothia等人,J.Mol.Biol.,第196卷:第901-917页,1987年;Al-Lazikani B.等人,J.Mol.Biol.,第273卷:第927-948页,1997年;MacCallum等人,J.Mol.Biol.,第262卷:第732-745页,1996年;Abhinandan和Martin,Mol.Immunol.,第45卷:第3832-3839页,2008年;Lefranc M.P.等人,Dev.Comp.Immunol.,第27卷:第55-77页,2003年;以及Honegger和Plückthun,J.Mol.Biol.,第309卷:第657-670页,2001年,其中在相互比较时,这些定义包括氨基酸残基的重叠或子集。不过,涉及抗体或其嫁接抗体或变体的CDR时,任一定义的应用均处于如本文定义和使用的术语的范围内。涵盖上文引用的每一个参考文献所定义的CDR的氨基酸残基列于下表1中以供对比。CDR预测算法和界面在本领域中是已知的,包括例如Abhinandan和Martin,Mol.Immunol.,第45卷:第3832-3839页,2008年;Ehrmann F等人,Nucleic Acids Res.,第38卷:第D301-D307页,2010年;以及Adolf-Bryfogle J等人,Nucleic Acids Res.,第43卷:第D432-D438页,2015年。本段中引用的参考文献的内容全文以引用方式并入本文,以用于本申请,并且可能包括在本文的一项或多项权利要求中。

[0080] 表1:CDR定义

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³	IMGT ⁴	AHo ⁵
V _H CDR1	31-35	26-32	30-35	27-38	25-40
V _H CDR2	50-65	53-55	47-58	56-65	58-77
[0081] V _H CDR3	95-102	96-101	93-101	105-117	109-137
V _L CDR1	24-34	26-32	30-36	27-38	25-40
V _L CDR2	50-56	50-52	46-55	56-65	58-77
V _L CDR3	89-97	91-96	89-96	105-117	109-137

[0082] ¹残基编号遵循Kabat等人的命名法(见上文)

[0083] ²残基编号遵循Chothia等人的命名法(见上文)

[0084] ³残基编号遵循MacCallum等人的命名法(见上文)

[0085] ⁴残基编号遵循Lefranc等人的命名法(见上文)

[0086] ⁵残基编号遵循Honegger和Plückthun的命名法(见上文)

[0087] 表述“可变结构域残基编号参照Kabat”或“氨基酸位置编号参照Kabat”及其变型是指采用Kabat等人(见上文)的编号系统中抗体编译重链可变结构域或轻链可变结构域。使用该编号系统,实际的线性氨基酸序列可包含更少或更多的氨基酸,对应于可变区FR或HVR的缩短或插入。例如,重链可变结构域可包括H2的残基52之后的单氨基酸插入(根据Kabat系统的残基52a)和重链FR残基82之后的插入残基(例如根据Kabat系统的残基82a、82b和82c等)。通过对抗体序列与“标准”Kabat编号序列进行的同源区比对,可确定给定抗体的Kabat残基编号。

[0088] 除非另有说明,本文中免疫球蛋白重链中残基的编号参照Kabat等人(见上文)的EU索引编号。“Kabat的EU索引”指人IgG1 EU抗体的残基编号。

[0089] “框架”或“FR”残基是除本文定义的CDR残基以外的可变区残基。

[0090] 非人(例如啮齿类)抗体的“人源化”形式为含有最少的非人抗体来源序列的嵌合抗体。人源化抗体的大部分是人免疫球蛋白(受体抗体),其中受体超变区(HVR)的残基被非人物种(供体抗体)超变区的残基置换,非人物种诸如小鼠、大鼠、兔或非人灵长类动物,这些物种的超变区具有期望的抗体特异性、亲和力和结合能力。在一些情况下,人免疫球蛋白的框架区(FR)残基被对应的非人残基置换。此外,人源化抗体可包括在受体抗体或供体抗体中未发现的残基。进行这些修饰以进一步改进抗体性能。一般而言,人源化抗体将包括基本上全部的至少一个、通常两个可变结构域,其中全部或基本上全部的超变环对应于非人免疫球蛋白的超变环,并且全部或基本上全部的FR是人免疫球蛋白序列的FR。人源化抗体任选地还将包括免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常是人免疫球蛋白的恒定区的至少一部分。进一步细节参见Jones等人,Nature,第321卷:第522-525页,1986年;Riechmann等人,Nature,第332卷:第323-329页,1988年;以及Presta,Curr.Op.Struct.Biol.,第2卷:第593-596页,1992年。

[0091] 关于本文提及的多肽和抗体序列的“百分比(%)氨基酸序列同一性”或“同源性”定义为在将任何保守取代视为序列同一性的一部分来比对序列之后,候选序列中与所比较的多肽中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比的比对可以本领域技术人员熟知的多种方式实现,例如,使用公众可获得的计算机软件,诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign(DNASTAR)或MUSCLE软件。本领域技术人员可以决定用于测量比对的适当参数,包括在被比较的序列的全长上实现最大比对所需的任何算法。然而,就本文而言,%氨基酸序列同一性值使用序列比较计算机程序MUSCLE(Edgar,R.C.,Nucleic Acids Research,第32卷第5期:第1792-1797页,2004年;Edgar,R.C.,BMC Bioinformatics,第5卷第1期:第113页,2004年)生成。

[0092] “同源”是指两个多肽之间或两个核酸分子之间的序列相似性或序列同一性。当两个比较序列中的位置被相同的碱基或氨基酸单体亚基占据时,例如,如果两个DNA分子中每一个的某一位置均被腺嘌呤占据,那么这两个分子在该位置是同源的。两个序列之间的同源性百分比是两个序列共享的匹配或同源位置数除以比较的位置数再乘以100的函数。例如,如果两个序列中10个位置中的6个匹配或同源,那么这两个序列为60%同源。例如,DNA序列ATTGCC和TATGGC之间有50%的同源性。通常,当两个序列进行比对以得到最大同源性时进行比较。

[0093] 术语“恒定结构域”指免疫球蛋白分子的一部分,该部分相对于免疫球蛋白中含抗

原结合位点的另一部分即可变结构域具有更保守的氨基酸序列。恒定结构域含有重链的 C_H1 、 C_H2 和 C_H3 结构域(统称为 C_H)和轻链的 C_L (或 C_L)结构域。

[0094] 来自任何哺乳动物物种的抗体(免疫球蛋白)的“轻链”可基于它们的恒定结构域的氨基酸序列被指定为两种明显不同的类型之一,称为 κ 和 λ 。

[0095] 人IgG Fc区的“CH1结构域”(也称为“H1”结构域的“C1”)通常从约氨基酸118延伸至约氨基酸215(EU编号系统)。

[0096] “铰链区”通常定义为IgG中对应于人IgG1 Glu216至Pro230的区域(Burton, Molec. Immunol., 第22卷:第161-206页,1985年)。通过将形成重链间S-S键的第一个和最后一个半胱氨酸残基置于相同位置,可将其他IgG同种型的铰链区与IgG1序列比对。

[0097] 人IgG Fc区的“CH2结构域”(也称为“H2”结构域的“C2”)通常从约氨基酸231延伸至约氨基酸340。CH2结构域较为独特,因为它不与另一个结构域紧密配对。相反,两个N-连接的分支糖链插入完整的天然IgG分子的两个CH2结构域之间。据推测,糖链可提供结构域-结构域配对的替代,并帮助稳定CH2结构域。Burton, Molec Immunol., 第22卷:第161-206页,1985年。

[0098] “CH3结构域”(也称为“C2”或“H3”结构域)包括Fc区中CH2结构域C末端的残基区段(即从约氨基酸残基341至抗体序列的C末端,通常在IgG的氨基酸残基446或447)。

[0099] 本文中术语“Fc区”或“片段可结晶区”用于定义免疫球蛋白重链的C末端区,包括天然序列Fc区和变体Fc区。尽管免疫球蛋白重链Fc区的边界可能不同,但是人IgG重链Fc区通常被定义为从位置Cys226或从Pro230的氨基酸残基伸展至其羧基末端。Fc区的C末端赖氨酸(根据EU编号系统的残基447)可以例如在抗体的生产或纯化过程中去除,或者通过重组工程改造编码抗体重链的核酸而去除。因此,完整抗体的组合物可以包括所有K447残基均被去除的抗体群体、K447残基未去除的抗体群体和具有含和不含K447残基的抗体混合物的抗体群体。用于本文所述抗体的合适的天然序列Fc区包括人IgG1、IgG2(IgG2A、IgG2B)、IgG3和IgG4。

[0100] “Fc受体”或“FcR”描述结合抗体Fc区的受体。优选的FcR是天然序列人FcR。此外,优选的FcR是结合IgG抗体(γ 受体)的FcR并且包括Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII亚类的受体,此类受体包括这些受体的等位基因变体和另选的剪接形式,Fc γ RII受体包括Fc γ RIIA(“活化受体”)和Fc γ RIIB(“抑制受体”),它们具有相似的氨基酸序列,主要差异在于其胞质结构域。活化受体Fc γ RIIA在其胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的活化基序(ITAM)。抑制受体Fc γ RIIB在其胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(ITIM)。(参见M. Daëron, Annu. Rev. Immunol., 第15卷:第203-234页,1997年)。FcR综述见Ravetch和Kinet, Annu. Rev. Immunol., 第9卷:第457-492页,1991年;Capel等人, Immunomethods, 第4卷:第25-34页,1994年;以及de Haas等人, J. Lab. Clin. Med., 第126卷:第330-341页,1995年。)其他FcR,包括将来发现的FcR,均包括在本文的术语“FcR”中。

[0101] 如本文所用,术语“表位”是指抗原上与抗体或抗体部分结合的特定原子或氨基酸组。如果两个抗体或抗体部分表现出对抗原的竞争性结合,则它们可以结合抗原内的相同表位。

[0102] 如本文所用,当第一抗体或其片段抑制与第一抗体或其片段等摩尔浓度的第二抗体或其片段的靶抗原结合至少约50%(诸如,至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、

85%、90%、95%、98%或99%中的任一项)时,第一抗体或其片段与第二抗体或其片段“竞争”结合靶抗原,反之亦然。PCT公开号WO 03/48731中描述了一种基于抗体交叉竞争对抗体进行“分箱”的高通量方法。

[0103] 如本文所用,术语“特异性结合”、“特异性识别”和“特异性针对”是指可测量的和可再现的相互作用,诸如靶标与抗体或抗体部分之间的结合,在包括生物分子的异源分子群体存在时用于确定靶标的存在。例如,特异性识别靶标(可为表位)的抗体或抗体部分是与结合其他靶标相比以更大的亲和力或亲合力、更容易地和/或以更长的持续时间结合该靶标的抗体或抗体部分。在一些实施方案中,通过例如放射免疫测定(RIA)测得,抗体与无关靶标的结合程度小于抗体与靶标结合的约10%。在一些实施方案中,特异性结合靶标的抗体具有 $\leq 10^{-5}\text{M}$ 、 $\leq 10^{-6}\text{M}$ 、 $\leq 10^{-7}\text{M}$ 、 $\leq 10^{-8}\text{M}$ 、 $\leq 10^{-9}\text{M}$ 、 $\leq 10^{-10}\text{M}$ 、 $\leq 10^{-11}\text{M}$ 或 $\leq 10^{-12}\text{M}$ 的结合解离常数(K_D)。在一些实施方案中,抗体特异性结合在不同物种的蛋白质间保守的蛋白质表位。在一些实施方案中,特异性结合可包括但不要求排他性结合。抗体或抗原结合结构域的结合特异性可以通过本领域已知的方法实验确定。这些方法包括但不限于Octet、Western印迹、ELISA、RIA、ECL、IRMA、EIA、BIAcore™检验和肽扫描。

[0104] “结合亲和力”通常指分子(例如抗体)的单个结合位点与其结合配偶体(例如抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另有说明,否则如本文所用,“结合亲和力”是指反映结合对成员之间1:1相互作用的内在结合亲和力。结合亲和力可由 K_D 、 K_{off} 、 K_{on} 或 K_a 表示。如本文所用,术语“ K_{off} ”意指抗体(或抗原结合结构域)从抗体/抗原复合物解离的解离速率常数,如由动力学选择设置所确定,以 s^{-1} 为单位表示。如本文所用,术语“ K_{on} ”意指抗体(或抗原结合结构域)与抗原结合形成抗体/抗原复合物的结合速率常数,以 $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 为单位表示。如本文所用,术语平衡解离常数“ K_D ”或“ K_d ”是指特定抗体-抗原相互作用的结合解离常数,并且描述了在平衡时占据抗体分子溶液中存在的所有抗体结合结构域的一半所需的抗原浓度,并且等于 $K_{\text{off}}/K_{\text{on}}$,以M为单位表示。 K_d 的测量假设所有结合剂均在溶液中。在抗体束缚于细胞壁的情况下,例如在酵母表达系统中,相应的平衡速率常数表示为 EC_{50} ,与 K_d 近似。亲和常数 K_a 是结合解离常数 K_d 的倒数,以 M^{-1} 为单位表示。结合解离常数(K_D 或 K_d)用作表示抗体对抗原亲和力的指标。例如,根据试剂盒附带的使用者手册和实验操作方法,通过使用各种标记试剂标记的抗体的Scatchard方法,以及通过使用作为非处方的BiacoreX(由Amersham Biosciences制备)、测量试剂盒或类似试剂盒,可以轻松地进行分析。使用这些方法可以得到的 K_D 值以M(摩尔)为单位表示。与靶标特异性结合的抗体或其抗原结合片段可具有例如 $\leq 10^{-5}\text{M}$ 、 $\leq 10^{-6}\text{M}$ 、 $\leq 10^{-7}\text{M}$ 、 $\leq 10^{-8}\text{M}$ 、 $\leq 10^{-9}\text{M}$ 、 $\leq 10^{-10}\text{M}$ 、 $\leq 10^{-11}\text{M}$ 或 $\leq 10^{-12}\text{M}$ 的结合解离常数的(K_d)。

[0105] 半数抑制浓度(IC_{50})是物质(诸如抗体)抑制特定生物学或生物化学功能的有效性的量度。它表明需要多少特定药物或其他物质(抑制剂,诸如抗体)来抑制给定的生物过程(例如,白蛋白和CD155之间的结合,或过程的组分,即酶、细胞受体或微生物)的一半。这些值通常表示为摩尔浓度。对于激动剂药物或其他物质(诸如抗体)而言, IC_{50} 与“ EC_{50} ”相当。 EC_{50} 也代表在体内获得最大效果的50%所需的血浆浓度。如本文所用,“ IC_{50} ”用于指示体外中和50%的抗原生物活性(诸如白蛋白生物活性)所需的抗体(诸如抗白蛋白sdAb)的有效浓度。 IC_{50} 或 EC_{50} 可通过生物测定来测量,例如通过FACS分析(竞争结合测定)、基于细胞的细胞因子释放测定或放大发光邻近均相测定(AlphaLISA)来测定配体结合的抑制。

[0106] 如本文所用,术语“细胞因子”应理解为是指任何蛋白质或肽、其类似物或功能性片段,它们能够在哺乳动物中刺激或诱导针对预选细胞类型(例如,癌细胞或病毒感染的细胞)的杀细胞免疫应答。因此,预期可将多种细胞因子纳入本申请中。有用的细胞因子包括,例如,肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素(IL)、淋巴因子(L)、集落刺激因子(CSF)、干扰素(IFN),包括能够刺激或诱导这种杀细胞免疫应答的其物种变体、截短类似物。有用的肿瘤坏死因子包括,例如,TNF α 。有用的淋巴因子包括,例如,LT。有用的集落刺激因子包括,例如,GM-CSF和M-CSF。有用的白细胞介素包括,例如,IL-2、IL-4、IL-5、IL-7、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、IL22和IL-33。有用的干扰素包括,例如,IFN- α 、IFN- α 和IFN- γ 。术语“细胞因子”也应理解为包括野生型细胞因子的任何变体(诸如IL-21、IL-7、IL-15等),其包括修饰并保持其任何期望功能的至少重要部分(诸如至少约50%)。

[0107] 如本文所用,术语“截短IL-21”是指包括IL-21的蛋白质或肽,该IL-21在野生型IL-21的C末端和N末端之一或两者具有一个或多个氨基酸的缺失。包括本文所述的截短IL-21的融合蛋白可具有其他部分或结构域,诸如抗原结合部分、接头、信号序列或白蛋白结合部分,尽管融合蛋白中的IL-21是比野生型IL-21少至少一个氨基酸的截短形式。在一些实施方案中,野生型IL-21具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列。

[0108] 编码本文所述的构建体、抗体或其抗原结合片段的“分离的”核酸分子是从至少一种污染物核酸分子中鉴定和分离出来的核酸分子,该核酸分子通常在其产生的环境中与所述至少一种污染物核酸分子结合。优选地,分离的核酸不与和产生环境相关的所有组分结合。编码本文所述的多肽和抗体的分离的核酸分子的形式不同于其在自然界中所存在的形式或背景。因此,分离的核酸分子与编码本文所述的天然存在于细胞中的多肽和抗体的核酸不同。分离的核酸包括在通常含有该核酸分子的细胞中所含的核酸分子,但该核酸分子存在于染色体外或存在于不同于其天然染色体位置的染色体位置处。

[0109] 术语“控制序列”是指在特定宿主生物体中表达可操作连接的编码序列所必需的DNA序列。例如,适用于原核生物的控制序列包括启动子、任选的操纵子序列和核糖体结合位点。已知真核细胞利用启动子、聚腺苷酸化信号和增强子。

[0110] 当核酸与另一核酸序列处于功能关系时,该核酸是“可操作连接的”。例如,如果前序列或分泌前导序列的DNA表达为参与多肽分泌的前蛋白,则其与多肽的DNA可操作连接;如果启动子或增强子影响编码序列的转录,则其与该序列可操作连接;或者如果核糖体结合位点被定位成便于翻译,则其与编码序列可操作连接。通常,“可操作连接”是指被连接的DNA序列是邻接的,并且在分泌前导序列的情况下是邻接的并且处于阅读相中。然而,增强子不必是邻接的。连接通过在方便的限制性位点处的连接反应来完成。如果不存在此类位点,则根据常规实践使用合成的寡核苷酸衔接子或接头。

[0111] 如本文所用,术语“载体”是指能够繁殖与其连接的另一个核酸的核酸分子。该术语包括作为自我复制核酸结构的载体以及整合到已将其引入的宿主细胞的基因组中的载体。某些载体能够指导与它们可操作连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。

[0112] 如本文所用,术语“转染的”或“转化的”或“转导的”是指将外源核酸转移或引入宿主细胞的过程。“转染的”或“转化的”或“转导的”细胞是已用外源核酸转染、转化或转导的细胞。该细胞包括原代受试者细胞及其后代。

[0113] 术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用,并且是指其中已引入外源核酸的细胞,包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“转化细胞”,其包括原代转化细胞和由其衍生的后代,而不考虑传代次数。后代在核酸内容上可能与亲本细胞不完全相同,而是可以包括突变。本文中包括与在原始转化细胞中筛选或选择的具有相同功能或生物学活性的突变体后代。

[0114] 如本文所用,“治疗(treatment或treating)”是用于获得有益或期望的结果,包括临床结果的方法。为了达到本申请的目的,有益的或期望的临床结果包括但不限于以下的一项或多项:缓解由疾病引起的一种或多种症状,减轻疾病的程度,稳定疾病(例如,预防或延迟疾病的恶化),预防或延迟疾病的扩散(例如,转移),预防或延迟疾病的复发,延迟或减缓疾病的进展,改善疾病状态,提供疾病的缓解(部分或全部),减少治疗疾病所需的一种或多种其他药物的剂量,延迟疾病的进展,提高或改善生活质量,提高增重和/或延长生存期。“治疗”还包括癌症的病理结果(例如,肿瘤体积)的减少。本申请的方法考虑了这些治疗方面中的任一个或多个方面。

[0115] 在癌症的上下文中,术语“治疗”包括以下任一项或全部:抑制癌细胞的生长,抑制癌细胞的复制,减轻总体肿瘤负荷,以及改善与疾病相关的一种或多种症状。

[0116] 术语“抑制(inhibition或inhibit)”是指任何表型特征的减少或停止,或指该特征的发生率、程度或可能性的减少或停止。“降低”或“抑制”是指与参照相比,减少、降低或阻止活性、功能和/或量。在某些实施方案中,“降低”或“抑制”是指引起20%或更大的总体减少的能力。在另一个实施方案中,“降低”或“抑制”是指引起50%或更大的总体减少的能力。在又一个实施方案中,“降低”或“抑制”是指引起75%、85%、90%、95%或更大的总体减少的能力。

[0117] 如本文所用,“参照”是指用于比较目的的任何样本、标准或水平。可从健康和/或未患病的样本获得参照。在一些示例中,从未处理的样本获得参照。在一些示例中,从个体的未患病的或未处理的样本获得参照。在一些示例中,从不是该个体或患者的一个或多个健康个体获得参照。

[0118] 如本文所用,“延迟疾病的发展”是指推迟、阻碍、减缓、延缓、稳定、抑制和/或延期疾病(诸如癌症)的发展。这种延迟可具有不同的时间长度,具体取决于疾病史和/或接受治疗的个体。对本领域技术人员来说显而易见的是,充分或显著的延迟实际上可包括预防,即个体不会患该疾病。例如,晚期癌症,诸如转移的发展,可被延迟。

[0119] 如本文所用,“预防”包括针对可能易患该疾病但尚未被诊断出患有该疾病的个体中疾病的发生或复发提供预防。

[0120] 如本文所用,“抑制”功能或活性是指当与除所关注的条件或参数之外其他相同条件相比时,或者另选地,与另一种条件相比时,降低功能或活性。例如,与不存在抗体时肿瘤的生长速率相比,抑制肿瘤生长的抗体降低肿瘤的生长速率。

[0121] 术语“受试者”、“个体”和“患者”在本文中可互换使用,是指哺乳动物,包括但不限于人、牛、马、猫、犬、啮齿动物或灵长类动物。在一些实施方案中,个体是人。

[0122] 药剂的“有效量”是指所需剂量和时间段内有效实现期望的治疗或预防结果的量。该术语还适用于将提供用于通过本文所述的成像方法中的任一种检测的图像的剂量。具体剂量可根据以下一项或多项而变化:所选择的特定药剂、要遵循的给药方案、该药剂是否与

其他化合物组合施用、施用时间、要成像的组织以及携带该药剂的物理递送系统。

[0123] 本申请的物质/分子、激动剂或拮抗剂的“治疗有效量”可根据诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重,以及所述物质/分子、激动剂或拮抗剂在个体中引发期望应答的能力等因素而变化。治疗有效量也是物质/分子、激动剂或拮抗剂的治疗有益作用超过任何毒性或有害作用的量。治疗有效量可在一次或多次施用中递送。

[0124] “预防有效量”是指在所需剂量和时间段内有效实现期望的预防结果的量。通常但不是必须的,由于预防性剂量在受试者中在疾病较早阶段之前或在疾病较早阶段使用,故预防有效量小于治疗有效量。

[0125] 术语“药物制剂”和“药物组合物”是指这样一种制剂,其形式使得活性成分的生物活性有效,并且不含对施用该制剂的个体具有不可接受的毒性的额外组分。此类制剂可为无菌的。

[0126] “药学上可接受的载体”是指本领域常规的用于与治疗剂一起使用的无毒固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、包封材料、制剂助剂或载体,它们一起构成用于向个体施用的“药物组合物”。药学上可接受的载体在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒,并且与制剂的其他成分相容。药学上可接受的载体适合于所采用的制剂。

[0127] “无菌”制剂是无菌的或基本上不含活微生物及其孢子。

[0128] 与一种或多种其他治疗剂“组合”施用包括以任何顺序同时(并行)和连续或依次施用。

[0129] 本文所用的术语“并行”是指两种或更多种治疗剂的施用,其中至少部分施用在时间上重叠,或者其中一种治疗剂的施用落入相对于另一种治疗剂的施用的短时间段内。例如,施用两种或更多种治疗剂的时间间隔不超过约60分钟,诸如不超过约30分钟、15分钟、10分钟、5分钟或1分钟中的任一者。

[0130] 本文所用的术语“依次”是指两种或更多种治疗剂的施用,其中一种或多种药剂的施用在停止一种或多种其他药剂的施用之后继续。例如,两种或更多种治疗剂的施用以大于约15分钟的时间间隔施用,诸如约20分钟、30分钟、40分钟、50分钟或60分钟、1天、2天、3天、1周、2周或1个月中的任一者,或者更长。

[0131] 如本文所用,“联合”是指除了一种治疗方式之外施用另一种治疗方式。因此,“联合”是指在对个体施用一种治疗方式之前、期间或之后施用另一种治疗方式。

[0132] 术语“包装说明书”用于指通常包括在治疗产品的商业包装中的说明书,其含有关于涉及此类治疗产品使用的适应症、用法、剂量、施用、联合疗法、禁忌症和/或警告的信息。

[0133] “制品”是包含至少一种药剂(例如,用于治疗疾病或病症(例如,癌症)的药物)或用于特异性检测本文所述的生物标记物的探针的任何制造品(例如,包装或容器)或试剂盒。在某些实施方案中,制造品或试剂盒作为用于实施本文所述方法的单元进行推广、分销或销售。

[0134] 应当理解,本文所述的本申请的实施方案包括“由……组成”和/或“基本上由……组成”的实施方案。

[0135] 本文中对“约”值或参数的提及包括(并描述)针对该值或参数本身的变化。例如,提及“约X”的描述包括对“X”的描述。

[0136] 如本文所用,提及“不”值或参数通常是指并描述“除了……以外”值或参数。例如,

该方法不用于治疗X型癌症,意味着该方法用于治疗除了X型以外的其他类型的癌症。

[0137] 本文所用的术语“约X-Y”具有与“约X至约Y”相同的含义。

[0138] 如本文和所附权利要求中所使用的,单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数指代,除非上下文另有明确说明。

[0139] II-A. 包括白蛋白结合部分的融合蛋白

[0140] 本文提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) 细胞因子,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb)。在一些实施方案中,融合蛋白包括a) 选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22的细胞因子,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb)。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括单结构域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的C末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头(诸如具有约一至三十个氨基酸)连接。在一些实施方案中,白蛋白结合部分是单结构域抗体(诸如V_HH抗体)。具有相对小分子量的sdAb可有助于增加融合蛋白的癌渗透,从而使其更适于治疗某些癌症,例如实体瘤。

[0141] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-21,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb)。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80% (诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体(诸如单结构域抗体(sdAb),诸如V_HH单结构域抗体)。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,IL-21是截短IL-21。在一些实施方案中,截短IL-21包括SEQ ID NO:126、171或172的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一接头是刚性接头。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:21、22和24。在一些实施方案中,第一接头是柔性接头。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-14。

[0142] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-21,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中IL-21包括SEQ ID NO:1、2、126、171或172的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:1、2、126、171或172具有至少约80% (诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施

方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,IL-21是截短IL-21。在一些实施方案中,截短IL-21包括SEQ ID NO:126、171或172的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一接头是刚性接头。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:21、22和24。在一些实施方案中,第一接头是柔性接头。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-14。

[0143] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-21,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中IL-21包括SEQ ID NO:1、2、126、171或172的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:1、2、126、171或172具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体或其片段(诸如单结构域抗体,诸如V_H抗体)。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,IL-21是截短IL-21。在一些实施方案中,截短IL-21包括SEQ ID NO:126、171或172的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一接头是刚性接头。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:21、22和24。在一些实施方案中,第一接头是柔性接头。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-14。

[0144] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-7,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb)。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体(诸如单结构域抗体(sdAb),诸如V_H单结构域抗体)。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基

酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,第一接头是刚性接头。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:21、22和24。在一些实施方案中,第一接头是柔性接头。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-14。

[0145] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-7,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中IL-7包括SEQ ID NO:96-98中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:96-98中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。

[0146] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-7,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中IL-7包括SEQ ID NO:96-98中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:96-98中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体或其片段(诸如单结构域抗体,诸如V_HH抗体)。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。

[0147] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-15,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb)。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、

98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体(诸如单结构域抗体(sdAb),诸如V_HH单结构域抗体)。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,细胞因子是IL-15R α 或与IL-15R α 或其片段结合的IL-15,并且其中IL-15R α 或与IL-15R α 或其片段结合的IL-15包括SEQ ID NO:101-108中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:101-108中的任一项具有至少约80%的序列同一性。在一些实施方案中,细胞因子包括IL-15和IL-15R α 。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R α 通过接头(“IL-15和IL-15R α 之间的接头”)连接。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R α 之间的接头是可切割的。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R α 之间的接头是不可切割的。

[0148] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-15,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中IL-15包括SEQ ID NO:99、100或127中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:99、100或127中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,细胞因子是IL-15R α 或与IL-15R α 或其片段结合的IL-15,并且其中IL-15R α 或与IL-15R α 或其片段结合的IL-15包括SEQ ID NO:101-108中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:101-108中的任一项具有至少约80%的序列同一性。在一些实施方案中,细胞因子包括IL-15和IL-15R α 。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R α 通过接头(“IL-15和IL-15R α 之间的接头”)连接。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R α 之间的接头是可切割的。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R α 之间的接头是不可切割的。

[0149] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-15,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中IL-15包括SEQ ID NO:99、100或127中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:99、100或127中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体或其片段(诸如单结构域抗体,诸如V_HH抗体)。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第

二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,细胞因子是IL-15 α 或与IL-15 α 或其片段结合的IL-15,并且其中IL-15 α 或与IL-15 α 或其片段结合的IL-15包括SEQ ID NO:101-108中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:101-108中的任一项具有至少约80%的序列同一性。在一些实施方案中,细胞因子包括IL-15和IL-15 α 。在一些实施方案中,IL-15和IL-15 α 通过接头(“IL-15和IL-15 α 之间的接头”)连接。在一些实施方案中,IL-15和IL-15 α 之间的接头是可切割的。在一些实施方案中,IL-15和IL-15 α 之间的接头是不可切割的。

[0150] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)包括IL-15R sushi结构域的细胞因子,和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb)。在一些实施方案中,IL-15R sushi结构域包括SEQ ID NO:127-128中的任一项的氨基酸序列或其变体或由其组成,该变体与SEQ ID NO:127-128中的任一项具有至少80%(诸如,至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,融合蛋白不包括IL-15。在一些实施方案中,融合蛋白还包括IL-15。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R sushi结构域通过接头(“IL-15和IL-15R sushi结构域之间的接头”)连接。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R sushi结构域之间的接头是可切割的。在一些实施方案中,IL-15和IL-15sushi结构域之间的接头是不可切割的。

[0151] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)与IL-15 α 结合的IL-15,该IL-15包括IL-15和IL-15 α ,和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb)。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至IL-15或IL-15 α 之一。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至IL-15和IL-15 α 两者。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至IL-15 α 的N末端和/或C末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至IL-15的N末端和/或C末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至IL-15和/或IL-15 α 的C末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至IL-15和/或IL-15 α 的N末端。在一些实施方案中,IL-15非共价结合至IL-15 α 。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15 α 。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15 α 的N末端。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15 α 的C末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分还融合至第二细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体(诸如单结构域抗体(sdAb),诸如V_H单结构域抗体)。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,IL-15和IL-15 α 通过第二接头融合。在一些实施方案中,第二接头是可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:27-45。在一些实施方案中,第二接头具有SEQ ID NO:27的序

列。在一些实施方案中,第二接头是不可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,与IL-15 α 或其片段结合的IL-15包括SEQ ID NO:101-108中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:101-108中的任一项具有至少约80%的序列同一性。在一些实施方案中,IL-15和IL-15 α 通过接头(“IL-15和IL-15 α 之间的接头”)连接。在一些实施方案中,IL-15和IL-15 α 之间的接头是可切割的。在一些实施方案中,IL-15和IL-15 α 之间的接头是不可切割的。

[0152] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)与IL-15 α 结合的IL-15,该IL-15包括IL-15和IL-15 α ,和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该融合蛋白从N末端至C末端以选自以下的顺序包括所述IL-15、IL-15 α 和白蛋白结合部分:(1)白蛋白结合部分、IL-15、IL-15 α ; (2)白蛋白结合部分、IL-15 α 、IL-15; (3)IL-15、IL-15 α 、白蛋白结合部分; (4)IL-15 α 、IL-15、白蛋白结合部分。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80% (诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体(诸如单结构域抗体(sdAb),诸如V_H单结构域抗体)。在一些实施方案中,细胞因子(IL-15或IL-15 α)和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,IL-15和IL-15 α 通过第二接头融合。在一些实施方案中,第二接头是可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:27-45。在一些实施方案中,第二接头具有SEQ ID NO:27的序列。在一些实施方案中,第二接头是不可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,与IL-15 α 或其片段结合的IL-15包括SEQ ID NO:101-108中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:101-108中的任一项具有至少约80%的序列同一性。在一些实施方案中,IL-15和IL-15 α 通过接头(“IL-15和IL-15 α 之间的接头”)连接。在一些实施方案中,IL-15和IL-15 α 之间的接头是可切割的。在一些实施方案中,IL-15和IL-15 α 之间的接头是不可切割的。

[0153] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)与IL-15 α 结合的IL-15,该IL-15包括IL-15和IL-15 α ,和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该IL-15包括SEQ ID NO:99、100或127中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:99、100或127中的任一项具有至少约80% (诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:

3-11中的任一项具有至少约80% (诸如, 至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项) 的序列同一性。在一些实施方案中, 细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中, 第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中, 第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中, IL-15非共价结合至IL-15R α 。在一些实施方案中, IL-15融合至IL-15R α 。在一些实施方案中, IL-15融合至IL-15R α 的N末端。在一些实施方案中, IL-15融合至IL-15R α 的C末端。在一些实施方案中, 融合蛋白从N末端至C末端以选自以下的顺序包括所述IL-15、IL-15R α 和白蛋白结合部分: (1) 白蛋白结合部分、IL-15、IL-15R α ; (2) 白蛋白结合部分、IL-15R α 、IL-15; (3) IL-15、IL-15R α 、白蛋白结合部分; (4) IL-15R α 、IL-15、白蛋白结合部分。在一些实施方案中, IL-15和IL-15R α 通过第二接头融合。在一些实施方案中, 第二接头是可切割接头。在一些实施方案中, 第二接头选自SEQ ID NO:27-45。在一些实施方案中, 第二接头具有SEQ ID NO:27的序列。在一些实施方案中, 第二接头是不可切割接头。在一些实施方案中, 第二接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中, 与IL-15R α 或其片段结合的IL-15包括SEQ ID NO:101-108中的任一项的氨基酸序列或其变体, 该变体与SEQ ID NO:101-108中的任一项具有至少约80%的序列同一性。在一些实施方案中, IL-15和IL-15R α 通过接头 (“IL-15和IL-15R α 之间的接头”) 连接。在一些实施方案中, IL-15和IL-15R α 之间的接头是可切割的。在一些实施方案中, IL-15和IL-15R α 之间的接头是不可切割的。

[0154] 在一些实施方案中, 提供了融合蛋白, 该融合蛋白包括: a) 与IL-15R α 结合的IL-15, 该IL-15包括IL-15和IL-15R α , 和b) 白蛋白结合部分 (诸如与白蛋白结合的sdAb), 其中该IL-15包括SEQ ID NO:99、100或127中的任一项的氨基酸序列或其变体, 该变体与SEQ ID NO:99、100或127中的任一项具有至少约80% (诸如, 至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项) 的序列同一性, 并且其中白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体或其片段 (诸如单结构域抗体, 诸如V_HH抗体)。在一些实施方案中, 细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中, 细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中, 白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中, 与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中, 白蛋白结合部分与人血清白蛋白 (HSA) 和/或食蟹猴血清白蛋白 (CMSA) 结合。在一些实施方案中, 细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中, 第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中, 第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中, IL-15非共价结合至IL-15R α 。在一些实施方案中, IL-15融合至IL-15R α 。在一些实施方案中, IL-15融合至IL-15R α 的N末端。在一些实施方案中, IL-15融合至IL-15R α 的C末端。在一些实施方案中, 融合蛋白从N末端至C末端以选自以下的顺序包括所述IL-15、IL-15R α 和白蛋白结合部分: (1) 白蛋白结合部分、IL-15、IL-15R α ; (2) 白蛋白结合部分、IL-15R α 、IL-15; (3) IL-15、IL-15R α 、白蛋白结合部分; (4) IL-15R α 、IL-15、白蛋白结合部分。在一些实施方案中, IL-15和IL-15R α 通过第二接头融合。在一些实施方案中, 第二接头是可切割接头。在一些实施方案中, 第二接头选自SEQ ID NO:27-45。在一些实施方案中, 第二接头具有SEQ ID NO:27的序列。在一些实施方案中, 第二接头是不可切割接头。在一些实施方案中, 第二接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中, 与IL-15R α 或其片段结合的IL-15包括SEQ ID NO:101-108中的任一项的

氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:101-108中的任一项具有至少约80%的序列同一性。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R α 通过接头(“IL-15和IL-15R α 之间的接头”)连接。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R α 之间的接头是可切割的。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R α 之间的接头是不可切割的。

[0155] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)与IL-15R α 结合的IL-15,该IL-15包括IL-15和IL-15R α ,和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该IL-15R α 包括SEQ ID NO:101-108(诸如SEQ ID NO:103-104)中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:101-108(诸如SEQ ID NO:103-104)中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,IL-15非共价结合至IL-15R α 。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15R α 。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15R α 的N末端。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15R α 的C末端。在一些实施方案中,融合蛋白从N末端至C末端以选自以下的顺序包括所述IL-15、IL-15R α 和白蛋白结合部分:(1)白蛋白结合部分、IL-15、IL-15R α ; (2)白蛋白结合部分、IL-15R α 、IL-15; (3)IL-15、IL-15R α 、白蛋白结合部分; (4)IL-15R α 、IL-15、白蛋白结合部分。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R α 通过第二接头融合。在一些实施方案中,第二接头是可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:27-45。在一些实施方案中,第二接头具有SEQ ID NO:27的序列。在一些实施方案中,第二接头是不可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。

[0156] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)与IL-15R α 结合的IL-15,该IL-15包括IL-15和IL-15R α ,和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该IL-15R α 包括SEQ ID NO:101-108(诸如SEQ ID NO:103-104)中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:101-108(诸如SEQ ID NO:103-104)中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体或其片段(诸如单结构域抗体,诸如V_HH抗体)。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,细

胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,IL-15非共价结合至IL-15R α 。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15R α 。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15R α 的N末端。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15R α 的C末端。在一些实施方案中,融合蛋白从N末端至C末端以选自以下的顺序包括所述IL-15、IL-15R α 和白蛋白结合部分:(1)白蛋白结合部分、IL-15、IL-15R α ; (2)白蛋白结合部分、IL-15R α 、IL-15; (3) IL-15、IL-15R α 、白蛋白结合部分; (4) IL-15R α 、IL-15、白蛋白结合部分。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R α 通过第二接头融合。在一些实施方案中,第二接头是可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:27-45。在一些实施方案中,第二接头具有SEQ ID NO:27的序列。在一些实施方案中,第二接头是不可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。

[0157] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)与IL-15R α 结合的IL-15,该IL-15包括IL-15和IL-15R α ,和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该IL-15包括SEQ ID NO:99、100或127中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:99、100或127中的任一项具有至少约80% (诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,其中该IL-15R α 包括SEQ ID NO:101-108(诸如SEQ ID NO:103-104)中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:101-108(诸如SEQ ID NO:103-104)中的任一项具有至少约80% (诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体或其片段(诸如单结构域抗体,诸如V_H抗体)。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,IL-15非共价结合至IL-15R α 。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15R α 。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15R α 的N末端。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15R α 的C末端。在一些实施方案中,融合蛋白从N末端至C末端以选自以下的顺序包括所述IL-15、IL-15R α 和白蛋白结合部分:(1)白蛋白结合部分、IL-15、IL-15R α ; (2)白蛋白结合部分、IL-15R α 、IL-15; (3) IL-15、IL-15R α 、白蛋白结合部分; (4) IL-15R α 、IL-15、白蛋白结合部分。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R α 通过第二接头融合。在一些实施方案中,第二接头是可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:27-45。在一些实施方案中,第二接头具有SEQ ID NO:27的序列。在一些实施方案中,第二接头是不可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。

[0158] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)与IL-15R α 结合的IL-15,该IL-15包括IL-15和IL-15R α ,和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中所述IL-15、IL-15R α 和白蛋白结合部分从N末端至C末端以白蛋白结合部分、IL-15、IL-15R α

的顺序,其中该IL-15包括SEQ ID NO:99、100或127中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:99、100或127中的任一项具有至少约80% (诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,其中该IL-15R α 包括SEQ ID NO:101-108 (诸如SEQ ID NO:103-104)中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:101-108 (诸如SEQ ID NO:103-104)中的任一项具有至少约80% (诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体或其片段 (诸如单结构域抗体,诸如V_HH抗体)。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白 (HSA) 和/或食蟹猴血清白蛋白 (CMSA) 结合。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,IL-15和IL-15R α 通过第二接头融合。在一些实施方案中,第二接头是可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:27-45。在一些实施方案中,第二接头具有SEQ ID NO:27的序列。在一些实施方案中,第二接头是不可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。

[0159] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-33,和b) 白蛋白结合部分 (诸如与白蛋白结合的sdAb)。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白 (HSA) 和/或食蟹猴血清白蛋白 (CMSA) 结合。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域 (ABD)。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80% (诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体 (诸如单结构域抗体 (sdAb), 诸如V_HH单结构域抗体)。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,在细胞因子和白蛋白结合部分之间不存在接头。

[0160] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-33,和b) 白蛋白结合部分 (诸如与白蛋白结合的sdAb), 其中IL-33包括SEQ ID NO:109和155-157中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:109和155-157中的任一项具有至少约80% (诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。

在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,在细胞因子和白蛋白结合部分之间不存在接头。

[0161] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-33,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中IL-33包括SEQ ID NO:109和155-157中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:109和155-157中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体或其片段(诸如单结构域抗体,诸如V_H抗体)。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,在细胞因子和白蛋白结合部分之间不存在接头。

[0162] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-22,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb)。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体(诸如单结构域抗体(sdAb),诸如V_H单结构域抗体)。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。

[0163] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-22,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中IL-22包括SEQ ID NO:109-110中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:99、100或127中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域。在一些实施方案中,细胞因子

融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。

[0164] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a) IL-22,和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中IL-22包括SEQ ID NO:109-110中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:109-110中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性,并且其中白蛋白结合部分包括抗白蛋白抗体或其片段(诸如单结构域抗体,诸如V_H抗体)。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的C末端。在一些实施方案中,细胞因子融合至白蛋白结合部分的N末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端和C末端两者。在一些实施方案中,与第一细胞因子相同或不同的第二细胞因子融合至白蛋白结合部分的另一末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。

[0165] 包括抗原结合部分的融合蛋白

[0166] 本文还提供了一种融合蛋白,包括:a) 融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”),和b) 抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原结合。这样的融合蛋白提供了多种优点。例如,在一些实施方案中,与肿瘤抗原结合的抗原结合部分使得细胞因子能够局部递送至癌症附近,导致较低的脱靶毒性和增加的功效。

[0167] 这样的融合蛋白由于其三级结构和整体构型设计,提供了某些优点。例如,在一些实施方案中,细胞因子(诸如IL-21)通过可切割接头(诸如MMP敏感型接头)融合至白蛋白结合部分的C末端,并且抗原结合部分融合至白蛋白结合部分的N末端。融合蛋白中的细胞因子(诸如IL-21)可被暂时阻断与细胞因子受体(诸如IL-21R)的相互作用,因为它们的相互作用可能需要其N末端(在三级结构中靠近C末端)。当融合蛋白与肿瘤抗原结合时,因为已知癌细胞分泌多种MMP,如果接头可被MMP切割并变得有活性,则细胞因子(诸如IL-21)可从融合蛋白中释放。MMP敏感型接头确保通常具有较高MMP活性的癌症对活性细胞因子有较高的暴露。因此,可避免细胞因子(诸如IL-21)的不必要的毒性和副作用。此外,通过阻止细胞因子(诸如IL-21)和外周免疫细胞上的细胞因子受体(诸如IL-21R α)之间的相互作用,可提高融合蛋白的癌症递送效率。

[0168] 在一些实施方案中,白蛋白结合部分是单结构域抗体(诸如V_H抗体)。在一些实施

方案中,抗原结合部分是单结构域抗体(诸如 V_H H抗体)。在一些实施方案中,白蛋白结合部分和抗原结合部分都是单结构域抗体(诸如 V_H H抗体)。

[0169] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”),和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的,其中白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端,并且其中抗原结合部分连接至细胞因子-ALBBM的N末端。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括单结构域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,sdAb是 V_H H单结构域抗体。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分通过第二接头融合至细胞因子-ALBBM。在一些实施方案中,第二接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第二接头是可切割的。在一些实施方案中,可切割接头是基质金属蛋白酶、豆荚蛋白、蛋白裂解酶或尿激酶敏感型接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-45和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原结合。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自间皮素(MSLN)、GPA33、Her-2、EGFR和CD20。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA和BCMA。在一些实施方案中,抗原结合部分是抗体或其片段。在一些实施方案中,抗原结合部分包括单结构域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,抗原结合部分包括 V_H H单结构域抗体。在一些实施方案中,sdAb与间皮素结合。

[0170] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”),和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的,其中白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端,并且其中抗原结合部分连接至细胞因子-ALBBM的C末端。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括单结构域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,sdAb是 V_H H单结构域抗体。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分通过第二接头融合至细胞因子-ALBBM。在一些实施方案中,第二接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第二接头是可切割的。在一些实施方案中,

可切割接头是基质金属蛋白酶、豆荚蛋白、蛋白裂解酶或尿激酶敏感型接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-45和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原结合。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自间皮素 (MSLN)、GPA33、Her-2、EGFR和CD20。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA和BCMA。在一些实施方案中,抗原结合部分是抗体或其片段。在一些实施方案中,抗原结合部分包括单结构域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,抗原结合部分包括V_HH单结构域抗体。在一些实施方案中,sdAb与间皮素结合。

[0171] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”),和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的,其中白蛋白结合部分融合至细胞因子的C末端,并且其中抗原结合部分连接至细胞因子-ALBBM的C末端。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括单结构域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,sdAb是V_HH单结构域抗体。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分通过第二接头融合至细胞因子-ALBBM。在一些实施方案中,第二接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第二接头是可切割的。在一些实施方案中,可切割接头是基质金属蛋白酶、豆荚蛋白、蛋白裂解酶或尿激酶敏感型接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-45和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原结合。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自间皮素 (MSLN)、GPA33、Her-2、EGFR和CD20。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA和BCMA。在一些实施方案中,抗原结合部分是抗体或其片段。在一些实施方案中,抗原结合部分包括单结构域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,抗原结合部分包括V_HH单结构域抗体。在一些实施方案中,sdAb与间皮素结合。

[0172] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”),和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的,其中白蛋白结合部分融合至细胞因子的C末端,并且其中抗原结合部分连接至细胞因子-ALBBM的N末端。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括单结构域抗体

(sdAb)。在一些实施方案中,sdAb是V_HH单结构域抗体。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分通过第二接头融合至细胞因子-ALBBM。在一些实施方案中,第二接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第二接头是可切割的。在一些实施方案中,可切割接头是基质金属蛋白酶、豆荚蛋白、蛋白裂解酶或尿激酶敏感型接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-45和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原结合。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自间皮素(MSLN)、GPA33、Her-2、EGFR和CD20。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA和BCMA。在一些实施方案中,抗原结合部分是抗体或其片段。在一些实施方案中,抗原结合部分包括单结构域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,抗原结合部分包括V_HH单结构域抗体。在一些实施方案中,sdAb与间皮素结合。

[0173] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”),和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的,其中白蛋白结合部分是白蛋白结合结构域(ABD),并且其中抗原结合部分是与肿瘤抗原结合的单结构域抗体(诸如与肿瘤抗原结合的V_HH抗体)。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,抗原结合部分连接至细胞因子-ALBBM的N末端或C末端。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分通过第二接头融合至细胞因子-ALBBM。在一些实施方案中,第二接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第二接头是可切割的。在一些实施方案中,可切割接头是基质金属蛋白酶、豆荚蛋白、蛋白裂解酶或尿激酶敏感型接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-45和158-159。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自间皮素(MSLN)、GPA33、Her-2、EGFR和CD20。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA和BCMA。在一些实施方案中,抗原结合部分包括V_HH单结构域抗体。在一些实施方案中,sdAb与间皮素结合。

[0174] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”),和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的,其中白蛋白结合部分是单结构域抗体(“抗白蛋白dsAb”,诸如抗白蛋白V_HH抗体),并且其中抗原结合部分是与肿瘤抗原结合的单结构域抗体(诸如与肿瘤抗原结合的V_HH抗体)。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,抗原结合部分连接至细胞因子-ALBBM的N末端或C末端。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33

和IL-22。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,抗白蛋白sdAb为V_H单结构域抗体。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分通过第二接头融合至细胞因子-ALBBM。在一些实施方案中,第二接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第二接头是可切割的。在一些实施方案中,可切割接头是基质金属蛋白酶、豆荚蛋白、蛋白裂解酶或尿激酶敏感型接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-45和158-159。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自间皮素(MSLN)、GPA33、Her-2、EGFR和CD20。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA和BCMA。在一些实施方案中,抗原结合部分包括V_H单结构域抗体。在一些实施方案中,sdAb与间皮素结合。

[0175] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”),和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的,其中白蛋白结合部分是白蛋白结合结构域或单结构域抗体(“抗白蛋白dsAb”,诸如抗白蛋白V_HH抗体),并且其中抗原结合部分是抗间皮素单结构域抗体(诸如抗MSLN V_HH抗体)。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,抗原结合部分连接至细胞因子-ALBBM的N末端或C末端。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80% (诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括单结构域抗体(sdAb),该单结构域抗体包括V_H单结构域抗体。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分通过第二接头融合至细胞因子-ALBBM。在一些实施方案中,第二接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第二接头是可切割的。在一些实施方案中,可切割接头是基质金属蛋白酶、豆荚蛋白、蛋白裂解酶或尿激酶敏感型接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-45和158-159。

[0176] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”),和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的,其中白蛋白结合部分是白蛋白结合结构域或单结构域抗体(“抗白蛋白dsAb”,诸如抗白蛋白V_HH抗体),并且其中抗原结合部分是与肿瘤抗原结合的单结构域抗体,其中细胞因子是IL-21。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,抗原结合部分连接至细胞因子-ALBBM的N末端或C末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80% (诸如,至少约80%、

85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括单结构域抗体(sdAb),该单结构域抗体包括V_H单结构域抗体。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分通过第二接头融合至细胞因子-ALBBM。在一些实施方案中,第二接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第二接头是可切割的。在一些实施方案中,可切割接头是基质金属蛋白酶、豆荚蛋白、蛋白裂解酶或尿激酶敏感型接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-45和158-159。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自间皮素(MSLN)、GPA33、Her-2、EGFR和CD20。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA和BCMA。在一些实施方案中,抗原结合部分包括V_H单结构域抗体。在一些实施方案中,sdAb与间皮素结合。

[0177] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”),和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的,其中白蛋白结合部分是白蛋白结合结构域或单结构域抗体(“抗白蛋白dsAb”,诸如抗白蛋白V_HH抗体),并且其中抗原结合部分包括抗间皮素单结构域抗体,该抗间皮素单结构域抗体包括抗间皮素重链可变区(抗MSLN V_H),其中:a)抗MSLN V_H包括含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的CDR1或在CDR1中包括至多3、2或1个取代的变体,含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的CDR2或在CDR2中包括至多3、2或1个取代的变体,以及含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的CDR3或在CDR3中包括至多3、2或1个取代的变体;或b)抗MSLN V_H包括含有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的CDR1或在CDR1中包括至多3、2或1个取代的变体,含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的CDR2或在CDR2中包括至多3、2或1个取代的变体,以及含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的CDR3或在CDR3中包括至多3、2或1个取代的变体。在一些实施方案中,白蛋白结合部分融合至细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,抗原结合部分连接至细胞因子-ALBBM的N末端或C末端。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%(诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括单结构域抗体(sdAb),该单结构域抗体包括V_H单结构域抗体。在一些实施方案中,细胞因子和白蛋白结合部分通过第一接头连接。在一些实施方案中,第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,抗原结合部分通过第二接头融合至细胞因子-ALBBM。在一些实施方案中,第二接头具有约一至三十个氨基酸的长度。在一些实施方案中,第二接头是可切割的。在一些实施方案中,可切割接头是基质金属蛋白酶、豆荚蛋白、蛋白裂解酶或尿激酶敏感型接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-45和158-159。

[0178] 在一些实施方案中,融合蛋白包括SEQ ID NO:120-125、129-154和160-167中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:120-125、129-154和160-167中的任一项

具有至少约80% (诸如, 至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项) 的序列同一性。

[0179] A. 融合蛋白特性

[0180] 1. 血清半衰期

[0181] 在一些实施方案中, 当施用给个体时, 融合蛋白的血清半衰期为至少约15天、约14天、约13天、约12天、约11天、约10天、约9天、约8天、约7天、约6天、约5天、约4天、约3天、约2天、约24小时、约20小时、约18小时、约16小时、约14小时、约12小时、约10小时、约8小时、约6小时、约4小时、约3小时、约2小时或约1小时。融合蛋白可通过各种途径施用, 例如静脉内、口服、皮下或腹膜内施用。

[0182] 在一些实施方案中, 融合蛋白的血清半衰期比参照蛋白的血清半衰期长 (例如, 长至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%)。在一些实施方案中, 融合蛋白的血清半衰期是参照蛋白的血清半衰期的至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、12倍、15倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍或50倍。在一些实施方案中, 参照蛋白包括相同的细胞因子和/或相同的抗原结合部分, 但不具有白蛋白结合部分。在一些实施方案中, 相同的细胞因子和相同的抗原结合部分以与融合蛋白相同的顺序并且/或者通过相同的接头融合。

[0183] 2. 稳定性

[0184] 在一些实施方案中, 融合蛋白具有比参照蛋白更高的稳定性。在一些实施方案中, 参照蛋白包括相同的细胞因子和/或相同的抗原结合部分, 但不具有白蛋白结合部分。在一些实施方案中, 相同的细胞因子和相同的抗原结合部分以与融合蛋白相同的顺序并且/或者通过相同的接头融合。

[0185] 在一些实施方案中, 稳定性包括热稳定性。

[0186] 在一些实施方案中, 通过在限定条件下储存后融合蛋白保持可接受程度的化学结构或生物学功能的程度来评估稳定性。在一些实施方案中, 融合蛋白具有高稳定性, 即使其在储存限定量的时间后不维持其化学结构或生物学功能的100%。在一些实施方案中, 在储存限定量的时间后, 能维持如本文所述的融合蛋白的结构或功能的约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%可被认为具有高稳定性。

[0187] 稳定性可通过确定在限定温度下储存限定量的时间后保留在制剂 (液体或重构的) 中的天然 (非聚集或非降解) 融合蛋白的百分比来测量。天然融合蛋白的百分比可通过体积排阻色谱 (例如, 体积排阻高效液相色谱 [SE-HPLC]) 来确定, 所述天然意味着非聚集和非降解。在一些实施方案中, 在某一给定温度下储存限定量的时间后, 在制剂中可检测到至少约90% (诸如, 至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 的天然形式的融合蛋白。在一些实施方案中, 在室温 (约25℃) 下至少约6小时、至少约8小时、至少约10小时、至少约12小时、至少约14小时、至少约16小时、至少约18小时、至少约20小时、至少约22小时、至少约24小时、至少约26小时、至少约28小时、至少约30小时、至少约32小时、至少约34小时、至少约36小时、至少约38小时、至少约40小时、至少约42小时、至少约44小时、至少约46小时或至少约48小时后, 在制剂中可检测到至少约90% (诸如, 至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 的天然形式的融合蛋白。

[0188] 稳定性可通过确定在限定温度下储存限定量的时间后制剂(液体或重构的)中以聚集体形式形成的融合蛋白的百分比来测量,其中稳定性与形成的聚集体的百分比成反比。聚集的融合蛋白的百分比可通过体积排阻色谱(例如,体积排阻高效液相色谱[SE-HPLC])来确定。在一些实施方案中,在给定温度下储存限定量的时间后,制剂中存在少于约10%(优选地少于约5%)的聚集体形式的融合蛋白。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白基本上没有聚集,例如,在给定温度下储存限定量的时间后,例如,在室温(约25℃)下储存至少约6小时、至少约8小时、至少约10小时、至少约12小时、至少约14小时、至少约16小时、至少约18小时、至少约20小时、至少约22小时、至少约24小时、至少约26小时、至少约28小时、至少约30小时、至少约32小时、至少约34小时、至少约36小时、至少约38小时、至少约40小时、至少约42小时、至少约44小时、至少约46小时或至少约48小时后,在制剂中检测到至多约6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%的聚集体形式的融合蛋白。

[0189] 测量融合蛋白与其靶标的结合亲和力也可用于评估稳定性。例如,如果在例如室温(约25℃)下储存限定量的时间(例如,6小时、12小时、24小时、36小时、48小时)后,细胞因子和/或抗原结合结构域具有的亲和力是抗体在所述储存之前的结合亲和力的至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或甚至更高,则本申请的融合蛋白可被认为是稳定的。结合亲和力可通过任何方法确定,例如ELISA或等离子体共振。融合蛋白与这种细胞的结合可直接测量,例如通过FACS分析。

[0190] 3临床特性

[0191] 在一些实施方案中,相对于参照蛋白,本文所述的融合蛋白具有改善的临床特性。在一些实施方案中,与参照蛋白相比,融合蛋白表现出改善的细胞毒性活性。在一些实施方案中,与参照蛋白相比,融合蛋白表现出更高的抗肿瘤效果(诸如,降低肿瘤负荷、提高存活率等)。在一些实施方案中,参照蛋白包括相同的细胞因子和/或相同的抗原结合部分,但不具有白蛋白结合部分。在一些实施方案中,相同的细胞因子和相同的抗原结合部分以与融合蛋白相同的顺序和/或者通过相同的接头融合。

[0192] 细胞毒性

[0193] 本文所述的融合蛋白对细胞的细胞毒性(诸如ADCC活性)可用许多测定法进行测试。例如,将表达可被融合蛋白识别的抗原的癌细胞系和效应细胞(例如,PBMC细胞)在96孔板中混合在一起。将不同浓度的融合蛋白加入每个孔中。温育后,可计算 EC_{50} (代表ADCC活性)。

[0194] 在一些实施方案中,与参照蛋白相比,融合蛋白表现出针对细胞的改善的ADCC活性。在一些实施方案中,细胞特异性融合蛋白的 EC_{50} 不超过参照蛋白的约50%、40%、30%、20%、10%或更低。在一些实施方案中,细胞是肿瘤细胞。在一些实施方案中,肿瘤细胞来源于间皮瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、淋巴瘤、白血病、头颈癌、肝癌、食管癌、胃癌和结肠直肠癌。在一些实施方案中,参照蛋白包括相同的细胞因子和/或相同的抗原结合部分,但不具有白蛋白结合部分。在一些实施方案中,相同的细胞因子和相同的抗原结合部分以与融合蛋白相同的顺序并且/或者通过相同的接头融合。

[0195] 治疗癌症

[0196] 在一些实施方案中,融合蛋白治疗个体中的癌症(例如,通过抑制肿瘤生长)。在一些实施方案中,与参照蛋白相比,融合蛋白表现出针对癌症的增强的抗肿瘤效果。例如,在

一些实施方案中,与参照蛋白相比,融合蛋白的施用使肿瘤负荷降低(诸如,肿瘤体积降低至少约10%、20%、30%、40%或50%)。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、淋巴瘤、白血病、头颈癌、肝癌、食管癌、胃癌和结肠直肠癌。在一些实施方案中,参照蛋白包括相同的细胞因子和/或相同的抗原结合部分,但不具有白蛋白结合部分。在一些实施方案中,相同的细胞因子和相同的抗原结合部分以与融合蛋白相同的顺序并且/或者通过相同的接头融合。

[0197] B. 接头

[0198] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包括细胞因子和白蛋白结合部分之间的第一接头。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包括融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”)和抗原结合部分之间的第二接头。

[0199] 在一些实施方案中,第一接头是刚性接头。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:21、22和24。

[0200] 在一些实施方案中,第一接头是柔性接头。在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-14。

[0201] 在一些实施方案中,第一接头是不可切割接头。

[0202] 在一些实施方案中,第一接头具有约一至四十(诸如一至三十五、一至三十、一至二十五、一至二十、四至二十或四至十六)个氨基酸的长度。

[0203] 在一些实施方案中,第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。

[0204] 在一些实施方案中,第二接头是刚性接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:21、22和24。

[0205] 在一些实施方案中,第二接头是柔性接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-14。

[0206] 在一些实施方案中,第二接头是可切割接头。在一些实施方案中,第二接头是基质金属蛋白酶、豆荚蛋白、蛋白裂解酶或尿激酶敏感型接头。

[0207] 在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-45和158-159。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:27-45。

[0208] 在一些实施方案中,第二接头具有约一至四十(诸如一至三十五、一至三十、一至二十五、一至二十、四至二十、四至十六、四至十二或五至九)个氨基酸的长度。

[0209] 在一些实施方案中,第一和/或第二接头不包括Gly-Gly-Gly-Gly-Ser序列。在一些实施方案中,第一和/或第二接头不是GS接头。

[0210] 融合蛋白中使用的第一和/或第二接头的长度、柔性程度和/或其他特性可对如下特性具有一些影响,包括但不限于对一种或多种组分(诸如细胞因子、白蛋白结合分子和/或抗原结合部分)结合其靶标的亲和力、特异性或亲合力。例如,可选择较长的接头,以确保两个相邻的结构域不会在空间上彼此干扰。在一些实施方案中,接头(诸如肽接头)包括柔性残基(诸如甘氨酸和丝氨酸),使得相邻结构域相对于彼此自由移动。例如,甘氨酸-丝氨酸双联体可为合适的肽接头。在一些实施方案中,接头是非肽接头。在一些实施方案中,接头是肽接头。

[0211] 其他接头考虑因素包括对所得化合物的物理或药代动力学特性的影响,诸如可溶性、亲脂性、亲水性、疏水性、稳定性(或多或少稳定以及有计划的降解)、刚性、柔性、免疫原

性、抗体结合的调节、掺入胶束或脂质体的能力等。

[0212] 非肽接头

[0213] 上述组分的偶联可通过将结合两种分子的任何化学反应来实现,只要这两种组分都保留它们各自的活性,即分别与细胞因子受体、白蛋白或靶抗原结合。这种连接可包括多种化学机制,例如共价结合、亲和结合、嵌入、配位结合和络合。在一些实施方案中,结合是共价结合。共价结合可通过直接缩合现有侧链或通过掺入外部桥联分子来实现。在这种情况下,许多二价或多价连接剂可用于偶联蛋白质分子。例如,代表性的偶联剂可包括有机化合物,诸如硫酯、碳二亚胺、琥珀酰亚胺酯、二异氰酸酯、戊二醛、重氮苯和己二胺。该列表并非旨在穷举本领域已知的各类偶联剂,而是更常见的偶联剂的示例(参见Killen和Lindstrom, *Jour. Immun.*, 第133卷:第1335-2549页,1984年;Jansen等人, *Immunological Reviews*, 第62卷:第185-216页,1982年;以及Vitetta等人, *Science*, 第238卷:第1098页,1987年)。

[0214] 可用于本申请的接头描述于文献中(参见,例如,Ramakrishnan, S. 等人, *Cancer Res.*, 第44卷:第201-208页,1984年),描述了MBS (M-马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯)的用途)。在一些实施方案中,本文所用的非肽接头包括:(i) EDC (1-乙基-3-(3-二甲基氨基-丙基)碳二亚胺盐酸盐);(ii) SMPT (4-琥珀酰亚胺氧羰基- α -甲基- α -(2-吡啶二硫代)-甲苯:Pierce Chem.Co., 目录号21558G);(iii) SPDP (琥珀酰亚胺基-6-[3-(2-吡啶二硫基)丙酰胺基]己酸:Pierce Chem.Co., 目录号21651G);(iv) 磺基-LC-SPDP (磺基琥珀酰亚胺-6-[3-(2-吡啶二硫代)-丙酰胺]己酸:Pierce Chem.Co., 目录号2165-G);以及(v) 与EDC缀合的磺基-NHS (N-羟基磺基-琥珀酰亚胺:Pierce Chem.Co., 目录号24510)。

[0215] 上述接头含有的组分具有不同属性,因此可能导致融合蛋白具有不同的物理化学特性。例如,烷基羧酸的磺基-NHS酯比芳族羧酸的磺基-NHS酯更稳定。含有NHS-酯的接头比磺基-NHS酯的溶解度低。此外,接头SMPT含有空间位阻二硫键,并且可形成具有增加的稳定性的抗体融合蛋白。二硫键通常比其他键更不稳定,因为二硫键在体外被切割,导致可用的抗体融合蛋白更少。磺基-NHS尤其可增强碳二亚胺偶联物的稳定性。当碳二亚胺偶联物(诸如EDC)与磺基-NHS联合使用时,形成比单独的碳二亚胺偶联反应更抗水解的酯。

[0216] 肽接头

[0217] 肽接头可具有天然存在的序列或非天然存在的序列。例如,来源于重链抗体的铰链区的序列可用作接头。参见,例如,W01996/34103。

[0218] 肽接头可具有任何合适的长度。在一些实施方案中,肽接头的长度是至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、50、75、100个或更多氨基酸中的任一项。在一些实施方案中,肽接头的长度不超过约100、75、50、40、35、30、25、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5个或更少氨基酸中的任一项。在一些实施方案中,肽接头的长度是约1个氨基酸至约10个氨基酸、约1个氨基酸至约20个氨基酸、约1个氨基酸至约30个氨基酸、约5个氨基酸至约15个氨基酸、约10个氨基酸至约25个氨基酸、约5个氨基酸至约30个氨基酸、约10个氨基酸至约30个氨基酸长度、约30个氨基酸至约50个氨基酸、约50个氨基酸至约100个氨基酸或约1个氨基酸至约100个氨基酸中的任一项。

[0219] 这种肽接头的基本技术特征是所述肽接头不具有任何聚合活性。肽接头的特征,包括不存在二级结构的促进,是本领域已知的,并且描述于例如Da11'Acqua等人

(Biochem., 1998年, 第37卷, 第9266-9273页), Cheadle等人 (Mol Immunol, 1992年, 第29卷, 第21-30页), 以及Raag和Whitlow (FASEB, 1995年, 第9卷第1期, 第73-80页)。就“肽接头”而言, 特别优选的氨基酸是Gly。此外, 也不促进任何二级结构的肽接头是优选的。结构域彼此之间的连接可通过例如基因工程提供。制备融合的和可操作连接的融合蛋白组分并在哺乳动物细胞或细菌中表达它们的方法是本领域公知的(例如WO 99/54440, Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates和Wiley Interscience, N.Y., 1989年和1994年, 或Sambrook等人, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001年)。

[0220] 肽接头可为稳定的接头, 其不可被蛋白酶, 特别是基质金属蛋白酶 (MMP) 切割。

[0221] 接头也可作为柔性接头。示例性柔性接头包括甘氨酸聚合物 (G)_n、甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括, 例如, (GS)_n、(GSGS)_n (SEQ ID NO:19)、(GGSG)_n (SEQ ID NO:20)、(GGGGS)_n (SEQ ID NO:14), 其中n是至少为1的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物和本领域已知的其他柔性接头。甘氨酸和甘氨酸-丝氨酸聚合物是相对非结构化的, 因此能够用作组分之间的中性系链。甘氨酸甚至比丙氨酸进入显著更多的phi-psi空间, 并且比具有较长侧链的残基限制性小得多(参见Scheraga, Rev. Computational Chem., 第11卷, 第173-142页, 1992年)。普通技术人员将认识到, 抗体融合蛋白的设计可包括全部或部分柔性的接头, 使得接头可包括柔性接头部分以及赋予较少柔性结构的一个或多个部分, 以提供期望的抗体融合蛋白结构。

[0222] C. 细胞因子

[0223] 本文所述的融合蛋白包括细胞因子。在一些实施方案中, 细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15 α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。

[0224] IL-21

[0225] IL-21是由T细胞和自然杀伤T细胞产生的I型细胞因子, 对多种免疫和非免疫细胞类型均具有多效作用。这种细胞因子对多种细胞类型具有不同的作用, 包括但不限于CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞、B细胞、巨噬细胞、单核细胞和树突细胞(DC)。IL-21的功能性受体由IL-21受体(IL-21R)和共同的细胞因子受体 γ 链(γ c)组成, γ c也是IL-2、IL-4、IL-7、IL-9和IL-15受体的亚基。

[0226] NK细胞和CD8⁺T细胞中细胞毒性程序的激活是癌症免疫疗法的关键, 因此早期研究提供了令人信服的证据, 表明IL-21是该疾病的有希望的免疫治疗剂。IL-21促进成熟, 增强细胞毒性, 并诱导NK细胞产生IFN- γ 和穿孔素。相应地, IL-21诱导的细胞溶解活性显著抑制B16黑色素瘤的生长。此外, IL-21与IL-15一起扩大了抗原特异性CD8⁺T细胞数目及其效应子功能, 导致肿瘤消退。Leonard等人, F1000Res., 2016年2月26日; 5.pii:F1000 Faculty Rev-224。

[0227] 在一些实施方案中, 细胞因子是IL-21。在一些实施方案中, IL-21是野生型IL-21。在一些实施方案中, IL-21来源于人IL-21。在一些实施方案中, IL-21是人野生型IL-21。在一些实施方案中, IL-21是截短IL-21。

[0228] 在一些实施方案中, IL-21包括SEQ ID NO:1、2、126、171或172所示的氨基酸序列或其变体, 该变体与SEQ ID NO:1、2、126、171或172具有至少80% (诸如, 至少约80%、85%、

90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。

[0229] 在一些实施方案中,IL-21是截短IL-21。在一些实施方案中,截短IL-21包括SEQ ID NO:126、171或172的氨基酸序列。

[0230] 在一些实施方案中,IL-21变体在C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的一个或多个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的任何一个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的任何两个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的任何三个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的任何四个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的任何五个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的任何六个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的任何七个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的任何八个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的任何九个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的任何十个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的全部十一个氨基酸。

[0231] 在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少11个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少10个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少9个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少8个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少7个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少6个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少5个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少4个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少3个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少2个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少1个氨基酸。

[0232] 在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少14、13或12个氨基酸。

[0233] 在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少至少9-10、9-11、10-12或12-15个连续氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少至少9-14、10-14、11-14或12-14个连续氨基酸。

[0234] 在一些实施方案中,本文提供的IL-21变体具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列,其在C末端缺少10个氨基酸,并且代表SEQ ID NO:1的Q1至L123的序列。

[0235] IL-7

[0236] IL-7是IL-2超家族的成员之一。IL-2超家族包括IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15和IL-21。它与具有共同 γ 链亚基的受体结合。除了共同的 γ 链亚基之外,IL-7受体(IL-7R)还需要IL-7R α 链才能发生结合。参见Lin等人, *Anticancer Res.*, 2017年3月,第37卷第3期:第963-967页。

[0237] 白细胞介素-7(IL-7)是小鼠和人类T细胞发育所必需的,并且由基质组织而不是活化的淋巴细胞产生。在正常条件下,IL-7是T细胞的限制性来源,但它在淋巴细胞减少症

期间积聚。IL-7通过由IL-7受体 α 链(IL-7R α)和共同细胞因子受体 γ 链(γ c)组成的异二聚体受体进行信号传导。最近还证明了IL-7可调节淋巴组织诱导物(LTi)细胞,该细胞诱导次级淋巴器官的发育,并可在出生后慢性炎症的情况下诱导三级淋巴组织。在动物中,IL-7疗法增强了过继性免疫疗法对癌症的有效性,增强了疫苗应答,并在急性和慢性感染情况下增强了病毒清除。参见Mackall等人,Nature Reviews Immunology,第11卷,第330-342页,2011年

[0238] 在一些实施方案中,细胞因子是IL-7。在一些实施方案中,IL-7是野生型IL-7。在一些实施方案中,IL-7来源于人IL-7。在一些实施方案中,IL-7是人野生型IL-7。

[0239] 在一些实施方案中,IL-7包括SEQ ID NO:96-98中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:96-98中的任一项具有至少80% (诸如,至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。

[0240] IL-15、IL-15R α 和与IL-15R α 结合的IL-15

[0241] IL-15的异三聚体受体与IL-2受体共用IL-2R/IL-15R β (CD122) 和共同的 γ (γ c) 链(CD132)。IL-15和IL-2共有某些功能,包括刺激T细胞增殖、产生细胞毒性T淋巴细胞、刺激B细胞合成免疫球蛋白以及产生和维持NK细胞。然而,在许多适应性免疫应答中,IL-2和IL-15也具有不同的且通常是竞争的作用。与IL-2不同,IL-15不是维持能减弱抗肿瘤免疫应答的调节性T细胞(Treg)所必需的。与IL-15相反,IL-2通过CD8+效应T细胞的活化诱导的细胞死亡(AICD)抑制T细胞应答。然而,IL-15是NK细胞、效应CD8+细胞和记忆表型CD8+T细胞分化所需的。此外,基于临床前研究,它们的毒性似乎是不同的,与IL-2相比,用IL-15观察到的血管毛细血管渗漏很少。总之,IL-15主要刺激CD8 T细胞和NK细胞的增殖和细胞毒性功能,导致增强的抗肿瘤应答。然而,IL-15虽然最初显示出作为癌症治疗剂的前景,但功效受到其短的体内半衰期的限制。Steel等人,Trends Pharmacol Sci.,2012年1月;第33卷第1期:第35-41页。参见Robinson等人,Immunol Lett.,2017年10月;第190卷:第159-168页。

[0242] 在某些情况下,IL-15作为治疗剂的功效受到IL-15R α 可用性的限制,IL-15R α 在稳定和增加IL-15的生物学活性中起着不可或缺的作用。由于未结合的IL-15在体内不是天然存在的,与IL-15R α 结合的IL-15类似于IL-15的生理形式,并且对IL-15R β / γ C的亲合力高于游离的IL-15。参见Robinson等人,Immunol Lett.,2017年10月;第190卷:第159-168页。

[0243] 在一些实施方案中,细胞因子是或包括IL-15。在一些实施方案中,IL-15是野生型IL-15。在一些实施方案中,IL-15来源于人IL-15。在一些实施方案中,IL-15是人野生型IL-15。

[0244] 在一些实施方案中,细胞因子是或包括IL-15R α 。在一些实施方案中,IL-15R α 是野生型IL-15R α 。在一些实施方案中,IL-15R α 来源于人IL-15R α 。在一些实施方案中,IL-15R α 是人野生型IL-15R α 。在一些实施方案中,IL-15R α 是可溶性IL-15受体的sushi结构域(即,IL-15R sushi结构域)。在一些实施方案中,IL-15R sushi结构域包括SEQ ID NO:127-128中的任一项的氨基酸序列或其变体或由其组成,该变体与SEQ ID NO:127-128中的任一项具有至少80% (诸如,至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。

[0245] 在一些实施方案中,细胞因子是与IL-15R α 或其片段结合的IL-15。在一些实施方案中,与IL-15R α 或其片段结合的IL-15包括野生型IL-15和/或野生型IL-15R α 。在一些实施

方案中,与IL-15 α 或其片段结合的IL-15包括来源于人IL-15的IL-15和/或来源于人IL-15 α 的IL-15 α 。在一些实施方案中,与IL-15 α 或其片段结合的IL-15包括人野生型IL-15和/或人野生型IL-15 α 。在一些实施方案中,与IL-15 α 或其片段结合的IL-15包括来源于小鼠IL-15的IL-15和/或来源于小鼠IL-15 α 的IL-15 α 。在一些实施方案中,与IL-15 α 或其片段结合的IL-15包括小鼠野生型IL-15和/或小鼠野生型IL-15 α 。在一些实施方案中,与IL-15 α 或其片段结合的IL-15是可溶性IL-15受体的sushi结构域(即,IL-15R sushi结构域)。在一些实施方案中,IL-15R sushi结构域包括SEQ ID NO:127-128中的任一项的氨基酸序列或其变体或由其组成,该变体与SEQ ID NO:127-128中的任一项具有至少80% (诸如,至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。

[0246] 在一些实施方案中,IL-15非共价结合至IL-15 α 。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15 α 。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15 α 的N末端。在一些实施方案中,IL-15融合至IL-15 α 的C末端。在一些实施方案中,融合蛋白从N末端至C末端以选自以下的顺序包括所述IL-15、IL-15 α 和白蛋白结合部分:(1)白蛋白结合部分、IL-15、IL-15 α ; (2)白蛋白结合部分、IL-15 α 、IL-15; (3)IL-15、IL-15 α 、白蛋白结合部分; (4)IL-15 α 、IL-15、白蛋白结合部分。在一些实施方案中,IL-15和IL-15 α 通过第二接头融合。在一些实施方案中,第二接头是可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:27-45。在一些实施方案中,第二接头具有SEQ ID NO:27的序列。在一些实施方案中,第二接头是不可切割接头。在一些实施方案中,第二接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。

[0247] 在一些实施方案中,IL-15或与IL-15 α 结合的IL-15包括人IL-15,该人IL-15包括SEQ ID NO:99、100或127中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:99、100或127中的任一项具有至少80% (诸如,至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。

[0248] 在一些实施方案中,IL-15或与IL-15 α 结合的IL-15包括含有N72D突变的人IL-15。参见Han等人,Cytokine.,2011年12月;第56卷第3期:第804-810页。

[0249] 在一些实施方案中,IL-15 α 或与IL-15 α 结合的IL-15包括人IL-15 α ,该人IL-15 α 包括SEQ ID NO:101-108 (诸如SEQ ID NO:103-104)中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:101-108 (诸如SEQ ID NO:103-104)具有至少80% (诸如,至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。

[0250] IL-33

[0251] 白细胞介素-33 (IL-33) 是IL-1家族的成员。它最初被描述为2型免疫应答的诱导物,激活T辅助2 (T_H2) 细胞和肥大细胞。现在,越来越多的证据表明,IL-33还有效刺激第2组先天性淋巴细胞 (ILC2)、调节性T (T_{reg}) 细胞、T_H1细胞、CD8⁺T细胞和自然杀伤 (NK) 细胞。这种多效性反映在IL-33在组织和代谢稳态、感染、炎症、癌症和中枢神经系统疾病中的作用。

[0252] IL-33在基质和屏障组织中广泛表达,这使其成为形成1型、2型和调节性免疫应答的普遍存在的关键免疫调节剂。尽管缺乏分泌序列并被隔离在细胞核中,但IL-33被释放并被各种蛋白酶加工成高活性形式。IL-33有助于细胞因子网络,其不仅控制病原体去除,而且支持由第2组先天性淋巴细胞和调节性T细胞介导的组织修复。预期IL-33的作用将继续扩大,从而调节保护性和病理性免疫应答。递送或阻断IL-33正在成为有前景的治疗策略,用于维持免疫稳态和预防感染性和炎症疾病。参见Liew,Nature Reviews Immunology,第

16卷,第676-689页,2016年

[0253] 在一些实施方案中,细胞因子是IL-33。在一些实施方案中,IL-33是野生型IL-33。在一些实施方案中,IL-33来源于人IL-33。在一些实施方案中,IL-33是人野生型IL-33。

[0254] 在一些实施方案中,IL-33包括SEQ ID NO:109和155-157中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:109和155-157中的任一项具有至少80% (诸如,至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。

[0255] 在一些实施方案中,IL-33包括选自C208S、C227S、C232S和C259S的一个或多个突变。参见Cohen等人,Nature Communications,第6卷,文章编号:8327(2015) IL-22

[0256] 白细胞介素-22 (IL-22) 是最近描述的IL-10家族细胞因子,其由T-辅助(Th) -17细胞、 $\gamma\delta$ T细胞、NKT细胞和新描述的先天性淋巴细胞(ILC)产生。人IL22基因位于染色体12q15上编码IFN- γ 和IL-26的基因附近。细胞因子的活性分泌形式是146个氨基酸的蛋白质。

[0257] IL-22受体(IL-22R)是2型细胞因子受体,并且是IL-10受体家族的成员,以及IL-10、IL-19、IL-20、IL-24、IL-26、IL-28和IL-29的受体。它由两个异二聚体亚基IL-22R1和IL-10R2组成。研究表明,IL-22与IL-22R1亚基的初始结合使得IL-10R2亚基能够二次结合,从而使得能够进行下游信号传导。

[0258] IL-22具有多种功能,最显著的是其对非造血细胞,尤其是上皮细胞的营养作用。IL-22参与多个器官的上皮再生和病理,这取决于背景和/或细胞因子环境。它涉及多种疾病,使其成为临床开发的有吸引力的靶标。参见Dudakov等人,Annu Rev Immunol.,2015年3月21日;第33卷:第747-785页。

[0259] 在一些实施方案中,细胞因子是IL-22。在一些实施方案中,IL-22是野生型IL-22。在一些实施方案中,IL-22来源于人IL-22。在一些实施方案中,IL-22是人野生型IL-22。

[0260] 在一些实施方案中,IL-22包括SEQ ID NO:110-111中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:110-111中的任一项具有至少80% (诸如,至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项)的序列同一性。

[0261] 细胞因子变体

[0262] 在一些实施方案中,细胞因子变体可在本文提供的融合蛋白中。变异可为编码细胞因子多肽的一个或多个密码子的取代、缺失或插入,导致与人野生型细胞因子蛋白相比氨基酸序列的改变。氨基酸取代可为将一个氨基酸置换为具有相似结构和/或化学特性的另一个氨基酸的结果,诸如将亮氨酸置换为丝氨酸,例如保守氨基酸置换。本领域技术人员已知的标准技术可用于在编码本文提供的分子的核苷酸序列中引入突变,包括例如导致氨基酸取代的定点诱变和PCR介导的诱变。插入或缺失可任选地在约1至10个氨基酸的范围内。在某些实施方案中,相对于原始分子,取代、缺失或插入包括少于25个氨基酸取代、少于20个氨基酸取代、少于15个氨基酸取代、少于10个氨基酸取代、少于5个氨基酸取代、少于4个氨基酸取代、少于3个氨基酸取代或少于2个氨基酸取代。在一些实施方案中,取代是在一个或多个预测的非必需氨基酸残基处进行的保守氨基酸取代。所允许的变异可通过系统地在序列中进行氨基酸的插入、缺失或取代并测试所得变体的由全长或成熟的天然序列所表现出的活性来确定。

[0263] 氨基酸序列插入包括长度范围为一个残基或多个残基的氨基和/或羧基末端融合,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。

[0264] “保守氨基酸取代”是其中氨基酸残基被具有带相似电荷的侧链的氨基酸残基置换的取代。已在本领域中定义了具有带相似电荷的侧链的氨基酸残基的家族。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、具有酸性侧链的氨基酸(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、具有非极性侧链的氨基酸(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、具有 β -分支侧链的氨基酸(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和具有芳香侧链的氨基酸(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。另选地,可沿着编码序列的全部或部分随机引入突变,诸如通过饱和诱变,并且可筛选所得突变体的生物学活性(例如,与细胞因子受体结合),以鉴定保留活性的突变体。诱变后,可表达编码的蛋白质并可测定蛋白质的活性。

[0265] 可进行保守性(例如,在具有相似特性和/或侧链的氨基酸组内)取代,以便维持或不显著改变细胞因子的特性。氨基酸可根据它们侧链特性的相似性进行分组(参见,例如,Lehninger, Biochemistry, 第73-75页(第2版,1975年)): (1) 非极性:Ala (A)、Val (V)、Leu (L)、Ile (I)、Pro (P)、Phe (F)、Trp (W)、Met (M); (2) 不带电荷的极性:Gly (G)、Ser (S)、Thr (T)、Cys (C)、Tyr (Y)、Asn (N)、Gln (Q); (3) 酸性:Asp (D)、Glu (E); 以及 (4) 碱性:Lys (K)、Arg (R)、His (H)。

[0266] 另选地,天然存在的残基可基于共同的侧链特性分成如下组: (1) 疏水:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile; (2) 中性亲水:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln; (3) 酸性:Asp、Glu; (4) 碱性:His、Lys、Arg; (5) 影响链取向的残基:Gly、Pro; 以及 (6) 芳族:Trp、Tyr、Phe。

[0267] 可使用本领域已知的方法,诸如寡核苷酸介导的(定点)诱变、丙氨酸扫描和PCR诱变,来进行变异。可对克隆DNA进行定点诱变(参见,例如,Carter, 1986年, Biochem J., 第237卷:第1-7页; 以及Zoller等人, 1982年, Nucl. Acids Res., 第10卷:第6487-6500页)、盒式诱变(参见,例如,Wells等人, 1985年, Gene, 第34卷:第315-323页)或者其他已知的技术以产生多肽。

[0268] D. 白蛋白结合部分

[0269] 本文所述的融合蛋白包括白蛋白结合分子。白蛋白结合分子和将它们与目的蛋白连接的方法描述于例如WO 1991/01743、WO 2001/45746、WO 2002/076489、WO 2004/041865或US20070269422A1中,其内容以引用方式并入本文。

[0270] 白蛋白结合分子可为所述白蛋白结合分子中的任一种,例如在WO1991/01743、WO2001/45746、WO2002/076489、WO2004/041865、US20070269422A1、US20160152686A1中所述;Dennis等人, 2002年, JBC, 第277卷第38期:第35035-35043页。

[0271] 在一些实施方案中,白蛋白结合分子与人血清白蛋白(HSA)、食蟹猴血清白蛋白(CMSA)和/或小鼠血清白蛋白(MSA)结合。

[0272] 在一些实施方案中,白蛋白结合部分以约1-1000nM之间(诸如约1-900nM、1-800nM、1-700nM、1-600nM、1-500nM、1-400nM、1-300nM、1-200nM、1-100nM、1-50nM、1-25nM、0.1-1nM之间)的 K_D 与白蛋白(诸如HAS)结合。在一些实施方案中,白蛋白结合蛋白包括链球菌蛋白G(SPG)的白蛋白结合结构域(ABD)。参见,例如Nygren等人, J. Mol. Recogn., 1988年, 第1卷第2期:第69-74页。

[0273] 1白蛋白结合结构域(ABD)

[0274] 在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。在一些实施方案中,白蛋白结合分子包括SPG菌株G148的ABD。在一些实施方案中,白蛋白结合分子包括SPG菌株G148的C末端白蛋白结合结构域3(ABD3)。参见,例如,Nilvebrant和Hober,2013年,Comput.Struct.Biotechnol.J.,第6卷:e201303009。

[0275] 在一些具体实施方案中,ABD具有

[0276] LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNLINNAKTVEGVKALIDEILAALP的氨基酸序列(SEQ ID NO: 3),其对HSA的 K_D 为约1.2nM。

[0277] 在一些实施方案中,与SEQ ID NO:3的ABD相比,对HSA具有相对较低的亲合力的ABD是优选的。因此,对HSA具有较低亲和力的SEQ ID NO:3的变体包括在本公开中。

[0278] 在一些具体实施方案中,ABD具有SEQ ID NO:4-11中的任一项的氨基酸序列。

[0279] 变异可为导致氨基酸序列改变的编码SEQ ID NO:3-11中任一项的ABD多肽的一个或多个密码子的取代、缺失或插入。氨基酸取代可为将一个氨基酸替换为具有相似或不同结构和/或化学特性的另一个氨基酸的结果。本领域技术人员已知的标准技术可用于在编码本文提供的分子的核苷酸序列中引入突变,包括例如导致氨基酸取代的定点诱变和PCR介导的诱变。

[0280] 所允许的变异可通过系统地在序列中进行氨基酸的插入、缺失或取代并测试所得变体的活性来确定,并且在一些实施方案中,选择对HSA具有较低亲和力的变体。某些这类变体在表3中举例说明。

[0281] 2抗白蛋白抗体或其片段

[0282] 根据本发明,白蛋白结合部分也可抗白蛋白抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗白蛋白抗体或其抗原结合片段为抗HSA抗体或其抗原结合片段。

[0283] HSA的一些同种型列于下表2中(参见例如UniProtKB-P02768(ALBU_HUMAN))。在一些实施方案中,抗白蛋白抗体或其抗原结合片段与SEQ ID NO:52-55中的任一项结合。

[0284] 表2.

[0285]

同种型1	MKWVTFISLLFLFSSAYS SRGVFRRDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV LIAFAQYLQQCPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLF GDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLV RPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKA AFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGER AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECAD DRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSV VLLLRL AKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELF QLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPE AKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKH KPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQ AALGL (SEQ ID NO: 52)
同种型2	MKWVTFISLLFLFSSAYS SRGVFRRDAHKSEVAHRFKDLGEENFKAW AVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADRADL AKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSV VLLLRLAKTYE TTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELF QLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMP CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALEV D ETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATK EQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL (SEQ ID NO: 53)
同种型3	MKWVTFISLLFLFSSAYS SRGVFRRDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV LIAFAQYLQQCPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLF GDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLV RPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYETTLEKCCAAADPHECYAKVFD EFKPLVEEPQNLIKQNC ELF QLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPT LVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTP VSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTL SEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKA DDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL (SEQ ID NO: 54)
成熟HSA	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV LIAFAQYLQQCPFEDHV KLVNEV TEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKY LYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQGLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEV SKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADRADLAKYICENQDSISSKLKEC CEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVGSKDVCKNYAEAKD VFLGMFLY EYARRHPDYSV VLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECY AKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELF QLGEYKFQNALLVRYTKKVPQ VSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDCLSVFLNQLCVL HEKTPVSDRVT KCCTESLVNGRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVE KCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL (SEQ ID NO: 55)

[0286] 抗白蛋白抗体或其片段可来自任何动物来源,包括鸟类和哺乳动物(例如,人、小鼠、驴、绵羊、兔、山羊、豚鼠、骆驼、马或鸡)。在某些实施方案中,抗体为人或人源化单克隆抗体。如本文所用,“人”抗体包括具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的抗体,并且包括从人免疫球蛋白文库或从表达来自人基因的抗体的小鼠分离的抗体。

[0287] 在某些实施方案中,抗白蛋白抗体为完全人抗体,诸如与癌抗原免疫特异性结合

的完全人抗体。这样的完全人抗体将优于完全小鼠(或其他完全或部分非人物种抗体)、人源化抗体或嵌合抗体,以最小化不想要的或不需要的副作用的发展,诸如当施用给受试者时针对非完全人抗体的免疫应答。

[0288] 本文提供的抗白蛋白抗体可为单特异性的、双特异性的、三特异性的或具有更大的多特异性。多特异性抗体可对多肽的不同表位具有特异性,或者可对多肽以及对异源表位诸如异源多肽或固体支持材料都具有特异性。在一些实施方案中,本文提供的抗体对多肽的给定表位具有单特异性,并且不与其他表位免疫特异性结合。

[0289] 本文提供的抗白蛋白抗体可为单克隆抗体或来源于单克隆抗体。抗白蛋白抗体可为但不限于合成抗体、单克隆抗体、重组产生的抗体、多特异性抗体(包括双特异性抗体)、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、胞内抗体、单链Fv(scFv)(例如,包括单特异性、双特异性等)、骆驼化抗体或其人源化形式、Fab片段、F(ab')片段、二硫键连接的Fv(sdFv)、抗独特型(抗Id)抗体以及上述任一种的表位结合片段。

[0290] 特别地,本文提供的抗白蛋白抗体包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性部分,即,含有与白蛋白(诸如HSA)免疫特异性结合的抗原结合位点的分子。本文提供的免疫球蛋白分子可为免疫球蛋白分子的任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类。在一些实施方案中,抗白蛋白抗体为IgG抗体,诸如IgG1抗体。

[0291] 本公开还包括抗白蛋白抗体的变体和衍生物,包括保留与白蛋白表位特异性结合的能力的抗体片段。示例性片段包括Fab片段(含有抗原结合结构域并包括通过二硫键桥接的轻链和重链的一部分的抗体片段);Fab'(含有单个抗原结合结构域的抗体片段,该单个抗原结合结构域包括Fab和通过铰链区的重链的另一部分);F(ab')₂(在重链的铰链区通过链间二硫键连接的两个Fab'分子;Fab'分子可针对相同或不同的表位);双特异性Fab(具有两个抗原结合结构域的Fab分子,其中每个抗原结合结构域可针对不同的表位);单链Fab链,其包含可变区,也称为sFv(通过10-25个氨基酸的链连接在一起的抗体的单条轻链和重链的可变抗原结合决定区);二硫键连接的Fv或dsFv(通过二硫键连接在一起的抗体的单条轻链和重链的可变抗原结合决定区);骆驼化VH(抗体的单条重链的可变抗原结合决定区,其中VH界面处的一些氨基酸是在天然存在的骆驼抗体的重链中发现的那些);双特异性sFv(具有两个抗原结合结构域的sFv或dsFv分子,其中每个结构域可针对不同的表位);双抗体(当第一sFv的VH结构域与第二sFv的VL结构域组装并且该第一sFv的VL结构域与该第二sFv的VH结构域组装时形成的二聚化sFv;双抗体的两个抗原结合区可针对相同或不同的表位);以及三抗体(三聚化sFv,以类似于双抗体的方式形成,但其中三个抗原结合结构域在单个复合物中产生;三个抗原结合结构域可针对相同或不同的表位)。抗体的衍生物还包括抗体结合位点的一个或多个CDR序列。当存在两个或更多个CDR序列时,CDR序列可在支架上连接在一起。在某些实施方案中,本文提供的抗HSA抗体包括单链Fv("scFv")。scFv是包括抗体的VH和VL结构域的抗体片段,其中这些结构域存在于单条多肽链中。通常,scFv多肽还包括VH和VL结构域之间的多肽接头,使得scFv形成用于抗原结合的期望结构。关于scFv的综述参见Pluckthun, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, Rosenberg和Moore编辑, Springer-Verlag, New York, 第113卷, 第269-315页, 1994年。

[0292] 在某些情况下,使用抗白蛋白抗体片段比使用全抗体更有优势。片段的较小尺寸

允许快速清除,并且可导致对细胞、组织或器官的改善的接近。关于某些抗体片段的综述,参见Hudson等人,2003年,Nature Med.,第9卷:第129-134页。

[0293] 已经开发了用于产生抗体片段的多种技术。传统上,这些片段通过完整抗体的蛋白水解消化而衍生(参见,例如,Morimoto等人,1992年,J.Biochem.Biophys.Methods,第24卷:第107-117页;以及Brennan等人,1985年,Science,第229卷:第81-83页)。然而,这些片段现在可直接由重组宿主细胞产生。Fab、Fv和scFv抗体片段都可以在大肠杆菌(E.Coli)或酵母细胞中表达并从其中分泌,因此可以容易地大量生产这些片段。抗体片段可从上述抗体噬菌体文库中分离。另选地,可直接从大肠杆菌(E.Coli)中回收Fab'-SH片段,并化学偶联以形成F(ab')₂片段(Carter等人,1992年,Bio/Technology,第10卷:第163-167页)。根据另一种方法,可直接从重组宿主细胞培养物中分离F(ab')₂片段。具有增加的体内半衰期的包含挽救受体结合表位残基的Fab和F(ab')₂片段描述于例如美国专利5,869,046。用于产生抗体片段的其他技术对于熟练的从业者来说将是显而易见的。在某些实施方案中,抗体是单链Fv片段(scFv)(参见,例如,WO 93/16185;美国专利5,571,894和5,587,458)。Fv和scFv具有缺乏恒定区的完整的结合位点;因此,它们可能适合于在体内使用期间减少非特异性结合。可构建scFv融合蛋白以在scFv的氨基或羧基末端产生效应蛋白的融合(参见,例如,Borrebeck编辑,见上文)。抗体片段也可作为“线性抗体”,例如,如上文引用的参考文献中所述。此类线性抗体可为单特异性或多特异性的,诸如双特异性的。

[0294] 单结构域抗体(sdAb)

[0295] 在一些实施方案中,抗体片段是单结构域抗体(sdAb)。

[0296] 在一些实施方案中,sdAb是V_HH单结构域抗体。

[0297] 在一些实施方案中,sdAb以约1-1000nM之间(诸如约1-900nM、1-800nM、1-700nM、1-600nM、1-500nM、1-400nM、1-300nM、1-200nM、1-100nM、1-50nM、1-25nM或0.1-1nM之间)的K_D与白蛋白(诸如HSA)结合。在其他实施方案中,sdAb以约10-800nM之间(诸如约20-500nM、50-300nM或100-200nM之间)的K_D与白蛋白(诸如HSA)结合。

[0298] 在一些实施方案中,sdAb在约5.5的pH和/或在约7.5的pH下以约1-1000nM之间(诸如约1-900nM、1-800nM、1-700nM、1-600nM、1-500nM、1-400nM、1-300nM、1-200nM、1-100nM、1-50nM、1-25nM或0.1-1nM之间)的K_D与白蛋白(诸如HSA)结合。在一些实施方案中,sdAb在约5.5的pH和在约7.5的pH下以约1-200nM之间的K_D与白蛋白(诸如HSA)结合。

[0299] 在一些实施方案中,单结构域抗体或其片段包括含有SEQ ID NO:69、72、75、78、81、84、87、90和93中的任一项的氨基酸序列的CDR1或其包括至多约3个氨基酸取代的变体,含有SEQ ID NO:70、73、76、79、82、85、88、91和94中的任一项的氨基酸序列的CDR2或其包括至多约3个氨基酸取代的变体,以及含有SEQ ID NO:71、74、77、80、83、86、89、92和95中的任一项的氨基酸序列的CDR3或其包括至多约3个氨基酸取代的变体。

[0300] 在一些实施方案中,单结构域抗体或其片段包括以下任一项:(1)包括SEQ ID NO:69的氨基酸序列的CDR1,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体;包括SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR2,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体;以及包括SEQ ID NO:71的氨基酸序列的CDR3,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体;(2)包括SEQ ID NO:72的氨基酸序列的CDR1,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体;包括SEQ ID NO:73的氨基酸序列的CDR2,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体;以及包括SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR3,或其包括

至多约3个氨基酸取代的变体；(3) 包括SEQ ID NO:75的氨基酸序列的CDR1,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；包括SEQ ID NO:76的氨基酸序列的CDR2,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；以及包括SEQ ID NO:77的氨基酸序列的CDR3,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；(4) 包括SEQ ID NO:78的氨基酸序列的CDR1,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；包括SEQ ID NO:79的氨基酸序列的CDR2,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；以及包括SEQ ID NO:80的氨基酸序列的CDR3,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；(5) 包括SEQ ID NO:81的氨基酸序列的CDR1,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；包括SEQ ID NO:82的氨基酸序列的CDR2,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；以及包括SEQ ID NO:83的氨基酸序列的CDR3,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；(6) 包括SEQ ID NO:84的氨基酸序列的CDR1,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；包括SEQ ID NO:85的氨基酸序列的CDR2,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；以及包括SEQ ID NO:86的氨基酸序列的CDR3,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；(7) 包括SEQ ID NO:87的氨基酸序列的CDR1,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；包括SEQ ID NO:88的氨基酸序列的CDR2,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；以及包括SEQ ID NO:89的氨基酸序列的CDR3,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；(8) 包括SEQ ID NO:90的氨基酸序列的CDR1,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；包括SEQ ID NO:91的氨基酸序列的CDR2,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；以及包括SEQ ID NO:92的氨基酸序列的CDR3,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；或(9) 包括SEQ ID NO:93的氨基酸序列的CDR1,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；包括SEQ ID NO:94的氨基酸序列的CDR2,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体；以及包括SEQ ID NO:95的氨基酸序列的CDR3,或其包括至多约3个氨基酸取代的变体。

[0301] 在一些实施方案中,单结构域抗体或其片段包括选自SEQ ID NO:60-68和168-170的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体或其片段包括与选自SEQ ID NO:60-68和168-170的氨基酸序列具有约或至少约80% (诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项) 的序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体或其片段包括V_HH结构域,该结构域包括SEQ ID NO:60-68和168-170中的任一项的氨基酸序列或其变体,该变体与SEQ ID NO:60-68和168-170中的任一项具有至少约80% (诸如,至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中的任一项) 的序列同一性。

[0302] 在一些实施方案中,与白蛋白结合的单结构域抗体或其片段包括CDR1、CDR2和CDR3,该CDR1、CDR2和CDR3分别包括在重链可变结构域内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列,该重链可变结构域具有SEQ ID NO:60-68和168-170中任一项所示的序列。

[0303] E. 抗原结合部分

[0304] 在一些实施方案中,融合蛋白还包括抗原结合部分,并且其中抗原结合部分融合至与白蛋白结合部分融合的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”)的N末端或C末端。

[0305] 在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原结合。在一些实施方案中,肿瘤是实体瘤或液体瘤。在一些实施方案中,肿瘤是选自间皮瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、淋巴瘤、白血病、头颈癌、肝癌、食道癌、胃癌和结肠直肠癌的癌症。在一些实施方案中,癌症表达高水平的肿瘤抗原。例如,在一些实施方案中,癌症表达的水平是参照组织的至少2倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍或50倍。在一些实施方案中,参照组织是在同一个体中不包括癌细胞

的组织。

[0306] 在一些实施方案中,肿瘤抗原选自间皮素(“MSLN”)、GPA33、Her-2、EGFR和CD20。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA和BCMA。

[0307] 在一些实施方案中,抗原结合部分是抗体(诸如全长抗体)或其抗原结合片段。在一些实施方案中,本文提供的抗体或其抗原结合片段可与癌细胞上表达的多肽、多肽片段或抗原的表位免疫特异性结合。在一个实施方案中,抗体与人癌抗原结合。在一些实施方案中,本文提供的抗体或其抗原结合片段与癌抗原的胞外结构域(ECD)结合。在某些实施方案中,抗体与癌抗原的ECD中的表位结合。在一些实施方案中,癌抗原在实体瘤或液体瘤癌细胞上表达。

[0308] 与本文提供的癌抗原结合的抗体可为但不限于合成抗体、单克隆抗体、重组产生的抗体、多特异性抗体(包括双特异性抗体)、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、胞内抗体、单链Fv(scFv)(例如,包括单特异性、双特异性等)、骆驼化抗体或其人源化变体、Fab片段、F(ab')片段、二硫键连接的Fv(sdFv)、抗独特型(抗Id)抗体以及上述任一种的表位结合片段。

[0309] 在一些实施方案中,本文提供的抗体包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性部分,即,含有与癌抗原(例如,实体瘤或液体瘤癌抗原)免疫特异性结合的抗原结合位点的分子。本文提供的免疫球蛋白分子可为免疫球蛋白分子的任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类。在一个具体实施方案中,本文提供的抗体是IgG抗体,诸如IgG1抗体。

[0310] 本公开还包括抗体的变体和衍生物,包括保留与癌抗原表位特异性结合的能力的抗体片段。示例性片段包括Fab片段;Fab';F(ab')₂;双特异性Fab;包括可变区的单链Fab链,也称为sFv;二硫键连接的Fv或dsFv;骆驼化VH;双特异性sFv;双抗体;以及三抗体。抗体的衍生物还包括抗体结合位点的一个或多个CDR序列。当存在两个或更多个CDR序列时,CDR序列可在支架上连接在一起。在某些实施方案中,本文提供的抗体包括单链Fv(“scFv”)。如以上部分中简要描述的,已经开发了用于产生抗体片段的多种技术。

[0311] 在一些实施方案中,抗原结合部分是与肿瘤抗原结合的单可变结构域抗体(sdAb)(诸如V_HH抗体)。某些类型的生物体(骆驼科动物和软骨鱼)具有高亲和力的单V样结构域,其作为它们免疫系统的一部分安装在Fc等价结构域结构上。(Woolven等人,1999年,Immunogenetics,第50卷:第98-101页;以及Stretsov等人,2004年,Proc Natl Acad Sci USA.,第101卷:第12444-12449页)。V样结构域(骆驼科动物中称为V_HH,鲨鱼中称为V-NAR)通常显示长的表面环,从而允许穿透靶抗原的腔。它们还通过掩蔽疏水表面贴片来稳定分离的VH结构域。

[0312] 抗间皮素单结构域抗体(抗MSLN dsAb)

[0313] 在一些实施方案中,抗原结合部分是抗间皮素单结构域抗体(“抗MSLN dsAb”)。

[0314] 本文提供的抗MSLN抗体(例如,sdAb)可与间皮素的任何同种型或其任何片段(诸如SEQ ID NO:56-59中的任一项)结合。在一些实施方案中,本文提供的抗MSLN抗体与SEQ ID NO:56-59中的任一项或其片段结合。

[0315] 在一些实施方案中,抗MSLN dsAb包括抗间皮素重链可变区(抗MSLN V_H),其中:a)

抗MSLN V_H 包括含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的CDR1、含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的CDR3,或在CDR中总共包括至多5、4、3、2或1个氨基酸取代的变体;或b)抗MSLN V_H 包括含有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的CDR1、含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的CDR3,或在CDR中总共包括至多5、4、3、2或1个氨基酸取代的变体。

[0316] 在一些实施方案中,抗MSLN dsAb包括抗间皮素重链可变区(抗MSLN V_H),其中:a)抗MSLN V_H 包括含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的CDR1或在CDR1中包括至多3、2或1个取代的变体,含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的CDR2或在CDR2中包括至多3、2或1个取代的变体,以及含有SEQ ID:48的氨基酸序列的CDR3或在CDR3中包括至多3、2或1个取代的变体;或b)抗MSLN V_H 包括含有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的CDR1或在CDR1中包括至多3、2或1个取代的变体,含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的CDR2或在CDR2中包括至多3、2或1个取代的变体,以及含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的CDR3或在CDR3中包括至多3、2或1个取代的变体。在一些实施方案中,抗MSLN dsAb包括抗间皮素重链可变区(抗MSLN V_H),其中:a)抗MSLN V_H 包括含有SEQ ID NO:187的氨基酸序列的CDR1或在CDR1中包括至多3、2或1个取代的变体,含有SEQ ID NO:188的氨基酸序列的CDR2或在CDR2中包括至多3、2或1个取代的变体,以及含有SEQ ID:189的氨基酸序列的CDR3或在CDR3中包括至多3、2或1个取代的变体。在一些实施方案中,抗MSLN dsAb包括抗间皮素重链可变区(抗MSLN V_H),其中:a)抗MSLN V_H 包括含有SEQ ID NO:190的氨基酸序列的CDR1或在CDR1中包括至多3、2或1个取代的变体,含有SEQ ID NO:191的氨基酸序列的CDR2或在CDR2中包括至多3、2或1个取代的变体,以及含有SEQ ID:192的氨基酸序列的CDR3或在CDR3中包括至多3、2或1个取代的变体。在一些实施方案中,抗MSLN dsAb包括抗间皮素重链可变区(抗MSLN V_H),其中:a)抗MSLN V_H 包括含有SEQ ID NO:193的氨基酸序列的CDR1或在CDR1中包括至多3、2或1个取代的变体,含有SEQ ID NO:194的氨基酸序列的CDR2或在CDR2中包括至多3、2或1个取代的变体,以及含有SEQ ID:195的氨基酸序列的CDR3或在CDR3中包括至多3、2或1个取代的变体。

[0317] 在一些实施方案中,抗MSLN sdAb包括CDR1、CDR2和CDR3,该CDR1、CDR2和CDR3分别包括在重链可变结构域内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列,该重链可变结构域具有SEQ ID NO:173-186中任一项所示的序列。

[0318] F.融合蛋白变体

[0319] 在一些实施方案中,考虑了本文提供的融合蛋白的氨基酸序列变体。例如,可能期望在融合蛋白的整体或任何组分中改善融合蛋白的结合亲和力和/或其他生物学特性。可通过向编码融合蛋白的核苷酸序列引入适宜修饰或通过肽合成制备融合蛋白的氨基酸序列变体。这样的修饰包括例如在融合蛋白的氨基酸序列内的残基的缺失和/或插入和/或取代。可以进行缺失、插入和取代的任何组合以获得最终构建体,前提条件是最终构建体具有期望的特征。

[0320] 1取代、插入、缺失和变体

[0321] 在一些实施方案中,提供了具有一个或多个氨基酸取代的融合蛋白变体。取代诱变的目的位点包括白蛋白结合分子和/或抗原结合部分的HVR和FR。保守取代示于表3。在“示例性取代”的标题下提供了更实质性的改变,并且如下文参考氨基酸侧链类别进一步描

述的。可将氨基酸取代引入融合蛋白的组分中,并筛选具有期望活性的产物,该期望活性例如保留/改善的抗原结合、降低的免疫原性或改善的ADCC或CDC。还参见在章节“V.制备方法”下的小节“1.氨基酸序列变体”。

[0322] 表3:氨基酸取代

原始残基	示例性取代	优选的取代
Ala (A)	Val、Leu、Ile	Val
Arg (R)	Lys、Gln、Asn	Lys
Asn (N)	Gln、His、Asp、Lys、Arg	Gln
Asp (D)	Glu、Asn	Glu
Cys (C)	Ser、Ala	Ser
Gln (Q)	Asn、Glu	Asn
Glu (E)	Asp、Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn、Gln、Lys、Arg	Arg
Ile (I)	Leu、Val、Met、Ala、Phe、正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸、Ile、Val、Met、Ala、Phe	Ile
Lys (K)	Arg、Gln、Asn	Arg
Met (M)	Leu、Phe、Ile	Leu
Phe (F)	Trp、Leu、Val、Ile、Ala、Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala

原始残基	示例性取代	优选的取代
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val、Ser	Ser
Trp (W)	Tyr、Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp、Phe、Thr、Ser	Phe
Val (V)	Ile、Leu、Met、Phe、Ala、正亮氨酸	Leu

[0325] 氨基酸可以根据常见的侧链特性分组:

[0326] (1) 疏水:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0327] (2) 中性亲水:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

[0328] (3) 酸性:Asp、Glu;

[0329] (4) 碱性:His、Lys、Arg;

[0330] (5) 影响链取向的残基:Gly、Pro;

[0331] (6) 芳族:Trp、Tyr、Phe。

[0332] 非保守取代将需要使这些分类之一的成员交换为另一个类别的成员。

[0333] 一种类型的取代变体涉及取代亲本抗体(例如,人源化或人抗体)的一个或多个超变区残基。通常,选择用于进一步研究的所得变体将相对于亲本抗体在某些生物学特性方面(例如,增加的亲和力、降低的免疫原性)具有修饰(例如,改善)和/或将基本上保留亲本抗体的某些生物学特性。示例性的取代变体是亲和力成熟的抗体,其可以例如使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术(诸如本文所述的那些)方便地产生。简言之,使一个或多个HVR残基突变,将变体抗体展示在噬菌体上,并针对特定的生物学活性(例如,结合亲和力)进行

筛选。

[0334] 可在HVR中进行改变(例如,取代),例如以改善抗体亲和力。这种改变可在HVR“热点”中进行,即,由在体细胞成熟过程中经历高频突变的密码子编码的残基(参见,例如Chodwhury, *Methods Mol. Biol.*, 第207卷:第179-196页,2008年)和/或SDR(a-CDR),并测试所得变体VH或VL的结合亲和力。通过构建次级文库和从次级文库中重新选择来进行亲和力成熟,例如,在Hoogenboom等人的 *Methods in Molecular Biology*, 第178卷:第1-37页(O'Brien等人编辑, Human Press, Totowa, NJ, 2001年)中已有描述。在亲和力成熟的一些实施方案中,通过多种方法(例如,易错PCR、链改组或寡核苷酸定向诱变)中的任一种将多样性引入选择用于成熟的可变基因中。然后创建次级文库。然后筛选文库以鉴定具有所需亲和力的任何抗体变体。引入多样性的另一种方法涉及HVR定向方法,其中几个HVR残基(例如,一次4-6个残基)是随机的。可例如使用丙氨酸扫描诱变或建模来特异性地鉴定参与抗原结合的HVR残基。CDR-H3和CDR-L3尤其经常被靶向。

[0335] 在一些实施方案中,取代、插入或缺失可发生在一个或多个HVR内,只要这种改变基本上不会降低抗体结合抗原的能力。例如,可以在HVR中进行基本上不降低结合亲和力的保守改变(例如,本文提供的保守取代)。这种改变可以在HVR“热点”或CDR之外。

[0336] 一种用于鉴定可被靶向用于诱变的抗体的残基或区域的有用方法称为“丙氨酸扫描诱变”,如在Cunningham和Wells, 1989年, *Science*, 第244卷:第1081-1085页中所述。在该方法中,鉴定一个残基或一组靶残基(例如,带电荷的残基诸如Arg、Asp、His、Lys和Glu)并用中性或带负电荷的氨基酸(例如,丙氨酸或聚丙氨酸)置换以确定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可以在氨基酸位置引入进一步的取代,表明对初始取代的功能敏感性。另选地或附加地,抗原-抗体复合物的晶体结构用于鉴定抗体与抗原之间的接触点。这种接触残基和相邻残基可以作为取代的候选物而被靶向或消除。可以筛选变体以确定它们是否含有期望的特性。

[0337] 氨基酸序列插入包括长度范围为从一个残基到含有一百或更多个残基的多肽的氨基和/或羧基末端融合,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的示例包括具有N末端甲硫氨酰残基的抗体。抗体分子的其他插入变体包括抗体的N末端或C末端与增加抗体的血清半衰期的酶(例如,用于ADEPT)或多肽的融合。

[0338] 2衍生物

[0339] 在一些实施方案中,本文提供的融合蛋白可进一步被修饰以含有本领域已知且容易获得的另外的非蛋白质部分。适于衍生融合蛋白的部分包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性示例包括但不限于,聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧戊环、聚-1,3,6-三氧杂环己烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或无规共聚物)和葡聚糖或聚(n-乙烯基吡咯烷酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛由于其在水中的稳定性,在制造上可能具有优势。聚合物可具有任何分子量,并且可为支链的或非支链的。与融合蛋白连接的聚合物的数目可以变化,并且如果连接了多于一种聚合物,则它们可为相同或不同的分子。一般而言,用于衍生化的聚合物的数目和/或类型可基于以下考虑来确定,包括但不限于待改善的融合蛋白的特定特性或功能、融合蛋白衍生物是否将在限定条件下用于治疗等。

[0340] 在一些实施方案中,提供了可通过暴露于辐射而选择性加热的融合蛋白和非蛋白质部分的缀合物。在一些实施方案中,非蛋白质部分是碳纳米管(Kam等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,第102卷:第11600-11605页,2005年)。辐射可具有任何波长,并且包括但不限于不伤害普通细胞但将非蛋白质部分加热至杀死接近融合蛋白非蛋白质部分的细胞的温度的波长。

[0341] II-B. 包括截短IL-21的融合蛋白

[0342] 本申请还提供了包括人IL-21变体的融合蛋白,该变体包括截短人IL-21。不受理论的束缚,发现包括在C末端缺少1-11个氨基酸的截短形式的IL-21的融合蛋白比野生型对应物和在C末端缺少12个或更多个氨基酸的截短对应物具有改善的稳定性。预期如本文所述的包括截短IL-21的融合蛋白不限于包括抗白蛋白结合部分的融合蛋白。

[0343] 在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)在野生型IL-21的C末端缺少约1-11个氨基酸的截短IL-21,和b)第二部分(诸如单结构域抗体部分)。在一些实施方案中,IL-21来源于人。在一些实施方案中,提供了融合蛋白,该融合蛋白包括:a)截短IL-21,其包括SEQ ID NO:126、171或172的氨基酸序列,和b)第二部分。在一些实施方案中,截短IL-21在C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的一个或多个氨基酸。在一些实施方案中,截短IL-21在具有SEQ ID NO:1中所示序列的IL-21的C末端缺少介于L123和S133之间并包括它们在内的任一个、任两个、任三个、任四个、任五个、任六个、任七个、任八个、任九个、任十个或全部十一个氨基酸。在一些实施方案中,IL-21变体在SEQ ID NO:1的C末端缺少11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸。在一些实施方案中,截短IL-21在SEQ ID NO:1的C末端缺少约5-11、6-11、7-11、8-11、9-11或10-11个氨基酸(例如,连续氨基酸)。

[0344] 在一些实施方案中,融合蛋白具有至少约15kDa、18kDa、20kDa、22kDa、25kDa、28kDa的分子量。在一些实施方案中,融合蛋白具有不超过约1000kDa、500kDa、250kDa、100kDa、70kDa、50kDa、40kDa或30kDa的分子量。在一些实施方案中,融合蛋白具有约15kDa至约1000kDa、约15kDa至约500kDa、约15kDa至约100kDa、约15kDa至约70kDa、约20kDa至约50kDa、约25kDa至约30kDa或约28kDa的分子量。

[0345] 在一些实施方案中,第二部分包括半衰期延长部分。在一些实施方案中,半衰期延长部分是白蛋白结合部分(例如,白蛋白结合抗体部分,例如,单结构域白蛋白结合抗体部分)。在一些实施方案中,半衰期延长部分是Fc结构域(例如,IgG1 Fc结构域)。

[0346] 在一些实施方案中,第二部分包括抗原结合部分。在一些实施方案中,抗原结合部分具有小于约50kDa、40kDa、30kDa、20kDa或15kDa的分子量。在一些实施方案中,抗原结合部分包括单结构域抗体部分。在一些实施方案中,抗原结合部分包括与白蛋白特异性结合的单结构域抗体部分。

[0347] 在一些实施方案中,第二部分融合至截短IL-21的N末端。在一些实施方案中,第二部分融合至截短IL-21的C末端。

[0348] 在一些实施方案中,第二部分通过接头融合至截短IL-21(可与IL-21相邻或不与IL-21相邻)。在一些实施方案中,第二部分通过接头融合至截短IL-21的N末端或C末端。在一些实施方案中,接头是刚性接头。在一些实施方案中,接头是柔性接头。

[0349] III. 药物组合物

[0350] 本申请还提供了包括本文所述的任一种融合蛋白和任选的药学上可接受的载体

的药物组合物。药物组合物可通过将本文所述的具有所需纯度的融合蛋白与任选的药学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 第16版, Osol, A. 编辑, 1980年) 以冻干制剂或水溶液的形式混合来制备。

[0351] 药物组合物优选是稳定的, 其中本文所述的融合蛋白在储存时基本上保持其物理和化学稳定性和完整性。用于测量蛋白质稳定性的各种分析技术在本领域中是可用的, 并且综述见 *Peptide and Protein Drug Delivery*, 第247-301页, Vincent Lee 编辑, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. 出版社, 1991年和 Jones, A., *Adv. Drug Delivery Rev.*, 第10卷: 第29-90页, 1993年。可在选定温度下在选定时间段内测量稳定性。为了快速筛选, 制剂可在40°C下保持2周至1个月, 此时测量稳定性。当制剂要在2°C至8°C下储存时, 通常制剂应在30°C或40°C下稳定至少1个月, 并且/或者在2°C至8°C下稳定至少2年。当制剂要在30°C下储存时, 通常制剂应在30°C下稳定至少2年, 并且/或者在40°C下稳定至少6个月。例如, 在储存期间的聚集程度可用作蛋白质稳定性的指标。在一些实施方案中, 本文所述的融合蛋白的稳定制剂可包括少于约10% (优选地少于约5%) 的作为聚集体存在于制剂中的融合蛋白。

[0352] 可接受的载体、赋形剂或稳定剂在所用的剂量和浓度下对接受者是无毒的, 并且包括缓冲剂; 抗氧化剂, 包括抗坏血酸、甲硫氨酸、维生素E、焦亚硫酸钠; 防腐剂; 等渗剂 (例如, 氯化钠); 稳定剂; 金属络合物 (例如, Zn-蛋白络合物); 螯合剂, 诸如EDTA和/或非离子表面活性剂。

[0353] 生理上可接受的载体的示例包括缓冲剂, 诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸; 抗氧化剂, 包括抗坏血酸和甲硫氨酸; 防腐剂 (诸如十八烷基二甲基苄基氯化铵; 氯化六甲双铵; 苯扎氯铵; 苄索氯铵; 苯酚、丁醇或苄醇; 对羟基苯甲酸烷基酯诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯; 邻苯二酚; 间苯二酚; 环己醇; 3-戊醇; 和间甲酚); 低分子量 (少于约10个残基) 多肽; 蛋白质, 诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白; 亲水性聚合物, 诸如聚乙烯吡咯烷酮; 氨基酸, 诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸; 单糖、二糖和其他碳水化合物, 包括葡萄糖、甘露糖或糊精; 螯合剂, 诸如EDTA; 糖, 诸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇; 成盐抗衡离子, 诸如钠; 金属络合物 (例如, Zn-蛋白质络合物); 和/或非离子表面活性剂, 诸如TWEEN™、聚乙二醇 (PEG) 和 PLURONICS™ 或聚乙二醇 (PEG)。

[0354] 缓冲剂用于将pH控制在优化治疗效果的范围, 尤其是在稳定性取决于pH的情况下。缓冲液优选地以约50mM至约250mM范围内的浓度存在。用于本申请的合适的缓冲剂包括有机酸和无机酸及其盐。例如, 柠檬酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、草酸盐、乳酸盐、乙酸盐。另外, 缓冲液可包含组氨酸和三甲胺盐诸如Tris。

[0355] 加入防腐剂以延缓微生物生长, 并且这些防腐剂通常以0.2%-1.0% (w/v) 的范围存在。防腐剂的添加可例如促进多用途 (多剂量) 制剂的生产。用于本申请的合适的防腐剂包括十八烷基二甲基苄基氯化铵; 氯化六甲双铵; 卤化 (例如, 氯化、溴化、碘化) 苄烷铵、苄索氯铵; 硫柳汞、苯酚、丁醇或苯甲醇; 对羟基苯甲酸烷基酯诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯; 邻苯二酚; 间苯二酚; 环己醇、3-戊醇和间甲酚。

[0356] 存在有时称为“稳定剂”的张力剂以调节或维持组合物中液体的张力。当张力剂与大型带电生物分子诸如蛋白质和抗体一起使用时, 它们通常称为“稳定剂”, 因为它们可与氨基酸侧链的带电基团相互作用, 从而减少分子间和分子内相互作用的可能性。考虑到其

他成分的相对量,张力剂可以0.1重量%至25重量%,优选1重量%至5重量%之间的任何量存在。优选的张力剂包括多元糖醇,优选三元或更多元糖醇,诸如甘油、赤藓糖醇、阿糖醇、木糖醇、山梨糖醇和甘露糖醇。

[0357] 另外的赋形剂包括可用作以下一种或多种的药剂:(1)填充剂、(2)增溶剂、(3)稳定剂和(4)防止变性或粘附到容器壁上的药剂。此类赋形剂包括:多元糖醇(如上文所列举);氨基酸诸如丙氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、亮氨酸、2-苯丙氨酸、谷氨酸、苏氨酸等;有机糖或糖醇诸如蔗糖、乳糖、乳糖醇、海藻糖、水苏糖、甘露糖、山梨糖、木糖、核糖、核糖醇、肌醇糖、肌醇、半乳糖、半乳糖醇、甘油、环多醇(例如肌醇)、聚乙二醇;含硫还原剂诸如尿素、谷胱甘肽、硫辛酸、硫代乙酸钠、硫代甘油、 α -硫代甘油和硫代硫酸钠;低分子量蛋白质诸如人血清白蛋白、牛血清白蛋白、明胶或其他免疫球蛋白;亲水性聚合物诸如聚乙烯吡咯烷酮;单糖(例如木糖、甘露糖、果糖、葡萄糖);二糖(例如乳糖、麦芽糖、蔗糖);三糖诸如棉子糖;和多糖诸如糊精或葡聚糖。

[0358] 存在非离子型表面活性剂或去污剂(也称为“润湿剂”)以帮助溶解治疗剂以及保护治疗性蛋白免受搅动诱导的聚集,其还允许制剂暴露于剪切表面应力而不引起活性治疗性蛋白或抗体变性。非离子型表面活性剂以约0.05mg/ml至约1.0mg/ml,优选约0.07mg/ml至约0.2mg/ml的范围存在。

[0359] 合适的非离子型表面活性剂包括聚山梨醇酯(20、40、60、65、80等)、泊洛沙姆(184、188等)、PLURONIC®多元醇、TRITON®聚氧乙烯脱水山梨醇单醚(TWEEN®-20、TWEEN®-80等)、聚桂醇400、聚氧乙烯40硬脂酸酯、聚氧乙烯氢化蓖麻油10、50和60、甘油单硬脂酸酯、蔗糖脂肪酸酯、甲基纤维素和羧甲基纤维素。可使用的阴离子去污剂包括十二烷基硫酸钠、二辛基磺基琥珀酸钠和二辛基磺酸钠。阳离子去污剂包括苯扎氯铵或苣索氯铵。

[0360] 为了将药物组合物用于体内给药,这些药物组合物必须为无菌的。可通过无菌滤膜过滤使药物组合物无菌。本文的药物组合物通常置于具有无菌入口的容器,例如静脉注射液袋或具有可由皮下注射针头刺穿的塞子的小瓶中。

[0361] 给药途径是根据已知且公认的方法,诸如通过在较长时间内以合适的方式单次或多次推注或输注,例如通过皮下、静脉内、腹膜内、肌内、动脉内、病灶内或关节内途径注射或输注,局部施用,吸入或通过持续释放或延时释放手段。在一些实施方案中,药物组合物在局部诸如肿瘤内或玻璃体内施用。

[0362] 可制备持续释放制剂。持续释放制剂的合适示例包括含有拮抗剂的固体疏水聚合物的半透性基质,这些基质呈成形物品,例如薄膜或微胶囊形式。持续释放基质的示例包括聚酯、水凝胶(例如,聚(2-羟乙基甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚丙交酯(美国专利3,773,919)、L-谷氨酸和L-谷氨酸乙酯的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物诸如LUPRON DEPOT™(由乳酸-乙醇酸共聚物和醋酸亮丙瑞林组成的可注射微球)和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。

[0363] 本文的药物组合物还可含有多于一种治疗特定适应症所必需的活性化合物,优选具有不会不利地影响彼此的互补活性的那些。另选地或附加地,组合物可包括细胞毒性剂、化疗剂、细胞因子、免疫抑制剂或生长抑制剂。此类分子以对预期目的有效的量适当地组合存在。

[0364] 活性成分还可包封于例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊(例如分别为羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚-(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊)中,包封于胶体药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊)中或包封于粗乳液中。这些技术公开于“Remington's Pharmaceutical Sciences”第18版中。

[0365] 可将本文公开的抗体融合蛋白配制成免疫脂质体。通过本领域已知的方法,诸如 Epstein等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,第82卷:第3688页,1985年;Hwang等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,第77卷:第4030页,1980年;和美国专利4,485,045和4,544,545中描述的来制备含有抗体融合蛋白的脂质体。具有延长的循环时间的脂质体公开于美国专利5,013,556中。

[0366] 特别有用的脂质体可用包括磷脂酰胆碱、胆固醇和聚乙二醇衍生的磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂质组合物通过反相蒸发法来产生。将脂质体通过限定孔径的过滤器挤出以得到具有期望直径的脂质体。

[0367] 在一些实施方案中,药物组合物容纳在单次使用的小瓶,诸如单次使用的密封小瓶中。在一些实施方案中,药物组合物容纳在多次使用的小瓶中。在一些实施方案中,药物组合物散装容纳在容器中。在一些实施方案中,药物组合物为冷冻保存的。

[0368] IV. 治疗方法

[0369] 本申请的一个方面提供了使用本文所述的融合蛋白或药物组合物治疗个体中的疾病或病症的方法。例如,本文所述的融合蛋白包括:a)细胞因子,和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb)。在一些实施方案中,融合蛋白包括a)选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15 α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22的细胞因子,和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb)。在一些实施方案中,白蛋白结合部分包括如本文所述的白蛋白结合结构域或与白蛋白结合的单结构域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,方法还包括施用第二药剂。

[0370] 本申请的另一方面提供了治疗个体中的疾病或病症的方法,包括向该个体施用a)融合蛋白,该融合蛋白包括i)细胞因子以及ii)融合至该细胞因子的半衰期延长结构域;和b)第二药剂。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的C末端。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的N末端。在一些实施方案中,细胞因子与半衰期延长结构域经由接头连接。在一些实施方案中,接头具有一至四十(诸如一至三十五、一至三十、一至二十五、一至二十、四至二十或四至十六)个氨基酸的长度。在一些实施方案中,接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15 α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,细胞因子是IL-21。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是白蛋白结合部分(诸如白蛋白结合结构域或抗白蛋白单结构域抗体)。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是白蛋白。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是Fc片段。在一些实施方案中,Fc片段选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4 Fc片段或其变体。在一些实施方案中,Fc片段是IgG1 Fc片段或其变体。在一些实施方案中,IgG1 Fc片段或其变体包括位置297的突变,其中位置297的氨基酸突变是丙氨酸、天冬氨酸或甘氨酸。在一些实施方案中,个体是人。

[0371] 在一些实施方案中,第二药剂包括治疗性抗体、免疫检查点抑制剂、第二细胞因子、化疗剂、酪氨酸激酶抑制剂或免疫细胞。

[0372] 在一些实施方案中,第二药剂是治疗性抗体。在一些实施方案中,治疗性抗体与肿

瘤抗原结合。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自间皮素、GPA33、Her-2、EGFR和CD20。在一些实施方案中,肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA和BCMA。

[0373] 在一些实施方案中,肿瘤抗原是间皮素。在一些实施方案中,第二药剂是抗间皮素抗体或其片段。在一些实施方案中,抗间皮素抗体或其片段包括含有抗间皮素重链可变区(抗MSLN V_H)的单链抗体,其中该抗MSLN V_H 包括CDR1、CDR2和CDR3,其中:a)含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的CDR1、含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的CDR3,或在CDR中总共包括至多3、2或1个氨基酸取代的变体;或b)含有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的CDR1,含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的CDR3,或在CDR中总共包括至多3、2或1个氨基酸取代的变体。

[0374] 在一些实施方案中,第二药剂是免疫检查点调节剂。在一些实施方案中,免疫检查点调节剂为选自PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、CD47、TIGIT、GITR、TIM3、LAG3、4-1BB、CD27和B7H4的免疫检查点蛋白的抑制剂。在一些实施方案中,免疫检查点蛋白是PD-1。在一些实施方案中,第二药剂是抗PD-1抗体或其片段。

[0375] 在一些实施方案中,第二药剂是第二细胞因子。在一些实施方案中,融合蛋白中的细胞因子是IL-21,并且其中第二细胞因子选自IL-7、IL-15、与IL-15 α 结合的IL-15或其半衰期延长变体。

[0376] 在一些实施方案中,第二药剂是免疫细胞。在一些实施方案中,免疫细胞包括T细胞或NK细胞。在一些实施方案中,免疫细胞包括表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞、表达修饰的T细胞受体(TCR)的T细胞或从肿瘤中分离的T细胞。

[0377] 在一些实施方案中,第二药剂是酪氨酸激酶抑制剂。

[0378] 在一些实施方案中,第二药剂是化疗剂(诸如索拉非尼)。

[0379] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的疾病或病症的方法,包括向该个体施用a)融合蛋白,该融合蛋白包括i) IL-21以及ii)融合至细胞因子的半衰期延长结构域;和b)第二药剂。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的N末端。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的C末端。在一些实施方案中,第二药剂包括治疗性抗体(诸如与肿瘤抗原诸如CD20或间皮素结合的治疗性抗体)、免疫检查点抑制剂(诸如抗PD-1抗体)、第二细胞因子、化疗剂、酪氨酸激酶抑制剂或免疫细胞。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基酸序列。在一些实施方案中,融合蛋白还包括抗原结合部分(诸如上文所述)。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原(诸如间皮素)结合。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、淋巴瘤(非霍奇金淋巴瘤)、白血病(诸如急性骨髓性白血病)、头颈癌、肝癌、肾癌、肾脏癌、食道癌、胃癌和结肠直肠癌。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。在一些实施方案中,个体是人。

[0380] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的疾病或病症的方法,包括向该个体施用a)融合蛋白,该融合蛋白包括i) IL-7以及ii)融合至细胞因子的半衰期延长结构域;和b)第二药剂。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的N末端。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的C末端。在一些实施方案中,第二药剂包括治疗性

抗体(诸如与肿瘤抗原诸如CD20或间皮素结合的治疗性抗体)、免疫检查点抑制剂(诸如抗PD-1抗体)、第二细胞因子、化疗剂、酪氨酸激酶抑制剂或免疫细胞。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。在一些实施方案中,融合蛋白还包括抗原结合部分(诸如上文所述)。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原(诸如间皮素)结合。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、淋巴瘤(非霍奇金淋巴瘤)、白血病(诸如急性骨髓性白血病)、头颈癌、肝癌、肾癌、肾脏癌、食道癌、胃癌和结肠直肠癌。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。在一些实施方案中,个体是人。

[0381] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的疾病或病症的方法,包括向该个体施用a)融合蛋白,该融合蛋白包括i) IL-15以及ii)融合至细胞因子的半衰期延长结构域;和b)第二药剂。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的N末端。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的C末端。在一些实施方案中,第二药剂包括治疗性抗体(诸如与肿瘤抗原诸如CD20或间皮素结合的治疗性抗体)、免疫检查点抑制剂(诸如抗PD-1抗体)、第二细胞因子、化疗剂、酪氨酸激酶抑制剂或免疫细胞。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。在一些实施方案中,融合蛋白还包括抗原结合部分(诸如上文所述)。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原(诸如间皮素)结合。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、淋巴瘤(非霍奇金淋巴瘤)、白血病(诸如急性骨髓性白血病)、头颈癌、肝癌、肾癌、肾脏癌、食道癌、胃癌和结肠直肠癌。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。在一些实施方案中,个体是人。

[0382] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的疾病或病症的方法,包括向该个体施用a)融合蛋白,该融合蛋白包括i)与IL-15R α 或其片段结合的IL-15以及ii)融合至细胞因子的半衰期延长结构域;和b)第二药剂。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的N末端。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的C末端。在一些实施方案中,第二药剂包括治疗性抗体(诸如与肿瘤抗原诸如CD20或间皮素结合的治疗性抗体)、免疫检查点抑制剂(诸如抗PD-1抗体)、第二细胞因子、化疗剂、酪氨酸激酶抑制剂或免疫细胞。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。在一些实施方案中,融合蛋白还包括抗原结合部分(诸如上文所述)。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原(诸如间皮素)结合。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、淋巴瘤(非霍奇金淋巴瘤)、白血病(诸如急性骨髓性白血病)、头颈癌、肝癌、肾癌、肾脏癌、食道癌、胃癌和结肠直肠癌。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。在一些实施方案中,个体是人。

[0383] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的疾病或病症的方法,包括向该个体施用a)融合蛋白,该融合蛋白包括i) IL-33以及ii)融合至细胞因子的半衰期延长结构域;和b)第二药剂。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的N末端。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的C末端。在一些实施方案中,第二药剂包括治疗性抗体(诸如与肿瘤抗原诸如CD20或间皮素结合的治疗性抗体)、免疫检查点抑制剂(诸如

抗PD-1抗体)、第二细胞因子、化疗剂、酪氨酸激酶抑制剂或免疫细胞。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。在一些实施方案中,融合蛋白还包括抗原结合部分(诸如上文所述)。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原(诸如间皮素)结合。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、淋巴瘤(非霍奇金淋巴瘤)、白血病(诸如急性骨髓性白血病)、头颈癌、肝癌、肾癌、肾脏癌、食道癌、胃癌和结肠直肠癌。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。在一些实施方案中,个体是人。

[0384] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的癌症的方法,包括向该个体施用如上所述的包括IL-21的融合蛋白。例如在一些实施方案中,融合蛋白包括a) IL-21和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该白蛋白结合部分融合至IL-21或其变体的N末端或C末端。在一些实施方案中,融合蛋白包括a) 融合至白蛋白结合部分的IL-21(“IL-21-ALBBM”)和b) 抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原(诸如间皮素)结合。在一些实施方案中,提供了治疗个体中的癌症的方法,包括向该个体施用包括i) IL-21和ii) 半衰期延长结构域的融合蛋白,其中该半衰期延长结构域融合至IL-21的N末端或C末端。在一些实施方案中,方法还包括第二药剂(诸如与肿瘤抗原诸如CD20或间皮素结合的治疗性抗体,化疗剂诸如索拉非尼,免疫调节剂诸如抗PD-1抗体)。在一些实施方案中,癌症表达高水平的肿瘤抗原。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、淋巴瘤(非霍奇金淋巴瘤)、白血病(诸如急性骨髓性白血病)、头颈癌、肝癌、肾癌、肾脏癌、食道癌、胃癌和结肠直肠癌。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。在一些实施方案中,个体是人。

[0385] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的癌症的方法,包括向该个体施用如上所述的包括IL-7的融合蛋白。例如,在一些实施方案中,融合蛋白包括a) IL-7和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该白蛋白结合部分融合至IL-7或其变体的N末端或C末端。在一些实施方案中,融合蛋白包括a) 融合至白蛋白结合部分的IL-7(“IL-7-ALBBM”)和b) 抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原(诸如间皮素)结合。在一些实施方案中,提供了治疗个体中的癌症的方法,包括向该个体施用包括i) IL-7和ii) 半衰期延长结构域的融合蛋白,其中该半衰期延长结构域融合至IL-7的N末端或C末端。在一些实施方案中,方法还包括第二药剂。在一些实施方案中,癌症表达高水平的肿瘤抗原。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。在一些实施方案中,个体是人。

[0386] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的癌症的方法,包括向该个体施用如上所述的包括IL-15的融合蛋白。例如,在一些实施方案中,融合蛋白包括a) IL-15和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该白蛋白结合部分融合至IL-15或其变体的N末端或C末端。在一些实施方案中,融合蛋白包括a) 融合至白蛋白结合部分的IL-15(“IL-15-

ALBBM”)和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原(诸如间皮素)结合。在一些实施方案中,提供了治疗个体中的癌症的方法,包括向该个体施用包括i) IL-15和ii)半衰期延长结构域的融合蛋白,其中该半衰期延长结构域融合至IL-15的N末端或C末端。在一些实施方案中,方法还包括第二药剂。在一些实施方案中,癌症表达高水平的肿瘤抗原。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。在一些实施方案中,个体是人。

[0387] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的癌症的方法,包括向该个体施用如上所述的包括与IL-15R α 结合的IL-15的融合蛋白。例如在一些实施方案中,融合蛋白包括a)与IL-15R α 结合的IL-15和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该白蛋白结合部分融合至与IL-15R α 或其变体结合的IL-15的N末端或C末端。在一些实施方案中,融合蛋白包括a)与融合至白蛋白结合部分的IL-15R α 结合的IL-15(“与IL-15R α -ALBBM结合的IL-15”)和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原(诸如间皮素)结合。在一些实施方案中,提供了治疗个体中的癌症的方法,包括向该个体施用包括i)与IL-15R α 结合的IL-15和ii)半衰期延长结构域的融合蛋白,其中该半衰期延长结构域融合至与IL-15R α 结合的IL-15的N末端或C末端。在一些实施方案中,方法还包括第二药剂。在一些实施方案中,癌症表达高水平的肿瘤抗原。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。在一些实施方案中,个体是人。

[0388] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的癌症的方法,包括向该个体施用如上所述的包括IL-33的融合蛋白。例如,在一些实施方案中,融合蛋白包括a) IL-33和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该白蛋白结合部分融合至IL-33或其变体的N末端或C末端。在一些实施方案中,融合蛋白包括a)融合至白蛋白结合部分的IL-33(“IL-33-ALBBM”)和b)抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原(诸如间皮素)结合。在一些实施方案中,提供了治疗个体中的癌症的方法,包括向该个体施用包括i) IL-33和ii)半衰期延长结构域的融合蛋白,其中该半衰期延长结构域融合至IL-33的N末端或C末端。在一些实施方案中,方法还包括第二药剂。在一些实施方案中,癌症表达高水平的肿瘤抗原。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。在一些实施方案中,个体是人。

[0389] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的炎性疾病的方法,包括向该个体施用融合蛋白,其中该融合蛋白包括a) IL-22和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该白蛋白结合部分融合至IL-22或其变体的N末端或C末端。在一些实施方案中,白蛋白结合部分是白蛋白结合结构域或抗白蛋白单结构域抗体,诸如本文所述的那些。在一些实施方案中,提供了治疗个体中的炎性疾病的方法,包括向该个体施用融合蛋白,其中该融合蛋白包括a) IL-22和ii)半衰期延长结构域。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是抗体或

其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。在一些实施方案中,疾病选自溃疡性结肠炎、克罗恩病或溃疡性回肠炎和肠移植抗宿主病。在一些实施方案中,个体是人。

[0390] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的间皮瘤的方法,包括向该个体施用如上所述的包括细胞因子的融合蛋白。例如在一些实施方案中,融合蛋白包括a)细胞因子和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该白蛋白结合部分融合至该细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,融合蛋白包括a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”)和b)抗原结合部分,其中该细胞因子-ALBBM和该抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原(诸如间皮素)结合。在一些实施方案中,提供了治疗个体中的间皮瘤的方法,包括向该个体施用包括i)细胞因子和ii)半衰期延长结构域的融合蛋白,其中该半衰期延长结构域融合至该细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,方法还包括第二药剂(诸如抗间皮素抗体)。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。

[0391] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的肺癌的方法,包括向该个体施用如上所述的包括细胞因子的融合蛋白。例如在一些实施方案中,融合蛋白包括a)细胞因子和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该白蛋白结合部分融合至该细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,融合蛋白包括a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”)和b)抗原结合部分,其中该细胞因子-ALBBM和该抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原结合。在一些实施方案中,提供了治疗个体中的肺癌的方法,包括向该个体施用包括i)细胞因子和ii)半衰期延长结构域的融合蛋白,其中该半衰期延长结构域融合至该细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,方法还包括第二药剂。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。

[0392] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的卵巢癌的方法,包括向该个体施用如上所述的包括细胞因子的融合蛋白。例如在一些实施方案中,融合蛋白包括a)细胞因子和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该白蛋白结合部分融合至该细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,融合蛋白包括a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”)和b)抗原结合部分,其中该细胞因子-ALBBM和该抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原结合。在一些实施方案中,提供了治疗个体中的卵巢癌的方法,包括向该个体施用包括i)细胞因子和ii)半衰期延长结构域的融合蛋白,其中该半衰期延长结构域融合至该细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,方法还包括第二药剂。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。

[0393] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的胃癌的方法,包括向该个体施用如上所述的包括细胞因子的融合蛋白。例如在一些实施方案中,融合蛋白包括a) 细胞因子和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该白蛋白结合部分融合至该细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,融合蛋白包括a) 融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”)和b) 抗原结合部分,其中该细胞因子-ALBBM和该抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15 α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原结合。在一些实施方案中,提供了治疗个体中的胃癌的方法,包括向该个体施用包括i) 细胞因子和ii) 半衰期延长结构域的融合蛋白,其中该半衰期延长结构域融合至该细胞因子的N末端或C末端。在一些实施方案中,方法还包括第二药剂。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。

[0394] 在一些实施方案中,提供了治疗个体中的癌症的方法,包括向该个体施用a) 如上所述的包括IL-21的融合蛋白,和b) 选自IL-7、IL-15、与IL15 α 或其半衰期延长变体结合的IL15的第二细胞因子。例如,在一些实施方案中,融合蛋白包括a) IL-21和b) 白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中该白蛋白结合部分融合至IL-21或其变体的N末端或C末端。在一些实施方案中,融合蛋白包括a) 融合至白蛋白结合部分的IL-21(“IL-21-ALBBM”)和b) 抗原结合部分,其中细胞因子-ALBBM和抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。在一些实施方案中,抗原结合部分与肿瘤抗原(诸如间皮素)结合。在一些实施方案中,提供了治疗个体中的癌症的方法,包括向该个体施用a) 融合蛋白,该融合蛋白包括i) IL-21和ii) 半衰期延长结构域,其中该半衰期延长结构域融合至IL-21的N末端或C末端;b) 选自IL-7、IL-15、与IL15 α 或其半衰期延长变体结合的IL15的第二药剂。在一些实施方案中,半衰期延长结构域是如本文所述的抗体或其片段、白蛋白、结合蛋白(诸如白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白)、抗体衍生物或聚氨基序列。在一些实施方案中,第一半衰期延长细胞因子经由肽接头融合至第二半衰期延长细胞因子,该肽接头任选地是蛋白酶可切割的。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、淋巴瘤(非霍奇金淋巴瘤)、白血病(诸如急性骨髓性白血病)、头颈癌、肝癌、肾癌、肾脏癌、食道癌、胃癌和结肠直肠癌。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。在一些实施方案中,个体是人。

[0395] 用于治疗疾病的融合蛋白

[0396] 在一些实施方案中,用于治疗疾病或病症的融合蛋白包括本文(诸如第II节)所述的融合蛋白中的任一种。在一些实施方案中,融合蛋白包括i) 细胞因子以及ii) 融合至细胞因子的半衰期延长结构域。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的C末端。在一些实施方案中,半衰期延长结构域融合至细胞因子的N末端。在一些实施方案中,细胞因子与半衰期延长结构域经由接头连接。在一些实施方案中,接头可为本文(诸如第II-B节)所述的任何接头。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15 α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。在一些实施方案中,细胞因子是IL-21。

[0397] 半衰期延长结构域

[0398] 在一些实施方案中,用于治疗如本文所述的疾病或病症的融合蛋白包括半衰期延

长结构域。

[0399] 在一些实施方案中,本文所提供的融合蛋白包括选自抗体及其片段、白蛋白、白蛋白结合蛋白、IgG结合蛋白和聚氨基酸序列的半衰期延长结构域。预期也可使用本领域可获得的用于延长融合蛋白的半衰期的其他机制。

[0400] a) 抗体及其片段

[0401] 通过将细胞因子与能够进行FcRn介导的再循环的抗体或其片段连接,可减少或以其他方式延迟细胞因子从受试者中的清除,从而延长所施用的细胞因子的半衰期。

[0402] 在一些实施方案中,半衰期延长结构域包括抗体或其片段。在一些实施方案中,抗体或其片段是能够进行FcRn介导的再循环的任何抗体或其片段,诸如能够进行FcRn介导的再循环的任何重链多肽或其部分(例如Fc结构域或其片段)。本领域已知FcRn介导的再循环需要将FcRn受体与抗体或其片段的Fc区结合。例如,研究已表明残基I253、S254、H435和Y436(根据Kabat EU索引编号系统编号)对于人Fc区和人FcRn复合物之间的相互作用是重要的。参见例如Firan,M.等人,Int.Immunol.,第13卷第993-1002页,2001年;Shields,R.L.等人,J.Biol.Chem.,第276卷第6591-6604页,2001年。还检查并报道了残基248-259、301-317、376-382和424-437(根据Kabat EU索引编号系统编号)的各种突变体。Yeung,Y.A.等人,J.Immunol.,第182卷,第7667-7671页,2009年。

[0403] 在一些实施方案中,抗体或其片段包括重链多肽或轻链多肽。在一些实施方案中,抗体或其片段包括重链多肽或轻链多肽的一部分。在一些实施方案中,抗体或其片段包括Fc结构域或其片段。在一些实施方案中,抗体或其片段包括CH2和CH3结构域或其片段。在一些实施方案中,抗体或其片段包括重链多肽的恒定结构域。在一些实施方案中,抗体或其片段包括轻链多肽的恒定结构域。在一些实施方案中,抗体或其片段包括重链多肽或其片段(例如Fc结构域或其片段)。在一些实施方案中,抗体或其片段包括轻链多肽。

[0404] 在一些实施方案中,抗体或其片段包括Fc结构域或其片段。在一些实施方案中,Fc片段选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4 Fc片段或其变体。在一些实施方案中,Fc片段是IgG1 Fc片段或其变体。在一些实施方案中,IgG1 Fc片段或其变体包括位置297的突变。在一些实施方案中,位置297的氨基酸是天冬酰胺。在一些实施方案中,位置297的氨基酸(例如,天冬酰胺)突变为丙氨酸、天冬氨酸或甘氨酸。

[0405] 在一些实施方案中,融合蛋白的细胞因子通过细胞因子的一个拷贝的半衰期延长结构域与该细胞因子的第二个拷贝的对应半衰期延长结构域形成二硫键而形成二聚体。

[0406] b) 白蛋白

[0407] 白蛋白是天然载体蛋白,由于其大小和其对FcRn介导的再循环的易感性,其具有约三周的延长的血清半衰期,这防止了细胞内降解。因此,将细胞因子与白蛋白连接可大大延长细胞因子的半衰期。已经采用这种方法来延长治疗上有益的蛋白质的血浆半衰期。参见例如W0 2001/079271A1和W0 2003/59934A2,其内容以引用方式并入本文。HSA的一些同种型列于表2中。

[0408] 在一些实施方案中,融合蛋白包括半衰期延长结构域,该半衰期延长结构域包括白蛋白多肽或其片段或变体(下文称为“白蛋白”或“白蛋白多肽”)。如本文所用,术语“白蛋白”和“白蛋白多肽”包括白蛋白的片段以及白蛋白的变体。白蛋白多肽包括氨基末端和羧基末端。白蛋白多肽可为任何白蛋白多肽,包括其任何片段或变体,诸如W0 2001/

079271A1、WO 2003/59934A2、US20160152686A1、WO 2012/059486、WO 2011/124718、US20070048282中描述的任何白蛋白多肽,其内容以引用方式并入本文。在一些实施方案中,白蛋白多肽是HSA。

[0409] c) 结合蛋白

[0410] 延长细胞因子或其变体在血清中的半衰期的另外的策略包括将细胞因子与某些结合蛋白诸如上文所述的白蛋白结合蛋白或IgG结合蛋白连接。结合蛋白可为与具有延长的半衰期的血清蛋白结合的任何蛋白,诸如白蛋白或IgG。白蛋白和IgG为已知在血清中具有长半衰期的多肽。

[0411] 在一些实施方案中,半衰期延长结构域包括白蛋白结合蛋白。在一些实施方案中,融合蛋白包括多于一种白蛋白结合蛋白,这些白蛋白结合蛋白中的每一种可为本文所述的白蛋白结合蛋白中的任一种。

[0412] 在一些实施方案中,白蛋白结合蛋白是单结构域抗体或其片段,诸如纳米抗体,其与白蛋白结合或以其他方式与白蛋白缔合,诸如本文所述的那些。参见例如WO 2004041865A2和US20070269422A1,其内容以引用方式并入本文。

[0413] 结合蛋白的另一个示例是IgG结合蛋白。IgG结合蛋白已有报道。关于IgG结合蛋白,包括特异性IgG结合蛋白及其应用的综述,参见例如Choe等人,2016年,Materials,第9卷第12期:第994页,其内容以引用方式并入本文。

[0414] d) 抗体衍生物

[0415] 本文所述的细胞因子可另选地与各种抗体衍生物连接,这些抗体衍生物包括但不限于scFv、scFc、双重可变结构域(DVD)以及基于CrossMab方法的抗体衍生物。参见例如,Klein等人,2012年,MAbs,第4卷第6期:第653-663页;US20070071675A1。抗体衍生物包括工程化为双特异性抗体或其片段的抗体衍生物。如此,在一些实施方案中,半衰期延长结构域可包括任何抗体衍生物、其变体或融合产物,包括但不限于scFv、scFc、双重可变结构域(DVD)、基于CrossMab方法的抗体衍生物以及双特异性抗体或其片段。

[0416] e) 聚氨基酸序列

[0417] 延长融合蛋白在血清中的半衰期的另一种策略是将融合蛋白与聚氨基酸序列连接。如此,在一些实施方案中,半衰期延长结构域包括聚氨基酸序列。聚氨基酸序列可为与融合蛋白连接时能够延长该融合蛋白在血清中的半衰期的任何聚氨基酸序列。聚氨基酸序列的示例包括PAS多肽和XTEN多肽。

[0418] f) 聚乙二醇化和糖基化

[0419] 用于延长本文所提供的细胞因子的半衰期的另外的策略包括聚乙二醇化和另外的糖基化位点的工程化。下面将进一步详细讨论这些策略中的每一种。

[0420] “聚乙二醇化”是指聚乙二醇(PEG)聚合物链与分子和宏观结构诸如药物、治疗性蛋白、多肽、抗体、抗体片段、抗体衍生物或本文所提供的融合蛋白中的任一种或其组分(例如融合蛋白的半衰期延长结构域和/或该融合蛋白的细胞因子或其功能性片段)共价或非共价连接或融合的过程。聚乙二醇化的益处包括,例如,(1)由于聚合物将分子的表观大小增加至肾小球过滤限度以上而逃避肾脏清除以及/或者通过逃避细胞清除机制,显著延长体内循环半衰期,(2)降低PEG所连接的分子的抗原性和免疫原性,(3)改善药代动力学,(4)提高溶解度,(5)改善制剂和给药选择,(6)经由减少皮下注射部位的损失而提高生物利用

度, (7) 提高聚乙二醇化分子的热和机械稳定性。

[0421] 各种分子和宏观结构的聚乙二醇化方法是本领域公知的。参见例如 US20140256636A1; Fee 和 Damodaran, 2010 年, *European Pharmaceutical Review*, 第 15 卷第 1 期: 第 18-26 页; Chapman 等人, 1999 年, *Nature Biotechnol.*, 第 17 卷: 第 780-783 页; Yang 等人, 2003 年, *Protein Eng.*, 第 16 卷第 10 期: 第 761-770 页; Chapman, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2002 年, 第 54 卷第 4 期: 第 531-545 页, 其内容以引用方式并入本文。

[0422] “糖基化”是指将糖类或糖基基团添加至多肽。多肽的糖基化通常为 N-连接或 O-连接。N-连接是指将糖部分连接至天冬酰胺残基的侧链。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸 (N-X-S) 和天冬酰胺-X-苏氨酸 (N-X-T) 是用于将碳水化合物部分酶促连接至天冬酰胺侧链的识别序列, 其中 X 是除脯氨酸 (P) 之外的任何氨基酸。因此, 多肽中这些三肽序列中的任一个的存在产生了潜在的糖基化位点。O-连接的糖基化是指将糖类中的一种 (例如, N-乙酰半乳糖胺、半乳糖或木糖) 连接至羟基氨基酸, 最常见的是丝氨酸或苏氨酸, 尽管也可使用 5-羟脯氨酸或 5-羟赖氨酸。

[0423] 已表明天然存在的糖基化增加了蛋白质的分子稳定性。参见例如, Sola 等人, 2007 年, *Cell. Mol. Life Sci.*, 第 64 卷第 16 期: 第 2133-2152 页。还已表明另外的糖基化位点的工程化能够稳定多种蛋白质治疗剂以对抗大多数主要的生化不稳定性。参见例如, Sola 和 Griebenow, 2009 年, *Pharm. Sci.*, 第 98 卷第 4 期: 第 1223-1245 页。在已表明通过糖基化改善的药学相关的蛋白质不稳定性中, 有例如氧化, 交联, pH、化学、热和冷冻诱导的变性/解折叠, 沉淀, 动力学激活和聚集。Id.

[0424] 通过改变氨基酸序列, 使得在融合蛋白的氨基酸序列中 (例如在半衰期延长结构域和/或细胞因子或其功能性片段的氨基酸序列中) 产生上述三肽序列中的一者或多者 (针对 N-连接的糖基化位点), 从而方便地实现将糖基化位点添加至融合蛋白。也可通过在融合蛋白的氨基酸序列中 (例如, 在半衰期延长结构域和/或细胞因子或其功能性片段的氨基酸序列中) (针对 O-连接的糖基化位点) 添加或取代一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基来进行改变。

[0425] g) 异源二聚化修饰

[0426] 本文所述的半衰期延长结构域可包括促进两个不同半衰期延长结构域的异源二聚化的一个或多个修饰。在包括第一半衰期延长结构域和第二半衰期延长结构域的一些实施方案中, 期望促进该第一和第二半衰期延长结构域的异源二聚化, 使得处于正确异源二聚体形式的融合蛋白有效产生。如此, 可使用本领域可获得的任何策略, 包括如 Klein 等人, 2012 年, *MAbs*, 第 4 卷第 6 期: 第 653-663 页中所述的任何策略, 对第一半衰期延长结构域进行一个或多个氨基酸修饰, 并且对第二半衰期延长结构域进行一个或多个氨基酸修饰。

[0427] 促进两个不同半衰期延长结构域异源二聚化的一种策略是称为“结入扣”的方法。在一些实施方案中, 融合蛋白包括第一半衰期延长结构域和第二半衰期延长结构域, 这些半衰期延长结构域中的每一者均包括 CH3 结构域。在一些实施方案中, 包括 CH3 结构域的半衰期延长结构域是重链多肽或其片段 (例如 Fc 结构域或其片段)。两个半衰期延长结构域的 CH3 结构域可通过“结入扣”技术来改变, 这种技术在例如 WO 1996/027011; Ridgway, J.B. 等人, *Protein Eng.*, 1996 年, 第 9 卷第 7 期: 第 617-621 页; Merchant, A.M. 等人, *Nat. Biotechnol.*, 1998 年, 第 16 卷第 7 期: 第 677-681 页中的几个示例中详细描述。还可参见

Klein等人,2012年,MAbs,第4卷第6期:第653-663页。使用结入扣法来改变两个CH3结构域的相互作用表面以增加含有两个改变的CH3结构域的两个半衰期延长结构域的异源二聚化。这通过将大体积残基引入半衰期延长结构域中的一个的CH3结构域而发生,该CH3结构域充当“结”。然后,为了容纳该大体积残基,在另一个半衰期延长结构域中形成可容纳该结的“扣”。改变的CH3结构域中的任一个可为“结”,而另一个可为“扣”。二硫键的引入进一步稳定了异源二聚体(Merchant,A.M.等人,Nat.Biotechnol.,1998年,第16卷第7期;Atwell,S.等人,J.Mol.Biol.,1997年,第270卷第1期:第26-35页)并且增加了产率。有助于“结”和“扣”作用的示例性序列公开于例如包括SEQ ID NO:164-167序列中所包括的序列中。在一些实施方案中,CH3结构域具有选自Y349C、T366S、L368A、Y407V、S354C、T366W的一个或多个突变。

[0428] 促进两个不同半衰期延长结构域的异源二聚化的另一种策略是通过改变带电残基来稳定有利于异源二聚化的离子相互作用。在一些实施方案中,融合蛋白包括第一半衰期延长结构域和第二半衰期延长结构域,这些半衰期延长结构域中的每一者均包括CH3结构域。在一些实施方案中,包括CH3结构域的半衰期延长结构域是重链多肽或其片段(例如Fc结构域或其片段)。已经观察到改变两个不同Fc结构域之间的电荷极性可导致离子相互作用,从而有利于异源二聚化而抑制同源二聚化。参见例如,WO 2006/106905A1;Gunasekaran等人,2010年,第285卷第25期:第19637-19646页。例如,观察到Fc结构域的带负电荷的E356对与另一Fc结构域的带正电荷的K439配对,第一Fc结构域的带负电荷的E357、E357和D399分别与第二Fc结构域的带正电荷的K439、K370和K409配对。参见,WO 2006/106905A1;Gunasekaran等人,2010年,第285卷第25期:第19637-19646页。如此,通过将E356K、E357K和D399K的突变中的至少两个突变引入第一Fc结构域并且将K370E、K409D和K439E的突变引入第二Fc结构域,可在抑制同源二聚体形成的同时实现有效的异源二聚化。Id.通过将K392D和K409D突变引入第一条Fc链并且将D399K和E356K突变引入第二条Fc链,实现了有效的异源二聚化。Gunasekaran等人,2010年,第285卷第25期:第19637-19646页。

[0429] 促进两个不同半衰期延长结构域的异源二聚化的另一种策略是通过使用基于结构和序列的方法来识别可促进异源二聚化和/或抑制同源二聚化的改变。在识别促进异源二聚化的改变的方法中,有通过进行结构计算来确定跨越CH3-CH3二聚体界面相互作用的残基的配对变体组合的能量的方法,如在Moore等人,2011年,第3卷第6期:第546-557页中所采用的方法,其内容以引用方式并入本文。Moore等人确定预测在异源二聚体形式中相对于同源二聚体形式具有较低能量的配对为进一步分析的起点。观察到通过将S364H和F405A突变引入第一Fc结构域并且将Y349T和T394F突变引入第二Fc结构域,可获得89%的异源二聚体产率。Id.

[0430] 疾病或病症

[0431] 本文所述的方法可用于治疗疾病或病症。在一些实施方案中,疾病或病症选自癌症、炎性病症和感染。

[0432] 在一些实施方案中,疾病或病症是炎性疾病。在一些实施方案中,疾病选自溃疡性结肠炎、克罗恩病或溃疡性回肠炎和肠移植抗宿主病。

[0433] 在一些实施方案中,疾病或病症是癌症。在一些实施方案中,癌症是实体瘤或液体瘤。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、淋巴瘤(非霍奇金

淋巴瘤)、白血病(诸如急性骨髓性白血病)、头颈癌、肝癌、肾癌、肾脏癌、食道癌、胃癌和结肠直肠癌。在一些实施方案中,癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。

[0434] 给药方案

[0435] 融合蛋白和/或第二药剂可使用任何合适的剂量和给药途径施用至个体。在一些实施方案中,融合蛋白和/或第二药剂经胃肠外施用至个体。给药途径是根据已知且公认的方法,诸如通过在一段时间内以合适的方式单次或多次推注或输注,例如通过皮下、静脉内、腹膜内、肌内、动脉内、病灶内、关节内、肿瘤内或口腔途径注射或输注。

[0436] 在一些实施方案中,将融合蛋白和第二药剂同时、并行或依次施用至个体。

[0437] 确定合适的剂量或给药途径是本领域普通技术人员熟知的。动物实验为确定用于人类诊断应用的有效剂量提供了可靠的指导。有效剂量的种间比例缩放可按照在 *Toxicokinetics and New Drug Development*, Yacobi 等人编辑, Pergamon Press, New York, 1989 年, 第 42-46 页中的 Mordenti, J. 和 Chappell, W. 制定的 “The Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics” 原则进行。

[0438] 在一些实施方案中,融合蛋白以约每三周一次至约每周两次(诸如约每三周一次至约每两周一次、约每两周一次至约每周一次、约每周一次至约每周两次)的频率施用。在一些实施方案中,融合蛋白以不少于约每三周一次、约每两周一次、约每周一次、约每周两次的频率施用。在一些实施方案中,融合蛋白以不多于约每三周一次、约每两周一次、约每周一次、约每周两次的频率施用。在一些实施方案中,融合蛋白以约每三周一次、约每两周一次、约每周一次、约每周两次的频率施用。

[0439] 在一些实施方案中,每个治疗周期施用融合蛋白至少约一周至六个月(诸如一周至两周、三周或四周,一周至一个月、两个月、三个月、四个月、五个月或六个月,一个月至两个月、三个月、四个月、五个月或六个月,三个月至四个月、五个月或六个月)。

[0440] 在一些实施方案中,融合蛋白每次施用的量为约 100ng/kg 至约 10mg/kg (例如约 100ng/kg 至约 500ng/kg、约 500ng/kg 至约 1 μ g/kg、约 1 μ g/kg 至约 5 μ g/kg、约 5 μ g/kg 至约 10 μ g/kg、约 10 μ g/kg 至约 50 μ g/kg、约 50 μ g/kg 至约 100 μ g/kg、约 100 μ g/kg 至约 500 μ g/kg、约 500 μ g/kg 至约 1mg/kg、约 1mg/kg 至约 5mg/kg、约 5mg/kg 至约 10mg/kg)。

[0441] 在一些实施方案中,第二药剂(诸如与间皮素结合的治疗性抗体或 PD-1 的抑制剂)以约每月一次至约每周两次(诸如约每月一次至每月两次、每月三次或每月四次,约每两周一次,约每三周一次,约每周一次或每周两次)的频率施用。

[0442] 在一些实施方案中,第二药剂(诸如与间皮素结合的治疗性抗体或 PD-1 的抑制剂)每次施用的量为约 100ng/kg 至约 100mg/kg (例如约 100ng/kg 至约 500ng/kg、约 500ng/kg 至约 1 μ g/kg、约 1 μ g/kg 至约 5 μ g/kg、约 5 μ g/kg 至约 10 μ g/kg、约 10 μ g/kg 至约 50 μ g/kg、约 50 μ g/kg 至约 100 μ g/kg、约 100 μ g/kg 至约 500 μ g/kg、约 500 μ g/kg 至约 1mg/kg、约 1mg/kg 至约 5mg/kg、约 5mg/kg 至约 10mg/kg、约 10mg/kg 至约 50mg/kg 或约 50mg/kg 至约 100mg/kg)。

[0443] V. 制备方法

[0444] 可通过本领域已知的蛋白表达和纯化方法中的任一种来制备本文所述的融合蛋白以及本文所述的融合蛋白的组分(诸如白蛋白结合部分、细胞因子或其变体、抗原结合部分)。

[0445] 在一些实施方案中,本申请提供了编码融合蛋白、白蛋白结合部分、细胞因子或其

变体或抗原结合部分中的任一者的多肽链中的一条或多条的分离的核酸。在一些实施方案中,分离的核酸包括编码SEQ ID NO:46-51和60-95的氨基酸序列中的任一者的核酸序列。

[0446] 在一些实施方案中,将分离的核酸插入载体诸如表达载体、病毒载体或克隆载体中。为了表达核酸,可将载体引入宿主细胞以允许核酸在宿主细胞内表达。表达载体可含有多种用于控制表达的元件,包括但不限于启动子序列、转录起始序列、增强子序列、可选标记和信号序列。这些元件可由本领域普通技术人员适当地选择。例如,可选择启动子序列以促进载体中多核苷酸的转录。合适的启动子序列包括但不限于T7启动子、T3启动子、SP6启动子、 β -肌动蛋白启动子、EF1a启动子、CMV启动子和SV40启动子。可选择增强子序列以增强核酸的转录。可选择可选标记以允许将插入载体的宿主细胞与未插入载体的宿主细胞区分开,例如,可选标记可为赋予抗生素抗性的基因。可选择信号序列以允许将表达的多肽转运到宿主细胞外。在一些实施方案中,分离的核酸还包括编码信号肽的核酸序列。

[0447] 在一些实施方案中,提供了含有上述载体的分离的宿主细胞。含有载体的宿主细胞可用于表达或克隆分离的核酸。合适的宿主细胞可包括但不限于原核细胞、真菌细胞、酵母细胞或高等真核细胞诸如哺乳动物细胞。在原核细胞诸如大肠杆菌中表达抗体和抗原结合片段在本领域中是成熟的。综述参见例如Pluckthun, A., *BioTechnology*, 第9卷:第545-551页, 1991年。在培养的真核细胞中的表达也是本领域技术人员可获得的作为生产抗体或其抗原结合片段的选择,参见近期综述,例如Ref, M.E., 1993年, *Curr.Opinion Biotech.*, 第4卷:第573-576页; Trill J.J.等人, 1995年, *Curr.Opinion Biotech.*, 第6卷:第553-560页。高等真核细胞,特别是来源于多细胞生物体的那些,可用于糖基化多肽的表达。合适的高等真核细胞包括但不限于无脊椎动物细胞和昆虫细胞以及脊椎动物细胞。

[0448] 可使用本领域已知的任何合适的方法将载体引入宿主细胞,这些方法包括但不限于二乙胺乙基葡聚糖介导的递送,磷酸钙沉淀法,阳离子脂质介导的递送,脂质体介导的转染,电穿孔,基因枪法,受体介导的基因递送,聚赖氨酸、组蛋白、壳聚糖和肽介导的递送。用于转染和转化细胞以表达目的载体的标准方法是本领域公知的。在一些实施方案中,宿主细胞包括编码第一多肽的第一载体和编码第二多肽的第二载体。在一些实施方案中,宿主细胞包括单一载体,该单一载体包括编码第一多肽和第二多肽的分离的核酸。

[0449] 在一些实施方案中,本申请提供了表达本文所述的融合蛋白、白蛋白结合部分、细胞因子或其变体或抗原结合部分中的任一者的方法,该方法包括培养含有载体的分离的宿主细胞,并从细胞培养物回收融合蛋白、白蛋白结合部分、细胞因子或其变体或抗原结合部分。在允许插入载体中的分离的核酸表达的条件下培养分离的宿主细胞。用于表达多核苷酸的合适条件可包括但不限于培养基适宜、培养基中宿主细胞的密度适宜、存在必需营养物质、存在补充因子、温度和湿度适宜以及不存在微生物污染物。本领域普通技术人员可选择适合表达目的合适条件。

[0450] 可使用任何合适的方法来收集表达的多肽。多肽可以在细胞内、周质间隙中表达,或者分泌到细胞外进入培养基中。如果多肽在细胞内表达,则可裂解含有多肽的宿主细胞并可通过离心或超滤除去不需要的碎片而从裂解物中分离多肽。如果多肽分泌到大肠杆菌的周质间隙中,则可在药剂诸如乙酸钠(pH 3.5)、EDTA和苯甲基磺酰氟(PMSF)的存在下将细胞浆解冻约30分钟,并可通过离心除去细胞碎片(Carter等人, *BioTechnology*, 第10卷:第163-167页, 1992年)。如果多肽分泌到培养基中,则可以收集细胞培养物的上清液,并使

用可商购获得的蛋白质浓缩过滤器(例如Amincon或Millipore Pellicon超滤单元)进行浓缩。收集和浓缩步骤可包括蛋白酶抑制剂和/或抗生素以抑制蛋白质降解和/或污染微生物生长。

[0451] 可通过合适的方法诸如但不限于亲和层析、羟基磷灰石层析、体积排阻色谱、凝胶电泳、透析、离子交换柱上离子交换分级、乙醇沉淀、反相HPLC、硅胶层析、肝素琼脂糖层析、阴离子或阳离子交换树脂(诸如聚天冬氨酸柱)层析、层析聚焦、SDS-PAGE和硫酸铵沉淀来进一步纯化表达的多肽(参见综述,Bonner,P.L.,Protein purification,Taylor&Francis出版,2007年;Janson,J.C.等人,Protein purification:principles,high resolution methods and applications,Wiley-VCH出版,1998年)。

[0452] 在一些实施方案中,可通过亲和层析来纯化多肽。在一些实施方案中,蛋白A层析或蛋白A/G(蛋白A和蛋白G的融合蛋白)层析可用于纯化包括来源于抗体CH2结构域和/或CH3结构域和/或V_H和/或V_H的组分的多肽(Lindmark等人,J.Immunol.Meth.,第62卷:第1-13页,1983年);Zettlitt,K.A.,Antibody Engineering,第五部,第531-535页,2010年;Fridy等人,2015年,Analytical Biochemistry,第477卷,第92-94页;Henry等人,2016年,PLoS One.,2016年,第11卷第9期:e0163113)。在一些实施方案中,蛋白G层析可用于纯化包括IgG γ 3重链的多肽和/或多肽复合物(Guss等人,EMBO J.,第5卷:第1567-1575页,1986年)。在一些实施方案中,蛋白L层析可用于纯化包括 κ 轻链的多肽和/或多肽复合物(Sudhir,P.,Antigen engineering protocols,第26章,Humana Press出版,1995年;Nilson,B.H.K.等人,J.Biol.Chem.,第267卷,第2234-2239页,1992年)。亲和配体所连接的基质最通常为琼脂糖,但也可使用其他基质。机械稳定的基质诸如可控孔度玻璃或聚(苯乙烯二乙烯基)苯允许比琼脂糖所能达到的更快的流速和更短的加工时间。当抗体包括CH3结构域时,Bakerbond ABX树脂(J.T.Baker,Phillipsburg,N.J.)可用于纯化。

[0453] VI. 制品和试剂盒

[0454] 在本发明的一些实施方案中,提供了含有用于治疗个体中的疾病或病症(诸如癌症或炎性疾病)的材料的制品,以用于将融合蛋白施用至个体。制品可包括容器和关于该容器或与该容器相关联的标签或包装说明书。合适的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器等。容器可由各种材料诸如玻璃或塑料形成。通常,容器容纳有效治疗本文所述的疾病或病症的组合物并且可具有无菌入口(例如容器可为静脉注射溶液袋或具有可由皮下注射针头刺穿的塞子的小瓶)。组合物中的至少一种活性剂是本文所述的融合蛋白。标签或包装说明书指示组合物用于治疗特定病症。标签或包装说明书还将包括用于将融合蛋白施用至患者的说明书。包括本文所述的组合疗法的制品和试剂盒也考虑在内。

[0455] 包装说明书是指通常包括在治疗性产品的商业包装中的说明书,其含有关于涉及此类治疗性产品使用的适应症、用法、剂量、施用、禁忌症和/或警告的信息。在一些实施方案中,包装说明书指示组合物用于治疗疾病或病症(诸如癌症或炎性疾病)。

[0456] 另外,制品还可包括第二容器,该第二容器包括药学上可接受的缓冲液,诸如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液和葡萄糖溶液。制品还可包括从商业和用户角度来看所需的材料,包括其他缓冲液、稀释液、过滤器、针头和注射器。

[0457] 还提供了用于各种目的的试剂盒,例如用于治疗本文所述的疾病或病症(诸如癌症或炎性疾病),用于将融合蛋白施用至个体,任选地与制品组合。本发明的试剂盒包括含

有融合蛋白组合物(或单位剂型和/或制品)的一个或多个容器,并且在一些实施方案中还包括另一种药剂(诸如本文所述的药剂)以及/或者用于根据本文所述的任何方法使用的说明书。试剂盒还可包括选择适于治疗的个体的描述。本发明的试剂盒中提供的说明通常是标签或包装说明书(例如,试剂盒中包括的纸片)上的书面说明,但机器可读说明(例如,磁或光存储盘上携带的说明)也是可接受的。

[0458] 例如,在一些实施方案中,试剂盒包括含有融合蛋白的组合物。在一些实施方案中,试剂盒包括a)含有融合蛋白的组合物以及b)有效量的如本文所述的至少一种其他药剂。在一些实施方案中,试剂盒包括a)含有融合蛋白的组合物以及b)用于将融合蛋白组合物施用至个体以进行治疗的说明书。在一些实施方案中,试剂盒包括a)含有融合蛋白的组合物、b)有效量的如本文所述的至少一种其他药剂、以及c)用于将融合蛋白组合物和其他药剂施用至个体以进行治疗的说明书。融合蛋白和其他药剂可存在于分开的容器中或存在于单个容器中。例如,试剂盒可包括一种特定的组合物或两种或更多种组合物,其中一种组合物包括融合蛋白并且另一种组合物包括另一种药剂。

[0459] 本发明的试剂盒具有合适的包装。合适的包装包括但不限于小瓶、瓶子、罐子、软包装(例如,密封的Mylar或塑料袋)等。试剂盒可任选地提供另外的组分,诸如缓冲液和解释性信息。因此,本申请还提供了制品,其包括小瓶(诸如密封小瓶)、瓶子、罐子、软包装等。

[0460] 与融合蛋白组合物的使用相关的说明书通常包括关于剂量、给药方案以及用于预期治疗的给药途径的信息。容器可为单位剂量、散装包装(例如,多剂量包装)或亚单位剂量。例如,可提供含有足够剂量的如本文所公开的融合蛋白的试剂盒以提供对个体的长期有效治疗,诸如一周、8天、9天、10天、11天、12天、13天、2周、3周、4周、6周、8周、3个月、4个月、5个月、7个月、8个月、9个月或更长时间中的任何一者。试剂盒也可包括多个单位剂量的融合蛋白和药物组合物以及使用说明书,并且以足以在药房(例如医院药房和复合药房)中储存和使用的量包装。

[0461] 本领域技术人员将认识到,在本发明的范围和精神内,若干实施方案是可能的。现参考以下非限制性实施方案更详细地描述本发明。以下实施方案进一步说明本发明,但当然不应理解为以任何方式限制其范围。

[0462] 示例性实施方案

[0463] 1.一种融合蛋白,包括:a)细胞因子,和b)白蛋白结合部分(诸如与白蛋白结合的sdAb),其中所述细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。

[0464] 2.一种融合蛋白,包括:a)融合至白蛋白结合部分的细胞因子(“细胞因子-ALBBM”),和b)抗原结合部分,其中所述细胞因子-ALBBM和所述抗原结合部分之间的连接任选地是可切割的。

[0465] 3.如实施方案2所述的融合蛋白,其中所述细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15、IL-33和IL-22。

[0466] 4.如实施方案1至3中任一项所述的融合蛋白,其中所述细胞因子是IL-21。

[0467] 5.如实施方案4所述的融合蛋白,其中IL-21包括SEQ ID NO:1、2、126、171或172的氨基酸序列或其变体,所述变体与SEQ ID NO:1、2、126、171或172具有至少约80%的序列同一性。

- [0468] 6.如实施方案1至5中任一项所述的融合蛋白,其中所述白蛋白结合部分与人血清白蛋白(HSA)和/或食蟹猴血清白蛋白(CMSA)结合。
- [0469] 7.如实施方案1至6中任一项所述的融合蛋白,其中所述白蛋白结合部分包括白蛋白结合结构域(ABD)。
- [0470] 8.如实施方案1至7中任一项所述的融合蛋白,其中所述白蛋白结合结构域包括选自SEQ ID NO:3-11的氨基酸序列或其变体,所述变体与SEQ ID NO:3-11中的任一项具有至少约80%的序列同一性。
- [0471] 9.如实施方案1至6中任一项所述的融合蛋白,其中所述白蛋白结合部分包括单结构域抗体(sdAb)。
- [0472] 10.如实施方案9所述的融合蛋白,其中所述sdAb为VHH单结构域抗体。
- [0473] 11.如实施方案1至10中任一项所述的融合蛋白,其中所述白蛋白结合部分融合至所述细胞因子的C末端。
- [0474] 12.如实施方案1至10中任一项所述的融合蛋白,其中所述白蛋白结合部分融合至所述细胞因子的N末端。
- [0475] 13.如实施方案1至12中任一项所述的融合蛋白,其中所述细胞因子和所述白蛋白结合部分通过第一接头连接。
- [0476] 14.如实施方案13所述的融合蛋白,其中所述第一接头具有约一至三十个氨基酸的长度。
- [0477] 15.如实施方案13或实施方案14所述的融合蛋白,其中所述第一接头选自SEQ ID NO:12-26和158-159。
- [0478] 16.如实施方案2至15中任一项所述的融合蛋白,其中所述抗原结合部分融合至所述细胞因子-ALBBM的C末端。
- [0479] 17.如实施方案2至15中任一项所述的融合蛋白,其中所述抗原结合部分融合至所述细胞因子-ALBBM的N末端。
- [0480] 18.如实施方案2至17中任一项所述的融合蛋白,其中所述抗原结合部分通过第二接头融合至所述细胞因子-ALBBM。
- [0481] 19.如实施方案18所述的融合蛋白,其中所述第二接头具有约一至三十个氨基酸的长度。
- [0482] 20.如实施方案18或实施方案19所述的融合蛋白,其中所述第二接头是可切割的。
- [0483] 21.如实施方案20所述的融合蛋白,其中所述可切割接头是基质金属蛋白酶、豆荚蛋白、蛋白裂解酶或尿激酶敏感型接头。
- [0484] 22.如实施方案18至21中任一项所述的融合蛋白,其中所述第二接头选自SEQ ID NO:12-45和158-159。
- [0485] 23.如实施方案2至22中任一项所述的融合蛋白,其中所述抗原结合部分与肿瘤抗原结合。
- [0486] 24.如实施方案23所述的融合蛋白,其中所述肿瘤抗原选自间皮素(“MSLN”)、GPA33、Her-2、EGFR和CD20。
- [0487] 25.如实施方案23所述的融合蛋白,其中所述肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA和BCMA。

- [0488] 26. 如实施方案2至25中任一项所述的融合蛋白,其中所述抗原结合部分是抗体或其片段。
- [0489] 27. 如实施方案2至26中任一项所述的融合蛋白,其中所述抗原结合部分包括单结构域抗体(sdAb)。
- [0490] 28. 如实施方案27所述的融合蛋白,其中所述抗原结合部分包括VHH单结构域抗体。
- [0491] 29. 如实施方案27所述的融合蛋白,其中所述sdAb与间皮素结合。
- [0492] 30. 一种药物组合物,包括如实施方案1至29中任一项所述的融合蛋白。
- [0493] 31. 一种治疗个体中的疾病或病症的方法,包括向所述个体施用如实施方案1至29中任一项所述的融合蛋白或如实施方案30所述的药物组合物。
- [0494] 32. 如实施方案31所述的方法,还包括施用第二药剂。
- [0495] 33. 一种治疗个体中的疾病或病症的方法,包括向所述个体施用a) 融合蛋白,所述融合蛋白包括i) 细胞因子和ii) 融合至所述细胞因子的半衰期延长结构域;和b) 第二药剂。
- [0496] 34. 如实施方案33所述的方法,其中所述半衰期延长结构域是白蛋白结合部分。
- [0497] 35. 如实施方案33所述的方法,其中所述半衰期延长结构域是白蛋白。
- [0498] 36. 如实施方案33所述的方法,其中所述半衰期延长结构域是Fc片段。
- [0499] 37. 如实施方案36所述的方法,其中所述Fc片段选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4Fc片段或其变体。
- [0500] 38. 如实施方案37所述的方法,其中所述Fc片段是IgG1 Fc片段或其变体。
- [0501] 39. 如实施方案38所述的方法,其中所述IgG1 Fc片段或其变体包括位置297的突变,其中位置297的氨基酸突变为丙氨酸、天冬氨酸或甘氨酸。
- [0502] 40. 如实施方案31至39中任一项所述的方法,其中所述个体是人。
- [0503] 41. 如实施方案31至40中任一项所述的方法,其中所述疾病或病症选自癌症、炎症性病症和感染。
- [0504] 42. 如实施方案41所述的方法,其中所述疾病或病症是炎症性疾病。
- [0505] 43. 如实施方案42所述的方法,其中所述细胞因子是IL-22。
- [0506] 44. 如实施方案42或实施方案43所述的方法,其中所述疾病选自溃疡性结肠炎、克罗恩病或溃疡性回肠炎和肠移植抗宿主病。
- [0507] 45. 如实施方案41所述的方法,其中所述疾病或病症是癌症。
- [0508] 46. 如实施方案45所述的方法,其中所述癌症是实体瘤或液体瘤。
- [0509] 47. 如实施方案45所述的方法,其中所述癌症选自间皮瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、淋巴瘤、白血病、头颈癌、肝癌、食管癌、胃癌和结肠直肠癌。
- [0510] 48. 如实施方案47所述的方法,其中所述癌症选自间皮瘤、肺癌、卵巢癌和胃癌。
- [0511] 49. 如实施方案45至48中任一项所述的方法,其中所述细胞因子选自IL-21、IL-7、IL-15、与IL-15R α 或其片段结合的IL-15和IL-33。
- [0512] 50. 如实施方案31至49中任一项所述的方法,其中所述融合蛋白以约每三周一次至约每周两次的频率施用。
- [0513] 51. 如实施方案31至50中任一项所述的方法,其中每次施用的所述融合蛋白的量为约100ng/kg至约10mg/kg。

[0514] 52. 如实施方案31至51中任一项所述的方法,其中所述融合蛋白经胃肠外施用至所述个体。

[0515] 53. 如实施方案52所述的方法,其中所述融合蛋白经静脉内或皮下施用至所述个体。

[0516] 54. 如实施方案31至53中任一项所述的方法,其中每个治疗周期施用所述融合蛋白至少约一周至六个月。

[0517] 55. 如实施方案32至54中任一项所述的方法,其中所述第二药剂包括治疗性抗体、免疫检查点抑制剂、第二细胞因子、化疗剂、酪氨酸激酶抑制剂或免疫细胞。

[0518] 56. 如实施方案55所述的方法,其中所述第二药剂是治疗性抗体。

[0519] 57. 如实施方案56所述的方法,其中所述治疗性抗体与肿瘤抗原结合。

[0520] 58. 如实施方案57所述的方法,其中所述肿瘤抗原选自间皮素 (MSLN)、GPA33、Her-2 (ERBB2)、EGFR和CD20 (MS4A1)。

[0521] 59. 如实施方案57所述的方法,其中所述肿瘤抗原选自CEA、MUC16、MUC1、AFP、EPCAM、CD19、CD21、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、PSMA和BCMA。

[0522] 60. 如实施方案59所述的方法,其中所述肿瘤抗原是间皮素。

[0523] 61. 如实施方案60所述的方法,其中所述第二药剂是抗间皮素抗体或其片段。

[0524] 62. 如实施方案61所述的方法,其中所述抗间皮素抗体或其片段包括含有抗间皮素重链可变区 (抗MSLN VH) 的单链抗体,其中:

[0525] a) 抗MSLN VH包括含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的CDR1、含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的CDR3,或CDR中总共包括至多3、2或1个氨基酸取代的变体;或

[0526] b) 抗MSLN VH包括含有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的CDR1、含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的CDR3,或在CDR中总共包括至多3、2或1个氨基酸取代的变体。

[0527] 63. 如实施方案60至62中任一项所述的方法,其中与间皮素结合的所述第二药剂以约每月一次至约每周两次的频率施用。

[0528] 64. 如实施方案60至63中任一项所述的方法,其中每次施用的所述第二药剂的量为约100ng/kg至约100mg/kg。

[0529] 65. 如实施方案55所述的方法,其中所述第二药剂是免疫检查点调节剂。

[0530] 66. 如实施方案65所述的方法,其中所述免疫检查点调节剂是选自PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、4-1BB、CD47、TIGIT、GITR、TIM3、LAG3、CD27和B7H4的免疫检查点蛋白的抑制剂。

[0531] 67. 如实施方案66所述的方法,其中所述免疫检查点蛋白是PD-1。

[0532] 68. 如实施方案67所述的方法,其中所述第二药剂是抗PD-1抗体或其片段。

[0533] 69. 如实施方案67或68所述的方法,其中每次施用的所述第二药剂的量为约1μg/kg至约100mg/kg。

[0534] 70. 如实施方案55所述的方法,其中所述第二药剂是第二细胞因子。

[0535] 71. 如实施方案70所述的方法,其中所述融合蛋白中的-细胞因子是IL-21,并且其中所述第二细胞因子选自IL-7、IL-15、与IL15Rα结合的IL15或其半衰期延长变体。

- [0536] 72.如实施方案55所述的方法,其中所述第二药剂是免疫细胞。
- [0537] 73.如实施方案72所述的方法,其中所述免疫细胞包括T细胞或NK细胞。
- [0538] 74.如实施方案73所述的方法,其中所述免疫细胞包括表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞、表达修饰的T细胞受体(TCR)的T细胞或从肿瘤中分离的T细胞。
- [0539] 75.如实施方案55所述的方法,其中所述第二药剂是酪氨酸激酶抑制剂。
- [0540] 76.如实施方案32至75中任一项所述的方法,其中所述第二药剂经胃肠外或口服施用至所述个体。
- [0541] 77.如实施方案76所述的方法,其中所述第二药剂经胃肠外施用至所述个体。
- [0542] 78.如实施方案77所述的方法,其中所述第二药剂经静脉内施用至所述个体。
- [0543] 79.如实施方案32至78中任一项所述的方法,其中将所述融合蛋白和所述第二药剂同时、并行或依次施用至所述个体。
- [0544] 实施例
- [0545] 以下实施例仅旨在为本申请的示例,因此不应被认为以任何方式限制本申请。以下实施例和详细描述是通过说明而不是限制的方式提供的。
- [0546] 实施例1:示例性IL-21融合蛋白
- [0547] 本实施例说明了本文所提供的某些示例性IL-21融合蛋白。应当理解,本实施例中所描述的示例性IL-21融合蛋白并不代表本发明的全部范围。
- [0548] IL-21-(HSA结合分子)-(抗MSLN)在本文中用于呈现某些示例性IL-融合蛋白,这些示例性IL-融合蛋白包括1)IL-21或其变体,例如截短IL-21;2)与人血清白蛋白(HSA)结合的肽(例如,ABD或sdAb);3)靶向肿瘤抗原间皮素(MSLN)的一种或多种抗体或其抗原结合片段,4)由4-20个氨基酸组成的连接IL-21的C末端和抗HSA的N末端的第一接头(L1);以及5)由4-20个氨基酸组成的连接抗HSA的C末端和抗MSLN的N末端的第二接头(L2)。
- [0549] IL-21可具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列。另选地,IL-21可为截短人IL-21,其具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列。
- [0550] 关于HSA结合肽的一些选择参见序列表(SEQ ID NO:3至SEQ ID NO:11)。
- [0551] 示例性的L1接头和L2接头可独立地选自SEQ ID NO:12-45和158-159。
- [0552] 在某些示例性IL-21融合蛋白中,抗MSLN功能模块包括靶向间皮素的不同结构域的两个单结构域抗体(sdAbs),并且这两个sdAbs通过由4-20个氨基酸组成的第三接头(L3)连接。L3接头可选自SEQ ID NO:14和19-22。
- [0553] 本实施例的示例性IL-21融合蛋白的设计考虑了上述IL-21融合蛋白的各种组分的所有可能的组合。
- [0554] 实施例2:抗MSLN单结构域抗体的产生
- [0555] 使用两种不同的抗原肽来免疫美洲驼以产生抗MSLN单结构域抗体(VHH抗体)。第一抗原肽(MSLN抗原1)代表细胞膜锚定的MSLN。第二抗原肽(MSLN抗原2)代表细胞膜锚定的MSLN的C末端。这两种肽的序列如下:
- [0556] MSLN抗原1(MSLN切割形式)
- [0557] EVEKTACPSGKKAREIDESLIFYKKWELEACVDAALLATQMDRVNAIPFTYEQLD
- [0558] VLKHKLDELYPQGYPESVIQHLGYLFLKMSPEDIRKWNVTSLKALLEVNGK
- [0559] HEMSPQAPRRPLPQVATLIDRFVKGRGQLDKDTLDTLTAFYPPGYLCSLSPEELSS

[0560] VPPSSIWAVRPQDLDTCDPRQLDVLYPKARLAFQNMNGSEYFVKIQSFLGGAPTE

[0561] DLKALSQQNVSMDLATFMKLRTDAVLPLTVAEVQKLLGPHVEGLKAEERHRPV

[0562] RDWILRQRQDDLDLTLGLGLQGGIPNGYLVLDLSMQEALS

[0563] MSLN抗原2 (MSLN C末端)

[0564] VQKLLGPHVEGLKAEERHRPVRDWILRQRQDDLDLTLGLGLQGGIPNGYLV

[0565] 免疫后, 将外周单核细胞 (PBMC) 分离以用于RNA提取。用编码抗体基因的mRNA/cDNA来构建VHH抗体噬菌体展示文库。通过与抗原的多轮亲和结合来筛选构建的噬菌体展示文库。通过ELISA来鉴定阳性克隆。对阳性克隆的抗体基因测序, 并将这些基因克隆到UCOE载体 (EMD Millipore) 中以用于CHO细胞表达。

[0566] 示例性抗MSLN单结构域 (VHH) 抗体列于下表4中。示例性抗MSLN单结构域抗体的CDR序列列于下表5中。

[0567] 表4.

sdAb名称		VHH序列 (序列号)
抗MSLN-3	R3-B08(D5)或 R3D5	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSISSIRHMR WYRQAPGKQRELVA TVSN DGSAYYLGSVKGRFTIS RTNAKNTLLYLQMNSLKPEDSALYICNADTWGWP GADYWGQGTQVTVSS
抗MSLN-6	R3-E08(C7)或 R3C7	QVQLVESGGGLVEAGDSLRLSCVVSGR TLESYVM AWFRQAPGKEREAVASINWSSGR LIYAD FVKGRFT ISR DYEKNTIYLSMNNLKPEDTAVYYCAAGRYWG QGTQVTVSS
抗MSLN-9	R2-G06(G12) 或R2G12	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFPVNAYG WYRQAPGKQRD LVAIISAGGTTNYADSVKGRFAIS KDNVNNTVY LQMNSLTSEDTGVYYCYLQRRIGML RDYWGQGTQVTVSS
抗MSLN-35 (人源化)	R2G12 v1.1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFPVNAYG WYRQAPGKQRD LVAIISAGGTTNYADSVKGRFTIS RDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCYLQRRIGML RDYWGQGTQVTVSS
抗MSLN-36 (人源化)	R2G12 v1.2	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFPVNAYG WYRQAPGKGLELVAIISAGGTTNYADSVKGRFAIS KDNVNNTVY LQMNSLTSEDTGVYYCYLQRRIGML RDYWGQGTQVTVSS
[0568] 抗MSLN-37 (人源化)	R2G12 v1.3	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFPVNAYG WYRQAPGKGLELVAIISAGGTTNYADSVKGRFAIS KDNVNNTVY LQMNSLTSEDTGVYYCYLQRRIGML RDYWGQGTQVTVSS
抗MSLN-38 (人源化)	R3D5 v1.1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSISSIRHMR WYRQAPGKQRELVA TVSN DGSAYYAGSVKGRFTI SRDNSKNTLLYLQMNSLRAEDTAVYICNADTWGW PGADYWGQGTQVTVSS
抗MSLN-39 (人源化)	R3D5 v1.2	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSISSIRHMR WYRQAPGKGLELVA TVSN DGSAYYLGSVKGRFTIS RTNAKNTLLYLQMNSLKPEDSALYICNADTWGWP GADYWGQGTQVTVSS
抗MSLN-40 (人源化)	R3D5 v1.3	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSISSIRHMR WYRQAPGKGLELVA TVSN DGSAYYLGSVKGRFTIS RTNAKNTLLYLQMNSLKPEDSALYICNADTWGWP GADYWGQGTQVTVSS
抗MSLN-41 (人源化)	R3C7 v1.1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVVSGR TLESYVMA WFRQAPGKEREAVASINWSSGR LIYAD FVKGRFTIS RDNSKNTLY LQMNSLRPEDTAVYYCAAGRYWGQ GTQVTVSS
抗MSLN-42 (人源化)	R3C7 v1.2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVVSGR TLESYVMA WFRQAPGKGLEAVASINWSSGR LIYAD FVKGRFTIS RDNSKNTLY LQMNSLRPEDTAVYYCAAGRYWGQ GTQVTVSS

[0569]	抗MSLN-43 (人源化)	R3C7 v1.3	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTLESYVMA WFRQAPGKGLEAVASINWSSGRLIYADFVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAAGRYWGQ GTQVTVSS
	抗MSLN-44 (人源化)	R3C7 v1.4	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTLESYVMA WFRQAPGKGLEAVASINWSSGRLIYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGRYWGQ GTQVTVSS
	抗MSLN-45 (人源化)	R3C7 v1.5	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTLESYVMA WFRQAPGKEREAVASINWSSGRLIYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGRYWGQ GTQVTVSS

[0570] 表5.

[0571]	序列	sdAb名称
	[CDR1]GSISSIRH	抗MSLN-3
	[CDR2]VSNDGSA	
	[CDR3]NADTWGWPGADY	
	[CDR1]GRTLESYV	抗MSLN-6
	[CDR2]INWSSGRL	
	[CDR3]AAGRY	
	[CDR1]GITFPVNA	抗MSLN-9
	[CDR2]ISAGGTT	
[CDR3]YLQRRIGMLRDY		

[0572] 实施例3: IL-21融合蛋白的分子克隆

[0573] 寡核苷酸合成

[0574] 示例性寡核苷酸合成方法描述如下。通过使用GeneArt基因合成 (ThermoFisher Scientific) 或gBlocks基因片段 (Integrated DNA Technologies) 来获得编码全长人IL-21 (SEQ ID NO:1)、截短人IL-21 (SEQ ID NO:2)、G148-ABD-wt (SEQ ID NO:3)、低免疫原性G148-ABD变体 (SEQ ID NO:4-11)、靶向HSA的人源化sdAb以及靶向MSLN的人源化sdAb (例如表4中列出的那些) 的cDNA序列, 其中将NcoMIV限制性内切酶位点和Kozak序列添加至5'端并且将SalI限制性内切酶位点添加至3'端。优化这些基因的密码子使用以用于在中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞中表达。通过NcoMIV/SalI酶切-连接法将合成的寡核苷酸插入UCOE表达载体CET1019-AS-Puro (CS221284, Millipore Sigma)。

[0575] IL-21融合蛋白表达载体的构建

[0576] IL-21融合蛋白表达载体的构建在此举例说明。将IL-21的C末端通过肽接头 (L1) 融合至白蛋白结合结构域或白蛋白结合sdAb (抗HSA) 的N末端, 并且将白蛋白结合结构域或白蛋白结合sdAb的C末端通过第二肽接头 (L2) 与间皮素结合sdAb (抗MSLN) 融合。可通过Gibson组装 (Synthetic Genomics) 或类似的体外重组方法将编码这些多肽的DNA序列无缝组装在一起。为了产生用于Gibson组装反应的与其相邻片段具有重叠序列的DNA片段, 在引

物的5'端引入编码L1或L2接头肽或CET1019-AS-Puro载体序列的20-40个碱基对(bp)重叠序列(参见图2,步骤1)。扩增后,使用PureLink凝胶提取试剂盒(ThermoFisher Scientific)通过凝胶提取来纯化并收获PCR产物。根据制造商的方案通过Gibson组装预混液(New England BioLabs)或NEBuilder HiFi DNA组装预混液(New England BioLabs)将所需基因-接头-载体组合的纯化DNA片段混合并组装在一起(参见图2,步骤2)。

[0577] 类似地,图3说明了当白蛋白结合分子为ABD时,本文所提供的示例性IL-21融合蛋白的构建。

[0578] 6His标签可任选地融合至抗MSLN sdAb的C末端。在这种情况下,将编码6His的DNA序列用作设计用于扩增抗MSLN的反向引物和用于扩增CET1019 AS-puro载体主链的正向引物的重叠序列。

[0579] 组装反应后,根据制造商的方案将2 μ l的组装产物用于转化NEB 5- α 感受态大肠杆菌细胞(New England BioLabs)。从Amp选择孔板挑取菌落以用于随后使用PureLink快速质粒小量制备试剂盒(ThermoFisher Scientific)和DNA测序验证(ELIM Biopharmaceuticals)进行小量制备。

[0580] 实施例4:IL-21融合蛋白的表达和纯化

[0581] 编码IL-21融合蛋白的DNA序列在ExpiCHO细胞中瞬时表达。简言之,在第-1天,将CHO细胞以 3×10^6 个细胞/ml- 4×10^6 个细胞/ml的密度接种于125ml无挡板烧瓶中的25ml瞬时转染培养基(BalanCD®Transfectory™CHO,Irvine Scientific,#91147)中,再加入4mM谷氨酰胺。在第0天,将22.5 μ g质粒DNA与112.5 μ g PEI在1.5ml瞬时转染培养基中混合,并在室温下孵育7分钟。然后将混合物缓慢加入细胞中。在第1天向细胞添加1)0.5mM丙戊酸(50 μ l至25ml)、2)10%转染后补充物(Irvine Scientific#91148)、3)1.5ml葡萄糖储备液(200g/L)以及4)具有50g/L TC酵母粉的5% IS培养基一次。在第8天收获CHO细胞,以通过亲和柱纯化。

[0582] 实施例5:体外NK细胞增殖测定

[0583] 使用阴性选择试剂盒-Kit II(所有小珠均来自Miltenyi Biotec,Bergisch Gladbach,Germany)来分离人NK细胞。人工进行或用AutoMACS(Miltenyi)进行纯化。细胞的纯度始终由荧光激活细胞分选(FACS)控制,并且纯度高于90%。用本文所提供的融合蛋白包括以上实施例1中所描述的那些来处理分离的NK细胞。使用FACS分析用CD69信号来监测NK细胞的增殖。

[0584] 实施例6:体外细胞毒性分析

[0585] 将人肺癌细胞A549与刚分离的人PBMC混合,并与0ng/mL、5ng/mL、10ng/mL和50ng/mL纯化的IL-21融合蛋白一起孵育。在使用MMP可切割接头的情况下建立平行的一组实验,其中加入MMP9以激活IL-21。将混合培养物孵育至多72小时,并使用MTS方法来确定研究中裂解靶细胞的百分比。

[0586] 实施例7:体内功效研究

[0587] 在第0天将A549癌细胞植入Neu小鼠。在肿瘤生长至约50mm³-100 mm³后,将小鼠随机分组,并每隔一天用本文所提供的IL-融合蛋白和对照(例如PBS中的同种型对照抗体)治疗。当与IL-21组合研究(用IL-21和第二药剂进行联合治疗的研究)相比时,预期本文所提供的IL-21融合蛋白在相同剂量下显示更好的功效或在低得多的剂量下实现相似的功效。

[0588] 在给药前在基线测量肿瘤大小和体重。治疗后两周每周测量肿瘤大小和体重3次。收集终末血样以用于PK/PD分析。

[0589] 实施例8:抗HSA单结构域抗体的产生

[0590] 用小鼠表达的人血清白蛋白 (HSA) (Sigma, #A9731) 来免疫美洲驼以产生抗HSA单结构域抗体 (V_H H抗体)。免疫后,分离外周单核细胞 (PBMC) 以用于RNA提取。用编码抗体基因的mRNA/cDNA来构建 V_H H抗体噬菌体展示文库。通过与抗原的多轮亲和结合来筛选构建的噬菌体展示文库。通过Octet亲和力测量 (ForteBio, Octet RED96) 来鉴定阳性克隆。对阳性克隆的抗体基因测序,并将这些基因克隆到UCOE载体 (EMD Millipore, #CS221284) 中以用于中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞表达。

[0591] 根据上述方法产生九种示例性的新型抗HSA单结构域 (V_H H) 抗体。参见SEQ ID NO: 60-68。这9种示例性的新型 V_H H抗体的CDR序列在序列表中列出为SEQ ID NO:69-95。在这9种抗体中,一种抗体 (P367) 与人、食蟹猴和小鼠血清白蛋白相互作用。其余的抗体与人和食蟹猴血清白蛋白相互作用。

[0592] 实施例9:IL-21-抗HSA融合蛋白的分子克隆

[0593] IL-21-抗HSA融合蛋白表达载体的构建在此举例说明。通过基因合成,使用GeneArt基因合成 (ThermoFisher Scientific) 来获得编码全长人IL-21 (SEQ ID NO:1) 的cDNA序列。优化这些基因的密码子使用以用于在中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞中表达。将人IL-21的C末端通过肽接头融合至抗HSA V_H H抗体的N末端。可通过组装克隆 (New England BioLabs, #E5520S) 或类似的体外重组方法将编码人IL21、多肽接头和抗HSA V_H H抗体的DNA序列无缝组装在一起。将IL-21-抗HSA融合物的寡核苷酸插入UCOE表达载体CET1019-AS-Puro (EMD Millipore, #CS221284) 以用于CHO细胞表达。

[0594] 表6列出了人IL-21的序列。

[0595] 表6:白细胞介素21

名称	SEQ ID	序列
全长人IL21	SEQ ID NO.1	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVE TNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLKRKPP STNAGRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMI HQHLSSRTHGSEDS
[0596] 截短人IL21 (10aa)	SEQ ID NO.2	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVE TNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLKRKPP STNAGRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMI HQHL
截短人IL21 (11aa)	SEQ ID NO.126	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVE TNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLKRKPP STNAGRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMI HQB

[0597] 表7列出了用于人IL-21-抗HSA融合蛋白的示例性多肽接头。

[0598] 表7.

[0599]	名称	SEQ ID	序列	
	GSG接头, n=1-6	12	(GSG) _n	不可切割
	G3S接头, n=1-6	13	(G3S) _n	
	G4S接头, n=1-6	14	(G4S) _n	
	EAAAK接头, n=1-6	15	(EAAAK) _n	
	PAPAP接头, n=1-6	16	(PAPAP) _n	
	VLVH.接头	17	IKRTVAAP	
	SIRP α 接头	18	RAKPS	
	UPA接头	28	SGRSA	可切割
	MMP接头	29	PVGLIG	

[0600] 实施例10:IL-21融合蛋白的表达和纯化

[0601] 编码IL-21融合蛋白的DNA序列在ExpiCHO细胞中瞬时表达。简言之,在第-1天,将ExpiCHO-S细胞(Gibco™, #A29127)以 3×10^6 个细胞/ml- 4×10^6 个细胞/ml的密度接种于含ExpiCHO表达培养基(Gibco™, #A2910001)的通气的Erlenmeyer摇瓶中,并置于含有8% CO₂的37℃培养箱中的125rpm定轨摇床上。在第0天,将质粒DNA与Expifectamine CHO试剂(Gibco™, #A29129)混合。然后将混合物缓慢加入细胞中。16小时后,将细胞转移至具有5% CO₂的32℃培养箱中。在第1天和第5天向细胞添加ExpiCHO™培养基(Gibco, #A29129)两次。在第8-12天收获CHO细胞,以通过亲和柱纯化。

[0602] 如图4所示,抗HSA抗体P367与人、猴或小鼠血清白蛋白相互作用。将P367-IgG1 Fc融合蛋白加载到蛋白A生物传感器上并浸入人、猴或小鼠血清白蛋白。有色线条表示血清白蛋白在400nM(深蓝色)、200nM(深红色)和100nM(浅蓝色)的不同浓度下的结合反应。用整体拟合(红色)分析主要实验数据以确定K_D。

[0603] 实施例11:抗HSA缀合物白细胞介素21信号传导效力类似于重组IL21

[0604] 将Pfeiffer细胞维持在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。将100,000个Pfeiffer细胞用指定浓度的重组人IL-21(rhIL-21)、P390(小鼠IL-21-抗HSA,具有SEQ ID NO:120的序列)或P394(人IL-21-抗HSA,具有SEQ ID NO:121的序列)在含有10mM HEPES的Hanks平衡盐溶液在37℃、5% CO₂下处理30分钟。根据制造商的说明书使用磷酸-STAT3(Tyr705)均相时间分辨荧光(HTRF)测定(Cisbio)来测量磷酸-STAT3.665nm/620nm的信号比乘以1000,作图并使用剂量响应曲线拟合(Graphpad Prism)以计算EC₅₀。

[0605] 如图5和表8所示,IL-21-抗HSA缀合物显示了相对于重组人IL-21同等的细胞效价。

[0606] 表8:不同IL-21变体的EC₅₀

[0607]	分子	EC ₅₀ (pM)
	rhIL21	150
	P390	88
	P394	111

[0608] 实施例12:ADCC测定

[0609] 将NCI-N87和NCI-H226癌细胞系维持在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。在第0天,将10,000个NCI-N87细胞/孔和5,000个NCI-H226细胞/孔铺板于96

孔平底板的培养基中。在第1天,使用RosetteSep NK分离试剂盒(Stemcell Technologies)从人白细胞层分离NK细胞,并且将100,000个NK细胞/孔与指定处理物一起加入癌细胞。将平板在37℃、5% CO₂下孵育48小时,然后用4%多聚甲醛来固定细胞并用Sytox Orange将细胞核染色。通过使用Cytation 1(Biotek)计数每个孔中剩余的癌细胞核的数目来计算剩余癌细胞的数目。细胞计数越低表明NK介导的细胞杀伤越好。(P303为抗MSLN抗体;P394为人IL-21-抗HSA融合蛋白;P390为小鼠IL-21-抗HSA融合蛋白;P461/P462为人IL-15/IL-15R α -抗HSA融合蛋白)。

[0610] 如图6A和图6B所示,当与抗MSLN抗体组合时,抗HSA融合蛋白mIL-21和hIL-21增强了NK细胞ADCC活性。IL-21抗HSA融合蛋白的ADCC增强的程度与rhIL-21相似。

[0611] 实施例13:ADCC剂量响应

[0612] 将NCI-N87和NCI-H226癌细胞系维持在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。在第0天,将10,000个NCI-N87细胞/孔和5,000个NCI-H226细胞/孔铺板于96孔平底板的培养基中。在第1天,使用RosetteSep NK分离试剂盒(Stemcell Technologies)从人白细胞层分离NK细胞,并且将100,000个NK细胞/孔与指定处理物一起加入癌细胞。将抗MSLN抗体P303以3ng/ml (NCI-N87细胞)或20ng/ml (NCI-H226细胞)添加到每个孔中。将平板在37℃、5% CO₂下孵育48小时,然后用4%多聚甲醛来固定细胞并用Sytox Orange将细胞核染色。通过使用Cytation 1(Biotek)计数每个孔中剩余的癌细胞核的数目来计算剩余癌细胞的数目。细胞计数越低表明NK介导的细胞杀伤越好。(P303为抗MSLN抗体;P394为人IL-21-抗HSA融合蛋白;P390为小鼠IL-21-抗HSA融合蛋白;P461/P462 (SEQ ID NO:123和124)和P461/P463 (SEQ ID NO:123和125)均为IL-15/IL-15R α -抗HSA融合蛋白;rhIL-15为重组人IL-15。)

[0613] 如图6C和6D所示,当与抗MSLN抗体组合时,IL-21-抗HSA和IL-15-抗HSA均显示完全的ADCC效力,可低至0.6ng/ml或更低。

[0614] 实施例14:全长和截短IL-21融合蛋白、具有不同接头的融合蛋白以及N末端和C末端IL-21融合蛋白的活性。

[0615] A部分。

[0616] 将Pfeiffer细胞维持在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。将100,000个Pfeiffer细胞用指定浓度的重组人IL-21 (rhIL-21)、P394 (人IL-21-GSG4-抗HSA,具有SEQ ID NO:121的序列)、P593 (人IL-21 (1-122) -A (EAAAK) 4A-抗HSA)、P636 (人IL-21 (1-119) -GSG4-抗HSA)、P637 (人IL-21 (1-120) -GSG4-抗HSA)、P744 (人IL-21 (1-122) -A (EAAAK) 4A-抗HSA)、P748 (抗HSA-A (EAAAK) 4A-人IL-21 (1-122))、P750 (人IL-21-GSG4-抗HSA)、P751 (人IL-21-A (EAAAK) 4A-抗HSA) 和P783 (人IL-21 (1-122) -A (EAAAK) 4A-抗HSA) 在37℃、5% CO₂的含有10mM HEPES的Hanks平衡盐溶液中处理30分钟。根据制造商的说明书使用磷酸-STAT3 (Tyr705) 均相时间分辨荧光 (HTRF) 测定 (Cisbio) 来测量磷酸-STAT3。665nm/620nm的信号比乘以1000,作图并使用剂量响应曲线拟合 (Graphpad Prism) 以计算EC₅₀。

[0617] 所有融合蛋白显示相似的IL-21R信号传导活性,表明测试的截短变体、测试的不同接头以及测试的C末端相对N末端IL-21融合体不影响IL-21信号传导 (图7A)。

[0618] B部分。

[0619] 将NCI-N87癌细胞系维持在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。

在第0天,将10,000个NCI-N87细胞/孔和5,000个NCI-H226细胞/孔铺板于96孔平底板的培养基中。在第1天,使用RosetteSep NK分离试剂盒(Stemcell Technologies)从人白细胞层分离NK细胞,并且将100,000个NK细胞/孔与指定处理物一起加入癌细胞。将平板在37℃、5% CO₂下温育48小时,然后用4%多聚甲醛来固定细胞并用Sytox Orange将细胞核染色。通过使用Cytation 1 (Biotek) 计数每个孔中剩余的癌细胞核的数目来计算剩余癌细胞的数目。细胞计数越低表明NK介导的细胞杀伤越好。P394 (人IL-21-GSG4-抗HSA,具有SEQ ID NO:121的序列)、P593 (人IL-21 (1-122) -A (EAAAK) 4A-抗HSA)、P636 (人IL-21 (1-119) -GSG4-抗HSA)、P637 (人IL-21 (1-120) -GSG4-抗HSA)、P744 (人IL-21 (1-122) -A (EAAAK) 4A-抗HSA)、P748 (抗HSA-A (EAAAK) 4A-人IL-21 (1-122)、P750 (人IL-21-GSG4-抗HSA)、P751 (人IL-21-A (EAAAK) 4A-抗HSA) 和P783 (人IL-21 (1-122) -A (EAAAK) 4A-抗HSA)。

[0620] 当与抗MSLN抗体组合时,所有融合蛋白显示相似的ADCC功能,表明测试的截短变体(WT相对C末端截短)、测试的不同接头(GSG4相对A (EAAAK) 4A) 以及测试的C末端相对N末端IL-21融合体不影响IL-21活化NK细胞(图7B和图7C)。

[0621] 实施例15:IL-21-抗HSA融合蛋白的药代动力学评价

[0622] 用稀释于100μl PBS中的rhIL-21、P325或P394经腹膜内注射Balb/cJ小鼠。给药前取血后,在注射化合物P394后0.5、2、6、24、48、72、96小时或注射化合物rhIL-21和P325后0.25、0.5、1、2、6、24、48、72小时对小鼠取血。将血液置于含有EDTA的微容器(BD)中以防止凝固。根据制造商的说明书使用IL-21ELISA(Life Technologies)来定量IL-21蛋白,其中每种化合物作为其自身的标准品。

[0623] 小鼠体内3μg重组人IL-21、3μg P325 (人IL-21非相关纳米抗体) 和3或30μgP394 (人IL-21-抗HSA) 的药代动力学评价显示P394的半衰期延长且暴露量增加,展示了IL-21与抗HSA缀合的影响。(图8)

[0624] 将抗HSA缀合至IL-21延长了体内半衰期并且增加了暴露量。

[0625] 实施例16:IL-21融合蛋白的表征

[0626] A部分.HPLC和SDS-PAGE

[0627] IL-21融合蛋白纯化后,通过SDS-PAGE和/或高效液相色谱(HPLC)来确定其大小和纯度。对于SDS-PAGE,使用NuPAGE 4-12% Bis-Tris蛋白质凝胶预制凝胶(ThermoFisher),并将大约1μg的蛋白质加载到每个孔中。电泳后,将蛋白质凝胶上的蛋白质固定并用InstantBlue蛋白质染色剂(Expedeon)染色。如图9A所示,与优化的接头组合的截短IL-21 (1-122) -A (EAAAK) 4A-抗HSA融合蛋白(AWT-593) 相比于全长IL-21 - (GSG) 4-抗HSA融合蛋白(AWT-P394,泳道1) 显示降低的降解(泳道3)。

[0628] 此外,如图9F和图9G所示,P748,抗HSA-A (EAAAK) 4A-IL21 (1-122) (P748) (图9G中的泳道1) 显示出比P593(图9F中的泳道3) 和P394(图9F中的泳道1) 甚至更低的降解,这表明IL21与抗HSA抗体的C末端的融合体在生产过程中减少了蛋白质切割。

[0629] 对于HPLC,在Shimadzu LC-2030C HPLC系统上进行分析。使用25mM磷酸钠、500mM氯化钠缓冲液(pH 6.5) 将约5μg的样品以0.25mL/min注射到AdvanceBio300Å,2.7μM,4.6 × 300mm体积排阻柱(Agilent) 上。使用LabSolution软件(Shimadzu) 运行后分析数据。在12.5分钟时可检测到由>95%的总蛋白质样品组成的单峰。图9B示出了AWT-P394 IL-21-抗HSA融合蛋白的代表性色谱图。

[0630] B部分.制剂

[0631] 为了快速评估最佳制剂条件以及不同分子设计的稳定性,将两步纯化的IL-21融合蛋白用缓冲液交换到具有0.02% Tween 80,在不同pH(3-7)下包含不同量的组氨酸(5-20mM)和NaCl(0-100mM)的不同缓冲液中。将蛋白质样品从40℃逐渐加热至80℃,并使用DynaPro读板仪III(Wyatt Technology)通过动态光散射(DLS)来确定每个样品的实时蛋白质大小分布。经过两步纯化后,超过99%的IL-21-抗HSA融合蛋白小于10nm。在温度上升期间,确定在蛋白质制剂中诱导聚集所需的最小温度为 T_{onset} 。在所有测试条件下产生最高 T_{onset} (>80℃)的最佳制剂为pH 4.0的5mM组氨酸、25mM NaCl和0.02% Tween 80。参见图9C至图9D。

[0632] 如图9D所示,IL-21截短和接头优化的组合也有助于提高蛋白质稳定性。与全长人IL-21-(GSG)4-抗HSA融合蛋白相比,具有优化的接头的截短IL-21(AWT-P593)显著提高了 T_{onset} ,表明在指定制剂条件下稳定性大大提高。

[0633] C部分.结合亲和力

[0634] 人IL-21受体与IL-21-抗HSA融合蛋白AWT-P394或AWT-P593的结合。使用Octet RED96(ForteBio)来表征相互作用。简言之,将人IL-21受体-hgG1 Fc融合蛋白加载到AHC生物传感器上,并浸入100nM浓度的AWT-P394或AWT-P593中。用整体拟合分析主要实验数据以确定 K_D 。参见图9E。

[0635] 实施例17:抗HSA抗体

[0636] 白蛋白是人血清中最丰富的蛋白质,其半衰期为三周。血清白蛋白的长半衰期主要归因于对新生儿Fc受体(FcRn)的保护。血清白蛋白可通过称为液相胞饮作用的过程被体细胞摄取。随后胞饮小泡与核内体区室融合,其中pH在4.5-6.5的范围内。如果囊泡中的蛋白质从它们的受体释放,则这些蛋白质将被进一步分类以用于溶酶体降解。血清白蛋白和FcRn之间的结合仅在酸性pH(<6.5)下发生,使得FcRn从核内体中拯救白蛋白并将它们再循环回血清(Grevys等人,2018年)。因此,作为白蛋白依赖性半衰期延长部分,抗HSA抗体需要在中性和酸性pH下均保持其结合亲和力。

[0637] 使用Octet RED96(ForteBio)来表征在pH 7.4和pH 5.5时AWT-610与人或猴血清白蛋白之间的相互作用。简言之,将AWT-P610-hgG1 Fc融合蛋白加载到蛋白A生物传感器上,并浸入pH 7.4(上图)或pH 5.5(下图)的人(蓝色线)或猴(深红色线)血清白蛋白中。参见图10A。

[0638] 用整体拟合(红色)分析主要实验数据以确定 K_D 。具体地,三种不同的抗HSA抗体在pH 7.4和pH 5.5时与人和猴血清白蛋白均相互作用。使用Octet RED96(ForteBio)来测量结合,并使用Octet Data Analysis HT软件通过整体拟合来确定 K_D 。表9示出了三种不同的Anwita抗HSA抗体在pH 5.5和pH 7.4时的计算 K_D 。一般而言,在pH 5.5时,抗体对人血清白蛋白的结合亲和力略有增加。

[0639] 表9.

	抗体	结合条件	K _D (M)	
			人SA	食蟹猕猴SA
[0640]	AWT-P367	pH7.4	29.6 × 10 ⁻⁹	18.9 × 10 ⁻⁹
		pH5.5	9.6 × 10 ⁻⁹	20.5 × 10 ⁻⁹
	AWT-P342	pH7.4	33.2 × 10 ⁻⁹	28.1 × 10 ⁻⁹
		pH5.5	15.5 × 10 ⁻⁹	11.0 × 10 ⁻⁹
	AWT-P610	pH7.4	43.0 × 10 ⁻⁹	49.6 × 10 ⁻⁹
		pH5.5	39.8 × 10 ⁻⁹	47.1 × 10 ⁻⁹

[0641] 评估抗HSA抗体AWT-P367及其人源化形式AWT-P494的T_{onset}。将AWT-P367和AWT-P494用缓冲液交换到1×PBS (pH 7.4) 中。将蛋白质样品从40℃逐渐加热至80℃, 并使用DynaPro读板仪III(Wyatt Technology)通过动态光散射(DLS)来确定每个样品的实时蛋白质大小分布。如图10B所示, 与AWT-P367相比, AWT-P494显示了略微升高的T_{onset}。

[0642] 评估抗HSA抗体AWT-P342及其完全人源化形式AWT-P610的T_{onset}。将AWT-P342和AWT-P610用缓冲液交换到1×PBS (pH 7.4) 中。将蛋白质样品从40℃逐渐加热至80℃, 并使用DynaPro读板仪III(Wyatt Technology)通过动态光散射(DLS)来确定每个样品的实时蛋白质大小分布。如图10C所示, 与AWT-P342相比, AWT-P610显示了降低的T_{onset}。

[0643] 使用Octet RED96 (ForteBio) 来表征抗HSA抗体AWT-P367或其人源化形式AWT-P494与人、猴或小鼠白蛋白之间的相互作用。简言之, 将AWT-P367或AWT-P494装载到AHC生物传感器上, 并浸入200nM浓度的人、猴或小鼠血清白蛋白中。用整体拟合分析主要实验数据以确定K_D。如图10D至图10E所示, 人源化抗HSA抗体AWT-P494的结合亲和力与其原始克隆AWT-P367相似。

[0644] 实施例18: 抗间皮素抗体、细胞因子或细胞因子融合蛋白用于抑制癌细胞

[0645] 将NCI-N87癌细胞系维持在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。在第0天, 将10,000个NCI-N87细胞/孔铺板于96孔平板的培养基中。在第1天, 使用RosetteSep NK分离试剂盒(Stemcell Technologies)从人白细胞层分离NK细胞, 并且将100,000个NK细胞/孔与指定处理物一起加入癌细胞。将平板在37℃、5% CO₂下孵育48小时, 然后用4%多聚甲醛来固定细胞并用Sytox Orange将细胞核染色。通过使用Cytation 1 (Biotek) 计数每个孔中剩余的癌细胞核的数目来计算剩余癌细胞的数目。细胞计数越低表明NK介导的细胞杀伤越好。(P303—R3C7抗MSLN抗体、P303F—岩藻糖基化降低的R3C7抗间皮素抗体、P394—人IL-21-抗HSA、P390—小鼠IL-21-抗HSA、P431/435—人IL-21-抗HSA-IgG1-R3C7、P479—抗HSA-人IL-15RA Sushi/IL-15、P480—抗HSA-人IL-15RA Sushi/IL-15、rhIL-21—重组人IL-21、rhIL-15—重组人IL-15)

[0646] 如图11所示, 与单独的P303相比, 当与抗MSLN抗体P303 (R3C7) 组合时, rhIL-21、mIL-21 (P390) 和hIL-21 (P394) 抗HSA融合蛋白增强NK细胞ADCC活性的程度相似。此外, 与单独的P303相比, 当与抗MSLN抗体P303 (R3C7) 组合时, rhIL-15和hIL-15/IL-15RA抗HSA融合蛋白 (P479和P480) 增强NK细胞ADCC活性的程度相似。与等同的重组细胞因子相比, 细胞因子-抗HSA融合蛋白维持了完全ADCC活性。

[0647] 实施例19: 抗间皮素抗体单独或与赫赛汀组合用于抑制癌细胞

[0648] 将NCI-N87癌细胞系维持在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。

在第0天,将10,000个NCI-N87细胞/孔铺板于96孔平底板的培养基中。在第1天,使用RosetteSep NK分离试剂盒(Stemcell Technologies)从人白细胞层分离NK细胞,并且将100,000个NK细胞/孔与指定处理物一起加入癌细胞。将平板在37℃、5% CO₂下孵育48小时,然后用4%多聚甲醛来固定细胞并用Sytox Orange将细胞核染色。通过使用Cytation 1 (Biotek)计数每个孔中剩余的癌细胞核的数目来计算剩余癌细胞的数目。细胞计数越低表明NK介导的细胞杀伤越好。(P303F—岩藻糖基化降低的Anwita抗间皮素抗体、P380—IL-33-抗HSA、P394—人IL-21-抗HSA)

[0649] 如图12所示,在NK细胞ADCC中,P303F(R3C7抗间皮素抗体)比赫赛汀更有效,P303F和赫赛汀的组合类似于单独的P303F。将P394(人IL-21-抗HSA)加入P303F和赫赛汀中导致ADCC功能的显著改善以及效力的提高。

[0650] 实施例20:细胞因子融合蛋白用于抑制癌细胞

[0651] 将Pfeiffer癌细胞系维持在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。在第1天,将10,000个Pfeiffer细胞/孔铺板于96孔平底板的培养基中。使用RosetteSep NK分离试剂盒(Stemcell Technologies)从人白细胞层分离NK细胞,并且将30,000个NK细胞/孔与指定处理物一起加入癌细胞。将平板在37℃、5% CO₂下孵育24小时,然后用1μM碘化丙锭将细胞染色以用于FACS分析。基于FSC和SSC选通,将Pfeiffer细胞与NK细胞分离,并确定总Pfeiffer细胞计数。使用PI染色来确定Pfeiffer死细胞。通过从总Pfeiffer细胞计数中减去PI阳性细胞来计算总活细胞。活细胞计数越低表明NK介导的细胞杀伤越好。(P394—人IL-21-抗HSA、P480—抗HSA-人IL-15RA Sushi/IL-15)

[0652] 如图13所示,当与Rituxan组合时,人IL-21-抗HSA融合蛋白(P394)、人IL-15/IL-15R Sushi-抗HSA融合蛋白(P480)和rhIL-15增强了针对弥漫性大B细胞淋巴瘤细胞系Pfeiffer的NK细胞ADCC活性。

[0653] 实施例21:抗间皮素抗体单独或与细胞因子融合蛋白组合用于抑制癌细胞

[0654] 将NCI-N87癌细胞系维持在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。在第0天,将10,000个NCI-N87细胞/孔铺板于96孔平底板的培养基中。在第1天,使用RosetteSep NK分离试剂盒(Stemcell Technologies)从人白细胞层分离NK细胞,并且将100,000个NK细胞/孔与指定处理物一起加入癌细胞。将平板在37℃、5% CO₂下孵育24小时,然后用4%多聚甲醛来固定细胞并用Sytox Orange将细胞核染色。通过使用Cytation 1 (Biotek)计数每个孔中剩余的癌细胞核的数目来计算剩余癌细胞的数目。细胞计数越低表明NK介导的细胞杀伤越好。(P303F—岩藻糖基化降低的Anwita抗间皮素IgG1抗体R3C7、P480—抗HSA-人IL-15RA Sushi/IL-15、rhIL-21—重组人IL-21、rhIL-15—重组人IL-15)

[0655] 如图14所示,当与抗MSLN抗体P303F组合时,rhIL-15和IL-15-抗HSA(P480)增强NK细胞ADCC活性优于P303F和P303F与rhIL-21的组合。P480(IL-15/IL-15R sushi-抗HSA)增强NK介导的ADCC与rhIL-15相比具有相似的效力和程度,表明抗体融合蛋白中保留了IL-15的全部活性。

[0656] 实施例23:IL-15-抗HSA融合蛋白用于抑制癌细胞

[0657] 将NCI-N87癌细胞系培养在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。在第0天,将10,000个NCI-N87细胞/孔铺板于96孔平底板的培养基中。在第1天,使用RosetteSep NK分离试剂盒(Stemcell Technologies)从人白细胞层分离NK细胞,并且将

100,000个NK细胞/孔与指定处理物一起加入癌细胞。将平板在37℃、5% CO₂下温育48小时,然后用4%多聚甲醛来固定细胞并用Sytox Orange将核染色。通过使用Cytation 1 (Biotek) 计数每个孔中剩余的癌细胞核的数目来计算剩余癌细胞的数目。细胞计数越低表明NK介导的细胞杀伤越好。(P303—Anwita抗间皮素抗体R3C7、P480—抗HSA-人IL-15RA Sushi/IL-15,P597—抗HSA-人IL-15RA Sushi-肽接头-IL-15,rhIL-15—重组人IL-15)。

[0658] 如图15所示,与在IL-15R sushi和IL-15之间不具有接头(在F2A接头¹被切割之后)的抗HSA融合蛋白P480相比,在IL-15R sushi和IL-15之间具有肽接头的抗HSA融合蛋白P597提高了ADCC活性。P597的ADCC效力与rhIL-15相似,表明融合蛋白中保留了完全IL-15活性。

¹P480 中使用的 F2A 接头是具有高切割效率(>90%)的可切割接头。蛋白质合成后,IL15 被切割。然而,由于 IL15 与 IL15RA sushi 之间的高亲和力,它们仍将作为单一蛋白保持结合。

[0659] 实施例24:IL-21融合蛋白用于抑制癌细胞

[0660] 将NCI-N87和H226癌细胞系培养在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。在第0天,将10,000个NCI-N87细胞/孔、5000个H226细胞/孔铺板于96孔平底板的培养基中。在第1天,使用RosetteSep NK分离试剂盒(Stemcell Technologies)从人白细胞层分离NK细胞,并且将100,000个NK细胞/孔与指定处理物一起加入癌细胞。将平板在37℃、5% CO₂下孵育48小时,然后用4%多聚甲醛来固定细胞并用Sytox Orange将细胞核染色。通过使用Cytation 1 (Biotek) 计数每个孔中剩余的癌细胞核的数目来计算剩余癌细胞的数目。细胞计数越低表明NK介导的细胞杀伤越好。(P129—Anwita抗间皮素抗体R2G12、P126—人IL-21-R2G12-IgG1融合体,P107—人IL-21-IgG1融合体、P325—人IL-21-R2D2融合体、P286/288—人IL-21-R3C7-IgG1-R2G12融合体。)

[0661] 如图16所示,当与抗MSLN抗体P129(即R2G12)组合时,较低浓度的IL-21-Fc融合蛋白(P107、P126、P288/286)增强了NK细胞ADCC活性。然而,在较高浓度(>100nM)时,IL-21-Fc融合蛋白(P107、P126、P288/286)与抗MSLN抗体P129(R2G12)组合时抑制了NK细胞ADCC活性。对于IL-21或不具有Fc结构域的IL-21融合蛋白(P325)没有观察到这种抑制。

[0662] 实施例25:IL-21-抗HSA融合蛋白与抗间皮素抗体组合用于抑制癌细胞

[0663] 将NCI-N87癌细胞维持在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。在第0天,将10,000个NCI-N87细胞/孔铺板于96孔平底板的培养基中。在第1天,使用RosetteSep NK分离试剂盒(Stemcell Technologies)从人白细胞层分离NK细胞,并且将100,000个NK细胞/孔与指定处理物一起加入癌细胞。将平板在37℃、5% CO₂下孵育48小时,然后用4%多聚甲醛来固定细胞并用Sytox Orange将细胞核染色。通过使用Cytation 1 (Biotek) 计数每个孔中剩余的癌细胞核的数目来计算剩余癌细胞的数目。细胞计数越低表明NK介导的细胞杀伤越好。(P197—Anwita抗间皮素抗体R2G12、P390—小鼠IL-21-抗HSA、P394—人IL-21-抗HSA)

[0664] 如图17所示,当与抗MSLN抗体P197(R2G12)组合时,小鼠和人IL-21-抗HSA融合蛋白(P390和P394)均有效增强了NK细胞ADCC活性。

[0665] 实施例26:与细胞因子或细胞因子-抗HSA融合蛋白孵育后PBMC的细胞因子产生

[0666] 将从人白细胞层分离的冷冻PBMC细胞解冻,并使其在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中生长。在第1天,将30,000个PBMC细胞/孔与指定处理物一起加入

96孔板中。将平板在37℃、5% CO₂下孵育过夜。在第2天,收集培养基并离心以沉淀PBMC细胞。在IFN γ 和IL-6ELISA测定中测试25 μ l培养基的细胞因子释放。(P394—IL-21-抗HSA、P597—抗HSA-人IL-15RA Sushi (plus)-IL-15)

[0667] 如图18A至图18B所示,阳性对照植物凝集素(PHA)刺激IFN γ 和IL-6从PBMC中大量分泌。PBMC在对rIL-21或IL-21-抗HSA融合蛋白P394刺激的应答中不分泌IFN γ 或IL-6。rIL-15和IL-15-抗HSA融合蛋白P597均以相似的程度刺激PBMC分泌IFN γ 和IL-6,表明融合蛋白与重组蛋白具有相似的活性。IL-12刺激PBMC分泌IFN γ 但不分泌IL-6。IL-7和IL-2刺激最低水平的IFN γ 和IL-6分泌。

[0668] 实施例27:IL-21-抗HSA融合蛋白、抗HSA-IL-15R α -IL-15融合蛋白和抗CTLA4单独或组合用于治疗癌症

[0669] A部分.

[0670] 将MC38细胞培养并维持在补充有10% FBS+glutamax+NEAA+丙酮酸钠+Pen/Strep的DMEM培养基中。将细胞胰蛋白酶化,用培养基洗涤,并计数。然后用PBS洗涤细胞,并使用18号针头将0.5 $\times$ 10⁶个细胞(在50 μ l PBS中)皮下注射到麻醉的C57BL/6小鼠(Taconic)中。在给药当天,将储备研究药物在PBS中稀释至适当浓度,并将PBS以及分别在100 μ l PBS中的:25 μ g P394(人IL-21-抗HSA)、100 μ g抗CTLA-4,或25 μ g P394与100 μ g抗CTLA-4的组合腹腔注射给药于动物,每周两次,共5次给药。使用数显卡尺每周收集肿瘤测量值(长度(L)和宽度(W))两次,并计算肿瘤体积(L $\times$ W $\times$ W)/2。

[0671] 如图19A所示,相对于PBS对照,P394和抗CTLA-4单一疗法能够减少肿瘤生长。相对于P394和抗CTLA-4单一疗法,P394和抗CTLA-4的组合进一步减少了肿瘤生长。

[0672] B部分.

[0673] 将MC38细胞培养并维持在补充有10% FBS+glutamax+NEAA+丙酮酸钠+Pen/Strep的DMEM培养基中。将细胞胰蛋白酶化,用培养基洗涤,并计数。然后用PBS洗涤细胞,并使用18号针头将0.5 $\times$ 10⁶个细胞(在50 μ l PBS中)皮下注射到麻醉的C57BL/6小鼠(Taconic)中。在给药当天,将储备研究药物在PBS中稀释至适当浓度,并将PBS以及分别在100 μ l PBS中的:100 μ g抗CTLA-4、100 μ g抗CTLA-4与25 μ g P394(人IL-21-抗HSA)、100 μ g抗CTLA-4与5 μ g P597(抗HSA-IL-15R α -IL-15),或100 μ g抗CTLA-4与25 μ g P394和5 μ g P597腹腔注射给药于动物,每周两次,共5次给药。使用数显卡尺每周收集肿瘤测量值(长度(L)和宽度(W))两次,并计算肿瘤体积(L $\times$ W $\times$ W)/2。

[0674] 如图19B所示,抗CTLA-4、抗CTLA-4与P394和抗CTLA-4与P597均减少了肿瘤生长,而抗CTLA-4与P394和P597的三重组在测试的所有组合中最大地减少了肿瘤生长。

[0675] 实施例28:IL-21-抗HSA融合蛋白和抗HSA-IL-15R α -IL-15融合蛋白单独或组合用于治疗癌症

[0676] 将MC38细胞培养并维持在补充有10% FBS+glutamax+NEAA+丙酮酸钠+Pen/Strep的DMEM培养基中。将细胞胰蛋白酶化,用培养基洗涤,并计数。然后用PBS洗涤细胞,并使用18号针头将0.5 $\times$ 10⁶个细胞(在50 μ l PBS中)皮下注射到麻醉的C57BL/6小鼠(Taconic)中。在给药当天,将储备研究药物在PBS中稀释至适当浓度,并将PBS以及分别在100 μ l PBS中的:25 μ g P394(人IL-21-抗HSA)、5 μ g P597(抗HSA-IL-15R α -IL-15),或25 μ g P394与5 μ g P597的组合腹腔注射给药于动物,每周两次,共5次给药。使用数显卡尺每周收集肿瘤测量

值(长度(L)和宽度(W))两次,并计算肿瘤体积($L \times W \times W$)/2。

[0677] 相对于PBS对照,P394和P597单一疗法减少了肿瘤生长。相对于P394和P597单一疗法,P394加P597的组合疗法进一步减少了肿瘤生长(图20)。

[0678] 实施例29:同系小鼠模型中的体内抗肿瘤活性测定

[0679] 在第0天,将MC38鼠结肠癌细胞(3×10^6 个细胞)皮下植入C57BL/6小鼠的侧腹。在第4、8、12和16天,用PBS、100 μ g抗PD-1、25 μ g P390(mIL-21-抗HSA)、100 μ g抗PD-1和25 μ g P390,或100 μ g抗PD-1和5 μ g P390分别处理小鼠。在指定天数使用卡尺测量肿瘤大小并计算肿瘤体积。

[0680] 如图21所示,小鼠IL-21-抗HSA(P390)单一疗法显著减慢了肿瘤生长。小鼠IL-21-抗HSA(P390)和抗PD-1的组合消除或缩小了所有小鼠中的肿瘤。

[0681] 实施例30:抗间皮素抗体和/或IL-21-抗HSA融合蛋白用于治疗癌症

[0682] 将NCI-N87细胞培养并维持在补充有10% FBS+glutamax+Pen/Strep的RPMI培养基中。将细胞胰蛋白酶化,用培养基洗涤,并计数。然后用PBS洗涤细胞,并使用23号针头将 3×10^6 个细胞(在100 μ l PBS中)皮下注射到麻醉的NSG小鼠(Jackson)中。6天后,将在100 μ l PBS中的 10×10^6 个人PBMC注射到每只小鼠的尾静脉中。在给药当天,将储备研究药物在PBS中稀释至适当浓度,并将100 μ g P303F(抗间皮素抗体)、25 μ g P394(人IL-21-抗HSA),或100 μ g P303F与25 μ g或5 μ g P394的组合分别腹腔注射给药于动物,每周两次,共5次给药。使用数显卡尺每周收集肿瘤测量值(长度(L)和宽度(W))两次,并计算肿瘤体积($L \times W \times W$)/2。

[0683] 如图22所示,相对于对照,P303F减少了肿瘤生长。相对于PBS对照或单独的P303F,所有接受单独的或与P303F组合的P394的小鼠肿瘤生长显著减少。

[0684] 实施例31:IL-21-抗HSA融合蛋白单独或与赫赛汀组合用于治疗癌症

[0685] 将NCI-N87细胞培养并维持在补充有10% FBS+glutamax+Pen/Strep的RPMI培养基中。将细胞胰蛋白酶化,用培养基洗涤,并计数。然后用PBS洗涤细胞,并使用23号针头将 3×10^6 个细胞(在100 μ l PBS中)皮下注射到麻醉的NSG小鼠(Jackson)中。6天后,将在100 μ l PBS中的 10×10^6 个人PBMC注射到每只小鼠的尾静脉中。在给药当天,将储备研究药物在PBS中稀释至适当浓度,并将20 μ g赫赛汀(抗HER2抗体)、25 μ g P394(人IL-21-抗HSA),或20 μ g赫赛汀与25 μ g或5 μ g P394的组合分别腹腔注射给药于动物,每周两次,共5次给药。使用数显卡尺每周收集肿瘤测量值(长度(L)和宽度(W))两次,并计算肿瘤体积($L \times W \times W$)/2。

[0686] 如图23所示,相对于PBS对照,赫赛汀和25 μ g P394单一疗法减少了肿瘤生长。与赫赛汀或P394单一疗法相比,赫赛汀和25 μ g P394的组合进一步减少了肿瘤生长,显示出累加的抗肿瘤效果。

[0687] 实施例32:抗间皮素抗体和/或IL-21-抗HSA融合蛋白用于治疗癌症

[0688] 将NCI-N87细胞培养并维持在补充有10% FBS+glutamax+Pen/Strep的RPMI培养基中。将细胞胰蛋白酶化,用培养基洗涤,并计数。然后用PBS洗涤细胞,并使用18号针头将 3×10^6 个细胞(在100 μ l PBS中)皮下注射到麻醉的SCID小鼠(Taconic)中。在给药当天,将储备研究药物在PBS中稀释至适当浓度,并将在100 μ l PBS中的:100 μ g P303F(抗间皮素抗体)或P303F与25 μ g P390(小鼠IL-21-抗HSA)、5 μ g P390或2.5 μ g重组小鼠IL-21(与5 μ g P390剂量的摩尔浓度相等)的组合分别腹腔注射给药于动物,每周两次,共5次给药。使用数显卡尺每周收集肿瘤测量值(长度(L)和宽度(W))两次,并计算肿瘤体积($L \times W \times W$)/2。

[0689] 如图24所示,与PBS对照、P303F单一疗法和P303F与rmIL-21组合相比,P303F与25 μ g或5 μ g P390组合导致肿瘤生长显著减少。P303F与2.5 μ g rmIL-21的组合显示了与P303F相似的肿瘤生长,表明重组IL-21在该剂量无效。与P303F与2.5 μ g rmIL-21的组合相比,P303F与5 μ g P390的组合显著降低了肿瘤生长,与重组细胞因子相比,突出了半衰期延长的IL-21的改善功效。

[0690] 实施例33:IL-21-抗HSA融合蛋白用于治疗癌症

[0691] 在第0天,将MC38鼠结肠癌细胞(1×10^6 个细胞)皮下植入C57BL/6小鼠的侧腹。用PBS、25 μ g P390(小鼠IL-21抗HSA)或重组小鼠IL-21每周处理小鼠两次,持续2周(共4次给药)。使用数显卡尺每周收集肿瘤测量值(长度(L)和宽度(W))三次,并计算肿瘤体积($L \times W \times W$)/2。

[0692] 如图25所示,P390(小鼠IL-21-抗HSA)与PBS对照相比减少了MC38肿瘤的肿瘤生长,而12.5 μ g重组小鼠IL-21(一摩尔当量)与PBS对照相比对肿瘤生长的影响最小。IL-21抗HSA(P390)在同系小鼠结肠癌模型中相对于重组IL-21具有优异的抗肿瘤功效。

[0693] 实施例34:IL-21-抗HSA融合蛋白与抗PD-1抗体组合用于治疗癌症

[0694] 将用人间皮素(CT26/MSLN)转染的CT26小鼠细胞培养并维持在补充有10%FBS+glutamax+Pen/Strep的RPMI培养基中。将细胞胰蛋白酶化,用培养基洗涤,并计数。然后用PBS洗涤细胞,并使用23号针头将 1×10^6 个细胞(在100 μ l PBS中)皮下注射到麻醉的BALB/c小鼠中。在给药当天,将储备研究药物在PBS中稀释至适当浓度,并将5mg/kg抗PD-1抗体、1.25mg/kg P390(小鼠IL-21-抗HSA)或抗PD-1与P390的组合腹腔注射给药于动物,每周两次,共4次给药。使用数显卡尺每周收集肿瘤测量值(长度(L)和宽度(W))两次,并计算肿瘤体积($L \times W \times W$)/2。

[0695] 如图26所示,相对于PBS对照,抗PD-1和P390单一疗法对肿瘤生长的影响最小。抗PD-1和P390的组合协同导致肿瘤生长减少,其中第22天4/5的小鼠没有可测量的肿瘤。

[0696] 实施例35:IL-21-抗HSA融合蛋白与抗PD-1抗体组合用于治疗癌症

[0697] 将MC38细胞培养并维持在补充有10%FBS+glutamax+NEAA+丙酮酸钠+Pen/Strep的DMEM培养基中。将细胞胰蛋白酶化,用培养基洗涤,并计数。然后用PBS洗涤细胞,并使用18号针头将 0.5×10^6 个细胞(在50 μ l PBS中)皮下注射到麻醉的C57BL/6小鼠(Taconic)中。在给药当天,将储备研究药物在PBS中稀释至适当浓度,并将PBS以及分别在100 μ l PBS中的:100 μ g抗PD-1抗体、25 μ g P394(人IL-21-抗HSA),或100 μ g抗PD-1与25 μ g P394的组合腹腔注射给药于动物,每周两次,共5次给药。使用数显卡尺每周收集肿瘤测量值(长度(L)和宽度(W))两次,并计算肿瘤体积($L \times W \times W$)/2。

[0698] 如图27所示,IL-21-抗HSA(P394)与抗PD-1抗体的组合在同系小鼠结肠癌模型中比任一单一疗法更好地减少肿瘤生长。

[0699] 实施例36:IL-21-抗HSA融合蛋白的药代动力学评价

[0700] 在第0天,将MC38鼠结肠癌细胞(1×10^6 个细胞)皮下植入C57BL/6小鼠的侧腹。用PBS或25 μ g P380(抗HSA-人IL-33)处理小鼠2周(共4次给药)。使用数显卡尺每周收集肿瘤测量值(长度(L)和宽度(W))三次,并计算肿瘤体积($L \times W \times W$)/2。

[0701] 如图28所示,相对于PBS对照,用半衰期延长的IL-33处理减少了肿瘤生长。

[0702] 实施例37:IL-21-抗HSA融合蛋白对颗粒酶B阳性NK细胞和颗粒酶B阳性CD8 T细胞

的影响

[0703] 在第0天,将MC38鼠结肠癌细胞(1×10^6 个细胞)皮下植入C57BL/6小鼠的侧腹。从第5天开始,用PBS、100 μ g抗PD-1、25 μ g P390(小鼠IL-21-抗HSA),或100 μ g抗PD-1+25 μ g P390处理小鼠,每周两次,共5次给药。在第24天,处死小鼠并切除肿瘤。将肿瘤匀浆以释放细胞,并将CD45、CD8、NK1.1和颗粒酶B细胞染色。对CD8T细胞和NK细胞中的颗粒酶B阳性细胞的百分比作图。

[0704] 如图29A至图29B所示,P390处理增加了颗粒酶B阳性CD8 T细胞和颗粒酶B阳性NK细胞的百分比。

[0705] 实施例38:IL-21-抗HSA融合蛋白和抗PD-1抗体的组合使用对IL-21受体表达的影响

[0706] 在第0天,将MC38鼠结肠癌细胞(1×10^6 个细胞)皮下植入C57BL/6小鼠的侧腹。从第5天开始,用PBS、100 μ g抗PD-1、25 μ g P390(小鼠IL-21-抗HSA),或100 μ g抗PD-1+25 μ g P390处理小鼠,每周两次,共5次给药。在第24天,处死小鼠并切除肿瘤。将肿瘤匀浆以释放细胞,并将CD45、CD8、CD4、NK1.1和IL-21R细胞染色。对CD4 T细胞、CD8 T细胞和NK细胞中的IL-21R阳性细胞的百分比作图。

[0707] 如图30A至图30C所示,用抗PD-1抗体处理增加了CD4 T细胞、CD8 T细胞和NK细胞中IL-21受体的表达,用P390(小鼠IL-21-抗HSA)与抗PD-1组合处理减少了IL-21受体表达。

[0708] 实施例39:IL-21-抗HSA融合蛋白对IFN- γ 分泌免疫细胞的影响

[0709] 在第0天,将MC38鼠结肠癌细胞(1×10^6 个细胞)皮下植入C57BL/6小鼠的侧腹。从第5天开始,用PBS、100 μ g抗PD-1、25 μ g P390(小鼠IL-21-抗HSA),或100 μ g抗PD-1+25 μ g P390处理小鼠,每周两次,共5次给药。在第24天,处死小鼠并取出小鼠脾脏。将脾脏匀浆以释放脾细胞,并将脾细胞置于具有新鲜MC38细胞的IFN- γ ELISpot测定中。根据制造商的说明书进行ELISpot测定,并计数代表MC38应答免疫细胞的数目的IFN- γ 斑点的数目。

[0710] 如图31所示,用半衰期延长的IL-21处理导致脾中肿瘤反应性、IFN- γ 分泌的免疫细胞的数目增加。

[0711] 实施例40:半衰期延长IL-21与抗MSLN抗体的融合

[0712] 将用人间皮素(CT26/MSLN)转染的CT26小鼠细胞培养并维持在补充有10%FBS+glutamax+Pen/Strep的RPMI培养基中。将细胞胰蛋白酶化,用培养基洗涤,并计数。然后用PBS洗涤细胞,并使用23号针头将 1×10^6 个细胞(在100 μ l PBS中)皮下注射到麻醉的BALB/c小鼠中。在给药当天,将储备研究药物在PBS中稀释至适当浓度,并将1.25mg/kg(100 μ l)P375(IL-21-抗白蛋白-抗MSLN)腹腔注射给药于动物,每周两次,共5次给药。使用数显卡尺每周收集肿瘤测量值(长度(L)和宽度(W))两次,并计算肿瘤体积($L \times W \times W$)/2。

[0713] 如图32所示,相对于PBS对照,IL-21-抗白蛋白-抗MSLN融合蛋白(P375)能够减少肿瘤生长。

[0714] 实施例41:半衰期延长IL-15 α /IL-15与抗MSLN抗体的融合

[0715] 将NCI-N87细胞培养并维持在补充有10% FBS+glutamax+Pen/Strep的RPMI培养基中。将细胞胰蛋白酶化,用培养基洗涤,并计数。然后用PBS洗涤细胞,并使用23号针头将 3×10^6 个细胞(在100 μ l PBS中)皮下注射到麻醉的NSG小鼠(Jackson)中。6天后,将在100 μ l PBS中的 10×10^6 个人PBMC注射到每只小鼠的尾静脉中。在给药当天,将储备研究药物P197

在PBS中稀释至适当浓度,并将0.25mg/kg (100 μ l) P669 (抗MSLN-抗白蛋白-IL-15R α -IL-15)腹腔注射给药于动物,每周两次,共5次给药。使用数显卡尺每周收集肿瘤测量值(长度(L)和宽度(W))两次,并计算肿瘤体积(L $\times$ W $\times$ W)/2。

[0716] 如图33所示,相对于PBS对照,抗MSLN-抗白蛋白-IL-15R α -IL-15融合蛋白(P669)能够减少肿瘤生长。

[0717] 实施例42.

[0718] 将Pfeiffer细胞维持在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。将100,000个Pfeiffer细胞用指定浓度的重组人P394 (IL-21-(GSG) 4-HSA)、P593 (IL21-A (EAAAK) 4A-HAS)、P795 ((IL21[1-122]-(GSG) 4-HSA)、P796 (IL21[1-122]-(G4S) 3-HSA)、P797 (IL21[1-122]-HSA)、P799 (IL21[1-122]-VLLC-HSA)、P800 (IL21[1-122]-VHCH1-HSA)、P750 (IL21-(GSG) 4-HSA)、P751 (IL21-A (EAAAK) 4A-HSA) 或P744 (IL21[1-122]-A (EAAAK) 4A-HSA) 在含有10mM HEPES的Hanks平衡盐溶液中在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂下处理30分钟。根据制造商的说明书使用磷酸-STAT3 (Tyr705) 均相时间分辨荧光 (HTRF) 测定 (Cisbio) 来测量磷酸-STAT3。665nm/620nm的信号比乘以1000,作图并使用剂量响应曲线拟合 (Graphpad Prism) 以计算EC₅₀。

[0719] 如图34所示,所有测试的IL-21融合蛋白具有相似的ADCC活性。

[0720] 实施例43.

[0721] 将NCI-N87癌细胞系维持在含有10%胎牛血清和青霉素/链霉素的RPMI-1640中。在第0天,将10,000个NCI-N87细胞/孔铺板于96孔平底板的培养基中。在第1天,使用RosetteSep NK分离试剂盒 (Stemcell Technologies) 从人白细胞层分离NK细胞,并且将100,000个NK细胞/孔与指定处理物一起加入癌细胞。将平板在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂下孵育48小时,然后用4%多聚甲醛来固定细胞并用Sytox Orange将细胞核染色。通过使用Cytation 1 (Biotek) 计数每个孔中剩余的癌细胞核的数目来计算剩余癌细胞的数目。细胞计数越低表明NK介导的细胞杀伤越好。(P593 (IL21-A (EAAAK) 4A-HAS)、P795 (IL21[1-122]-(GSG) 4-HSA)、P796 (IL21[1-122]-(G4S) 3-HSA)、P797 (IL21[1-122]-HSA)、P799 (IL21[1-122]-VLLC-HSA)、P800 (IL21[1-122]-VHCH1-HSA)、P750 (IL21-(GSG) 4-HSA)、P751 (IL21-A (EAAAK) 4A-HSA) 或P744 (IL21[1-122]-A (EAAAK) 4A-HSA))。

[0722] 如图35所示,所有测试的IL-21融合蛋白具有相似的ADCC活性。

[0723] 序列表

[0724]

SEQ ID NO	说明	氨基酸序列 (CDR序列带有下划线且为粗体)
1.	全长人IL21	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLK RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHLSSRTHGSEDS
2.	截短人IL21 (1-123)	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLK RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHL
3.	G148-ABD-wt	LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNLINNAKTVEGVKA LIDEILAALP
4.	LI-ABD-1	LAEAKVLANRELDKYGVSDFAKRLINKAKTVEGVKA LKDEILAALP
5.	LI-ABD-2	LAEAKVLANRELDKYGVSDFAKRAINKAKTVEGVKA LKDEILAALP
6.	LI-ABD-3	LAEAKVLANRELDKYGVSDFAKRAINKAKTVEGAEA LKDEILAALP
7.	ABD-035	LAEAKVLANRELDKYGVSDFYKRLINKAKTVEGVKA LKLHILAALP
8.	ABD _{Y21A}	LAEAKVLANRELDKYGVSDYAKNLINNAKTVEGVKA LIDEILAALP
9.	ABD _{S18Y20K22A}	LAEAKVLANRELDKYGVADAYANLINNAKTVEGVKA LIDEILAALP
10.	ABDcon	LKEAKEKAIEELKKAGITSDYYFDLINKAKTVEGVNAL KDEILKA
11.	ABDcon12	TIDEWLLKEAKEKAIEELKKAGITSDYYFDLINKAKTV EGVNALKDEILKA
12.	GSG接头, n=1-6	(GSG) _n
13.	G3S接头, n=1-6	(G3S) _n
14.	G4S接头, n=1-6	(G4S) _n
15.	EAAAK接头, n=1-6	(EAAAK) _n
16.	PAPAP接头, n=1-6	(PAPAP) _n
17.	VLVH.接头	IKRTVAAP
18.	SIRP α 接头	RAKPS

[0725]

19.	GSGS接头	(GSGS) _n (n = 1-4)
20.	GGSG接头	(GGSG) _n (n = 1-4)
21.	PAPA接头	(PAPA) _n (n = 1-3)
22.	PQPQ接头	(PQPQ) _n (n = 1-3)
23.	VL-CL天然接头	IKRADAAP
24.	螺旋形成接头	A(EAAAK) _n A (n=1-6)
25.	单峰驼IgG3铰链	GTNEVCKCPKCP
26.	单峰驼IgG2a铰链	EPKIPQPQPKPQPQPQPKPQPKPEPECTCPKCP
27.	F2A (可切割)	RRKRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
28.	UPA接头 (可切割)	SGRSA
29.	MMP接头 (可切割)	PVGLIG
30.	可切割接头	Lys-Gly-Pro-Gln-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln
31.	可切割接头	Phe-Gly-Pro-Gln-Gly- <u>Leu</u> -Ala-Gly-Gln
32.	可切割接头	Arg-Gly-Pro-Gln-Gly-Ile-Phe-Gly-Gln
33.	可切割接头	Ile-Gly-Pro-Gln-Gly-Ile-Trp-Gly-Gln
34.	可切割接头	Met-Gly-Pro-Gln-Gly-Ile-Leu-Gly-Gln
35.	可切割接头	Lys-Gly -Pro-Gln-Ser-Ile-Ala-Gly-Gln
36.	可切割接头	Phe -Gly-Pro-Gln-Ser- <u>Leu</u> -Ala-Gly-Gln
37.	可切割接头	Arg-Gly-Pro-Gln-Ser-Ile-Phe-Gly-Gln
38.	可切割接头	Ile-Gly-Pro-Gln-Ser-Ile-Trp-Gly-Gln
39.	可切割接头	Met-Gly-Pro-Gln- Ser-Ile-Leu-Gly-Gln
40.	可切割接头	Lys-Gly-Pro-Gln-Thr-Ile-Ala-Gly-Gln
41.	可切割接头	Phe-Gly-Pro-Gln- Thr-Leu-Ala-Gly-Gln

[0726]

42.	可切割接头	Arg-Gly-Pro-Gln- Thr-Ile-Phe-Gly-Gln
43.	可切割接头	Ile-Gly-Pro-Gln- Thr-Ile-Trp-Gly-Gln
44.	可切割接头	Phe-Arg-Pro-Arg-Ser-Ile-Thr-Gly-Gln
45.	可切割接头	Met-Gly-Pro-Gln- Thr-Ile-Leu-Gly-Gln
46.	P197/R2G12 CDR1 (IMGT)	GITFPVNA
47.	P197/R2G12 CDR2 (IMGT)	ISAGGTT
48.	P197/R2G12 CDR3 (IMGT)	QRRIGMLRDY
49.	R3C7/P303 CDR1 (IMGT)	GRTLESYV
50.	R3C7/P303 CDR2 (IMGT)	INWSSGRL
51.	R3C7/P303 CDR3 (IMGT)	GRY
52.	HSA同种型1	MKWVTFISLLFLFSSAYSRGVFRDDAHKSEVAHRFKD LGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLNVNEVTEFA KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEM ADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPPLRVLVRPEVDVM CTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRY KAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQR LKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKL VTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADF VESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVE EPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVS TPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVV LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEV DETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVE LVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETC FAEEGKKLVAAASQAALGL
53.	HSA同种型2	MKWVTFISLLFLFSSAYSRGVFRDDAHKSEVAHRFKD LGEENFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTQVH TECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCE KPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLVLLRLAKTY ETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQ NCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVS

[0727]

		RNLGKVGSKCKKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKE FNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKL VAASQAALGL
54.	HSA同种型3	MKWVTFISLLFLFSSAYSRGVFRDDAHKSEVAHRFKD LGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKL VNEVTEFA KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEM ADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVM CTAFHDNEETFLKKYLYETTLEKCCAAADPHECYAKV FDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRY TKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAKRMP AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRR PCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCK ADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
55.	成熟HSA	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFE DHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKL CTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHP YFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDE LRDEGKASSAKQGLKASLQKGERAFKAWAVARLS QRFPAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDR ADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEN DEMPADLPSLAADFVGSKDVCKNYAEAKDVFLGMFL YEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQN ALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPE AKRMPCAEDCLSVFLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNGRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLS EKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA FVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
56.	间皮素同种型1	MALPTARPLLGSCGTPALGSLLFLLSLGWVQPSRTLA GETGQEAAPLDGVLANPPNISSLSPRQLLGFPCEVSG LSTERVRELAVALAQKNVKLSTEQLRCLAHRLSEPPE DLDALPLDLLLFLNPDAFSGPQACTRFFSRITKANVDL LPRGAPERQRLLPAALACWGVGRSLLSEADVRLGGL ACDLPGRFVAESA EVLLPRLVSCPGPLDQDQQAARA ALQGGPPYGPSTWSVSTMDALRGLLPVLGQPIRSIP QGIVAAWRQRSSRDPWRQPRTILRPRFRREVEKTAC PSGKKAREIDESLIFYKKWELEACVDAALLATQMDRV NAIPFTYEQLDVLKHKLDELYPQGYVESVIQHLGYLFL KMSPEDIRKWNVTSL ETLKALLEVNKGHEMSPQAPRR PLPQVATLIDRFVKGRGQLDKDTLDTLTA FYPGYLCSL SPEELSSVPPSSIWAVRPQDLDTCDPRQLDVLYPKARL AFQNMNGSEYFVKIQSFLGGAPTEDLKALSQQNVSM LATFMKLRTDAVLPLTVAEVQKLLGPHVEGLKAEERH RPVRDWILRQRQDDLDLTLGLGLQGGINGYLVLDLSM QEALSGTPCLLGGPVLTVLALLLASTLA

[0728]

57.	间皮素同种型2 (主要型)	MALPTARPLLGSCGTPALGSLLFLLFSLGWVQPSRTLA GETGQEAAPLDGVLANPPNISSLSPRQLLGFPCEVSG LSTERVRELAVALAQKNVKLSTEQLRCLAHRLSEPPE DLDALPLDLLFLNPDAFSGPQACTRFFSRITKANVDL LPRGAPERQRLPAALACWGVRSLLSEADVRLGGL ACDLPGRFVAESAIEVLLPRLVSCPGPLDQDQQAARA ALQGGGPPYGGPSTWSVSTMDALRGLLPVLGQPIIRSIP QGIVAAWRQRSSRDPSWRQPRTILRPRFRREVEKTAC PSGKKAREIDESLIFYKKWELEACVDAALLATQMDRV NAIPFTYEQLDVLKHKLDELYPQGYPESVIQHLGYLFL KMSPEDIRKWNVTSLLETLKALLEVNKGHEMSPQVATL IDRFVKGRGQLDKDTLDTLTAFFPGYLCSLSPEELSSV PPSSIWAVRPQDLDTCDPRQLDVLYPKARLAFQNMNG SEYFVKIQSFLGGAPTEDLKALSQQNVSMDLATFMKL RTDAVLPLTVAEVQKLLGPHVEGLKAEERHRPVRDWI LRQRQDDLDLGLGLQGGIPNGYLVLDLSMQEALSGT PCLLGPGPVLTVLALLLASTLA
58.	间皮素同种型3	MALPTARPLLGSCGTPALGSLLFLLFSLGWVQPSRTLA GETGQEAAPLDGVLANPPNISSLSPRQLLGFPCEVSG LSTERVRELAVALAQKNVKLSTEQLRCLAHRLSEPPE DLDALPLDLLFLNPDAFSGPQACTRFFSRITKANVDL LPRGAPERQRLPAALACWGVRSLLSEADVRLGGL ACDLPGRFVAESAIEVLLPRLVSCPGPLDQDQQAARA ALQGGGPPYGGPSTWSVSTMDALRGLLPVLGQPIIRSIP QGIVAAWRQRSSRDPSWRQPRTILRPRFRREVEKTAC PSGKKAREIDESLIFYKKWELEACVDAALLATQMDRV NAIPFTYEQLDVLKHKLDELYPQGYPESVIQHLGYLFL KMSPEDIRKWNVTSLLETLKALLEVNKGHEMSPQVATL IDRFVKGRGQLDKDTLDTLTAFFPGYLCSLSPEELSSV PPSSIWAVRPQDLDTCDPRQLDVLYPKARLAFQNMNG SEYFVKIQSFLGGAPTEDLKALSQQNVSMDLATFMKL RTDAVLPLTVAEVQKLLGPHVEGLKAEERHRPVRDWI LRQRQDDLDLGLGLQGGIPNGYLVLDLSVQGGRRG QARAGGRAGGVEVGALSHPSLCRGPLGDALPPRTWT CSHRPGTAPSLHPGL RAPLPC
59.	间皮素同种型4	MALPTARPLLGSCGTPALGSLLFLLFSLGWVQPSRTLA GETGQAAPLDGVLANPPNISSLSPRQLLGFPCEVSG LSTERVRELAVALAQKNVKLSTEQLRCLAHRLSEPPED LDALPLDLLFLNPDAFSGPQACTRFFSRITKANVDLLP RGAPERQRLPAALACWGVRSLLSEADVRLGGLA CDLPGRFVAESAIEVLLPRLVSCPGPLDQDQQAARAA LQGGGPPYGGPSTWSVSTMDALRGLLPVLGQPIIRSIPQ GIVAAWRQRSSRDPSWRQPRTILRPRFRREVEKTAC SGKKAREIDESLIFYKKWELEACVDAALLATQMDRVN AIPFTYEQLDVLKHKLDELYPQGYPESVIQHLGYLFLK MSPEDIRKWNVTSLLETLKALLEVNKGHEMSPQVATLI DRFVKGRGQLDKDTLDTLTAFFPGYLCSLSPEELSSVP PSSIWAVRPQDLDTCDPRQLDVLYPKARLAFQNMNGS EYFVKIQSFLGGAPTEDLKALSQQNVSMDLATFMKL

[0729]

		TDAVLPLTVAEVQKLLGPHVEGLKAEERHRPVRDWIL RQRQDDLDLTLGLGLQGGIPNGYLVLDSLMEALSSTP CLLGPGPVLTVLALLLASTLA
60.	P275	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSTYAMGWF RQPPGKEREFVASINRSGDSTYYADSVKGRFTISRDN KNTGYLQMSSLKPEDTAVYYCAADSDGIGWFNSFEY DYWGRGTQVTSS
61.	P276	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRSVSLYHVGW FRHTPGKEREFAATAWHDGSTSYADSVKGRFTISR NAKNTVYLQMNSLQPEDTAVYYCAGEAKLGGIYSRW RDYEWGQGTQVTSS
62.	P278	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRFTSIYDMGWF RQAPGKEREFVAATNLRGVSTRYADSVKGRFTISGDN AKNTVSLQMNSLIPEDTAVYYCAAASVNWLAKDPSA YSYWGQGTQVTSS
63.	P357	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSTYAMGWF RQPPGKEREFVASINRSGDSTYYADSVKGRFTISRDA KNMGYLQMSSLKPEDTAVYYCAADSDGIGWFNSFEY DYWGRGTQVTSS
64.	P358	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGPIFSTYAMGWF RQPPGKEREFVASINRSGDSTYYADSVKGRFTISRDN KNTGYLQMSSLKPEDTAVYYCAADSDGIGWFNSFEY DYWGRGTQVTSS
65.	P362	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRSVSLYHVGW FRHTPGKEREFAATAWHDGSTSYADSVKGRFTISR NAKNTVYLQMNSLQPEDTAVYYCAGEAKLGGIYSRW RDYEWGQGTQVTSS
66.	P364	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRSVSLYHVGW FRHTPGKEREFAATAWHDGSTSYADSVKGRFTISR SAKNTVFLQMSSLQPEDTAVYYCAADPGGSSWSQPW YDYWGQGTQVTSS
67.	P367	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTHYADSVKGRFTVSRDN ENTLVLQMNSLKPEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT QVTSS
68.	P371	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRFTSNDAMGW FRQAPGKERVFVATISWKSSTYYADSVKGRFTISRDA KNTVYLQMNNLKPEDTAVYYCVADPYGLGFNPSDYD YWGQGTQVTSS
69.	P275 CDR1 (IMGT)	GRIFSTYA
70.	P275 CDR2 (IMGT)	INRSGDST
71.	P275 CDR3 (IMGT)	AADSDGIGWFNSFEYDY
72.	P276 CDR1 (IMGT)	GRSVSLYH
73.	P276 CDR2 (IMGT)	TAWHDGST

[0730]

74.	P276 CDR3 (IMGT)	AGEAKLGGIYSRWRDYEY
75.	P278 CDR1 (IMGT)	GRTFSIYD
76.	P278 CDR2 (IMGT)	TNLRGVST
77.	P278 CDR3 (IMGT)	AAAVSNWLAKDPSAYS
78.	P357 CDR1 (IMGT)	GRIFSTYA
79.	P357 CDR2 (IMGT)	INRSGDST
80.	P357 CDR3 (IMGT)	AADSDGIGWFNSFEYDY
81.	P358 CDR1 (IMGT)	GPIFSTYA
82.	P358 CDR2 (IMGT)	INRSGDST
83.	P358 CDR3 (IMGT)	AADSDGIGWFNSFEYDY
84.	P362 CDR1 (IMGT)	GRSVSLYH
85.	P362 CDR2 (IMGT)	TAWHDGST
86.	P362 CDR3 (IMGT)	AGEAKLGGIYSRWRDYE
87.	P364 CDR1 (IMGT)	GRSVSLYH
88.	P364 CDR2 (IMGT)	TAWHDGST
89.	P364 CDR3 (IMGT)	AADPGGSSWSQPWYD
90.	P367 CDR1 (IMGT)	GSTWSINT
91.	P367 CDR2 (IMGT)	ISSGGST
92.	P367 CDR3 (IMGT)	YAQSTWYPPS
93.	P371 CDR1 (IMGT)	GRTFSNDA
94.	P371 CDR2 (IMGT)	ISWKSST
95.	P371 CDR3 (IMGT)	VADPYGLGFNPSTDYD
96.	人IL-7	DCDIEGKDGGKQYESVLMVSIQQLDSMKEIGSNCLNN EFNFFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGD

[0731]

		FDLHLLKVSEGTTILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTK SLEENKSLKEQKKLNDLCFLKRLLQEIKTCWNKILMG TKEH
97.	人IL-7 (同种型1)	MFHVSFRYIFGLPPLILVLLPVASSDCDIEGKDQKQYES VLMVSIQQLDSMKEIGSNCLNNEFNFFKRHICDANKE GMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLLKVSEGTTIL LNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEENKSLKEQKKLN DLCFLKRLLQEIKTCWNKILMGTKEH
98.	人IL-7 (同种型1-无信 号序列)	DCDIEGKDQKQYESVLMVSIQQLDSMKEIGSNCLNN EFNFFKRHICDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGD FDLHLLKVSEGTTILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTK SLEENKSLKEQKKLNDLCFLKRLLQEIKTCWNKILMG TKEH
99.	人IL-15	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVISHESGDTDIHDTVENLIILANNILSSN GNITESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
100.	人IL-15 (同种型IL15- S48AA)	MRISKPHLRISISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCF AGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESD VHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLIIL ANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV QMFINTS
101.	人IL-15R α (同种型1)	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMS VEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECV LNKATNVAHWTTPSLKCIRDPA LVHQRPA PPSTVTTA GVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQL MPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASAS HQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAV SLLACYL KSRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLNCSH HL
102.	人IL-15R α (同种型1-无信 号序列)	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAG TSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPA LVHQRPA PPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNW ELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAV SLLACYLKSRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDE DLNCSHHL
103.	人IL-15R α (同种型1-无信 号序列) 变体1	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAG TSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR
104.	人IL-15R α (同种型1-无信 号序列) 变体2	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAG TSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPA LVHQRPA PP
105.	人IL-15R α (同种型2)	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMS VEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECV LNKATNVAHWTTPSLKCIPKPAASSPSSNNTAATTA AIV PGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELT ASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAV SLL

[0732]

		ACYLKSQRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLE NCSHHL
106.	人IL-15R α (同种型3)	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMS VEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECV LNKATNVAHWTPSLKCIRDPALVHQRPAAPPSTVTTA GVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAAIVPGSQL MPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASAS HQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLACYL KSRASVCSCHPRSAGHTCSVGSVC
107.	人IL-15R α (同种型4)	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMS VEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECV LNKATNVAHWTPSLKCIKPAASSPSSNNTAATTAAIV PGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELT ASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSL ACYLKSASVCSCHPRSAGHTCSVGSVC
108.	人IL-15R α (同种型9)	MSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTE CVLNKATNVAHWTPSLKCIRDPALVHQRPAAPPSTVT TAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAAIVPGS QLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTAS ASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLAC YLKSQRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLENC SHHL
109.	人IL-33	MKPKMKYSTNKISTAKWKNTASKALCFKLKGSQKKA KEVCPMYFMKLRSGLMIKKEACYFRRETTKRPSLKTG RKHKRHLVLAACQQQSTVECFAGISGVQKYTRALHD SSITGISPITEYLASLSTYNDQSITFALEDESIEIYVEDLK KDEKKDKVLLSYYESQHPSNESGDGVDGKMLMVTLS PTKDFWLHANNKEHSVELHKCEKPLPDQAFFVLHNM HSNCVSFECKTDPGVFIGVKDNHLALIKVDSSENLCTE NILFKLSET
110.	人IL-22	MAALQKSVSSFLMGTLATSCLLLLALLVQGGAAAPIS SHCRLDKSNFQQPYITNRTFMLAKEASLADNNTDVRLI GEKLFHGVSMSERCYLMKQVLNFTLEEVLPQSDRFQ PYMQEVPFLARLSNRLSTCHIEGDDLHIQRNVQKLK DTVKKLGESGEIKAIGELDLLFMSLRNACI
111.	人IL-22 (无信号 序列)	APISSHCRLDKSNFQQPYITNRTFMLAKEASLADNNTD VRLIGEKLFGVSMSERCYLMKQVLNFTLEEVLPQS DRFQPYMQEVPFLARLSNRLSTCHIEGDDLHIQRNV QKLKDTVKKLGESGEIKAIGELDLLFMSLRNACI
112.	P275/P357/P358/P 371 FR1 (匹配人种系: IGHV3-23*04)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
113.	P276/P278/P362/P 364 FR1 (匹配人种系: IGHV3-64*04)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSAS
114.	P367 FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS

[0733]

	(匹配人种系: IGHV3-66*01)	
115.	P275/P357/P358/P 371 FR2 (匹配人种系: IGHV3-23*04)	MSWVRQAPGKGLEWVSA
116.	P276/P278/P362/P 364 FR2 (匹配人种系: IGHV3-64*04)	MHWVRQAPGKGLEYSVA
117.	P367 FR2 (匹配人种系: IGHV3-66*01)	MSWVRQAPGKGLEWVS
118.	P275/P276/P278/P 357/P358/P362/P3 64/P371 FR3 (匹配人种系: IGHV3-23*04或 IGHV3-64*04)	YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVVY CA
119.	P367 FR3 (匹配人种系: IGHV3-66*01)	YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT
120.	P390 小鼠IL-21- (GSG)4-抗白蛋白 VHH	QGPDRLLIRLRHLIDIVEQLKIYENDLDPELLSAPQDVK GHCEHA AFACFQKAKLKPSNPGNNKTFIIDLVAQLRR RLPARRGGKKQKHIACPCSDSYEKRTPKFELERLKW LLQKMIHQHLSGSGSGSGSGSGQVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGSTWSINTLAWYRQAPGKQRD LVARI SSGGSTHYADSVKGRFTVSRDNAENTLV LQMNSLKPE DTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGTQVTSS
121.	P394 人IL21-(GSG)4- 抗白蛋白VHH	QGGDRHMRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKL RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHLSRTHGSEDSGSGSGSGSGSGQVQLV ESGGGLVQPGSLRLSCAASGSTWSINTLAWYRQAPG KQRD LVARISSGGSTHYADSVKGRFTVSRDNAENTLV LQMNSLKPEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGTQVTSS S
122.	P480 抗白蛋白VHH- (GGGS)4-人 IL15R sushi-可切 割接头-人IL15	QVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRD LVARISSGGSTHYADSVKGRFTVSRDNA ENTLV LQMNSLKPEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT QVTSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSITCPPMSVEH ADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNK ATNVAHWTTPSLKCIRD PALVHQRPA PPRRKRAPVKQ TLNFDLLKLAGDVESNPGPNWVNVISDLKKIEDLIQSM HIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDA SIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNI KEFLQSFVHIVQMFINTS

[0734]

123.	P461 (IL-15)	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLLLELQVISLESGDASIHDVTENLIILANNSLSSN GNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHVQMFINTS
124.	P462 抗白蛋白VHH- (GGGS)4-IL- 15R sushi 1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTHYADSVKGRFTVSRDNA ENTLVLMNSLKPEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT QVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSITCPPMSVEH ADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNK ATNVAHWTTPSLKCIR
125.	P463 抗白蛋白VHH- (GGGS)4-IL- 15R sushi 2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTHYADSVKGRFTVSRDNA ENTLVLMNSLKPEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT QVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSITCPPMSVEH ADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNK ATNVAHWTTPSLKCIRDPA LVHQRPA PP
126.	截短人IL21 (11aa) (1- 122)	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLK RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQH
127.	IL-15R sushi 1	ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAG TSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIR
128.	IL-15R sushi 2	ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAG TSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPA LVHQRPA PP
129.	P593 IL21(1-122)]- A(EAAAK)4A- [HSA_P367]	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLK RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAQVQL VESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWYRQAP GKQRDLVARISSGGSTHYADSVKGRFTVSRDNAENTL VLQMNSLKPEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGTQVT VSS
130.	P636 IL21(1-119)]- GSG4- [HSA_P367]	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLK RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIGSGGSGGSGGSGQVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGSTWSINTLAWYRQAPGKQRDLVARISSGG STHYADSVKGRFTVSRDNAENTLVLMNSLKPEDTAV YYCYAQSTWYPPSWGQGTQVTVSS
131.	P637 [IL-21(1- 120)]GSG4- [HSA_P367]	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLK RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHSGSGGSGGSGGQVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGSTWSINTLAWYRQAPGKQRDLVARISSGG STHYADSVKGRFTVSRDNAENTLVLMNSLKPEDTAV YYCYAQSTWYPPSWGQGTQVTVSS
132.	P744 [IL21(1-122)]- A(EAAAK)4A- [HSA_P494]	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLK RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAEVQL

[0735]

		VESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWYRQAP GKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGLTVTVSS
133.	P748 [HSA-610]- A(EAAAK)4A- [IL21(1-122)]	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFAFRGFGMSW VRQAPGKGLEWVSSINNGGSDTYADSVKGRFTISR NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIGGPGASPSGQGT QVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAQGQDRHM IRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWS AFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLRKPPSTNA GRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMIHQ H
134.	P750 [IL21]-GSG4- [HSA_P494]	QGQDRHMIRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKL RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHLSSRTHGSEDSGSGGSGGSGGSGEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWYRQAPG KQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGLTVTVSS
135.	P751 [IL21]- A(EAAAK)4A- [HSA_P494]	QGQDRHMIRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKL RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHLSSRTHGSEDSAEAAAKEAAAKEAAAK EAAAKAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSI NTLAWYRQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPP SWGQGLTVTVSS
136.	P783 [IL21(1- 122)]- A(EAAAK)4A- [HSA-609]	QGQDRHMIRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKL RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAQVQL VESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFAFRGFGMSWVRQA PGKGFVWVSSINNGGSDTYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIGGPGASPSGQGTQVT VSS
137.	P795 [IL21(1-122)]- GSG4-[HSA P494]	QGQDRHMIRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKL RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHGGSGGSGGSGGSGEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGSTWSINTLAWYRQAPGKQRDLVARIS SGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCYAQSTWYPPSWGQGLTVTVSS
138.	P796 [IL21(1-122)]- G4S3-[HSA P494]	QGQDRHMIRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKL RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWYRQAPGKQRDLVA RISSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGLTVTVSS
139.	P797	QGQDRHMIRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKL

[0736]

	[IL21(1-122)]-[HSA P494] (无接头)	RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGST WSINTLAWYRQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQST WYPPSWGQGT LVT VSS
140.	P798 [IL21]-[HSA P494] (无接头)	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVS IKKLK RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHLSSRTHGSEDSEVQLVESGGGLVQPGGS LRLSCAASGSTWSINTLAWYRQAPGKQRDLVARISSG GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCYAQSTWYPPSWGQGT LVT VSS
141.	P799 [IL21(1-122)]- VLLC-[HSA P494]	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVS IKKLK RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHIKRTVA APEVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGSTWSINTLAWYRQAPGKQRDLVARISSGGST YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CYAQSTWYPPSWGQGT LVT VSS
142.	P800 [IL21(1-122)]- VHCH1-[HSA P494]	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVS IKKLK RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHASTKGPSVEVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGSTWSINTLAWYRQAPGKQRDLVARISSGGST YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CYAQSTWYPPSWGQGT LVT VSS
143.	P806 [HSA P494]- A(EAAAK)4A- [IL21]	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT L VTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAQGQDRHMI RMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWS AFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVS IKKLKRKPPSTNA GRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMIHQ HLSSRTHGSEDS
144.	P807 [HSA P494]- G4S3-[IL21]	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT L VTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGQGQDRHMIRMRLIDIV DQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQ LKSANTGNNERIINVS IKKLKRKPPSTNAGRRQKHRLT CPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMIHQHLSSRTHGS EDS
145.	P808 [HSA P494]- [IL21] (无接头)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT L VTVSSQGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFL PAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVS IKKLKRKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFL ERFKSLLQKMIHQHLSSRTHGSEDS

146.	P809 [HSA P494]- A(EAAAK)4A- [IL21(1-122)]	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT LVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAQGQDRHMI RMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWS AFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLKRKPPSTNA GRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMIHQ H
147.	P810 [HSA P494]- G4S3-[IL21(1- 122)]	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGQGQDRHMIRM RQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWSA FSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLKRKPPSTN AGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMI HQH
148.	P811 [HSA P494]- [IL21(1-122)] (无 接头)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT LVTVSSQGQDRHMIRM RQLIDIVDQLKNYVNDLVPE FLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERI INVSIIKKLKRKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKK PPKEFLERFKSLLQKMIHQH
149.	P817 [HSA P494]- VHCH1-[IL21]	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT LVTVSSASTKGPGQDRHMIRM RQLIDIVDQLKNYVND LVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNN ERIINVSIIKKLKRKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYE KKPPKEFLERFKSLLQKMIHQHLSRTHGSEDS
150.	P818 [HSA P494]- VHCH1-[IL21(1- 122)]	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT LVTVSSASTKGPGQDRHMIRM RQLIDIVDQLKNYVND LVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNN ERIINVSIIKKLKRKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYE KKPPKEFLERFKSLLQKMIHQH
151.	P380 [HSA-P367]- G3S4-[IL33 C4S (95-270aa)]	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTHYADSVKGRFTVSRDNA ENTLVLQMNSLKPEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT QVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSAFGISGVQKYTRALH DSSITGISPITEYLASLSTYNDQSITFALEDES YEIYVEDL KKDEKKDKVLLSYYESQHPSNESGDGVDGKMLMVT LSPTKDFWLHANNKEHSVELHKSEKPLPDQAFFVLHNM HSNSVSFESKTDPGVFIGVDNHLALIKVDSSENLSTE NILFKLSET
152.	P803 [HSA-P494]- G3S4-[IL33 C4S (112-270aa)]	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSSITGISPITEYLASLSTY NDOSITFALEDES YEIYVEDLKKDEKKDKVLLSYYESQ

[0738]

		HPSNESGDGVDGKMLMVTLSPTKDFWLHANNKEHSV ELHKSEKPLPDQAFFVLHNMHSNSVSFESKTDPGVFIG VKDNHLALIKVDSSSENLTENILFKLSET
153.	P821 [HSA-P494]- [IL33 C4S (95- 270aa, 无接头)]	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT VTVSSAFGISGVQKYTRALHDSSITGISPITEYLASLSTY NDQSITFALEDESEYIYVEDLKKDEKKDKVLLSYYESQ HPSNESGDGVDGKMLMVTLSPTKDFWLHANNKEHSV ELHKSEKPLPDQAFFVLHNMHSNSVSFESKTDPGVFIG VKDNHLALIKVDSSSENLTENILFKLSET
154.	P822 [HSA-P494]- G3S4-[IL33 C4S (117-270aa)]	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT VTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSSPITEYLASLSTYNDQS ITFALEDESEYIYVEDLKKDEKKDKVLLSYYESQHPSN ESGDGVDGKMLMVTLSPTKDFWLHANNKEHSVELHK SEKPLPDQAFFVLHNMHSNSVSFESKTDPGVFIGVKDN HLALIKVDSSSENLTENILFKLSET
155.	IL33 C4S突变 体, 95-270aa	AFGISGVQKYTRALHDSSITGISPITEYLASLSTYNDQSI TFALEDESEYIYVEDLKKDEKKDKVLLSYYESQHPSNE SGDGVDGKMLMVTLSPTKDFWLHANNKEHSVELHKS EKPLPDQAFFVLHNMHSNSVSFESKTDPGVFIGVKDN HLALIKVDSSSENLTENILFKLSET
156.	IL33 C4S突变 体, 112-270aa	SITGISPITEYLASLSTYNDQSITFALEDESEYIYVEDLK KDEKKDKVLLSYYESQHPSNESGDGVDGKMLMVTLS PTKDFWLHANNKEHSVELHKSEKPLPDQAFFVLHNM HSNSVSFESKTDPGVFIGVKDNHLALIKVDSSSENLT ENILFKLSET
157.	IL33 C4S突变 体, 117-270aa	SPITEYLASLSTYNDQSITFALEDESEYIYVEDLKKDEK KDKVLLSYYESQHPSNESGDGVDGKMLMVTLSPTKD FWLHANNKEHSVELHKSEKPLPDQAFFVLHNMHSNS VSFESKTDPGVFIGVKDNHLALIKVDSSSENLTENILFK LSET
158.	VHCH1接头	ASTKGPSV
159.	VHCH1接头	ASTKGP
160.	P479 HSA-P367- IL15RA Sushi- F2A-IL15	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTHYADSVKGRFTVSRDNA ENTLVLMNSLKPEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT QVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGGSITCPPMSVEH ADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNK ATNVAHWTTPSLKCIRRRKRAPVKQTLNFDLLKLAGD VESNPGPNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDV HPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILA NNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS
161.	P597	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWY RQAPGKQRDLVARISSGGSTHYADSVKGRFTVSRDNA

[0739]

	[HSA-P367]- [IL15RA Sushi Plus-(G4S)3.5- IL15]	ENTLVLQMNSLKPEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT QVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSITCPPMSVEH ADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNK ATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAAPPGGSGGGGSG GGSGGGGSLQNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTE SDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENL IILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHI VQMFINTS
162.	P669 [R2G12v1.1]- [HSA-P367]- [IL15RA Sushi Plus-(G4S)3.5- IL15]	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFPVNAYGWY RQAPGKQRDLVAIISAGGTTNYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYLQRRIGMLRDYWGQ GTQVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGSQVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWYRQAPGKQRDLVA RISSGGSTHYADSVKGRFTVSRDNAENTLVLQMNSL KPEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGTQVTVSSGGGSG GGGSGGGGSGGGGSITCPPMSVEHADIWVKSYSLYS RERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPS LKCIRDPALVHQRPAAPPGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQ NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTA MKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNG NVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
163.	P375 IL21-GSG4-HSA- P367-G3S4-R3C7 v1.5	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKL RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHLSSRTHGSEDSGSGGSGGGSGGSGQVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWYRQAPG KQRDLVARISSGGSTHYADSVKGRFTVSRDNAENTLV LQMNSLKPEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGTQVTVS SGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGSQVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGRTLESYVMAWFRQAPGKEREAVASINWSSG RLIYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAAGRYWGQGTQVTVSS
164.	P431 hIL21-HSA-P367- SGRSA-R3C7 v1.5-hIgG1 (KIH v.11“结”)	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKL RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIHQHLSSRTHGSEDSGSGGSGGGSGGSGQVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWYRQAPG KQRDLVARISSGGSTHYADSVKGRFTVSRDNAENTLV LQMNSLKPEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGTQVTVS SGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGSGRSAGGGGSGQVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTLESYVMAWFRQAP GKEREAVASINWSSGRLIYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAAGRYWGQGTQVTVSSDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS

[0740]

		KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
165.	P435 R3C7v1.5-hIgG1 (KIH v.11“扣”)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTLESYVMAWFRQAPGKEREAVASINWSSGRLIYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGRYWGQGTQVT VSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
166.	P286 hIL21-R3C7-hIgG1 KIH v.11 (S354C, T366W, “结”)	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLRKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMIHQHLSSRTHGSEDSGSGGSGGSGGSGQVQLVESGGGLVEAGDSLRLSCVVSIGRTLESYVMAWFRQAPGKEREAVASINWSSGRLIYADFVKGRFTISRDIYEKNTIYLSMNNLKPEDTAVYYCAAGRYWGQGTQVTVSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
167.	P288 R2G12-hFR3-hIgG1 KIH v.11 (Y349C, T366S, L368A, Y407V, “扣”)	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFPVNAWGYYRQAPGKQRDLVAIISAGGTTNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYLQRRIGMLRDYWGQGTQVTVSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
168.	P494 抗HSA抗体	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTWSINTLAWYRQAPGKQRDLVARISSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYAQSTWYPPSWGQGT LTVSS
169.	P610 抗HSA抗体	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFAFRGFGMSWVRQAPGKGLEWVSSINNGGSDTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIGGPGASPSGQGTQTVSS
170.	P609 抗HSA抗体	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFAFRGFGMSWVRQAPGKGFEWVSSINNGGSDTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIGGPGASPSGQGTQTVSS

[0741]

171.	截短IL-21 (1-119)	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKCLK RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMI
172.	截短IL-21 (1- 120)	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKCLK RKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKS LLQKMIH
173.	抗MSLN-3 R3-B08(D5)或 R3D5	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSISSIRHMRWY RQAPGKQREL VATVSN DGSAYYLGSVKGRFTISRTNA KNTLLYLQMNSLKPEDSALYICNADTWGWPGADYW GQGTQVTVSS
174.	抗MSLN-6 R3-E08(C7)或 R3C7	QVQLVESGGGLVEAGDSLRLSCVVS GRTLESYVMAW FRQAPGKEREAVASINWSSGRLIYADFVKGRFTISR DY EKNTIYLSMNNLKPEDTAVYYCAAGRYWGQGTQVTV SS
175.	抗MSLN-9 R2-G06(G12)或 R2G12	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFPVNAYGW YRQAPGKQRD LVAIISAGGTTNYADSVKGRFAISKDN VNNTVY LQMNSLTSED TG VYYCYLQRRIGMLRDYWG QGTQVTVSS
176.	抗MSLN-35 (人 源化) R2G12 v1.1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFPVNAYGWY RQAPGKQRD LVAIISAGGTTNYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCYLQRRIGMLRDYWGQ GTQVTVSS
177.	抗MSLN-36 (人源化) R2G12 v1.2	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFPVNAYGW YRQAPGKGLELVAIISAGGTTNYADSVKGRFAISKDN VNNTVY LQMNSLTSED TG VYYCYLQRRIGMLRDYWG QGTQVTVSS
178.	抗MSLN-37 (人源化) R2G12 v1.3	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFPVNAYGWY RQAPGKGLELVAIISAGGTTNYADSVKGRFAISKDNV NNTVY LQMNSLTSED TG VYYCYLQRRIGMLRDYWGQ GTQVTVSS
179.	抗MSLN-38 (人源化) R3D5 v1.1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSISSIRHMRWY RQAPGKQREL VATVSN DGSAYYAGSVKGRFTISRDN S KNTLLYLQMNSLRAEDTAVYICNADTWGWPGADYW GQGTQVTVSS
180.	抗MSLN-39 (人源化) R3D5 v1.2	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSISSIRHMRWY RQAPGKGLEL VATVSN DGSAYYLGSVKGRFTISRTNA KNTLLYLQMNSLKPEDSALYICNADTWGWPGADYW GQGTQVTVSS
181.	抗MSLN-40 (人源化) R3D5 v1.3	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSISSIRHMRWY RQAPGKGLEL VATVSN DGSAYYLGSVKGRFTISRTNA KNTLLYLQMNSLKPEDSALYICNADTWGWPGADYW GQGTQVTVSS
182.	抗MSLN-41 (人源化) R3C7 v1.1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVVS GRTLESYVMAW FRQAPGKEREAVASINWSSGRLIYADFVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAAGRYWGQGTQVT VSS

[0742]

183.	抗MSLN-42 (人源化) R3C7 v1.2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVVSGRITLESYVMAW FRQAPGKGLEAVASINWSSGRLIYADFVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAAGRYWGQGTQVT VSS
184.	抗MSLN-43 (人源化) R3C7 v1.3	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLESYVMAW FRQAPGKGLEAVASINWSSGRLIYADFVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAAGRYWGQGTQVT VSS
185.	抗MSLN-44 (人源化) R3C7 v1.4	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLESYVMAW FRQAPGKGLEAVASINWSSGRLIYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGRYWGQGTQVT VSS
186.	抗MSLN-45 (人源化) R3C7 v1.5	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLESYVMAW FRQAPGKEREAVASINWSSGRLIYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGRYWGQGTQVT VSS
187.	抗MSLN-3 CDR1	GSISSIRH
188.	抗MSLN-3 CDR2	VSNDGSA
189.	抗MSLN-3 CDR3	NADTWGWPGADY
190.	抗MSLN-6 CDR1	GRTLESYV
191.	抗MSLN-6 CDR2	INWSSGRL
192.	抗MSLN-6 CDR3	AAGRY
193.	抗MSLN-9 CDR1	GITFPVNA
194.	抗MSLN-9 CDR2	ISAGGTT
195.	抗MSLN-9 CDR3	YLQRRIGMLRDY
196.	MSLN抗原1	EVEKTACPSGKKAREIDESLIFYKKWELEACVDAALL ATQMDRVNAIPFTYEQLDVLKHKLDELYPQGYPESVI QHLGYLFLKMSPEDIRKWNVTSLKALLEVNKGHE MSPQAPRRPLPQVATLIDRFVKGRGQLDKDTLDTLTA FYPGYLCSLSPEELSSVPPSSIWAVRPQDLDTCDPRQLD VLYPKARLAFQNMNGSEYFVKIQSFLGGAPTEDLKAL SQQNVSMDLATFMKLRTDAVLPLTVAEVQKLLGPHV EGLKAEERHRPVRDWILRQRQDDDLTLGLGLQGGIPN GYLVLDLSMQEALS
197.	MSLN抗原2	VQKLLGPHVEGLKAEERHRPVRDWILRQRQDDDLTL GLGLQGGIPNGYLV

[0001] 序列表

[0002] <110> 安维达生物科技公司

[0003] <120> 细胞因子融合蛋白及其用途

[0004] <130> JS014-01-1-PCT-CN.MTPICN20236

[0005] <140> 2019800398005

[0006] <141> 2019-06-17

[0007] <150> US62/686,481

[0008] <151> 2018-06-18

[0009] <150> US62/809,496

[0010] <151> 2019-02-22

[0011] <160> 197

[0012] <170> SIP0SequenceListing 1.0

[0013] $\langle 210 \rangle$ 1

[0014] <211> 133

[0015] <212> PRT

[0016] <213> Homo sapiens

[0017] <400> 1

[0018] Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile

[0019] 1 5 10 15

[0020] Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu

[0021] 20 25 30

[0022] Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser

[0023] 35 40 45

[0024] Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu

[0025] 50 55 60

[0026] Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser

[0027] 65 70 75 80

[0028] Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys

[0029] 85 90 95

[0030] Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys

[0031] 100 105 110

[0032] Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Leu Ser Ser Arg Thr His

[0033] 115 120 125

[0034] Gly Ser Glu Asp Ser

[0035] 130

[0036] $\langle 210 \rangle$ 2

[0037] $\langle 211 \rangle$ 123

[0038] <212> PRT

[0039]	<213>	Homo sapiens
[0040]	<400>	2
[0041]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile	
[0042]	1	5 10 15
[0043]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu	
[0044]	20	25 30
[0045]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser	
[0046]	35	40 45
[0047]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu	
[0048]	50	55 60
[0049]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser	
[0050]	65	70 75 80
[0051]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys	
[0052]	85	90 95
[0053]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys	
[0054]	100	105 110
[0055]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Leu	
[0056]	115	120
[0057]	<210>	3
[0058]	<211>	46
[0059]	<212>	PRT
[0060]	<213>	人工序列
[0061]	<400>	3
[0062]	Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly	
[0063]	1	5 10 15
[0064]	Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu	
[0065]	20	25 30
[0066]	Gly Val Lys Ala Leu Ile Asp Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro	
[0067]	35	40 45
[0068]	<210>	4
[0069]	<211>	46
[0070]	<212>	PRT
[0071]	<213>	人工序列
[0072]	<400>	4
[0073]	Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly	
[0074]	1	5 10 15
[0075]	Val Ser Asp Phe Ala Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu	
[0076]	20	25 30
[0077]	Gly Val Glu Ala Leu Lys Asp Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro	

[0078]	35	40	45
[0079]	<210> 6		
[0080]	<211> 46		
[0081]	<212> PRT		
[0082]	<213> 人工序列		
[0083]	<400> 6		
[0084]	Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly		
[0085]	1 5 10 15		
[0086]	Val Ser Asp Phe Ala Lys Arg Ala Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu		
[0087]	20 25 30		
[0088]	Gly Val Glu Ala Leu Lys Asp Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro		
[0089]	35 40 45		
[0090]	<210> 7		
[0091]	<211> 46		
[0092]	<212> PRT		
[0093]	<213> 人工序列		
[0094]	<400> 7		
[0095]	Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly		
[0096]	1 5 10 15		
[0097]	Val Ser Asp Phe Ala Lys Arg Ala Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu		
[0098]	20 25 30		
[0099]	Gly Ala Glu Ala Leu Lys Asp Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro		
[0100]	35 40 45		
[0101]	<210> 7		
[0102]	<211> 46		
[0103]	<212> PRT		
[0104]	<213> 人工序列		
[0105]	<400> 7		
[0106]	Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly		
[0107]	1 5 10 15		
[0108]	Val Ser Asp Phe Tyr Lys Arg Leu Ile Asn Lys Ala Lys Thr Val Glu		
[0109]	20 25 30		
[0110]	Gly Val Glu Ala Leu Lys Leu His Ile Leu Ala Ala Leu Pro		
[0111]	35 40 45		
[0112]	<210> 8		
[0113]	<211> 46		
[0114]	<212> PRT		
[0115]	<213> 人工序列		
[0116]	<400> 8		

[0117]	Leu	Ala	Glu	Ala	Lys	Val	Leu	Ala	Asn	Arg	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Gly
[0118]	1				5					10					15	
[0119]	Val	Ser	Asp	Tyr	Ala	Lys	Asn	Leu	Ile	Asn	Asn	Ala	Lys	Thr	Val	Glu
[0120]					20					25					30	
[0121]	Gly	Val	Lys	Ala	Leu	Ile	Asp	Glu	Ile	Leu	Ala	Ala	Leu	Pro		
[0122]					35					40					45	
[0123]	<210>	9														
[0124]	<211>	46														
[0125]	<212>	PRT														
[0126]	<213>	人工序列														
[0127]	<400>	9														
[0128]	Leu	Ala	Glu	Ala	Lys	Val	Leu	Ala	Asn	Arg	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Gly
[0129]	1				5					10					15	
[0130]	Val	Ala	Asp	Ala	Tyr	Ala	Asn	Leu	Ile	Asn	Asn	Ala	Lys	Thr	Val	Glu
[0131]					20					25					30	
[0132]	Gly	Val	Lys	Ala	Leu	Ile	Asp	Glu	Ile	Leu	Ala	Ala	Leu	Pro		
[0133]					35					40					45	
[0134]	<210>	10														
[0135]	<211>	45														
[0136]	<212>	PRT														
[0137]	<213>	人工序列														
[0138]	<400>	10														
[0139]	Leu	Lys	Glu	Ala	Lys	Glu	Lys	Ala	Ile	Glu	Glu	Leu	Lys	Lys	Ala	Gly
[0140]	1				5					10					15	
[0141]	Ile	Thr	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Leu	Ile	Asn	Lys	Ala	Lys	Thr	Val
[0142]					20					25					30	
[0143]	Glu	Gly	Val	Asn	Ala	Leu	Lys	Asp	Glu	Ile	Leu	Lys	Ala			
[0144]					35					40					45	
[0145]	<210>	11														
[0146]	<211>	51														
[0147]	<212>	PRT														
[0148]	<213>	人工序列														
[0149]	<400>	11														
[0150]	Thr	Ile	Asp	Glu	Trp	Leu	Leu	Lys	Glu	Ala	Lys	Glu	Lys	Ala	Ile	Glu
[0151]	1				5					10					15	
[0152]	Glu	Leu	Lys	Lys	Ala	Gly	Ile	Thr	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Leu	Ile
[0153]					20					25					30	
[0154]	Asn	Lys	Ala	Lys	Thr	Val	Glu	Gly	Val	Asn	Ala	Leu	Lys	Asp	Glu	Ile
[0155]					35					40					45	

[0156] Leu Lys Ala
[0157] 50
[0158] <210> 12
[0159] <211> 3
[0160] <212> PRT
[0161] <213> 人工序列
[0162] <220>
[0163] <221> REPEAT
[0164] <222> (1) .. (3)
[0165] <223> 重复数为1~6
[0166] <400> 12
[0167] Gly Ser Gly
[0168] 1
[0169] <210> 13
[0170] <211> 4
[0171] <212> PRT
[0172] <213> 人工序列
[0173] <220>
[0174] <221> REPEAT
[0175] <222> (1) .. (4)
[0176] <223> 重复数为1~6
[0177] <400> 13
[0178] Gly Gly Gly Ser
[0179] 1
[0180] <210> 14
[0181] <211> 5
[0182] <212> PRT
[0183] <213> 人工序列
[0184] <220>
[0185] <221> REPEAT
[0186] <222> (1) .. (5)
[0187] <223> 重复数为1~6
[0188] <400> 14
[0189] Gly Gly Gly Gly Ser
[0190] 1 5
[0191] <210> 15
[0192] <211> 5
[0193] <212> PRT
[0194] <213> 人工序列

[0195]	<220>	
[0196]	<221>	REPEAT
[0197]	<222>	(1) .. (5)
[0198]	<223>	重复数为1~6
[0199]	<400>	15
[0200]		Glu Ala Ala Ala Lys
[0201]	1	5
[0202]	<210>	16
[0203]	<211>	5
[0204]	<212>	PRT
[0205]	<213>	人工序列
[0206]	<220>	
[0207]	<221>	REPEAT
[0208]	<222>	(1) .. (5)
[0209]	<223>	重复数为1~6
[0210]	<400>	16
[0211]		Pro Ala Pro Ala Pro
[0212]	1	5
[0213]	<210>	17
[0214]	<211>	8
[0215]	<212>	PRT
[0216]	<213>	人工序列
[0217]	<400>	17
[0218]		Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
[0219]	1	5
[0220]	<210>	18
[0221]	<211>	5
[0222]	<212>	PRT
[0223]	<213>	人工序列
[0224]	<400>	18
[0225]		Arg Ala Lys Pro Ser
[0226]	1	5
[0227]	<210>	19
[0228]	<211>	4
[0229]	<212>	PRT
[0230]	<213>	人工序列
[0231]	<220>	
[0232]	<221>	REPEAT
[0233]	<222>	(1) .. (4)

[0234] <223> 重复数为1~4
[0235] <400> 19
[0236] Gly Ser Gly Ser
[0237] 1
[0238] <210> 20
[0239] <211> 4
[0240] <212> PRT
[0241] <213> 人工序列
[0242] <220>
[0243] <221> REPEAT
[0244] <222> (1) .. (4)
[0245] <223> 重复数为1~4
[0246] <400> 20
[0247] Gly Gly Ser Gly
[0248] 1
[0249] <210> 21
[0250] <211> 4
[0251] <212> PRT
[0252] <213> 人工序列
[0253] <220>
[0254] <221> REPEAT
[0255] <222> (1) .. (4)
[0256] <223> 重复数为1~3
[0257] <400> 21
[0258] Pro Ala Pro Ala
[0259] 1
[0260] <210> 22
[0261] <211> 4
[0262] <212> PRT
[0263] <213> 人工序列
[0264] <220>
[0265] <221> REPEAT
[0266] <222> (1) .. (4)
[0267] <223> 重复数为1~3
[0268] <400> 22
[0269] Pro Gln Pro Gln
[0270] 1
[0271] <210> 23
[0272] <211> 8

[0273]	<212>	PRT
[0274]	<213>	人工序列
[0275]	<400>	23
[0276]	Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro	
[0277]	1	5
[0278]	<210>	24
[0279]	<211>	7
[0280]	<212>	PRT
[0281]	<213>	人工序列
[0282]	<220>	
[0283]	<221>	REPEAT
[0284]	<222>	(2) .. (6)
[0285]	<223>	重复数为1~6
[0286]	<400>	24
[0287]	Ala Glu Ala Ala Ala Lys Ala	
[0288]	1	5
[0289]	<210>	25
[0290]	<211>	12
[0291]	<212>	PRT
[0292]	<213>	人工序列
[0293]	<400>	25
[0294]	Gly Thr Asn Glu Val Cys Lys Cys Pro Lys Cys Pro	
[0295]	1	5 10
[0296]	<210>	26
[0297]	<211>	35
[0298]	<212>	PRT
[0299]	<213>	人工序列
[0300]	<400>	26
[0301]	Glu Pro Lys Ile Pro Gln Pro Gln Pro Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln	
[0302]	1	5 10 15
[0303]	Pro Gln Pro Lys Pro Gln Pro Lys Pro Glu Pro Glu Cys Thr Cys Pro	
[0304]		20 25 30
[0305]	Lys Cys Pro	
[0306]		35
[0307]	<210>	27
[0308]	<211>	28
[0309]	<212>	PRT
[0310]	<213>	人工序列
[0311]	<400>	27

[0312]	Arg Arg Lys Arg Ala Pro Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu
[0313]	1 5 10 15
[0314]	Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
[0315]	20 25
[0316]	<210> 28
[0317]	<211> 5
[0318]	<212> PRT
[0319]	<213> 人工序列
[0320]	<400> 28
[0321]	Ser Gly Arg Ser Ala
[0322]	1 5
[0323]	<210> 29
[0324]	<211> 6
[0325]	<212> PRT
[0326]	<213> 人工序列
[0327]	<400> 29
[0328]	Pro Val Gly Leu Ile Gly
[0329]	1 5
[0330]	<210> 31
[0331]	<211> 9
[0332]	<212> PRT
[0333]	<213> 人工序列
[0334]	<400> 31
[0335]	Lys Gly Pro Gln Gly Ile Ala Gly Gln
[0336]	1 5
[0337]	<210> 31
[0338]	<211> 9
[0339]	<212> PRT
[0340]	<213> 人工序列
[0341]	<400> 31
[0342]	Phe Gly Pro Gln Gly Leu Ala Gly Gln
[0343]	1 5
[0344]	<210> 32
[0345]	<211> 9
[0346]	<212> PRT
[0347]	<213> 人工序列
[0348]	<400> 32
[0349]	Arg Gly Pro Gln Gly Ile Phe Gly Gln
[0350]	1 5

[0351] <210> 33
[0352] <211> 9
[0353] <212> PRT
[0354] <213> 人工序列
[0355] <400> 33
[0356] Ile Gly Pro Gln Gly Ile Trp Gly Gln
[0357] 1 5
[0358] <210> 34
[0359] <211> 9
[0360] <212> PRT
[0361] <213> 人工序列
[0362] <400> 34
[0363] Met Gly Pro Gln Gly Ile Leu Gly Gln
[0364] 1 5
[0365] <210> 35
[0366] <211> 9
[0367] <212> PRT
[0368] <213> 人工序列
[0369] <400> 35
[0370] Lys Gly Pro Gln Ser Ile Ala Gly Gln
[0371] 1 5
[0372] <210> 36
[0373] <211> 9
[0374] <212> PRT
[0375] <213> 人工序列
[0376] <400> 36
[0377] Phe Gly Pro Gln Ser Leu Ala Gly Gln
[0378] 1 5
[0379] <210> 37
[0380] <211> 9
[0381] <212> PRT
[0382] <213> 人工序列
[0383] <400> 37
[0384] Arg Gly Pro Gln Ser Ile Phe Gly Gln
[0385] 1 5
[0386] <210> 38
[0387] <211> 9
[0388] <212> PRT
[0389] <213> 人工序列

[0390] <400> 38
[0391] Ile Gly Pro Gln Ser Ile Trp Gly Gln
[0392] 1 5
[0393] <210> 39
[0394] <211> 9
[0395] <212> PRT
[0396] <213> 人工序列
[0397] <400> 39
[0398] Met Gly Pro Gln Ser Ile Leu Gly Gln
[0399] 1 5
[0400] <210> 40
[0401] <211> 9
[0402] <212> PRT
[0403] <213> 人工序列
[0404] <400> 40
[0405] Lys Gly Pro Gln Thr Ile Ala Gly Gln
[0406] 1 5
[0407] <210> 41
[0408] <211> 9
[0409] <212> PRT
[0410] <213> 人工序列
[0411] <400> 41
[0412] Phe Gly Pro Gln Thr Leu Ala Gly Gln
[0413] 1 5
[0414] <210> 42
[0415] <211> 9
[0416] <212> PRT
[0417] <213> 人工序列
[0418] <400> 42
[0419] Arg Gly Pro Gln Thr Ile Phe Gly Gln
[0420] 1 5
[0421] <210> 43
[0422] <211> 9
[0423] <212> PRT
[0424] <213> 人工序列
[0425] <400> 43
[0426] Ile Gly Pro Gln Thr Ile Trp Gly Gln
[0427] 1 5
[0428] <210> 44

[0429]	<211>	9
[0430]	<212>	PRT
[0431]	<213>	人工序列
[0432]	<400>	44
[0433]	Phe Arg Pro Arg Ser Ile Thr Gly Gln	
[0434]	1	5
[0435]	<210>	45
[0436]	<211>	9
[0437]	<212>	PRT
[0438]	<213>	人工序列
[0439]	<400>	45
[0440]	Met Gly Pro Gln Thr Ile Leu Gly Gln	
[0441]	1	5
[0442]	<210>	46
[0443]	<211>	8
[0444]	<212>	PRT
[0445]	<213>	人工序列
[0446]	<400>	46
[0447]	Gly Ile Thr Phe Pro Val Asn Ala	
[0448]	1	5
[0449]	<210>	47
[0450]	<211>	7
[0451]	<212>	PRT
[0452]	<213>	人工序列
[0453]	<400>	47
[0454]	Ile Ser Ala Gly Gly Thr Thr	
[0455]	1	5
[0456]	<210>	48
[0457]	<211>	10
[0458]	<212>	PRT
[0459]	<213>	人工序列
[0460]	<400>	48
[0461]	Gln Arg Arg Ile Gly Met Leu Arg Asp Tyr	
[0462]	1	5 10
[0463]	<210>	49
[0464]	<211>	8
[0465]	<212>	PRT
[0466]	<213>	人工序列
[0467]	<400>	49

[0468]	Gly Arg Thr Leu Glu Ser Tyr Val
[0469]	1 5
[0470]	<210> 50
[0471]	<211> 8
[0472]	<212> PRT
[0473]	<213> 人工序列
[0474]	<400> 50
[0475]	Ile Asn Trp Ser Ser Gly Arg Leu
[0476]	1 5
[0477]	<210> 51
[0478]	<211> 3
[0479]	<212> PRT
[0480]	<213> 人工序列
[0481]	<400> 51
[0482]	Gly Arg Tyr
[0483]	1
[0484]	<210> 52
[0485]	<211> 609
[0486]	<212> PRT
[0487]	<213> 人工序列
[0488]	<400> 52
[0489]	Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala
[0490]	1 5 10 15
[0491]	Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
[0492]	20 25 30
[0493]	His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu
[0494]	35 40 45
[0495]	Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val
[0496]	50 55 60
[0497]	Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
[0498]	65 70 75 80
[0499]	Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
[0500]	85 90 95
[0501]	Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
[0502]	100 105 110
[0503]	Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
[0504]	115 120 125
[0505]	His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val
[0506]	130 135 140

[0507]	Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys
[0508]	145 150 155 160
[0509]	Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
[0510]	165 170 175
[0511]	Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys
[0512]	180 185 190
[0513]	Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu
[0514]	195 200 205
[0515]	Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys
[0516]	210 215 220
[0517]	Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
[0518]	225 230 235 240
[0519]	Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser
[0520]	245 250 255
[0521]	Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly
[0522]	260 265 270
[0523]	Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile
[0524]	275 280 285
[0525]	Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu
[0526]	290 295 300
[0527]	Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
[0528]	305 310 315 320
[0529]	Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
[0530]	325 330 335
[0531]	Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
[0532]	340 345 350
[0533]	Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
[0534]	355 360 365
[0535]	Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
[0536]	370 375 380
[0537]	Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
[0538]	385 390 395 400
[0539]	Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
[0540]	405 410 415
[0541]	Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
[0542]	420 425 430
[0543]	Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
[0544]	435 440 445
[0545]	Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His

[0546]	450	455	460
[0547]	Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val		
[0548]	465	470	475 480
[0549]	Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg		
[0550]	485	490	495
[0551]	Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe		
[0552]	500	505	510
[0553]	Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala		
[0554]	515	520	525
[0555]	Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu		
[0556]	530	535	540
[0557]	Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys		
[0558]	545	550	555 560
[0559]	Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala		
[0560]	565	570	575
[0561]	Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe		
[0562]	580	585	590
[0563]	Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly		
[0564]	595	600	605
[0565]	Leu		
[0566]	<210> 53		
[0567]	<211> 417		
[0568]	<212> PRT		
[0569]	<213> 人工序列		
[0570]	<400> 53		
[0571]	Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala		
[0572]	1 5 10 15		
[0573]	Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala		
[0574]	20 25 30		
[0575]	His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Trp Ala Val		
[0576]	35 40 45		
[0577]	Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser		
[0578]	50 55 60		
[0579]	Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly		
[0580]	65 70 75 80		
[0581]	Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile		
[0582]	85 90 95		
[0583]	Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu		
[0584]	100 105 110		

[0585]	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp
[0586]			115					120					125			
[0587]	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser
[0588]			130					135					140			
[0589]	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly
[0590]	145					150					155				160	
[0591]	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val
[0592]					165					170					175	
[0593]	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys
[0594]				180						185				190		
[0595]	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu
[0596]			195					200					205			
[0597]	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys
[0598]		210						215					220			
[0599]	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu
[0600]	225					230					235				240	
[0601]	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val
[0602]				245						250					255	
[0603]	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His
[0604]				260						265					270	
[0605]	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val
[0606]			275					280					285			
[0607]	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg
[0608]		290						295					300			
[0609]	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe
[0610]	305					310					315				320	
[0611]	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala
[0612]				325						330					335	
[0613]	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu
[0614]				340						345				350		
[0615]	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys
[0616]			355					360					365			
[0617]	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala
[0618]		370						375					380			
[0619]	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe
[0620]	385					390					395				400	
[0621]	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Gln	Ala	Ala	Leu	Gly
[0622]				405						410					415	
[0623]	Leu															

[0663]	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys
[0664]					275					280					285	
[0665]	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val
[0666]					290					295					300	
[0667]	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe
[0668]	305						310					315				320
[0669]	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys
[0670]						325					330				335	
[0671]	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys
[0672]					340					345					350	
[0673]	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Glu	Lys
[0674]					355					360					365	
[0675]	Cys	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys
[0676]					370							375			380	
[0677]	Lys	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Gln	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu				
[0678]	385						390					395				
[0679]	<210>	55														
[0680]	<211>	585														
[0681]	<212>	PRT														
[0682]	<213>	人工序列														
[0683]	<400>	55														
[0684]	Asp	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu
[0685]	1				5					10				15		
[0686]	Glu	Asn	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	Leu	Gln
[0687]					20					25				30		
[0688]	Gln	Cys	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu
[0689]					35					40				45		
[0690]	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys
[0691]		50					55					60				
[0692]	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu
[0693]	65					70					75				80	
[0694]	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro
[0695]						85				90				95		
[0696]	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu
[0697]					100					105				110		
[0698]	Pro	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His
[0699]					115					120				125		
[0700]	Asp	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg
[0701]					130					135				140		

[0702]	Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[0703]	145 150 155 160
[0704]	Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[0705]	165 170 175
[0706]	Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[0707]	180 185 190
[0708]	Ser Ala Lys Gln Gly Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[0709]	195 200 205
[0710]	Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[0711]	210 215 220
[0712]	Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[0713]	225 230 235 240
[0714]	Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[0715]	245 250 255
[0716]	Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[0717]	260 265 270
[0718]	Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[0719]	275 280 285
[0720]	Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[0721]	290 295 300
[0722]	Leu Ala Ala Asp Phe Val Gly Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[0723]	305 310 315 320
[0724]	Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[0725]	325 330 335
[0726]	Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[0727]	340 345 350
[0728]	Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[0729]	355 360 365
[0730]	Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[0731]	370 375 380
[0732]	Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[0733]	385 390 395 400
[0734]	Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[0735]	405 410 415
[0736]	Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[0737]	420 425 430
[0738]	Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[0739]	435 440 445
[0740]	Ala Glu Asp Cys Leu Ser Val Phe Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His

[0741]	450	455	460
[0742]	Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser		
[0743]	465	470	475
[0744]	Leu Val Asn Gly Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr		
[0745]	485	490	495
[0746]	Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp		
[0747]	500	505	510
[0748]	Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala		
[0749]	515	520	525
[0750]	Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu		
[0751]	530	535	540
[0752]	Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys		
[0753]	545	550	555
[0754]	Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val		
[0755]	565	570	575
[0756]	Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu		
[0757]	580	585	
[0758]	<210> 56		
[0759]	<211> 630		
[0760]	<212> PRT		
[0761]	<213> 人工序列		
[0762]	<400> 56		
[0763]	Met Ala Leu Pro Thr Ala Arg Pro Leu Leu Gly Ser Cys Gly Thr Pro		
[0764]	1	5	10
[0765]	Ala Leu Gly Ser Leu Leu Phe Leu Leu Phe Ser Leu Gly Trp Val Gln		
[0766]	20	25	30
[0767]	Pro Ser Arg Thr Leu Ala Gly Glu Thr Gly Gln Glu Ala Ala Pro Leu		
[0768]	35	40	45
[0769]	Asp Gly Val Leu Ala Asn Pro Pro Asn Ile Ser Ser Leu Ser Pro Arg		
[0770]	50	55	60
[0771]	Gln Leu Leu Gly Phe Pro Cys Ala Glu Val Ser Gly Leu Ser Thr Glu		
[0772]	65	70	75
[0773]	Arg Val Arg Glu Leu Ala Val Ala Leu Ala Gln Lys Asn Val Lys Leu		
[0774]	85	90	95
[0775]	Ser Thr Glu Gln Leu Arg Cys Leu Ala His Arg Leu Ser Glu Pro Pro		
[0776]	100	105	110
[0777]	Glu Asp Leu Asp Ala Leu Pro Leu Asp Leu Leu Leu Phe Leu Asn Pro		
[0778]	115	120	125
[0779]	Asp Ala Phe Ser Gly Pro Gln Ala Cys Thr Arg Phe Phe Ser Arg Ile		

[0780]	130	135	140
[0781]	Thr Lys Ala Asn Val Asp Leu Leu Pro Arg Gly Ala Pro Glu Arg Gln		
[0782]	145	150	155
[0783]	Arg Leu Leu Pro Ala Ala Leu Ala Cys Trp Gly Val Arg Gly Ser Leu		
[0784]	165	170	175
[0785]	Leu Ser Glu Ala Asp Val Arg Ala Leu Gly Gly Leu Ala Cys Asp Leu		
[0786]	180	185	190
[0787]	Pro Gly Arg Phe Val Ala Glu Ser Ala Glu Val Leu Leu Pro Arg Leu		
[0788]	195	200	205
[0789]	Val Ser Cys Pro Gly Pro Leu Asp Gln Asp Gln Gln Glu Ala Ala Arg		
[0790]	210	215	220
[0791]	Ala Ala Leu Gln Gly Gly Gly Pro Pro Tyr Gly Pro Pro Ser Thr Trp		
[0792]	225	230	235
[0793]	Ser Val Ser Thr Met Asp Ala Leu Arg Gly Leu Leu Pro Val Leu Gly		
[0794]	245	250	255
[0795]	Gln Pro Ile Ile Arg Ser Ile Pro Gln Gly Ile Val Ala Ala Trp Arg		
[0796]	260	265	270
[0797]	Gln Arg Ser Ser Arg Asp Pro Ser Trp Arg Gln Pro Glu Arg Thr Ile		
[0798]	275	280	285
[0799]	Leu Arg Pro Arg Phe Arg Arg Glu Val Glu Lys Thr Ala Cys Pro Ser		
[0800]	290	295	300
[0801]	Gly Lys Lys Ala Arg Glu Ile Asp Glu Ser Leu Ile Phe Tyr Lys Lys		
[0802]	305	310	315
[0803]	Trp Glu Leu Glu Ala Cys Val Asp Ala Ala Leu Leu Ala Thr Gln Met		
[0804]	325	330	335
[0805]	Asp Arg Val Asn Ala Ile Pro Phe Thr Tyr Glu Gln Leu Asp Val Leu		
[0806]	340	345	350
[0807]	Lys His Lys Leu Asp Glu Leu Tyr Pro Gln Gly Tyr Pro Glu Ser Val		
[0808]	355	360	365
[0809]	Ile Gln His Leu Gly Tyr Leu Phe Leu Lys Met Ser Pro Glu Asp Ile		
[0810]	370	375	380
[0811]	Arg Lys Trp Asn Val Thr Ser Leu Glu Thr Leu Lys Ala Leu Leu Glu		
[0812]	385	390	395
[0813]	Val Asn Lys Gly His Glu Met Ser Pro Gln Ala Pro Arg Arg Pro Leu		
[0814]	405	410	415
[0815]	Pro Gln Val Ala Thr Leu Ile Asp Arg Phe Val Lys Gly Arg Gly Gln		
[0816]	420	425	430
[0817]	Leu Asp Lys Asp Thr Leu Asp Thr Leu Thr Ala Phe Tyr Pro Gly Tyr		
[0818]	435	440	445

[0819]	Leu Cys Ser Leu Ser Pro Glu Glu Leu Ser Ser Val Pro Pro Ser Ser
[0820]	450 455 460
[0821]	Ile Trp Ala Val Arg Pro Gln Asp Leu Asp Thr Cys Asp Pro Arg Gln
[0822]	465 470 475 480
[0823]	Leu Asp Val Leu Tyr Pro Lys Ala Arg Leu Ala Phe Gln Asn Met Asn
[0824]	485 490 495
[0825]	Gly Ser Glu Tyr Phe Val Lys Ile Gln Ser Phe Leu Gly Gly Ala Pro
[0826]	500 505 510
[0827]	Thr Glu Asp Leu Lys Ala Leu Ser Gln Gln Asn Val Ser Met Asp Leu
[0828]	515 520 525
[0829]	Ala Thr Phe Met Lys Leu Arg Thr Asp Ala Val Leu Pro Leu Thr Val
[0830]	530 535 540
[0831]	Ala Glu Val Gln Lys Leu Leu Gly Pro His Val Glu Gly Leu Lys Ala
[0832]	545 550 555 560
[0833]	Glu Glu Arg His Arg Pro Val Arg Asp Trp Ile Leu Arg Gln Arg Gln
[0834]	565 570 575
[0835]	Asp Asp Leu Asp Thr Leu Gly Leu Gly Leu Gln Gly Gly Ile Pro Asn
[0836]	580 585 590
[0837]	Gly Tyr Leu Val Leu Asp Leu Ser Met Gln Glu Ala Leu Ser Gly Thr
[0838]	595 600 605
[0839]	Pro Cys Leu Leu Gly Pro Gly Pro Val Leu Thr Val Leu Ala Leu Leu
[0840]	610 615 620
[0841]	Leu Ala Ser Thr Leu Ala
[0842]	625 630
[0843]	<210> 57
[0844]	<211> 622
[0845]	<212> PRT
[0846]	<213> 人工序列
[0847]	<400> 57
[0848]	Met Ala Leu Pro Thr Ala Arg Pro Leu Leu Gly Ser Cys Gly Thr Pro
[0849]	1 5 10 15
[0850]	Ala Leu Gly Ser Leu Leu Phe Leu Leu Phe Ser Leu Gly Trp Val Gln
[0851]	20 25 30
[0852]	Pro Ser Arg Thr Leu Ala Gly Glu Thr Gly Gln Glu Ala Ala Pro Leu
[0853]	35 40 45
[0854]	Asp Gly Val Leu Ala Asn Pro Pro Asn Ile Ser Ser Leu Ser Pro Arg
[0855]	50 55 60
[0856]	Gln Leu Leu Gly Phe Pro Cys Ala Glu Val Ser Gly Leu Ser Thr Glu
[0857]	65 70 75 80

[0858]	Arg	Val	Arg	Glu	Leu	Ala	Val	Ala	Leu	Ala	Gln	Lys	Asn	Val	Lys	Leu
[0859]					85					90					95	
[0860]	Ser	Thr	Glu	Gln	Leu	Arg	Cys	Leu	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Glu	Pro	Pro
[0861]					100					105					110	
[0862]	Glu	Asp	Leu	Asp	Ala	Leu	Pro	Leu	Asp	Leu	Leu	Leu	Phe	Leu	Asn	Pro
[0863]					115					120					125	
[0864]	Asp	Ala	Phe	Ser	Gly	Pro	Gln	Ala	Cys	Thr	Arg	Phe	Phe	Ser	Arg	Ile
[0865]					130					135					140	
[0866]	Thr	Lys	Ala	Asn	Val	Asp	Leu	Leu	Pro	Arg	Gly	Ala	Pro	Glu	Arg	Gln
[0867]					145					150					155	
[0868]	Arg	Leu	Leu	Pro	Ala	Ala	Leu	Ala	Cys	Trp	Gly	Val	Arg	Gly	Ser	Leu
[0869]					165					170					175	
[0870]	Leu	Ser	Glu	Ala	Asp	Val	Arg	Ala	Leu	Gly	Gly	Leu	Ala	Cys	Asp	Leu
[0871]					180					185					190	
[0872]	Pro	Gly	Arg	Phe	Val	Ala	Glu	Ser	Ala	Glu	Val	Leu	Leu	Pro	Arg	Leu
[0873]					195					200					205	
[0874]	Val	Ser	Cys	Pro	Gly	Pro	Leu	Asp	Gln	Asp	Gln	Gln	Glu	Ala	Ala	Arg
[0875]					210					215					220	
[0876]	Ala	Ala	Leu	Gln	Gly	Gly	Gly	Pro	Pro	Tyr	Gly	Pro	Pro	Ser	Thr	Trp
[0877]					225					230					235	
[0878]	Ser	Val	Ser	Thr	Met	Asp	Ala	Leu	Arg	Gly	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Gly
[0879]					245					250					255	
[0880]	Gln	Pro	Ile	Ile	Arg	Ser	Ile	Pro	Gln	Gly	Ile	Val	Ala	Ala	Trp	Arg
[0881]					260					265					270	
[0882]	Gln	Arg	Ser	Ser	Arg	Asp	Pro	Ser	Trp	Arg	Gln	Pro	Glu	Arg	Thr	Ile
[0883]					275					280					285	
[0884]	Leu	Arg	Pro	Arg	Phe	Arg	Arg	Glu	Val	Glu	Lys	Thr	Ala	Cys	Pro	Ser
[0885]					290					295					300	
[0886]	Gly	Lys	Lys	Ala	Arg	Glu	Ile	Asp	Glu	Ser	Leu	Ile	Phe	Tyr	Lys	Lys
[0887]					305					310					315	
[0888]	Trp	Glu	Leu	Glu	Ala	Cys	Val	Asp	Ala	Ala	Leu	Leu	Ala	Thr	Gln	Met
[0889]					325					330					335	
[0890]	Asp	Arg	Val	Asn	Ala	Ile	Pro	Phe	Thr	Tyr	Glu	Gln	Leu	Asp	Val	Leu
[0891]					340					345					350	
[0892]	Lys	His	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Tyr	Pro	Gln	Gly	Tyr	Pro	Glu	Ser	Val
[0893]					355					360					365	
[0894]	Ile	Gln	His	Leu	Gly	Tyr	Leu	Phe	Leu	Lys	Met	Ser	Pro	Glu	Asp	Ile
[0895]					370					375					380	
[0896]	Arg	Lys	Trp	Asn	Val	Thr	Ser	Leu	Glu	Thr	Leu	Lys	Ala	Leu	Leu	Glu

[0897]	385	390	395	400
[0898]	Val Asn Lys Gly His Glu Met Ser Pro Gln Val Ala Thr Leu Ile Asp			
[0899]	405	410	415	
[0900]	Arg Phe Val Lys Gly Arg Gly Gln Leu Asp Lys Asp Thr Leu Asp Thr			
[0901]	420	425	430	
[0902]	Leu Thr Ala Phe Tyr Pro Gly Tyr Leu Cys Ser Leu Ser Pro Glu Glu			
[0903]	435	440	445	
[0904]	Leu Ser Ser Val Pro Pro Ser Ser Ile Trp Ala Val Arg Pro Gln Asp			
[0905]	450	455	460	
[0906]	Leu Asp Thr Cys Asp Pro Arg Gln Leu Asp Val Leu Tyr Pro Lys Ala			
[0907]	465	470	475	480
[0908]	Arg Leu Ala Phe Gln Asn Met Asn Gly Ser Glu Tyr Phe Val Lys Ile			
[0909]	485	490	495	
[0910]	Gln Ser Phe Leu Gly Gly Ala Pro Thr Glu Asp Leu Lys Ala Leu Ser			
[0911]	500	505	510	
[0912]	Gln Gln Asn Val Ser Met Asp Leu Ala Thr Phe Met Lys Leu Arg Thr			
[0913]	515	520	525	
[0914]	Asp Ala Val Leu Pro Leu Thr Val Ala Glu Val Gln Lys Leu Leu Gly			
[0915]	530	535	540	
[0916]	Pro His Val Glu Gly Leu Lys Ala Glu Glu Arg His Arg Pro Val Arg			
[0917]	545	550	555	560
[0918]	Asp Trp Ile Leu Arg Gln Arg Gln Asp Asp Leu Asp Thr Leu Gly Leu			
[0919]	565	570	575	
[0920]	Gly Leu Gln Gly Gly Ile Pro Asn Gly Tyr Leu Val Leu Asp Leu Ser			
[0921]	580	585	590	
[0922]	Met Gln Glu Ala Leu Ser Gly Thr Pro Cys Leu Leu Gly Pro Gly Pro			
[0923]	595	600	605	
[0924]	Val Leu Thr Val Leu Ala Leu Leu Leu Ala Ser Thr Leu Ala			
[0925]	610	615	620	
[0926]	<210> 58			
[0927]	<211> 656			
[0928]	<212> PRT			
[0929]	<213> 人工序列			
[0930]	<400> 58			
[0931]	Met Ala Leu Pro Thr Ala Arg Pro Leu Leu Gly Ser Cys Gly Thr Pro			
[0932]	1	5	10	15
[0933]	Ala Leu Gly Ser Leu Leu Phe Leu Leu Phe Ser Leu Gly Trp Val Gln			
[0934]	20	25	30	
[0935]	Pro Ser Arg Thr Leu Ala Gly Glu Thr Gly Gln Glu Ala Ala Pro Leu			

[0936]	35	40	45
[0937]	Asp Gly Val Leu Ala Asn Pro Pro Asn Ile Ser Ser Leu Ser Pro Arg		
[0938]	50	55	60
[0939]	Gln Leu Leu Gly Phe Pro Cys Ala Glu Val Ser Gly Leu Ser Thr Glu		
[0940]	65	70	75
[0941]	Arg Val Arg Glu Leu Ala Val Ala Leu Ala Gln Lys Asn Val Lys Leu		
[0942]	85	90	95
[0943]	Ser Thr Glu Gln Leu Arg Cys Leu Ala His Arg Leu Ser Glu Pro Pro		
[0944]	100	105	110
[0945]	Glu Asp Leu Asp Ala Leu Pro Leu Asp Leu Leu Leu Phe Leu Asn Pro		
[0946]	115	120	125
[0947]	Asp Ala Phe Ser Gly Pro Gln Ala Cys Thr Arg Phe Phe Ser Arg Ile		
[0948]	130	135	140
[0949]	Thr Lys Ala Asn Val Asp Leu Leu Pro Arg Gly Ala Pro Glu Arg Gln		
[0950]	145	150	155
[0951]	Arg Leu Leu Pro Ala Ala Leu Ala Cys Trp Gly Val Arg Gly Ser Leu		
[0952]	165	170	175
[0953]	Leu Ser Glu Ala Asp Val Arg Ala Leu Gly Gly Leu Ala Cys Asp Leu		
[0954]	180	185	190
[0955]	Pro Gly Arg Phe Val Ala Glu Ser Ala Glu Val Leu Leu Pro Arg Leu		
[0956]	195	200	205
[0957]	Val Ser Cys Pro Gly Pro Leu Asp Gln Asp Gln Gln Glu Ala Ala Arg		
[0958]	210	215	220
[0959]	Ala Ala Leu Gln Gly Gly Gly Pro Pro Tyr Gly Pro Pro Ser Thr Trp		
[0960]	225	230	235
[0961]	Ser Val Ser Thr Met Asp Ala Leu Arg Gly Leu Leu Pro Val Leu Gly		
[0962]	245	250	255
[0963]	Gln Pro Ile Ile Arg Ser Ile Pro Gln Gly Ile Val Ala Ala Trp Arg		
[0964]	260	265	270
[0965]	Gln Arg Ser Ser Arg Asp Pro Ser Trp Arg Gln Pro Glu Arg Thr Ile		
[0966]	275	280	285
[0967]	Leu Arg Pro Arg Phe Arg Arg Glu Val Glu Lys Thr Ala Cys Pro Ser		
[0968]	290	295	300
[0969]	Gly Lys Lys Ala Arg Glu Ile Asp Glu Ser Leu Ile Phe Tyr Lys Lys		
[0970]	305	310	315
[0971]	Trp Glu Leu Glu Ala Cys Val Asp Ala Ala Leu Leu Ala Thr Gln Met		
[0972]	325	330	335
[0973]	Asp Arg Val Asn Ala Ile Pro Phe Thr Tyr Glu Gln Leu Asp Val Leu		
[0974]	340	345	350

[0975]	Lys His Lys Leu Asp Glu Leu Tyr Pro Gln Gly Tyr Pro Glu Ser Val
[0976]	355 360 365
[0977]	Ile Gln His Leu Gly Tyr Leu Phe Leu Lys Met Ser Pro Glu Asp Ile
[0978]	370 375 380
[0979]	Arg Lys Trp Asn Val Thr Ser Leu Glu Thr Leu Lys Ala Leu Leu Glu
[0980]	385 390 395 400
[0981]	Val Asn Lys Gly His Glu Met Ser Pro Gln Val Ala Thr Leu Ile Asp
[0982]	405 410 415
[0983]	Arg Phe Val Lys Gly Arg Gly Gln Leu Asp Lys Asp Thr Leu Asp Thr
[0984]	420 425 430
[0985]	Leu Thr Ala Phe Tyr Pro Gly Tyr Leu Cys Ser Leu Ser Pro Glu Glu
[0986]	435 440 445
[0987]	Leu Ser Ser Val Pro Pro Ser Ser Ile Trp Ala Val Arg Pro Gln Asp
[0988]	450 455 460
[0989]	Leu Asp Thr Cys Asp Pro Arg Gln Leu Asp Val Leu Tyr Pro Lys Ala
[0990]	465 470 475 480
[0991]	Arg Leu Ala Phe Gln Asn Met Asn Gly Ser Glu Tyr Phe Val Lys Ile
[0992]	485 490 495
[0993]	Gln Ser Phe Leu Gly Gly Ala Pro Thr Glu Asp Leu Lys Ala Leu Ser
[0994]	500 505 510
[0995]	Gln Gln Asn Val Ser Met Asp Leu Ala Thr Phe Met Lys Leu Arg Thr
[0996]	515 520 525
[0997]	Asp Ala Val Leu Pro Leu Thr Val Ala Glu Val Gln Lys Leu Leu Gly
[0998]	530 535 540
[0999]	Pro His Val Glu Gly Leu Lys Ala Glu Glu Arg His Arg Pro Val Arg
[1000]	545 550 555 560
[1001]	Asp Trp Ile Leu Arg Gln Arg Gln Asp Asp Leu Asp Thr Leu Gly Leu
[1002]	565 570 575
[1003]	Gly Leu Gln Gly Gly Ile Pro Asn Gly Tyr Leu Val Leu Asp Leu Ser
[1004]	580 585 590
[1005]	Val Gln Gly Gly Arg Gly Gly Gln Ala Arg Ala Gly Gly Arg Ala Gly
[1006]	595 600 605
[1007]	Gly Val Glu Val Gly Ala Leu Ser His Pro Ser Leu Cys Arg Gly Pro
[1008]	610 615 620
[1009]	Leu Gly Asp Ala Leu Pro Pro Arg Thr Trp Thr Cys Ser His Arg Pro
[1010]	625 630 635 640
[1011]	Gly Thr Ala Pro Ser Leu His Pro Gly Leu Arg Ala Pro Leu Pro Cys
[1012]	645 650 655
[1013]	<210> 59

[1014]	<211>	621
[1015]	<212>	PRT
[1016]	<213>	人工序列
[1017]	<400>	59
[1018]	Met Ala Leu Pro Thr Ala Arg Pro Leu Leu Gly Ser Cys Gly Thr Pro	
[1019]	1	5 10 15
[1020]	Ala Leu Gly Ser Leu Leu Phe Leu Leu Phe Ser Leu Gly Trp Val Gln	
[1021]	20	25 30
[1022]	Pro Ser Arg Thr Leu Ala Gly Glu Thr Gly Gln Ala Ala Pro Leu Asp	
[1023]	35	40 45
[1024]	Gly Val Leu Ala Asn Pro Pro Asn Ile Ser Ser Leu Ser Pro Arg Gln	
[1025]	50	55 60
[1026]	Leu Leu Gly Phe Pro Cys Ala Glu Val Ser Gly Leu Ser Thr Glu Arg	
[1027]	65	70 75 80
[1028]	Val Arg Glu Leu Ala Val Ala Leu Ala Gln Lys Asn Val Lys Leu Ser	
[1029]	85	90 95
[1030]	Thr Glu Gln Leu Arg Cys Leu Ala His Arg Leu Ser Glu Pro Pro Glu	
[1031]	100	105 110
[1032]	Asp Leu Asp Ala Leu Pro Leu Asp Leu Leu Leu Phe Leu Asn Pro Asp	
[1033]	115	120 125
[1034]	Ala Phe Ser Gly Pro Gln Ala Cys Thr Arg Phe Phe Ser Arg Ile Thr	
[1035]	130	135 140
[1036]	Lys Ala Asn Val Asp Leu Leu Pro Arg Gly Ala Pro Glu Arg Gln Arg	
[1037]	145	150 155 160
[1038]	Leu Leu Pro Ala Ala Leu Ala Cys Trp Gly Val Arg Gly Ser Leu Leu	
[1039]	165	170 175
[1040]	Ser Glu Ala Asp Val Arg Ala Leu Gly Gly Leu Ala Cys Asp Leu Pro	
[1041]	180	185 190
[1042]	Gly Arg Phe Val Ala Glu Ser Ala Glu Val Leu Leu Pro Arg Leu Val	
[1043]	195	200 205
[1044]	Ser Cys Pro Gly Pro Leu Asp Gln Asp Gln Gln Glu Ala Ala Arg Ala	
[1045]	210	215 220
[1046]	Ala Leu Gln Gly Gly Gly Pro Pro Tyr Gly Pro Pro Ser Thr Trp Ser	
[1047]	225	230 235 240
[1048]	Val Ser Thr Met Asp Ala Leu Arg Gly Leu Leu Pro Val Leu Gly Gln	
[1049]	245	250 255
[1050]	Pro Ile Ile Arg Ser Ile Pro Gln Gly Ile Val Ala Ala Trp Arg Gln	
[1051]	260	265 270
[1052]	Arg Ser Ser Arg Asp Pro Ser Trp Arg Gln Pro Glu Arg Thr Ile Leu	

[1053]	275	280	285
[1054]	Arg Pro Arg Phe Arg Arg Glu Val Glu Lys Thr Ala Cys Pro Ser Gly		
[1055]	290	295	300
[1056]	Lys Lys Ala Arg Glu Ile Asp Glu Ser Leu Ile Phe Tyr Lys Lys Trp		
[1057]	305	310	315
[1058]	Glu Leu Glu Ala Cys Val Asp Ala Ala Leu Leu Ala Thr Gln Met Asp		
[1059]	325	330	335
[1060]	Arg Val Asn Ala Ile Pro Phe Thr Tyr Glu Gln Leu Asp Val Leu Lys		
[1061]	340	345	350
[1062]	His Lys Leu Asp Glu Leu Tyr Pro Gln Gly Tyr Pro Glu Ser Val Ile		
[1063]	355	360	365
[1064]	Gln His Leu Gly Tyr Leu Phe Leu Lys Met Ser Pro Glu Asp Ile Arg		
[1065]	370	375	380
[1066]	Lys Trp Asn Val Thr Ser Leu Glu Thr Leu Lys Ala Leu Leu Glu Val		
[1067]	385	390	395
[1068]	Asn Lys Gly His Glu Met Ser Pro Gln Val Ala Thr Leu Ile Asp Arg		
[1069]	405	410	415
[1070]	Phe Val Lys Gly Arg Gly Gln Leu Asp Lys Asp Thr Leu Asp Thr Leu		
[1071]	420	425	430
[1072]	Thr Ala Phe Tyr Pro Gly Tyr Leu Cys Ser Leu Ser Pro Glu Glu Leu		
[1073]	435	440	445
[1074]	Ser Ser Val Pro Pro Ser Ser Ile Trp Ala Val Arg Pro Gln Asp Leu		
[1075]	450	455	460
[1076]	Asp Thr Cys Asp Pro Arg Gln Leu Asp Val Leu Tyr Pro Lys Ala Arg		
[1077]	465	470	475
[1078]	Leu Ala Phe Gln Asn Met Asn Gly Ser Glu Tyr Phe Val Lys Ile Gln		
[1079]	485	490	495
[1080]	Ser Phe Leu Gly Gly Ala Pro Thr Glu Asp Leu Lys Ala Leu Ser Gln		
[1081]	500	505	510
[1082]	Gln Asn Val Ser Met Asp Leu Ala Thr Phe Met Lys Leu Arg Thr Asp		
[1083]	515	520	525
[1084]	Ala Val Leu Pro Leu Thr Val Ala Glu Val Gln Lys Leu Leu Gly Pro		
[1085]	530	535	540
[1086]	His Val Glu Gly Leu Lys Ala Glu Glu Arg His Arg Pro Val Arg Asp		
[1087]	545	550	555
[1088]	Trp Ile Leu Arg Gln Arg Gln Asp Asp Leu Asp Thr Leu Gly Leu Gly		
[1089]	565	570	575
[1090]	Leu Gln Gly Gly Ile Pro Asn Gly Tyr Leu Val Leu Asp Leu Ser Met		
[1091]	580	585	590

[1092]	Gln Glu Ala Leu Ser Gly Thr Pro Cys Leu Leu Gly Pro Gly Pro Val
[1093]	595 600 605
[1094]	Leu Thr Val Leu Ala Leu Leu Ala Ser Thr Leu Ala
[1095]	610 615 620
[1096]	<210> 60
[1097]	<211> 124
[1098]	<212> PRT
[1099]	<213> 人工序列
[1100]	<400> 60
[1101]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1102]	1 5 10 15
[1103]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ile Phe Ser Thr Tyr
[1104]	20 25 30
[1105]	Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
[1106]	35 40 45
[1107]	Ala Ser Ile Asn Arg Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1108]	50 55 60
[1109]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
[1110]	65 70 75 80
[1111]	Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1112]	85 90 95
[1113]	Ala Ala Asp Ser Asp Gly Ile Gly Trp Phe Asn Ser Phe Glu Tyr Asp
[1114]	100 105 110
[1115]	Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
[1116]	115 120
[1117]	<210> 61
[1118]	<211> 125
[1119]	<212> PRT
[1120]	<213> 人工序列
[1121]	<400> 61
[1122]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
[1123]	1 5 10 15
[1124]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ser Val Ser Leu Tyr
[1125]	20 25 30
[1126]	His Val Gly Trp Phe Arg His Thr Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
[1127]	35 40 45
[1128]	Ala Ala Thr Ala Trp His Asp Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
[1129]	50 55 60
[1130]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asn Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

[1131]	65	70	75	80
[1132]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[1133]	85	90	95	
[1134]	Ala Gly Glu Ala Lys Leu Gly Gly Ile Tyr Ser Arg Trp Arg Asp Tyr			
[1135]	100	105	110	
[1136]	Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser			
[1137]	115	120	125	
[1138]	<210> 62			
[1139]	<211> 124			
[1140]	<212> PRT			
[1141]	<213> 人工序列			
[1142]	<400> 62			
[1143]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly			
[1144]	1	5	10	15
[1145]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ile Tyr			
[1146]	20	25	30	
[1147]	Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val			
[1148]	35	40	45	
[1149]	Ala Ala Thr Asn Leu Arg Gly Val Ser Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val			
[1150]	50	55	60	
[1151]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Ser			
[1152]	65	70	75	80
[1153]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Ile Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[1154]	85	90	95	
[1155]	Ala Ala Ala Val Ser Asn Trp Leu Ala Lys Asp Pro Ser Ala Tyr Ser			
[1156]	100	105	110	
[1157]	Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser			
[1158]	115	120		
[1159]	<210> 63			
[1160]	<211> 124			
[1161]	<212> PRT			
[1162]	<213> 人工序列			
[1163]	<400> 63			
[1164]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
[1165]	1	5	10	15
[1166]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ile Phe Ser Thr Tyr			
[1167]	20	25	30	
[1168]	Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val			
[1169]	35	40	45	

[1170]	Ala Ser Ile Asn Arg Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1171]	50 55 60
[1172]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Lys Asn Met Gly Tyr
[1173]	65 70 75 80
[1174]	Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1175]	85 90 95
[1176]	Ala Ala Asp Ser Asp Gly Ile Gly Trp Phe Asn Ser Phe Glu Tyr Asp
[1177]	100 105 110
[1178]	Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
[1179]	115 120
[1180]	<210> 64
[1181]	<211> 124
[1182]	<212> PRT
[1183]	<213> 人工序列
[1184]	<400> 64
[1185]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1186]	1 5 10 15
[1187]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Pro Ile Phe Ser Thr Tyr
[1188]	20 25 30
[1189]	Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
[1190]	35 40 45
[1191]	Ala Ser Ile Asn Arg Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1192]	50 55 60
[1193]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
[1194]	65 70 75 80
[1195]	Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1196]	85 90 95
[1197]	Ala Ala Asp Ser Asp Gly Ile Gly Trp Phe Asn Ser Phe Glu Tyr Asp
[1198]	100 105 110
[1199]	Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
[1200]	115 120
[1201]	<210> 65
[1202]	<211> 125
[1203]	<212> PRT
[1204]	<213> 人工序列
[1205]	<400> 65
[1206]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
[1207]	1 5 10 15
[1208]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ser Val Ser Leu Tyr

[1209]		20		25		30											
[1210]	His	Val	Gly	Trp	Phe	Arg	His	Thr	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Phe	Val	
[1211]		35		40		45											
[1212]	Ala	Ala	Thr	Ala	Trp	His	Asp	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	
[1213]		50		55		60											
[1214]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asn	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	
[1215]	65			70		75										80	
[1216]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
[1217]				85		90									95		
[1218]	Ala	Gly	Glu	Ala	Lys	Leu	Gly	Gly	Ile	Tyr	Ser	Arg	Trp	Arg	Asp	Tyr	
[1219]				100		105									110		
[1220]	Glu	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser				
[1221]				115		120									125		
[1222]	<210>	66															
[1223]	<211>	123															
[1224]	<212>	PRT															
[1225]	<213>	人工序列															
[1226]	<400>	66															
[1227]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Ala	Gly	Gly	
[1228]	1			5		10									15		
[1229]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Arg	Ser	Val	Ser	Leu	Tyr	
[1230]				20		25									30		
[1231]	His	Val	Gly	Trp	Phe	Arg	His	Thr	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Phe	Val	
[1232]		35		40		45											
[1233]	Ala	Ala	Thr	Ala	Trp	His	Asp	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	
[1234]		50		55		60											
[1235]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Ser	Ala	Lys	Asn	Thr	Val	Phe	
[1236]	65			70		75										80	
[1237]	Leu	Gln	Met	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
[1238]				85		90									95		
[1239]	Ala	Ala	Asp	Pro	Gly	Gly	Ser	Ser	Trp	Ser	Gln	Pro	Trp	Tyr	Asp	Tyr	
[1240]				100		105									110		
[1241]	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser						
[1242]				115		120											
[1243]	<210>	67															
[1244]	<211>	116															
[1245]	<212>	PRT															
[1246]	<213>	人工序列															
[1247]	<400>	67															

[1248]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1249]	1 5 10 15
[1250]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn
[1251]	20 25 30
[1252]	Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val
[1253]	35 40 45
[1254]	Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[1255]	50 55 60
[1256]	Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr Leu Val Leu
[1257]	65 70 75 80
[1258]	Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr
[1259]	85 90 95
[1260]	Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
[1261]	100 105 110
[1262]	Thr Val Ser Ser
[1263]	115
[1264]	<210> 68
[1265]	<211> 122
[1266]	<212> PRT
[1267]	<213> 人工序列
[1268]	<400> 68
[1269]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
[1270]	1 5 10 15
[1271]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asn Asp
[1272]	20 25 30
[1273]	Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Val Phe Val
[1274]	35 40 45
[1275]	Ala Thr Ile Ser Trp Lys Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[1276]	50 55 60
[1277]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp His Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
[1278]	65 70 75 80
[1279]	Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
[1280]	85 90 95
[1281]	Ala Asp Pro Tyr Gly Leu Gly Phe Asn Pro Ser Asp Tyr Asp Tyr Trp
[1282]	100 105 110
[1283]	Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
[1284]	115 120
[1285]	<210> 69
[1286]	<211> 8

[1287]	<212>	PRT
[1288]	<213>	人工序列
[1289]	<400>	69
[1290]	Gly Arg Ile Phe Ser Thr Tyr Ala	
[1291]	1	5
[1292]	<210>	70
[1293]	<211>	8
[1294]	<212>	PRT
[1295]	<213>	人工序列
[1296]	<400>	70
[1297]	Ile Asn Arg Ser Gly Asp Ser Thr	
[1298]	1	5
[1299]	<210>	71
[1300]	<211>	17
[1301]	<212>	PRT
[1302]	<213>	人工序列
[1303]	<400>	71
[1304]	Ala Ala Asp Ser Asp Gly Ile Gly Trp Phe Asn Ser Phe Glu Tyr Asp	
[1305]	1	5 10 15
[1306]	Tyr	
[1307]	<210>	72
[1308]	<211>	8
[1309]	<212>	PRT
[1310]	<213>	人工序列
[1311]	<400>	72
[1312]	Gly Arg Ser Val Ser Leu Tyr His	
[1313]	1	5
[1314]	<210>	73
[1315]	<211>	8
[1316]	<212>	PRT
[1317]	<213>	人工序列
[1318]	<400>	73
[1319]	Thr Ala Trp His Asp Gly Ser Thr	
[1320]	1	5
[1321]	<210>	74
[1322]	<211>	18
[1323]	<212>	PRT
[1324]	<213>	人工序列
[1325]	<400>	74

[1326]	Ala Gly Glu Ala Lys Leu Gly Gly Ile Tyr Ser Arg Trp Arg Asp Tyr
[1327]	1 5 10 15
[1328]	Glu Tyr
[1329]	<210> 75
[1330]	<211> 8
[1331]	<212> PRT
[1332]	<213> 人工序列
[1333]	<400> 75
[1334]	Gly Arg Thr Phe Ser Ile Tyr Asp
[1335]	1 5
[1336]	<210> 76
[1337]	<211> 8
[1338]	<212> PRT
[1339]	<213> 人工序列
[1340]	<400> 76
[1341]	Thr Asn Leu Arg Gly Val Ser Thr
[1342]	1 5
[1343]	<210> 77
[1344]	<211> 16
[1345]	<212> PRT
[1346]	<213> 人工序列
[1347]	<400> 77
[1348]	Ala Ala Ala Val Ser Asn Trp Leu Ala Lys Asp Pro Ser Ala Tyr Ser
[1349]	1 5 10 15
[1350]	<210> 78
[1351]	<211> 8
[1352]	<212> PRT
[1353]	<213> 人工序列
[1354]	<400> 78
[1355]	Gly Arg Ile Phe Ser Thr Tyr Ala
[1356]	1 5
[1357]	<210> 79
[1358]	<211> 8
[1359]	<212> PRT
[1360]	<213> 人工序列
[1361]	<400> 79
[1362]	Ile Asn Arg Ser Gly Asp Ser Thr
[1363]	1 5
[1364]	<210> 80

[1365]	<211>	17
[1366]	<212>	PRT
[1367]	<213>	人工序列
[1368]	<400>	80
[1369]	Ala Ala Asp Ser Asp Gly Ile Gly Trp Phe Asn Ser Phe Glu Tyr Asp	
[1370]	1	5 10 15
[1371]	Tyr	
[1372]	<210>	81
[1373]	<211>	8
[1374]	<212>	PRT
[1375]	<213>	人工序列
[1376]	<400>	81
[1377]	Gly Pro Ile Phe Ser Thr Tyr Ala	
[1378]	1	5
[1379]	<210>	82
[1380]	<211>	8
[1381]	<212>	PRT
[1382]	<213>	人工序列
[1383]	<400>	82
[1384]	Ile Asn Arg Ser Gly Asp Ser Thr	
[1385]	1	5
[1386]	<210>	83
[1387]	<211>	17
[1388]	<212>	PRT
[1389]	<213>	人工序列
[1390]	<400>	83
[1391]	Ala Ala Asp Ser Asp Gly Ile Gly Trp Phe Asn Ser Phe Glu Tyr Asp	
[1392]	1	5 10 15
[1393]	Tyr	
[1394]	<210>	84
[1395]	<211>	8
[1396]	<212>	PRT
[1397]	<213>	人工序列
[1398]	<400>	84
[1399]	Gly Arg Ser Val Ser Leu Tyr His	
[1400]	1	5
[1401]	<210>	85
[1402]	<211>	8
[1403]	<212>	PRT

[1404]	<213>	人工序列
[1405]	<400>	85
[1406]	Thr Ala Trp His Asp Gly Ser Thr	
[1407]	1	5
[1408]	<210>	86
[1409]	<211>	17
[1410]	<212>	PRT
[1411]	<213>	人工序列
[1412]	<400>	86
[1413]	Ala Gly Glu Ala Lys Leu Gly Gly Ile Tyr Ser Arg Trp Arg Asp Tyr	
[1414]	1	5 10 15
[1415]	Glu	
[1416]	<210>	87
[1417]	<211>	8
[1418]	<212>	PRT
[1419]	<213>	人工序列
[1420]	<400>	87
[1421]	Gly Arg Ser Val Ser Leu Tyr His	
[1422]	1	5
[1423]	<210>	88
[1424]	<211>	8
[1425]	<212>	PRT
[1426]	<213>	人工序列
[1427]	<400>	88
[1428]	Thr Ala Trp His Asp Gly Ser Thr	
[1429]	1	5
[1430]	<210>	89
[1431]	<211>	15
[1432]	<212>	PRT
[1433]	<213>	人工序列
[1434]	<400>	89
[1435]	Ala Ala Asp Pro Gly Gly Ser Ser Trp Ser Gln Pro Trp Tyr Asp	
[1436]	1	5 10 15
[1437]	<210>	90
[1438]	<211>	8
[1439]	<212>	PRT
[1440]	<213>	人工序列
[1441]	<400>	90
[1442]	Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn Thr	

[illegible]

[1482]	<213>	Homo sapiens
[1483]	<400>	96
[1484]	Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser Val Leu	
[1485]	1	5 10 15
[1486]	Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile Gly Ser	
[1487]	20	25 30
[1488]	Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His Ile Cys Asp	
[1489]	35	40 45
[1490]	Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys Leu Arg	
[1491]	50	55 60
[1492]	Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu His Leu Leu	
[1493]	65	70 75 80
[1494]	Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr Gly Gln Val	
[1495]	85	90 95
[1496]	Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro Thr Lys Ser	
[1497]	100	105 110
[1498]	Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn Asp Leu	
[1499]	115	120 125
[1500]	Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys Trp Asn Lys	
[1501]	130	135 140
[1502]	Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His	
[1503]	145	150
[1504]	<210>	97
[1505]	<211>	177
[1506]	<212>	PRT
[1507]	<213>	Homo sapiens
[1508]	<400>	97
[1509]	Met Phe His Val Ser Phe Arg Tyr Ile Phe Gly Leu Pro Pro Leu Ile	
[1510]	1	5 10 15
[1511]	Leu Val Leu Leu Pro Val Ala Ser Ser Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys	
[1512]	20	25 30
[1513]	Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser Val Leu Met Val Ser Ile Asp Gln Leu	
[1514]	35	40 45
[1515]	Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile Gly Ser Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe	
[1516]	50	55 60
[1517]	Asn Phe Phe Lys Arg His Ile Cys Asp Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe	
[1518]	65	70 75 80
[1519]	Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys Leu Arg Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser	
[1520]	85	90 95

[1521]	Thr Gly Asp Phe Asp Leu His Leu Leu Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr
[1522]	100 105 110
[1523]	Ile Leu Leu Asn Cys Thr Gly Gln Val Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala
[1524]	115 120 125
[1525]	Leu Gly Glu Ala Gln Pro Thr Lys Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu
[1526]	130 135 140
[1527]	Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu
[1528]	145 150 155 160
[1529]	Gln Glu Ile Lys Thr Cys Trp Asn Lys Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu
[1530]	165 170 175
[1531]	His
[1532]	<210> 98
[1533]	<211> 152
[1534]	<212> PRT
[1535]	<213> Homo sapiens
[1536]	<400> 98
[1537]	Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser Val Leu
[1538]	1 5 10 15
[1539]	Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile Gly Ser
[1540]	20 25 30
[1541]	Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His Ile Cys Asp
[1542]	35 40 45
[1543]	Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys Leu Arg
[1544]	50 55 60
[1545]	Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu His Leu Leu
[1546]	65 70 75 80
[1547]	Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr Gly Gln Val
[1548]	85 90 95
[1549]	Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro Thr Lys Ser
[1550]	100 105 110
[1551]	Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn Asp Leu
[1552]	115 120 125
[1553]	Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys Trp Asn Lys
[1554]	130 135 140
[1555]	Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His
[1556]	145 150
[1557]	<210> 99
[1558]	<211> 114
[1559]	<212> PRT

[1560]	<213>	Homo sapiens
[1561]	<400>	99
[1562]	Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile	
[1563]	1	5 10 15
[1564]	Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His	
[1565]		20 25 30
[1566]	Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln	
[1567]		35 40 45
[1568]	Val Ile Ser His Glu Ser Gly Asp Thr Asp Ile His Asp Thr Val Glu	
[1569]		50 55 60
[1570]	Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ile Leu Ser Ser Asn Gly Asn Ile	
[1571]	65	70 75 80
[1572]	Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile	
[1573]		85 90 95
[1574]	Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn	
[1575]		100 105 110
[1576]	Thr Ser	
[1577]	<210>	100
[1578]	<211>	162
[1579]	<212>	PRT
[1580]	<213>	Homo sapiens
[1581]	<400>	100
[1582]	Met Arg Ile Ser Lys Pro His Leu Arg Ser Ile Ser Ile Gln Cys Tyr	
[1583]	1	5 10 15
[1584]	Leu Cys Leu Leu Leu Asn Ser His Phe Leu Thr Glu Ala Gly Ile His	
[1585]		20 25 30
[1586]	Val Phe Ile Leu Gly Cys Phe Ser Ala Gly Leu Pro Lys Thr Glu Ala	
[1587]		35 40 45
[1588]	Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile	
[1589]		50 55 60
[1590]	Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His	
[1591]	65	70 75 80
[1592]	Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln	
[1593]		85 90 95
[1594]	Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu	
[1595]		100 105 110
[1596]	Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val	
[1597]		115 120 125
[1598]	Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile	

[1599]	130	135	140
[1600]	Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn		
[1601]	145	150	155
[1602]	Thr Ser		
[1603]	<210> 101		
[1604]	<211> 267		
[1605]	<212> PRT		
[1606]	<213> Homo sapiens		
[1607]	<400> 101		
[1608]	Met Ala Pro Arg Arg Ala Arg Gly Cys Arg Thr Leu Gly Leu Pro Ala		
[1609]	1	5	10
[1610]	Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Arg Pro Pro Ala Thr Arg Gly Ile Thr		
[1611]	20	25	30
[1612]	Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser		
[1613]	35	40	45
[1614]	Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys		
[1615]	50	55	60
[1616]	Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala		
[1617]	65	70	75
[1618]	Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp		
[1619]	85	90	95
[1620]	Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val Thr Thr		
[1621]	100	105	110
[1622]	Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly Lys Glu		
[1623]	115	120	125
[1624]	Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr Thr Ala		
[1625]	130	135	140
[1626]	Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro Ser Thr		
[1627]	145	150	155
[1628]	Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr Pro Ser		
[1629]	165	170	175
[1630]	Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser His Gln		
[1631]	180	185	190
[1632]	Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr Val Ala Ile		
[1633]	195	200	205
[1634]	Ser Thr Ser Thr Val Leu Leu Cys Gly Leu Ser Ala Val Ser Leu Leu		
[1635]	210	215	220
[1636]	Ala Cys Tyr Leu Lys Ser Arg Gln Thr Pro Pro Leu Ala Ser Val Glu		
[1637]	225	230	235
			240

[1638]	Met	Glu	Ala	Met	Glu	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Trp	Gly	Thr	Ser	Ser	Arg
[1639]					245					250					255	
[1640]	Asp	Glu	Asp	Leu	Glu	Asn	Cys	Ser	His	His	Leu					
[1641]					260					265						
[1642]	<210>	102														
[1643]	<211>	237														
[1644]	<212>	PRT														
[1645]	<213>	Homo sapiens														
[1646]	<400>	102														
[1647]	Ile	Thr	Cys	Pro	Pro	Pro	Met	Ser	Val	Glu	His	Ala	Asp	Ile	Trp	Val
[1648]	1				5					10					15	
[1649]	Lys	Ser	Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ser	Arg	Glu	Arg	Tyr	Ile	Cys	Asn	Ser	Gly
[1650]					20					25					30	
[1651]	Phe	Lys	Arg	Lys	Ala	Gly	Thr	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn
[1652]					35					40					45	
[1653]	Lys	Ala	Thr	Asn	Val	Ala	His	Trp	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile
[1654]		50						55							60	
[1655]	Arg	Asp	Pro	Ala	Leu	Val	His	Gln	Arg	Pro	Ala	Pro	Pro	Ser	Thr	Val
[1656]	65					70					75					80
[1657]	Thr	Thr	Ala	Gly	Val	Thr	Pro	Gln	Pro	Glu	Ser	Leu	Ser	Pro	Ser	Gly
[1658]					85					90						95
[1659]	Lys	Glu	Pro	Ala	Ala	Ser	Ser	Pro	Ser	Ser	Asn	Asn	Thr	Ala	Ala	Thr
[1660]					100					105					110	
[1661]	Thr	Ala	Ala	Ile	Val	Pro	Gly	Ser	Gln	Leu	Met	Pro	Ser	Lys	Ser	Pro
[1662]					115					120					125	
[1663]	Ser	Thr	Gly	Thr	Thr	Glu	Ile	Ser	Ser	His	Glu	Ser	Ser	His	Gly	Thr
[1664]		130								135					140	
[1665]	Pro	Ser	Gln	Thr	Thr	Ala	Lys	Asn	Trp	Glu	Leu	Thr	Ala	Ser	Ala	Ser
[1666]	145					150					155					160
[1667]	His	Gln	Pro	Pro	Gly	Val	Tyr	Pro	Gln	Gly	His	Ser	Asp	Thr	Thr	Val
[1668]					165					170						175
[1669]	Ala	Ile	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Leu	Leu	Cys	Gly	Leu	Ser	Ala	Val	Ser
[1670]					180					185					190	
[1671]	Leu	Leu	Ala	Cys	Tyr	Leu	Lys	Ser	Arg	Gln	Thr	Pro	Pro	Leu	Ala	Ser
[1672]					195					200					205	
[1673]	Val	Glu	Met	Glu	Ala	Met	Glu	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Trp	Gly	Thr	Ser
[1674]		210							215					220		
[1675]	Ser	Arg	Asp	Glu	Asp	Leu	Glu	Asn	Cys	Ser	His	His	Leu			
[1676]	225					230								235		

[1677]	<210>	103
[1678]	<211>	65
[1679]	<212>	PRT
[1680]	<213>	Homo sapiens
[1681]	<400>	103
[1682]	Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val	
[1683]	1 5 10 15	
[1684]	Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly	
[1685]	20 25 30	
[1686]	Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn	
[1687]	35 40 45	
[1688]	Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile	
[1689]	50 55 60	
[1690]	Arg	
[1691]	65	
[1692]	<210>	104
[1693]	<211>	77
[1694]	<212>	PRT
[1695]	<213>	Homo sapiens
[1696]	<400>	104
[1697]	Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val	
[1698]	1 5 10 15	
[1699]	Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly	
[1700]	20 25 30	
[1701]	Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn	
[1702]	35 40 45	
[1703]	Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile	
[1704]	50 55 60	
[1705]	Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro	
[1706]	65 70 75	
[1707]	<210>	105
[1708]	<211>	234
[1709]	<212>	PRT
[1710]	<213>	Homo sapiens
[1711]	<400>	105
[1712]	Met Ala Pro Arg Arg Ala Arg Gly Cys Arg Thr Leu Gly Leu Pro Ala	
[1713]	1 5 10 15	
[1714]	Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Arg Pro Pro Ala Thr Arg Gly Ile Thr	
[1715]	20 25 30	

[1716]	Cys	Pro	Pro	Pro	Met	Ser	Val	Glu	His	Ala	Asp	Ile	Trp	Val	Lys	Ser
[1717]				35				40					45			
[1718]	Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ser	Arg	Glu	Arg	Tyr	Ile	Cys	Asn	Ser	Gly	Phe	Lys
[1719]			50				55				60					
[1720]	Arg	Lys	Ala	Gly	Thr	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn	Lys	Ala
[1721]	65					70				75					80	
[1722]	Thr	Asn	Val	Ala	His	Trp	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile	Lys	Pro
[1723]					85				90						95	
[1724]	Ala	Ala	Ser	Ser	Pro	Ser	Ser	Asn	Asn	Thr	Ala	Ala	Thr	Thr	Ala	Ala
[1725]				100				105					110			
[1726]	Ile	Val	Pro	Gly	Ser	Gln	Leu	Met	Pro	Ser	Lys	Ser	Pro	Ser	Thr	Gly
[1727]			115				120					125				
[1728]	Thr	Thr	Glu	Ile	Ser	Ser	His	Glu	Ser	Ser	His	Gly	Thr	Pro	Ser	Gln
[1729]		130					135					140				
[1730]	Thr	Thr	Ala	Lys	Asn	Trp	Glu	Leu	Thr	Ala	Ser	Ala	Ser	His	Gln	Pro
[1731]	145					150				155					160	
[1732]	Pro	Gly	Val	Tyr	Pro	Gln	Gly	His	Ser	Asp	Thr	Thr	Val	Ala	Ile	Ser
[1733]					165				170						175	
[1734]	Thr	Ser	Thr	Val	Leu	Leu	Cys	Gly	Leu	Ser	Ala	Val	Ser	Leu	Leu	Ala
[1735]				180				185					190			
[1736]	Cys	Tyr	Leu	Lys	Ser	Arg	Gln	Thr	Pro	Pro	Leu	Ala	Ser	Val	Glu	Met
[1737]			195				200				205					
[1738]	Glu	Ala	Met	Glu	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Trp	Gly	Thr	Ser	Ser	Arg	Asp
[1739]		210				215				220						
[1740]	Glu	Asp	Leu	Glu	Asn	Cys	Ser	His	His	Leu						
[1741]	225					230										
[1742]	<210>	106														
[1743]	<211>	252														
[1744]	<212>	PRT														
[1745]	<213>	Homo sapiens														
[1746]	<400>	106														
[1747]	Met	Ala	Pro	Arg	Arg	Ala	Arg	Gly	Cys	Arg	Thr	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala
[1748]	1			5				10					15			
[1749]	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Arg	Pro	Pro	Ala	Thr	Arg	Gly	Ile	Thr
[1750]				20				25				30				
[1751]	Cys	Pro	Pro	Pro	Met	Ser	Val	Glu	His	Ala	Asp	Ile	Trp	Val	Lys	Ser
[1752]				35				40				45				
[1753]	Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ser	Arg	Glu	Arg	Tyr	Ile	Cys	Asn	Ser	Gly	Phe	Lys
[1754]		50					55				60					

[1755]	Arg	Lys	Ala	Gly	Thr	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn	Lys	Ala
[1756]	65					70					75					80
[1757]	Thr	Asn	Val	Ala	His	Trp	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile	Arg	Asp
[1758]					85					90						95
[1759]	Pro	Ala	Leu	Val	His	Gln	Arg	Pro	Ala	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Thr	Thr
[1760]				100					105					110		
[1761]	Ala	Gly	Val	Thr	Pro	Gln	Pro	Glu	Ser	Leu	Ser	Pro	Ser	Gly	Lys	Glu
[1762]			115					120					125			
[1763]	Pro	Ala	Ala	Ser	Ser	Pro	Ser	Ser	Asn	Asn	Thr	Ala	Ala	Thr	Thr	Ala
[1764]		130					135					140				
[1765]	Ala	Ile	Val	Pro	Gly	Ser	Gln	Leu	Met	Pro	Ser	Lys	Ser	Pro	Ser	Thr
[1766]	145					150					155					160
[1767]	Gly	Thr	Thr	Glu	Ile	Ser	Ser	His	Glu	Ser	Ser	His	Gly	Thr	Pro	Ser
[1768]				165					170						175	
[1769]	Gln	Thr	Thr	Ala	Lys	Asn	Trp	Glu	Leu	Thr	Ala	Ser	Ala	Ser	His	Gln
[1770]			180						185					190		
[1771]	Pro	Pro	Gly	Val	Tyr	Pro	Gln	Gly	His	Ser	Asp	Thr	Thr	Val	Ala	Ile
[1772]			195				200						205			
[1773]	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Leu	Leu	Cys	Gly	Leu	Ser	Ala	Val	Ser	Leu	Leu
[1774]		210					215					220				
[1775]	Ala	Cys	Tyr	Leu	Lys	Ser	Arg	Ala	Ser	Val	Cys	Ser	Cys	His	Pro	Arg
[1776]	225					230					235					240
[1777]	Ser	Ala	Gly	His	Thr	Cys	Ser	Val	Gly	Ser	Val	Cys				
[1778]				245					250							
[1779]	<210>	107														
[1780]	<211>	219														
[1781]	<212>	PRT														
[1782]	<213>	Homo sapiens														
[1783]	<400>	107														
[1784]	Met	Ala	Pro	Arg	Arg	Ala	Arg	Gly	Cys	Arg	Thr	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala
[1785]	1			5					10						15	
[1786]	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Arg	Pro	Pro	Ala	Thr	Arg	Gly	Ile	Thr
[1787]			20					25					30			
[1788]	Cys	Pro	Pro	Pro	Met	Ser	Val	Glu	His	Ala	Asp	Ile	Trp	Val	Lys	Ser
[1789]			35					40				45				
[1790]	Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ser	Arg	Glu	Arg	Tyr	Ile	Cys	Asn	Ser	Gly	Phe	Lys
[1791]		50					55				60					
[1792]	Arg	Lys	Ala	Gly	Thr	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn	Lys	Ala
[1793]	65					70					75					80

[1794]	Thr	Asn	Val	Ala	His	Trp	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile	Lys	Pro
[1795]					85					90					95	
[1796]	Ala	Ala	Ser	Ser	Pro	Ser	Ser	Asn	Asn	Thr	Ala	Ala	Thr	Thr	Ala	Ala
[1797]					100				105						110	
[1798]	Ile	Val	Pro	Gly	Ser	Gln	Leu	Met	Pro	Ser	Lys	Ser	Pro	Ser	Thr	Gly
[1799]					115				120					125		
[1800]	Thr	Thr	Glu	Ile	Ser	Ser	His	Glu	Ser	Ser	His	Gly	Thr	Pro	Ser	Gln
[1801]					130				135					140		
[1802]	Thr	Thr	Ala	Lys	Asn	Trp	Glu	Leu	Thr	Ala	Ser	Ala	Ser	His	Gln	Pro
[1803]	145						150				155					160
[1804]	Pro	Gly	Val	Tyr	Pro	Gln	Gly	His	Ser	Asp	Thr	Thr	Val	Ala	Ile	Ser
[1805]					165					170						175
[1806]	Thr	Ser	Thr	Val	Leu	Leu	Cys	Gly	Leu	Ser	Ala	Val	Ser	Leu	Leu	Ala
[1807]					180					185					190	
[1808]	Cys	Tyr	Leu	Lys	Ser	Arg	Ala	Ser	Val	Cys	Ser	Cys	His	Pro	Arg	Ser
[1809]					195				200					205		
[1810]	Ala	Gly	His	Thr	Cys	Ser	Val	Gly	Ser	Val	Cys					
[1811]					210				215							
[1812]	<210>				108											
[1813]	<211>				231											
[1814]	<212>				PRT											
[1815]	<213>				Homo sapiens											
[1816]	<400>				108											
[1817]	Met	Ser	Val	Glu	His	Ala	Asp	Ile	Trp	Val	Lys	Ser	Tyr	Ser	Leu	Tyr
[1818]	1				5					10					15	
[1819]	Ser	Arg	Glu	Arg	Tyr	Ile	Cys	Asn	Ser	Gly	Phe	Lys	Arg	Lys	Ala	Gly
[1820]					20					25					30	
[1821]	Thr	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn	Lys	Ala	Thr	Asn	Val	Ala
[1822]					35				40					45		
[1823]	His	Trp	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile	Arg	Asp	Pro	Ala	Leu	Val
[1824]					50				55					60		
[1825]	His	Gln	Arg	Pro	Ala	Pro	Pro	Ser	Thr	Val	Thr	Thr	Ala	Gly	Val	Thr
[1826]	65						70					75				80
[1827]	Pro	Gln	Pro	Glu	Ser	Leu	Ser	Pro	Ser	Gly	Lys	Glu	Pro	Ala	Ala	Ser
[1828]					85					90					95	
[1829]	Ser	Pro	Ser	Ser	Asn	Asn	Thr	Ala	Ala	Thr	Thr	Ala	Ala	Ile	Val	Pro
[1830]					100					105					110	
[1831]	Gly	Ser	Gln	Leu	Met	Pro	Ser	Lys	Ser	Pro	Ser	Thr	Gly	Thr	Thr	Glu
[1832]					115					120					125	

[1833]	Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr Pro Ser Gln Thr Thr Ala
[1834]	130 135 140
[1835]	Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser His Gln Pro Pro Gly Val
[1836]	145 150 155 160
[1837]	Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr Val Ala Ile Ser Thr Ser Thr
[1838]	165 170 175
[1839]	Val Leu Leu Cys Gly Leu Ser Ala Val Ser Leu Leu Ala Cys Tyr Leu
[1840]	180 185 190
[1841]	Lys Ser Arg Gln Thr Pro Pro Leu Ala Ser Val Glu Met Glu Ala Met
[1842]	195 200 205
[1843]	Glu Ala Leu Pro Val Thr Trp Gly Thr Ser Ser Arg Asp Glu Asp Leu
[1844]	210 215 220
[1845]	Glu Asn Cys Ser His His Leu
[1846]	225 230
[1847]	<210> 109
[1848]	<211> 270
[1849]	<212> PRT
[1850]	<213> Homo sapiens
[1851]	<400> 109
[1852]	Met Lys Pro Lys Met Lys Tyr Ser Thr Asn Lys Ile Ser Thr Ala Lys
[1853]	1 5 10 15
[1854]	Trp Lys Asn Thr Ala Ser Lys Ala Leu Cys Phe Lys Leu Gly Lys Ser
[1855]	20 25 30
[1856]	Gln Gln Lys Ala Lys Glu Val Cys Pro Met Tyr Phe Met Lys Leu Arg
[1857]	35 40 45
[1858]	Ser Gly Leu Met Ile Lys Lys Glu Ala Cys Tyr Phe Arg Arg Glu Thr
[1859]	50 55 60
[1860]	Thr Lys Arg Pro Ser Leu Lys Thr Gly Arg Lys His Lys Arg His Leu
[1861]	65 70 75 80
[1862]	Val Leu Ala Ala Cys Gln Gln Gln Ser Thr Val Glu Cys Phe Ala Phe
[1863]	85 90 95
[1864]	Gly Ile Ser Gly Val Gln Lys Tyr Thr Arg Ala Leu His Asp Ser Ser
[1865]	100 105 110
[1866]	Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Thr
[1867]	115 120 125
[1868]	Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr Glu
[1869]	130 135 140
[1870]	Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys Val Leu
[1871]	145 150 155 160

[1872]	Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly Asp Gly
[1873]	165 170 175
[1874]	Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp Phe
[1875]	180 185 190
[1876]	Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys Cys
[1877]	195 200 205
[1878]	Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Met His
[1879]	210 215 220
[1880]	Ser Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe Ile
[1881]	225 230 235 240
[1882]	Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser Ser Glu
[1883]	245 250 255
[1884]	Asn Leu Cys Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr
[1885]	260 265 270
[1886]	<210> 110
[1887]	<211> 179
[1888]	<212> PRT
[1889]	<213> Homo sapiens
[1890]	<400> 110
[1891]	Met Ala Ala Leu Gln Lys Ser Val Ser Ser Phe Leu Met Gly Thr Leu
[1892]	1 5 10 15
[1893]	Ala Thr Ser Cys Leu Leu Leu Leu Ala Leu Leu Val Gln Gly Gly Ala
[1894]	20 25 30
[1895]	Ala Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln
[1896]	35 40 45
[1897]	Gln Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser
[1898]	50 55 60
[1899]	Leu Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe
[1900]	65 70 75 80
[1901]	His Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu
[1902]	85 90 95
[1903]	Asn Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln
[1904]	100 105 110
[1905]	Pro Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Ala Arg Leu Ser Asn Arg
[1906]	115 120 125
[1907]	Leu Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn
[1908]	130 135 140
[1909]	Val Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu
[1910]	145 150 155 160

[1911]	Ile Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn
[1912]	165 170 175
[1913]	Ala Cys Ile
[1914]	<210> 111
[1915]	<211> 146
[1916]	<212> PRT
[1917]	<213> Homo sapiens
[1918]	<400> 111
[1919]	Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
[1920]	1 5 10 15
[1921]	Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
[1922]	20 25 30
[1923]	Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
[1924]	35 40 45
[1925]	Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
[1926]	50 55 60
[1927]	Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
[1928]	65 70 75 80
[1929]	Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Ala Arg Leu Ser Asn Arg Leu
[1930]	85 90 95
[1931]	Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
[1932]	100 105 110
[1933]	Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
[1934]	115 120 125
[1935]	Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
[1936]	130 135 140
[1937]	Cys Ile
[1938]	145
[1939]	<210> 112
[1940]	<211> 26
[1941]	<212> PRT
[1942]	<213> 人工序列
[1943]	<400> 112
[1944]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1945]	1 5 10 15
[1946]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
[1947]	20 25
[1948]	<210> 113
[1949]	<211> 25

[1950]	<212>	PRT															
[1951]	<213>	人工序列															
[1952]	<400>	113															
[1953]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
[1954]	1				5					10					15		
[1955]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ser	Ala	Ser								
[1956]				20					25								
[1957]	<210>	114															
[1958]	<211>	25															
[1959]	<212>	PRT															
[1960]	<213>	人工序列															
[1961]	<400>	114															
[1962]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
[1963]	1				5					10					15		
[1964]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser								
[1965]				20					25								
[1966]	<210>	115															
[1967]	<211>	17															
[1968]	<212>	PRT															
[1969]	<213>	人工序列															
[1970]	<400>	115															
[1971]	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	
[1972]	1				5					10					15		
[1973]	Ala																
[1974]	<210>	116															
[1975]	<211>	17															
[1976]	<212>	PRT															
[1977]	<213>	人工序列															
[1978]	<400>	116															
[1979]	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Tyr	Val	Ser	
[1980]	1				5					10					15		
[1981]	Ala																
[1982]	<210>	117															
[1983]	<211>	17															
[1984]	<212>	PRT															
[1985]	<213>	人工序列															
[1986]	<400>	117															
[1987]	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	
[1988]	1				5					10					15		

[1989]	Val															
[1990]	<210>	118														
[1991]	<211>	39														
[1992]	<212>	PRT														
[1993]	<213>	人工序列														
[1994]	<400>	118														
[1995]	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn
[1996]	1				5					10					15	
[1997]	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp
[1998]				20					25					30		
[1999]	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala									
[2000]			35													
[2001]	<210>	119														
[2002]	<211>	33														
[2003]	<212>	PRT														
[2004]	<213>	人工序列														
[2005]	<400>	119														
[2006]	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn
[2007]	1				5					10					15	
[2008]	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp
[2009]				20					25					30		
[2010]	Thr															
[2011]	<210>	120														
[2012]	<211>	252														
[2013]	<212>	PRT														
[2014]	<213>	人工序列														
[2015]	<400>	120														
[2016]	Gln	Gly	Pro	Asp	Arg	Leu	Leu	Ile	Arg	Leu	Arg	His	Leu	Ile	Asp	Ile
[2017]	1				5					10					15	
[2018]	Val	Glu	Gln	Leu	Lys	Ile	Tyr	Glu	Asn	Asp	Leu	Asp	Pro	Glu	Leu	Leu
[2019]				20					25					30		
[2020]	Ser	Ala	Pro	Gln	Asp	Val	Lys	Gly	His	Cys	Glu	His	Ala	Ala	Phe	Ala
[2021]			35					40					45			
[2022]	Cys	Phe	Gln	Lys	Ala	Lys	Leu	Lys	Pro	Ser	Asn	Pro	Gly	Asn	Asn	Lys
[2023]		50					55					60				
[2024]	Thr	Phe	Ile	Ile	Asp	Leu	Val	Ala	Gln	Leu	Arg	Arg	Arg	Leu	Pro	Ala
[2025]	65					70				75						80
[2026]	Arg	Arg	Gly	Gly	Lys	Lys	Gln	Lys	His	Ile	Ala	Lys	Cys	Pro	Ser	Cys
[2027]					85				90						95	

[2028]	Asp Ser Tyr Glu Lys Arg Thr Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Leu Lys
[2029]	100 105 110
[2030]	Trp Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Leu Ser Gly Ser Gly Gly
[2031]	115 120 125
[2032]	Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
[2033]	130 135 140
[2034]	Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
[2035]	145 150 155 160
[2036]	Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala
[2037]	165 170 175
[2038]	Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser
[2039]	180 185 190
[2040]	Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp
[2041]	195 200 205
[2042]	Asn Ala Glu Asn Thr Leu Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
[2043]	210 215 220
[2044]	Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro
[2045]	225 230 235 240
[2046]	Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
[2047]	245 250
[2048]	<210> 121
[2049]	<211> 261
[2050]	<212> PRT
[2051]	<213> 人工序列
[2052]	<400> 121
[2053]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile
[2054]	1 5 10 15
[2055]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu
[2056]	20 25 30
[2057]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser
[2058]	35 40 45
[2059]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu
[2060]	50 55 60
[2061]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser
[2062]	65 70 75 80
[2063]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys
[2064]	85 90 95
[2065]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys
[2066]	100 105 110

[2067]	Ser	Leu	Leu	Gln	Lys	Met	Ile	His	Gln	His	Leu	Ser	Ser	Arg	Thr	His
[2068]				115					120					125		
[2069]	Gly	Ser	Glu	Asp	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser
[2070]			130					135						140		
[2071]	Gly	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly
[2072]	145						150					155				160
[2073]	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Trp	Ser	Ile
[2074]					165					170					175	
[2075]	Asn	Thr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Asp	Leu
[2076]				180					185					190		
[2077]	Val	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	His	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
[2078]				195				200						205		
[2079]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Val	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Glu	Asn	Thr	Leu	Val
[2080]		210						215				220				
[2081]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[2082]	225					230					235					240
[2083]	Tyr	Ala	Gln	Ser	Thr	Trp	Tyr	Pro	Pro	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln
[2084]					245					250					255	
[2085]	Val	Thr	Val	Ser	Ser											
[2086]				260												
[2087]	<210>	122														
[2088]	<211>	355														
[2089]	<212>	PRT														
[2090]	<213>	人工序列														
[2091]	<400>	122														
[2092]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[2093]	1			5					10					15		
[2094]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Trp	Ser	Ile	Asn
[2095]			20						25					30		
[2096]	Thr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Asp	Leu	Val
[2097]		35					40						45			
[2098]	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	His	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
[2099]		50					55					60				
[2100]	Gly	Arg	Phe	Thr	Val	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Glu	Asn	Thr	Leu	Val	Leu
[2101]	65					70				75						80
[2102]	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Tyr
[2103]				85					90					95		
[2104]	Ala	Gln	Ser	Thr	Trp	Tyr	Pro	Pro	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val
[2105]			100						105					110		

[2106]	Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
[2107]	115	120	125
[2108]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser		
[2109]	130	135	140
[2110]	Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg		
[2111]	145	150	155
[2112]	Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser		
[2113]	165	170	175
[2114]	Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp		
[2115]	180	185	190
[2116]	Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln		
[2117]	195	200	205
[2118]	Arg Pro Ala Pro Pro Arg Arg Lys Arg Ala Pro Val Lys Gln Thr Leu		
[2119]	210	215	220
[2120]	Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly		
[2121]	225	230	235
[2122]	Pro Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu		
[2123]	245	250	255
[2124]	Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val		
[2125]	260	265	270
[2126]	His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu		
[2127]	275	280	285
[2128]	Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val		
[2129]	290	295	300
[2130]	Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn		
[2131]	305	310	315
[2132]	Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn		
[2133]	325	330	335
[2134]	Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile		
[2135]	340	345	350
[2136]	Asn Thr Ser		
[2137]	355		
[2138]	<210>	123	
[2139]	<211>	114	
[2140]	<212>	PRT	
[2141]	<213>	人工序列	
[2142]	<400>	123	
[2143]	Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile		
[2144]	1	5	10
			15

[2145]	Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
[2146]	20 25 30
[2147]	Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
[2148]	35 40 45
[2149]	Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
[2150]	50 55 60
[2151]	Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
[2152]	65 70 75 80
[2153]	Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
[2154]	85 90 95
[2155]	Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
[2156]	100 105 110
[2157]	Thr Ser
[2158]	<210> 124
[2159]	<211> 201
[2160]	<212> PRT
[2161]	<213> 人工序列
[2162]	<400> 124
[2163]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2164]	1 5 10 15
[2165]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn
[2166]	20 25 30
[2167]	Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val
[2168]	35 40 45
[2169]	Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[2170]	50 55 60
[2171]	Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr Leu Val Leu
[2172]	65 70 75 80
[2173]	Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr
[2174]	85 90 95
[2175]	Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
[2176]	100 105 110
[2177]	Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[2178]	115 120 125
[2179]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser
[2180]	130 135 140
[2181]	Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg
[2182]	145 150 155 160
[2183]	Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser

[2184]	165							170							175		
[2185]	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn	Lys	Ala	Thr	Asn	Val	Ala	His	Trp	
[2186]	180							185							190		
[2187]	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile	Arg								
[2188]	195							200									
[2189]	<210>	125															
[2190]	<211>	213															
[2191]	<212>	PRT															
[2192]	<213>	人工序列															
[2193]	<400>	125															
[2194]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
[2195]	1	5			10							15					
[2196]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Trp	Ser	Ile	Asn	
[2197]	20				25							30					
[2198]	Thr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Asp	Leu	Val	
[2199]	35				40							45					
[2200]	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	His	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	
[2201]	50			55							60						
[2202]	Gly	Arg	Phe	Thr	Val	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Glu	Asn	Thr	Leu	Val	Leu	
[2203]	65	70				75							80				
[2204]	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Tyr	
[2205]	85				90							95					
[2206]	Ala	Gln	Ser	Thr	Trp	Tyr	Pro	Pro	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	
[2207]	100				105							110					
[2208]	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	
[2209]	115				120							125					
[2210]	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Thr	Cys	Pro	Pro	Pro	Met	Ser	
[2211]	130			135							140						
[2212]	Val	Glu	His	Ala	Asp	Ile	Trp	Val	Lys	Ser	Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ser	Arg	
[2213]	145	150				155							160				
[2214]	Glu	Arg	Tyr	Ile	Cys	Asn	Ser	Gly	Phe	Lys	Arg	Lys	Ala	Gly	Thr	Ser	
[2215]	165				170							175					
[2216]	Ser	Leu	Thr	Glu	Cys	Val	Leu	Asn	Lys	Ala	Thr	Asn	Val	Ala	His	Trp	
[2217]	180				185							190					
[2218]	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Cys	Ile	Arg	Asp	Pro	Ala	Leu	Val	His	Gln	
[2219]	195				200							205					
[2220]	Arg	Pro	Ala	Pro	Pro												
[2221]	210																
[2222]	<210>	126															

[2223]	<211>	122
[2224]	<212>	PRT
[2225]	<213>	Homo sapiens
[2226]	<400>	126
[2227]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile	
[2228]	1	5 10 15
[2229]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu	
[2230]	20	25 30
[2231]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser	
[2232]	35	40 45
[2233]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu	
[2234]	50	55 60
[2235]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser	
[2236]	65	70 75 80
[2237]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys	
[2238]	85	90 95
[2239]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys	
[2240]	100	105 110
[2241]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His	
[2242]	115	120
[2243]	<210>	127
[2244]	<211>	65
[2245]	<212>	PRT
[2246]	<213>	人工序列
[2247]	<400>	127
[2248]	Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val	
[2249]	1	5 10 15
[2250]	Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly	
[2251]	20	25 30
[2252]	Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn	
[2253]	35	40 45
[2254]	Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile	
[2255]	50	55 60
[2256]	Arg	
[2257]	65	
[2258]	<210>	128
[2259]	<211>	77
[2260]	<212>	PRT
[2261]	<213>	人工序列

[2262]	<400>	128
[2263]	Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val	
[2264]	1	5 10 15
[2265]	Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly	
[2266]		20 25 30
[2267]	Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn	
[2268]		35 40 45
[2269]	Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile	
[2270]		50 55 60
[2271]	Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro	
[2272]	65	70 75
[2273]	<210>	129
[2274]	<211>	260
[2275]	<212>	PRT
[2276]	<213>	人工序列
[2277]	<400>	129
[2278]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile	
[2279]	1	5 10 15
[2280]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu	
[2281]		20 25 30
[2282]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser	
[2283]		35 40 45
[2284]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu	
[2285]		50 55 60
[2286]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser	
[2287]	65	70 75 80
[2288]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys	
[2289]		85 90 95
[2290]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys	
[2291]		100 105 110
[2292]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Ala Glu Ala Ala Ala Lys	
[2293]		115 120 125
[2294]	Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala	
[2295]		130 135 140
[2296]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[2297]	145	150 155 160
[2298]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn	
[2299]		165 170 175
[2300]	Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val	

[2301]	180							185					190						
[2302]	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	His	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys			
[2303]	195							200					205						
[2304]	Gly	Arg	Phe	Thr	Val	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Glu	Asn	Thr	Leu	Val	Leu			
[2305]	210							215					220						
[2306]	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Tyr			
[2307]	225							230					235					240	
[2308]	Ala	Gln	Ser	Thr	Trp	Tyr	Pro	Pro	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val			
[2309]	245							250					255						
[2310]	Thr	Val	Ser	Ser															
[2311]	260																		
[2312]	<210>	130																	
[2313]	<211>	247																	
[2314]	<212>	PRT																	
[2315]	<213>	人工序列																	
[2316]	<400>	130																	
[2317]	Gln	Gly	Gln	Asp	Arg	His	Met	Ile	Arg	Met	Arg	Gln	Leu	Ile	Asp	Ile			
[2318]	1	5							10					15					
[2319]	Val	Asp	Gln	Leu	Lys	Asn	Tyr	Val	Asn	Asp	Leu	Val	Pro	Glu	Phe	Leu			
[2320]	20							25					30						
[2321]	Pro	Ala	Pro	Glu	Asp	Val	Glu	Thr	Asn	Cys	Glu	Trp	Ser	Ala	Phe	Ser			
[2322]	35							40					45						
[2323]	Cys	Phe	Gln	Lys	Ala	Gln	Leu	Lys	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly	Asn	Asn	Glu			
[2324]	50							55					60						
[2325]	Arg	Ile	Ile	Asn	Val	Ser	Ile	Lys	Lys	Leu	Lys	Arg	Lys	Pro	Pro	Ser			
[2326]	65							70					75					80	
[2327]	Thr	Asn	Ala	Gly	Arg	Arg	Gln	Lys	His	Arg	Leu	Thr	Cys	Pro	Ser	Cys			
[2328]	85							90					95						
[2329]	Asp	Ser	Tyr	Glu	Lys	Lys	Pro	Pro	Lys	Glu	Phe	Leu	Glu	Arg	Phe	Lys			
[2330]	100							105					110						
[2331]	Ser	Leu	Leu	Gln	Lys	Met	Ile	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly			
[2332]	115							120					125						
[2333]	Gly	Ser	Gly	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln			
[2334]	130							135					140						
[2335]	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Trp			
[2336]	145							150					155					160	
[2337]	Ser	Ile	Asn	Thr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg			
[2338]	165							170					175						
[2339]	Asp	Leu	Val	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	His	Tyr	Ala	Asp			

[2340]	180							185							190						
[2341]	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Val	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Glu	Asn	Thr					
[2342]	195							200							205						
[2343]	Leu	Val	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr					
[2344]	210							215							220						
[2345]	Tyr	Cys	Tyr	Ala	Gln	Ser	Thr	Trp	Tyr	Pro	Pro	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly					
[2346]	225					230					235					240					
[2347]	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser														
[2348]	245																				
[2349]	<210>	131																			
[2350]	<211>	248																			
[2351]	<212>	PRT																			
[2352]	<213>	人工序列																			
[2353]	<400>	131																			
[2354]	Gln	Gly	Gln	Asp	Arg	His	Met	Ile	Arg	Met	Arg	Gln	Leu	Ile	Asp	Ile					
[2355]	1	5				10					15										
[2356]	Val	Asp	Gln	Leu	Lys	Asn	Tyr	Val	Asn	Asp	Leu	Val	Pro	Glu	Phe	Leu					
[2357]	20				25					30											
[2358]	Pro	Ala	Pro	Glu	Asp	Val	Glu	Thr	Asn	Cys	Glu	Trp	Ser	Ala	Phe	Ser					
[2359]	35				40					45											
[2360]	Cys	Phe	Gln	Lys	Ala	Gln	Leu	Lys	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly	Asn	Asn	Glu					
[2361]	50			55					60												
[2362]	Arg	Ile	Ile	Asn	Val	Ser	Ile	Lys	Lys	Leu	Lys	Arg	Lys	Pro	Pro	Ser					
[2363]	65		70				75					80									
[2364]	Thr	Asn	Ala	Gly	Arg	Arg	Gln	Lys	His	Arg	Leu	Thr	Cys	Pro	Ser	Cys					
[2365]	85				90					95											
[2366]	Asp	Ser	Tyr	Glu	Lys	Lys	Pro	Pro	Lys	Glu	Phe	Leu	Glu	Arg	Phe	Lys					
[2367]	100				105					110											
[2368]	Ser	Leu	Leu	Gln	Lys	Met	Ile	His	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser					
[2369]	115				120					125											
[2370]	Gly	Gly	Ser	Gly	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val					
[2371]	130			135					140												
[2372]	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr					
[2373]	145		150				155					160									
[2374]	Trp	Ser	Ile	Asn	Thr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln					
[2375]	165				170					175											
[2376]	Arg	Asp	Leu	Val	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	His	Tyr	Ala					
[2377]	180				185					190											
[2378]	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Val	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Glu	Asn					

[2379]	195	200	205
[2380]	Thr Leu Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val		
[2381]	210	215	220
[2382]	Tyr Tyr Cys Tyr Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln		
[2383]	225	230	235
[2384]	Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser		240
[2385]	245		
[2386]	<210> 132		
[2387]	<211> 260		
[2388]	<212> PRT		
[2389]	<213> 人工序列		
[2390]	<400> 132		
[2391]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile		
[2392]	1	5	10
[2393]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu		15
[2394]	20	25	30
[2395]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser		
[2396]	35	40	45
[2397]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu		
[2398]	50	55	60
[2399]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser		
[2400]	65	70	75
[2401]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys		80
[2402]	85	90	95
[2403]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys		
[2404]	100	105	110
[2405]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Ala Glu Ala Ala Ala Lys		
[2406]	115	120	125
[2407]	Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala		
[2408]	130	135	140
[2409]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[2410]	145	150	155
[2411]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn		160
[2412]	165	170	175
[2413]	Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val		
[2414]	180	185	190
[2415]	Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
[2416]	195	200	205
[2417]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		

[2418]	210	215	220
[2419]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr		
[2420]	225	230	235
[2421]	Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		240
[2422]		245	250
[2423]	Thr Val Ser Ser		255
[2424]		260	
[2425]	<210> 133		
[2426]	<211> 260		
[2427]	<212> PRT		
[2428]	<213> 人工序列		
[2429]	<400> 133		
[2430]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly		
[2431]	1	5	10
[2432]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Arg Gly Phe		15
[2433]		20	25
[2434]	Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		30
[2435]		35	40
[2436]	Ser Ser Ile Asn Asn Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		45
[2437]	50	55	60
[2438]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
[2439]	65	70	75
[2440]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		80
[2441]		85	90
[2442]	Ala Ile Gly Gly Pro Gly Ala Ser Pro Ser Gly Gln Gly Thr Gln Val		95
[2443]		100	105
[2444]	Thr Val Ser Ser Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu		110
[2445]		115	120
[2446]	Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Gln Gly Gln Asp Arg His		125
[2447]	130	135	140
[2448]	Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile Val Asp Gln Leu Lys Asn		
[2449]	145	150	155
[2450]	Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu Pro Ala Pro Glu Asp Val		160
[2451]		165	170
[2452]	Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser Cys Phe Gln Lys Ala Gln		175
[2453]		180	185
[2454]	Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu Arg Ile Ile Asn Val Ser		190
[2455]		195	200
[2456]	Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser Thr Asn Ala Gly Arg Arg		205

[2457]	210	215	220
[2458]	Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys Asp Ser Tyr Glu Lys Lys		
[2459]	225	230	235 240
[2460]	Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys Ser Leu Leu Gln Lys Met		
[2461]	245	250	255
[2462]	Ile His Gln His		
[2463]	260		
[2464]	<210> 134		
[2465]	<211> 261		
[2466]	<212> PRT		
[2467]	<213> 人工序列		
[2468]	<400> 134		
[2469]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile		
[2470]	1 5 10 15		
[2471]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu		
[2472]	20 25 30		
[2473]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser		
[2474]	35 40 45		
[2475]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu		
[2476]	50 55 60		
[2477]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser		
[2478]	65 70 75 80		
[2479]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys		
[2480]	85 90 95		
[2481]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys		
[2482]	100 105 110		
[2483]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Leu Ser Ser Arg Thr His		
[2484]	115 120 125		
[2485]	Gly Ser Glu Asp Ser Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser		
[2486]	130 135 140		
[2487]	Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly		
[2488]	145 150 155 160		
[2489]	Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile		
[2490]	165 170 175		
[2491]	Asn Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu		
[2492]	180 185 190		
[2493]	Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[2494]	195 200 205		
[2495]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		

[2496]	210	215	220
[2497]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[2498]	225	230	235
[2499]	Tyr Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu		240
[2500]		245	250
[2501]	Val Thr Val Ser Ser		255
[2502]		260	
[2503]	<210> 135		
[2504]	<211> 271		
[2505]	<212> PRT		
[2506]	<213> 人工序列		
[2507]	<400> 135		
[2508]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile		
[2509]	1	5	10
[2510]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu		15
[2511]		20	25
[2512]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser		30
[2513]		35	40
[2514]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu		45
[2515]	50	55	60
[2516]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser		
[2517]	65	70	75
[2518]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys		80
[2519]		85	90
[2520]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys		95
[2521]		100	105
[2522]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Leu Ser Ser Arg Thr His		110
[2523]		115	120
[2524]	Gly Ser Glu Asp Ser Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys		125
[2525]	130	135	140
[2526]	Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Glu Val Gln Leu Val		
[2527]	145	150	155
[2528]	Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser		160
[2529]		165	170
[2530]	Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn Thr Leu Ala Trp Tyr		175
[2531]		180	185
[2532]	Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser		190
[2533]		195	200
[2534]	Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile		205

[2535]	210	215	220
[2536]	Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu		
[2537]	225	230	235
[2538]	Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr Ala Gln Ser Thr Trp		
[2539]	245	250	255
[2540]	Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[2541]	260	265	270
[2542]	<210> 136		
[2543]	<211> 260		
[2544]	<212> PRT		
[2545]	<213> 人工序列		
[2546]	<400> 136		
[2547]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile		
[2548]	1	5	10
[2549]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu		
[2550]	20	25	30
[2551]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser		
[2552]	35	40	45
[2553]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu		
[2554]	50	55	60
[2555]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser		
[2556]	65	70	75
[2557]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys		
[2558]	85	90	95
[2559]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys		
[2560]	100	105	110
[2561]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Ala Glu Ala Ala Ala Lys		
[2562]	115	120	125
[2563]	Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala		
[2564]	130	135	140
[2565]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly		
[2566]	145	150	155
[2567]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Arg Gly Phe		
[2568]	165	170	175
[2569]	Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Phe Glu Trp Val		
[2570]	180	185	190
[2571]	Ser Ser Ile Asn Asn Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[2572]	195	200	205
[2573]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		

[2574]	210	215	220
[2575]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[2576]	225	230	235
[2577]	Ala Ile Gly Gly Pro Gly Ala Ser Pro Ser Gly Gln Gly Thr Gln Val		
[2578]		245	250
[2579]	Thr Val Ser Ser		
[2580]		260	
[2581]	<210> 137		
[2582]	<211> 250		
[2583]	<212> PRT		
[2584]	<213> 人工序列		
[2585]	<400> 137		
[2586]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile		
[2587]	1	5	10
[2588]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu		
[2589]		20	25
[2590]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser		
[2591]		35	40
[2592]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu		
[2593]		50	55
[2594]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser		
[2595]	65	70	75
[2596]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys		
[2597]		85	90
[2598]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys		
[2599]		100	105
[2600]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Gly Ser Gly Gly Ser Gly		
[2601]		115	120
[2602]	Gly Ser Gly Gly Ser Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly		
[2603]		130	135
[2604]	Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly		
[2605]	145	150	155
[2606]	Ser Thr Trp Ser Ile Asn Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly		
[2607]		165	170
[2608]	Lys Gln Arg Asp Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr		
[2609]		180	185
[2610]	Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser		
[2611]		195	200
[2612]	Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr		

[2613]	210	215	220
[2614]	Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp		
[2615]	225	230	235
[2616]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[2617]	245	250	
[2618]	<210> 138		
[2619]	<211> 253		
[2620]	<212> PRT		
[2621]	<213> 人工序列		
[2622]	<400> 138		
[2623]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile		
[2624]	1	5	10
[2625]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu		
[2626]	20	25	30
[2627]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser		
[2628]	35	40	45
[2629]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu		
[2630]	50	55	60
[2631]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser		
[2632]	65	70	75
[2633]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys		
[2634]	85	90	95
[2635]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys		
[2636]	100	105	110
[2637]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[2638]	115	120	125
[2639]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser		
[2640]	130	135	140
[2641]	Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala		
[2642]	145	150	155
[2643]	Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln		
[2644]	165	170	175
[2645]	Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly		
[2646]	180	185	190
[2647]	Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg		
[2648]	195	200	205
[2649]	Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala		
[2650]	210	215	220
[2651]	Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro		

[2652]	225	230	235	240
[2653]	Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[2654]		245	250	
[2655]	<210> 139			
[2656]	<211> 238			
[2657]	<212> PRT			
[2658]	<213> 人工序列			
[2659]	<400> 139			
[2660]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile			
[2661]	1	5	10	15
[2662]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu			
[2663]		20	25	30
[2664]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser			
[2665]		35	40	45
[2666]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu			
[2667]		50	55	60
[2668]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser			
[2669]	65	70	75	80
[2670]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys			
[2671]		85	90	95
[2672]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys			
[2673]		100	105	110
[2674]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Glu Val Gln Leu Val Glu			
[2675]		115	120	125
[2676]	Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys			
[2677]		130	135	140
[2678]	Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn Thr Leu Ala Trp Tyr Arg			
[2679]	145	150	155	160
[2680]	Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly			
[2681]		165	170	175
[2682]	Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser			
[2683]		180	185	190
[2684]	Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg			
[2685]		195	200	205
[2686]	Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr Ala Gln Ser Thr Trp Tyr			
[2687]		210	215	220
[2688]	Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[2689]	225	230	235	
[2690]	<210> 140			

[2691]	<211>	249
[2692]	<212>	PRT
[2693]	<213>	人工序列
[2694]	<400>	140
[2695]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile	
[2696]	1	5 10 15
[2697]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu	
[2698]	20	25 30
[2699]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser	
[2700]	35	40 45
[2701]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu	
[2702]	50	55 60
[2703]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser	
[2704]	65	70 75 80
[2705]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys	
[2706]	85	90 95
[2707]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys	
[2708]	100	105 110
[2709]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Leu Ser Ser Arg Thr His	
[2710]	115	120 125
[2711]	Gly Ser Glu Asp Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu	
[2712]	130	135 140
[2713]	Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser	
[2714]	145	150 155 160
[2715]	Thr Trp Ser Ile Asn Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys	
[2716]	165	170 175
[2717]	Gln Arg Asp Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr	
[2718]	180	185 190
[2719]	Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys	
[2720]	195	200 205
[2721]	Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala	
[2722]	210	215 220
[2723]	Val Tyr Tyr Cys Tyr Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly	
[2724]	225	230 235 240
[2725]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[2726]	245	
[2727]	<210>	141
[2728]	<211>	246
[2729]	<212>	PRT

[2730]	<213>	人工序列
[2731]	<400>	141
[2732]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile	
[2733]	1	5 10 15
[2734]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu	
[2735]	20	25 30
[2736]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser	
[2737]	35	40 45
[2738]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu	
[2739]	50	55 60
[2740]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser	
[2741]	65	70 75 80
[2742]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys	
[2743]	85	90 95
[2744]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys	
[2745]	100	105 110
[2746]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Ile Lys Arg Thr Val Ala	
[2747]	115	120 125
[2748]	Ala Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro	
[2749]	130	135 140
[2750]	Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser	
[2751]	145	150 155 160
[2752]	Ile Asn Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp	
[2753]	165	170 175
[2754]	Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser	
[2755]	180	185 190
[2756]	Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu	
[2757]	195	200 205
[2758]	Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr	
[2759]	210	215 220
[2760]	Cys Tyr Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr	
[2761]	225	230 235 240
[2762]	Leu Val Thr Val Ser Ser	
[2763]	245	
[2764]	<210>	142
[2765]	<211>	246
[2766]	<212>	PRT
[2767]	<213>	人工序列
[2768]	<400>	142

[2769]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile
[2770]	1 5 10 15
[2771]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu
[2772]	20 25 30
[2773]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser
[2774]	35 40 45
[2775]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu
[2776]	50 55 60
[2777]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser
[2778]	65 70 75 80
[2779]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys
[2780]	85 90 95
[2781]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys
[2782]	100 105 110
[2783]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Ala Ser Thr Lys Gly Pro
[2784]	115 120 125
[2785]	Ser Val Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
[2786]	130 135 140
[2787]	Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser
[2788]	145 150 155 160
[2789]	Ile Asn Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp
[2790]	165 170 175
[2791]	Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[2792]	180 185 190
[2793]	Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
[2794]	195 200 205
[2795]	Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
[2796]	210 215 220
[2797]	Cys Tyr Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr
[2798]	225 230 235 240
[2799]	Leu Val Thr Val Ser Ser
[2800]	245
[2801]	<210> 143
[2802]	<211> 271
[2803]	<212> PRT
[2804]	<213> 人工序列
[2805]	<400> 143
[2806]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2807]	1 5 10 15

[2808]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Trp	Ser	Ile	Asn
[2809]				20					25					30		
[2810]	Thr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Asp	Leu	Val
[2811]			35					40					45			
[2812]	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
[2813]		50					55					60				
[2814]	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu
[2815]	65					70					75				80	
[2816]	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Tyr
[2817]				85						90					95	
[2818]	Ala	Gln	Ser	Thr	Trp	Tyr	Pro	Pro	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
[2819]				100					105					110		
[2820]	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu
[2821]				115					120					125		
[2822]	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Ala	Gln	Gly	Gln	Asp	Arg	His
[2823]		130					135					140				
[2824]	Met	Ile	Arg	Met	Arg	Gln	Leu	Ile	Asp	Ile	Val	Asp	Gln	Leu	Lys	Asn
[2825]	145					150					155				160	
[2826]	Tyr	Val	Asn	Asp	Leu	Val	Pro	Glu	Phe	Leu	Pro	Ala	Pro	Glu	Asp	Val
[2827]				165					170					175		
[2828]	Glu	Thr	Asn	Cys	Glu	Trp	Ser	Ala	Phe	Ser	Cys	Phe	Gln	Lys	Ala	Gln
[2829]				180					185					190		
[2830]	Leu	Lys	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly	Asn	Asn	Glu	Arg	Ile	Ile	Asn	Val	Ser
[2831]			195					200					205			
[2832]	Ile	Lys	Lys	Leu	Lys	Arg	Lys	Pro	Pro	Ser	Thr	Asn	Ala	Gly	Arg	Arg
[2833]		210					215					220				
[2834]	Gln	Lys	His	Arg	Leu	Thr	Cys	Pro	Ser	Cys	Asp	Ser	Tyr	Glu	Lys	Lys
[2835]	225					230					235				240	
[2836]	Pro	Pro	Lys	Glu	Phe	Leu	Glu	Arg	Phe	Lys	Ser	Leu	Leu	Gln	Lys	Met
[2837]				245					250					255		
[2838]	Ile	His	Gln	His	Leu	Ser	Ser	Arg	Thr	His	Gly	Ser	Glu	Asp	Ser	
[2839]				260					265					270		
[2840]	<210>	144														
[2841]	<211>	264														
[2842]	<212>	PRT														
[2843]	<213>	人工序列														
[2844]	<400>	144														
[2845]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[2846]	1				5					10					15	

[2847]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn
[2848]	20 25 30
[2849]	Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val
[2850]	35 40 45
[2851]	Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[2852]	50 55 60
[2853]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
[2854]	65 70 75 80
[2855]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr
[2856]	85 90 95
[2857]	Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
[2858]	100 105 110
[2859]	Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[2860]	115 120 125
[2861]	Gly Gly Ser Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu
[2862]	130 135 140
[2863]	Ile Asp Ile Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro
[2864]	145 150 155 160
[2865]	Glu Phe Leu Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser
[2866]	165 170 175
[2867]	Ala Phe Ser Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly
[2868]	180 185 190
[2869]	Asn Asn Glu Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys
[2870]	195 200 205
[2871]	Pro Pro Ser Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys
[2872]	210 215 220
[2873]	Pro Ser Cys Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu
[2874]	225 230 235 240
[2875]	Arg Phe Lys Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Leu Ser Ser
[2876]	245 250 255
[2877]	Arg Thr His Gly Ser Glu Asp Ser
[2878]	260
[2879]	<210> 145
[2880]	<211> 249
[2881]	<212> PRT
[2882]	<213> 人工序列
[2883]	<400> 145
[2884]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2885]	1 5 10 15

[2886]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Trp	Ser	Ile	Asn
[2887]				20					25					30		
[2888]	Thr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Asp	Leu	Val
[2889]			35					40					45			
[2890]	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
[2891]		50					55					60				
[2892]	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu
[2893]	65					70					75				80	
[2894]	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Tyr
[2895]				85					90					95		
[2896]	Ala	Gln	Ser	Thr	Trp	Tyr	Pro	Pro	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
[2897]				100					105					110		
[2898]	Thr	Val	Ser	Ser	Gln	Gly	Gln	Asp	Arg	His	Met	Ile	Arg	Met	Arg	Gln
[2899]				115				120					125			
[2900]	Leu	Ile	Asp	Ile	Val	Asp	Gln	Leu	Lys	Asn	Tyr	Val	Asn	Asp	Leu	Val
[2901]		130					135					140				
[2902]	Pro	Glu	Phe	Leu	Pro	Ala	Pro	Glu	Asp	Val	Glu	Thr	Asn	Cys	Glu	Trp
[2903]	145					150					155				160	
[2904]	Ser	Ala	Phe	Ser	Cys	Phe	Gln	Lys	Ala	Gln	Leu	Lys	Ser	Ala	Asn	Thr
[2905]				165					170					175		
[2906]	Gly	Asn	Asn	Glu	Arg	Ile	Ile	Asn	Val	Ser	Ile	Lys	Lys	Leu	Lys	Arg
[2907]				180				185						190		
[2908]	Lys	Pro	Pro	Ser	Thr	Asn	Ala	Gly	Arg	Arg	Gln	Lys	His	Arg	Leu	Thr
[2909]				195				200					205			
[2910]	Cys	Pro	Ser	Cys	Asp	Ser	Tyr	Glu	Lys	Lys	Pro	Pro	Lys	Glu	Phe	Leu
[2911]		210					215					220				
[2912]	Glu	Arg	Phe	Lys	Ser	Leu	Leu	Gln	Lys	Met	Ile	His	Gln	His	Leu	Ser
[2913]	225					230					235				240	
[2914]	Ser	Arg	Thr	His	Gly	Ser	Glu	Asp	Ser							
[2915]				245												
[2916]	<210>	146														
[2917]	<211>	260														
[2918]	<212>	PRT														
[2919]	<213>	人工序列														
[2920]	<400>	146														
[2921]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[2922]	1			5						10				15		
[2923]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Trp	Ser	Ile	Asn
[2924]				20					25					30		

[2925]	Thr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Asp	Leu	Val
[2926]			35					40					45			
[2927]	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
[2928]			50				55					60				
[2929]	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu
[2930]	65					70					75				80	
[2931]	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Tyr
[2932]					85					90					95	
[2933]	Ala	Gln	Ser	Thr	Trp	Tyr	Pro	Pro	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
[2934]				100					105					110		
[2935]	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu
[2936]				115				120					125			
[2937]	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ala	Ala	Ala	Lys	Ala	Gln	Gly	Gln	Asp	Arg	His
[2938]			130					135				140				
[2939]	Met	Ile	Arg	Met	Arg	Gln	Leu	Ile	Asp	Ile	Val	Asp	Gln	Leu	Lys	Asn
[2940]	145					150					155				160	
[2941]	Tyr	Val	Asn	Asp	Leu	Val	Pro	Glu	Phe	Leu	Pro	Ala	Pro	Glu	Asp	Val
[2942]					165					170					175	
[2943]	Glu	Thr	Asn	Cys	Glu	Trp	Ser	Ala	Phe	Ser	Cys	Phe	Gln	Lys	Ala	Gln
[2944]				180					185					190		
[2945]	Leu	Lys	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly	Asn	Asn	Glu	Arg	Ile	Ile	Asn	Val	Ser
[2946]			195					200					205			
[2947]	Ile	Lys	Lys	Leu	Lys	Arg	Lys	Pro	Pro	Ser	Thr	Asn	Ala	Gly	Arg	Arg
[2948]		210					215					220				
[2949]	Gln	Lys	His	Arg	Leu	Thr	Cys	Pro	Ser	Cys	Asp	Ser	Tyr	Glu	Lys	Lys
[2950]	225					230					235				240	
[2951]	Pro	Pro	Lys	Glu	Phe	Leu	Glu	Arg	Phe	Lys	Ser	Leu	Leu	Gln	Lys	Met
[2952]					245					250					255	
[2953]	Ile	His	Gln	His												
[2954]				260												
[2955]	<210>	147														
[2956]	<211>	253														
[2957]	<212>	PRT														
[2958]	<213>	人工序列														
[2959]	<400>	147														
[2960]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[2961]	1				5					10					15	
[2962]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Trp	Ser	Ile	Asn
[2963]					20					25					30	

[2964]	Thr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Asp	Leu	Val
[2965]			35					40					45			
[2966]	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
[2967]			50				55					60				
[2968]	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu
[2969]	65					70					75				80	
[2970]	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Tyr
[2971]					85					90					95	
[2972]	Ala	Gln	Ser	Thr	Trp	Tyr	Pro	Pro	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
[2973]				100					105					110		
[2974]	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
[2975]			115					120					125			
[2976]	Gly	Gly	Ser	Gln	Gly	Gln	Asp	Arg	His	Met	Ile	Arg	Met	Arg	Gln	Leu
[2977]		130					135					140				
[2978]	Ile	Asp	Ile	Val	Asp	Gln	Leu	Lys	Asn	Tyr	Val	Asn	Asp	Leu	Val	Pro
[2979]	145					150					155					160
[2980]	Glu	Phe	Leu	Pro	Ala	Pro	Glu	Asp	Val	Glu	Thr	Asn	Cys	Glu	Trp	Ser
[2981]					165					170					175	
[2982]	Ala	Phe	Ser	Cys	Phe	Gln	Lys	Ala	Gln	Leu	Lys	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly
[2983]				180					185					190		
[2984]	Asn	Asn	Glu	Arg	Ile	Ile	Asn	Val	Ser	Ile	Lys	Lys	Leu	Lys	Arg	Lys
[2985]			195					200					205			
[2986]	Pro	Pro	Ser	Thr	Asn	Ala	Gly	Arg	Arg	Gln	Lys	His	Arg	Leu	Thr	Cys
[2987]		210					215					220				
[2988]	Pro	Ser	Cys	Asp	Ser	Tyr	Glu	Lys	Lys	Pro	Pro	Lys	Glu	Phe	Leu	Glu
[2989]	225					230					235					240
[2990]	Arg	Phe	Lys	Ser	Leu	Leu	Gln	Lys	Met	Ile	His	Gln	His			
[2991]				245						250						
[2992]	<210>	148														
[2993]	<211>	238														
[2994]	<212>	PRT														
[2995]	<213>	人工序列														
[2996]	<400>	148														
[2997]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[2998]	1				5					10				15		
[2999]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Trp	Ser	Ile	Asn
[3000]				20					25				30			
[3001]	Thr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Asp	Leu	Val
[3002]			35					40					45			

[3003]	Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[3004]	50 55 60
[3005]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
[3006]	65 70 75 80
[3007]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr
[3008]	85 90 95
[3009]	Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
[3010]	100 105 110
[3011]	Thr Val Ser Ser Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln
[3012]	115 120 125
[3013]	Leu Ile Asp Ile Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val
[3014]	130 135 140
[3015]	Pro Glu Phe Leu Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp
[3016]	145 150 155 160
[3017]	Ser Ala Phe Ser Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr
[3018]	165 170 175
[3019]	Gly Asn Asn Glu Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg
[3020]	180 185 190
[3021]	Lys Pro Pro Ser Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr
[3022]	195 200 205
[3023]	Cys Pro Ser Cys Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu
[3024]	210 215 220
[3025]	Glu Arg Phe Lys Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His
[3026]	225 230 235
[3027]	<210> 149
[3028]	<211> 255
[3029]	<212> PRT
[3030]	<213> 人工序列
[3031]	<400> 149
[3032]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[3033]	1 5 10 15
[3034]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn
[3035]	20 25 30
[3036]	Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val
[3037]	35 40 45
[3038]	Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[3039]	50 55 60
[3040]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
[3041]	65 70 75 80

[3042]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr
[3043]	85 90 95
[3044]	Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
[3045]	100 105 110
[3046]	Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Gln Gly Gln Asp Arg His
[3047]	115 120 125
[3048]	Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile Val Asp Gln Leu Lys Asn
[3049]	130 135 140
[3050]	Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu Pro Ala Pro Glu Asp Val
[3051]	145 150 155 160
[3052]	Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser Cys Phe Gln Lys Ala Gln
[3053]	165 170 175
[3054]	Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu Arg Ile Ile Asn Val Ser
[3055]	180 185 190
[3056]	Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser Thr Asn Ala Gly Arg Arg
[3057]	195 200 205
[3058]	Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys Asp Ser Tyr Glu Lys Lys
[3059]	210 215 220
[3060]	Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys Ser Leu Leu Gln Lys Met
[3061]	225 230 235 240
[3062]	Ile His Gln His Leu Ser Ser Arg Thr His Gly Ser Glu Asp Ser
[3063]	245 250 255
[3064]	<210> 150
[3065]	<211> 244
[3066]	<212> PRT
[3067]	<213> 人工序列
[3068]	<400> 150
[3069]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[3070]	1 5 10 15
[3071]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn
[3072]	20 25 30
[3073]	Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val
[3074]	35 40 45
[3075]	Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[3076]	50 55 60
[3077]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
[3078]	65 70 75 80
[3079]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr
[3080]	85 90 95

[3081]	Ala	Gln	Ser	Thr	Trp	Tyr	Pro	Pro	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
[3082]				100					105					110		
[3083]	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Gln	Gly	Gln	Asp	Arg	His
[3084]			115					120					125			
[3085]	Met	Ile	Arg	Met	Arg	Gln	Leu	Ile	Asp	Ile	Val	Asp	Gln	Leu	Lys	Asn
[3086]		130						135					140			
[3087]	Tyr	Val	Asn	Asp	Leu	Val	Pro	Glu	Phe	Leu	Pro	Ala	Pro	Glu	Asp	Val
[3088]	145						150					155				160
[3089]	Glu	Thr	Asn	Cys	Glu	Trp	Ser	Ala	Phe	Ser	Cys	Phe	Gln	Lys	Ala	Gln
[3090]					165					170					175	
[3091]	Leu	Lys	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly	Asn	Asn	Glu	Arg	Ile	Ile	Asn	Val	Ser
[3092]				180						185					190	
[3093]	Ile	Lys	Lys	Leu	Lys	Arg	Lys	Pro	Pro	Ser	Thr	Asn	Ala	Gly	Arg	Arg
[3094]			195					200						205		
[3095]	Gln	Lys	His	Arg	Leu	Thr	Cys	Pro	Ser	Cys	Asp	Ser	Tyr	Glu	Lys	Lys
[3096]		210						215				220				
[3097]	Pro	Pro	Lys	Glu	Phe	Leu	Glu	Arg	Phe	Lys	Ser	Leu	Leu	Gln	Lys	Met
[3098]	225					230					235					240
[3099]	Ile	His	Gln	His												
[3100]	<210>	151														
[3101]	<211>	308														
[3102]	<212>	PRT														
[3103]	<213>	人工序列														
[3104]	<400>	151														
[3105]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[3106]	1			5						10					15	
[3107]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Trp	Ser	Ile	Asn
[3108]			20						25					30		
[3109]	Thr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Asp	Leu	Val
[3110]		35						40					45			
[3111]	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	His	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
[3112]		50						55					60			
[3113]	Gly	Arg	Phe	Thr	Val	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Glu	Asn	Thr	Leu	Val	Leu
[3114]	65					70					75					80
[3115]	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Tyr
[3116]				85						90					95	
[3117]	Ala	Gln	Ser	Thr	Trp	Tyr	Pro	Pro	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val
[3118]			100							105				110		
[3119]	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser

[3120]	115	120	125
[3121]	Gly Gly Gly Ser Ala Phe Gly Ile Ser Gly Val Gln Lys Tyr Thr Arg		
[3122]	130	135	140
[3123]	Ala Leu His Asp Ser Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr		
[3124]	145	150	155
[3125]	Leu Ala Ser Leu Ser Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu		
[3126]	165	170	175
[3127]	Glu Asp Glu Ser Tyr Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu		
[3128]	180	185	190
[3129]	Lys Lys Asp Lys Val Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser		
[3130]	195	200	205
[3131]	Asn Glu Ser Gly Asp Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu		
[3132]	210	215	220
[3133]	Ser Pro Thr Lys Asp Phe Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser		
[3134]	225	230	235
[3135]	Val Glu Leu His Lys Ser Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe		
[3136]	245	250	255
[3137]	Val Leu His Asn Met His Ser Asn Ser Val Ser Phe Glu Ser Lys Thr		
[3138]	260	265	270
[3139]	Asp Pro Gly Val Phe Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile		
[3140]	275	280	285
[3141]	Lys Val Asp Ser Ser Glu Asn Leu Ser Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys		
[3142]	290	295	300
[3143]	Leu Ser Glu Thr		
[3144]	305		
[3145]	<210> 152		
[3146]	<211> 291		
[3147]	<212> PRT		
[3148]	<213> 人工序列		
[3149]	<400> 152		
[3150]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[3151]	1	5	10
[3152]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn		
[3153]	20	25	30
[3154]	Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val		
[3155]	35	40	45
[3156]	Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
[3157]	50	55	60
[3158]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		

[3159]	65	70	75	80
[3160]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr			
[3161]		85	90	95
[3162]	Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val			
[3163]		100	105	110
[3164]	Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser			
[3165]		115	120	125
[3166]	Gly Gly Gly Ser Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu			
[3167]		130	135	140
[3168]	Ala Ser Leu Ser Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu			
[3169]	145	150	155	160
[3170]	Asp Glu Ser Tyr Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu Lys			
[3171]		165	170	175
[3172]	Lys Asp Lys Val Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Asn			
[3173]		180	185	190
[3174]	Glu Ser Gly Asp Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser			
[3175]		195	200	205
[3176]	Pro Thr Lys Asp Phe Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val			
[3177]		210	215	220
[3178]	Glu Leu His Lys Ser Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val			
[3179]	225	230	235	240
[3180]	Leu His Asn Met His Ser Asn Ser Val Ser Phe Glu Ser Lys Thr Asp			
[3181]		245	250	255
[3182]	Pro Gly Val Phe Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys			
[3183]		260	265	270
[3184]	Val Asp Ser Ser Glu Asn Leu Ser Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu			
[3185]		275	280	285
[3186]	Ser Glu Thr			
[3187]	290			
[3188]	<210> 153			
[3189]	<211> 292			
[3190]	<212> PRT			
[3191]	<213> 人工序列			
[3192]	<400> 153			
[3193]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
[3194]	1	5	10	15
[3195]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn			
[3196]		20	25	30
[3197]	Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val			

[3198]	35	40	45
[3199]	Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
[3200]	50	55	60
[3201]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		
[3202]	65	70	75
[3203]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr		
[3204]	85	90	95
[3205]	Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
[3206]	100	105	110
[3207]	Thr Val Ser Ser Ala Phe Gly Ile Ser Gly Val Gln Lys Tyr Thr Arg		
[3208]	115	120	125
[3209]	Ala Leu His Asp Ser Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr		
[3210]	130	135	140
[3211]	Leu Ala Ser Leu Ser Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu		
[3212]	145	150	155
[3213]	Glu Asp Glu Ser Tyr Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu		
[3214]	165	170	175
[3215]	Lys Lys Asp Lys Val Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser		
[3216]	180	185	190
[3217]	Asn Glu Ser Gly Asp Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu		
[3218]	195	200	205
[3219]	Ser Pro Thr Lys Asp Phe Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser		
[3220]	210	215	220
[3221]	Val Glu Leu His Lys Ser Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe		
[3222]	225	230	235
[3223]	Val Leu His Asn Met His Ser Asn Ser Val Ser Phe Glu Ser Lys Thr		
[3224]	245	250	255
[3225]	Asp Pro Gly Val Phe Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile		
[3226]	260	265	270
[3227]	Lys Val Asp Ser Ser Glu Asn Leu Ser Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys		
[3228]	275	280	285
[3229]	Leu Ser Glu Thr		
[3230]	290		
[3231]	<210> 154		
[3232]	<211> 286		
[3233]	<212> PRT		
[3234]	<213> 人工序列		
[3235]	<400> 154		
[3236]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		

[3237]	1	5	10	15
[3238]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn			
[3239]	20	25	30	
[3240]	Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val			
[3241]	35	40	45	
[3242]	Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys			
[3243]	50	55	60	
[3244]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu			
[3245]	65	70	75	80
[3246]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr			
[3247]	85	90	95	
[3248]	Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val			
[3249]	100	105	110	
[3250]	Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser			
[3251]	115	120	125	
[3252]	Gly Gly Gly Ser Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Thr			
[3253]	130	135	140	
[3254]	Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr Glu			
[3255]	145	150	155	160
[3256]	Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys Val Leu			
[3257]	165	170	175	
[3258]	Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly Asp Gly			
[3259]	180	185	190	
[3260]	Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp Phe			
[3261]	195	200	205	
[3262]	Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys Ser			
[3263]	210	215	220	
[3264]	Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Met His			
[3265]	225	230	235	240
[3266]	Ser Asn Ser Val Ser Phe Glu Ser Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe Ile			
[3267]	245	250	255	
[3268]	Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser Ser Glu			
[3269]	260	265	270	
[3270]	Asn Leu Ser Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr			
[3271]	275	280	285	
[3272]	<210>	155		
[3273]	<211>	176		
[3274]	<212>	PRT		
[3275]	<213>	人工序列		

[3276]	<400>	155														
[3277]	Ala	Phe	Gly	Ile	Ser	Gly	Val	Gln	Lys	Tyr	Thr	Arg	Ala	Leu	His	Asp
[3278]	1					5					10					15
[3279]	Ser	Ser	Ile	Thr	Gly	Ile	Ser	Pro	Ile	Thr	Glu	Tyr	Leu	Ala	Ser	Leu
[3280]					20					25					30	
[3281]	Ser	Thr	Tyr	Asn	Asp	Gln	Ser	Ile	Thr	Phe	Ala	Leu	Glu	Asp	Glu	Ser
[3282]					35					40					45	
[3283]	Tyr	Glu	Ile	Tyr	Val	Glu	Asp	Leu	Lys	Lys	Asp	Glu	Lys	Lys	Asp	Lys
[3284]					50					55					60	
[3285]	Val	Leu	Leu	Ser	Tyr	Tyr	Glu	Ser	Gln	His	Pro	Ser	Asn	Glu	Ser	Gly
[3286]	65					70					75					80
[3287]	Asp	Gly	Val	Asp	Gly	Lys	Met	Leu	Met	Val	Thr	Leu	Ser	Pro	Thr	Lys
[3288]					85					90					95	
[3289]	Asp	Phe	Trp	Leu	His	Ala	Asn	Asn	Lys	Glu	His	Ser	Val	Glu	Leu	His
[3290]					100					105					110	
[3291]	Lys	Ser	Glu	Lys	Pro	Leu	Pro	Asp	Gln	Ala	Phe	Phe	Val	Leu	His	Asn
[3292]					115					120					125	
[3293]	Met	His	Ser	Asn	Ser	Val	Ser	Phe	Glu	Ser	Lys	Thr	Asp	Pro	Gly	Val
[3294]					130					135					140	
[3295]	Phe	Ile	Gly	Val	Lys	Asp	Asn	His	Leu	Ala	Leu	Ile	Lys	Val	Asp	Ser
[3296]	145					150					155					160
[3297]	Ser	Glu	Asn	Leu	Ser	Thr	Glu	Asn	Ile	Leu	Phe	Lys	Leu	Ser	Glu	Thr
[3298]					165					170					175	
[3299]	<210>	156														
[3300]	<211>	159														
[3301]	<212>	PRT														
[3302]	<213>	人工序列														
[3303]	<400>	156														
[3304]	Ser	Ile	Thr	Gly	Ile	Ser	Pro	Ile	Thr	Glu	Tyr	Leu	Ala	Ser	Leu	Ser
[3305]	1					5					10					15
[3306]	Thr	Tyr	Asn	Asp	Gln	Ser	Ile	Thr	Phe	Ala	Leu	Glu	Asp	Glu	Ser	Tyr
[3307]					20					25					30	
[3308]	Glu	Ile	Tyr	Val	Glu	Asp	Leu	Lys	Lys	Asp	Glu	Lys	Lys	Asp	Lys	Val
[3309]					35					40					45	
[3310]	Leu	Leu	Ser	Tyr	Tyr	Glu	Ser	Gln	His	Pro	Ser	Asn	Glu	Ser	Gly	Asp
[3311]					50					55					60	
[3312]	Gly	Val	Asp	Gly	Lys	Met	Leu	Met	Val	Thr	Leu	Ser	Pro	Thr	Lys	Asp
[3313]	65					70					75					80
[3314]	Phe	Trp	Leu	His	Ala	Asn	Asn	Lys	Glu	His	Ser	Val	Glu	Leu	His	Lys

[3315]					85				90				95					
[3316]	Ser	Glu	Lys	Pro	Leu	Pro	Asp	Gln	Ala	Phe	Phe	Val	Leu	His	Asn	Met		
[3317]					100				105				110					
[3318]	His	Ser	Asn	Ser	Val	Ser	Phe	Glu	Ser	Lys	Thr	Asp	Pro	Gly	Val	Phe		
[3319]					115				120				125					
[3320]	Ile	Gly	Val	Lys	Asp	Asn	His	Leu	Ala	Leu	Ile	Lys	Val	Asp	Ser	Ser		
[3321]					130				135				140					
[3322]	Glu	Asn	Leu	Ser	Thr	Glu	Asn	Ile	Leu	Phe	Lys	Leu	Ser	Glu	Thr			
[3323]	145								150								155	
[3324]	<210>	157																
[3325]	<211>	154																
[3326]	<212>	PRT																
[3327]	<213>	人工序列																
[3328]	<400>	157																
[3329]	Ser	Pro	Ile	Thr	Glu	Tyr	Leu	Ala	Ser	Leu	Ser	Thr	Tyr	Asn	Asp	Gln		
[3330]	1				5				10				15					
[3331]	Ser	Ile	Thr	Phe	Ala	Leu	Glu	Asp	Glu	Ser	Tyr	Glu	Ile	Tyr	Val	Glu		
[3332]					20				25				30					
[3333]	Asp	Leu	Lys	Lys	Asp	Glu	Lys	Lys	Asp	Lys	Val	Leu	Leu	Ser	Tyr	Tyr		
[3334]					35				40				45					
[3335]	Glu	Ser	Gln	His	Pro	Ser	Asn	Glu	Ser	Gly	Asp	Gly	Val	Asp	Gly	Lys		
[3336]	50								55				60					
[3337]	Met	Leu	Met	Val	Thr	Leu	Ser	Pro	Thr	Lys	Asp	Phe	Trp	Leu	His	Ala		
[3338]	65				70				75				80					
[3339]	Asn	Asn	Lys	Glu	His	Ser	Val	Glu	Leu	His	Lys	Ser	Glu	Lys	Pro	Leu		
[3340]					85				90				95					
[3341]	Pro	Asp	Gln	Ala	Phe	Phe	Val	Leu	His	Asn	Met	His	Ser	Asn	Ser	Val		
[3342]					100				105				110					
[3343]	Ser	Phe	Glu	Ser	Lys	Thr	Asp	Pro	Gly	Val	Phe	Ile	Gly	Val	Lys	Asp		
[3344]					115				120				125					
[3345]	Asn	His	Leu	Ala	Leu	Ile	Lys	Val	Asp	Ser	Ser	Glu	Asn	Leu	Ser	Thr		
[3346]	130								135				140					
[3347]	Glu	Asn	Ile	Leu	Phe	Lys	Leu	Ser	Glu	Thr								
[3348]	145				150													
[3349]	<210>	158																
[3350]	<211>	8																
[3351]	<212>	PRT																
[3352]	<213>	人工序列																
[3353]	<400>	158																

[3354]	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
[3355]	1 5
[3356]	<210> 159
[3357]	<211> 6
[3358]	<212> PRT
[3359]	<213> 人工序列
[3360]	<400> 159
[3361]	Ala Ser Thr Lys Gly Pro
[3362]	1 5
[3363]	<210> 160
[3364]	<211> 343
[3365]	<212> PRT
[3366]	<213> 人工序列
[3367]	<400> 160
[3368]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[3369]	1 5 10 15
[3370]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn
[3371]	20 25 30
[3372]	Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val
[3373]	35 40 45
[3374]	Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[3375]	50 55 60
[3376]	Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr Leu Val Leu
[3377]	65 70 75 80
[3378]	Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr
[3379]	85 90 95
[3380]	Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
[3381]	100 105 110
[3382]	Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[3383]	115 120 125
[3384]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser
[3385]	130 135 140
[3386]	Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg
[3387]	145 150 155 160
[3388]	Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser
[3389]	165 170 175
[3390]	Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp
[3391]	180 185 190
[3392]	Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Arg Arg Lys Arg Ala Pro Val

[3393]	195	200	205
[3394]	Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu		
[3395]	210	215	220
[3396]	Ser Asn Pro Gly Pro Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys		
[3397]	225	230	235
[3398]	Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr		
[3399]	245	250	255
[3400]	Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe		
[3401]	260	265	270
[3402]	Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile		
[3403]	275	280	285
[3404]	His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser		
[3405]	290	295	300
[3406]	Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu		
[3407]	305	310	315
[3408]	Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val		
[3409]	325	330	335
[3410]	Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser		
[3411]	340		
[3412]	<210> 161		
[3413]	<211> 346		
[3414]	<212> PRT		
[3415]	<213> 人工序列		
[3416]	<400> 161		
[3417]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[3418]	1	5	10
[3419]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn		
[3420]	20	25	30
[3421]	Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val		
[3422]	35	40	45
[3423]	Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
[3424]	50	55	60
[3425]	Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr Leu Val Leu		
[3426]	65	70	75
[3427]	Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr		
[3428]	85	90	95
[3429]	Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val		
[3430]	100	105	110
[3431]	Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly		

[3432]	115	120	125
[3433]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser		
[3434]	130	135	140
[3435]	Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg		
[3436]	145	150	155
[3437]	Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser		
[3438]	165	170	175
[3439]	Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp		
[3440]	180	185	190
[3441]	Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln		
[3442]	195	200	205
[3443]	Arg Pro Ala Pro Pro Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
[3444]	210	215	220
[3445]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Gln Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp		
[3446]	225	230	235
[3447]	Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr		
[3448]	245	250	255
[3449]	Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met		
[3450]	260	265	270
[3451]	Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp		
[3452]	275	280	285
[3453]	Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn		
[3454]	290	295	300
[3455]	Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys		
[3456]	305	310	315
[3457]	Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val		
[3458]	325	330	335
[3459]	His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser		
[3460]	340	345	
[3461]	<210> 162		
[3462]	<211> 480		
[3463]	<212> PRT		
[3464]	<213> 人工序列		
[3465]	<400> 162		
[3466]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[3467]	1	5	10
[3468]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Pro Val Asn		
[3469]	20	25	30
[3470]	Ala Tyr Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val		

[3471]	35	40	45
[3472]	Ala Ile Ile Ser Ala Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
[3473]	50	55	60
[3474]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		
[3475]	65	70	75
[3476]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr		
[3477]	85	90	95
[3478]	Leu Gln Arg Arg Ile Gly Met Leu Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
[3479]	100	105	110
[3480]	Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
[3481]	115	120	125
[3482]	Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly		
[3483]	130	135	140
[3484]	Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly		
[3485]	145	150	155
[3486]	Ser Thr Trp Ser Ile Asn Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly		
[3487]	165	170	175
[3488]	Lys Gln Arg Asp Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr His		
[3489]	180	185	190
[3490]	Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala		
[3491]	195	200	205
[3492]	Glu Asn Thr Leu Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr		
[3493]	210	215	220
[3494]	Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp		
[3495]	225	230	235
[3496]	Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[3497]	245	250	255
[3498]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Thr		
[3499]	260	265	270
[3500]	Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser		
[3501]	275	280	285
[3502]	Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys		
[3503]	290	295	300
[3504]	Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala		
[3505]	305	310	315
[3506]	Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp		
[3507]	325	330	335
[3508]	Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Gly Gly Ser Gly Gly		
[3509]	340	345	350

[3510]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Gln Asn Trp
[3511]	355 360 365
[3512]	Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser
[3513]	370 375 380
[3514]	Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser
[3515]	385 390 395 400
[3516]	Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile
[3517]	405 410 415
[3518]	Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu
[3519]	420 425 430
[3520]	Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu
[3521]	435 440 445
[3522]	Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu
[3523]	450 455 460
[3524]	Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
[3525]	465 470 475 480
[3526]	<210> 163
[3527]	<211> 389
[3528]	<212> PRT
[3529]	<213> 人工序列
[3530]	<400> 163
[3531]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile
[3532]	1 5 10 15
[3533]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu
[3534]	20 25 30
[3535]	Pro Ala Pro Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser
[3536]	35 40 45
[3537]	Cys Phe Gln Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu
[3538]	50 55 60
[3539]	Arg Ile Ile Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser
[3540]	65 70 75 80
[3541]	Thr Asn Ala Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys
[3542]	85 90 95
[3543]	Asp Ser Tyr Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys
[3544]	100 105 110
[3545]	Ser Leu Leu Gln Lys Met Ile His Gln His Leu Ser Ser Arg Thr His
[3546]	115 120 125
[3547]	Gly Ser Glu Asp Ser Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
[3548]	130 135 140

[3549]	Gly	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly
[3550]	145						150					155				160
[3551]	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Trp	Ser	Ile
[3552]							165					170				175
[3553]	Asn	Thr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Asp	Leu
[3554]							180					185				190
[3555]	Val	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	His	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
[3556]							195					200				205
[3557]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Val	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Glu	Asn	Thr	Leu	Val
[3558]							210					215				220
[3559]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[3560]	225						230					235				240
[3561]	Tyr	Ala	Gln	Ser	Thr	Trp	Tyr	Pro	Pro	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln
[3562]							245					250				255
[3563]	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
[3564]							260					265				270
[3565]	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu
[3566]							275					280				285
[3567]	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Arg
[3568]							290					295				300
[3569]	Thr	Leu	Glu	Ser	Tyr	Val	Met	Ala	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys
[3570]	305						310					315				320
[3571]	Glu	Arg	Glu	Ala	Val	Ala	Ser	Ile	Asn	Trp	Ser	Ser	Gly	Arg	Leu	Ile
[3572]							325					330				335
[3573]	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser
[3574]							340					345				350
[3575]	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr
[3576]							355					360				365
[3577]	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Gly	Arg	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln
[3578]							370					375				380
[3579]	Val	Thr	Val	Ser	Ser											
[3580]	385															
[3581]	<210>	164														
[3582]	<211>	630														
[3583]	<212>	PRT														
[3584]	<213>	人工序列														
[3585]	<400>	164														
[3586]	Gln	Gly	Gln	Asp	Arg	His	Met	Ile	Arg	Met	Arg	Gln	Leu	Ile	Asp	Ile
[3587]	1						5					10				15

[3588]	Val	Asp	Gln	Leu	Lys	Asn	Tyr	Val	Asn	Asp	Leu	Val	Pro	Glu	Phe	Leu
[3589]				20					25				30			
[3590]	Pro	Ala	Pro	Glu	Asp	Val	Glu	Thr	Asn	Cys	Glu	Trp	Ser	Ala	Phe	Ser
[3591]			35					40					45			
[3592]	Cys	Phe	Gln	Lys	Ala	Gln	Leu	Lys	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly	Asn	Asn	Glu
[3593]		50					55					60				
[3594]	Arg	Ile	Ile	Asn	Val	Ser	Ile	Lys	Lys	Leu	Lys	Arg	Lys	Pro	Pro	Ser
[3595]	65					70					75					80
[3596]	Thr	Asn	Ala	Gly	Arg	Arg	Gln	Lys	His	Arg	Leu	Thr	Cys	Pro	Ser	Cys
[3597]				85						90					95	
[3598]	Asp	Ser	Tyr	Glu	Lys	Lys	Pro	Pro	Lys	Glu	Phe	Leu	Glu	Arg	Phe	Lys
[3599]				100						105					110	
[3600]	Ser	Leu	Leu	Gln	Lys	Met	Ile	His	Gln	His	Leu	Ser	Ser	Arg	Thr	His
[3601]				115					120						125	
[3602]	Gly	Ser	Glu	Asp	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser
[3603]		130						135					140			
[3604]	Gly	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly
[3605]	145					150					155					160
[3606]	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Trp	Ser	Ile
[3607]				165						170					175	
[3608]	Asn	Thr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Asp	Leu
[3609]				180						185				190		
[3610]	Val	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	His	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
[3611]			195					200					205			
[3612]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Val	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Glu	Asn	Thr	Leu	Val
[3613]		210						215				220				
[3614]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[3615]	225					230					235					240
[3616]	Tyr	Ala	Gln	Ser	Thr	Trp	Tyr	Pro	Pro	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln
[3617]				245						250				255		
[3618]	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
[3619]				260					265					270		
[3620]	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Arg	Ser	Ala	Gly	Gly
[3621]			275					280				285				
[3622]	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln
[3623]		290						295				300				
[3624]	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Arg	Thr	Leu
[3625]	305					310					315					320
[3626]	Glu	Ser	Tyr	Val	Met	Ala	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg

[3627]					325				330				335					
[3628]	Glu	Ala	Val	Ala	Ser	Ile	Asn	Trp	Ser	Ser	Gly	Arg	Leu	Ile	Tyr	Ala		
[3629]					340				345				350					
[3630]	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn		
[3631]					355				360				365					
[3632]	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val		
[3633]					370				375				380					
[3634]	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Gly	Arg	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr		
[3635]	385				390				395				400					
[3636]	Val	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu		
[3637]					405				410				415					
[3638]	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp		
[3639]					420				425				430					
[3640]	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp		
[3641]					435				440				445					
[3642]	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly		
[3643]					450				455				460					
[3644]	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn		
[3645]	465				470				475				480					
[3646]	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp		
[3647]					485				490				495					
[3648]	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro		
[3649]					500				505				510					
[3650]	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu		
[3651]					515				520				525					
[3652]	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn		
[3653]	530				535				540									
[3654]	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile		
[3655]	545				550				555				560					
[3656]	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr		
[3657]					565				570				575					
[3658]	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys		
[3659]					580				585				590					
[3660]	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys		
[3661]					595				600				605					
[3662]	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu		
[3663]	610				615				620									
[3664]	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys												
[3665]	625				630													

[3666]	<210>	165															
[3667]	<211>	339															
[3668]	<212>	PRT															
[3669]	<213>	人工序列															
[3670]	<400>	165															
[3671]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly																
[3672]	1	5	10	15													
[3673]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Leu Glu Ser Tyr																
[3674]		20	25	30													
[3675]	Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ala Val																
[3676]		35	40	45													
[3677]	Ala Ser Ile Asn Trp Ser Ser Gly Arg Leu Ile Tyr Ala Asp Ser Val																
[3678]		50	55	60													
[3679]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr																
[3680]	65	70	75	80													
[3681]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys																
[3682]		85	90	95													
[3683]	Ala Ala Gly Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser																
[3684]		100	105	110													
[3685]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly																
[3686]		115	120	125													
[3687]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met																
[3688]		130	135	140													
[3689]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His																
[3690]	145	150	155	160													
[3691]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val																
[3692]		165	170	175													
[3693]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr																
[3694]		180	185	190													
[3695]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly																
[3696]		195	200	205													
[3697]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile																
[3698]		210	215	220													
[3699]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val																
[3700]	225	230	235	240													
[3701]	Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser																
[3702]		245	250	255													
[3703]	Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu																
[3704]		260	265	270													

[3705]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
[3706]			275					280					285			
[3707]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
[3708]			290					295					300			
[3709]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
[3710]	305						310					315				320
[3711]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
[3712]					325					330					335	
[3713]	Pro	Gly	Lys													
[3714]	<210>	166														
[3715]	<211>	484														
[3716]	<212>	PRT														
[3717]	<213>	人工序列														
[3718]	<400>	166														
[3719]	Gln	Gly	Gln	Asp	Arg	His	Met	Ile	Arg	Met	Arg	Gln	Leu	Ile	Asp	Ile
[3720]	1				5					10					15	
[3721]	Val	Asp	Gln	Leu	Lys	Asn	Tyr	Val	Asn	Asp	Leu	Val	Pro	Glu	Phe	Leu
[3722]				20					25					30		
[3723]	Pro	Ala	Pro	Glu	Asp	Val	Glu	Thr	Asn	Cys	Glu	Trp	Ser	Ala	Phe	Ser
[3724]				35					40					45		
[3725]	Cys	Phe	Gln	Lys	Ala	Gln	Leu	Lys	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly	Asn	Asn	Glu
[3726]	50						55					60				
[3727]	Arg	Ile	Ile	Asn	Val	Ser	Ile	Lys	Lys	Leu	Lys	Arg	Lys	Pro	Pro	Ser
[3728]	65				70						75					80
[3729]	Thr	Asn	Ala	Gly	Arg	Arg	Gln	Lys	His	Arg	Leu	Thr	Cys	Pro	Ser	Cys
[3730]				85						90					95	
[3731]	Asp	Ser	Tyr	Glu	Lys	Lys	Pro	Pro	Lys	Glu	Phe	Leu	Glu	Arg	Phe	Lys
[3732]				100					105					110		
[3733]	Ser	Leu	Leu	Gln	Lys	Met	Ile	His	Gln	His	Leu	Ser	Ser	Arg	Thr	His
[3734]				115					120					125		
[3735]	Gly	Ser	Glu	Asp	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser
[3736]			130					135					140			
[3737]	Gly	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Glu	Ala	Gly
[3738]	145					150					155					160
[3739]	Asp	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Val	Val	Ser	Gly	Arg	Thr	Leu	Glu	Ser
[3740]					165					170					175	
[3741]	Tyr	Val	Met	Ala	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Ala
[3742]				180						185				190		
[3743]	Val	Ala	Ser	Ile	Asn	Trp	Ser	Ser	Gly	Arg	Leu	Ile	Tyr	Ala	Asp	Phe

[3744]	195	200	205
[3745]	Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Tyr Glu Lys Asn Thr Ile		
[3746]	210	215	220
[3747]	Tyr Leu Ser Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr		
[3748]	225	230	235
[3749]	Cys Ala Ala Gly Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser		
[3750]	245	250	255
[3751]	Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu		
[3752]	260	265	270
[3753]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
[3754]	275	280	285
[3755]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
[3756]	290	295	300
[3757]	His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
[3758]	305	310	315
[3759]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr		
[3760]	325	330	335
[3761]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn		
[3762]	340	345	350
[3763]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro		
[3764]	355	360	365
[3765]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
[3766]	370	375	380
[3767]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		
[3768]	385	390	395
[3769]	Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
[3770]	405	410	415
[3771]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
[3772]	420	425	430
[3773]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr		
[3774]	435	440	445
[3775]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
[3776]	450	455	460
[3777]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
[3778]	465	470	475
[3779]	Ser Pro Gly Lys		
[3780]	<210> 167		
[3781]	<211> 345		
[3782]	<212> PRT		

[3783]	<213> 人工序列																
[3784]	<400> 167																
[3785]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Ala	Gly	Gly	
[3786]	1				5					10					15		
[3787]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ile	Thr	Phe	Pro	Val	Asn	
[3788]				20					25					30			
[3789]	Ala	Tyr	Gly	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Asp	Leu	Val	
[3790]			35					40					45				
[3791]	Ala	Ile	Ile	Ser	Ala	Gly	Gly	Thr	Thr	Asn	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	
[3792]		50					55					60					
[3793]	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	
[3794]	65					70					75					80	
[3795]	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Tyr	
[3796]					85					90					95		
[3797]	Leu	Gln	Arg	Arg	Ile	Gly	Met	Leu	Arg	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
[3798]				100					105					110			
[3799]	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	
[3800]			115					120					125				
[3801]	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	
[3802]		130					135					140					
[3803]	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	
[3804]	145					150					155					160	
[3805]	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	
[3806]					165					170					175		
[3807]	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	
[3808]				180					185					190			
[3809]	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	
[3810]			195					200					205				
[3811]	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	
[3812]		210					215					220					
[3813]	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	
[3814]	225					230					235					240	
[3815]	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	
[3816]					245					250					255		
[3817]	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	
[3818]				260					265					270			
[3819]	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
[3820]			275					280					285				
[3821]	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	

[3822]	290	295	300
[3823]	Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val		
[3824]	305	310	315 320
[3825]	Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln		
[3826]	325	330	335
[3827]	Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[3828]	340	345	
[3829]	<210> 168		
[3830]	<211> 116		
[3831]	<212> PRT		
[3832]	<213> 人工序列		
[3833]	<400> 168		
[3834]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[3835]	1 5 10 15		
[3836]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Trp Ser Ile Asn		
[3837]	20 25 30		
[3838]	Thr Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val		
[3839]	35 40 45		
[3840]	Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
[3841]	50 55 60		
[3842]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		
[3843]	65 70 75 80		
[3844]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr		
[3845]	85 90 95		
[3846]	Ala Gln Ser Thr Trp Tyr Pro Pro Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
[3847]	100 105 110		
[3848]	Thr Val Ser Ser		
[3849]	115		
[3850]	<210> 169		
[3851]	<211> 116		
[3852]	<212> PRT		
[3853]	<213> 人工序列		
[3854]	<400> 169		
[3855]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly		
[3856]	1 5 10 15		
[3857]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Arg Gly Phe		
[3858]	20 25 30		
[3859]	Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[3860]	35 40 45		

[3861]	Ser Ser Ile Asn Asn Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[3862]	50 55 60
[3863]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[3864]	65 70 75 80
[3865]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3866]	85 90 95
[3867]	Ala Ile Gly Gly Pro Gly Ala Ser Pro Ser Gly Gln Gly Thr Gln Val
[3868]	100 105 110
[3869]	Thr Val Ser Ser
[3870]	115
[3871]	<210> 170
[3872]	<211> 116
[3873]	<212> PRT
[3874]	<213> 人工序列
[3875]	<400> 170
[3876]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
[3877]	1 5 10 15
[3878]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Arg Gly Phe
[3879]	20 25 30
[3880]	Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Phe Glu Trp Val
[3881]	35 40 45
[3882]	Ser Ser Ile Asn Asn Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[3883]	50 55 60
[3884]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[3885]	65 70 75 80
[3886]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3887]	85 90 95
[3888]	Ala Ile Gly Gly Pro Gly Ala Ser Pro Ser Gly Gln Gly Thr Gln Val
[3889]	100 105 110
[3890]	Thr Val Ser Ser
[3891]	115
[3892]	<210> 171
[3893]	<211> 119
[3894]	<212> PRT
[3895]	<213> Homo sapiens
[3896]	<400> 171
[3897]	Gln Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile
[3898]	1 5 10 15
[3899]	Val Asp Gln Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu

[3900]		20		25		30											
[3901]	Pro	Ala	Pro	Glu	Asp	Val	Glu	Thr	Asn	Cys	Glu	Trp	Ser	Ala	Phe	Ser	
[3902]			35					40					45				
[3903]	Cys	Phe	Gln	Lys	Ala	Gln	Leu	Lys	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly	Asn	Asn	Glu	
[3904]		50					55					60					
[3905]	Arg	Ile	Ile	Asn	Val	Ser	Ile	Lys	Lys	Leu	Lys	Arg	Lys	Pro	Pro	Ser	
[3906]	65					70					75					80	
[3907]	Thr	Asn	Ala	Gly	Arg	Arg	Gln	Lys	His	Arg	Leu	Thr	Cys	Pro	Ser	Cys	
[3908]				85					90					95			
[3909]	Asp	Ser	Tyr	Glu	Lys	Lys	Pro	Pro	Lys	Glu	Phe	Leu	Glu	Arg	Phe	Lys	
[3910]			100					105					110				
[3911]	Ser	Leu	Leu	Gln	Lys	Met	Ile										
[3912]			115														
[3913]	<210>	172															
[3914]	<211>	120															
[3915]	<212>	PRT															
[3916]	<213>	Homo sapiens															
[3917]	<400>	172															
[3918]	Gln	Gly	Gln	Asp	Arg	His	Met	Ile	Arg	Met	Arg	Gln	Leu	Ile	Asp	Ile	
[3919]	1			5					10				15				
[3920]	Val	Asp	Gln	Leu	Lys	Asn	Tyr	Val	Asn	Asp	Leu	Val	Pro	Glu	Phe	Leu	
[3921]			20					25				30					
[3922]	Pro	Ala	Pro	Glu	Asp	Val	Glu	Thr	Asn	Cys	Glu	Trp	Ser	Ala	Phe	Ser	
[3923]			35					40				45					
[3924]	Cys	Phe	Gln	Lys	Ala	Gln	Leu	Lys	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly	Asn	Asn	Glu	
[3925]		50					55					60					
[3926]	Arg	Ile	Ile	Asn	Val	Ser	Ile	Lys	Lys	Leu	Lys	Arg	Lys	Pro	Pro	Ser	
[3927]	65					70					75					80	
[3928]	Thr	Asn	Ala	Gly	Arg	Arg	Gln	Lys	His	Arg	Leu	Thr	Cys	Pro	Ser	Cys	
[3929]				85					90					95			
[3930]	Asp	Ser	Tyr	Glu	Lys	Lys	Pro	Pro	Lys	Glu	Phe	Leu	Glu	Arg	Phe	Lys	
[3931]			100					105					110				
[3932]	Ser	Leu	Leu	Gln	Lys	Met	Ile	His									
[3933]			115					120									
[3934]	<210>	173															
[3935]	<211>	119															
[3936]	<212>	PRT															
[3937]	<213>	人工序列															
[3938]	<400>	173															

[3939]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
[3940]	1 5 10 15
[3941]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ser Ser Ile Arg
[3942]	20 25 30
[3943]	His Met Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
[3944]	35 40 45
[3945]	Ala Thr Val Ser Asn Asp Gly Ser Ala Tyr Tyr Leu Gly Ser Val Lys
[3946]	50 55 60
[3947]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Asn Ala Lys Asn Thr Leu Leu Tyr
[3948]	65 70 75 80
[3949]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Leu Tyr Ile Cys
[3950]	85 90 95
[3951]	Asn Ala Asp Thr Trp Gly Trp Pro Gly Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[3952]	100 105 110
[3953]	Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
[3954]	115
[3955]	<210> 174
[3956]	<211> 112
[3957]	<212> PRT
[3958]	<213> 人工序列
[3959]	<400> 174
[3960]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Glu Ala Gly Asp
[3961]	1 5 10 15
[3962]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Arg Thr Leu Glu Ser Tyr
[3963]	20 25 30
[3964]	Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ala Val
[3965]	35 40 45
[3966]	Ala Ser Ile Asn Trp Ser Ser Gly Arg Leu Ile Tyr Ala Asp Phe Val
[3967]	50 55 60
[3968]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Tyr Glu Lys Asn Thr Ile Tyr
[3969]	65 70 75 80
[3970]	Leu Ser Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3971]	85 90 95
[3972]	Ala Ala Gly Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
[3973]	100 105 110
[3974]	<210> 175
[3975]	<211> 118
[3976]	<212> PRT
[3977]	<213> 人工序列

[3978]	<400>	175
[3979]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly	
[3980]	1	5 10 15
[3981]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Pro Val Asn	
[3982]	20	25 30
[3983]	Ala Tyr Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val	
[3984]	35	40 45
[3985]	Ala Ile Ile Ser Ala Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
[3986]	50	55 60
[3987]	Gly Arg Phe Ala Ile Ser Lys Asp Asn Val Asn Asn Thr Val Tyr Leu	
[3988]	65	70 75 80
[3989]	Gln Met Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr	
[3990]	85	90 95
[3991]	Leu Gln Arg Arg Ile Gly Met Leu Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr	
[3992]	100	105 110
[3993]	Gln Val Thr Val Ser Ser	
[3994]	115	
[3995]	<210>	176
[3996]	<211>	118
[3997]	<212>	PRT
[3998]	<213>	人工序列
[3999]	<400>	176
[4000]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[4001]	1	5 10 15
[4002]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Pro Val Asn	
[4003]	20	25 30
[4004]	Ala Tyr Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val	
[4005]	35	40 45
[4006]	Ala Ile Ile Ser Ala Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
[4007]	50	55 60
[4008]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu	
[4009]	65	70 75 80
[4010]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr	
[4011]	85	90 95
[4012]	Leu Gln Arg Arg Ile Gly Met Leu Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr	
[4013]	100	105 110
[4014]	Gln Val Thr Val Ser Ser	
[4015]	115	
[4016]	<210>	177

[4017]	<211>	118
[4018]	<212>	PRT
[4019]	<213>	人工序列
[4020]	<400>	177
[4021]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly	
[4022]	1	5 10 15
[4023]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Pro Val Asn	
[4024]	20	25 30
[4025]	Ala Tyr Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val	
[4026]	35	40 45
[4027]	Ala Ile Ile Ser Ala Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
[4028]	50	55 60
[4029]	Gly Arg Phe Ala Ile Ser Lys Asp Asn Val Asn Asn Thr Val Tyr Leu	
[4030]	65	70 75 80
[4031]	Gln Met Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr	
[4032]	85	90 95
[4033]	Leu Gln Arg Arg Ile Gly Met Leu Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr	
[4034]	100	105 110
[4035]	Gln Val Thr Val Ser Ser	
[4036]	115	
[4037]	<210>	178
[4038]	<211>	118
[4039]	<212>	PRT
[4040]	<213>	人工序列
[4041]	<400>	178
[4042]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[4043]	1	5 10 15
[4044]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Pro Val Asn	
[4045]	20	25 30
[4046]	Ala Tyr Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val	
[4047]	35	40 45
[4048]	Ala Ile Ile Ser Ala Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
[4049]	50	55 60
[4050]	Gly Arg Phe Ala Ile Ser Lys Asp Asn Val Asn Asn Thr Val Tyr Leu	
[4051]	65	70 75 80
[4052]	Gln Met Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr	
[4053]	85	90 95
[4054]	Leu Gln Arg Arg Ile Gly Met Leu Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr	
[4055]	100	105 110

[4056]	Gln Val Thr Val Ser Ser
[4057]	115
[4058]	<210> 179
[4059]	<211> 119
[4060]	<212> PRT
[4061]	<213> 人工序列
[4062]	<400> 179
[4063]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[4064]	1 5 10 15
[4065]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ser Ser Ile Arg
[4066]	20 25 30
[4067]	His Met Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
[4068]	35 40 45
[4069]	Ala Thr Val Ser Asn Asp Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Gly Ser Val Lys
[4070]	50 55 60
[4071]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Leu Tyr
[4072]	65 70 75 80
[4073]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Ile Cys
[4074]	85 90 95
[4075]	Asn Ala Asp Thr Trp Gly Trp Pro Gly Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[4076]	100 105 110
[4077]	Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
[4078]	115
[4079]	<210> 180
[4080]	<211> 119
[4081]	<212> PRT
[4082]	<213> 人工序列
[4083]	<400> 180
[4084]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
[4085]	1 5 10 15
[4086]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ser Ser Ile Arg
[4087]	20 25 30
[4088]	His Met Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val
[4089]	35 40 45
[4090]	Ala Thr Val Ser Asn Asp Gly Ser Ala Tyr Tyr Leu Gly Ser Val Lys
[4091]	50 55 60
[4092]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Asn Ala Lys Asn Thr Leu Leu Tyr
[4093]	65 70 75 80
[4094]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Leu Tyr Ile Cys

217

[4134]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[4135]	65 70 75 80
[4136]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4137]	85 90 95
[4138]	Ala Ala Gly Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
[4139]	100 105 110
[4140]	<210> 183
[4141]	<211> 112
[4142]	<212> PRT
[4143]	<213> 人工序列
[4144]	<400> 183
[4145]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[4146]	1 5 10 15
[4147]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Arg Thr Leu Glu Ser Tyr
[4148]	20 25 30
[4149]	Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Ala Val
[4150]	35 40 45
[4151]	Ala Ser Ile Asn Trp Ser Ser Gly Arg Leu Ile Tyr Ala Asp Phe Val
[4152]	50 55 60
[4153]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[4154]	65 70 75 80
[4155]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4156]	85 90 95
[4157]	Ala Ala Gly Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
[4158]	100 105 110
[4159]	<210> 184
[4160]	<211> 112
[4161]	<212> PRT
[4162]	<213> 人工序列
[4163]	<400> 184
[4164]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[4165]	1 5 10 15
[4166]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Leu Glu Ser Tyr
[4167]	20 25 30
[4168]	Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Ala Val
[4169]	35 40 45
[4170]	Ala Ser Ile Asn Trp Ser Ser Gly Arg Leu Ile Tyr Ala Asp Phe Val
[4171]	50 55 60
[4172]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

[4173]	65	70	75	80
[4174]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[4175]	85	90	95	
[4176]	Ala Ala Gly Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser			
[4177]	100	105	110	
[4178]	<210> 185			
[4179]	<211> 112			
[4180]	<212> PRT			
[4181]	<213> 人工序列			
[4182]	<400> 185			
[4183]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
[4184]	1 5 10 15			
[4185]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Leu Glu Ser Tyr			
[4186]	20 25 30			
[4187]	Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Ala Val			
[4188]	35 40 45			
[4189]	Ala Ser Ile Asn Trp Ser Ser Gly Arg Leu Ile Tyr Ala Asp Ser Val			
[4190]	50 55 60			
[4191]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
[4192]	65 70 75 80			
[4193]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[4194]	85 90 95			
[4195]	Ala Ala Gly Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser			
[4196]	100 105 110			
[4197]	<210> 186			
[4198]	<211> 112			
[4199]	<212> PRT			
[4200]	<213> 人工序列			
[4201]	<400> 186			
[4202]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
[4203]	1 5 10 15			
[4204]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Leu Glu Ser Tyr			
[4205]	20 25 30			
[4206]	Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ala Val			
[4207]	35 40 45			
[4208]	Ala Ser Ile Asn Trp Ser Ser Gly Arg Leu Ile Tyr Ala Asp Ser Val			
[4209]	50 55 60			
[4210]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
[4211]	65 70 75 80			

[4212]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4213]	85 90 95
[4214]	Ala Ala Gly Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
[4215]	100 105 110
[4216]	<210> 187
[4217]	<211> 8
[4218]	<212> PRT
[4219]	<213> 人工序列
[4220]	<400> 187
[4221]	Gly Ser Ile Ser Ser Ile Arg His
[4222]	1 5
[4223]	<210> 188
[4224]	<211> 7
[4225]	<212> PRT
[4226]	<213> 人工序列
[4227]	<400> 188
[4228]	Val Ser Asn Asp Gly Ser Ala
[4229]	1 5
[4230]	<210> 189
[4231]	<211> 12
[4232]	<212> PRT
[4233]	<213> 人工序列
[4234]	<400> 189
[4235]	Asn Ala Asp Thr Trp Gly Trp Pro Gly Ala Asp Tyr
[4236]	1 5 10
[4237]	<210> 190
[4238]	<211> 8
[4239]	<212> PRT
[4240]	<213> 人工序列
[4241]	<400> 190
[4242]	Gly Arg Thr Leu Glu Ser Tyr Val
[4243]	1 5
[4244]	<210> 191
[4245]	<211> 8
[4246]	<212> PRT
[4247]	<213> 人工序列
[4248]	<400> 191
[4249]	Ile Asn Trp Ser Ser Gly Arg Leu
[4250]	1 5

[4251]	<210>	192
[4252]	<211>	5
[4253]	<212>	PRT
[4254]	<213>	人工序列
[4255]	<400>	192
[4256]	Ala Ala Gly Arg Tyr	
[4257]	1	5
[4258]	<210>	193
[4259]	<211>	8
[4260]	<212>	PRT
[4261]	<213>	人工序列
[4262]	<400>	193
[4263]	Gly Ile Thr Phe Pro Val Asn Ala	
[4264]	1	5
[4265]	<210>	194
[4266]	<211>	7
[4267]	<212>	PRT
[4268]	<213>	人工序列
[4269]	<400>	194
[4270]	Ile Ser Ala Gly Gly Thr Thr	
[4271]	1	5
[4272]	<210>	195
[4273]	<211>	12
[4274]	<212>	PRT
[4275]	<213>	人工序列
[4276]	<400>	195
[4277]	Tyr Leu Gln Arg Arg Ile Gly Met Leu Arg Asp Tyr	
[4278]	1	5 10
[4279]	<210>	196
[4280]	<211>	311
[4281]	<212>	PRT
[4282]	<213>	人工序列
[4283]	<400>	196
[4284]	Glu Val Glu Lys Thr Ala Cys Pro Ser Gly Lys Lys Ala Arg Glu Ile	
[4285]	1	5 10 15
[4286]	Asp Glu Ser Leu Ile Phe Tyr Lys Lys Trp Glu Leu Glu Ala Cys Val	
[4287]		20 25 30
[4288]	Asp Ala Ala Leu Leu Ala Thr Gln Met Asp Arg Val Asn Ala Ile Pro	
[4289]		35 40 45

[4290]	Phe Thr Tyr Glu Gln Leu Asp Val Leu Lys His Lys Leu Asp Glu Leu
[4291]	50 55 60
[4292]	Tyr Pro Gln Gly Tyr Pro Glu Ser Val Ile Gln His Leu Gly Tyr Leu
[4293]	65 70 75 80
[4294]	Phe Leu Lys Met Ser Pro Glu Asp Ile Arg Lys Trp Asn Val Thr Ser
[4295]	85 90 95
[4296]	Leu Glu Thr Leu Lys Ala Leu Leu Glu Val Asn Lys Gly His Glu Met
[4297]	100 105 110
[4298]	Ser Pro Gln Ala Pro Arg Arg Pro Leu Pro Gln Val Ala Thr Leu Ile
[4299]	115 120 125
[4300]	Asp Arg Phe Val Lys Gly Arg Gly Gln Leu Asp Lys Asp Thr Leu Asp
[4301]	130 135 140
[4302]	Thr Leu Thr Ala Phe Tyr Pro Gly Tyr Leu Cys Ser Leu Ser Pro Glu
[4303]	145 150 155 160
[4304]	Glu Leu Ser Ser Val Pro Pro Ser Ser Ile Trp Ala Val Arg Pro Gln
[4305]	165 170 175
[4306]	Asp Leu Asp Thr Cys Asp Pro Arg Gln Leu Asp Val Leu Tyr Pro Lys
[4307]	180 185 190
[4308]	Ala Arg Leu Ala Phe Gln Asn Met Asn Gly Ser Glu Tyr Phe Val Lys
[4309]	195 200 205
[4310]	Ile Gln Ser Phe Leu Gly Gly Ala Pro Thr Glu Asp Leu Lys Ala Leu
[4311]	210 215 220
[4312]	Ser Gln Gln Asn Val Ser Met Asp Leu Ala Thr Phe Met Lys Leu Arg
[4313]	225 230 235 240
[4314]	Thr Asp Ala Val Leu Pro Leu Thr Val Ala Glu Val Gln Lys Leu Leu
[4315]	245 250 255
[4316]	Gly Pro His Val Glu Gly Leu Lys Ala Glu Glu Arg His Arg Pro Val
[4317]	260 265 270
[4318]	Arg Asp Trp Ile Leu Arg Gln Arg Gln Asp Asp Leu Asp Thr Leu Gly
[4319]	275 280 285
[4320]	Leu Gly Leu Gln Gly Gly Ile Pro Asn Gly Tyr Leu Val Leu Asp Leu
[4321]	290 295 300
[4322]	Ser Met Gln Glu Ala Leu Ser
[4323]	305 310
[4324]	<210> 197
[4325]	<211> 50
[4326]	<212> PRT
[4327]	<213> 人工序列
[4328]	<400> 197

[4329]	Val	Gln	Lys	Leu	Leu	Gly	Pro	His	Val	Glu	Gly	Leu	Lys	Ala	Glu	Glu
[4330]	1				5					10					15	
[4331]	Arg	His	Arg	Pro	Val	Arg	Asp	Trp	Ile	Leu	Arg	Gln	Arg	Gln	Asp	Asp
[4332]					20					25					30	
[4333]	Leu	Asp	Thr	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gln	Gly	Gly	Ile	Pro	Asn	Gly	Tyr
[4334]					35					40					45	
[4335]	Leu	Val														
[4336]					50											

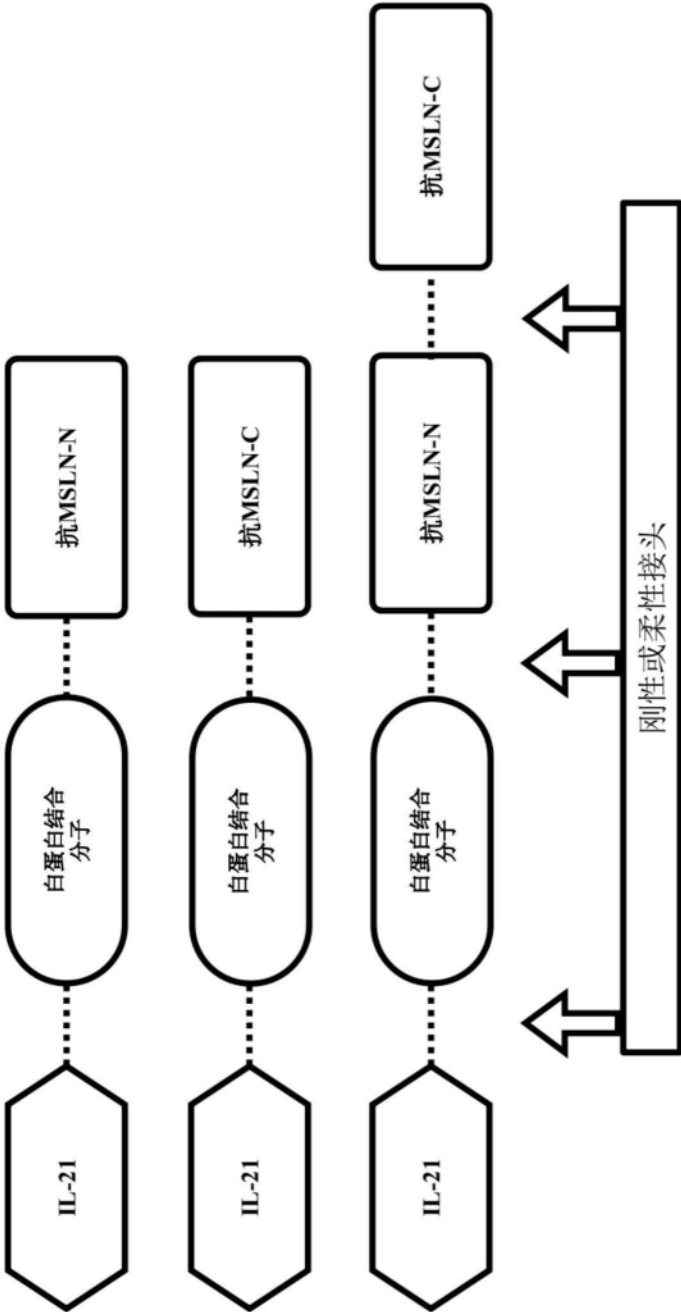


图1

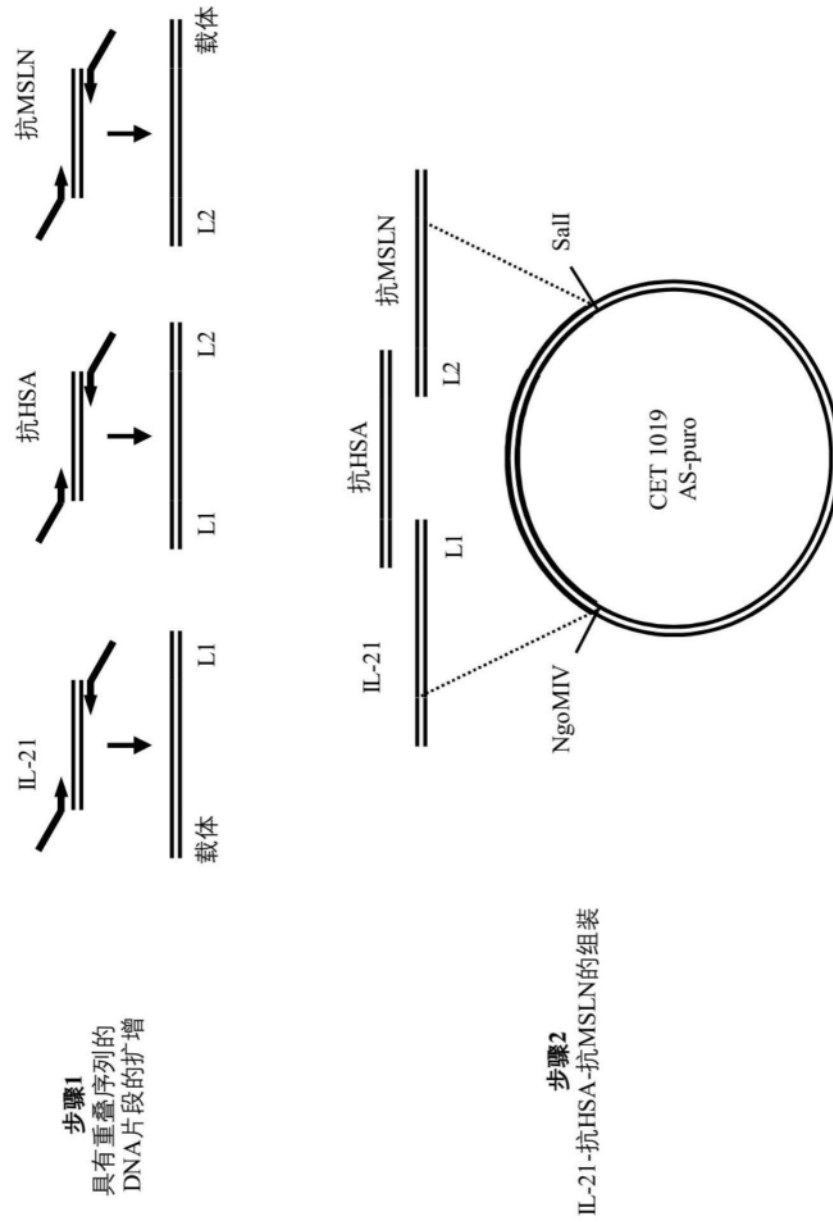


图2

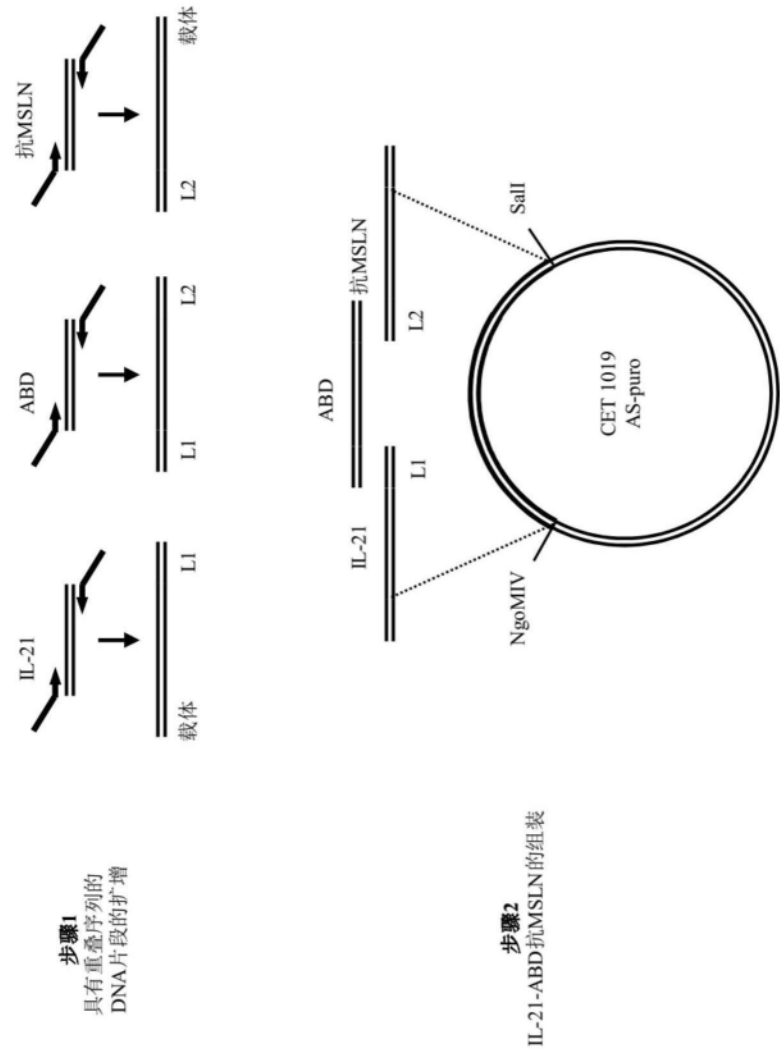
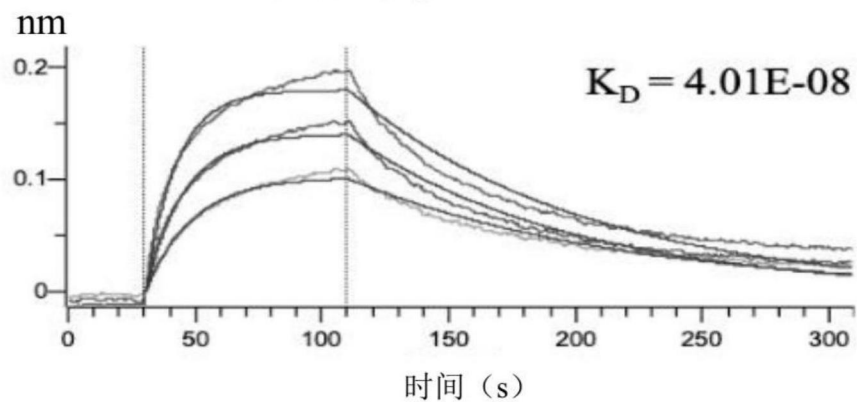
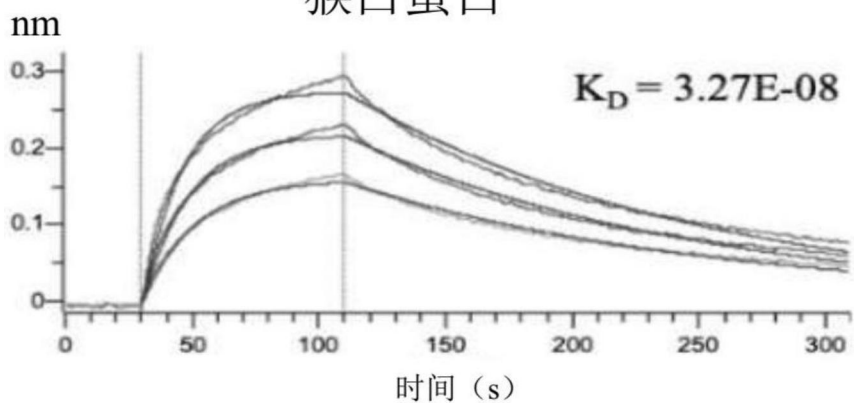


图3

人白蛋白



猴白蛋白



小鼠白蛋白

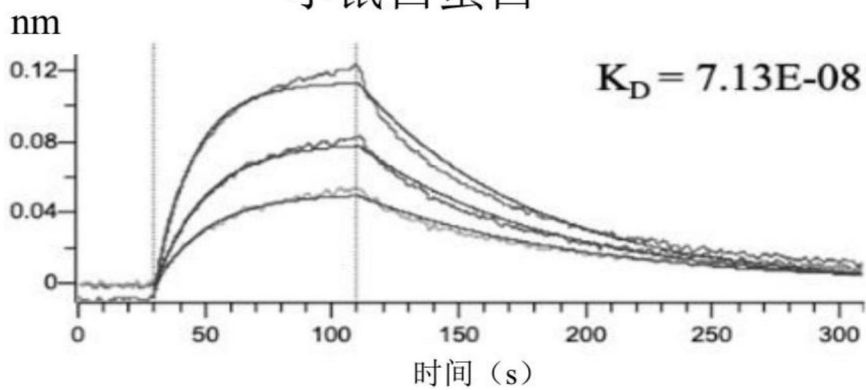


图4

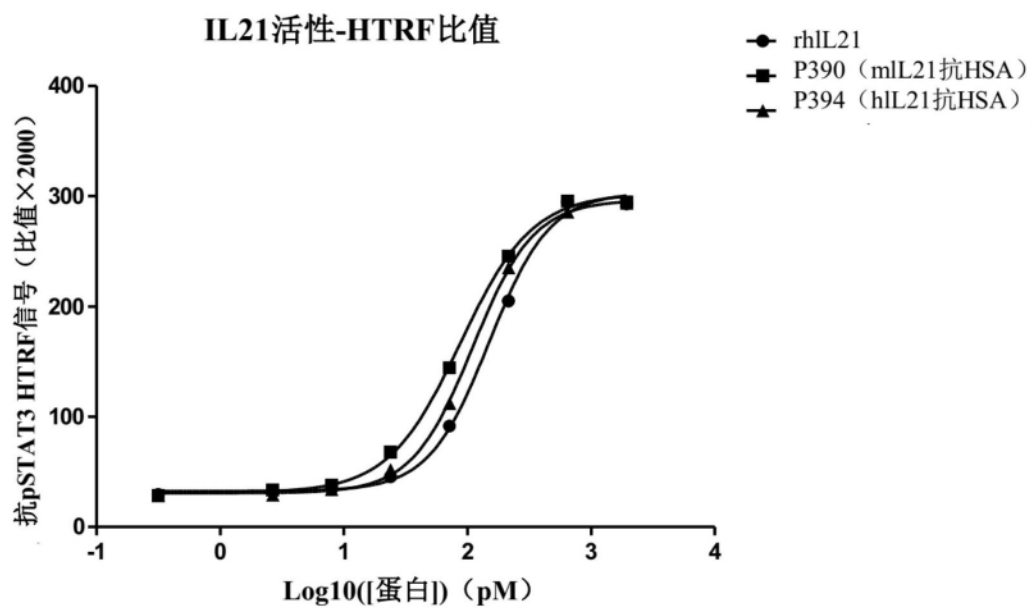


图5

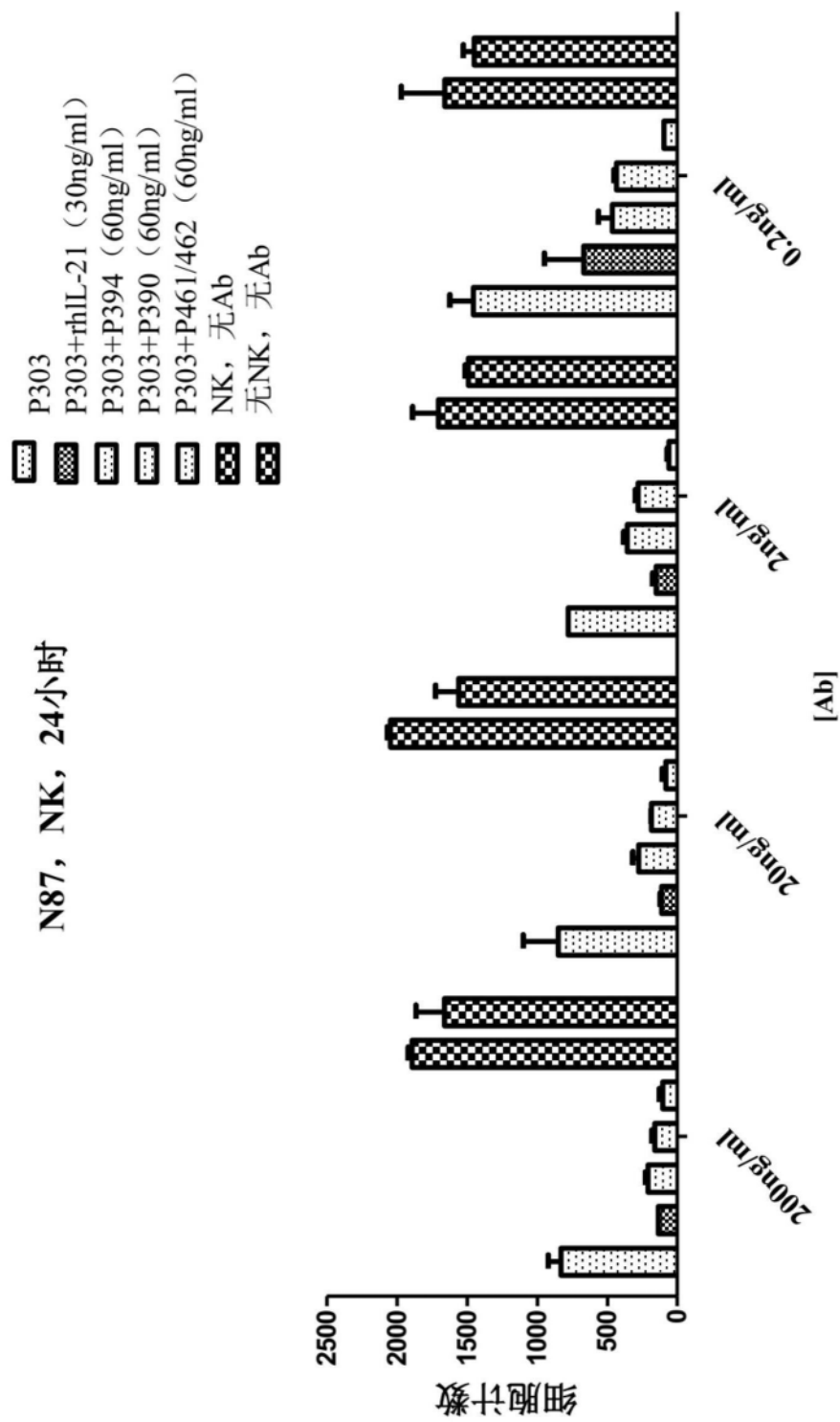


图6A

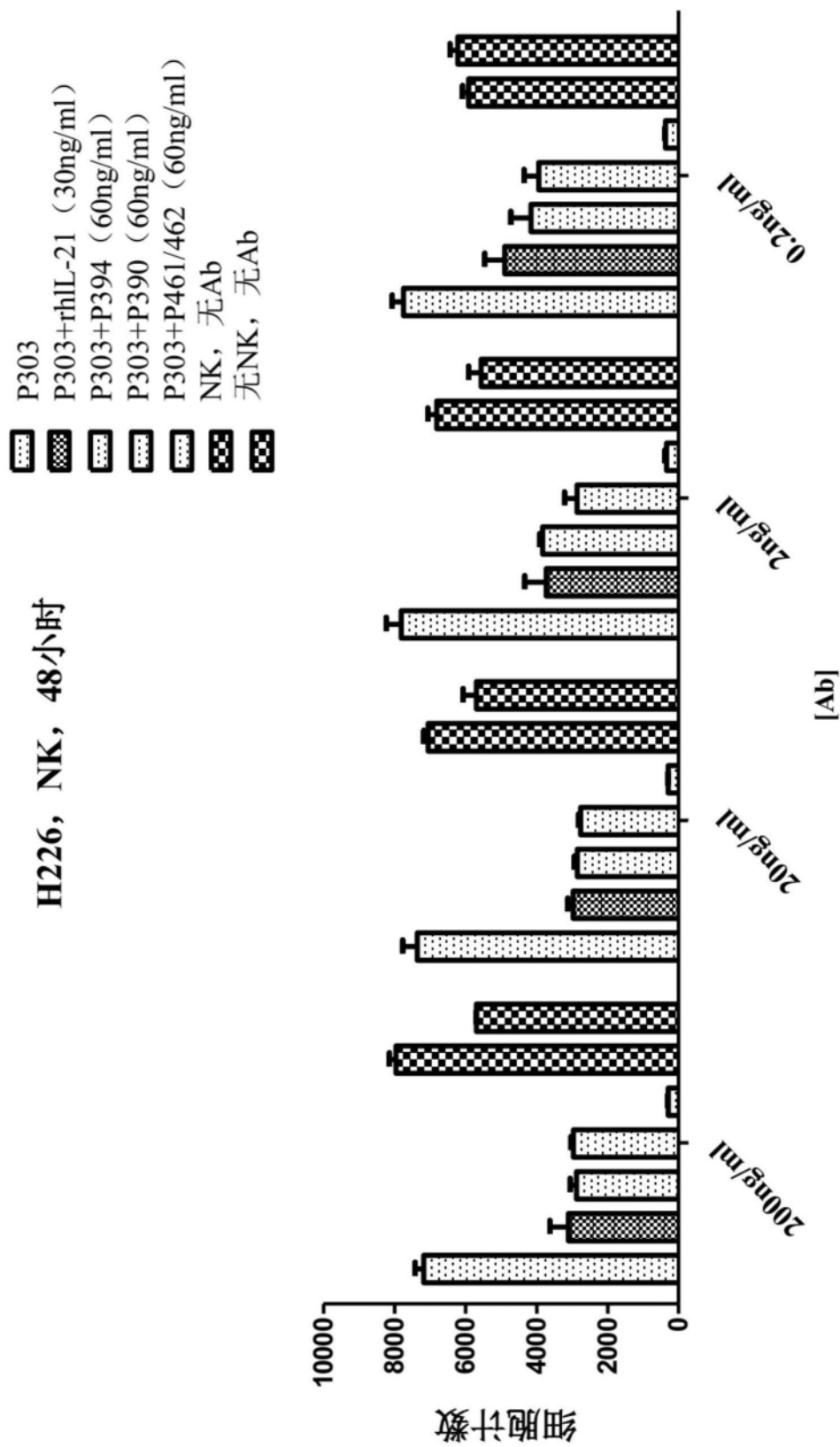


图6B

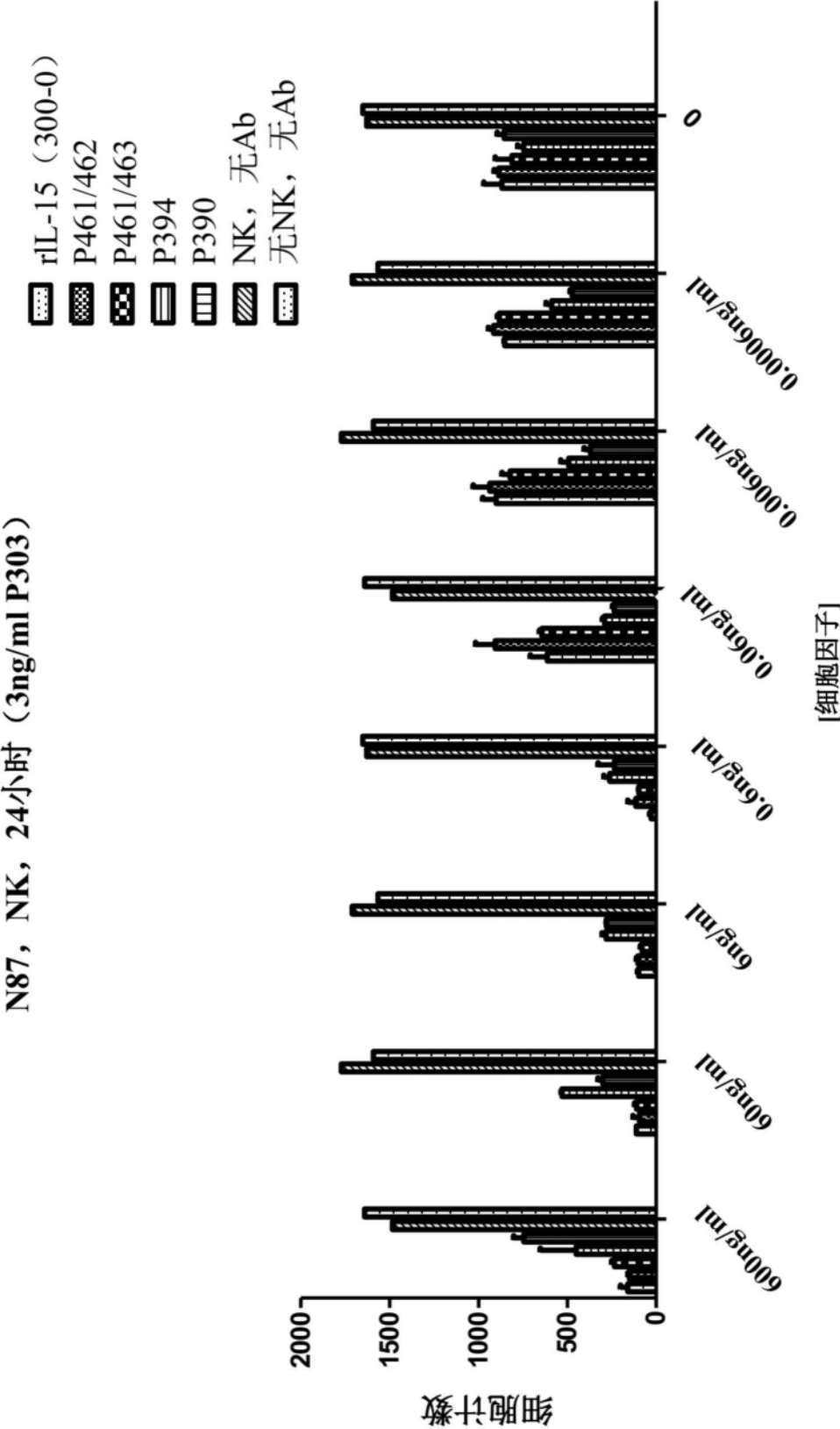


图6C

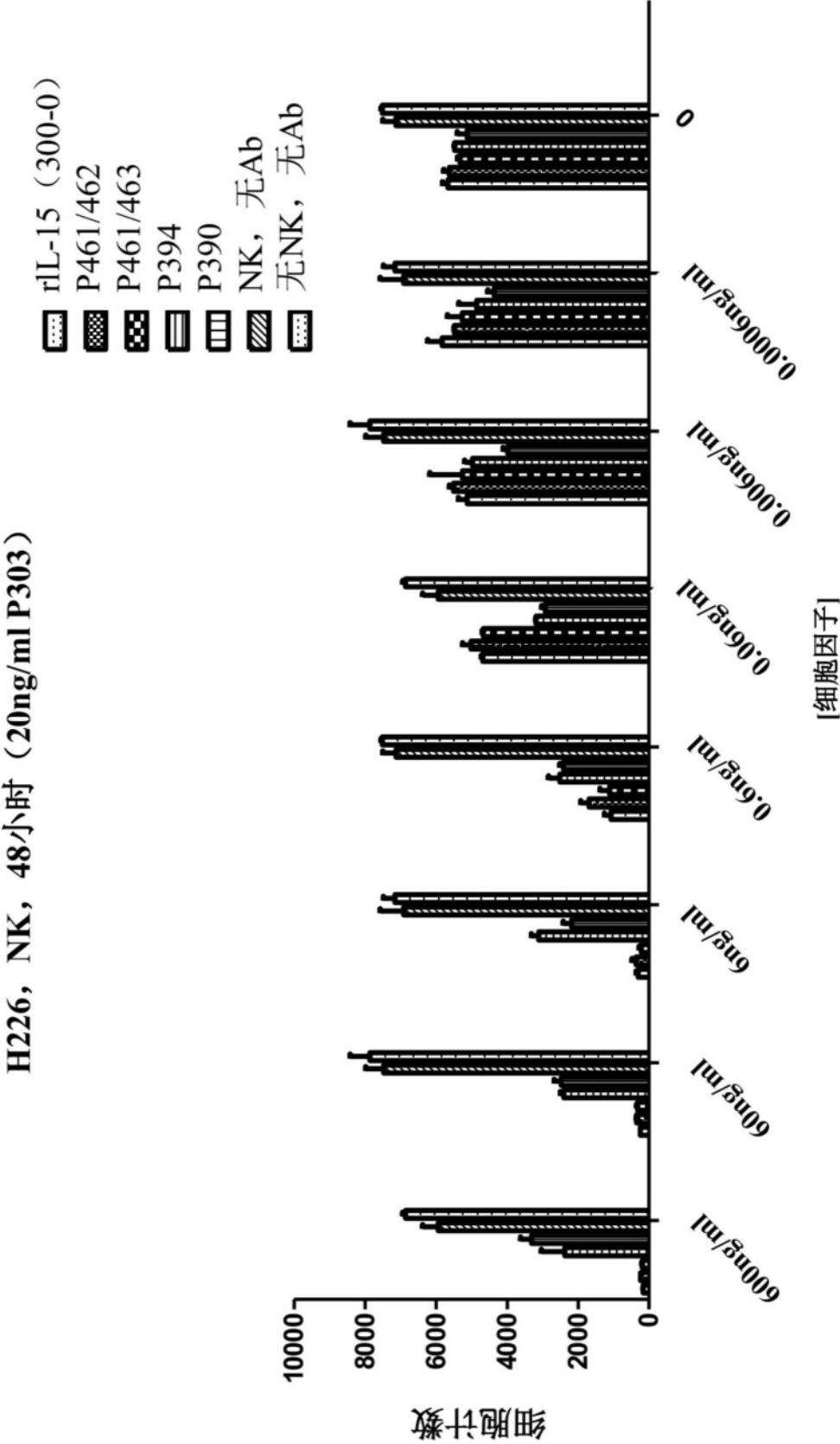


图6D

IL-21融合体（读取隔夜）

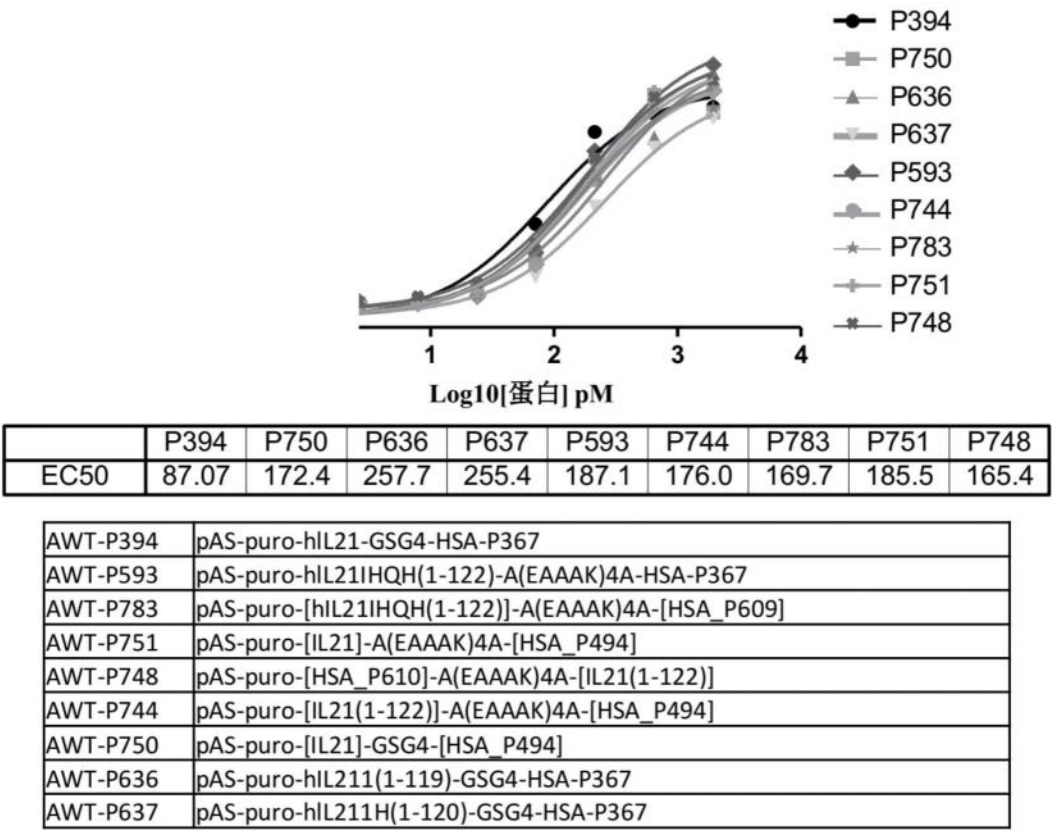
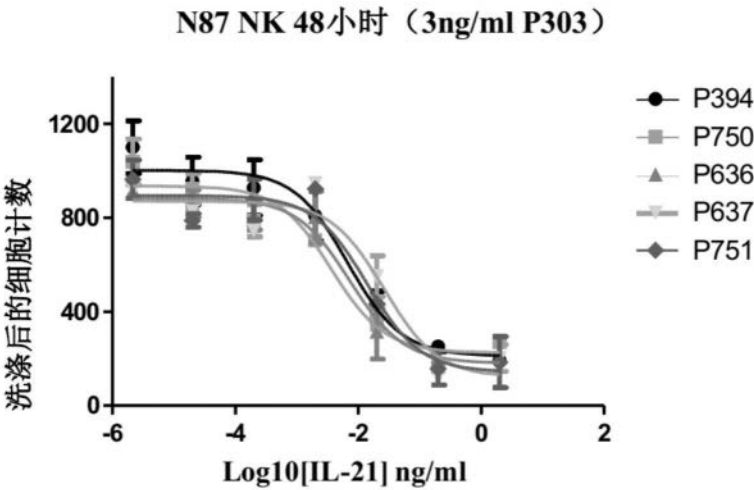


图7A



	P394	P750	P636	P637	P751
IC50	0.006820	0.003685	0.007303	0.02644	0.01399
AWT-P394	pAS-puro-hIL21-GSG4-HSA-P367				
AWT-P750	pAS-puro-[IL21]-GSG4-[HSA_P494]				
AWT-P636	pAS-puro-hIL21I(1-119)-GSG4-HSA-P367				
AWT-P637	pAS-puro-hIL21IH(1-120)-GSG4-HSA-P367				
AWT-P751	pAS-puro-[IL21]-A(EAAAK)4A-[HSA_P494]				

图7B

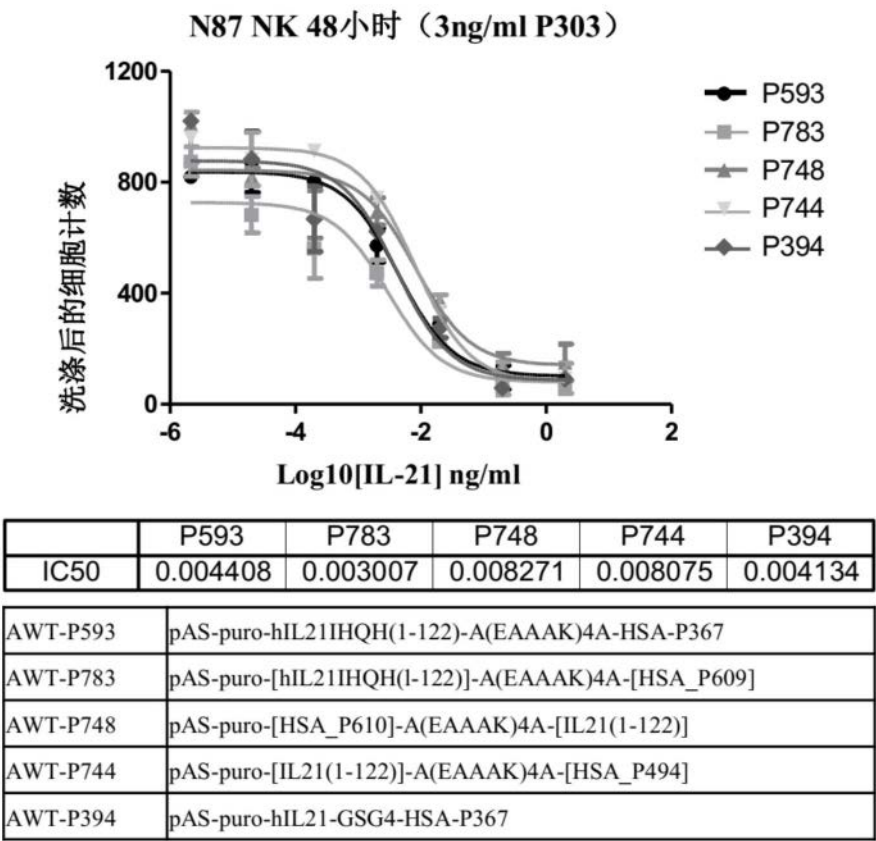


图7C

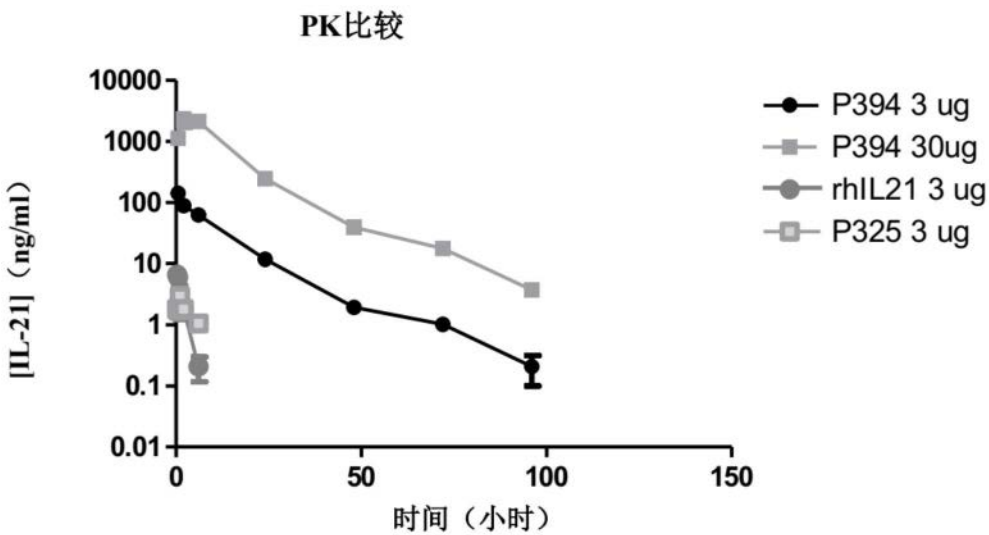


图8

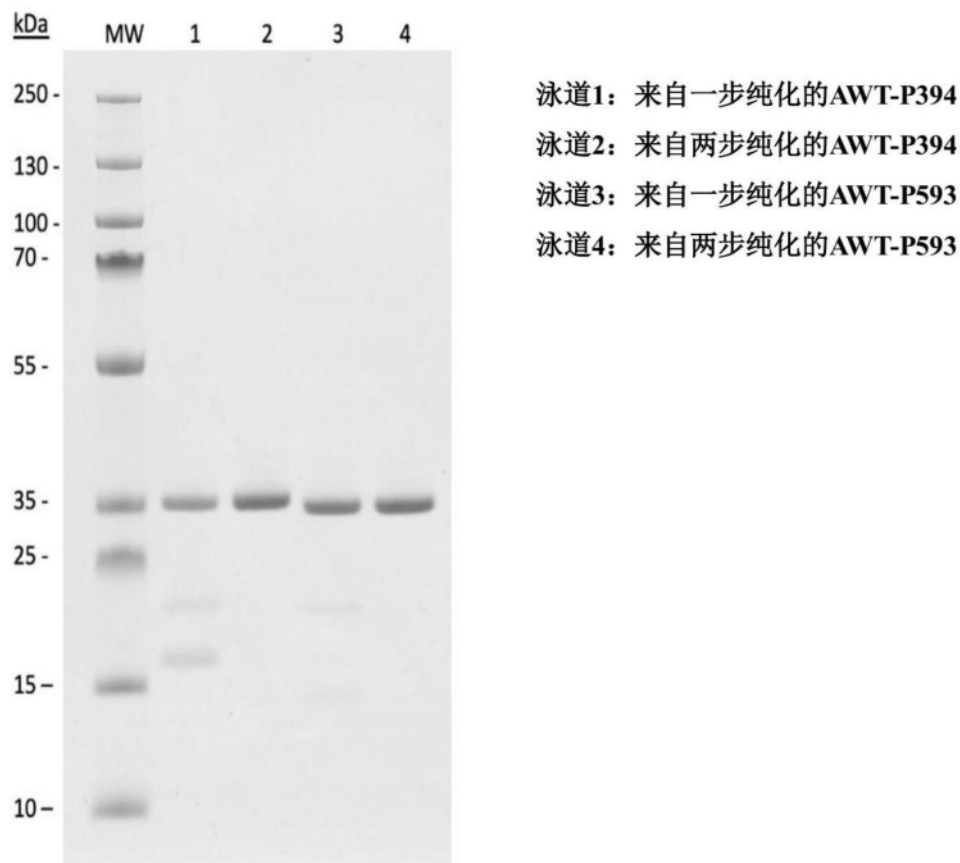


图9A

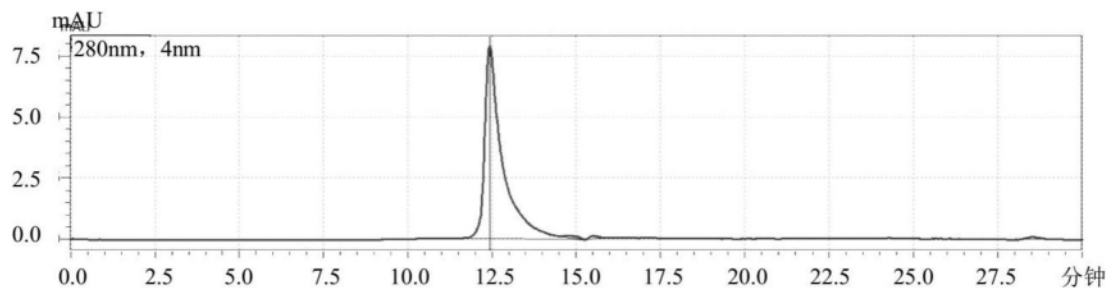


图9B

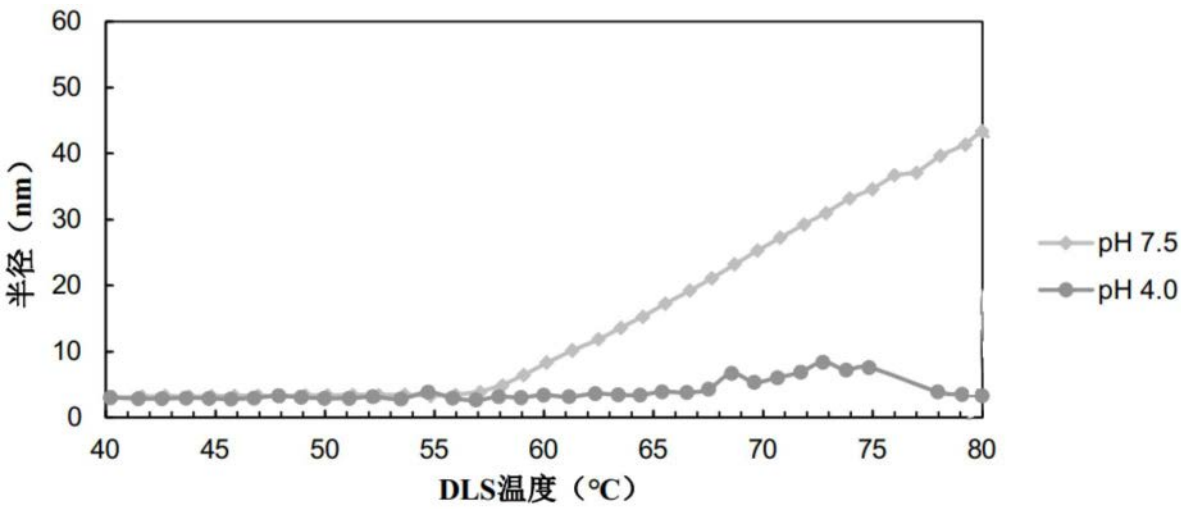


图9C

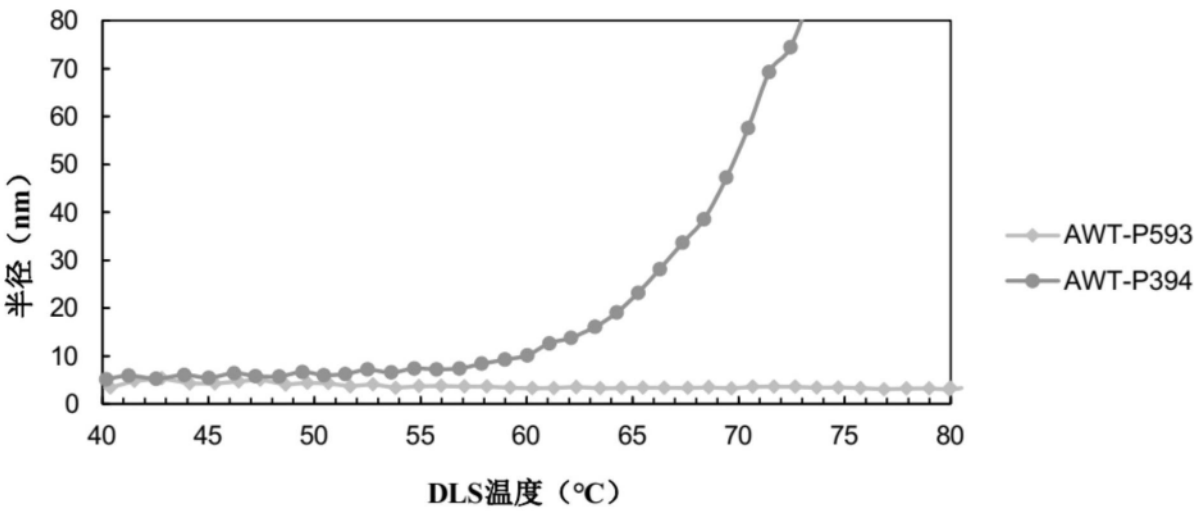


图9D

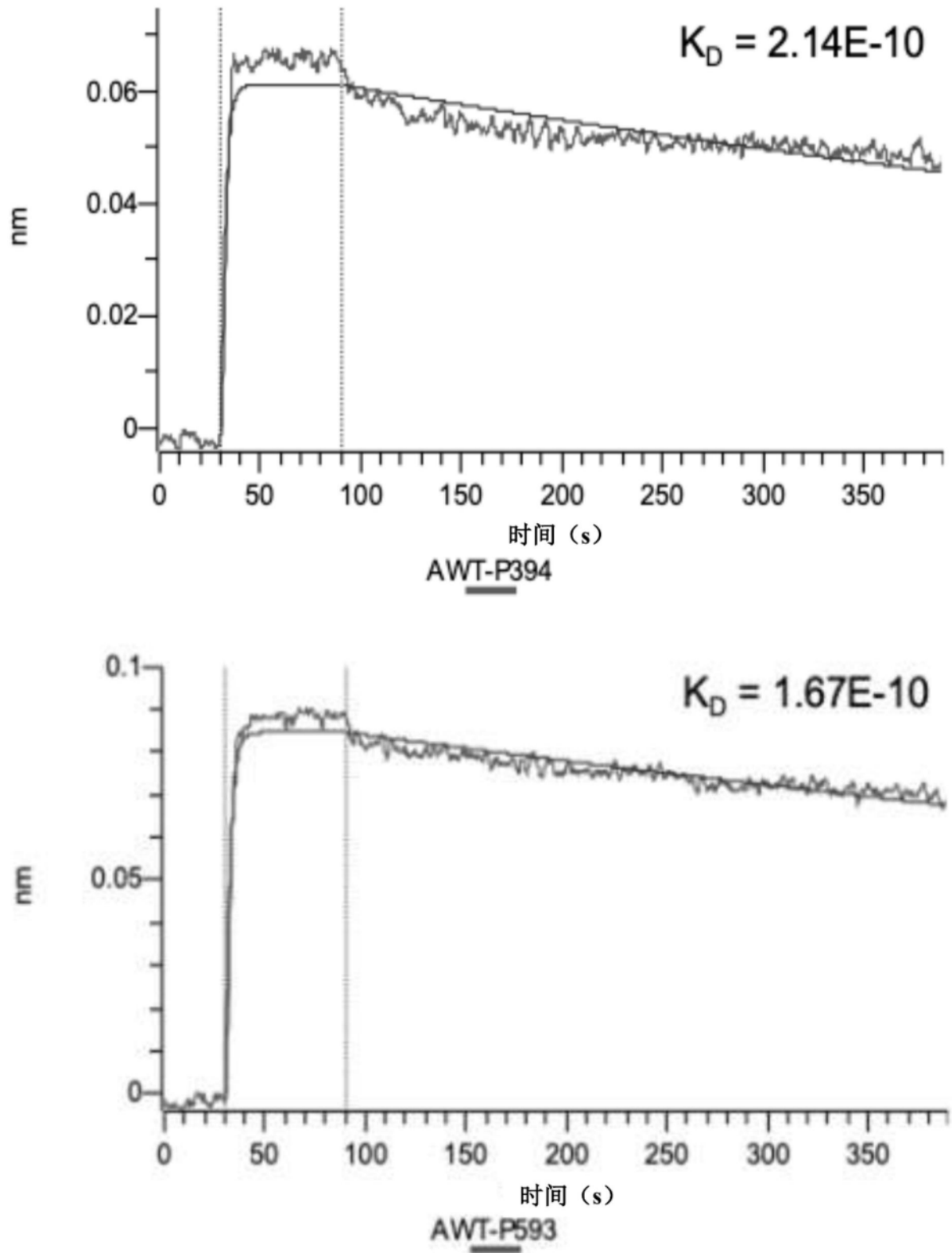


图9E

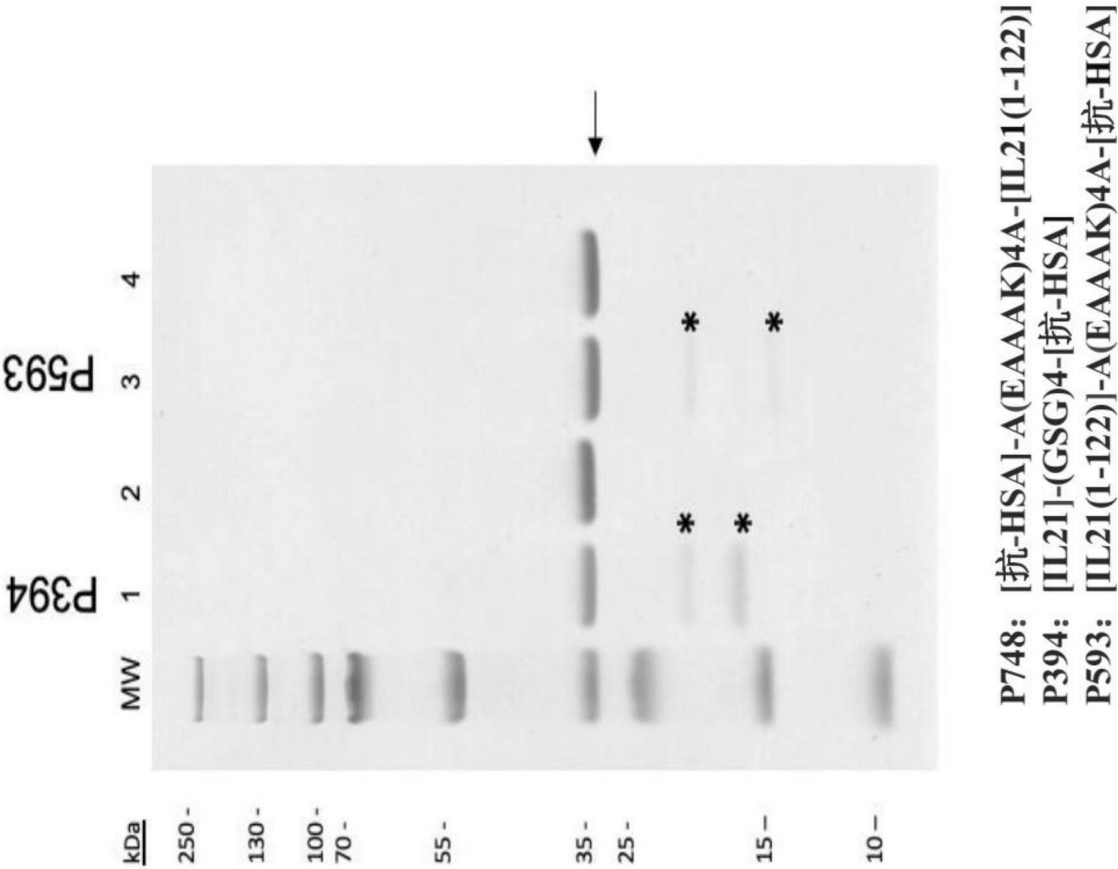


图9F

16/34

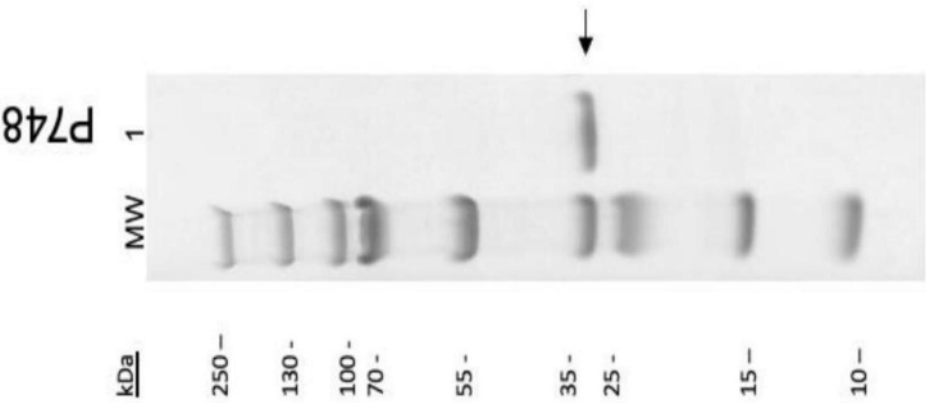


图9G

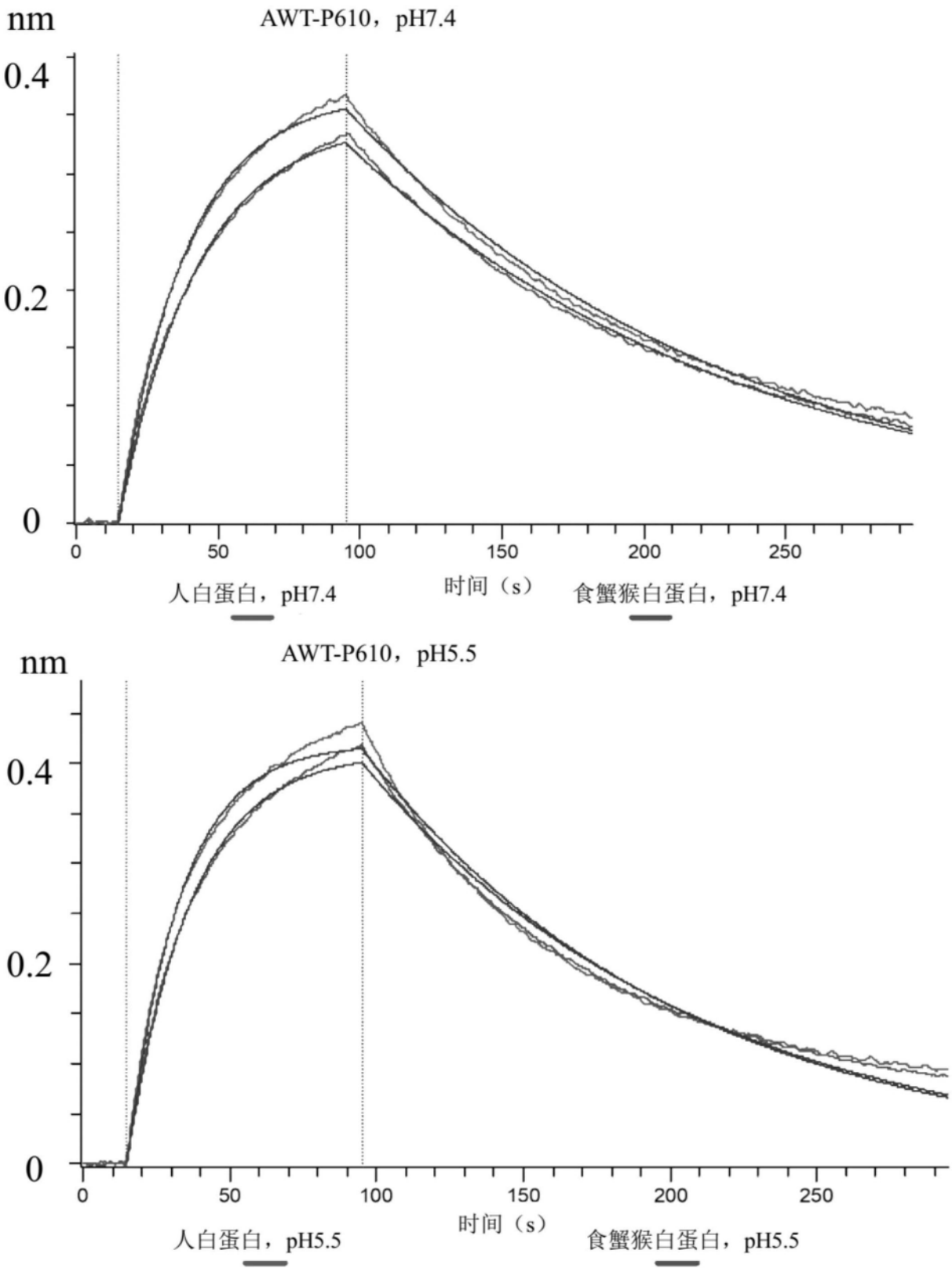


图10A

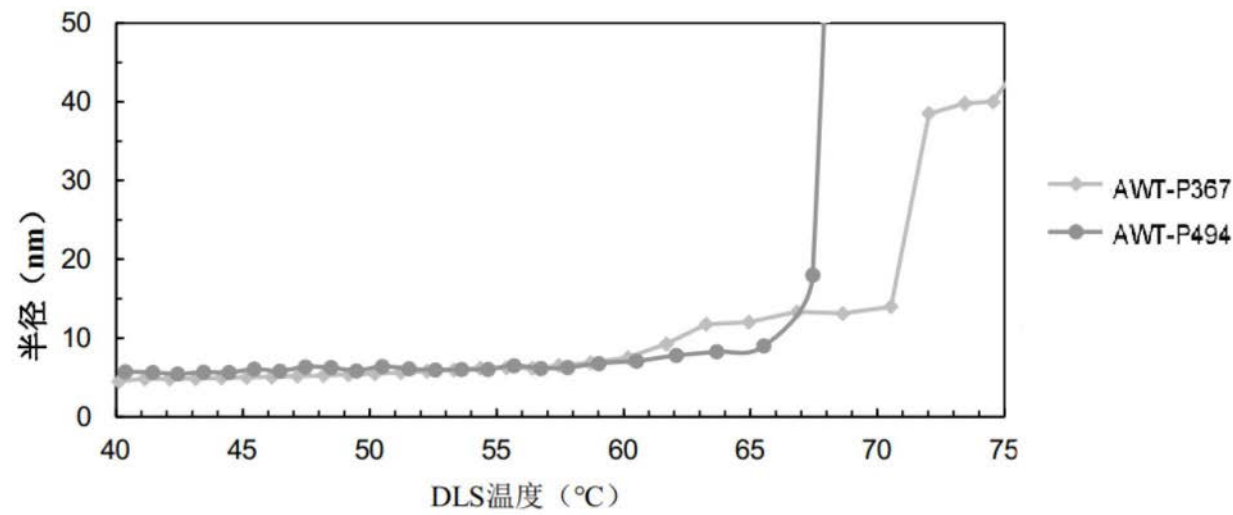


图10B

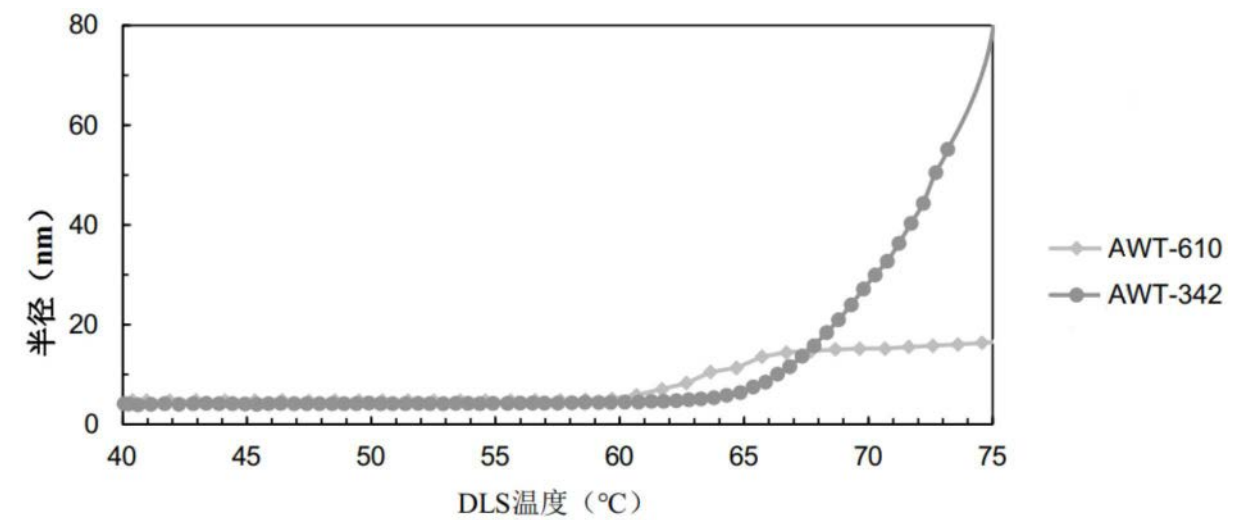


图10C

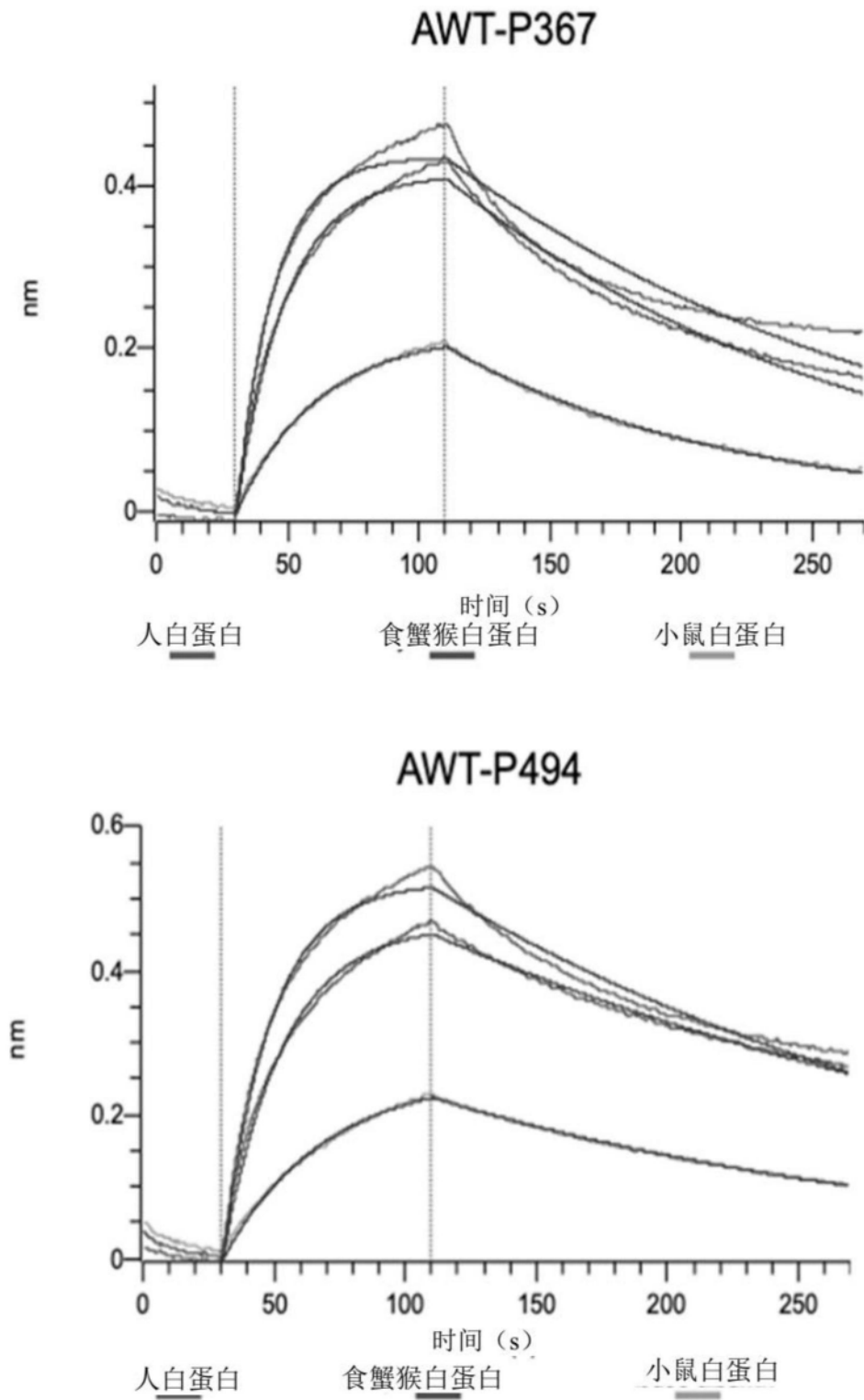


图10D

抗体	抗原	K _D
AWT-P367	人SA	1.75E-08
	猴SA	2.79E-08
	小鼠SA	7.69E-08
AWT-P494	人SA	1.72E-08
	猴SA	1.74E-08
	小鼠SA	4.72E-08

图10E

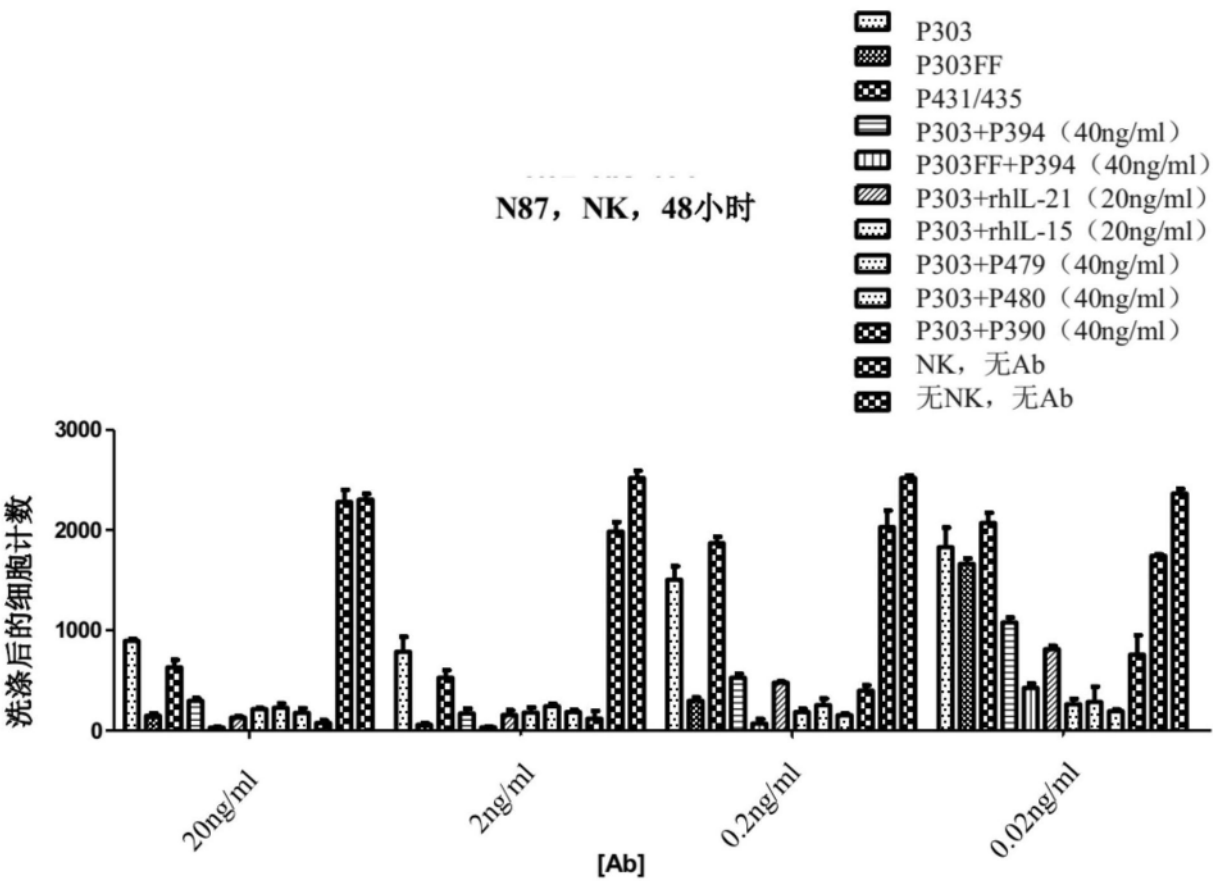


图11

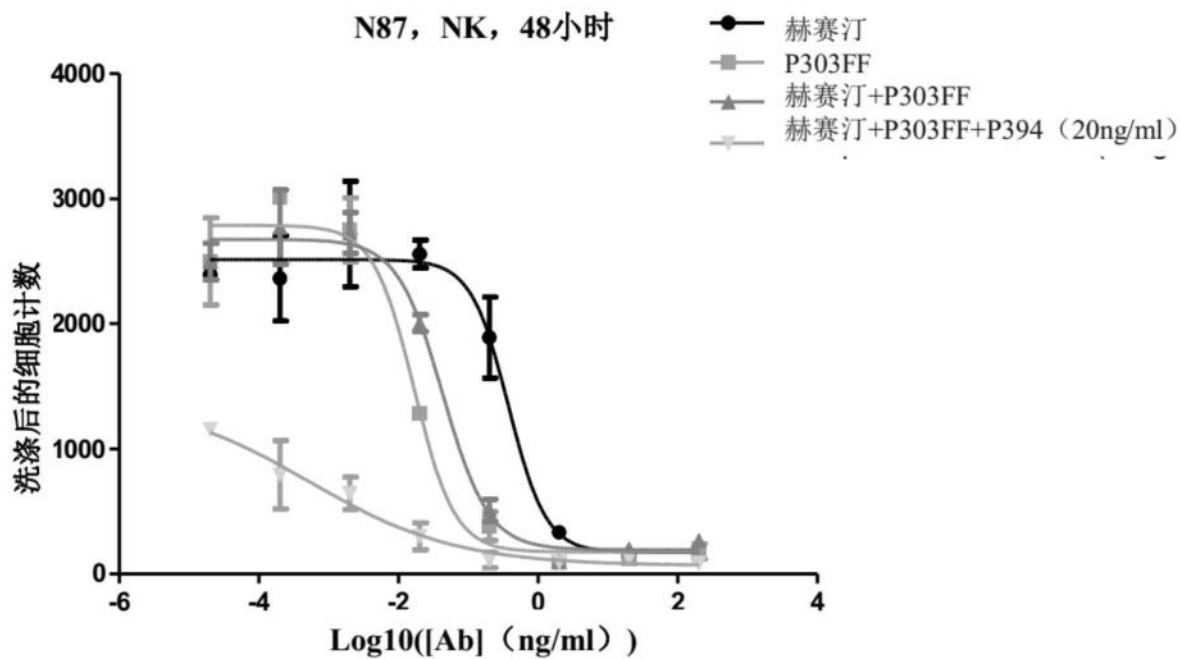


图12

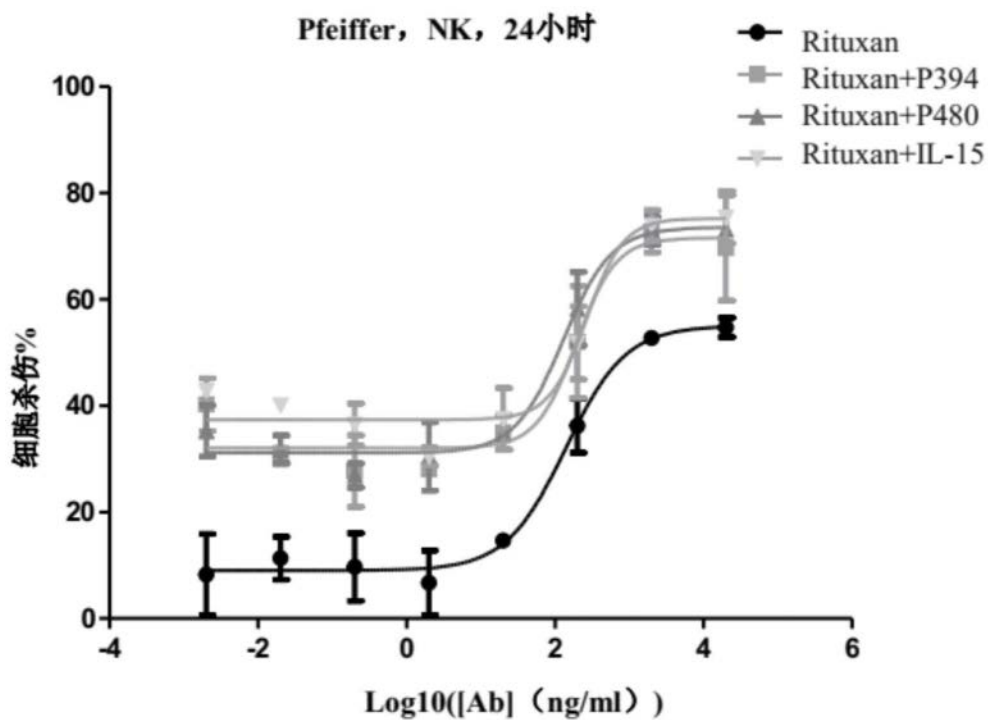


图13

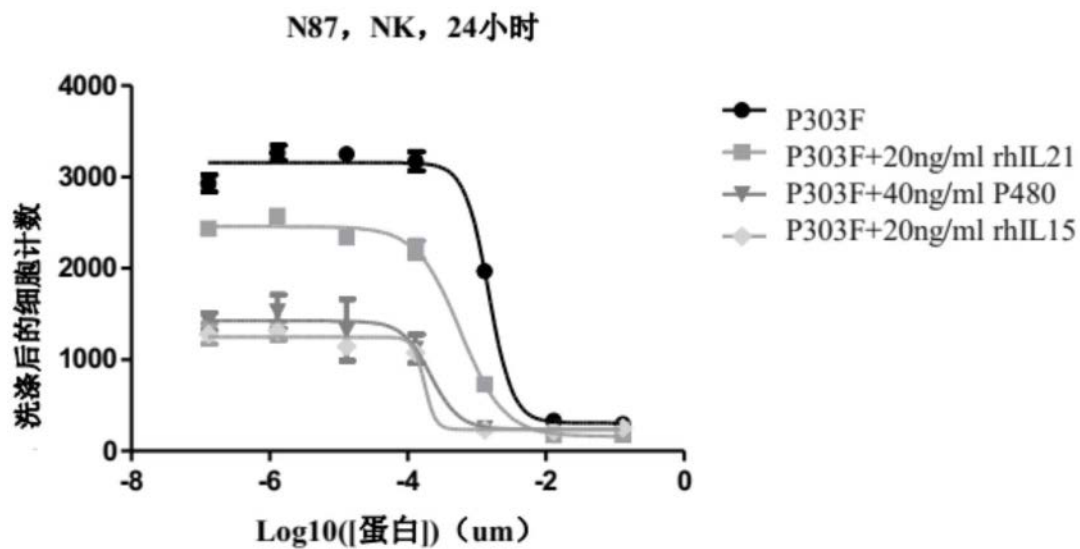
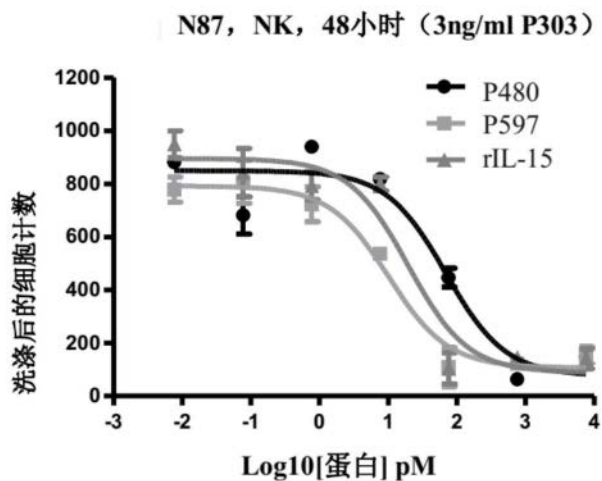


图14



	P480	P597	rIL-15
IC50	69.25	10.15	19.60

图15

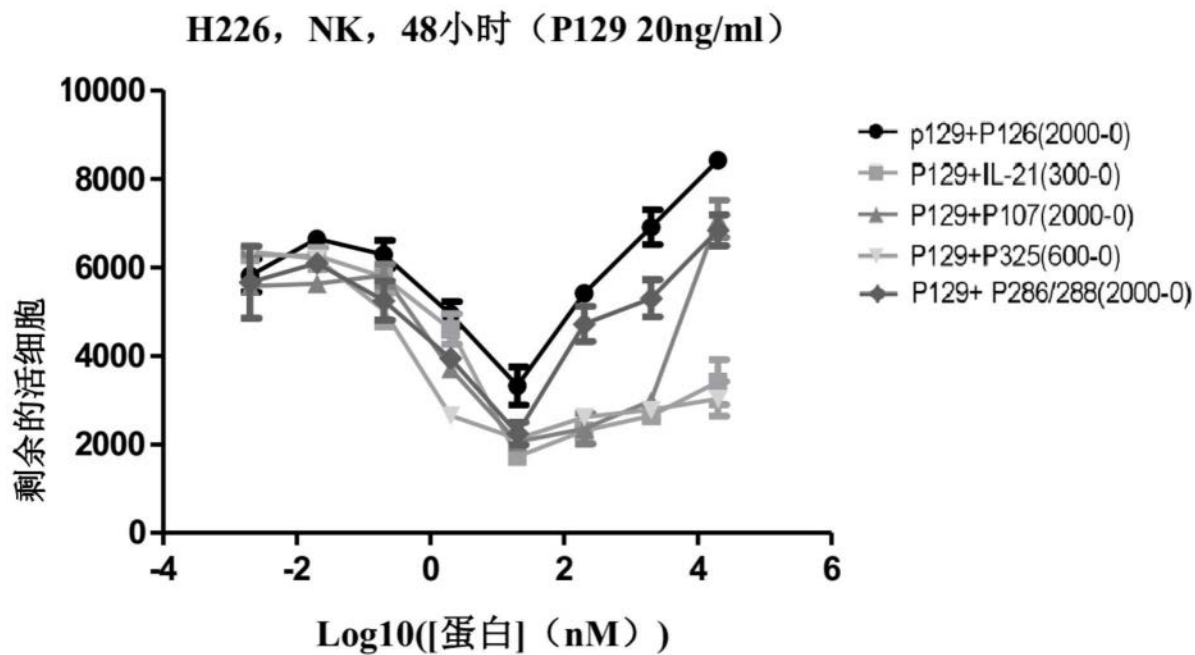


图16

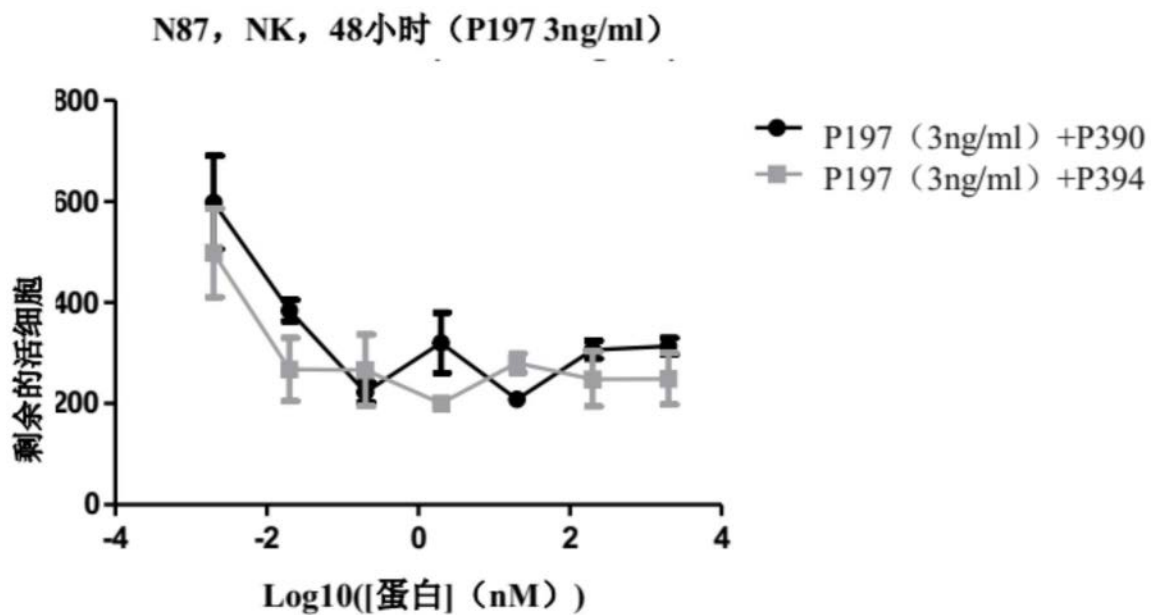


图17

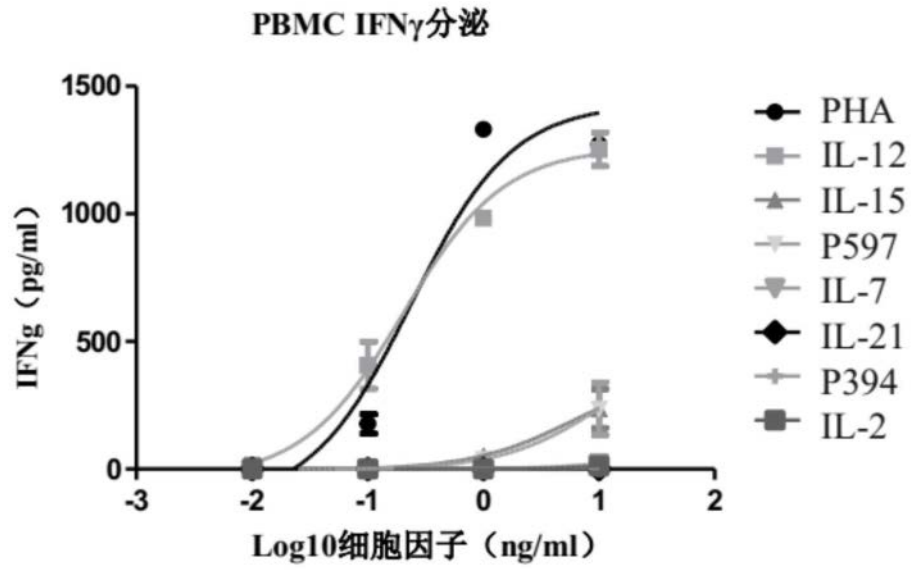


图18A

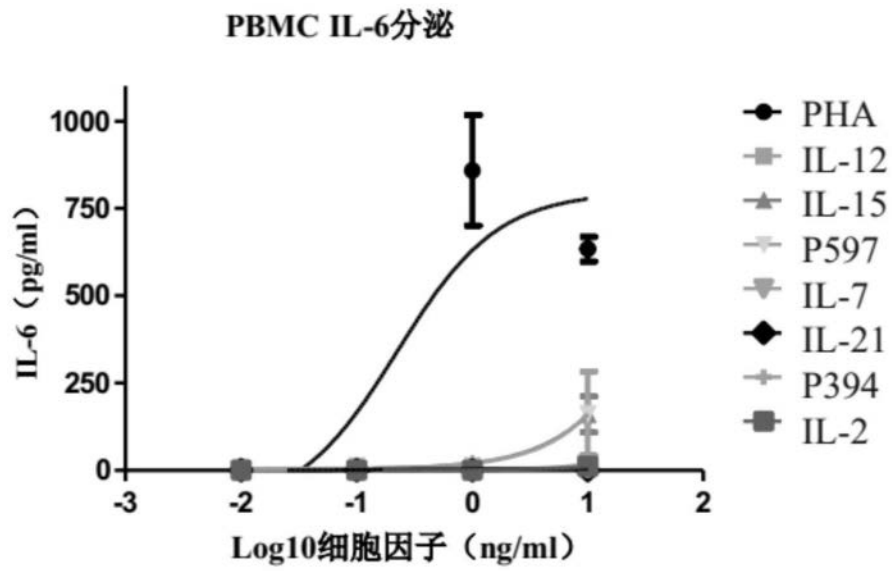


图18B

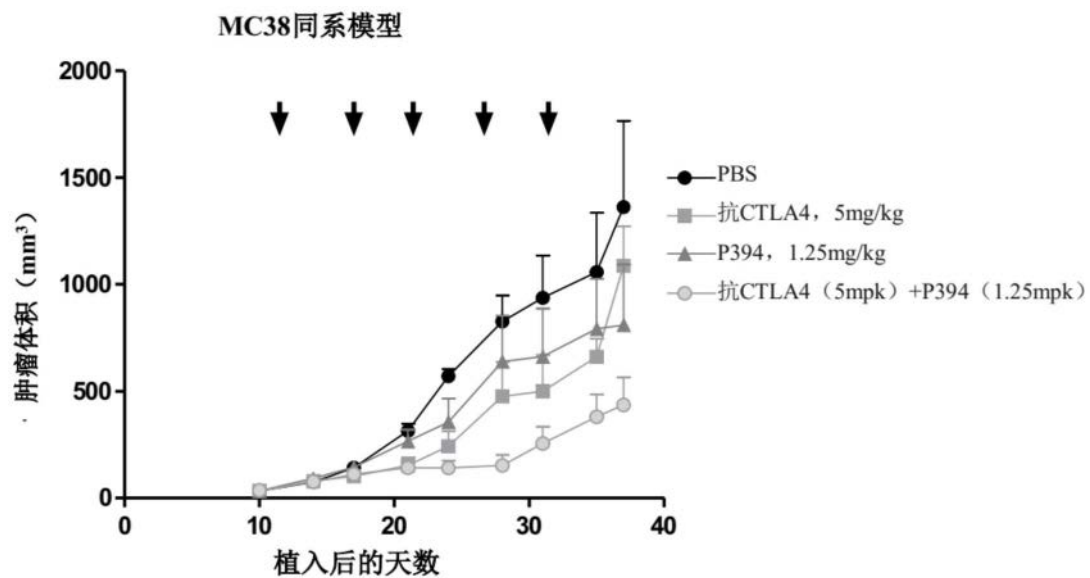


图19A

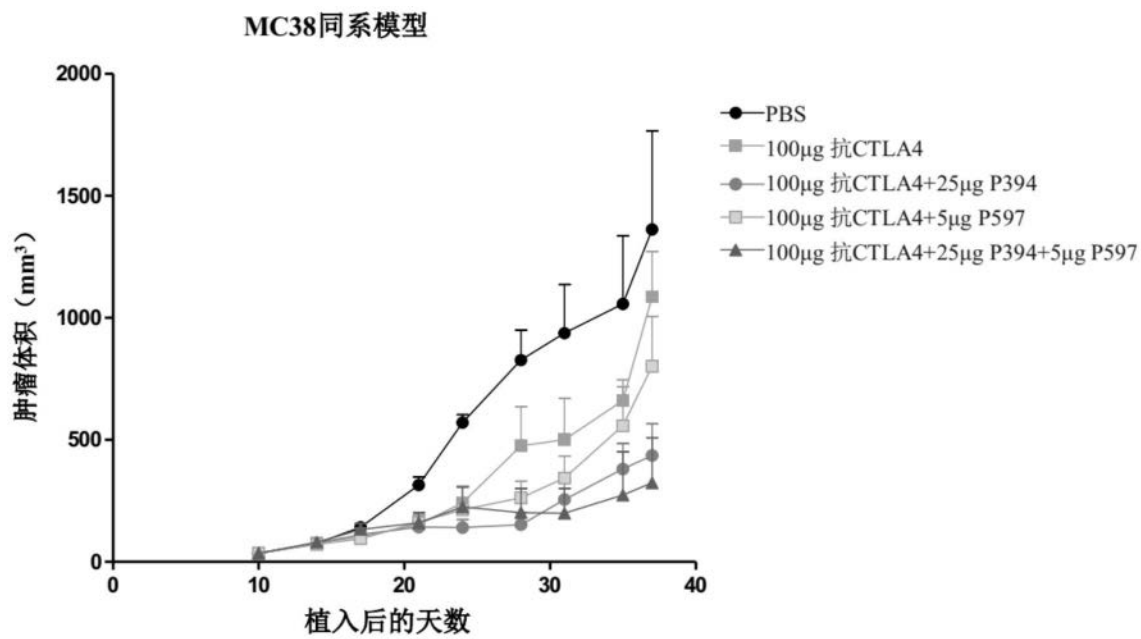


图19B

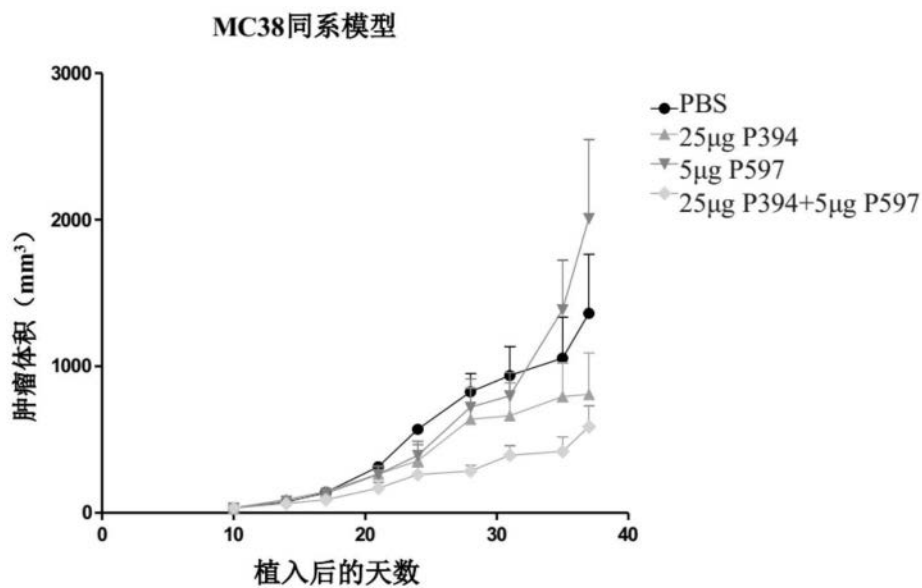


图20

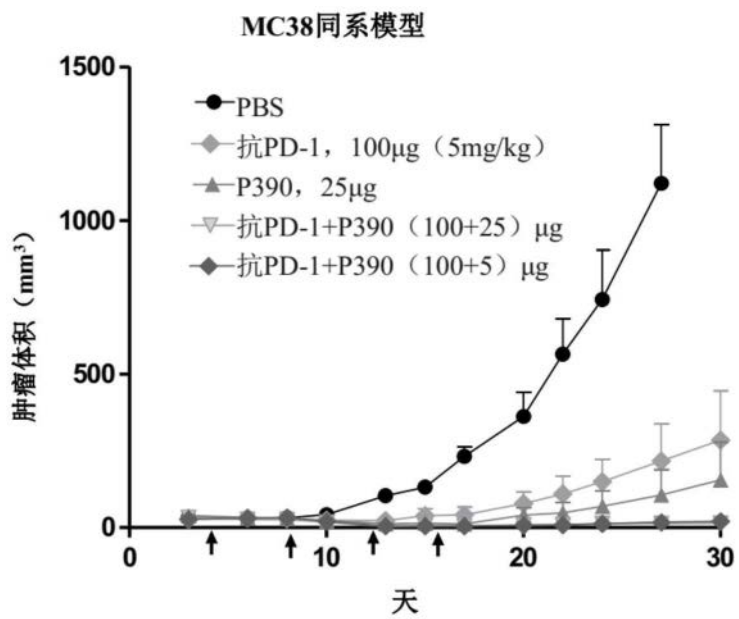


图21

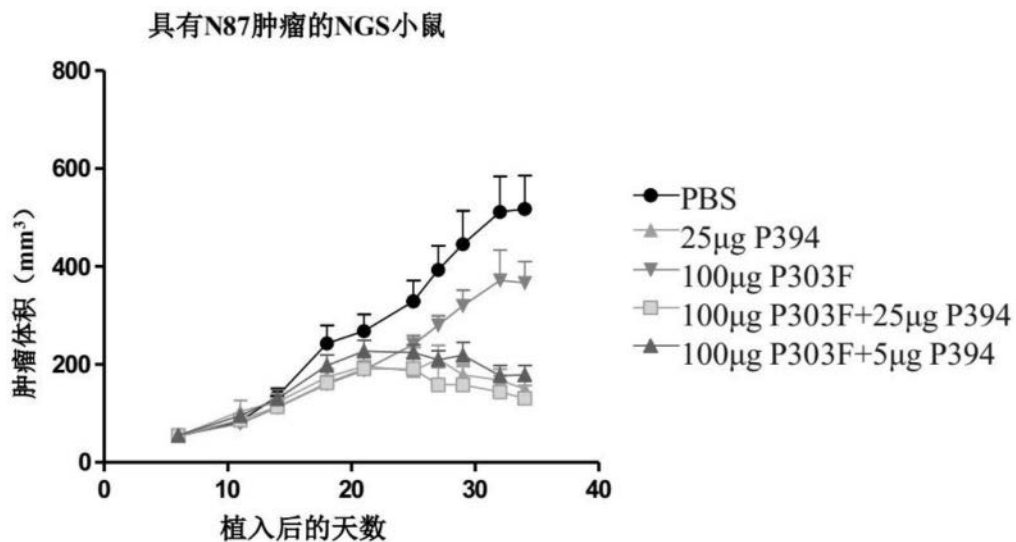


图22

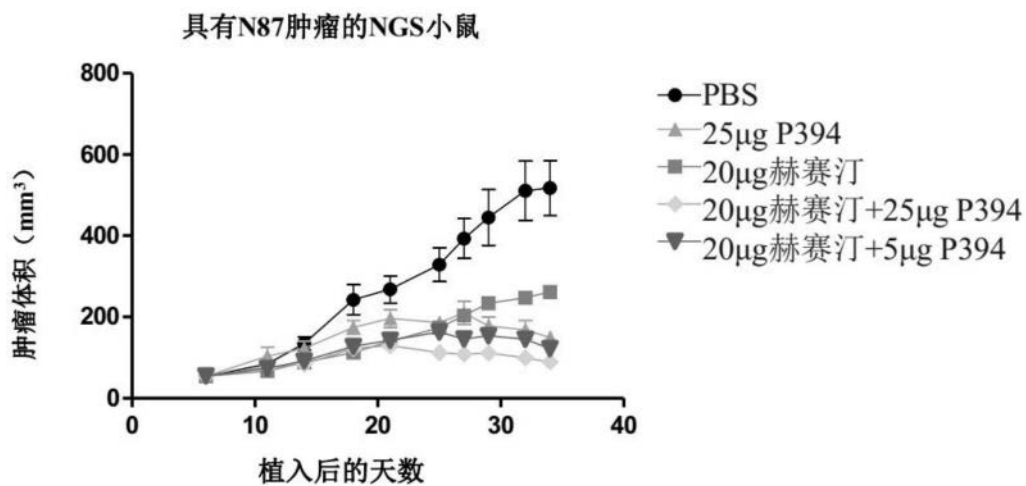


图23

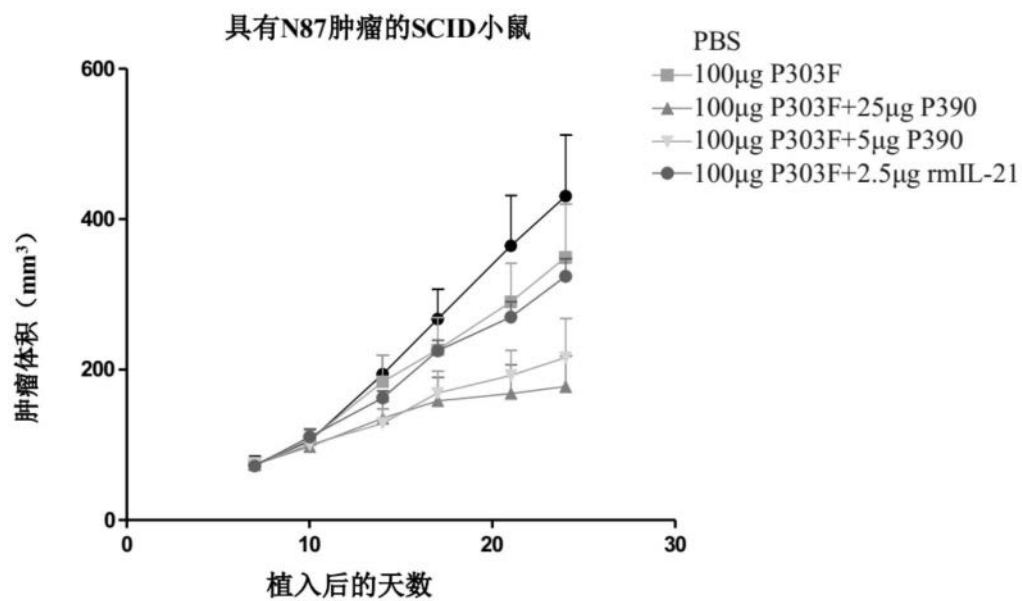


图24

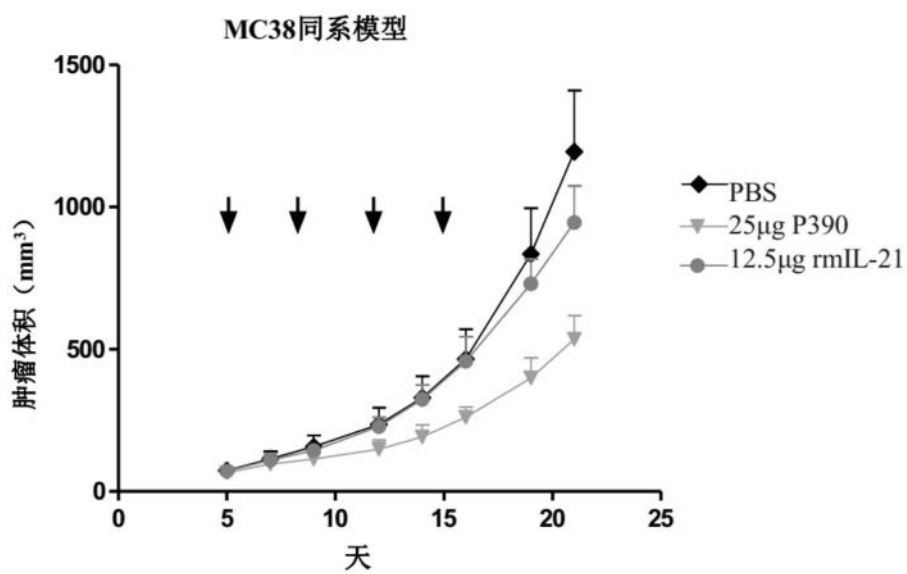


图25

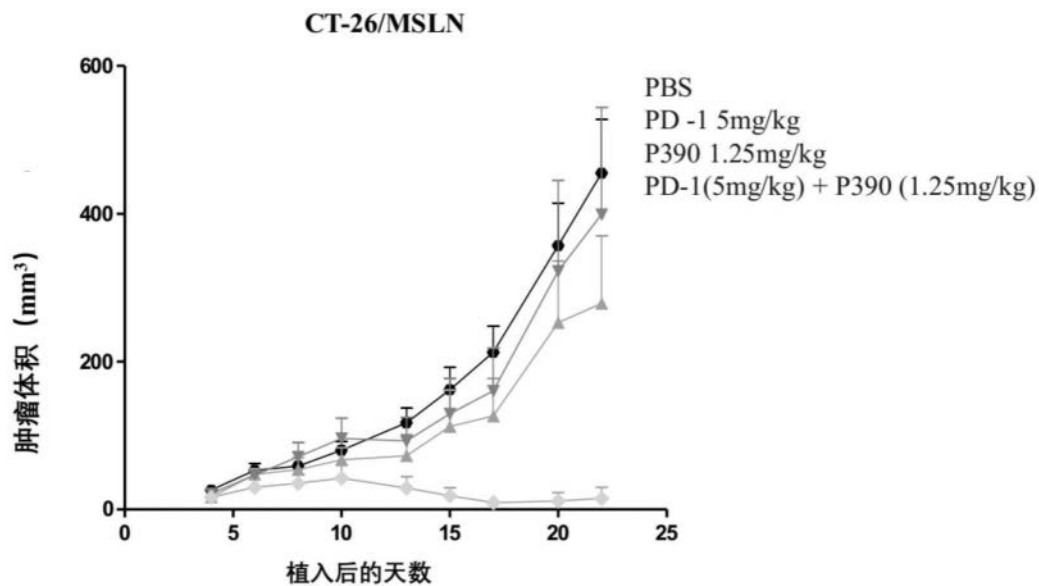


图26

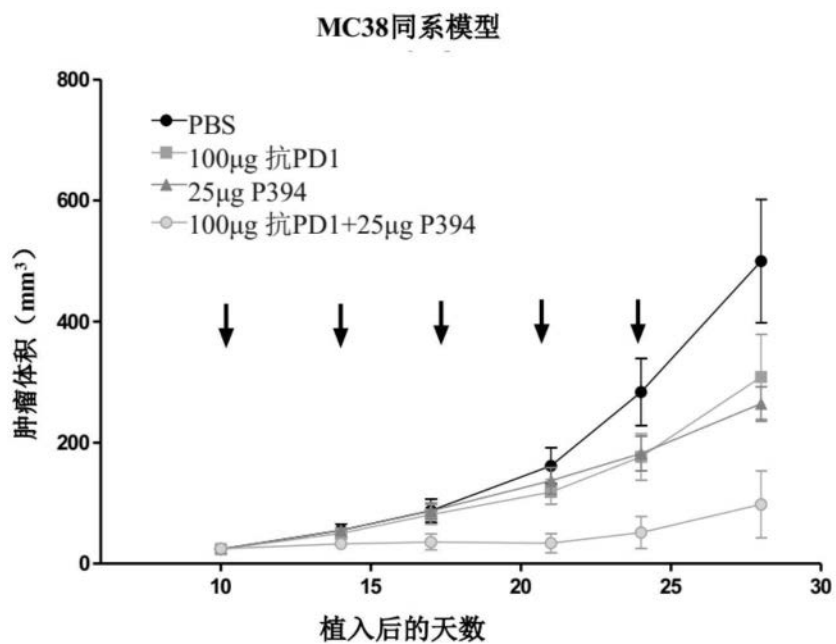


图27

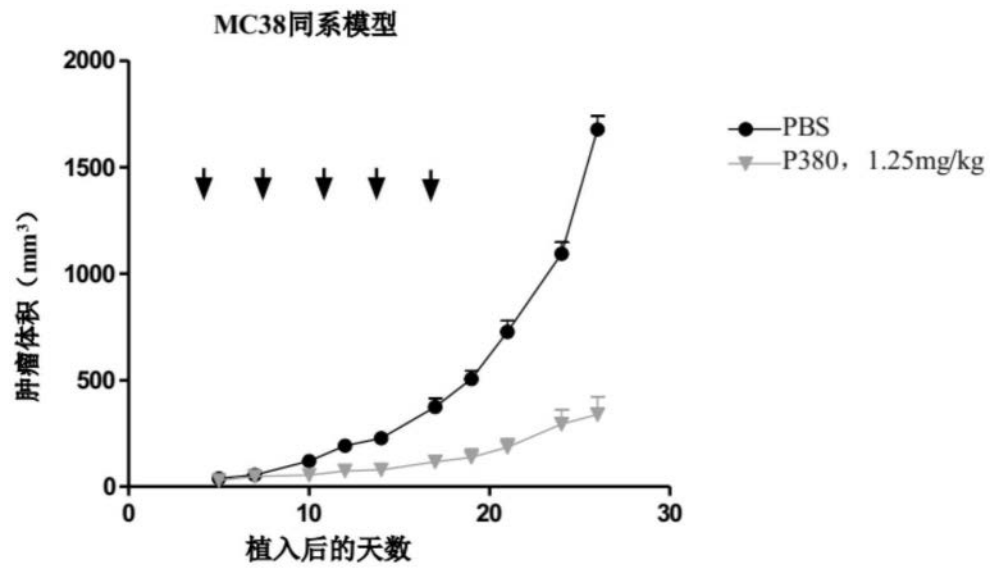


图28

总NK细胞的颗粒酶B+

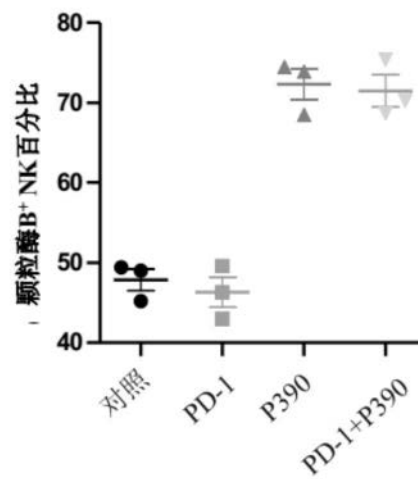


图29A

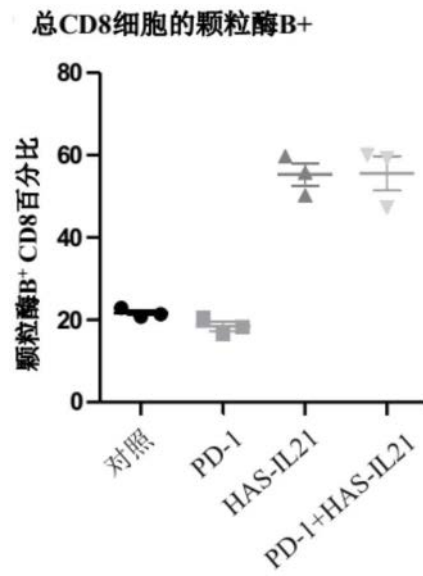


图29B

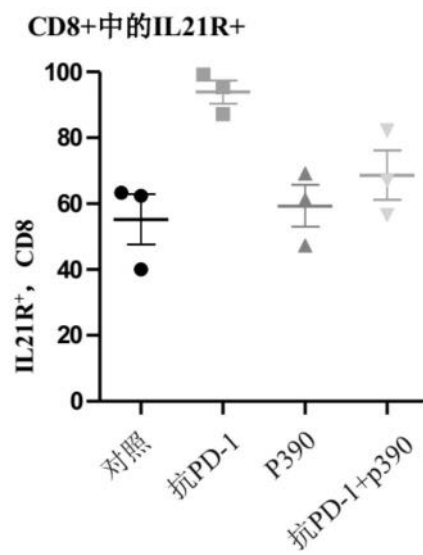


图30A

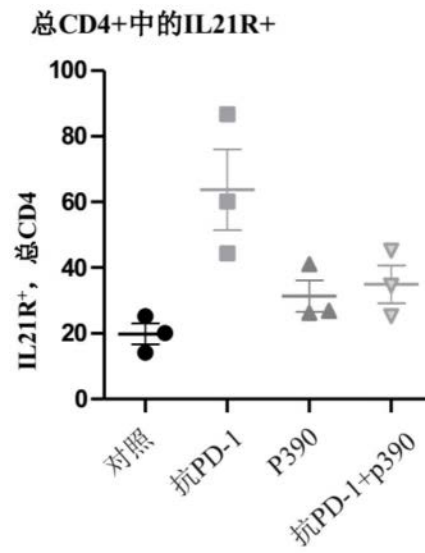


图30B

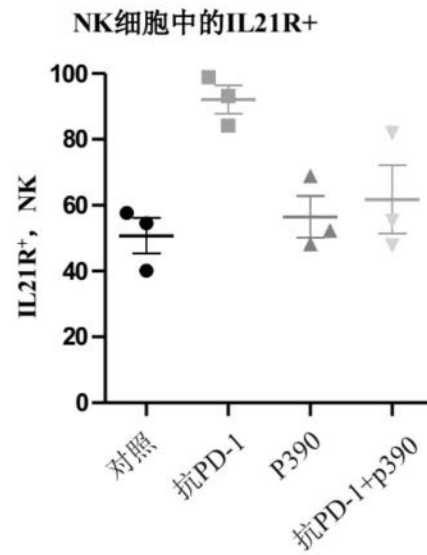


图30C

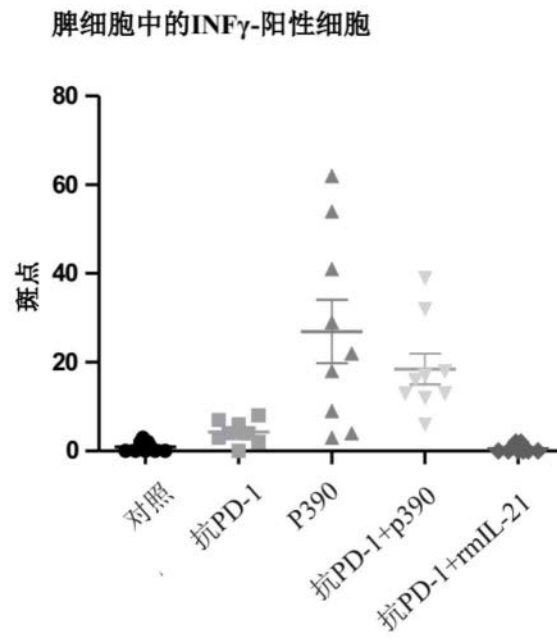


图31

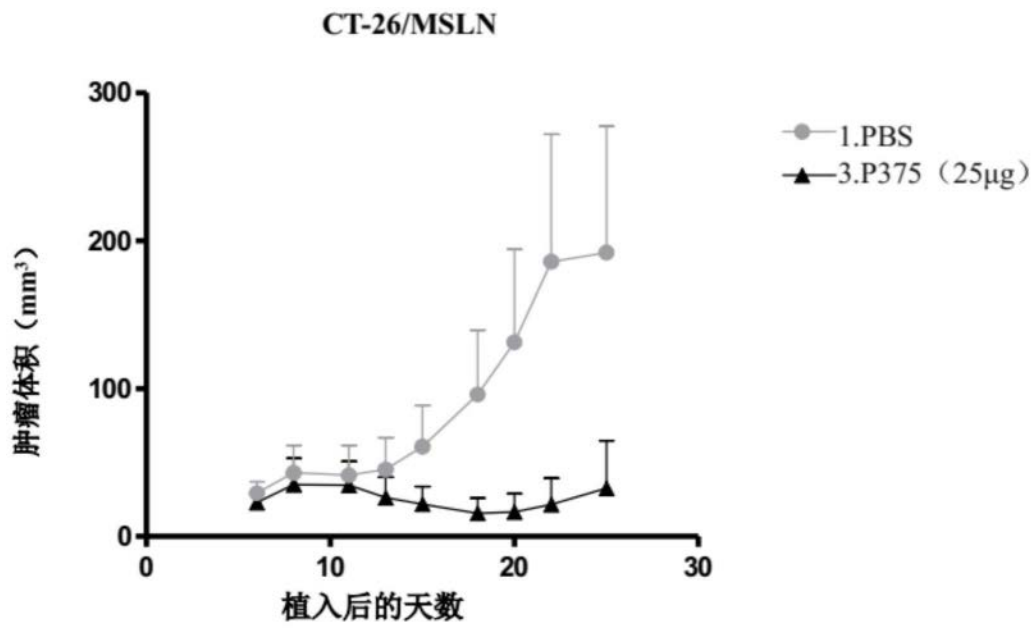


图32

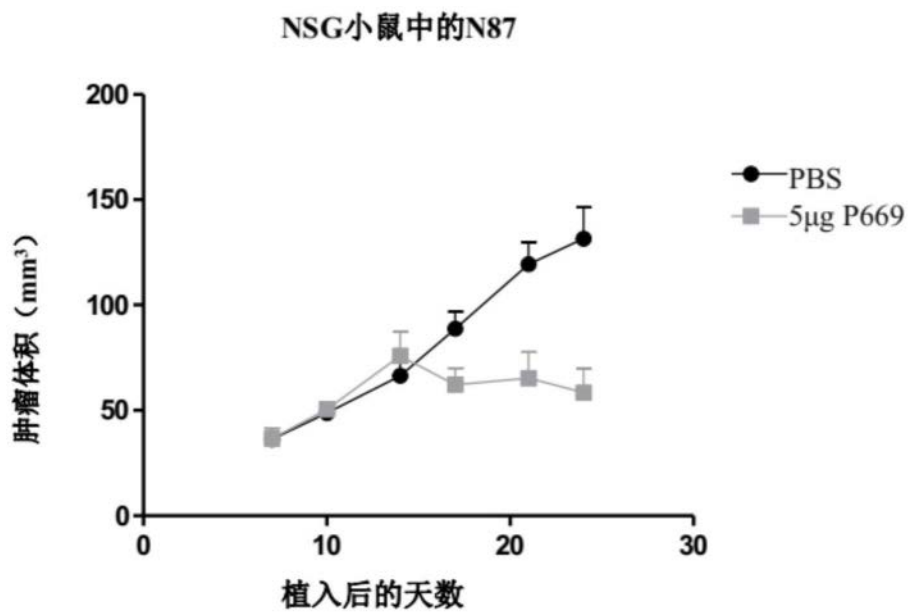
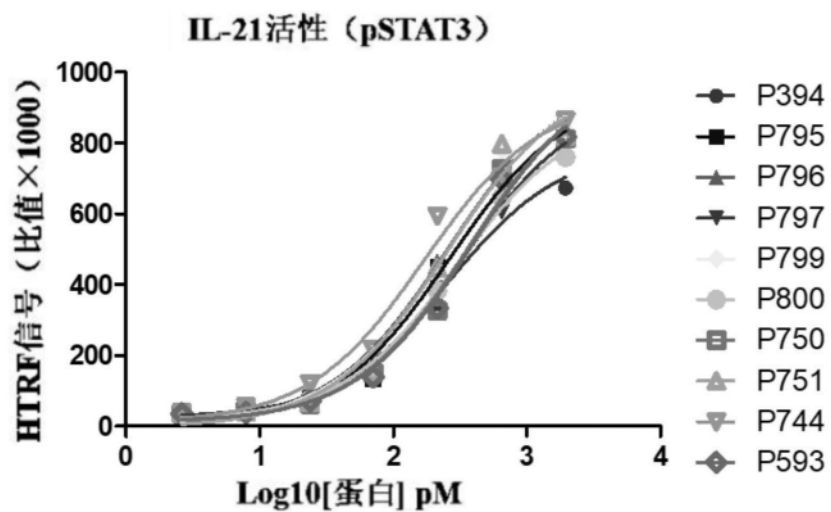


图33



	P394	P795	P796	P797	P799	P800	P750	P751	P744	P593
EC50	254.7	265.4	253.8	342.2	257.9	301.4	370.6	249.6	171.9	388.9

图34

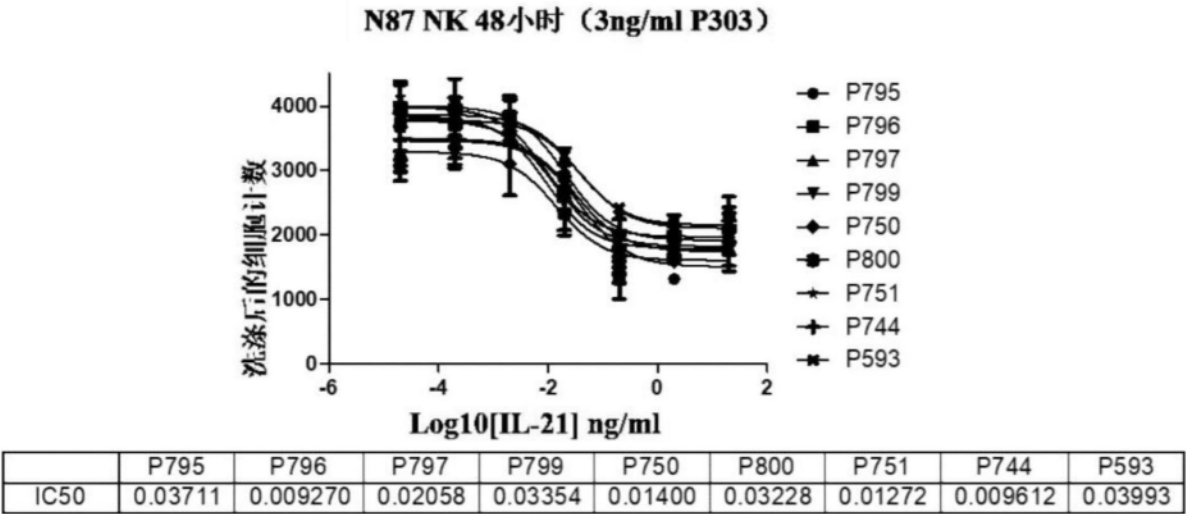


图35