



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202216761 A

(43)公開日：中華民國 111 (2022) 年 05 月 01 日

(21)申請案號：110125787

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 07 月 14 日

(51)Int. Cl.：

C07K16/22 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P27/02 (2006.01)

(30)優先權：2020/07/16

美國

63/052,789

2021/03/04

美國

63/156,709

(71)申請人：瑞士商諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)

瑞士

(72)發明人：比吉羅 查德 艾瑞克 BIGELOW, CHAD ERIC (US)；迦利昂 安娜 瑪麗亞 CARRION, ANA MARIA (US)；雀絲坦 詹姆士 艾德加 CHASTAIN, JAMES EDGAR (US)；克拉克 柯克 李 CLARK, KIRK LEE (US)；艾特梅 吉伯森 畢詹 亞歷山大 ETEMAD-GILBERTSON, BIJAN ALEXANDRE (US)；高希 喬依 吉斯帕提 GHOSH, JOY GISPATI (US)；漢克斯 蕭恩 麥可 HANKS, SHAWN MICHAEL (US)；后伯斯特 尼可 HAUBST, NICOLE (DE)；伊耶 甘尼許 拉詹 IYER, GANESH RAJAN (US)；莫克爾 妮娜 MOKER, NINA (DE)；高溫 安卓 安 NGUYEN, ANDREW ANH (US)；普爾 史丹芬 亨德里克 POOR, STEPHEN HENDRICK (US)；仇 宇彬 QIU, YUBIN (US)；蘭加斯瓦米 納里尼 偉拉莫爾 RANGASWAMY, NALINI VELAMUR (US)；史蒂芬尼達奇斯 麥克 STEFANIDAKIS, MICHAEL (US)；托克索 安泰 TOKSOZ, ENGIN (DE)；特瓦羅格 麥可 茲比格紐 TWAROG, MICHAEL ZBIGNIEW (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：30 項 圖式數：23 共 454 頁

(54)名稱

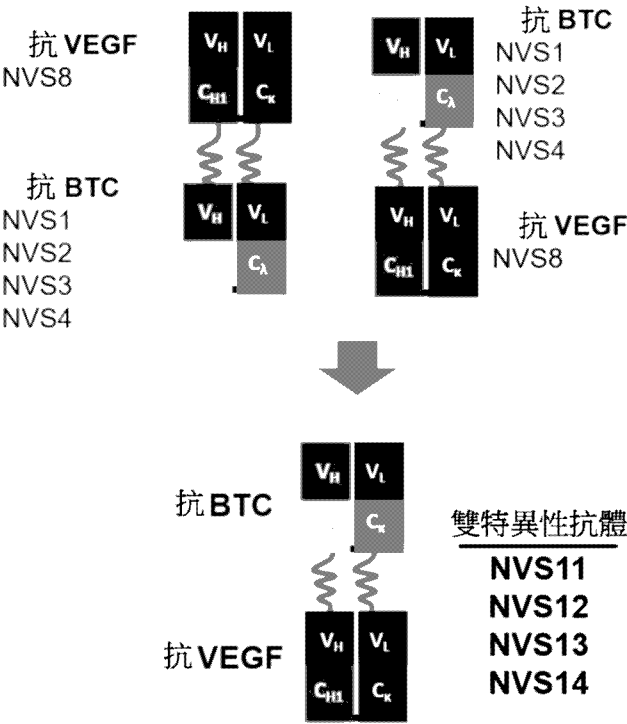
抗β細胞素抗體、其片段及多特異性結合分子

(57)摘要

本揭露提供了抗 BTC 抗體，產生該抗體之方法，包含該抗體之藥物組成物，以及使用該抗體之方法。本揭露還提供了包含 BTC 結合部分及抗 VEGF 結合部分之多特異性結合分子，例如，雙特異性抗體。

The present disclosure provides anti-BTC antibodies, methods of producing said antibodies, pharmaceutical compositions comprising said antibodies, and methods of using said antibodies. The present disclosure also provides multi-specific binding molecules, e.g., bispecific antibodies, comprising a BTC binding moiety and an anti-VEGF binding moiety.

指定代表圖：



【圖3】



【發明摘要】

【中文發明名稱】 抗 β 細胞素抗體、其片段及多特異性結合分子

【英文發明名稱】 ANTI-BETACELLULIN ANTIBODIES, FRAGMENTS

THEREOF, AND MULTI-SPECIFIC BINDING MOLECULES

【中文】

本揭露提供了抗BTC抗體，產生該抗體之方法，包含該抗體之藥物組成物，以及使用該抗體之方法。本揭露還提供了包含BTC結合部分及抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，例如，雙特異性抗體。

【英文】

The present disclosure provides anti-BTC antibodies, methods of producing said antibodies, pharmaceutical compositions comprising said antibodies, and methods of using said antibodies. The present disclosure also provides multi-specific binding molecules, *e.g.*, bispecific antibodies, comprising a BTC binding moiety and an anti-VEGF binding moiety.

【指定代表圖】 圖3

【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 抗 β 細胞素抗體、其片段及多特異性結合分子

【英文發明名稱】 ANTI-BETACELLULIN ANTIBODIES, FRAGMENTS
THEREOF, AND MULTI-SPECIFIC BINDING MOLECULES

【技術領域】

【0001】 本發明關於抗體或其抗原結合片段，該等抗體或其抗原結合片段的產生方法，包含該等抗體或其抗原結合片段的藥物組成物，以及該等抗體或其抗原結合片段之使用方法。

【先前技術】

【0002】 β 細胞素 (Betacellulin, BTC) 係表皮生長因子 (EGF) 家族成員，最初分離自小鼠胰腺B細胞腫瘤細胞系的條件培養基 (Shing等人, *Science* [科學], 259, 1604-1607, 1993)。BTC係ErbB受體酪胺酸激酶家族的配體並主要活化ErbB1和ErbB4同源二聚體，從而觸發抗凋亡和促增殖傳訊通路，如Ras/MAPK通路和PL3K/AKT通路。

【0003】 BTC最初表現為單通跨膜蛋白，並隨後被MMP家族成員切割（活化）為9 kDa分泌性蛋白。主要藉由ADAM-10（解整聯蛋白和金屬蛋白酶-10），將BTC的膜錨定形式切割以釋放分泌形式 (Sahin等人, *J. Cell Biol.* [細胞生物學雜誌] 164, 769-779, 2004；Sahin和Blobel, *FEBS Lett* [FEBS快報] 581, 41-44, 2007；以及Sanderson等人, *J. Biol. Chem.* [生物化學雜誌] 280, 1826-1837, 2005)。成熟的分泌性人BTC係32-kDa的糖蛋白，其由藉由切割原BTC產生的80個胺基酸殘基

(Asp1-Tyr80, 178個殘基的膜錨定前體蛋白 (原BTC) 中的殘基32至111, 該原BTC如NP_001720.1或SEQ ID NO: 156所述) 構成。BTC的羧基末端的50個殘基的區域 (Arg31-Tyr80) 中含有EGF蛋白家族之保留一致序列。

【0004】除了在心臟、肺、肝臟、骨骼肌、腎臟、前列腺、睪丸、卵巢和結腸中BTC mRNA的表現略低外, 在包括胰腺、肝臟、腎臟和小腸在內的許多組織中都檢測到了強烈的表現 (Sasada等人, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* [生物化學與生物物理研究通訊] 190, 1173-1179, 1993 ; Sasada和Igarashi, *Nihon. Rinsho.* [日本臨床醫學雜誌] 51, 3308-3317, 1993 ; 以及Seno等人, *Growth Factors* [生長因子] 13, 181-191, 1996)。敲除BTC的小鼠係活的且可育的, 未展示出明顯的表型。

【0005】 BTC mRNA的高表現表明BTC可能在胰腺的發育和功能中具有生理作用。與正常胰腺表現水平相比, 10例胰臟癌中發現有9例的BTC水平升高了7.5倍 (Yokoyama等人, 1995)。在胰腺中, BTC表現定位於與產生胰島素的B細胞密切相關的胰島細胞群 (Miyagawa等人, *Endocr. J.* [內分泌雜誌] 46, 755-764, 1999)。BTC可調節胰島生理機能, 並可誘導胎兒胰臟細胞增殖並刺激非β細胞轉化為β樣產生胰島素的細胞。而且, 據報導在子宮內膜腺癌 (Srinivasan等人, 1999) ; 肝細胞癌 (Moon等人, 2006) ; 頭頸部鱗狀細胞癌 (O-charoenrat等人, 2000) ; 以及胃癌 (Jemal等人, 2011) 中存在BTC的過表現。

【0006】在哺乳動物的眼睛中, BTC蛋白由視網膜色素上皮 (RPE) 細胞、內皮細胞和繆勒氏細胞 (Mueller cell) 合成 (Anand-Apte等人, *PLoS One* [公共科學圖書館綜合] 5, e13444, 2010), 並位於血-視網膜外屏障中。

【0007】雖然已經研究了BTC在血管內皮功能中的一般作用, 但其在視網膜中的具體作用目前尚不清楚。關於BTC對RPE細胞的增殖作用 (Shing等人,

1993) 及其促血管生成功能的初步報導表明, BTC可能在增生型糖尿病性視網膜病變 (PDR) 中發揮作用。雖然糖尿病小鼠沒有表現出PDR, 但它們確實示出了增加的視網膜血管通透性 (Poulaki等人, *J. Clin. Invest.* [臨床研究雜誌] 109, 805-815, 2002)。此外, 已經確定, 在糖尿病小鼠模型中, 可溶性切割的BTC在視網膜中增加了並促成了視網膜血管通透性之增加 (Anand-Apte等人, 2010)。

【0008】視網膜下注射表現可溶性BTC的腺相關病毒導致小鼠視網膜血管通透性急劇增加。總體而言, BTC似乎是一種有效的通透性因子, 其可在糖尿病性視網膜病變中增加的視網膜血管通透性的發展中發揮關鍵作用, 並成為該疾病的潛在治療靶標。

【0009】血管內皮生長因子 (VEGF) 已示出其是與腫瘤和眼內障礙相關的新血管形成的關鍵介質。VEGF係有效的血管通透性因子並且在導致血管滲漏方面係必要的。在哺乳動物的眼睛中, VEGF位於血-視網膜內屏障中。當與非糖尿病性眼睛狀況相比時, 在患有糖尿病性黃斑水腫 (DME) 的患者的玻璃體中VEGF水平顯著升高 (Funatsu等人, *Ophthalmology* [眼科學] 2009 116: 73-9)。

【0010】多種抗VEGF藥物被用於治療眼科障礙, 例如年齡相關性黃斑變性 (AMD) 和/或DME, 包括哌加他尼 (pegaptanib) (抗VEGF適配體; Macugen, OSI公司); 蘭尼單抗 (抗VEGF Fab; Lucentis, 基因泰克公司 (Genentech)); 貝伐珠單抗 (bevacizumab) (全長人源化抗體; Avastin, 基因泰克公司 (Genentech)); 布洛賽珠單抗 (brolucizumab) (抗VEGF scFv; Beovu, 諾華公司 (Novartis)); 和阿柏西普 (aflibercept) (抗VEGF Fab; Eylea, 再生元公司 (Regeneron))。其他抗VEGF分子包括可溶性VEGF受體類似物、VEGF-Trap (再生元公司 (Regeneron))、小干擾RNA (siRNA) 貝伐拉尼 (歐科生醫

股份有限公司（Opko Health））、和雷帕黴素（西羅莫司，馬庫賽特公司（MacuSight））。抗VEGF藥物在局部麻醉下作為玻璃體內注射劑遞送入眼睛。

【0011】然而，存在未滿足的需求，因為單獨的抗VEGF療法在患有眼科障礙（例如，DME）的患者中表現出次優響應。儘管抗VEGF劑減輕黃斑水腫，抑制血管生成並改善視力，但是並非所有DME患者都會經歷延長的實質性改善。例如，在治療12個月後，在接受抗VEGF療法的患者中，大約25%在視敏度方面沒有示出任何改善，而近50%的患者達不到20/40的合法駕駛視力（Mitchell等人, 2011）。例如，雷射光凝術或玻璃體內使用類固醇的替代療法不太成功並且有副作用（例如，眼內使用類固醇治療白內障（*Curr. Ophthalmol. Rep.* [當前眼科學報告] 2013年9月, 1 (3)））。

【0012】因此，存在鑒定如下因子的需要，該因子能夠進一步增強對抗VEGF療法的響應以改善用於對抗VEGF療法具有次優響應的患者的療法。

【圖式簡單說明】

【0013】[圖1]示出了Fab與BTC結合的結構。BTC示出為固體表面，而Fab示出為帶狀物。為了說明與Fab結合模式的不同，在所有小圖（為：A) BTC/Fab NVS2複合物，B) BTC/Fab NVS3複合物，C) BTC/Fab NVS1複合物，和D) BTC/Fab NVS4複合物）中，BTC結構處於相同的取向。

【0014】[圖2]示出Fab與BTC結合的結構性表位殘基。BTC示出為具有變化的取向的帶狀物，以突出表12、13、14和15中列出的表位殘基。表位殘基示出為球和棒並進行標記。A) BTC/Fab NVS2複合物，B) BTC/Fab NVS3複合物，C) BTC/Fab NVS1複合物，和D) BTC/Fab NVS4複合物。

【0015】 [圖3]提供了單特異性抗體和雙特異性抗體的圖示。

【0016】 [圖4]示出來自眼底照相術（左側小圖）和FFA視覺化（右側小圖）的小鼠視網膜圖像，該小鼠注射了scAAV2-CMV-BTC。

【0017】 [圖5A-5B]示出來自掃描雷射檢眼鏡檢查的小鼠視網膜圖像，該小鼠注射了scAAV2-CMV-BTC。

【0018】 [圖6A-6G]示出單特異性抗體和雙特異性抗體與BTC和/或VEGF的結合。

【0019】 [圖7A-7D]示出在單特異性抗體（NVS1-4）和雙特異性抗體（NVS11-14）的存在下，BTC與ErbB1的結合。

【0020】 [圖8A-8D]示出在單特異性抗體（NVS1-4）和雙特異性抗體（NVS11-14）的存在下，BTC與ErbB4的結合；圖8E和8F示出在NVS1、NVS11或NVS8的存在下，BTC與ErB1或ErbB4的結合；圖8G示出在NVS1、NVS11或NVS8的存在下，BTC誘導的EGFR磷酸化。

【0021】 [圖9A-9C]示出在單特異性抗體(NVS8)和雙特異性抗體(NVS11、NVS12、和NVS14)的存在下，VEGF-A與VEGFR2的結合。

【0022】 [圖10A-10D]示出在單特異性抗體（NVS1-4）和雙特異性抗體（NVS11-14）的存在下，BTC誘導的ERK1/2磷酸化。

【0023】 [圖11A-11D]示出在單特異性抗體（NVS1-4）和雙特異性抗體（NVS11-14）的存在下，BTC誘導的ErbB3磷酸化。

【0024】 [圖12A-12D]示出在單特異性抗體（NVS1-2）和雙特異性抗體（NVS11-14）的存在下，BTC誘導的HER3磷酸化。

【0025】 [圖13A和13B]示出在單特異性抗體（NVS1或NVS8）和雙特異性（NVS11）抗體的存在下，視網膜色素上皮（RPE）和人視網膜微血管內皮細胞（HREC）體外BTC誘導的通透性。

【0026】 [圖14]示出在抗BTC抗體 (LZR230) 和/或抗VEGF抗體 (4G3) 的存在下，糖尿病大鼠中高血糖症誘導的視網膜滲漏。

【0027】 [圖15A]示出在用VEGF或BTC處理後，兔眼的光同調斷層掃描 (OCT) 和組織學圖像；圖15B示出代表性OCT圖像，該等圖像證明在玻璃體內注射NVS1或NVS11後，玻璃體內β細胞素對兔視網膜的作用。

【0028】 [圖16]示出在用NVS1或NVS11處理後，兔眼視網膜厚度的變化。

【0029】 [圖17]示出在用NVS2或NVS12處理後，兔眼視網膜厚度的變化。

【0030】 [圖18A]示出在用NVS1、NVS11、NVS2或NVS12處理後，兔眼視網膜厚度的變化；圖18B示出在NVS11或NVS1的存在下，BTC誘導的RPE形態變化；圖18C示出在NVS11或NVS8的存在下，兔中VEGF誘導的視網膜血管滲漏(代表性圖像)；圖18D示出在NVS11或NVS8的存在下，兔中VEGF誘導的視網膜血管滲漏(螢光素血管造影定量)。

【0031】 [圖19]示出在IVT遞送VEGF或BTC後，兔眼的螢光素血管造影圖像。

【0032】 [圖20]示出在用NVS8、NVS11或NVS12處理後，單個兔眼的螢光素血管滲漏。

【0033】 [圖21]示出在用NVS11、NVS12或NVS8處理後，單個兔眼的螢光素血管滲漏。

【0034】 [圖22]示出在用蘭尼單抗或NVS1處理後，單個兔眼的視網膜總厚度值的變化。

【0035】 [圖23]示出在用NVS1或PNVS1處理後，兔視網膜厚度的變化。

【發明內容】

【0036】 本揭露提供了特異性結合至 β 細胞素 (BTC) 之分離的抗體或其抗原結合片段。

【0037】 在一方面，抗體或其抗原結合片段阻斷BTC與ErbB1、ErbB4或二者的結合。

【0038】 在一方面，抗體或其抗原結合片段阻斷BTC誘導的磷酸化-ERK1/2活化。

【0039】 在一方面，抗體或其抗原結合片段阻斷BTC誘導的磷酸化-HER3活化。

【0040】 本揭露還提供了特異性結合至BTC之分離的抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段之解離常數 (KD) 為5 pM或更小。

【0041】 在一方面，抗體或其抗原結合片段結合至包含SEQ ID NO: 157的胺基酸序列之BTC。

【0042】 在一方面，抗體或其抗原結合片段結合至SEQ ID NO: 157的至少一個殘基，該殘基選自由以下組成之群組：G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、R51、R53、F54、V56、A57、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76。

【0043】 在一方面，抗體或其抗原結合片段結合至SEQ ID NO: 157的R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、Q59、T60、P61、和R73。

【0044】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 1、2、和3所列出的重鏈可變區互補決定區1 (HCDR1)、重鏈可變區互補決定區2 (HCDR2)、和重鏈可變區互補決定區3 (HCDR3)，以及分別如SEQ ID NO: 14、15、和16所列出的輕鏈可變區互補決定區1 (LCDR1)、輕鏈可變區互補決定區2 (LCDR2)、和輕鏈可變區互補決定區3 (LCDR3)。

【0045】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 4、2、和3所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 14、15、和16所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0046】 在一方面，HCDR1包含一致序列XYAIS並且/或者HCDR2包含一致序列GIXPXXGXXXYAQKFQG，並且其中X係任意胺基酸並且在不同的位置可以是不相同的。

【0047】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 168的重鏈序列和SEQ ID NO: 169的輕鏈序列，或SEQ ID NO: 170的重鏈序列和SEQ ID NO: 171的輕鏈序列。

【0048】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 5、6、和3所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 17、18、和19所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0049】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 7、8、和9所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 20、18、和16所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0050】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區(VH)和輕鏈可變區(VL)，該重鏈可變區和輕鏈可變區分別包含與SEQ ID NO: 10和21具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。

【0051】 在一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0052】 在一方面，胺基酸序列的差異係保留取代。

【0053】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 10和21所列出的胺基酸序列之VH和VL。

【0054】 在一方面，VH和VL分別由如SEQ ID NO: 11和22所列出的核酸序列編碼。

【0055】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 12和23所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0056】 在一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 13和24具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。

【0057】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含1) 包含在具有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的VH中之HCDR1、HCDR2、和HCDR3，和2) 包含在具有SEQ ID NO: 21的胺基酸序列的VL中之LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0058】 在一方面，HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3包含：分別地，SEQ ID NO: 1、2、3、14、15、和16；分別地，SEQ ID NO: 4、2、3、14、15、和16；分別地，SEQ ID NO: 5、6、3、17、18、和19；或分別地，SEQ ID NO: 7、8、9、20、18、和16。

【0059】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，其中

a. 該HCDR1包含選自由SEQ ID NO: 1、4、5、和7組成之群組的胺基酸序列，該HCDR2包含選自由SEQ ID NO: 2、6、和8組成之群組的胺基酸序列，該HCDR3包含選自由SEQ ID NO: 3和9組成之群組的胺基酸序列，並且

b. 該LCDR1包含選自由SEQ ID NO: 14、17、和20組成之群組的胺基酸序列，該LCDR2包含選自由SEQ ID NO: 15和18組成之群組的胺基酸序列，該LCDR3包含選自由SEQ ID NO: 16和19組成之群組的胺基酸序列。

【0060】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別含有SEQ ID NO: 10和21的胺基酸序列之VH和VL。

【0061】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 12和23所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0062】 本揭露還提供了特異性結合至BTC之分離的抗體或其抗原結合片段，該分離的抗體或其抗原結合片段包含分別具有SEQ ID NO: 10和21的胺基酸序列之VH和VL。

【0063】 在一方面，抗體或其抗原結合片段結合至SEQ ID NO: 157的P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76。

【0064】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 25、26、和27所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 38、39、和40所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0065】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 28、26、和27所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 38、39、和40所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0066】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 29、30、和27所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 41、42、和43所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0067】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 31、32、和33所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 44、42、和40所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0068】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 34和45具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。

【0069】 在一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0070】 在一方面，胺基酸序列的差異係保留取代。

【0071】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 34和45所列出的胺基酸序列之VH和VL。

【0072】 在一方面，VH和VL分別由如SEQ ID NO: 35和46所列出的核酸序列編碼。

【0073】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 36和47所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0074】 在一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 37和48具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。

【0075】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含1) 包含在具有SEQ ID NO: 34的胺基酸序列的VH中之HCDR1、HCDR2、和HCDR3，和2) 包含在具有SEQ ID NO: 45的胺基酸序列的VL中之LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0076】 在一方面，HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3包含：分別地，SEQ ID NO: 25、26、27、38、39、和40；分別地，SEQ ID NO: 28、26、27、38、39、和40；分別地，SEQ ID NO: 29、30、27、41、42、和43；或分別地，SEQ ID NO: 31、32、33、44、42、和40。

【0077】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，其中

a. 該HCDR1包含選自由SEQ ID NO: 25、28、29、和31組成之群組的胺基酸序列，該HCDR2包含選自由SEQ ID NO: 26、30、和32組成之群組的胺基酸序列，該HCDR3包含選自由SEQ ID NO: 27和33組成之群組的胺基酸序列；並且

b. 該LCDR1包含選自由SEQ ID NO: 38、41、和44組成之群組的胺基酸序列，該LCDR2包含選自由SEQ ID NO: 39和42組成之群組的胺基酸序列，該LCDR3包含選自由SEQ ID NO: 40和43組成之群組的胺基酸序列。

【0078】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別含有SEQ ID NO: 34和45的胺基酸序列之VH和VL。

【0079】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 36和47所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0080】 本揭露進一步提供了特異性結合至BTC之分離的抗體或其抗原結合片段，該分離的抗體或其抗原結合片段包含分別具有SEQ ID NO: 34和45的胺基酸序列之VH和VL。

【0081】 在一方面，抗體或其抗原結合片段結合至SEQ ID NO: 157的G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、R51、R53、F54、和V56。

【0082】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 25、49、和50所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 58、59、和60所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0083】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 28、49、和50所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 58、59、和60所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0084】 在一方面，HCDR1包含一致序列XXAMX，並且/或者HCDR2包含一致序列XXXX/-XXXXTXYXDSVKG，其中X係任意胺基酸並且在不同的位置可以是不相同的，並且其中X/-係任意胺基酸或缺失。

【0085】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 190的重鏈序列和SEQ ID NO: 191的輕鏈序列。

【0086】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 29、51、和50所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 61、62、和63所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0087】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 31、52、和53所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 64、62、和60所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0088】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 54和65具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。

【0089】 在一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0090】 在一方面，胺基酸序列的差異係保留取代。

【0091】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 54和65所列出的胺基酸序列之VH和VL。

【0092】 在一方面，VH和VL分別由如SEQ ID NO: 55和66所列出的核酸序列編碼。

【0093】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 56和67所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0094】 在一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 57和68具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。

【0095】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含1) 包含在具有SEQ ID NO: 54的胺基酸序列的VH中之HCDR1、HCDR2、和HCDR3，和2) 包含在具有SEQ ID NO: 65的胺基酸序列的VL中之LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0096】 在一方面，HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3包含：分別地，SEQ ID NO: 25、49、50、58、59、和60；分別地，SEQ ID NO: 28、49、50、58、59、和60；分別地，SEQ ID NO: 29、51、50、61、62、和63；或分別地，SEQ ID NO: 31、52、53、64、62、和60。

【0097】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，其中

a. 該HCDR1包含選自由SEQ ID NO: 25、28、29、和31組成之群組的胺基酸序列，該HCDR2包含選自由SEQ ID NO: 49、51、和52組成之群組的胺基酸序列，該HCDR3包含選自由SEQ ID NO: 50和53組成之群組的胺基酸序列；並且

b. 該LCDR1包含選自由SEQ ID NO: 58、61、和64組成之群組的胺基酸序列，該LCDR2包含選自由SEQ ID NO: 59和62組成之群組的胺基酸序列，該LCDR3包含選自由SEQ ID NO: 60和63組成之群組的胺基酸序列。

【0098】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別含有SEQ ID NO: 54和65的胺基酸序列之VH和VL。

【0099】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 56和67所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0100】 本揭露還提供了特異性結合至BTC之分離的抗體或其抗原結合片段，該分離的抗體或其抗原結合片段包含分別具有SEQ ID NO: 54和65的胺基酸序列之VH和VL。

【0101】 在一方面，抗體或其抗原結合片段結合至SEQ ID NO: 157的S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、A57、Q59、T60、P61、A72、R73、和E75。

【0102】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 69、70、和71所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 82、83、和84所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0103】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 72、70、和71所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 82、83、和84所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0104】 在一方面，HCDR2包含一致序列XIXXXXXXXXXXYADSVKG並且/或者LCDR3包含一致序列QQYDXXXT，並且其中X係任意胺基酸並且在不同的位置可以是不相同的。

【0105】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含選自由以下組成之群組的重鏈序列和輕鏈序列：分別地，SEQ ID NO: 194和195；分別地，SEQ ID NO: 196和197；分別地，SEQ ID NO: 198和199；分別地，SEQ ID NO: 200和201；分別地，SEQ ID NO: 202和203；分別地，SEQ ID NO: 204和205；以及分別地，SEQ ID NO: 206和207。

【0106】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 73、74、和71所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 85、18、和86所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0107】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 75、76、和77所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 87、18、和84所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0108】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 78和88具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。

【0109】 在一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0110】 在一方面，胺基酸序列的差異係保留取代。

【0111】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 78和88所列出的胺基酸序列之VH和VL。

【0112】 在一方面，VH和VL分別由如SEQ ID NO: 79和89所列出的核酸序列編碼。

【0113】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 80和90所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0114】 在一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 81和91具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。

【0115】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含1) 包含在具有SEQ ID NO: 78的胺基酸序列的VH中之HCDR1、HCDR2、和HCDR3，和2) 包含在具有SEQ ID NO: 88的胺基酸序列的VL中之LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0116】 在一方面，HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3包含：分別地，SEQ ID NO: 69、70、71、82、83、和84；分別地，SEQ ID NO: 72、70、71、82、83、和84；分別地，SEQ ID NO: 73、74、71、85、18、和86；或分別地，SEQ ID NO: 75、76、77、87、18、和84。

【0117】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，其中

a. 該HCDR1包含選自由SEQ ID NO: 69、72、73、和75組成之群組的胺基酸序列，該HCDR2包含選自由SEQ ID NO: 70、74、和76組成之群組的胺基酸序列，該HCDR3包含選自由SEQ ID NO: 71和77組成之群組的胺基酸序列；並且

b. 該LCDR1包含選自由SEQ ID NO: 82、85、和87組成之群組的胺基酸序列，該LCDR2包含選自由SEQ ID NO: 83和18組成之群組的胺基酸序列，該LCDR3包含選自由SEQ ID NO: 84和86組成之群組的胺基酸序列。

【0118】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別含有SEQ ID NO: 78和88的胺基酸序列之VH和VL。

【0119】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 80和90所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0120】 本揭露還提供了特異性結合至BTC之分離的抗體或其抗原結合片段，該分離的抗體或其抗原結合片段包含分別具有SEQ ID NO: 78和88的胺基酸序列之VH和VL。

【0121】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段呈選自由分離的抗體、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv和scFv組成之群組的形式。

【0122】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段係Fab。

【0123】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段係scFv。

【0124】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段係分離的抗體。

【0125】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段係人單株抗體。

【0126】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段係人源化單株抗體。

【0127】 在一方面，Fab包含Fc區。

【0128】 在一方面，Fc區選自由來自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE、和IgD的Fc區組成之群組。

【0129】 在一方面，Fc區包含如SEQ ID NO: 159所列出的人免疫球蛋白κ（Kappa）鏈恒定區序列。

【0130】 在一方面，Fc區包含如SEQ ID NO: 160所列出的人免疫球蛋白重鏈第一恒定Ig結構域（CH1結構域）。

【0131】 本揭露提供了分離的抗體或其抗原結合片段，該分離的抗體或其抗原結合片段能夠與如貫穿本揭露所述之抗體或其抗原結合片段競爭與BTC的結合並減少BTC介導的傳訊。

【0132】 在一方面，特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段包含如下所列出的重鏈和輕鏈：分別地，SEQ ID NO: 168和169；分別地，SEQ ID NO: 170和171；分別地，SEQ ID NO: 172和173；分別地，SEQ ID NO: 174和175；分別地，SEQ ID NO: 176和177；分別地，SEQ ID NO: 178和179；分別地，SEQ ID NO: 180和181；分別地，SEQ ID NO: 182和183；分別地，SEQ ID NO: 184和185；分別地，SEQ ID NO: 186和187；或分別地，SEQ ID NO: 188和189。

【0133】 本揭露提供了多核苷酸，該多核苷酸包含編碼如貫穿本揭露所述之抗體或其抗原結合片段之核苷酸序列。

【0134】 在一方面，表現盒包含如貫穿本揭露所述之多核苷酸。

【0135】 在一方面，載體包含如貫穿本揭露所述之表現盒。

【0136】 在一方面，宿主細胞包含如貫穿本揭露所述之多核苷酸或載體。

【0137】 本揭露還提供了產生抗體或其抗原結合片段之方法，該方法包括在適合表現抗體或其抗原結合片段之條件下培養宿主細胞。

【0138】 在一方面，該方法進一步包括純化抗體或其抗原結合片段。

【0139】 本揭露進一步提供了包含有效量的如貫穿本揭露所述之抗體或其抗原結合片段的藥物組成物。

【0140】 在一方面，藥物組成物包含藥學上可接受的賦形劑、稀釋劑、或載劑。

【0141】 本揭露提供了治療有需要的受試者之方法，該方法包括向受試者投與有效量的如貫穿本揭露所述之抗體或其抗原結合片段或藥物組成物。

【0142】 在一方面，受試者患有選自由胰臟癌、乳癌、子宮內膜腺癌、肝細胞癌、頭頸部鱗狀細胞癌、和胃癌組成之群組的疾病。

【0143】 在一方面，抗體或其抗原結合片段或藥物組成物經由選自由以下組成之群組的途徑投與：靜脈內投與、肌肉內投與、皮下投與、腸胃外投與、經脊髓投與、和表皮投與。

【0144】 在一方面，受試者患有眼科障礙。

【0145】 在一方面，眼科障礙選自由糖尿病性黃斑水腫、年齡相關性黃斑變性、新生血管性年齡相關性黃斑變性、新生血管性青光眼、糖尿病性視網膜病變、黃斑水腫、病理性近視、視網膜靜脈阻塞、早產兒視網膜病變、斑痣性錯構瘤病相關的血管異常增殖、中心性漿液性脈絡膜視網膜病變、和急性多病灶魚鱗板狀色素上皮病組成之群組。

【0146】 在一方面，眼科障礙係糖尿病性黃斑水腫。

【0147】 在一方面，投與係經由視網膜下注射。

【0148】 在一方面，投與係經由玻璃體內注射。

【0149】 在一方面，藥物組成物進一步包含抗VEGF拮抗劑。

【0150】 在一方面，抗VEGF拮抗劑係蘭尼單抗。

【0151】 在一方面，抗VEGF拮抗劑係貝伐珠單抗。

【0152】 在一方面，抗VEGF拮抗劑係阿柏西普。

【0153】 在一方面，抗VEGF拮抗劑係布洛賽珠單抗。

【0154】 在一方面，抗VEGF拮抗劑係哌加他尼。

【0155】 在一方面，抗VEGF拮抗劑包含分別如SEQ ID NO: 103和114所列出的重鏈和輕鏈。

【0156】 在一方面，抗VEGF拮抗劑由如SEQ ID NO: 104和115所列出的核酸序列編碼。

【0157】 在一方面，該方法進一步包括向受試者投與抗VEGF拮抗劑。

【0158】 在一方面，抗VEGF拮抗劑係蘭尼單抗。

【0159】 在一方面，抗VEGF拮抗劑係貝伐珠單抗。

【0160】 在一方面，抗VEGF拮抗劑係阿柏西普。

【0161】 在一方面，抗VEGF拮抗劑係布洛賽珠單抗。

【0162】 在一方面，抗VEGF拮抗劑係哌加他尼。

【0163】 在一方面，抗VEGF拮抗劑包含如SEQ ID NO: 103和114所列出的重鏈和輕鏈。

【0164】 在一方面，抗VEGF拮抗劑由如SEQ ID NO: 104和115所列出的核酸序列編碼。

【0165】 本揭露提供了包含如貫穿本揭露所述之抗體或其抗原結合片段或藥物組成物的套組（kit）。

【0166】 在一方面，套組進一步包含使用說明書。

【0167】 在一方面，套組進一步包含注射器。

【0168】 本揭露提供了多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含1)抗BTC結合部分和2)抗VEGF結合部分。

【0169】 在一方面，抗BTC結合部分結合至包含SEQ ID NO: 157的胺基酸序列之BTC。

【0170】 在一方面，抗BTC結合部分結合至SEQ ID NO: 157的至少一個殘基，該殘基選自由以下組成之群組：G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、R51、R53、F54、V56、A57、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76。

【0171】 在一方面，抗BTC結合部分結合至SEQ ID NO: 157的R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、Q59、T60、P61、和R73。

【0172】 在一方面，抗BTC結合部分結合至SEQ ID NO: 157的P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76。

【0173】 在一方面，抗BTC結合部分結合至SEQ ID NO: 157的G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、R51、R53、F54、和V56。

【0174】 在一方面，抗BTC結合部分結合至SEQ ID NO: 157的S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、A57、Q59、T60、P61、A72、R73、和E75。

【0175】 在一方面，抗BTC結合部分是如貫穿本揭露所述之抗體或其抗原結合片段。

【0176】 在一方面，抗VEGF結合部分係抗VEGF抗體或其抗原結合片段。

【0177】 在一方面，抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分呈選自由分離的抗體、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、和scFv組成的列表的形式。

【0178】 在一方面，抗BTC結合部分係抗BTC Fab並且抗VEGF結合部分係抗VEGF Fab。

【0179】 在一方面，抗BTC Fab包含重鏈（HA）和輕鏈（LA），並且其中抗VEGF Fab包含重鏈（HB）和輕鏈（LB）。

【0180】 在一方面，HA和HB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-HA-連接子1-HB-C，並且其中LA和LB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-LA-連接子2-LB-C。

【0181】 在一方面，HA和HB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-HB-連接子1-HA-C，並且其中LA和LB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-LB-連接子2-LA-C。

【0182】 在一方面，連接子1和連接子2包含SEQ ID NO: 118的胺基序列。

【0183】 在一方面，連接子1和連接子2由SEQ ID NO: 119的核序列編碼。

【0184】 在一方面，連接子1和連接子2包含選自由SEQ ID NO: 161-167組成之群組的胺基序列。

【0185】 在一方面，抗BTC結合部分包含如以下中所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3：分別地，SEQ ID NO: 1、2、3、14、15、和16；分別地，SEQ ID NO: 4、2、3、14、15、和16；分別地，SEQ ID NO: 5、6、3、17、18、和19；或分別地，SEQ ID NO: 7、8、9、20、18、和16。

【0186】 在一方面，抗BTC結合部分包含分別具有SEQ ID NO: 10和21的胺基酸序列之VH和VL。

【0187】 在一方面，VH和VL分別由SEQ ID NO: 116和122的核酸序列編碼。

【0188】 在一方面，抗BTC結合部分包含如以下中所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3：分別地，SEQ ID NO: 25、26、27、38、39、和40；分別地，SEQ ID NO: 28、26、27、38、39、和40；分別地，SEQ ID NO: 29、30、27、41、42、和43；或分別地，SEQ ID NO: 31、32、33、44、42、和40。

【0189】 在一方面，抗BTC結合部分包含分別具有SEQ ID NO: 34和45的胺基酸序列之VH和VL。

【0190】 在一方面，VH和VL分別由SEQ ID NO: 127和132的核酸序列編碼。

【0191】 在一方面，抗BTC結合部分包含如以下中所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3：分別地，SEQ ID NO: 25、49、50、58、59、和60；分別地，SEQ ID NO: 28、49、50、58、59、和60；分別地，SEQ ID NO: 29、51、50、61、62、和63；或分別地，SEQ ID NO: 31、52、53、64、62、和60。

【0192】 在一方面，抗BTC結合部分包含分別具有SEQ ID NO: 54和65的胺基酸序列之VH和VL。

【0193】 在一方面，VH和VL分別由SEQ ID NO: 137和142的核酸序列編碼。

【0194】 在一方面，抗BTC結合部分包含如以下中所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3：分別地，SEQ ID NO: 69、70、71、82、83、和84；分別地，SEQ ID NO: 72、70、71、82、83、和84；分別地，SEQ ID NO: 73、74、71、85、18、和86；或分別地，SEQ ID NO: 75、76、77、87、18、和84。

【0195】 在一方面，抗BTC結合部分包含分別具有SEQ ID NO: 78和88的胺基酸序列之VH和VL。

【0196】 在一方面，VH和VL分別由SEQ ID NO: 147和151的核酸序列編碼。

【0197】 在一方面，抗VEGF結合部分包含分別如SEQ ID NO: 92、93、和94所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 105、106、和107所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0198】 在一方面，抗VEGF結合部分包含分別如SEQ ID NO: 95、93、和94所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 105、106、和107所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0199】 在一方面，抗VEGF結合部分包含分別如SEQ ID NO: 96、97、和94所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 108、109、和110所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0200】 在一方面，抗VEGF結合部分包含分別如SEQ ID NO: 98、99、和100所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 111、109、和107所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0201】 在一方面，抗VEGF結合部分包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 101和112具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。

【0202】 在一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0203】 在一方面，胺基酸序列的差異係保留取代。

【0204】 在一方面，抗VEGF結合部分包含分別含有如SEQ ID NO: 101和112所列出的胺基酸序列之VH和VL。

【0205】 在一方面，抗VEGF結合部分包含分別由如SEQ ID NO: 102和113所列出的核酸序列編碼之VH和VL。

【0206】 在一方面，抗VEGF結合部分包含分別由如SEQ ID NO: 117和123所列出的核酸序列編碼之VH和VL。

【0207】 在一方面，抗VEGF結合部分包含分別由如SEQ ID NO: 128和133所列出的核酸序列編碼之VH和VL。

【0208】 在一方面，抗VEGF結合部分包含分別由如SEQ ID NO: 138和143所列出的核酸序列編碼之VH和VL。

【0209】 在一方面，抗VEGF結合部分包含分別由如SEQ ID NO: 148和152所列出的核酸序列編碼之VH和VL。

【0210】 在一方面，抗VEGF結合部分包含分別具有如SEQ ID NO: 103和114所列出的胺基酸的重鏈和輕鏈。

【0211】 在一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 104和115具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。

【0212】 本揭露提供了包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，其中抗BTC結合部分包含結合至BTC的可變重鏈結構域（VHA）和可變輕鏈結構域（VLA），並且其中抗VEGF結合部分包含結合至VEGF的可變重鏈結構域（VHB）和可變輕鏈結構域（VLB），其中：

- a. VHA和VLA包含分別如SEQ ID NO: 10和21所示之胺基酸序列；並且
- b. 該VHB和VLB包含分別如SEQ ID NO: 101和112所示之胺基酸序列。

【0213】 在一方面，抗BTC結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1A）和輕鏈恒定結構域（CKA），並且其中抗VEGF結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1B）和輕鏈恒定結構域（CKB）。

【0214】 在一方面，多特異性結合分子處於如下從N末端到C末端的形式：N-VHA-CH1A-連接子-VHB-CH1B-C和N-VLA-CKA-連接子-VLB-CKB-C。

【0215】 在一方面，多特異性結合分子包含含有VHA、CH1A、連接子、VHB、和CH1B的重鏈，其中該重鏈是如SEQ ID NO: 120所列出。

【0216】 在一方面，重鏈是由如SEQ ID NO: 121所列出的核酸序列編碼。

【0217】 在一方面，多特異性結合分子包含含有VLA、CKA、連接子、VLB、和CKB的輕鏈，其中該輕鏈是如SEQ ID NO: 125所列出。

【0218】 在一方面，輕鏈是由如SEQ ID NO: 126所列出的核酸序列編碼。

【0219】 本揭露還提供了包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，其中抗BTC結合部分包含結合至BTC的可變重鏈結構域（VHA）和可變輕鏈結構域（VLA），並且其中抗VEGF結合部分包含結合至VEGF的可變重鏈結構域（VHB）和可變輕鏈結構域（VLB），其中：

- a. VHA和VLA包含分別如SEQ ID NO: 34和45所示之胺基酸序列；並且
- b. 該VHB和VLB包含分別如SEQ ID NO: 101和112所示之胺基酸序列。

【0220】 在一方面，抗BTC結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1A）和輕鏈恒定結構域（CKA），並且其中抗VEGF結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1B）和輕鏈恒定結構域（CKB）。

【0221】 在一方面，多特異性結合分子處於如下從N末端到C末端的形式：N-VHA-CH1A-連接子-VHB-CH1B-C和N-VLA-CKA-連接子-VLB-CKB-C。

【0222】 在一方面，多特異性結合分子包含含有VHA、CH1A、連接子、VHB、和CH1B的重鏈，其中該重鏈是如SEQ ID NO: 130所列出。

【0223】 在一方面，重鏈是由如SEQ ID NO: 131所列出的核酸序列編碼。

【0224】 在一方面，多特異性結合分子包含含有VLA、CKA、連接子、VLB、和CKB的輕鏈，其中該輕鏈是如SEQ ID NO: 135所列出。

【0225】 在一方面，輕鏈是由如SEQ ID NO: 136所列出的核酸序列編碼。

【0226】 本揭露還提供了包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，其中抗BTC結合部分包含結合至BTC的可變重鏈結構域（VHA）和可變輕鏈結構域（VLA），並且其中抗VEGF結合部分包含結合至VEGF的可變重鏈結構域（VHB）和可變輕鏈結構域（VLB），其中：

- a. VHA和VLA包含分別如SEQ ID NO: 54和65所示之胺基酸序列；並且
- b. 該VHB和VLB包含分別如SEQ ID NO: 101和112所示之胺基酸序列。

【0227】 在一方面，抗BTC結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1A）和輕鏈恒定結構域（CKA），並且其中抗VEGF結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1B）和輕鏈恒定結構域（CKB）。

【0228】 在一方面，多特異性結合分子處於如下從N末端到C末端的形式：N-VHA-CH1A-連接子-VHB-CH1B-C和N-VLA-CKA-連接子-VLB-CKB-C。

【0229】 在一方面，多特異性結合分子包含含有VHA、CH1A、連接子、VHB、和CH1B的重鏈，其中該重鏈是如SEQ ID NO: 140所列出。

【0230】 在一方面，重鏈是由如SEQ ID NO: 141所列出的核酸序列編碼。

【0231】 在一方面，多特異性結合分子包含含有VLA、CKA、連接子、VLB、和CKB的輕鏈，其中該輕鏈是如SEQ ID NO: 145所列出。

【0232】 在一方面，輕鏈是由如SEQ ID NO: 146所列出的核酸序列編碼。

【0233】 本揭露進一步提供了包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，其中抗BTC結合部分包含結合至BTC的可變重鏈結構域（VHA）和可變輕鏈結構域（VLA），並且其中抗VEGF結合部分包含結合至VEGF的可變重鏈結構域（VHB）和可變輕鏈結構域（VLB），其中：

- a. VHA和VLA包含分別如SEQ ID NO: 78和88所示之胺基酸序列；並且
- b. 該VHB和VLB包含分別如SEQ ID NO: 101和112所示之胺基酸序列。

【0234】 在一方面，抗BTC結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1A）和輕鏈恒定結構域（CKA），並且其中抗VEGF結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1B）和輕鏈恒定結構域（CKB）。

【0235】 在一方面，多特異性結合分子處於如下從N末端到C末端的形式：N-VHA-CH1A-連接子-VHB-CH1B-C和N-VLA-CKA-連接子-VLB-CKB-C。

【0236】 在一方面，多特異性結合分子包含含有VHA、CH1A、連接子、VHB、和CH1B的重鏈，其中該重鏈是如SEQ ID NO: 149所列出。

【0237】 在一方面，重鏈是由如SEQ ID NO: 150所列出的核酸序列編碼。

【0238】 在一方面，多特異性結合分子包含含有VLA、CKA、連接子、VLB、和CKB的輕鏈，其中該輕鏈是如SEQ ID NO: 154所列出。

【0239】 在一方面，輕鏈是由如SEQ ID NO: 155所列出的核酸序列編碼。

【0240】 本揭露提供了多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈包含SEQ ID NO: 120的胺基酸序列，並且該第二多肽鏈包含SEQ ID NO: 125的胺基酸序列。

【0241】 在一方面，第一多肽鏈由SEQ ID NO: 121的核酸序列編碼，並且第二多肽鏈由SEQ ID NO: 126的核酸序列編碼。

【0242】 本揭露還提供了多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈包含SEQ ID NO: 130的胺基酸序列，並且該第二多肽鏈包含SEQ ID NO: 135的胺基酸序列。

【0243】 在一方面，第一多肽鏈由SEQ ID NO: 131的核酸序列編碼，並且第二多肽鏈由SEQ ID NO: 136的核酸序列編碼。

【0244】 本揭露進一步提供了多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈包含SEQ ID NO: 140的胺基酸序列，並且該第二多肽鏈包含SEQ ID NO: 145的胺基酸序列。

【0245】 在一方面，第一多肽鏈由SEQ ID NO: 141的核酸序列編碼，並且第二多肽鏈由SEQ ID NO: 146的核酸序列編碼。

【0246】 本揭露還提供了多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈包含SEQ ID NO: 149的胺基酸序列，並且該第二多肽鏈包含SEQ ID NO: 154的胺基酸序列。

【0247】 在一方面，第一多肽鏈由SEQ ID NO: 150的核酸序列編碼，並且第二多肽鏈由SEQ ID NO: 155的核酸序列編碼。

【0248】 本揭露提供了多核苷酸，該多核苷酸包含編碼貫穿本揭露所述之多特異性結合分子之核苷酸序列。

【0249】 本揭露還提供了包含貫穿本揭露所述之多核苷酸的表現盒。

【0250】 本揭露還提供了包含貫穿本揭露所述之表現盒的載體。

【0251】 本揭露進一步提供了包含貫穿本揭露所述之多核苷酸的宿主細胞。

【0252】 本揭露提供了產生多特異性結合分子之方法，該方法包括在適合表現多特異性結合分子或其片段之條件下培養宿主細胞。

【0253】 在一方面，該方法進一步包括純化多特異性結合分子。

【0254】 本揭露提供了藥物組成物，該藥物組成物包含有效量的如貫穿本揭露所述之多特異性結合分子。

【0255】 在一方面，藥物組成物進一步包含藥學上可接受的賦形劑、稀釋劑、或載劑。

【0256】 在一方面，藥物組成物進一步包含一或多種治療劑。

【0257】 本揭露還提供了在有需要的受試者中治療眼科障礙之方法，該方法包括向受試者投與有效量的如貫穿本揭露所述之多特異性結合分子或藥物組成物。

【0258】 在一方面，多特異性結合分子或藥物組成物向受試者玻璃體內投與。

【0259】 在一方面，多特異性結合分子或藥物組成物經由視網膜下注射投與。

【0260】 在一方面，眼科障礙選自由糖尿病性黃斑水腫、年齡相關性黃斑變性、新生血管性年齡相關性黃斑變性、新生血管性青光眼、糖尿病性視網膜病變、黃斑水腫、病理性近視、視網膜靜脈阻塞、早產兒視網膜病變、和斑痣性錯構瘤病相關的血管異常增殖組成之群組。

【0261】 在一方面，眼科障礙係糖尿病性黃斑水腫。

【0262】 本揭露提供了用於預防、治療或控制眼科障礙之方法，該方法包括向受試者投與有效量的如本揭露所述之多特異性結合分子，其中相對於對照受試者，該多特異性結合分子減少受試者的視網膜滲漏和/或視網膜增厚。

【0263】 本揭露進一步提供了包含如貫穿本揭露所述之多特異性結合分子或藥物組成物的套組。

【0264】 在一方面，套組進一步包含使用說明書。

【0265】 在一方面，套組進一步包含注射器。

【0266】 本揭露提供了在有其需要的受試者中預防或治療黃斑水腫、DME、AMD、新生血管性AMD、或RVO之方法，該方法包括以從約0.25 mg/眼至7.5 mg/眼的範圍之劑量，向受試者玻璃體內投與本文所述之多特異性結合分子。

【0267】 在一方面，劑量係約0.25 mg/眼、0.75 mg/眼、2.5 mg/眼、或7.5 mg/眼。

【0268】 在一方面，劑量係0.25 mg/眼。

【0269】 在一方面，劑量係0.75 mg/眼。

【0270】 在一方面，劑量係1 mg/眼。

【0271】 在一方面，劑量係2.5 mg/眼。

【0272】 在一方面，劑量係3 mg/眼。

【0273】 在一方面，劑量係5 mg/眼。

【0274】 在一方面，劑量係7.5 mg/眼。

【0275】 在一方面，劑量係0.25 mg/眼、0.3 mg/眼、0.35 mg/眼、0.4 mg/眼、0.45 mg/眼、0.5 mg/眼、0.55 mg/眼、0.6 mg/眼、0.65 mg/眼、0.7 mg/眼、0.75 mg/眼、0.8 mg/眼、0.85 mg/眼、0.9 mg/眼、0.95 mg/眼、1.0 mg/眼、1.1 mg/眼、1.2 mg/眼、1.3 mg/眼、1.4 mg/眼、1.5 mg/眼、1.6 mg/眼、1.7 mg/眼、1.8 mg/眼、1.9 mg/眼、2.0 mg/眼、2.1 mg/眼、2.2 mg/眼、2.3 mg/眼、2.4 mg/眼、2.5 mg/眼、2.6 mg/眼、2.7 mg/眼、2.8 mg/眼、2.9 mg/眼、3.0 mg/眼、3.1 mg/眼、3.2 mg/眼、3.3 mg/眼、3.4 mg/眼、3.5 mg/眼、3.6 mg/眼、3.7 mg/眼、3.8 mg/眼、3.9 mg/眼、4.0

mg/眼、4.1 mg/眼、4.2 mg/眼、4.3 mg/眼、4.4 mg/眼、4.5 mg/眼、4.6 mg/眼、4.7 mg/眼、4.8 mg/眼、4.9 mg/眼、5.0 mg/眼、5.1 mg/眼、5.2 mg/眼、5.3 mg/眼、5.4 mg/眼、5.5 mg/眼、5.6 mg/眼、5.7 mg/眼、5.8 mg/眼、5.9 mg/眼、6.0 mg/眼、6.1 mg/眼、6.2 mg/眼、6.3 mg/眼、6.4 mg/眼、6.5 mg/眼、6.6 mg/眼、6.7 mg/眼、6.8 mg/眼、6.9 mg/眼、7.0 mg/眼、7.1 mg/眼、7.2 mg/眼、7.3 mg/眼、7.4 mg/眼、或 7.5 mg/眼。

【0276】 在一方面，多特異性結合分子包含1) 分別含有SEQ ID NO: 10和21的胺基酸序列之抗BTC結合部分；和2) 分別含有SEQ ID NO: 101和112的胺基酸序列之抗VEGF結合部分。

【0277】 在另一方面，投與係每月一次。

【實施方式】

相關申請的交叉引用及序列表的併入

【0278】 本申請要求2020年7月16日提交的美國臨時專利申請案號63/052,789和2021年3月4日提交的美國臨時專利申請案號63/156,709之優先權，將其二者藉由引用以其全文併入本申請。隨此提交了包含在名為「PAT058888-WO-PCT SQL_ST25」的文件中的序列列表並藉由引用併入本文，該序列列表係204,786位元組（在作業系統MS-Windows中測量）並且於2021年6月25日創建。

【0279】 通常，本揭露部分基於對 β 細胞素（BTC）具有特異性的抗體的發現。特別地，諸位發明人已經發現抗BTC抗體具有與治療用途相容的屬性（即，抗體結合BTC的親和力和特異性足以實現所需的治療效果）。部分基於此發現，本揭露之特徵在於包括分子的治療組成物，該等分子包括對BTC具有特異性的抗體或抗體片段，該抗體或抗體片段附接至另一種治療部分，例如，抗VEGF抗

體或抗體片段。此類治療部分包括抗體或其片段、和結合至具有BTC的組織（例如，玻璃體）中的治療靶標的蛋白質以及在此類組織中調控治療靶標的化合物（例如，低分子量化合物）。在此類治療部分包括抗體的情況下，總體治療組成物可為多特異性抗體（例如，雙特異性抗體）。在具體方面，本文還提供了藉由投與抗BTC拮抗劑和抗VEGF拮抗劑，治療眼部障礙（例如，AMD（例如，新生血管性AMD）、DME、DR等）的方法。

i. 術語

【0280】除非另外定義，本文所用的全部技術術語和科學術語具有與本揭露所屬領域的普通技術者通常所理解的相同意義。本文引用的任何參考文獻，包括例如所有專利、公開的專利申請和非專利出版物，均藉由引用以其全文併入。為了便於理解本揭露，如本文所用的若干術語和縮寫在下文定義如下：

【0281】如本文所用，單數形式「一個/一種（a/an）」和「該/該等（the）」包括複數指代物，除非內容另外明確地說明。因此，例如，提及「抗體」包括兩種或更多種此類抗體的混合物。

【0282】除非另外特別說明或從上下文中顯而易見，否則如本文所用，關於數值的術語「約」應理解為在本領域的正常公差內，例如，在平均值的兩個標準差內。因此，「約」可以在該值的 $\pm 10\%$ 、 9% 、 8% 、 7% 、 6% 、 5% 、 4% 、 3% 、 2% 、 1% 、 0.1% 、 0.05% 或 0.01% 內，較佳的是，該值的 $\pm 10\%$ 內。當在數值範圍或數位清單前使用時，術語「約」適用於系列中的每個數位，例如，短語「約1-5」應被解釋為「約1 - 約5」，或例如，短語「約1、2、3、4」應被解釋為「約1、約2、約3、約4等」。

【0283】在提及序列（例如，胺基酸序列）時使用術語「包含（comprise、comprises、comprising）」等的所有情況下，應理解所述序列也可受術語「由……

組成 (consist、consists、consisting)」等限制。如本文所用，短語「基本上由.....組成 (consisting essentially of)」係指方法或組成物中所包含的活性藥劑以及對該等方法或組成物的預期目的而言無活性的任何賦形劑的類屬或物種。在一些方面，短語「基本上由.....組成」明確地排除了包括除本揭露之多特異性結合分子以外的一或多種另外的活性劑。在一些方面，短語「基本上由.....組成」明確排除了包括除本揭露之多特異性結合分子和第二共同投與藥劑以外的一或多種另外的活性劑。

【0284】 術語「 β 細胞素」或「BTC」係指生物體中EGF家族的生長因子。BTC活性可以藉由其與1) ErbB1；2) ErbB4；3) ErbB同源二聚體（例如，ErbB1/ErbB1和ErbB4/ErbB4）和/或4) ErbB同源二聚體（例如，ErbB1/ErbB2、ErbB1/ErbB3、ErbB1/ErbB4、ErbB2/ErbB3、和ErbB2/ErbB4）的結合來測量。參見Dunbar和Goddard, *Int'l. J. Biochem. & Cell Biol.* [國際生物化學與分子生物學雜誌], 2000, 32: 805-815。BTC活性還可以藉由磷酸化ERK1/2的水平來測量。在人類中，它由位於4號染色體上的4q13-q21基因座的BTC基因編碼。人BTC表現為作為原BTC的178個殘基的蛋白質（例如，NCBI：NP_001720.1或SEQ ID NO: 156）。成熟的分泌性人BTC由80個胺基酸殘基，即，原BTC的殘基32至111（如SEQ ID NO: 158所列出）構成。小鼠 β 細胞素由177個胺基酸殘基組成（例如，NCBI：NP_031594.1）。大鼠 β 細胞素由177個胺基酸殘基組成（例如，NCBI：GenBank：BAA96731.1）。

【0285】 術語「血管內皮生長因子」或「VEGF」係指生物體中具有VEGF活性（例如，誘導血管內皮細胞的增殖和遷移）並且對於生理和病理血管生成均為必不可少的蛋白質。在哺乳動物中，VEGF家族包括五個成員：VEGF-A、胎盤生長因子（PGF）、VEGF-B、VEGF-C和VEGF-D。人VEGF存在至少六種同種型（VEGF₁₂₁、VEGF₁₄₅、VEGF₁₆₅、VEGF₁₈₃、VEGF₁₈₉、和VEGF₂₀₆），該等

同種型產生於單個基因的mRNA的可變剪接 (Ferrara N, Davis Smyth T. *Endocr Rev* [內分泌評論] 18: 1-22 (1997))。VEGF₁₆₅這一最豐富的同種型係一種鹼性的、結合肝素的二聚糖蛋白，分子品質為約45,000道爾頓。如本文所用，術語「人VEGF」係指165個胺基酸的人血管內皮細胞生長因子、以及相關的121個胺基酸、189個胺基酸和206個胺基酸（和其他的同種型）的血管內皮細胞生長因子（如Leung等人, *Science* [科學] 246: 1306 (1989)，和Houck等人, *Mol. Endocrin.* [分子內分泌學] 5: 1806 (1991)所描述的），以及那些生長因子的天然存在的對偶形式和加工形式。

【0286】如本文所用，術語「抗BTC結合部分」意指特異性結合至BTC的多肽（例如，抗體或其抗原結合片段）。為避免疑義，「抗BTC結合部分」之非限制性實例包括全長抗體及其抗原結合片段，例如Fab、scFv、Fv、單結構域抗體等。在具體方面，抗BTC抗體係Fab或scFv。在具體方面，抗BTC結合部分特異性結合至人BTC和/或食蟹猴BTC。

【0287】如本文所用，術語「抗VEGF結合部分」意指特異性結合至VEGF（如下文所定義）的多肽（例如，如下文所列出的抗體或其抗原結合片段）。為避免疑義，「抗VEGF結合部分」之非限制性實例包括如下文所列出的全長抗體及其抗原結合片段，例如，Fab、scFv、Fv、單結構域抗體等。在具體方面，抗VEGF抗體係Fab或scFv。在具體方面，抗VEGF結合部分特異性結合至人VEGF-A。

【0288】當在描述抗原（例如，蛋白質）與本揭露之多特異性結合分子之間的相互作用的情形下使用時，短語「特異性結合 (binds specifically或specifically binds)」或「選擇性結合」係指確定蛋白質和其他生物製劑的異質群體中，例如，在生物樣本，例如血液、血清、血漿或組織樣本中抗原的存在的結合反應。因此，在某些指明的免疫測定條件下，具有特定結合特異性的本揭露之多特異性

結合分子與特定抗原的結合至少兩倍於背景並且基本上不以顯著的量與樣本中存在的其他抗原結合。在一方面，在指明的免疫測定條件下，具有特定結合特異性的本揭露之多特異性結合分子與特定抗原的結合至少十(10)倍於背景並且基本上不以顯著的量與樣本中存在的其他抗原結合。在此類條件下與抗體或結合劑的特異性結合可需要針對特定蛋白質的特異性對本揭露之多特異性結合分子進行選擇。如果需要或適當，可以藉由扣除與來自其他物種(例如，小鼠或大鼠)或其他亞型的分子交叉反應的多特異性結合分子來實現該選擇。

【0289】 在一些方面，本揭露之多特異性結合分子之特異性結合意指以至少 10^2 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^3 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^4 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^5 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^6 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^7 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^8 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^9 M^{-1} 、至少 $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^{10} M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^{11} M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^{12} M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^{13} M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、至少 10^{14} M^{-1} 、至少 $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、或至少 $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ 的平衡常數(K_A)(k_{on}/k_{off})結合。

【0290】 在一些方面，本揭露之多特異性結合分子之特異性結合意指解離速率常數(K_D)(k_{off}/k_{on})小於 $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ 、小於 10^{-2} M 、小於 $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ 、小於 10^{-3} M 、小於 $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ 、小於 10^{-4} M 、小於 $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ 、小於 10^{-5} M 、小於 $5 \times 10^{-6} \text{ M}$ 、小於 10^{-6} M 、小於 $5 \times 10^{-7} \text{ M}$ 、小於 10^{-7} M 、小於 $5 \times 10^{-8} \text{ M}$ 、小於 10^{-8} M 、小於 $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、小於 10^{-9} M 、小於 $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ 、小於 10^{-10} M 、小於 $5 \times 10^{-11} \text{ M}$ 、小於 10^{-11} M 、小於 $5 \times 10^{-12} \text{ M}$ 、小於 10^{-12} M 、小於 $5 \times 10^{-13} \text{ M}$ 、小於 10^{-13} M 、小於 $5 \times 10^{-14} \text{ M}$ 、小於 10^{-14} M 、小於 $5 \times 10^{-15} \text{ M}$ 、或小於 10^{-15} M 或更低，並且以比結合非特異性抗原(例如，HSA)的親和力高至少兩倍的親和力結合靶標抗原。

【0291】 術語「 K_D 」或「 K_d 」係指特定抗體-抗原相互作用的解離平衡常數。

【0292】如本文所用，術語「治療靶標結合部分」意指特異性結合感興趣的治療靶標的分子。此分子可為抗體或其抗原結合片段（如下文所列出）、抗原特異性結合部分，例如DARPin、Fynomer、親合體、adnectin、affilin、anticalin、avimer、centyrin或RNA分子例如適配體。此治療靶標結合部分還可為多肽，例如，特異性結合感興趣的治療靶標的受體或受體部分。為避免疑義，「抗BTC結合部分」之非限制性實例包括如下文所列出的全長抗體及其抗原結合片段，例如，Fab、scFv、Fv、單結構域抗體等。

【0293】如本文所用，術語「抗體」係指全抗體或其抗原結合片段。全抗體係包含由二硫鍵互相連接的至少兩條重（H）鏈和兩條輕（L）鏈的糖蛋白。每條重鏈由重鏈可變區（本文中縮寫為VH）和重鏈恒定區組成。重鏈恒定區由三個結構域（CH1、CH2和CH3）組成。每條輕鏈由輕鏈可變區（本文中縮寫為VL）和輕鏈恒定區組成。該輕鏈恒定區由一個結構域，CL構成。VH區和VL區可進一步細分為高變區，稱為互補決定區（CDR），其間穿插有稱為框架區（FR）的較保留區。每個VH和VL由從胺基末端排到羧基末端按以下順序排列的三個CDR和四個FR構成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。重鏈和輕鏈的可變區含有與抗原相互作用的結合結構域。抗體的恒定區可以介導免疫球蛋白與宿主組織或因子（包括免疫系統的各種細胞（例如，效應細胞）和經典補體系統的第一組分（C1q））的結合。術語「抗體」包括但不限於單株抗體、人抗體、人源化抗體、駱駝化抗體、嵌合抗體、雙特異性或多特異性抗體。該等抗體可以屬於任何同種型/類別（例如，IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY）或亞類（例如，IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁和IgA₂）。

【0294】術語「同種型」係指由重鏈恒定區基因提供的抗體類別（例如，IgM、IgE、IgG如IgG₁或IgG₄）。同種型還包括該等類型之一的經修飾的形式，其中已經進行了修飾以改變Fc功能，例如，增強或降低效應子功能或結合Fc受

體。抗體可以具有任何同種型（例如，免疫球蛋白G（IgG）、免疫球蛋白E（IgE）、免疫球蛋白M（IgM）、免疫球蛋白D（IgD）、免疫球蛋白A（IgA）和免疫球蛋白Y（IgY））、類別（例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2）或亞類。如本文所用且除非另有指明，術語「IgG」或「IgG抗體」意指G類全抗體或Ig。

【0295】術語「輕鏈」包括具有足夠的可變區序列以賦予結合特異性的全長輕鏈及其片段。全長輕鏈包括可變區結構域V_L和恒定區結構域C_L。輕鏈的可變區結構域在多肽的胺基末端。輕鏈包括κ鏈和λ鏈。

【0296】術語「重鏈」包括具有足夠的可變區序列以賦予結合特異性的全長重鏈及其片段。全長重鏈包括可變區結構域V_H和三個恒定區結構域C_H1、C_H2和C_H3。V_H結構域在多肽的胺基末端，而C_H結構域在多肽的羧基末端，其中C_H3最靠近羧基末端。重鏈可以屬於任何同種型，包括IgG（包括IgG1、IgG2、IgG3和IgG4亞型）、IgA（包括IgA1和IgA2亞型）、IgM和IgE。

【0297】術語「可變區」或「可變結構域」係指抗體的輕鏈和/或重鏈的一部分，通常包括重鏈中胺基末端大約120至130個胺基酸和輕鏈中大約100至110個胺基末端胺基酸。在某些方面，不同抗體的可變區甚至在相同物種的抗體中在胺基酸序列上差異很大。抗體的可變區典型地決定了特定抗體對其靶標的特異性。

【0298】如本文所用，術語「互補決定區」和「CDR」係指抗體可變區內的賦予抗原特異性和結合親和力的胺基酸序列。通常，每個重鏈可變區中存在三個CDR（HCDR1、HCDR2和HCDR3），並且每個輕鏈可變區中存在三個CDR（LCDR1、LCDR2和LCDR3）。給定CDR的精確胺基酸序列邊界可以使用許多熟知的方案中的任何一種來確定，該等方案包括描述於以下的那些：Kabat等人(1991), 「Sequences of Proteins of Immunological Interest [具有免疫學重要性的蛋白序列]」, 第5版, Public Health Service [美國國立衛生研究院], National Institutes

of Health [公共衛生事業部], 馬里蘭州貝塞斯達市 (Bethesda) (「卡巴特 (Kabat)」編號方案) ; Al-Lazikani 等人, (1997) JMB 273,927-948 (「喬西亞 (Chothia)」編號方案) ; 以及 Lefranc 等人, (2003) Dev. Comp. Immunol. [發育與比較免疫學], 27, 55-77 (「IMGT」編號方案) 。卡巴特定義係用於對抗體中的殘基進行編號的標準並且典型地用於鑒定 CDR 區。參見, 例如 Johnson & Wu, Nucleic Acids Res. [核酸研究], 28: 214-8 (2000)。喬西亞定義與卡巴特定義相似, 但是喬西亞定義考慮了某些結構環區的位置。參見, 例如, Chothia 等人, J. Mol. Biol. [分子生物學雜誌], 196: 901-17 (1986) ; Chothia 等人, Nature [自然], 342: 877-83 (1989) 。

【0299】 可替代地, 可以使用用於描繪 CDR 區的其他方法, 例如, 可以組合卡巴特和喬西亞二者的 CDR 定義 (「組合的」系統) 。例如, 對於經典形式, 根據卡巴特, 將重鏈可變結構域 (VH) 中的 CDR 胺基酸殘基編號為 31-35 (HCDR1) 、50-65 (HCDR2) 和 95-102 (HCDR3) ; 並將輕鏈可變結構域 (VL) 中的 CDR 胺基酸殘基編號為 24-34 (LCDR1) 、50-56 (LCDR2) 和 89-97 (LCDR3) 。根據喬西亞, 將 VH 中的 CDR 胺基酸編號為 26-32 (HCDR1) 、52-56 (HCDR2) 和 95-102 (HCDR3) ; 並將 VL 中的胺基酸殘基編號為 26-32 (LCDR1) 、50-52 (LCDR2) 和 91-96 (LCDR3) 。藉由組合卡巴特和喬西亞二者的 CDR 定義, 組合的 CDR 由人 VH 中的胺基酸殘基 26-35 (HCDR1) 、50-65 (HCDR2) 和 95-102 (HCDR3) 和人 VL 中的胺基酸殘基 24-34 (LCDR1) 、50-56 (LCDR2) 和 89-97 (LCDR3) 組成。作為另一個實例, 根據 IMGT, 將重鏈可變結構域 (VH) 中的 CDR 胺基酸殘基編號為 26-33 (HCDR1) 、51-58 (HCDR2) 和 97-108 (HCDR3) ; 並將輕鏈可變結構域 (VL) 中的 CDR 胺基酸殘基編號為 27-36 (LCDR1) 、54-56 (LCDR2) 和 93-101 (LCDR3) 。

【0300】 如本文所用, 術語「抗體框架 (antibody framework 或 FR)」係指可變結構域的部分, 即 VL 或 VH, 其充當此可變結構域的抗原結合環 (CDR) 的

支架。本質上，它是沒有CDR的可變結構域。根據IMGT，可以使用程式IMGT/DomainGap Align確定抗體的CDR區。

【0301】如本文所用，術語抗體的「抗原結合片段」係指抗體的保留特異性結合給定抗原（例如，BTC和VEGF）的能力的一或多個片段，或包括這種片段的一或多個多肽。抗體的抗原結合功能可以由完整抗體的片段來執行。涵蓋在術語抗體的抗原結合部分內的結合片段之實例包括但不限於Fab片段，一種由VL、VH、CL和CH1結構域組成的單價片段；F(ab)₂片段，一種包含藉由鉸鏈區處的二硫橋連接的兩個Fab片段的二價片段；由VH和CH1結構域組成的Fd片段；由VL和VH結構域組成的Fv片段；單鏈Fv片段（scFv），其由藉由連接子序列連接的VL和VH結構域組成；以及單結構域抗體（dAb）片段，其由VH結構域或VL結構域組成（Ward等人, 1989 Nature [自然] 341: 544-546）。抗原結合片段還可以摻入到單結構域抗體、大型抗體（maxibody）、微型抗體（minibody）、胞內抗體、雙抗體、三抗體、四抗體、v-NAR和雙scFv（bis-scFv）中（參見例如，Hollinger和Hudson, 2005, Nature Biotechnology [自然生物技術], 23, 9, 1126-1136）。可以基於多肽例如III型纖連蛋白（Fn3）將抗體的抗原結合部分移植到支架中（參見美國專利案號6,703,199，其描述了纖連蛋白多肽單體）。可以將抗體結合片段摻入包含一對串聯Fv區段（例如，V_H-CH1-V_H-CH1）的單鏈分子中，與互補的輕鏈多肽（例如，V_L-VC-V_L-VC）一起形成一對抗原結合區（Zapata等人, (1995), Protein Eng. [蛋白工程] 8: 1057-1062；和美國專利案號5,641,870）。

【0302】如本文所用，「Fab」片段包含重鏈和輕鏈各自的一個恒定結構域和一個可變結構域。Fab分子的重鏈可以不與另一重鏈分子形成二硫鍵。

【0303】如本文所用，「Fab'片段」包含一條輕鏈和一條重鏈的一部分，該重鏈的一部分含有VH結構域和C_H1結構域以及C_H1結構域和C_H2結構域之間的

區域，使得在兩個Fab'片段的兩條重鏈之間可以形成鏈間二硫鍵，從而形成F(ab')₂分子。

【0304】如本文所用，「F(ab')₂片段」含有兩條輕鏈和兩條重鏈，該重鏈含有C_H1結構域和C_H2結構域之間的一部分恒定區，使得在兩條重鏈之間形成鏈間二硫鍵。F(ab')₂片段因而由藉由兩個重鏈之間的二硫鍵維持在一起的兩個Fab'片段構成。

【0305】「Fv區」包含來自重鏈和輕鏈二者的可變區，但是缺少恒定區。

【0306】如本文所用的術語「單鏈Fv」或「scFv」係指包含抗體的V_H和V_L結構域的抗體片段，其中該等結構域存在於單條多肽鏈中。較佳的是，Fv多肽在V_H和V_L結構域之間進一步包含內部多肽連接子，該內部多肽連接子使scFv能夠形成抗原結合所需的結構。scFv也可具有增強穩定性的工程化的內部二硫橋。關於scFv的評論，參見Plückthun，於*The Pharmacology of Monoclonal Antibodies* [單株抗體藥理學]，第113卷，Rosenburg和Moore編輯，(1994) Springer-Verlag [施普林格]，紐約，第269頁-第315頁。在較佳的方面，在本揭露之多特異性結合分子中使用的scFv具有一般結構：NH₂-V_L-連接子-V_H-COOH或NH₂-V_H-連接子-V_L-COOH。

【0307】如本文所用「親和力成熟的」抗體係在一或多個CDR中具有一或多個改變的抗體，與不具有該等一或多個改變的親本抗體相比，這導致抗體對抗原的親和力提高。較佳的親和力成熟的抗體將對靶標抗原具有納莫耳或甚至皮莫耳的親和力。親和力成熟的抗體藉由本領域已知的程序產生。Marks等人*Bio/Technology* [生物技術] 10: 779-783 (1992) 描述了由V_H結構域和V_L結構域改組進行的親和力成熟。CDR和/或框架殘基的隨機誘變由以下描述：Barbas等人*Proc Nat. Acad. Sci, USA* [美國國家科學院院刊] 91: 3809-3813 (1994)；Schier等人*Gene* [基因] 169: 147-155 (1995)；Yelton等人*J. Immunol.* [免疫學雜誌] 155: 1994-

2004 (1995) ; Jackson等人, *J. Immunol.* [免疫學雜誌] 154 (7): 3310-9 (1995) ; 以及 Hawkins等人, *J. Mol. Biol.* [分子生物學雜誌] 226: 889-896 (1992) 。

【0308】如本文所用，「親本」或「親本的」抗體係由用於製備親和力成熟的抗體或其變體的胺基酸序列編碼的抗體。較佳的是，親本抗體具有人框架區並且如果存在，具有一或多個人抗體恒定區。例如，親本抗體可為人源化抗體或人抗體。

【0309】如本文所用的術語「雙抗體」係指具有兩個抗原結合位點的小抗體片段，該等片段包含與同一條多肽鏈（VH-VL）中的輕鏈可變結構域（VL）連接的重鏈可變結構域（VH）。藉由使用太短而不會允許在同一條鏈上兩個結構域之間配對的连接子迫使結構域與另一條鏈的互補結構域配對並產生兩個抗原結合位點。雙抗體更全面地描繪於以下文獻中：例如，EP 404,097；WO 93/11161；和Hollinger等人, (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* [美國國家科學院院刊] 90: 6444-6448。

【0310】如本文所用的術語「單特異性結合分子」或「單特異性抗體」係指結合至靶標抗原的一個表位上的分子。在一方面，本揭露之單特異性結合分子或單特異性抗體結合BTC。在另一方面，本揭露之單特異性結合分子或單特異性抗體結合VEGF。

【0311】如本文所用的術語「多特異性結合分子」或「多特異性抗體」係指結合兩種或更多種不同抗原的分子。每種抗原的識別通常通過「抗原結合結構域」（例如，「BTC抗原結合結構域」、「VEGF抗原結合結構域」）完成。術語「多特異性」包括「雙特異性」，即，一個分子結合至兩種不同抗原。在一些方面，多特異性結合分子含有一條或多條多肽鏈，該多肽鏈各自包含一個抗原結合結構域。在一方面，多特異性結合分子包含VH或VL。在一些方面，多特異性結合分子含有一條或多條多肽鏈，該多肽鏈各自包含超過一個（例如，兩個）抗

原結合結構域。在一些方面，多特異性結合分子包含兩條、三條、四條或更多條多肽鏈，該多肽鏈一起包含多個，例如兩個或更多個，例如兩個、三個或四個抗原結合結構域。

【0312】 術語「雙特異性結合分子」或「雙特異性抗體」係指在單個分子內組合兩種抗體的抗原結合位點的分子。在一方面，雙特異性結合分子或雙特異性抗體含有單一多肽。在另一方面，雙特異性結合分子或雙特異性抗體含有通過二硫橋或任何其他共價鍵連接的兩個多肽。因此，雙特異性抗體能夠同時或依次結合兩種不同的抗原。用於製備雙特異性抗體的方法係本領域熟知的。用於組合兩種抗體的各種形式也係本領域已知的。如熟悉該項技術者已知的，本揭露之雙特異性抗體形式包括但不限於雙抗體、單鏈雙抗體、Fab二聚化（Fab-Fab）、Fab-scFv和串聯抗體。

【0313】 如本文所用的術語「二價分子」係指具有兩個抗原結合結構域分子。如本文所用的術語「三價分子」係指具有三個抗原結合結構域分子。在一些方面，本揭露之三價分子係三價抗體樣分子。在一些方面，三價分子可以由能夠結合相同抗原的相同表位的兩個抗原結合結構域和結合不同抗原的第三抗原結構域組成。此類方面被認為是三價雙特異性分子。

【0314】 術語「多價分子」係指具有至少兩個抗原結合位點分子，其中抗原結合位點可具有對相同抗原或不同抗原的特異性。在一些方面，本揭露之多價分子係多價抗體樣分子。在一些方面，本揭露之多價分子係多價抗體。在一些方面，多價分子係二價分子、三價分子或四價分子。三聚結構域描述於例如EP 1 012 280 B1中。五聚模組描述於例如PCT/EP 97/05897中。

【0315】 如本文所用的術語「基本上類似」或「基本上相同」係指兩個數值之間的足夠高的相似度（通常一個與本揭露之抗體樣分子相關，而另一個與參考/比較抗體或抗體樣分子相關），使得熟悉該項技術者會認為在由所述值（例

如， T_m 值或組裝抗體的量）量度的生物學特徵的情形下，兩個值之間的差異幾乎沒有生物學和/或統計學顯著性。隨著參考/比較抗體的值變化，該兩個值之間的差異較佳的是小於約50%，較佳的是小於約40%，較佳的是小於約30%，較佳的是小於約20%，較佳的是小於約10%。

【0316】 術語「抗原」係指能夠被選擇性結合劑（例如，抗原結合蛋白（包括，例如，抗體或其免疫功能片段））結合的分子或分子的一部分。在一些方面，抗原能夠在動物中使用以產生能夠結合抗原的抗體。抗原可具有能夠與不同的抗原結合蛋白（例如，抗體）相互作用的一或多個表位。

【0317】 如本文所用的術語「表位」或「表位」係指能夠以高親和力結合抗體或抗體樣分子的任何決定簇。表位係抗原中被特異性靶向該抗原的抗體（或抗體樣分子）結合的區域，並且當抗原係蛋白質時，表位包括直接接觸抗體或抗體樣分子的特定胺基酸。大多數情況下，表位存在於蛋白質上，但是在一些情況中，它們可以存在於其他類型的分子（如核酸）上。表位決定簇可以包括分子的化學活性表面基團，如胺基酸、糖側鏈、磷醯基或磺醯基，並且可以具有特定的三維結構特徵、和/或特定的電荷特徵。

【0318】 通常，對特定靶標抗原具有特異性的多特異性結合分子將優先識別蛋白質和/或大分子的複雜混合物中該靶標抗原上的表位。

【0319】 可以使用本領域已知的任何數量的表位作圖技術鑒定給定多肽中包括表位的區域。參見例如，*Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology* [分子生物學方法中的表位作圖方案]，第66卷 (Glenn E. Morris編輯, 1996) Humana Press [胡馬納出版社]，新澤西州托托瓦市 (Totowa, New Jersey)。例如，線性表位可以藉由例如在固體支持物上同時合成大量肽來確定，該等肽對應於蛋白質分子的部分且肽與抗體反應的同時肽仍然附著於支持物。此類技術在本領域中係已知的並且描述於例如美國專利案號4,708,871；Geysen等人, (1984)

Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 8: 3998-4002 ; Geysen等人, (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 82: 78-182 ; Geysen等人, (1986) Mol. Immunol. [分子免疫學] 23: 709-715中。類似地，藉由測定胺基酸的空間構形例如藉由X射線晶體學和二維核磁共振，可以容易地鑒定構形表位。參見例如，**Epitope Mapping Protocols** [表位作圖方案]，同上。還可以使用標準抗原性和親水性圖來鑒定蛋白質的抗原區域，如使用例如可從牛津分子集團（**Oxford Molecular Group**）獲得的Omiga版本1.0軟體程式計算的那些圖。此電腦程式採用Hopp/Woods方法（Hopp等人, (1981) Proc. Natl. Acad. Sci USA [美國國家科學院院刊] 78: 3824-3828）用於確定抗原性曲線且採用Kyte-Doolittle技術（Kyte等人, (1982) J. Mol. Biol. [分子生物學雜誌] 157: 105-132）用於親水性圖。

【0320】 當在競爭相同表位的抗原結合蛋白的情形下使用時，術語「競爭」意指如在測定中所確定的抗原結合蛋白之間的競爭，其中所測試的抗原結合蛋白（例如，抗體或其免疫功能片段）防止或抑制（例如，減少）參考抗原結合蛋白（例如，配體或參考抗體）與共同抗原（例如，**BTC**或其片段）的特異性結合。可以使用許多類型的競爭性結合測定來測定一種抗原結合蛋白是否與另一種抗原結合蛋白競爭，例如：固相直接或間接放射免疫測定（**RIA**）、固相直接或間接酶免疫測定（**EIA**）、夾層競爭測定（參見，例如，**Stahli**等人, 1983 *Methods in Enzymology* [酶學方法] 9: 242-253）；固相直接生物素-抗生物素蛋白**EIA**（參見 **Kirkland**等人, 1986, *J. Immunol.* [免疫學雜誌] 137: 3614-3619）固相直接標記測定、固相直接標記夾層測定（參見，例如，**Harlow**和**Lane**, 1988, *Antibodies, A Laboratory Manual* [抗體，實驗室手冊], Cold Spring Harbor Press [冷泉港出版社]）；使用**I-125**標記的固相直接標記**RIA**（參見，例如，**Morel**等人, 1988, *Molec. Immunol.* [分子免疫學] 25: 7-15）；固相直接生物素-抗生物素蛋白**EIA**（參見，例如，**Cheung**等人, 1990, *Virology* [病毒學] 176: 546-552）；以及直接標記的**RIA**

(Moldenhauer等人, 1990, *Scand. J. Immunol.* [斯堪的納維亞免疫學雜誌] 32: 77-82)。典型地，這種測定涉及使用結合固體表面或細胞的純化抗原（該固體表面或細胞攜帶該等中之任一個）、/未標記的測試抗原結合蛋白和標記的參考抗原結合蛋白中的任何一種。藉由確定在測試抗原結合蛋白存在下結合固體表面或細胞的標籤的量來測量競爭性抑制。通常，測試抗原結合蛋白過量存在。藉由競爭測定法（競爭抗原結合蛋白）鑒定的抗原結合蛋白包括：與參考抗原結合蛋白結合相同表位的抗原結合蛋白和與參考抗原結合蛋白結合的表位足夠近的鄰近表位結合（以發生空間位阻）的抗原結合蛋白。在本文之實例中提供了關於用於確定競爭性結合的方法的另外的細節。通常，當競爭性抗原結合蛋白過量存在時，它會將參考抗原結合蛋白與共同抗原的特異性結合抑制（例如，減少）至少40%-45%、45%-50%、50%-55%、55%-60%、60%-65%、65%-70%、70%-75%或75%或更多。在一些情況下，結合被抑制至少80%-85%、85%-90%、90%-95%、95%-97%、或97%或更多。

【0321】 術語「多肽」和「蛋白質」在本文中可互換使用來指胺基酸殘基的聚合物。該等短語還適用於一或多個胺基酸殘基係相應天然存在的胺基酸的人工化學模擬物的胺基酸聚合物，並且適用於天然存在的胺基酸聚合物和非天然存在的胺基酸聚合物。除非另外說明，否則特定的多肽序列還隱含地涵蓋其保留修飾的變體。

【0322】 如本文所用，術語「主多肽鏈」係指本揭露之多特異性結合分子中具有所有組分區域和結構域的完整胺基酸鏈。

【0323】 術語「恒定區」或「恒定結構域」係指輕鏈和重鏈的羧基末端部分，其不直接參與抗體與抗原的結合，但表現出各種效應子功能，例如與Fc受體的相互作用。術語係指免疫球蛋白分子的一部分，相對於免疫球蛋白的另一部

分，即可變結構域，具有更保留的胺基酸序列，並且包含抗原結合位點。恒定結構域包含重鏈的CH1、CH2和CH3結構域，以及輕鏈的CL結構域。

【0324】 術語「胺基酸」係指天然存在的和合成的胺基酸，以及以與天然存在的胺基酸相似的方式起作用的胺基酸類似物和胺基酸模擬物。天然存在的胺基酸係那些由遺傳密碼編碼的胺基酸以及後期經修飾（例如，由於翻譯後修飾）的那些胺基酸（例如羧脯胺酸、 γ -羧基麩胺酸、焦麩胺酸、c末端離胺酸切割、和O-磷酸絲胺酸）。胺基酸類似物係指與天然存在的胺基酸具有相同基本化學結構（即與氫結合的 α 碳、羧基、胺基和R基團，例如高絲胺酸、正白胺酸、甲硫胺酸亞砷、甲硫胺酸甲基銻）的化合物。此類類似物具有經修飾的R基團（例如，正白胺酸）或經修飾的肽骨架，但保留與天然存在的胺基酸相同的基本化學結構。胺基酸模擬物係指具有如下結構的化合物，該結構與胺基酸的一般化學結構不同但是以與天然存在的胺基酸類似的方式起作用。

【0325】 對於多肽序列，「保留修飾的變體」包括對多肽序列的單獨取代、缺失或添加，它們導致某個胺基酸取代為化學上相似的胺基酸。提供在功能上相似的胺基酸的保留取代表係熟知的。此類保留修飾的變體係對本揭露之多態變體、種間同源物和對偶基因的補充，並且不排除該等多態變體、種間同源物和對偶基因。以下八組含有彼此保留取代的胺基酸：1) 丙胺酸（A）、甘胺酸（G）；2) 天冬胺酸（D）、麩胺酸（E）；3) 天冬醯胺（N）、麩醯胺酸（Q）；4) 精胺酸（R）、離胺酸（K）；5) 異白胺酸（I）、白胺酸（L）、甲硫胺酸（M）、纈胺酸（V）；6) 苯丙胺酸（F）、酪胺酸（Y）、色胺酸（W）；7) 絲胺酸（S）、蘇胺酸（T）；和8) 半胱胺酸（C）、甲硫胺酸（M）（參見例如，Creighton, Proteins [蛋白質](1984)）。在一些方面，術語「保留序列修飾」或「保留修飾」用於指不顯著影響或改變含有胺基酸序列的抗體的結合特徵的胺基酸修飾。

【0326】在某些方面，術語「劑量」係指向受試者一次性全部投與（單位劑量）、或經指定的時間間隔以兩次或更多次投與的治療劑（該治療劑可為蛋白質（例如，抗體或抗原結合片段）或核酸，或者治療靶標結合部分可為小分子（例如，< 900道爾頓）治療化合物）的量。例如，劑量可以指在三週或一個、兩個、三個、四個、五個、六個月或更多個月的過程中（例如，藉由單次投與或藉由兩次或更多次投與）向受試者投與的蛋白質（例如，軛合至分子（例如，包含抗VEGF抗體或其功能片段的蛋白質）的抗BTC抗體或其功能片段）的量。劑量之間的時間間隔可為任何所需的時間並且被稱為「給藥間隔」。

【0327】當提及劑量時，術語「藥學上有效的」意指蛋白質（例如，抗體或其抗原結合片段）或其他的藥學活性劑足以提供所需效果（例如，改善的視力或預防視力進一步喪失）的量。「有效的」量在不同的受試者中將是不同的，這取決於個體的年齡和一般狀況、特定的藥物或藥學活性劑等。因此，並不總是可指定適合所有患者精確的「有效」量。然而，在任何個案下適當的「有效」劑量可由熟悉該項技術者使用常規實驗來確定。

【0328】如本文所用的術語「人抗體」旨在包括具有框架區和CDR區二者都衍生自人來源的序列的可變區的抗體。此外，如果抗體含有恒定區，則恒定區也衍生自此類人序列，例如人種系序列，或人種系序列的突變形式或含有衍生自人框架序列分析的共有框架序列的抗體，例如，如Knappik等人（*J. Mol. Biol.* [分子生物學雜誌] 296, 57-86, 2000）所述。本揭露之人抗體可以包含不是由人序列編碼的胺基酸殘基（例如，藉由在體外隨機誘變或位點特異性誘變、或藉由在體內體細胞突變、或保留取代來引入突變以促進穩定性或生產）。然而，如本文所用的術語「人抗體」不旨在包括其中源自另一種哺乳動物物種例如小鼠種系的CDR序列已被移植到人框架序列中的抗體。

【0329】如本文所用，術語「單株抗體」或「單株抗體組成物」係指具有基本上相同的胺基酸序列或源自相同遺傳來源的多肽，該等多肽包括抗體和抗原結合片段。此術語還包括具有單分子組成的抗體分子的製劑。單株抗體組成物表現出對特定表位的單一結合特異性和親和力。使用噬菌體展示技術產生單株抗體的方法係本領域中已知的（Proetzel, G., Ebersbach, H. (編輯) *Antibody Methods and Protocols* [抗體方法和方案]. Humana Press [胡馬納出版社] ISBN 978-1-61779-930-3; 2012）。

【0330】術語非人（例如，鼠）抗體的「人源化」形式係含有衍生自非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合抗體。在大多數情況下，人源化抗體係人免疫球蛋白（受者抗體），其中來自受者高變區的殘基被來自非人物種例如小鼠、大鼠、兔或非人靈長類動物的具有所需特異性、親和力和能力的高變區（供者抗體）的殘基置換。在一些情況下，人免疫球蛋白的框架區（FR）殘基由相應非人殘基置換。此外，人源化抗體可包含在受者抗體或供者抗體中未發現的殘基。進行該等修飾以進一步改善抗體性能。通常，人源化抗體將包含基本上所有如下項：至少一個，典型地兩個可變結構域，其中所有或基本上所有高變環對應於非人免疫球蛋白的那些高變環，且所有或基本上所有FR係人免疫球蛋白序列的那些FR。人源化抗體視需要還包含免疫球蛋白恒定區（Fc），典型地人免疫球蛋白恒定區的至少一部分。有關進一步的細節，參見Jones等人, *Nature* [自然], 321: 522-525 (1986)；Riechmann等人, *Nature* [自然] 332: 323-329 (1988)；以及Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* [結構生物學最新觀點] 2: 593-596 (1992)。另參見以下評論文章和其中引用的參考文獻：Vaswani和Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* [過敏、氣喘和免疫學年鑒] 1: 105-115 (1998)；Harris, *Biochem. Soc. Transactions* [生化學會學報] 23: 1035-1038 (1995)；Hurle和Gross, *Curr. Op. Biotech.* [生物技術新觀點] 5: 428-433 (1994)。

【0331】如本文所用，「同一性」係指兩個多肽、分子之間或兩個核酸之間的序列匹配。當在兩個比較的序列中的位置均被相同的鹼基或胺基酸佔據（例如，如果在兩個多肽中的各自中的位置被離胺酸佔據）時，則相應的分子在該位置上係相同的。將空位的數量和每個空位的長度考慮在內，兩個序列之間的同一性百分比係該等序列共有的相同位置的數量的函數，需要引入該等空位以進行兩個序列的最佳比對。通常，在比對兩個序列時，進行比較以給出最大同一性。這種比對可以使用，例如，已併入GCG套裝軟體的GAP程式中的Needleman和Wunsch（J. Mol. Biol. [分子生物學雜誌] (48): 444-453 (1970)）演算法之方法，使用Blosum 62矩陣或PAM250矩陣以及缺口權重為16、14、12、10、8、6或4和長度權重為1、2、3、4、5或6來提供。對於序列比較，典型地一個序列充當參考序列，將測試序列與該參考序列比較。當使用序列比較演算法時，將測試序列和參考序列輸入到電腦中，必要時指定子序列座標，並且指定序列演算法程式參數。可以使用預設程式參數，或者可以指定替代參數。然後，序列比較演算法將基於程式參數計算測試序列相對於參考序列的序列同一性百分比。當提及選自由以下組成之群組的多個鄰接位置中之任一個的區段：20至600個、通常約50至約200個、更通常約100至約150個時，可以使用比較視窗，其中在將序列與相同數量的鄰接位置的參考序列最佳比對後，可以將兩個序列進行比較。用於比較的序列比對方法在本領域中係熟知的。用於比較的序列的最佳比對可以藉由以下來進行：例如，藉由Smith和Waterman (1970) Adv. Appl. Math. [應用數學進展]2: 482c的局部同源性演算法；藉由Needleman和Wunsch, J. Mol. Biol. [分子生物學雜誌] 48: 443, 1970的同源比對演算法；藉由搜索Pearson和Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 85: 2444, 1988的相似性方法；藉由該等演算法的電腦化實現（在威斯康辛州麥迪森市科學路575號（575 Science Dr., Madison, WI）的遺傳學電腦組（Genetics Computer Group）的威斯康辛遺傳學套裝軟體

(Wisconsin Genetics Software Package) 中的 GAP 、 BESTFIT 、 FASTA 和 TFASTA) ; 或藉由手動校準和目視檢查 (參見例如 , Brent 等人 , Current Protocols in Molecular Biology [當代分子生物學實驗指南], John Wiley & Sons, Inc. [約翰威利父子出版公司] (Ringbou編著, 2003)) 。適用於確定序列同一性百分比和序列相似性的演算法的兩個實例係BLAST和BLAST 2.0演算法, 它們分別描述於 Altschul 等人, Nuc. Acids Res. [核酸研究] 25: 3389-3402, 1977 ; 和 Altschul 等人, J. Mol. Biol. [分子生物學雜誌] 215: 403-410, 1990 。用於執行BLAST分析的軟體可通過美國國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information) 公開地獲得。此演算法包括首先藉由鑒定查詢序列中長度為W的短字來鑒定高得分序列對 (HSP) , 當與數據庫序列中的相同長度的字比對時, 該長度為W的短字匹配或滿足一些正值閾值得分T。T被稱為鄰域字得分閾值 (Altschul 等人, 同上) 。該等最初的鄰域字命中點作為種子, 用於啟動搜索以找到包含它們的更長的HSP。字命中點沿著每個序列在兩個方向上擴展, 遠至可以增加累積比對得分。對於核苷酸序列, 使用參數M (一對匹配殘基的獎勵得分; 總是 > 0) 和N (錯配殘基的罰分; 總是 < 0) 計算累積得分。對於胺基酸序列, 使用得分矩陣來計算累積得分。當出現以下情形時, 字命中點向各方向的延伸終止: 累積比對得分從其最大獲得值跌落數量X; 由於一或多個負得分殘基比對的累積, 累積得分走向零或更低; 或到達任一序列的一端。BLAST演算法參數W、T和X決定了比對的靈敏度和速度。BLASTN程式 (對於核苷酸序列) 使用字長 (W) 為11、期望值 (E) 為10、M = 5、N = -4以及兩條鏈的比較作為預設值。對於胺基酸序列, BLASTP程式預設使用字長為3和期望值 (E) 為10, 以及BLOSUM62得分矩陣 (參見Henikoff和Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 89: 10915, 1989) 比對 (B) 為50、期望值 (E) 為10、M = 5、N = -4以及兩條鏈的比較。BLAST演算法還對兩個序列之間的相似性進行統計分析 (參見例如, Karlin

和Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 90: 5873-5787, 1993)。由BLAST演算法提供的一種相似性量度係最小總和概率(P(N))，其提供了兩個核苷酸或胺基酸序列之間偶然發生匹配的指示。例如，如果在測試核酸與參考核酸的比較中的最小總和概率小於約0.2、更較佳的是小於約0.01、最較佳的是小於約0.001，則認為核酸與參考序列相似。兩個胺基酸序列之間的同一性百分比也可以使用已併入ALIGN演算法(2.0版)中的E. Meyers和W. Miller (Comput. Appl. Biosci. [電腦應用生物科學], 4: 11-17, 1988)的演算法，利用PAM120權重殘基表、空位長度罰分為12、空位罰分為4來確定。此外，兩個胺基酸序列之間的同一性百分比可以使用已經併入GCG套裝軟體中的GAP程式(可以從萬維網以gcg.com獲得)中的Needleman和Wunsch (J. Mol. Biol. [分子生物學雜誌] 48: 444-453, 1970)演算法，利用Blosum 62矩陣或PAM250矩陣和空位權重為16、14、12、10、8、6或4以及長度權重為1、2、3、4、5或6來確定。除了上述序列同一性百分比之外，兩個核酸序列或多肽基本上相同的另一個指示是由第一核酸編碼的多肽與針對由第二核酸編碼的多肽產生的抗體進行免疫交叉反應，如下所述。因此，多肽典型地與第二多肽基本上相同，例如其中兩種肽僅藉由保留取代而不同。兩個核酸序列基本上相同的另一個指示係兩個分子或它們的互補序列在嚴格條件下彼此雜交，如下所述。兩個核酸序列基本上相同的又另一個指示是可使用相同的引物來擴增兩個核酸序列。

【0332】 如本文在提及兩個核苷酸序列時所用的術語「百分比互補性」或「百分比互補的」與百分比同一性的概念類似，但是指當查詢序列和主題序列線性地排列並最佳鹼基配對而無二級折疊結構(例如，環、莖或髮夾)時，與主題序列的核苷酸最佳鹼基配對或雜交的查詢序列的核苷酸的百分比。這種百分比互補性可為兩條DNA鏈之間的百分比互補性、兩條RNA鏈之間的百分比互補性、或DNA鏈和RNA鏈之間的百分比互補性。「百分比互補性」藉由以下來計算：

(i) 在比較視窗上以線性和完全展開的排列（即，無折疊或二級結構），使兩個核苷酸序列最佳鹼基配對或雜交，(ii) 在比較窗口上，確定兩個序列之間的鹼基配對的位置的數量，以產生互補位置的數量，(iii) 用互補位置的數量除以比較窗口中位置的總數量，並且 (iv) 將該商乘以100%以產生兩個序列的百分比互補性。兩個序列的最佳鹼基配對可以基於核苷酸鹼基的通過氫鍵結合的已知配對（例如，G-C、A-T和A-U）來確定。如果在沒有指定特定的比較視窗的情況下計算相對於參考序列的「百分比互補性」，那麼百分比同一性藉由用兩個線性序列之間的互補位置的數量除以參考序列的總長度來確定。因此，出於本揭露之目的，當兩個序列（查詢序列和主題序列）最佳鹼基配對（允許錯配或非鹼基配對的核苷酸但是無折疊或二級結構）時，查詢序列的「百分比互補性」等於用兩個序列之間的鹼基配對的位置的數量除以查詢序列全長度的位置的總數量（或除以在比較視窗上的查詢的位置的數量），然後將其乘以100%。

【0333】術語「分離的抗體」係指基本上不含具有不同抗原特異性的其他抗體或其他蛋白質的抗體。而且，分離的抗體可以基本上不含其他的細胞材料和/或化學品，例如，從細胞上清液中分離的抗體。

【0334】在本文所述之抗BTC多特異性結合分子之情形下，術語「連接（linked或linking）」係指抗BTC結合部分（例如像，結合表1中所列出的BTC的抗BTC抗體或其功能片段）與分子的附接。抗BTC結合部分與蛋白質的附接可以發生在例如，分子（例如，抗VEGF抗體或其功能片段）的胺基末端或羧基末端。抗BTC結合部分還可附接至蛋白質的胺基末端和羧基末端二者。抗BTC結合部分還可分別附接至蛋白質或核酸分子中的一或多個胺基酸或核酸。抗BTC結合部分與分子的連接可以藉由本領域已知的任何方法（包括但不限於抗BTC結合部分和分子作為融合蛋白表現），或藉由翻譯後將抗BTC結合部分與分子直接與彼此或經由二硫鍵等藉由連接子化學連接來完成。

【0335】 在多特異性結合分子之情形下，術語「連接子」或「連接」係指多特異性結合分子之一部分直接或間接附接至分子的另一部分，例如，抗BTC結合部分附接至抗VEGF結合部分。連接子可以共價附接至抗BTC結合部分和/或蛋白質或核酸分子的胺基末端或羧基末端中的一者或二者。肽連接子還可以分別軛合至蛋白質或核酸分子的序列中的胺基酸或核酸上。預期在某些方面，肽連接子的長度可為例如，約2個至25個殘基。

【0336】 術語「核酸」在本文中可與術語「多核苷酸」互換使用，並且係指呈單鏈或雙鏈形式的去氧核糖核苷酸或核糖核苷酸及其聚合物。術語涵蓋含有已知核苷酸類似物或修飾的骨架殘基或連接的核酸，該等核酸係合成的、天然存在的和非天然存在的，具有與參考核酸相似的結合特性，並且以類似於參考核苷酸的方式代謝。此類類似物之實例包括但不限於硫代磷酸酯、胺基磷酸酯、甲基膦酸酯、手性-甲基膦酸酯、2-O-甲基核糖核苷酸、肽-核酸（PNA）。除非另外說明，否則特定的核酸序列還隱含地涵蓋其經保留修飾的變體（例如，簡並密碼子取代）、對偶基因、異種同源物、SNP和互補序列以及明確說明的序列。具體地，簡並密碼子取代可以藉由產生如下序列而獲得，在該等序列中，一或多個所選的（或全部）密碼子的第三位被混合鹼基和/或去氧肌苷殘基取代（Batzer等人, *Nucleic Acid Res.* [核酸研究] 19: 5081, 1991；Ohtsuka等人, *J. Biol. Chem.* [生物化學雜誌] 260: 2605-2608, 1985；和Rossolini等人, *Mol. Cell. Probes* [分子和細胞探針] 8: 91-98, 1994）。

【0337】 術語「可操作地連接」係指兩個或更多個多核苷酸（例如，DNA）區段之間的功能關係。典型地，該術語係指轉錄調節序列與已轉錄序列的功能性關係。例如，如果啟動子或強化子序列在適當的宿主細胞或其他表現系統中刺激或調控編碼序列的轉錄，則啟動子或強化子序列可操作地連接至編碼序列。通常，與轉錄序列可操作地連接的啟動子轉錄調節序列與轉錄序列在物理上鄰接，

即它們係順式作用的。然而，一些轉錄調節序列例如強化子不需要在物理上鄰接或位於極為接近該等轉錄調節序列增強其轉錄的編碼序列的位置。

【0338】如本文所用，術語「優化的」或「密碼子優化」意指核苷酸序列已被改變為使用在產生細胞或生物體（通常為真核細胞，例如畢赤酵母屬的細胞、中國倉鼠卵巢細胞（CHO）、人細胞或原核細胞例如大腸桿菌細胞）中較佳的密碼子編碼胺基酸序列。密碼子優化係指如下發現：在編碼DNA中同義密碼子（即編碼相同胺基酸的密碼子）的出現頻率在不同物種中有偏差。這種密碼子簡並性允許相同的多肽由各種核苷酸序列編碼。多種密碼子優化方法係本領域中已知的，並且包括例如在至少美國專利案號5,786,464和6,114,148中揭露的方法。優化的核苷酸序列被工程化以完全或盡可能多地保留最初由起始核苷酸序列編碼的胺基酸序列，該起始核苷酸序列也稱為「親本的」序列。本文優化的序列已被工程化以具有在哺乳動物細胞中較佳的密碼子。然而，本文還設想了該等序列在其他真核細胞或原核細胞中的優化表現。由優化的核苷酸序列編碼的胺基酸序列也稱為優化的。

【0339】如本文所用，術語「蛋白質」係指由以一或多個線性鏈排列並折疊為三維構形的胺基酸形成的任何有機化合物。聚合物鏈中的胺基酸藉由相鄰胺基酸殘基的羧基基團和胺基基團之間的肽鍵連接在一起。術語「蛋白質」進一步包括但不限於：肽、單鏈多肽或主要由兩個或更多個胺基酸鏈組成的任何複合物分子。其進一步包括但不限於：糖蛋白或任何已知的翻譯後修飾。其進一步包括已知的對天然蛋白質的天然或人工化學修飾（例如但不限於：糖工程化、聚乙二醇化、hes化等）、非天然胺基酸摻入、以及用於與另一分子化學軛合的胺基酸修飾。

【0340】術語「多肽」和「蛋白質」在本文中可互換使用來指胺基酸殘基的聚合物。該等短語還適用於一或多個胺基酸殘基係相應天然存在的胺基酸的

人工化學模擬物的胺基酸聚合物，並且適用於天然存在的胺基酸聚合物和非天然存在的胺基酸聚合物。除非另外說明，否則特定的多肽序列還隱含地涵蓋其保留修飾的變體。

【0341】術語「重組宿主細胞」（或簡稱「宿主細胞」）係指已引入一或多個重組表現載體的細胞。應當理解，這種術語不僅意指特定的受試者細胞，而且意指這種細胞的子代。因為某些變化可在後代中由於突變或環境影響而發生，這種子代可能在事實上與親本細胞不同，但是仍然包括在如本文所用的術語「宿主細胞」範圍內。

【0342】術語「受試者」包括人類和非人類動物。非人動物包括所有脊椎動物（例如，哺乳動物和非哺乳動物）例如，非人靈長類（例如，食蟹猴）、小鼠、大鼠、貓、兔、豬、綿羊、狗、牛、雞、兩棲動物和爬行動物。除非指出時，否則術語「患者」或「受試者」在本文中可互換地使用。如本文所用的，術語「食猴（cyno或cynomolgus）」係指食蟹獼猴（*Macaca fascicularis*）。

【0343】在涉及本文所述之適應症例如，眼科病症或障礙，包括與糖尿病性黃斑水腫相關的病症或障礙、視網膜血管病、與糖尿病性視網膜病變相關的病症或障礙、和/或與黃斑水腫相關的病症或障礙時，「預防（prevention或preventing）」意指在處於如下文所述之視功能惡化、視網膜解剖學惡化、視網膜血管病參數惡化、糖尿病性視網膜病變疾病參數惡化、和/或黃斑水腫疾病參數惡化風險的患者中，預防或減緩所述惡化的任何措施。如本文所用，在涉及非眼科病症或障礙（包括胰臟癌、乳癌、子宮內膜腺癌、肝細胞癌、頭頸部鱗狀細胞癌、和胃癌）時，「預防（prevention或preventing）」不需要實現病症的完全預防。此術語還涵蓋部分預防或減輕病症或病症的症狀，或降低病症發展的風險。

【0344】術語「治療（treating或treatment）」與糖尿病性黃斑水腫相關的病症或障礙、與年齡相關性黃斑變性相關的病症或障礙，例如，新生血管性年齡相關性黃斑變性、與視網膜血管病相關的病症或障礙、與糖尿病性視網膜病變相關的病症或障礙、和/或與黃斑水腫相關的病症或障礙意指帶來或預期帶來視功能和/或視網膜解剖學的改善或保持的任何措施。如本文所用，非眼科病症或障礙（包括胰臟癌、乳癌、子宮內膜腺癌、肝細胞癌、頭頸部鱗狀細胞癌和胃癌）的「治療（treating或treatment）」係指帶來或預期帶來病症或障礙的改善或減輕的任何措施。在另一方面，治療包括重複投與頻率的降低和/或就診/住院次數的減少。還包括如下方面/方面，其中治療涉及長期治療，例如，在無限期的時間裡重複投與。用於評估疾病的治療和/或預防的方法為本領域已知並在下文描述。

【0345】術語「治療上可接受的量」或「治療有效量」或「治療有效劑量」可互換地指足以實現所需結果（即，降低疾病活性，降低疾病進展，減少疾病病徵和/或症狀等）的量。在一些方面，治療可接受量不誘導或不引起不期望的副作用。可以藉由首先投與低劑量並且隨後遞增地增加該劑量直至實現所需效果來確定治療上可接受的量。本發明之分子的「預防有效劑量」和「治療有效劑量」可以分別預防疾病症狀發作或使疾病症狀的嚴重性降低，該疾病症狀包括與BTC活性和/或VEGF活性相關的症狀。

【0346】術語「載體」意指能夠轉運與其連接的另一多核苷酸的多核苷酸分子。一種類型的載體係「質體」，其係指環狀雙鏈DNA環，其中可以連接附加的DNA區段。在另一方面，多核苷酸序列可以使用病毒載體，例如腺相關病毒載體（AAV，例如，AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、和AAV12），慢病毒載體或反轉錄病毒載體來遞送至受試者，其中另外的DNA區段可連接至病毒基因組。某些載體能夠在引入它們的宿主細胞中自主複製（例如，具有細菌複製起點的細菌載體和附加型哺乳動物

載體)。其他載體(例如,非附加型哺乳動物載體)可以在引入宿主細胞中後整合到宿主細胞的基因組中,從而與宿主基因組一起複製。而且,某些載體能夠指導它們可操作地連接的基因的表現。此類載體在本文中被稱為「重組表現載體」(或簡稱為「表現載體」)。通常,在重組DNA技術中有用的表現載體通常呈質體的形式。在本說明書中,「質體」和「載體」可互換使用,因為質體係最常用的載體形式。然而,本揭露旨在包括這種其他形式的表現載體例如,病毒載體(例如,複製缺陷型反轉錄病毒、腺病毒和腺相關病毒),它們具有相同的功能。

【0347】 在提及多核苷酸(DNA或RNA)分子、蛋白質、構建體、載體等時,術語「重組」係指人造的並且通常在自然界中不存在的多核苷酸或蛋白質分子或序列,並且/或者在通常在自然界中未發現的情形中存在的多核苷酸或蛋白質分子或序列,包括包含在無人干預的情況下不會以相同的方式天然一起存在的兩個或更多個多核苷酸或蛋白質序列的組合的多核苷酸(DNA或RNA)分子、蛋白質、構建體等,例如,包含至少兩個可操作地連接但彼此異源的多核苷酸或蛋白質序列的多核苷酸分子、蛋白質、構建體等。例如,術語「重組」可以指同一分子(例如,質體、構建體、載體、染色體、蛋白質等)中兩個或更多個DNA或蛋白質序列的任何組合,其中這種組合係人造的並且通常在自然界中不存在。如在此定義中所用,短語「通常在自然界中未發現」意指在無人引入的情況下,在自然界中未發現。重組多核苷酸或蛋白質分子、構建體等可包含一或多個多核苷酸或蛋白質序列,其 (i) 與在自然界中鄰近彼此存在的一或多個其他的多核苷酸或蛋白質序列分離,和/或 (ii) 與並非天然地鄰近彼此的一或多個其他的多核苷酸或序列相鄰(或鄰接)。這種重組多核苷酸分子、蛋白質、構建體等還可指在細胞外遺傳工程化和/或構建的多核苷酸或蛋白質分子或序列。例如,重組DNA分子可包含任何工程化的或人造的質體、載體等,並且可包括線性或環狀DNA分子。此類質體、載體等可含有各種維持元件,或許除了植物選擇性標誌物

基因等之外，還包括原核覆制起點和選擇性標誌物、以及一或多個轉基因或表現盒。

【0348】如本文所用，「編碼區（encoding region或coding region）」係指編碼功能單元或分子的多核苷酸（例如而非限制性的，mRNA、蛋白質或非編碼RNA序列或分子）的一部分。

【0349】如本文所用，術語「治療性蛋白質」係指可用於治療、預防或改善疾病、病症或障礙的蛋白質。

【0350】如本文所用的胺基酸殘基/位置的「修飾」或「突變」係指與起始胺基酸序列相比，一級胺基酸序列的變化，其中該變化是由涉及所述胺基酸殘基/位置的序列變化引起的。例如，典型的修飾包括用另一個胺基酸取代殘基（或在所述位置取代）（例如，保留或非保留取代），在所述殘基/位置附近插入一或多個胺基酸，以及缺失所述殘基/位置。「胺基酸取代」或其變化形式係指用不同的胺基酸殘基置換預定（起始）胺基酸序列中的現有胺基酸殘基。通常且較佳的是，與包含起始（或「野生型」）胺基酸序列的多肽相比，修飾使變體多肽的至少一種物理生物化學活性改變。例如，在抗體的情況下，改變的物理生物化學活性可為對靶標分子的結合親和力、結合能力和/或結合作用。

【0351】術語「保留修飾的變體」適用於胺基酸和核酸序列二者。對於特定核酸序列，保留修飾的變體係指編碼相同或基本上相同的胺基酸序列的那些核酸，或者在該核酸不編碼胺基酸序列的情況下，係指基本上相同的序列。由於遺傳密碼的簡並性，大量功能上相同的核酸編碼任何給定的蛋白。例如，密碼子GCA、GCC、GCG和GCU都編碼胺基酸丙胺酸。因此，在密碼子指定丙胺酸的每個位置，該密碼子可以改變為任何所述之相應密碼子而不改變所編碼的多肽。此類核酸變異係「緘默變異」，其係經保留修飾變異中的一種。本文中編碼多肽的每個核酸序列也描述了核酸的每種可能性緘默變異。技術者應認識到，核酸中

的每個密碼子（除了通常是甲硫胺酸的唯一密碼子的AUG和通常是色胺酸的唯一密碼子的TGG）均可以被修飾以產生功能上相同的分子。因此，在每個所述序列中均隱含了編碼多肽的核酸的每一種緘默變異。

【0352】如本文所用，「C末端」係指具有游離羧基（-COOH）的多肽鏈的羧基末端胺基酸。如本文所用，「N末端」係指具有游離胺基（-NH₂）的多肽鏈的胺基末端胺基酸。

【0353】如本文所用，例如「需要治療的患者」或「需要治療的受試者」的短語包括將受益於投與例如用於檢測、診斷程式和/或治療的本揭露之分子或藥物組成物的受試者，例如，哺乳動物受試者。

【0354】術語「藥學上可接受」意指由聯邦或州政府的監管機構批准或者列於美國藥典（U.S. Pharmacopeia）或其他普遍認可的藥典中適用於動物並且更特別地適用於人。

【0355】術語「藥物組成物」係指至少一種活性成分（例如，本揭露之抗體或片段）和至少一種藥學上可接受的賦形劑、稀釋劑或載劑的混合物。

【0356】「藥物」係指用於醫療的物質。

【0357】「由BTC介導的障礙」涵蓋如下所有疾病和醫學病症，其中BTC和/或VEGF直接或間接地涉及該疾病或醫學病症，包括疾病或病症的原因、發展、進展、持續或病理。BTC介導的障礙可包括但不限於胰臟癌、乳癌、子宮內膜腺癌、肝細胞癌、頭頸部鱗狀細胞癌、胃癌、糖尿病性黃斑水腫、年齡相關性黃斑變性、新生血管性年齡相關性黃斑變性、新生血管性青光眼、糖尿病性視網膜病變、黃斑水腫、病理性近視、視網膜靜脈阻塞、早產兒視網膜病變、斑痣性錯構瘤病相關的血管異常增殖、中心性漿液性脈絡膜視網膜病變、和急性多病灶魚鱗板狀色素上皮病。

【0358】「由VEGF介導的障礙」涵蓋如下所有疾病和醫學病症，其中VEGF直接或間接地涉及該疾病或醫學病症，包括疾病或病症的原因、發展、進展、持續或病理。VEGF介導的障礙可包括但不限於中樞神經系統腫瘤、毛細血管母細胞瘤、腦膜瘤、腦水腫、垂體腺瘤、非星形細胞神經膠質瘤、瘤周腦水腫、乳癌、腺癌、肺癌、糖尿病性黃斑水腫、年齡相關性黃斑變性、新生血管性年齡相關性黃斑變性、新生血管性青光眼、糖尿病性視網膜病變、黃斑水腫、病理性近視、視網膜靜脈阻塞、早產兒視網膜病變、和斑痣性錯構瘤病相關的血管異常增殖。

ii. 抗BTC抗體或抗BTC結合部分

【0359】BTC係EGF家族的成員。它係ErbB受體酪胺酸激酶家族的配體並主要活化ErbB1和ErbB4同源二聚體，從而觸發抗凋亡和促增殖傳訊通路，如Ras/MAPK通路和PL3K/AKT通路。在眼睛中，BTC似乎是一種有效的通透性因子，其可在糖尿病性視網膜病變中增加的視網膜血管通透性的發展中發揮關鍵作用，並成為該疾病的潛在治療靶標。示例性人原BTC胺基酸序列表示為SEQ ID NO: 156。示例性人BTC胺基酸序列表示為SEQ ID NO: 158。如在本揭露中所表現的示例性人BTC胺基酸序列表示為SEQ ID NO: 157（以小寫字母描述了N末端和C末端的殘餘的胺基酸殘基）。

【0360】與四個抗BTC Fab片段結合的人BTC蛋白的結構最近已經由本申請人借助於X射線晶體學進行了解析。參見實例2。人BTC結構係EGF折疊結構，具有處於三鏈折疊和二鏈折疊的五條 β 鏈。該結構用三個二硫鍵進行穩定化。

【0361】本文提供了結合BTC（包括人BTC）的抗體或其抗原結合片段。在一些方面，提供的抗體或其抗原結合片段係多肽，該等多肽包含如本文所述之一或多個互補決定區（CDR）。在一些方面，該等CDR嵌入到「框架」區中，「框

架」區使該一或多個CDR取向的方式使得該一或多個CDR的適當的抗原結合特性可以實現。在一些方面，本文提供的抗體或其抗原結合片段可干擾，阻斷，減少，或調控BTC和ErbB受體之間的相互作用。在一些方面，本文提供的抗體或其抗原結合片段能夠抑制BTC介導的活性（包括結合）。在一些方面，與該等表位結合的抗原結合蛋白尤其抑制BTC和ErbB受體之間的相互作用以及BTC介導的其他生理作用。在一些方面，抗原結合蛋白來自人，例如全人抗體或抗BTC的Fab。

【0362】 在一些方面，抗體或其抗原結合片段結合至與本文所討論的抗體結合的表位中之任一個。在一些方面，這可以藉由本文揭露的抗體與其他抗體之間的競爭測定來確定。在一些方面，抗體或其抗原結合片段結合至與表1中所述之抗體中之任一個結合的表位。在一些方面，抗體或其抗原結合片段結合至BTC的特定構形狀態以防止BTC與ErbB受體的相互作用。在一方面，本揭露之抗體或其抗原結合片段結合至人BTC的五條β鏈中一條或多條。在一方面，抗體或其抗原結合片段結合至人BTC的β鏈1並防止BTC與ErbB受體結合。在一方面，抗體或其抗原結合片段結合至人BTC的β鏈2並防止BTC與ErbB受體結合。在一方面，抗體或其抗原結合片段結合至人BTC的β鏈3並防止BTC與ErbB受體結合。在一方面，抗體或其抗原結合片段結合至人BTC的β鏈4並防止BTC與ErbB受體結合。在一方面，抗體或其抗原結合片段結合至人BTC的β鏈5並防止BTC與ErbB受體結合。

【0363】 本文揭露了特異性結合至BTC的抗體或其抗原結合片段。在一些方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段防止BTC以各種方式發揮作用。在一些方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段阻斷或降低BTC與其他物質相互作用的能力。例如，在一些方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段阻斷或降低BTC與ErbB受體結合的能力。在其他方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段阻斷BTC誘導的磷酸化-

ERK1/2活化。在一些方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段阻斷BTC誘導的磷酸化-HER3活化。

【0364】如本文所提供的抗體或其抗原結合片段中的某一些特異性和/或選擇性結合如SEQ ID NO: 157或158所列出的BTC。在一些方面，抗體或其抗原結合片段選擇性結合至如實例2和表1中所描述的人BTC蛋白。在一些方面，抗體或其抗原結合片段特異性和/或選擇性結合至SEQ ID NO: 157的至少一個殘基，該殘基選自由以下組成之群組：G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、R51、R53、F54、V56、A57、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76。在一些方面，鑒定的BTC殘基中的多於一個（例如，2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、或25個）是與抗體或其抗原結合片段結合的區域的一部分。

【0365】在一些方面，抗體或其抗原結合片段（例如，NVS1）特異性和/或選擇性結合至SEQ ID NO: 157的R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、Q59、T60、P61、和R73。在一些方面，抗體或其抗原結合片段（例如，NVS2）特異性和/或選擇性結合至SEQ ID NO: 157的P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76。在一些方面，抗體或其抗原結合片段（例如，NVS3）特異性和/或選擇性結合至SEQ ID NO: 157的G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、R51、R53、F54、和V56。在一些方面，抗體或其抗原結合片段（例如，NVS4）特異性和/或選擇性結合至SEQ ID NO: 157的S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、A57、Q59、T60、P61、A72、R73、和E75。

【0366】在抗體或其抗原結合片段用於治療應用的方面，抗體或其抗原結合片段可抑制、干擾或調控BTC的一或多種生物活性。在一方面，抗體或其抗原

結合片段特異性結合至人BTC並且/或者將人BTC與ErbB受體的結合基本上抑制至少約20%-40%、40%-60%、60%-80%、80%-85%或更多（例如，藉由在體外競爭性結合測定中測量結合）。在一些方面，抗體或其抗原結合片段的 K_d 小於（結合更緊密） 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} 、 10^{-11} 、 10^{-12} 、 10^{-13} M。在一些方面，抗體或其抗原結合片段阻斷ErbB受體與BTC結合的 IC_{50} 係小於1 mM、1000 nM至100 nM、100 nM至10 nM、10 nM至1 nM、1000 pM至500 pM、500 pM至200 pM、小於200 pM、200 pM至150 pM、200 pM至100 pM、100 pM至10 pM、10 pM至1 pM。

【0367】 在一些方面，抗體或其抗原結合片段結合至BTC的變體，該等變體與如SEQ ID NO: 157或158所列出的BTC形式具有至少50%、50%-60%、60%-70%、70%-80%、80%-90%、90%-95%、95%-99%或更大的百分比同一性。在一些方面，抗體或其抗原結合片段結合至與表1中所述之抗體中之任一個結合的表位。在一些方面，抗體或其抗原結合片段結合至BTC的特定構形狀態以防止BTC與ErbB受體的相互作用。

【0368】 本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區互補決定區1（HCDR1）、重鏈可變區互補決定區2（HCDR2）、重鏈可變區互補決定區3（HCDR3）、輕鏈可變區互補決定區1（LCDR1）、輕鏈可變區互補決定區2（LCDR2）以及輕鏈可變區互補決定區3（LCDR3）。HCDR1、HCDR2、和HCDR3包含在重鏈可變區（VH）中。LCDR1、LCDR2、和LCDR3包含在輕鏈可變區（VL）中。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含如表1中所列出和如下文所描述的重鏈CDR和輕鏈CDR（例如，卡巴特、喬西亞、IMGT和/或組合的CDR）。

【0369】 在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據卡巴特編號方案分別如SEQ ID NO: 4、2、3、14、15、和16所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據喬西亞編號方案分別如SEQ ID NO: 5、6、3、17、18、和19所列出的HCDR1、

HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據組合的編號方案分別如SEQ ID NO: 1、2、3、14、15、和16所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據IMGT編號方案分別如SEQ ID NO: 7、8、9、20、18、和16所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段係如表1中所提供的NVS1。在具體方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含抗體NVS1的重鏈CDR和輕鏈CDR（例如，卡巴特、喬西亞、IMGT和/或組合的CDR），該抗體NVS1包含分別為SEQ ID NO: 10和21的VH和VL。

【0370】 在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據卡巴特編號方案分別如SEQ ID NO: 28、26、27、38、39、和40所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據喬西亞編號方案分別如SEQ ID NO: 29、30、27、41、42、和43所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據組合的編號方案分別如SEQ ID NO: 25、26、27、38、39、和40所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據IMGT編號方案分別如SEQ ID NO: 31、32、33、44、42、和40所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段係如表1中所提供的NVS2。在具體方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含抗體NVS2的重鏈CDR和輕鏈CDR（例如，卡巴特、喬西亞、IMGT和/或組合的CDR），該抗體NVS2包含分別為SEQ ID NO: 34和45的VH和VL。

【0371】 在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據卡巴特編號方案分別如SEQ ID NO: 28、49、50、58、59、和60所列出的HCDR1、HCDR2、

HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據喬西亞編號方案分別如SEQ ID NO: 29、51、50、61、62、和63所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據組合的編號方案分別如SEQ ID NO: 25、49、50、58、59、和60所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據IMGT編號方案分別如SEQ ID NO: 31、52、53、64、62、和60所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段係如表1中所提供的NVS3。在具體方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含抗體NVS3的重鏈CDR和輕鏈CDR（例如，卡巴特、喬西亞、IMGT和/或組合的CDR），該抗體NVS3包含分別為SEQ ID NO: 54和65的VH和VL。

【0372】 在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據卡巴特編號方案分別如SEQ ID NO: 72、70、71、82、83、和84所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據喬西亞編號方案分別如SEQ ID NO: 73、74、71、85、18、和86所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據組合的編號方案分別如SEQ ID NO: 69、70、71、82、83、和84所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含根據IMGT編號方案分別如SEQ ID NO: 75、76、77、87、18、和84所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段係如表1中所提供的NVS4。在具體方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含抗體NVS4的重鏈CDR和輕鏈CDR（例如，卡巴特、喬西亞、IMGT和/或組合的CDR），該抗體NVS4包含分別為SEQ ID NO: 78和88的VH和VL。

【0373】此外，本揭露還提供了包含胺基酸序列的抗BTC抗體或其抗原結合片段，該等胺基酸序列與貫穿本揭露和表1中所述之CDR序列同源，並且抗BTC抗體或其抗原結合片段結合至BTC並且保留本文所述之那些的所需功能特性。更具體地，抗BTC抗體或其抗原結合片段的胺基酸序列可以與如貫穿本揭露所述和表1中所列出的CDR序列具有大於或等於80%、90%、95%、96%、97%、98%、或99%的同一性並保留其所需功能特性。

【0374】本揭露還提供了與本文所述之VH序列和VL序列同源的抗BTC抗體或其抗原結合片段。更具體地，本揭露提供了包含胺基酸序列的蛋白質，該等胺基酸序列與例如表1中所述之那些序列同源，並且抗BTC抗體或其抗原結合片段結合至治療靶標，例如，眼科靶標，並且保留如表1中和實例中所述之那些的所需功能特性。具有VH區和VL區（該等VH區和VL區與表1中所述之那些的VH區和VL區具有小於100%序列同一性）的抗體或其抗原結合片段可以如下的方式獲得：對表1中所述之核酸分子進行誘變（例如，定點誘變或PCR介導的誘變），隨後使用本文和US 20120014958中所述之功能測定，測試所編碼的改變的抗體的保留功能。具有重鏈和輕鏈（該重鏈和輕鏈與表1中所述之重鏈和輕鏈具有高（即，80%或更高）同一性）的抗體或其抗原結合片段可以如下的方式獲得：對編碼此類多肽的核酸分子進行誘變（例如，定點誘變或PCR介導的誘變），隨後例如，藉由使用本文所述之功能測定，測試所編碼的改變的抗體的保留功能。

【0375】本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL），該重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL）分別包含與SEQ ID NO: 10和21具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至

少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的胺基酸序列。預期可變性可在CDR或框架區中。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 10和21所列出的胺基酸序列之VH和VL。在另一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段係如表1中所提供的NVS1。在另一方面，VH和VL分別由如SEQ ID NO: 11和22所列出的核酸序列編碼。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含VH和VL，該VH和VL分別包含具有SEQ ID NO: 10和21的胺基酸序列之至少一個、兩個或三個修飾（例如，取代（例如，保留取代））但不超過10個修飾（例如，取代（例如，保留取代））的胺基酸序列。在另一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0376】 在一方面，本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 34和45具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的胺基酸序列。預期可變性可在CDR或框架區中。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 34和45所列出的胺基酸序列之VH和VL。在另一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段係如表1中所提供的NVS2。在另一方面，VH和VL分別由如SEQ ID NO: 35和46所列出的核酸序列編碼。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含VH和VL，該VH和VL分別包含具有SEQ ID NO: 34和45的胺基酸序列之至少一個、兩個或三個修飾

（例如，取代（例如，保留取代））但不超過10個修飾（例如，取代（例如，保留取代））的胺基酸序列。在另一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0377】 在一方面，本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 54和65具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的胺基酸序列。預期可變性可在CDR或框架區中。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 54和65所列出的胺基酸序列之VH和VL。在另一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段係如表1中所提供的NVS3。在另一方面，VH和VL分別由如SEQ ID NO: 55和66所列出的核酸序列編碼。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含VH和VL，該VH和VL分別包含具有SEQ ID NO: 54和65的胺基酸序列之至少一個、兩個或三個修飾（例如，取代（例如，保留取代））但不超過10個修飾（例如，取代（例如，保留取代））的胺基酸序列。在另一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0378】 在一方面，本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 78和88具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少

99%或100%序列同一性的胺基酸序列。預期可變性可在CDR或框架區中。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 78和88所列出的胺基酸序列之VH和VL。在另一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段係如表1中所提供的NVS4。在另一方面，VH和VL分別由如SEQ ID NO: 79和89所列出的核酸序列編碼。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含VH和VL，該VH和VL分別包含具有SEQ ID NO: 78和88的胺基酸序列之至少一個、兩個或三個修飾（例如，取代（例如，保留取代））但不超過10個修飾（例如，取代（例如，保留取代））的胺基酸序列。在另一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0379】 本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段包含重鏈和輕鏈，該重鏈和輕鏈分別包含與SEQ ID NO: 12和23具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的胺基酸序列。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 12和23所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。在一方面，抗BTC抗體可抑制BTC活性，例如，BTC與以下的結合：1) ErbB1；2) ErbB4；3) ErbB同源二聚體（例如，ErbB1/ErbB1和ErbB4/ErbB4）；4) ErbB同源二聚體（例如，ErbB1/ErbB2、ErbB1/ErbB3、ErbB1/ErbB4、ErbB2/ErbB3和ErbB2/ErbB4）；和/或5) 可抑制ERK1/2磷酸化。在另一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段係如表1中所提供的NVS1。在另一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 13和24約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少

65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同或互補的核酸序列編碼。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含分別由如SEQ ID NO: 13和24所列出的核酸序列編碼之重鏈和輕鏈，並且是如表1中所提供的NVS1。

【0380】 在一方面，本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段包含重鏈和輕鏈，該重鏈和輕鏈分別包含與SEQ ID NO: 36和47具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的胺基酸序列。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 36和47所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。在一方面，抗BTC抗體可抑制BTC活性，例如，BTC與以下的結合：1) ErbB1；2) ErbB4；3) ErbB同源二聚體（例如，ErbB1/ErbB1和ErbB4/ErB4）；4) ErbB同源二聚體（例如，ErbB1/ErbB2、ErB1/ErB3、ErB1/ErB4、ErB2/ErB3和ErB2/ErB4）；和/或5) 可抑制ERK1/2磷酸化。在另一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段係如表1中所提供的NVS2。在另一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 37和48約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、

至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同或互補的核酸序列編碼。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含分別由如SEQ ID NO: 37和48所列出的核酸序列編碼之重鏈和輕鏈，並且是如表1中所提供的NVS2。

【0381】 在一方面，本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段包含重鏈和輕鏈，該重鏈和輕鏈分別包含與SEQ ID NO: 56和67具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的胺基酸序列。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 56和67所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。在一方面，抗BTC抗體可抑制BTC活性，例如，BTC與以下的結合：1) ErbB1；2) ErbB4；3) ErbB同源二聚體（例如，ErbB1/ErbB1和ErbB4/ErB4）；4) ErbB同源二聚體（例如，ErbB1/ErbB2、ErB1/ErB3、ErB1/ErB4、ErB2/ErB3和ErB2/ErB4）；和/或5) 可抑制ERK1/2磷酸化。在另一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段係如表1中所提供的NVS3。在另一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 57和68約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、

至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同或互補的核酸序列編碼。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含分別由如SEQ ID NO: 57和68所列出的核酸序列編碼之重鏈和輕鏈，並且是如表1中所提供的NVS3。

【0382】 在一方面，本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段包含重鏈和輕鏈，該重鏈和輕鏈分別包含與SEQ ID NO: 80和90具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的胺基酸序列。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 80和90所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。在一方面，抗BTC抗體可抑制BTC活性，例如，BTC與以下的結合：1) ErbB1；2) ErbB4；3) ErbB同源二聚體（例如，ErbB1/ErbB1和ErbB4/ErB4）；4) ErbB同源二聚體（例如，ErbB1/ErbB2、ErB1/ErB3、ErB1/ErB4、ErB2/ErB3和ErB2/ErB4）；和/或5) 可抑制ERK1/2磷酸化。在另一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段係如表1中所提供的NVS4。在另一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 81和91約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、

至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同或互補的核酸序列編碼。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含分別由如SEQ ID NO: 81和91所列出的核酸序列編碼之重鏈和輕鏈，並且是如表1中所提供的NVS4。

【0383】進一步包括在本揭露之範圍內的是具有保留修飾的分離的抗BTC抗體或其抗原結合片段。更具體地，本揭露關於抗BTC結合部分和軛合至抗BTC結合部分的分子，該抗BTC結合部分和軛合至抗BTC結合部分的分子具有對表1中抗BTC結合部分和軛合至抗BTC結合部分的分子的保留修飾。在某些方面，軛合至本揭露之抗BTC結合部分的抗體具有包含CDR1、CDR2和CDR3序列的重鏈可變區以及包含CDR1、CDR2和CDR3序列的輕鏈可變區，其中該等CDR序列中的一或多個基於本文所述之抗體或其保留修飾具有指定胺基酸序列，並且其中該抗體保留本揭露之抗體的所需功能特性。

【0384】在特定方面，本文提供了多核苷酸，其序列編碼本文（例如，表1）所述之抗BTC抗體或其片段（例如，VH或VL）。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段由多核苷酸編碼，該多核苷酸的序列已進行密碼子優化以在哺乳動物細胞中表現。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段的整個構建體由多核苷酸編碼，該多核苷酸的整個序列已被密碼子優化以在哺乳動物細胞（例如，人細胞）中表現。在其他方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段被優化以在哺乳動物細胞中表現並且具有全長重鏈序列和全長輕鏈序列，其中該等序列中的一或多個基於本文所述之抗體或其保留修飾具有指定的胺基酸序列，並且其中該抗BTC結合部分保留了本揭露之抗BTC結合抗體的所需功能特性。因此，本揭露提

供了優化以在哺乳動物細胞中表現的分離的抗體或其抗原結合片段，該分離的抗體或其抗原結合片段包含例如，VH和VL，其中VH包含SEQ ID NO: 10、34、54、和78的胺基酸序列及其保留修飾；並且VL包含SEQ ID NO: 21、45、65、和88的胺基酸序列及其保留修飾，該分離的抗體或其抗原結合片段特異性結合至BTC。

【0385】 本揭露提供了與表1中所述之抗BTC抗體或其抗原結合片段結合相同的或重疊的表位的抗BTC結合部分（例如，BTC結合抗體或其片段）。因此，另外的抗體可以基於其在BTC結合測定中與本揭露之其他抗體競爭（例如，以統計學上顯著的方式競爭性抑制本揭露之其他抗體的結合）的能力進行鑒定。測試抗體抑制本揭露之分子與BTC結合的能力證明該測試分子可以與該抗體競爭結合BTC；根據非限制性理論，這種抗體可與其所競爭的抗體結合至BTC上的相同或相關（例如，結構上類似或空間上接近）的表位。在某些方面，與本揭露之抗體結合BTC上的相同表位的分子係人單株抗體、Fab或scFv。可如本文所述那樣製備和分離此類人單株抗體，Fab和scFv。

【0386】 在一方面，與本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段競爭的分子結合至SEQ ID NO: 157的至少一個殘基，該殘基選自由以下組成之群組：G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、R51、R53、F54、V56、A57、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76。在一方面，本揭露提供了分離的抗體或其抗原結合片段，該分離的抗體或其抗原結合片段能夠與如表1中所述之那些抗原結合片段（例如，NVS1、NVS2、NVS3、和NVS4）競爭與BTC的結合並減少BTC介導的傳訊。在另一方面，該競爭性抗體或其抗原結合片段包含表5中如SEQ ID NO: 168-189所列出的重鏈和輕鏈。

【0387】 本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段呈選自由分離的抗體、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv和scFv組成之群組的形式。在較佳的方面，抗BTC抗體或

其抗原結合片段係Fab，包括包含Fc區的Fab。在另一方面，Fc區選自由來自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE、和IgD的Fc區組成之群組。在一方面，Fc區包含如SEQ ID NO: 159所列出的人免疫球蛋白κ（Kappa）鏈恒定區序列。在另一方面，Fc區包含如SEQ ID NO: 160所列出的人免疫球蛋白重鏈第一恒定Ig結構域（CH1結構域）。

【0388】 在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段係分離的抗體，例如，人單株抗體或人源化單株抗體。在某些方面，抗BTC抗體可以處於scFv或Fab形式。在某些方面，抗BTC抗體可以處於scFv或Fab形式，

[表1]. 示例性抗BTC Fab

NVS1		
SEQ ID NO: 1（組合的）	HCDR1	GGTFSSYAIS
SEQ ID NO: 2（組合的）	HCDR2	GIVPWMGEAVYAQKFQG
SEQ ID NO: 3（組合的）	HCDR3	SSSTYGIHAFDY
SEQ ID NO: 4（卡巴特）	HCDR1	SYAIS
SEQ ID NO: 2（卡巴特）	HCDR2	GIVPWMGEAVYAQKFQG
SEQ ID NO: 3（卡巴特）	HCDR3	SSSTYGIHAFDY
SEQ ID NO: 5（喬西亞）	HCDR1	GGTFSSY
SEQ ID NO: 6（喬西亞）	HCDR2	VPWMGE
SEQ ID NO: 3（喬西亞）	HCDR3	SSSTYGIHAFDY
SEQ ID NO: 7（IMGT）	HCDR1	GGTFSSYA
SEQ ID NO: 8（IMGT）	HCDR2	IVPWMGEA
SEQ ID NO: 9（IMGT）	HCDR3	ARSSSTYGIHAFDY
SEQ ID NO: 10	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGIVPWMGEAVYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARSSSTYGIHAFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 11	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTGAGAGCGGTGCCGAAGTAAAAAACCG GGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCTGCAAAGCATCCGGAGGGACG TTAGCAGCTATGCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCGGTATCGTTCCTGGATGGGCG AAGCTGTTTACGCCAGAAATTCAGGGCCGGGTGACCATTAC CGCCGATGAAAGCACCAGCACCCTATATGGAAGTGGAGCAGC CTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTTCTT CTTCTACTTACGGTATCCATGCTTTCGATTACTGGGGCCAAGGC ACCCTGGTGACTGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 12	重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGIVPWMGEAVYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARSSSTYGIHAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 13	DNA重鏈	CAGGTGCAATTGGTGAGAGCGGTGCCGAAGTAAAAAACCG GGCAGCAGCGTGAAAGTTAGCTGCAAAGCATCCGGAGGGACG TTAGCAGCTATGCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGGCC AGGGCCTCGAGTGGATGGGCGGTATCGTTCCTGGATGGGCG AAGCTGTTTACGCCAGAAATTCAGGGCCGGGTGACCATTAC

		CGCCGATGAAAGCACCAGCACCGCCTATATGGAAGTGAAGCAGC CTGCGCAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTTCTT CTTCTACTTACGGTATCCATGCTTTCGATTACTGGGGCCAAGGC ACCCTGGTGACTGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCCAGCG TGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCAC AGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCC GTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGC ACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCT GAGCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCA GACCTACATCTGTAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGT
SEQ ID NO: 14 (組合的)	LCDR1	RASQISNFLN
SEQ ID NO: 15 (組合的)	LCDR2	AASNLQS
SEQ ID NO: 16 (組合的)	LCDR3	QQYDDFPMT
SEQ ID NO: 14 (卡巴特)	LCDR1	RASQISNFLN
SEQ ID NO: 15 (卡巴特)	LCDR2	AASNLQS
SEQ ID NO: 16 (卡巴特)	LCDR3	QQYDDFPMT
SEQ ID NO: 17 (喬西亞)	LCDR1	SQISNF
SEQ ID NO: 18 (喬西亞)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 19 (喬西亞)	LCDR3	YDDFPM
SEQ ID NO: 20 (IMGT)	LCDR1	QSISNF
SEQ ID NO: 18 (IMGT)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 16 (IMGT)	LCDR3	QQYDDFPMT
SEQ ID NO: 21	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQISNFLNHWYQQKPKAPK LLIYAASNLSQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYD DFPMTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 22	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCCAGC GTGGGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAGAGCCAGCCAGTCTA TTTCTAACTTCTGAACTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGC GCCGAACTATTAATCTACGCTGCTTCTAACCTGCAAAGCGGCG TGCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTCAC CCTGACCATTAGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTATT ATTGCCAGCAGTACGACGACTTCCCGATGACCTTTGGCCAGGG CACGAAAGTTGAAATTA
SEQ ID NO: 23	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQISNFLNHWYQQKPKAPK LLIYAASNLSQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYD DFPMTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSPPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 24	DNA輕鏈	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCCAGC GTGGGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAGAGCCAGCCAGTCTA TTTCTAACTTCTGAACTGGTACCAGCAGAAACCGGGCAAAGC GCCGAACTATTAATCTACGCTGCTTCTAACCTGCAAAGCGGCG TGCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTCAC CCTGACCATTAGCTCTCTGCAACCGGAAGACTTTGCGACCTATT ATTGCCAGCAGTACGACGACTTCCCGATGACCTTTGGCCAGGG CACGAAAGTTGAAATTAACGTACGGTGGCCGCTCCAGCGTG TTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCG CCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTACCCCCGGGAGGC CAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAA CAGCCAGGAAAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCAC CTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTAC GAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGC CTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGT
NVS2		
SEQ ID NO: 25 (組合的)	HCDR1	GFTFSSYAMS
SEQ ID NO: 26 (組合的)	HCDR2	AISGSGGSTYYADSVKG

SEQ ID NO: 27 (組合的)	HCDR3	QRYYFGEFDL
SEQ ID NO: 28 (卡巴特)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 26 (卡巴特)	HCDR2	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 27 (卡巴特)	HCDR3	QRYYFGEFDL
SEQ ID NO: 29 (喬西亞)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 30 (喬西亞)	HCDR2	SGSGGS
SEQ ID NO: 27 (喬西亞)	HCDR3	QRYYFGEFDL
SEQ ID NO: 31 (IMGT)	HCDR1	GFTFSSYA
SEQ ID NO: 32 (IMGT)	HCDR2	ISGSGGST
SEQ ID NO: 33 (IMGT)	HCDR3	ARQRYYFGEFDL
SEQ ID NO: 34	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARQRYYFGEFDLWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 35	DNA VH	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGTGGCGGTCTGGTGCAGCCA GGTGGTAGCCTGCGCCTGAGCTGTGCCGCAAGCGGCTTTACCT TTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTGCGCCAAGCACCAGGCAA AGGCCTGGAATGGGTGAGCGCCATTAGCGGCAGCGGTGGCAG CACCTATTATGCCGATAGCGTGAAAGGTCGCTTTACCATTAGTC GCGATAACAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCT GCGGGCAGAAGATACCGCAGTTTATTATTGCGCGCGACAACGT TACTACTTCGGTGAGTTCGACCTGTGGGGCCAGGGCACCCCTGG TTACTGTCTCGAGC
SEQ ID NO: 36	重鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARQRYYFGEFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 37	DNA重鏈	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGTGGCGGTCTGGTGCAGCCA GGTGGTAGCCTGCGCCTGAGCTGTGCCGCAAGCGGCTTTACCT TTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTGCGCCAAGCACCAGGCAA AGGCCTGGAATGGGTGAGCGCCATTAGCGGCAGCGGTGGCAG CACCTATTATGCCGATAGCGTGAAAGGTCGCTTTACCATTAGTC GCGATAACAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCT GCGGGCAGAAGATACCGCAGTTTATTATTGCGCGCGACAACGT TACTACTTCGGTGAGTTCGACCTGTGGGGCCAGGGCACCCCTGG TTACTGTCTCGAGCGCCAGCACAAAGGGACCCAGCGTGTTCCC TCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACATCTGGCGGAACAGCCGCC CTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCG TGTCCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTT TCCAGCCGTGCTCCAGAGCAGCGGCCTGTA CTCTCTGAGCAGC GTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACAAAGGTGGACAA GCGGGTGGAACCCAAGTCCTGC
SEQ ID NO: 38 (組合的)	LCDR1	SGDKLGDKYAY
SEQ ID NO: 39 (組合的)	LCDR2	QDSKRPS
SEQ ID NO: 40 (組合的)	LCDR3	QAFDYLYSLGV
SEQ ID NO: 38 (卡巴特)	LCDR1	SGDKLGDKYAY
SEQ ID NO: 39 (卡巴特)	LCDR2	QDSKRPS
SEQ ID NO: 40 (卡巴特)	LCDR3	QAFDYLYSLGV
SEQ ID NO: 41 (喬西亞)	LCDR1	DKLGDKY
SEQ ID NO: 42 (喬西亞)	LCDR2	QDS
SEQ ID NO: 43 (喬西亞)	LCDR3	FDYLYSLG
SEQ ID NO: 44 (IMGT)	LCDR1	KLGDKY
SEQ ID NO: 42 (IMGT)	LCDR2	QDS
SEQ ID NO: 40 (IMGT)	LCDR3	QAFDYLYSLGV

SEQ ID NO: 45	VL	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVL VIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQAFD YLYSLGVFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 46	DNA VL	AGCTATGAACTGACCCAGCCGCCGAGCGTTAGCGTTAGCCAG GCCAGACCGCCAGCATTACCTGTAGCGGCGACAACTGGGCG ACAAATACGCCTACTGGTATCAGCAGAAACCGGGCCAGAGCCC GGTGCTGGTTATCTATCAGGATAGCAAACGCCGAGCGGCATT CCAGAACGCTTTAGCGGCAGCAACAGCGGCAACACCGCCACCC TGACCATTAGCGGCACCCAGGCCGAAGACGAAGCCGATTATTA CTGTCAGGCTTTCGACTACCTGTATTCCCTGGGTGTGTTTGGCG GCGGTACCAAGCTGACCGTGCTG
SEQ ID NO: 47	輕鏈	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVL VIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQAFD YLYSLGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI SDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKNKYAASSYLSLT PEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 48	DNA輕鏈	AGCTATGAACTGACCCAGCCGCCGAGCGTTAGCGTTAGCCAG GCCAGACCGCCAGCATTACCTGTAGCGGCGACAACTGGGCG ACAAATACGCCTACTGGTATCAGCAGAAACCGGGCCAGAGCCC GGTGCTGGTTATCTATCAGGATAGCAAACGCCGAGCGGCATT CCAGAACGCTTTAGCGGCAGCAACAGCGGCAACACCGCCACCC TGACCATTAGCGGCACCCAGGCCGAAGACGAAGCCGATTATTA CTGTCAGGCTTTCGACTACCTGTATTCCCTGGGTGTGTTTGGCG GCGGTACCAAGCTGACCGTGCTGGGCCAGCCAAAGCCGCCCC TAGCGTGACCTGTTCCCCCAAGCAGCGAGGAACTCCAGGCC AACAAGGCCACCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCTGG CGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAGCAGCCCTGTGAA GGCCGGCGTGGAACCACCAACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAA CAAATACGCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAG TGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAGGTCACACACGAGG GCAGCACCGTGAAAAAGACCGTGCCCCCACCAGTGCAGC
NVS3		
SEQ ID NO: 25 (組合的)	HCDR1	GFTFSSYAMS
SEQ ID NO: 49 (組合的)	HCDR2	GLGHVGYTTYTDSVKG
SEQ ID NO: 50 (組合的)	HCDR3	DYLDFGYYFDV
SEQ ID NO: 28 (卡巴特)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 49 (卡巴特)	HCDR2	GLGHVGYTTYTDSVKG
SEQ ID NO: 50 (卡巴特)	HCDR3	DYLDFGYYFDV
SEQ ID NO: 29 (喬西亞)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 51 (喬西亞)	HCDR2	GHVGY
SEQ ID NO: 50 (喬西亞)	HCDR3	DYLDFGYYFDV
SEQ ID NO: 31 (IMGT)	HCDR1	GFTFSSYA
SEQ ID NO: 52 (IMGT)	HCDR2	LGHVGYT
SEQ ID NO: 53 (IMGT)	HCDR3	ARDYLDFGYYFDV
SEQ ID NO: 54	VH	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSGLGHVGYTTYTDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDYLDGYYFDVWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 55	DNA VH	CAGGTGCAGCTGCTGGAATCAGGCGGCGGACTGGTGCAGCCT GGCGGTAGCCTGAGACTGAGCTGCGCTGCTAGTGGCTTACCT TCTCTAGCTACGCTATGAGCTGGGTCCGGCAGGCCCTGGCAA AGGCCTGGAGTGGGTCTCCGACTGGGTACGTGGGCTACAC TACCTACACCGATAGCGTGAAGGGCCGGTTCACTATCTCTAGG GATAACTCTAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGA GAGCCGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGACTACCT GGACTTCGGCTACTACTTCGACGTGTGGGGCCAGGGCACCTG GTCACCGTGTCTAGC

SEQ ID NO: 56	重鏈	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYAMSWVRQAPGKG LEWVWSGLGHVGYTTYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDYLD FGYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 57	DNA重鏈	CAGGTGCAGCTGCTGGAATCAGGCGGCGGACTGGTGCAGCCT GGCGGTAGCCTGAGACTGAGCTGCGCTGCTAGTGGCTTACCT TCTCTAGCTACGCTATGAGCTGGGTCCGGCAGGCCCTGGCAA AGGCCTGGAGTGGGTCTCCGGACTGGGTACGCTGGGCTACAC TACCTACACCGATAGCGTGAAGGGCCGGTCACTATCTCTAGG GATAACTCTAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGA GAGCCGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGACTACCT GGACTTCGGCTACTACTTCGACGTGTGGGGCCAGGGCACCTG GTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCTCCGTGTTCCC TCTGGCCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGGCACCGCTGCTC TGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTCCCTGAGCCTGTGACAGT GTCCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCC CTGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTG GTGACAGTGCCCTTCTCCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATCTG CAACGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGCGG GTGGAGCCTAAGTCATGC
SEQ ID NO: 58 (組合的)	LCDR1	SGDKIGKKYVH
SEQ ID NO: 59 (組合的)	LCDR2	DDSDRPS
SEQ ID NO: 60 (組合的)	LCDR3	QAWDMQSVV
SEQ ID NO: 58 (卡巴特)	LCDR1	SGDKIGKKYVH
SEQ ID NO: 59 (卡巴特)	LCDR2	DDSDRPS
SEQ ID NO: 60 (卡巴特)	LCDR3	QAWDMQSVV
SEQ ID NO: 61 (喬西亞)	LCDR1	DKIGKKY
SEQ ID NO: 62 (喬西亞)	LCDR2	DDS
SEQ ID NO: 63 (喬西亞)	LCDR3	WDMQSV
SEQ ID NO: 64 (IMGT)	LCDR1	KIGKKY
SEQ ID NO: 62 (IMGT)	LCDR2	DDS
SEQ ID NO: 60 (IMGT)	LCDR3	QAWDMQSVV
SEQ ID NO: 65	VL	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDKIGKKYVHWYQQKPGQAPVL VIYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRAGDEADYYCQAW DMQSVVFVGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 66	DNA VL	AGCTACGAGCTGACTCAGCCCCTGAGCGTCAGCGTGGCCCTGG GCCAGACCGCTAGAATCACCTGTAGCGGCGATAAGATCGGCAA GAAATACGTGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCC GTGCTGGTCATCTACGACGATAGCGATAGACCTAGCGGAATCC CCGAGCGGTTTAGCGGCTCTAATAGCGGCAACACCGCTACCCT GACTATCTCTAGGGCTCAGGCCGGCGACGAGGCCGACTACTAC TGTCAGGCCTGGGATATGCAGTCAGTGGTGTTGCGCGGAGGC ACTAAGCTGACCGTGCTG
SEQ ID NO: 67	輕鏈	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDKIGKKYVHWYQQKPGQAPVL VIYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRAGDEADYYCQAW DMQSVVFVGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI SDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNNKYAASSYLSLT PEQWKSHRSYSQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 68	DNA輕鏈	AGCTACGAGCTGACTCAGCCCCTGAGCGTCAGCGTGGCCCTGG GCCAGACCGCTAGAATCACCTGTAGCGGCGATAAGATCGGCAA GAAATACGTGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCC GTGCTGGTCATCTACGACGATAGCGATAGACCTAGCGGAATCC CCGAGCGGTTTAGCGGCTCTAATAGCGGCAACACCGCTACCCT GACTATCTCTAGGGCTCAGGCCGGCGACGAGGCCGACTACTAC TGTCAGGCCTGGGATATGCAGTCAGTGGTGTTGCGCGGAGGC ACTAAGCTGACCGTGCTGGGCCAGCCTAAGGCTGCCCCAGCG

		TGACCCTGTTCCCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAA GGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCC GTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCC GGCGTGGAGACCACCACCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAG TACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGA AGAGCCACAGGTCCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCA GCACCGTGGAAAAGACCGTGGCCCCAACCGAGTGCAGC
NVS4		
SEQ ID NO: 69 (組合的)	HCDR1	GFTFSRYWIS
SEQ ID NO: 70 (組合的)	HCDR2	YIDSTGTFINYADSVKG
SEQ ID NO: 71 (組合的)	HCDR3	GGSLFDY
SEQ ID NO: 72 (卡巴特)	HCDR1	RYWIS
SEQ ID NO: 70 (卡巴特)	HCDR2	YIDSTGTFINYADSVKG
SEQ ID NO: 71 (卡巴特)	HCDR3	GGSLFDY
SEQ ID NO: 73 (喬西亞)	HCDR1	GFTFSRY
SEQ ID NO: 74 (喬西亞)	HCDR2	DSTGTF
SEQ ID NO: 71 (喬西亞)	HCDR3	GGSLFDY
SEQ ID NO: 75 (IMGT)	HCDR1	GFTFSRYW
SEQ ID NO: 76 (IMGT)	HCDR2	IDSTGTFI
SEQ ID NO: 77 (IMGT)	HCDR3	ARGGSLFDY
SEQ ID NO: 78	VH	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWISWVRQAPGKG LEWVSYIDSTGTFINYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGGSLFDYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 79	DNA VH	CAGGTGCAGCTGCTGGAATCAGGCGGCGGACTGGTGCAGCCT GGCGGTAGCCTGAGACTGAGCTGCGCTGCTAGTGGCTTCACCT TCTCTAGGTACTGGATTAGCTGGGTCCGGCAGGCCCTGGCAA AGGCCTGGAGTGGGTCTCCTATATCGACTCTACCGGCACCTTTA TTAACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCCGGTTCCTATCTCTAG GGATAACTTAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAATAGCCTG AGAGCCGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGGCGGT AGTCTGTTCTGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTCACCGTGT CTAGC
SEQ ID NO: 80	重鏈	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWISWVRQAPGKG LEWVSYIDSTGTFINYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGGSLFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 81	DNA重鏈	CAGGTGCAGCTGCTGGAATCAGGCGGCGGACTGGTGCAGCCT GGCGGTAGCCTGAGACTGAGCTGCGCTGCTAGTGGCTTCACCT TCTCTAGGTACTGGATTAGCTGGGTCCGGCAGGCCCTGGCAA AGGCCTGGAGTGGGTCTCCTATATCGACTCTACCGGCACCTTTA TTAACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCCGGTTCCTATCTCTAG GGATAACTTAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAATAGCCTG AGAGCCGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGGCGGT AGTCTGTTCTGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTCACCGTGT CTAGCGTAGCACTAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCT TCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGGCACCGCTGCTCTGGGTGCGCT GGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGGAAC TCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCT GCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTGGTGACAGTGC CTTCTCCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGAGCCT AAGTCATGC
SEQ ID NO: 82 (組合的)	LCDR1	RASQGIISYLG
SEQ ID NO: 83 (組合的)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 84 (組合的)	LCDR3	QQYDALNT
SEQ ID NO: 82 (卡巴特)	LCDR1	RASQGIISYLG

SEQ ID NO: 83 (卡巴特)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 84 (卡巴特)	LCDR3	QQYDALNT
SEQ ID NO: 85 (喬西亞)	LCDR1	SQGIISY
SEQ ID NO: 18 (喬西亞)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 86 (喬西亞)	LCDR3	YDALN
SEQ ID NO: 87 (IMGT)	LCDR1	QGIISY
SEQ ID NO: 18 (IMGT)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 84 (IMGT)	LCDR3	QQYDALNT
SEQ ID NO: 88	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIISYLGWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDA LNTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 89	DNA VL	GATATTGAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTG TGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGAGCCTCTCAGGGGAT TATTAGCTACCTGGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAAGCC CCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAGCCTGCAGTCAGGCGT GCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGACCGGACTTCACC CTGACTATTAGTAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCTACCTACTA CTGTGAGCAGTACGACGCCCTGAACACCTTCGGCCAGGGCACT AAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 90	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIISYLGWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDA LNTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 91	DNA輕鏈	GATATTGAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTG TGGGCGATAGAGTGACTATCACCTGTAGAGCCTCTCAGGGGAT TATTAGCTACCTGGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAAGCC CCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAGCCTGCAGTCAGGCGT GCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGACCGGACTTCACC CTGACTATTAGTAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCTACCTACTA CTGTGAGCAGTACGACGCCCTGAACACCTTCGGCCAGGGCACT AAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCAGCGTGTTCA TCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAG CGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTACCCCCGGGAGGCCAAG GTGAGTGGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGC CAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTAC AGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAG AAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACAGGGCCTGT CCAGCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC

iii. 抗BTC抗體之結合配偶體

【0389】 如上所指出，本揭露之特徵在於組成物，該等組成物包括與治療靶標結合部分軛合（例如，共價連接、非共價連接或融合）的一或多個抗BTC抗體或其抗原結合片段，該治療靶標結合部分對位於具有BTC的組織（例如，實質性水平的BTC，例如，眼睛、胰腺等）中或附近的靶標具有特異性。例如，本揭露之特徵在於關乎用於治療BTC相關病症或疾病（例如，DR、DME、AMD（例

如，新生血管性AMD）、和/或RVO）之組成物，該等組成物具有與治療靶標結合部分附接的一或多個抗BTC抗體或其抗原結合片段。在另一方面，本揭露之特徵在於包含抗BTC抗體或其抗原結合片段和治療靶標結合部分的藥物組成物，並且該藥物組成物可用於治療BTC介導的病症或疾病。在又另一方面，本揭露之特徵在於治療有需要的受試者之方法，該方法包括向受試者投與有效量的本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段，隨後向受試者投與治療靶標結合部分（例如，VEGF抑制劑），其中該受試者患有BTC介導的病症或疾病。

【0390】在某些較佳的方面，治療靶標結合部分係結合治療靶標（例如，處於scFv、Fab、單結構域抗體、或雙抗體的形式）的抗體或其抗原結合片段，或結合治療靶標（例如，可溶性受體）的多肽。此類治療靶標可以例如與眼科障礙相關，例如是，VEGF、PDGF、PDGF-BB、血管生成素、血管生成素-2、S1P、整聯蛋白 $\alpha v\beta 3$ 、整聯蛋白 $\alpha v\beta 5$ 、整聯蛋白 $\alpha 5\beta 1$ 、愛帕琳肽（apelin）/APJ、紅血球生成素、補體因子D、TNF α 、C2、因子B、因子H、因子P、CFHR3、C1q、C3、C3b、C5、C5a、C3a、HtrA1、ARMS2、EPO、EPOR、TIMP3、HLA、IL8、CX3CR1、TLR3、TLR4、CETP、LIPC、COL10A1、IL-1 β 、IL-17A、FGFR2、和TNFRSF10A。另外的治療靶標包括因子P、因子D、IL-6、IL-12、IL-18、bFGF、MCP-1、CD132、IL-6R、CD20、和IGF-1。

【0391】在一方面，本揭露之特徵在於具有抗BTC結合部分和一或多種治療靶標結合部分的各自中之至少一個的多特異性結合分子。因此，在一方面，本揭露之特徵在於例如，雙特異性分子（例如，雙特異性抗體），該雙特異性分子具有選自以下的結合選擇性的組合：BTC和VEGF、BTC和PDGF、BTC和PDGF-BB、BTC和血管生成素、BTC和血管生成素-2、BTC和S1P、BTC和整聯蛋白 $\alpha v\beta 3$ 、BTC和 $\alpha v\beta 5$ 、BTC和 $\alpha 5\beta 1$ 、BTC和愛帕琳肽（apelin）/APJ、BTC和紅血球生成素、BTC和補體因子D、BTC和TNF α 、BTC和C2、BTC和因子B、BTC和因子H、

BTC和CFHR3、BTC和C1q、BTC和C3、BTC和C3b、BTC和C5、BTC和C5a、BTC和C3a、BTC和HtrA1、BTC和ARMS2、BTC和EPO、BTC和EPOR、BTC和TIMP3、BTC和HLA、BTC和IL8、BTC和CX3CR1、BTC和TLR3、BTC和TLR4、BTC和CETP、BTC和LIPC、BTC和COL10A1、BTC和IL-1 β 、BTC和IL-17A、BTC和FGFR2、BTC和TNFRSF10A、BTC和因子P、BTC和因子D、BTC和IL-6、BTC和IL-12、BTC和IL-18、BTC和bFG、BTC和MCP-1、BTC和CD132、BTC和IL-6R、BTC和CD20、或BTC和IGF-1。

【0392】 在一方面，治療靶標結合部分可為抗VEGF拮抗劑。在一方面，抗VEGF拮抗劑係蘭尼單抗（Lucentis®；WO 98/45331；WO 98/45331；US 6884879；US 6407213；US 7060269；US 7365166）。在一方面，抗VEGF拮抗劑係貝伐珠單抗（Avastin®；US 6054297；US 7169901；US 7375193；US 7297334）。在一方面，抗VEGF拮抗劑係阿柏西普（Eylea®；US 7279159）。在一方面，抗VEGF拮抗劑係布洛賽珠單抗（Beovu®；WO 2009/155724；US 8349322；US 9090684；US 9873737；WO 03/097697；WO 2016/073915；WO/2016/073918）。在一方面，抗VEGF拮抗劑係哌加他尼（Macugen®）。在一方面，抗VEGF拮抗劑係KH902（WO 2005/121176；US 7750138）。在一方面，抗VEGF拮抗劑包含分別如SEQ ID NO: 103和114所列出的重鏈和輕鏈。在一方面，抗VEGF拮抗劑由如SEQ ID NO: 104和115所列出的核酸序列編碼。

iv. 多特異性結合分子

【0393】 本揭露還提供了多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含1) 抗BTC結合部分和2) 抗VEGF結合部分。

a) 抗BTC結合部分

【0394】 在一方面，抗BTC結合部分結合至如SEQ ID NO: 157或158所列出的BTC。在一些方面，抗BTC結合部分選擇性結合至如實例2和表4中所描述的人BTC蛋白。在一些方面，抗BTC結合部分特異性和/或選擇性結合至SEQ ID NO: 157的至少一個殘基，該殘基選自由以下組成之群組：G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、R51、R53、F54、V56、A57、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76。在一些方面，鑒定的BTC殘基中的多於一個（例如，2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、或25個）是與抗BTC結合部分結合的區域的一部分。在特定方面，這種抗BTC結合部分選擇性結合至人BTC蛋白並且抑制BTC活性（例如，部分抑制）。

【0395】 在一些方面，抗BTC結合部分（例如，NVS11）特異性和/或選擇性結合至SEQ ID NO: 157的R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、Q59、T60、P61、和R73。在一些方面，抗體或其抗原結合片段（例如，NVS12）特異性和/或選擇性結合至SEQ ID NO: 157的P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76。在一些方面，抗體或其抗原結合片段（例如，NVS13）特異性和/或選擇性結合至SEQ ID NO: 157的G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、R51、R53、F54、和V56。在一些方面，抗體或其抗原結合片段（例如，NVS14）特異性和/或選擇性結合至SEQ ID NO: 157的S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、A57、Q59、T60、P61、A72、R73、和E75。在一方面，抗BTC結合部分是如貫穿本揭露所述之抗BTC抗體或其抗原結合片段。在特定方面，這種抗BTC結合部分選擇性結合至人BTC蛋白並且抑制BTC活性（例如，部分抑制）。

【0396】 在抗BTC結合部分用於治療應用的方面，抗BTC結合部分可抑制、干擾或調控BTC的一或多種生物活性。在一方面，抗BTC結合部分特異性結合至

人BTC並且/或者將人BTC與ErbB受體的結合基本上抑制至少約20%-40%、40%-60%、60%-80%、80%-85%或更多（例如，藉由在體外競爭性結合測定中測量結合）。在一些方面，其抗BTC結合部分的 K_d 小（更緊密地結合）於 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-10} 、 10^{-11} 、 10^{-12} 、 10^{-13} M。在一些方面，抗BTC結合部分阻斷ErbB受體與BTC結合的 IC_{50} 係小於1 mM、1000 nM至100 nM、100 nM至10 nM、10 nM至1 nM、1000 pM至500 pM、500 pM至200 pM、小於200 pM、200 pM至150 pM、200 pM至100 pM、100 pM至10 pM、10 pM至1 pM。在特定方面，這種抗BTC結合部分選擇性結合至人BTC蛋白並且抑制BTC活性（例如，部分抑制）。

【0397】 在一些方面，抗BTC結合部分結合至BTC的變體，該等變體與如SEQ ID NO: 157或158所列出的BTC形式具有約至少50%、50%-60%、60%-70%、70%-80%、80%-90%、90%-95%、95%-99%或更大的百分比同一性。在一些方面，抗BTC結合部分結合至與表3中所述之抗體中之任一個結合的表位。在一些方面，抗BTC結合部分結合至BTC的特定構形狀態以防止BTC與ErbB受體的相互作用。

【0398】 本揭露之多特異性結合分子之抗BTC結合部分包含重鏈可變區互補決定區1（HCDR1）、重鏈可變區互補決定區2（HCDR2）、重鏈可變區互補決定區3（HCDR3）、輕鏈可變區互補決定區1（LCDR1）、輕鏈可變區互補決定區2（LCDR2）以及輕鏈可變區互補決定區3（LCDR3）。HCDR1、HCDR2、和HCDR3包含在重鏈可變區（VH）中。LCDR1、LCDR2、和LCDR3包含在輕鏈可變區（VL）中。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段包含如表3中所列出和如下文所描述的重鏈CDR和輕鏈CDR（例如，卡巴特、喬西亞、IMGT和/或組合的CDR）。

【0399】 在一方面，抗BTC結合部分包含根據卡巴特編號方案分別如SEQ ID NO: 4、2、3、14、15、和16所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、

LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含根據喬西亞編號方案分別如SEQ ID NO: 5、6、3、17、18、和19所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含根據組合的編號方案分別如SEQ ID NO: 1、2、3、14、15、和16所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含根據IMGT編號方案分別如SEQ ID NO: 7、8、9、20、18、和16所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含在如表3中所提供的NVS11中。

【0400】 在一方面，抗BTC結合部分包含根據卡巴特編號方案分別如SEQ ID NO: 28、26、27、38、39、和40所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含根據喬西亞編號方案分別如SEQ ID NO: 29、30、27、41、42、和43所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含根據組合的編號方案分別如SEQ ID NO: 25、26、27、38、39、和40所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含根據IMGT編號方案分別如SEQ ID NO: 31、32、33、44、42、和40所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含在如表3中所提供的NVS12中。

【0401】 在一方面，抗BTC結合部分包含根據卡巴特編號方案分別如SEQ ID NO: 28、49、50、58、59、和60所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含根據喬西亞編號方案分別如SEQ ID NO: 29、51、50、61、62、和63所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含根據組合的編號方案分別如SEQ ID NO: 25、49、50、58、59、和60所列出的HCDR1、HCDR2、

HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含根據IMGT編號方案分別如SEQ ID NO: 31、52、53、64、62、和60所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含在如表3中所提供的NVS13中。

【0402】 在一方面，抗BTC結合部分包含根據卡巴特編號方案分別如SEQ ID NO: 72、70、71、82、83、和84所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含根據喬西亞編號方案分別如SEQ ID NO: 73、74、71、85、18、和86所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含根據組合的編號方案分別如SEQ ID NO: 69、70、71、82、83、和84所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含根據IMGT編號方案分別如SEQ ID NO: 75、76、77、87、18、和84所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗BTC結合部分包含在如表3中所提供的NVS14中。

【0403】 此外，本揭露還提供了包含胺基酸序列的抗BTC結合部分，該等胺基酸序列與貫穿本揭露和表3中所述之CDR序列同源，並且抗BTC結合部分結合至BTC並且保留本文所述之那些的所需功能特性。更具體地，抗BTC結合部分的胺基酸序列可以與如貫穿本揭露所述和表3中所列出的CDR序列具有大於或等於80%、90%、95%、96%、97%、98%、或99%的同一性並保留其所需功能特性。

【0404】 本揭露還提供了與本文所述之VH序列和VL序列同源的抗BTC結合部分。更具體地，本揭露提供了包含胺基酸序列的蛋白質，該等胺基酸序列與例如表3中所述之那些序列同源，並且抗BTC結合部分結合至眼科靶標，並且保留如表3中和實例中所述之那些的所需功能特性。具有VH區和VL區（該等VH區

和VL區與表3中所述之那些的VH區和VL區具有小於100%序列同一性)的抗BTC結合部分可以如下的方式獲得：對表3中所述之核酸分子進行誘變（例如，定點誘變或PCR介導的誘變），隨後使用本文和US 20120014958中所述之功能測定，測試所編碼的改變的抗體的保留功能。具有重鏈和輕鏈（該重鏈和輕鏈與表3中所述之重鏈和輕鏈具有高（即，80%或更高）同一性）的抗BTC結合部分可以如下的方式獲得：對編碼此類多肽的核酸分子進行誘變（例如，定點誘變或PCR介導的誘變），隨後使用本文所述之功能測定，測試所編碼的改變的抗體的保留功能。

【0405】 本揭露之抗BTC結合部分包含重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL），該重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL）分別包含與SEQ ID NO: 10和21具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的胺基酸序列。預期可變性可在CDR或框架區中。在一方面，抗BTC結合部分包含分別含有如SEQ ID NO: 10和21所列出的胺基酸序列之VH和VL。在另一方面，抗BTC結合部分是如表3中所提供的NVS11。在另一方面，VH和VL分別由如SEQ ID NO: 116和122所列出的核酸序列編碼。在一方面，抗BTC結合部分包含VH和VL，該VH和VL分別包含具有SEQ ID NO: 10和21的胺基酸序列之至少一個、兩個或三個修飾（例如，取代（例如，保留取代））但不超過10個修飾（例如，取代（例如，保留取代））的胺基酸序列。在另一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0406】 在一方面，本揭露之抗BTC結合部分包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 34和45具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的胺基酸序列。預期可變性可在CDR或框架區中。在一方面，抗BTC結合部分包含分別含有如SEQ ID NO: 34和45所列出的胺基酸序列之VH和VL。在另一方面，抗BTC結合部分是如表3中所提供的NVS12。在另一方面，VH和VL分別由如SEQ ID NO: 127和132所列出的核酸序列編碼。在一方面，抗BTC結合部分包含VH和VL，該VH和VL分別包含具有SEQ ID NO: 34和45的胺基酸序列之至少一個、兩個或三個修飾（例如，取代（例如，保留取代））但不超過10個修飾（例如，取代（例如，保留取代））的胺基酸序列。在另一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0407】 在一方面，本揭露之抗BTC結合部分包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 54和65具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的胺基酸序列。預期可變性可在CDR或框架區中。在一方面，抗BTC結合部分包含分別含有如SEQ ID NO: 54和65所列出的胺基酸序列之VH和VL。

在另一方面，抗BTC結合部分是如表3中所提供的NVS13。在另一方面，VH和VL分別由如SEQ ID NO: 137和142所列出的核酸序列編碼。在一方面，抗BTC結合部分包含VH和VL，該VH和VL分別包含具有SEQ ID NO: 54和65的胺基酸序列之至少一個、兩個或三個修飾（例如，取代（例如，保留取代））但不超過10個修飾（例如，取代（例如，保留取代））的胺基酸序列。在另一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0408】 在一方面，本揭露之抗BTC結合部分包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 78和88具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的胺基酸序列。預期可變性可在CDR或框架區中。在一方面，抗BTC結合部分包含分別含有如SEQ ID NO: 78和88所列出的胺基酸序列之VH和VL。在另一方面，抗BTC結合部分是如表3中所提供的NVS14。在另一方面，VH和VL分別由如SEQ ID NO: 147和151所列出的核酸序列編碼。在一方面，抗BTC結合部分包含VH和VL，該VH和VL分別包含具有SEQ ID NO: 78和88的胺基酸序列之至少一個、兩個或三個修飾（例如，取代（例如，保留取代））但不超過10個修飾（例如，取代（例如，保留取代））的胺基酸序列。在另一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0409】 在一方面，本揭露之抗BTC結合部分包含1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3分別包含SEQ ID NO: 1、2、3、14、15、和16（組合的編號方

案)；SEQ ID NO: 4、2、3、14、15、和16 (卡巴特編號方案)；SEQ ID NO: 5、6、3、17、18、和19 (喬西亞編號方案)；或SEQ ID NO: 7、8、9、20、18、和16 (IMGT編號方案)；和2) 分別含有如SEQ ID NO: 10和21所列出的胺基酸序列之VH和VL。在另一方面，抗BTC結合部分包含在如表3中所提供的NVS11中。

【0410】 在一方面，本揭露之抗BTC結合部分包含1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3分別包含SEQ ID NO: 25、26、27、38、39、和40 (組合的編號方案)；SEQ ID NO: 28、26、27、38、39、和40 (卡巴特編號方案)；SEQ ID NO: 29、30、27、41、42、和43 (喬西亞編號方案)；或SEQ ID NO: 31、32、33、44、42、和40 (IMGT編號方案)；和2) 分別含有如SEQ ID NO: 34和45所列出的胺基酸序列之VH和VL。在另一方面，抗BTC結合部分包含在如表3中所提供的NVS12中。

【0411】 在一方面，本揭露之抗BTC結合部分包含1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3分別包含SEQ ID NO: 25、49、50、58、59、和60 (組合的編號方案)；SEQ ID NO: 28、49、50、58、59、和60 (卡巴特編號方案)；SEQ ID NO: 29、51、50、61、62、和63 (喬西亞編號方案)；或SEQ ID NO: 31、52、53、64、62、和60 (IMGT編號方案)；和2) 分別含有如SEQ ID NO: 54和65所列出的胺基酸序列之VH和VL。在另一方面，抗BTC結合部分包含在如表3中所提供的NVS13中。

【0412】 在一方面，本揭露之抗BTC結合部分包含1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3分別包含SEQ ID NO: 69、70、71、82、83、和84 (組合的編號方案)；SEQ ID NO: 72、70、71、82、83、和84 (卡巴特編號方案)；SEQ

ID NO: 73、74、71、85、18、和86（喬西亞編號方案）；或SEQ ID NO: 75、76、77、87、18、和84（IMGT編號方案）；和2) 分別含有如SEQ ID NO: 78和88所列出的胺基酸序列之VH和VL。在另一方面，抗BTC結合部分包含在如表3中所提供的NVS14中。

b) 抗VEGF結合部分

【0413】本揭露還提供了包含在多特異性結合分子中的抗VEGF結合部分。在特定方面，抗VEGF結合部分包含重鏈可變區互補決定區1（HCDR1）、重鏈可變區互補決定區2（HCDR2）、重鏈可變區互補決定區3（HCDR3）、輕鏈可變區互補決定區1（LCDR1）、輕鏈可變區互補決定區2（LCDR2）以及輕鏈可變區互補決定區3（LCDR3）。HCDR1、HCDR2、和HCDR3包含在重鏈可變區（VH）中。LCDR1、LCDR2、和LCDR3包含在輕鏈可變區（VL）中。在一方面，抗VEGF結合部分包含如表2或3中所列出和如下文所描述的重鏈CDR和輕鏈CDR（例如，卡巴特、喬西亞、IMGT和/或組合的CDR）。在一方面，抗VEGF結合部分係抗VEGF抗體或其抗原結合片段。在一方面，抗VEGF結合部分係抗VEGF抗體或其抗原結合片段，該抗VEGF抗體或其抗原結合片段抑制（例如，部分抑制）VEGF活性。

【0414】在一方面，抗VEGF結合部分包含根據卡巴特編號方案分別如SEQ ID NO: 95、93、94、105、106、和107所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗VEGF結合部分包含根據喬西亞編號方案分別如SEQ ID NO: 96、97、94、108、109、和110所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗VEGF結合部分包含根據組合的編號方案分別如SEQ ID NO: 92、93、94、105、106、和107所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗VEGF結合部分

包含根據IMGT編號方案分別如SEQ ID NO: 98、99、100、111、109、和107所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，抗VEGF結合部分是如表2中所提供的NVS8或者包含在如表3中所提供的NVS11-NVS14中之任一個中。在另一方面，抗VEGF結合部分係布洛賽珠單抗（Beovu®）。

【0415】此外，本揭露還提供了包含胺基酸序列的抗VEGF結合部分，該等胺基酸序列與貫穿本揭露和表2或3中所述之CDR序列同源，並且抗VEGF結合部分結合至VEGF並且保留本文所述之那些的所需功能特性。更具體地，抗VEGF結合部分的胺基酸序列可以與如貫穿本揭露所述和表2或3中所列出的CDR序列具有大於或等於80%、90%、95%、96%、97%、98%、或99%的同一性並保留其所需功能特性。

【0416】本揭露還提供了與本文所述之VH序列和VL序列同源的抗VEGF結合部分。更具體地，本揭露提供了包含胺基酸序列的蛋白質，該等胺基酸序列與例如表2或3中所述之那些序列同源，並且抗VEGF結合部分結合至眼科靶標，並且保留如表2或3中和實例中所述之那些的所需功能特性。具有VH區和VL區（該等VH區和VL區與表2或3中所述之那些的VH區和VL區具有小於100%序列同一性）的抗VEGF結合部分可以如下的方式獲得：對表2或3中所述之核酸分子進行誘變（例如，定點誘變或PCR介導的誘變），隨後使用本文和US 20120014958中所述之功能測定，測試所編碼的改變的抗體的保留功能。具有重鏈和輕鏈（該重鏈和輕鏈與表2或3中所述之重鏈和輕鏈具有高（即，80%或更高）同一性）的抗VEGF結合部分可以如下的方式獲得：對編碼此類多肽的核酸分子進行誘變（例如，定點誘變或PCR介導的誘變），隨後使用本文所述之功能測定，測試所編碼的改變的抗體的保留功能。

【0417】 本揭露之抗VEGF結合部分包含重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL），該重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL）分別包含與SEQ ID NO: 101和112具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的胺基酸序列。預期可變性可在CDR或框架區中。在一方面，抗VEGF結合部分包含分別含有如SEQ ID NO: 101和112所列出的胺基酸序列之VH和VL。在另一方面，抗VEGF結合部分是如表2中所提供的NVS8或者包含在如表3中所提供的NVS11-NVS14中之任一個中。在一方面，抗VEGF結合部分包含VH和VL，該VH和VL分別包含具有SEQ ID NO: 101和112的胺基酸序列之至少一個、兩個或三個修飾（例如，取代（例如，保留取代））但不超過10個修飾（例如，取代（例如，保留取代））的胺基酸序列。在另一方面，胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0418】 在一方面，抗VEGF結合部分的VH和VL分別由如SEQ ID NO: 102和113所列出的核酸序列編碼。在一方面，抗VEGF結合部分是如表2中所提供的NVS8。

【0419】 在一方面，抗VEGF結合部分的VH和VL分別由如SEQ ID NO: 117和123所列出的核酸序列編碼。在一方面，抗VEGF結合部分包含在如表3中所提供的NVS11中。

【0420】 在一方面，抗VEGF結合部分的VH和VL分別由如SEQ ID NO: 128和133所列出的核酸序列編碼。在一方面，抗VEGF結合部分包含在如表3中所提供的NVS12中。

【0421】 在一方面，抗VEGF結合部分的VH和VL分別由如SEQ ID NO: 138和143所列出的核酸序列編碼。在一方面，抗VEGF結合部分包含在如表3中所提供的NVS13中。

【0422】 在一方面，抗VEGF結合部分的VH和VL分別由如SEQ ID NO: 148和152所列出的核酸序列編碼。在一方面，抗VEGF結合部分包含在如表3中所提供的NVS14中。

【0423】 在一方面，本揭露之抗VEGF結合部分包含1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3分別包含SEQ ID NO: 92、93、94、105、106、和107（組合的編號方案）；SEQ ID NO: 95、93、94、105、106、和107（卡巴特編號方案）；SEQ ID NO: 96、97、94、108、109、和110（喬西亞編號方案）；或SEQ ID NO: 98、99、100、111、109、和107（IMGT編號方案）；和2) 分別含有如SEQ ID NO: 101和112所列出的胺基酸序列之VH和VL。在另一方面，抗VEGF結合部分是如表2中所提供的NVS8或者包含在如表3中所提供的NVS11-NVS14中之任一個中。在一方面，抗VEGF結合部分抑制（例如，部分抑制）VEGF活性。

【0424】 在一方面，本揭露之抗VEGF結合部分（例如，抑制VEGF活性的抗VEGF結合部分）包含重鏈和輕鏈，該重鏈和輕鏈分別包含與SEQ ID NO: 103和114具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的胺基酸序列。在一方面，抗VEGF結合部分包含分別含有如SEQ ID NO: 103和114所列出

的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。在另一方面，抗VEGF結合部分是如表2中所提供的NVS8。在另一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 104和115約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同或互補的核酸序列編碼。在一方面，抗VEGF結合部分包含分別由如SEQ ID NO: 104和115所列出的核酸序列編碼之重鏈和輕鏈，並且是如表2中所提供的NVS8。

c) 雙特異性結合分子

【0425】在特定方面，本發明係包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子。本揭露提供了包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，1) 其中抗BTC結合部分包含如表1中所列出的抗BTC抗體(例如，NVS1、NVS2、NVS3、或NVS4)的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3；並且2) 其中抗VEGF結合部分包含如表2或3中所列出的抗VEGF抗體的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3。在一方面，多特異性結合分子係如表3中所提供的NVS11。

【0426】本揭露提供了包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，1) 其中抗BTC結合部分包含1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3分別包含SEQ ID NO: 1、2、3、14、15、和16(組合的編號方案)；SEQ ID NO:

4、2、3、14、15、和16（卡巴特編號方案）；SEQ ID NO: 5、6、3、17、18、和19（喬西亞編號方案）；或SEQ ID NO: 7、8、9、20、18、和16（IMGT編號方案）；並且2) 其中抗VEGF結合部分分別包含SEQ ID NO: 92、93、94、105、106、和107（組合的編號方案）；SEQ ID NO: 95、93、94、105、106、和107（卡巴特編號方案）；SEQ ID NO: 96、97、94、108、109、和110（喬西亞編號方案）；或SEQ ID NO: 98、99、100、111、109、和107（IMGT編號方案）。在一方面，多特異性結合分子係如表3中所提供的NVS11。在一方面，這種多特異性結合分子1) 選擇性結合至人BTC蛋白並抑制BTC活性（例如，部分抑制），並且2) 選擇性結合至人VEGF蛋白並抑制VEGF活性（例如，部分抑制）。

【0427】 本揭露還提供了包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，1) 其中抗BTC結合部分包含1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3分別包含SEQ ID NO: 25、26、27、38、39、和40（組合的編號方案）；SEQ ID NO: 28、26、27、38、39、和40（卡巴特編號方案）；SEQ ID NO: 29、30、27、41、42、和43（喬西亞編號方案）；或SEQ ID NO: 31、32、33、44、42、和40（IMGT編號方案）；並且2) 其中抗VEGF結合部分分別包含SEQ ID NO: 92、93、94、105、106、和107（組合的編號方案）；SEQ ID NO: 95、93、94、105、106、和107（卡巴特編號方案）；SEQ ID NO: 96、97、94、108、109、和110（喬西亞編號方案）；或SEQ ID NO: 98、99、100、111、109、和107（IMGT編號方案）。在一方面，多特異性結合分子係如表3中所提供的NVS12。

【0428】 本揭露還提供了包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，1) 其中抗BTC結合部分包含1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3分別包含SEQ ID NO: 25、49、50、58、59、和60（組合的編號方案）；

SEQ ID NO: 28、49、50、58、59、和60（卡巴特編號方案）；SEQ ID NO: 29、51、50、61、62、和63（喬西亞編號方案）；或SEQ ID NO: 31、52、53、64、62、和60（IMGT編號方案）；並且2) 其中抗VEGF結合部分分別包含SEQ ID NO: 92、93、94、105、106、和107（組合的編號方案）；SEQ ID NO: 95、93、94、105、106、和107（卡巴特編號方案）；SEQ ID NO: 96、97、94、108、109、和110（喬西亞編號方案）；或SEQ ID NO: 98、99、100、111、109、和107（IMGT編號方案）。在一方面，多特異性結合分子係如表3中所提供的NVS13。

【0429】本揭露還提供了包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，1) 其中抗BTC結合部分包含1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3分別包含SEQ ID NO: 69、70、71、82、83、和84（組合的編號方案）；SEQ ID NO: 72、70、71、82、83、和84（卡巴特編號方案）；SEQ ID NO: 73、74、71、85、18、和86（喬西亞編號方案）；或SEQ ID NO: 75、76、77、87、18、和84（IMGT編號方案）；並且2) 其中抗VEGF結合部分分別包含SEQ ID NO: 92、93、94、105、106、和107（組合的編號方案）；SEQ ID NO: 95、93、94、105、106、和107（卡巴特編號方案）；SEQ ID NO: 96、97、94、108、109、和110（喬西亞編號方案）；或SEQ ID NO: 98、99、100、111、109、和107（IMGT編號方案）。在一方面，多特異性結合分子係如表3中所提供的NVS14。

【0430】在一方面，本揭露之多特異性結合分子包含1) 結合至BTC的VHA和VLA，其中VHA和VLA分別包含與SEQ ID NO: 10和21具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、

至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列；和2) 結合至VEGF的VHB和VLB，其中VHB和VLB分別包含與SEQ ID NO: 101和112具有至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。在另一方面，本揭露之多特異性結合分子包含1) 結合至BTC的VHA和VLA，該VHA和VLA分別包含SEQ ID NO: 10和21的胺基酸序列；和2) 結合至VEGF的VHB和VLB，該VHB和VLB分別包含SEQ ID NO: 101和112的胺基酸序列。在另一方面，VHA和VLA分別由與SEQ ID NO: 116和122具有約至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。在另一方面，VHB和VLB分別由與SEQ ID NO: 117和123具有約至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。在一方面，多特異性結合分子係如表3中所提供的NVS11。在一方面，這種多特異性結合分子1) 選擇性結合至人BTC蛋白並抑制BTC活性（例如，部分抑制），並且2) 選擇性結合至人VEGF蛋白並抑制VEGF活性（例如，部分抑制）。

【0431】 在一方面，本揭露之多特異性結合分子包含1) 結合至BTC的VHA和VLA，其中VHA和VLA分別包含與SEQ ID NO: 34和45具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列；和2) 結合至VEGF的VHB和VLB，其中VHB和VLB分別包含與SEQ ID NO: 101和112具有至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。在另一方面，本揭露之多特異性結合分子包含1) 結合至BTC的VHA和VLA，該VHA和VLA分別包含SEQ ID NO: 34和45的胺基酸序列；和2) 結合至VEGF的VHB和VLB，該VHB和VLB分別包含SEQ ID NO: 101和112的胺基酸序列。在另一方面，VHA和VLA分別由與SEQ ID NO: 127和132具有約至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。在另一方面，VHB和VLB分別由與SEQ ID NO: 128和133具有約至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、

至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。在一方面，多特異性結合分子係如表3中所提供的NVS12。在一方面，這種多特異性結合分子1) 選擇性結合至人BTC蛋白並抑制BTC活性（例如，部分抑制），並且2) 選擇性結合至人VEGF蛋白並抑制VEGF活性（例如，部分抑制）。

【0432】 在一方面，本揭露之多特異性結合分子包含1) 結合至BTC的VHA和VLA，其中VHA和VLA分別包含與SEQ ID NO: 54和65具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列；和2) 結合至VEGF的VHB和VLB，其中VHB和VLB分別包含與SEQ ID NO: 101和112具有至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。在另一方面，本揭露之多特異性結合分子包含1) 結合至BTC的VHA和VLA，該VHA和VLA分別包含SEQ ID NO: 54和65的胺基酸序列；和2) 結合至VEGF的VHB和VLB，該VHB和VLB分別包含SEQ ID NO: 101和112的胺基酸序列。在另一方面，VHA和VLA分別由與SEQ ID NO: 137和142具有約至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少

84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。在另一方面，VHB和VLB分別由與SEQ ID NO: 138和143具有約至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。在一方面，多特異性結合分子係如表3中所提供的NVS13。在一方面，這種多特異性結合分子1) 選擇性結合至人BTC蛋白並抑制BTC活性（例如，部分抑制），並且2) 選擇性結合至人VEGF蛋白並抑制VEGF活性（例如，部分抑制）。

【0433】 在一方面，本揭露之多特異性結合分子包含1) 結合至BTC的VHA和VLA，其中VHA和VLA分別包含與SEQ ID NO: 78和88具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列；和2) 結合至VEGF的VHB和VLB，其中VHB和VLB分別包含與SEQ ID NO: 101和112具有至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至

少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。在另一方面，本揭露之多特異性結合分子包含1) 結合至BTC的VHA和VLA，該VHA和VLA分別包含SEQ ID NO: 78和88的胺基酸序列；和2) 結合至VEGF的VHB和VLB，該VHB和VLB分別包含SEQ ID NO: 101和112的胺基酸序列。在另一方面，VHA和VLA分別由與SEQ ID NO: 147和151具有約至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。在另一方面，VHB和VLB分別由與SEQ ID NO: 148和152具有約至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。在一方面，多特異性結合分子係如表3中所提供的NVS14。在一方面，這種多特異性結合分子1) 選擇性結合至人BTC蛋白並抑制BTC活性（例如，部分抑制），並且2) 選擇性結合至人VEGF蛋白並抑制VEGF活性（例如，部分抑制）。

【0434】本揭露之多特異性結合分子包含1) 含有VHA、CH1A、連接子、VHB、和CH1B的重鏈，其中該重鏈包含與SEQ ID NO: 120具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列；和2) 包含VLA、CKA、連接子、VLB、和CKB的輕鏈，其中該輕鏈包含與SEQ ID NO: 125具有約至少

60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。在一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 121和126具有約至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。在一方面，多特異性結合分子包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中第一多肽鏈包含SEQ ID NO: 120的胺基酸序列，並且第二多肽鏈包含SEQ ID NO: 125的胺基酸序列，如表3中所提供的NVS11所列出。在一方面，這種多特異性結合分子1) 選擇性結合至人BTC蛋白並抑制BTC活性（例如，部分抑制），並且2) 選擇性結合至人VEGF蛋白並抑制VEGF活性（例如，部分抑制）。

【0435】 本揭露之多特異性結合分子包含1) 含有VHA、CH1A、連接子、VHB、和CH1B的重鏈，其中該重鏈包含與SEQ ID NO: 130具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列；和2) 包含VLA、CKA、連接子、VLB、和CKB的輕鏈，其中該輕鏈包含與SEQ ID NO: 135具有約至少

60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。在一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 131和136具有約至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。在一方面，多特異性結合分子包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中第一多肽鏈包含SEQ ID NO: 130的胺基酸序列，並且第二多肽鏈包含SEQ ID NO: 135的胺基酸序列，如表3中所提供的NVS12所列出。在一方面，這種多特異性結合分子1) 選擇性結合至人BTC蛋白並抑制BTC活性（例如，部分抑制），並且2) 選擇性結合至人VEGF蛋白並抑制VEGF活性（例如，部分抑制）。

【0436】 本揭露之多特異性結合分子包含1) 含有VHA、CH1A、連接子、VHB、和CH1B的重鏈，其中該重鏈包含與SEQ ID NO: 140具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列；和2) 包含VLA、CKA、連接子、VLB、和CKB的輕鏈，其中該輕鏈包含與SEQ ID NO: 145具有約至少

60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。在一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 141和146具有約至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。在一方面，多特異性結合分子包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中第一多肽鏈包含SEQ ID NO: 140的胺基酸序列，並且第二多肽鏈包含SEQ ID NO: 145的胺基酸序列，如表3中所提供的NVS13所列出。在一方面，這種多特異性結合分子1) 選擇性結合至人BTC蛋白並抑制BTC活性（例如，部分抑制），並且2) 選擇性結合至人VEGF蛋白並抑制VEGF活性（例如，部分抑制）。

【0437】 本揭露之多特異性結合分子包含1) 含有VHA、CH1A、連接子、VHB、和CH1B的重鏈，其中該重鏈包含與SEQ ID NO: 149具有約至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列；和2) 包含VLA、CKA、連接子、VLB、和CKB的輕鏈，其中該輕鏈包含與SEQ ID NO: 154具有約至少

60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。在一方面，重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 150和155具有約至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。在一方面，多特異性結合分子包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中第一多肽鏈包含SEQ ID NO: 149的胺基酸序列，並且第二多肽鏈包含SEQ ID NO: 154的胺基酸序列，如表3中所提供的NVS14所列出。在一方面，這種多特異性結合分子1) 選擇性結合至人BTC蛋白並抑制BTC活性（例如，部分抑制），並且2) 選擇性結合至人VEGF蛋白並抑制VEGF活性（例如，部分抑制）。

【0438】 本揭露之多特異性結合分子（例如，NVS11-NVS14）可：

- a. 同時結合至BTC和VEGF；
- b. 抑制可溶性BTC與ErbB1或ErB4的結合以及隨後的Erb受體磷酸化；
- c. 抑制可溶性BTC誘導的ERK1/2磷酸化；
- d. 結合至膜結合的BTC並抑制膜結合的BTC誘導的ErbB1磷酸化的近分泌活化；
- e. 抑制可溶性VEGF-A165與可溶性VEGFR2的結合；

- f. 在外部BRB（血-視網膜外屏障）體外模型中，抑制BTC誘導的人iPSC衍生的RPE通透性；
- g. 在內部BRB（血-視網膜內屏障）體外模型中，抑制VEGF誘導的人視網膜內皮細胞（HREC）通透性；
- h. 抑制BTC誘導的視網膜增厚；和/或
- i. 抑制VEGF誘導的視網膜血管滲漏。

[表2]. 示例性抗VEGF Fab

NVS8		
SEQ ID NO: 92（組合的）	HCDR1	GFSLTDYYMT
SEQ ID NO: 93（組合的）	HCDR2	FIDPDDDPYYATWAKG
SEQ ID NO: 94（組合的）	HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 95（卡巴特）	HCDR1	DYYMT
SEQ ID NO: 93（卡巴特）	HCDR2	FIDPDDDPYYATWAKG
SEQ ID NO: 94（卡巴特）	HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 96（喬西亞）	HCDR1	GFSLTDYY
SEQ ID NO: 97（喬西亞）	HCDR2	DPDDD
SEQ ID NO: 94（喬西亞）	HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 98（IMGT）	HCDR1	GFSLTDYYY
SEQ ID NO: 99（IMGT）	HCDR2	IDPDDDP
SEQ ID NO: 100（IMGT）	HCDR3	AGGDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 101	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYMTWVRQAPGK GLEWVGFIDPDDDPYYATWAKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGT LTVSS
SEQ ID NO: 102	DNA VH	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGGGGCGGACTGGTGCAGCCC GGTGGATCTTTGCGCCTGTCCTGTACAGCTTCTGGCTTCTCCTT GACCGACTACTATTACATGACTTGGGTTGCGCAAGCCCCAGGC AAAGGGCTTGAATGGGTGGGGTTCATTGACCCCCGACGATGATC CTTACTACGCCACATGGGCAAAGGGCCGGTTTACTATCAGCCG GGATAATTCCAAAAACACATTGTATTGCAAATGAACTCACTGA GAGCAGAAGATACGGCTGTGTACTATTGCGCAGGCGGCGATC ATAACTCCGGCTGGGGCCTGGACATCTGGGGG CAGGGGACCC TGGTGACAGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 103	重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYMTWVRQAPGK GLEWVGFIDPDDDPYYATWAKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGT LTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 104	DNA重鏈	GAGGTGCAATTGGTTGAATCTGGGGGCGGACTGGTGCAGCCC GGTGGATCTTTGCGCCTGTCCTGTACAGCTTCTGGCTTCTCCTT GACCGACTACTATTACATGACTTGGGTTGCGCAAGCCCCAGGC AAAGGGCTTGAATGGGTGGGGTTCATTGACCCCCGACGATGATC CTTACTACGCCACATGGGCAAAGGGCCGGTTTACTATCAGCCG GGATAATTCCAAAAACACATTGTATTGCAAATGAACTCACTGA GAGCAGAAGATACGGCTGTGTACTATTGCGCAGGCGGCGATC ATAACTCCGGCTGGGGCCTGGACATCTGGGGG CAGGGGACCC TGGTGACAGTCAGCTCAGCCTCAACGAAGGGGCCAGCGTGT TCCTTTGGCCCCAAGCAGCAAGTCCACGTCCGGTGGGACTGCA

		GCTCTTGGTTGTCTGGTCAAGGATTATTTCCAGAACCCGTGAC CGTGTCTTGGAACAGTGGTGCATTGACATCAGGAGTGCATACA TTCCCAGCTGTGCTGCAGAGCTCTGGCCTGTATAGCCTTTCCTC TGTTGTACGGTGCCAGCTCCAGCCTGGGGACGCAGACCTAT ATTTGTAACGTGAACCATAAACCCCTCCAACACCAAGGTTGATAA AAGAGTGGAGCCCAAGTCTTGT
SEQ ID NO: 105 (組合的)	LCDR1	QASEIIHSWLA
SEQ ID NO: 106 (組合的)	LCDR2	LASTLAS
SEQ ID NO: 107 (組合的)	LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 105 (卡巴特)	LCDR1	QASEIIHSWLA
SEQ ID NO: 106 (卡巴特)	LCDR2	LASTLAS
SEQ ID NO: 107 (卡巴特)	LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 108 (喬西亞)	LCDR1	SEIIHSW
SEQ ID NO: 109 (喬西亞)	LCDR2	LAS
SEQ ID NO: 110 (喬西亞)	LCDR3	VYLASTNGA
SEQ ID NO: 111 (IMGT)	LCDR1	EIIHSW
SEQ ID NO: 109 (IMGT)	LCDR2	LAS
SEQ ID NO: 107 (IMGT)	LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 112	VL	EIVMTQSPSTLSASVGDRIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKL LIYLASTLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISLQPDDEFATYYCQNVYLA STNGANFGQGTKLTVLK
SEQ ID NO: 113	DNA VL	GAGATTGTGATGACTCAGAGCCCTTCAACGCTGTCTGCATCCGT AGGTGATCGCGTCATTATTACCTGTCAAGCCTCAGAGATCATT ACTCTTGGCTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGTAAGGCCCC CAAGCTGCTGATCTATCTTGCTTCAACCCCTCGCGAGCGGGGTG CCCTCCCGCTTCAGCGGCTCCGGCTCTGGTGCCGAATTTACCT GACAATCAGCTCTCTCAACCCGATGATTCGCGACTTACTACT GTCAGAATGTCTACTTGGCCTCAACCAACGGAGCCAACCTCGG CCAGGGGACCAAACTGACCGTCCTTAAG
SEQ ID NO: 114	輕鏈	EIVMTQSPSTLSASVGDRIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKL LIYLASTLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISLQPDDEFATYYCQNVYLA STNGANFGQGTKLTVLKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLT SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 115	DNA輕鏈	GAGATTGTGATGACTCAGAGCCCTTCAACGCTGTCTGCATCCGT AGGTGATCGCGTCATTATTACCTGTCAAGCCTCAGAGATCATT ACTCTTGGCTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGTAAGGCCCC CAAGCTGCTGATCTATCTTGCTTCAACCCCTCGCGAGCGGGGTG CCCTCCCGCTTCAGCGGCTCCGGCTCTGGTGCCGAATTTACCT GACAATCAGCTCTCTCAACCCGATGATTCGCGACTTACTACT GTCAGAATGTCTACTTGGCCTCAACCAACGGAGCCAACCTCGG CCAGGGGACCAAACTGACCGTCCTTAAGCGTACGGTGGCAGCT CCGTCTGTTTTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAACTCAAAAG TGGTACAGCATCCGTGGTTTGTCTGCTGAACAATTTTACCCCA GGGAGGCTAAGGTCCAGTGAAAGTCGATAACGCTCTTCAGTC TGGCAACAGTCAGGAGAGCGTCACAGAGCAGGACTCTAAGGA TAGCACTTATAGTCTGTCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGG ATTATGAGAAGCACAAAGGTTTACGCCTGTGAGGTAACGCACCA AGGACTCTCTCCCCAGTTACCAAATCTTTCAACAGAGGAGAAT GT

[表3]. 示例性抗BTC/抗VEGF雙特異性Fab

NVS11		
SEQ ID NO: 1 (組合的)	1 HCDR1	GGTFSSYAIS

SEQ ID NO: 2 (組合的)	1 HCDR2	GIVPWMGEAVYAQKFQG
SEQ ID NO: 3 (組合的)	1 HCDR3	SSSTYGIHAFDY
SEQ ID NO: 4 (卡巴特)	1 HCDR1	SYAIS
SEQ ID NO: 2 (卡巴特)	1 HCDR2	GIVPWMGEAVYAQKFQG
SEQ ID NO: 3 (卡巴特)	1 HCDR3	SSSTYGIHAFDY
SEQ ID NO: 5 (喬西亞)	1 HCDR1	GGTFSSY
SEQ ID NO: 6 (喬西亞)	1 HCDR2	VPWMGE
SEQ ID NO: 3 (喬西亞)	1 HCDR3	SSSTYGIHAFDY
SEQ ID NO: 7 (IMGT)	1 HCDR1	GGTFSSYA
SEQ ID NO: 8 (IMGT)	1 HCDR2	IVPWMGEA
SEQ ID NO: 9 (IMGT)	1 HCDR3	ARSSSTYGIHAFDY
SEQ ID NO: 10	1 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGIVPWMGEAVYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARSSSTYGIHAFDYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 116	1 DNA VH	CAAGTGCGAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCC GGCTCCTCCGTGAAAGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCGGCACCT TCTCCAGCTACGCCATCTCCTGGGTCCGACAGGCCCCAGGCCA GGGCCTGGAGTGGATGGGCGGCATCGTGCCTTGGATGGGCGA GGCCGTGTACGCCAGAAATTCAGGGCAGAGTGACCATCACC GCCGACGAGTCCACCTCCACCGCCTACATGGAAGTGTCTCCCT GAGGAGCGAGGACACCGCGTGTACTACTGCGCCCGGTCTCTCC TCCACCTACGGCATCCACGCCTTCGACTACTGGGGCCAGGGCA CCCTGGTCACCGTGTCTCTCC
SEQ ID NO: 92 (組合的)	2 HCDR1	GFSLTDYYMT
SEQ ID NO: 93 (組合的)	2 HCDR2	FIDPDDDPYYATWAKG
SEQ ID NO: 94 (組合的)	2 HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 95 (卡巴特)	2 HCDR1	DYYMT
SEQ ID NO: 93 (卡巴特)	2 HCDR2	FIDPDDDPYYATWAKG
SEQ ID NO: 94 (卡巴特)	2 HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 96 (喬西亞)	2 HCDR1	GFSLTDYY
SEQ ID NO: 97 (喬西亞)	2 HCDR2	DPDDD
SEQ ID NO: 94 (喬西亞)	2 HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 98 (IMGT)	2 HCDR1	GFSLTDYYY
SEQ ID NO: 99 (IMGT)	2 HCDR2	IDPDDDP
SEQ ID NO: 100 (IMGT)	2 HCDR3	AGGDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 101	2 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYMTWVRQAPGK GLEWVGFDIPDDDPYYATWAKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 117	2 DNA VH	GAAGTCCAGCTGGTGGAATCCGGCGGAGGCCTGGTGCAGCCA GGCGGATCCCTGAGGCTGTCTTGCAACGCCTCCGGCTTCTCCCT GACCGACTACTACTACATGACTTGGGTCCGCCAGGCTCCCGGA AAAGGACTGGAGTGGGTCGGATTATCGACCCCCGACGACGAC CCCTACTACGCCACCTGGGCCAAGGGCCGGTTACCATCTCCCG GGACAACTCCAAGAACCCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTG AGGGCCGAAGATACAGCTGTGTACTATTGCGCTGGCGGCGACC ACAACTCCGGCTGGGGCCTGGATATCTGGGGACAGGGAACAC TCGTGACAGTGTCCAGC
SEQ ID NO: 118	HC連接子	GSGGGSGGGSGGG
SEQ ID NO: 119	DNA HC連接子	GGCTCTGGCGCGGAGGATCTGGCGGAGGCGGTAGCGGAGG CGGA
SEQ ID NO: 120	重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGIVPWMGEAVYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARSSSTYGIHAFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCGS GGGGSGGGSGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTD

		YYMTWVRQAPGKGLEWVGFDPPDDPPYATWAKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGGQTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 121	DNA重鏈	CAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCC GGCTCCTCCGTGAAAGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCGGCACCT TCTCCAGCTACGCCATCTCCTGGGTCCGACAGGCCCCAGGCCA GGGCTGGAGTGGATGGGCGGCATCGTGCCTTGGATGGGCGA GGCCGTGTACGCCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATCACC GCCGACGAGTCCACCTCCACCGCCTACATGGAAGTGTCTCCCT GAGGAGCGAGGACACCGCGTGTACTACTGCGCCCGGTCTCTC TCCACCTACGGCATCCACGCCTTCGACTACTGGGGCCAGGGCA CCCTGGTCACCGTGTCTCCGCCTCCACCAAGGGACCCTCCGTG TTCCCTCTGGCCCCCTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGCACCGC CGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTG ACCGTGTCTGGAAGTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCACA CCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCT CCGTCGTGACCGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTAC ATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACA AGCGGGTGGAACCCAAGTCTGCGGCTCTGGCGGCGGAGGAT CTGGCGGAGGCGGTAGCGGAGGCGGAGAAGTCCAGCTGGTG GAATCCGGCGGAGGCCTGGTGCAGCCAGGCGGATCCCTGAGG CTGTCTTGACCGCCTCCGGCTTCTCCCTGACCGACTACTACTAC ATGACTTGGGTCCGCCAGGCTCCCGGAAAAGGACTGGAGTGG GTCGGATTATCGACCCCGACGACGACCCCTACTACGCCACCTG GGCAAGGGCGCGTTTACCATCTCCCGGGAACACTCCAAGAAC ACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGGGCCGAAGATACAG CTGTGTACTATTGCGCTGGCGGCGACCAACTCCGGCTGGGG CCTGGATATCTGGGGACAGGGAACACTCGTGACAGTGTCCAGC GCCAGACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTCCAG CAAGTCTACCTCTGGCGGCACCGCTGCTCTGGGTGCTCTGGTG AAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGGAAGTCTG GCGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCA GTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTGGTGACAGTGCCTT CCTCCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCAC AAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAGCCTAAG TCATGC
SEQ ID NO: 14 (組合的)	1 LCDR1	RASQSISNFLN
SEQ ID NO: 15 (組合的)	1 LCDR2	AASNLQS
SEQ ID NO: 16 (組合的)	1 LCDR3	QQYDDFPMT
SEQ ID NO: 14 (卡巴特)	1 LCDR1	RASQSISNFLN
SEQ ID NO: 15 (卡巴特)	1 LCDR2	AASNLQS
SEQ ID NO: 16 (卡巴特)	1 LCDR3	QQYDDFPMT
SEQ ID NO: 17 (喬西亞)	1 LCDR1	SQSISNF
SEQ ID NO: 18 (喬西亞)	1 LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 19 (喬西亞)	1 LCDR3	YDDFPM
SEQ ID NO: 20 (IMGT)	1 LCDR1	QSISNF
SEQ ID NO: 18 (IMGT)	1 LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 16 (IMGT)	1 LCDR3	QQYDDFPMT
SEQ ID NO: 21	1 VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISNFLNHWYQQKPKAPK LLIYAASNLSQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYD DFPMTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 122	1 DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCAGCCTGTCCGCCTCCGT GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCCTCCAGTCTATC TCCAACCTCCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGAAGGCC CTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCCAACCTGCAGTCCGGCGT

		GCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCC TGACCATCTCCAGCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTAC TGCCAGCAGTACGACGACTTCCCCATGACCTTCGGCCAGGGCA CCAAAGTGAAATCAAG
SEQ ID NO: 105 (組合的)	2 LCDR1	QASEIIHSWLA
SEQ ID NO: 106 (組合的)	2 LCDR2	LASTLAS
SEQ ID NO: 107 (組合的)	2 LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 105 (卡巴特)	2 LCDR1	QASEIIHSWLA
SEQ ID NO: 106 (卡巴特)	2 LCDR2	LASTLAS
SEQ ID NO: 107 (卡巴特)	2 LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 108 (喬西亞)	2 LCDR1	SEIIHSW
SEQ ID NO: 109 (喬西亞)	2 LCDR2	LAS
SEQ ID NO: 110 (喬西亞)	2 LCDR3	VYLASTNGA
SEQ ID NO: 111 (IMGT)	2 LCDR1	EIIHSW
SEQ ID NO: 109 (IMGT)	2 LCDR2	LAS
SEQ ID NO: 107 (IMGT)	2 LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 112	2 VL	EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKL LIYLASTLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISLQPDDEFATYYCQNVYLA STNGANFGQGTKLTVLK
SEQ ID NO: 123	2 DNA VL	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCTAGCACCTGAGCGCCAGCG TGGGAGATCGCGTGATCATCACATGCCAGGCCTCCGAGATCAT CCACAGCTGGCTGGCTTGGTATCAGCAGAAACCTGGAAAAGCT CCCAAGCTCCTGATCTATCTGGCCAGCACCTGGCCTCTGGCGT GCCCAGCAGATTACGCGGCTCCGGCAGCGGCGCTGAGTTTACC CTGACAATCAGCTCCCTGCAGCCTGACGATTTTGCTACCTACTA TTGTGAGAACGTGTACCTGGCCTCCACCAACGCGGCCAACTTTG GCCAGGGAACAAAGCTGACCGTGCTGAAG
SEQ ID NO: 118	LC連接子	GSGGGGSGGGGSGGG
SEQ ID NO: 124	DNA LC連接子	GGCTCCGGCGGAGGCGGATCTGGTGGCGGAGGATCTGGCGGT GGC
SEQ ID NO: 125	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQISNFLNWIYQQKPGKAPK LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYD DFPMTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGSGGGGSGGGGSG GGEIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKA PKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISLQPDDEFATYYCQNV YLASTNGANFGQGTKLTVLKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 126	DNA輕鏈	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCAGCCTGTCCGCTCCGT GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCCGGCCTCCAGTCTATC TCCAACCTCCTGAAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCC CTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCCAACCTGCAGTCCGGCGT GCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCC TGACCATCTCCAGCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTAC TGCCAGCAGTACGACGACTTCCCCATGACCTTCGGCCAGGGCA CCAAAGTGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTT CATCTTCCACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCT CCGTCTGTGCTGCTGAACAACCTTACCCTCGCGAGGCCAAA GTGCAAGTGAAAGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACTCC CAGGAATCCGTACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACT CCCTGTCTCCACCTGACCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAG CACAAAGTGACGCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGGCGAGTGTGGCTCCGG CGGAGGCGGATCTGGTGGCGGAGGATCTGGCGGTGGCGAGA TCGTGATGACCCAGTCCCCTAGCACCTGAGCGCCAGCGTGGG

		AGATCGCGTGATCATCACATGCCAGGCCTCCGAGATCATCCAC AGCTGGCTGGCTTGGTATCAGCAGAAACCTGGAAAAGCTCCCA AGTCCTGATCTATCTGGCCAGCACCTGGCCTCTGGCGTGCCC AGCAGATTGAGCGGCTCCGGCAGCGGCGCTGAGTTTACCCTGA CAATCAGCTCCCTGCAGCCTGACGATTTTGCTACCTACTATTGT CAGAACGTGTACCTGGCCTCCACCAACGGCGCCAACTTTGGCC AGGGAACAAAGCTGACCGTGCTGAAGCGTACGGTGGCCGCTC CCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAG CGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCC CGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAG AGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAA GGAATCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCTGAGCAAG GCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACC CACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGG GCGAGTGC
NVS12		
SEQ ID NO: 25 (組合的)	1 HCDR1	GFTFSSYAMS
SEQ ID NO: 26 (組合的)	1 HCDR2	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 27 (組合的)	1 HCDR3	QRYYFGEFDL
SEQ ID NO:28 (卡巴特)	1 HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 26 (卡巴特)	1 HCDR2	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 27 (卡巴特)	1 HCDR3	QRYYFGEFDL
SEQ ID NO: 29 (喬西亞)	1 HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 30 (喬西亞)	1 HCDR2	SGSGGS
SEQ ID NO: 27 (喬西亞)	1 HCDR3	QRYYFGEFDL
SEQ ID NO: 31 (IMGT)	1 HCDR1	GFTFSSYA
SEQ ID NO: 32 (IMGT)	1 HCDR2	ISGSGGST
SEQ ID NO: 33 (IMGT)	1 HCDR3	ARQRYYFGEFDL
SEQ ID NO: 34	1 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWWSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARQRYYFGEFDLWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 127	1 DNA VH	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCT GGCGGCTCCCTGAGGCTGTCTTGTCGCCCTCCGGCTTCACCTT CTCCAGCTACGCCATGTCCTGGGTCCGACAGGCCCTGGCAAG GGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCTCCGGCTCCGGCGGCTCTA CCTACTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCG GGACAACTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTG AGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGACAGCGG TACTACTTCGCGGAGTTCGACCTGTGGGGCCAGGGCACCTGG TCACCGTGTCTCC
SEQ ID NO: 92 (組合的)	2 HCDR1	GFSLTDYYMT
SEQ ID NO: 93 (組合的)	2 HCDR2	FIDPDDDPYYATWAKG
SEQ ID NO: 94 (組合的)	2 HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 95 (卡巴特)	2 HCDR1	DYYMT
SEQ ID NO: 93 (卡巴特)	2 HCDR2	FIDPDDDPYYATWAKG
SEQ ID NO: 94 (卡巴特)	2 HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 96 (喬西亞)	2 HCDR1	GFSLTDYY
SEQ ID NO: 97 (喬西亞)	2 HCDR2	DPDDD
SEQ ID NO: 94 (喬西亞)	2 HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 98 (IMGT)	2 HCDR1	GFSLTDYY
SEQ ID NO: 99 (IMGT)	2 HCDR2	IDPDDDP
SEQ ID NO: 100 (IMGT)	2 HCDR3	AGGDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 101	2 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYMTWVRQAPGK GLEWVGFIIDPDDDPYYATWAKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 128	2 DNA VH	GAAGTCCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTCCAGCCA GGCGGATCCCTGAGGCTCAGCTGACCCGCTCTGGCTTCTCCCT GACCGACTACTACTATATGACTTGGGTCCGCCAGGCTCCCGGA AAAGGACTCGAATGGGTTCGATTATCGACCCCGACGACGACC CTTACTACGCCACCTGGGCCAAGGGCAGATTACCATCAGCAG AGACAACAGCAAGAACACACTCTATCTCCAGATGAACTCCCTG AGGGCTGAAGATACCGCTGTCTATTACTGCGCTGGCGGCGACC ACAACCTCCGGCTGGGGCCTGGATATCTGGGGACAGGGCACAC TCGTGACAGTGTCCAGC
SEQ ID NO: 118	HC連接子	GSGGGSGGGGSGGG
SEQ ID NO: 129	DNA HC連接子	GGCTCTGGCGGAGGCGGAAGTGGTGGCGGAGGATCAGGCGG CGGA
SEQ ID NO: 130	重鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARQRYFGEFDLWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHFFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCGSG GGGSGGGGSGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLT DY YMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDPYATWAKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGLTVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSKVHFFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 131	DNA重鏈	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCT GGCGGCTCCCTGAGGCTGTCTTGCGCCCTCCGGCTTACCTT CTCCAGCTACGCCATGTCCTGGGTCCGACAGGCCCTGGCAAG GGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCTCCGGCTCCGGCGGCTCTA CCTACTACGCCACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCG GGACAACTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTG AGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGACAGCGG TACTACTTCGCGGAGTTCGACCTGTGGGGCCAGGGCACCTGG TCACCGTGTCTCCGCTCCACCAAGGGACCCTCCGTGTTCCCT CTGGCCCCCTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGCACCGCCGCTCT GGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTG TCCTGGAACCTCCGGCGCTCTGACCTCCGGCGTGACACCTTCCC TGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTGCG TGACCGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGTGGAACAAGCGG GTGGAACCAAGTCTGCGGCTCTGGCGGAGGCGGAAGTGGT GGCGGAGGATCAGGCGGCGGAGAAGTCCAGCTGGTGGAAAG CGGCGGAGGCCTGGTCCAGCCAGGCGGATCCCTGAGGCTCAG CTGCACCGCCTCTGGCTTCTCCCTGACCGACTACTACTATATGA CTTGGGTCCGCCAGGCTCCCGAAAAAGGACTCGAATGGGTGCG GATTCATCGACCCCGACGACGACCCCTTACTACGCCACCTGGGCC AAGGGCAGATTACCATCAGCAGAGACAACAGCAAGAACAACA CTCTATCTCCAGATGAACTCCCTGAGGGCTGAAGATACCGCTGT CTATTACTGCGCTGGCGGCGACCACAACCTCCGGCTGGGGCCTG GATATCTGGGGACAGGGCACACTCGTGACAGTGTCAGCGCCA GCACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTCCAGCAAG TCTACCTCTGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCTGGTGAAGG ACTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGGAACCTCTGGCGCC CTGACCTCCGGCGTGACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTC CGGCTGTACTCCCTGTCTCCGTGGTGACAGTGCTTCTCTCCA GCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCC TTCCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAGCCTAAGTCATGC
SEQ ID NO: 38 (組合的)	1 LCDR1	SGDKLGDKYAY
SEQ ID NO: 39 (組合的)	1 LCDR2	QDSKRPS
SEQ ID NO: 40 (組合的)	1 LCDR3	QAFDYLYSLGV

SEQ ID NO: 38 (卡巴特)	1 LCDR1	SGDKLGDKYAY
SEQ ID NO: 39 (卡巴特)	1 LCDR2	QDSKRPS
SEQ ID NO: 40 (卡巴特)	1 LCDR3	QAFDYLYSLGV
SEQ ID NO: 41 (喬西亞)	1 LCDR1	DKLGDKY
SEQ ID NO: 42 (喬西亞)	1 LCDR2	QDS
SEQ ID NO: 43 (喬西亞)	1 LCDR3	FDYLYSLG
SEQ ID NO: 44 (IMGT)	1 LCDR1	KLGDY
SEQ ID NO: 42 (IMGT)	1 LCDR2	QDS
SEQ ID NO: 40 (IMGT)	1 LCDR3	QAFDYLYSLGV
SEQ ID NO: 45	1 VL	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVL VIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQAFD YLYSLGVFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 132	1 DNA VL	TCCTACGAGCTGACCCAGCCTCCCTCCGTGTCCGTGTCTCCTGG CCAGACCGCCTCCATCACCTGTTCCGGCGACAAGCTGGGCGAT AAGTACGCCTACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCTG TGCTGGTCATCTACCAGGACTCCAAGCGGCCCTCCGGCATCCCT GAGCGGTTCTCCGGCTCCAACCTCCGGCAACACCGCCACCTGA CCATCTCCGGCACCCAGGCCGAGGACGAGGCCGACTACTACTG CCAGGCCTTCGACTACCTGTACTCCCTGGGCGTGTTCGGCGGA GGCACCAAGCTGACCGTGCTG
SEQ ID NO: 105 (組合的)	2 LCDR1	QASEIIHSWLA
SEQ ID NO: 106 (組合的)	2 LCDR2	LASTLAS
SEQ ID NO: 107 (組合的)	2 LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 105 (卡巴特)	2 LCDR1	QASEIIHSWLA
SEQ ID NO: 106 (卡巴特)	2 LCDR2	LASTLAS
SEQ ID NO: 107 (卡巴特)	2 LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 108 (喬西亞)	2 LCDR1	SEIIHSW
SEQ ID NO: 109 (喬西亞)	2 LCDR2	LAS
SEQ ID NO: 110 (喬西亞)	2 LCDR3	VYLASTNGA
SEQ ID NO: 111 (IMGT)	2 LCDR1	EIIHSW
SEQ ID NO: 109 (IMGT)	2 LCDR2	LAS
SEQ ID NO: 107 (IMGT)	2 LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 112	2 VL	EIVMTQSPSTLSASVGDRIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKL LIYLASTLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISLQPDFFATYYCQNVYLA STNGANFGQGTKLTVLK
SEQ ID NO: 133	2 DNA VL	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCTTCCACCCTGTCCGCCTCCGT GGGCGACAGAGTGATCATCACCTGTGAGGCCTCCGAGATCATC CACAGCTGGCTGGCTTGGTATCAGCAGAAACCTGGCAAGGCC CTAAGCTGCTGATCTACCTGGCCTCCACCCTGGCCTCCGGCGTG CCCTCCAGATTCTCCGGATCTGGCTCTGGCGCCGAGTTCACCT GACAATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACT GTCAGAACGTGTACCTGGCCAGACCAACGGCGCCAACCTCGG CCAGGGCACAAAAGTACAGTGCTGAAG
SEQ ID NO: 118	LC連接子	SGSGGGSGGGSGGG
SEQ ID NO: 134	DNA LC連接子	GGCTCTGGTGGCGGAGGATCTGGCGGAGGCGGTTCTGGCGGC GGA
SEQ ID NO: 135	輕鏈	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVL VIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQAFD YLYSLGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI SDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKNYAASSYLSLT PEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSGSGGGGSGGGGS GGGEIVMTQSPSTLSASVGDRIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGK APKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISLQPDFFATYYCQNV YLASTNGANFGQGTKLTVLKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 136	DNA輕鏈	TCCTACGAGCTGACCCAGCCTCCCTCCGTGTCCGTGTCTCCTGG CCAGACCGCCTCCATCACCTGTTCCGGCGACAAGCTGGGCGAT AAGTACGCCTACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCTG TGCTGGTCATCTACCAGGACTCCAAGCGGCCCTCCGGCATCCCT GAGCGTTCTCCGGCTCCAACCTCCGGCAACACCGCCACCCTGA CCATCTCCGGCACCCAGGCCGAGGACGAGGCCGACTACTACTG CCAGGCCTTCGACTACCTGTACTCCCTGGGCGTGTTCCGGCGGA GGCACCAAGCTGACCGTGCTGGGCCAGCCCAAGGCCGCTCCTT CCGTGACCCTGTTCCCTCCATCCTCCGAGGAACTGCAGGCCAAC AAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCTCCGACTTCTACCCTGGCGC CGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCTCTCCTGTGAAGGCC GGCGTGAAACCAACCACCCCTTCCAAGCAGTCCAACAACAAAT ACGCCGCCTCCTCTACCTGTCCCTGACCCCTGAGCAGTGGAAG TCCCACCGGTCTACAGCTGCCAAGTCACACACGAGGGCTCCA CCGTGGAAGAACCGTGGCCCTACCGAGTGCTCCGGCTCTGG TGGCGGAGGATCTGGCGGAGGCGGTTCTGGCGGCGGAGAGA TCGTGATGACCCAGTCCCTTCCACCCTGTCCGCCTCCGTGGGC GACAGAGTGATCATCACCTGTCAGGCCTCCGAGATCATCCACA GCTGGCTGGCTTGGTATCAGCAGAAACCTGGCAAGGCCCTAA GCTGCTGATCTACCTGGCCTCCACCCTGGCCTCCGGCGTGCCCT CCAGATTCTCCGGATCTGGCTCTGGCGCCGAGTTCACCCTGACA ATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTGTCA GAACGTGTACCTGGCCAGCACCAACGGCGCCAATTCGGCCAG GGCACAAAAGTACAGTGCTGAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCA GCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGG CACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTACCCCCGG GAGGCCAAGGTGACAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGA CTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCC GACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCAC CAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGC GAGTGC
NVS13		
SEQ ID NO: 25 (組合的)	1 HCDR1	GFTFSSYAMS
SEQ ID NO: 49 (組合的)	1 HCDR2	GLGHVGYTTYTDSVKG
SEQ ID NO: 50 (組合的)	1 HCDR3	DYLDFGYYFDV
SEQ ID NO: 28 (卡巴特)	1 HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 49 (卡巴特)	1 HCDR2	GLGHVGYTTYTDSVKG
SEQ ID NO: 50 (卡巴特)	1 HCDR3	DYLDFGYYFDV
SEQ ID NO: 29 (喬西亞)	1 HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 51 (喬西亞)	1 HCDR2	GHVGY
SEQ ID NO: 50 (喬西亞)	1 HCDR3	DYLDFGYYFDV
SEQ ID NO: 31 (IMGT)	1 HCDR1	GFTFSSYA
SEQ ID NO: 52 (IMGT)	1 HCDR2	LGHVGYT
SEQ ID NO: 53 (IMGT)	1 HCDR3	ARDYLDFGYYFDV
SEQ ID NO: 54	1 VH	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSGLGHVGYTTYTDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDYLDYLDYFDVWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 137	1 DNA VH	CAAGTGACGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCT GGCGGCTCCCTGAGGCTGTCTTGTCGCCCTCCGGCTTCACCTT CTCCAGCTACGCCATGTCCTGGGTCCGACAGGCCCTGGCAAG GGCCTGGAGTGGGTGTCCGGCCTGGGCCACGTGGGCTACACC ACCTACACCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGGG ACAACCTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAG GGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACCTG GACTTCGGCTACTACTTCGACGTGTGGGGCCAGGGCACCTGG TCACCGTGTCTCC

SEQ ID NO: 92 (組合的)	2 HCDR1	GFSLTDYYMT
SEQ ID NO: 93 (組合的)	2 HCDR2	FIDPDDDPYYATWAKG
SEQ ID NO: 94 (組合的)	2 HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 95 (卡巴特)	2 HCDR1	DYYMT
SEQ ID NO: 93 (卡巴特)	2 HCDR2	FIDPDDDPYYATWAKG
SEQ ID NO: 94 (卡巴特)	2 HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 96 (喬西亞)	2 HCDR1	GFSLTDYY
SEQ ID NO: 97 (喬西亞)	2 HCDR2	DPDDD
SEQ ID NO: 94 (喬西亞)	2 HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 98 (IMGT)	2 HCDR1	GFSLTDYY
SEQ ID NO: 99 (IMGT)	2 HCDR2	IDPDDDP
SEQ ID NO: 100 (IMGT)	2 HCDR3	AGGDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 101	2 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYMTWVRQAPGK GLEWVGFIDPDDDPYYATWAKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 138	2 DNA VH	GAAGTGCAGCTGGTCGAGAGTGGCGGAGGCCTCGTCCAGCCA GGCGGATCCCTGAGGCTCAGCTGCACCGCCTCTGGCTTCTCCCT GACCGACTACTACTATATGACTTGGGTCCGCCAGGCTCCCGGA AAAGGACTCGAATGGGTCCGATTTCATCGACCCCCGACGACGACC CCTACTACGCCACCTGGGCCAAGGGCAGATTACCATCAGCAG AGACAACAGCAAGAACACACTCTATCTCCAGATGAACTCCCTG AGGGCTGAAGATACCGCTGTCTATTACTGCGCTGGCGGCGACC ACAACCTCCGGCTGGGGCCTGGATATCTGGGGACAGGGCACAC TCGTGACAGTGTCCAGC
SEQ ID NO: 118	HC連接子	SGSGGGSGGGSGGG
SEQ ID NO: 139	DNA HC連接子	GGCTCTGGCGGAGGCGGAAGTGGTGGCGGAGGATCAGGCGG CGGA
SEQ ID NO: 140	重鏈	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK LEWVSGLVHGYTTYTDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDYDFGYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSKVHFTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCGSG GGSGGGGGSGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDY YYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWAKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGLTVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSG ALTSKVHFTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 141	DNA重鏈	CAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCT GGCGGCTCCCTGAGGCTGTCTGTGCCGCCTCCGGCTTACCTT CTCCAGCTACGCCATGTCCTGGGTCCGACAGGCCCTGGCAAG GGCCTGGAGTGGGTGTCCGGCCTGGGCCACGTGGGCTACACC ACCTACACCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCGGG ACAACCTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAG GGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACCTG GACTTCGGCTACTACTTCGACGTGTGGGGCCAGGGCACCTGG TCACCGTGTCTCCGCTCCACCAAGGGACCCTCCGTGTTCCCT CTGGCCCCCTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGCACCGCCGCTCT GGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTG TCCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTCCC TGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTGCG TGACCGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGACAAAGCGG GTGGAACCCAAGTCTGCGGCTCTGGCGGAGGCGGAAGTGGT GGCGGAGGATCAGGCGGCGGAGAAAGTGCAGCTGGTCGAGAG TGCGGAGGCGCTCGTCCAGCCAGGCGGATCCCTGAGGCTCAG CTGCACCGCCTCTGGCTTCTCCCTGACCGACTACTACTATATGA

		CTTGGGTCCGCCAGGCTCCCGGAAAAGGACTCGAATGGGTCTG GATTCATCGACCCCGACGACGACCCCTACTACGCCACCTGGGC CAAGGGCAGATTCAACATCAGCAGAGACAACAGCAAGAACAC ACTCTATCTCCAGATGAACTCCCTGAGGGCTGAAGATACCGCT GTCTATTACTGCGCTGGCGGCGACCACAACCTCCGGCTGGGGCC TGGATATCTGGGGACAGGGGCACACTCGTGACAGTGTCCAGCGC CAGACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTCCAGCA AGTCTACCTCTGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTGAA GGACTIONTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGGAACCTCTGGC GCCCTGACCTCCGGCGTGACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTC CTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTGGTGACAGTGCCTTCT CCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAA GCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAGCCTAAGTC ATGC
SEQ ID NO: 58 (組合的)	1 LCDR1	SGDKIGKKYVH
SEQ ID NO: 59 (組合的)	1 LCDR2	DDSDRPS
SEQ ID NO: 60 (組合的)	1 LCDR3	QAWDMQSVV
SEQ ID NO: 58 (卡巴特)	1 LCDR1	SGDKIGKKYVH
SEQ ID NO: 59 (卡巴特)	1 LCDR2	DDSDRPS
SEQ ID NO: 60 (卡巴特)	1 LCDR3	QAWDMQSVV
SEQ ID NO: 61 (喬西亞)	1 LCDR1	DKIGKKY
SEQ ID NO: 62 (喬西亞)	1 LCDR2	DDS
SEQ ID NO: 63 (喬西亞)	1 LCDR3	WDMQSV
SEQ ID NO: 64 (IMGT)	1 LCDR1	KIGKKY
SEQ ID NO: 62 (IMGT)	1 LCDR2	DDS
SEQ ID NO: 60 (IMGT)	1 LCDR3	QAWDMQSVV
SEQ ID NO: 65	1 VL	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDKIGKKYVHWYQQKPGQAPVL VIYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRAGQDEADYYCQAW DMQSVVFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 142	1 DNA VL	TCCTACGAGCTGACCCAGCCCCTGTCCGTGTCTGTGGCTCTGGG CCAGACCGCCCGGATCACCTGTTCCGGCGACAAGATCGGCAAG AAATACGTGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCTGT TGCTGGTCATCTACGACGACTCCGACCGGCCCTCCGGCATCCCT GAGCGGTTCTCCGGCTCCAACCTCCGGCAACACCGCCACCCTGA CCATCTCCAGAGCCCAGGCCGGCGACGAGGCCGACTACTACTG CCAGGCCTGGGACATGCAGTCCGTGGTGTTCGGCGGAGGCAC CAAGCTGACCGTGCTG
SEQ ID NO: 105 (組合的)	2 LCDR1	QASEIIHSWLA
SEQ ID NO: 106 (組合的)	2 LCDR2	LASTLAS
SEQ ID NO: 107 (組合的)	2 LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 105 (卡巴特)	2 LCDR1	QASEIIHSWLA
SEQ ID NO: 106 (卡巴特)	2 LCDR2	LASTLAS
SEQ ID NO: 107 (卡巴特)	2 LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 108 (喬西亞)	2 LCDR1	SEIIHSW
SEQ ID NO: 109 (喬西亞)	2 LCDR2	LAS
SEQ ID NO: 110 (喬西亞)	2 LCDR3	VYLASTNGA
SEQ ID NO: 111 (IMGT)	2 LCDR1	EIIHSW
SEQ ID NO: 109 (IMGT)	2 LCDR2	LAS
SEQ ID NO: 107 (IMGT)	2 LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 112	2 VL	EIVMTQSPSTLSASVGDRIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKL LIYLASTLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISLQPDFFATYYCQNVYLA STNGANFGQGTKLTVLK
SEQ ID NO: 143	2 DNA VL	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCTTCCACCCTGTCCGCCTCCGT GGGCGACAGAGTGATCATCACCTGTGAGGCCTCCGAGATCATC CACAGCTGGCTGGCTTGGTATCAGCAGAAACCTGGCAAGGCTC CCAAGCTGCTGATCTACCTGGCCTCCACCCTGGCCTCCGGCGTG

		CCCTCCAGATTCTCCGGATCTGGCTCTGGCGCCGAGTTCACCT GACAATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACT GTCAGAACGTGTACCTGGCCAGACCAACGGCGCCAATTCGG CCAGGGCACAAAAGTACAGTGCTGAAG
SEQ ID NO: 118	LC連接子	GSGGGGSGGGGSGGG
SEQ ID NO: 144	DNA LC連接子	GGCTCTGGTGGCGGAGGATCTGGCGGAGGCGGTTCTGGCGGC GGA
SEQ ID NO: 145	輕鏈	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDKIGKKYVHWYQQKPGQAPVL VIYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRAGDEADYYCQAW DMQSVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI SDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLT PEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSGSGGGGSGGGGS GGGEIVMTQSPSTLSASVGDRIITCQASEIIHWSLAWYQQKPGK APKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISLQPDFFATYYCQN VYLASTNGANFGQGTCLTVLKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 146	DNA輕鏈	TCCTACGAGCTGACCCAGCCCCTGTCCGTGTCTGTGGCTCTGGG CCAGACCGCCCGGATCACCTGTTCCGGCGACAAGATCGGCAAG AAATACGTGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCTGT TGCTGGTCATCTACGACGACTCCGACCGGCCCTCCGGCATCCCT GAGCGGTTCTCCGGCTCCAAGTCCGGAACACCGCCACCTGA CCATCTCCAGAGCCAGCGCGGACGAGGCCGACTACTACTG CCAGGCCTGGGACATGCAGTCCGTGGTGTTCGGCGGAGGCAC CAAGCTGACCGTGCTGGGCCAGCCCAAGGCCGCTCCCTCTGTG ACCCTGTTCCCTCCATCCTCCGAGGAAGTGCAGGCCAACAAAGG CCACCCTCGTGTGCCTGATCTCCGACTTCTACCCTGGCGCCGTG ACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCTCTCCTGTGAAGGCCGGC GTGGAACCAACACCCCTTCCAAGCAGTCCAACAACAATAACG CCGCCTCCTCTACCTGTCCCTGACCCCTGAGCAGTGGAAGTCC CACCGGTCCTACAGCTGCCAAGTCACACACGAGGGCTCCACCG TGGAAAAGACCGTGGCCCCTACCGAGTGCTCCGGCTCTGGTGG CGGAGGATCTGGCGGAGGCGGTTCTGGCGGCGGAGAGATCGT GATGACCCAGTCCCTTCCACCCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACA GAGTGATCATCACCTGTCAGGCCTCCGAGATCATCCACAGCTG GCTGGCTTGGTATCAGCAGAAACCTGGCAAGGCTCCCAAGCTG CTGATCTACCTGGCCTCCACCCTGGCCTCCGGCGTGCCCTCCAG ATTCTCCGGATCTGGCTCTGGCGCCGAGTTCACCCTGACAATCA GCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTGTGAGAAC GTGTACCTGGCCAGCACCAACGGCGCCAATTCGGCCAGGGCA CAAAAGTACAGTGCTGAAGCGTACGGTGGCCGCTCCAGCGT GTTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACC GCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCCCGGGAGG CCAAGGTGAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCA ACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCA CCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTA CGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACAGGG CCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
NVS14		
SEQ ID NO: 69 (組合的)	1 HCDR1	GFTFSRYWIS
SEQ ID NO: 70 (組合的)	1 HCDR2	YIDSTGTFINYADSVKG
SEQ ID NO: 71 (組合的)	1 HCDR3	GGSLFDY
SEQ ID NO: 72 (卡巴特)	1 HCDR1	RYWIS
SEQ ID NO: 70 (卡巴特)	1 HCDR2	YIDSTGTFINYADSVKG
SEQ ID NO: 71 (卡巴特)	1 HCDR3	GGSLFDY
SEQ ID NO: 73 (喬西亞)	1 HCDR1	GFTFSRY
SEQ ID NO: 74 (喬西亞)	1 HCDR2	DSTGTF

SEQ ID NO: 71 (喬西亞)	1 HCDR3	GGSLFDY
SEQ ID NO: 75 (IMGT)	1 HCDR1	GFTFSRYW
SEQ ID NO: 76 (IMGT)	1 HCDR2	IDSTGTFI
SEQ ID NO: 77 (IMGT)	1 HCDR3	ARGGSLFDY
SEQ ID NO: 78	1 VH	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWISWVRQAPGKG LEWVSYIDSTGTFINYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGGSLFDYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 147	1 DNA VH	CAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCT GGCGGCTCCCTGAGGCTGTCTTGCGCCCTCCGGCTTCACCTT CTCCCGGTACTGGATCTCCTGGGTCCGACAGGCCCTGGCAAG GGCCTGGAGTGGGTGTCTACATCGACTCCACCGGCACCTTCA TCAACTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCG GGACAACTCCAAGAACACCCTGTACTGTCAGATGAACTCCCTG AGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGGCGGC AGCCTGTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTGT CCTCC
SEQ ID NO: 92 (組合的)	2 HCDR1	GFSLTDYYMT
SEQ ID NO: 93 (組合的)	2 HCDR2	FIDPDDDPYYATWAKG
SEQ ID NO: 94 (組合的)	2 HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 95 (卡巴特)	2 HCDR1	DYYMT
SEQ ID NO: 93 (卡巴特)	2 HCDR2	FIDPDDDPYYATWAKG
SEQ ID NO: 94 (卡巴特)	2 HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 96 (喬西亞)	2 HCDR1	GFSLTDYY
SEQ ID NO: 97 (喬西亞)	2 HCDR2	DPDDD
SEQ ID NO: 94 (喬西亞)	2 HCDR3	GDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 98 (IMGT)	2 HCDR1	GFSLTDYYY
SEQ ID NO: 99 (IMGT)	2 HCDR2	IDPDDDP
SEQ ID NO: 100 (IMGT)	2 HCDR3	AGGDHNSGWGLDI
SEQ ID NO: 101	2 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYMTWVRQAPGK GLEWVGFIDPDDDPYYATWAKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 148	2 DNA VH	GAAGTGCAGCTGGTCGAGAGTGGCGGAGGCCTCGTCCAGCCA GGCGGATCCCTGAGGCTCAGCTGCACCGCCTCTGGCTTCTCCCT GACCGACTACTACTACATGACATGGGTCCGCCAGGCTCCCGGA AAAGGACTCGAATGGGTGCGATTATCGACCCGACGACGACC CCTACTACGCCACCTGGGCCAAGGGCAGATTACCATCTCCAG AGATAACAGCAAGAACACACTCTATCTCCAGATGAACTCCCTG AGGGCTGAAGATACCGCTGTCTATTACTGCGCTGGCGGCGACC ACAACTCCGGCTGGGGCCTGGATATCTGGGGACAGGGAACAC TCGTGACAGTGTCCAGC
SEQ ID NO: 118	HC連接子	GSGGGSGGGSGGG
SEQ ID NO: 139	DNA HC連接子	GGCTCTGGCGGAGGCGGAAGTGGTGGCGGAGGATCAGGCGG CGGA
SEQ ID NO: 149	重鏈	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWISWVRQAPGKG LEWVSYIDSTGTFINYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGGSLFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SVVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCGSGGGSG GGGSGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYMTW VRQAPGKGLEWVGFIDPDDDPYYATWAKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGLTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSC
SEQ ID NO: 150	DNA重鏈	CAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCT GGCGGCTCCCTGAGGCTGTCTTGCGCCCTCCGGCTTCACCTT CTCCCGGTACTGGATCTCCTGGGTCCGACAGGCCCTGGCAAG

		GGCCTGGAGTGGGTGTCCTACATCGACTCCACCGGCACCTTCA TCAACTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCG GGACAACTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTG AGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGGCGGC AGCCTGTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTCACCGTGT CCTCCGCTCCACCAAGGGACCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCT TCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGCACCGCCGCTCTGGGCTGCC TGGTCAAGGACTACTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAA CTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGACACCTTCCCTGCCGTGC TGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTCTGACCGTG CCCTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAA CCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTGGAAACC AAGTCTGCGGCTCTGGCGGAGGCGGAAGTGGTGGCGGAGG ATCAGGCGGCGGAGAAGTGCAGCTGGTCGAGAGTGGCGGAG GCCTCGTCCAGCCAGGCGGATCCCTGAGGCTCAGCTGCACCGC CTCTGGCTTCTCCCTGACCGACTACTACTACATGACATGGGTCC GCCAGGCTCCCGAAAAGGACTCGAATGGGTCGGATTATCG ACCCGACGACGACCCCTACTACGCCACCTGGGCCAAGGGCAG ATTACCATCTCCAGAGATAACAGCAAGAACACACTCTATCTCC AGATGAACTCCCTGAGGGCTGAAGATACCGCTGTCTATTACTG CGCTGGCGGCGACCACTCCGGCTGGGGCCTGGATATCTG GGGACAGGGAACACTCGTGACAGTGTCCAGCGCCAGCACAA GGGCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCTTCCAGCAAGTCTACCT CTGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTT CCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACC TCCGGCGTGACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCT GTAATCCCTGTCTCCGTGGTGACAGTGCTTCTCCAGCCTGG GCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCTTCCAAC ACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAGCCTAAGTCATGC
SEQ ID NO: 82 (組合的)	1 LCDR1	RASQGIISYL
SEQ ID NO: 83 (組合的)	1 LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 84 (組合的)	1 LCDR3	QQYDALNT
SEQ ID NO: 82 (卡巴特)	1 LCDR1	RASQGIISYL
SEQ ID NO: 83 (卡巴特)	1 LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 84 (卡巴特)	1 LCDR3	QQYDALNT
SEQ ID NO: 85 (喬西亞)	1 LCDR1	SQGIISY
SEQ ID NO: 18 (喬西亞)	1 LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 86 (喬西亞)	1 LCDR3	YDALN
SEQ ID NO: 87 (IMGT)	1 LCDR1	QGIISY
SEQ ID NO: 18 (IMGT)	1 LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 84 (IMGT)	1 LCDR3	QQYDALNT
SEQ ID NO: 88	1 VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGIISYLGWYQQKPKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDA LNTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 151	1 DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCAGCCTGTCCGCCTCCGT GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGGGCTCCAGGGCATC ATCTCCTACCTGGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCC CTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCCCTGCAGTCCGGCGT GCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTACCCC TGACCATCTCCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTAC TGCCAGCAGTACGACGCCCTGAACACCTTCGGCCAGGGCACCA AAGTGGAATCAAG
SEQ ID NO: 105 (組合的)	2 LCDR1	QASEIIHSWLA
SEQ ID NO: 106 (組合的)	2 LCDR2	LASTLAS
SEQ ID NO: 107 (組合的)	2 LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 105 (卡巴特)	2 LCDR1	QASEIIHSWLA
SEQ ID NO: 106 (卡巴特)	2 LCDR2	LASTLAS

SEQ ID NO: 107 (卡巴特)	2 LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 108 (喬西亞)	2 LCDR1	SEIIHSW
SEQ ID NO: 109 (喬西亞)	2 LCDR2	LAS
SEQ ID NO: 110 (喬西亞)	2 LCDR3	VYLASTNGA
SEQ ID NO: 111 (IMGT)	2 LCDR1	EIIHSW
SEQ ID NO: 109 (IMGT)	2 LCDR2	LAS
SEQ ID NO: 107 (IMGT)	2 LCDR3	QNVYLASTNGAN
SEQ ID NO: 112	2 VL	EIVMTQSPSTLSASVGDRIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKL LIYLASTLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISLQPDDEFATYYCQNVYLA STNGANFGQGTKLTVLK
SEQ ID NO: 152	2 DNA VL	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCTAGCACCTGAGCGCCAGCG TGGGAGATCGCGTGATCATCACATGCCAGGCCTCCGAGATCAT CCACAGCTGGCTGGCTTGGTATCAGCAGAAACCTGGAAAAGCT CCCAAGCTCCTGATCTATCTGGCCAGCACCTGGCCTCTGGCGT GCCCAGCAGATTGAGCGGCTCCGGCAGCGGCGCTGAGTTTACC CTGACAATCAGCTCTCTGCAGCCTGACGATTTTGTACCTACTA TTGTGAGAACGTGTACCTGGCCTCCACCAACGCGGCCAACTTTG GCCAGGGAACAAAGCTGACCGTGCTGAAG
SEQ ID NO: 118	LC連接子	GSGGGSGGGGSGGG
SEQ ID NO: 153	DNA LC連接子	GGCTCCGGCGGAGGCGGATCTGGTGGCGGAGGATCTGGCGGT GGC
SEQ ID NO: 154	輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRIITCRASQGIISYLGWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDA LNTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGECGSGGGGSGGGGSGGGE IVMTQSPSTLSASVGDRIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKLLI YLASTLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISLQPDDEFATYYCQNVYLA TNGANFGQGTKLTVLKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 155	DNA輕鏈	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCAGCCTGTCCGCCTCCGT GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCCTCCAGGGCATC ATCTCTACCTGGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCC CTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCCCTGCAGTCCGGCGT GCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCC TGACCATCTCCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTAC TGCCAGCAGTACGACGCCCTGAACACCTTCGGCCAGGGCACCA AAGTGGAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCAT CTTCCACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCC GTCGTGTGCCTGCTGAACAACCTTACCCTCGCGAGGCCAAAG TGCAGTGGAAGTGGAACACGCCCTGCAGAGCGGCAACTCCC AGGAATCCGTACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTC CCTGTCCTCCACCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGC ACAAAGTGACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAG CCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAGTGTGGCTCCGGC GGAGGCGGATCTGGTGGCGGAGGATCTGGCGGTGGCGAGAT CGTGATGACCCAGTCCCCTAGCACCTGAGCGCCAGCGTGGA GATCGCGTGATCATCACATGCCAGGCCTCCGAGATCATCCACA GCTGGCTGGCTTGGTATCAGCAGAAACCTGGAAAAGCTCCCAA GCTCCTGATCTATCTGGCCAGCACCTGGCCTCTGGCGTGCCCA GCAGATTGAGCGGCTCCGGCAGCGGCGCTGAGTTTACCCTGAC AATCAGCTCTCTGCAGCCTGACGATTTTGTACCTACTATTGTC AGAACGTGTACCTGGCCTCCACCAACGGCGCCAACCTTTGGCCA GGGAACAAAGCTGACCGTGCTGAAGCGTACGGTGGCCGCTCC CAGCGTGTTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGC GGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTACCCCC GGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAG

		AGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAA GGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAG GCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACC CACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGG GCGAGTGC
--	--	--

v. 連接子

【0439】 在本揭露之某些方面，抗BTC結合部分可藉由連接子連接至分子，例如，抗VEGF結合部分。更具體地，抗BTC結合部分可藉由具有優化的長度和/或胺基酸組成的肽連接子（例如， $(\text{Gly}_n\text{-Ser}_n)_n$ 連接子或 $(\text{Ser}_n\text{-Gly}_n)_n$ 連接子）連接至蛋白質或核酸。已知，肽連接子長度可極大地影響連接的蛋白質折疊和相互作用的方式。對於連接子取向和大小的實例，參見例如，Hollinger等人, 1993 Proc Natl Acad. Sci. U.S.A. [美國國家科學院院刊] 90: 6444-6448；美國專利申請公開案號2005/0100543、2005/0175606、2007/0014794；以及PCT公開案號WO 2006/020258和WO 2007/024715，該等文獻藉由引用併入本文。

【0440】 肽連接子序列可為至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75個或更多個胺基酸殘基的長度。肽連接子序列可以由天然存在的或非天然存在的胺基酸構成。在一些方面，連接子係甘胺酸聚合物。在一些方面，胺基酸甘胺酸和絲胺酸構成連接子序列內的胺基酸。在某些方面，連接子區包含甘胺酸重複的集合 $(\text{GlySerGly}_3)_n$ ，其中n係等於或大於1的正整數，例如， $n = 3$ （SEQ ID NO: 118）。更具體地，連接子序列可為GlySerGlyGlyGly（SEQ ID NO: 165）。可替代地，連接子序列可為GlySerGlyGly（SEQ ID NO: 166）。在某些其他方面，連接子區取向包含甘胺酸重複的集合 $(\text{SerGly}_3)_n$ ，其中n係等於或大於1的正整數，例如， $n = 3$ （SEQ ID NO: 167）。

【0441】 肽連接子還可包括但不限於 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_4$ （SEQ ID NO: 161）或 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_3$ （SEQ ID NO: 162）。胺基酸殘基Glu和Lys可以散佈在Gly-Ser肽連接子內以

獲得更好的溶解度。在某些方面，肽連接子可包括(Gly₃Ser)、(Gly₂Ser)或(GlySer)的多個重複。在某些方面，肽連接子可包括(SerGly₃)、(SerGly₂)或(SerGly)的多個重複。在其他方面，肽連接子可包括(Gly₃Ser) + (Gly₄Ser) + (GlySer)的組合和多倍 (SEQ ID NO: 163)。在仍其他方面，Ser可以被Ala置換，例如，(Gly₄Ala)或(Gly₃Ala)。在又其他方面，連接子包含模體(GluAlaAlaAlaLys)_n (SEQ ID NO: 164)，其中n係等於或大於1的正整數。在某些方面，肽連接子還可包括可切割的連接子。

【0442】 肽連接子可具有不同的長度。特別地，肽連接子係從約5至約50個胺基酸的長度；從約10至約40個胺基酸的長度；從約15至約30個胺基酸的長度；或從約15至約20個胺基酸的長度。肽連接子長度的變化可以保留或增強活性，從而在活性研究中產生優異的功效。可以使用本領域已知的技術將肽連接子引入多肽和蛋白質序列中。例如，可以使用PCR誘變。可以藉由DNA序列分析來確認修飾。質體DNA可用於轉化宿主細胞以穩定產生所產生的多肽。

【0443】 肽連接子、抗BTC結合部分和蛋白質，例如，抗VEGF結合部分可以在相同的載體中編碼並且在相同的宿主細胞中表現和組裝。可替代地，肽連接子、抗BTC結合部分、抗VEGF結合部分、和蛋白質或核酸中的每一個可以單獨產生，然後與彼此軛合。可以藉由使用本領域已知的方法軛合構成組分來製備肽連接子、抗BTC結合部分和蛋白質或核酸。可以使用分選酶介導的酶促軛合來實現位點特異性軛合 (Mao H, 等人, *J. Am. Chem. Soc.* [美國化學會誌] 2004年3月10日; 126 (9): 2670-1)。可以使用多種偶合劑或交聯劑進行共價軛合。交聯劑之實例包括蛋白質A、碳二亞胺、N-琥珀醯亞胺基-S-乙醯基-硫代乙酸酯 (SATA)、5,5'-二硫代雙(2-硝基苯甲酸) (DTNB)、鄰仲苯基二馬來醯亞胺 (oPDM)、N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯 (SPDP) 和4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸磺基琥珀醯亞胺酯 (磺基-SMCC) (參見例如, Karpovsky等人, 1984

J. Exp. Med. [實驗醫學雜誌] 160: 1686 ; Liu, MA等人, 1985 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* [美國國家科學院院刊] 82: 8648)。其他方法包括Paulus, 1985 *Behring Ins. Mitt.* [貝林研究所通訊] 第78期,118-132 ; Brennan等人, 1985 *Science* [科學] 229: 81-83以及Glennie等人, 1987 *J. Immunol.* [免疫學雜誌] 139: 2367-2375中描述的那些方法。軛合劑係SATA和磺基-SMCC，兩者均可從皮爾斯化工公司（Pierce Chemical Co.）（伊利諾州羅克福德市（Rockford, IL））獲得。

vi. 多特異性結合分子之形式和類型

【0444】 在一些方面，多特異性結合分子係雙特異性抗體或雙特異性抗體樣分子。在一些方面，雙特異性抗體或抗體樣分子對於一種抗原可為多價的，例如，二價，而對於另一種抗原可為單價的。示例性雙特異性抗體分子或雙特異性抗體樣分子之特徵在於對第一抗原或表位（例如BTC）具有結合特異性的第一抗原結合結構域（例如，包含第一重鏈和第一輕鏈）和對第二抗原或表位（例如，VEGF）具有結合特異性的第二抗原結合結構域（例如，包含第二重鏈和第二輕鏈）。

【0445】 在一些方面，第一和第二表位在相同抗原，例如，相同蛋白質（或多聚體蛋白質的亞單位）上。在多方面，雙特異性抗體分子或雙特異性抗體樣分子包含對第一表位或抗原具有結合特異性的重鏈可變結構域序列和輕鏈可變結構域序列以及對第二表位或抗原具有結合特異性的重鏈可變結構域序列和輕鏈可變結構域序列。

【0446】 在一些方面，雙特異性抗體分子或抗體樣分子包含對第一表位或抗原具有結合特異性的半抗體；和對第二表位或抗原具有結合特異性的半抗體。在一個方面，雙特異性抗體分子或抗體樣分子包含對第一表位或抗原具有結合

特異性的半抗體或其片段；和對第二表位或抗原具有結合特異性的半抗體或其片段。

【0447】 在多方面，雙特異性抗體分子或雙特異性抗體樣分子包含對第一表位或抗原具有結合特異性的scFv或Fab或其片段；和對第二表位或抗原具有結合特異性的抗體或其片段。在多方面，雙特異性抗體分子或雙特異性抗體樣分子包含對第一表位或抗原具有結合特異性的兩個scFv或Fab或其片段；和對第二表位或抗原具有結合特異性的抗體或其片段。在多方面，雙特異性抗體分子或雙特異性抗體樣分子包含對第一表位或抗原具有結合特異性的scFv或其片段；和對第二表位或抗原具有結合特異性的Fab或其片段。

【0448】 在某些方面，抗體或抗體樣分子係多特異性（例如，雙特異性或三特異性）抗體或抗體樣分子。用於產生雙特異性或異源二聚抗體或抗體樣分子的方案在本領域中係已知的；該等方案包括但不限於：例如，「杵臼結構（knob in a hole）」途徑，例如，在US 5731168中所述；靜電轉向Fc配對，如例如WO 09/089004、WO 06/106905和WO 2010/129304中所述；鏈交換工程化結構域（SEED）異源二聚體形成，如例如在WO 07/110205中所述；Fab臂交換，如例如在WO 08/119353、WO 2011/131746和WO 2013/060867中所述；雙抗體軛合物，例如使用具有胺反應性基團和巰基反應性基團的異雙官能試劑，藉由抗體交聯以產生雙特異性結構，如例如在US 4433059中所述；藉由重組來自不同抗體或抗體樣分子的半抗體（重鏈-輕鏈對或Fab）產生的雙特異性抗體或抗體樣分子決定簇，該重組藉由對兩條重鏈之間的二硫鍵進行還原和氧化的循環來進行，如例如US 4444878中所述；三功能抗體，例如通過巰基反應性基團交聯的三個Fab'片段，如例如在US 5273743中所述；生物合成結合蛋白，例如通過C末端尾較佳的是通過二硫鍵或胺反應性化學交聯作用交聯的scFv對，如例如US 5534254中所述；雙功能抗體，例如具有不同結合特異性的Fab片段，該等Fab片段通過已經置換恒定

結構域的白胺酸拉鍊（例如，c-fos和c-jun）二聚化，如例如在US 5582996中所述；雙特異性和寡特異性單價受體和寡價受體，例如兩個抗體（兩個Fab片段）的V_H-CH1區（Fd區），該等V_H-CH1區通過在一個抗體的CH1區和另一個抗體的V_H區（典型地具有締合的輕鏈）之間的多肽間隔區連接，如例如在US 5591828中所述；雙特異性DNA-抗體軛合物，例如通過雙鏈DNA段交聯抗體或Fab片段，如例如US 5635602中所述；雙特異性融合蛋白，例如含有兩個scFv（它們之間具有親水性螺旋肽連接子）和一個完全恒定區的表現構建體，如例如US 5637481中所述；多價和多特異性結合蛋白，例如具有含Ig重鏈可變區結合區的第一結構域和含Ig輕鏈可變區結合區的第二結構域的多肽二聚體，通常稱為雙抗體（也涵蓋更高級結構，從而產生雙特異性、三特異性或四特異性分子），如例如US5837242中所述；具有連接的V_L和V_H鏈（它們進一步用肽間隔區連接至抗體鉸鏈區和CH3區）的微型抗體構建體，該微型抗體構建體可以二聚化形成雙特異性/多價分子，如例如在US 5837821中所述；用短肽連接子（例如5個或10個胺基酸）連接或在任一取向上完全沒有連接子連接的V_H和V_L結構域，該等V_H和V_L結構域可以形成二聚體以形成雙特異性雙抗體；三聚體和四聚體，如例如US 5844094中所述；V_H結構域（或家族成員中的V_L結構域）的串，其藉由肽鏈與C末端的可交聯基團連接，該等可交聯基團進一步與V_L結構域締合以形成一系列FV（或scFv），如例如在US 5864019中所述；V_L和V_H結構域、scFv或Fab，其中一種抗原單價結合而一種抗原雙價結合，該等結構視需要包含異源二聚Fc區，如例如WO 2011/028952中所述；以及具有通過肽連接子連接的V_L和V_H結構域二者的單鏈結合多肽，該等單鏈結合多肽通過非共價或化學交聯組合成多價結構，以使用scFV或雙抗體類型形式形成例如同二價、異二價、三價和四價結構，如例如US 5869620中所述。

【0449】 其他示例性多特異性和雙特異性分子及其製備方法見於例如US 5910573、US 5932448、US 5959083、US 5989830、US 6005079、US 6239259、US 6294353、US 6333396、US 6476198、US 6511663、US 6670453、US 6743896、US 6809185、US 6833441、US 7129330、US 7183076、US 7521056、US 7527787、US 7534866、US 7612181、US 2002004587 A1、US 2002076406 A1、US 2002103345 A1、US 2003207346 A1、US 2003211078 A1、US 2004219643 A1、US 2004220388 A1、US 2004242847 A1、US 2005003403 A1、US 2005004352 A1、US 2005069552 A1、US 2005079170 A1、US 2005100543 A1、US 2005136049 A1、US 2005136051 A1、US 2005163782 A1、US 2005266425 A1、US 2006083747 A1、US 2006120960 A1、US 2006204493 A1、US 2006263367 A1、US 2007004909 A1、US 2007087381 A1、US 2007128150 A1、US 2007141049 A1、US 2007154901 A1、US 2007274985 A1、US 2008050370 A1、US 2008069820 A1、US 2008152645 A1、US 2008171855 A1、US 2008241884 A1、US 2008254512 A1、US 2008260738 A1、US 2009130106 A1、US 2009148905 A1、US 2009155275 A1、US 2009162359 A1、US 2009162360 A1、US 2009175851 A1、US 2009175867 A1、US 2009232811 A1、US 2009234105 A1、US 2009263392 A1、US 2009274649 A1、EP 346087 A2、WO 0006605 A2、WO 02072635 A2、WO 04081051 A1、WO 06020258 A2、WO 2007044887 A2、WO 2007095338 A2、WO 2007137760 A2、WO 2008119353 A1、WO 2009021754 A2、WO 2009068630 A1、WO 9103493 A1、WO 9323537 A1、WO 9409131 A1、WO 9412625 A2、WO 9509917 A1、WO 9637621 A2、WO 9964460 A1中。上述引用的申請的內容藉由引用以其全文併入本文。

【0450】 因此，在一些方面，本揭露之BTC/VEGF多特異性結合分子以本領域中已知和貫穿本揭露所述之多特異性或雙特異性形式中的任一種包含BTC

結合結構域和VEGF結合結構域。下面更詳細地描述本揭露之多特異性結合分子之較佳的形式。

【0451】 本揭露之多特異性結合分子包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分，其中抗BTC結合部分包含結合至BTC的可變重鏈結構域（VHA）和可變輕鏈結構域（VLA），並且其中抗VEGF結合部分包含結合至VEGF的可變重鏈結構域（VHB）和可變輕鏈結構域（VLB）。在一方面，VHA和VLA通過共價鍵（例如，二硫鍵）連接。在一方面，VHB和VLB通過共價鍵（例如，二硫鍵）連接。在一方面，多特異性結合分子處於如下從N末端到C末端的形式：N-VHA-連接子1-VHB-C和N-VLA-連接子2-VLB-C。在另一方面，多特異性結合分子處於如下從N末端到C末端的形式：N-VHB-連接子1-VHA-C和N-VLB-連接子2-VLA-C。連接子1和連接子2可為相同或不同的。

【0452】 在一方面，抗BTC結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1A）和輕鏈恒定結構域（CKA），並且其中抗VEGF結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1B）和輕鏈恒定結構域（CKB）。在一方面，多特異性結合分子處於如下從N末端到C末端的形式：N-VHA-CH1A-連接子-VHB-CH1B-C和N-VLA-CKA-連接子-VLB-CKB-C，例如，如表3中所提供的NVS11、NVS12、NVS13、和NVS14。在另一方面，多特異性結合分子處於如下從N末端到C末端的形式：N-VHB-CH1B-連接子-VHA-CH1A-C和N-VLB-CKB-連接子-VLA-CKA-C。在一方面，兩個連接子係相同的。在另一方面，兩個連接子係不同的。

【0453】 在某些方面，CH1恒定區與VH一起存在而C κ 恒定區與VL一起存在，使得Fab片段藉由各自的輕鏈和重鏈的二聚化形成（即，VHA-CH1將與VLA-C κ 形成Fab片段，而VHB-CH1將與VLB-C κ 形成Fab片段）。在某些方面，本揭露之多特異性結合分子係Fab-Fab形式，其中抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分均形成Fab片段。在另一方面，CH1恒定區與VH一起存在而C λ 恒定區與VL一起

存在，使得Fab片段藉由各自的輕鏈和重鏈的二聚化形成（即，VHA-CH1將與VLA-Cλ形成Fab片段，而VHB-CH1將與VLB-Cλ形成Fab片段）。

【0454】 本揭露之多特異性結合分子包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分，其中抗BTC結合部分係Fab並包含重鏈（HA）和輕鏈（LA），並且其中抗VEGF係Fab並包含重鏈（HB）和輕鏈（LB）。在一方面，HA和HB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-HA-連接子1-HB-C，並且其中LA和LB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-LA-連接子2-LB-C。在另一方面，HA和HB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-HB-連接子1-HA-C，並且其中LA和LB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-LB-連接子2-LA-C。連接子1和連接子2可為相同或不同的。在一方面，連接子1和連接子2包含SEQ ID NO: 118的胺基序列，或者由SEQ ID NO: 119的核序列編碼。在另一方面，連接子1和連接子2包含選自由SEQ ID NO: 161-167組成之群組的胺基序列。

【0455】 在一方面，本揭露之Fab多特異性結合分子具有圖1-2中描述的結構。

【0456】 在一方面，本揭露之雙特異性抗體包含兩條多肽鏈，一條鏈包含抗VEGF scFv和還具有輕鏈恒定區CL的抗BTC抗體的輕鏈可變結構域（VLB）（VLB-CL），其藉由連接子肽連接在一起，而另一條鏈包含還具有重鏈恒定區CH1的抗BTC抗體的重鏈可變結構域（VHB）（VHB-CH1）。在另一方面，本揭露之雙特異性抗體包含兩條多肽鏈，一條鏈包含抗VEGF scFv和還具有重鏈恒定區CH1的抗BTC抗體的重鏈可變結構域（VHB）（VHB-CH1），其藉由連接子肽連接在一起，而另一條鏈包含還具有輕鏈恒定區CL的抗BTC抗體的輕鏈可變結構域（VLB）（VLB-CL）。

【0457】 在某些方面，scFv在本揭露之雙特異性抗體的一條多肽鏈上的取向可為NH2-VLB-CL- 連接子 2-scFv-COOH 或 NH2-VHB-CH1- 連接子 2-scFv-

COOH。在一方面，scFv上的VL和VH結構域之間的連接子序列具有(GGGGS)₄的序列（SEQ ID NO: 63），VL和VH處於NH₂-VLA-連接子2-VHA-COOH形式。

【0458】 在其他方面，本揭露之雙特異性抗體的結合結構域中的一個形成了Fab，而另一個結合結構域形成了單鏈（scFv）抗體片段。熟悉該項技術者將認識到，除了所示的那些取向，其他的取向也是可能的。例如，scFv-Fab形式係可能的，或者可以重排結合特異性。

【0459】 在一些方面，多特異性結合分子係雙特異性抗體或雙特異性抗體樣分子。在另一方面，本揭露之特徵在於包含對BTC具有特異性的結構域（即，抗BTC結合部分）和對另一治療靶標（例如，VEGF）具有特異性的另一結構域（治療靶標結合部分）的多特異性分子。例如，多特異性分子可包含本揭露之抗BTC結合部分、抗體、或其抗原結合片段、和核酸分子。抗BTC抗體係本領域已知的，例如，如US 6183971和WO 2004/083241 A2所述。

【0460】 本揭露之抗體或其抗原結合片段可以衍生化或連接至另一種功能分子，例如另一種肽或蛋白質（例如，另一種抗體或受體的配體），以產生結合至少兩個不同的結合位點或靶分子的雙特異性分子。本揭露之抗體可以衍生化或連接至多於一種的其他功能分子，以產生結合多於兩個不同結合位點和/或靶分子的多特異性分子；此類多特異性分子也旨在由本文所用的術語「雙特異性分子」涵蓋。為了產生本揭露之雙特異性分子，本揭露之抗體可以功能性地連接（例如，藉由化學偶合、基因融合、非共價締合或其他方式）至一或多種其他結合分子，例如，另一種抗體、抗原結合片段、肽或結合模擬物，從而產生雙特異性分子。

【0461】 因此，本揭露包括雙特異性分子，該雙特異性分子包含對BTC的至少一種第一結合特異性和對第二靶表位（例如，另一種治療靶標）的第二結合特異性。例如，第二靶表位係VEGF的表位。

【0462】 在一方面，包含在多特異性結合分子中的抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分呈包括例如，Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、或單鏈Fv (scFv) 的形式。在另一方面，抗BTC結合部分係抗BTC Fab並且抗VEGF結合部分係抗VEGF Fab。在另一方面，抗BTC結合部分係scFV並且抗VEGF結合部分係scFV。包含在多特異性結合分子中的抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分也可為輕鏈或重鏈二聚體或其任何最小片段，例如，Ladner等人的美國專利案號4,946,778中所述之Fv或單鏈構建體。

【0463】 在一方面，本揭露之多特異性結合分子可為雙抗體。雙抗體係二價雙特異性分子，其中VH和VL結構域在單條多肽鏈上表現，藉由連接子連接，該連接子太短而不允許在同一條鏈上的兩個結構域之間配對。VH和VL結構域與另一條鏈的互補結構域配對，從而產生兩個抗原結合位點（參見例如，Holliger等人, 1993 Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 90: 6444-6448；Poljak等人, 1994 Structure [結構] 2: 1121-1123）。可以藉由在相同細胞內表現具有結構VHA-VLB和VHB-VLA（VH-VL構型）或VLA-VHB和VLB-VHA（VL-VH構型）的兩條多肽鏈來產生雙抗體。它們中的大多數可以在細菌中以可溶性形式表現。單鏈雙抗體 (scDb) 藉由將兩條形成雙抗體的多肽鏈與大約15個胺基酸殘基的連接子連接而產生（參見Holliger和Winter, 1997 *Cancer Immunol. Immunother.* [癌症免疫學，免疫療法], 45 (3-4): 128-30；Wu等人, 1996 *Immunotechnology* [免疫技術], 2 (1): 21-36）。scDb可以在細菌中以可溶性活性單體形式表現（參見Holliger和Winter, 1997 *Cancer Immunol. Immunother.* [癌症免疫學，免疫療法], 45 (34): 128-30；Wu等人, 1996 *Immunotechnology* [免疫技術], 2 (1): 21-36；Pluckthun和Pack, 1997 *Immunotechnology* [免疫技術], 3 (2): 83-105；Ridgway等人, 1996 *Protein Eng.* [蛋白質工程], 9 (7): 617-21）。雙抗體可以與Fc融合以產生「二-雙抗體」（參

見Lu等人, 2004 *J. Biol. Chem.* [生物化學雜誌], 279 (4): 2856-65)。可用於本揭露之雙特異性分子的其他抗體係鼠、嵌合和人源化單株抗體。

【0464】用於產生雙特異性或異源二聚抗體或抗體樣分子的方案在本領域中係已知的；該等方案包括但不限於：例如，「杵臼結構」途徑，例如，在US 5731168中所述；靜電轉向Fc配對，如例如WO 09/089004、WO 06/106905和WO 2010/129304中所述；鏈交換工程化結構域（SEED）異源二聚體形成，如例如在WO 07/110205中所述；Fab臂交換，如例如在WO 08/119353、WO 2011/131746和WO 2013/060867中所述；雙抗體軛合物，例如使用具有胺反應性基團和巰基反應性基團的異雙官能試劑，藉由抗體交聯以產生雙特異性結構，如例如在US 4433059中所述；藉由重組來自不同抗體或抗體樣分子的半抗體（重鏈-輕鏈對或Fab）產生的雙特異性抗體或抗體樣分子決定簇，該重組藉由對兩條重鏈之間的二硫鍵進行還原和氧化的循環來進行，如例如US 4444878中所述；三功能抗體，例如通過巰基反應性基團交聯的三個Fab'片段，如例如在US 5273743中所述；生物合成結合蛋白，例如通過C末端尾較佳的是通過二硫鍵或胺反應性化學交聯作用交聯的scFv對，如例如在US 5534254中所述；雙功能抗體，例如具有不同結合特異性的Fab片段，該等Fab片段通過已經置換恒定結構域的白胺酸拉鍊（例如，c-fos和c-jun）二聚化，如例如在US 5582996中所述；雙特異性和寡特異性單價受體和寡價受體，例如兩個抗體（兩個Fab片段）的VH-CH1區（Fd區），該等VH-CH1區通過在一個抗體的CH1區與另一個抗體的VH區（典型地具有締合的輕鏈）之間的多肽間隔區連接，如例如在US 5591828中所述；雙特異性DNA-抗體軛合物，例如通過雙鏈DNA段交聯抗體或Fab片段，如例如US 5635602中所述；雙特異性融合蛋白，例如含有兩個scFv（它們之間具有親水性螺旋肽連接子）和一個完全恒定區的表現構建體，如例如在US 5637481中所述；多價和多特異性結合蛋白，例如具有Ig重鏈可變區結合區的第一結構域和Ig輕鏈可變區結合區的第二結

構域的多肽二聚體，通常稱為雙抗體（也涵蓋了更高級結構，產生雙特異性、三特異性或四特異性分子），如例如在US 5837242中所述；具有連接的VL和VH鏈（它們進一步用肽間隔區連接至抗體鉸鏈區和CH3區）的微型抗體構建體，該微型抗體構建體可以二聚化形成雙特異性/多價分子，如例如在US 5837821中所述；用短肽連接子（例如5個或10個胺基酸）連接或在任一取向上完全沒有連接子連接的VL和VH結構域，該等VL和VH結構域可以形成二聚體以形成雙特異性雙抗體；三聚體和四聚體，如例如在US 5844094中所述；VH結構域（或家族成員中的VL結構域）的串，其藉由肽鏈與C末端的可交聯基團連接，該等可交聯基團進一步與VL結構域締合以形成一系列FV（或scFv），如例如在US 5864019中所述；VL和VH結構域、scFv或Fab，其中一種抗原單價結合而一種抗原雙價結合，該等結構視需要包含異源二聚Fc區，如例如WO 2011/028952中所述；以及具有通過肽連接子連接的VL和VH結構域二者的單鏈結合多肽，該等單鏈結合多肽通過非共價或化學交聯組合成多價結構，以使用scFV或雙抗體類型形式形成例如同二價、異二價、三價和四價結構，如例如US 5869620中所述。

【0465】另外的示例性多特異性分子和雙特異性分子和用於製備該等分子的方法見於，例如，US 5910573、US 5932448、US 5959083、US 5989830、US 6005079、US 6239259、US 6294353、US 6333396、US 6476198、US 6511663、US 6670453、US 6743896、US 6809185、US 6833441、US 7129330、US 7183076、US 7521056、US 7527787、US 7534866、US 7612181、US 2002004587 A1、US 2002076406 A1、US 2002103345 A1、US 2003207346 A1、US 2003211078 A1、US 2004219643 A1、US 2004220388 A1、US 2004242847 A1、US 2005003403 A1、US 2005004352 A1、US 2005069552 A1、US 2005079170 A1、US 2005100543 A1、US 2005136049 A1、US 2005136051 A1、US 2005163782 A1、US 2005266425 A1、US 2006083747 A1、US 2006120960 A1、US 2006204493 A1、US 2006263367 A1、

US2007004909 A1、US 2007087381 A1、US 2007128150 A1、US 2007141049 A1、US2007154901 A1、US 2007274985 A1、US 2008050370 A1、US 2008069820 A1、US 2008152645 A1、US 2008171855 A1、US 2008241884 A1、US 2008254512 A1、US 2008260738 A1、US 2009130106 A1、US 2009148905 A1、US 2009155275 A1、US 2009162359 A1、US 2009162360 A1、US 2009175851 A1、US 2009175867 A1、US 2009232811 A1、US 2009234105 A1、US 2009263392 A1、US 2009274649 A1、EP 346087 A2、WO 0006605 A2、WO 02072635 A2、WO 04081051 A1、WO 06020258 A2、WO 2007044887 A2、WO 2007095338 A2、WO 2007137760 A2、WO 2008119353 A1、WO 2009021754 A2、WO 2009068630 A1、WO 9103493 A1、WO 9323537 A1、WO 9409131 A1、WO 9412625 A2、WO 9509917 A1、WO 9637621 A2、WO 9964460 A1。上述引用的申請的內容藉由引用以其全文併入本文。

【0466】 可以藉由使用本領域已知的方法軛合構成結合特異性來製備雙特異性分子。例如，雙特異性分子的每種結合特異性可以單獨產生，然後彼此軛合。

【0467】 當結合特異性係抗體時，它們可以藉由兩條重鏈的C末端鉸鏈區的巯基鍵合而軛合。在具體方面，鉸鏈區被修飾為例如在軛合之前含有奇數個巯基殘基。可替代地，兩種結合特異性可以在相同載體中編碼，並在相同宿主細胞中表現和組裝。在雙特異性分子係mAb x mAb、mAb x Fab、Fab x F(ab')₂、配體 x Fab、抗BTC抗體或其功能片段 x mAb、Crossmab形式、BITE形式、抗BTC抗體或其功能片段 x Fab融合蛋白的情況下，此方法特別有用。本揭露之雙特異性分子可為包含一個單鏈抗體和一個結合決定簇的單鏈分子，或包含兩個結合決定簇的單鏈雙特異性分子。雙特異性分子可包含至少兩個單鏈分子。用於製備雙特異性分子的方法描述於例如美國專利案號5,260,203；美國專利案號5,455,030；美國專利案號4,881,175；美國專利案號5,132,405；美國專利案號5,091,513；美國

專利案號5,476,786；美國專利案號5,013,653；美國專利案號5,258,498；和美國專利案號5,482,858。

【0468】多特異性結合或多價分子與其特異性靶標的結合可以藉由例如酶聯免疫吸附測定（ELISA）、放射免疫測定（REA）、FACS分析、生物測定（例如，生長抑制）或蛋白質印跡測定來確認。該等測定中的每一種通常藉由使用對感興趣的複合物有特異性的標記試劑（例如，抗體）來檢測特別感興趣的蛋白質-抗體複合物的存在。

【0469】在另一方面，本揭露提供了多價分子，其包含本揭露之結合至靶標（例如，BTC）的抗體的至少兩個相同的或不同的抗原結合部分。在進一步的方面，本揭露提供了多價化合物，該等多價化合物包含BTC結合部分和/或治療靶標結合部分的至少兩個相同或不同的抗原結合部分。抗原結合部分可以通過蛋白質融合或共價或非共價連接而連接在一起。可替代地，已經描述了多特異性分子的連接方法。可以例如藉由本揭露之抗體與結合本揭露之抗體的恒定區，例如Fc或鉸鏈區的抗體的交聯抗體來獲得四價化合物。

vii. 本揭露之分子的修飾

【0470】本申請包括在可變區和/或恒定區中具有各種修飾的本文所述分子的變體和/或其片段，以及所揭露分子的融合物和軛合物。例如，所揭露的多特異性結合分子之Fc區，例如，CH1和/或Cκ，可為野生型的，或者可以對其進行修飾以獲得各種結果。Fc的較佳的修飾包括用於半衰期延長的「LS」突變（M428L、N434S（EU編號））和「YTE」突變（M252Y、S254T、T256E（EU編號）），用於效應子緘默的「DAPA」突變（D265A、P329A（EU編號））以及有利於正確鏈配對的杵臼突變（例如，杵S354C、T366W；臼Y349C、T366S、L368A、Y407V（EU編號））。

【0471】 還可以修飾Fc區以「緘默」效應子功能，例如，降低或消除BTC結合分子介導抗體依賴性細胞毒性（ADCC）和/或抗體依賴性細胞吞噬作用（ADCP）的能力。例如，可以藉由在Fc區中引入突變來實現這一目標。本領域中已描述了此類突變：LALA和N297A（Strohl, 2009, Curr. Opin. Biotechnol. [當前生物技術觀點] 20 (6): 685-691）；和D265A（Baudino等人, 2008, J. Immunol. [免疫學雜誌] 181: 6664-69；Strohl，同上）。緘默Fc IgG1抗體的實例包含所謂的LALA突變體，該突變體在IgG1 Fc胺基酸序列中包含L234A和L235A突變。緘默IgG1抗體的另一個實例包含D265A突變。另一種緘默IgG1抗體包含所謂的DAPA突變體，該突變體包含IgG1 Fc胺基酸序列中的D265A和P329A突變。另一種緘默IgG1抗體包含N297A突變，該突變產生無糖基化/非糖基化的抗體。

【0472】 本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段和/或多特異性結合分子之VH和VL結構域中的每一個包含高變區CDR1、CDR2、和CDR3序列。在某些方面，該等CDR序列中的一或多個具有胺基酸序列的保留修飾，並且其中與親本抗體相比，經修飾分子保留或具有增強的結合特性。

【0473】 此外，已經發現在某些情況下使框架區內的殘基突變以維持或增強抗體的抗原結合能力係有益的（參見例如，Queen等人的美國專利案號5,530,101；5,585,089；5,693,762和6,180,370）。本揭露之分子可以藉由將此類突變引入其可變區框架來修飾，以改善結合特性。

【0474】 另一種類型的可變區修飾是使VH和/或VL CDR1、CDR2和/或CDR3結構域內的胺基酸殘基突變，從而改善感興趣的分子（例如，抗體或抗體樣分子）的一或多種結合特性（例如，親和力），這被稱為「親和力成熟」。可以進行定點誘變或PCR介導的誘變以引入一或多個突變，並且可以在如本文所述之體外或體內測定中評估對抗體結合或其他感興趣的功能特性的影響。可以引

入保留修飾（如上所討論的）。該等突變可為胺基酸取代、添加或缺失。而且，典型地，CDR區內不超過一個、兩個、三個、四個或五個殘基被改變。

【0475】本發明之分子的胺基酸序列變體可以藉由將適當的核苷酸變化引入編碼DNA中或藉由合成所需的變體來製備。此類變體包括例如本發明分子的胺基酸序列內殘基的缺失、插入或取代。可以進行缺失、插入和取代的任何組合以獲得最終構建體，條件是最終構建體具有所需的抗原結合特徵。胺基酸變化還可以改變分子的翻譯後過程，例如，改變糖基化位點的數量或位置。

【0476】本申請包括在可變區和/或恒定區中具有胺基酸保留修飾的本文所述分子的變體和/或其片段。

viii. 核酸、表現載體和宿主細胞

【0477】本揭露提供了編碼抗BTC抗體或其抗原結合片段的純化的核酸分子（例如，基本上純化的核酸分子）、和/或包含BTC結合部分和本文所述之另一種結合部分（例如，抗VEGF結合部分）的多特異性結合分子。在某些方面，本揭露提供了純化的核酸分子（例如，基本上純化的核酸分子），該純化的核酸分子編碼表1中所述之抗BTC結合部分。在另一方面，本揭露提供了純化的核酸分子（例如，基本上純化的核酸分子），該純化的核酸分子編碼表3中所述之包含BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子。

【0478】本揭露之核酸分子可編碼抗體的可變區和恒定區。本揭露之一些核酸序列包含編碼經修飾的重鏈序列的核苷酸，該經修飾的重鏈序列與原始重鏈序列具有實質性同一性（例如，至少80%、90%、95%、或99%）（例如，與NVS1、NVS2、NVS3、NVS4、NVS11、NVS12、NVS13、或NVS14的重鏈具有實質性同一性）。一些其他的核酸序列包含編碼經修飾的輕鏈序列的核苷酸，該經修飾的輕鏈序列與原始輕鏈序列具有實質性同一性（至少80%、90%、95%、

或99%) (例如, 與NVS1、NVS2、NVS3、NVS4、NVS11、NVS12、NVS13、或NVS14的輕鏈具有實質性同一性)。

【0479】多核苷酸序列可以藉由從頭固相DNA合成或藉由PCR誘變編碼抗BTC抗體或其結合片段的現有序列(例如, 如下文實例中所述之序列)來產生。核酸的直接化學合成可以藉由本領域已知的方法完成, 該等方法如Narang等人, 1979, *Meth. Enzymol.* [酶學方法] 68: 90的磷酸三酯方法; Brown等人, *Meth. Enzymol.* [酶學方法] 68: 109, 1979的磷酸二酯方法; Beaucage等人, *Tetra. Lett.* [四面體通訊], 22: 1859, 1981的二乙基亞磷醯胺方法; 以及美國專利案號4,458,066的固體支持物方法。藉由PCR向多核苷酸序列引入突變可以如以下文獻中所述進行, 例如PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification [PCR技術: DNA擴增的原理和應用], H.A. Erlich (編輯), Freeman Press [弗裡曼出版社], 紐約州紐約 (NY, NY), 1992; PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications [PCR方案: 方法和應用指南], Innis等人, (編輯), Academic Press [學術出版社], 加利福尼亞州聖地牙哥 (San Diego, CA), 1990; Mattila等人, *Nucleic Acids Res.* [核酸研究] 19: 967, 1991; 以及Eckert等人, PCR Methods and Applications [PCR方法和應用] 1: 17, 1991。

【0480】本揭露還提供了用於產生抗BTC結合部分和/或包含BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子之表現盒、載體和宿主細胞。更具體地, 本揭露提供了包含編碼抗BTC結合部分的核酸的表現盒和/或載體, 該抗BTC結合部分具有如表1中所列出的序列, 或者可替代地, 提供了包含編碼抗BTC結合部分的核酸的表現盒和/或載體, 該抗BTC結合部分軀合至如本文所述之分子。在某些方面, 表現盒和/或載體包含編碼如下分子中之任一個的核酸, 該等分子軀合至表1中所述之其抗BTC抗BTC結合部分。在另一方面, 本揭露提供了包含

編碼如表3中所列出的多特異性結合分子之核酸的表現盒和/或載體，該多特異性結合分子包含BTC結合部分和抗VEGF結合部分。

【0481】 在一方面，本揭露提供了包含編碼抗BTC抗體或其抗原結合片段的VH和VL的核酸分子的表現盒和/或載體，其中該核酸分子分別與SEQ ID NO: 11和22、分別與SEQ ID NO: 35和46、分別與SEQ ID NO: 55和66、或分別與SEQ ID NO: 79和89係約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%相同或互補的。

【0482】 在一方面，本揭露提供了包含編碼抗BTC抗體或其抗原結合片段的輕鏈和重鏈的核酸分子的表現盒和/或載體，其中該核酸分子分別與SEQ ID NO: 13和24、分別與SEQ ID NO: 37和48、分別與SEQ ID NO: 57和68、或分別與SEQ ID NO: 81和91係約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%相同或互補的。

【0483】 在一方面，本揭露提供了包含編碼多特異性結合分子之核酸分子的表現盒和/或載體，該多特異性結合分子包含1) 結合至BTC的VHA和VLA，其中VHA和VLA分別由與SEQ ID NO: 116和122約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%相同或互補的核酸序列編碼；和2) 結合至VEGF的VHB和VLB，其中VHB和VLB分別由與SEQ ID NO: 117和123約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%相同或互補的核酸序列編碼。

【0484】 在一方面，本揭露提供了包含編碼多特異性結合分子之核酸分子的表現盒和/或載體，該多特異性結合分子包含1) 結合至BTC的VHA和VLA，其中VHA和VLA分別由與SEQ ID NO: 127和132約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少

67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%相同或互補的核酸序列編碼；和2)結合至VEGF的VHB和VLB，其中VHB和VLB分別由與SEQ ID NO: 128和133約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%相同或互補的核酸序列編碼。

【0485】 在一方面，本揭露提供了包含編碼多特異性結合分子之核酸分子的表現盒和/或載體，該多特異性結合分子包含1)結合至BTC的VHA和VLA，其中VHA和VLA分別由與SEQ ID NO: 137和142約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%相同或互補的核酸序列編碼；和2)結合

至VEGF的VHB和VLB，其中VHB和VLB分別由與SEQ ID NO: 138和143約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%相同或互補的核酸序列編碼。

【0486】 在一方面，本揭露提供了包含編碼多特異性結合分子之核酸分子的表現盒和/或載體，該多特異性結合分子包含1) 結合至BTC的VHA和VLA，其中VHA和VLA分別由與SEQ ID NO: 147和151約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%相同或互補的核酸序列編碼；和2) 結合至VEGF的VHB和VLB，其中VHB和VLB分別由與SEQ ID NO: 148和152約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、

至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%相同或互補的核酸序列編碼。

【0487】 在一方面，本揭露提供了包含編碼多特異性結合分子之核酸分子的表現盒和/或載體，該多特異性結合分子包含重鏈和輕鏈，該重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 121和126、SEQ ID NO: 131和136、SEQ ID NO: 141和146、或SEQ ID NO: 150和155約至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%相同或互補的核酸序列編碼。

【0488】 在一方面，本申請提供了重組產生多特異性結合分子之一條或多條主多肽鏈之方法，該方法包括1) 產生一或多種包含核酸分子的DNA構建體，該核酸分子編碼多特異性結合分子之每一條多肽鏈；2) 將所述一或多種DNA構建體引入一或多種表現載體中；3) 將所述一或多種表現載體在一或多種宿主細胞中共轉染；和4) 在宿主細胞或溶液中表現並組裝該分子。

【0489】 在此方面，本揭露提供了分離的核酸，例如，一或多種多核苷酸，該等核酸編碼本文所述之多特異性結合分子，例如包括例如如本文所述之BTC結合結構域和VEGF結合結構域的多特異性結合分子。在一些方面，該分離的核酸佈置在單個連續多核苷酸上。在其他方面，該分離的多核苷酸佈置在兩個或更

多個連續核酸上，該核酸包括序列。在一些方面，該分離的核酸分子係互補DNA（cDNA）或信使RNA（mRNA）。

【0490】 在多方面，分離的核酸包括編碼BTC結合結構域或其片段的序列和/或編碼VEGF結合結構域或其片段的序列。在多方面，編碼BTC結合結構域或其片段的序列和編碼VEGF結合結構域的序列佈置在分開的多核苷酸上。在多方面，編碼BTC結合結構域或其片段的序列和編碼VEGF結合結構域的序列佈置在單個多核苷酸上。

【0491】 在示例性方面，編碼多特異性結合分子之輕鏈的DNA序列和編碼多特異性結合分子之重鏈的DNA序列置於分開的表現載體中。然後將表現載體以產生最佳組裝的比率共轉染到宿主細胞中。使所編碼的重鏈和輕鏈在宿主細胞中表現並組裝成功能分子。本文提供了包含該等選殖和表現載體的宿主細胞。

【0492】 在另一示例性方面，編碼多特異性結合分子之重鏈和輕鏈的DNA序列置於一個表現載體中。然後可以將表現載體轉染到宿主細胞中。使所編碼的重鏈和輕鏈在宿主細胞中表現並組裝成功能分子。可替代地，可以將表現載體轉染到不同的宿主細胞群中，並在溶液中組裝多特異性結合分子。

【0493】 本文提供了包含一或多個核酸分子或一組核酸分子的選殖和表現載體，該等核酸分子編碼如本文所述之多特異性結合分子，其中該載體適合於重組產生多特異性結合分子。本文提供了用於產生如本文所述之多特異性結合分子之方法，該等方法包括在足以表現該多特異性結合分子之條件下培養如本文揭露的宿主細胞，隨後從宿主細胞培養物中純化並回收多特異性結合分子。

【0494】 編碼本揭露之所需分子的核酸序列可以使用本領域中已知的重組方法獲得，例如像藉由從表現所述基因的細胞中篩選文庫，藉由從已知包括該基因的載體中獲得基因，或藉由使用標準技術直接從含有該基因的細胞和組織分離。可替代地，感興趣的核酸可以合成產生，而不是選殖產生。本揭露還包括

可以直接轉染到細胞中的RNA構建體。用於產生轉染用的mRNA之方法涉及用特別設計的引物對模板進行體外轉錄（IVT），隨後添加聚腺苷酸（polyA），產生含有3'和5'非翻譯序列（「UTR」）、5'帽和/或內部核糖體進入位點（IRES）、待表現的核酸和聚腺苷酸尾的構建體，其長度典型地為50-2000個鹼基。這樣產生的RNA可以有效地轉染不同類型的細胞。在一方面，模板包括多特異性結合分子（例如，雙特異性分子（例如，雙特異性抗體或雙特異性抗體樣分子））的多肽的序列。在一個方面，藉由電穿孔將RNA載體轉導到細胞中。

【0495】 可以使用各種載體來表現本揭露之所需分子。基於病毒的載體和非病毒表現載體均可用於在哺乳動物宿主細胞中產生蛋白質。非病毒載體和系統包括質體、附加型載體（典型地，具有用於表現蛋白質或RNA的表現盒）以及人類人工染色體（參見例如，Harrington等人, Nat Genet [自然遺傳學] 15: 345, 1997）。例如，可用於在哺乳動物（例如人）細胞中表現抗BTC結合部分和/或包含BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子之非病毒載體包括pThioHis A、B和C，pcDNA3.1/His，pEBVHis A、B和C（英傑公司（Invitrogen），加利福尼亞州聖地牙哥（San Diego, CA）），MPSV載體和本領域已知用於表現其他蛋白質的許多其他載體。有用的病毒載體包括基於反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒（AAV）、疱疹病毒的載體，基於SV40、乳頭狀瘤病毒、HBPEB病毒、痘苗病毒載體和塞姆利基森林病毒（SFV）的載體。參見，Brent等人, 同上；Smith, Annu. Rev. Microbiol. [微生物學年度評論] 49: 807, 1995；和Rosenfeld等人, Cell [細胞] 68: 143, 1992。用於產生病毒載體的方法係本領域熟知的並且將允許技術者產生本揭露之病毒載體（參見，例如，美國專利案號7,465,583）。

【0496】 AAV係小的單鏈DNA病毒，需要輔助病毒才能促進有效複製。病毒載體包含載體基因組和蛋白質衣殼。病毒載體衣殼可以由本領域已知的任何AAV血清型提供，包括目前已鑒定的人和非人AAV血清型和尚未鑒定的AAV血

清型，例如，AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、和AAV12。病毒衣殼可以與其他載體組分混合並匹配以形成雜合病毒載體。例如，病毒載體的ITR和衣殼可以來自不同的AAV血清型。在一方面，ITR可以來自AAV2血清型，而衣殼則來自，例如，AAV2或AAV8血清型。此外，熟悉該項技術者將認識到，載體衣殼也可為鑲嵌衣殼（例如，由來自不同血清型的衣殼蛋白的混合物組成的衣殼），或甚至是嵌合衣殼（例如，含有外來或無關蛋白質序列（用於產生標誌物和/或改變組織嗜性）的衣殼蛋白）。預期本揭露之病毒載體可包含AAV2、AAV5、AAV8、或AAV9衣殼。進一步預期，本揭露提供了用於藉由包含AAV8衣殼的病毒載體產生本揭露之分子的方法。在另一方面，本揭露提供了用於藉由包含AAV9衣殼的病毒載體產生本揭露之分子的方法。在某些方面，本揭露提供了藉由包含AAV5衣殼或AA6衣殼的病毒載體產生本揭露之分子的方法。在一方面，抗BTC抗體或其抗原結合片段可以使用AAV載體表現。在一方面，多特異性結合分子之抗BTC結合部分可以使用AAV載體表現。在另一方面，多特異性結合分子之抗VEGF結合部分可以使用AAV載體表現。

【0497】表現載體的選擇取決於要表現該載體的預期宿主細胞。典型地，表現載體含有與編碼抗體鏈或片段或軛合至抗BTC結合部分的抗體鏈或片段的多核苷酸可操作地連接的啟動子和其他調節序列（例如，強化子）。在一些方面，使用誘導型啟動子以防止插入的序列在誘導條件之外的條件下表現。誘導型啟動子包括例如阿拉伯糖、lacZ、金屬硫蛋白啟動子或熱激啟動子。可以在非誘導條件下擴增轉化的生物體的培養，而不使群體偏向於其表現產物被宿主細胞更好地耐受的編碼序列。除了啟動子之外，還可需要或期望其他調節元件以高效表現抗體鏈或片段，或軛合至抗BTC結合部分的抗體鏈或片段。該等元件典型地包括ATG起始密碼子和相鄰的核糖體結合位點或其他序列。此外，藉由包括適合於

使用中的細胞系統的強化子，可以提高表現效率（參見例如，Scharf等人, *Results Probl. Cell Differ.* [細胞分化中的結果和問題] 20: 125, 1994；和Bittner等人, *Meth. Enzymol.* [酶學方法], 153: 516, 1987）。例如，SV40強化子或CMV強化子可以用來增加哺乳動物宿主細胞中的表現。

【0498】表現載體還可以提供分泌訊息序列，該分泌訊息序列被定位以與多肽序列或與抗BTC結合部分軛合的抗體的序列形成融合蛋白或雙特異性抗體。更常見的是，此類插入的序列在包含在載體中之前與訊息序列連接。用於接收編碼抗體輕鏈和重鏈可變結構域或軛合至抗BTC結合部分的抗體的序列的載體有時也編碼恒定區或其部分。此類載體允許將可變區表現為與恒定區的融合蛋白或雙特異性抗體，從而導致產生完整抗體或其抗原結合片段。典型地，此類恒定區係人的。

【0499】本揭露提供了產生抗體或其抗原結合片段之方法，該方法包括在適合表現抗BTC抗體或其抗原結合片段和/或包含BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子之條件下，培養如下文所述之宿主細胞。在一方面，該方法進一步包括純化抗BTC抗體或其抗原結合片段和/或包含BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子。

【0500】用於攜帶並表現抗BTC結合部分和/或包含BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子之宿主細胞可為原核或真核的。大腸桿菌係一種可用於選殖並表現本揭露之多核苷酸的原核宿主。適合使用的其他微生物宿主包括桿菌（例如，枯草芽孢桿菌）和其他腸桿菌科（例如，沙門氏菌屬、沙雷氏菌屬）以及各種假單胞菌屬的物種。在該等原核宿主中，還可以製備表現載體，其典型地含有與宿主細胞相容的表現控制序列（例如，複製的起點）。此外，將存在任何數量的多種熟知的啟動子，如乳糖啟動子系統、色胺酸（*trp*）啟動子系統、 β -內醯胺酶啟動子系統或來自噬菌體 λ 的啟動子系統。啟動子典型地視需

要使用操縱基因序列控制表現，並且具有核糖體結合位點序列等，以用於啟動和完成轉錄和翻譯。其他微生物例如酵母也可用於表現本文所述之抗BTC結合部分和/或包含BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子。也可以使用與桿狀病毒載體組合的昆蟲細胞。

【0501】 在一些較佳的方面，使用哺乳動物宿主細胞來表現並產生本揭露之抗BTC結合部分和/或包含BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子。例如，它們可為表現內源性免疫球蛋白基因的融合瘤細胞系或攜帶外源表現載體的哺乳動物細胞系。該等包括任何正常的必死或正常或異常的永生的動物或人細胞。例如，已經開發了許多能夠分泌完整免疫球蛋白的合適宿主細胞系，該等宿主細胞系係熟悉該項技術者已知的並且包括CHO細胞系、各種Cos細胞系、HeLa細胞、骨髓瘤細胞系、轉化的B細胞和融合瘤。利用哺乳動物組織細胞培養表現多肽一般在例如Winnacker, *From Genes to Clones* [從基因到選殖], VCH Publishers [VCH出版公司], 紐約市紐約州 (N.Y., N.Y.), 1987中討論。用於哺乳動物宿主細胞的表現載體可包含表現控制序列，例如複製起點、啟動子和強化子（參見例如，Queen等人, *Immunol. Rev.* [免疫學評論] 89: 49-68, 1986），和必要的處理資訊位點，例如，核糖體結合位點、RNA剪接位點、多腺苷酸化位點和轉錄終止子序列。該等表現載體通常含有衍生自哺乳動物基因或衍生自哺乳動物病毒的啟動子。合適的啟動子可為組成型的、細胞類型特異性的、階段特異性的和/或可調控的或可調節的。可用啟動子包括但不限於金屬硫蛋白啟動子、組成型腺病毒主要晚期啟動子、地塞米松誘導型MMTV啟動子、SV40啟動子、MRP polIII啟動子、組成型MPSV啟動子、四環素誘導型CMV啟動子（如人CMV立即早期啟動子）、組成型CMV啟動子和本領域已知的啟動子-強化子組合。

【0502】 用於引入含有感興趣的多核苷酸序列的表現載體的方法根據細胞宿主的類型而變化。例如，氯化鈣轉染通常用於原核細胞，而磷酸鈣處理或電

穿孔可用於其他細胞宿主。(通常參見Sambrook等人)。其他方法包括例如電穿孔、磷酸鈣處理、脂質體介導的轉化、注射和顯微注射、衝擊法、病毒體、免疫脂質體、聚陽離子:核酸軛合物、裸DNA、人工病毒粒子、與疱疹病毒結構蛋白VP22的融合物(Elliot和O'Hare, *Cell* [細胞] 88: 223, 1997)、藥劑增強的DNA攝取和離體轉導。對於重組蛋白的長期高產量產生,通常期望穩定的表現。

【0503】例如,可以使用含有病毒複製起點或內源性表現元件和選擇性標誌物基因的本揭露之表現載體來製備穩定表現抗BTC結合部分和/或包含BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子之細胞系。在引入載體之後,可以允許細胞在富集的培養基中生長1-2天,之後將它們轉換至選擇性培養基。選擇性標誌物之目的係賦予選擇抗性,並且它的存在允許在選擇性培養基中成功地表現引入的序列的細胞的生長。可以使用適合於細胞類型的組織培養技術來增殖抗性、穩定轉染的細胞。本揭露進一步提供了用於產生本文所述之抗BTC結合部分和/或軛合至抗BTC結合部分的分子之方法,其中在適合產生一或多種抗BTC結合部分和/或軛合至抗BTC結合部分的分子之條件下,培養能夠產生如本文所述之抗BTC結合部分或軛合至抗BTC結合部分的分子的宿主細胞。該方法可進一步包括分離本揭露之抗BTC結合部分和/或軛合至抗BTC結合部分的分子。

【0504】可以使用含有核酸序列的表現載體向眼睛中遞送基因,該核酸序列編碼本揭露之抗BTC結合部分和/或包含BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子。在本揭露之某些方面,表現載體編碼與本揭露之一或多種抗BTC結合部分連接的抗體並適用於遞送至眼睛中。在本揭露之其他方面,治療結合部分和抗BTC結合部分在適用於遞送至眼睛中的一或多種表現載體中編碼。用於遞送基因產物至眼睛中的方法係本領域已知的。

ix. 抗體產生

【0505】多肽和抗體以及其片段可以藉由多種技術產生，該等技術包括常規的單株抗體方法，例如Kohler和Milstein, (1975) *Nature* [自然] 256: 495的標準體細胞雜交技術。

【0506】可以基於如貫穿本揭露所述製備的鼠單株抗體的序列來製備本揭露之嵌合抗體或人源化抗體。編碼重鏈和輕鏈免疫球蛋白的DNA可以從感興趣的鼠融合瘤獲得，並使用標準分子生物學技術工程化以含有非鼠（例如，人）免疫球蛋白序列。例如，為產生嵌合抗體，可以使用本領域已知的方法將鼠可變區與人恒定區連接（參見例如，Cabilly等人的美國專利案號4,816,567）。為產生人源化抗體，可以使用本領域已知的方法將鼠CDR區插入人框架中。參見例如，Winter的美國專利案號5,225,539和Queen等人的美國專利案號5530101; 5585089; 5693762和6180370。

【0507】在某些方面，本揭露之抗體係人單株抗體。此類針對BTC和/或VEGF的人單株抗體可以使用攜帶人免疫系統而不是小鼠系統的部分的轉基因或轉染色體小鼠來產生。該等轉基因和轉染色體小鼠包括在本文中分別被稱為HuMAb小鼠和KM小鼠的小鼠，並且在本文中統稱為「人Ig小鼠」。在另一方面，本揭露之人抗體可以使用在轉基因和轉染色體上攜帶人免疫球蛋白序列的小鼠，例如，攜帶人重鏈轉基因和人輕鏈轉染色體的小鼠中產生。此類小鼠，在本文中被稱為「KM小鼠」，在Ishida等人的PCT公開WO 02/43478中有詳細描述。

【0508】仍進一步，表現人免疫球蛋白基因的可替代的轉基因動物系統可在本領域中獲得並且可以用於產生本揭露之抗體。例如，可以使用被稱為Xenomouse（安根尼克斯公司（Abgenix, Inc.））的可替代的轉基因系統。此類小鼠描述於例如，Kucherlapati等人的美國專利案號5,939,598、6,075,181; 6,114,598; 6,150,584和6,162,963中。

【0509】此外，表現人免疫球蛋白基因的可替代的轉染色體動物系統係本領域可獲得的，並且可用於產生本揭露之抗體。例如，可以使用攜帶人重鏈轉染色體和人輕鏈轉染色體的稱為「TC小鼠」的小鼠；此類小鼠描述於Tomizuka等人, 2000 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* [美國國家科學院院刊] 97: 722-727中。此外，本領域已經描述了攜帶人重鏈和輕鏈轉染色體的牛（Kuroiwa等人, 2002 *Nature Biotechnology* [自然生物技術] 20: 889-894），並且可以用於產生本揭露之抗體。

【0510】還可以使用用於篩選人免疫球蛋白基因文庫的噬菌體展示方法來製備本揭露之人單株抗體。用於分離人抗體的此類噬菌體展示方法在本領域中建立或在以下實例中描述。參見例如：美國專利案號5,223,409；5,403,484；和5,571,698（屬於Ladner等人）；美國專利案號5,427,908和5,580,717（屬於Dower等人）；美國專利案號5,969,108和6,172,197（屬於McCafferty等人）；和美國專利案號5,885,793；6,521,404；6,544,731；6,555,313；6,582,915和6,593,081。

【0511】本揭露之人單株抗體也可以使用SCID小鼠製備，人免疫細胞已經重建至該SCID小鼠中，使得免疫時可以產生人抗體響應。此類小鼠描述於例如，Wilson等人的美國專利案號5,476,996和5,698,767中。

【0512】可以使用標準分子生物學技術來製備和表現改變的抗BTC結合部分和/或抗VEGF結合部分的序列。由一或多個改變的序列編碼的改變的抗BTC結合部分或抗VEGF結合部分係保留改變的抗BTC結合部分或抗VEGF結合部分的一個、一些或全部功能特性的抗BTC結合部分或抗VEGF結合部分。

【0513】在將抗BTC結合部分或抗VEGF結合部分工程化的方法的某些方面，可以沿著抗BTC抗體或抗VEGF抗體編碼序列的全部或部分隨機或選擇性地引入突變，並且可以針對結合活性和/或如本文所述之其他功能特性篩選所得的經修飾的抗BTC抗體或抗VEGF抗體。本領域中已經描述了突變方法。例如，Short的PCT公開WO 02/092780描述了使用飽和誘變、合成連接組裝、或其組合產生並

篩選抗體突變之方法。可替代地，Lazar等人的PCT公開WO 03/074679描述了使用計算篩選方法來優化抗體的生理化學特性之方法。

【0514】 在本揭露之某些方面，可以將抗體工程化來除去脫醯胺基作用的位點。已知脫醯胺基作用導致肽或蛋白質中的結構和功能變化。脫醯胺基作用可導致降低的生物活性、以及蛋白質藥物的藥物動力學和抗原性改變 (*Anal Chem.* [分析化學] 2005年3月1日；77 (5): 1432-9)。在本揭露之某些其他方面，可以將抗體和抗BTC抗體或其功能片段工程化以添加或除去蛋白酶切割位點。

【0515】 從包括新的世界成員如美洲駝物種（羊駝、大羊駝和小羊駝）在內的駱駝和單峰駝（雙峰駱駝和單峰駱駝）家族成員獲得的抗體蛋白質已經針對大小、結構複雜性和對於人受試者的抗原性進行了表徵。來自自然界中發現的該哺乳動物家族的某些IgG抗體缺少輕鏈，因此在結構上不同於來自其他動物的抗體的具有兩條重鏈和兩條輕鏈的典型四鏈四級結構。參見PCT/EP 93/02214(1994年3月3日公開的WO 94/04678)。

【0516】 藉由遺傳工程化獲得駱駝科動物抗體的區域（它係被鑒定為VHH的小的單可變結構域）以產生對靶標具有高親和力的小蛋白質，從而產生稱為「駱駝科動物奈米抗體」的低分子量抗體衍生蛋白。參見1998年6月2日發表的美國專利案號5,759,808；還參見Stijlemans, B. 等人, 2004 *J. Biol. Chem.* [生物化學雜誌] 279: 1256-1261；Dumoulin, M. 等人, 2003 *Nature* [自然] 424: 783-788；Pleschberger, M. 等人2003 *Bioconjugate Chem.* [生物軛合化學] 14: 440-448；Cortez-Retamozo, V. 等人2002 *Int. J. Cancer.* [國際癌症雜誌] 89: 456-62；和Lauwereys, M. 等人1998 *EMBO J.* 17: 3512-3520。駱駝科動物抗體和抗原結合片段的工程化文庫可例如從比利時根特（Ghent）的Ablynx公司商購獲得。與非人來源的其他抗體一樣，可以重組地改變駱駝科動物抗體的胺基酸序列以獲得更接近地類似於人序列的序列，即奈米抗體可為「人源化的」。

【0517】駱駝科動物奈米抗體的分子量為人IgG分子的約十分之一，並且該蛋白質的物理直徑僅為幾奈米。小尺寸的一個結果係駱駝科動物奈米抗體結合抗原位點的能力，該抗原位點對於較大的抗體蛋白質係功能上不可見的，即，駱駝科動物奈米抗體可用作檢測對於使用經典免疫學技術而言隱蔽的抗原的試劑，以及可用作可能的治療劑。因此，小尺寸的又另一個結果係駱駝科動物奈米抗體可以由於結合靶蛋白的溝槽或狹窄裂縫中的特異性位點而抑制，因此可以具有與經典抗體相比更接近地類似於經典低分子量藥物的功能的能力。

【0518】低分子量和緊湊的尺寸還導致駱駝科動物奈米抗體極其熱穩定、對極端pH和蛋白水解消化穩定，並且抗原性差。另一個結果係駱駝科動物奈米抗體容易從循環系統移動到組織中。奈米抗體還可以促進跨血腦屏障的藥物轉運。參見2004年8月19日公開的美國專利申請20040161738。另外，該等分子可以在如大腸桿菌等原核細胞中完全表現，並且表現為與噬菌體的雙特異性抗體或融合蛋白並且係功能性的。

【0519】因此，本揭露之特徵係對例如BTC具有高親和力的駱駝科動物抗體或奈米抗體（即，在抗BTC結合部分處於駱駝科動物抗體或奈米抗體形式的情況下）。在本文中之某些方面，駱駝科動物抗體或奈米抗體係使用本文針對其他抗體所述之技術在駱駝科動物中天然產生的，即，是在用BTC或其肽片段免疫後由駱駝科動物產生的。可替代地，以適當的靶標使用淘選程序，從展示出適當誘變的駱駝科動物奈米抗體蛋白質的噬菌體文庫中工程化（即，例如藉由選擇產生）駱駝科動物奈米抗體。工程化的奈米抗體可以藉由遺傳工程化進一步定制。駱駝科動物奈米抗體可以例如對治療靶標具有特異性，並連接至如本文所述之抗BTC結合部分。在特定方面，駱駝科動物抗體或奈米抗體藉由將本揭露之人抗體的重鏈或輕鏈的CDR序列移植到奈米抗體或單結構域抗體框架序列中而獲得，如例如PCT/EP 93/02214中所述。

x. 藥物組成物

【0520】 本揭露提供了包含有效量的如本文所述之抗BTC抗體或其抗原結合片段之藥物組成物。本揭露還提供了藥物組成物，該等藥物組成物包含有效量的如本文所述之抗BTC抗體或其抗原結合片段或多特異性結合分子（例如，表1和3中所述之那些）。

【0521】 治療劑和診斷劑的藥物組成物可以藉由與生理學上可接受的載劑、賦形劑或穩定劑以例如凍乾粉末、漿液、水性溶液、洗劑或懸浮液的形式混合來製備（參見例如，Hardman等人，(2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics [Goodman和Gilman的治療的藥理學基礎], McGraw-Hill [麥格勞-希爾集團], 紐約州紐約市；Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy [雷明頓：藥學科學與實踐], Lippincott, Williams, and Wilkins [利平科特、威廉斯和威爾金斯出版公司], 紐約州紐約市；Avis等人 (編輯) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: oral Medications [藥物劑型：oral用藥], Marcel Dekker [馬塞爾德克爾公司], 紐約市；Lieberman等人 (編輯) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets [藥物劑型：片劑], Marcel Dekker [馬塞爾德克爾公司], 紐約市；Lieberman等人 (編輯) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems [藥物劑型：分散系統], Marcel Dekker [馬塞爾德克爾公司], 紐約市；Weiner和Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety [賦形劑毒性和安全性], Marcel Dekker, Inc. [馬塞爾德克爾公司], 紐約州紐約市）。

【0522】 在某些特定方面，根據表1的抗BTC結合部分可以與藥學上可接受的賦形劑、稀釋劑或載劑在一起配製或單獨配製。本揭露還提供了包含與藥學上可接受的賦形劑、稀釋劑或載劑在一起配製或單獨配製的抗BTC結合部分的組成物。

【0523】在某些方面，本揭露提供了包含多特異性結合分子之組成物，該多特異性結合分子包含1)抗BTC結合部分，和2)抗VEGF結合部分，例如，連接至抗VEGF抗體或其抗原結合片段的抗BTC抗體或其抗原結合片段。組成物可以處於凍乾形式並且可以用水重構用於注射。組成物可包含至少10 mg、至少12 mg、至少14 mg、至少16 mg、至少18 mg、至少20 mg、至少22 mg、至少24 mg、至少26 mg、至少28 mg、至少30 mg、至少35 mg、至少40 mg、至少45 mg、或至少50 mg的雙特異性抗體（例如，包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分）。組成物可進一步包含至少10 mM、至少15 mM、至少20 mM、至少25 mM、至少30 mM、至少35 mM、至少40 mM、至少45 mM、或至少50的組胺酸，至少200 mM、至少210 mM、至少220 mM、至少230 mM、至少240 mM、或至少250 mM的蔗糖，和/或至少0.01%、至少0.02%、至少0.04%、至少0.06%、至少0.08%、至少0.1%、至少0.2%、或至少0.5%的聚山梨酯20。

【0524】本文所述之組成物可以與藥學上可接受的賦形劑、稀釋劑或載劑在一起配製。該等組成物可另外地含有適用於治療或預防例如與眼科病症或障礙相關的病症或障礙的一或多種其他治療劑。藥學上可接受的載劑增強或穩定該組成物，或可用於促進組成物的製備。藥學上可接受的載劑包括生理上相容的溶劑、分散介質、包衣、抗細菌劑和抗真菌劑、等滲劑和吸收延遲劑等。

【0525】本揭露之分子還可以藉由一或多種投與途徑使用在本領域中已知的多種方法中的一或多種來投與。如熟悉該項技術者將理解的，投與途徑和/或模式將根據所需結果而變化。抗體的所選投與途徑包括靜脈內、肌肉內、皮內、腹膜內、皮下、經脊髓或其他腸胃外投與途徑，例如藉由注射或輸注。腸胃外投與可以代表除經腸和局部投與之外的投與模式，通常藉由注射，並且包括但不限於靜脈內、肌肉內、動脈內、鞘內、囊內、眶內、心內、皮內、腹膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、被膜下、蛛網膜下、脊柱內、硬膜外和胸骨內注射和輸

注。可替代地，本揭露之組成物可以藉由非腸胃外途徑投與，例如局部、經表皮或經黏膜投與途徑，例如鼻內、口服、經陰道、經直腸、舌下或局部。

【0526】在某些方面，藥物組成物全身性投與並允許其基於對BTC的親和力定位於感興趣的組織。較佳的是，組成物適用於向眼睛直接投與；更具體地，組成物可適用於玻璃體內和/或視網膜下投與。藥學上可接受的賦形劑、稀釋劑或載劑應該適用於對眼睛投與（例如，藉由注射投與或結膜下投與），更具體地，應適用於玻璃體內投與和/或視網膜下投與。

【0527】組成物應該是無菌和流動的。可以例如藉由使用界面活性劑來維持適當的流動性。在許多情況下，較佳的是在組成物中包含等滲劑例如糖、多元醇（如甘露醇或山梨糖醇）和氯化鈉。

【0528】本揭露之藥物組成物可以按照本領域熟知和常規實施的方法製備。參見例如，Remington: The Science and Practice of Pharmacy [藥學的科學與實踐], Mack Publishing Co. [馬克出版公司], 第20版, 2000; 和 Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems [緩釋和控釋藥物遞送系統], J.R. Robinson編輯, Marcel Dekker, Inc. [馬塞爾德克爾公司], 紐約市, 1978。藥物組成物較佳的是在GMP條件下製造。典型地，治療有效（effective或efficacious）劑量的分子用於本揭露之藥物組成物中。

【0529】藉由熟悉該項技術者已知的常規方法將軛合至抗BTC結合部分或抗VEGF結合部分的分子配製成藥學上可接受的劑型。調整劑量方案以提供最佳的所需響應（例如，治療響應）。例如，如由治療情況的緊急狀態所說明的，可以投與單次推注，可以隨著時間投與若干個分次劑量，或可以按比例減少或增加劑量。可以特別有利地以劑量單位形式配製腸胃外組成物以易於投與和實現劑量均勻性。如本文所用的劑量單位形式係指適合作為用於待治療的受試者之

單元劑量的物理上離散的單位；每個單位含有經計算與所要求的藥物載劑聯合產生所需的治療效果的預定量的活性化合物。

【0530】組成物應該是無菌和流動的。在許多情況下，較佳的是在組成物中包含等滲劑例如糖、多元醇（如甘露醇或山梨糖醇）和氯化鈉。

【0531】在某些方面，可以配製本揭露之分子或其片段以確保適當的體內分佈。

【0532】本揭露提供了包含藥物組成物的套組，該藥物組成物包含抗BTC抗體或其抗原結合片段和/或多特異性結合分子，例如，包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子。

【0533】在一方面，套組進一步包括使用說明書，使用說明書可提供劑量、投與途徑、方案和總治療。在另一方面，套組進一步包括用於投與本揭露之分子的工具，例如，自動注射器、注射器、小瓶、預填充注射器、和/或預填充筆。

【0534】該等套組可含有另外的治療劑用於治療患有BTC和/或VEGF介導的病理性障礙（例如，DME）的受試者。在一方面，另外的治療劑包括但不限於Beovu/布洛賽珠單抗、Lucentis/蘭尼單抗、Avastin/貝伐珠單抗、Eylea/阿柏西普、哌加他尼、帕唑帕尼、索拉非尼（sorafenib）、舒尼替尼、和/或雷帕黴素。

xi. 診斷用途和治療用途

【0535】本發明分子具有多種診斷和治療應用。例如，該等分子可以用於酶免疫測定，其中臂結合酶上的特定表位，並且分子的其他部分結合固定基質。Nolan等人討論了使用抗體樣分子的酶免疫測定（Nolan等人, (1990) *Biochem. Biophys. Acta*. [生物化學與生物物理學報] 1040: 1-11）。多特異性結合分子還可用於診斷各種疾病，例如，胰臟癌、乳癌、子宮內膜腺癌、肝細胞癌、頭頸部鱗狀細胞癌、胃癌、糖尿病性黃斑水腫、年齡相關性黃斑變性、新生血管性年齡相

關性黃斑變性、新生血管性青光眼、糖尿病性視網膜病變、黃斑水腫、病理性近視、視網膜靜脈阻塞、早產兒視網膜病變、斑痣性錯構瘤病相關的血管異常增殖、中心性漿液性脈絡膜視網膜病變、和急性多病灶魚鱗板狀色素上皮病。

【0536】本發明分子具有體外和體內診斷和治療用途。例如，可以將該等分子投與至培養中（例如，體外或體內）或受試者中（例如，體內）的細胞來治療、預防或診斷多種障礙。

【0537】在一方面，本揭露之分子可用於檢測生物樣本中BTC和/或VEGF的存在。如本文所用，術語「檢測」涵蓋定量或定性檢測。在某些方面，生物樣本包含細胞或組織。在某些方面，此類組織包括正常組織和/或相對於其他組織表現較高水平BTC和/或VEGF的癌性組織。

【0538】在一方面，本揭露提供了檢測生物樣本中BTC和/或VEGF的存在之方法。在某些方面，該方法包括使生物樣本與本揭露之多特異性分子在允許抗體與抗原結合之條件下接觸，和檢測抗體與抗原之間是否形成複合物。生物樣本可以包括但不限於尿液或血液樣本。

【0539】還包括診斷與BTC和/或VEGF的表現相關的障礙之方法。在某些方面，該方法包括使測試細胞與本揭露之多特異性分子接觸；藉由檢測本揭露之多特異性分子的結合來測定測試細胞中BTC和/或VEGF的表現水平（定量或定性）；和將測試細胞中BTC和/或VEGF的表現水平與對照細胞（例如，與測試細胞具有相同組織來源的正常細胞或非病毒感染細胞）中BTC和/或VEGF的表現水平相比較，其中與對照細胞相比，測試細胞中BTC和/或VEGF的較高存在水平說明存在與BTC和/或VEGF相關的障礙。在某些方面，測試細胞從疑似患有由BTC和/或VEGF介導的病理性障礙的個體獲得。

【0540】 本文所述之分子可用作藥物。如下文（例如，在實例13中）所提供，抗BTC抗體和抗VEGF抗體的組合治療出人意料地導致相對於對照動物，動物模型中視網膜滲漏降低77%。

【0541】 特別地，本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段和/或多特異性結合分子可用於治療胰臟癌、乳癌、子宮內膜腺癌、肝細胞癌、頭頸部鱗狀細胞癌和胃癌。在另一方面，本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段和/或多特異性結合分子可用於在受試者中治療眼科病症或障礙，例如，與視網膜血管病相關的病症或障礙。

【0542】 本揭露提供了藉由向有需要的受試者投與有效量的本揭露之分子來治療由BTC和/或VEGF介導的病理性障礙之方法。由BTC和/或VEGF介導的病理性障礙包括與異常的BTC和/或VEGF水平相關或以其為特徵的病症，和/或可以藉由降低或抑制靶細胞或組織（例如，視網膜細胞）中的BTC和/或VEGF誘導的活性來治療的疾病或病症。在一方面，本揭露提供了治療與提高的BTC和/或VEGF水平和/或活性相關的疾病或障礙之方法。在一方面，該疾病或障礙係視網膜疾病或障礙，例如，DME。

【0543】 患有糖尿病的患者經常要面對眼科併發症，該等眼科併發症影響眼睛的各個部分，包括視網膜（DR或糖尿病性視網膜病變）、黃斑（DME）、晶狀體（白內障）和視神經（青光眼）。在患有1型糖尿病（T1D）和2型糖尿病（T2D）的人群中，DME的患病率因地區而異。患病率為從歐洲的11%到一些非洲國家的7.5%。全世界有超過3100萬人受到影響。大約每14個患有糖尿病的人中就有一個人患有某種程度的DME。據估計，20%具有T1D的人，以及25%具有T2D的人預期會患上DME。DME係發達國家勞動年齡人口失明的主要原因。

【0544】 DME係DR之一種亞型，最常發生在患有進行性糖尿病性視網膜病變（PDR）的患者中，但是可以在該疾病的任何階段發生。它是由視網膜下新

血管的逐漸生長引起的，該等血管滲漏液體和脂質，導致黃斑腫脹，這會導致嚴重的視力模糊，並帶來了由DR導致的失明風險。DME導致嚴重的視力損傷，包括視力模糊和影像畸變，以及色覺和暗點的變化（Yau等人, *Diabetes Care* [糖尿病護理] 35: 556-564, 2012；Ting等人, *Clin. Exp. Ophthalmol.* [臨床與實驗眼科學] 2016: 209-22）。DME係導致糖尿病性視網膜病變中視敏度下降的主要原因（在T1D中為20%而在40%中為T2D）。鑒於各種生化通路、炎症介質和血管生成因子之間的相互作用，DR/DME的病理生理學係複雜的。

【0545】 VEGF抑制劑係彌漫性累及中心凹的DME的一線治療。儘管抗VEGF劑減輕黃斑水腫，抑制血管生成並改善視力，但是並非所有DME患者都會在視力方面經歷延長的實質性改善或者對治療響應充分，這說明在該疾病的病理中還存在其他介質的作用。

【0546】 本揭露提供了藉由向有需要的受試者投與有效量的本揭露之分子（例如，抗BTC抗體或其抗原結合片段或包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子）來治療眼科障礙（例如，DME）之方法。本揭露還提供了藉由向有需要的受試者投與有效量的本揭露之分子（例如，抗BTC抗體或其抗原結合片段或包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子）來預防眼科障礙（例如，DME）的進展之方法。

【0547】 本揭露進一步提供了藉由向有需要的受試者投與有效量的本揭露之分子來治療糖尿病性視網膜病變(DR)或增生型糖尿病性視網膜病變(PDR)之方法。

【0548】 本揭露進一步提供了藉由向有需要的受試者投與有效量的本揭露之分子來治療年齡相關性黃斑變性(AMD，例如，新生血管性AMD)之方法。

【0549】 仍進一步，本揭露提供了藉由向有需要的受試者投與有效量的本揭露之分子來治療視網膜靜脈阻塞(RVO)(包括視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)、

視網膜靜脈分枝阻塞（BRVO））、和CRVO或BRVO繼發性黃斑水腫、血管性水腫、多發性脈絡膜炎、近視性脈絡膜新血管形成、和/或早產兒視網膜病變、脈絡膜新血管形成（CNV）、視網膜血管通透性、和/或包括與nAMD（新生血管性AMD）相關的CNV、與視網膜缺血相關的後遺症之方法。

【0550】可以由眼科醫生或醫療保健專業人員使用視功能和/或視網膜解剖學的臨床相關測量來確定視網膜疾病（例如，黃斑水腫、DME、PDR或DR和AMD（例如，新生血管性AMD））的治療和/或預防。與視網膜血管病相關的病症或障礙的治療意指帶來或預期帶來視功能和/或視網膜解剖學改善或保持的任何措施（例如，投與本文所述之BTC抗體或其抗原結合片段和/或多特異性結合分子）。此外，在涉及與視網膜血管病相關的病症或障礙時，預防意指在處於如本文所定義的視功能、視網膜解剖學、和/或視網膜血管病參數惡化風險的患者中，預防或減緩所述惡化的任何措施（例如，投與本文所述之BTC抗體或其抗原結合片段和/或多特異性結合分子）。

【0551】視功能可以包括例如視敏度、低照度視敏度、視野、中央視野、周邊視力、對比敏感度、暗適應、光應力恢復、辨色力、閱讀速度、輔助裝置依賴性（例如大字體、放大裝置、望遠鏡）、面部識別、駕駛機動車熟練程度、進行日常生活中的一項或多項活動之能力、和/或患者報告的視功能相關滿意度。

【0552】本揭露進一步提供了藉由向有需要的受試者投與有效量的本揭露之分子來改善視功能或防止視功能進一步下降之方法。

【0553】視功能的示例性測量包括Snellen視敏度、ETDRS視敏度、低照度視敏度、Amsler方格表、Goldmann視野、Humphrey視野、微視野檢查（microperimetry）、Pelli-Robson圖表、SKILL卡片、Ishihara色板、Farnsworth D15或D100色彩測試、標準視網膜電描記術、多焦視網膜電描記術、經驗證的閱讀速度測試、面部識別、駕駛模擬和患者報告的滿意度。因此，血管疾病和/或黃

斑水腫的治療可以說是通過獲得或未喪失ETDRS量表上的2行或更多行（或10字母）的視力後來達到。此外，血管疾病和/或黃斑水腫的治療可以說是在以下情況時發生：受試者在閱讀速度方面（每分鐘字數）表現出提高至少10%或降低沒有10%。此外，血管疾病和/或黃斑水腫的治療可以說是在以下情況時發生：受試者表現出Ishihara測試上正確鑒別的板或Farnsworth測試上正確排序的盤的比例提高至少20%或降低沒有20%。進一步，視網膜血管病和/或黃斑水腫的治療可以說是在以下情況時發生：受試者的預指定暗適應程度時間例如減少至少10%或沒有10%或更多的增加。此外，視網膜血管病和/或黃斑水腫的治療可以說是在以下情況時發生：受試者表現出由合格的醫療保健專業人員（即，眼科醫生）所確定的表示為視角的視暗點總面積例如減少至少10%或沒有10%或更多的增加。

【0554】 可能被治療或預防的視網膜解剖學的不良方面包括，例如，微動脈瘤、黃斑水腫、棉絮狀斑（cotton-wool spot）、視網膜內微血管異常（IRMA）、毛細血管脫落（capillary dropout）、白血球黏附、視網膜缺血、視訊光碟新血管形成、後極新血管形成、虹膜新血管形成、視網膜內出血、玻璃體出血、黃斑瘢痕、視網膜下纖維增生、和視網膜纖維增生、靜脈擴張、血管紆曲（vascular tortuosity）、血管滲漏。因此，例如黃斑水腫的治療可以藉由以下來確定：如藉由光同調斷層掃描所測量，視網膜中央子域厚度減小20%或更多。

【0555】 評估視網膜解剖學之示例性手段包括眼底鏡檢查、眼底照相術、螢光素血管造影、靛青綠血管造影、光同調斷層掃描（OCT）、譜域光同調斷層掃描、掃描雷射檢眼鏡檢查、共焦顯微術、自我調整光學、眼底自發螢光、活組織檢查、屍體剖檢和免疫組織化學。因此，如藉由螢光素血管造影所確定，當滲漏面積減少10%時，可以說受試者中血管疾病和/或黃斑水腫得到治療。還可向待用本揭露之治療劑治療的受試者以治療糖尿病相關病症的已知的方法（例如，所有形式的胰島素和抗高血壓藥物治療）投與其他的治療劑。

【0556】 眼部疾病(例如,黃斑水腫、DME、AMD(例如,新生血管性AMD)、視網膜靜脈阻塞(RVO)、血管性水腫、多發性脈絡膜炎、近視性脈絡膜新血管形成、和/或早產兒視網膜病變)的治療和/或預防可以由眼科醫生或醫療保健專業人員使用視功能和/或視網膜解剖學的臨床相關測量藉由貫穿本揭露所述之測量中的任一種來確定。儘管本文所述之測量不適用於本文中的每一種眼部疾病,但熟悉該項技術者將認識到可用於治療給定眼部疾病的視功能和/或視網膜解剖學的臨床相關測量。

【0557】 當本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段與另一種藥劑一起投與時,這兩者可以按順序依次投與或同時投與。在一些方面,本揭露之抗BTC抗體或其抗原結合片段向還接受使用第二藥劑(例如,Beovu/布洛賽珠單抗、Lucentis/蘭尼單抗、Avastin/貝伐珠單抗、Eylea/阿柏西普、哌加他尼、帕唑帕尼、索拉非尼、舒尼替尼、和雷帕黴素)的療法的受試者投與。組合治療方案可為累加的,或者其可以產生協同結果(例如,視網膜病變的嚴重性降低,其超過對兩種藥劑的組合使用的預期)。

【0558】 更進一步地,本揭露關於藉由向有需要的受試者投與有效量的軛合至抗BTC結合部分的治療分子來治療障礙(例如,眼部障礙)之方法。預期該等分子軛合至在眼睛中結合BTC的抗BTC結合部分,其KD小於或等於100 μM 。例如,抗BTC結合部分可以小於或等於50 μM 、40 μM 、30 μM 、20 μM 、10 μM 、5 μM 、4 μM 、3 μM 、2 μM 、1 μM 、0.5 μM 、0.1 μM 、0.05 μM 、0.01 μM 、或0.005 μM 的KD結合BTC。在一方面,分子軛合至抗BTC結合部分,該抗BTC結合部分以小於或等於100.0 μM 的KD結合BTC。在一方面,分子軛合至抗BTC結合部分,該抗BTC結合部分以小於或等於10 μM 的KD結合BTC。在一方面,軛合至抗BTC結合部分的分子包含以小於或等於5.0 μM 的KD結合BTC的抗BTC結合部分。在一方面,軛合至抗BTC抗體或其功能片段的分子包含以小於或等於1.0 μM 的KD

結合BTC的抗BTC結合部分。在進一步的方面，前述方法進一步包括在投與步驟之前，診斷患有這種病症或障礙的受試者之步驟。

xii. 給藥

【0559】為治療劑選擇投與方案取決於若干種因素，包括實體的血清或組織周轉速率、體征或症狀水平、實體的免疫性和生物基質中的靶細胞可及性。在某些方面，投與方案使遞送至患者的與可接受水平的副作用一致的治療劑的量達最大。

【0560】投與的劑量和頻率可以根據治療是預防性還是治療性而變化。投與本文所述之抗BTC結合部分和/或包含BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子帶來劑量和給藥頻率的臨床上有意義的改善，例如，劑量減少和/或給藥頻率降低。實現劑量和給藥頻率的臨床上有意義的改善可以根據組成物最初的起始劑量不同而變化。

【0561】多特異性結合分子（包含本文所述之BTC結合部分和抗VEGF結合部分）的組成物可以在多種情況下投與。單次劑量之間的時間隔可為每週或每月。如患者對再治療的需要所說明的，基於例如視敏度或疾病活性，間隔也可為無規律的。此外，可替代的給藥間隔可以由醫生確定並且每月或按有效性的需要投與。

【0562】在一方面，包含本文所述之BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子（例如，NVS11）在治療眼部疾病（例如，黃斑水腫、DME、AMD、新生血管性AMD、和/或RVO）中的功效係基於視網膜中央厚度（CRT，以 μm 為單位）的減小，例如，如在ETDRS中央子域譜域光同調斷層掃描（SD-OCT）中所測量的。在另一方面，包含本文所述之BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子（例如，NVS11）在治療眼部疾病（例如，黃斑水腫、

DME、AMD、新生血管性AMD、和/或RVO）中的功效係基於最佳校正視敏度（BCVA）的改善，例如，如以字母所測量的。

【0563】投與的劑量和頻率可以根據例如治療是預防性還是治療性而變化，並且受到給藥的分子之半衰期的影響。本文所述之分子的投與帶來劑量和給藥頻率的臨床上有意義的改善。例如，該等分子可以相比於未軛合的分子更低的頻率給藥。實現劑量和給藥頻率的臨床上有意義的改善可以根據組成物最初的起始劑量不同而變化。

【0564】特定患者的有效量可根據如下因素而變化，例如所治療的病症、患者的整體健康狀況、投與的方法途徑和劑量以及副作用的嚴重性（參見例如，Maynard等人, (1996) A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice [良好臨床實踐的SOP手冊], Interpharm Press [Interpharm出版社], Boca Raton [博卡拉頓], Fla. [佛羅里達州]；Dent (2001) Good Laboratory and Good Clinical Practice [良好實驗和良好臨床實踐], Urch Publ. [厄奇出版社], 英國倫敦）。

【0565】本文所述之係預防或治療眼部疾病（例如，黃斑水腫、DME、AMD、新生血管性AMD、或RVO）之方法，該方法包括以從約0.25 mg/眼至7.5 mg/眼或從約7.5 mg/眼至15 mg/眼的劑量（例如以0.25 mg/眼、0.75 mg/眼、2.5 mg/眼、或7.5 mg/眼的劑量；或以8 mg/眼、8.5 mg/眼、9 mg/眼、9.5 mg/眼、10 mg/眼、10.5 mg/眼、11 mg/眼、11.5 mg/眼、12 mg/眼、12.5 mg/眼、13 mg/眼、13.5 mg/眼、14 mg/眼、14.5 mg/眼、或15 mg/眼）的劑量，向玻璃體內投與包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子。示例性治療方案需要每週一次、每兩週一次、每月一次、每2個月一次、每3個月一次、每4個月一次、每5個月一次、每6個月一次或根據需要（PRN）在玻璃體內投與。在一方面，7.5 mg/眼係最大可行劑量。在另一方面，7.5 mg/眼係最大可行安全劑量。

【0566】 在一方面，包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子可以0.25 mg/眼、0.3 mg/眼、0.35 mg/眼、0.4 mg/眼、0.45 mg/眼、0.5 mg/眼、0.55 mg/眼、0.6 mg/眼、0.65 mg/眼、0.7 mg/眼、0.75 mg/眼、0.8 mg/眼、0.85 mg/眼、0.9 mg/眼、0.95 mg/眼、1.0 mg/眼、1.1 mg/眼、1.2 mg/眼、1.3 mg/眼、1.4 mg/眼、1.5 mg/眼、1.6 mg/眼、1.7 mg/眼、1.8 mg/眼、1.9 mg/眼、2.0 mg/眼、2.1 mg/眼、2.2 mg/眼、2.3 mg/眼、2.4 mg/眼、2.5 mg/眼、2.6 mg/眼、2.7 mg/眼、2.8 mg/眼、2.9 mg/眼、3.0 mg/眼、3.1 mg/眼、3.2 mg/眼、3.3 mg/眼、3.4 mg/眼、3.5 mg/眼、3.6 mg/眼、3.7 mg/眼、3.8 mg/眼、3.9 mg/眼、4.0 mg/眼、4.1 mg/眼、4.2 mg/眼、4.3 mg/眼、4.4 mg/眼、4.5 mg/眼、4.6 mg/眼、4.7 mg/眼、4.8 mg/眼、4.9 mg/眼、5.0 mg/眼、5.1 mg/眼、5.2 mg/眼、5.3 mg/眼、5.4 mg/眼、5.5 mg/眼、5.6 mg/眼、5.7 mg/眼、5.8 mg/眼、5.9 mg/眼、6.0 mg/眼、6.1 mg/眼、6.2 mg/眼、6.3 mg/眼、6.4 mg/眼、6.5 mg/眼、6.6 mg/眼、6.7 mg/眼、6.8 mg/眼、6.9 mg/眼、7.0 mg/眼、7.1 mg/眼、7.2 mg/眼、7.3 mg/眼、7.4 mg/眼、或7.5 mg/眼的劑量，在例如玻璃體內投與。

【0567】 在另一方面，包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子可以0.25 mg/眼和0.75 mg/眼之間、0.3 mg/眼和0.75 mg/眼之間、0.35 mg/眼和0.75 mg/眼之間、0.4 mg/眼和0.75 mg/眼之間、0.45 mg/眼和0.75 mg/眼之間、0.5 mg/眼和0.75 mg/眼之間、0.55 mg/眼和0.75 mg/眼之間、0.6 mg/眼和0.75 mg/眼之間、0.65 mg/眼和0.75 mg/眼之間、0.7 mg/眼和0.75 mg/眼之間、0.25 mg/眼和0.7 mg/眼之間、0.25 mg/眼和0.65 mg/眼之間、0.25 mg/眼和0.6 mg/眼之間、0.25 mg/眼和0.55 mg/眼之間、0.25 mg/眼和0.5 mg/眼之間、0.25 mg/眼和0.45 mg/眼之間、0.25 和0.4 mg/眼之間、0.25 mg/眼和0.35 mg/眼之間、0.25 mg/眼和0.3 mg/眼之間、0.3 和0.7 mg/眼之間、0.35 mg/眼和0.65 mg/眼之間、0.4 mg/眼和0.6 mg/眼之間、0.45 mg/眼和0.55 mg/眼之間、0.35 mg/眼和0.45 mg/眼之

間、0.45 mg/眼和0.55 mg/眼之間、或0.55 mg/眼和0.65 mg/眼之間的劑量，在例如玻璃體內投與。

【0568】在另一方面，包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子可以0.75 mg/眼和2.5 mg/眼之間、0.8 mg/眼和2.5 mg/眼之間、0.85 mg/眼和2.5 mg/眼之間、0.9 mg/眼和2.5 mg/眼之間、0.95 mg/眼和2.5 mg/眼之間、1 mg/眼和2.5 mg/眼之間、1.25 mg/眼和2.5 mg/眼之間、1.5 mg/眼和2.5 mg/眼之間、1.75 mg/眼和2.5 mg/眼之間、2 mg/眼和2.5 mg/眼之間、2.25 mg/眼和2.5 mg/眼之間、0.75 mg/眼和2.25 mg/眼之間、0.75 mg/眼和2 mg/眼之間、0.75 mg/眼和1.75 mg/眼之間、0.75 mg/眼和1.5 mg/眼之間、0.75 mg/眼和1.25 mg/眼之間、0.75 mg/眼和1 mg/眼之間、0.8 mg/眼和2.25 mg/眼之間、0.85 mg/眼和2 mg/眼之間、0.9 mg/眼和1.75 mg/眼之間、0.95 mg/眼和1.5 mg/眼之間、1 mg/眼和1.25 mg/眼之間、0.8 mg/眼和0.9 mg/眼之間、0.9 mg/眼和1 mg/眼之間、1 mg/眼和1.25 mg/眼之間、1.25 mg/眼和1.5 mg/眼之間、1.5 mg/眼和1.75 mg/眼之間、1.75 mg/眼和2 mg/眼之間、2 mg/眼和2.25 mg/眼之間、或2.25 mg/眼和2.5 mg/眼之間的劑量，在例如玻璃體內投與。

【0569】在一方面，包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子可以2.5 mg/眼和7.5 mg/眼之間、2.75 mg/眼和7.5 mg/眼之間、3 mg/眼和7.5 mg/眼之間、3.25 mg/眼和7.5 mg/眼之間、3.5 mg/眼和7.5 mg/眼之間、3.75 mg/眼和7.5 mg/眼之間、4 mg/眼和7.5 mg/眼之間、4.25 mg/眼和7.5 mg/眼之間、4.5 mg/眼和7.5 mg/眼之間、4.75 mg/眼和7.5 mg/眼之間、5 mg/眼和7.5 mg/眼之間、5.25 mg/眼和7.5 mg/眼之間、5.5 mg/眼和7.5 mg/眼之間、5.75 mg/眼和7.5 mg/眼之間、6 mg/眼和7.5 mg/眼之間、6.25 mg/眼和7.5 mg/眼之間、6.5 mg/眼和7.5 mg/眼之間、6.75 mg/眼和7.5 mg/眼之間、7 mg/眼和7.5 mg/眼之間、7.25 mg/眼和7.5 mg/眼之間、2.5 mg/眼和7.25 mg/眼之間、2.5 mg/眼和7 mg/眼之

間、2.5 mg/眼和6.75 mg/眼之間、2.5 mg/眼和6.5 mg/眼之間、2.5 mg/眼和6.25 mg/眼之間、2.5 mg/眼和6 mg/眼之間、2.5 mg/眼和5.75 mg/眼之間、2.5 mg/眼和5.5 mg/眼之間、2.5 mg/眼和5.25 mg/眼之間、2.5 mg/眼和5 mg/眼之間、2.5 mg/眼和4.75 mg/眼之間、2.5 mg/眼和4.5 mg/眼之間、2.5 mg/眼和4.25 mg/眼之間、2.5 mg/眼和4 mg/眼之間、2.5 mg/眼和3.75 mg/眼之間、2.5 mg/眼和3.5 mg/眼之間、2.5 mg/眼和3.25 mg/眼之間、2.5 mg/眼和3 mg/眼之間、2.5 mg/眼和2.75 mg/眼之間、2.75 mg/眼和7.25 mg/眼之間、3 mg/眼和7 mg/眼之間、3.25 mg/眼和6.75 mg/眼之間、3.5 mg/眼和6.5 mg/眼之間、3.75 mg/眼和6.25 mg/眼之間、4 mg/眼和6 mg/眼之間、4.25 mg/眼和5.75 mg/眼之間、4.5 mg/眼和5.5 mg/眼之間、4.75 mg/眼和5.25 mg/眼之間、2.75 mg/眼和3 mg/眼之間、3 mg/眼和3.25 mg/眼之間、3.25 mg/眼和3.5 mg/眼之間、3.5 mg/眼和3.75 mg/眼之間、3.75 mg/眼和4 mg/眼之間、4 mg/眼和4.25 mg/眼之間、4.25 mg/眼和4.5 mg/眼之間、4.5 mg/眼和4.75 mg/眼之間、4.75 mg/眼和5 mg/眼之間、5 mg/眼和5.25 mg/眼之間、5.25 mg/眼和5.5 mg/眼之間、5.5 mg/眼和5.75 mg/眼之間、5.75 mg/眼和6 mg/眼之間、6 mg/眼和6.25 mg/眼之間、6.25 mg/眼和6.5 mg/眼之間、6.5 mg/眼和6.75 mg/眼之間、6.75 mg/眼和7 mg/眼之間、7 mg/眼和7.25 mg/眼之間、或7.25 mg/眼和7.5 mg/眼之間的劑量，在例如玻璃體內投與。

【0570】 在一方面，包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子可以7.5 mg/眼和15 mg/眼之間、8 mg/眼和15 mg/眼之間、8.5 mg/眼和15 mg/眼之間、9 mg/眼和15 mg/眼之間、9.5 mg/眼和15 mg/眼之間、10 mg/眼和15 mg/眼之間、10.5 mg/眼和15 mg/眼之間、11 mg/眼和15 mg/眼之間、11.5 mg/眼和15 mg/眼之間、12 mg/眼和15 mg/眼之間、12.5 mg/眼和15 mg/眼之間、13 mg/眼和15 mg/眼之間、13.5 mg/眼和15 mg/眼之間、14 mg/眼和15 mg/眼之間、14.5 mg/眼和15 mg/眼之間、7.5 mg/眼和14.5 mg/眼之間、7.5 mg/眼和14

mg/眼之間、7.5 mg/眼和13.5 mg/眼之間、7.5 mg/眼和13 mg/眼之間、7.5 mg/眼和12.5 mg/眼之間、7.5 mg/眼和12 mg/眼之間、7.5 mg/眼和11.5 mg/眼之間、7.5 mg/眼和11 mg/眼之間、7.5 mg/眼和10.5 mg/眼之間、7.5 mg/眼和10 mg/眼之間、7.5 mg/眼和9.5 mg/眼之間、7.5 mg/眼和9 mg/眼之間、7.5 mg/眼和8.5 mg/眼之間、7.5 mg/眼和8 mg/眼之間、8 mg/眼和14.5 mg/眼之間、8.5 mg/眼和14 mg/眼之間、9 mg/眼和13.5 mg/眼之間、9.5 mg/眼和13 mg/眼之間、10 mg/眼和12.5 mg/眼之間、10.5 mg/眼和12 mg/眼之間、11 mg/眼和11.5 mg/眼之間、8 mg/眼和8.5 mg/眼之間、8.5 mg/眼和9 mg/眼之間、9 mg/眼和9.5 mg/眼之間、9.5 mg/眼和10 mg/眼之間、10 mg/眼和10.5 mg/眼之間、10.5 mg/眼和11 mg/眼之間、11 mg/眼和11.5 mg/眼之間、11.5 mg/眼和12 mg/眼之間、12 mg/眼和12.5 mg/眼之間、12.5 mg/眼和13 mg/眼之間、13 mg/眼和13.5 mg/眼之間、13.5 mg/眼和14 mg/眼之間、14 mg/眼和14.5 mg/眼之間、或14.5 mg/眼和15 mg/眼之間的劑量，在例如玻璃體內投與。

【0571】 在某些方面，用於本文提供的方法（例如，預防或治療黃斑水腫、DME、AMD（例如，新生血管性AMD）、和/或RVO的方法）中的包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子（例如，如表3中所述，例如，NVS11或NVS11的包含LCDR和HCDR的抗體）例如藉由玻璃體內投與以0.25 mg/眼的劑量來投與。

【0572】 在另一方面，用於本文提供的方法（例如，預防或治療黃斑水腫、DME、AMD（例如，新生血管性AMD）、和/或RVO的方法）中的包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子（例如，如表3中所述，例如，NVS11或NVS11的包含LCDR和HCDR的抗體）例如藉由玻璃體內投與以0.75 mg/眼的劑量來投與。

【0573】 在另一方面，用於本文提供的方法（例如，預防或治療黃斑水腫、DME、AMD（例如，新生血管性AMD）、和/或RVO的方法）中的包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子（例如，如表3中所述，例如，NVS11或NVS11的包含LCDR和HCDR的抗體）例如藉由玻璃體內投與以1 mg/眼的劑量來投與。

【0574】 在另一方面，用於本文提供的方法（例如，預防或治療黃斑水腫、DME、AMD（例如，新生血管性AMD）、和/或RVO的方法）中的包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子（例如，如表3中所述，例如，NVS11或NVS11的包含LCDR和HCDR的抗體）例如藉由玻璃體內投與以1.5 mg/眼的劑量來投與。

【0575】 在另一方面，用於本文提供的方法（例如，預防或治療黃斑水腫、DME、AMD（例如，新生血管性AMD）、和/或RVO的方法）中的包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子（例如，如表3中所述，例如，NVS11或NVS11的包含LCDR和HCDR的抗體）例如藉由玻璃體內投與以2 mg/眼的劑量來投與。

【0576】 在另一方面，用於本文提供的方法（例如，預防或治療黃斑水腫、DME、AMD（例如，新生血管性AMD）、和/或RVO的方法）中的包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子（例如，如表3中所述，例如，NVS11或NVS11的包含LCDR和HCDR的抗體）例如藉由玻璃體內投與以2.5 mg/眼的劑量來投與。

【0577】 在另一方面，用於本文提供的方法（例如，預防或治療黃斑水腫、DME、AMD（例如，新生血管性AMD）、和/或RVO的方法）中的包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子（例如，如表3中所

述，例如，NVS11或NVS11的包含LCDR和HCDR的抗體）例如藉由玻璃體內投與以3 mg/眼的劑量來投與。

【0578】在另一方面，用於本文提供的方法（例如，預防或治療黃斑水腫、DME、AMD（例如，新生血管性AMD）、和/或RVO的方法）中的包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子（例如，如表3中所述，例如，NVS11或NVS11的包含LCDR和HCDR的抗體）例如藉由玻璃體內投與以5 mg/眼的劑量來投與。

【0579】在另一方面，用於本文提供的方法（例如，預防或治療黃斑水腫、DME、AMD（例如，新生血管性AMD）、和/或RVO的方法）中的包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子（例如，如表3中所述，例如，NVS11或NVS11的包含LCDR和HCDR的抗體）例如藉由玻璃體內投與以7.5 mg/眼的劑量來投與。

【0580】在另一方面，用於本文提供的方法（例如，預防或治療黃斑水腫、DME、AMD（例如，新生血管性AMD）、和/或RVO的方法）中的包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子（例如，如表3中所述，例如，NVS11或NVS11的包含LCDR和HCDR的抗體）例如藉由玻璃體內投與以10 mg/眼的劑量來投與。

【0581】在另一方面，用於本文提供的方法（例如，預防或治療黃斑水腫、DME、AMD（例如，新生血管性AMD）、和/或RVO的方法）中的包含本文所述之抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子（例如，如表3中所述，例如，NVS11或NVS11的包含LCDR和HCDR的抗體）例如藉由玻璃體內投與以15 mg/眼的劑量來投與。

【0582】本文所述之係預防或治療眼部疾病（例如，黃斑水腫、DME、AMD、新生血管性AMD或RVO）之方法，該方法包括以從約0.125 mg/眼至3.75

mg/眼或從約3.75 mg/眼至7.5 mg/眼的劑量（例如以0.125 mg/眼、0.375 mg/眼、1.25 mg/眼、或3.75 mg/眼的劑量；或以4 mg/眼、4.25 mg/眼、4.5 mg/眼、4.75 mg/眼、5 mg/眼、5.25 mg/眼、5.5 mg/眼、5.75 mg/眼、6 mg/眼、6.25 mg/眼、6.5 mg/眼、6.75 mg/眼、7 mg/眼、7.25 mg/眼、或7.5 mg/眼）的劑量，向玻璃體內投與本文所述之抗BTC抗體，例如，NVS1。示例性治療方案需要每週一次、每兩週一次、每月一次、每2個月一次、每3個月一次、每4個月一次、每5個月一次、每6個月一次或根據需要（PRN）在玻璃體內投與。

【0583】 本文描述了本揭露之各個（列舉的）方面。將認識到的是，每個方面指定的特徵可以與其他指定的特徵組合，以提供本揭露之另外的方面。當一方面被描述為「根據」先前方面時，先前方面包括其子方面。在整個說明書中引用的任何專利、專利申請和參考文獻的內容藉由引用以其全文併入本文。除非上下文另外要求，如本文所使用之單數術語應包括複數，並且複數術語應包括單數。

實例

【0584】 藉由以下實例進一步說明本揭露，該等實例不應解釋為進一步限制性的。

實例1. 親和力成熟的BTC抗體之篩選

【0585】 使用莫弗西斯公司（MorphoSys）的HuCAL[®]（人組合抗體文庫）技術體外分離抗BTC Fab，其中使用純化的人和小鼠β細胞素抗原來鑒定特異性抗BTC結合抗體。

【0586】 使用完全人噬菌體展示文庫來產生本文所述之β細胞素結合抗體。在溶液和固相淘選中使用生物素化和非生物素化的人和食蟹猴β細胞素。進

行了標準淘選和RapMAT策略（Prassler等人, (2009) *Immunotherapy* [免疫療法] 1 (4): 571-583）。在二次篩選和RapMAT淘選之後，選擇選殖進行序列分析並且選擇一組四個抗體轉化為FabCys形式，種系化，pI優化並去除脫醯胺化位點。使用專有RapCLONE®方法完成了FabCys的產生。按兩步法進行RapCLONE®，以便方便且有效地將大量Fab選殖轉化為IgG和FabCys形式。在第一選殖步驟中，將真核表現盒經由BsiWI/MfeI（用於K池）或HpaI/MfeI（用於λ池）消化和隨後的連接，引入表現載體pMORPH®x11中（用於HuCAL PLATINUM®）。然後進行第二選殖步驟，其中將含有表現盒的Fab池用EcoRV/BlpI（κ和λ池）消化，並且隨後選殖到pMorph®4_IgG1f或pMorph®4_h_FabCys受體載體中以便在哺乳動物細胞中表現。針對此項目，RapCLONE®僅應用於獨特的經定序並表徵的Fab。因此，在RapCLONE®之後，回收全部選殖。

【0587】 以下部分提供了篩選親和力成熟的BTC抗體的進一步細節。

a) 針對β細胞素的固相淘選

【0588】 使用HuCAL®噬菌粒文庫（Knappik等人, J Mol Biol [分子生物學雜誌] 296, 57-86, 2000）連同用於在噬菌體表面上展示Fab的CysDisplay™技術（Lohning, 2001 WO 01/05950）。

【0589】 在4°C，將96孔Maxisorp™板用300 μl抗原（加工為可溶性的）β細胞素物質包被o/n（過夜）。將包被的孔用PBS（磷酸鹽緩衝鹽水）/5%奶粉阻斷。針對每次淘選，將約 4×10^{13} HuCAL Platinum®噬菌體-抗體用等體積的PBS/0.05%吐溫20/5%奶粉/5% BSA（牛血清白蛋白）阻斷。在噬菌體阻斷期間，將另外的阻斷試劑包被到Maxisorp™板上並且將阻斷的噬菌體製劑另外地在包被的試劑上預清除以避免針對抗原標籤的抗體選擇。阻斷程序後，將300 μl預阻斷噬菌體混合物添加到每個抗原包被的和阻斷的孔中，並在微量滴定板振盪器上在RT（室

溫) 孵育2 h (小時)。然後, 先使用PBS/0.05% 吐溫20, 然後使用PBS, 藉由若干個洗滌步驟洗掉非特異性結合的噬菌體。為了洗脫特異性結合的噬菌體, 在RT, 向每孔中添加在10 mM Tris/HCl (鹽酸) 中之300 μ l 25 mM DTT (二硫蘇糖醇) (pH 8) 持續10 min。將DTT洗脫液轉移到14 ml大腸桿菌TG1中, 使其生長至OD (光密度)₆₀₀為0.6-0.8。將大腸桿菌 (*Escherichia coli*) TG1和DTT洗脫液的混合物在37°C (攝氏度) 的水浴中孵育45 min (分鐘) 以進行噬菌體感染。將細菌沈澱重懸於2xYT (酵母提取物胰蛋白胨) 培養基中, 鋪板在LB/Cam (氯黴素) 瓊脂板上, 並在30°C孵育過夜。將菌落從板上刮下並用於噬菌體拯救、所選選殖的多選殖擴增和噬菌體產生。用經純化的噬菌體開始下一輪淘選。

【0590】 根據第一輪淘選的方案進行第二輪和第三輪的固相淘選, 但要使用更嚴格的洗滌條件。

b) 針對 β 細胞素的溶液淘選

【0591】 溶液淘選的先決條件係抗原的生物素化和生物素化抗原的保留活性的確認。在溶液淘選期間, 展示Fab的噬菌體和生物素化的抗原在溶液中孵育, 這有利於噬菌體接近抗原。

c) 用卵白素偶合的磁珠進行溶液淘選方案

【0592】 將4 mg 卵白素珠 (Dynabeads® M-280 卵白素 ; 英傑公司 (Invitrogen)) /噬菌體池在1x Chemiblocker中阻斷。同時, 對於每次淘選, 將約 4×10^{13} HuCAL PLATINUM® 噬菌體-抗體用等體積的2x Chemiblocker/0.1% 吐溫20 阻斷。為了去除珠結合的噬菌體, 每次使用1 mg阻斷的卵白素珠, 進行兩次阻斷的噬菌體顆粒的預吸附。為了避免針對生物素的抗體選擇, 將1 mg卵白素珠/子代碼和選擇輪次用不相關的生物素化抗原包被, 用於噬菌體預吸附。在噬

菌體阻斷期間，將另外的非生物素化阻斷試劑添加到阻斷緩衝液中，以避免針對標籤（例如，不相關的FLAG_6xHis抗原）的抗體選擇。隨後，將生物素化的β細胞素物質（例如，100 nM）添加到預吸附和阻斷的噬菌體顆粒中，並在RT在旋轉器上孵育1-2小時。使用2 mg阻斷的卵白素珠捕獲噬菌體-抗原複合物，並且用磁性分離器收集與卵白素珠結合的噬菌體顆粒。使用PBS/0.05%吐溫20和PBS，藉由若干個洗滌步驟洗掉非特異性結合的噬菌體。為了從卵白素珠中洗脫特異性結合的噬菌體，在RT，向每孔中添加在10 mM Tris/HCl中的200 μl 25 mM DTT（pH 8）持續10 min。然後將DTT洗脫液轉移到14 ml大腸桿菌TG1中，使其生長至OD₆₀₀為0.6-0.8。將TG1和DTT洗脫液的混合物在37°C的水浴中孵育45 min以進行噬菌體感染。將細菌沈澱重懸於2xYT培養基中，鋪板在LB/Cam瓊脂板上，並在30°C孵育過夜。將菌落從板上刮下並用於噬菌體拯救、所選選殖的多選殖擴增和噬菌體產生。用經純化的噬菌體開始下一輪淘選。根據第一輪淘選的方案進行第二輪和第三輪的溶液淘選，但要使用減少的抗原量和更嚴格的洗滌條件。在一個策略中，在第三輪淘選中進行瞭解離速率選擇（Hawkins等人, J Mol Biol [分子生物學雜誌] 226, 889-896, 1992）。

d) 篩選含有Fab的細菌裂解物以進行ELISA（結合、效力）及FACS篩選

【0593】將5 μl的每種過夜培養物轉移到無菌的384孔微量滴定板中，其每孔預填充了40 μl 2xYT培養基（34 μg/ml氯黴素（Cam）；0.1%葡萄糖）。將板在37°C孵育直至培養物略微混濁。向該等表現板中每孔添加10 μl 2xYT培養基（34 μg/ml Cam和2.5 - 5 mM IPTG）。將該等板用透氣膠帶密封，並在22°C孵育過夜。向表現板的每個孔中，添加15 μl BEL緩衝液（2.5 mg/ml溶菌酶、4 mM EDTA、10 U/μl全能核酸酶（Benzonase）），並將板孵育1 h。將含有Fab的大腸桿菌裂解物用於篩選目的。用於FACS篩選的方法略有修改

e) *HuCAL PLATINUM*[®] Fab片段的亞選殖

【0594】為促進可溶性Fab的快速表現，將所選擇的*HuCAL PLATINUM*[®]噬菌體的Fab編碼插入物從pMORPH[®]30展示載體亞選殖到pMORPH[®]x11表現載體pMORPH[®]x11_FH中。經由*EcoRI/XbaI/BmtI*的三重消化進行亞選殖。大腸桿菌TG1-F-單一選殖轉化後，如前所述進行含有*HuCAL*[®]-Fab片段的周質提取物的表現和製備（Rauchenberger等人, J Biol Chem [生物化學雜誌] 278, 38194-38205, 2003）。

f) 主機板 (masterplate) 的產生

【0595】將氯黴素抗性單一選殖挑取到預填充有60 µl 2xYT-CG（34 µg/ml 氯黴素（Cam）；0.1%葡萄糖）培養基的無菌的384孔微量滴定板的孔中，並在37°C生長過夜。第二天早上，將含有30%甘油的100 µl無菌的2xYT培養基添加到主機板的每個孔中；將板用鋁箔密封並在-80°C儲存。

【0596】以下兩部分分別描述了以384孔和96孔形式從表現Fab的大腸桿菌中製備裂解物。該等表現板後來用於ELISA和/或FACS篩選策略。

g) *His*標記的Fab片段在大腸桿菌中的表現及純化 (mg規模)

【0597】在搖瓶培養物（使用500 ml的2xYT培養基，其中補充0.1%葡萄糖和34 µg/ml氯黴素）中進行pMORPH[®]x11_Fab_FH和pYBex10[®]_Fab_FH編碼的Fab片段在大腸桿菌TG1 F細胞中之表現。將培養物在30°C（pMORPH[®]x11_Fab_FH）或22°C（pYBex10[®]_Fab_FH）振盪，直到OD₆₀₀達到值為0.5。藉由添加終濃度為0.75 mM（pMORPH[®]x11_Fab_FH）或0.5 mM（pYBex10[®]_Fab_FH）的IPTG（異丙基-β-D-硫代半乳糖哌喃糖苷）並在30°C

(pMORPH®x11_Fab_FH) 或 22°C (pYBex10®_Fab_FH) 進一步培養 20 h 誘導 Fab 表現。收穫細胞並使用溶菌酶破壞。經由 IMAC (伯樂公司 (Bio-Rad), 德國) 並使用咪唑洗脫來分離 His₆ 標記的 Fab 片段。使用 PD10 柱 (通用電氣醫療集團 (GE Healthcare), 德國) 進行緩衝液交換到 1x 杜氏 PBS (Dulbecco's PBS) (pH 7.2)。將樣本無菌過濾 (0.2 µm)。藉由 UV-分光光度法確定蛋白質濃度。在變性的非還原性 15% SDS-PAGE 中分析樣本的純度。Fab 製劑的均質性係藉由具有校準標準的粒徑排阻層析法 (HP-SEC) 在天然狀態下確定的。

h) 轉化為哺乳動物 IgG 及 FabCys 形式

【0598】按兩步法進行 RapCLONE®, 以便方便且有效地將大量 Fab 選殖轉化為 FabCys 形式。在第一選殖步驟中, 將真核表現盒經由 *BsiWI/MfeI* (用於 κ 池) 或 *HpaI/MfeI* (用於 λ 池) 消化和隨後的連接, 引入表現載體 pMORPH®x11 中。然後進行第二選殖步驟, 其中將含有表現盒的 Fab 池用 *EcoRV/BlpI* (κ 和 λ 池) 消化, 並且隨後選殖到 pMORPH®4_FabCys 受體載體中以在哺乳動物細胞中表現。

i) 使用 pMORPH®4 載體系統表現和純化人 FabCys

【0599】將真核 HKB11 細胞用編碼 FabCys 的重鏈和輕鏈二者的 pMORPH®4 或 pYMex 表現載體 DNA 轉染。在轉染後第 3 天收穫細胞培養物上清液, 並經受 Capture Select IgG-CH1 (生命技術公司 (Life Technologies)) 以純化 FabCys。除非另有說明, 將緩衝液交換到 1x 杜氏 PBS (pH 7.2, 英傑公司 (Invitrogen)), 並將樣本無菌過濾 (0.2 µm 孔徑)。使用 CE-SDS (LabChip GXII, 珀金埃爾默公司 (Perkin Elmer), 美國), 在變性、還原和非還原條件下分析 FabCys 的純度。藉由 UV-分光光度法確定蛋白質濃度, 並進行 HP-SEC 分析天然狀態的蛋白質製劑。

【0600】 產生親本抗BTC Fab。在親和力成熟（Knappik等人, (2000) J. Mol. Biol. [分子生物學雜誌], 296: 57-86）之後，隨後選擇一組四個抗體轉化為二硫橋連Fab形式。將所得的二硫橋連Fab命名為NVS1、NVS2、NVS3、和NVS4。

【0601】 NVS1-NVS4與來自多種物種的BTC蛋白的結合親和力在Biacore測定中進行了測量。結果如在下表6中提供。

[表6]. NVS1-NVS4與BTC的結合親和力

	Biacore/ProteOno（親和力，以pM為單位）				
	人BTC	小鼠BTC	食蟹猴BTC	大鼠BTC	兔BTC
NVS1	6	4	8	7	4
NVS2	14	9	16	21	5
NVS3	1.4	< 1	5.4	20	17
NVS4	5	5	12	8	1

【0602】 表5列出了NVS1、NVS2、NVS3和NVS4中每一個的親本和親和力成熟變體的序列。

j) 經由競爭ELISA之表位分組

【0603】 對於表位分組，Fab A以恒定量包被在Maxisorp板上，並測試了其與溶液中增加量的Fab B的競爭。作為陽性對照，分析包被的Fab在溶液中與自身的競爭。將所有測試的Fab以10倍莫耳過量與生物素化的人BTC在溶液中在RT孵育1 h。然後將抗原/抗體複合物添加至包被的抗體中，並經由生物素化抗原檢測結合的複合物。通常，只有當包被的Fab能夠結合抗原上的可接近表位（與溶液中測試的Fab不同（即非競爭性抗體））時，才能獲得高Fab濃度下的訊息。相比之下，對於競爭性抗體、具有部分重疊的表位的抗體或藉由空間位阻阻斷表位的抗體，與對照相比，高Fab濃度下的結合訊息顯著降低。將Maxisorp板的各個孔用20 µl/孔的Fab A，以在PBS中1 µg/ml的濃度包被，在4°C孵育過夜，然後用PBST洗滌3次。將板在RT用90 µl 5% MPBST/孔阻斷2 h，並用PBST洗滌3次。對於抗

原/抗體預孵育，將抗BTC抗體（Fab B）以1 : 3的步驟滴定（從25 µg/ml的最終濃度開始）並與最終濃度為0.6 µg/ml的生物素化BTC在RT孵育1 h。將20 µl/孔預孵育的BTC/抗體複合物添加到阻斷的和洗滌的Maxisorp板中，並在RT輕輕振盪孵育20 min。將板用PBST洗滌3次，並用20 µl/孔卵白素-AP（AbD Serotec公司，目錄號Star6b）（在1% BSA/0.05% 吐溫20/PBS中以1 : 5000稀釋）孵育1 h。將板用PBST洗滌5次，添加20 µl的AttoPhos溶液（以1 : 10在ddH2O中稀釋），並在Tecan讀數器上測量板。

k) 基於ELISA的表位分組

【0604】 在競爭ELISA中，針對其他代表，測試每個家族中的一種親和力成熟的變體。親和力成熟主要藉由HCDR3中的不同序列進行。每個測試候選物（TC）來自不同的親本家族，除了TC12與NVS3來自同一家族，TC15和TC16與NVS2來自同一家族，以及TC23與NVS4來自同一家族。TC1-TC8和TC10-TC30代表如貫穿本揭露所述從HuCAL或Ylanthia鑒定的親和力成熟的候選物。

【0605】 如下表7所示，清楚地鑒定了一個主要的分組E和一個小的分組B（僅由TC11靶向）。

[表7]. 親和力成熟的抗BTC Fab的分組

		分組E											分組B
		在溶液中與配體預孵育											
		測試的 候選物	TC1	TC2	TC3	TC4	TC5	TC6	TC7	TC8	NVS1	TC10	TC11
分組E	在板上包被	TC1	N/A	1	1	1	1	1					2
		TC2	1	N/A	1	1	1	1					2
		TC3	1	1	N/A	1	1	1					3
		TC4	1	1	1	N/A	1	1					2
		TC5	1	1	1	1	N/A	1					2
		TC6	1	1	1	1	1	N/A	1	1	1	1	2
		TC7						1	N/A	1	1	1	2
		TC8						1	1	N/A	1	1	2
		NVS1						1	1	1	N/A	1	2
		TC10						1	1	1	2	N/A	2
		TC12						1					2
		TC13						1					2
		TC14						1					2
		分組B		TC11	2	2	2	2	2	2	2	2	2

1 : > 70%訊息減少，即，同一個分組

2：< 30%訊息減少，即，不同分組

3：30%-70%訊息減少，即，中間的

空白：數據不可用

【0606】如下表8所示，鑒定了兩個主要的分組（分組A和分組E）和三個較小的分組（分組B、C、D）。

[表8]. 親和力成熟的抗BTC Fab的分組

分組A										分組B	分組C	分組D				分組E			
測試的候選物										在溶液中與配體互解行									
TC15/16	TC17	TC18	TC19	TC20	TC21	TC22	TC11	TC23	TC24	TC25	TC26	TC27	TC28	TC29	TC30	TC6			
TC15/16	N/A	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	3	2	2	2	2			
TC17	N/A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3	2	2	3	2			
TC18	1	N/A	1	1	1	1	1	1	1	1	3	2	2	2	2	2			
TC19	1	1	N/A	1	1	1	1		1	1	3	3	2	2	2	2			
TC20	1	1	1	N/A	1	1	1		1	1	3	2	2	3	3				
TC21	1	1	1	1	N/A	1	1		1	1	3	3	2	2	2				
TC22	1	1	1	1	1	N/A	1		1	3	3	3	2	2	2				
TC11	1	1	1	1	1	1	N/A	1	2	2	1		2	2		2			
TC23	1	1	1	1	1	1	1	N/A	1	1	3		2			3			
TC24	1	1	1	1	3	1	2	1	N/A	1	1	1	1	1	1	1			
TC25	1	1	1	1	1	1	2	1	1	N/A	1	1	2	1	1	3			
TC26	3	3	1	1	3	2	1	1	1	1	N/A	1	1	1	1	1			
TC27	2	2	2	2	2	3			1	1	1	N/A	1	1	1				
TC28	2	2	2	3	3	3	2	1	1	1	1	1	N/A	1	1	1			
TC29	2	3	2	2	2	3			1	1	1	1	1	N/A	1				
TC30	2	2	2	2	2	3			1	1	1	1	1	1	N/A				
TC6	2	3		3			2	1	1	1	1	1	1	1		N/A			

- 1：> 70%訊息減少，即，同一個分組
- 2：< 30%訊息減少，即，不同分組
- 3：30%-70%訊息減少，即，中間的
- 空白：數據不可用

l) NVS1-NVS4之表徵

【0607】 將四個親和力成熟的候選物NVS1-NVS4在如下實例中所提供的測定中進行表徵（例如，效力和親和力）。結果如在下表9中所提供。

[表9]. NVS1-NVS4的表徵

	基於MSD的結合抑制		基於細胞的結合抑制		結合至膜錨定的BTC（中位數：X高於293F）	ADR/Res pErbB3（IC50，以nM為單位）	A431 pERK（IC50，以nM為單位）	MCF10A pERK	表位定位/分組（ELISA）	近分泌傳訊的中和
	BTC/ ErbB1	BTC/ ErbB4	BTC/ ErbB1	BTC/ ErbB4						
NVS1	> 90%	> 90%	> 90%	> 90%	> 10X	5.7	0.25	99.7	E	89%
NVS2	> 90%	> 90%	> 90%	> 90%	> 10X	6.3	0.37	99.7	A	90%
NVS3	> 90%	> 90%	> 90%	> 90%	> 10X	7.89	> 90%	> 90%	E	99%
NVS4	> 90%	> 90%	> 90%	> 90%	> 10X	6.1	0.49	99.4	C	87%

實例2. 抗BTC抗體之晶體學表位

a) 人β細胞素/Fab複合物之X射線晶體結構確定

【0608】 確定了與抗體NVS1、NVS2、NVS3和NVS4的四個Fab片段結合的人BTC（SEQ ID NO: 157）的晶體結構。如下文詳述，Fab片段被表現和純化。不溶性的、大腸桿菌表現的成熟形式的BTC被重新折疊和純化。混合純化的BTC和Fab蛋白，並將所得複合物純化和結晶。為了定義表位，藉由使用X射線晶體學確定了與Fab片段結合的BTC的原子解析度結構。

b) 蛋白質產生

【0609】 表1中示出了產生以用於晶體學的BTC和Fab（NVS1、NVS2、NVS3和NVS4）之序列。BTC之表現構建體包含人蛋白質原β細胞素（UniProt識別字P35070，SEQ ID NO: 156）的殘基32至殘基111（加下劃線的）連同重組表現載體的N末端和C末端殘基（以小寫字母示出，SEQ ID NO: 157）。N末端起始密碼子導致在成熟BTC序列的起始殘基之前添加胺基酸MET。成熟BTC序列的C末端與六組胺酸純化標籤融合。對於Fab（NVS1、NVS2、NVS3、和NVS），重鏈和輕鏈的序列在下表10中示出。

[表10]：用於晶體結構測定的蛋白質

構建體	胺基酸序列（以單字母密碼表示）	SEQ ID NO.
人原BTC （P35070）	MDRAARCSGASSLPLLLALALGLVILHCVVADGNSTRSPETN <u>GLLCGDPEENCAATTTQSKRKGHFSRCPKQYKHYCIKGRCR</u> FVVAEQTPSCVCDEGYIGARCERVDLFYLRGDRGQILVICLIA VMVVFILVIGVCTCCHPLRKRRKRKKKEEMETLGKDITPIN EDIEETNIA	156
表現的人BTC	mDGNSTRSPE TNGLLCGDPE ENCAATTTQS KRKGHFSRCP KQYKHYCIKG RCRFVVAEQT PSCVCDEGYI GARCERVDLF Yhhhhhh	157
人BTC	DGNSTRSPETNGLLCGDPEENCAATTTQSKRKGHFSRCPKQY KHYCIKGRCRFVVAEQTPSCVCDEGYIGARCERVDLFY	164
NVS2 Fab重鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARQRYYFGEFDLWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSC	36
NVS2 Fab輕鏈	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYWYQQKPGQ SPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAED EADYYCQAFDYL YSLGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPS KQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTV APTECS	47
NVS3 Fab重鏈	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSGLVHGYTTYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARDYLDYFGYYFDVWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSC	56
NVS3 Fab輕鏈	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDKIGKKYVHWYQQKPGQ APVLVIYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISR AQA GDEADYYCQAWDMQSVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPS SEEL	67

構建體	胺基酸序列（以單字母密碼表示）	SEQ ID NO.
	QANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPSK QSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVA PTECS	
NVS1 Fab重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAISWVRQAP GQGLEWMGGIVPWMGEAVYAQKFQGRVTITADESTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARSSSTYGIHAFDYWGQGLTLTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSC	12
NVS1 Fab輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSSISNFLNWYQQKPGK APKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQYDDFPMTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC	23
NVS4 Fab重鏈	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWISWVRQAP GKGLEWVSYIDSTGTFINYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARGGSLFDYWGQGLTLTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSC	80
NVS4 Fab輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIISYLGWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQYDALNTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC	90

【0610】 在大腸桿菌菌株BL21(DE3)STAR（英傑公司（Invitrogen））中表現BTC。在37°C用1 mM IPTG誘導四小時後，收穫並裂解細胞。將不溶性的沈澱在50 mM 2 M尿素、100 mM Tris pH 8.0、5 mM DTT、2% Triton X-100中洗滌2次，然後用100 mM Tris pH 8.0洗滌1次。將洗滌的包涵體溶解在8 M尿素、50 mM 磷酸鈉pH 8.0、0.3 M NaCl中，然後以15,000 x g離心10分鐘。向上清液中添加在相同緩衝液中平衡的Ni-NTA瓊脂糖（凱傑公司（Qiagen））並將混合物在4°C旋轉1小時。將樹脂收集在重力流柱中，用平衡緩衝液洗滌，然後用含有25 mM咪唑的相同緩衝液洗滌。用含有300 mM咪唑的相同緩衝液洗脫蛋白質。向洗脫液中添加0.1 M還原型麩胱甘肽，然後在室溫孵育2小時，然後添加0.5 mM氧化型麩胱甘肽。然後在室溫，使用3500 Da mwco，用5M尿素、100 mM Tris pH 7.5、

0.5 mM氧化型麩胱甘肽對蛋白質溶液進行透析大約4小時，未進行覆蓋。接下來將透析管轉移到8 L的2.5 M尿素、100 mM Tris pH 7.5、0.5 mM氧化型麩胱甘肽中並透析過夜。然後將透析管轉移到8 L的1 M尿素、100 mM Tris pH 7.5、0.5 mM氧化型麩胱甘肽中並透析持續大約4小時。最後轉移到50 mM Tris pH 7.5、100 mM NaCl、0.5 mM氧化型麩胱甘肽中，使其透析過夜。將透析液通過0.22 μ m過濾器過濾以去除可見沈澱物。將重新折疊的 β 細胞素蛋白濃縮並應用到在25 mM HEPES pH 7.5、150 mM NaCl中平衡的Superdex75柱（通用電氣醫療集團生命科學部（GE Healthcare Life Sciences））上。合併含有單體BTChis的級分。

【0611】藉由將純化的BTC與純化的Fab以2：1的莫耳比混合來製備BTC/Fab複合物。將複合物在室溫孵育1小時，然後濃縮並應用到在25 mM HEPES pH 7.5、150 mM NaCl中平衡的Superdex200柱（通用電氣醫療集團生命科學部（GE Healthcare Life Sciences））上。藉由SDS-PAGE和LCMS分析峰級分。合併含有BTC/Fab複合物的級分。

c) 結晶及結構確定

【0612】在20°C，藉由坐滴蒸汽擴散法，使用於數據收集的BTC/NVS1晶體生長。將BTC/NVS1複合物濃縮至7 mg/ml。藉由將0.5 μ l複合物與含有27% PEG 4000、0.17 M硫酸銨、5%甘油的0.5 μ l儲液混合，並將液滴針對1000 μ l的相同儲液進行平衡，從而使晶體生長。在收集數據之前，將若干 μ l的29% PEG 4000、12%乙二醇、10%甘油、0.17 M硫酸銨添加至含晶體的液滴中，然後將晶體在液氮中快速冷卻。

【0613】在4°C，藉由坐滴蒸汽擴散法，使用於數據收集的BTC/NVS2晶體生長。將BTC/NVS2複合物濃縮至大約25 mg/ml。藉由將150 nl複合物與含有5% PEG 1000、40%乙醇、0.1 M磷酸鹽/檸檬酸鹽pH 4.2的150 nl儲液混合，並將液滴

針對40 μ l的相同儲液進行平衡，從而使晶體生長。為了收集數據，將晶體在液氮中快速冷卻。

【0614】 在4°C，藉由坐滴蒸汽擴散法，使用於數據收集的BTC/NVS3晶體生長。將BTC/NVS3複合物濃縮至12 mg/ml。藉由將150 nl複合物與含有30% PEG 400、0.1 M三水乙酸鈉 pH 4.5、0.2 M乙酸鈣水合物的150 nl儲液混合，並將液滴針對40 μ l的相同儲液進行平衡，從而使晶體生長。為了收集數據，將晶體在液氮中快速冷凍。

【0615】 在20°C，藉由坐滴蒸汽擴散法，使用於數據收集的BTC/NVS4晶體生長。將BTC/NVS4複合物濃縮至13 mg/ml。藉由將150 nl複合物與含有0.2 M氯化鎂六水合物、0.1 M Tris鹽酸鹽pH 8.5、20% PEG 8000的150 nl儲液混合，並將液滴針對40 μ l的相同儲液進行平衡，從而使晶體生長。在收集數據之前，將若干 μ l的22% PEG 8000、12%乙二醇、10%甘油、0.1 M Tris pH 8.5、0.2 M氯化鎂添加至液滴中，然後將晶體在液氮中快速冷卻。

【0616】 在 高級 光 源 （ Advanced Photon Source ， Argonne National Laboratory, USA （美國阿爾貢國家實驗室））束線17-ID下，收集繞射數據。使用Autoproc（版本1.1.7.全球定相公司（Global Phasing, LTD））處理並縮放數據。表2總結了解析度極限、空間群和晶胞尺寸。使用PHENIX(版本1.12_2829, Adams 等人, (2010) Acta. Cryst. [晶體學報] D66: 213-221) 使用內部Fab結構作為搜索模型，藉由分子置換解析複合物的結構。使用COOT(版本0.8.8) (Emsley & Cowtan (2004) Acta Cryst. [晶體學報] D60: 2126-2132) ，將BTC結構直接構建到部分精修的Fab模型中。將最終模型使用COOT和PHENIX反覆運算構建並精修。在晶胞的不對稱單位中BTC/Fab模型的拷貝數、 $R_{\text{工作}}$ 和 $R_{\text{空間}}$ 值、鍵長和鍵角的均方根（r.m.s）偏差值總結於表11中。

【0617】結構表位定義為BTC的殘基，其在Fab中的任一原子的5Å內含有原子。在CCP4程式套件（版本7.0.045 Winn等人, (2011) Acta. Cryst. [晶體學報] D67: 235-242）中藉由ACT程式鑒定該等殘基。當複合物的多個拷貝存在於不對稱單位中時，只有所有拷貝中共有的那些與抗體接觸的殘基被認為是結構表位殘基。在Fab複合物NVS1、NVS2、NVS3和NVS4的結構中鑒定的表位殘基和相應的接觸Fab殘基分別在表12、13、14和15中列出（鏈H表示重鏈，而L表示輕鏈）。

[表11]：繞射數據及結構精修總結

參數	BTC/NVS2	BTC/NVS3	BTC/NVS1	BTC/NVS4
解析度	2.7 Å	1.7 Å	2.8 Å	3.0 Å
空間群	P2 ₁	P4 ₂ 2 ₁ 2	P3 ₂	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
晶胞 (a b c α β γ)	44.8 Å 201.3 Å 67.1 Å90.0°92.4°90.0°	123.8 Å 123.8 Å 125.1 Å 90.0°90.0°90.0°	176.5 Å 176.5 Å 186.6 Å 90.0°90.0° 120.0°	70.5 Å158.7 Å200.4 Å90.0°90.0°90.0°
#複合物/a.s.u.	2	1	12	4
R _{工作} 、R _{空間}	23.4%，30.5%	15.6%，17.2%	19.0%，27.4%	19.8%，28.3%
鍵長和鍵角的 r.m.s偏差值	0.011 Å，1.374°	0.009 Å，0.990°	0.009 Å， 1.184°	0.010 Å，1.22°

d) BTC表位結構

【0618】BTC結構係一種EGF折疊，具有處於三鏈折疊和二鏈折疊的五條β鏈。該結構用三個二硫鍵進行穩定化。觀察到的BTC結構在所有晶體結構中係良好保留的。除了兩個C末端β鏈的顯著移位外，該結構與之前報導的NMR結構（pdb：1IPO, Miura, K. 等人 (2002) Biochem. Biophys. Res. Comm [生物化學和生物物理學研究通訊] 294 1040-1046）相似。如圖1和圖2所示，Fab的表位和整體取向二者隨著複合物的不同而變化。

【0619】將結合至人BTC的Fab NVS2的晶體結構用於鑒定BTC上的結構表位。相互作用表面由若干個連續和不連續（即，非連續）的序列形成：即，殘

基（40-43、45-46、58-61、72-73、75-76），如表12中詳述。該等殘基形成了被 Fab NVS2識別的三維構形表位（圖1A和2A）。

【0620】 將結合至人BTC的Fab NVS3的晶體結構用於鑒定BTC上的結構表位。相互作用表面由若干個連續和不連續（即，非連續）的序列形成：即，殘基（34-42、51、53-54、56），如表13中詳述。該等殘基形成了被Fab NVS3識別的三維構形表位（圖1B和2B）。

【0621】 將結合至人BTC的Fab NVS1的晶體結構用於鑒定BTC上的結構表位。相互作用表面由若干個連續和不連續（即，非連續）的序列形成：即，殘基（38-43、45-46、54、59-71、73），如表14中詳述。該等殘基形成了被Fab NVS1識別的三維構形表位（圖1C和2C）。

【0622】 將結合至人BTC的Fab NVS4的晶體結構用於鑒定BTC上的結構表位。相互作用表面由若干個連續和不連續（即，非連續）的序列形成：即，殘基（37-43、45-46、54、57、59-61、72-73、75），如表15中詳述。該等殘基形成了被Fab NVS4識別的三維構形表位（圖1D和2D）。

【0623】 人BTC和Fab NVS2之間的相互作用。將BTC殘基基於SEQ ID NO: 157進行編號。將Fab殘基基於其線性胺基酸序列（SEQ ID NO: 36和47）進行編號。所示的BTC殘基在Fab NVS2中的原子的5Å內具有至少一個原子，以解釋潛在的水介導的相互作用。在不對稱單位中複合物的兩個拷貝之間相互作用係共有的。

[表12]：人BTC和Fab NVS2之間的相互作用

BTC		Fab NVS2		
胺基酸	編號	胺基酸	編號	鏈
PRO	40	TYR	32	L
LYS	41	GLY	29	L
		ASP	30	L
GLN	42	GLY	29	L
		ASP	30	L

		LYS	31	L
		TYR	32	L
		ASP	51	L
		TYR	93	L
TYR	43	TYR	101	H
		GLU	105	H
		TYR	32	L
		TYR	34	L
		GLN	50	L
		TYR	93	L
HIS	45	TYR	93	L
		LEU	94	L
TYR	46	TYR	101	H
		TYR	102	H
		PHE	103	H
		TYR	93	L
GLU	58	ARG	100	H
GLN	59	ARG	100	H
		GLN	50	L
		LYS	53	L
THR	60	ARG	100	H
		TYR	101	H
PRO	61	TYR	101	H
ALA	72	TYR	102	H
ARG	73	TYR	102	H
		PHE	103	H
		TYR	93	L
		LEU	94	L
		SER	96	L
GLU	75	TYR	102	H
ARG	76	SER	57	H

【0624】 人BTC和Fab NVS3之間的相互作用。將BTC殘基基於SEQ ID NO: 157進行編號。將Fab殘基基於其線性胺基酸序列（SEQ ID NO: 56和67）進行編號。所示的BTC殘基在Fab NVS3中的原子的5Å內具有至少一個原子，以解釋潛在的水介導的相互作用。

[表13]. 人BTC和Fab NVS3之間的相互作用

BTC		FabNVS3		
胺基酸	編號	胺基酸	編號	鏈
GLY	34	HIS	53	L

		VAL	54	L
HIS	35	HIS	53	L
		VAL	54	L
		GLY	55	L
		TYR	56	L
PHE	36	HIS	53	L
		TYR	56	L
		ASP	101	L
		PHE	102	L
SER	37	GLN	93	H
		TYR	56	L
		ASP	101	L
		PHE	102	L
ARG	38	TYR	31	H
		ASP	49	H
		ASP	101	L
		PHE	102	L
		GLY	103	L
		TYR	104	L
		TYR	105	L
CYS	39	TYR	31	H
PRO	40	TYR	31	H
LYS	41	ILE	27	H
		GLY	28	H
		LYS	29	H
		LYS	30	H
		TYR	31	H
		ASP	50	H
		ASN	65	H
GLN	42	LYS	29	H
ARG	51	TYR	99	L
		LEU	100	L
		ASP	101	L
		TYR	104	L
ARG	53	HIS	53	L
		ASP	101	L
PHE	54	GLN	93	H
VAL	56	GLN	93	H
		TYR	56	L

【0625】 人BTC和NVS1 Fab之間的相互作用。將BTC殘基基於SEQ ID NO: 157進行編號。將Fab殘基基於其線性胺基酸序列（SEQ ID NO: 12和23）進行編

號。所示的BTC殘基在Fab NVS1中的原子的5Å內具有至少一個原子，以解釋潛在的水介導的相互作用。在不對稱單位中複合物的12個拷貝之間的相互作用係共有的。

[表14]：人BTC和NVS1 Fab之間的相互作用

BTC		Fab NVS1		
胺基酸	編號	胺基酸	編號	鏈
ARG	38	SER	28	L
		ILE	29	L
		SER	30	L
		PHE	32	L
		ASP	92	L
CYS	39	PHE	32	L
		ASP	92	L
PRO	40	PHE	32	L
		TYR	91	L
		ASP	92	L
LYS	41	SER	28	L
		ASP	92	L
		ASP	93	L
GLN	42	VAL	52	H
		TRP	54	H
		GLY	104	H
		ILE	105	H
		HIS	106	H
		TYR	91	L
		ASP	92	L
		PHE	94	L
		MET	96	L
TYR	43	TRP	54	H
		SER	101	H
		TYR	103	H
		GLY	104	H
		ILE	105	H
		HIS	106	H
HIS	45	TRP	54	H
TYR	46	TRP	54	H
		TYR	103	H
PHE	54	HIS	106	H
		PHE	32	L
GLN	59	SER	101	H

		HIS	106	H
		ALA	50	L
		TYR	91	L
THR	60	TYR	103	H
PRO	61	TYR	103	H
ARG	73	TRP	54	H

【0626】 人BTC和NVS4 Fab之間的相互作用。將BTC殘基基於SEQ ID NO: 157進行編號。將Fab殘基基於其線性胺基酸序列（SEQ ID NO: 80和90）進行編號。所示的BTC殘基在NVS4 Fab中的原子的5Å內具有至少一個原子，以解釋潛在的水介導的相互作用。在不對稱單位中複合物的4個拷貝之間的相互作用係共有的。

[表15]：人BTC和NVS4 Fab之間的相互作用

BTC		FabNVS4		
胺基酸	編號	胺基酸	編號	鏈
SER	37	TYR	32	L
ARG	38	TYR	32	L
CYS	39	TYR	32	L
PRO	40	TYR	32	L
LYS	41	ASP	92	L
		ILE	2	L
		GLN	27	L
		GLY	28	L
		ASP	92	L
GLN	42	ALA	93	L
		TYR	50	H
		PHE	57	H
		ASN	59	H
		SER	101	H
		TYR	91	L
		ASP	92	L
		ALA	93	L
TYR	43	LEU	94	L
		ASN	95	L
		TRP	33	H
		TYR	50	H
		PHE	57	H
		GLY	100	H
		SER	101	H

BTC		FabNVS4		
胺基酸	編號	胺基酸	編號	鏈
		TYR	91	L
HIS	45	PHE	57	H
TYR	46	TRP	33	H
		ASP	52	H
		SER	53	H
		THR	54	H
		PHE	57	H
PHE	54	SER	101	H
		TYR	32	L
		TYR	91	L
ALA	57	TYR	49	L
GLN	59	SER	101	H
		LEU	102	H
		TYR	32	L
		ALA	50	L
		TYR	91	L
THR	60	TRP	33	H
PRO	61	TRP	33	H
ALA	72	THR	54	H
ARG	73	ASP	52	H
		THR	54	H
		PHE	57	H
GLU	75	THR	54	H

實例3. 抗BTC/抗VEGF雙特異性Fab的產生

【0627】 雙特異性分子的抗VEGF Fab部分來自抗VEGF scFv(1008 scFv)，該抗VEGF scFv先前被揭露於US 20120014958並鑒定為578minimaxT84N_V89L或蛋白質號1008，將其藉由引用以其全文併入。為了將1008 scFv轉化為其Fab形式，將1008 scFv的胺基酸序列與公開的人IgG框架序列進行比對，並確定其與κ框架具有高度同源性。

【0628】 因此，藉由1) 將人免疫球蛋白κ鏈恒定區序列（SEQ ID NO: 159）添加到1008 scFv的VL的C末端，和2) 將人免疫球蛋白重鏈第一恒定Ig結構域

(CH1結構域)序列 (SEQ ID NO: 160) 添加到1008 scFv的VH的C末端，來轉化1008 scFv。

【0629】 針對雙特異性分子產生了兩個取向 (圖3)。在取向1中，抗BTC Fab位於分子的N末端，而抗VEGF Fab位於分子的C末端。在取向2中，抗VEGF Fab位於分子的N末端，而抗BTC Fab位於分子的C末端。兩個Fab的重鏈藉由(GSGGG)₃ (SEQ ID NO: 118) 連接子連接，而兩條輕鏈藉由(GSGGG)₃ (SEQ ID NO: 118) 連接子連接。

【0630】 編碼抗BTC和抗VEGF的輕鏈和重鏈的胺基酸的核苷酸由金唯智有限公司 (金唯智公司 (Genewiz, LLC)) 合成，並在pUC57載體中遞送。為了選殖到表現載體中，將4 µg的質體DNA用限制性酶HindIII和XbaI在37°C消化過夜。將消化的質體在1%瓊脂糖凝膠上以100伏特運行40分鐘。凝膠提取與消化的感興趣的DNA片段大小相對應的條帶，並根據製造商的方案使用QIAquick凝膠提取套組 (凱傑公司 (Qiagen)，目錄號28704) 回收DNA。使用LIGAFast™ 快速DNA連接系統 (普洛麥格公司 (Promega)，目錄號M8225)，根據製造商的方案，將HindIII/XbaI消化的抗BTC/抗VEGF片段選殖到HindIII/XbaI消化的pRS5a表現載體中。將連接產物轉化到OneShot TOP10化學感受態大腸桿菌 (英傑公司 (Invitrogen)，目錄號C4040-10) 中，鋪板在含有100 µg/mL羧苄青黴素的LB瓊脂板上，並在37°C孵育過夜。挑取四個菌落，在含有100 µg/mL羧苄青黴素的LB培養基中在37°C生長過夜。使用QIAprep Spin Miniprep套組 (凱傑公司 (Qiagen)，目錄號27104)，按照製造商的方案，從該等細菌培養物中提取DNA。將提取的DNA送去定序以篩選和選擇正確的連接產物。確認正確的選殖後，將DNA重新轉化到OneShot TOP10化學感受態大腸桿菌中，並將單個菌落挑取並根據製造商的方案，使用HiPure質體超大量製備套組 (HiPure Plasmid Megaprep Kit)

（英傑公司（Invitrogen），目錄號K57010），使其生長以擴大DNA的規模以獲得足夠的DNA用於暫態HEK293蛋白表現。

【0631】 在轉染前一天，將 0.5×10^6 的HEK293 FreeStyle細胞/mL接種到3 L錐形瓶（康寧公司（Corning），目錄號431252）中的1 L的FreeStyle 293表現培養基（英傑公司（Invitrogen），目錄號12338018）中，以便細胞在轉染日達到大約 1×10^6 個細胞/mL的密度和 $> 95\%$ 的存活率。針對1 L轉染培養物，在一個管中，將2 mL的1 mg/ml聚乙烯亞胺溶液（PEI）添加到23 mL的FreeStyle 293表現培養基中，並在含有25 mL的FreeStyle 293表現培養基的另一個管中添加0.5 mg輕鏈和0.5 mg重鏈表現載體DNA。將兩個管均孵育5-10分鐘。將含有質體DNA的管通過 $0.22 \mu\text{m}$ 膜Steriflip（密理博（Millipore），目錄號SCGP00525）過濾以防止潛在的污染。然後將此DNA混合物添加至含有PEI的另一個管中，並在室溫孵育20-30分鐘。孵育後，將轉染混合物添加到 1×10^6 個細胞/mL的培養物中，並在 37°C 、125 rpm振盪下，伴隨5%-10% CO_2 培養5天。將培養物收穫，離心，並將上清液通過 $0.22 \mu\text{m}$ 的膜Stericup（密理博（Millipore），目錄號SCGU11RE）過濾，然後使用標準親和樹脂，例如，通用電氣醫療集團生命科學部（GE Healthcare Life Science）的ATKA系統純化。

【0632】 使用GE的ATKA系統，藉由流過5 mL預裝的CaptureSelect IgG-CH1親和柱（生命技術公司（Life Technologies），目錄號494320005），將含有抗BTC/抗VEGF雙特異性Fab的收穫的培養物純化。上樣完成後，將20-50個柱體積（CV）的PBS（pH 7.4）的洗滌緩衝液流過樹脂以去除任何非特異性結合的組分，隨後係16-20個CV的低pH洗脫梯度的100 mM檸檬酸鹽緩衝液（pH 3.0）（泰克諾瓦（Teknova），目錄號Q2445）。使用多模式層析樹脂（5 mL預裝的HiTrap CaptoAdhere柱（GE醫療集團生命科學部，目錄號28405846）），將含有雙特異性Fab的洗脫的級分進一步精製以提高純度。CaptoAdhere層析柱係一種具有多模

式功能性的強陰離子交換器，可以去除聚集體、宿主細胞蛋白質、核酸和病毒。使用1 M Tris-HCl，pH 9.5（泰克諾瓦，目錄號T1095），將先前洗脫的蛋白質溶液的pH升高至高於其等電點（pI）以上，以使蛋白質帶淨負電荷從而與樹脂結合。一旦上樣到柱上，將其使用PBS（pH 7.4）洗滌，並用100 mM檸檬酸鹽緩衝液（pH 3.0）的梯度洗脫。在SDS-PAGE凝膠上分析洗脫的級分以選擇具有高純度的級分。使用截留分子量為10 kD的Vivaspin20蛋白質濃縮器（賽多利斯公司（Sartorius），目錄號VS2001），將合併的級分濃縮並緩衝液交換到pH 7.4的PBS中。最後，對蛋白質進行了另外的表徵：使用在280 nm處的UV吸收來確定濃度，藉由SDS-PAGE凝膠確定純度，使用SEC-HPLC確定聚集和純度，藉由LC/MS確認正確的分子量，並經由查理斯河實驗室（Charles River）LAL藥筒使用Endosafe系統確定內毒素水平。

實例4. 小鼠中延長的BTC表現導致血管擴張及血管滲漏，從而導致視網膜水腫

【0633】 動物模型及研究設計。在從傑克遜實驗室（Jackson Laboratories）（緬因州巴爾港（Bar Harbor, ME））獲得的雌性C57/Bl6J小鼠（8-10週齡）中進行體內研究。藉由注射（視網膜下，s.r.）在巨細胞病毒（CMV）啟動子的控制下表現BTC的自身互補的腺相關病毒血清型2（scAAV2），研究了BTC過表現在小鼠視網膜中的作用。向一隻動物的兩隻眼睛都注射了相同劑量的scAAV2-CMV-BTC，並測試了兩種不同的劑量。在遞送後4-6週，對對照眼睛（初次接受試驗，配製緩衝液或注射空scAAV2）和測試眼睛進行成像（彩色眼底照相術、眼底螢光血管造影（FFA）、掃描雷射檢眼鏡檢查（SLO）、和光同調斷層掃描（OCT））。下表16中描述了所進行的每項研究之細節。

[表16]. 用BTC對小鼠進行視網膜下處理的總結

研究#1			
視網膜下處理	體積/劑量 (vg/眼)	記錄用於OCT 的眼睛	記錄用於SLO的 眼睛
初次接受試驗的	N/A	10	N/A
scAAV2-CMV-BTC	1 µL/1 x 10 ⁸	8	N/A
配製緩衝液	1 µL	8	N/A
scAAV2-空	1 µL/1 x 10 ⁸	8	N/A
研究#2			
視網膜下處理	體積/劑量 (vg/眼)	記錄用於第1 OCT/第2 OCT 的眼睛	記錄用於SLO的 眼睛
scAAV2-CMV-BTC	1 µL/5 x 10 ⁸	10/20	10
scAAV2-空	1 µL/5 x 10 ⁸	10/8*	10
*一隻小鼠在進行成像之前死亡			

【0634】 對動物進行準備以用於視網膜下注射或成像。用環噴托酯（1%，局部）和去氧腎上腺素（根據有效性使用2.5%或10%，局部）對鼠眼進行擴張。將角膜用丙美卡因（0.5%，局部）脫敏。小鼠還接受腹膜內（i.p.）注射氯胺酮/ 甲苯噻吡混合物（分別為100-150 mg/kg和5-10 mg/kg）用於鎮靜。

【0635】 視網膜下遞送scAAV2-CMV-BTC。將麻醉動物置於手術顯微鏡下。通過小鞏膜切口，將連接到10 µL漢密爾頓（Hamilton）注射器的平頭針頭插入。將針頭指向晶狀體後方，朝向顳側視網膜，直到感覺到阻力。將1 µL的scAAV2-CMV-BTC（含有200 µg/mL螢光素鈉）緩慢注射到視網膜下空間。測試了兩種劑量：1 × 10⁸個病毒基因組（vg）/眼或5 × 10⁸個vg/眼。藉由先前擴張的瞳孔視覺化含有螢光素的氣泡，確認注射成功。有顯著出血或載體溶液從視網膜下空間滲漏到玻璃體中的眼睛被排除在進一步研究之外。該程序後，將0.3%妥布黴素眼藥膏投與到眼睛上，允許小鼠從麻醉中恢復，然後使其返回到飼養室的籠子裡。如引用的方案中所述，監測動物健康。

【0636】眼底照相術和眼底螢光血管造影（FFA）。將麻醉的小鼠置於加熱工作臺上。用眼部潤滑劑（Gentle或等效物）使成像的眼睛（通常是右眼，OD）保持濕潤，並將視網膜用Micron III系統（鳳凰研究實驗室（Phoenix Research Laboratories），加利福尼亞州普萊森頓（Pleasanton, CA））拍照，FFFA僅在研究1中進行。該程序與眼底照相術相同，唯一差異係在麻醉之前，注射（i.p.）了螢光素（100 mg/kg）。注射螢光染料後2-3分鐘，對小鼠進行成像。從每隻成像的眼睛獲得1-3張照片。

【0637】掃描雷射檢眼鏡檢查成像（SLO）。將小鼠麻醉並且如所述使其瞳孔擴張。使用羥丙甲纖維素潤滑劑滴劑來保持濕潤。將15 mg/kg的2.9 mg/mL靛青綠（ICG）和50 mg/kg的20 mg/mL螢光素鈉溶液i.p.注射進小鼠中以標記血管並評估視網膜滲漏。染料注射後三分鐘，隨後將小鼠以腹膜內注射氯胺酮/甲苯噻吡混合物（100-150/5-10 mg/kg）來麻醉。也將丙美卡因（0.5%）用作局部角膜麻醉劑。

【0638】使用基於SLO的螢光血管造影系統的螢光素和ICG通道來評估BTC誘導的視網膜血管通透性變化。ICG與血漿蛋白結合，產生了留在血管中的高分子量結構，並因此允許捕獲血管構造圖。隨後經由注射低分子量螢光素鈉染料來評估視網膜血管通透性，已知該染料在注射BTC後會從視網膜血管滲漏。

【0639】導出的圖像係使用聚焦於視神經的55度透鏡採集的平均多達40張的配准SLO圖像（registered SLO image）。

【0640】光同調斷層掃描（OCT）。對於研究2中的第一個時間點，OCT圖像與SLO圖像一起拍攝，為使其成像做準備。研究1未採集SLO成像，因此對動物進行的準備與如貫穿本揭露所述之相同。使用譜域OCT系統（Envisu R2200，拜奧普蒂根公司（Bioptigen），北卡羅來納州莫里斯維爾（Morrisville, NC）），來採集OCT圖像。體積掃描聚焦於視神經並由跨1.7 x 1.7 mm視野分佈的400x400

a掃描組成。水平和垂直1.8 mm線性b掃描。還採集了與視神經相交的b掃描。該等由在每個位置上平均大約10個b掃描組成，將其使用MATLAB®（邁斯沃克公司（Mathworks），美國麻塞諸塞州納蒂克（Natick, MA, USA））中的程式進行了比對和處理。

【0641】來自OCT圖像的視網膜厚度定量。僅在研究1中進行視網膜厚度定量。藉由手動描繪神經纖維層和布魯赫膜（Bruch's membrane），在MATLAB®中對提取的圖像（不包括視神經）進行形態測量分析以計算視網膜總厚度。定量由以下組成：在掃描過程中採集的值以及視網膜最厚的10%的測量值，以捕獲可能被視網膜大區域的數據掩蓋的焦點變化。

【0642】統計分析。使用GraphPad Prism（美國加利福尼亞州拉荷亞（La Jolla, CA, USA））來繪製形態測量數據並進行統計分析。當比較厚度變化時，使用單因素ANOVA和Tukey事後檢驗（Tukey's post test）來對各組進行比較，將每個組都視為一個獨立的數據點。除非另有說明，否則誤差條報告為標準誤差，其顯著性為 $P < 0.05$ 。

【0643】結果 - 眼底照相術和FFA。研究#1. 對小鼠注射（s.r.）scAAV2-CMV-BTC，並在四個星期後使其成像。眼底照相術（圖4，左側小圖）示出視網膜血管紆曲、血管滲漏、以及可能的視網膜脫落。還觀察到潛在的視網膜出血。當藉由FFA視覺化（圖4，右側小圖）時，視網膜紆曲和血管滲漏係明顯的。

【0644】結果 - 掃描雷射檢眼鏡檢查（SLO）。SLO圖像僅在研究#2中採集。從注射了空AAV2的對照小鼠獲得的圖像係正常的，並且沒有顯示出血管滲漏。注射scAAV2-CMV-BTC的視網膜表現出增加的血管紆曲和血管滲漏。在某些眼睛中，OCT檢測到的視網膜脫落導致不能從視網膜血管採集高品質的SLO圖像。圖5A中示出了（s.r.）注射了對照載體（scAAV2-空， 5×10^8 個vg/鹽）的小鼠的代表性SLO圖像。可以觀察到輪廓分明的血管，沒有觀察到血管滲漏。相比

之下，（s.r.）注射了scAAV2-CMV-BTC的小鼠表現出紆曲的血管和螢光素滲漏（圖5B）。

實例5. FACS結合測定評估抗體與膜結合的BTC的結合

【0645】 首先，將在表面上不表現BTC的293F細胞和在細胞表面上表現BTC的穩定細胞293F-hBTC鋪板，直至形成匯合的單層。洗滌細胞後，在37°C使用Versene，將細胞解離。將細胞用FACS緩衝液洗滌並以100 μ l在96孔板中鋪板，以1 x 10⁶個細胞/ml使用細胞。然後使用100 μ l連續稀釋的抗體（以50 nM開始）。將細胞孵育，洗滌，然後用抗人Fab-FITC第二抗體處理。抗體僅與表現BTC的細胞結合。之後將細胞洗滌並在Attune流式細胞儀上進行分析。所有數據分析均使用Flow Jo軟體進行。

【0646】 圖6A-6D示出，雙特異性Fab-Fab（NVS11、NVS12和NVS13）及其對應的抗BTC Fab（NVS1、NVS2和NVS3）均示出與膜結合的BTC相當的結合。在圖6A中，使用流動式細胞分析術來評估NVS11與膜結合的BTC的結合，使用了抗人Fab抗體用於檢測。NVS11結合至膜結合的BTC（其在293F細胞上過表現），其中平均EC50為93 $\pm$ 42 pM（9.0 $\pm$ 4.0 ng/mL）。

【0647】 夾層酶聯免疫吸附測定（ELISA）係藉由包被BTC或VEGF，然後添加NVS11的滴定，隨後藉由第二靶標（生物素化的BTC或生物素化的VEGF）檢測來進行的。如圖6E和6F所示，在兩種形式中，NVS11可以同時與BTC和VEGF二者結合。單一Fab、NVS1或NVS8，都不能同時與BTC和VEGF二者結合。

【0648】 藉由ELISA確定NVS11對VEGF的中和作用。將各種濃度的NVS11與生物素化的人VEGF一起預孵育並添加到VEGFR2-Fc包被的板中。如圖6G所示，用卵白素-HRP檢測到了VEGF-生物素與VEGFR2的結合。NVS11以平均IC50值1300 $\pm$ 200 pM（127 $\pm$ 19 ng/mL）抑制人VEGF與人VEGFR2-Fc的結合。

實例6. Biacore K_D測定

【0649】 首先，將用於BTC或VEGF與NVS11結合的親和力測量的表面等離振子共振在晶片上捕獲。NVS11結合至人和食蟹猴BTC的K_D分別為5.8 pM和7.2 pM，而結合至人VEGF-A的K_D為18.6 pM。人和食蟹猴同種型VEGF-A198、-165、-121和-111的序列係100%相同的。因此，對食蟹猴VEGF-A的親和力與對人VEGF-A的親和力相同。結合速率和解離速率常數和親和力列出於下表17中。

[表17]. NVS11對人和食蟹猴BTC和人VEGF-A的平均動力學速率常數及親和力

抗體	配體種類	平均k _{結合} (1/Ms)	平均k _{解離} (1/s)	平均KD (M)
NVS11	人BTC	5.1E + 06	3.0E-05	5.8E-12
NVS11	食蟹猴BTC	4.2E + 06	3.0E-05	7.2E-12
NVS11	人VEGF ₁₆₅ (與食蟹獼猴100%相同)	1.3E + 06	2.4E-05	1.86E-11

【0650】 人VEGF的平均值係從5個單獨的實驗中計算出來的。人和食蟹猴BTC的平均值係從7個單獨的實驗中計算出來的。

【0651】 為了評估當Fab以雙特異性形式存在時，與BTC或VEGF的結合是否受到影響，使用Biacore，進行親和力測定。如下所述，使用Biacore T200儀器（Biacore，GE醫療集團）經由SPR進行動力學速率常數計算。使用抗Fab捕獲方法來確定Fab和雙特異性形式對BTC的動力學。使用來自GE的所提供的胺偶合方案，將可商購的抗Fab捕獲IgG（傑克森免疫研究公司 (Jackson Immuno research)）固定在晶片表面。此固定的抗體捕獲單一Fab和雙特異性形式。目標係捕獲一定量的Fab以實現R_{max}為20。然後使BTC流過Fab作為分析物。BTC的起始濃度為5 nM並以1：2連續稀釋為七個濃度。在每個濃度循環結束時，使用最終1%磷酸和1：10的5 mM NaOH以60 µl/min流動進行再生1分鐘。

【0652】 完成雙參考減法以產生最終數據。將原始數據擬合至1：1結合模型，其中將一或多個參數 R_{max} 設置為本地。

【0653】 下表18示出Fab及其相應的雙特異性形式之間對於BTC和VEGF的親和力係相當的。

[表18]. 單特異性抗體及雙特異性抗體之親和力

構建體	人BTC			人VEGF		
	Ka	Kd	KD (pM)	Ka	Kd	KD (pM)
NVS1	1.98E + 07	3.39E-05	1.7	未檢測到結合		
NVS11	2.47E + 07	4.41E-05	1.8	1.54E + 06	3.81E-05	2.5
NVS2	1.12E + 07	5.26E-05	4.7	未檢測到結合		
NVS12	1.11E + 07	6.67E-05	6.0	1.46E + 06	2.46E-05	17.0
NVS4	1.14E + 07	4.86E-05	4.3	(非特異性結合)		
NVS14	1.67E + 07	3.22E-05	2.0	1.48E + 06	2.40E-05	16.0
NVS3	1.35E + 07	5.98E-05	4.4	未檢測到結合		
NVS13	1.33E + 07	2.40E-05	1.8	1.55E + 06	1.01E-05	6.5
NVS8	未檢測到結合			5.26E + 06	1.52E-05	3.0

實例7. 抗體阻斷BTC與ErbB1或ErbB4的結合之中和效力

【0654】 為了評估Fab和雙特異性形式在中和BTC與其受體Erb1或ErbB4的結合中的效力，進行了以下測定。以1 x 10⁵個細胞/孔，將過表現ErbB1或ErbB4的HKB11細胞鋪板。藉由以1200 rpm旋轉沈降5分鐘，用FACS緩衝液將細胞洗滌一次並去除上清液。接著在FACS緩衝液中製備Fab樣本稀釋液和BTC。將人BTC-avitag-生物素稀釋至15 nM的固定濃度。將測試Fab樣本以40 nM的起始濃度製備，並以1：2連續稀釋滴定9個點。將生物素-BTC和測試Fab樣本二者在室溫孵育30分鐘。然後將預孵育的樣本以每孔100 µl添加至細胞板中，一式兩份，並在冰上孵育1小時。然後將板在FACS緩衝液中洗滌一次並以1200 rpm旋轉沈降5分鐘，並去除上清液。將細胞沈澱與100 µl/孔的稀釋的第二抗體卵白素-Alexa Fluor488（1：2000）在FACS緩衝液中懸浮後，將細胞在冰上孵育60 min。將細

胞用FACS緩衝液洗滌一次，並重新懸浮在120 μ l的FACS緩衝液中用於流式細胞分析。

【0655】 在Attune流式細胞儀上進行測量。使用Flow Jo軟體來分析數據。對分析的活細胞群以前向與側向散射進行門控（FSC-A/SSC-A點圖）。在對照長條圖（其是使用僅在卵白素-Alexa Fluor488中孵育的樣本獲得的）上建立間隔門控，並隨後確定了攜帶膜結合受體ErbB1或ErbB4和生物素-BTC的細胞的陽性結合事件百分比。還推導出了活細胞群的中位螢光強度（MFI）值。然後使用MFI值計算測試樣本的抑制百分比，並隨後使用非線性回歸（曲線擬合）模型在GraphPad Prism 7.03中作圖以產生IC50值。

【0656】 圖7示出對2 nM BTC結合ErbB1的抑制；而圖8示出對2 nM BTC結合ErbB4的抑制。圖7和8示出，雙特異性Fab-Fab及其相應的抗BTC Fab二者示出相當的對BTC與ErbB1或ErbB4的抑制效力。

【0657】 使用在細胞表面過表現人ErbB1或ErbB4的HKB11細胞進行流動式細胞分析術細胞效力測定。將NVS11與15 nM可溶性人BTC-avitag-生物素以不同的濃度預孵育，以評估NVS11與BTC的結合。如圖8E和8F所示，NVS11阻斷可溶性BTC與人ErbB1和ErbB4結合，其中對於ErbB1的平均IC50為 2.9 ± 0.3 nM（ 279 ± 29 ng/ml），而對於ErbB4為 4.6 ± 2.7 nM（ 443 ± 260 ng/ml）。

【0658】 如圖8G所示，使用特異性抗體檢測磷酸化的EGFR的ELISA形式證實，可溶性BTC與NVS1或NVS11的預孵育阻止了在人卵巢癌細胞系NCI/ADR-RES上內源性表現的EGFR的BTC誘導的磷酸化。

實例8. 抗體阻斷VEGF-A與VEGFR2的結合之中和效力

【0659】 VEGF-A藉由VEGFR2的結合和活化來調節血管生成和血管通透性。VEGF-A的過表現與眼部疾病（例如DR和AMD）中增加的微血管通透性和

血管生成有關。以下實驗之目的係測試抗體中和VEGF-A與VEGFR2的結合的效力。

【0660】 在4°C，在384 MaxiSorp板上，將VEGF-R2（研究開發系統公司（R & D Systems），#357-KD/CF）以在1XPBS中4 µg/ml按20 µl/孔包被過夜。然後使用1XTBST，將該等板洗滌3次。將該等板在2% BSA稀釋劑（0.1%吐溫20/0.1% TirtionX100）中阻斷過夜。阻斷後，使用TBST，將該等板洗滌3次，然後以20 µl/孔添加樣本混合物。樣本混合物由以下組成：最終固定濃度為400 pM的VEGF-生物素（內部）和從20 nM開始的15點1：2連續稀釋的抗體。將樣本混合物預孵育1小時，然後添加到板上，並在室溫在板上再孵育一小時。然後，使用TBST，將板洗滌3次，並且添加20 µl/孔的卵白素-HRP（以1：5000稀釋）以進行1小時的孵育。將該等板在TBST中洗滌3次，然後添加20 µl/孔的TMB底物。TMB係一種色原，當氧化時會產生藍色。將TMB孵育10分鐘，直到在無抗體樣本中訊息飽和，然後添加10 µl/孔的2N 硫酸，然後其將藍色變為黃色，而此時在450 nm處具有最大吸光度。

【0661】 圖9A-9C示出，雙特異性Fab-Fab及其相應的抗VEGF Fab示出相當的對VEGF-A與VEGFR2的抑制效力。

實例9. 抗體阻斷BTC誘導的磷酸化-ERK1/2活化之中和效力（使用α篩選測定（Alpha Screen Assay））

【0662】 BTC可以與受體ErbB1或ErbB4結合，其然後可以與其他ErbB受體形成同源二聚體或異源二聚體。二聚化後，受體將反式磷酸化並通過MAPK/ERK通路發出訊息。A431（ATCC# CRL-1555）係一種人表皮樣癌細胞系，具有ErbB1高表現並具有ErbB3和ErbB4的一些表現。在37°C、5% CO₂中，在組織培養箱中，將該等細胞以17,500個細胞/孔鋪板在384孔板中的生長培養基中。24小時後，去

除培養基並置換為補充有0.05% BSA的30 µl無血清培養基DMEM，然後將細胞血清饑餓5小時。接著在無血清培養基中製備樣本稀釋液。將人BTC稀釋至4 nM的濃度。將測試樣本以80 nM的起始濃度製備，並滴定1:2稀釋的9個點。對照樣本係無血清培養基和4 nM BTC加0 nM測試樣本。BTC和測試樣本二者均在室溫以1:1的混合物預孵育30分鐘。將10 µl混合物添加到含有細胞的每個孔中，並在37°C處理5分鐘。立即移去處理，然後將30 µl的1x SureFire Ultra裂解緩衝液添加到每個孔中，在室溫伴隨輕輕振盪孵育板10分鐘。

【0663】 使用AphaLISA SureFire Ultra pERK套組，評估磷酸化ERK1/2水平的定量。根據製造商的說明，在384孔白色Proxiplate中進行測定。將10 µl樣本與5 µl受體混合物和5 µl供體混合物在室溫避光孵育至少兩小時。然後使用α篩選設定用Envision系統讀取板。在Excel文件上計算抑制百分比的數據分析。IC50值係在GraphPad Prism 7.03中使用非線性回歸（曲線擬合）模型產生的。

【0664】 基於以下公式，將來自每個測定板的未處理的（A0）和配體BTC處理的對照（A100）的原始數據用於計算測試劑（A）的抑制百分比： $\%抑制 = (1 - (A - A0) / (A100 - A0)) * 100$ 。在此公式中，測試劑的抑制百分比在未處理對照（0%）和處理對照（100%）之間成線性比例。

【0665】 圖10A-10D示出，雙特異性Fab-Fab及其相應的抗BTC Fab二者示出相當的pERK活化抑制效力。

實例10. 抗體阻斷BTC誘導的磷酸化-HER3活化之中和效力

【0666】 BTC可以與受體ErbB1或ErbB4結合，其然後可以與其他ErbB受體形成同源二聚體或異源二聚體。二聚化後，受體將反式磷酸化並通過MAPK/ERK通路發出訊息。NCI/ADR-RES細胞（NCI）係一種卵巢癌細胞系。該等細胞表現

全部4種ErbB受體。ErbB3 (HER3) 無催化活性，不能反式活化其他受體。它確實會被其他受體反式活化。

【0667】 在pHER3測定中，Fab（起始濃度為20 nM）的連續稀釋以1：2進行。將其與5 nM可溶性人BTC預孵育以形成Fab-BTC複合物。將細胞接種在48孔組織培養板中並孵育24小時並血清饑餓5小時，然後添加抗體-BTC複合物。培養基為在RPMI中的10% FBS，而血清饑餓條件為Optimem培養基。然後將BTC-抗體複合物添加到血清饑餓5小時的48孔組織培養板中，並將複合物-細胞處理8分鐘。處理後，去除上清液並用冷1X PBS將細胞洗滌一次。然後將細胞裂解並藉由MSD評估ErbB3的磷酸化。MSD方法由以下組成：首先將總HER3捕獲抗體在室溫以2 µg/ml以10 µl每孔鋪板2小時。然後將板用1XTBST洗滌一次並且然後在5% BSA (1XTBST) 中阻斷2小時。然後將板洗滌並以10 µl/孔添加測試裂解物並在室溫孵育1小時。然後將板洗滌並以10 µl/孔添加1：1000稀釋的檢測抗體抗-pHER3抗體並在室溫孵育1小時。然後將板洗滌一次，並以1：5000稀釋以10 µl/孔添加兔磺基標籤 (sulfo-tag) 抗體。將板洗滌，添加MSD讀取緩衝液，並在MSD儀器上讀取板。

【0668】 圖11A-11D示出5 nM BTC的抑制誘導了在ADR-RES細胞中的ErbB3磷酸化。雙特異性Fab-Fab及其相應的抗BTC Fab二者示出相當的ErbB3磷酸化抑制效力。

實例11. 抗體阻斷膜結合的BTC以近分泌方式誘導磷酸化-HER3活化之中和效力

【0669】 BTC係EGF家族的成員，它可以以可溶性或前體跨膜形式存在。它的跨膜形式可以藉由金屬蛋白酶ADAM10進行蛋白水解切割。可溶性和跨膜形式二者都可以通過ErbB1和ErbB4結合和發出訊息。以下實驗之目的係評估雙

特異性Fab-Fab與其單一抗BTC Fab相比在抑制膜結合的BTC與含有ErbB受體的NCI/ADR-RES (NCI) 細胞的結合和活化方面的效力。

【0670】對表面結合的BTC與其受體的中和使用以下進行：表現ErbB受體的NCI/ADR-RES細胞，和表現膜結合BTC的穩定細胞系293F-人BTC。Fab（起始濃度為20 nM）的連續稀釋以1:2進行。接著將Fab稀釋液和293-BTC細胞預孵育以形成複合物。然後將此複合物添加到ADR/RES細胞中並在37°C孵育10分鐘。處理後，去除上清液並用冷1X PBS將細胞洗滌一次。然後將細胞裂解並藉由MSD評估ErbB3的磷酸化。MSD方法由以下組成：首先將總HER3捕獲抗體在室溫以2 µg/ml以10 µl每孔鋪板2小時。然後將板用1XTBST洗滌一次並且然後在5% BSA（1XTBST）中阻斷2小時。然後將板洗滌並以10 µl/孔添加測試裂解物並在室溫孵育1小時。然後將板洗滌並以10 µl/孔添加1:1000稀釋的檢測抗體抗-pHER3抗體並在室溫孵育1小時。然後將板洗滌一次，並以1:5000稀釋以10 µl/孔添加兔磺基標籤（sulfo-tag）抗體。將板洗滌，添加MSD讀取緩衝液，並在MSD儀器上讀取板。

【0671】圖12A-12D示出，雙特異性Fab-Fab及其相應的抗BTC Fab二者示出相當的對膜結合的BTC與含有ErbB受體的NCI/ADR-RES細胞的抑制效力。

實例12. 在使用RPE完整性的體外模型中抑制BTC誘導的滲透性

【0672】視網膜色素上皮（RPE）細胞的緊密連接的形成帶來了血-視網膜外屏障（BRB）的形成，其調節溶質和營養素從脈絡膜向視網膜下空間的運動。它可以防止液體從脈絡膜滲漏到視網膜中。在以下測定中，測試了抗體中和BTC誘導的RPE細胞通透性的能力方面的效力。

【0673】從人iPS細胞分化而來的RPE細胞具有ErbB1受體的高表現。用BTC處理RPE細胞能夠誘導通透性，如藉由細胞單層電阻信號的降低所測量。

xCELLigence 384孔E-板 (#5867681001) 在添加細胞之前藉由進行電阻信號測量 (細胞指數) 來初始化。將RPE細胞以10,000個細胞/孔鋪板在生長培養基 (龍沙公司 (Lonza) #195406, 2% FBS, 1X抗-抗 (1X anti-anti) #15240062, 20 ng/ml FGF #PHG6015) 中, 並在37°C、5% CO₂下, 在組織培養箱中培養。藉由培養2-3週, 允許細胞分化, 每2-3天更換一次生長培養基。在實驗開始之前, 將細胞在基礎培養基 (龍沙公司#195406) 中培養過夜。處理前將每個孔中的電阻信號歸一化為1。每天將新鮮基礎培養基中的BTC和BTC/抗體複合物[5 nM/42.5 nM]處理添加到RPE細胞中, 每10分鐘測量一次電阻。將隨時間變化的歸一化電阻信號進行繪製。

【0674】圖13A示出, 雙特異性Fab-Fab及其相應的抗BTC Fab二者示出相當的對體外BTC誘導的RPE細胞通透性的抑制效力。

【0675】對於內BRB完整性, 培養HREC直到形成緊密連接。VEGF處理降低了HREC電阻, 而BTC則沒有。如圖13B所示, 與VEGF預孵育的NVS11抑制VEGF誘導的HREC細胞通透性。

實例13. 抗BTC和抗VEGF組合療法, 相比於糖尿病大鼠的單一療法, 減少視網膜滲漏

【0676】此實例描述了使用胰腺毒素STZ (鏈脲佐菌素) 在大鼠中誘導高血糖症。高血糖症六週後, 在該等動物中, 視網膜滲漏增加。測試了兩種抗體減少視網膜滲漏的能力: 抗VEGF抗體 (4G3) 和抗BTC抗體 (LZR230)。

【0677】藉由用Morphosys HuCAL Gold淘選生物素化的小鼠VEGF來鑒定4G3。還發現Fab可以結合和中和人VEGF, 並且人/小鼠交叉反應性使其可用於各種小鼠模型。4G3係一種VH5/V13抗體, 已重新格式化為人和小鼠IgG1和小鼠

IgG2a。將小鼠IgG1用於大鼠STZ模型。4G3係初級分離株並且係親和力未成熟的。

【0678】 LZR230係抗BTC Fab (SEQ ID NO: 180和181；或「TC16」) 的全長IgG形式。

【0679】 當與IgG對照高血糖動物相比時，以3 mg/kg全身給予抗BTC (LZR230) 或抗VEGF (4G3) 抗體兩週抑制視網膜滲漏。將抗BTC與抗VEGF以3 mg/kg組合可進一步減少視網膜滲漏。

【0680】 選擇8週至10週齡，或體重 > 200克的棕色挪威大鼠。藉由單次(ip)注射65 mg/kg的STZ破壞產胰島素的胰腺β細胞來誘導高血糖症。當STZ注射後7天血糖水平 > 250 mg/dL時，動物被認為患有糖尿病並被納入研究中。STZ在0.1 M檸檬酸鈉緩衝液 (pH 4.5) 中製備。向對照動物注射了0.1 M檸檬酸鈉緩衝液 (pH 4.5) 。

【0681】 為評估視網膜滲漏，經由尾靜脈向大鼠IV注射FITC-葡聚糖 (4.4 kDa，在PBS中50 mg/mL，pH 7.4，50 mg/kg體重)。25 min後，使用CO₂將大鼠安樂死。在EDTA包被的管中經由心臟穿刺收集血液樣本 (0.5 mL-1 mL)。接著通過左心室將20 mL PBS灌注到整個全身脈管系統。此步驟促進含有FITC-葡聚糖的血液的去除，從而允許對從血液中滲漏至視網膜組織中的FITC-葡聚糖的定量。

【0682】 將眼睛摘除並立即在乾冰上快速冷凍，然後在-80°C儲存。從每隻眼睛中解剖視網膜，稱重，並在含有2% Triton X-100的150 µL的PBS中均質化。考慮到尾靜脈注射的變化，將血漿FITC-葡聚糖水平作為因素計入計算中，以確定視網膜組織中的FITC-葡聚糖水平 (µg/g組織)。分光光度計激發波長為483 nm，而發射波長為538 nm。對稀釋進行校正後，使用以下等式，來計算滲漏到眼部組織中的FITC-葡聚糖的量：

$$\text{視網膜滲漏} = \frac{\text{視網膜 FITC-葡聚糖} (\mu\text{g})}{\text{視網膜重量} (\text{g})} \\ (\mu\text{L/g/min}) \text{ 血漿 FITC-葡聚糖} (\mu\text{g}/\mu\text{l}) \times \text{循環時間} (\text{min})$$

【0683】 為了評估BTC和VEGF在視網膜滲漏中的作用，在實驗結束之前，在第5天，經2週IP注射抗BTC（LZR230）和/或抗VEGF（4G3）抗體。對照動物接受6 mg/kg對照IgG。注射3 mg/kg的單獨或組合的抗BTC（LZR230）和抗VEGF（4G3）。

【0684】 結果。與IgG對照相比，在四個獨立的實驗中評估了3 mg/kg的抗BTC（LZR230）、3 mg/kg的抗VEGF（4G3）、和3 mg/kg的抗BTC（LZR230）+ 3 mg/kg的抗VEGF（4G3）對高血糖大鼠的視網膜滲漏的作用。在全部四個研究中，高血糖動物的視網膜滲漏相比於對照顯著增加。在四個研究的兩個中，單獨的抗BTC（LZR230）或單獨的抗VEGF（4G3）顯著減少了視網膜滲漏。在全部四個研究中，與IgG對照相比，抗BTC（LZR230）和抗VEGF（4G3）的組合處理顯著抑制了視網膜滲漏。使用GraphPad Prism（美國加利福尼亞州拉荷亞）來繪製數據並進行統計分析。將每隻眼睛都視為一個獨立的數據點。藉由單因素方差分析（ANOVA）和鄧尼特（Dunnett）多重比較檢驗與STZ對照（IgG）進行比較。除非另有說明，顯著性為 $P < 0.05$ 。與血糖量正常的動物相比，用STZ誘導高血糖症導致視網膜滲漏顯著增加。用抗VEGF（4G3）處理導致視網膜滲漏減少32%。用抗BTC（LZR230）處理導致視網膜滲漏減少41%。抗BTC（LZR230）和抗VEGF（4G3）的組合出人意料地導致視網膜滲漏減少77%。

【0685】 圖14示出，高血糖症誘導的視網膜滲漏係受BTC和VEGF二者驅動的，而臨床上靶向BTC和VEGF將帶來比單獨靶向VEGF更大的功效。

實例14. 抗BTC/抗VEGF雙特異性Fab在BTC或VEGF激發中的功效

【0686】 方法及動物模型。在體重為大約1.6-2.2 kg的雄性荷蘭黑帶兔中進行體內研究。

【0687】 對動物進行準備以用於玻璃體內注射或成像。用局部使用的1%的環噴托酯和去氧腎上腺素(根據有效性使用2.5%或10%的濃度)對兔眼進行擴張,並將角膜用局部使用的0.5%的丙美卡因麻醉。然後將兔以i.m.注射含有氯胺酮(17.5 mg/kg-35 mg/kg)和甲苯噻吡(2.5-5 mg/kg)的混合物來麻醉。

【0688】 在兔玻璃體內注射測試品。在手術顯微鏡的直接視覺化下,用30號針頭顛上地從角膜緣約2 mm插入玻璃體中部,從而將50 μ L的測試品注射到玻璃體內。在注射過程中,記錄任何注射相關的併發症(出血、視網膜脫落、晶狀體損傷或液體反流),然後對另一隻眼睛重複該程序。在不到兩週後進行VEGF注射的研究中,在該程序後將含有0.3%妥布黴素的軟膏投與到雙眼上。如果在測試品注射後超過兩週進行VEGF注射,則在該程序後將含有0.3%妥布黴素和0.1%地塞米松的軟膏投與在雙眼上。

【0689】 在兔玻璃體內注射VEGF/BTC。分別使用50 μ L玻璃體內(IVT)注射劑(在鹽水中含有400 ng人VEGF-A(165同種型)(派普泰克公司(Peprotech),目錄號AF-100-20))或在鹽水中含有0.75 μ g人BTC的50 μ L玻璃體內(IVT)注射劑,來誘導視網膜血管或形態變化。該程式與在先前部分概述的程式相同,除了在該程序之後,將含有0.3%妥布黴素的軟膏(無地塞米松)投與到雙眼上。

抗BTC/抗VEGF雙特異性Fab在BTC激發中的功效

【0690】 藉由光同調斷層掃描(OCT)評估的視網膜厚度圖像採集和定量。使用海德堡SPECTRALIS® OCT系統(海德堡工程(Heidelberg Engineering);美國麻塞諸塞州佛蘭克林(Franklin, MA, USA))採集兔視網膜的OCT圖像。OCT採集由七個高解析度b掃描組成,每個b掃描平均30幀(30 $\times$ 10度)。掃描聚焦於

視神經頭下方並豎直旋轉，直到掃描的長軸與髓射線垂直對齊。所描述的位置涵蓋兔視覺帶（visual streak），已知視覺帶具有高密度的m視錐（m-cone）細胞和神經節細胞（Juliussen等人, 1994）。儀器自動登記每個視網膜的OCT掃描區域，以便在同一位置採集後續圖像。

【0691】 從OCT圖像定量視網膜厚度。從海德堡軟體導出.tif格式的圖像。在MATLAB®（麻塞諸塞州納蒂克（Natick, MA））中創建了自訂編寫的演算法以用於從.tif文件中剪裁和提取OCT圖像。在MATLAB®中藉由手動分割視網膜層對提取的OCT圖像進行形態測量分析。沿著視網膜內膜，即，布魯赫膜以及在脈絡膜和鞏膜的接觸面上繪製線條。該等線條之間的近端差被用於產生視網膜和脈絡膜厚度值（視網膜厚度包括RPE）。OCT圖像的邊緣通常會捕獲神經頭的一小部分，或者具有與成像相關的偽跡，因此編寫了代碼以剪裁每張圖像外部的25%，留下中間50%導出以供分析。該等值從像素轉換為 μm 用於最終輸出。雖然IVT注射BTC會誘導視網膜和RPE增厚，但在此處描述的研究中，僅測量和定量了視網膜厚度。

【0692】 功效研究。在第0天（緊隨注射前基線OCT的採集之後），注射測試品。隨後在第7天，在緊接著進行BTC的注射以誘導視網膜/RPE增厚之前，採集另一張OCT圖像。在第14天，採集最終的OCT。測量並比較組間視網膜厚度的變化（第14天和第0天之間的差異）。藉由獲取處理組和鹽水（陰性對照）組之間視網膜厚度平均變化的差異來計算每個處理組的抑制百分比。

抗 BTC/抗 VEGF 雙特異性 Fab 在 VEGF 激發中的功效

【0693】 圖像採集。VEGF誘導的視網膜血管通透性變化使用基於掃描雷射檢眼鏡（SLO）的螢光血管造影來評估。採集了所選擇的兩種螢光染料的圖像，一種染料係用於標記血管構造（FITC軛合的葡聚糖），而另一種染料係用於確定

血管滲透性（螢光素）。將來自6模式SPECTRALIS®系統（海德堡工程）的螢光素通道用於圖像採集。在圖像採集前大約5分鐘，將1 mL的FITC軛合的2000 kDa葡聚糖溶液的i.v.注射劑遞送到耳緣靜脈中。此高分子量染料留在血管中並因此允許捕獲血管構造圖。基於產生高品質圖像所需的螢光訊息，根據經驗為每批選擇使用的FITC-葡聚糖（西格瑪公司（Sigma），FD2000s）的濃度（35 mg/mL - 70 mg/mL）。在下一步驟之前，採集雙眼中標記的視網膜脈管系統的圖像。隨後經由注射0.3 mL的低分子量染料來評估視網膜血管通透性，已知該染料（10%螢光素鈉溶液）在VEGF注射後會從血管中滲漏。將染料i.v.遞送到耳緣靜脈中；在注射後大約3分鐘採集一隻眼睛的圖像，而在注射後大約4-6分鐘，採集另一隻眼睛的圖像。導出的圖像係使用30度透鏡在鄰近視神經的鼻髓射線上採集的平均多達40張的配准SLO圖像。

【0694】視網膜血管通透性的定量。對掩模的亂數據進行圖像分析。藉由對VEGF FITC-葡聚糖後48小時的圖像連同在同一天拍攝的同一只眼睛的相應的螢光素圖像進行處理來定量血管通透性。使用在MATLAB®中開發的軟體程式完成影像處理。首先將圖像彼此配准。然後將包含視神經的區域和髓射線以外的區域連同圖像品質不足以用於分析的任何局部區域從共配准的圖像中剪裁掉。然後以逐個像素計，將歸一化的、共配准的圖像彼此減去。由於FITC-葡聚糖圖像僅含有經標記的血管而螢光素圖像包含血管中的訊息以及外滲的染料，因此從螢光素圖像中減去FITC-葡聚糖圖像會產生只含有外滲的螢光素的圖像。來自計算的圖像的所得每單位面積螢光素強度被報告為該眼睛的「螢光素滲漏」。不存在抑制的組的平均螢光素滲漏值典型地在0.3至0.5之範圍內。螢光素滲漏的顯著抑制導致該等值更接近0。

【0695】功效研究。在單個時間點（第N天），評估由抗VEGF測試品產生的功效（參照進行測試品的IVT注射的那天（第0天））。IVT遞送VEGF若干天

後（第N-2天），誘導了滲漏。測試品注射和VEGF注射之間的間隔因研究需要而異。然而，無論研究持續時間如何，螢光素滲漏評估成像總是在VEGF注射後兩天進行。

【0696】統計分析。使用GraphPad Prism（美國加利福尼亞州拉荷亞）來繪製數據並進行統計分析。將每隻眼睛都視為一個獨立的數據點。除非另有說明，誤差條為標準誤差。除非另有說明，顯著性為 $P < 0.05$ 。針對所有時間點的中心線掃描（7個掃描中的4個）測量視網膜厚度。針對抗體和鹽水（陰性對照），測量在第0天（測試品的IVT之前的基線）和第14天（測試品注射後14天和BTC注射後7天）的視網膜厚度之間的變化。如果不能獲得一個研究物件在全部時間點上的數據點，則將該研究物件從分析中移除。對由單只眼睛組成之群組進行平均螢光素滲漏或視網膜增厚、相對於對照的抑制（%）和統計學的計算。藉由單因素方差分析（ANOVA）和鄧尼特多重比較檢驗與陰性對照進行比較。

【0697】圖 15A 示出來自兔眼的代表性 OCT 圖像，該等圖像分別在基線（左圖）、用 400 ng 的 VEGF 處理後 2 天（中圖）和用 750 ng 的 BTC 處理後 7 天（右圖）採集。在第 7 天，750 ng 的 BTC 誘導了顯著的視網膜增厚（48 微米），而在注射後 2 天，400 ng 的 VEGF 誘導了極少的視網膜增厚（9 微米）。相同眼睛的底部中的視網膜切片示出了病狀。玻璃體內 BTC 誘導兔視網膜下水腫和 RPE 變化，而 VEGF 不會。為了評估 NVS1 在體內阻斷 BTC 作用的有效性，在 IVT 注射 BTC 前 7 天，IVT 注射 NVS1。在 BTC 注射後 7 天評估視網膜厚度的變化。在 BTC 激發的眼睛中，NVS1 顯著抑制視網膜增厚（在 61 $\mu\text{g}/\text{眼}$ NVS11（在 1.5 ml 兔玻璃體中為約 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）的情況下為 85%-87%， $p < 0.0001$ ， $n = 2$ ；在 6.1 $\mu\text{g}/\text{眼}$ NVS11 的情況下為 30%， $p < 0.01$ ， $n = 1$ 個研究）（圖 15B）。

【0698】圖16示出每個處理組（單獨的BTC、兩個劑量的NVS1—3 μg 和30 μg 、莫耳當量劑量的6.1 μg 和61 μg 的NVS11）中每隻眼睛的視網膜厚度值（第14

天和第0天的總厚度之間)的變化。NVS11和NVS1的兩種劑量均以劑量依賴性方式顯著減少了視網膜增厚。在接受了雙特異性分子NVS11的眼睛中觀察到的視網膜增厚減少與等莫耳劑量的NVS1實現的減少係相當的。

【0699】圖17示出每個處理組(單獨的BTC、兩個劑量的NVS2—3 μg 和30 μg 、莫耳當量劑量的6.1 μg 和61 μg 的NVS12)中每隻眼睛的視網膜厚度(第14天和第0天的總厚度之間)的變化。雙特異性分子NVS12以劑量依賴性方式顯著抑制了BTC誘導的視網膜增厚。在雙特異性組中可見的減少與在相應的抗BTC處理組中觀察到的減少相當。

【0700】圖18A示出不同處理組(分別為：單獨的BTC、30 μg 莫耳當量劑量的NVS11、NVS12及其相應的分子NVS1和NVS2)中每隻兔眼的視網膜厚度的變化(第14天-第0天)。兩種雙特異性抗體(70 μg 的NVS12和61 μg 的NVS11)均顯著抑制兔眼中BTC誘導的視網膜增厚，抑制作用分別與大約等莫耳劑量的其相應分子(30 μg 的NVS1和NVS2)相當。

【0701】IVT注射0.75 μg /眼的人BTC，7天後，視網膜厚度增加了約36 μm (RD-2017-00326, $p < 0.0001$)。組織學檢查顯示了BTC誘導的RPE變化，包括肥大、空泡形成、色素變化、視網膜皺襞和視網膜下水腫(圖18B，(將小圖A中注射鹽水的兔與小圖B中注射BTC的兔相比較))。在投與了61 μg NVS11的兔中阻止了BTC誘導的組織學變化(圖18B，小圖C)。圖18B的B-D中示出的兔視網膜的組織學對應於圖15B中示出的兔OCT圖像。圖18B中的小圖分別為IVT注射了以下各項的兔的視網膜組織學：A) 鹽水；B) BTC；C) BTC + 61 μg 的NVS11；D) BTC + 30 μg 的NVS1(陽性對照)。在每個小圖中，RPE層用紅色水平粗箭頭指出。BTC誘導的RPE變化用紅色細箭頭指示。

【0702】IVT注射人VEGF-A(400 ng/眼)誘導視網膜血管滲漏，這由螢光素血管造影(圖18C)清楚地顯示。為了評估NVS11在體內阻斷VEGF作用的有

效性，在用400 ng/眼進行IVT VEGF-A激發之前14天，向兔IVT注射NVS11。在VEGF激發後2天，對視網膜滲漏的變化進行評估。NVS11有效減少了VEGF誘導的視網膜血管滲漏（減少79%， $p < 0.0001$ ， $n = 2$ 個研究），這與等莫耳劑量的相應的抗VEGF Fab（NVS8）係相似的，抗VEGF Fab（NVS8）減少了80%的螢光素滲漏（ $p < 0.0001$ ）（圖18D）。

【0703】圖19示出了代表性的螢光素血管造影圖像，該等圖像是在IVT遞送400 ng的VEGF後2天（左側小圖）和750 ng的BTC後7天（右側小圖）獲得。VEGF注射在兔中導致了視網膜血管滲漏而BTC不會。

【0704】圖20示出了來自不同處理組（單獨的VEGF、或用等莫耳劑量的NVS11、NVS12、和NVS8處理的）的單只眼睛的螢光素滲漏（ $t = 3-5 \text{ min}$ ）值。IVT投與如下：第0天：雙特異性（30.5 ug/眼）和單一fab（15 ug/眼）；第14天：VEGF（0.4 μg /眼）；第16天：使用掃描雷射檢眼鏡檢查進行成像以評估VEGF注射誘導的螢光素滲漏。為每隻眼睛拍攝兩張圖像。用來成像的技術係螢光素血管造影（FA）。FD（係指螢光素注射之前拍攝的圖像）-FITC葡聚糖標記的圖像提供了血管的構造，並且在螢光素注射之後進行FA以確定滲漏。最終藥物係指PK採集以確定眼睛中的藥物水平。雙特異性分子及其相應的抗VEGF分子NVS8二者均顯著抑制視網膜血管滲漏。此結果在兩個研究中得到證實。

【0705】圖21示出注射了鹽水、30.5 μg 的NVS11、30.5 μg 的NVS12和15 μg 的NVS8的單只眼睛的螢光素滲漏（ $t = 3-5 \text{ min}$ ）。儘管全部三種Fab都示出了螢光素滲漏減少，兩種雙特異性形式NVS11和NVS12比NVS8（抗VEGF Fab）表現出更多的減少。

【0706】圖22示出了用鹽水、50 μg 和500 μg 的Lucentis（蘭尼單抗；抗VEGF Fab）或50 μg 的NVS1（抗BTC Fab）處理的單只眼睛的視網膜總厚度值的變化。

50 µg的NVS1顯著抑制了BTC誘導的視網膜增厚，而抗VEGF Fab的兩種劑量都不能抑制BTC誘導的視網膜增厚。此結果在兩個研究中得到證實。

實例15. 體內PD模型：兔中BTC誘導的視網膜增厚

【0707】在兔玻璃體內（IVT）注射BTC導致視網膜增厚，如藉由光同調斷層掃描（OCT）所檢測。本研究中測試的抗體包括：NVS1、NVS1的親本（「PNVS1」；SEQ ID NO: 168和169）、Mor3207陰性對照。簡而言之，在第0天，在IVT注射BTC和/或化合物之前，確定基線OCT測量值。

【0708】本研究包括6組兔：1) 0.75 µg rhBTC/眼（n = 4）；2) 500 µg NVS1/眼（n = 3）；3) 0.75 µg rhBTC + 500 µg NVS1/眼（n = 4）；4) 500 µg PNVS1（n = 3）；5) 0.75 µg rh BTC + 500 µg PNVS1/眼（n = 4）；6) 0.75 µg rhBTC + 500 µg Mor3207/眼（n = 4）。

【0709】在第7天，在安樂死和收集眼部組織用於組織學和PK分析之前，進行OCT分析。與單獨的BTC相比，注射了與BTC預孵育的NVS1或PNVS1的兔表現出顯著更少的BTC誘導的視網膜增厚（二者均為 $p < 0.001$ ）。在注射單獨的NVS1或PNVS1後，平均視網膜厚度與基線值相似。與單獨的BTC相比，注射了與BTC預孵育的Mor3207的兔表現出顯著更多的視網膜增厚（ $p < 0.01$ ）。視網膜厚度變化是相對於IVT注射之前每隻動物的視網膜厚度。

【0710】圖23示出NVS1和PNVS1相對於未處理的對照和陰性對照顯著減少了兔的視網膜厚度。各組藉由單因素ANOVA與鄧尼特事後檢驗（Dunnett's posttest）進行比較（ $P < 0.05$ = 顯著）。

【0711】已經詳細描述了本揭露，將顯而易見的是，在不脫離如本文和所附申請專利範圍中所描述的本揭露之精神和範圍的情況下，修改、變化和等同方面係可能的。此外，應當理解，本揭露中的所有實例均作為非限制性實例提供。

實例16. 在人中的研究

【0712】 進行在人中的研究以評估，在多達24位患有DME、RVO、和/或新生血管性AMD的參與者中投與單次玻璃體內（IVT）劑量後，對本文所述之抗BTC/抗VEGF多特異性抗體（例如，NVS11-NVS14）的安全性和耐受性。具有納入此研究的資格的參與者符合以下所有標準：

- 1) 至少一隻眼睛患有黃斑水腫的參與者，包括患有局灶性或彌漫性DME、新生血管性AMD、或RVO的那些參與者；
- 2) 對本研究之眼睛的早期糖尿病性視網膜病變治療（ETDRS）字母得分為，在篩查和基線時，差於60個字母（20/63）但是好於24個字母（20/320）；對非研究眼睛的ETDRS得分為：在篩查和基線時 ≥ 60 個字母；
- 3) 足夠清晰的眼部介質和足夠的瞳孔擴張，以允許獲得足夠清晰的眼底照片用以測量視網膜動脈和靜脈的直徑；
- 4) 在篩查和基線（注射前）時，在坐位時生命徵象在正常範圍內：口腔體溫在35.0°C和37.5°C之間；收縮壓在90 mmHg-160 mmHg之間；舒張壓在50 mmHg-100 mmHg之間；以及脈搏率在40 bpm-90 bpm之間；和

【0713】 本研究之關鍵排除標準包括在研究中的眼睛中的增生型糖尿病性視網膜病變。允許以下情況作為例外：

- a. 少於一個視訊光碟面積的新生血管叢，無玻璃體出血；和
- b. 在第1天前至少六個月進行了少於30次雷射灼傷的光凝術處理的局灶性、周邊視網膜區域。

【0714】 其他排除標準包括：

- a. 患有1型或2型糖尿病的患者，其在篩查時的血紅素A1C ≥ 12 ；
- b. 其他眼部和全身性病症。

【0715】 此為開放標記研究。沒有受試物件、保薦人員或研究人員對治療分配或劑量水平不知情。本研究總共招募了多達24位參與者，根據需要可能在最高耐受劑量水平中增加日裔參與者。樣本量（N）係首先基於在人研究中的可行性考慮和標準做法以中表徵安全性和藥物動力學（PK）。

【0716】 總共招募多達四個群組，還有一個另外的備選的由六位參與者組成的低水平或居間群組。在一方面，研究的劑量遞增設計包括以下群組：

- a. 群組1：0.25 mg/眼，N = 3；
- b. 群組2：0.75 mg/眼，N = 3；
- c. 群組3：2.5 mg/眼，N = 6；
- d. 群組4：7.5 mg/眼，N = 6；和
- e. 群組5：備選群組，居間給藥。

【0717】 在一方面，在基線/第1天時，將單次劑量的本文所述之抗BTC/抗VEGF多特異性抗體（例如，NVS11-NVS14）在研究眼睛中經玻璃體內投與。訪視階段持續到第60天/研究結束（EOS）。

【0718】 如上所述，在一方面，測試了0.25、0.75、2.5和7.5 mg/眼的四個劑量水平/群組。在一方面，IVT劑量以50 µL的體積提供。

【0719】 在遞增到更高劑量之前，對全部安全性和耐受性數據進行回顧。劑量遞增的時間點選在第15天，此時群組1中的所有三位參與者、群組2中三位參與者中的兩位以及群組3和4中六位參與者中四位已到達第15天。評估了以下數據集，包括一直到第15天劑量遞增回顧時的訪視：生命徵象（體溫、血壓和脈搏率）、ECG、安全實驗室、視敏度、IOP、不良事件、視網膜厚度變化和螢光素血管造影。

【0720】 如果在研究的劑量遞增期間出現明顯的不良事件或安全問題，則考慮對下一個計畫的劑量水平進行以下更改：投與在當前劑量和先前劑量之間

的中間劑量；針對當前或先前較低劑量招募另外的參與者；和/或終止任何進一步的劑量遞增。

【0721】 本研究之主要結果測量值包括確定發生眼部和非眼部不良事件的參與者的人數（從第1天到第60天）。評估包括藉由回顧眼科、醫學檢查和安全實驗室來評估單次IVT劑量經兩個月的安全性和耐受性。主要結果測量的終點包括：

- a. 藉由按系統器官類別和/或較佳的術語分類總結的、治療出現的不良事件（AE）（新的或比基線時惡化的）的發生率，來表徵眼部和非眼部安全性；和
- b. 如下中與基線相比變化的測量值：生命徵象、ECG、安全實驗室、IOP、BCVA、和如藉由SD-OCT所測量的黃斑厚度。

【0722】 本研究之次要結果測量包括在單次IVT劑量之後，本文所述之抗BTC/抗VEGF多特異性抗體（例如，NVS11-NVS14）的PK曲線，其終點包括如藉由PK參數所述之總抗體的血清濃度（包括但不限於Cmax、Tmax、T1/2、AUC最後、和AUCinf（全部該等都在第1、2、5、15、29、43和60天的時間框架之內））。

[表4]. 其他序列

SEQ ID NO: 156	人原BTC	MDRAARCSGASSLPLLLALALGLVILHCVVADGNSTRSPETNGLLCGDPEENCAATTTQSKRKGHFSRCPKQYKHYCIKGRCRFVVAEQTPSCVCDEGYIGARCERVDLFYLRGDRGQILVICLIAVMVVFILVIGVCTCCHPLRKRRKRKKKEEEMETLGKDITPINEDIEETNIA
SEQ ID NO: 157	表現的人BTC (D32-Y111)	MDGNSTRSPETNGLLCGDPEENCAATTTQSKRKGHFSRCPKQYKHYCIKGRCRFVVAEQTPSCVCDEGYI GARCERVDLFYhhhhh
SEQ ID NO: 158	人BTC	DGNSTRSPETNGLLCGDPEENCAATTTQSKRKGHFSRCPKQYKHYCIKGRCRFVVAEQTPSCVCDEGYI GARCERVDLFY
SEQ ID NO: 159	人免疫球蛋白κ鏈恒定區	KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 160	人免疫球蛋白重鏈第一恒定Ig結構域	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 161	連接子	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO: 162	連接子	GGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO: 163	連接子	GGGSGGGGSGS
SEQ ID NO: 164	連接子	EAAAK

SEQ ID NO: 165	連接子	GSGGG
SEQ ID NO: 166	連接子	GSGG
SEQ ID NO: 167	連接子	SGGGSGGGSGGG

[表5]. 親本及親和力成熟的抗BTC抗體序列

NVS1的親本		
SEQ ID NO: 168	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFNDYAI S WVRQAPGGL EWMGGIIPIFGNANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDT AVYYCAR S SSTYGIHAFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
SEQ ID NO: 169	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ S ISN F LNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQ S GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC Q QYD DFPMTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
親和力成熟的NVS1變體		
SEQ ID NO: 170	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAI S WVRQAPGQG LEWMGGIVPWMGIPVYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLR EDTAVYYCAR S SSTYGIHAFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV
SEQ ID NO: 171	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ S ISN F LNWYQQKPGKAPK LLIYAASNLQ S GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC Q QYD DFPMTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
NVS2的親本		
SEQ ID NO: 172	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS C AASGFTFSSYAM S WVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN S KNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAR Q RY F GEFDLWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
SEQ ID NO: 173	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVL VIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYC Q LYDY LSSTGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP EQWKSHRYSYSCQVTEGSTVEKTVAPTEA
親和力成熟的NVS2變體 (TC15)		
SEQ ID NO: 174	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS C AASGFTFSSYAM S WVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN S KNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAR Q RY F GEFDLWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV E PKSC
SEQ ID NO: 175	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVL VIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYC S TFDY KL S LG V FGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP EQWKSHRYSYSCQVTEGSTVEKTVAPTECS
親和力成熟的NVS2變體		
SEQ ID NO: 176	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS C AASGFTFSSYAM S WVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN S KNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAR Q RY F GEFDLWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSS

		KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSC
SEQ ID NO: 177	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	SYELTQPPSVSVSPGQTASITC <u>SGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVL</u> VIY <u>QDSKRPSG</u> IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYC <u>QAFD</u> YYRSSGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI SDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLT PEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
親和力成熟的NVS2變體		
SEQ ID NO: 178	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARQRYYFGEFDLWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSC
SEQ ID NO: 179	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	SYELTQPPSVSVSPGQTASITC <u>SGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVL</u> VIY <u>QDSKRPSG</u> IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYC <u>QAFD</u> YKSDVGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCL ISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLT PEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
親和力成熟的NVS2變體 (TC16)		
SEQ ID NO: 180	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARQRYYFGEFDLWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSC
SEQ ID NO: 181	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	SYELTQPPSVSVSPGQTASITC <u>SGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVL</u> VIY <u>QDSKRPSG</u> IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYC <u>QAFSY</u> LTSVGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLT PEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
親和力成熟的NVS2變體		
SEQ ID NO: 182	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARQRYYFGEFDLWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSC
SEQ ID NO: 183	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	SYELTQPPSVSVSPGQTASITC <u>SGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVL</u> VIY <u>QDSKRPSG</u> IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYC <u>QSFD</u> LYSSGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI SDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLT PEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
親和力成熟的NVS2變體		
SEQ ID NO: 184	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARQRYYFGEFDLWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSC
SEQ ID NO: 185	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	SYELTQPPSVSVSPGQTASITC <u>SGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVL</u> VIY <u>QDSKRPSG</u> IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYC <u>QTFYY</u> LSSLVFVGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLT PEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
親和力成熟的NVS2變體		
SEQ ID NO: 186	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARQRYYFGEFDLWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSC

SEQ ID NO: 187	輕鏈（ CDR1 、 CDR2 、 CDR3 ）	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQAFDYLASSGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
親和力成熟的NVS2變體		
SEQ ID NO: 188	重鏈（ CDR1 、 CDR2 、 CDR3 ）	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGGSGSTYYADSVKGAISGGSGSTYYADSVKGQRYYFGEFDLWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSC
SEQ ID NO: 189	輕鏈（ CDR1 、 CDR2 、 CDR3 ）	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQAFDYLHSGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
NVS3的親本		
SEQ ID NO: 190	重鏈（ CDR1 、 CDR2 、 CDR3 ）	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHAMHWVRQAPGKGLEWVSSIVYDGSNTFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDYLDYFGYYFDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
SEQ ID NO: 191	輕鏈（ CDR1 、 CDR2 、 CDR3 ）	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKIGKIKYVHWYQQKPGQAPVLVIYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQAWDMQSVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTEC
親和力成熟的NVS3變體（TC12）		
SEQ ID NO: 192	重鏈（ CDR1 、 CDR2 、 CDR3 ）	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVVSGLGHVGYTTYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDYLDYFGYYFDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSC
SEQ ID NO: 193	輕鏈（ CDR1 、 CDR2 、 CDR3 ）	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKIGKIKYVHWYQQKPGQAPVLVIYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQAWDMQSVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
NVS4的親本		
SEQ ID NO: 194	重鏈（ CDR1 、 CDR2 、 CDR3 ）	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWISWVRQAPGKGLEWVSYIDSWGSYTNADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSLFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKS
SEQ ID NO: 195	輕鏈（ CDR1 、 CDR2 、 CDR3 ）	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIISYLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDALNTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEA
親和力成熟的NVS4變體		
SEQ ID NO: 196	重鏈（ CDR1 、 CDR2 、 CDR3 ）	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWISWVRQAPGKGLEWVSYIDSWGSYTNADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSLFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKS
SEQ ID NO: 197	輕鏈（ CDR1 、 CDR2 、 CDR3 ）	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIISYLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDDWDTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPY

		PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
親和力成熟的NVS4變體		
SEQ ID NO: 198	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWISWVRQAPGKG LEWVSYIDSWGYSYTNADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARGGSLFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 199	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIISYLGWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDD FDTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
親和力成熟的NVS4變體		
SEQ ID NO: 200	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWISWVRQAPGKG LEWVSYIDSGGTFINYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGGSLFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 201	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIISYLGWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDA LNTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
親和力成熟的NVS4變體 (TC23)		
SEQ ID NO: 202	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWISWVRQAPGKG LEWVSYIDSTGTGFIHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGGSLFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 203	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIISYLGWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDA LNTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
親和力成熟的NVS4變體		
SEQ ID NO: 204	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWISWVRQAPGKG LEWVSHIDNSDWTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARGGSLFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 205	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIISYLGWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDA LNTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
親和力成熟的NVS4變體		
SEQ ID NO: 206	重鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWISWVRQAPGKG LEWVSHINIEGTWTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARGGSLFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO: 207	輕鏈 (<u>CDR1</u> 、 <u>CDR2</u> 、 <u>CDR3</u>)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIISYLGWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYDA LNTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

列舉的實施方式

【0723】 1. 一種特異性結合至 β 細胞素 (BTC) 之分離的抗體或其抗原結合片段。

【0724】 2. 如實施方式1所述之抗體或其抗原結合片段，其阻斷BTC與ErbB1、ErbB4或二者的結合。

【0725】 3. 如實施方式1或2所述之抗體或其抗原結合片段，其阻斷BTC誘導的磷酸化-ERK1/2活化。

【0726】 4. 如實施方式1至3中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其阻斷BTC誘導的磷酸化-HER3活化。

【0727】 5. 一種特異性結合至BTC之分離的抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段之解離常數 (KD) 為5 pM或更小。

【0728】 6. 如實施方式1至5中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段結合至包含SEQ ID NO: 157的胺基酸序列之BTC。

【0729】 7. 如實施方式6所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段結合至SEQ ID NO: 157的至少一個殘基，該殘基選自由以下組成之群組：G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、R51、R53、F54、V56、A57、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76。

【0730】 8. 如實施方式1至7中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段結合至SEQ ID NO: 157的R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、Q59、T60、P61、和R73。

【0731】 9. 如實施方式1至8中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 1、2、和3所列出的重鏈可變區互補決定區1 (HCDR1)、重鏈可變區互補決定區2 (HCDR2)、和重鏈可變區互補決定區3 (HCDR3)，以及分別如SEQ ID NO: 14、15、和16所列出的輕鏈可變

區互補決定區1 (LCDR1)、輕鏈可變區互補決定區2 (LCDR2)、和輕鏈可變區互補決定區3 (LCDR3)。

【0732】 10. 如實施方式1至9中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 4、2、和3所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 14、15、和16所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0733】 11. 如實施方式1至9中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該 HCDR1 包含一致序列 XYAIS 並且 / 或者該 HCDR2 包含一致序列 GIXPXXGXXXYAQKFQG，並且其中X係任意胺基酸並且在不同的位置可以是不相同的。

【0734】 12. 如實施方式11所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 168的重鏈序列和SEQ ID NO: 169的輕鏈序列，或SEQ ID NO: 170的重鏈序列和SEQ ID NO: 171的輕鏈序列。

【0735】 13. 如實施方式1至9中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 5、6、和3所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 17、18、和19所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0736】 14. 如實施方式1至9中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 7、8、和9所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 20、18、和16所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0737】 15. 如實施方式9至14中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區 (VH) 和輕鏈可變區 (VL)，該重鏈

可變區和輕鏈可變區分別包含與SEQ ID NO: 10和21具有至少約90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。

【0738】 16. 如實施方式15所述之抗體或其抗原結合片段，其中胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0739】 17. 如實施方式15所述之抗體或其抗原結合片段，其中胺基酸序列的差異係保留取代。

【0740】 18. 如實施方式15所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 10和21所列出的胺基酸序列之VH和VL。

【0741】 19. 如實施方式18所述之抗體或其抗原結合片段，其中該VH和VL分別由如SEQ ID NO: 11和22所列出的核酸序列編碼。

【0742】 20. 如實施方式1至19中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 12和23所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0743】 21. 如實施方式20所述之抗體或其抗原結合片段，其中該重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 13和24具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。

【0744】 22. 如實施方式9至21中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含1) 包含在具有SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的VH中之HCDR1、HCDR2、和HCDR3，和2) 包含在具有SEQ ID NO: 21的胺基酸序列的VL中之LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0745】 23. 如實施方式22所述之抗體或其抗原結合片段，其中該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3包含：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 1、2、3、14、15、和16；

- b. 分別地，SEQ ID NO: 4、2、3、14、15、和16；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 5、6、3、17、18、和19；或
- d. 分別地，SEQ ID NO: 7、8、9、20、18、和16。

【0746】 24. 如實施方式1至8中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，其中

- a. 該HCDR1包含選自由SEQ ID NO: 1、4、5、和7組成之群組的胺基酸序列，該HCDR2包含選自由SEQ ID NO: 2、6、和8組成之群組的胺基酸序列，該HCDR3包含選自由SEQ ID NO: 3和9組成之群組的胺基酸序列，並且
- b. 該LCDR1包含選自由SEQ ID NO: 14、17、和20組成之群組的胺基酸序列，該LCDR2包含選自由SEQ ID NO: 15和18組成之群組的胺基酸序列，該LCDR3包含選自由SEQ ID NO: 16和19組成之群組的胺基酸序列。

【0747】 25. 如實施方式24所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別含有SEQ ID NO: 10和21的胺基酸序列之VH和VL。

【0748】 26. 如實施方式25所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 12和23所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0749】 27. 一種特異性結合至BTC之分離的抗體或其抗原結合片段，該分離的抗體或其抗原結合片段包含分別具有SEQ ID NO: 10和21的胺基酸序列之VH和VL。

【0750】 28. 如實施方式1至7中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段結合至SEQ ID NO: 157的P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76。

【0751】 29. 如實施方式1至7和28中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 25、26、和27所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 38、39、和40所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0752】 30. 如實施方式1至7和28中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 28、26、和27所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 38、39、和40所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0753】 31. 如實施方式1至7和28中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 29、30、和27所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 41、42、和43所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0754】 32. 如實施方式1至7和28中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 31、32、和33所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 44、42、和40所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0755】 33. 如實施方式28至32中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 34和45具有至少約90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。

【0756】 34. 如實施方式33所述之抗體或其抗原結合片段，其中胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0757】 35. 如實施方式33所述之抗體或其抗原結合片段，其中胺基酸序列的差異係保留取代。

【0758】 36. 如實施方式33所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 34和45所列出的胺基酸序列之VH和VL。

【0759】 37. 如實施方式36所述之抗體或其抗原結合片段，其中該VH和VL分別由如SEQ ID NO: 35和46所列出的核酸序列編碼。

【0760】 38. 如實施方式28至37中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 36和47所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0761】 39. 如實施方式38所述之抗體或其抗原結合片段，其中該重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 37和48具有至少約90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。

【0762】 40. 如實施方式28至39中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含1) 包含在具有SEQ ID NO: 34的胺基酸序列的VH中之HCDR1、HCDR2、和HCDR3，和2) 包含在具有SEQ ID NO: 45的胺基酸序列的VL中之LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0763】 41. 如實施方式40所述之抗體或其抗原結合片段，其中該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3包含：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 25、26、27、38、39、和40；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 28、26、27、38、39、和40；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 29、30、27、41、42、和43；或
- d. 分別地，SEQ ID NO: 31、32、33、44、42、和40。

【0764】 42. 如實施方式1至7和28中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，其中

a. 該HCDR1包含選自由SEQ ID NO: 25、28、29、和31組成之群組的胺基酸序列，該HCDR2包含選自由SEQ ID NO: 26、30、和32組成之群組的胺基酸序列，該HCDR3包含選自由SEQ ID NO: 27和33組成之群組的胺基酸序列；並且

b. 該LCDR1包含選自由SEQ ID NO: 38、41、和44組成之群組的胺基酸序列，該LCDR2包含選自由SEQ ID NO: 39和42組成之群組的胺基酸序列，該LCDR3包含選自由SEQ ID NO: 40和43組成之群組的胺基酸序列。

【0765】 43. 如實施方式42所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別含有SEQ ID NO: 34和45的胺基酸序列之VH和VL。

【0766】 44. 如實施方式43所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 36和47所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0767】 45. 一種特異性結合至BTC之分離的抗體或其抗原結合片段，該分離的抗體或其抗原結合片段包含分別具有SEQ ID NO: 34和45的胺基酸序列之VH和VL。

【0768】 46. 如實施方式1至7中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段結合至SEQ ID NO: 157的G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、R51、R53、F54、和V56。

【0769】 47. 如實施方式1至7和46中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 25、49、和50所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 58、59、和60所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0770】 48. 如實施方式1至7和46中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 28、49、和50所列出的

HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 58、59、和60所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0771】 49. 如實施方式1至7和46中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該HCDR1包含一致序列XXAMX，並且/或者該HCDR2包含一致序列XXXX/-XXXXTXYXDSVKG，其中X係任意胺基酸並且在不同的位置可以是不相同的，並且其中X/-係任意胺基酸或缺失。

【0772】 50. 如實施方式49所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 190的重鏈序列和SEQ ID NO: 191的輕鏈序列。

【0773】 51. 如實施方式1至7和46中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 29、51、和50所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 61、62、和63所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0774】 52. 如實施方式1至7和46中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 31、52、和53所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 64、62、和60所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0775】 53. 如實施方式46至52中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 54和65具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。

【0776】 54. 如實施方式53所述之抗體或其抗原結合片段，其中胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0777】 55. 如實施方式53所述之抗體或其抗原結合片段，其中胺基酸序列的差異係保留取代。

【0778】 56. 如實施方式53所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 54和65所列出的胺基酸序列之VH和VL。

【0779】 57. 如實施方式56所述之抗體或其抗原結合片段，其中該VH和VL分別由如SEQ ID NO: 55和66所列出的核酸序列編碼。

【0780】 58. 如實施方式46至57中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 56和67所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0781】 59. 如實施方式58所述之抗體或其抗原結合片段，其中該重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 57和68具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。

【0782】 60. 如實施方式46至59中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含1) 包含在具有SEQ ID NO: 54的胺基酸序列的VH中之HCDR1、HCDR2、和HCDR3，和2) 包含在具有SEQ ID NO: 65的胺基酸序列的VL中之LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0783】 61. 如實施方式60所述之抗體或其抗原結合片段，其中該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3包含：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 25、49、50、58、59、和60；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 28、49、50、58、59、和60；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 29、51、50、61、62、和63；或
- d. 分別地，SEQ ID NO: 31、52、53、64、62、和60。

【0784】 62. 如實施方式1至7和46中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，其中

a. 該HCDR1包含選自由SEQ ID NO: 25、28、29、和31組成之群組的胺基酸序列，該HCDR2包含選自由SEQ ID NO: 49、51、和52組成之群組的胺基酸序列，該HCDR3包含選自由SEQ ID NO: 50和53組成之群組的胺基酸序列；並且

b. 該LCDR1包含選自由SEQ ID NO: 58、61、和64組成之群組的胺基酸序列，該LCDR2包含選自由SEQ ID NO: 59和62組成之群組的胺基酸序列，該LCDR3包含選自由SEQ ID NO: 60和63組成之群組的胺基酸序列。

【0785】 63. 如實施方式62所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別含有SEQ ID NO: 54和65的胺基酸序列之VH和VL。

【0786】 64. 如實施方式63所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 56和67所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0787】 65. 一種特異性結合至BTC之分離的抗體或其抗原結合片段，該分離的抗體或其抗原結合片段包含分別具有SEQ ID NO: 54和65的胺基酸序列之VH和VL。

【0788】 66. 如實施方式1至7中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其結合至SEQ ID NO: 157的S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、A57、Q59、T60、P61、A72、R73、和E75。

【0789】 67. 如實施方式1至7和66中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 69、70、和71所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 82、83、和84所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0790】 68. 如實施方式1至7和66中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 72、70、和71所列出的

HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 82、83、和84所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0791】 69. 如實施方式1至7和66中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該HCDR2包含一致序列XIXXXXXXXXXXYADSVKG並且/或者該LCDR3包含一致序列QQYDXXXT，並且其中X係任意胺基酸並且在不同的位置可以是不相同的。

【0792】 70. 如實施方式69所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含選自由以下組成之群組的重鏈序列和輕鏈序列：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 194和195；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 196和197；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 198和199；
- d. 分別地，SEQ ID NO: 200和201；
- e. 分別地，SEQ ID NO: 202和203；
- f. 分別地，SEQ ID NO: 204和205；和
- g. 分別地，SEQ ID NO: 206和207。

【0793】 71. 如實施方式1至7和66中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 73、74、和71所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 85、18、和86所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0794】 72. 如實施方式1至7和66中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別如SEQ ID NO: 75、76、和77所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 87、18、和84所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0795】 73. 如實施方式66至72中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 78和88具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。

【0796】 74. 如實施方式73所述之抗體或其抗原結合片段，其中胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0797】 75. 如實施方式73所述之抗體或其抗原結合片段，其中胺基酸序列的差異係保留取代。

【0798】 76. 如實施方式73所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別含有如SEQ ID NO: 78和88所列出的胺基酸序列之VH和VL。

【0799】 77. 如實施方式76所述之抗體或其抗原結合片段，其中該VH和VL分別由如SEQ ID NO: 79和89所列出的核酸序列編碼。

【0800】 78. 如實施方式66至77中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 80和90所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0801】 79. 如實施方式78所述之抗體或其抗原結合片段，其中該重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 81和91具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。

【0802】 80. 如實施方式66至79中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含1) 包含在具有SEQ ID NO: 78的胺基酸序列的VH中之HCDR1、HCDR2、和HCDR3，和2) 包含在具有SEQ ID NO: 88的胺基酸序列的VL中之LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0803】 81. 如實施方式80所述之抗體或其抗原結合片段，其中該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3包含：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 69、70、71、82、83、和84；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 72、70、71、82、83、和84；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 73、74、71、85、18、和86；或
- d. 分別地，SEQ ID NO: 75、76、77、87、18、和84。

【0804】 82. 如實施方式1至7和66中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3，其中

a. 該HCDR1包含選自由SEQ ID NO: 69、72、73、和75組成之群組的胺基酸序列，該HCDR2包含選自由SEQ ID NO: 70、74、和76組成之群組的胺基酸序列，該HCDR3包含選自由SEQ ID NO: 71和77組成之群組的胺基酸序列；並且

b. 該LCDR1包含選自由SEQ ID NO: 82、85、和87組成之群組的胺基酸序列，該LCDR2包含選自由SEQ ID NO: 83和18組成之群組的胺基酸序列，該LCDR3包含選自由SEQ ID NO: 84和86組成之群組的胺基酸序列。

【0805】 83. 如實施方式82所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別含有SEQ ID NO: 78和88的胺基酸序列之VH和VL。

【0806】 84. 如實施方式83所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含分別具有如SEQ ID NO: 80和90所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0807】 85. 一種特異性結合至BTC之分離的抗體或其抗原結合片段，該分離的抗體或其抗原結合片段包含分別具有SEQ ID NO: 78和88的胺基酸序列之VH和VL。

【0808】 86. 如實施方式1至85中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段呈選自由分離的抗體、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、和scFv組成之群組的形式。

【0809】 87. 如實施方式86所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段係Fab。

【0810】 88. 如實施方式86所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段係scFv。

【0811】 89. 如實施方式86所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段係分離的抗體。

【0812】 90. 如實施方式89所述之抗體或其抗原結合片段，其中該分離的抗體係人單株抗體。

【0813】 91. 如實施方式89所述之抗體或其抗原結合片段，其中該分離的抗體係人源化單株抗體。

【0814】 92. 如實施方式1至90中任一項所述之抗體或其抗原結合片段，其中該Fab包含Fc區。

【0815】 93. 如實施方式92所述之抗體或其抗原結合片段，其中該Fc區選自由來自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE、和IgD的Fc區組成之群組。

【0816】 94. 如實施方式92所述之抗體或其抗原結合片段，其中該Fc區包含如SEQ ID NO: 159所列出的人免疫球蛋白κ鏈恒定區序列。

【0817】 95. 如實施方式92所述之抗體或其抗原結合片段，其中該Fc區包含如SEQ ID NO: 160所列出的人免疫球蛋白重鏈第一恒定Ig結構域（CH1結構域）。

【0818】 96. 一種分離的抗體或其抗原結合片段，該分離的抗體或其抗原結合片段能夠與如實施方式1至95中任一項所述之抗體或其抗原結合片段競爭與BTC的結合並減少BTC介導的傳訊。

【0819】 97. 如實施方式96所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含如以下所列出的重鏈和輕鏈：分別地，SEQ ID NO: 168和169；分別地，SEQ ID NO: 170和171；分別地，SEQ ID NO: 172和173；分別地，SEQ ID NO: 174和175；分別地，SEQ ID NO: 176和177；分別地，SEQ ID NO: 178和179；分別地，SEQ ID NO: 180和181；分別地，SEQ ID NO: 182和183；分別地，SEQ ID NO: 184和185；分別地，SEQ ID NO: 186和187；或分別地，SEQ ID NO: 188和189。

【0820】 98. 一種多核苷酸，該多核苷酸包含編碼如實施方式1至97中任一項所述之抗體或其抗原結合片段之核苷酸序列。

【0821】 99. 一種表現盒，該表現盒包含如實施方式98所述之多核苷酸。

【0822】 100. 一種載體，該載體包含如實施方式99所述之表現盒。

【0823】 101. 一種宿主細胞，該宿主細胞包含如實施方式98所述之多核苷酸或如實施方式100所述之載體。

【0824】 102. 一種產生抗體或其抗原結合片段之方法，該方法包括在適合表現該抗體或其抗原結合片段之條件下培養如實施方式101所述之宿主細胞。

【0825】 103. 如實施方式102所述之方法，該方法進一步包括純化該抗體或其抗原結合片段。

【0826】 104. 一種藥物組成物，該藥物組成物包含有效量的如實施方式1至97中任一項所述之抗體或其抗原結合片段。

【0827】 105. 如實施方式104所述之藥物組成物，該藥物組成物進一步包含藥學上可接受的賦形劑、稀釋劑、或載劑。

【0828】 106. 一種治療有需要的受試者之方法，該方法包括向該受試者投與有效量的如實施方式1至95中任一項所述之抗體或其抗原結合片段或如實施方式104或105所述之藥物組成物。

【0829】 107. 如實施方式106所述之方法，其中該受試者患有選自由胰臟癌、乳癌、子宮內膜腺癌、肝細胞癌、頭頸部鱗狀細胞癌、和胃癌組成之群組的疾病。

【0830】 108. 如實施方式107所述之方法，其中該抗體或其抗原結合片段或該藥物組成物經由選自由以下組成之群組的途徑投與：靜脈內投與、肌肉內投與、皮下投與、腸胃外投與、經脊髓投與、和表皮投與。

【0831】 109. 如實施方式106所述之方法，其中該受試者患有眼科障礙。

【0832】 110. 如實施方式109所述之方法，其中該眼科障礙選自由糖尿病性黃斑水腫、年齡相關性黃斑變性、新生血管性年齡相關性黃斑變性、新生血管性青光眼、糖尿病性視網膜病變、黃斑水腫、病理性近視、視網膜靜脈阻塞、早產兒視網膜病變、斑痣性錯構瘤病相關的血管異常增殖、中心性漿液性脈絡膜視網膜病變、和急性多病灶魚鱗板狀色素上皮病組成之群組。

【0833】 111. 如實施方式110所述之方法，其中該眼科障礙係糖尿病性黃斑水腫。

【0834】 112. 如實施方式109至111中任一項所述之方法，其中該投與係經由視網膜下注射。

【0835】 113. 如實施方式109至111中任一項所述之方法，其中該投與係經由玻璃體內注射。

【0836】 114. 如實施方式109至113中任一項所述之方法，其中該藥物組成物進一步包含抗VEGF拮抗劑。

【0837】 115. 如實施方式114所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑係蘭尼單抗。

【0838】 116. 如實施方式114所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑係貝伐珠單抗。

【0839】 117. 如實施方式114所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑係阿柏西普。

【0840】 118. 如實施方式114所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑係布洛賽珠單抗。

【0841】 119. 如實施方式114所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑係哌加他尼。

【0842】 120. 如實施方式114所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑包含分別如SEQ ID NO: 103和114所列出的重鏈和輕鏈。

【0843】 121. 如實施方式120所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑由如SEQ ID NO: 104和115所列出的核酸序列編碼。

【0844】 122. 如實施方式109至113中任一項所述之方法，該方法進一步包括向該受試者投與抗VEGF拮抗劑。

【0845】 123. 如實施方式122所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑係蘭尼單抗。

【0846】 124. 如實施方式122所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑係貝伐珠單抗。

【0847】 125. 如實施方式122所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑係阿柏西普。

【0848】 126. 如實施方式122所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑係布洛賽珠單抗。

【0849】 127. 如實施方式122所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑係哌加他尼。

【0850】 128. 如實施方式122所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑包含如SEQ ID NO: 103和114所列出的重鏈和輕鏈。

【0851】 129. 如實施方式128所述之方法，其中該抗VEGF拮抗劑由如SEQ ID NO: 104和115所列出的核酸序列編碼。

【0852】 130. 一種套組，該套組包含如實施方式1至97中任一項所述之抗體或其抗原結合片段或如實施方式104或105所述之藥物組成物。

【0853】 131. 如實施方式130所述之套組，該套組進一步包含使用說明書。

【0854】 132. 如實施方式131所述之套組，該套組進一步包含注射器。

【0855】 133. 一種多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含1) 抗BTC結合部分和2) 抗VEGF結合部分。

【0856】 134. 如實施方式133所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分結合至包含SEQ ID NO: 157的胺基酸序列之BTC。

【0857】 135. 如實施方式134所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分結合至SEQ ID NO: 157的至少一個殘基，該殘基選自由以下組成之群組：G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、R51、R53、F54、V56、A57、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76。

【0858】 136. 如實施方式135所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分結合至SEQ ID NO: 157的R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、Q59、T60、P61、和R73。

【0859】 137. 如實施方式135所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分結合至SEQ ID NO: 157的P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76。

【0860】 138. 如實施方式135所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分結合至SEQ ID NO: 157的G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、R51、R53、F54、和V56。

【0861】 139. 如實施方式135所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分結合至SEQ ID NO: 157的S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、A57、Q59、T60、P61、A72、R73、和E75。

【0862】 140. 如實施方式133所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分係如實施方式1至95中任一項所述之抗體或其抗原結合片段。

【0863】 141. 如實施方式133所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分係抗VEGF抗體或其抗原結合片段。

【0864】 142. 如實施方式133至141中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分呈選自由分離的抗體、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、和scFv組成的列表的形式。

【0865】 143. 如實施方式142所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分係抗BTC Fab並且該抗VEGF結合部分係抗VEGF Fab。

【0866】 144. 如實施方式143所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC Fab包含重鏈（HA）和輕鏈（LA），並且其中該抗VEGF Fab包含重鏈（HB）和輕鏈（LB）。

【0867】 145. 如實施方式144所述之多特異性結合分子，其中該HA和HB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-HA-連接子1-HB-C，並且其中該LA和該LB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-LA-連接子2-LB-C。

【0868】 146. 如實施方式144所述之多特異性結合分子，其中該HA和該HB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-HB-連接子1-HA-C，並且其中該LA和該LB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-LB-連接子2-LA-C。

【0869】 147. 如實施方式145或146所述之多特異性結合分子，其中該連接子1和連接子2包含SEQ ID NO: 118的胺基序列。

【0870】 148. 如實施方式147所述之多特異性結合分子，其中該連接子1和連接子2由SEQ ID NO: 119的核序列編碼。

【0871】 149. 如實施方式145或146所述之多特異性結合分子，其中該連接子1和連接子2包含選自由SEQ ID NO: 161-167組成之群組的胺基序列。

【0872】 150. 如實施方式133至149中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含如以下所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 1、2、3、14、15、和16；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 4、2、3、14、15、和16；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 5、6、3、17、18、和19；或
- d. 分別地，SEQ ID NO: 7、8、9、20、18、和16。

【0873】 151. 如實施方式150所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含分別具有SEQ ID NO: 10和21的胺基酸序列之VH和VL。

【0874】 152. 如實施方式151所述之多特異性結合分子，其中該VH和VL分別由SEQ ID NO: 116和122的核酸序列編碼。

【0875】 153. 如實施方式133至148中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含如以下所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 25、26、27、38、39、和40；

- b. 分別地，SEQ ID NO: 28、26、27、38、39、和40；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 29、30、27、41、42、和43；或
- d. 分別地，SEQ ID NO: 31、32、33、44、42、和40。

【0876】 154. 如實施方式153所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含分別具有SEQ ID NO: 34和45的胺基酸序列之VH和VL。

【0877】 155. 如實施方式153所述之多特異性結合分子，其中該VH和VL分別由SEQ ID NO: 127和132的核酸序列編碼。

【0878】 156. 如實施方式133至148中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含如以下所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 25、49、50、58、59、和60；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 28、49、50、58、59、和60；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 29、51、50、61、62、和63；或
- d. 分別地，SEQ ID NO: 31、52、53、64、62、和60。

【0879】 157. 如實施方式156所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含分別具有SEQ ID NO: 54和65的胺基酸序列之VH和VL。

【0880】 158. 如實施方式157所述之多特異性結合分子，其中該VH和VL分別由SEQ ID NO: 137和142的核酸序列編碼。

【0881】 159. 如實施方式133至148中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含如以下所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 69、70、71、82、83、和84；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 72、70、71、82、83、和84；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 73、74、71、85、18、和86；或

d. 分別地，SEQ ID NO: 75、76、77、87、18、和84。

【0882】 160. 如實施方式159所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含分別具有SEQ ID NO: 78和88的胺基酸序列之VH和VL。

【0883】 161. 如實施方式160所述之多特異性結合分子，其中該VH和VL分別由SEQ ID NO: 147和151的核酸序列編碼。

【0884】 162. 如實施方式133至161中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含分別如SEQ ID NO: 92、93、和94所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 105、106、和107所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0885】 163. 如實施方式133至161中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含分別如SEQ ID NO: 95、93、和94所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 105、106、和107所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0886】 164. 如實施方式133至161中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含分別如SEQ ID NO: 96、97、和94所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 108、109、和110所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0887】 165. 如實施方式133至161中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含分別如SEQ ID NO: 98、99、和100所列出的HCDR1、HCDR2、和HCDR3，以及分別如SEQ ID NO: 111、109、和107所列出的LCDR1、LCDR2、和LCDR3。

【0888】 166. 如實施方式133至165中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 101

和112具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。

【0889】 167. 如實施方式166所述之多特異性結合分子，其中胺基酸序列的差異不在互補決定區中。

【0890】 168. 如實施方式166所述之多特異性結合分子，其中胺基酸序列的差異係保留取代。

【0891】 169. 如實施方式166所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含分別含有如SEQ ID NO: 101和112所列出的胺基酸序列之VH和VL。

【0892】 170. 如實施方式169所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含分別由如SEQ ID NO: 102和113所列出的核酸序列編碼之VH和VL。

【0893】 171. 如實施方式169所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含分別由如SEQ ID NO: 117和123所列出的核酸序列編碼之VH和VL。

【0894】 172. 如實施方式169所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含分別由如SEQ ID NO: 128和133所列出的核酸序列編碼之VH和VL。

【0895】 173. 如實施方式169所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含分別由如SEQ ID NO: 138和143所列出的核酸序列編碼之VH和VL。

【0896】 174. 如實施方式169所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含分別由如SEQ ID NO: 148和152所列出的核酸序列編碼之VH和VL。

【0897】 175. 如實施方式133至174中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含分別具有如SEQ ID NO: 103和114所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈。

【0898】 176. 如實施方式175所述之多特異性結合分子，其中該重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 104和115具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。

【0899】 177. 一種包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含結合至BTC的可變重鏈結構域（VHA）和可變輕鏈結構域（VLA），並且其中該抗VEGF結合部分包含結合至VEGF的可變重鏈結構域（VHB）和可變輕鏈結構域（VLB），其中：

- a. 該VHA和VLA包含分別如SEQ ID NO: 10和21所示之胺基酸序列；並且
- b. 該VHB和VLB包含分別如SEQ ID NO: 101和112所示之胺基酸序列。

【0900】 178. 如實施方式177所示的多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1A）和輕鏈恒定結構域（CKA），並且其中該抗VEGF結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1B）和輕鏈恒定結構域（CKB）。

【0901】 179. 如實施方式178所述之多特異性結合分子，該多特異性結合分子處於如下從N末端到C末端的形式：N-VHA-CH1A-連接子-VHB-CH1B-C和N-VLA-CKA-連接子-VLB-CKB-C。

【0902】 180. 如實施方式179所述之多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含含有VHA、CH1A、連接子、VHB、和CH1B的重鏈，其中該重鏈是如SEQ ID NO: 120所列出。

【0903】 181. 如實施方式180所述之多特異性結合分子，其中該重鏈是由如SEQ ID NO: 121所列出的核酸序列編碼。

【0904】 182. 如實施方式179所述之多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含含有VLA、CKA、連接子、VLB、和CKB的輕鏈，其中該輕鏈該如SEQ ID NO: 125所列。

【0905】 183. 如實施方式182所述之多特異性結合分子，其中該輕鏈該由如SEQ ID NO: 126所列出的核酸序列編碼。

【0906】 184. 一種包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含結合至BTC的可變重鏈結構域（VHA）和可變輕鏈結構域（VLA），並且其中該抗VEGF結合部分包含結合至VEGF的可變重鏈結構域（VHB）和可變輕鏈結構域（VLB），其中：

- a. 該VHA和VLA包含分別如SEQ ID NO: 34和45所示之胺基酸序列；並且
- b. 該VHB和VLB包含分別如SEQ ID NO: 101和112所示之胺基酸序列。

【0907】 185. 如實施方式184所示的多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1A）和輕鏈恒定結構域（CKA），並且其中該抗VEGF結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1B）和輕鏈恒定結構域（CKB）。

【0908】 186. 如實施方式185所述之多特異性結合分子，該多特異性結合分子處於如下從N末端到C末端的形式：N-VHA-CH1A-連接子-VHB-CH1B-C和N-VLA-CKA-連接子-VLB-CKB-C。

【0909】 187. 如實施方式186所述之多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含含有VHA、CH1A、連接子、VHB、和CH1B的重鏈，其中該重鏈是如SEQ ID NO: 130所列出。

【0910】 188. 如實施方式187所述之多特異性結合分子，其中該重鏈是由如SEQ ID NO: 131所列出的核酸序列編碼。

【0911】 189. 如實施方式186所述之多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含含有VLA、CKA、連接子、VLB、和CKB的輕鏈，其中該輕鏈是如SEQ ID NO: 135所列出。

【0912】 190. 如實施方式189所述之多特異性結合分子，其中該輕鏈是由如SEQ ID NO: 136所列出的核酸序列編碼。

【0913】 191. 一種包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含結合至BTC的可變重鏈結構域（VHA）和可變輕鏈結構域（VLA），並且其中該抗VEGF結合部分包含結合至VEGF的可變重鏈結構域（VHB）和可變輕鏈結構域（VLB），其中：

a. 該VHA和VLA包含分別如SEQ ID NO: 54和65所示之胺基酸序列；並且

b. 該VHB和VLB包含分別如SEQ ID NO: 101和112所示之胺基酸序列。

【0914】 192. 如實施方式191所示的多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1A）和輕鏈恒定結構域（CKA），並且其中該抗VEGF結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1B）和輕鏈恒定結構域（CKB）。

【0915】 193. 如實施方式192所述之多特異性結合分子，該多特異性結合分子處於如下從N末端到C末端的形式：N-VHA-CH1A-連接子-VHB-CH1B-C和N-VLA-CKA-連接子-VLB-CKB-C。

【0916】 194. 如實施方式193所述之多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含含有VHA、CH1A、連接子、VHB、和CH1B的重鏈，其中該重鏈是如SEQ ID NO: 140所列出的。

【0917】 195. 如實施方式194所述之多特異性結合分子，其中該重鏈是由如SEQ ID NO: 141所列出的核酸序列編碼。

【0918】 196. 如實施方式193所述之多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含含有VLA、CKA、連接子、VLB、和CKB的輕鏈，其中該輕鏈是如SEQ ID NO: 145所列出的。

【0919】 197. 如實施方式196所述之多特異性結合分子，其中該輕鏈是由如SEQ ID NO: 146所列出的核酸序列編碼。

【0920】 198. 一種包含抗BTC結合部分和抗VEGF結合部分之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含結合至BTC的可變重鏈結構域（VHA）和可變輕鏈結構域（VLA），並且其中該抗VEGF結合部分包含結合至VEGF的可變重鏈結構域（VHB）和可變輕鏈結構域（VLB），其中：

- a. 該VHA和VLA包含分別如SEQ ID NO: 78和88所示之胺基酸序列；並且
- b. 該VHB和VLB包含分別如SEQ ID NO: 101和112所示之胺基酸序列。

【0921】 199. 如實施方式198所示的多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1A）和輕鏈恒定結構域（CKA），並且

其中該抗VEGF結合部分進一步包含重鏈恒定結構域（CH1B）和輕鏈恒定結構域（CKB）。

【0922】 200. 如實施方式199所述之多特異性結合分子，該多特異性結合分子處於如下從N末端到C末端的形式：N-VHA-CH1A-連接子-VHB-CH1B-C和N-VLA-CKA-連接子-VLB-CKB-C。

【0923】 201. 如實施方式200所述之多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含含有VHA、CH1A、連接子、VHB、和CH1B的重鏈，其中該重鏈是如SEQ ID NO: 149所列出。

【0924】 202. 如實施方式201所述之多特異性結合分子，其中該重鏈是由如SEQ ID NO: 150所列出的核酸序列編碼。

【0925】 203. 如實施方式200所述之多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含含有VLA、CKA、連接子、VLB、和CKB的輕鏈，其中該輕鏈是如SEQ ID NO: 154所列出。

【0926】 204. 如實施方式203所述之多特異性結合分子，其中該輕鏈是由如SEQ ID NO: 155所列出的核酸序列編碼。

【0927】 205. 一種多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈包含SEQ ID NO: 120的胺基酸序列，並且該第二多肽鏈包含SEQ ID NO: 125的胺基酸序列。

【0928】 206. 如實施方式205所述之多特異性結合分子，其中該第一多肽鏈是由SEQ ID NO: 121的核酸序列編碼，並且該第二多肽鏈是由SEQ ID NO: 126的核酸序列編碼。

【0929】 207. 一種多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈包含SEQ ID NO: 130的胺基酸序列，並且該第二多肽鏈包含SEQ ID NO: 135的胺基酸序列。

【0930】 208. 如實施方式207所述之多特異性結合分子，其中該第一多肽鏈是由SEQ ID NO: 131的核酸序列編碼，並且該第二多肽鏈是由SEQ ID NO: 136的核酸序列編碼。

【0931】 209. 一種多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈包含SEQ ID NO: 140的胺基酸序列，並且該第二多肽鏈包含SEQ ID NO: 145的胺基酸序列。

【0932】 210. 如實施方式209所述之多特異性結合分子，其中該第一多肽鏈是由SEQ ID NO: 141的核酸序列編碼，並且該第二多肽鏈是由SEQ ID NO: 146的核酸序列編碼。

【0933】 211. 一種多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈包含SEQ ID NO: 149的胺基酸序列，並且該第二多肽鏈包含SEQ ID NO: 154的胺基酸序列。

【0934】 212. 如實施方式211所述之多特異性結合分子，其中該第一多肽鏈是由SEQ ID NO: 150的核酸序列編碼，並且該第二多肽鏈是由SEQ ID NO: 155的核酸序列編碼。

【0935】 213. 一種多核苷酸，該多核苷酸包含編碼如實施方式133至212中任一項所述之多特異性結合分子之核苷酸序列。

【0936】 214. 一種表現盒，該表現盒包含如實施方式213所述之多核苷酸。

【0937】 215. 一種載體，該載體包含如實施方式214所述之表現盒。

【0938】 216. 一種宿主細胞，該宿主細胞包含如實施方式213所述之多核苷酸或如實施方式215所述之載體。

【0939】 217. 一種產生多特異性結合分子之方法，該方法包括在適合表現該多特異性結合分子或其片段之條件下培養如實施方式216所述之宿主細胞。

【0940】 218. 如實施方式217所述之方法，該方法進一步包括純化該多特異性結合分子。

【0941】 219. 一種藥物組成物，該藥物組成物包含有效量的如實施方式133至212中任一項所述之多特異性結合分子。

【0942】 220. 如實施方式219所述之藥物組成物，該藥物組成物進一步包含藥學上可接受的賦形劑、稀釋劑、或載劑。

【0943】 221. 如實施方式220所述之藥物組成物，該藥物組成物進一步包含一或多種治療劑。

【0944】 222. 一種在有需要的受試者中治療眼科障礙之方法，該方法包括向該受試者投與有效量的如實施方式133至212中任一項所述之多特異性結合分子或如實施方式219或220所述之藥物組成物。

【0945】 223. 如實施方式222所述之方法，其中該多特異性結合分子或該藥物組成物向受試者玻璃體內投與。

【0946】 224. 如實施方式222所述之方法，其中該多特異性結合分子或該藥物組成物經由視網膜下注射投與。

【0947】 225. 如實施方式222至224中任一項所述之方法，其中該眼科障礙選自由糖尿病性黃斑水腫、年齡相關性黃斑變性、新生血管性年齡相關性黃斑變性、新生血管性青光眼、糖尿病性視網膜病變、黃斑水腫、病理性近視、視網膜靜脈阻塞、早產兒視網膜病變、和斑痣性錯構瘤病相關的血管異常增殖組成之群組。

【0948】 226. 如實施方式222所述之方法，其中該眼科障礙係糖尿病性黃斑水腫。

【0949】 227. 一種方法，該方法包括向受試者投與有效量的如實施方式133至212中任一項所述之多特異性結合分子，其中相對於對照受試者，該多特異性結合分子減少該受試者的視網膜滲漏和/或視網膜增厚。

【0950】 228. 一種套組，該套組包含如實施方式133至204中任一項所述之多特異性結合分子或如實施方式219或220所述之藥物組成物。

【0951】 229. 如實施方式228所述之套組，該套組進一步包含使用說明書。

【0952】 230. 如實施方式229所述之套組，該套組進一步包含注射器。

【0953】 231. 一種在有需要的受試者中預防或治療黃斑水腫、DME、AMD、新生血管性AMD、或RVO之方法，該方法包括以從約0.25 mg/眼至7.5 mg/眼的範圍之劑量，向該受試者經玻璃體內投與如實施方式133至212中任一項所述之多特異性結合分子。

【0954】 232. 如實施方式231所述之方法，其中該劑量係約0.25 mg/眼、0.75 mg/眼、2.5 mg/眼、或7.5 mg/眼。

【0955】 233. 如實施方式231所述之方法，其中該劑量係0.25 mg/眼。

【0956】 234. 如實施方式231所述之方法，其中該劑量係0.75 mg/眼。

【0957】 235. 如實施方式231所述之方法，其中該劑量係1 mg/眼。

【0958】 236. 如實施方式231所述之方法，其中該劑量係2.5 mg/眼。

【0959】 237. 如實施方式231所述之方法，其中該劑量係3 mg/眼。

【0960】 238. 如實施方式231所述之方法，其中該劑量係5 mg/眼。

【0961】 239. 如實施方式231所述之方法，其中該劑量係7.5 mg/眼。

【0962】 240. 如實施方式231所述之方法，其中該劑量係0.25 mg/眼、0.3 mg/眼、0.35 mg/眼、0.4 mg/眼、0.45 mg/眼、0.5 mg/眼、0.55 mg/眼、0.6 mg/眼、0.65 mg/眼、0.7 mg/眼、0.75 mg/眼、0.8 mg/眼、0.85 mg/眼、0.9 mg/眼、0.95 mg/

眼、1.0 mg/眼、1.1 mg/眼、1.2 mg/眼、1.3 mg/眼、1.4 mg/眼、1.5 mg/眼、1.6 mg/眼、1.7 mg/眼、1.8 mg/眼、1.9 mg/眼、2.0 mg/眼、2.1 mg/眼、2.2 mg/眼、2.3 mg/眼、2.4 mg/眼、2.5 mg/眼、2.6 mg/眼、2.7 mg/眼、2.8 mg/眼、2.9 mg/眼、3.0 mg/眼、3.1 mg/眼、3.2 mg/眼、3.3 mg/眼、3.4 mg/眼、3.5 mg/眼、3.6 mg/眼、3.7 mg/眼、3.8 mg/眼、3.9 mg/眼、4.0 mg/眼、4.1 mg/眼、4.2 mg/眼、4.3 mg/眼、4.4 mg/眼、4.5 mg/眼、4.6 mg/眼、4.7 mg/眼、4.8 mg/眼、4.9 mg/眼、5.0 mg/眼、5.1 mg/眼、5.2 mg/眼、5.3 mg/眼、5.4 mg/眼、5.5 mg/眼、5.6 mg/眼、5.7 mg/眼、5.8 mg/眼、5.9 mg/眼、6.0 mg/眼、6.1 mg/眼、6.2 mg/眼、6.3 mg/眼、6.4 mg/眼、6.5 mg/眼、6.6 mg/眼、6.7 mg/眼、6.8 mg/眼、6.9 mg/眼、7.0 mg/眼、7.1 mg/眼、7.2 mg/眼、7.3 mg/眼、7.4 mg/眼、或7.5 mg/眼。

【0963】 241. 如實施方式231至240中任一項所述之方法，其中該多特異性結合分子包含1) 分別含有SEQ ID NO: 10和21的胺基酸序列的抗BTC結合部分；和2) 分別含有SEQ ID NO: 101和112的胺基酸序列的抗VEGF結合部分。

【0964】 242. 如實施方式231至241中任一項所述之方法，其中該投與係每月一次。

【符號說明】 無

【生物材料寄存】 無

【序列表】

<110> 瑞士商諾華公司（NOVARTIS AG）

<120> 抗β細胞素抗體、其片段及多特异性結合分子

<130> PAT058888-WO-PCT

<150> 63/156,709

<151> 2021-03-04

<150> 63/052,789

<151> 2020-07-16

<160> 207

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 1

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5 10

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 2

Gly Ile Val Pro Trp Met Gly Glu Ala Val Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 3
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 3

Ser Ser Ser Thr Tyr Gly Ile His Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 4
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 4

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 5

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 6
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 6

Val Pro Trp Met Gly Glu
1 5

<210> 7
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 7

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 8
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 8

Ile Val Pro Trp Met Gly Glu Ala
1 5

<210> 9
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 9

Ala Arg Ser Ser Ser Thr Tyr Gly Ile His Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 10

<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 10

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Val Pro Trp Met Gly Glu Ala Val Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Ser Ser Thr Tyr Gly Ile His Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 11
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 11

caggtgcaat tgggtgcagag cgggtgccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtt	60
agctgcaaag catccggagg gacgttttagc agctatgcga ttagctgggt gcgccaggcc	120
ccggggccagg gcctcgagtg gatgggcggt atcgtttccgt ggatgggcga agctgtttac	180
gcccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat	240
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgtttcttct	300
tctacttacg gtatccatgc tttcgattac tggggccaag gcaccctggt gactgttagc	360
tca	363

<210> 12
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 12

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Val Pro Trp Met Gly Glu Ala Val Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Ser Ser Thr Tyr Gly Ile His Ala Phe Asp Tyr Trp Gly

100105110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115120125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130135140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145150155160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165170175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180185190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195200205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210215220

<210> 13
<211> 672
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 13
caggtgcaat tggtgcagag cggtgccgaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtt 60
agctgcaaag catccggagg gacgttttagc agctatgcga ttagctgggt gcgccaggcc 120
ccgggccagg gcctcgagtg gatgggcggt atcgttccgt ggatgggcga agctgtttac 180
gcccagaaat ttcagggccg ggtgaccatt accgccgatg aaagcaccag caccgcctat 240
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgttcttct 300

tctacttacg g	tatccatgc t	ttcgattac t	ggggccaag g	cacctggt g	actgttagc	360
tcagcctcca c	caaggggccc c	agcgtgttc c	ccctggccc c	cagcagcaa g	agcaccagc	420
ggcggcacag c	cgccctggg c	tgcctggtg a	aggactact t	ccccgagcc c	gtgaccgtg	480
tcctggaaca g	cggagccct g	acctccggc g	tgcacacct t	ccccgccgt g	ctgcagagc	540
agcggcctgt a	cagcctgag c	cagcgtggtg a	ccgtgcccc g	cagcagcct g	ggcacccag	600
acctacatct g	taacgtgaa c	cacaagccc a	gcaacacca a	aggtggaaa g	agagtggag	660
cccaagagct g	t					672

<210> 14
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 14

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Phe Leu Asn
1 5 10

<210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 15

Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 16

Gln Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Met Thr
1 5

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 17

Ser Gln Ser Ile Ser Asn Phe
1 5

<210> 18

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 18

Ala Ala Ser
1

<210> 19

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 19

Tyr Asp Asp Phe Pro Met
1 5

<210> 20

<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 20

Gln Ser Ile Ser Asn Phe
1 5

<210> 21
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 21

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Phe
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Met
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 22
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 22
gatatccaga tgacctagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc 60

attacctgca gagccagcca gtctatttct aacttctga actggtacca gcagaaaccg 120

ggcaaagcgc cgaaactatt aatctacgct gcttctaacc tgcaaagcgg cgtgccgagc 180

cgcttttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcacctga ccattagctc tctgcaaccg 240

gaagactttg cgacctatta ttgccagcag tacgacgact tcccgatgac ctttggccag 300

ggcacgaaag ttgaaattaa a 321

<210> 23
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 23

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Phe
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Met
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 24
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 24
gatatccaga tgaccagag cccgagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga tcgcgtgacc 60

attacctgca gagccagcca gtctatttct aacttcctga actggtacca gcagaaaccg	120
ggcaaagcgc cgaaactatt aatctacgt gcttctaacc tgcaaagcgg cgtgccgagc	180
cgttttagcg gcagcggatc cggcaccgat ttcacctga ccattagctc tctgcaaccg	240
gaagactttg cgacctatta ttgccagcag tacgacgact tcccgatgac ctttggccag	300
ggcacgaaag ttgaaattaa acgtacggtg gccgctccca gcgtgttcat cttccccccc	360
agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac	420
ccccgggagg ccaagggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcaagcgg caacagccag	480
gaaagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc	540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc	600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gt	642

<210> 25
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 25

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
1 5 10

<210> 26
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 26

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 27
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 27

Gln Arg Tyr Tyr Phe Gly Glu Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 28
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 28

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 29
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 29

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 30
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 30

Ser Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 31
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 31

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 32
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 32

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 33
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 33

Ala Arg Gln Arg Tyr Tyr Phe Gly Glu Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 34
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 34

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Arg Tyr Tyr Phe Gly Glu Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 35
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 35
gaagtgcagc tgctggaaag cggatggcggc ctggtgcagc caggtggtag cctgcgcctg 60

agctgtgccg caagcggcctt taccttttagc agctatgccg tgagctgggt gcgccaagca 120

ccaggcaaag gcctggaatg ggtgagcgcc attagcggca gcggtggcag cacctattat 180

gccgatagcg tgaaaggctg ctttaccatt agtcgcgata acagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgcg ggcagaagat accgcagttt attattgcgc gcgacaacgt 300

tactacttcg gtgagttcga cctgtggggc cagggcaccc tggttactgt ctcgagc 357

<210> 36
<211> 222
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 36

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Arg Tyr Tyr Phe Gly Glu Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly

100105110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115120125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130135140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145150155160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165170175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180185190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195200205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210215220

<210> 37
<211> 666
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 37
gaagtgcagc tgctggaaag cgggtggcggc ctggtgcagc caggtggtag cctgcgccctg 60
agctgtgccg caagcggttt tacctttagc agctatgcca tgagctgggt gcgccaagca 120
ccaggcaaag gcctggaatg ggtgagcgcc attagcggca gcggtggcag cacctattat 180
gccgatagcg tgaaaggctg ctttaccatt agtcgcgata acagcaaaaa caccctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgcg ggcagaagat accgcagttt attattgcgc gcgacaacgt 300

tactacttcg gtgagttcga cctgtggggc cagggcaccc tggttactgt ctcgagcgcc	360
agcacaaagg gacccagcgt gtccctctg gccccagca gcaagtctac atctggcgga	420
acagccgccc tgggctgcct cgtgaaggac tactttcccg agcccgtgac cgtgtcctgg	480
aactctggcg ctctgacaag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctcca gagcagcggc	540
ctgtactctc tgagcagcgt cgtgacagtg cccagcagct ctctgggcac ccagacctac	600
atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac acaaaggtag acaagcgggt ggaacccaag	660
tccctgc	666

<210> 38
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 38

Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala Tyr
1 5 10

<210> 39
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 39

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 40
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 40

Gln Ala Phe Asp Tyr Leu Tyr Ser Leu Gly Val
1 5 10

<210> 41
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 41

Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5

<210> 42
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 42

Gln Asp Ser
1

<210> 43
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 43

Phe Asp Tyr Leu Tyr Ser Leu Gly
1 5

<210> 44

<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 44

Lys Leu Gly Asp Lys Tyr
1 5

<210> 45
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 45

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

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

Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 46
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 46
agctatgaac tgacctagcc gccgagcgtt agcgttagcc caggccagac cgccagcatt 60

acctgtagcg gcgacaaact gggcgacaaa tacgcctact ggtatcagca gaaaccgggc 120

cagagcccgg tgctggttat ctatcaggat agcaaacgcc cgagcggcat tccagaacgc 180

tttagcggca gcaacagcgg caacaccgcc accctgacca ttagcggcac ccaggccgaa 240

gacgaagccg attattactg tcaggctttc gactacctgt attccctggg tgtgtttggc 300

ggcggtagca agctgaccgt gctg 324

<210> 47
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 47

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu

65 70 75 80

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

Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 48
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 48
agctatgaac tgaccagcc gccgagcgtt agcgtagcc caggccagac cgccagcatt 60

acctgtagcg gcgacaaact gggcgacaaa tacgcctact ggtatcagca gaaaccgggc120

cagagcccgg tgctggttat ctatcaggat agcaaacgcc cgagcggcat tccagaacgc180

tttagcggca gcaacagcgg caacaccgcc accctgacca ttagcggcac ccaggccgaa240

gacgaagccg attattactg tcaggctttc gactacctgt attccctggg tgtgtttggc300

ggcggtagca agctgaccgt gctgggccag cccaaagccg cccctagcgt gaccctgttc360

cccccaagca gcgaggaact ccaggccaac aaggccaccc tcgtgtgcct gatcagcgac420

ttctaccctg gcgccgtgac cgtggcctgg aaggccgata gcagccctgt gaaggccggc480

gtggaaacca ccacccccag caagcagagc aacaacaaat acgccgccag cagctacctg540

agcctgacct ccgagcagtg gaagtccac agatcctaca gctgccaggt cacacacgag600

ggcagcaccg tggaaaagac cgtggccccc accgagtgca gc642

<210> 49

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 49

Gly Leu Gly His Val Gly Tyr Thr Thr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 50

Asp Tyr Leu Asp Phe Gly Tyr Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 51

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 51

Gly His Val Gly Tyr
1 5

<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 52

Leu Gly His Val Gly Tyr Thr
1 5

<210> 53
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 53

Ala Arg Asp Tyr Leu Asp Phe Gly Tyr Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 54
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 54

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Leu Gly His Val Gly Tyr Thr Thr Tyr Thr Asp Ser Val Lys
50 55 60

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

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Leu Asp Phe Gly Tyr Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 55
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 55
caggtgcagc tgctggaatc aggcggcgga ctggtgcagc ctggcggtag cctgagactg 60

agctgcgctg ctagtggtt caccttctct agctacgcta tgagctgggt ccggcaggcc 120

cctggcaaag gcctggagtg ggtctccgga ctgggtcacg tgggctacac tacctacacc 180

gatagcgtga agggccggtt cactatctct agggataact ctaagaacac cctgtacctg 240

cagatgaata gcctgagagc cgaggacacc gccgtctact actgcgctag agactacctg 300

gacttcggct actacttcga cgtgtggggc cagggcaccc tggtcaccgt gtctagc 357

<210> 56
<211> 222
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 56

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Leu Gly His Val Gly Tyr Thr Thr Tyr Thr Asp Ser Val Lys
50 55 60

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

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Leu Asp Phe Gly Tyr Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

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

<210> 57
<211> 666
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 57
caggtgcagc tgctggaatc aggcggcgga ctggtgcagc ctggcggtag cctgagactg 60

agctgcgctg ctagtggttt caccttctct agctacgcta tgagctgggt ccggcaggcc 120

cctggcaaag gcctggagtg ggtctccgga ctgggtcacg tgggctacac tacctacacc 180

gatagcgtga agggccggtt cactatctct agggataact ctaagaacac cctgtacctg 240

cagatgaata gcctgagagc cgaggacacc gccgtctact actgcgctag agactacctg 300

gacttcggct actacttcga cgtgtggggc cagggcaccc tggtcaccgt gtctagcgct 360

agcactaagg gcccctccgt gttccctctg gccccttcca gcaagtctac ctctggcggc 420

accgctgctc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccctg agcctgtgac agtgtcctgg 480

aactctggcg ccctgacctc cggcgtgcac accttccctg ccgtgctgca gtcctccggc 540

ctgtactccc tgtcctccgt ggtgacagtg ccttctcca gcctgggcac ccagacctat 600

atctgcaacg tgaaccacaa gccttccaac accaaggtgg acaagcgggt ggagcctaag 660

tcatgc 666

<210> 58
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 58

Ser Gly Asp Lys Ile Gly Lys Lys Tyr Val His
1 5 10

<210> 59
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 59

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser
1 5

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 60

Gln Ala Trp Asp Met Gln Ser Val Val
1 5

<210> 61
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 61

Asp Lys Ile Gly Lys Lys Tyr
1 5

<210> 62

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 62

Asp Asp Ser
1

<210> 63

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 63

Trp Asp Met Gln Ser Val
1 5

<210> 64

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 64

Lys Ile Gly Lys Lys Tyr

1 5

<210> 65
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 65

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

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

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Met Gln Ser Val Val
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 66
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 66

agctacgagc tgactcagcc cctgagcgtc agcgtggccc tgggccagac cgctagaatc60

acctgtagcg gcgataagat cggcaagaaa tacgtgcact ggtatcagca gaagcccggc120

caggcccccg tgctgggtcat ctacgacgat agcgatagac ctagcggaat ccccgagcgg180

tttagcggct ctaatagcgg caacaccgct accctgacta tctctagggc tcaggccggc240

gacgaggccg actactactg tcaggcctgg gatatgcagt cagtgggtgtt cggcggaggc300

actaagctga ccgtgctg318

<210> 67

<211> 212

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 67

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Leu Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
151015

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Ile Gly Lys Lys Tyr Val
202530

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
354045

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
505560

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ala Gln Ala Gly
65707580

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Met Gln Ser Val Val
859095

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala
100105110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
180 185 190

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

Thr Glu Cys Ser
210

<210> 68
<211> 636
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 68
agctacgagc tgactcagcc cctgagcgtc agcgtggccc tgggccagac cgctagaatc 60

acctgtagcg gcgataagat cggcaagaaa tacgtgcact ggtatcagca gaagcccggc 120

caggcccccg tgctgggtcat ctacgacgat agcgatagac ctagcggaat ccccgagcgg 180

tttagcggct ctaatagcgg caacaccgct accctgacta tctctagggc tcaggccggc 240

gacgaggccg actactactg tcaggcctgg gatatgcagt cagtgggtgtt cggcggaggc 300

actaagctga ccgtgctggg ccagcctaag gctgccccca gcgtgaccct gttccccccc 360

agcagcgagg agctgcaggc caacaaggcc accctggtgt gcctgatcag cgacttctac	420
ccaggcgccg tgaccgtggc ctggaaggcc gacagcagcc ccgtgaaggc cggcgtggag	480
accaccaccc ccagcaagca gagcaacaac aagtacgccg ccagcagcta cctgagcctg	540
acccccgagc agtggaaagag ccacaggtcc tacagctgcc aggtgaccca cgagggcagc	600
accgtggaaa agaccgtggc cccaaccgag tgcagc	636

<210> 69
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 69

Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Trp Ile Ser
1 5 10

<210> 70
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 70

Tyr Ile Asp Ser Thr Gly Thr Phe Ile Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 71
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 71

Gly Gly Ser Leu Phe Asp Tyr
1 5

<210> 72
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 72

Arg Tyr Trp Ile Ser
1 5

<210> 73
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 73

Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
1 5

<210> 74
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 74

Asp Ser Thr Gly Thr Phe
1 5

<210> 75

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 75

Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Trp
1 5

<210> 76
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 76

Ile Asp Ser Thr Gly Thr Phe Ile
1 5

<210> 77
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 77

Ala Arg Gly Gly Ser Leu Phe Asp Tyr
1 5

<210> 78
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 78

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Asp Ser Thr Gly Thr Phe Ile Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Ser Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 79
<211> 348
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 79
caggtgcagc tgctggaatc aggcggcgga ctggtgcagc ctggcggtag cctgagactg 60
agctgcgctg ctagtggttt caccttctct aggtactgga ttagctgggt ccggcaggcc 120
cctggcaaag gcctggagtg ggtctcctat atcgactcta ccggcacctt tattaactac 180
gccgatagcg tgaagggccg gttcactatc tctagggata actctaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga atagcctgag agccgaggac accgccgtct actactgcgc tagaggcggg 300

agtctgttcg actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tgtctagc 348

<210> 80
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 80

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Asp Ser Thr Gly Thr Phe Ile Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Ser Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

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

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

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

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215

<210> 81
<211> 657
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 81
caggtgcagc tgctggaatc aggcggcgga ctggtgcagc ctggcggtag cctgagactg 60

agctgcgctg ctagtggttt caccttctct aggtactgga ttagctgggt ccggcaggcc 120

cctggcaaag gcctggagtg ggtctctat atcgactcta ccggcacctt tattaactac 180

gccgatagcg tgaagggccg gttcactatc tctagggata actctaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga atagcctgag agccgaggac accgccgtct actactgcgc tagaggcgg 300

agtctgttcg actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tgtctagcgc tagcactaag 360

ggccccctcg tgttcctct ggccccctcc agcaagtcta cctctggcgg caccgtgct 420

ctgggctgcc tggtgaagga ctacttcct gagcctgtga cagtgtcctg gaactctggc 480

gccctgacct ccggcgtgca caccttcct gccgtgctgc agtcctccgg cctgtactcc 540

ctgtcctccg tggtgacagt gccttcctcc agcctgggca ccagacctt tatctgcaac 600

gtgaaccaca agccttccaa caccaagggtg gacaagcggg tggagcctaa gtcatgc 657

<210> 82
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 82

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ile Ser Tyr Leu Gly
1 5 10

<210> 83
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 83

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 84
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 84

Gln Gln Tyr Asp Ala Leu Asn Thr
1 5

<210> 85
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 85

Ser Gln Gly Ile Ile Ser Tyr
1 5

<210> 86
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 86

Tyr Asp Ala Leu Asn
1 5

<210> 87
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 87

Gln Gly Ile Ile Ser Tyr
1 5

<210> 88
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 88

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ile Ser Tyr
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ala Leu Asn Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 89
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 89
gatattcaga tgactcagtc acctagtagc ctgagcgcta gtgtgggcga tagagtgact 60

atcacctgta gagcctctca ggggattatt agctacctgg gctggtatca gcagaagccc 120

ggcaaagccc ctaagctgct gatctacgcc gcctctagcc tgcagtcagg cgtgccctct 180

aggtttagcg gtagcggtag tggcaccgac ttcaccctga ctattagtag cctgcagccc 240

gaggacttcg ctacctacta ctgtcagcag tacgacgccc tgaacacctt cggccagggc 300

actaaggtcg agattaag 318

<210> 90
<211> 213
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 90

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ile Ser Tyr
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ala Leu Asn Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 91
<211> 639
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 91
gatattcaga tgactcagtc acctagtagc ctgagcgcta gtgtgggcga tagagtgact 60

atcacctgta gagcctctca ggggattatt agctacctgg gctggtatca gcagaagccc 120

ggcaaagccc ctaagctgct gatctacgcc gcctctagcc tgcagtcagg cgtgccctct 180

aggtttagcg gtagcggtag tggcaccgac ttcaccctga ctattagtag cctgcagccc 240

gaggacttcg ctacctacta ctgtcagcag tacgacgccc tgaacacctt cggccagggc 300

actaaggtcg agattaagcg tacggtggcc gtcgccagcg tgttcatctt cccccccagc 360

gacgagcagc tgaagagcgg caccgccagc gtggtgtgcc tgctgaacaa cttctacccc 420

cgggaggcca aggtgcagtg gaaggtggac aacgccctgc agagcggcaa cagccaggag 480

agcgtcaccg agcaggacag caaggactcc acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg 540

agcaaggccg actacgagaa gcataaggtg tacgcctgcg aggtgaccca ccagggcctg 600

tccagccccg tgaccaagag cttcaacagg ggcgagtg 639

<210> 92
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 92

Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr Tyr Tyr Met Thr
1 5 10

<210> 93
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 93

Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 94
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 94

Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile
1 5 10

<210> 95
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 95

Asp Tyr Tyr Tyr Met Thr
1 5

<210> 96
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 96

Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 97
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 97

Asp Pro Asp Asp Asp
1 5

<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 98

Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr Tyr Tyr
1 5

<210> 99
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 99

Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro
1 5

<210> 100
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 100

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile
1 5 10

<210> 101
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 101

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 102
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 102
gaggtgcaat tggttgaatc tgggggcgga ctggtgcagc ccggtggatc tttgcgcctg 60

tcctgtacag cttctggctt ctcccttgacc gactactatt acatgacttg ggttcgccaa 120

gccccaggca aagggttga atgggtgggg ttcatatgacc ccgacgatga tccttactac 180

gccacatggg caaaggggccg gtttactatc agccgggata attccaaaaa cacattgtat 240

ttgcaaatga actcactgag agcagaagat acggctgtgt actattgcgc aggcggcgat 300

cataactccg gctggggcct ggacatctgg gggcagggga ccctgggtgac agtcagctca 360

<210> 103
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 103

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

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

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

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

<210> 104
<211> 669
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 104
gagggtgcaat tggttgaatc tggggggcgga ctggtgcagc ccggtggatc tttgcgcctg 60

tcctgtacag cttctggctt ctcccttgacc gactactatt acatgacttg ggttcgccaa 120

gccccaggca aagggtctga atgggtgggg ttcatctgacc ccgacgatga tccttactac 180

gccacatggg caaaggggccg gtttactatc agccgggata attccaaaaa cacattgtat 240

ttgcaaatga actcactgag agcagaagat acggctgtgt actattgcgc aggcggcgat 300

cataactccg gctggggcct ggacatctgg gggcagggga ccctggtgac agtcagctca 360

gcctcaacga aggggcccag cgtgtttcct ttggcccaa gcagcaagtc cacgtccgt 420

gggactgcag ctcttggttg tctggtaag gattatttcc cagaaccctg gaccgtgtct 480

tggaacagtg gtgcattgac atcaggagtg catacattcc cagctgtgct gcagagctct 540

ggcctgtata gcctttctc tgttgtcacg gtgccagct ccagcctggg gacgcagacc 600

tatatttgta acgtgaacca taaaccctcc aacaccaagg ttgataaaag agtggagccc 660

aagtcttgt 669

<210> 105
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 105

Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 106

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 106

Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 107
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 107

Gln Asn Val Tyr Leu Ala Ser Thr Asn Gly Ala Asn
1 5 10

<210> 108
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 108

Ser Glu Ile Ile His Ser Trp
1 5

<210> 109
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 109

Leu Ala Ser
1

<210> 110
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 110

Val Tyr Leu Ala Ser Thr Asn Gly Ala
1 5

<210> 111
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 111

Glu Ile Ile His Ser Trp
1 5

<210> 112
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 112

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Tyr Leu Ala Ser Thr
85 90 95

Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Lys
100 105 110

<210> 113
<211> 333
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 113
gagattgtga tgactcagag cccttcaacg ctgtctgcat ccgtaggtga tcgcgtcatt 60

attacctgtc aagcctcaga gatcattcac tcttggtctg cctggtatca gcagaagccc 120

ggtaaggccc ccaagctgct gatctatctt gcttcaaccc tcgcgagcgg ggtgccctcc 180

cgcttcagcg gctccggctc tgggtccgaa ttaccctga caatcagctc tctccaaccc 240

gatgatttcg cgacttacta ctgtcagaat gtctacttgg cctcaaccaa cggagccaac 300

ttcggccagg ggaccaaact gaccgtcctt aag 333

<210> 114
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 114

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ile Ile His Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Tyr Leu Ala Ser Thr
85 90 95

Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 115
<211> 654
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 115
gagattgtga tgactcagag ccccttcaacg ctgtctgcat ccgtaggtga tcgcgtcatt 60

attacctgtc aagccctcaga gatcattcac tcttggtctg cctgggtatca gcagaagccc 120

ggtaaggccc ccaagctgct gatctatctt gcttcaaccc tcgcgagcgg ggtgccctcc 180

cgcttcagcg gctccggctc tgggtccgaa tttacctga caatcagctc tctccaaccc 240

gatgatttcg cgacttacta ctgtcagaat gtctacttgg cctcaaccaa cggagccaac 300

ttcggccagg ggaccaaact gaccgtcctt aagcgtacgg tggcagctcc gtctgttttc 360

atctttccac ctacgcacga gcaactcaaa agtggtagag catccgtggt ttgtctgctg 420

aacaattttt accccaggga ggctaaggtc cagtggaaaag tcgataacgc tcttcagtct 480

ggcaacagtc aggagagcgt cacagagcag gactctaagg atagcactta tagtctgtcc 540

tccacgctga cactgtctaa agcggattat gagaagcaca aggtttacgc ctgtgaggta 600

acgcaccaag gactctcctc cccagttacc aaatctttca acagaggaga atgt 654

<210> 116
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 116

caagtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ccggctcctc cgtgaaagtg	60
tcttgcgaagg cctccggcgg caccttctcc agctacgcca tctcctgggt ccgacaggcc	120
ccaggccagg gcctggagtg gatgggcggc atcgtgccctt ggatgggcga ggccgtgtac	180
gcccagaaat tccagggcag agtgaccatc accgccgacg agtccacctc caccgcctac	240
atggaactgt cctccctgag gagcgaggac accgccgtgt actactgcgc ccggtcctcc	300
tccacctacg gcatccacgc cttcgactac tggggccagg gcacctgggt caccgtgtcc	360
tcc	363

<210> 117
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 117 gaagtccagc tgggtggaatc cggcggaggc ctggtgcagc caggcggatc cctgaggctg	60
tcttgcaccg cctccggctt ctccctgacc gactactact acatgacttg ggtccgccag	120
gctcccggaa aaggactgga gtgggtcggg ttcategacc ccgacgacga cccctactac	180
gccacctggg ccaagggccg gttcaccatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtac	240
ctgcagatga actccctgag ggccgaagat acagctgtgt actattgcgc tggcggcgac	300
cacaactccg gctggggcct ggatatctgg ggacagggaa cactcgtgac agtgtccagc	360

<210> 118
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 118

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly	
1 5 10 15	

<210> 119
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 119
ggctctggcg gcggaggatc tggcggaggc ggtagcggag gcgga 45

<210> 120
<211> 462
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 120

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Val Pro Trp Met Gly Glu Ala Val Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Ser Ser Thr Tyr Gly Ile His Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	
	115						120					125				
Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	
	130					135					140					
Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	
145					150					155					160	
Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	
				165					170					175		
Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	
		180						185					190			
Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	
	195						200					205				
Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	
	210					215					220					
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Glu	
225					230					235					240	
Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	
				245					250					255		
Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Thr	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Thr	Asp	Tyr	Tyr	
			260					265						270		
Tyr	Met	Thr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
	275						280					285				
Gly	Phe	Ile	Asp	Pro	Asp	Asp	Asp	Pro	Tyr	Tyr	Ala	Thr	Trp	Ala	Lys	
	290					295					300					
Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	

305 310 315 320

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
325 330 335

Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
340 345 350

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
355 360 365

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
370 375 380

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
385 390 395 400

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
405 410 415

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
420 425 430

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
435 440 445

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
450 455 460

<210> 121
<211> 1386
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 121
caagtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ccggctcctc cgtgaaagtg

tectgcaagg cctccggcgg caccttctcc agctacgcca tctcctgggt ccgacaggcc	120
ccaggccagg gcctggagtg gatgggcggc atcgtgccct ggatgggcga ggccgtgtac	180
gcccagaaat tccagggcag agtgaccatc accgccgacg agtccacctc caccgcctac	240
atggaactgt cctccctgag gagcgaggac accgccgtgt actactgcgc ccggtcctcc	300
tccacctacg gcatccacgc cttcgactac tggggccagg gcacctgggt caccgtgtcc	360
tccgcctcca ccaagggacc ctccgtgttc cctctggccc ctccagcaa gtccacctct	420
ggcggcaccg ccgctctggg ctgcctggtc aaggactact tccccagcc cgtgaccgtg	480
tcttggaact ctggcgccct gacctccggc gtgcacacct tccctgccgt gctgcagtcc	540
tccggcctgt actccctgtc ctccgtcgtg accgtgccct ccagctctct gggcacccag	600
acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc tccaacacca aagtggacaa gcgggtggaa	660
cccaagtctt gcggctctgg cggcggagga tctggcggag gcggtagcgg aggcggagaa	720
gtccagctgg tggaaaccgg cggaggcctg gtgcagccag gcggatccct gaggctgtct	780
tgcaccgctt ccggcttctc cctgaccgac tactactaca tgacttgggt ccgccaggct	840
cccggaaaag gactggagtg ggtcggattc atcgaccccg acgacgacct ctactacgcc	900
acctgggcc aaggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg	960
cagatgaact ccctgagggc cgaagataca gctgtgtact attgcgctgg cggcgaccac	1020
aactccggtt ggggcctgga tatctgggga cagggaacac tcttgacagt gtccagcgcc	1080
agcaccaagg gcccctccgt gtccctctg gccccttcca gcaagtctac ctctggcggc	1140
accgtgtctc tgggtgcct ggtgaaggac tacttccctg agcctgtgac agtgtcctgg	1200
aactctggcg ccctgacctc cggcgtgcac accttccctg ccgtgctgca gtcctccggc	1260
ctgtactccc tgtcctccgt ggtgacagtg ccttctcca gcctgggcac ccagacctat	1320
atctgcaacg tgaaccacaa gccttccaac accaaggtgg acaagcgggt ggagcctaag	1380
tcatgc	1386

<210> 122
<211> 321
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 122

gacatccaga tgacccagag cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc	60
atcacctgtc gggccctccca gtctatctcc aacttctga actggtatca gcagaagccc	120
ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gcctccaacc tgcagtccgg cgtgccctcc	180
agattctccg gctctggctc cggcaccgac ttcacctga ccatctccag cctgcagccc	240
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacgacgact tcccatgac cttcggccag	300
ggcaccaaag tggaaatcaa g	321

<210> 123

<211> 333

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 123

gagatcgtga tgaccagtc ccctagcacc ctgagcgcca gcgtgggaga tcgcgtgac	60
atcacatgcc aggcctccga gatcatccac agctggctgg cttggtatca gcagaaacct	120
ggaaaagctc ccaagctcct gatctatctg gccagcacc tggcctctgg cgtgcccagc	180
agattcagcg gctccggcag cggcgctgag ttaccctga caatcagctc cctgcagcct	240
gacgattttg ctacctacta ttgtcagaac gtgtacctgg cctccaccaa cggcgccaac	300
tttggccagg gaacaaagct gaccgtgctg aag	333

<210> 124

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 124

ggctccggcg gaggcggatc tggtaggcgga ggatctggcg gtggc 45

<210> 125
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 125

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Phe
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Met
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
210 215 220

Gly Ser Gly Gly Gly Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu
225 230 235 240

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu
245 250 255

Ile Ile His Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
260 265 270

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro
275 280 285

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile
290 295 300

Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val
305 310 315 320

Tyr Leu Ala Ser Thr Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
325 330 335

Thr Val Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
340 345 350

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
355 360 365

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
370 375 380

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
385 390 395 400

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
405 410 415

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
420 425 430

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
435 440 445

<210> 126
<211> 1341
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 126	
gacatccaga tgaccagag cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc	60
atcacctgtc gggcctccca gtctatctcc aacttctga actggtatca gcagaagccc	120
ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gcctccaacc tgcagtccgg cgtgccctcc	180
agattctccg gctctggctc cggcaccgac ttcacctga ccatctccag cctgcagccc	240
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacgacgact tccccatgac cttcggccag	300
ggcaccaaag tggaaatcaa gcggaccgtg gccgctccct ccgtgttcat cttcccaccc	360
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac	420
cctcgcgagg ccaaagtgca gtggaaagtg gacaacgccc tgacagagcg caactcccag	480

gaatccgtca ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcctc caccctgacc	540
ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaaa gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc	600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gtcccttcaac cggggcgagt gtggctccgg cggaggcggga	660
tctgttggcg gaggatctgg cgggtggcgag atcgtgatga ccagtcctc tagcacctg	720
agcgccagcg tgggagatcg cgtgatcctc acatgccagg cctccgagat catccacagc	780
tggctggctt ggtatcagca gaaacctgga aaagctccca agctcctgat ctatctggcc	840
agcaccttgg cctctggcgt gcccagcaga ttcagcggct ccggcagcgg cgctgagttt	900
accctgacaa tcagctccct gcagcctgac gatcttgcta cctactattg tcagaacgtg	960
tacctggcct ccaccaacgg cgccaacttt ggccagggaa caaagctgac cgtgctgaag	1020
cgtacgggtg ccgctcccag cgtgttcctc tccccccca gcgacgagca gctgaagagc	1080
ggcaccgcca gcgtgggtgtg cctgctgaac aacttctacc cccgggaggc caaggtgcag	1140
tggaaggtgg acaacgccct gcagagcggc aacagccagg agagcgtcac cgagcaggac	1200
agcaaggact ccacctacag cctgagcagc accctgacct tgagcaaggc cgactacgag	1260
aagcataagg tgtacgcctg cgaggtgacc caccagggcc tgtccagccc cgtgaccaag	1320
agcttcaaca ggggcgagtg c	1341

<210> 127
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 127	
gaagtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc cctgaggctg	60
tcttgtgccg cctccggctt caccctctcc agctacgcca tgtcctgggt ccgacaggcc	120
cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atctccgct ccggcggctc tacctactac	180
gccgactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtac	240
ctgcagatga actccctgag ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc cagacagcgg	300

tactacttcg gcgagttcga cctgtggggc cagggcaccc tggtcaccgt gtcctcc 357

<210> 128
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 128
gaagtccagc tgggtggaaag cggcggaggc ctggtccagc caggcggatc cctgaggctc 60

agctgcaccg cctctggctt ctcctgacc gactactact atatgacttg ggtccgccag 120

gctcccggaa aaggactcga atgggtcggg ttcacgacc ccgacgacga cccttactac 180

gccacctggg ccaagggcag attcaccatc agcagagaca acagcaagaa cacactctat 240

ctccagatga actccctgag ggctgaagat accgctgtct attactgcgc tggcggcgac 300

cacaactccg gctggggcct ggatatctgg ggacagggca cactcgtgac agtgtccagc 360

<210> 129
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 129
ggctctggcg gaggcggaag tgggtggcggg ggatcaggcg gcgga 45

<210> 130
<211> 460
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 130

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

Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
20				25				30							
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
35				40				45							
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
50				55				60							
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65				70				75				80			
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
85				90				95							
Ala	Arg	Gln	Arg	Tyr	Tyr	Phe	Gly	Glu	Phe	Asp	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly
100				105				110							
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
115				120				125							
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
130				135				140							
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
145				150				155				160			
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
165				170				175							
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
180				185				190							
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
195				200				205							
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Gly	Ser

210					215					220					
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Glu	Val	Gln
225					230					235					240
Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg
				245					250					255	
Leu	Ser	Cys	Thr	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Thr	Asp	Tyr	Tyr	Tyr	Met
			260					265					270		
Thr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Gly	Phe
	275						280					285			
Ile	Asp	Pro	Asp	Asp	Asp	Pro	Tyr	Tyr	Ala	Thr	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg
290						295					300				
Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met
305					310					315					320
Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Gly	Gly
				325					330					335	
Asp	His	Asn	Ser	Gly	Trp	Gly	Leu	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
			340					345					350		
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
		355					360					365			
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
	370					375					380				
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
385					390					395					400
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
				405					410					415	

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
420 425 430

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
435 440 445

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
450 455 460

<210> 131
<211> 1380
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 131
gaagtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc cctgaggctg 60

tcttgtgccg cctccggctt caccttctcc agctacgcca tgtcctgggt ccgacaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccgcc atctccggt ccggcggctc tacctactac 180

gccgactccg tgaaggggcg gttcaccatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga actccctgag ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc cagacagcgg 300

tactacttcg gcgagttcga cctgtggggc cagggcaccc tggtcaccgt gtccctccgc 360

tccaccaagg gaccctccgt gttccctctg gccccttcca gcaagtccac ctctggcggc 420

accgccgctc tgggtgcct ggtcaaggac tacttccccg agcccgtagc cgtgtcctgg 480

aactccggcg ctctgacctc cggcgtgcac accttccctg ccgtgctgca gtcctccggc 540

ctgtactccc tgtcctccgt cgtgaccgtg cctccagct ctctgggcac ccagacctac 600

atctgcaacg tgaaccacaa gccctccaac accaaagtgg acaagcgggt ggaaccaag 660

tcctgcggct ctggcggagg cggaagtggg ggcggaggat caggcggcgg agaagtcag 720

ctggtggaaa gcggcggagg cctggtccag ccaggcggat ccctgaggct cagctgcacc 780

gcctctggct tctccctgac cgactactac tatatgactt gggtcgccca ggctcccgga 840

aaaggactcg aatgggtcgg attcatcgac cccgacgacg acccttacta cgccacctgg 900

gccaagggca gattcaccat cagcagagac aacagcaaga acacactcta tctccagatg 960

aactccctga gggctgaaga taccgctgtc tattactgcg ctggcggcga ccacaactcc 1020

ggctggggcc tggatatctg gggacagggc acactcgtga cagtgtccag cgccagcacc 1080

aaggggccct ccgtgttccc tctggccctt tccagcaagt ctacctctgg cggcacccgt 1140

gctctgggct gcctggtgaa ggactacttc cctgagcctg tgacagtgtc ctggaactct 1200

ggcgccctga cctccggcgt gcacaccttc cctgccgtgc tgcagtcttc cggcctgtac 1260

tccctgtcct ccgtggtgac agtgcccttc tccagcctgg gcacccagac ctatatctgc 1320

aacgtgaacc acaagccttc caacaccaag gtggacaagc gggtaggagcc taagtcatgc 1380

<210> 132
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 132

tcttacgagc tgaccagacc tccctccgtg tccgtgtctc ctggccagac cgcctccatc 60

acctgttccg gcgacaagct gggcgataag tacgcctact ggtatcagca gaagcccggc 120

cagtccctg tgctggtcac ctaccaggac tccaagcggc cctccggcat ccctgagcgg 180

ttctccggct ccaactccgg caacaccgcc accctgacca tctccggcac ccaggccgag 240

gacgaggccg actactactg ccaggccttc gactacctgt actccctggg cgtgttcggc 300

ggaggcacca agctgaccgt gctg 324

<210> 133
<211> 333
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 133

gagatcgtga tgaccacgtc cccctccacc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgatc

60

atcacctgtc aggcctccga gatcatccac agctggctgg cttggtatca gcagaaacct

120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacctg gcctccaccc tggcctccgg cgtgccctcc

180

agattctccg gatctggctc tggcgccgag ttcacctga caatcagctc cctgcagccc

240

gacgacttcg ccacctacta ctgtcagaac gtgtacctgg ccagcaccaa cggcgccaac

300

ttcggccagg gcacaaaact gacagtgtg aag

333

<210> 134

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 134

ggctctggtg gcggaggatc tggcggaggc ggttctggcg gcgga

45

<210> 135

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 135

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala

20 25 30

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

35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Thr	Gln	Ala	Glu
65					70					75					80
Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ala	Phe	Asp	Tyr	Leu	Tyr	Ser	Leu
				85					90					95	
Gly	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gln	Pro	Lys
			100					105					110		
Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu	Leu	Gln
		115					120					125			
Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr	Pro	Gly
	130					135					140				
Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro	Val	Lys	Ala	Gly
145					150					155					160
Val	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr	Ala	Ala
				165					170					175	
Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His	Arg	Ser
			180						185					190	
Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys	Thr	Val
		195						200				205			
Ala	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
		210				215						220			
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Glu	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Thr	Leu
225					230					235					240
Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Ile	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Glu
				245					250					255	
Ile	Ile	His	Ser	Trp	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala

260 265 270

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro
275 280 285

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile
290 295 300

Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val
305 310 315 320

Tyr Leu Ala Ser Thr Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
325 330 335

Thr Val Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
340 345 350

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
355 360 365

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
370 375 380

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
385 390 395 400

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
405 410 415

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
420 425 430

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
435 440 445

<210> 136
<211> 1341
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 136

tctacgagc tgaccagcc tccctccgtg tccgtgtctc ctggccagac cgcctccatc	60
acctgttccg gcgacaagct gggcgataag tacgcctact ggtatcagca gaagcccggc	120
cagtcccctg tgctggtcac ctaccaggac tccaagcggc cctccggcat ccctgagcgg	180
ttctccggct ccaactccgg caacaccgcc accctgacca tctccggcac ccaggccgag	240
gacgaggccg actactactg ccaggccttc gactacctgt actccctggg cgtgttcggc	300
ggaggcacca agctgaccgt gctgggccag cccaaggccg ctccctccgt gacctgttc	360
cctccatcct ccgaggaact gcaggccaac aaggccaccc tcgtgtgcct gatctccgac	420
ttctaccctg gcgccgtgac cgtggcctgg aaggccgaca gctctcctgt gaaggccggc	480
gtggaaacca ccacccttc caagcagtc aacaacaaat acgccgcctc ctctacctg	540
tccctgacct ctgagcagtg gaagtccac cggtcctaca gctgccagt cacacagag	600
ggctccaccg tggaaaagac cgtggccct accgagtgt cggctcttg tggcggagga	660
tctggcggag gcggttctgg cggcggagag atcgtgatga ccagtcctc ttccacctg	720
tccgcctccg tgggcgacag agtgatcatc acctgtcagg cctccgagat catccacagc	780
tggctggctt ggtatcagca gaaacctggc aaggccccta agctgctgat ctacctggcc	840
tccacctgg cctccggcgt gccctccaga ttctccgat ctggctctgg cgccgagttc	900
acctgacaa tcagtcctc gcagcccgac gacttcgcca ctactactg tcagaacgtg	960
tacctggcca gcaccaacgg cgccaacttc ggcagggca caaaactgac agtgctgaag	1020
cgtacggtgg ccgctcccag cgtgttcac ttcccccca gcgacgagca gctgaagagc	1080
ggcaccgcca gcgtggtgtg cctgctgaac aacttctacc cccgggaggc caaggcgcag	1140
tggaaagtgg acaacgccct gcagagcggc aacagccagg agagcgtcac cgagcaggac	1200
agcaaggact ccacctacag cctgagcagc acctgacct tgagcaaggc cgactacgag	1260
aagcataagg tgtacgcctg cgaggtgacc caccagggcc tgtccagccc cgtgaccaag	1320

agcttcaaca ggggcgagtg c 1341

<210> 137
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 137
caagtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc cctgaggctg 60

tcttgtgccg cctccggctt caccttctcc agctacgcca tgcctgggt ccgacaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccggc ctgggccacg tgggctacac cacctacacc 180

gactccgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 240

cagatgaact ccctgagggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agactacctg 300

gacttcggct actacttcca cgtgtggggc cagggcaccc tggtcaccgt gtcctcc 357

<210> 138
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 138
gaagtgcagc tggtcgagag tggcggaggc ctggtccagc caggcggatc cctgaggctc 60

agctgcaccg cctctggctt ctccctgacc gactactact atatgacttg ggtccgccag 120

gctcccggaa aaggactcga atgggtcggg ttcacgacc ccgacgacga ccctactac 180

gccacctggg ccaagggcag attcaccatc agcagagaca acagcaagaa cacactctat 240

ctccagatga actccctgag ggctgaagat accgctgtct attactgcgc tggcggcgac 300

cacaactccg gctggggcct ggatatctgg ggacagggca cactcgtgac agtgtccagc 360

<210> 139
<211> 45
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 139

ggctctggcg gaggcggaag tggtagcgga ggatcaggcg gcgga 45

<210> 140

<211> 460

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 140

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Leu Gly His Val Gly Tyr Thr Thr Tyr Thr Asp Ser Val Lys
50 55 60

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

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Leu Asp Phe Gly Tyr Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
130				135				140							
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
145				150				155				160			
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
				165				170				175			
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
180								185				190			
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
195								200				205			
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Gly	Ser
210				215				220							
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Glu	Val	Gln
225				230				235				240			
Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg
				245				250				255			
Leu	Ser	Cys	Thr	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Thr	Asp	Tyr	Tyr	Tyr	Met
				260				265				270			
Thr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Gly	Phe
275								280				285			
Ile	Asp	Pro	Asp	Asp	Asp	Pro	Tyr	Tyr	Ala	Thr	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg
290				295				300							
Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met
305				310				315				320			
Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Gly	Gly

325 330 335

Asp His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
340 345 350

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
355 360 365

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
370 375 380

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

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
405 410 415

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
420 425 430

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
435 440 445

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
450 455 460

<210> 141
<211> 1380
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 141
caagtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggtc cctgaggctg 60

tcttgtgccg cctccggtt caccttctcc agctacgcca tgtcctgggt ccgacaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtgtccggc ctgggccacg tgggctacac cacctacacc 180

gactccgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg	240
cagatgaact ccctgagggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agactacctg	300
gacttcggct actacttcga cgtgtggggc cagggcaccc tggtcaccgt gtcctccgcc	360
tccaccaagg gacctccgt gtccctctg gcccctcca gcaagtccac ctctggcggc	420
accgccgtc tgggtgcct ggtcaaggac tacttcccc agcccgtag cgtgtcctgg	480
aactctggcg ccctgacctc cggcgtgcac accttccctg ccgtgctgca gtcctccggc	540
ctgtactccc tgtctccgt cgtgaccgtg cctccagct ctctgggcac ccagacctac	600
atctgcaacg tgaaccacaa gccctccaac accaaagtgg acaagcgggt ggaaccaag	660
tcctgcggct ctggcggagg cgggaagtgtt ggccggaggat caggcggcgg agaagtgcag	720
ctggtcgaga gtggcggagg cctcgtccag ccaggcggat ccctgaggct cagctgcacc	780
gcctctggct tctccctgac cgactactac tatatgactt gggtcgccca ggctcccga	840
aaaggactcg aatgggtcgg attcatcgac cccgacgacg acccctacta cggcacctgg	900
gccaagggca gattcaccat cagcagagac aacagcaaga acacactcta tctccagatg	960
aactccctga gggctgaaga taccgtgtc tattactgcy ctggcggcga ccacaactcc	1020
ggctggggcc tggatatctg gggacagggc acactcgtga cagtgtccag cggcagcacc	1080
aaggggccct ccgtgttccc tctggccct tccagcaagt ctacctctgg cggcacctgt	1140
gctctgggt gcttggtgaa ggactacttc cctgagcctg tgacagtgtc ctggaactct	1200
ggcgccctga cctccggcgt gcacaccttc cctgccgtgc tgacgtctc cggcctgtac	1260
tcctgtctt ccgtggtgac agtgcccttc tccagcctgg gcacccagac ctatatctgc	1320
aacgtgaacc acaagccttc caacaccaag gtggacaagc gggtaggagcc taagtcatgc	1380

<210> 142
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 142

tcctacgagc tgaccagcc cctgtccgtg tctgtggctc tgggccagac cgcccggatc	60
acctgttccg gcgacaagat cggcaagaaa tacgtgcact ggtatcagca gaagcccggc	120
caggccccctg tgctgggtcat ctacgacgac tccgaccggc cctccggcat ccctgagcgg	180
ttctccggct ccaactccgg caacaccgcc accctgacca tctccagagc ccaggccggc	240
gacgaggccg actactactg ccaggcctgg gacatgcagt ccgtggtgtt cggcggaggc	300
accaagctga ccgtgctg	318

<210> 143
<211> 333
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 143 gagatcgtga tgaccagtc cctttccacc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgatc	60
atcacctgtc aggcctccga gatcatccac agctggctgg cttggtatca gcagaaacct	120
ggcaaggctc ccaagctgct gatctacctg gcctccacce tggcctccgg cgtgccctcc	180
agattctccg gatctggctc tggcgccgag ttcacctga caatcagctc cctgcagccc	240
gacgacttcg ccacctacta ctgtcagaac gtgtacctgg ccagcaccaa cggcgccaac	300
ttcggccagg gcacaaaact gacagtgtg aag	333

<210> 144
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 144 ggctctggtg gcggaggatc tggcggaggc ggttctggcg gcgga	45
--	----

<210> 145
<211> 445
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 145

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

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

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Met Gln Ser Val Val
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
165 170 175

Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His	Arg	Ser	Tyr	Ser	
			180					185						190		
Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys	Thr	Val	Ala	Pro	
		195					200					205				
Thr	Glu	Cys	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	
	210					215					220					
Gly	Gly	Gly	Glu	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Thr	Leu	Ser	Ala	
225					230					235					240	
Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Ile	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Glu	Ile	Ile	
			245						250					255		
His	Ser	Trp	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	
		260					265						270			
Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	
	275						280					285				
Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Ala	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	
	290					295					300					
Leu	Gln	Pro	Asp	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Asn	Val	Tyr	Leu	
305					310					315					320	
Ala	Ser	Thr	Asn	Gly	Ala	Asn	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	
			325					330					335			
Leu	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	
		340						345					350			
Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	
	355						360					365				
Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	

370	375	380	
Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys			
385	390	395	400
Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp			
	405	410	415
Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu			
	420	425	430
Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
	435	440	445
<210> 146			
<211> 1335			
<212> DNA			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成多核苷酸			
<400> 146			
tcttacgagc tgaccagacc cctgtccgtg tctgtggctc tgggccagac cggccggatc			60
acctgttccg gcgacaagat cggcaagaaa tacgtgcact ggtatcagca gaagcccggc			120
caggcccctg tgctggtcac ctacgacgac tccgaccggc cctccggcat ccctgagcgg			180
ttctccggct ccaactccgg caacaccggc accctgacca tctccagagc ccaggccggc			240
gacgaggccg actactactg ccaggcctgg gacatgcagt ccgtgggtgtt cggcggaggc			300
accaagctga ccgtgctggg ccagcccaag gccgtccct ctgtgaccct gtccctcca			360
tcctccgagg aactgcaggc caacaaggcc accctcgtgt gcctgatctc cgacttctac			420
cctggcgccg tgaccgtggc ctggaaggcc gacagctctc ctgtgaaggc cggcgtggaa			480
accaccacc cttccaagca gtccaacaac aaatacgccg cctcctcta cctgtccctg			540
accctgagc agtgaagtc ccaccgtcc tacagctgcc aagtcacaca cgagggtcc			600
accgtggaag agaccgtggc ccctaccgag tgctccggct ctggtggcgg aggatctggc			660

ggaggcggtt ctggcggcgg agagatcgtg atgaccagt ccccttccac cctgtccgcc	720
tccgtgggcg acagagtgat catcacctgt caggcctccg agatcatcca cagctggctg	780
gcttggatc agcagaaacc tggcaagget cccaagctgc tgatctacct ggcctccacc	840
ctggcctccg gcgtgccctc cagattctcc ggatctggct ctggcggcga gttcacctg	900
acaatcagct ccctgcagcc cgacgacttc gccacctact actgtcagaa cgtgtacctg	960
gccagcacca acggcgccaa cttcggccag ggcacaaaac tgacagtgt gaagcgtacg	1020
gtggccgctc ccagcgtgtt catcttcccc cccagcgacg agcagctgaa gagcggcacc	1080
gccagcgtgg tgtgcctgt gaacaacttc tcccccggg aggccaaggt gcagtggaag	1140
gtggacaacg ccctgcagag cggcaacagc caggagagcg tcaccgagca ggacagcaag	1200
gactccacct acagcctgag cagcacctg accctgagca aggccgacta cgagaagcat	1260
aaggtgtacg cctgcgaggt gaccaccag gcctgtcca gcccgtgac caagagcttc	1320
aacaggggcg agtgc	1335

<210> 147
<211> 348
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 147 caagtgcagc tgctggaatc tggcggcggga ctggtgcagc ctggcggctc cctgaggctg	60
tcttgtgccg cctccggctt caccttctcc cgtactgga tctcctgggt ccgacaggcc	120
cctggcaagg gcctggagtg ggtgtcctac atcgactcca ccggcacctt catcaactac	180
gccgactccg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca actccaagaa caccctgtac	240
ctgcagatga actccctgag ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc cagaggcggc	300
agcctgttcg actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tgtcctcc	348

<210> 148
<211> 360
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 148

gaagtgcagc	tggtcgagag	tggcggaggc	ctcgtccagc	caggcggatc	cctgaggctc	60
agctgcaccg	cctctggctt	ctccctgacc	gactactact	acatgacatg	gggccgccag	120
gctcccggaa	aaggactcga	atgggtcgga	ttcatcgacc	ccgacgacga	cccctactac	180
gccacctggg	ccaagggcag	attcaccatc	tccagagata	acagcaagaa	cacactctat	240
ctccagatga	actccctgag	ggctgaagat	accgctgtct	attactgcgc	tggcggcgac	300
cacaactccg	gctggggcct	ggatatctgg	ggacagggaa	cactcgtgac	agtgtccagc	360

<210> 149

<211> 457

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 149

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

859095

Ala Arg Gly Gly Ser Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100105110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115120125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130135140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145150155160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165170175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180185190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195200205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Ser Gly Gly Gly
210215220

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu
225230235240

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
245250255

Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr Tyr Tyr Met Thr Trp Val
260265270

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Phe Ile Asp Pro
275280285

Asp Asp Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
290 295 300

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
305 310 315 320

Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Asp His Asn
325 330 335

Ser Gly Trp Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
340 345 350

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
355 360 365

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
370 375 380

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
385 390 395 400

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
405 410 415

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
420 425 430

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
435 440 445

Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
450 455

<210> 150
<211> 1371
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 150	
caagtgcagc tgctggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc cctgaggctg	60
tcttgtgccg cctccggctt caccttctcc cggtactgga tctcctgggt ccgacaggcc	120
cctggcaagg gcctggagtg ggtgtcctac atcgactcca ccggcacctt catcaactac	180
gccgactccg tgaaggggcg gttcaccatc agccgggaca actccaagaa caccctgtac	240
ctgcagatga actccctgag ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc cagaggcggc	300
agcctgttcg actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tgtcctccgc ctccaccaag	360
ggacctccg tgttccctct ggccccctcc agcaagtcca cctctggcgg caccgccgt	420
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gagcccgta ccgtgtcctg gaactctggc	480
gccctgacct ccggcgtgca caccttccct gccgtgctgc agtcctccgg cctgtactcc	540
ctgtcctccg tcgtgaccgt gccctccagc tctctgggca ccagacctt catctgcaac	600
gtgaaccaca agccctccaa caccaaagtg gacaagcggg tggaaaccaa gtctctcggc	660
tctggcggag gcggaagtgg tggcggagga tcaggcggcg gagaagtgca gctggtcgag	720
agtggcggag gcctcgtcca gccaggcggg tccttgaggc tcagctgcac cgcctctggc	780
ttctccctga ccgactacta ctacatgaca tgggtccgcc aggtccccg aaaaggactc	840
gaatgggtcg gattcatcga ccccgcgcac gaccctact acgccacctg ggccaagggc	900
agattcacca tctccagaga taacagcaag aacacactct atctccagat gaactccctg	960
agggctgaag ataccgtgt ctattactgc gctggcggcg accacaactc cggctggggc	1020
ctggatatct ggggacaggg aacactcgtg acagtgtcca gcgccagcac caagggcccc	1080
tccgtgttcc ctctggcccc ttccagcaag tctacctctg gcggcaccgc tgctctgggc	1140
tgcttggtga aggactactt ccctgagcct gtgacagtgt cctggaactc tggcgccctg	1200
acctccggcg tgcacacctt ccctgccgtg ctgcagtcct ccggcctgta ctccctgtcc	1260
tccgtggtga cagtgccttc ctccagcctg ggcacccaga cctatatctg caacgtgaac	1320
cacaagcctt ccaacaccaa ggtggacaag cgggtggagc ctaagtcatg c	1371

<210> 151
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 151
gacatccaga tgacctagag cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgtc gggccctccca gggcatcadc tcctacctgg gctggtatca gcagaagccc 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagctccc tgcagtccgg cgtgccctcc 180

agattctccg gctctggctc cggcaccgac ttaccctga ccatctccag cctgcagccc 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacgacgccc tgaacacctt cggccagggc 300

accaaagtgg aaatcaag 318

<210> 152
<211> 333
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 152
gagatcgtga tgacctagtc ccctagcacc ctgagcgcca gcgtgggaga tcgcgtgatc 60

atcacatgcc aggcctccga gatcatccac agctggctgg cttggtatca gcagaaacct 120

ggaaaagctc ccaagctcct gatctatctg gccagcacc tggcctctgg cgtgcccagc 180

agattcagcg gctccggcag cggcgctgag ttaccctga caatcagctc tctgcagcct 240

gacgattttg ctacctacta ttgtcagaac gtgtacctgg cctccaccaa cggcgccaac 300

tttggccagg gaacaaagct gaccgtgctg aag 333

<210> 153
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 153
ggctccggcg gaggcggatc tggtagcgga ggatctggcg gtggc 45

<210> 154
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 154

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ile Ser Tyr
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ala Leu Asn Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

130					135					140						
Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	
145					150					155					160	
Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	
					165					170					175	
Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	
					180					185					190	
Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	
195					200					205						
Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	
210					215					220						
Ser	Gly	Gly	Gly	Glu	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Thr	Leu	Ser	
225					230					235					240	
Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Ile	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Glu	Ile	
					245					250					255	
Ile	His	Ser	Trp	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	
					260					265					270	
Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	
275					280					285						
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Ala	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	
290					295					300						
Ser	Leu	Gln	Pro	Asp	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Asn	Val	Tyr	
305					310					315					320	
Leu	Ala	Ser	Thr	Asn	Gly	Ala	Asn	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	
					325					330					335	

Val Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
340 345 350

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
355 360 365

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
370 375 380

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
385 390 395 400

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
405 410 415

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
420 425 430

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
435 440 445

<210> 155
<211> 1338
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 155
gacatccaga tgaccagag cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgtc gggcctccca gggcatcatc tctacctgg gctggtatca gcagaagccc 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gccagctccc tgcagtccgg cgtgccctcc 180

agattctccg gctctggctc cggcaccgac ttcacctga ccatctccag cctgcagccc 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacgacgccc tgaacacctt cggccagggc 300

accaaagtgg aaatcaagcg gaccgtggcc gtcacctccg tgttcatctt cccacctcc 360

gacgagcagc	tgaagtccgg	caccgcctcc	gtcgtgtgcc	tgtgaacaa	cttctaccct	420
cgcgaggcca	aagtgcagtg	gaaagtggac	aacgccctgc	agagcggcaa	ctcccaggaa	480
tccgtcaccg	agcaggactc	caaggacagc	acctactccc	tgtcctccac	cctgaccctg	540
tccaaggccg	actacgagaa	gcacaaagtg	tacgcctgcg	aagtgaccca	ccagggcctg	600
tccagccccg	tgaccaagtc	cttcaaccgg	ggcgagtgtg	gctccggcgg	aggcggatct	660
ggtggcggag	gatctggcgg	tggcgagatc	gtgatgacct	agtcccctag	caccctgagc	720
gccagcgtgg	gagatcgcgt	gatcatcaca	tgccaggcct	ccgagatcat	ccacagctgg	780
ctggcttggg	atcagcagaa	acctggaaaa	gtccccaagc	tcttgatcta	tctggccagc	840
accttggcct	ctggcgtgcc	cagcagattc	agcggctccg	gcagcggcgc	tgagtttacc	900
ctgacaatca	gctctctgca	gcctgacgat	tttgctacct	actattgtca	gaacgtgtac	960
ctggcctcca	ccaacggcgc	caactttggc	cagggaacaa	agctgacctg	gctgaagcgt	1020
acggtggccg	ctcccagcgt	gttcatcttc	ccccccagcg	acgagcagct	gaagagcggc	1080
accgccagcg	tgggtgtgct	gctgaacaac	ttctaccccc	gggaggccaa	ggtgcagtgg	1140
aagggtggaca	acgccctgca	gagcggcaac	agccaggaga	gcgtcaccga	gcaggacagc	1200
aaggactcca	cctacagcct	gagcagcacc	ctgacctga	gcaaggccga	ctacgagaag	1260
cataaggtgt	acgcctgcga	ggtgacctac	cagggcctgt	ccagccccgt	gaccaagagc	1320
ttcaacaggg	gcgagtgc					1338

<210>	156
<211>	178
<212>	PRT
<213>	智人

<400> 156

Met Asp Arg Ala Ala Arg Cys Ser Gly Ala Ser Ser Leu Pro Leu Leu
1 5 10 15

Leu Ala Leu Ala Leu Gly Leu Val Ile Leu His Cys Val Val Ala Asp
20 25 30

Gly Asn Ser Thr Arg Ser Pro Glu Thr Asn Gly Leu Leu Cys Gly Asp
35 40 45

Pro Glu Glu Asn Cys Ala Ala Thr Thr Thr Gln Ser Lys Arg Lys Gly
50 55 60

His Phe Ser Arg Cys Pro Lys Gln Tyr Lys His Tyr Cys Ile Lys Gly
65 70 75 80

Arg Cys Arg Phe Val Val Ala Glu Gln Thr Pro Ser Cys Val Cys Asp
85 90 95

Glu Gly Tyr Ile Gly Ala Arg Cys Glu Arg Val Asp Leu Phe Tyr Leu
100 105 110

Arg Gly Asp Arg Gly Gln Ile Leu Val Ile Cys Leu Ile Ala Val Met
115 120 125

Val Val Phe Ile Ile Leu Val Ile Gly Val Cys Thr Cys Cys His Pro
130 135 140

Leu Arg Lys Arg Arg Lys Arg Lys Lys Lys Glu Glu Glu Met Glu Thr
145 150 155 160

Leu Gly Lys Asp Ile Thr Pro Ile Asn Glu Asp Ile Glu Glu Thr Asn
165 170 175

Ile Ala

<210> 157
<211> 87
<212> PRT
<213> 智人

<400> 157

Met Asp Gly Asn Ser Thr Arg Ser Pro Glu Thr Asn Gly Leu Leu Cys
1 5 10 15

Gly Asp Pro Glu Glu Asn Cys Ala Ala Thr Thr Thr Gln Ser Lys Arg
20 25 30

Lys Gly His Phe Ser Arg Cys Pro Lys Gln Tyr Lys His Tyr Cys Ile
35 40 45

Lys Gly Arg Cys Arg Phe Val Val Ala Glu Gln Thr Pro Ser Cys Val
50 55 60

Cys Asp Glu Gly Tyr Ile Gly Ala Arg Cys Glu Arg Val Asp Leu Phe
65 70 75 80

Tyr His His His His His His
85

<210> 158
<211> 80
<212> PRT
<213> 智人

<400> 158

Asp Gly Asn Ser Thr Arg Ser Pro Glu Thr Asn Gly Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Asp Pro Glu Glu Asn Cys Ala Ala Thr Thr Thr Gln Ser Lys Arg Lys
20 25 30

Gly His Phe Ser Arg Cys Pro Lys Gln Tyr Lys His Tyr Cys Ile Lys
35 40 45

Gly Arg Cys Arg Phe Val Val Ala Glu Gln Thr Pro Ser Cys Val Cys
50 55 60

Asp Glu Gly Tyr Ile Gly Ala Arg Cys Glu Arg Val Asp Leu Phe Tyr
65 70 75 80

<210> 159
<211> 108

<212> PRT
<213> 智人

<400> 159

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
50 55 60

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 160
<211> 103
<212> PRT
<213> 智人

<400> 160

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
100

<210> 161
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 161

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 162
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 162

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 163
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 163

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser
1 5 10

<210> 164
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 164

Glu Ala Ala Ala Lys
1 5

<210> 165
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 165

Gly Ser Gly Gly Gly
1 5

<210> 166
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 166

Gly Ser Gly Gly
1

<210> 167

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 167

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 168

<211> 222

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 168

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gly Leu Glu Trp Met Gly
35 40 45

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

Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met
65 70 75 80

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

Arg Ser Ser Ser Thr Tyr Gly Ile His Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

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

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

- <210> 169
- <211> 214
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成多肽

- <400> 169

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

Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Ser	Asn	Phe
20					25					30					
Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
35					40					45					
Tyr	Ala	Ala	Ser	Asn	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
50					55					60					
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75					80
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Asp	Asp	Phe	Pro	Met
85					90					95					
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
100					105					110					
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
115					120					125					
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
130					135					140					
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
145					150					155					160
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
165					170					175					
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
180					185					190					
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
195					200					205					
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										
210															

<210> 170
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 170

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Val Pro Trp Met Gly Ile Pro Val Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Ser Ser Thr Tyr Gly Ile His Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

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

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
210 215

<210> 171
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 171

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Phe
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Met
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 172
<211> 221
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 172

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Arg Tyr Tyr Phe Gly Glu Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

<210> 173
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 173

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Leu Tyr Asp Tyr Leu Ser Ser Thr
85 90 95

Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Ala
210

<210> 174
<211> 222
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 174

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Arg Tyr Tyr Phe Gly Glu Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

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

<210> 175
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 175

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr Phe Asp Tyr Lys Leu Ser Leu
85 90 95

Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 176
<211> 222

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 176

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Arg Tyr Tyr Phe Gly Glu Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

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

<210> 177
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 177

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

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

Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 178
<211> 222
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 178

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Arg Tyr Tyr Phe Gly Glu Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

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

<210> 179
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 179

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Phe Asp Tyr Lys Ser Asp Val
85 90 95

Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 180
<211> 222
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 180

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Arg Tyr Tyr Phe Gly Glu Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

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

<210> 181
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 181

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

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

Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

- <210> 182
- <211> 222
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 182

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Arg Tyr Tyr Phe Gly Glu Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

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

<210> 183
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 183

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

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

Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 184
<211> 222
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 184

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Arg Tyr Tyr Phe Gly Glu Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

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

<210> 185
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 185

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Phe Tyr Tyr Leu Ser Ser Leu
85 90 95

Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 186
<211> 222
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 186

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Arg Tyr Tyr Phe Gly Glu Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

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

<210> 187
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 187

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

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

Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 188
<211> 207
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 188

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1			5					10					15		
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
		20						25					30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
	35						40					45			
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser
65				70						75				80	
Val	Lys	Gly	Gln	Arg	Tyr	Tyr	Phe	Gly	Glu	Phe	Asp	Leu	Trp	Gly	Gln
			85						90					95	
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
		100						105					110		
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
		115					120					125			
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
	130					135					140				
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
145				150						155				160	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
			165					170					175		
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
		180						185					190		
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	
		195					200					205			

<210> 189
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 189

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Phe Asp Tyr Leu His Ser Ile
85 90 95

Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 190
<211> 222
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 190

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Val Tyr Asp Gly Ser Asn Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Leu Asp Phe Gly Tyr Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

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

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

<210> 191
<211> 211
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 191

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

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

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Met Gln Ser Val Val
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
180 185 190

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

Thr Glu Cys
210

<210> 192
<211> 222
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 192

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Leu Gly His Val Gly Tyr Thr Thr Tyr Thr Asp Ser Val Lys
50 55 60

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

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Leu Asp Phe Gly Tyr Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

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

<210> 193
<211> 212
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 193

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

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

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Met Gln Ser Val Val
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
180 185 190

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

Thr Glu Cys Ser
210

<210> 194
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 194

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Asp Ser Trp Gly Ser Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Ser Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

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

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

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

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215

<210> 195
<211> 213

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 195

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ile Ser Tyr
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ala Leu Asn Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

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

Asn Arg Gly Glu Ala
210

<210> 196
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 196

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Asp Ser Trp Gly Ser Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Ser Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

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

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

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

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215

<210> 197
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 197

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ile Ser Tyr
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asp Trp Asp Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

- <210> 198
- <211> 219
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 198

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Asp Ser Trp Gly Ser Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Ser Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

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

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

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

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215

<210> 199
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 199

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ile Ser Tyr
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asp Phe Asp Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 200
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 200

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Asp Ser Gly Gly Thr Phe Ile Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Ser Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

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

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

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

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215

<210> 201
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 201

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ile Ser Tyr
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ala Leu Asn Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 202
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 202

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Asp Ser Thr Gly Thr Phe Ile His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Ser Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

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

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

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

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215

<210> 203
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 203

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ile Ser Tyr
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ala Leu Asn Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 204
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 204

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser His Ile Asp Ser Asn Ser Asp Trp Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Ser Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

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

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

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

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215

<210> 205
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 205

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ile Ser Tyr
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ala Leu Asn Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 206
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 206

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser His Ile Asn Tyr Glu Gly Thr Trp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Ser Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

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

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

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

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215

<210> 207
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 207

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10						15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ile	Ser	Tyr
			20					25				30			
Leu	Gly	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75					80
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Asp	Ala	Leu	Asn	Thr
				85					90					95	
Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro
			100					105					110		
Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr
		115					120					125			
Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys
		130				135					140				
Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu
145					150					155					160
Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser
			165						170					175	
Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala
			180					185					190		
Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe
		195					200					205			

Asn Arg Gly Glu Cys
210

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種特異性結合至 β 細胞素（BTC）之分離的抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段之解離常數（KD）為5 pM或更小。

【請求項2】 如請求項1所述之抗體或其抗原結合片段，其

- a. 結合至SEQ ID NO: 157的至少一個殘基，該殘基選自由以下組成之群組：G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、R51、R53、F54、V56、A57、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76；
- b. 結合至SEQ ID NO: 157的R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、Q59、T60、P61、和R73；
- c. 結合至SEQ ID NO: 157的P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、E58、Q59、T60、P61、A72、R73、E75、和R76；
- d. 結合至SEQ ID NO: 157的G34、H35、F36、S37、R38、C39、P40、K41、Q42、R51、R53、F54、和V56；或
- e. SEQ ID NO: 157的S37、R38、C39、P40、K41、Q42、Y43、H45、Y46、F54、A57、Q59、T60、P61、A72、R73、和E75。

【請求項3】 如請求項1或2所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區互補決定區1（HCDR1）、重鏈可變區互補決定區2（HCDR2）、和重鏈可變區互補決定區3（HCDR3）、以及輕鏈可變區互補決定區1（LCDR1）、輕鏈可變區互補決定區2（LCDR2）、和輕鏈可變區互補決定區3（LCDR3），其中該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3如以下所列出：

a. 分別地，SEQ ID NO: 1、2、3、14、15、和16；分別地，SEQ ID NO: 4、2、3、14、15、和16；分別地，SEQ ID NO: 5、6、3、17、18、和19；分別地，SEQ ID NO: 7、8、9、20、18、和16；

b. 分別地，SEQ ID NO: 25、26、27、38、39、和40；分別地，SEQ ID NO: 28、26、27、38、39、和40；分別地，SEQ ID NO: 29、30、27、41、42、和43；或分別地，SEQ ID NO: 31、32、33、44、42、和40；

c. 分別地，SEQ ID NO: 25、49、50、58、59、和60；分別地，SEQ ID NO: 28、49、50、58、59、和60；分別地，SEQ ID NO: 29、51、50、61、62、和63；或分別地，SEQ ID NO: 31、52、53、64、62、和60；或

d. 分別地，SEQ ID NO: 69、70、71、82、83、和84；分別地，SEQ ID NO: 72、70、71、82、83、和84；分別地，SEQ ID NO: 73、74、71、85、18、和86；或分別地，SEQ ID NO: 75、76、77、87、18、和84。

【請求項4】 如請求項1或2所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL），該重鏈可變區和輕鏈可變區包含與以下具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的胺基酸序列：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 10和21；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 34和45；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 54和65；或
- d. 分別地，SEQ ID NO: 78和88。

【請求項5】 如請求項1或2所述之抗體或其抗原結合片段，該抗體或其抗原結合片段包含具有如下所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 12和23；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 36和47；

- c. 分別地，SEQ ID NO: 56和67；或
- d. 分別地，SEQ ID NO: 80和90。

【請求項6】一種多核苷酸，該多核苷酸包含編碼如請求項1至5中任一項所述之抗體或其抗原結合片段之核苷酸序列。

【請求項7】一種表現盒或一種載體，該表現盒或該載體包含如請求項6所述之多核苷酸。

【請求項8】一種宿主細胞，該宿主細胞包含如請求項6所述之多核苷酸或如請求項7所述之表現盒或載體。

【請求項9】一種藥物組成物，該藥物組成物包含有效量的如請求項1至8中任一項所述之抗體或其抗原結合片段。

【請求項10】如請求項1至7中任一項所述之抗體或其抗原結合片段或如請求項9所述之藥物組成物在製備藥物中之用途，該藥物用於治療有需要的眼科障礙受試者，其中該眼科障礙選自由以下組成之群組：糖尿病性黃斑水腫、年齡相關性黃斑變性、新生血管性青光眼、糖尿病性視網膜病變、黃斑水腫、病理性近視、視網膜靜脈阻塞、早產兒視網膜病變、斑痣性錯構瘤病相關的血管異常增殖、中心性漿液性脈絡膜視網膜病變、和急性多病灶魚鱗板狀色素上皮病。

【請求項11】如請求項10所述之用途，其中該藥物組成物進一步包含抗血管內皮生長因子（VEGF）拮抗劑或者其中該方法進一步包含向該受試者投與抗VEGF拮抗劑，其中該抗VEGF拮抗劑選自由以下組成之群組：蘭尼單抗、貝伐珠單抗、阿柏西普、布洛賽珠單抗、和哌加他尼，或者其中該抗VEGF拮抗劑包含分別如SEQ ID NO: 103和114所列出的重鏈和輕鏈。

【請求項12】一種多特異性結合分子，該多特異性結合分子包含1) 抗BTC結合部分和2) 抗VEGF結合部分。

【請求項13】 如請求項12所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分係呈選自由分離的抗體、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、和scFv組成之群組的形式的抗VEGF抗體或其抗原結合片段。

【請求項14】 如請求項13所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分係抗BTC Fab並且該抗VEGF結合部分係抗VEGF Fab，其中該抗BTC Fab包含重鏈（HA）和輕鏈（LA），並且其中該抗VEGF Fab包含重鏈（HB）和輕鏈（LB）。

【請求項15】 如請求項14所述之多特異性結合分子，其中該HA和HB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-HA-連接子1-HB-C，並且其中該LA和該LB以從N末端至C末端的如下形式連接：N-LA-連接子2-LB-C。

【請求項16】 如請求項12至15中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含如以下所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3：

a. 分別地，SEQ ID NO: 1、2、3、14、15、和16；分別地，SEQ ID NO: 4、2、3、14、15、和16；分別地，SEQ ID NO: 5、6、3、17、18、和19；分別地，SEQ ID NO: 7、8、9、20、18、和16；

b. 分別地，SEQ ID NO: 25、26、27、38、39、和40；分別地，SEQ ID NO: 28、26、27、38、39、和40；分別地，SEQ ID NO: 29、30、27、41、42、和43；或分別地，SEQ ID NO: 31、32、33、44、42、和40；

c. 分別地，SEQ ID NO: 25、49、50、58、59、和60；分別地，SEQ ID NO: 28、49、50、58、59、和60；分別地，SEQ ID NO: 29、51、50、61、62、和63；或分別地，SEQ ID NO: 31、52、53、64、62、和60；或

d. 分別地，SEQ ID NO: 69、70、71、82、83、和84；分別地，SEQ ID NO: 72、70、71、82、83、和84；分別地，SEQ ID NO: 73、74、71、85、18、和86；或分別地，SEQ ID NO: 75、76、77、87、18、和84。

【請求項17】如請求項12至15中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含VH和VL，該VH和該VL包含與以下具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的胺基酸序列：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 10和21；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 34和45；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 54和65；或
- d. 分別地，SEQ ID NO: 78和88。

【請求項18】如請求項12至15中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含具有如下所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 12和23；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 36和47；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 56和67；或
- d. 分別地，SEQ ID NO: 80和90。

【請求項19】如請求項12至15中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含如以下所列出的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、和LCDR3：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 92、93、94、105、106、和107；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 95、93、94、105、106、和107；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 96、97、94、108、109、和110；或
- d. 分別地，SEQ ID NO: 98、99、100、111、109、和107。

【請求項20】如請求項12至15中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含VH和VL，該VH和VL分別包含與SEQ ID NO: 101和112具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的胺基酸序列。

【請求項21】如請求項12至15中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含由如下所列出的核酸序列編碼之VH和VL：

- a. 分別地，SEQ ID NO: 102和113；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 117和123；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 128和133；
- d. 分別地，SEQ ID NO: 138和143；或
- e. 分別地，SEQ ID NO: 148和152。

【請求項22】如請求項12至15中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗VEGF結合部分包含分別具有如SEQ ID NO: 103和114所列出的胺基酸序列之重鏈和輕鏈，或者其中該重鏈和輕鏈分別由與SEQ ID NO: 104和115具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的核酸序列編碼。

【請求項23】如請求項12至15中任一項所述之多特異性結合分子，其中該抗BTC結合部分包含結合至BTC的可變重鏈結構域（VHA）和可變輕鏈結構域（VLA），並且其中該抗VEGF結合部分包含結合至VEGF的可變重鏈結構域（VHB）和可變輕鏈結構域（VLB），其中該多特異性結合分子處於如下從N末端到C末端的形式：N-VHA-CH1A-連接子-VHB-CH1B-C和N-VLA-CKA-連接子-VLB-CKB-C，該形式包含含有VHA、CH1A、連接子、VHB、和CH1B的重鏈並且該形式包含含有VLA、CKA、連接子、VLB、和CKB的輕鏈，其中該重鏈和該輕鏈如下所列出

- a. 分別地，SEQ ID NO: 120和125；
- b. 分別地，SEQ ID NO: 130和135；
- c. 分別地，SEQ ID NO: 140和145；或
- d. 分別地，SEQ ID NO: 149和154。

【請求項24】一種多核苷酸，該多核苷酸包含編碼如請求項12至23中任一項所述之多特異性結合分子之核苷酸序列。

【請求項25】一種表現盒或一種載體，該表現盒或該載體包含如請求項24所述之多核苷酸。

【請求項26】一種藥物組成物，該藥物組成物包含有效量的如請求項12至23中任一項所述之多特異性結合分子。

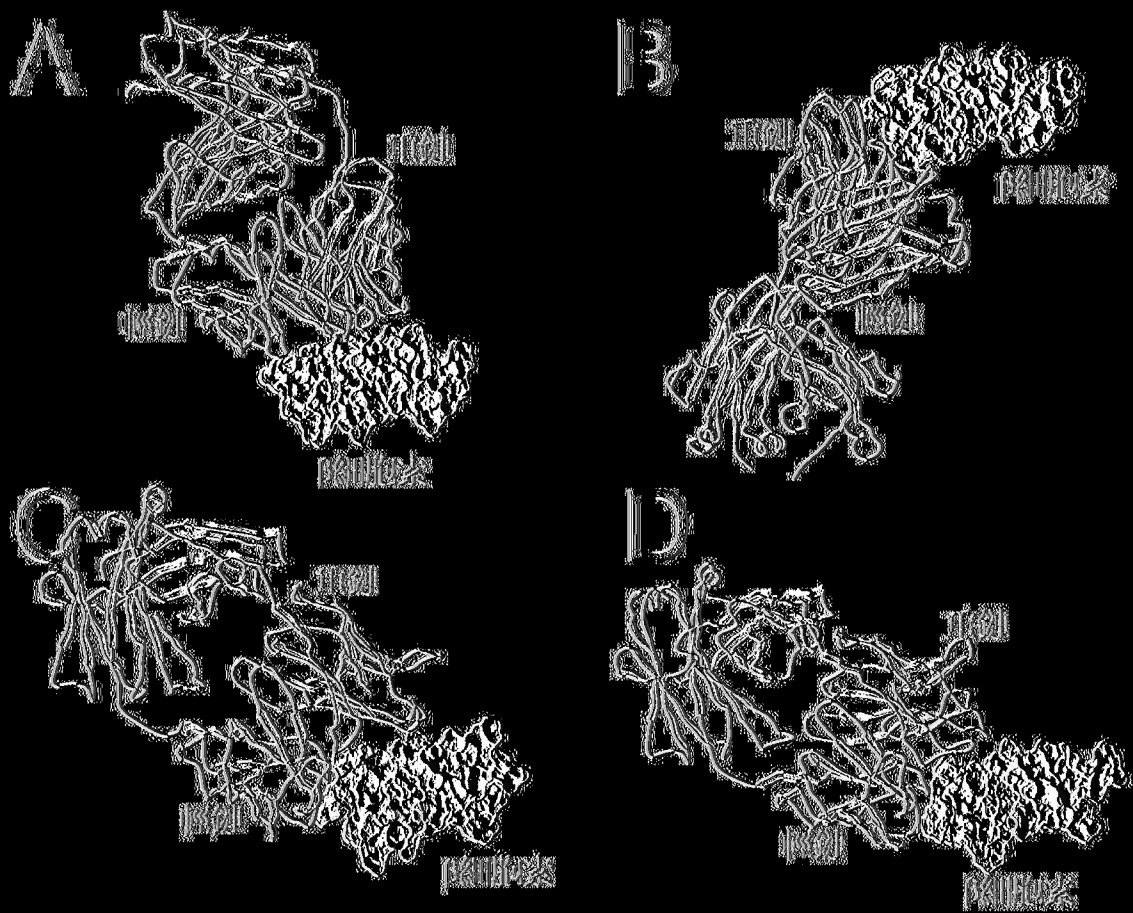
【請求項27】如請求項12至23中任一項所述之多特異性結合分子或如請求項26所述之藥物組成物在製備藥物中之用途，該藥物用於治療有需要的受試者之眼科障礙，其中該眼科障礙選自由以下組成之群組：糖尿病性黃斑水腫、年齡相關性黃斑變性、新生血管性青光眼、糖尿病性視網膜病變、黃斑水腫、病理性近視、視網膜靜脈阻塞、早產兒視網膜病變、和斑痣性錯構瘤病相關的血管異常增殖。

【請求項28】一種套組，該套組包含如請求項12至23中任一項所述之多特異性結合分子或如請求項26所述之藥物組成物。

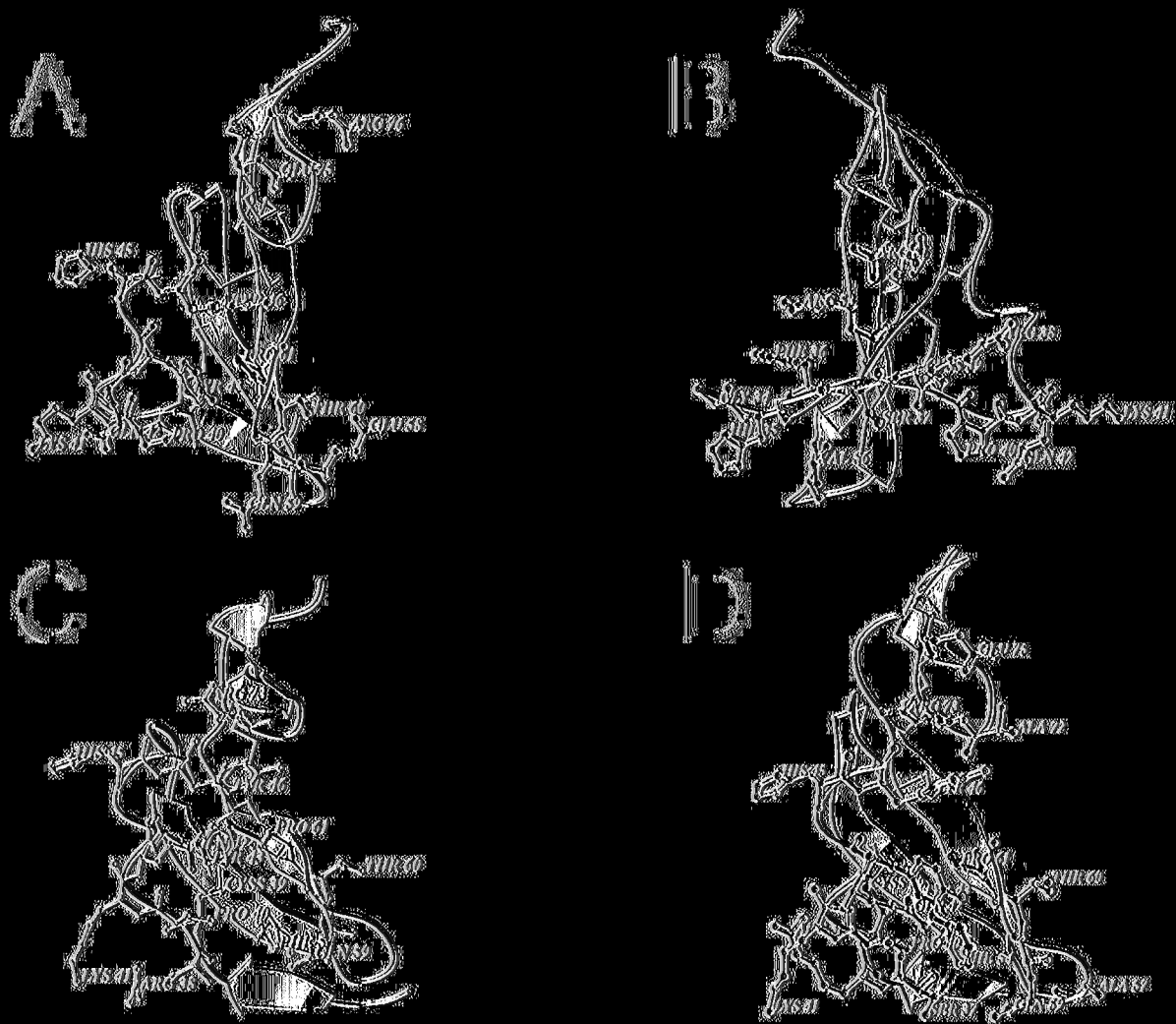
【請求項29】如請求項12至23中任一項所述之多特異性結合分子在製備藥物中之用途，該藥物用於預防或治療黃斑水腫、DME、AMD、新生血管性AMD、或RVO之方法，其中以約0.25 mg/眼、0.75 mg/眼、2.5 mg/眼、或7.5 mg/眼的劑量向該受試者投與該多特異性結合分子。

【請求項30】如請求項29所述之用途，其中該劑量係0.25 mg/眼、0.3 mg/眼、0.35 mg/眼、0.4 mg/眼、0.45 mg/眼、0.5 mg/眼、0.55 mg/眼、0.6 mg/眼、0.65 mg/眼、0.7 mg/眼、0.75 mg/眼、0.8 mg/眼、0.85 mg/眼、0.9 mg/眼、0.95 mg/眼、1.0 mg/眼、1.1 mg/眼、1.2 mg/眼、1.3 mg/眼、1.4 mg/眼、1.5 mg/眼、1.6 mg/眼、1.7 mg/眼、1.8 mg/眼、1.9 mg/眼、2.0 mg/眼、2.1 mg/眼、2.2 mg/眼、2.3 mg/眼、2.4

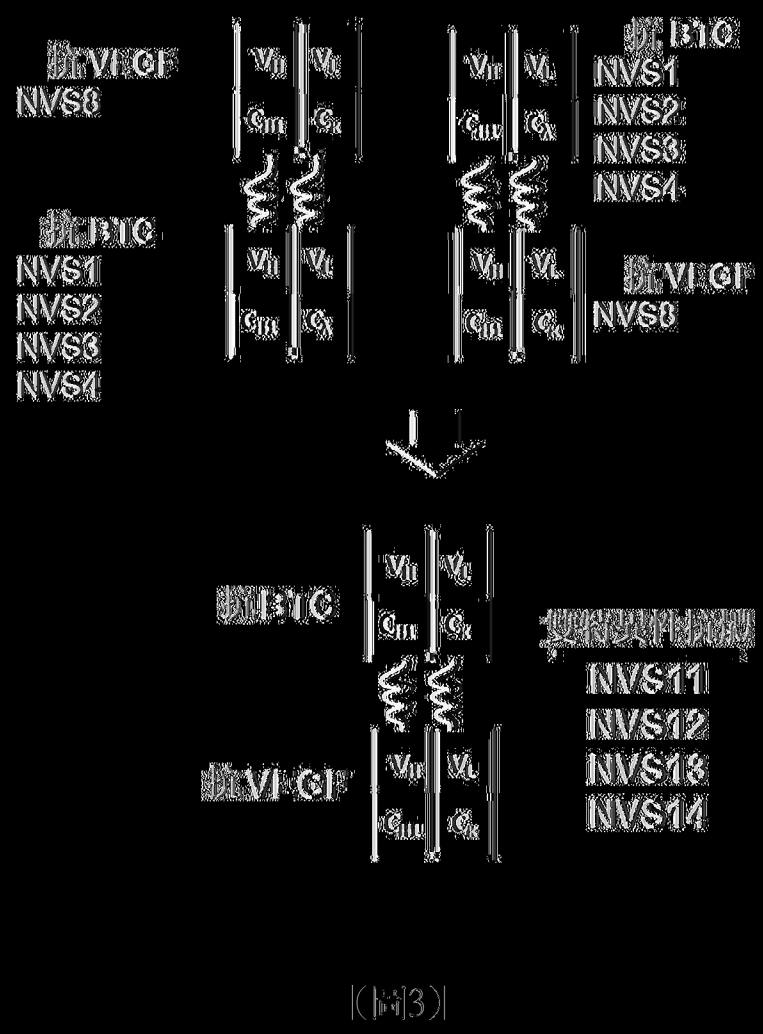
mg/眼、2.5 mg/眼、2.6 mg/眼、2.7 mg/眼、2.8 mg/眼、2.9 mg/眼、3.0 mg/眼、3.1 mg/眼、3.2 mg/眼、3.3 mg/眼、3.4 mg/眼、3.5 mg/眼、3.6 mg/眼、3.7 mg/眼、3.8 mg/眼、3.9 mg/眼、4.0 mg/眼、4.1 mg/眼、4.2 mg/眼、4.3 mg/眼、4.4 mg/眼、4.5 mg/眼、4.6 mg/眼、4.7 mg/眼、4.8 mg/眼、4.9 mg/眼、5.0 mg/眼、5.1 mg/眼、5.2 mg/眼、5.3 mg/眼、5.4 mg/眼、5.5 mg/眼、5.6 mg/眼、5.7 mg/眼、5.8 mg/眼、5.9 mg/眼、6.0 mg/眼、6.1 mg/眼、6.2 mg/眼、6.3 mg/眼、6.4 mg/眼、6.5 mg/眼、6.6 mg/眼、6.7 mg/眼、6.8 mg/眼、6.9 mg/眼、7.0 mg/眼、7.1 mg/眼、7.2 mg/眼、7.3 mg/眼、7.4 mg/眼、或7.5 mg/眼。



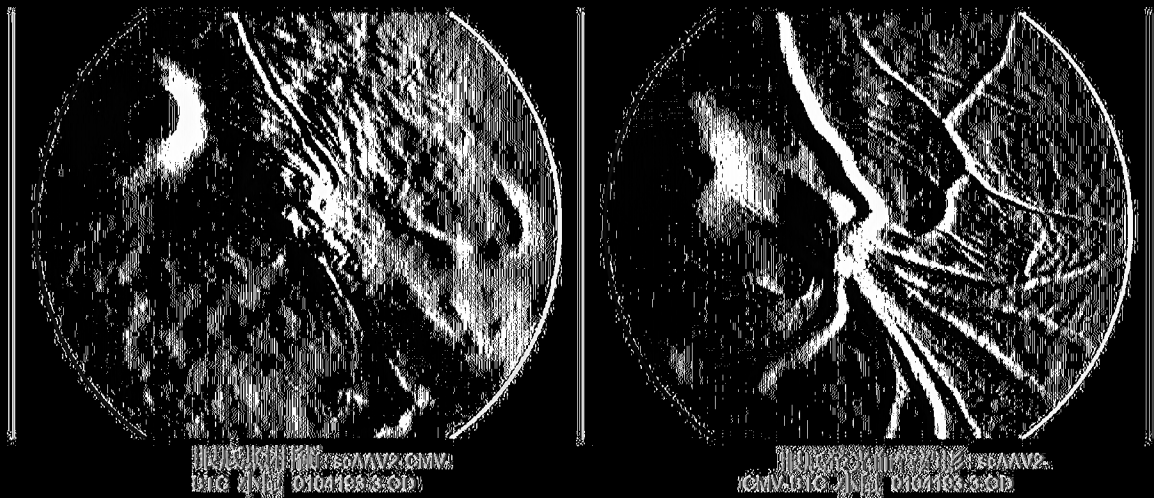
| (圖1) |



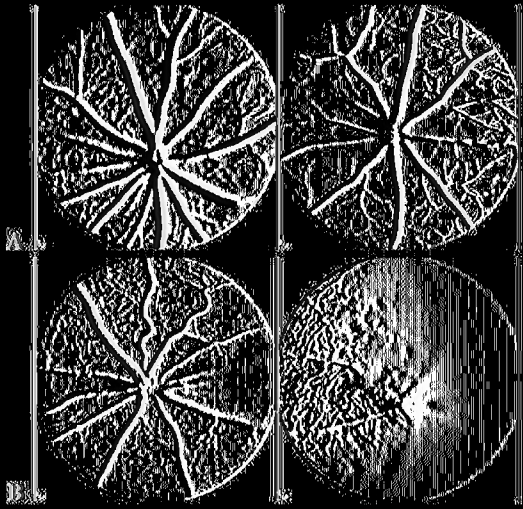
(圖2)



[(b-i)3]

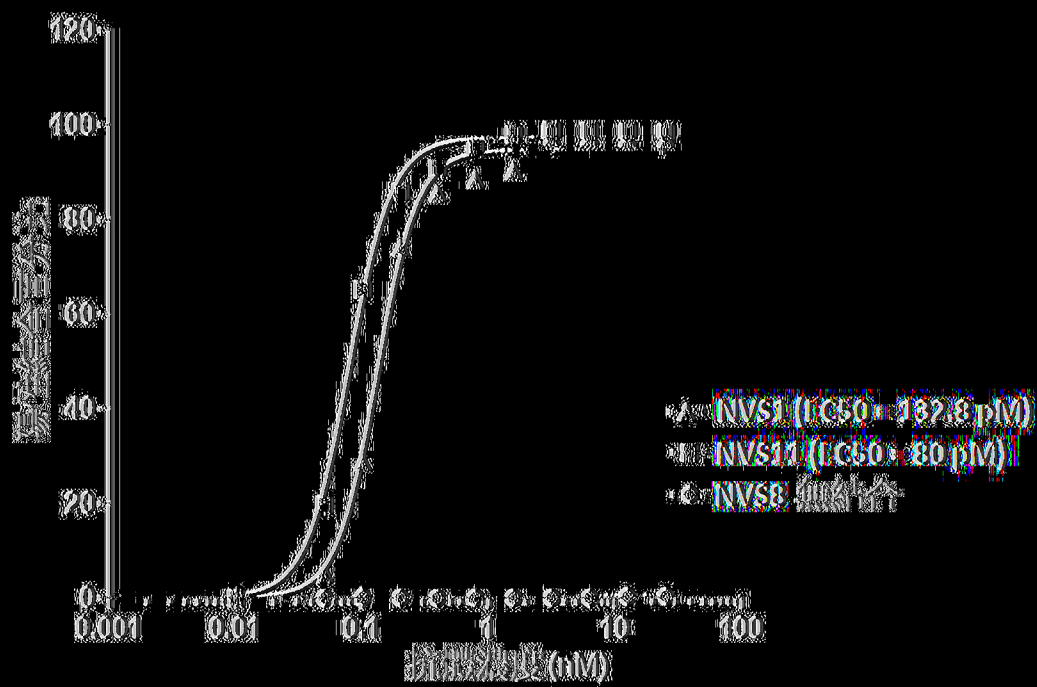


(b4)

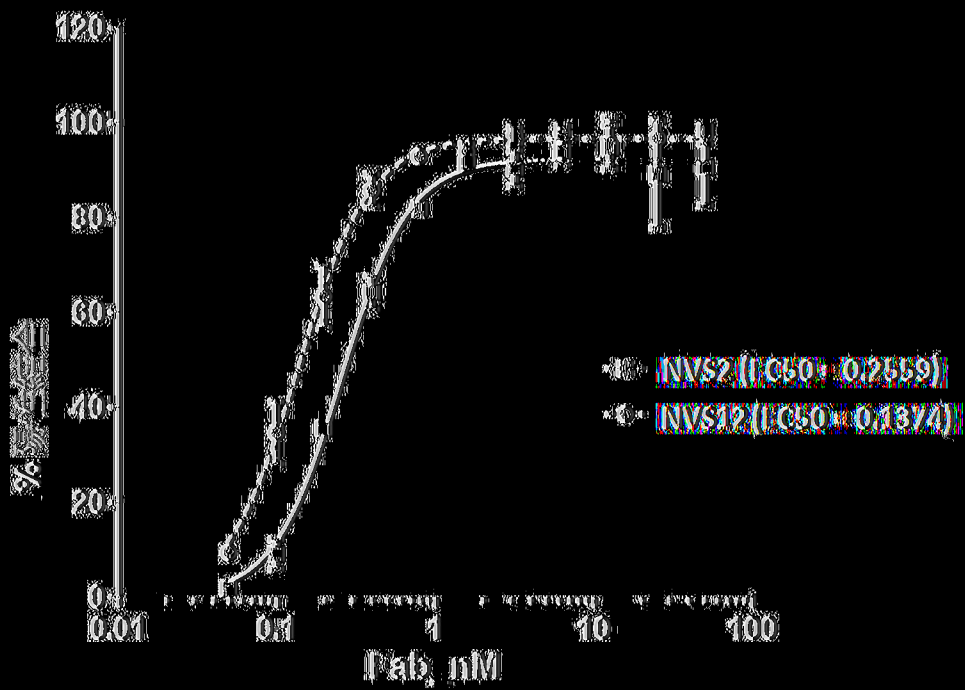


〔圖5〕

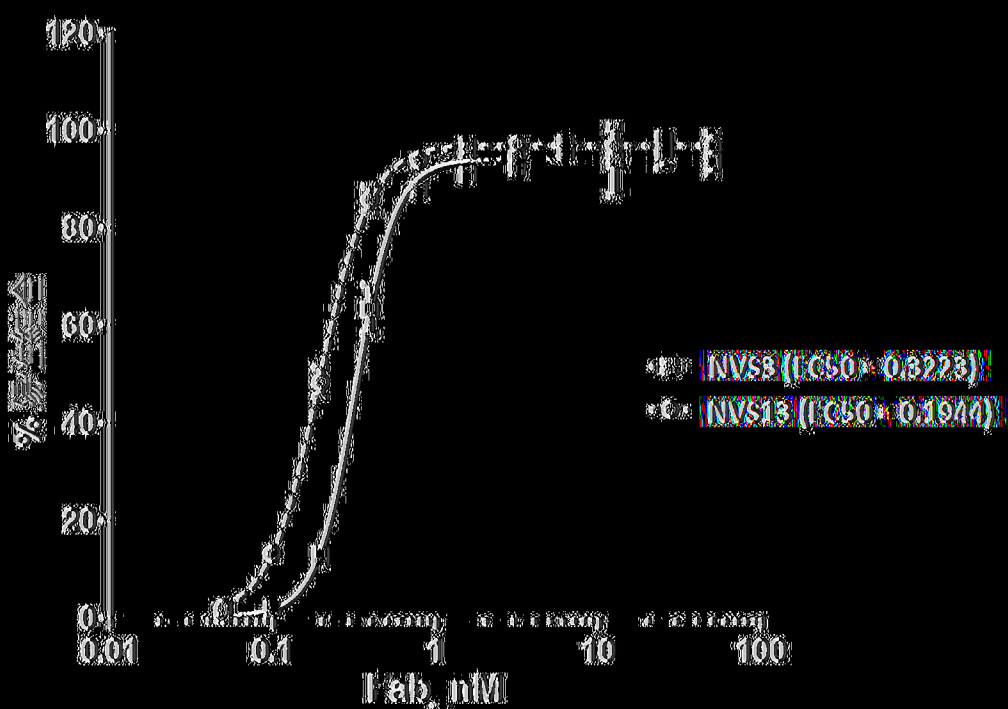
A.



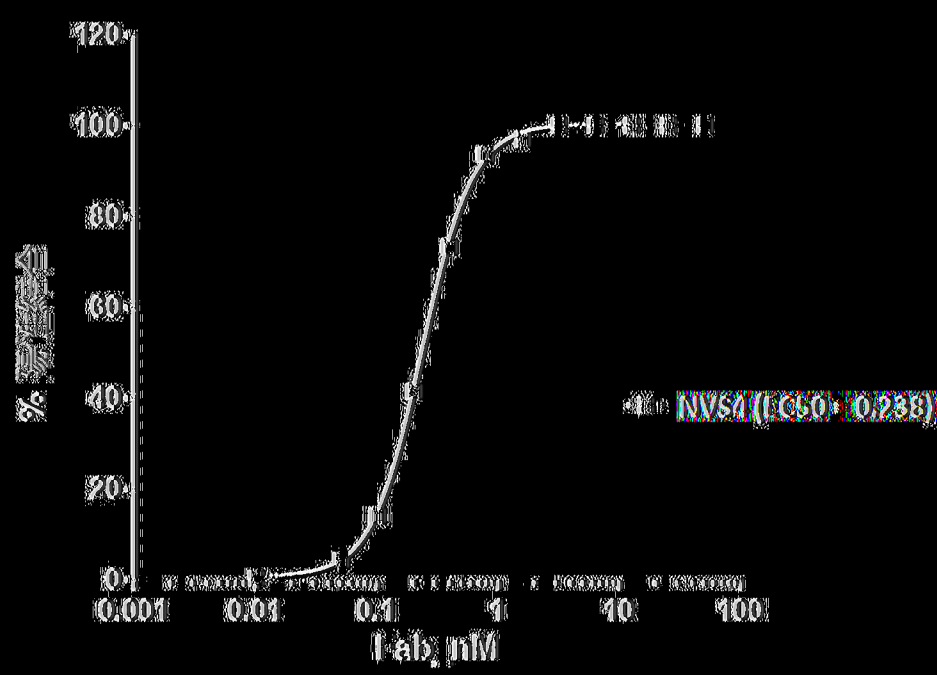
B.



13.

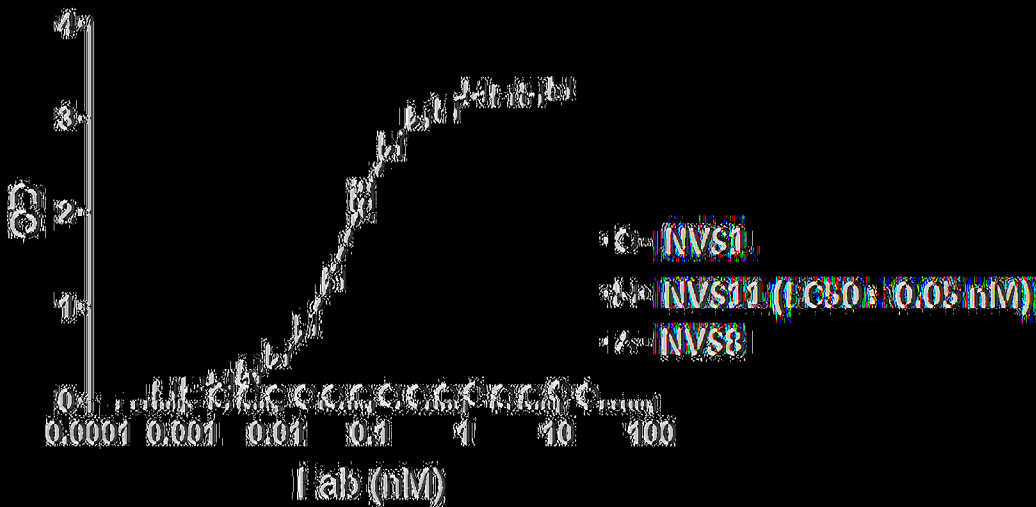


14.



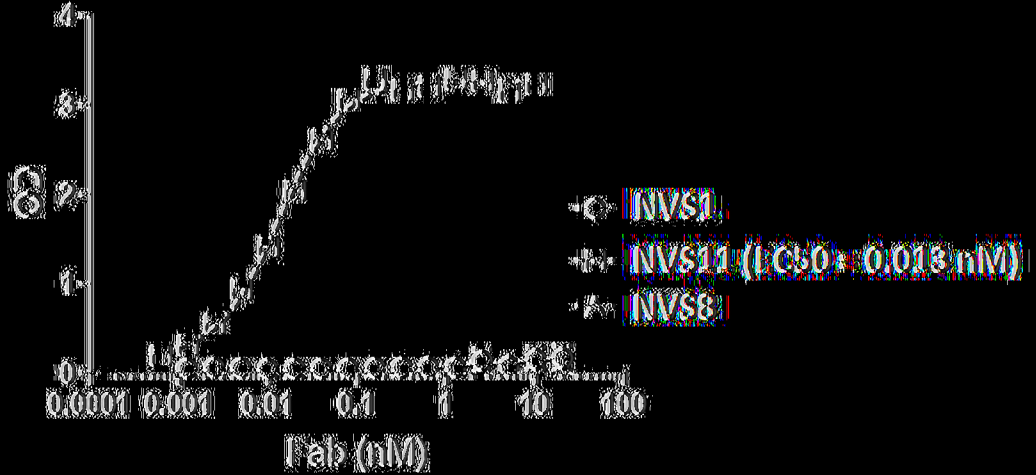
1

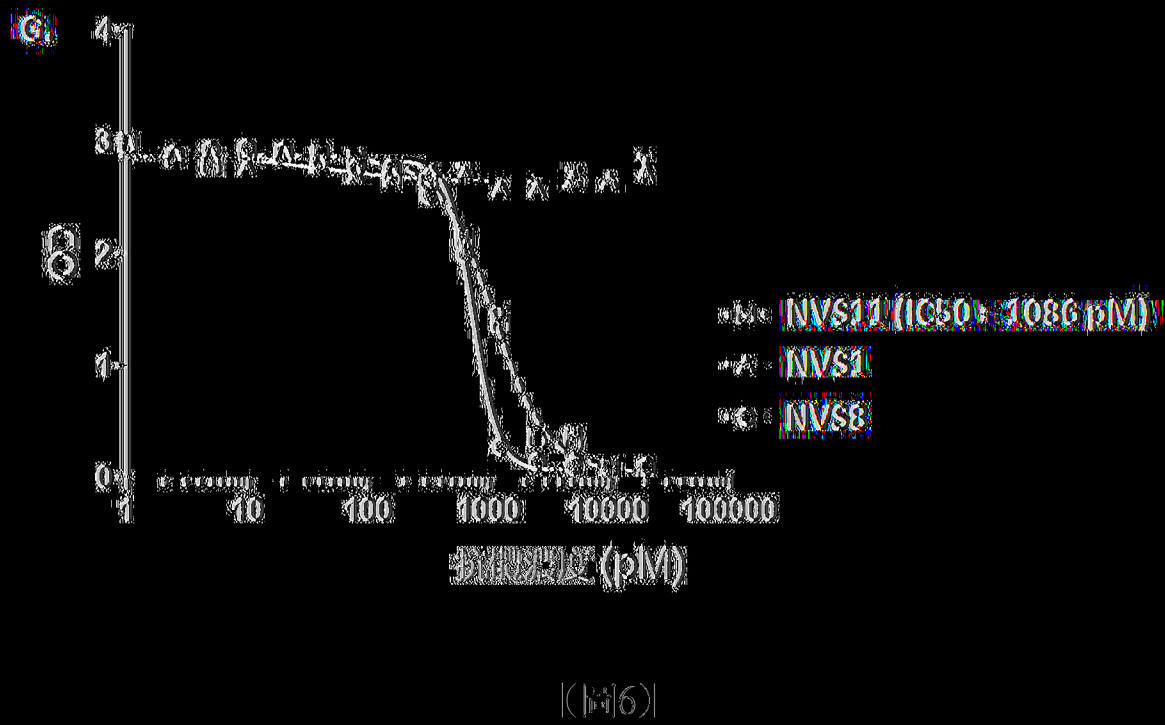
BTC 包被的及 VICI 生物素檢測



1

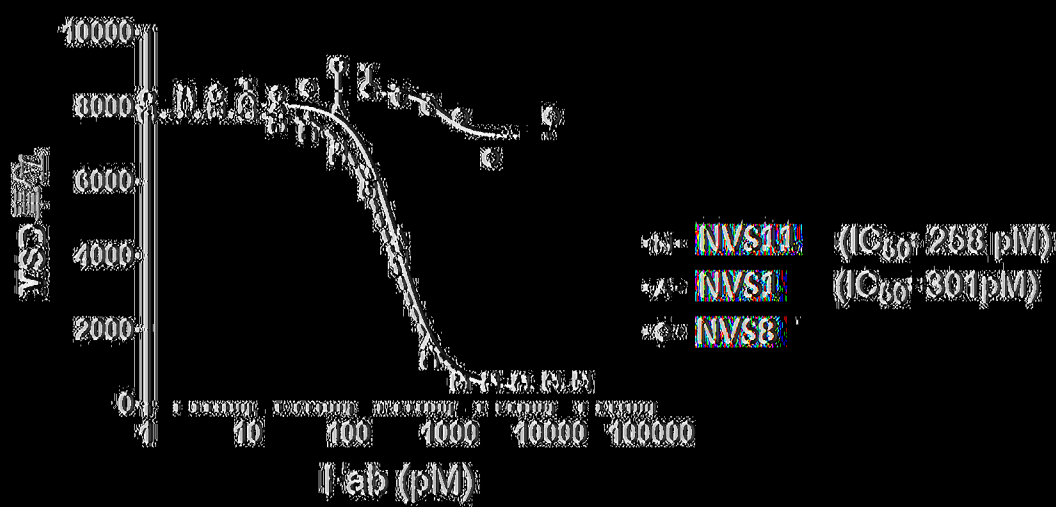
VICI 包被的及 BTC 生物素檢測



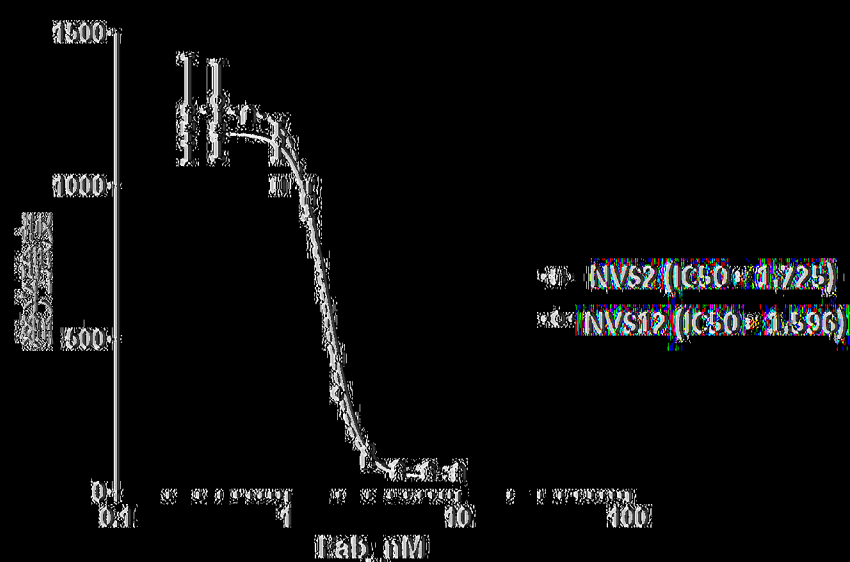


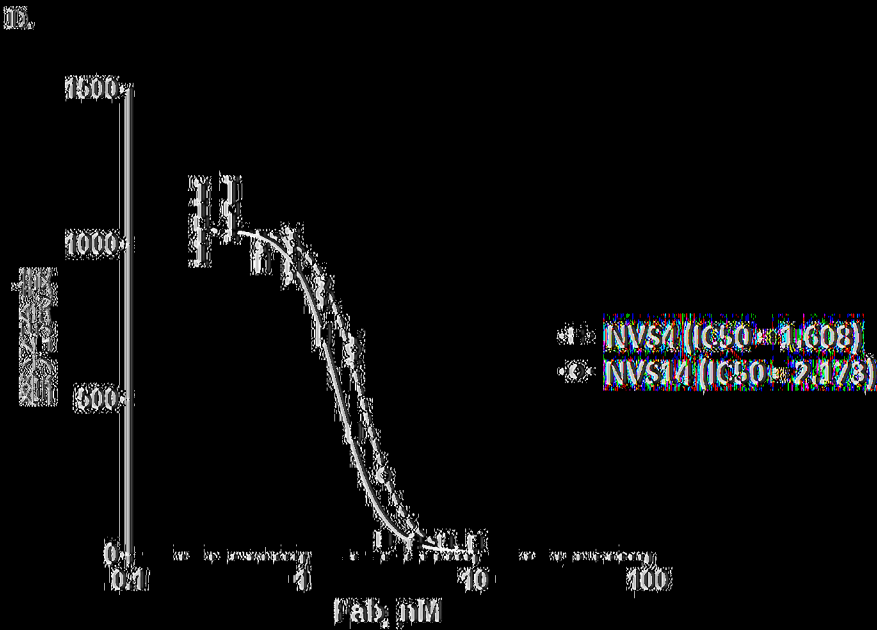
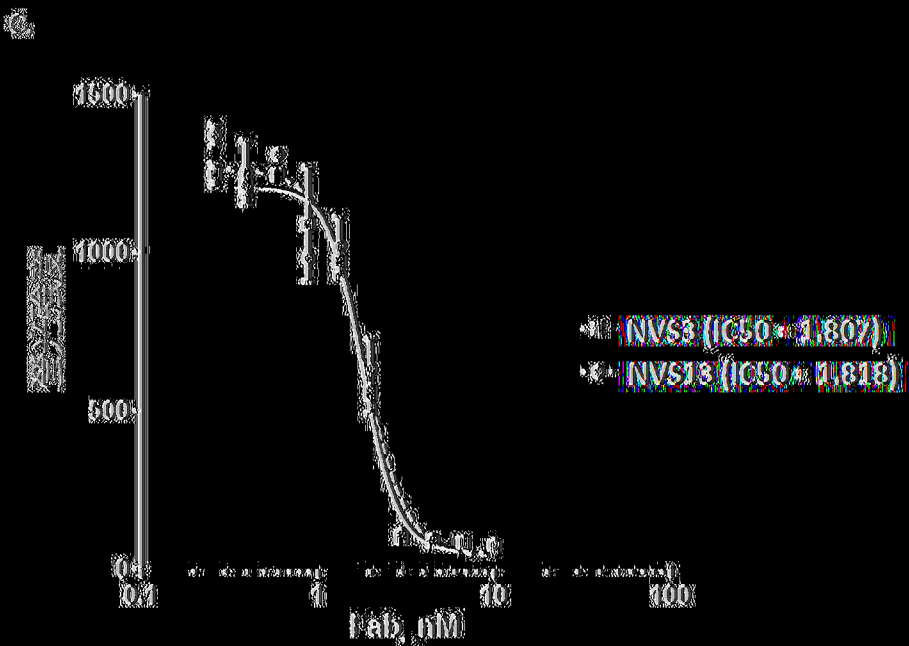
[(16)]

A.



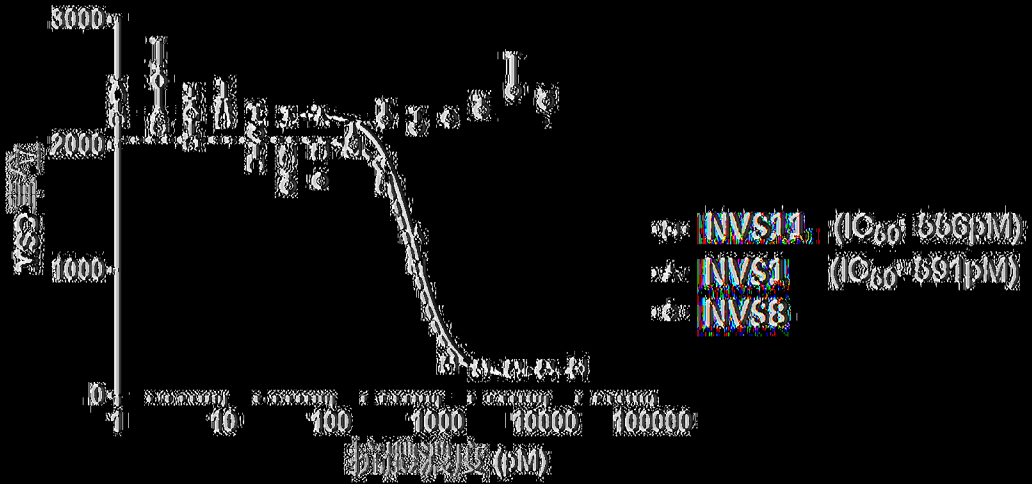
B.



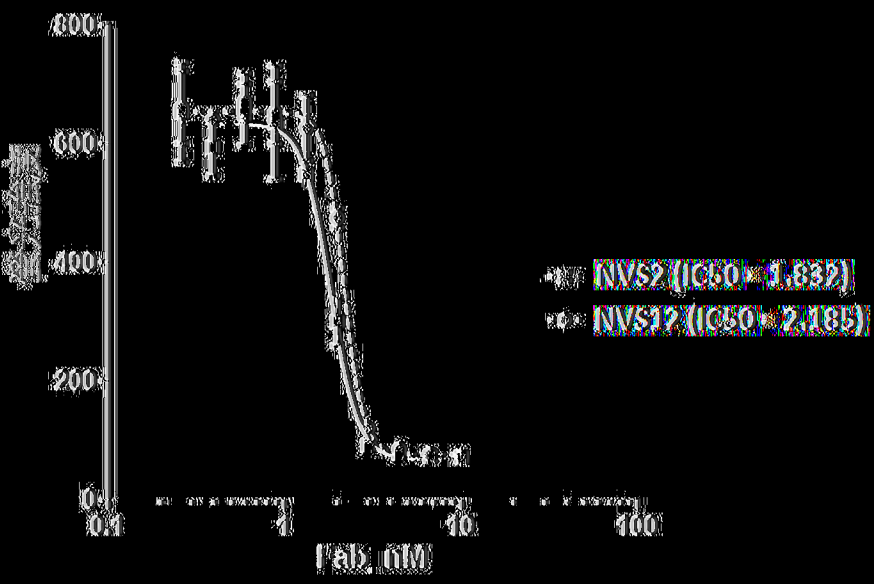


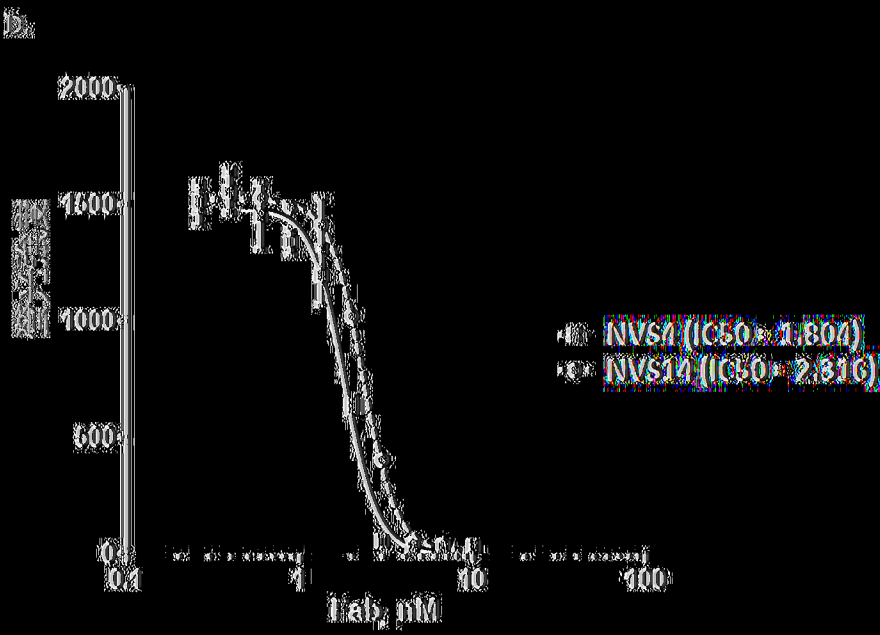
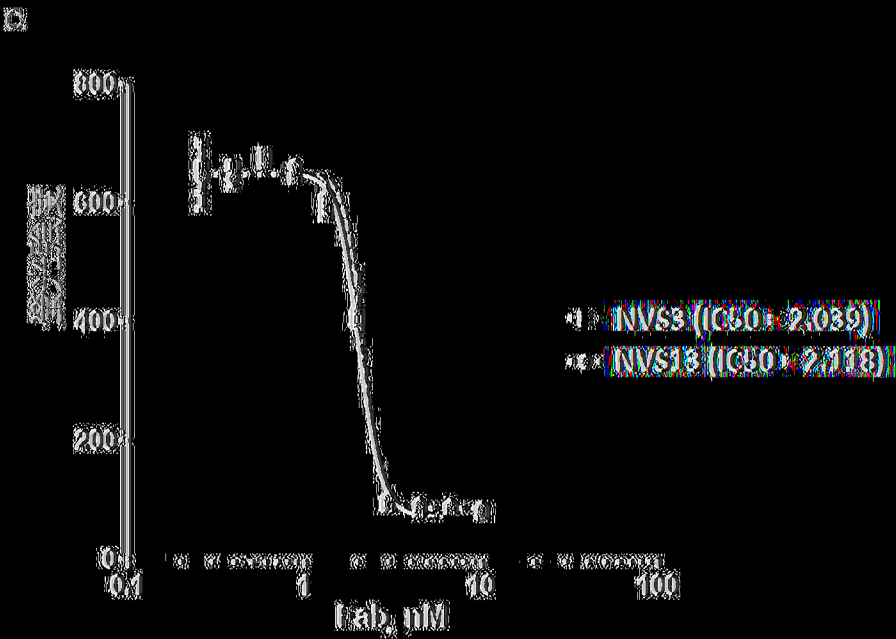
$$\left| \frac{[b-a]}{[b-a]} \right|$$

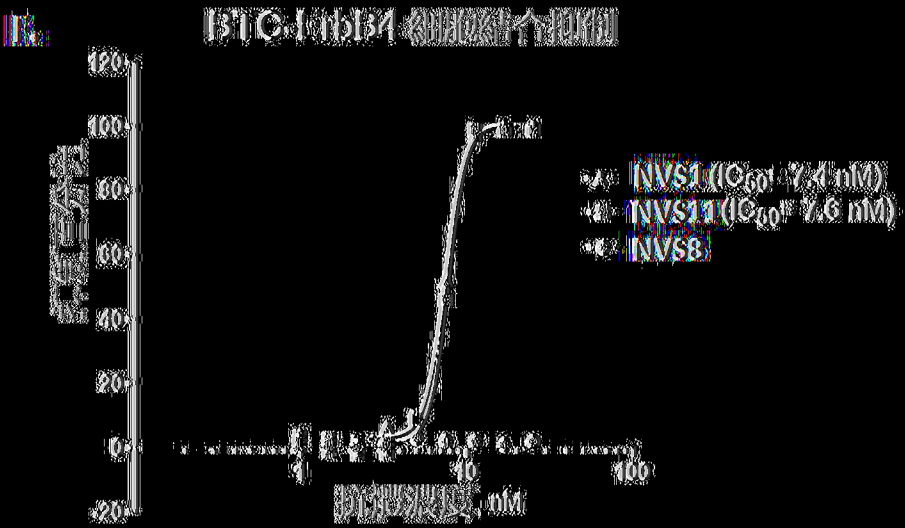
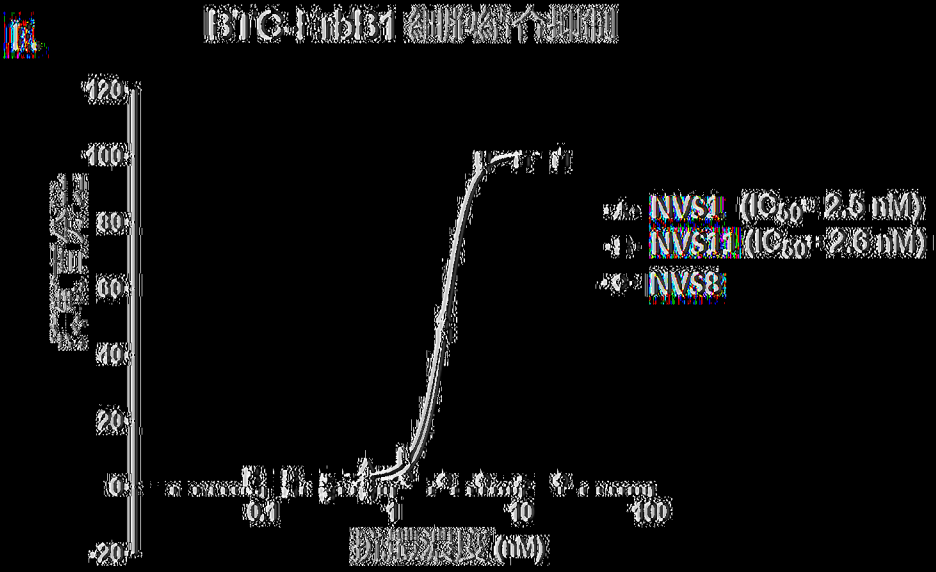
1A

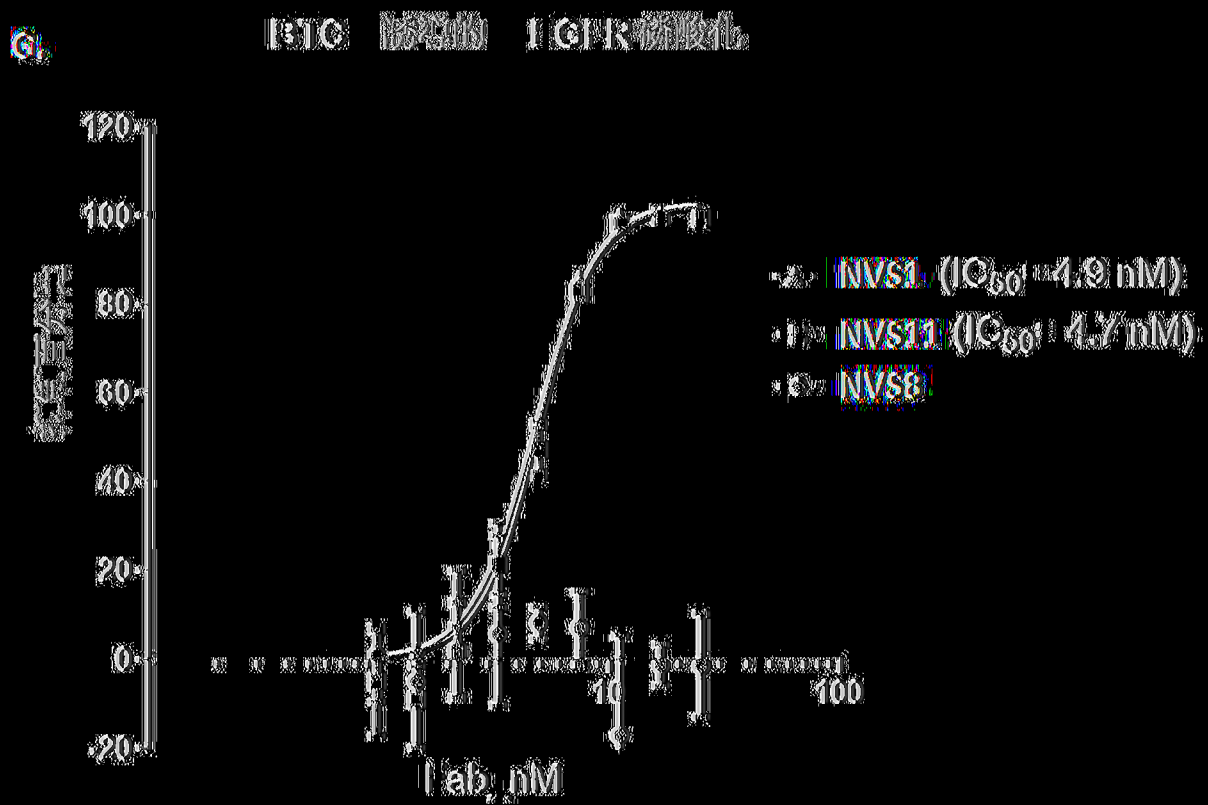


1B

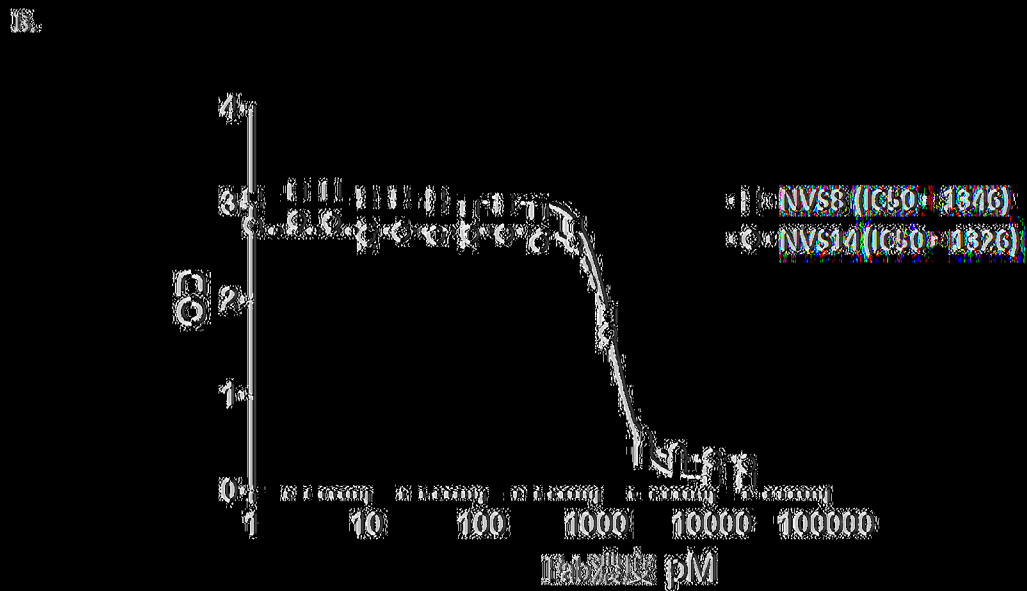
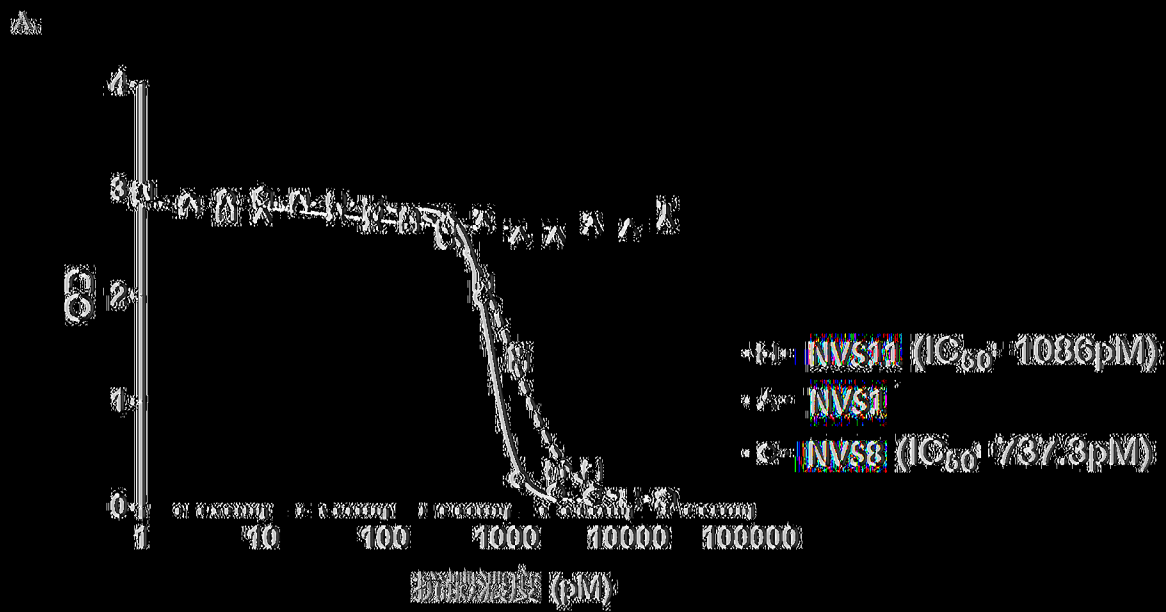




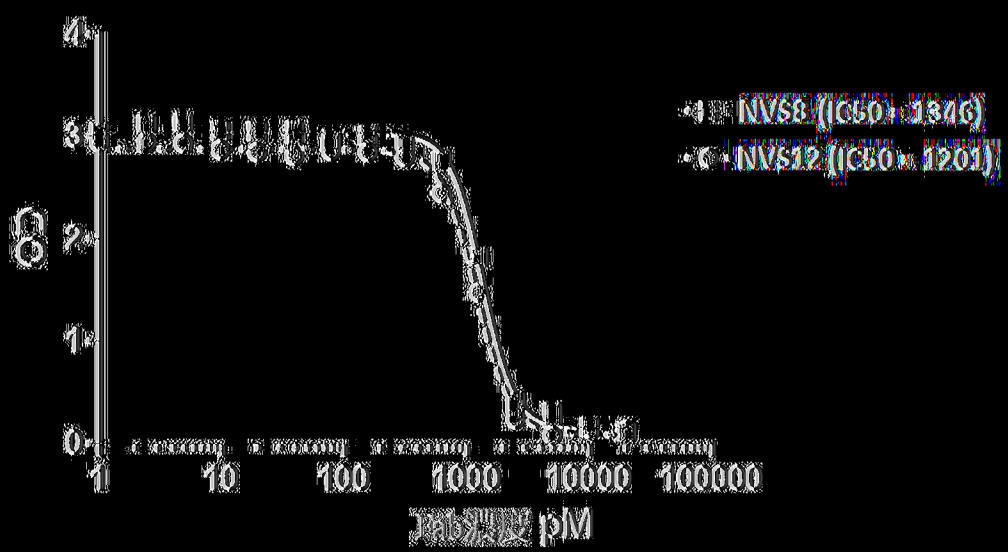




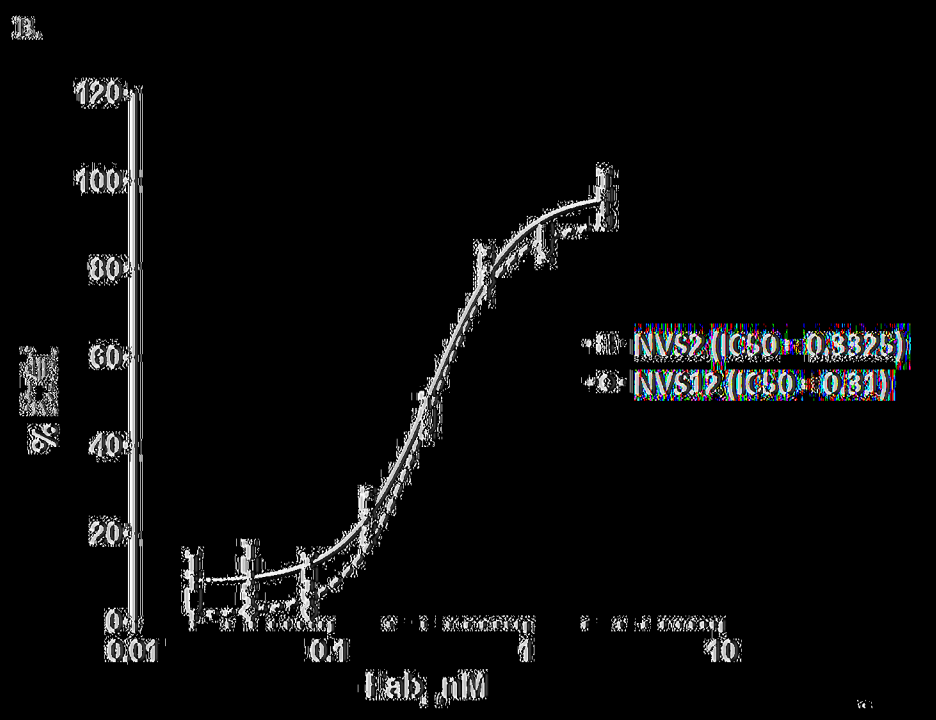
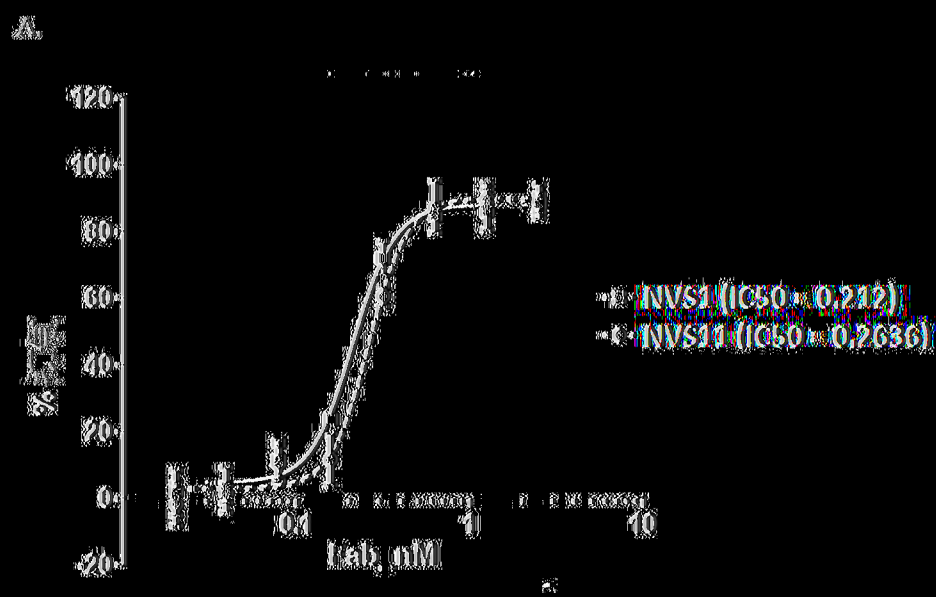
[(图8)]



4.



(圖9)



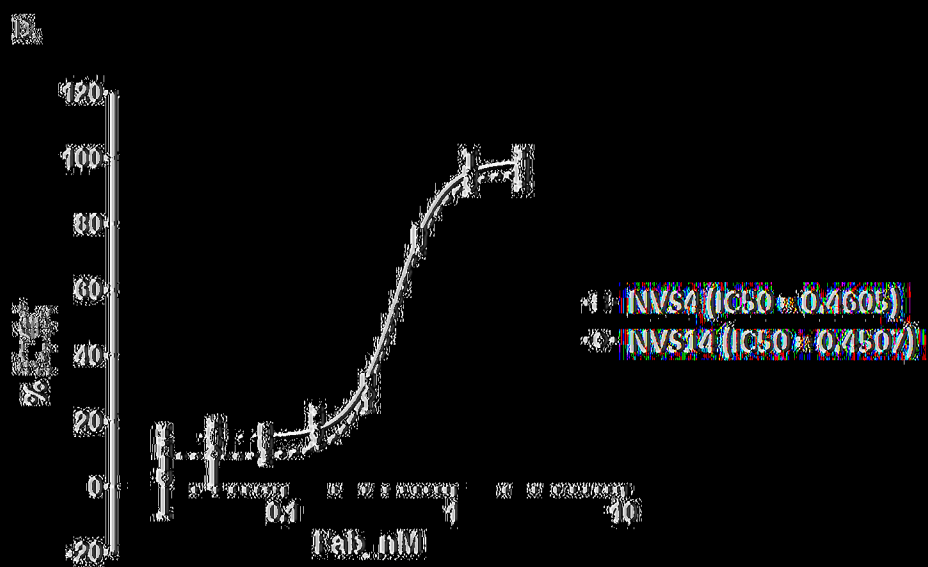
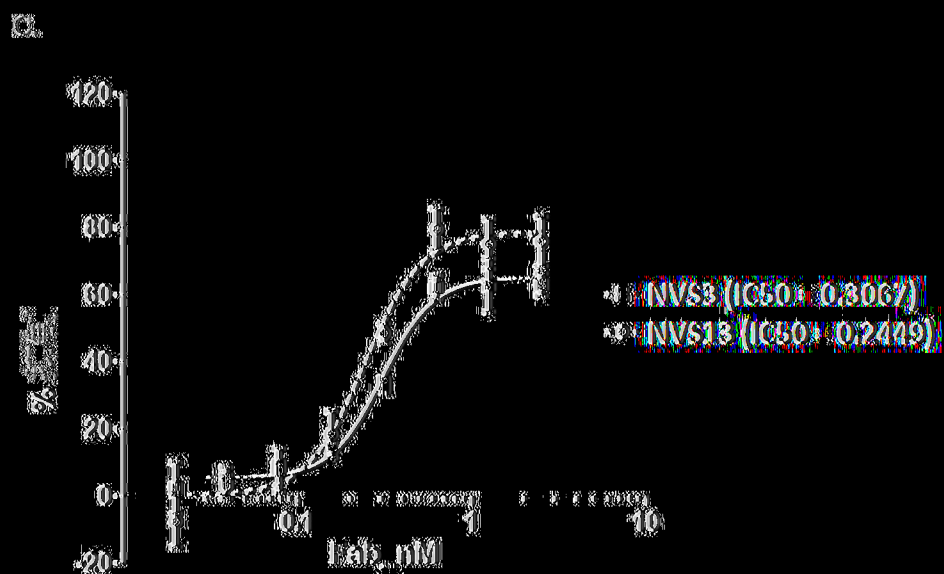
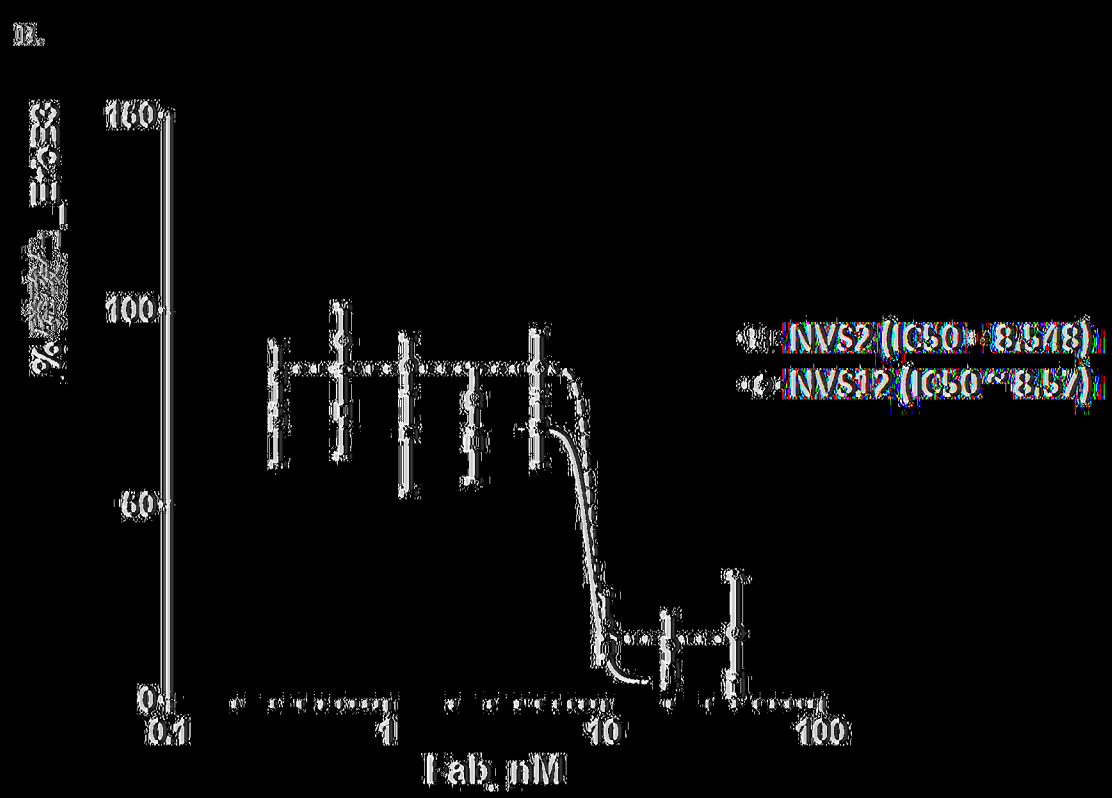
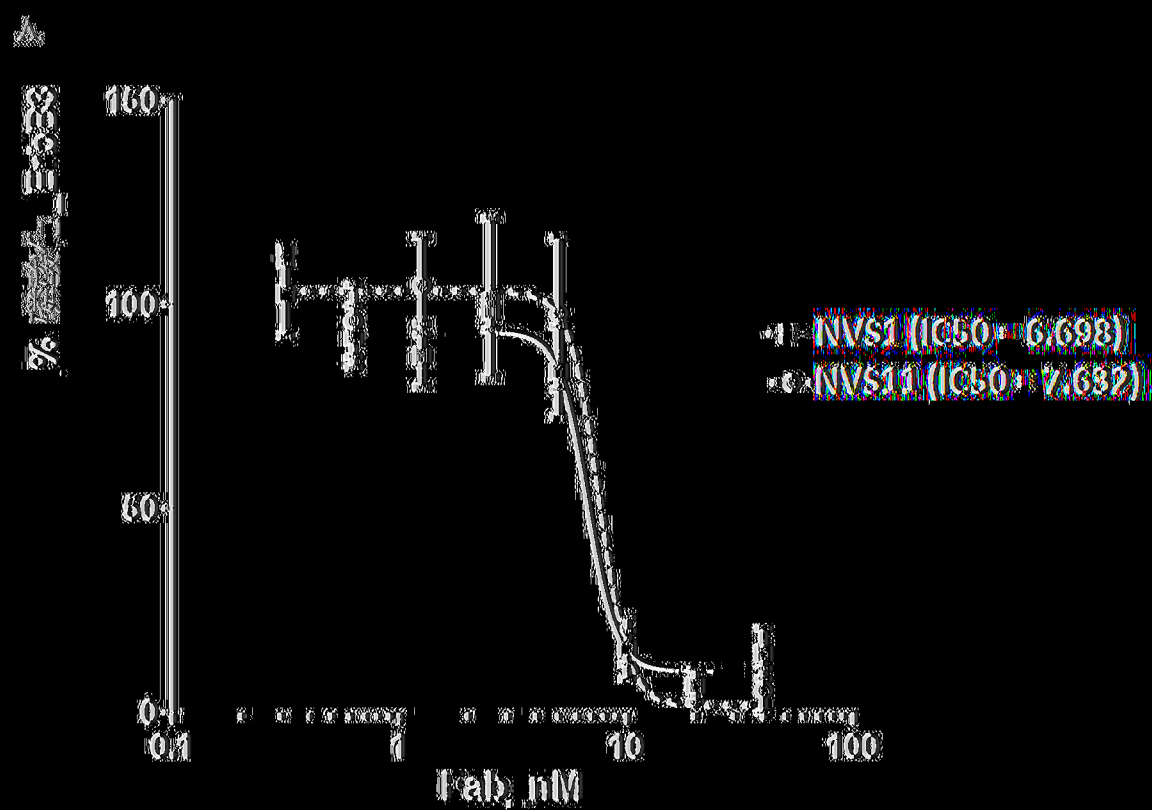
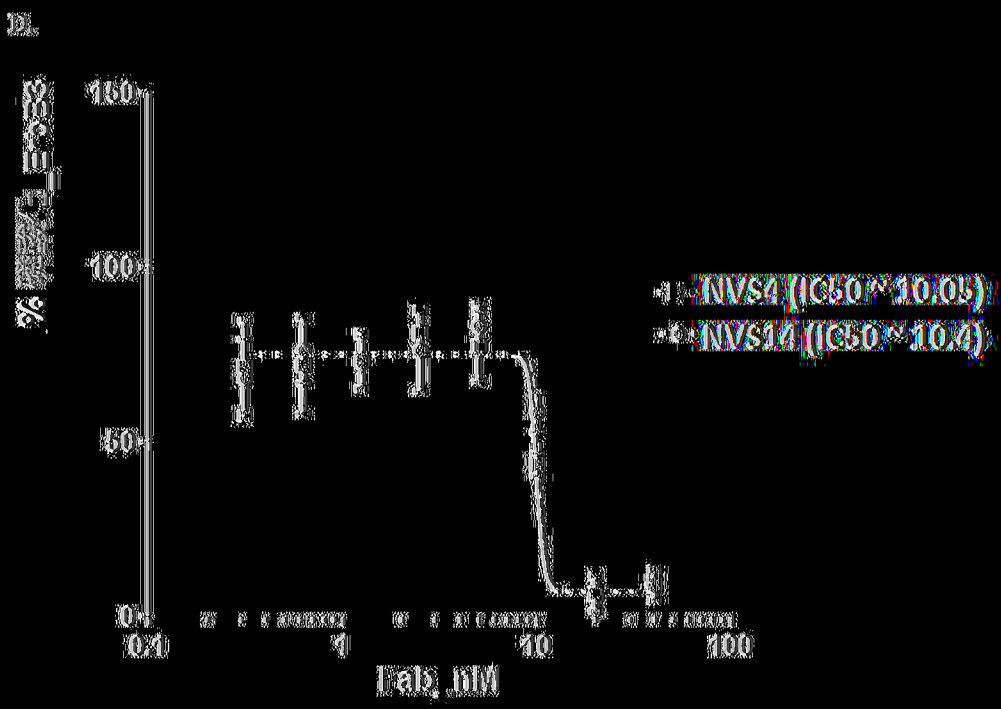
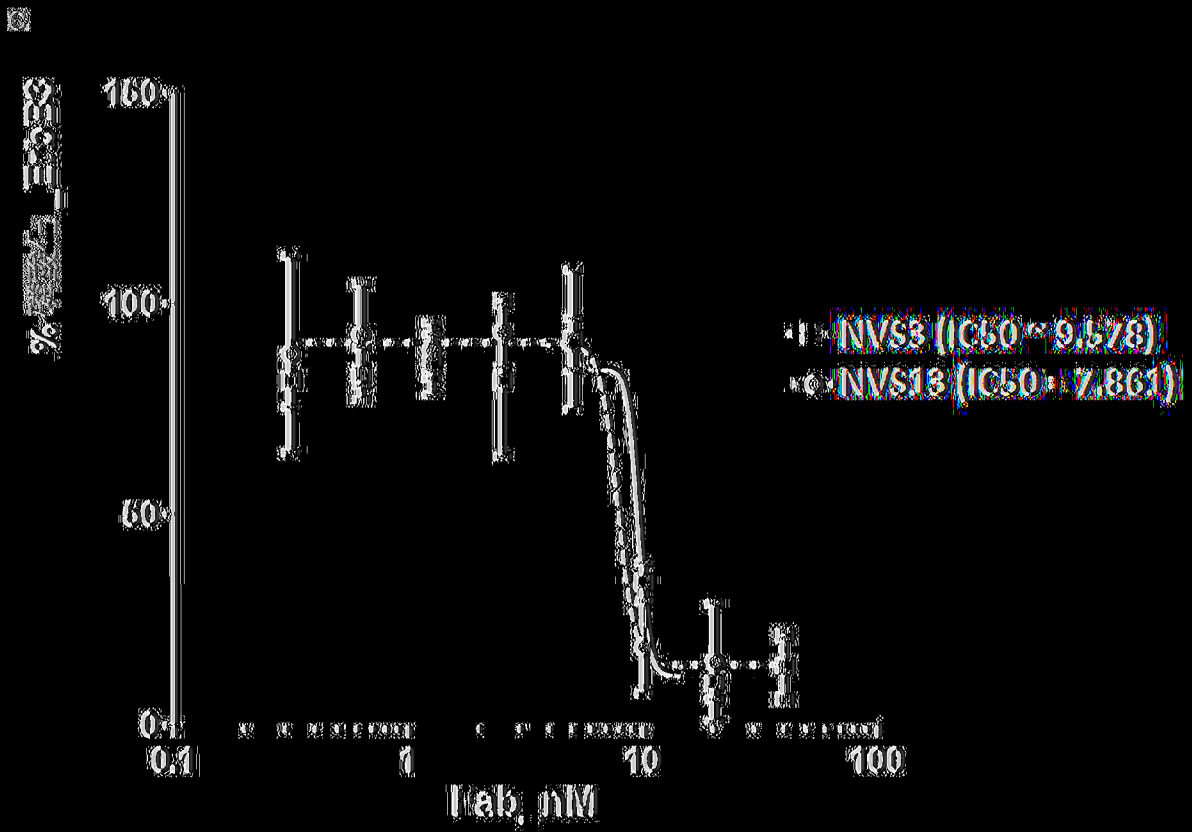


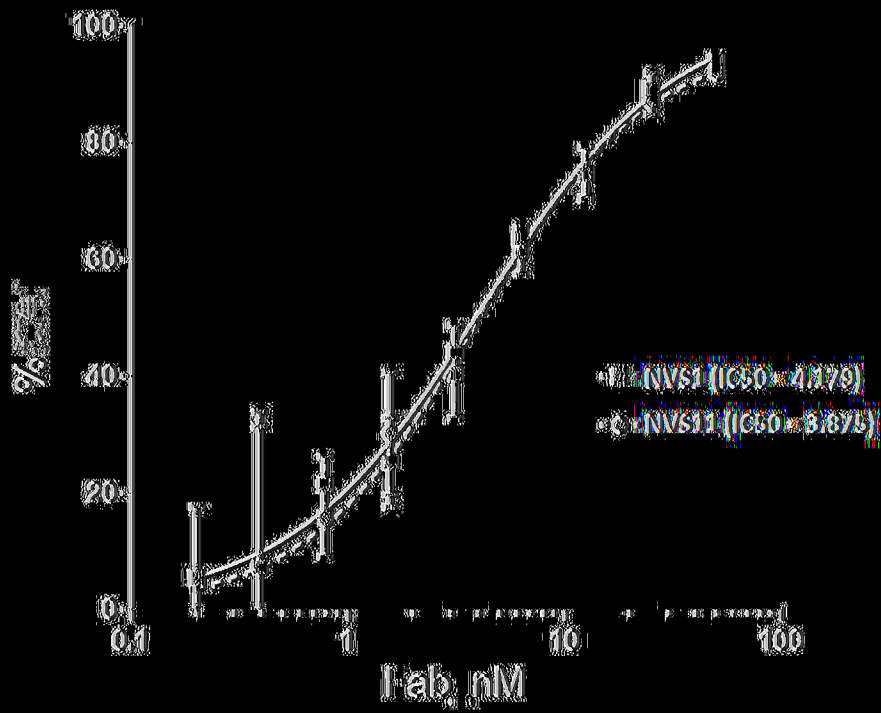
FIG. 10



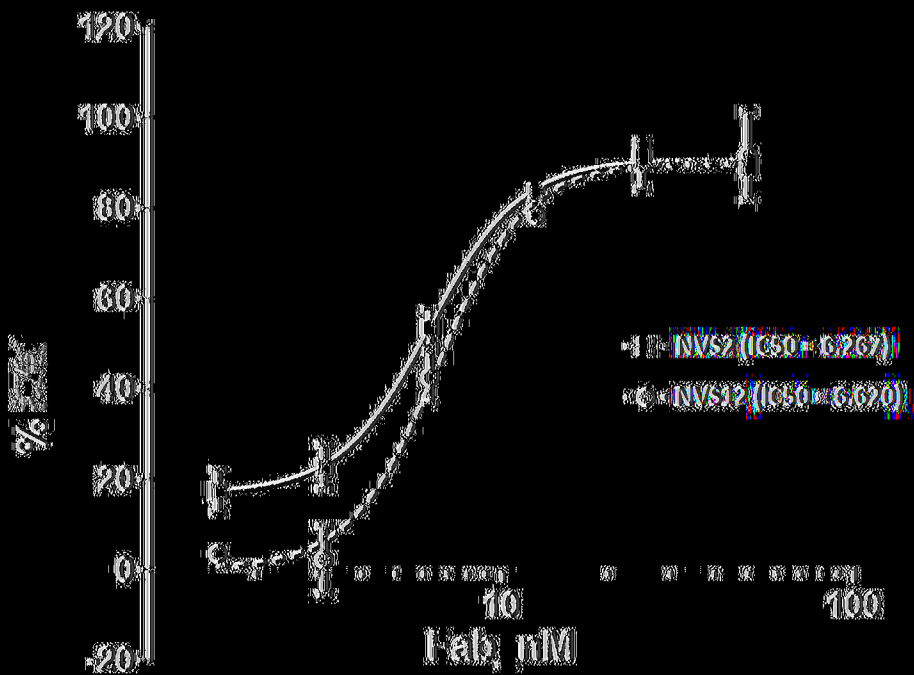


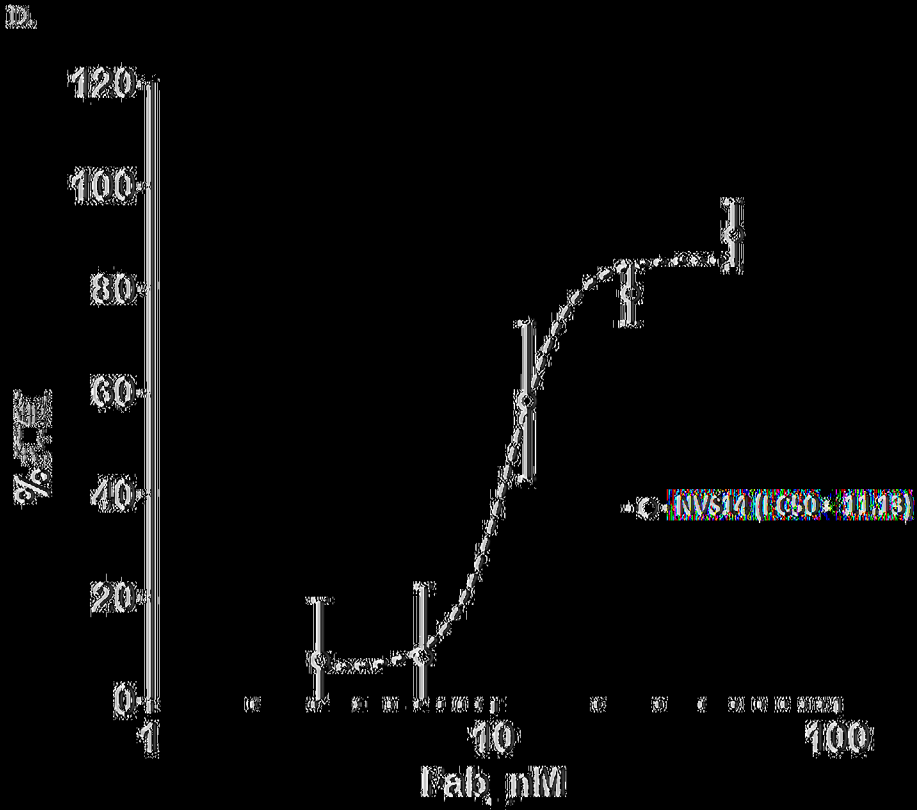
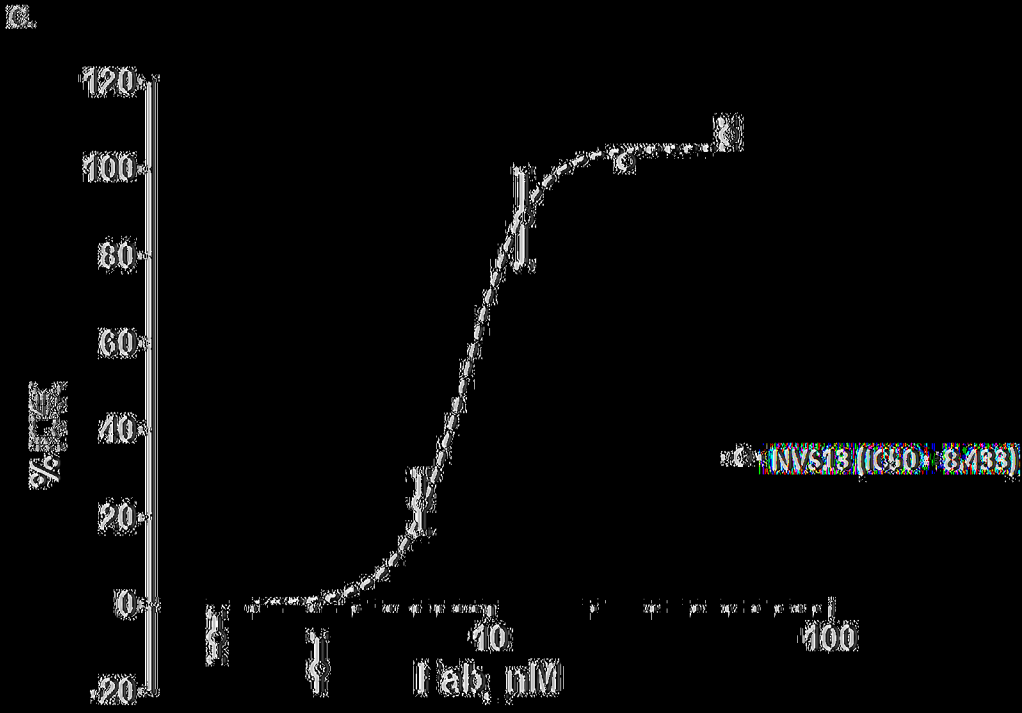
[(11)]

A.



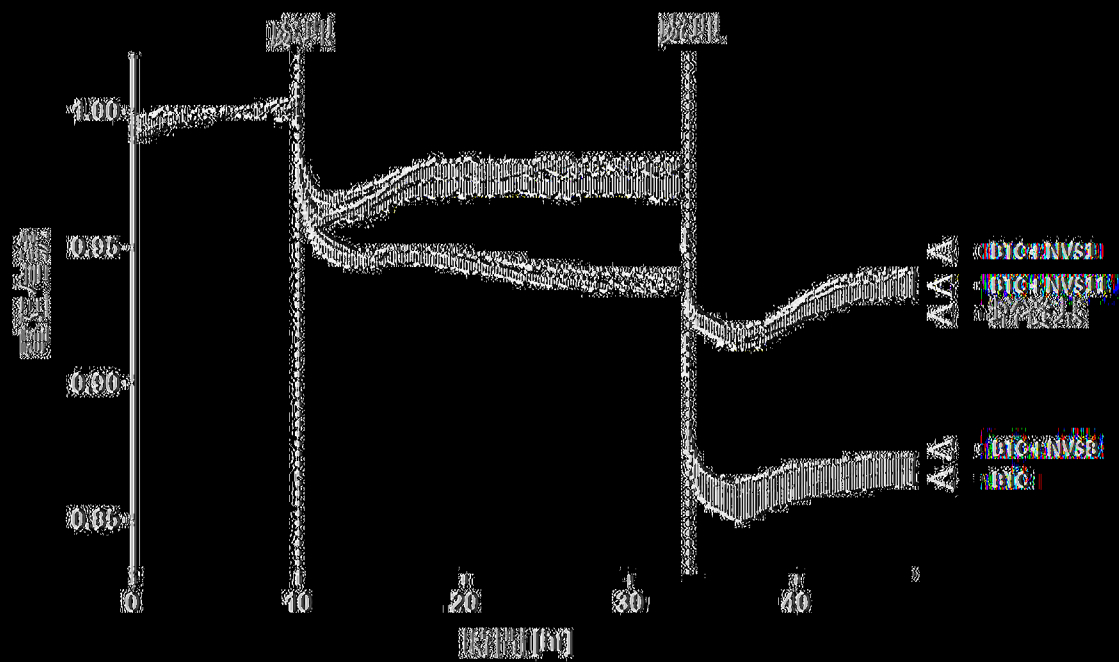
B.



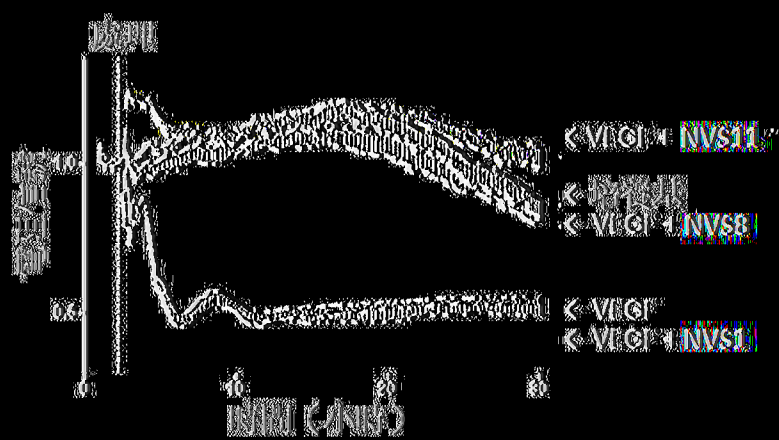


[(圖]12]

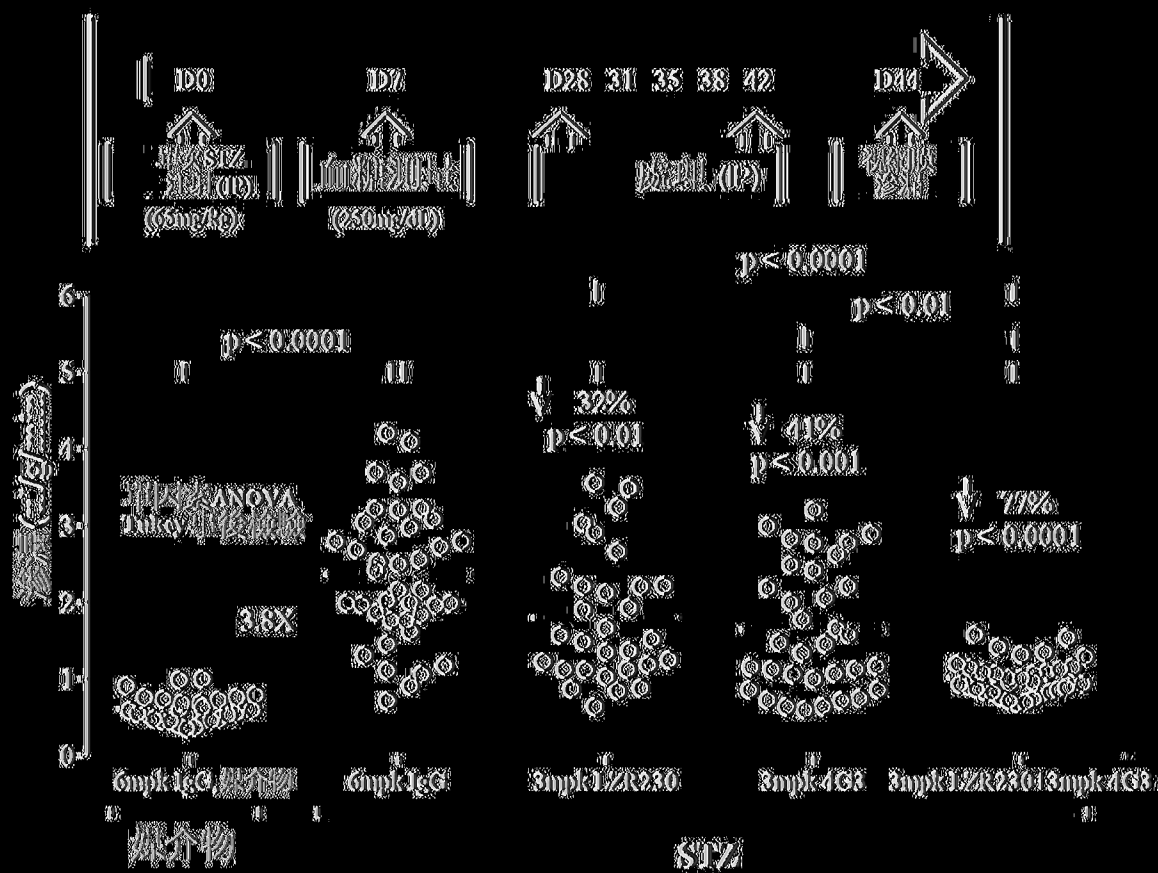
A



B

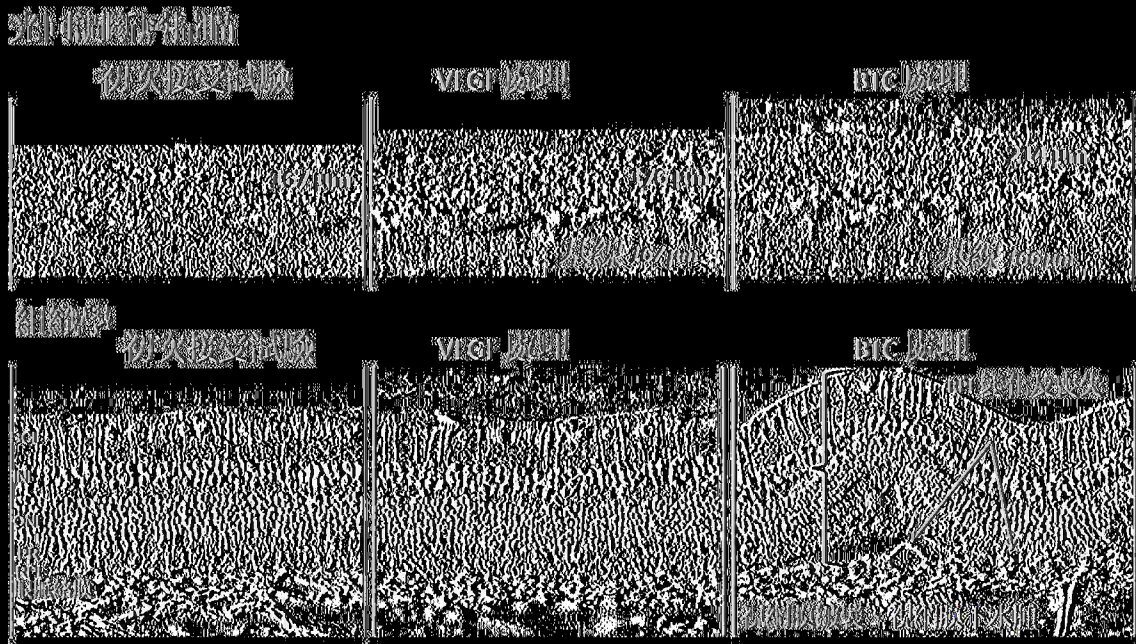


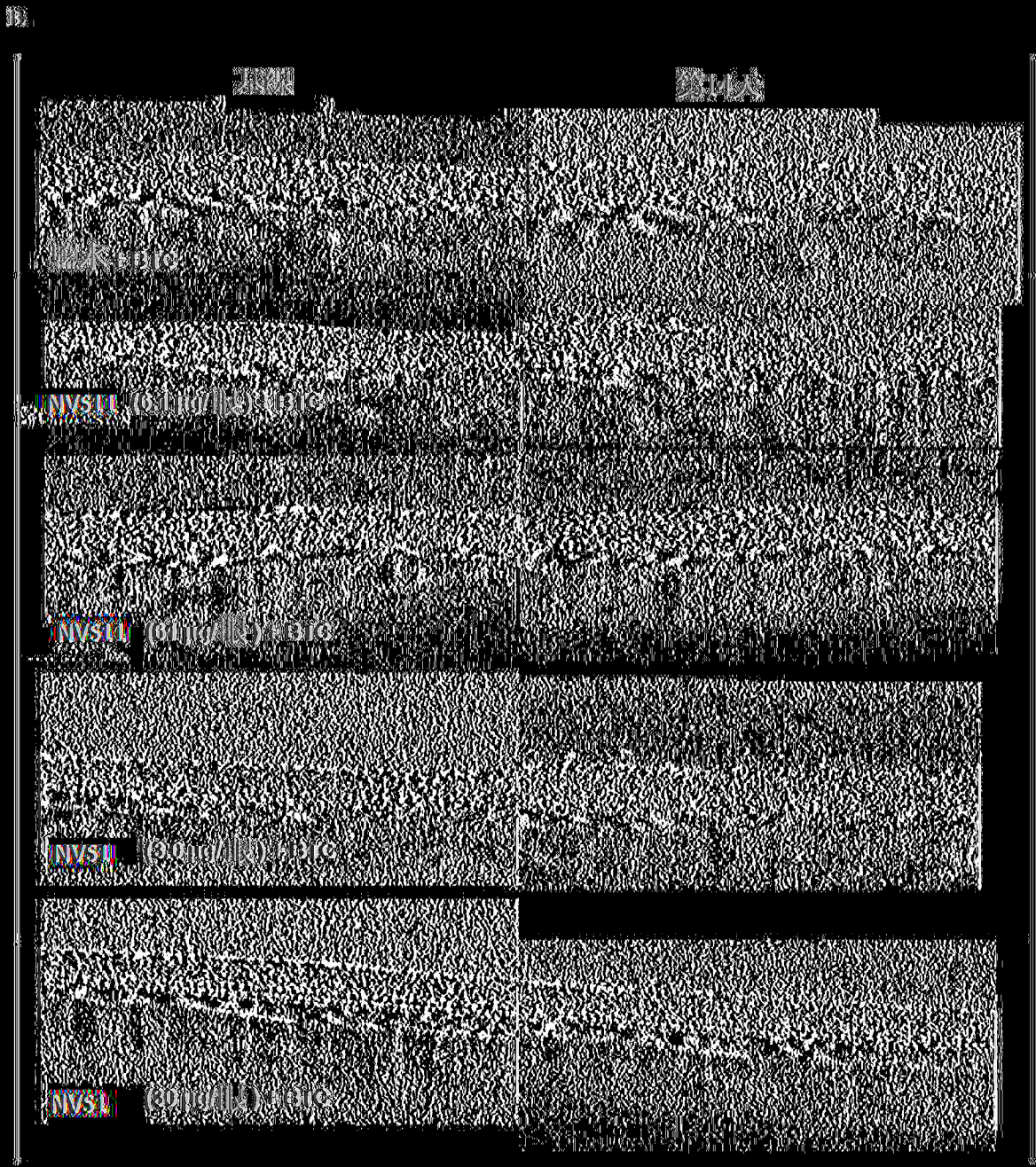
[(圖)13]



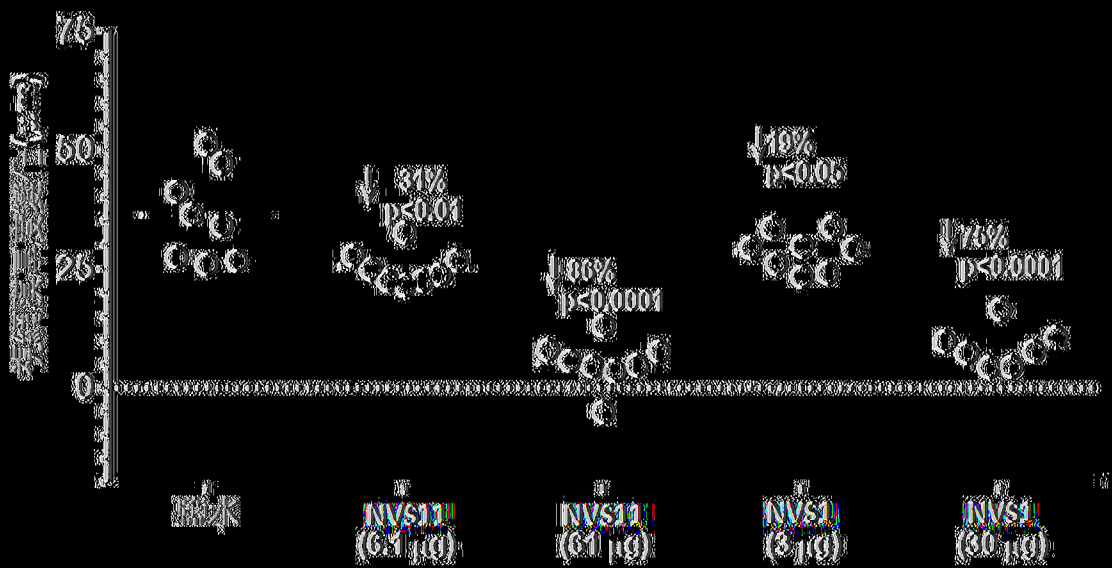
[(图]14)]

A

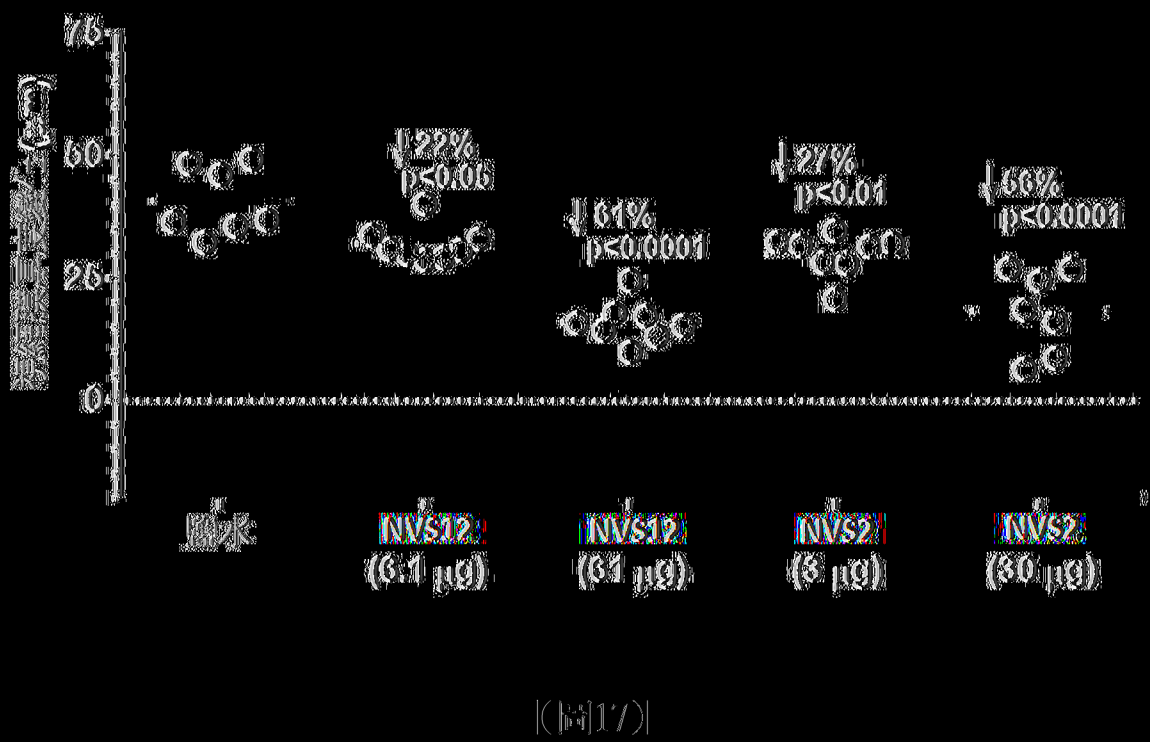




[(圖15)]



[(16)]



[(17)]

A.

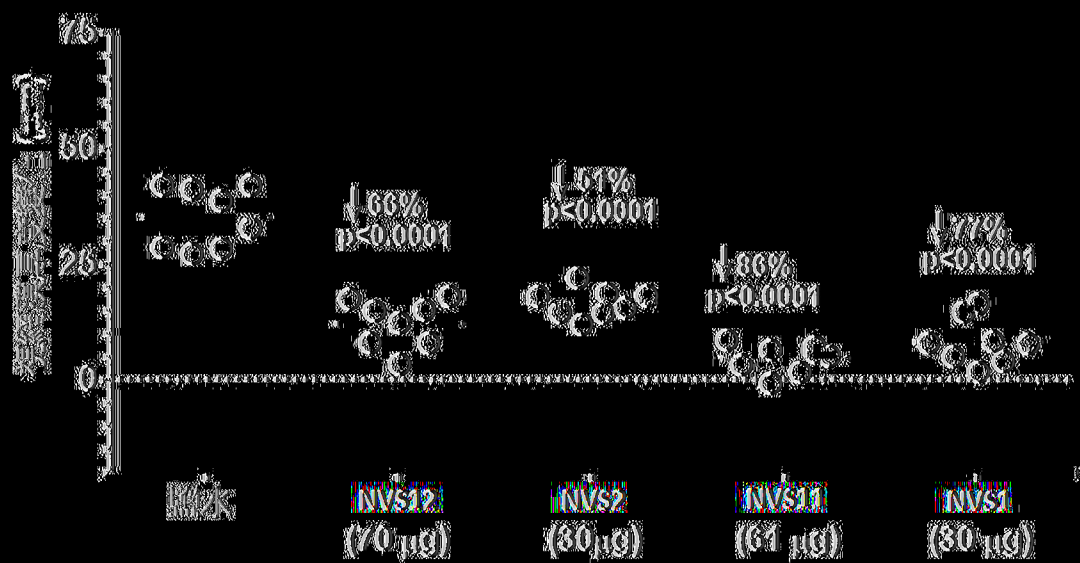


圖 1

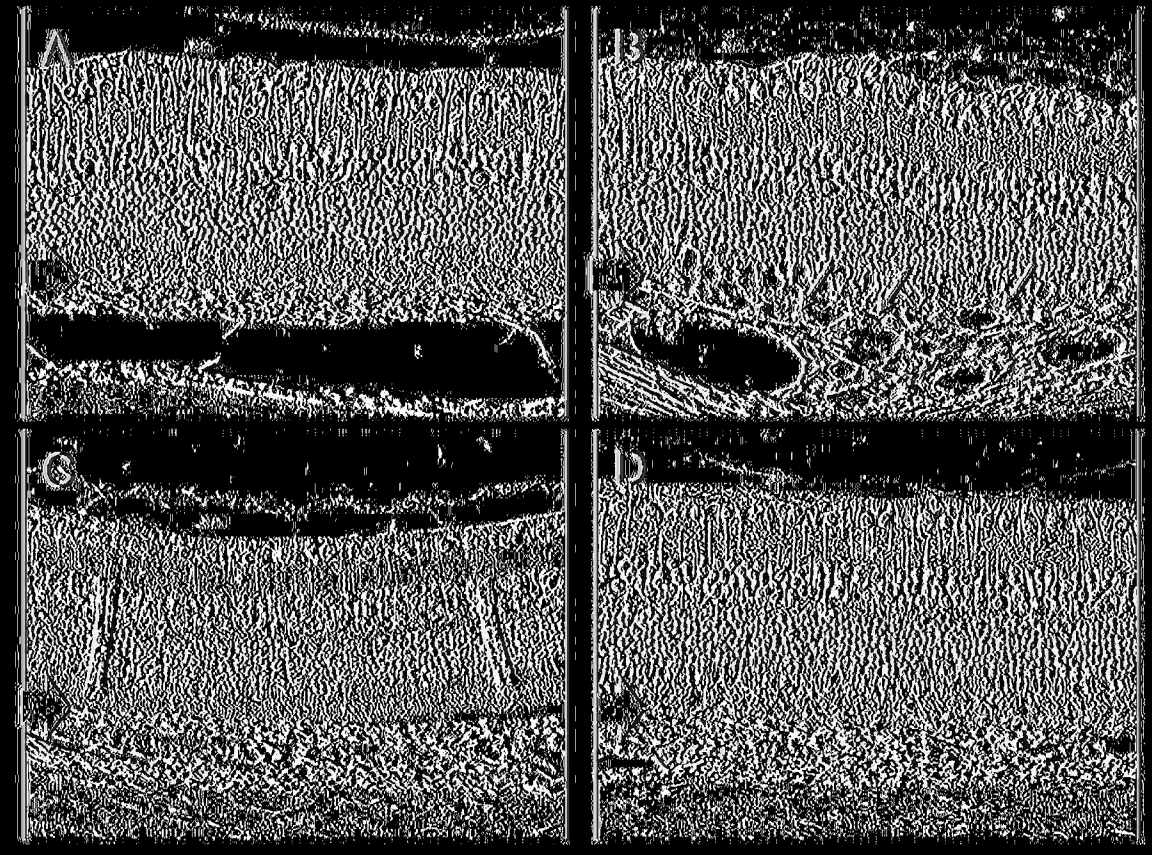
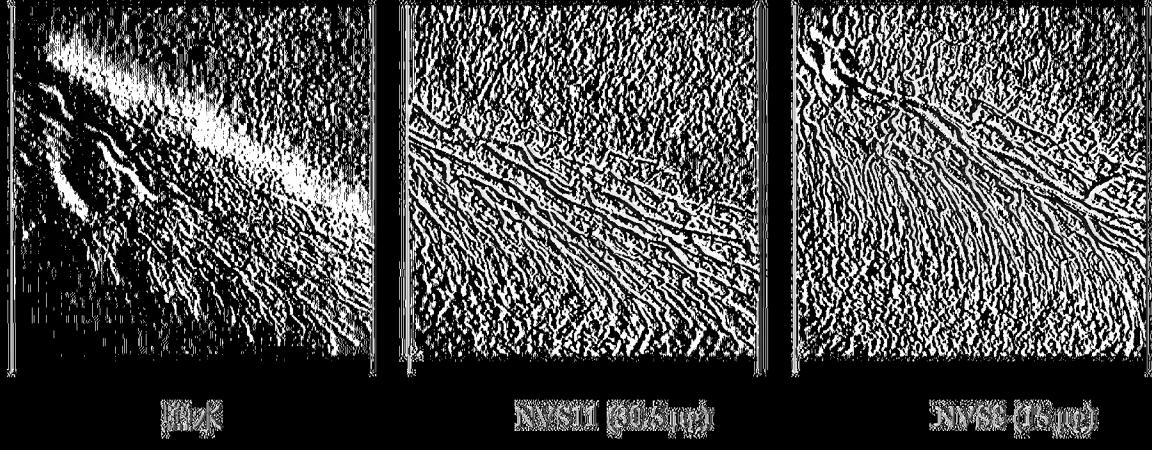
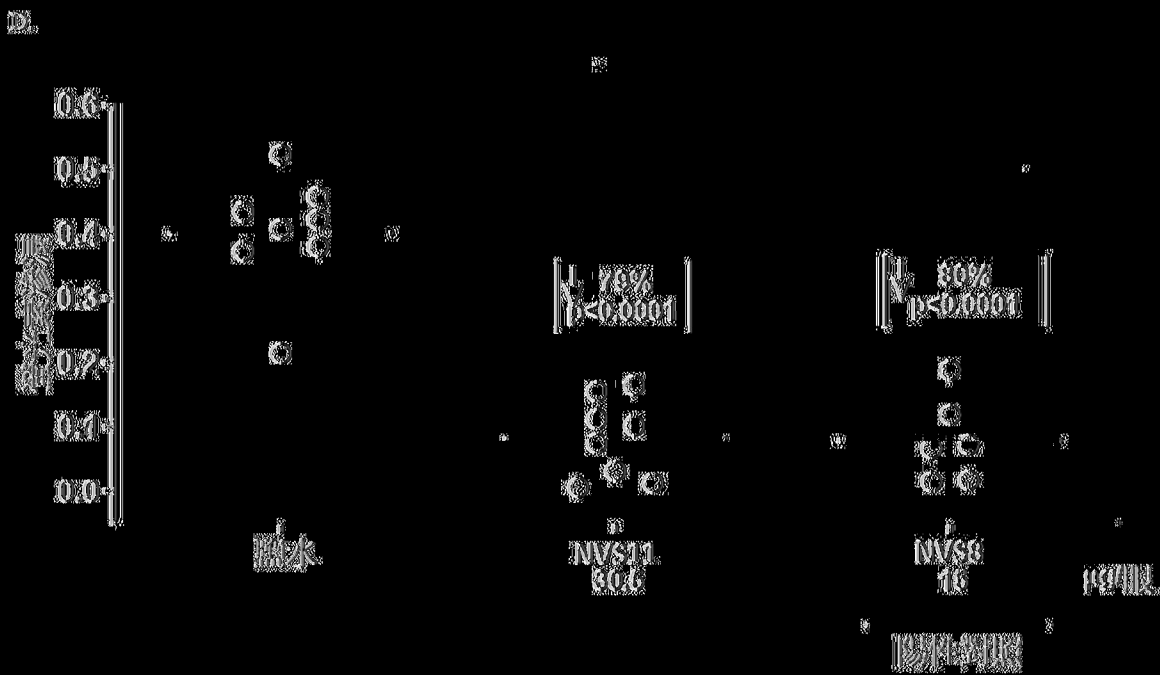
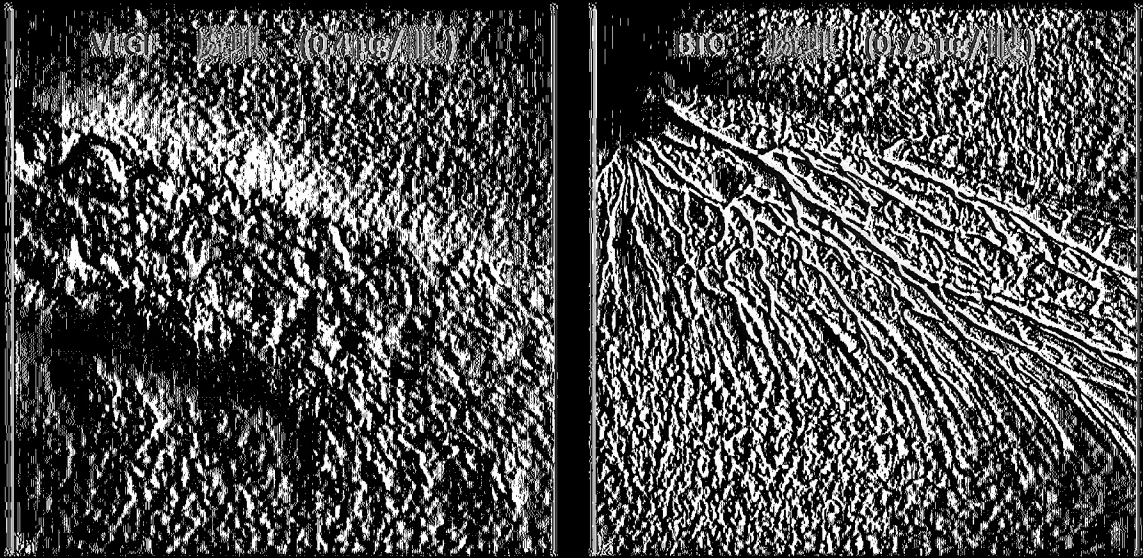


圖 2

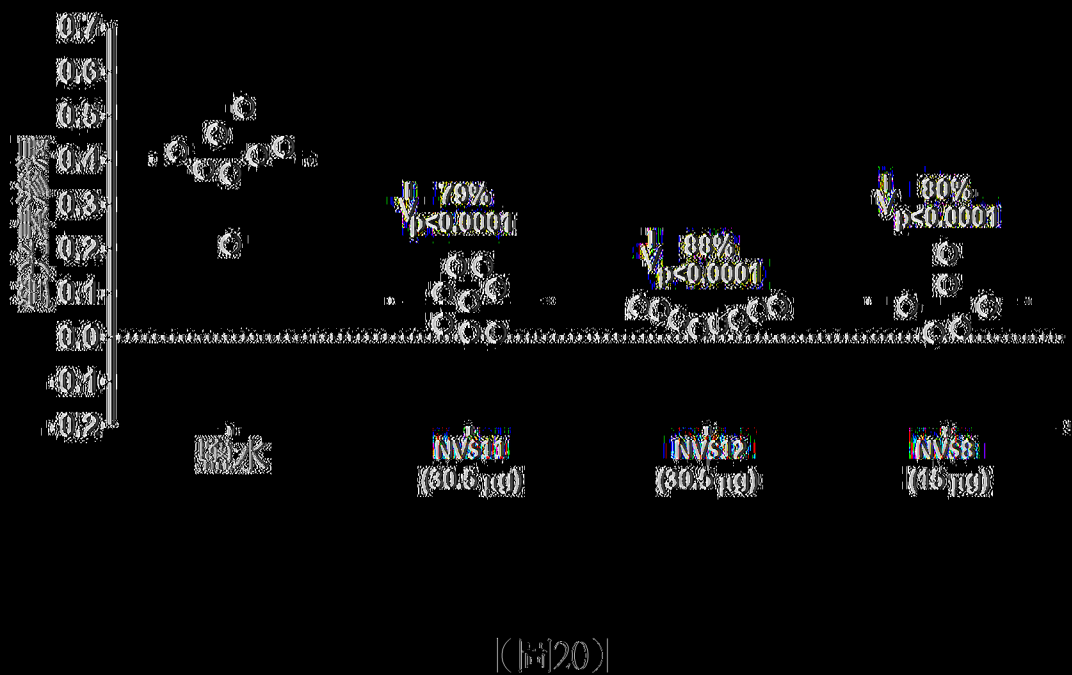


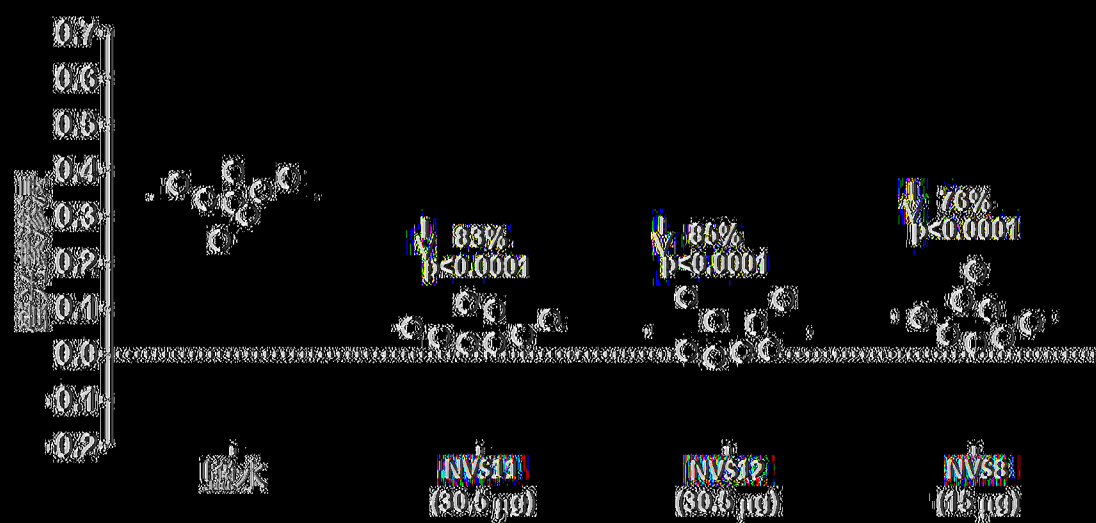


[(圖]18)

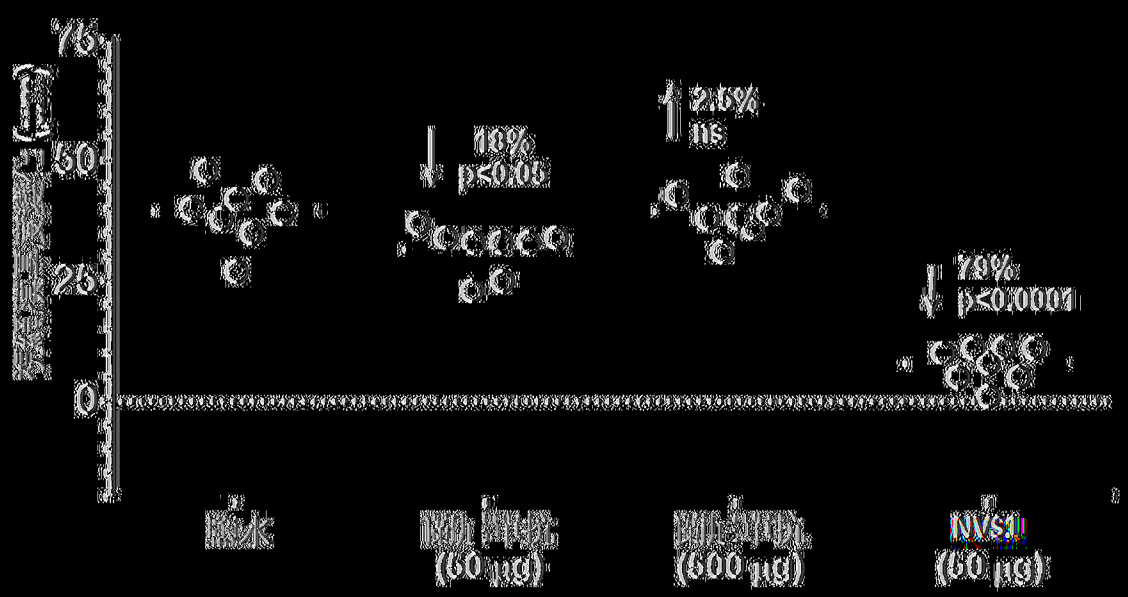


[(19)]

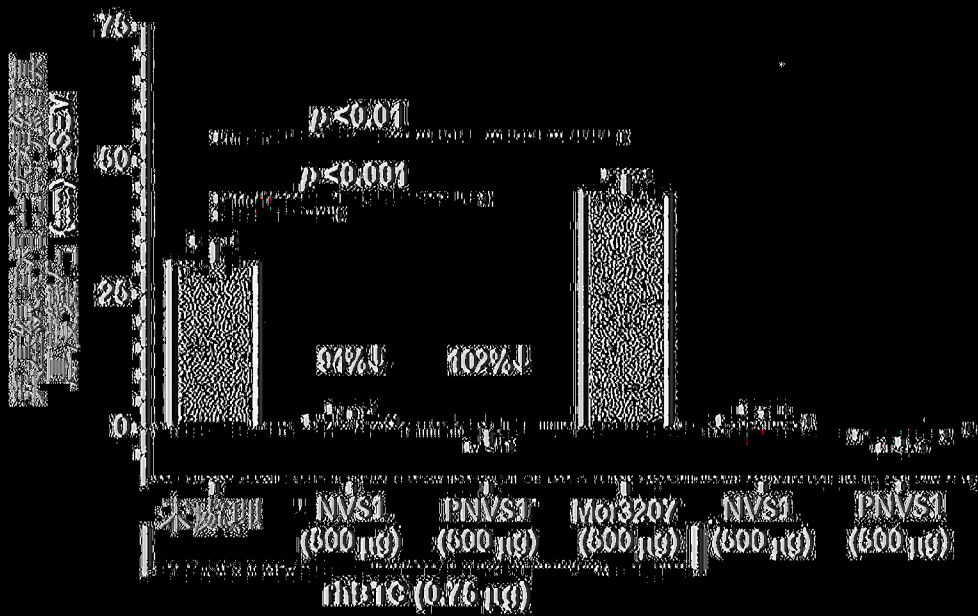




(圖21)



[(图22)]



|(14)|23|