201718659

(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 201718659 A

(43)公開日： 中華民國 106 (2017) 年 06 月 01 日

(21)申請案號：105126115 (22)申請日： 中華民國 105 (2016) 年 08 月 16 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/38 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)*
C12N15/13 (2006.01) *A61P7/04 (2006.01)*

(30)優先權：2015/08/19 美國 62/207,229
2016/07/08 美國 62/360,205

(71)申請人：輝瑞股份有限公司 (美國) PFIZER INC. (US)
美國

(72)發明人：阿普加 詹姆斯 APGAR, JAMES R. (US)；伯納德 蘇珊 BENARD, SUSAN (US)；克雷文 格雷格 CARVEN, GREGORY J. (US)；海特 蘇尼塔 HETT, SUNITA R. (US)；霍爾斯蒂 馬修 HOLSTI, MATTHEW (US)；傑蘇雅 瑞瑪 JASUJA, REEMA (US)；珍 梅西 JIN, MACY (US)；卓 宗顯 JUO, ZONG SEAN (US)；彼特曼 戴柏拉 PITTMAN, DEBRA (US)；史達爾 馬克 STAHL, MARK (US)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：32 項 圖式數：14 共 390 頁

(54)名稱

組織因子途徑抑制劑（ＴＦＰＩ）抗體類及彼等之用途

TISSUE FACTOR PATHWAY INHIBITOR ANTIBODIES AND USES THEREOF

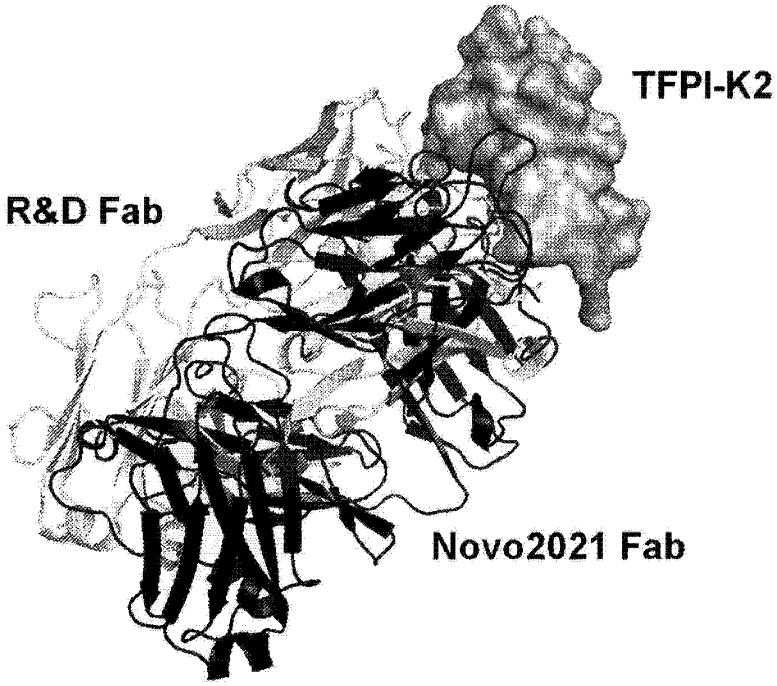
(57)摘要

本發明關於特異結合組織因子途徑抑制劑(TFPI)並抑制其活性之抗體類及彼等之抗原結合片段。該等抗體類及片段可用於治療出血性病症並縮短凝血時間。

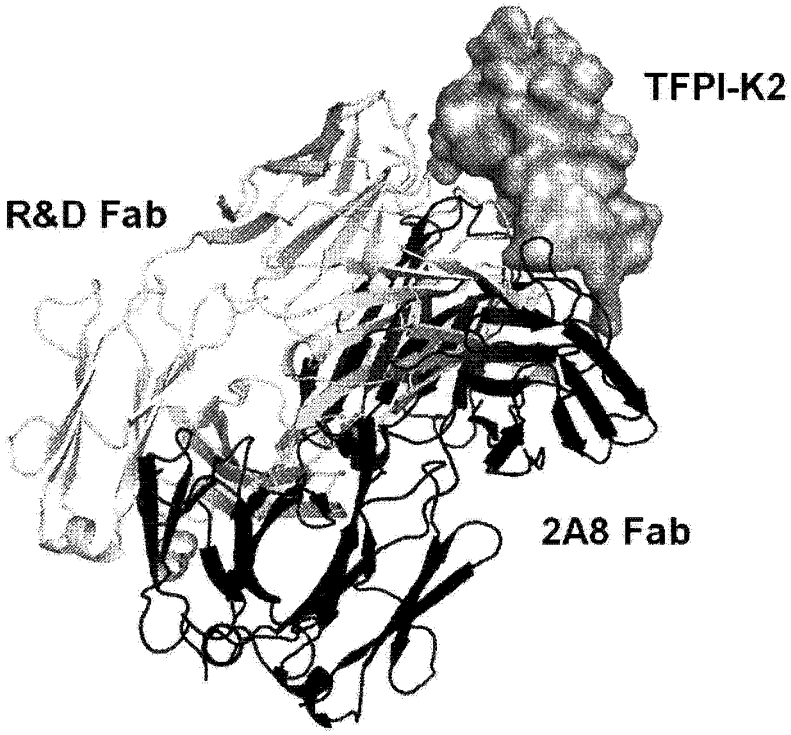
The invention relates to antibodies, and antigen-binding fragments thereof, that specifically bind TFPI and inhibit an activity thereof. Such antibodies and fragments are useful for treating bleeding disorders and shortening clotting time.

指定代表圖：

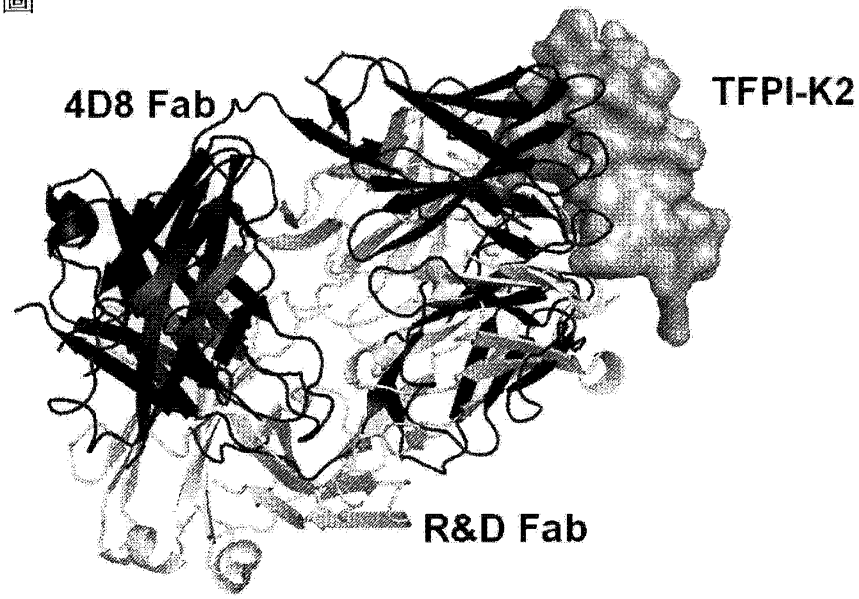
第 1A 圖



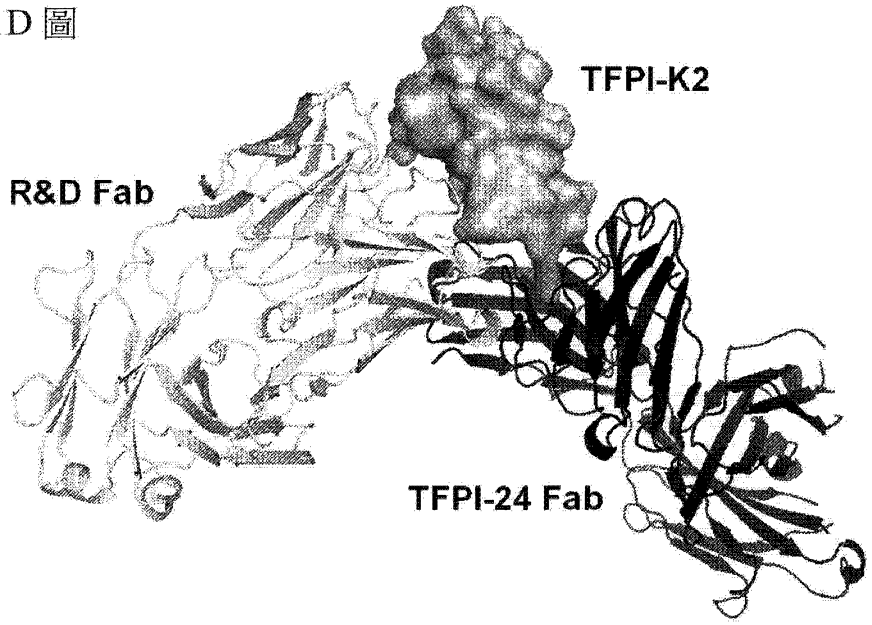
第 1B 圖



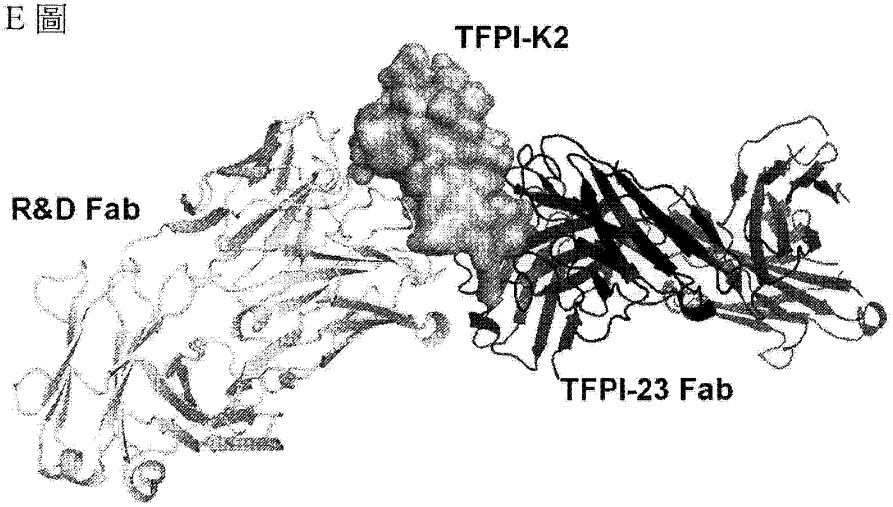
第 1C 圖



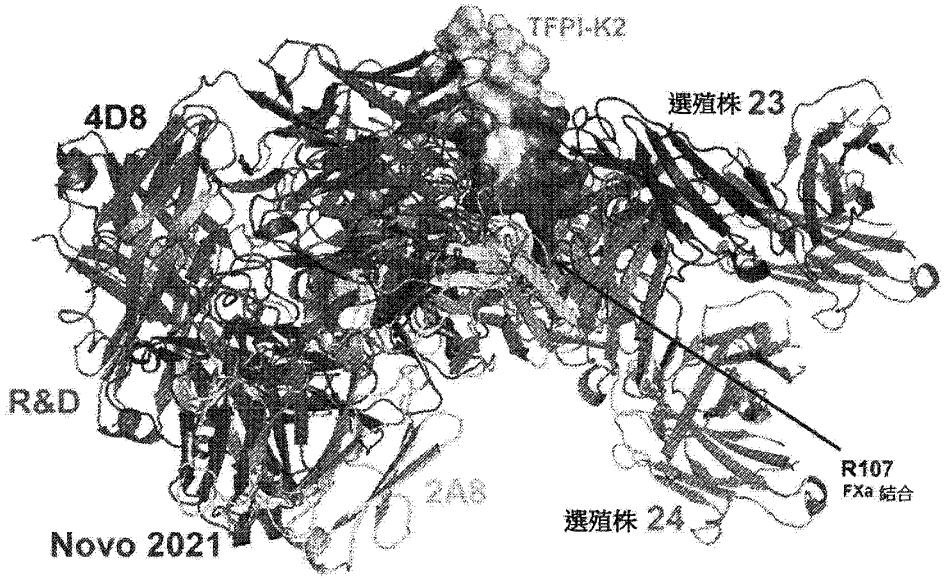
第 1D 圖



第 1E 圖


TFPI-K2
R&D Fab
TFPI-23 Fab

第 1F 圖


TFPI-K2
4D8
選殖株 23
R&D
R107
FXa 結合
2A8
選殖株 24
Novo 2021

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】(中文/英文)

組織因子途徑抑制劑(TFPI)抗體類及彼等之用途

Tissue factor pathway inhibitor antibodies and uses thereof

【技術領域】

[0001] 本發明關於結合組織因子途徑抑制劑(TFPI)之抗體類。

【先前技術】

[0002] A 型和 B 型血友病為分別由血漿蛋白第 VIII 因子(FVIII)或第 IX 因子 (FIX)功能缺陷所引起之 X 性聯遺傳疾病。血友病之臨床嚴重性與凝血因子活性之殘留水準有關。因子活性<1%與嚴重表型有關，中度血友病與 2%至 5%之因子活性有關，輕度血友病與 5%至 40%之因子活性有關。

[0003] 這些疾病之護理標準為透過靜脈內輸注來替代缺失之凝血因子。該替代因子通常為重組蛋白，諸如 Xyntha(第 VIII 因子)或 BeneFIX(FIX)，但仍使用各種純度之血漿衍生產品。以替代因子進行之治療可為偶發性地在出血發生時根據需要來治療出血或預防性地經由將因子水準保持在保護範圍內來預防出血。有明顯證據表明預防性治療可防止出血及為血友病患者之主要病態的相關之關節

損傷。有效之預防性治療需要每周靜脈內注射因子 3 至 4 次，這導致順應性的困難並降低生活品質。由於製造凝血因子之複雜性，治療成本亦昂貴。此外，不少患者，高達 32%之重度 A 型血友病患者對所投予之因子發展出中和抗體，這被那些在這些基因中具有突變之患者視為外源蛋白。這些患者需要替代之治療方式，諸如旁路因子，第 VIIa 因子(NovoSeven)。

[0004] 替代之治療方法為藉由擴充完整的外在途徑來繞過對替代因子的需求。血友病患者具有一些透過其完整之外在途徑來停止出血的能力；然而這不足以停止大量出血或防止自發性出血。該外在途徑不足以提供保護，因為其被組織因子途徑抑制劑(TFPI)快速關閉。

[0005] 雖然 WO 2010/017196(拜耳公司(Bayer))、WO 2011/109452(拜耳公司)、WO 2014/144577(拜耳公司)、WO 2010/072687(諾和諾德公司(Novo Nordis))、WO 2012/001087(諾和諾德公司)、WO 2014/140240(諾和諾德公司)和 WO 2015/007880(諾和諾德公司) 揭示結合人類 TFPI 之抗體，它們並未提供如本發明抗體般具有使該抗體成為新穎之血友病潛在治療劑的特性。

[0006] 能夠提供預防性保護同時降低凝血因子之給藥頻率、減少因子之使用量、允許替代之遞送途徑(例如皮下)及具有較低之產生中和抗體的風險之產品將可滿足血友病患者未被滿足之重大需求。

【發明內容】

[0007] 本發明揭示及示例結合組織因子途徑抑制劑(TFPI)之抗體(及其抗原結合片段)。

[0008] 本技藝之技術熟習人士僅使用常規實驗將可察知或能夠確定本文所描述之本發明之具體實施態樣的許多等效物。該類等效物預期包含在下列實施態樣(E)中。

E1. 一種特異結合組織因子途徑抑制劑(TFPI)之 Kunitz 結構域 2(K2) 的抗原決定部位之經分離之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位包含殘基 Ile105、Arg107 及 Leu131(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E2. 如實施態樣第 1 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段不結合 TFPI 之 Kunitz 結構域 1(K1)。

E3. 如實施態樣第 1 或 2 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位進一步包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Cys106、Gly108、Cys130、Leu131 及 Gly132(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E4. 如實施態樣第 1 至 3 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位進一步包含殘基 Cys106、Gly108、Cys130、Leu131 及 Gly132(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E5. 如實施態樣第 1 至 4 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位進一步包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Asp102、Arg112、Tyr127、

Gly129、Met134 及 Glu138(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E6. 如實施態樣第 1 至 5 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位進一步包含 Asp102、Arg112、Tyr127、Gly129、Met134 及 Glu138(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E7. 如實施態樣第 1 至 6 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位不包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：E100、E101、P103、Y109、T111、Y113、F114、N116、Q118、Q121、C122、E123、R124、F125、K126 及 L140(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E8. 如實施態樣第 1 至 7 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位不包含：E100、E101、P103、Y109、T111、Y113、F114、N116、Q118、Q121、C122、E123、R124、F125、K126 及 L140(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E9. 如實施態樣第 1 至 6 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位不包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：D31、D32、P34、C35、K36、E100、E101、P103、Y109、K126 及 G128(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E10. 如實施態樣第 1 至 6 項及第 9 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位不包含：D31、D32、P34、C35、K36、E100、E101、P103、Y109、K126 及 G128(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E11. 如實施態樣第 1 至 10 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Asp102、Gly104、Ile105、Cys106、Arg107、Gly108、Arg112、Tyr127、Gly129、Cys130、Leu131、Gly132、Asn133、Met134 及 Glu138(根據 SEQ ID NO：2 編號)，其中該抗原決定部位殘基由於與該抗體或其抗原結合片段交互作用而在掩藏之表面積(BSA)中具有非零變化。

E12. 如實施態樣第 11 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位包含：Asp102、Gly104、Ile105、Cys106、Arg107、Gly108、Arg112、Tyr127、Gly129、Cys130、Leu131、Gly132、Asn133、Met134 及 Glu138(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E13. 如實施態樣第 1 至 12 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基： Asp102、Arg107、Arg112、Tyr127 及 Leu131(根據 SEQ ID NO：2 編號)，其中該抗原決定部位殘基與一來自該抗體或其抗原結合片段之殘基參與氫鍵。

E14. 如實施態樣第 13 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位包含：Asp102、Arg107、Arg112、Tyr127 及 Leu131(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E15. 如實施態樣第 1 至 14 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位包含一或多個選自由下

列所組成之群組的接觸殘基：Asp102、Gly104、Ile105、Cys106、Arg107、Gly108、Arg112、Tyr127、Gly129、Cys130、Leu131、Gly132、Met134 及 Glu138(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E16. 如實施態樣第 15 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位包含：Asp102、Gly104、Ile105、Cys106、Arg107、Gly108、Arg112、Tyr127、Gly129、Cys130、Leu131、Gly132、Met134 及 Glu138(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E17. 如實施態樣第 1 至 16 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含下列由於與 TFPI 交互作用而在 BSA 中具有非零變化之重(H)鏈和輕(L)鏈抗體結合部位(paratope)殘基(根據 Kabat 編號)：H33 Ala、H58 Tyr、H95 Leu、H96 Gly、H97 Ala、H98 Thr、H99 Ser、H100 Leu、H100A Ser、L29 Ala、L31 Tyr、L91 Tyr、L95A Ser 及 L95B Gly。

E18. 如實施態樣第 1 至 17 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含下列接觸殘基(根據 Kabat 編號)：(1)H47 為 Trp 或 Tyr； (b)H58 為 Tyr；及(c)L91 為 Tyr 或 Arg；並可選擇地包含：(d) L96 為 Gly 或 Asn。

E19. 如實施態樣第 1 至 18 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含下列接觸殘基(根據 Kabat 編號)：(a) H33 為 Ala、Asn、Gly、His、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp 或 Val；(b) H47 為 Trp 或 Tyr；(c) H50

為 Ala、Arg、Gly、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Tyr 或 Val；(d) H51 為 Ile、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、HIS、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；(e) H52 為 Ser、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly HIS、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Trp、Tyr 或 Val；(f) H56 為 Ser、Arg、Gly、HIS、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；(g) H58 為 Tyr；(h) H95 為 Leu、Gln、Ile、Phe 或 Tyr；(i) H96 為 Gly、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Ile、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr 或 Val；(j) H97 為 Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、HIS、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；(k) H98 為 Thr、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、HIS、Leu、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；(l) H99 為 Ser、Ala、Gly、Phe 或 Pro；(m) H100 為 Leu、Arg、HIS、Ile、Leu、Lys、Phe、Pro、Trp、Tyr 或 Val；(n) H100A 為 Ser、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、HIS、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr 或 Trp；(o) L29 為 Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、HIS、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr 或 Trp、Tyr、Val；(p) L31 為 Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、HIS、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；(q) L91 為 Tyr 或 Arg；(r) L95A 為 Ser、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、HIS、Leu、

Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；(s) L95B 為 Ser、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、HIS、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；及(t) L95C 為 Ser、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、HIS、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；並可選擇地包含下列殘基：(u) L93 為 Tyr、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；及(v)L96 為 Gly 或 Asn。

E20. 如實施態樣第 1 至 18 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含下列接觸殘基(根據 Kabat 編號)：(a) H33 為 Ala 或 Val；(b)H47 為 Trp；(c) H50 為 Ala；(d) H51 為 Ile；(e) H52 為 Ser、Arg、Lys、Phe 或 Tyr；(f) H56 為 Ser、Arg 或 Lys；(g) H58 為 Tyr；(h) H95 為 Leu；(i) H96 為 Gly、Ala、Arg、Asn、Lys、Pro、Ser 或 Val；(j) H97 為 Ala；(k) H98 為 Thr、His、Ile、Leu、Met、Phe 或 Tyr；(l) H99 為 Ser；(m) H100 為 Leu、Phe、Trp 或 Tyr；(n) H100A 為 Ser、Arg、Asn、Gln、Glu、His、Leu、Lys、Met、Phe、Pro 或 Trp；(o) L29 為 Ala；(p) L31 為 Tyr；(q) L91 為 Tyr；(r) L95A 為 Ser、Phe、Trp 或 Tyr；(s) L95B 為 Gly；及(t) L95C 為 Ser、Arg、Asn、Gln、Glu、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Trp、Tyr 或 Val；並可選擇地包含下列殘基：(u) L93 為 Ser；及(v)L96 為 Gly。

E21. 如實施態樣第 1 至 18 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含下列接觸殘基(根據 Kabat 編號)：(a) H33 為 Ala、Val、His 或 Phe；(b) H47 為 Trp 或 Tyr；(c) H50 為 Ala、Thr、Ser 或 Phe；(d) H51 為 Ile、Arg、Lys 或 Pro；(e) H52 為 Ser、Phe、Arg 或 Tyr；(f) H56 為 Ser、Lys、Tyr 或 Phe；(g) H58 為 Tyr；(h) H95 為 Leu、Ile、Gln 或 Phe；(i) H96 為 Gly、Arg、Asn 或 Lys；(j) H97 為 Ala、Leu、Tyr 或 Ile；(k) H98 為 Thr、Tyr、Phe 或 His；(1) H99 為 Ser、Pro、Ala 或 Phe；(m) H100 為 Leu、Tyr、Trp 或 Phe；(n) H100A 為 Ser、Arg、Leu 或 Trp；(o) L29 為 Ala、Glu、Asp 或 Gln；(p) L31 為 Tyr、Glu、Asp 或 Trp；(q) L 91 為 Ty 或 Arg；(r) L95A 為 Ser、Phe、Tyr 或 His；L95B 為 Gly、Glu、Asp 或 Pro；及(t) L95C 為 Ser、Trp、Tyr 或 Phe；並可選擇地包含下列殘基：(u) L93 為 Ser、Glu、Asp 或 His；及(v) L96 為 Gly 或 Asn。

E22. 如實施態樣第 1 至 18 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含下列接觸殘基(根據 Kabat 編號)：H33 Ala、H47 Trp、H50 Ala、H51 Ile、H52 Ser、H56 Ser、H58 Tyr、H95 Leu、H96 Gly、H97 Ala、H98 Thr、H99 Ser、H100 Leu、H100A Ser、L29 Ala、L31 Tyr、L91 Tyr、L95A Ser、L95B Gly 及 L95C Ser；並可選擇地包含下列殘基：L93 Ser 及 L96 Gly。

E23. 如實施態樣第 1 至 22 項中任一項之抗體或其抗

原結合片段，其包含含有下列群組之重鏈可變區(VH)：

(a)包含 SEQ ID NO：38 之胺基酸序列的 VH 互補決定區 1(CDR-H1)；

(b)包含 SEQ ID NO：39 之胺基酸序列的 VH 互補決定區 2(CDR-H2)；及

(c)包含 SEQ ID NO：40 之胺基酸序列的 VH 互補決定區 3(CDR-H3)。

E24. 如實施態樣第 1 至 22 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：41 之 CDR-H1、CDR-H2 及 CDR-H3 序列。

E25. 如實施態樣第 1 至 24 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH3 框架序列。

E26. 如實施態樣第 1 至 24 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH1 框架序列。

E27. 如實施態樣第 1 至 24 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH5 框架序列。

E28. 如實施態樣第 1 至 24 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGHV3-23 或 IGHV1-69 之 VH 框架序列。

E29. 如實施態樣第 1 至 24 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGHV3-7 之 VH 框架序列。

E30. 如實施態樣第 1 至 24 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH 種系共有框架序列。

E31. 如實施態樣第 1 至 30 項中任一項之抗體或其抗

原結合片段，其包含含有與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VH：SEQ ID NO：41、63 及 65。

E32. 如實施態樣第 1 至 31 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有選自由下列所組成之群組的胺基酸序列之 VH：SEQ ID NO：41、63 及 65。

E33. 如實施態樣第 1 至 32 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：41 之胺基酸序列的 VH。

E34. 如實施態樣第 1 至 32 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：63 之胺基酸序列的 VH。

E35. 如實施態樣第 1 至 32 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：65 之胺基酸序列的 VH。

E36. 如實施態樣第 1 至 35 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之輕鏈可變區(VL)：

(a)包含 SEQ ID NO：33 之胺基酸序列的 VL 互補決定區 1(CDR-L1)；

(b)包含 SEQ ID NO：34 之胺基酸序列的 VL 互補決定區 2(CDR-L2)；及

(c)包含 SEQ ID NO：35 之胺基酸序列的 VL 互補決定區 3(CDR-L3)。

E37. 如實施態樣第 1 至 35 項中任一項之抗體或其抗

原結合片段，其包含 SEQ ID NO：36 之 CDR-L1、CDR-L2 及 CDR-L3 序列。

E38. 如實施態樣第 1 至 37 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 V_K 框架序列。

E39. 如實施態樣第 1 至 37 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 V_λ 框架序列。

E40. 如實施態樣第 1 至 37 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGKV3-20 之 VL 框架序列。

E41. 如實施態樣第 1 至 37 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGKV1-39 之 VL 框架序列。

E42. 如實施態樣第 1 至 37 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VL 種系共有框架序列。

E43. 如實施態樣第 1 至 42 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：36 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VL。

E44. 如實施態樣第 1 至 43 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：36 之胺基酸序列之 VL。

E45. 如實施態樣第 1 至 44 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：20 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之重鏈恆定區(CH)。

E46. 如實施態樣第 1 至 45 項中任一項之抗體或其抗

原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列的 CH。

E47. 如實施態樣第 1 至 46 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：26 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之輕鏈恆定區(CL)。

E48. 如實施態樣第 1 至 47 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：26 之胺基酸序列的 CL。

E49. 如實施態樣第 1 至 48 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 Fc 結構域。

E50. 如實施態樣第 49 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgA 之 Fc 結構域。

E51. 如實施態樣第 50 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 IgA 為 IgA_1 或 IgA_2。

E52. 如實施態樣第 49 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgD 之 Fc 結構域。

E53. 如實施態樣第 49 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgE 之 Fc 結構域。

E54. 如實施態樣第 49 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgM 之 Fc 結構域。

E55. 如實施態樣第 49 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgG 之 Fc 結構域。

E56. 如實施態樣第 55 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 IgG 為 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4。

E57. 如實施態樣第 1 至 56 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：42 之胺基酸序列的重鏈。

E58. 如實施態樣第 1 至 56 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：64 之胺基酸序列的重鏈。

E59. 如實施態樣第 1 至 56 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：66 之胺基酸序列的重鏈。

E60. 如實施態樣第 1 至 59 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：37 之胺基酸序列的輕鏈。

E61. 如實施態樣第 1 至 60 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含由存在於寄存在 ATCC 編號為 PTA-122329 之質體中的插入子編碼的 VH 序列。

E62. 如實施態樣第 1 至 61 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含由存在於寄存在 ATCC 編號為 PTA-122328 之質體中的插入子編碼的 VL 序列。

E63. 如實施態樣第 1 至 4 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位進一步包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Glu 100、Glu 101、Asp 102、Gly 104 及 Tyr 109(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E64. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位進一步包含 Glu

100、Glu 101、Asp 102、Gly 104 及 Tyr 109(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E65. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 64 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位不包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：P103、T111、Y113、F114、N116、Q118、Q121、C122、E123、R124、F125、K126 及 L140(根據 SEQ ID NO：2 之編號)。

E66. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 65 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位不包含：P103、T111、Y113、F114、N116、Q118、Q121、C122、E123、R124、F125、K126 及 L140(根據 SEQ ID NO：2 之編號)。

E67. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 64 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位不包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：D31、D32、P34、C35、K36、P103、K126、Y127、G128(根據 SEQ ID NO：2 之編號)。

E68. 如實施態樣第 1 至 4 項、63 至 64 項及 67 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位不包含：D31、D32、P34、C35、K36、P103、K126、Y127、G128(根據 SEQ ID NO：2 之編號)。

E69. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 68 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含下列殘基(根據 Kabat 編號)：H33 Ala、H35 Gln、H52 Ser、H53 Asn、H55

Arg、H56 Ser、H95 Phe、H96 Leu、H97 His、H99 Ser、H101 Asp、L31 Met、L32 Tyr、L34 His、L36 Tyr、L50 Arg、L91 Trp 及 L96 Tyr。

E70. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 69 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之 VH：

(a)包含 SEQ ID NO：48 之胺基酸序列的 CDR-H1；

(b)包含 SEQ ID NO：49 之胺基酸序列的 CDR-H2；及

(c)包含 SEQ ID NO：50 之胺基酸序列的 CDR-H3。

E71. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 69 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：51 之 CDR-H1、CDR-H2 及 CDR-H3 序列。

E72. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 71 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH3、VH1 或 VH5 框架序列。

E73. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 72 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGHV3-23 或 IGHV1-69 之 VH 框架序列。

E74. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 72 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGHV3-7 之 VH 框架序列。

E75. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 71 項中任一項

之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH 種系共有框架序列。

E76. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 75 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VH：SEQ ID NO：67、69、51 及 79。

E77. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 76 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有選自由下列所組成之群組的胺基酸序列之 VH：SEQ ID NO：67、69、51 及 79。

E78. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 77 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：67 之胺基酸序列的 VH。

E79. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 77 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：69 之胺基酸序列的 VH。

E80. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 77 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：51 之胺基酸序列的 VH。

E81. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 77 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：79 之胺基酸序列的重鏈可變區(VH)。

E82. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 81 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之 VL：

(a)包含 SEQ ID NO：43 之胺基酸序列的 CDR-L1；

(b)包含 SEQ ID NO：44 之胺基酸序列的 CDR-L2；及

(c)包含 SEQ ID NO：45 之胺基酸序列的 CDR-L3。

E83. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 81 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：46 之 CDR-L1、CDR-L2 及 CDR-L3 序列。

E84. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 83 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 V_κ 或 V_λ 框架序列。

E85. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 84 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGKV3-20 或 IGKV1-39 之 VL 框架序列。

E86. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 83 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VL 種系共有框架序列。

E87. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 86 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與選自由下列所組成之群組的序列具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VL：SEQ ID NO：46、71、73、75 及 77。

E88. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 87 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有選自由下列所組成之群組的胺基酸序列之 VL：SEQ ID NO：46、71、73、75 及 77。

E89. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 88 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：46 之胺基酸序列的 VL。

E90. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 88 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：71 之胺基酸序列的 VL。

E91. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 88 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：73 之胺基酸序列的 VL。

E92. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 88 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：75 之胺基酸序列的 VL。

E93. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 88 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：77 之胺基酸序列的 VL。

E94. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 93 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：20 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列的 CH。

E95. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 94 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列的 CH。

E96. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 95 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：26 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 CL。

E97. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 96 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：26 之胺基酸序列的 CL。

E98. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 97 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 Fc 結構域。

E99. 如實施態樣第 98 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgA 之 Fc 結構域。

E100. 如實施態樣第 99 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 IgA 為 IgA_1 或 IgA_2。

E101. 如實施態樣第 98 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgD、IgE 或 IgM 之 Fc 結構域。

E102. 如實施態樣第 98 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgG 之 Fc 結構域。

E103. 如實施態樣第 102 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 IgG 為 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4。

E104. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 103 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：52 之胺基酸序列的重鏈。

E105. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 103 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：68 之胺基酸序列的重鏈。

E106. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 103 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：70 之胺基酸序列的重鏈。

E107. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 103 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：80 之胺基酸序列的重鏈。

E108. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 107 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：47 之胺基酸序列的輕鏈。

E109. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 107 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：72 之胺基酸序列的輕鏈。

E110. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 107 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：74 之胺基酸序列的輕鏈。

E111. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 107 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：76 之胺基酸序列的輕鏈。

E112. 如實施態樣第 1 至 4 項及 63 至 107 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：78 之胺基酸序列的輕鏈。

E113. 一種特異結合組織因子途徑抑制劑(TFPI)之 Kunitz 結構域 2(K2)中之抗原決定部位之經分離的抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位包含殘基 Glu101、Pro103、Tyr109、Thr111、Ser119、Gln121、Glu123、Arg124、Lys126 及 Leu140(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E114. 如實施態樣第 113 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段不結合 TFPI 之 Kunitz 結構域 1(K1)。

E115. 如實施態樣第 113 或 114 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位不包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：E100、D102、R107、Y113、F114、N116、Q118 及 C122(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

E116. 如實施態樣第 113 至 115 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位不包含：E100、D102、R107、Y113、F114、N116、Q118 及 C122(根據 SEQ ID NO：2 之編號)。

E117. 如實施態樣第 113 或 114 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位不包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：D31、D32、P34、C35、K36、E100、I105、R107、G108、Y127 及 G128(根據 SEQ ID NO：2 之編號)。

E118. 如實施態樣第 113 至 114 項及 117 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位不包含：D31、D32、P34、C35、K36、E100、I105、R107、G108、Y127 及 G128(根據 SEQ ID NO：2 之編號)。

E119. 如實施態樣第 113 至 118 項之抗體或其抗原結合片段，其包含下列殘基(根據 Kabat 編號)：H50 Asp、H57 Thr、H58 Leu、H59 Tyr、H61 Gln、H98 Asp、H99 Tyr、H100 Asp、L30 His、L50Trp、L92Tyr、L93 Thr、

L94 Thr 及 L96 Tyr。

E120. 如實施態樣第 113 至 119 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之 VH：

(a)包含 SEQ ID NO：87 之胺基酸序列的 CDR-H1；

(b)包含 SEQ ID NO：88 之胺基酸序列的 CDR-H2；及

(c)包含 SEQ ID NO：89 之胺基酸序列的 CDR-H3。

E121. 如實施態樣第 113 至 119 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：90 之 CDR-H1、CDR-H2 及 CDR-H3 序列。

E122. 如實施態樣第 113 至 121 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH3、VH1 或 VH5 框架序列。

E123. 如實施態樣第 113 至 122 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGHV3-23、IGHV1-69 或 IGHV3-7 之 VH 框架序列。

E124. 如實施態樣第 113 至 121 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH 種系共有框架序列。

E125. 如實施態樣第 113 至 124 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VH：SEQ ID NO：90、95、97、99、101、103、105 及

107。

E126. 如實施態樣第 113 至 125 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有選自由下列所組成之群組的胺基酸序列之 VH：SEQ ID NO：90、95、97、99、101、103、105 及 107。

E127. 如實施態樣第 113 至 126 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：90 之胺基酸序列的 VH。

E128. 如實施態樣第 113 至 126 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：95 之胺基酸序列的 VH。

E129. 如實施態樣第 113 至 126 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：97 之胺基酸序列的 VH。

E130. 如實施態樣第 113 至 126 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：99 之胺基酸序列的 VH。

E131. 如實施態樣第 113 至 126 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：101 之胺基酸序列的 VH。

E132. 如實施態樣第 113 至 126 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：103 之胺基酸序列的 VH。

E133. 如實施態樣第 113 至 126 項中任一項之抗體或

其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：105 之胺基酸序列的 VH。

E134. 如實施態樣第 113 至 126 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：107 之胺基酸序列的 VH。

E135. 如實施態樣第 113 至 134 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之 VL：

(a)包含 SEQ ID NO：81 之胺基酸序列的 CDR-L1；

(b)包含 SEQ ID NO：82 之胺基酸序列的 CDR-L2；及

(c)包含 SEQ ID NO：83 之胺基酸序列的 CDR-L3。

E136. 如實施態樣第 113 至 134 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：84 之 CDR-L1、CDR-L2 及 CDR-L3 序列。

E137. 如實施態樣第 113 至 136 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 V_{κ} 或 V_{λ} 框架序列。

E138. 如實施態樣第 113 至 137 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGKV3-20 或 IGKV1-39 之 VL 框架序列。

E139. 如實施態樣第 113 至 136 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VL 種系共有框架序列。

E140. 如實施態樣第 113 至 139 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與選自由下列所組成之群組的胺基酸序列具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之

VL：SEQ ID NO：84、109及111。

E141. 如實施態樣第113至140項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有選自由下列所組成之群組的胺基酸序列之VL：SEQ ID NO：84、109及111。

E142. 如實施態樣第113至141項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有SEQ ID NO：84之胺基酸序列的VL。

E143. 如實施態樣第113至141項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有SEQ ID NO：109之胺基酸序列的VL。

E144. 如實施態樣第113至141項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有SEQ ID NO：111之胺基酸序列的VL。

E145. 如實施態樣第113至144項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與SEQ ID NO：20具有至少90%之同一性的胺基酸序列之CH。

E146. 如實施態樣第113至145項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有SEQ ID NO：20之胺基酸序列的CH。

E147. 如實施態樣第113至144項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與SEQ ID NO：91具有至少90%之同一性的胺基酸序列之CH。

E148. 如實施態樣第113至144項及147項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有SEQ ID NO：91

之胺基酸序列的 CH。

E149. 如實施態樣第 113 至 148 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：14 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 CL。

E150. 如實施態樣第 113 至 149 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：14 之胺基酸序列的 CL。

E151. 如實施態樣第 113 至 148 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：85 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 CL。

E152. 如實施態樣第 113 至 148 項及第 151 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：85 之胺基酸序列的 CL。

E153. 如實施態樣第 113 至 152 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 Fc 結構域。

E154. 如實施態樣第 153 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgA(例如 IgA_1 或 IgA_2)之 Fc 結構域。

E155. 如實施態樣第 153 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgD、IgE 或 IgM 之 Fc 結構域。

E156. 如實施態樣第 153 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgG 之 Fc 結構域。

E157. 如實施態樣第 156 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該 IgG 為 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4。

E158. 如實施態樣第 113 至 157 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：92 之胺基酸序列的重鏈。

E159. 如實施態樣第 113 至 157 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：94 之胺基酸序列的重鏈。

E160. 如實施態樣第 113 至 157 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：96 之胺基酸序列的重鏈。

E161. 如實施態樣第 113 至 157 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：98 之胺基酸序列的重鏈。

E162. 如實施態樣第 113 至 157 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：100 之胺基酸序列的重鏈。

E163. 如實施態樣第 113 至 157 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：102 之胺基酸序列的重鏈。

E164. 如實施態樣第 113 至 157 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：104 之胺基酸序列的重鏈。

E165. 如實施態樣第 113 至 157 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：106 之胺基酸序列的重鏈。

E166. 如實施態樣第 113 至 157 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：108 之胺基酸序列的重鏈。

E167. 如實施態樣第 113 至 166 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：86 之胺基酸序列的輕鏈。

E168. 如實施態樣第 113 至 166 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：93 之胺基酸序列的輕鏈。

E169. 如實施態樣第 113 至 166 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：110 之胺基酸序列的輕鏈。

E170. 如實施態樣第 113 至 166 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：112 之胺基酸序列的輕鏈。

E171. 一種特異結合 TFPI 之 Kunitz 結構域 2(K2)之經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之 VH：

(a)包含 SEQ ID NO：16 之胺基酸序列的 CDR-H1；

(b)包含 SEQ ID NO：17 之胺基酸序列的 CDR-H2；及

(c)包含 SEQ ID NO：18 之胺基酸序列的 CDR-H3。

E172. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域之經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：19 之 CDR-H1、CDR-H2 及 CDR-H3 序列。

E173. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域之經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之 VL：

(a)包含 SEQ ID NO：10 之胺基酸序列的 CDR-L1；

(b)包含 SEQ ID NO：11 之胺基酸序列的 CDR-L2；及

(c)包含 SEQ ID NO：12 之胺基酸序列的 CDR-L3。

E174. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：13 之 CDR-L1、CDR-L2 及 CDR-L3 序列。

E175. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含：

(i)VH，其包含：

(a)包含 SEQ ID NO：16 之胺基酸序列的 CDR-H1；

(b)包含 SEQ ID NO：17 之胺基酸序列的 CDR-H2；及

(c)包含 SEQ ID NO：18 之胺基酸序列的 CDR-H3；

及(ii) VL，其包含：

(a)包含 SEQ ID NO：10 之胺基酸序列的 CDR-L1；

(b)包含 SEQ ID NO：11 之胺基酸序列的 CDR-L2；

及

(c)包含 SEQ ID NO：12 之胺基酸序列的 CDR-L3。

E176. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：19 之 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 序列及 SEQ ID NO：13 之 CDR-L1、CDR L3 和 CDR-L3 序列。

E177. 如實施態樣第 171 至 176 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH3、VH1 或 VH5 框架序列。

E178. 如實施態樣第 171 至 177 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGHV3-23、IGHV1-69 或 IGHV3-7 之 VH 框架序列。

E179. 如實施態樣第 171 至 176 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH 種系共有框架序列。

E180. 如實施態樣第 171 至 179 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：19 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VH。

E181. 如實施態樣第 171 至 180 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：19 之胺基酸序列的 VH。

E182. 如實施態樣第 171 至 181 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 V_K 或 V_λ 框架序列。

E183. 如實施態樣第 171 至 182 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGKV3-20 或 IGKV1-

39 之 VL 框架序列。

E184. 如實施態樣第 171 至 181 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VL 種系共有框架序列。

E185. 如實施態樣第 171 至 184 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：13 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VL。

E186. 如實施態樣第 171 至 185 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：13 之胺基酸序列的 VL。

E187. 如實施態樣第 171 至 186 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：20 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 CH。

E188. 如實施態樣第 171 至 187 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列的 CH。

E189. 如實施態樣第 171 至 188 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：14 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 CL。

E190. 如實施態樣第 171 至 189 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：14 之胺基酸序列的 CL。

E191. 如實施態樣第 171 至 190 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 Fc 結構域。

E192. 如實施態樣第 191 項之抗體或其抗原結合片

段，其中該 Fc 結構域為 IgA(例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgD、IgE 或 IgM 之 Fc 結構域。

E193. 如實施態樣第 191 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgG 之 Fc 結構域。

E194. 如實施態樣第 191 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 IgG 為 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4。

E195. 如實施態樣第 171 至 194 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：21 之胺基酸序列的重鏈。

E196. 如實施態樣第 171 至 195 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：15 之胺基酸序列的輕鏈。

E197. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之 VH：

(a)包含 SEQ ID NO：28 之胺基酸序列的 CDR-H1；

(b)包含 SEQ ID NO：29 之胺基酸序列的 CDR-H2；及

(c)包含 SEQ ID NO：30 之胺基酸序列的 CDR-H3。

E198. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：31 之 CDR-H1、CDR-H2 及 CDR-H3 序列。

E199. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之

抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之 VL：

(a)包含 SEQ ID NO：22 之胺基酸序列的 CDR-L1；

(b)包含 SEQ ID NO：23 之胺基酸序列的 CDR-L2；及

(c)包含 SEQ ID NO：24 之胺基酸序列的 CDR-L3。

E200. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：25 之 CDR-L1、CDR-L2 及 CDR-L3 序列。

E201. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含：

(i)VH，其包含：

(a)包含 SEQ ID NO：28 之胺基酸序列的 CDR-H1；

(b)包含 SEQ ID NO：29 之胺基酸序列的 CDR-H2；及

(c)包含 SEQ ID NO：30 之胺基酸序列的 CDR-H3；

及(ii) VL，其包含：

(a)包含 SEQ ID NO：22 之胺基酸序列的 CDR-L1；

(b)包含 SEQ ID NO：23 之胺基酸序列的 CDR-L2；及

(c)包含 SEQ ID NO：24 之胺基酸序列的 CDR-L3。

E202. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：31 之 CDR-

H1、CDR-H2 和 CDR-H3 序列及 SEQ ID NO：25 之 CDR-L1、CDR L2 及 CDR-L3 序列。

E203. 如實施態樣第 197 至 202 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 人類 VH3、VH1 或 VH5 框架序列。

E204. 如實施態樣第 197 至 203 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGHV3-23、IGHV1-69 或 IGHV3-7 之 VH 框架序列。

E205. 如實施態樣第 197 至 202 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH 種系共有框架序列。

E206. 如實施態樣第 197 至 205 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：31 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VH。

E207. 如實施態樣第 197 至 206 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：31 之胺基酸序列的 VH。

E208. 如實施態樣第 197 至 207 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 V_κ 或 V_λ 框架序列。

E209. 如實施態樣第 197 至 208 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGKV3-20 或 IGKV1-39 之 VL 框架序列。

E210. 如實施態樣第 197 至 207 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VL 種系共有框架序列。

E211. 如實施態樣第 197 至 210 項中任一項之抗體或

其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：25 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VL。

E212. 如實施態樣第 197 至 211 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：25 之胺基酸序列的 VL。

E213. 如實施態樣第 197 至 212 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：20 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VL。

E214. 如實施態樣第 197 至 213 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列的 VL。

E215. 如實施態樣第 197 至 214 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：26 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VL。

E216. 如實施態樣第 197 至 215 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：26 之胺基酸序列的 VL。

E217. 如實施態樣第 197 至 216 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 Fc 結構域。

E218. 如實施態樣第 217 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgA(例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgD、IgE 或 IgM 之 Fc 結構域。

E219. 如實施態樣第 217 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgG(例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或

IgG_4)之 Fc 結構域。

E220. 如實施態樣第 197 至 219 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：32 之胺基酸序列的重鏈。

E221. 如實施態樣第 197 至 220 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：27 之胺基酸序列的輕鏈。

E222. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之重鏈可變區(VH)：

(a)包含 SEQ ID NO：58 之胺基酸序列的 CDR-H1；

(b)包含 SEQ ID NO：59 之胺基酸序列的 CDR-H2；及

(c)包含 SEQ ID NO：60 之胺基酸序列的 CDR-H3。

E223. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：61 之 CDR-H1、CDR-H2 及 CDR-H3 序列。

E224. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之 VL：

(a)包含 SEQ ID NO：53 之胺基酸序列的 CDR-L1；

(b)包含 SEQ ID NO：54 之胺基酸序列的 CDR-L2；及

(c)包含 SEQ ID NO：55 之胺基酸序列的 CDR-L3。

E225. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：56 之 CDR-L1、CDR-L2 及 CDR-L3 序列。

E226. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含：

(i)VH，其包含：

(a)包含 SEQ ID NO：58 之胺基酸序列的 CDR-H1；

(b)包含 SEQ ID NO：59 之胺基酸序列的 CDR-H2；及

(c)包含 SEQ ID NO：60 之胺基酸序列的 CDR-H3；

及(ii) VL，其包含：

(a)包含 SEQ ID NO：53 之胺基酸序列的 CDR-L1；

(b)包含 SEQ ID NO：54 之胺基酸序列的 CDR-L2；及

(c)包含 SEQ ID NO：55 之胺基酸序列的 CDR-L3。

E227. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：61 之 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 序列及 SEQ ID NO：56 之 CDR-L1、CDR L3 和 CDR-L3 序列。

E228. 如實施態樣第 222 至 227 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH3、VH1 或 VH5 框架序

列。

E229. 如實施態樣第 222 至 228 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGHV3-23、IGHV1-69 或 IGHV3-7 之 VH 框架序列。

E230. 如實施態樣第 222 至 227 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH 種系共有框架序列。

E231. 如實施態樣第 222 至 230 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：61 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VH。

E232. 如實施態樣第 222 至 231 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：61 之胺基酸序列的 VH。

E233. 如實施態樣第 222 至 232 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 V_κ 或 V_λ 框架序列。

E234. 如實施態樣第 222 至 233 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGKV3-20 或 IGKV1-39 之 VL 框架序列。

E235. 如實施態樣第 222 至 232 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VL 種系共有框架序列。

E236. 如實施態樣第 222 至 235 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：56 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VL。

E237. 如實施態樣第 222 至 236 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：56 之胺基酸

序列的 VL。

E238. 如實施態樣第 222 至 237 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：20 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 CH。

E239. 如實施態樣第 222 至 238 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列的 CH。

E240. 如實施態樣第 222 至 239 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：26 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 CL。

E241. 如實施態樣第 222 至 240 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：26 之胺基酸序列的 CL。

E242. 如實施態樣第 222 至 241 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 Fc 結構域。

E243. 如實施態樣第 222 至 242 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgA(例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgD、IgE 或 IgM 之 Fc 結構域。

E244. 如實施態樣第 242 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgG(例如 gG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4)之 Fc 結構域。

E245. 如實施態樣第 222 至 244 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：62 之胺基酸序列的重鏈。

E246. 如實施態樣第 222 至 245 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：57 之胺基酸序列的輕鏈。

E247. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之 VH：

(a)包含 SEQ ID NO：118 之胺基酸序列的 CDR-H1；

(b)包含 SEQ ID NO：119 之胺基酸序列的 CDR-H2；及

(c)包含 SEQ ID NO：120 之胺基酸序列的 CDR-H3。

E248. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：121 之 CDR-H1、CDR-H2 及 CDR-H3 序列。

E249. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之 VL：

(a)包含 SEQ ID NO：113 之胺基酸序列的 CDR-L1；

(b)包含 SEQ ID NO：114 之胺基酸序列的 CDR-L2；及

(c)包含 SEQ ID NO：115 之胺基酸序列的 CDR-L3。

E250. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：116 之

CDR-L1、CDR-L2 B CDR-L3 序列。

E251. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含：

(i)VH，其包含：

(a)包含 SEQ ID NO：118 之胺基酸序列的 CDR-H1；

(b)包含 SEQ ID NO：119 之胺基酸序列的 CDR-H2；及

(c)包含 SEQ ID NO：120 之胺基酸序列的 CDR-H3；

及(ii)VL，其包含：

(a)包含 SEQ ID NO：113 之胺基酸序列的 CDR-L1；

(b)包含 SEQ ID NO：114 之胺基酸序列的 CDR-L2；及

(c)包含 SEQ ID NO：115 之胺基酸序列的 CDR-L3。

E252. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：121 之 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 序列，以及 SEQ ID NO：116 之 CDR-L1、CDR -L2 和 CDR-L3 序列。

E253. 如實施態樣第 247 至 253 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH3、VH1 或 VH5 框架序列。

E254. 如實施態樣第 247 至 253 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGHV3-23、IGHV1-69 或 IGHV3-7 之 VH 框架序列。

E255. 如實施態樣第 247 至 252 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH 種系共有框架序列。

E256. 如實施態樣第 247 至 255 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：121 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VH。

E257. 如實施態樣第 247 至 256 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：121 之胺基酸序列的 VH。

E258. 如實施態樣第 247 至 257 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 V_K 或 V_λ 框架序列。

E259. 如實施態樣第 247 至 258 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGKV3-20 或 IGKV1-39 之 VL 框架序列。

E260. 如實施態樣第 247 至 257 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VL 種系共有框架序列。

E261. 如實施態樣第 247 至 260 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：116 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VL。

E262. 如實施態樣第 247 至 261 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：116 之胺基酸序列的 VL。

E263. 如實施態樣第 247 至 262 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：91 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 CH。

E264. 如實施態樣第 247 至 263 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：91 之胺基酸序列的 CH。

E265. 如實施態樣第 247 至 264 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：85 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 CL。

E266. 如實施態樣第 247 至 265 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：85 之胺基酸序列的 CL。

E267. 如實施態樣第 247 至 266 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 Fc 結構域。

E268. 如實施態樣第 267 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgA(例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgD、IgE 或 IgM 之 Fc 結構域。

E269. 如實施態樣第 267 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgG(例如 gG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4)之 Fc 結構域。

E270. 如實施態樣第 247 至 269 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：122 之胺基酸序列的重鏈。

E271. 如實施態樣第 247 至 270 項中任一項之抗體或

其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：117 之胺基酸序列的輕鏈。

E272. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之 VH：

(a)包含 SEQ ID NO：128 之胺基酸序列的 CDR-H1；

(b)包含 SEQ ID NO：129 之胺基酸序列的 CDR-H2；及

(c)包含 SEQ ID NO：130 之胺基酸序列的 CDR-H3。

E273. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：131 之 CDR-H1、CDR-H2 及 CDR-H3 序列。

E274. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含含有下列群組之 VL：

(a)包含 SEQ ID NO：123 之胺基酸序列的 CDR-L1；

(b)包含 SEQ ID NO：124 之胺基酸序列的 CDR-L2；及

(c)包含 SEQ ID NO：125 之胺基酸序列的 CDR-L3。

E275. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：126 之 CDR-L1、CDR L3 和 CDR-L3 序列。

E276. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含：

(i)VH，其包含：

(a)包含 SEQ ID NO：128 之胺基酸序列的 CDR-H1；

(b)包含 SEQ ID NO：129 之胺基酸序列的 CDR-H2；及

(c)包含 SEQ ID NO：130 之胺基酸序列的 CDR-H3；

及(ii) VL，其包含：

(a)包含 SEQ ID NO：123 之胺基酸序列的 CDR-L1；

(b)包含 SEQ ID NO：124 之胺基酸序列的 CDR-L2；及

(c)包含 SEQ ID NO：125 之胺基酸序列的 CDR-L3。

E277. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域的經分離之抗體或其抗原結合片段，其包含 SEQ ID NO：131 之 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 序列及 SEQ ID NO：126 之 CDR-L1、CDR L3 和 CDR-L3 序列。

E278. 如實施態樣第 272 至 277 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH3、VH1 或 VH5 框架序列。

E279. 如實施態樣第 272 至 278 項中任一項之抗體或

其抗原結合片段，其包含人類 IGHV3-23、IGHV1-69 或 IGHV3-7 之 VH 框架序列。

E280. 如實施態樣第 272 至 277 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VH 種系共有框架序列。

E281. 如實施態樣第 272 至 280 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：131 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VH。

E282. 如實施態樣第 272 至 281 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：131 之胺基酸序列的 VH。

E283. 如實施態樣第 272 至 282 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 V_K 或 V_λ 框架序列。

E284. 如實施態樣第 272 至 283 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類種系 IGKV3-20 或 IGKV1-39 之 VL 框架序列。

E285. 如實施態樣第 272 至 282 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含人類 VL 種系共有框架序列。

E286. 如實施態樣第 272 至 285 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：126 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 VL。

E287. 如實施態樣第 272 至 286 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：126 之胺基酸序列的 VL。

E288. 如實施態樣第 272 至 287 項中任一項之抗體或

其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：91 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 CH。

E289. 如實施態樣第 272 至 288 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：91 之胺基酸序列的 CH。

E290. 如實施態樣第 272 至 289 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有與 SEQ ID NO：85 具有至少 90%之同一性的胺基酸序列之 CL。

E291. 如實施態樣第 272 至 290 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：85 之胺基酸序列的 CL。

E292. 如實施態樣第 272 至 291 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含 Fc 結構域。

E293. 如實施態樣第 292 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgA(例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgD、IgE 或 IgM 之 Fc 結構域。

E294. 如實施態樣第 292 項之抗體或其抗原結合片段，其中該 Fc 結構域為 IgG(例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4)之 Fc 結構域。

E295. 如實施態樣第 272 至 294 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：132 之胺基酸序列的重鏈。

E296. 如實施態樣第 272 至 295 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：127 之胺基酸

序列的輕鏈。

E297. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與如實施態樣第 1 至 296 項中任一項之抗體或其抗原結合片段競爭結合 TFPI。

E298. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與選自由下列所組成之群組的抗體競爭結合 TFPI：TFPI-3、TFPI-21、TFPI-23、TFPI-24、TFPI-26、TFPI-106、TFPI-107、TFPI-108、TFPI-109、TFPI-110、TFPI-111、TFPI-112、TFPI-113、TFPI-114、TFPI-115、TFPI-118、TFPI-119、TFPI-122、TFPI-123、TFPI-126、4D8.b1、mu-hu 4D8 嵌合體、4D8-Vk1.0 x VH1.0、4D8-Vk1.0 x VH1.1、4D8-Vk1.0 x VH1.2、4D8-Vk1.0 x VH1.3、4D8-Vk1.0 x VH1.4、4D8-Vk1.0 x VH1.5、4D8-Vk1.0 x VH1.6、4D8-Vk1.1 x VH1.0、4D8-Vk1.1 x VH1.1、4D8-Vk1.1 x VH1.2、4D8-Vk1.1 x VH1.3、4D8-Vk1.1 x VH1.4、4D8-Vk1.1 x VH1.5、4D8-Vk1.1 x VH1.6、hz4D8、6B7.c5 及 7A4.D9。

E299. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與選自由下列所組成之群組的抗體競爭結合 TFPI：TFPI-23、TFPI-24、TFPI-106 及 TFPI-118。

E300. 如實施態樣第 299 項之抗體或其抗原結合片

段，其中該抗體或其抗原結合片段與 TFPI-23 或 TFPI-106 競爭結合 TFPI。

E301. 如實施態樣第 299 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與 TFPI-24 或 TFPI-118 競爭結合 TFPI。

E302. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與抗體 4D8 競爭結合 TFPI。

E303. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與實施態樣第 1 至 296 項中任一項之抗體或其抗原結合片段結合至相同之 TFPI 抗原決定部位。

E304. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與選自由下列所組成之群組的抗體結合至相同之 TFPI 抗原決定部位：TFPI-3、TFPI-21、TFPI-23、TFPI-24、TFPI-26、TFPI-106、TFPI-107、TFPI-108、TFPI-109、TFPI-110、TFPI-111、TFPI-112、TFPI-113、TFPI-114、TFPI-115、TFPI-118、TFPI-119、TFPI-122、TFPI-123、TFPI-126、4D8.b1、mu-hu 4D8 嵌合體、4D8-Vk1.0 x VH1.0、4D8-Vk1.0 x VH1.1、4D8-Vk1.0 x VH1.2、4D8-Vk1.0 x VH1.3、4D8-Vk1.0 x VH1.4、4D8-Vk1.0 x VH1.5、4D8-Vk1.0 x VH1.6、4D8-Vk1.1 x VH1.0、4D8-Vk1.1 x VH1.1、4D8-Vk1.1 x VH1.2、4D8-Vk1.1 x VH1.3、4D8-

Vk1.1 x VH1.4、4D8-Vk1.1 x VH1.5、4D8-Vk1.1 x VH1.6、hz4D8、6B7.c5 及 7A4.D9。

E305. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與選自由下列所組成之群組的抗體結合至相同之 TFPI 抗原決定部位：TFPI-23、TFPI-24、TFPI-106 及 TFPI-118。

E306. 如實施態樣第 305 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與 TFPI-23 或 TFPI-106 結合至相同之 TFPI 抗原決定部位。

E307. 如實施態樣第 305 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與 TFPI-24 或 TFPI-118 結合至相同之 TFPI 抗原決定部位。

E308. 一種特異結合 TFPI 之 K2 結構域之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與抗體 4D8 結合至相同之 TFPI 抗原決定部位。

E309. 如實施態樣第 297 至 308 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段不與 TFPI 之 K1 結構域結合。

E310. 如實施態樣第 1 至 309 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段為 Fc 融合蛋白、單域抗體(monobody)、大型抗體(maxibody)、雙功能抗體、scFab、scFv、肽體(peptibody)或前述任何抗原結合片段。

E311. 如實施態樣第 1 至 310 項中任一項之抗體或其

抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以約 1×10^{-7} M 至約 1×10^{-12} M 之結合親和力(Kd) 值結合 TFPI。

E312. 如實施態樣第 1 至 311 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以約 5×10^{-7} M 至約 5×10^{-11} M 之結合親和力(Kd)值結合 TFPI。

E313. 如實施態樣第 1 至 312 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段以約 1×10^{-8} M 至約 1×10^{-10} M 之結合親和力(Kd) 值結合 TFPI。

E314. 如實施態樣第 1 至 313 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段：(i) 減少如在基於血漿之稀釋凝血酶原時間(dPT)分析中所測量之凝血時間；(ii) 減少如藉由血栓消融術(thromboelastrography) 或旋轉血栓彈性分析術(thromboelastometry) 所測量之全血凝血時間；(iii)增加凝血酶生成；(iv) 增加存有 TFPI 時之 FXa 活性；或(v)彼等之任何組合。

E315. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段減少如在基於血漿之稀釋凝血酶原時間分析中所測量之凝血時間。

E316. 如實施態樣第 315 項之抗體或其抗原結合片段，其中該如在基於血漿之稀釋凝血酶原時間分析中所測量之凝血時間減少為劑量依賴性。

E317. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段減少如藉由血栓消融術

或旋轉血栓彈性分析術所測量之全血凝血時間。

E318. 如實施態樣第 317 項之抗體或其抗原結合片段，其中該如藉由血栓消融術或旋轉血栓彈性分析術所測量之全血凝血時間減少為劑量依賴性。

E319. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段增加凝血酶生成。

E320. 如實施態樣第 319 項之抗體或其抗原結合片段，其中該凝血酶生成之增加為劑量依賴性。

E321. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段增加存有 TFPI 時之 FXa 活性。

E322. 如實施態樣第 321 項之抗體或其抗原結合片段，其中該存有 TFPI 時增加之 FXa 活性為劑量依賴性。

E323. 如實施態樣第 322 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體增進存有 TFPI 時之血小板累積。

E324. 如實施態樣第 323 項之抗體或其抗原結合片段，其中該存有 TFPI 時增進之血小板累積為劑量依賴性。

E325. 如實施態樣第 324 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體增加存有 TFPI 時之纖維蛋白生成。

E326. 如實施態樣第 325 項之抗體或其抗原結合片段，其中該存有 TFPI 時增加之纖維蛋白生成為劑量依賴性。

E327. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片

段，其中該全血凝血時間減少係使用從患有嚴重 A 型血友病之人類患者取得之全血測定。

E328. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該全血凝血時間減少係使用從患有嚴重 A 型血友病之人類患者取得之全血及針對人類第 VIII 因子之抑制性抗體測定。

E329. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該全血凝血時間減少係使用從患有中度 A 型血友病之人類患者取得之全血測定。

E330. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該全血凝血時間減少係使用從患有嚴重 B 型血友病之人類患者取得之全血測定。

E331. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該全血凝血時間減少係使用從患有嚴重 B 型血友病之人類患者取得之全血及針對人類第IX因子之抑制性抗體測定。

E332. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該全血凝血時間減少係使用從患有中度 B 型血友病之人類患者取得之全血測定。

E333. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該如在 dPT 分析中所測量之凝血時間減少係使用從患有嚴重 A 型血友病之人類患者取得之血漿測定。

E334. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該如在 dPT 分析中所測量之凝血時間減少係使用

從患有嚴重 A 型血友病之人類患者取得之血漿及針對人類第 VIII 因子之抑制性抗體測定。

E335. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該如在 dPT 分析中所測量之凝血時間減少係使用從患有中度 A 型血友病之人類患者取得之血漿測定。

E336. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該如在 dPT 分析中所測量之凝血時間減少係使用從患有嚴重 B 型血友病之人類患者取得之血漿測定。

E337. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該如在 dPT 分析中所測量之凝血時間減少係使用從患有嚴重 B 型血友病之人類患者取得之血漿及針對人類第 IX 因子之抑制性抗體測定。

E338. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該如在 dPT 分析中所測量之凝血時間減少係使用從患有中度 B 型血友病之人類患者取得之血漿測定。

E339. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該凝血酶生成增加係使用從患有嚴重 A 型血友病之人類患者取得之血漿測定。

E340. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該凝血酶生成增加係使用從患有嚴重 A 型血友病之人類患者取得之血漿及針對人類第 VIII 因子之抑制性抗體測定。

E341. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該凝血酶生成增加係使用從患有中度 A 型血友病

之人類患者取得之血漿測定。

E342. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該凝血酶生成增加係使用從患有嚴重 B 型血友病之人類患者取得之血漿測定。

E343. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該凝血酶生成增加係使用從患有嚴重 B 型血友病之人類患者取得之血漿及針對人類第IX因子之抑制性抗體測定。

E344. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中該凝血酶生成增加係使用從患有中度 B 型血友病之人類患者取得之血漿測定。

E345. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中 100nM 之該抗體或其抗原結合片段在減少從患有嚴重 A 型血友病之人類患者取得之全血的凝血時間上至少與足以取得 5%正常凝血活性之重組型人類第 VIII 因子之量同樣有效。

E346. 如實施態樣第 314 項之抗體或其抗原結合片段，其中 100nM 之該抗體或其抗原結合片段在增加從患有嚴重 A 型血友病之人類患者取得之富集血小板血漿之峰值凝血酶生成上至少與足以取得 5%正常凝血活性之重組型人類第 VIII 因子之量同樣有效。

E347. 如實施態樣第 1 至 346 項中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中該 TFPI 為人類 TFPI。

E348 . 如實施態樣第 1 至 347 項中任一項之抗體或

其抗原結合片段，其中該 TFPI 包含 SEQ ID NO：2 之殘基 91 至 147。

E349. 一種經分離之核酸分子或核酸分子類之，其包含一或多個編碼如實施態樣第 1 至 348 項中任一項之抗體或其抗原結合片段的核苷酸序列。

E350. 一種編碼特異性結合 TFPI 之抗體或其抗原結合片段之經分離的核酸分子，其中該核酸包含選自由下列所組成之群組的核酸序列：SEQ ID NO：175 之核酸序列、SEQ ID NO：176 之核酸序列、SEQ ID NO：177 之核酸序列、SEQ ID NO：178 之核酸序列、以 mAb-TFPI-106 VL 寄存在 ATCC 編號 PTA-122328 下之載體的插入子核酸序列及以 mAb-TFPI-106 VH 寄存在 ATCC 編號 PTA-122329 下之載體的插入子核酸序列。

E351. 一種載體，其包含如實施態樣第 349 及 350 項之核酸分子。

E352. 一種宿主細胞，其包含如實施態樣第 349 或 350 項之核酸分子或如實施態樣第 351 項之載體。

E353. 如實施態樣第 352 項之宿主細胞，其中該細胞為哺乳動物細胞。

E354. 如實施態樣第 353 項之宿主細胞，其中該宿主細胞為 CHO 細胞、HEK-293 細胞或 Sp2.0 細胞。

E355. 一種製造抗體或其抗原結合片段之方法，其包含在其中該抗體或其抗原結合片段係由該宿主細胞表現之條件下培養如實施態樣第 352 至 354 項中任一項之宿主細

胞。

E356. 如實施態樣第 355 項之方法，其進一步包含分離該抗體或其抗原結合片段。

E357. 一種抗體或其抗原結合片段，其係藉由如實施態樣第 355 或 356 項之方法取得。

E358. 一種醫藥組成物，其包含如實施態樣第 1 至 347 項及 357 項中任一項之抗體或其抗原結合片段及醫藥上可接受之載體或賦形劑。

E359. 一種降低組織因子途徑抑制劑(TFPI)之活性的方法，其包含對有此需要之個體投予治療有效量之如實施態樣第 1 至 347 項及 357 項中任一項之抗體或其抗原結合片段或如實施態樣第 358 項之醫藥組成物。

E360. 一種縮短出血時間之方法，其包含對有此需要之個體投予治療有效量之如實施態樣第 1 至 347 項及 357 項中任一項之抗體或其抗原結合片段或如實施態樣第 358 項之醫藥組成物。

E361. 如實施態樣第 358 或 360 項之方法，其中該個體為人類。

E362. 如實施態樣第 359 至 361 項中任一項之方法，其中該個體罹患或容易血液凝固不足。

E363. 如實施態樣第 359 至 361 項中任一項之方法，其中該個體罹患或容易罹患血小板病症。

E364. 如實施態樣第 359 至 361 項中任一項之方法，其中該個體罹患或容易罹患 A 型、B 型或 C 型血友病。

E365. 如實施態樣第 359 至 361 項中任一項之方法，其中該個體罹患或容易罹患 A 型或 B 型血友病。

E366. 如實施態樣第 359 至 361 項中任一項之方法，其中該個體罹患或容易罹患類血友病(von Willebrand disease)(vWD)。

E367. 如實施態樣第 360 項之方法，其進一步包含投予治療有效量之 FVII。

E368. 如實施態樣第 367 項之方法，其中該方法在存有 TFPI 時增加凝血酶生成。

E369. 如實施態樣第 359 至 368 項中任一項之方法，其包含經由靜脈內途徑投予該抗體或其抗原結合片段或醫藥組成物。

E370. 如實施態樣第 359 至 368 項中任一項之方法，其包含經由皮下途徑投予該抗體或其抗原結合片段或醫藥組成物。

E371. 如實施態樣第 359 至 368 項中任一項之方法，其該抗體或其抗原結合片段或醫藥組成物係每 3 天投予一次、每 4 天投予一次、每 5 天投予一次、每 6 天投予一次、每週投予一次或每週投予二次。

E372. 如實施態樣第 1 至 347 項及 357 項中任一項之抗體或其抗原結合片段或如實施態樣第 358 項之醫藥組成物，其係作為藥物。

E373. 如實施態樣第 1 至 347 項及 357 項中任一項之抗體或其抗原結合片段或如實施態樣第 358 項之醫藥組成

物，其係用於降低個體之 TFPI 活性。

E374. 如實施態樣第 1 至 347 項及 357 項中任一項之抗體或其抗原結合片段或如實施態樣第 358 項之醫藥組成物，其係用於縮短個體之出血時間。

E375. 如實施態樣第 372 至 374 項中任一項之抗體或抗原結合片段或醫藥組成物，其中該個體為人類。

E376. 如實施態樣第 372 至 375 項中任一項之抗體或抗原結合片段或醫藥組成物，其中該個體罹患或容易血液凝固不足。

E377. 如實施態樣第 372 至 375 項中任一項之抗體或抗原結合片段或醫藥組成物，其中該個體罹患或容易罹患 A 型、B 型或 C 型血友病。

E378. 如實施態樣第 372 至 375 項中任一項之抗體或抗原結合片段或醫藥組成物，其中該個體罹患或容易罹患 A 型或 B 型血友病。

E379. 如實施態樣第 372 至 375 項中任一項之抗體或抗原結合片段或醫藥組成物，其中該個體罹患或容易罹患類血友病(vWD)。

E380. 如實施態樣第 372 至 375 項中任一項之抗體或抗原結合片段或醫藥組成物，其中該個體罹患或容易罹患血小板病症。

E381. 一種如實施態樣第 1 至 348 項及 357 項中任一項之抗體或其抗原結合片段或如實施態樣第 358 項之醫藥組成物於降低個體之 TFPI 活性之用途。

E382. 一種如實施態樣第 1 至 348 項及 357 項中任一項之抗體或其抗原結合片段或如實施態樣第 358 項之醫藥組成物於製造用於降低個體之 TFPI 活性之藥物的用途。

E383. 一種如實施態樣第 1 至 348 項及 357 項中任一項之抗體或其抗原結合片段或如實施態樣第 358 項之醫藥組成物於縮短個體之出血時間的用途。

E384. 一種如實施態樣第 1 至 348 項及 357 項中任一項之抗體或其抗原結合片段或如實施態樣第 358 項之醫藥組成物於製造用於縮短個體之出血時間的藥物之用途。

E385. 如實施態樣第 381 至 384 項中任一項之用途，其中該個體為人類。

E386. 如實施態樣第 381 至 384 項中任一項之用途，其中該個體罹患或容易罹患血液凝固不足。

E387. 如實施態樣第 381 至 384 項中任一項之用途，其中該個體罹患或容易罹患 A 型、B 型或 C 型血友病。

E388. 如實施態樣第 381 至 384 項中任一項之用途，其中該個體罹患或容易罹患 A 型或 B 型血友病。

E389. 如實施態樣第 381 至 384 項中任一項之用途，其中該個體罹患或容易罹患類血友病(vWD)。

E390. 如實施態樣第 381 至 384 項中任一項之用途，其中該個體罹患或容易罹患血小板病症。

【圖式簡單說明】

[0009] 第 1A 至 1F 圖之圖形顯示各種抗 TFPI 抗體及

TFPI 之 K2 結構域的共晶體結構。尤其是，如第 1F 圖所示，與其他參考抗體相比較，本發明之示例性抗體 TFPI-23、TFPI-24 及 4D8 全部結合至 K2 結構域之非重疊抗原決定部位。TFPI-106 與 TFPI-23 結合至同一位點，而 TFPI-118 與 TFPI-24 結合至同一位點。“R&D”或“R&D Fab”係指來自 R&D 系統之抗體 Mab 2974。Novo2021 抗體亦稱為“hz4F36”。“選殖株 23”係指 TFPI-23；“選殖株 24”係指 TFPI-24。

[0010] 第 2A 至 2E 圖之圖形顯示在 TFPI 之 K2 結構域內之抗原決定部位殘基與來自各種抗 TFPI 抗體之抗體結合部位殘基之間的交互作用。“R&D”或“R&D Fab”係指來自 R&D 系統之抗體 Mab 2974。“選殖株 23”係指 TFPI-23；“選殖株 24”係指 TFPI-24。

[0011] 第 3A 至 3E 圖顯示在小鼠損傷模型中之各種抗 TFPI 抗體之體內效力。第 3A 和 3B 圖顯示當將 2A8-200 和 2A8 抗體(本研究中作為參考抗體)投予 A 型血友病第 VIII 因子缺乏(FVIII -/-)小鼠時，小鼠出血減少的持續時間。第 3C 圖顯示當將 TFPI 4D8(對照組)、TFPI-21、TFPI-23 及 TFPI-24 抗體投予 A 型血友病小鼠時抗體效力之持續時間。第 3D 和 3E 圖顯示當投予 A 型血友病小鼠 TFPI-106 和 TFPI-118 抗體時抗體效力之持續時間。在小鼠受傷前之指定時間點(小時(h))藉由靜脈內注射投予 A 型血友病小鼠(FVIII -/-) 6 mg/kg 之抗體。然後在橫斷尾部後，測量失血的總體積(μL)。以經載劑(生理鹽水)治療之

A 型血友病小鼠作為對照組。所有測量結果均以平均值± SEM 呈現。* = P <0.05。FVIII +/+(野生型)小鼠接受鹽水。n= 5/組。

[0012] 第 4 圖顯示當投予 B 型血友病小鼠 TFPI-106 抗體時，小鼠在橫斷尾部後之出血持續時間。在小鼠受傷前之指定時間點(小時(h))藉由靜脈內注射投予 B 型血友病小鼠(FVIII -/-) 6 mg/kg 之抗體。然後在橫斷尾部後，測量失血的總體積(μL)。以經載劑(生理鹽水)治療之 A 型血友病小鼠作為對照組。所有測量結果均以平均值± SEM 呈現。* = P <0.05。n= 4-5/組。

[0013] 第 5 圖包含 A 表板和 B 表板，其各包含六個表板(第 5A 圖，1 至 6 及第 5B 圖，1 至 6)，各表板顯示出活體顯微鏡檢查(IVM)之顯微照片，這些照片證明 TFPI 可在野生型小鼠體內血管損傷部位之血小板血栓及沿著內皮檢測到。第 5A 圖顯示使用結合血小板上之 GP1bβ 的經 Dylight 649 標記之 CD42c 所檢測到之損傷部位的血小板血栓增加。血小板是否存在係藉由表板 1(0 秒)；表板 2(15 秒)；表板 3(30 秒)；表板 4(60 秒)；表板 5(90 秒)；及表板 6(120 秒) 中之檢測到的螢光信號證明。亦投予經 Alexa 488 標記之陰性對照 IgG 且並未檢測到螢光。包含表板 1 至 6 之第 5B 圖顯示出 IVM 之顯微照片，其證明藉由雷射在野生型小鼠中誘導血管損傷後，小鼠之血小板血栓及沿著內皮存有 TFPI。在 0 秒(第 5B 圖，表板 1)時並未檢測到經 Alexa 488 標記之 TFPI(綠色信號以灰色顯

示)，而在 15 秒(第 5B 圖，表板 2)時可以看到微弱信號。在 30 秒(第 5B 圖，表板 3)時綠色螢光信號已增加並可看到微弱之紅色信號(經 Dylight 649 標記之 CD42c)，其指示在約與檢測到 TFPI 之相同位點檢測到血小板累積。如第 5B 圖所示，表板 4(60 秒)顯示強烈之綠色及紅色螢光信號(二者均為淺灰，其中紅色螢光可在血管損傷位點之左側看到，而綠色信號主要在朝向損傷部位之右側檢測到)，其證明在損傷部位檢測到血小板積累及 TFPI 二者。第 5B 圖之表板 5 顯示出在 60 秒前可在損傷部位看到紅色(血小板)和綠色(TFPI)螢光信號，其中此二種信號都較 30 秒之信號強。第 5B 圖之表板 6 顯示出紅色(血小板)信號及綠色(TFPI)信號減弱，在 120 秒時仍可在損傷部位檢測到此二者。

[0014] 第 6A 圖之圖形顯示利用 IVM 評估在 A 型血友病小鼠中經由雷射誘導血管損傷後 TFPI-106 之止血效果，其中該血小板血栓之量係以曲線下面積(AUC)表示 (*=指示 $P<0.005$)。第 6A 圖顯示與經投予鹽水之 A 型血友病小鼠在損傷後 0.5 小時缺乏血小板累積相比較，僅接受鹽水對照組之野生型小鼠(WT)在受傷後 0.5 小時在損傷部位之血小板累積。其中投予重組型第 VIII 因子(rFVIII)或 TFPI-106 之 A 型血友病小鼠在 0.5 小時可檢測血小板累積。經投予 TFPI-106 之 A 型血友病小鼠在 168 小時仍能檢測到血栓累積。

[0015] 第 6B 圖之圖形顯示利用 IVM 評估在 A 型血

友病小鼠中經由雷射誘導血管損傷後 TFPI-106 之止血效果，其中該纖維蛋白生成量係以曲線下面積(AUC)表示(*=指示 $P<0.005$)。相較於經投予鹽水之 A 型血友病小鼠在 0.5 小時缺乏可檢測到之纖維蛋白生成，第 6B 圖顯示與野生型小鼠(WT)在損傷後 0.5 小時的損傷位的纖維蛋白生成。其中投予重組型第 VIII 因子(rFVIII)或 TFPI-106 之 A 型血友病小鼠在 0.5 小時可檢測到纖維蛋白生成。經投予 TFPI-106 之 A 型血友病小鼠在 168 小時仍能檢測到纖維蛋白生成。

[0016] 第 7 圖描繪之圖形顯示在 1 pm 組織因子及 4μM 磷脂之存在下，在嚴重 A 型血友病血漿中投予 TFPI-106 及重組型 VIIa 因子(rFVIIa)對凝血酶生成分析(TGA)之影響。該圖形顯示具有單獨之 TFPI-106(16μg/ml)及 TFPI-106(16μg/ml)與 rFVIIa (20μg/ml；2μg/ml；或 0.2μg/ml)之組合的 A 型血友病血漿之凝血圖(thrombogram)。圖中亦顯示既不具有 TFPI-106 也不具有 rFVIIa 之 A 型血友病血漿及非血友病血漿的凝血圖。

[0017] 第 8A 圖描繪之凝血圖顯示在 1 pM 組織因子及 4μM 磷脂之存在下，當具有或不具有 rFVIIa 之 TFPI-106，或僅有 rFVIIa 存在於 A 型血友病血漿中時對凝血酶生成的影響。包括非血友病血漿作為對照組。

[0018] 第 8B 圖描繪之凝血圖顯示在三個貝塞斯達(Bethesda)單位(3 BU)之抑制劑的存在下，當具有或不具有 rFVIIa 之 TFPI-106，或僅有 rFVIIa 存在於檸檬酸化之

血小板貧乏的 A 型血友病血漿中時對凝血酶生成的影響。包括非血友病血漿作為對照組。圖中亦包括其中添加 TFPI-106(16μg/ml)之非血友病血漿對照組。

[0019] 第 8C 圖描繪之凝血圖顯示在三個貝塞斯達(Bethesda)單位(3 BU)之抑制劑的存在下，當具有或不具有 rFVIIa 之 TFPI-106，或僅有 rFVIIa 存在於檸檬酸化之血小板貧乏的 B 型血友病血漿中時對凝血酶生成的影響。包括非血友病血漿作為對照組。圖中亦包括其中添加 TFPI-106(16μg/ml)之非血友病血漿對照組。

[0020] 第 9A 圖顯示與對照組相比較，在斷尾後立即投予 A 型血友病小鼠抗體 TFPI-106(6 mg/kg)及分開之重組型第 VIII 因子(200 單位/kg)對失血的影響。第 9B 圖顯示與對照組相比較，在斷尾後 2 分鐘投予 A 型血友病小鼠抗體 TFPI-106(6 mg/kg)及分開之重組型第 VIII 因子(200 單位/kg)對失血的影響。

[0021] 第 10A 圖顯示與重組型第 VIII 因子相比較，不同濃度之 TFPI 106 對來自患有嚴重 A 型血友病之人類患者的全血之凝血時間的影響。第 10B 圖顯示與重組型第 VIII 因子相比較，不同濃度之 TFPI 106 對來自患有嚴重 A 型血友病之人類患者之富含血小板血漿的峰值凝血酶生成之影響。

[0022] 第 11A 圖顯示不同濃度之 TFPI 106 對來自具有嚴重 A 型血友病及針對 FVIII 之抑制劑的人類患者之全血凝血時間的影響。第 11B 圖顯示不同濃度之 TFPI 106

對來自具有嚴重 A 型血友病及針對 FVIII 之抑制劑的人類患者之富含血小板血漿的峰值凝血酶生成之影響。第 11C 圖顯示不同濃度之 TFPI 106 對來自具有嚴重 A 型血友病及針對 FVIII 之抑制劑的人類患者之血小板貧乏血漿的凝血時間之影響。

[0023] 第 12A 圖顯示與重組型第 VIII 因子相比較，不同濃度之 TFPI 106 對來自患有中度 A 型血友病之人類患者的全血凝血時間之影響。第 12B 圖顯示與重組型第 VIII 因子相比較，不同濃度之 TFPI 106 對來自患有中度 A 型血友病之人類患者之富含血小板血漿的峰值凝血酶生成之影響。第 12C 圖顯示不同濃度之 TFPI 106 對來自患有中度 A 型血友病之人類患者之血小板貧乏血漿的凝血時間之影響。

[0024] 第 13A 圖顯示與重組型第 IX 因子相比較，不同濃度之 TFPI 106 對來自患有中度 B 型血友病之人類患者的全血凝血時間之影響。第 13B 圖顯示與重組型第 IX 因子相比較，不同濃度之 TFPI 106 對來自患有中度 B 型血友病之人類患者之富含血小板血漿的峰值凝血酶生成之影響。第 13C 圖顯示不同濃度之 TFPI 106 對來自患有中度 B 型血友病之人類患者的血小板貧乏血漿之凝血時間的影響。

[0025] 第 14A 圖顯示與重組型第 VIII 因子相比較，不同濃度之 TFPI 106 對來自多位患有 A 型血友病之人類患者的全血凝血時間之影響。第 14B 圖顯示與重組型第

VIII 因子相比較，不同濃度之 TFPI 106 對來自多位患有 A 型血友病之人類患者之富含血小板血漿的峰值凝血酶生成之影響。第 14C 圖顯示不同濃度之 TFPI 106 對來自多位患有 B 型血友病之人類患者的血小板貧乏血漿之凝血時間的影響。

【實施方式】

發明之詳細說明

1. 概述

[0026] 如上文所指，血友病患者透過其完整的外源性途徑可具有些許止血能力；然而該外源性途徑不足以提供保護，因其被組織因子途徑抑制劑(TFPI)迅速關閉。阻斷/中和這些患者中之 TFPI 抑制作用可彌補 FXa 生成不足並使出血素質標準化。因此，本發明揭示和示例特異性結合 TFPI 並抑制其活性之抗體類及彼等之抗原結合片段。

2. 定義

[0027] “降低 TFPI 之活性” 一詞意指該抗體或其抗原結合片段可：(i)當藉由，例如基於血漿之稀釋凝血酶原時間分析測量時，與無該抗體存在時之凝固時間相比較，凝血時間減少；(ii)當藉由，例如血栓消融術或旋轉血栓彈性分析術測量時，與無該抗體存在時之凝固時間相比較，全血凝血時間減少；(iii)凝血酶生成增加；(iv)存有 TFPI 時增加 FXa 活性；(v)存有 TFPI 時增進血小板累積；(vi)

存有 TFPI 時增加纖維蛋白生成；或(vii)彼等之任何組合。抗體或抗原結合片段之抑制活性可，但不必定為劑量依賴性(例如當在基於血漿之稀釋凝血酶原時間分析中測量時引起凝血時間劑量依賴地減少)。

[0028] 此外，依本發明所揭示及示例者，取得抗 TFPI 抗體與 TFPI 之 Kunitz 結構域 2(K2 結構域)的共晶體結構。結構分析顯示與其他公開揭示之 TFPI 抗體(其在實施例中作為參考抗體)相比較，本發明之示例性抗體識別 TFPI 之獨特抗原決定部位。例如，如第 1A 至 1F 圖和 2A 至 2E 圖中所示，與幾種參考 TFPI 抗體(R&D(Mab2479) Fab、Novo2021(亦稱為 hz4F36) Fab、2A8 Fab)相比較，TFPI-23、TFPI-24 及 4D8 抗體結合 TFPI 之 K2 結構域中的非重疊位點。

[0029] 因此，於某些實施態樣中，本文所揭示之抗體(及抗原結合片段)識別位於 TFPI 之 K2 結構域的 TFPI 之獨特抗原決定部位。基於該共晶體結構及計算之丙胺酸掃描，此抗原決定部位包含三個對抗體-抗原交互作用重要的殘基：Ile105、Arg107 及 Leu131(根據 SEQ ID NO：2 中顯示之人類 TFPI 的編號)。將此三個殘基突變成丙胺酸會導致抗體結合喪失。例如，抗體 TFPI-23 及其變體(例如 TFPI-106 及 TFPI-107) 均識別此抗原決定部位。

[0030] 於某些實施態樣中，識別本發明揭示之關鍵抗原決定部位殘基可允許該抗體(及其抗原結合片段)降低 TFPI 之活性。尤其是，該晶體結構顯示出 TFPI 之 K2 結

構域採用錐形結構，該錐體尖端(尤其 Arg107)結合 FXa。TFPI-23 及 TFPI-24 二者均識別此錐形區之尖端並阻斷 TFPI 與 FXa 結合。抗體 4D8 識別 K2 結構域中之不同抗原決定部位。儘管不直接與該錐體尖端之殘基交互作用，但 4D8 阻斷 TFPI 與 FXa 結合。表 15 總結當與其他公知之 TFPI 抗體相比較時，被本發明之示例性抗體識別的非重疊抗原決定部位殘基。

[0031] 此外，於某些實施態樣中，本發明之抗體類及彼等之抗原結合片段已顯示用於治療凝血缺陷(諸如血友病) 及用於縮短出血時間之期望的藥理學活性和藥物動力學性質。

[0032] 與一抗原決定部位“優先結合”或“特異性結合”(本文中可互換使用)之抗體為本技藝中所熟知之術語，而測定該等特異性或優先結合之方法亦為本技藝所熟知。相較於其與替代之細胞或物質反應或結合之持續時間及/或親和力，若分子以較長之持續時間及/或較大之親和力更頻繁、更迅速地與特定之細胞或物質反應或結合，則該分子被說是顯示出“特異性結合”或“優先結合”。相較於與其他物質之結合，若抗體以較大之親和力、結合性，更容易及/或以較長之持續時間與靶的結合，則該抗體為“特異性結合”或“優先結合”靶的。此外，相較於其與存在於樣本中之其他物質的結合，若抗體以較大之親和力、結合性、更容易及/或較長之持續時間與樣本中之靶的結合，則該抗體為“特異性結合”或“優先結合”靶的。例如，特異

性結合或優先結合 TFPI 抗原決定部位之抗體為以較其與其他 TFPI 抗原決定部位或非-TFPI 抗原決定部位之結合而言更大之親和力、結合性、更容易及/或較長之持續時間結合此抗原決定部位的抗體。藉由閱讀此定義亦可理解，例如“特異性結合”或“優先結合”第一靶的之抗體(或部分或抗原決定部位)可能或可能不會特異性結合或優先結合第二靶的。因此，“特異性結合”或“優先結合”不一定需要(雖然其可包括)專一結合。一般而言，但不一定，提及結合意指優先結合。“特異性結合”或“優先結合”包括能識別並結合樣本中之特定分子，但基本上不識別或結合其他分子的化合物，例如蛋白質、核酸、抗體，等。例如，識別並結合樣本中之同源配體或結合伴侶(例如結合 TFPI 之抗 TFPI 抗體)，但基本上不識別或結合樣本中之其他分子的抗體或肽受體特異性結合該同源配體或結合伴侶。因此，在指定之分析條件下，該具體指明之結合部分(例如抗體或其抗原結合部分或受體或其配體結合部分)優先結合特定之靶的分子且不以顯著量結合存在於測試樣本中的其他組分。

[0033] 多種分析格式可用來選擇特異性結合所欲分子之抗體或肽。例如固相 ELISA 免疫分析、免疫沉澱、Biacore™(GE Healthcare，紐澤西州 Piscataway)、KinExA、螢光活化之細胞分選(FACS)、Octet™(FortéBio 公司，加州 Menlo Park)及西方點墨分析為可用於鑑定與抗原或受體或其配體結合部分(其與同源配體或結合伴侶

特異性結合)特異性反應之抗體的許多分析之一。通常，特異性或選擇性反應將至少為背景信號或雜訊的二倍，更典型為超過背景 10 倍，再典型為超過背景 50 倍，再更典型為超過背景 100 倍，再更典型為超過背景 500 倍，甚至更典型為超過背景 1000 倍，且甚至更典型為超過背景 10000 倍。此外，當該平衡解離常數($K_{ð}$) ≤7nM 時，該抗體被說成“特異性結合”抗原。

[0034] 本文中，術語“結合親和力”係作為二個分子(例如抗體或其片段與抗原)之間非共價交互作用強度之測量值。術語“結合親和性”係用來描述單價交互作用(內在活性)。

[0035] 透過單價交互作用的二個分子(例如抗體或其片段與抗原)之間的結合親和力可藉由，例如測定解離常數(K_D)定量。反過來，K_D 可藉由使用，例如表面等離子體共振(SPR)法(BIACORE)測量複合物形成和解離之動力學來測定。對應於該單價複合物之結合和解離的速率常數分別稱為結合速率常數 k_a (或 k_{on})和解離速率常數 k_d(或 k_{off})。K_D 透過程式 $K_D = k_d/k_a$ 而與 k_a 和 k_d 相關聯。解離常數之數值可藉由為人周知之方法直接測定，且甚至可藉由，諸如闡述於例如 Caceci 等人(1984，Byte9：340-362)中之方法計算複雜的混合物。例如，K_D 可使用雙濾器硝化纖維素濾器結合分析建立，諸如由 Wong & Lohman (1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5428-5432) 所揭示者。其他用於評估配體(諸如針對靶抗原之抗體)之結合能

力的標準分析為本技藝所已知，包括，例如 ELISA、西方點墨、RIA 和流式細胞術分析，及本文中他處示例之其他分析。抗體之結合動力學和結合親和力亦可藉由本技藝已知之標準分析，諸如表面等離子體共振(SPR) (例如使用 Biacore™系統或 KinExA)評估。

[0036] 可進行競爭性結合分析，其中將抗體與抗原之結合與靶的與該靶的之另一配體(諸如另一抗體或以其他方式結合該靶的之可溶性受體)之結合相比較。該發生50%抑制之濃度被稱為 K_i。在理想情況下，該 K_i 等於 K_D。該 K_i 值將永遠不會少於 K_D，所以測量 K_i 可方便地被替代用來提供 K_D 的上限。

[0037] 根據上述定義，與不同分子交互作用相關的結合親和力(例如比較不同抗體對指定抗原之結合親和力)可藉由比較個別抗體/抗原複合物之 K_D 值來比較。抗體或其他結合伴侶之 K_D 值可使用本技藝已完善建立的方法來測定。一種用於測定該 K_D 值之方法係使用表面離子體共振(通常係使用生物傳感器系統，諸如 Biacore®系統)進行。

[0038] 類似地，交互作用之特異性可藉由測定所欲之交互作用(例如抗體與抗原之間的特異性交互作用)之 K_D 值並與非所欲之交互作用(例如已知不與 TFPI 結合之對照抗體)的 K_D 值相比較來評估。

[0039] 特異性結合其靶的之抗體可以高親和力(亦即，顯示如上文所討論之低 K_D 值)結合其靶的，並以較低

之親和力結合非靶的分子。例如抗體可以 1×10^{-6} M 或更高(較佳為 1×10^{-5} M 或更高，更佳為 1×10^{-4} M 或更高，更佳為 1×10^{-3} M 或更高，再更佳為 1×10^{-2} M 或更高)之 K_D 值結合非靶的分子。較佳地，本發明之抗體能以高出其與另一非 TFPI 分子之結合親和力至少 2 倍、10 倍、50 倍、100 倍、200 倍、500 倍、1,000 倍或 10,000 之親和力與其靶的結合。

[0040] 一般而言，TFPI 抗體需要以高親和力結合 TFPI 以有效地降低 TFPI 之活性。然而，當該抗體之結合親和力太高，該抗體可很快地被內在化並被宿主細胞降解。這可能導致半衰期很短和重複注射。例如抗體 TFPI-23 顯示出較 TFPI-24 低之結合親和力(Kd 值)，而在某些情況下，因為其具有較低之內在化速率及較長的半衰期，似乎更有利於臨床使用。因此，結合親和力(Kd 值)在 5×10^{-7} 至約 5×10^{-11} M，尤其是約 1×10^{-8} 至約 1×10^{-10} M 通常是令人滿意的，尤其在用於治療需要重複注射之慢性疾病(例如血友病) 時。不欲受限於任何特定理論，此親和力範圍被認為能取得介於(i)有效抑制 TFPI 之活性所需之結合親和力與(ii)較長半衰期及降低抗體內在化之間的平衡。

[0041] TFPI 中之特異性胺基酸殘基位置係根據 SEQ ID NO：2(人類 TFPIαK1K2K3)編號。然而，本發明並不限於 SEQ ID NO：2。來自其他 TFPI 同源物、同種型、變體或片段之對應殘基可根據本技藝已知之序列比對或結構

比對鑑別。例如，比對可藉由手工或使用為人熟知之序列比對程式，諸如 ClustalW2 或“BLAST 2 序列”，利用預設參數完成。例如，SEQ ID NO：2 之 Arg107 對應於小鼠 TFPI K1K2(SEQ ID NO：4)之 Arg104。

[0042] 抗體之“ 抗原結合片段”係指保留特異性結合抗原之能力(較佳地，具有基本上相同之結合親和力)的全長抗體之片段。抗原結合片段之實例包括(i)Fab 片段，由 VL、VH、CL 及 CH1 結構域所組成之單價片段；(ii) $F(ab')_2$ 片段，包含二個藉由鉸鏈區處之二硫鍵橋聯之 Fab 片段之二價片段；(iii)由 VH 和 CH1 結構域組成之 Fd 片段；(iv)由抗體單臂之 VL 和 VH 結構域組成的 Fv 片段，(v)由 VH 結構域組成之 dAb 片段(Ward et al., (1989) Nature 341:544-546)；及(vi)經分離之互補決定區(CDR)、經二硫鍵連接之 Fv(dsFv)及抗獨特型(抗-Id)抗體和胞內抗體(intrabody)。此外，儘管該 Fv 片段的二個結構域，VL 和 VH 係由分別基因編碼，其可利用重組方法，藉由能使它們被製成單一蛋白鏈(其中該 VL 和 VH 區配對以形成單價分子(稱為單鏈 Fv(scFv))之合成連接子連結；參見，例如 Bird et al. Science 242:423-426 (1988)及 Huston et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988)。亦包含其他形式之單鏈抗體，諸如雙抗體。雙抗體為二價、雙特異性抗體，其中 VH 和 VL 結構域表現在單一多肽鏈上，但使用之連接子太短以致於無法允許同一鏈上的二個結構域之間形成配對，從而迫使該結構域與另一條鏈之互補結

構域配對並創造二個抗原結合位點(參見，例如 Holliger et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993); Poljak et al., 1994, Structure 2:1121-1123)。

[0043] 抗體"可變結構域"係指抗體輕鏈(VL)之可變區或抗體重鏈之可變區(VH)，無論是單獨或組合的。如本技藝中所已知，重鏈和輕鏈之可變區各自由四個藉由三個互補決定區(CDR)連接的框架區(FR)所組成，並促成形成抗體之抗原結合位點。

[0044] 可變結構域中之殘基係根據 Kabat 編號，Kabat 為用於匯編抗體之重鏈可變結構域或輕鏈可變結構域的編號系統。參見，Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)。使用此編號系統，實際之線性胺基酸序列可含有對應於該可變結構域之縮短的 FR 或 CDR 或插入該可變結構域之 FR 或 CDR 中之很少數或額外的胺基酸。例如重鏈可變結構域可在 H2 之殘基 52 之後包含單一胺基酸插入子(殘基 52a(根據 Kabat))及在重鏈 FR 殘基 82 之後包含插入之殘基(例如殘基 82a、82b 及 82c(根據 Kabat))。指定抗體之殘基的 Kabat 編號可藉由比對具有"標準"Kabat 編號之序列的抗體之同源區來決定。用於指派 Kabat 編號的各種算法均可用。除非另有說明，本文使用 2012 年 Abysis (www.abysis.org)發表之算法來指派可變區之 Kabat 編號。

[0045] 抗體中之特異性胺基酸殘基位置(諸如本發明所揭示之抗體結合部位殘基)亦根據 Kabat 編號。

[0046] “互補決定區”(CDR)可根據 Kabat、Chothia、Kabat 與 Chothia 二者之累積定義、AbM、接觸及/或構形定義或本技藝所熟知之任何測定 CDR 的方法來識別。參見，例如 Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed. (高度可變區)；Chothia et al., 1989, Nature 342:877-883 (結構環結構)。CDR 之 AbM 定義為 Kabat 與 Chothia 之間的折衷並使用 Oxford Molecular 之 AbM 抗體建模軟體(Accelrys®)。CDR 之“接觸”定義係基於觀察到之抗原接觸(闡述於 MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol., 262:732-745 中)。CDR 之“構形”定義係基於對抗原結合貢獻焓的殘基(參見，例如 Makabe et al., 2008, Journal of Biological Chemistry, 283:1156-與 1166)。還有其他 CDR 邊界定義可能並不嚴格遵循上述方法其中之一，但仍將與至少一部分之 Kabat CDR 重疊，儘管它們可能鑑於預測或實驗發現特定殘基或殘基團或甚至整個 CDR 不會顯著影響抗原結合而被縮短或延長。如本文所使用者，CDR 可能指藉由本技藝中已知之任何方法(包括方法之組合)定義之 CDR。

[0047] 在實施例中(參見表 3 和 4)，該 CDR 之定義如下(根據 Kabat 編號；H：重鏈；L：輕鏈)：

CDR-H1: H26-H35B; CDR-H2: H50-H65; CDR-H3: H95-H102
CDR-L1: L24-L34; CDR-L2: L50-L56; CDR-L3: L89-L97

[0048] “框架”(FR)殘基為除了 CDR 殘基外之抗體可

變結構域殘基。為下列結構之 VH 或 VL 結構域框架包含四個框架子區 FR1、FR2、FR3 和 FR4，其間穿插蓄 CDR：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。在實施例中(參見表 3 和 4)，FR 殘基包括下列者(根據 Kabat 編號；H：重鏈；L：輕鏈)：

	FR1	FR2	FR3	FR4
重鏈	H1-H25	H36-H49	H66-H94	H103-H113
輕鏈	L1-L23	L35-L49	L57-L88	L98-L107

[0049] “抗原決定部位”係指抗體所特異性結合之抗原(Ag)區或區域，例如包含與該抗體(Ab)交互作用之殘基的區或區域。抗原決定部位可為線性或構形。於一線性抗原決定部位中，該蛋白質與交互作用分子(諸如抗體)之間的所有交互作用的點係沿著該蛋白質之初級胺基酸序列線性出現。“非線性抗原決定部位”或“構形抗原決定部位”包含在該抗原性蛋白質內，特異於該抗原決定部位之抗體所結合之非連續性多肽(或胺基酸)。如本文所使用之術語“抗原決定部位”的定義為藉由本技藝所熟知之任何方法(例如藉由習知免疫分析)測定之與抗體特異性結合的抗原之一部分。或者，在發現過程中，抗體之生成和表徵可闡明與期望之抗原決定部位有關的信息。從這個信息，以競爭方式篩選結合相同抗原決定部位之抗體是可能的。用於達成此目的之方法為進行競爭和交叉競爭研究以找出彼此競爭或交叉競爭結合 TFPI 之抗體。亦即，該等抗體競爭結合該抗原，從而使該抗體競爭結合本發明之抗 TFPI 抗體的抗原結合位點。

[0050] 術語“抗體結合部位”係經由逆轉上述“抗原決定部位”之定義的觀點而衍生出且係指參與抗原結合之抗體分子的區或區域，例如包含與抗原交互作用之殘基的區或區域。抗體結合部位可為線性或構形的(諸如在 CDR 中之不連續殘基)。

[0051] 指定之抗體/抗原結合對之抗原決定部位/抗體結合部位可利用各種實驗和計算之抗原決定部位映像方法以不同詳細層級定義和表徵。實驗方法包括誘變、X 射線晶體學、核磁共振(NMR)光譜學、氫/氘交換質譜(HX-MS)及各種競爭結合的方法。由於各方法係依賴獨特的原理，抗原決定部位之描述與測定彼等之方法緊密連結。因此，指定之抗體/抗原對的抗原決定部位/抗體結合部位將根據所採用之映像方法而有不同定義。

[0052] 用於抗體和抗體之間的交互作用之抗原決定部位/抗體結合部位的定義可藉由界定存在於 Ag-Ab 交互作用中之原子接觸的空間坐標及關於彼等對結合熱力學之相對貢獻之信息來做最詳盡的定義。一種詳盡層級為抗原決定部位/抗體結合部位殘基係藉由界定 Ag 和 Ab 之間的原子接觸之空間坐標表徵。於一態樣中，該抗原決定部位/抗體結合部位殘基可藉由特定標準來定義，例如 Ab 和 Ag 中之原子之間的距離(例如該同源抗體之重原子及抗原之重原子之距離等於或小於 4Å(“接觸”殘基))。於另一態樣中，抗原決定部位/抗體結合部位殘基之特徵為參與氫鍵來與該同源抗體/抗原交互作用或參與氫鍵來與水分子

交互作用，而該水分子亦與該同源抗體/抗原氫鍵結(水介導之氫鍵結)。於另一態樣中，抗原決定部位/抗體結合部位殘基之特徵為與該同源抗體/抗原之殘基形成鹽橋。再於另一態樣中，抗原決定部位/抗體結合部位殘基之特徵為由於與該同源抗體/抗原交互作用而在掩藏之表面積(BSA)中具有非零變化之殘基。在更不詳盡之程度下，抗原決定部位/抗體結合部位係透過功能(例如與其他 Ab 競爭結合)來表徵。該抗原決定部位/抗體結合部位亦可被更泛泛地定義為包含胺基酸殘基，當該胺基酸殘基被另一胺基酸取代時將會改變該 Ab 與 Ag 之間的交互作用特徵(例如丙胺酸掃描)。

[0053] 在由抗體(例如 Fab 片段或二個 Fab 片段)與其抗原之間的複合物之空間坐標所定義的 X 射線衍生之晶體結構的背景下，除非另有說明，抗原決定部位殘基係指如下述之 TFPI 殘基(i)具有一重原子(即，非氫原子)距離該同源抗體之重原子的距離係在 4Å 之內(亦稱為“接觸”殘基)，(ii)參與與該同源抗體之殘基形成氫鍵或參與與水分子形成氫鍵，而此水分子亦與該同源抗體形成氫鍵結(由水介導之氫鍵結)，(iii)參與與該同源抗體之殘基形成鹽橋，及/或(iv)由於與該同源抗體交互作用而在掩藏之表面積(BSA)中具有非零變化。一般而言，對 BSA 施加截斷點，以避免包含具有最少交互作用之殘基。因此，除非另外具體指明，若該抗原決定部位殘基之 BSA 為 20Å 或更大或涉及抗體結合 TFPI 時之靜電交互作用，則選擇類別

(iv)之抗原決定部位殘基。類似地，除非另外具體說明或與上下文相抵觸，在X射線衍生之晶體結構的背景下，抗體結合部位殘基係指如下述之抗體殘基(i)具有一重原子(即，非氫原子)距離 TFPI 之重原子的距離係在 4Å 之內(亦稱為"接觸"殘基)，(ii)參與與 TFPI 殘基形成氫鍵或與水分子形成氫鍵，而此水分子亦與 TFPI 形成氫鍵結(由水介導之氫鍵結)，(iii)參與與 TFPI 之殘基形成鹽橋，及/或(iv)由於與 TFPI 交互作用而在掩藏之表面積(BSA)中具有非零變化。再者，除非另外具體指明，若該抗體結合部位殘基之 BSA 為 20Å 或更大或涉及抗體結合 TFPI 時之靜電交互作用，則選擇類別(iv)之抗體結合部位殘基。

[0054] 根據所使用之抗原決定部位映像方法及以不同詳細程度取得之關於抗原決定部位之描述和定義的事實，其遵循在相同 Ag 上之用於不同 Ab 之抗原決定部位的比較工作可在不同的詳盡層級下以類似方法進行。例如以胺基酸層級描述之抗原決定部位(例如從 X 射線結構測定者)被認為若其含有相同的胺基酸殘基組則它們是完全相同的。若該抗原決定部位並未共用胺基酸殘基，則這些抗原決定部位被認為是獨立的(獨特的)。若與對應抗體之結合為互斥的(即，與一個抗體結合會排除同時或連續與其他抗體結合)，則其特徵為競爭結合之抗原決定部位被認為有重疊；而若該抗原能夠同時容納與二種對應抗體結合，則該等抗原決定部位被認是獨立的(獨特的)。

[0055] 指定之抗體/抗原對的抗原決定部位和抗體結

合部位可藉由常規方法鑑定。例如，抗原決定部位之大致位置可藉由評估抗體結合不同片段或變體 TFPI 多肽之能力測定(此在前文他處有更完整的描述)。在 TFPI 內使 TFPI 與抗體內之特定殘基接觸的特定殘基亦可使用常規方法(諸如實施例中所描述者)測定。例如，抗體/抗原複合物可結晶化。該晶體結構可經過測定並用來鑑別該抗體與抗原之間交互作用的特定位點。

[0056] 如本文所使用之關於抗體的術語“競爭”意指第一抗體或其抗原結合部分與抗原之結合減少隨後第二抗體或其抗原結合部分與該相同抗原之結合。一般而言，結合第一抗體會創造空間位阻、構形變化或結合至共通之抗原決定部位(或其部分)，從而使第二抗體與該相同抗原之結合減少。標準競爭分析可用於測定二種抗體是否彼此競爭。一種適合用於抗體競爭之分析涉及使用 Biacore 技術，該 Biacore 技術可利用表面離子體共振(SPR)技術(通常使用生物傳感器系統(諸如 BIACORE®系統))測量交互作用的程度。例如，SPR 可用於玻管內競爭性結合抑制分析以測定一種抗體抑制第二抗體結合的能力。另一用於測量抗體競爭之分析係使用基於 ELISA 的方法。此外，國際專利申請案第 WO2003/48731 號中描述一種基於抗體之競爭的用於“分組”抗體的高通量方法。若一種抗體(或片段)減少另一種抗體(或片段)與 TFPI 之結合則二者之關有競爭的存在。例如，可藉著依序添加不同抗體使用連續結合競爭分析。加入第一抗體可能達到接近飽和之結合。然

後，加入第二抗體。若未檢測到第二抗體與 TFPI 結合，或與無第一抗體存在時之平行分析(其數值可設定為100%)相比較，第二抗體與 TFPI 之結合顯著減少(例如減少至少約 10%、至少約 20%、至少約 30%、至少約 40%、至少約 50%、在至少約 60%、至少約 70%、至少約 80%或至少約 90%)，該二種抗體被認為是互相競爭。實施例 6 中提供藉由 SPR 進行之示例性抗體競爭分析(及重疊抗原決定部位分析)。

[0057] 本發明之抗 TFPI 抗體可具有與本發明之另一抗體競爭或交叉競爭與如本文所描述之 TFPI 結合的能力。例如，本發明之抗體可與本文所描述之抗體競爭或交叉競爭結合 TFPI，或與已與本發明之抗體結合之 TFPI 的合適片段或 TFPI 變體結合。

[0058] 亦即，若第一抗 TFPI 抗體與第二抗體競爭結合 TFPI，但當第二抗體先結合 TFPI 時它不競爭，則此第一抗體被認為是與第二抗體“競爭”(亦稱為單向競爭)。當一抗體與另一抗體競爭，不管何抗體先與 TFPI 結合，則該抗體與其他抗體“交叉競爭”結合 TFPI。該等競爭或交叉競爭抗體可在標準結合分析中根據彼等與本發明之已知抗體競爭/交叉競爭之能力鑑定。例如，可使用 SPR(例如藉由使用 Biacore™系統)、ELISA 分析或流式細胞術來證明競爭/交叉競爭。這類競爭/交叉競爭可能暗示該二種抗體結合至同一、重疊或相似之抗原決定部位。

[0059] 因此，本發明之抗 TFPI 抗體可藉由包含結合

分析之方法鑑定，該結合分析評估測試抗體是否能夠與本發明揭示之參考抗體(例如 TFPI-3、TFPI-21、TFPI-23、TFPI-24、TFPI-26、TFPI-106、TFPI-107、TFPI-108、TFPI-109、TFPI-110、TFPI-111、TFPI-112、TFPI-113、TFPI-114、4D8、6B7.c5、7A4.D9)競爭/交叉競爭該靶的分子上之結合位點。

[0060] “Fc 融合”蛋白為其中一或多個多肽係可操作地連接 Fc 多肽之蛋白質。Fc 融合蛋白以融合伴侶合併免疫球蛋白之 Fc 區。

[0061] 抗體之結合親和力可以 Kd 值表示，其係指特定抗原-抗體交互作用之解離速率。Kd 為解離之速率(亦稱為“解離速率(off-rate)(Koff)”)對結合之速率(或“on-rate(kon)”)之比值。因此，Kd 值等於 Koff/kon 並以莫耳濃度(M)表示，且 Kd 值愈小，結合親和力越強。抗體之 Kd 值可使用本技藝中完善建立之方法測定。一種用於測量 Kd 之示例性方法為表面離子體共振(SPR)，其通常係使用生物傳感器系統，諸如 BIACORE®系統。BIAcore 動力學分析包含分析抗原與其表面上具有固定分子(例如包含抗原決定部位結合結構域之分子)之晶片結合及解離。另一用於測定抗體之 Kd 的方法係使用 Bio-Layer 干涉測量術，通常係使用 OCTET®技術(Octet QKe 系統，ForteBio)。另外或此外，亦可使用可從 Sapidyne Instruments(印第安那州 Boise)取得之 KinExA®(動力學排除分析)分析。

[0062] 術語“治療有效量”意指足以達到預期目的(諸如增加凝血，或在血友病之情況中為縮短凝固時間，或以其他方式在有需要之個體體內引起可測量之益處)之量的抗 TFPI 抗體或其片段或包含該等抗體或其片段之組合。該精確量將取決於許多因素，包括，但不限於該治療組成物之組分和物理特性、預定之患者群、個別患者之考量，等且可由本技藝之技術熟習人士決定。

[0063] 術語“協同治療有效量”意指當與第二治療劑(例如凝血因子 VIIa(FVIIa))一起提供時能提供高於經單獨投予之各治療劑或抗體之加成的可測量利益(例如減少凝血時間、減少出血時間、增加纖維蛋白生成、增強血小板累積，等)之抗 TFPI 抗體或其抗原結合片段的量。

[0064] 術語“治療”包括預防性及/或治療性治療。若該治療係在病症之臨床表現之前施用，則其被認為是預防性的。治療性治療包括，例如改善或降低疾病之嚴重性或縮短疾病之長度。

[0065] 如本文使用之術語“約”係指數值之+/- 10%。

3. 抗 TFPI 抗體

[0066] 本發明所揭示和示例的為結合組織因子途徑抑制劑(TFPI)之抗體類(及其抗原結合片段)。該抗體類及抗體片段結合 TFPI 之獨特抗原決定部位。於某些實施態樣中，識別 TFPI 中之某些抗原決定部位殘基可允許該抗體類(及其抗原結合片段)降低 TFPI 之活性。此外，於某

些實施態樣中，本發明所揭示之抗體(及其抗原結合片段)已展示用於治療凝血缺陷和減少出血時間之令人滿意的藥學活性和藥物動力學性質。

A.組織因子途徑抑制劑(TFPI)

[0067] TFPI 為含有多價 Kunitz 結構域之蛋白酶抑制劑。表 2 中提供示例性人類、小鼠、食蟹猴、兔子和大鼠 TFPI 序列。

[0068] 人類 TFPI 為胞外糖蛋白，其具有二種主要形式，TFPI-α 和 TFPI-β。TFPIα(其為具有 276 個胺基酸之糖基化蛋白(MW 43kD))為最大之 TFPI 形式且係由三個 Kunitz 樣結構域和基本羧基端區所組成。另一類剪接產生 TFPI-β，其包含 Kunitz 結構域 1(K1)和 Kunitz 結構域 2(K2)，但含有缺乏 Kunitz 結構域 3(K3)和基本區之替代的 C 端部分。TFPI-β 以糖基磷脂醯肌醇(GPI)錨透過轉譯後修飾錨定到細胞膜。

[0069] TFPI 之主要靶的為蛋白酶第 Xa 因子(FXa)和第 VIIa 因子(FVIIa)，這些為凝血級聯起始階段中之關鍵因素。生物化學分析已透露 K2 為 FXa 之抑制劑，而 K1 抑制 FVIIa-組織因子複合物。K3 之作用不清楚，因為其似乎不具有直接之蛋白酶抑制活性，但可作為輔因子蛋白 S 之識別位點。該 TFPI-α 所特有之 C 端結構域可能參與血小板表面上凝血酶之識別。

[0070] Kunitz 結構域 1(K1)對應於 SEQ ID NO：2 之

胺基酸殘基 26-76，而 Kunitz 結構域 2(K2)對應於 SEQ ID NO：2 之殘基 91 至 147。來自其他 TFPI 同源物、同種型、變體或片段之 K1 和 K2 結構域可藉由針對 SEQ ID NO：2 之序列比對或結構比對來鑑別。

[0071] 本發明之 TFPI 包括 TFPI 之任何天然形式，這些天然形式可能源自任何合適之生物體。例如，TFPI 可為哺乳動物 TFPI，諸如人類、小鼠、大鼠、非人類靈長類動物、牛、羊、犬、貓或豬 TFPI。於某些實施態樣中，該 TFPI 為人類 TFPI。該 TFPI 可為成熟形式之 TFPI(即，已在合適之細胞中經歷轉譯後處理之 TFPI 蛋白)。該等成熟 TFPI 蛋白可，例如糖基化。

[0072] 本發明之 TFPI 包括源自天然 TFPI 之任何功能片段或變體。TFPI 之功能性片段可為保留 TFPI 之活性(諸如抑制第 Xa 因子(FXa)、抑制 FVIIa-組織因子複合物之活性的能力及/或作為凝血或止血之負調控劑)的任何 TFPI 構成部分或一部分。例如，功能性片段可包含 Kunitz 結構域，諸如 TFPI 之 K1 結構域、K2 結構域或 K1 和 K2 結構域二者。

[0073] 與天然 TFPI 相比較，功能性變體可包含一或多個突變且仍然保留天然 TFPI 之活性，諸如抑制第 Xa 因子(FXa)之能力或抑制 FVIIa 組織因子複合物之活性的能力。例如，變體與 SEQ ID NO：1、2、3、4、5、6 或 7 可具有不同程度之序列同一性，諸如與 SEQ ID NO：1、SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：3 、SEQ ID NO：4、SEQ

ID NO：5、SEQ ID NO：6或SEQ ID NO：7中所列之序列具有至少 60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%之同一性。

[0074] 本發明之 TPFI 片段、變體、同種型和同源物應保持重要之抗原決定部位殘基(諸如若使用 TFPI-23 和 TFPI-24 抗體則為 Ile105、Arg107 和 Leu131)。此外，TFPI 可包含 5 或更多個、8 或更多個、10 或更多個、12 或更多個、或 15 或更多個 TFPI 之 K2 結構域的表面可達殘基。表面可達殘基為具有高於 40%之相對可達性之殘基。

[0075] 例如，在 TFPI 之 K2 結構域(參見，例如 SEQ ID NO：2)方面，下列胺基酸殘基具有高於 40%之相對可達性：94-95、98、100-110、118-121、123-124、131、134、138-142 及 144-145。該 TFPI 可包含 5 或更多個、8 或更多個、10 或更多個、12 或更多個、或 15 或更多個這些殘基，諸如包括 5 或更多個、8 或更多個、10 或更多個、12 或更多個、或 15 或更多個這些殘基之 TFPI 片段。

B.抗 TFPI 抗體

[0076] 本發明之抗體或其抗原結合片段特異性結合 TFPI 之 K2 結構域並能抑制其與 FXa 交互作用及/或降低 TFPI 之活性。

FPI-23 及變體

[0077] 於一態樣中，本發明包括經製造以增加人類框架種系殘基(“種系化”)之含量的抗體 TFPI-23 及 TFPI-23 之變體。例如，TFPI-106 包含 H1Q 至 E 及 H5V 至 L 之突變(Kabat 編號)，而 TFPI-107 包含 H1Q 至 E、H5V 至 L 和 H94I 至 K 之突變(Kabat 編號)。在本發明之目的方面，TFPI-23 親本抗體和 TFPI-106 種系變異體在其抗原決定部位殘基和抗體結合部位殘基交互作用中可以互換。

[0078] 於一態樣中，本發明提供特異性結合組織因子途徑抑制劑(TFPI)之 Kunitz 結構域 2(K2)中的抗原決定部位之經分離的抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位包含殘基 Ile105、Arg107 和 Leu131(根據 SEQ ID NO：2 之編號)。於某些實施態樣中，該抗體或其抗原結合片段不結合 TFPI 之 Kunitz 結構域 1(K1)。

[0079] 如本發明所揭示及示例者，基於共晶體結構及計算之丙胺酸掃描已發現 TFPI 之 K2 結構域中的獨特抗原決定部位。尤其是，該晶體結構顯示出 TFPI 之 K2 結構域採用錐形結構，該錐體之尖端(尤其是 Arg107)結合 FXa。TFPI-23、TFPI-24 及彼等之變體均識別接近此錐形區之尖端的殘基並阻斷 TFPI 與 FXa 結合。因此，識別位於該錐體尖端附近之抗原決定部位殘基對於抑制 TFPI 活性特別有用。

[0080] 於某些實施態樣中，本發明揭示包含三個對抗體-抗原交互作用重要之殘基的 TFPI 抗原決定部位：

Ile105、Arg107 及 Leu131(根據人類 TFPI 之編號，如 SEQ ID NO：2 所顯示者)。將此三個殘基突變成丙胺酸導致 TFPI-23、TFPI-24 及彼等之變體喪失結合。參見表 28，其總結該丙胺酸掃描結果。

[0081] 亦鑑定出另外之 TPFI 殘基參與抗體結合，但這些殘基可被突變成丙胺酸而不會顯著動搖效果。參見表 28。因此，於某些實施態樣中，該 TFPI 抗原決定部位進一步包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Cys106、Gly108、Cys130、Gly132(根據 SEQ ID NO：2 編號)及彼等之任何組合。這些抗原決定部位殘基可被 TFPI-23、TFPI-24 及彼等之變體識別。參見表 27，其顯示出 TFPI-23 和 TFPI-24 所共有之共同的抗原決定部位殘基。

[0082] 於某些實施態樣中，該抗原決定部位進一步包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Asp102、Arg112、Tyr127、Gly129、Met134、Glu138(根據 SEQ ID NO：2 編號)及彼等之任何組合。這些抗原決定部位殘基可被 TFPI-23 及其變體(例如 TFPI-106、TFPI-107)識別，但不被 TFPI-24(及其變體)識別。參見表 27。

[0083] 於某些實施態樣中，該抗原決定部位不包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：E100、E101、P103、Y109、T111、Y113、F114、N116、Q118、Q121、C122、E123、R124、F125、K126、L140(根據 SEQ ID NO：2 編號)及彼等之任何組合。參見表 27。根據

WO201007269(諾和諾德公司)，參考抗體 4F36 能識別包含下列群組之抗原決定部位：E100、E101、P103、Y109、T111、Y113、F114、N116、Q118、Q121、C122、E123、R124、F125、K126 及 L140。

[0084] 於某些實施態樣中，該抗原決定部位不包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：D31、D32、P34、C35、K36、E100、E101、P103、Y109、K126、G128(根據 SEQ ID NO：2 編號)及彼等之任何組合。參見表 27。根據表 27，參考抗體 2A8 及 2A8-200 能識別包含下列群組之抗原決定部位：D31、D32、P34、C35、K36、E100、E101、P103、Y109、K126 及 G128。

[0085] 於某些實施態樣中，該抗原決定部位可指一或多個 TFPI“接觸”殘基(具有在距離同源抗體之重原子 4Å 內的重原子(即，非氫原子))並包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Asp102、Gly104、Ile105、Cys106、Arg107、Gly108、Arg112、Tyr127、Gly129、Cys130、Leu131、Gly132、Met134、Glu138 (根據 SEQ ID NO：2 編號)及彼等之任何組合。參見表 29B。

[0086] 於某些實施態樣中，該抗原決定部位可指一或多個參與與抗體之殘基或與水分子(其亦與同源抗體氫鍵結)形成氫鍵(水介導之氫鍵結)的 TFPI 殘基並包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Asp102、Arg107、Arg 112、Tyr127 及 Leu131 (根據 SEQ ID NO：2 編號)及彼等之任何組合。這些抗原決定部位殘基參與與同源抗體

形成氫鍵。參見表 29B。

[0087] 於某些實施態樣中，該抗原決定部位可指由於與該同源抗體交互作用而在掩藏之表面積(BSA)中包含非零變化的殘基並包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：：Asp102、Gly104、Ile105、Cys106、Arg107、Gly108、Arg112、Tyr127、Gly129、Cys130、Leu131、Gly132、Asn133、Met134、Glu138(根據 SEQ ID NO：2 編號)及彼等之任何組合。這些參見表 29B。

[0088] 這些不同類別之抗原決定部位殘基的任何組合亦包含在本發明內。

[0089] 於某些實施態樣中，該抗原決定部位包含至少 1、至少 2、至少 3、至少 4、至少 5、至少 6、至少 7、至少 8、至少 9、至少 10、至少 11、至少 12、至少 13、或所有上述之抗原決定部位殘基、或上述各種類別之抗原決定部位殘基的任何組合。

[0090] TFPI-23(及變體)之抗體結合部位殘基可指如下列群組之接觸殘基(位於 TFPI 抗原決定部位殘基之 4Å 內)：H33 Ala、H47 Trp、H50 Ala、H51 Ile、H52 Ser、H56 Ser、H58 Tyr、H95 Leu、H96 Gly、H97 Ala、H98 Thr、H99 Ser、H100 Leu、H100A Ser、L29 Ala、L31 Tyr、L91 Tyr、L95A Ser、L95B Gly 和 L95C Ser；及可選擇地，L93 Ser 和 L96 Gly (根據 Kabat 編號)。L93 Ser (4.07 Å)和 L96 Gly (4.03 Å)為可選擇的，因為該距離略微超過 4Å，但足夠接近至被捨入成 4Å。

[0091] 需注意的是，上述接觸殘基為來自 TFPI-23 抗體之原始殘基。然而，基於結構分析和丙胺酸掃描，據信 TFPI-23 中之許多接觸殘基可被另一殘基取代而不會顯著影響抗原結合。例如，表 29A 顯示 TFPI-23 中之許多接觸殘基可被其他殘基取代而僅對結合或穩定性造成 <0.5kcal/mol 之影響("<0.5kcal/mol"意指取代對結合具中性效果)。尤其是，如表 29A，第 4 列所示，3 個 CDR 位置及 1 個框架位置：H47、H58、L91 及 L96(根據 Kabat 編號)僅能容許一或二個殘基：(a)H47 為 Trp 或 Tyr；(b)H58 為 Tyr；(c)L91 為 Tyr 或 Arg；且(d)L96 為 Gly 或 Asn。如表 29A，第 4 列中所歸納者，其他 CDR 位置可容納更多取代。

[0092] 因此，於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含下列殘基(根據 Kabat 編號)：

(a)H33 為 Ala、Asn、Gly、His、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp 或 Val；

(b)H47 為 Trp 或 Tyr；

(c)H50 為 Ala、Arg、Gly、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Tyr 或 Val；

(d)H51 為 Ile、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；

(e)H52 為 Ser、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、

Trp、Tyr 或 Val；

(f)H56 為 Ser、Arg、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；

(g)H58 為 Tyr；

(h)H95 為 Leu、Gln、Ile、Phe 或 Tyr；

(i)H96 為 Gly、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Ile、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr 或 Val；

(j)H97 為 Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；

(k)H98 為 Thr、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Leu、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；

(l)H99 為 Ser、Ala、Gly、Phe 或 Pro；

(m)H100 為 Leu、Arg、His、Ile、Leu、Lys、Phe、Pro、Trp、Tyr 或 Val；

(n)H100A 為 Ser、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、His、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr 或 Trp；

(o)L29 為 Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；

(p)L31 為 Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、

Trp、Tyr 或 Val；

(q)L91 為 Tyr 或 Arg；

(r)L95A 為 Ser、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；

(s)L95B 為 Ser、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；及

(t)L95C 為 Ser、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；

並可選擇地包含(u)L93 為 Tyr、Ala、Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Gly、His、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 或 Val；及

(v)L96 為 Gly 或 Asn。

在這些殘基中，H47 為框架殘基；所有其他者均為 CDR 殘基。

[0093] 當施加更嚴格之取代標準時-取代必須導致 <-0.5kcal/mol 之親和力，這意味著取代必須具有正面(中性/穩定)效果-接觸殘基如下(根據 Kabat 編號)(表 29A，第 5 欄)：

(a)H33 為 Ala 或 Val；

(b)H47 為 Trp；

(c)H50 為 Ala；

(d)H51 為 Ile；

(e)H52 為 Ser、Arg、Lys、Phe 或 Tyr；

(f)H56 為 Ser、Arg 或 Lys；

(g)H58 為 Tyr；

(h)H95 為 Leu；

(i)H96 為 Gly、Ala、Arg、Asn、Lys、Pro、Ser 或 Val；

(j)H97 為 Ala；

(k)H98 為 Thr、His、Ile、Leu、Met、Phe 或 Tyr；

(1)H99 為 Ser；

(m)H100 為 Leu、Phe、Trp 或 Tyr；

(n)H100A 為 Ser、Arg、Asn、Gln、Glu、His、Leu、Lys、Met、Phe、Pro 或 Trp；

(o)L29 為 Ala；

(p)L31 為 Tyr；

(q)L91 為 Tyr；

(r)L95A 為 Ser、Phe、Trp 或 Tyr；

(s)L95B 為 Gly；及

(t)L95C 為 Ser、Arg、Asn、Gln、Glu、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Trp、Tyr 或 Val；

及可選擇地：(u)L93 為 Ser；及

(v)L96 為 Gly。

[0094] 此外或另外，可接受之取代的選擇可基於表 29A 之第 6 列，其中前 3 個殘基係根據其對親和力之影響

(即，對親和力最具穩定作用之前 3 個預測位點)選定。根據此標準，接觸殘基為如下群組(根據 Kabat 編號)：

(a)H33 為 Ala、Val、His 或 Phe；

(b)H47 為 Trp 或 Tyr；

(c)H50 為 Ala、Thr、Ser 或 Phe；

(d)H51 為 Ile、Arg、Lys 或 Pro；

(e)H52 為 Ser、Phe、Arg 或 Tyr；

(f)H56 為 Ser、Lys、Tyr 或 Phe；

(g)H58 為 Tyr；

(h)H95 為 Leu、Ile、Gln 或 Phe；

(i)H96 為 Gly、Arg、Asn 或 Lys；

(j)H97 為 Ala、Leu、Tyr 或 Ile；

(k)H98 為 Thr、Tyr、Phe 或 His；

(1)H99 為 Ser、Pro、Ala 或 Phe；

(m)H100 為 Leu、Tyr、Trp 或 Phe；

(n)H100A 為 Ser、Arg、Leu 或 Trp；

(o)L29 為 Ala、Glu、Asp 或 Gln；

(p)L31 為 Tyr、Glu、Asp 或 Trp；

(q)L91 為 Ty 或 Arg；

(r)L95A 為 Ser、Phe、Tyr 或 His；

(s)L95B 為 Gly、Glu、Asp 或 Pro；及

(t)L95C 為 Ser、Trp、Tyr 或 Phe；

及可選擇地(u)L93 為 Ser、Glu、Asp 或 His；

(v)L96 為 Gly 或 Asn。

[0095] TFPI-23(及變體)之抗體結合部位殘基亦可指參與與 TFPI 之殘基或與水分子(其亦與 TFPI 氫鍵結)形成氫鍵的殘基且包含下列群組：H58 Tyr、H96 Gly、H97 Ala、H98 Thr、H99 Ser、H100 Leu、L29 Ala、L31 Tyr 和 L95B Gly(根據 Kabat 編號)。參見表 29B。

[0096] TFPI-23(及變體)之抗體結合部位殘基亦可指由於與 TFPI 交互作用而在 BSA 中具有非零變化之殘基且包含下列群組：(根據 Kabat 編號)：H33 Ala、H58 Tyr、H95 Leu、H96 Gly、H97 Ala、H98 Thr、H99 Ser、H100 Leu、H100A Ser、L29 Ala、L31 Tyr、L91 Tyr、L93 Ser、L95A Ser 及 L95B Gly。施用截斷(BSA 為 20Å^{2}或更大，或涉及靜電交互作用)以避免包含具有最小交互作用之殘基。參見表 29B。

[0097] 若未施用 BSA 之截斷，抗體結合部位殘基包括下列群組：H33 Ala、H34 Met、H47 Trp、H50 Ala、H51 Ile、H52 Ser、H56 Ser、H58 Tyr；H95 Leu、H96 Gly、H97 Ala、H98 Thr、H99 Ser、H100 Leu、H100A Ser、L28 Gly、L29 Ala、L31 Tyr、L91 Tyr、L93 Ser、L94 Ser、L95A Ser、L95B Gly、L95C Ser 及 L96 Gly。參見表 29C。

[0098] 本發明之抗體或其抗原結合片段可結合與本文具體舉例之抗體所結合者相同的 TFPI 抗原決定部位或結構域。例如，抗體或其抗原結合片段可藉由比較其與 TFPI 之結合及 TFPI-23 或種系之變體(例如 TFPI-106 和

TFPI-107)與 TFPI 之結合來識別；或藉由比較這些抗體與 TFPI-23 及其變體之功能來識別。可用於該等鑑別目的之解析和分析包括評估競爭結合 TFPI 之分析並將在實施例中舉例說明。

[0099] 於一實施態樣中，本發明之抗體或抗原結合片段可結合與本文所描述之抗體(諸如 TFPI-23 及其變體)所結合者相同之抗原決定部位或區域。此可包括其與如上述之特定 TFPI 殘基接觸。例如，本發明之抗體或抗原結合片段可藉著與選自由下列所組成之群組的殘基接觸(在 4Å 內)的方式與 TFPI 結合：Asp102、Gly104、Ile105、Cys106、Arg107、Gly108、Arg112、Tyr127、Gly129、Cys130、Leu131、Gly132、Met134、Glu138 (根據 SEQ ID NO：2 編號)及彼等之任何組合。本發明之抗體或其抗原結合片段可能有能力與包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基之抗原決定部位結合：Asp102、Gly104、Ile105、Cys106、Arg107、Gly108、Arg112、Tyr127、Gly129、Cys130、Leu131、Gly132、Met134、Glu138(根據 SEQ ID NO：2 編號)及彼等之任何組合。

[0100] 抗體及其抗原結合片段可如下述包含至少一個位於至少一個 TFPI 上之抗原決定部位殘基(根據 SEQ ID NO：2 編號)之 4.0Å 內的抗體結合部位殘基(根據 Kabat 編號)：抗原決定部位殘基 102 Asp 係位於抗體結合部位殘基 H58 Tyr 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 104 Gly 係位於抗體結合部位殘基 H58 Tyr 之 4.0Å 內；抗原決定

部位殘基 105 Ile 係位於抗體結合部位殘基 H33 Ala、H50 Ala、H51 Ile、H52 Ser、H56 Ser、H58 Tyr、H95 Leu 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 106 Cys 係位於抗體結合部位殘基 H100 Leu 和 H100A Ser 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 107 Arg 係位於抗體結合部位殘基 H96 Gly、H97 Ala、H98 Thr、H99 Ser、H100 Leu 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 108 Gly 係位於抗體結合部位殘基 H100 Leu 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 112 Arg 係位於抗體結合部位殘基 L29 Ala、L31 Tyr 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 127 Tyr 係位於抗體結合部位殘基 L31 Tyr 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 129 Gly 係位於抗體結合部位殘基 L31 Tyr 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 130 Cys 係位於抗體結合部位殘基 L91 Tyr、L95B Gly 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 131 Leu 係位於抗體結合部位殘基 H47 Trp、H50 Ala、H58 Tyr、L95A Ser、L95B Gly、L95C Ser 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 132 Gly 係位於抗體結合部位殘基 H58 Tyr、L95A Ser、H58 Tyr、L95A Ser 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 134 Met 係位於抗體結合部位殘基 L95A Ser 之 4.0Å 內；且抗原決定部位殘基 138 Glu 係位於抗體結合部位殘基 L29 Ala 之 4.0Å 內。參見表 29A 和 29B。

[0101] 抗體或其抗原結合片段亦可如下述包含至少一個可與 TFIP 之抗原決定部位殘基(根據 SEQ ID NO：2 編號)形成氫鍵的抗體結合部位殘基(根據 Kabat 編號)：抗原決定部位殘基 102 Asp 可與抗體結合部位殘基 H58 Tyr

形成氫鍵；抗原決定部位殘基 107 Arg 可與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基形成氫鍵：H96 Gly、H97 Ala、H98 Thr、H99 Ser 及 H100 Leu；抗原決定部位殘基 112 Arg 可與抗體結合部位殘基 L29 Ala 形成氫鍵；抗原決定部位殘基 127 Tyr 可與抗體結合部位殘基 L31 Tyr 形成氫鍵；且抗原決定部位殘基 131 Leu 可與抗體結合部位殘基 L95B Gly 形成氫鍵。參見表 29B。

[0102] 抗體或其抗原結合片段亦可如下述包含至少一個由於與抗原決定部位殘基(根據 SEQ ID NO：2 編號)交互作用而在 BSA 具有非零變化之抗體結合部位殘基(根據 Kabat 編號)：抗原決定部位殘基 102 Asp 與抗體結合部位殘基 H58 Tyr 交互作用；抗原決定部位殘基 104 Gly 與抗體結合部位殘基 H58 Tyr 交互作用；抗原決定部位殘基 105 Ile 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H33 Ala、H34 Met、H50 Ala、H51 Ile、H52 Ser、H56 Ser、H58 Tyr 和 H95 Leu；抗原決定部位殘基 106 Cys 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H95 Leu、H100 Leu、H100A Ser 和 L91 Tyr；抗原決定部位殘基 107 Arg 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H96 Gly、H97 Ala、H98 Thr、H99 Ser 和 H100 Leu；抗原決定部位殘基 108 Gly 與抗體結合部位殘基 H100 Leu 交互作用；抗原決定部位殘基 112 Arg 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作

用：L29 Ala、L31 Tyr 和 L93 Ser；抗原決定部位殘基 127 Tyr 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：L31 Tyr 和 L95B Gly；抗原決定部位殘基 129 Gly 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H100A Ser、L31 Tyr 和 L91 Tyr；抗原決定部位殘基 130 Cys 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H95 Leu、H100A Ser、L31 Tyr、L91 Tyr 和 L95B Gly；抗原決定部位殘基 131 Leu 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H47 Trp、H50 Ala、H58 Tyr、H95 Leu、L31 Tyr、L91 Tyr、L95A Ser、L95B Gly、L95C Ser 和 L96 Gly；抗原決定部位殘基 132 Gly 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H58 Tyr 和 L95A Ser；抗原決定部位殘基 133 Asn 與抗體結合部位殘基 L95A Ser 交互作用；抗原決定部位殘基 134 Met 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：L93 Ser、L94 Ser 和 L95A Ser；且抗原決定部位殘基 138 Glu 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：L28 Gly、L29 Ala 和 L93 Ser。

[0103] 本發明之抗體或其抗原結合片段可為任何包含上述之與至少一個上列抗原決定部位殘基交互作用的任一抗體結合部位殘基之抗體或抗原結合片段。

[0104] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其

抗原結合片段包含至少 1 個、至少 2 個、至少 3 個、至少 4 個、至少 5 個、至少 6 個、至少 7 個、至少 8 個、至少 9 個、至少 10 個、至少 11 個、至少 12 個、至少 13 個或所有上述抗體結合部位殘基，或上述各種類別之抗體結合部位殘基的任何組合。此外，可在這些抗體結合部位殘基中引入保守型取代。例如，該抗體或其抗原結合片段可包含 1、2、3、4、5、6、7、或 8 個根據表 34 之保守型取代。

表 34 保守型取代

殘基	保守型取代	殘基	保守型取代
Ala	Ser	Leu	Ile, Val
Arg	Lys	Lys	Arg, Gln
Asn	Gln; His	Met	Leu, Ile
Asp	Glu	Phe	Met, Leu, Tyr
Cys	Ser	Ser	Thr; Gly
Gln	Asn	Thr	Ser, Val
Glu	Asp	Trp	Tyr
Gly	Pro	Tyr	Trp, Phe
His	Asn, Gln	Val	Ile, Leu
Ile	Leu, Val	Pro	-

[0105] 本發明之抗體可能有能力與另一抗體競爭結合如本文所描述之 TFPI。例如，本發明之抗體可與本文所描述之 TFPI-23 及其變體交叉競爭結合 TFPI 或已與該 TFPI-23 抗體結合之 TFPI 的適當片段或變體。該等交叉競爭抗體可根據其在標準結合分析中與本發明之示例性抗體交叉競爭的能力來鑑別。例如可使用 SPR(例如經由使用 Biacore™系統)、ELISA 分所或流式細胞術來證明交叉競爭。該等交叉競爭可能暗示該二種抗體結合同一、重疊或類似之抗原決定部位。

[0106] 因此，本發明之抗體可藉由包含結合分析之方法鑑定，該方法評估測試抗體是否能與本發明之示例性抗體(諸如本文所描述之 TFPI-23 或其任何變體或片段)競爭在靶的分子上之結合位點。

[0107] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈 CDR 序列：(i)包含 SEQ ID NO：38 之 CDR-H1、包含 SEQ ID NO：39 之 CDR-H2 和包含 SEQ ID NO：40 之 CDR -H3；及/或(ii)下列輕鏈 CDR 序列：包含 SEQ ID NO：33 之 CDR-L1、包含 SEQ ID NO：34 之 CDR-L2 和包含 SEQ ID NO：35 之 CDR-L3。於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈 CDR 序列：(i)與 SEQ ID NO：38 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H1、與 SEQ ID NO：39 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H2 和與 SEQ ID NO：40 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H3；及/或(ii)下列輕鏈 CDR 序列：與 SEQ ID NO：33 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L1、與 SEQ ID NO：34 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L2 和與 SEQ ID NO：35 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L3。於某些實施態樣中，相對於 SEQ ID NO：38、39、40、33、34 和 35，分別在各 CDR 中製造不超過 10 個、不超過 9 個、不超過 8 個、不超過 7 個、不超過 6 個、不超過 5、不超過 4 個、不超過 3

個、不超過 2 個或不超過 1 個取代。於某些實施態樣中，該取代為根據表 34 之保守型取代。於某些實施態樣中，該取代係根據表 29A，第 4 列、第 5 列或第 6 列。

[0108] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含人類框架序列。例如，重鏈框架序列可來自人類 VH3 種系、VH1 種系、VH5 種系或 VH4 種系。較佳之人類種系重鏈框架為源自 VH1、VH3 或 VH5 種系之框架。例如，可使用來自下列種系之 VH 框架：IGHV3-23、IGHV3-7 或 IGHV1-69(種系名稱係基於 IMGT 種系定義)。較佳之人類種系輕鏈框架為源自 VK 或 Vλ 種系之框架。例如，可使用來自下列種系之 VL 框架：IGKV1-39 或 IGKV3-20(種系名稱係基於 IMGT 種系定義)。此外或另外，該框架序列可為人類種系共有框架序列，諸如人類 Vλ1 共有序列、VK1 共有序列、VK2 共有序列、VK3 共有序列、VH3 種系共有序列、VH1 種系共有序列、VH5 種系共有序列或 VH4 種系共有序列之框架。

[0109] 人類種系框架之序列可從各種公開之資料庫取得，諸如 V-base、IMGT、NCBI 或 Abysis。

[0110] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) VH，其包含與選自由下列所組成之群組之胺基酸序列具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性

的胺基酸序列：SEQ ID NO：41、63 和 65；及/或(ii) VL，其包含與 SEQ ID NO：36 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 VL 和 VH 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0111] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) CH，其包含與 SEQ ID NO：20 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii) CL，其包含與 SEQ ID NO：26 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 CH 和 CL 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0112] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含 Fc 結構域。該 Fc 結構域可源自 IgA (例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgG、IgE 或 IgG(例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4)。

[0113] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其

抗原結合片段包含：(i)重鏈，其包含與 SEQ ID NO：42、SEQ ID NO：64 或 SEQ ID NO：66 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii)輕鏈，其包含與 SEQ ID NO：37 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些重鏈和輕鏈序列之任何組合亦包含在本發明內。

TFPI-24 及變體

[0114] 該共晶體結構顯示出 TFPI-24(和其變體)與 TFPI-23 共享許多抗原決定部位殘基。其中，Ile105、Arg107 和 Leu131(根據人類 TFPI 編號，如 SEQ ID NO：2 中所示)被認為對抗體-抗原交互作用是重要的。其他共有之抗原決定部位殘基包括：Cys106、Gly108、C130、L131 和 G132(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

[0115] 特異於 TFPI-24(和其變體)之抗原決定部位殘基包括：Glu100、Glu101、Asp102、Gly104 和 Tyr109。TFPI-23 及其變體不與這些殘基結合。參見表 27。因此，本發明提供特異性結合 TFPI 之 K2 中的抗原決定部位之

經分離的抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位(i)包含殘基 Ile105、Arg107 和 Leu131；(ii) 可選擇地包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Cys106、Gly108、Cys130、Leu131 和 Gly132；及(iii)進一步可選擇地包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Glu100、Glu101、Asp102、Gly104 和 Tyr109(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

[0116] 於某些實施態樣中，該抗原決定部位不包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：P103、T111、Y113、F114、N116、Q118、Q121、C122、E123、R124、F125、K126、L140(編號根據 SEQ ID NO：2)及彼等之任何組合。參見表 27。根據 WO201007269(諾和諾德公司)，參考抗體 4F36 識別包含下列群組之抗原決定部位：P103、T111、Y113、F114、N116、Q118、Q121、C122、E123、R124、F125、K126 和 L140。

[0117] 於某些實施態樣中，該抗原決定部位不包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：D31、D32、P34、C35、K36、P103、K126、Y127、G128(根據 SEQ ID NO：2 編號)及彼等之任何組合。參見表 27。根據表 27，參考抗體 2A8 和 2A8-200 識別包含下列群組之抗原決定部位：D31、D32、P34、C35、K36、P103、K126、Y127 和 G128。

[0118] 亦決定來自 TFPI-24 之抗體結合部位殘基(基於 BSA)的特徵(參見表 24)且包括下列群組：H33 Ala、

H35 Gln、H52 Ser、H53 Asn、H55 Arg、H56 Ser、H95 Phe、H96 Leu、H97 His、H99 Ser、H101 Asp、L31 Met、L32 Tyr、L34 His、L36 Tyr、L50 Arg、L91 Trp及L96 Tyr。於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含至少8個、至少9個、至少10個、至少11個、至少12個、至少13個、至少14個、至少15個、至少16個、至少17個或所有這些抗體結合部位殘基。此外，可在這些抗體結合部位殘基中引入保守型取代。例如，該抗體或其抗原結合片段可包含根據表34之1、2、3、4、5、6、7或8個保守型取代。

[0119] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈CDR序列：(i)包含SEQ ID NO：48之CDR-H1、包含SEQ ID NO：49之CDR-H2和包含SEQ ID NO：50之CDR-H3；及/或(ii)下列輕鏈CDR序列：包含SEQ ID NO：43之CDR-L1、包含SEQ ID NO：44之CDR-L2及包含SEQ ID NO：45之CDR-L3。於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈CDR序列：(i)與SEQ ID NO：48具有至少85%、至少90%或至少95%之同一性的CDR-H1、與SEQ ID NO：49具有至少85%、至少90%或至少95%之同一性的CDR-H2和與SEQ ID NO：50具有至少85%、至少90%或至少95%之同一性的CDR-H3；及/或(ii)下列輕鏈CDR序列：與SEQ ID NO：43具有至少85%、至少90%或至少95%之同一性的CDR-L1、與SEQ ID NO：44

具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L2 和與 SEQ ID NO：45 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L3。於某些實施態樣中，相對於 SEQ ID NO：48、49、50、43、44 和 45，分別在各 CDR 中製造不超過 10 個、不超過 9 個、不超過 8 個、不超過 7 個、不超過 6 個、不超過 5、不超過 4 個、不超過 3 個、不超過 2 個或不超過 1 個取代。於某些實施態樣中，該取代為根據表 34 之保守型取代。

[0120] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含人類框架序列。例如，重鏈框架序列可來自如上述之人類 VH3 種系、VH1 種系、VH5 種系或 VH4 種系。較佳之人類種系輕鏈框架為如上述之源自 VK 或 Vλ種系之框架。亦可使用如上述之共有的人類種系框架序列。

[0121] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含(i) VH，其包含與選自由下列所組成之群組之胺基酸序列具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列：SEQ ID NO：67、69、51 和 79；及/或(ii) VL，包其包含與選自由下列所組成之群組之胺基酸序列具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列：SEQ ID NO：46、71、73、75 和 77。這些 VL 和 VH 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0122] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) CH，其包含與 SEQ ID NO：20 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii) CL，其包含與 SEQ ID NO：26 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 CH 和 CL 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0123] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含 Fc 結構域。該 Fc 結構域可源自 IgA(例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgG、IgE 或 IgG(例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4)。

[0124] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i)重鏈，其包含與 SEQ ID NO：52、SEQ ID NO：68、SEQ ID NO：70 或 SEQ ID NO：80 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、

至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii)輕鏈，其包含與 SEQ ID NO：47、SEQ ID NO：72、SEQ ID NO：74、SEQ ID NO：76 或 SEQ ID NO：78 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些重鏈和輕鏈序列之任何組合亦包含在本發明內。

4D8 及變體

[0125] 共晶體結構亦揭露抗體 4D8 及變體之抗原決定部位和抗體結合部位信息。4D8 及其變種之抗原決定部位殘基包括：Glu101、Pro103、Tyr109、Thr111、Ser119、Gln121、Glu123、Arg124、Lys126 和 Leu140(根據 SEQ ID NO：2 編號)。

[0126] 於某些實施態樣中，該抗原決定部位不包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：E100、D102、R107、Y113、F114、N116、Q118、C122(根據 SEQ ID NO：2 編號)及彼等之任何組合。參見表 27。根據 WO201007269(諾和諾德公司)，參考抗體 4F36 識別包含 E100、D102、R107、Y113、F114、N116、Q118 和 C122 之抗原決定部位。

[0127] 於某些實施態樣中，該抗原決定部位不包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：D31、D32、P34、C35、K36、E100、I105、R107、G108、Y127、G128(根據 SEQ ID NO：2 編號)及彼等之任何組合。參見表 27。根據表 27，參考抗體 2A8 和 2A8-200 識別包含 D31、D32、P34、C35、K36、P103、K126、Y127 和 G128 之抗原決定部位。

[0128] 亦表徵來自 4D8 之抗體結合部位殘基(基於 BSA)(參見表 24)並包括下列群組：H50 Asp、H57 Thr、H58 Leu、H59 Tyr、H61 Gln、H98 Asp、H99 Tyr、H100 Asp、L30 His、L50 Trp、L92 Tyr、L93 Thr、L94 Thr 和 L96 Tyr。於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含至少 8 個，至少 9 個、至少 10 個、至少 11 個、至少 12 個、至少 13 個或所有這些抗體結合部位殘基。再者，這些抗體結合部位殘基中可引入保守型取代。例如，該抗體或其抗原結合片段可包含根據表 34 之 1、2、3、4、5、6、7 或 8 個保守型取代。

[0129] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈 CDR 序列：(i)包含 SEQ ID NO：87 之 CDR-H1、包含 SEQ ID NO：88 之 CDR-H2 和包含 SEQ ID NO：89 之 CDR -H3；及/或(ii)下列輕鏈 CDR 序列：包含 SEQ ID NO：81 之 CDR-L1、包含 SEQ ID NO：82 之 CDR-L2 和包含 SEQ ID NO：83 之 CDR-L3。於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合

片段包含下列重鏈 CDR 序列：(i)與 SEQ ID NO：87 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H1、與 SEQ ID NO：88 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H2 和與 SEQ ID NO：89 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H3；及/或(ii)下列輕鏈 CDR 序列：與 SEQ ID NO：81 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L1、與 SEQ ID NO：82 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L2 和與 SEQ ID NO：83 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L3。於某些實施態樣中，相對於 SEQ ID NO：87、88、89、81、82 和 83，分別在各 CDR 中製造不超過 10 個、不超過 9 個、不超過 8 個、不超過 7 個、不超過 6 個、不超過 5、不超過 4 個、不超過 3 個、不超過 2 個或不超過 1 個取代。於某些實施態樣中，該取代為根據表 34 之保守型取代。

[0130] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含人類框架序列。例如，重鏈框架序列可來自如上述之人類 VH3 種系、VH1 種系、VH5 種系或 VH4 種系。較佳之人類種系輕鏈框架為源自如上述之 VK 或 Vλ 種系之框架。亦可使用如上述之共有人類種系框架序列。

[0131] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) VH，其包含與選自由下列所組成之群組之胺基酸序列具有至少 50%、至少 60%、至少

70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列：SEQ ID NO：90、95、97、99、101、103、105 和 107；及/或(ii) VL，其包含與選自由下列所組成之群組之胺基酸序列具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列：SEQ ID NO：84、109 和 111。這些 VL 和 VH 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0132] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) CH，其包含與 SEQ ID NO：20 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii) CL，其包含與 SEQ ID NO：91 或 SEQ ID NO：85 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 CH 和 CL 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0133] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其

抗原結合片段包含 Fc 結構域。該 Fc 結構域可源自 IgA(例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgG、IgE 或 IgG(例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4)。

[0134] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i)重鏈，其包含與 SEQ ID NO：92、SEQ ID NO：94、SEQ ID NO：96、SEQ ID NO：98、SEQ ID NO：100、SEQ ID NO：102、SEQ ID NO：104、SEQ ID NO：106、SEQ ID NO：108 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii)輕鏈，其包含與 SEQ ID NO：86、SEQ ID NO：93、SEQ ID NO：110 或 SEQ ID NO：112 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些重鏈和輕鏈序列之任何組合亦包含在本發明內。

TFPI-3 及變體

[0135] 本發明亦提供 TFPI-3 及其變體。因此，基於 TFPI-3 之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈 CDR 序列：(i)包含 SEQ ID NO：16 之 CDR-H1、包含 SEQ ID

NO：17之CDR-H2及包含SEQ ID NO：18之CDR-H3；及/或(ii)下列輕鏈CDR序列：包含SEQ ID NO：10之CDR-L1、包含SEQ ID NO：11之CDR-L2和包含SEQ ID NO：12之CDR-L3。於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈CDR序列：(i)與SEQ ID NO：16具有至少85%、至少90%或至少95%之同一性的CDR-H1、與SEQ ID NO：17具有至少85%、至少90%或至少95%之同一性的CDR-H2和與SEQ ID NO：18具有至少85%、至少90%或至少95%之同一性的CDR-H3；及/或(ii)下列輕鏈CDR序列：與SEQ ID NO：10具有至少85%、至少90%或至少95%之同一性的CDR-L1、與SEQ ID NO：11具有至少85%、至少90%或至少95%之同一性的CDR-L2和與SEQ ID NO：12具有至少85%、至少90%或至少95%之同一性的CDR-L3。於某些實施態樣中，相對於SEQ ID NO：16、17、18、10、11和12，分別在各CDR中製造不超過10個、不超過9個、不超過8個、不超過7個、不超過6個、不超過5、不超過4個、不超過3個、不超過2個或不超過1個取代。於某些實施態樣中，該取代為根據表34之保守型取代。

[0136] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含人類框架序列。例如，重鏈框架序列可來自如上述之人類VH3種系、VH1種系、VH5種系或VH4種系。較佳之人類種系輕鏈框架為源自如上述之VK或Vλ種系之框架。亦可使用如上述之共有人類種系框架

序列。

[0137] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) VH，其包含與 SEQ ID NO：19 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列，及/或(ii) VL，其包含與 SEQ ID NO：13 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 VL 和 VH 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0138] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) CH，其包含與 SEQ ID NO：20 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii) CL，其包含與 SEQ ID NO：91 或 SEQ ID NO：14 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 CH 和 CL 序

列之任何組合亦包含在本發明內。

[0139] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含 Fc 結構域。該 Fc 結構域可源自 IgA(例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgG、IgE 或 IgG(例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4)。

[0140] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i)重鏈，其包含與 SEQ ID NO：21 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii)輕鏈，其包含與 SEQ ID NO：15 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些重鏈和輕鏈序列之任何組合亦包含在本發明內。

TFPI-21 及變體

[0141] 本發明亦提供 TFPI-21 及其變體。因此，基於 TFPI-21 之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈 CDR 序列：(i)包含 SEQ ID NO：28 之 CDR-H1、包含 SEQ ID NO：29 之 CDR-H2 及包含 SEQ ID NO：30 之 CDR-H3；及/或(ii)下列輕鏈 CDR 序列：包含 SEQ ID NO：22 之

CDR-L1、包含 SEQ ID NO：23 之 CDR-L2 和包含 SEQ ID NO：24 之 CDR-L3。於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈 CDR 序列：(i)與 SEQ ID NO：28 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H1、與 SEQ ID NO：29 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H2 和與 SEQ ID NO：30 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H3；及/或(ii)下列輕鏈 CDR 序列：與 SEQ ID NO：22 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L1、與 SEQ ID NO：23 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L2 和與 SEQ ID NO：24 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L3。於某些實施態樣中，相對於 SEQ ID NO：28、29、30、22、23 和 24，分別在各 CDR 中製造不超過 10 個、不超過 9 個、不超過 8 個、不超過 7 個、不超過 6 個、不超過 5、不超過 4 個、不超過 3 個、不超過 2 個或不超過 1 個取代。於某些實施態樣中，該取代為根據表 34 之保守型取代。

[0142] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含人類框架序列。例如，重鏈框架序列可來自如上述之人類 VH3 種系、VH1 種系、VH5 種系或 VH4 種系。較佳之人類種系輕鏈框架為如上述之源自 VK 或 Vλ 種系之框架。亦可使用如上述之共有人類種系框架序列。

[0143] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其

抗原結合片段包含：(i) VH，其包含與 SEQ ID NO：31 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列，及/或(ii) VL，其包含與 SEQ ID NO：25 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 VL 和 VH 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0144] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) CH，其包含與 SEQ ID NO：20 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii) CL，其包含與 SEQ ID NO：91 或 SEQ ID NO：26 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 CH 和 CL 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0145] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其

抗原結合片段包含 Fc 結構域。該 Fc 結構域可源自 IgA(例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgG、IgE 或 IgG(例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4)。

[0146] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i)重鏈，其包含與 SEQ ID NO：32 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii)輕鏈，其包含與 SEQ ID NO：27 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些重鏈和輕鏈序列之任何組合亦包含在本發明內。

TFPI-26 及變體

[0147] 本發明亦提供 TFPI-26 及其變體。因此，基於 TFPI-26 之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈 CDR 序列：(i)包含 SEQ ID NO：58 之 CDR-H1、包含 SEQ ID NO：59 之 CDR-H2 及包含 SEQ ID NO：60 之 CDR-H3；及/或(ii)下列輕鏈 CDR 序列：包含 SEQ ID NO：53 之 CDR-L1、包含 SEQ ID NO：54 之 CDR-L2 和包含 SEQ ID NO：55 之 CDR-L3。於某些實施態樣中，本文所描述之

抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈 CDR 序列：(i)與 SEQ ID NO：58 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H1、與 SEQ ID NO：59 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H2 和與 SEQ ID NO：60 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H3；及/或(ii)下列輕鏈 CDR 序列：與 SEQ ID NO：53 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L1、與 SEQ ID NO：54 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L2 和與 SEQ ID NO：55 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L3。於某些實施態樣中，相對於 SEQ ID NO：58、59、60、53、54 和 55，分別在各 CDR 中製造不超過 10 個、不超過 9 個、不超過 8 個、不超過 7 個、不超過 6 個、不超過 5、不超過 4 個、不超過 3 個、不超過 2 個或不超過 1 個取代。於某些實施態樣中，該取代為根據表 34 之保守型取代。

[0148] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含人類框架序列。例如，重鏈框架序列可來自如上述之人類 VH3 種系、VH1 種系、VH5 種系或 VH4 種系。較佳之人類種系輕鏈框架為如上述之源自 VK 或 Vλ 種系之框架。亦可使用如上述之共有人類種系框架序列。

[0149] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) VH，其包含與 SEQ ID NO：61 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少

80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列，及/或(ii) VL，其包含與 SEQ ID NO：56 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 VL 和 VH 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0150] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) CH，其包含與 SEQ ID NO：20 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii) CL，其包含與 SEQ ID NO：26 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 CH 和 CL 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0151] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含 Fc 結構域。該 Fc 結構域可源自 IgA(例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgG、IgE 或 IgG(例如 IgG_1、IgG_2、

IgG_3 或 IgG_4)。

[0152] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i)重鏈，其包含與 SEQ ID NO：62 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii)輕鏈，其包含與 SEQ ID NO：57 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些重鏈和輕鏈序列之任何組合亦包含在本發明內。

6B7.c5 及變體

[0153] 本發明亦提供 6B7.c5 及其變體。因此，基於 6B7.c5 之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈 CDR 序列：(i)包含 SEQ ID NO：118 之 CDR-H1、包含 SEQ ID NO：119 之 CDR-H2 及包含 SEQ ID NO：120 之 CDR-H3；及/或(ii)下列輕鏈 CDR 序列：包含 SEQ ID NO：113 之 CDR-L1、包含 SEQ ID NO：114 之 CDR-L2 和包含 SEQ ID NO：115 之 CDR-L3。於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈 CDR 序列：(i)與 SEQ ID NO：118 具有至少 85%、至少 90%或至少

95%之同一性的 CDR-H1、與 SEQ ID NO：119 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H2 和與 SEQ ID NO：120 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H3；及/或(ii)下列輕鏈 CDR 序列：與 SEQ ID NO：113 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L1、與 SEQ ID NO：114 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L2 和與 SEQ ID NO：115 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L3。於某些實施態樣中，相對於 SEQ ID NO：118、119、120、113、114 和 115，分別在各 CDR 中製造不超過 10 個、不超過 9 個、不超過 8 個、不超過 7 個、不超過 6 個、不超過 5、不超過 4 個、不超過 3 個、不超過 2 個或不超過 1 個取代。於某些實施態樣中，該取代為根據表 34 之保守型取代。

[0154] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含人類框架序列。例如，重鏈框架序列可來自如上述之人類 VH3 種系、VH1 種系、VH5 種系或 VH4 種系。較佳之人類種系輕鏈框架為如上述之源自 VK 或 Vλ 種系之框架。亦可使用如上述之共有人類種系框架序列。

[0155] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) VH，其包含與 SEQ ID NO：121 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列，及/或(ii) VL，其包含與 SEQ ID NO：116 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 VL 和 VH 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0156] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) CH，其包含與 SEQ ID NO：91 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii) CL，其包含與 SEQ ID NO：91 或 SEQ ID NO：85 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 CH 和 CL 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0157] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含 Fc 結構域。該 Fc 結構域可源自 IgA(例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgG、IgE 或 IgG(例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4)。

[0158] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i)重鏈，其包含與 SEQ ID NO：122 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii)輕鏈，其包含與 SEQ ID NO：117 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些重鏈和輕鏈序列之任何組合亦包含在本發明內。

7A4.D9 及變體

[0159] 本發明亦提供 7A4.D9 及其變體。因此，基於 7A4.D9 之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈 CDR 序列：(i)包含 SEQ ID NO：128 之 CDR-H1、包含 SEQ ID NO：129 之 CDR-H2 及包含 SEQ ID NO：130 之 CDR-H3；及/或(ii) 下列輕鏈 CDR 序列：包含 SEQ ID NO：123 之 CDR-L1、包含 SEQ ID NO：124 之 CDR-L2 和包含 SEQ ID NO：125 之 CDR-L3。於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含下列重鏈 CDR 序列：(i)與 SEQ ID NO：128 有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H1、與 SEQ ID NO：129 具有至少

85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H2 和與 SEQ ID NO：130 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-H3；及/或(ii)下列輕鏈 CDR 序列：與 SEQ ID NO：123 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L1、與 SEQ ID NO：124 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L2 和與 SEQ ID NO：125 具有至少 85%、至少 90%或至少 95%之同一性的 CDR-L3。於某些實施態樣中，相對於 SEQ ID NO：128、129、130、123、124 和 125，分別在各 CDR 中製造不超過 10 個、不超過 9 個、不超過 8 個、不超過 7 個、不超過 6 個、不超過 5、不超過 4 個、不超過 3 個、不超過 2 個或不超過 1 個取代。於某些實施態樣中，該取代為根據表 34 之保守型取代。

[0160] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含人類框架序列。例如，重鏈框架序列可來自如上述之人類 VH3 種系、VH1 種系、VH5 種系或 VH4 種系。較佳之人類種系輕鏈框架為如上述之源自 VK 或 Vλ 種系之框架。亦可使用如上述之共有人類種系框架序列。

[0161] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) VH，其包含與 SEQ ID NO：131 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列，及/或(ii) VL，其包含與 SEQ ID NO：126 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 VL 和 VH 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0162] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含：(i) CH，其包含與 SEQ ID NO：91 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii) CL，其包含與 SEQ ID NO：91 或 SEQ ID NO：85 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些 CH 和 CL 序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0163] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其抗原結合片段包含 Fc 結構域。該 Fc 結構域可源自 IgA(例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgG、IgE 或 IgG(例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4)。

[0164] 於某些實施態樣中，本文所描述之抗體或其

抗原結合片段包含：(i)重鏈，其包含與 SEQ ID NO：132 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列；及/或(ii)輕鏈，其包含與 SEQ ID NO：127 具有至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、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%之同一性的胺基酸序列。這些重鏈和輕鏈序列之任何組合亦包含在本發明內。

[0165] 本發明亦揭示特異性結合 TFPI 之 K2 結構域並與本文所描述之任一抗體或其抗原結合片段(諸如表 3 中所列之任一抗體(或其抗原結合片段))競爭結合 TFPI 的抗體或其抗原結合片段。例如，若抗體或其抗原結合部分與 TFPI 之結合會阻礙後續 TFPI-23 或 TFPI-106 與 TFPI 結合，則該抗體或其抗原結合部分與 TFPI-23 或 TFPI-106 競爭結合 TFPI。

[0166] 本發明亦揭示特異性結合 TFPI 之 K2 結構域並與本文所描述之任一抗體或其抗原結合片段(諸如表 3 中所列之任一抗體(或其抗原結合片段))結合至相同之 TFPI 抗原決定部位的抗體或其抗原結合片段。

[0167] 藉由 SPR 進行之示例性抗體競爭分析(及重疊抗原決定部位分析) 提供於實施例 6 中。

[0168] 本發明所揭示之抗體和抗原結合片段包括單株抗體、多株抗體、抗體片段(例如 Fab、Fab'、$F(ab')_2$、Fv、Fc，等)、嵌合型抗體、雙特異性抗體、雜偶聯抗體(heteroconjugate antibody)、單鏈(ScFv)、其突變體、包含抗體部分之融合蛋白、結構域抗體(dAb)、人化抗體及包含具有所需特異性之抗原識別位點的免疫球蛋白分子之任何其他經修飾的構型(包括抗體之糖基化變體、抗體之胺基酸序列變體及經共價修飾之抗體)。抗體和抗原結合片段可為小鼠、大鼠、人類或任何其他來源(包括嵌合型或人化抗體)。於一些實施態樣中，該抗體為單株抗體。於一些實施態樣中，該抗體為嵌合型、人化或人類抗體。於某些實施態樣中，該抗體為人類抗體。於某些實施態樣中，該抗體為人化抗體。

[0169] 於某些實施態樣中，本發明所揭示之抗體及其抗原結合片段之親和力(Kd)值不超過約 1×10^{-3} M，諸如不超過約 5×10^{-4} M、不超過約 4×10^{-4} M、不超過約 3×10^{-4} M、不超過約 2×10^{-4} M、不超過約 1×10^{-4} M、不超過約 9×10^{-5} M、不超過約 8×10^{-5} M、不超過約 7×10^{-5} M、不超過約 6×10^{-5} M、不超過約 5×10^{-5} M、不超過約 4×10^{-5} M、不超過約 3×10^{-5}M、不超過約 2×10^{-5} M、不超過約 1×10^{-5} M、不超過約 9×10^{-6} M、不超過約 8×10^{-6} M、不超過約 7×10^{-6} M、不超過約 6×10^{-6} M、不超過約 5×10^{-6}M、不超過約 4×10^{-6} M、不超過約 3×10^{-6} M、不超過約 2×10^{-6} M、不超過約 1×10^{-6} M、不超過約 9×10^{-7} M、不超過約 8×10^{-7}

M、不超過約 7×10^{-7} M、不超過約 6×10^{-7} M、不超過約 5×10^{-7} M、不超過約 4×10^{-7} M、不超過約 3×10^{-7} M、不超過約 2×10^{-7} M、不超過約 1×10^{-7} M、不超過約 9×10^{-8} M、不超過約 8×10^{-8} M、不超過約 7×10^{-8} M、不超過約 6×10^{-8} M、不超過約 5×10^{-8} M、不超過約 4×10^{-8} M、不超過約 3×10^{-8} M、不超過約 2×10^{-8} M、不超過約 1×10^{-8} M、不超過約 9×10^{-9} M、不超過約 8×10^{-9} M、不超過約 7×10^{-9} M、不超過約 6×10^{-9} M、不超過約 5×10^{-9} M、不超過約 4×10^{-9} M、不超過約 3×10^{-9} M、不超過約 2×10^{-9} M、不超過約 1×10^{-9} M、約 1×10^{-3} 至約 1×10^{-13} M、1×10^{-4} 至約 1×10^{-13} M、1×10^{-5} 至約 1×10^{-13} M、約 1×10^{-6} 至約 1×10^{-13} M、約 1×10^{-7} 至約 1×10^{-13} M、約 1×10^{-8} 至約 1×10^{-13} M、約 1×10^{-9} 至約 1×10^{-13} M、1×10^{-3} 至約 1×10^{-12} M、1×10^{-4} 至約 1×10^{-12} M、約 1×10^{-5} 至約 1×100^{-12} M、約 1×10^{-6} 至約 1×10^{-12} M、約 1×10^{-7} 至約 1×10^{-12} M、約 1×10^{-8} 至約 1×10^{-12} M、約 1×10^{-9} 至約 1×10^{-12} M、1×10^{-3} 至約 1×10^{-11} M、1×10^{-4} 至約 1×10^{-11} M、約 1×10^{-5} 至約 1×10^{-11} M、約 1×10^{-6} 至約 1×10^{-11} M、約 1×10^{-7} 至約 1×10^{-11} M、約 1×10^{-8} 至約 1×10^{-11} M、約 1×10^{-9} 至約 1×10^{-11} M、1×10^{-3} 至約 1×10^{-10} M、1×10^{-4} 至約 1×10^{-10} M、約 1×10^{-5} 至約 1×10^{-10} M、約 1×10^{-6} 至約 1×10^{-10} M、約 1×10^{-7} 至約 1×10^{-10} M、約 1×10^{-8} 至約 1×10^{-10} M 或約 1×10^{-9} 至約 1×10^{-10} M。

[0170] 於某些實施態樣中，該解離常數係使用表面

離子體共振(SPR)法(Biacore)測量。表面離子體共振係指一種光學現象，其係例如藉由使用 BIACORE™系統撿測生物傳感器基質內之蛋白質濃度的改變而能實時分析生物特異性交互作用。於某些實施態樣中，該 SPR 測量係使用 Biacore T100 或 T200 儀器進行。

[0171] 例如，用於表面離子體共振之標準分析條件可基於配體固定約 100 個 IgG 之反應單位(RU)在 SPR 晶片上。將純化之靶蛋白在緩衝液中稀釋至最終之濃度範圍並以必需之流速(例如 10-100 μl/min)注射，以允許計算 Ka。允許離解進行以建立解離速率(Kd 值)，再進行 5 秒之 3M $MgCl_2$(或 20mM NaOH)脈衝以使晶片表面再生。然後，使用動力學評估軟體包分析感測圖(sensogram)。

[0172]於示例性實施態樣中，該 SPR 分析係根據實施例 1 中子標題“表面離子體共振(SPR)”下所提出之條件。

[0173] 於某些實施態樣中，該解離常數係利用基於溶液之動力學排除分析(KinExA™)測量。於一特定之實施態樣中，該 KinExA 測量係使用 KinExA™3200 儀器(Sapidyne)進行。該動力學排除分析(KinExA™)為能夠測量抗原/抗體交互作用之平衡解離常數及結合和解離速率常數的通用免疫分析平台(基本上為流式螢光光譜儀(flow spectrofluorometer))。由於 KinExA™係在已取得平衡後進行，其為用於測量高親和力交互作用之 Kd 的有利技術，其中該交互作用之解離速率可能很慢。該 KinExA™方法可大致依 Drake et al(2004) Analytical Biochemistry 328,

35-43 中之描述進行。

[0174] 一般而言，TFPI 抗體需要以高親和力結合 TFPI 以有效地阻斷 TFPI 之活性。但是，由於 TFPI 亦表現在細胞表面上，當該抗體之結合親和力過高，該抗體可很快地被宿主細胞內化和降解。這可能導致半衰期很短及重複注射。例如，與 TFPI-24 相比較，抗體 TFPI-23 顯示出較低之結合親和力(Kd 值)且在某些情況下更為理想，因為其具有較低之內化速率和較長之半衰期。因此，若較長之半衰期較理想，則結合親和力(Kd 值)在 5×10^{-7} M 至約 5×10^{-11} M，尤其是約 1×10^{-8} 至約 1×10^{-10} M(0.1nM 至 10nM)通常較理想。咸信，此範圍可在(i)有效抑制 TFPI 之活性所需之結合親和力，及(ii)較長之半衰期和減少抗體內化之間取得平衡。

[0175] 尤其是，咸信為了維持每週經由皮下給予 3mg/kg 之劑量，Kd 值在約 1×10^{-8} M 至約 1×10^{-10} M(0.1nM 至 10nM)是理想的。

[0176] 抗體或其抗原結合片段是否降低 TFPI 之活性或減少 TFPI 與生理受質(例如 FXa)結合可藉由測量 TFPI 與該生理受質之結合親和力的降低情形測定，例如經由比較(i)在抗 TFPI 抗體(或其抗原結合片段)之存在下，TFPI 與其受質之結合親和力與(ii) 無抗 TFPI 抗體存在時，TFPI 與同一受質之結合親和力來進行。在抗 TFPI 抗體(或其抗原結合片段)之存在下，TFPI 與生理受質(例如 FXa)之結合可減少至少約 10%、至少約 20%、至少約

30%、至少約 40%、至少約 50%、至少約 60%、至少約 70%、至少約 80%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%或至少約 99%。當無該抗體(或片段)存在時，TFPI 與其生理受質之預期結合百分比可設為 100%。

[0177] 亦可在體內模型及/或在玻管內使用，例如血漿系統評估抗 TFPI 抗體或其抗原結合片段之 TFPI 抑制活性(本文中亦稱為“降低 TFPI 之活性”)。例如，抗體之抑制活性(或降低 TFPI 之活性的水準)可藉由下述者評估：(i)在基於血漿之稀釋凝血酶原時間分析中測量之凝血時間的減少情形；(ii)藉由血栓消融術測量之全血凝血時間的減少情形；(iii)凝血酶生成之增加情形；(iv)在 TFPI 之存在下，FXa 活性之增加情形；(v)在 TFPI 之存在下，增進之血小板累積；(vi)在 TFPI 之存在下，增加之纖維蛋白生或；或(vii)彼等之任何組合。抗體或抗原結合片段之抑制活性可為劑量依賴性的(例如造成在基於血漿之稀釋凝血酶原時間分析中所測量之凝血時間呈劑量依賴性降低)。

[0178] 幾種用於評估抗體之 TFPI 抑制活性的示例性分析在實施例中有詳細的描述。例如，該血漿稀釋凝血酶原時間(PT)分析為經修飾之 PT 分析，其利用經稀釋之凝血激酶(thromboplastin)或組織因子以延長該分析之凝血時間及動態範圍。抑制/中和抗 TFPI 抗體應可減少該稀釋凝血酶原時間。

[0179] 用於測定 TFPI 抑制活性之另一示例性模型系

統為外源性 X 酶分析，其測試抗體或其抗原結合片段在 TFPI 之存在下回復由外源性複合物介導之 FX 活化的能力。另一用於表徵 TFPI 抑制活性之模型系統為 FXa 抑制測定法，其中係在 TFPI 之存在下測量 FXa 活性(參見 Sprecher et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 91:3353-3357 (1994))。

[0180] 亦可在基於血漿之分析中評估抗體或其抗原結合片段之抑制活性。在抗 TFPI 抗體或其抗原結合片段之存在下，可在基本上缺乏 FVIII 或 FIX 活性(例如殘餘之凝血因子活性低於 1%)之血漿中觸發凝血酶形成。凝血酶形成可使用螢光受質或顯色受質檢測。凝血酶原轉化可利用，例如 Thrombograph™(Thermo Scientific，美國麻薩諸塞州沃爾瑟姆)測量且所得數據可藉由從 Thrombinoscope BV 取得之 Thrombinoscope™軟體編寫成自動校正凝血酶曲線法(Calibrated Automatic Thrombogram)。

[0181] 例如，抗體或抗原結合片段可改善無 FVIII 存在時(例如在 FVIII 耗竭血漿中)之經 TFPI 調節的凝血酶生成達至少為正常血漿中之 TFPI 依賴性凝血酶生成水準的 1%。一般而言，正常(未受擾動的)血漿中含有約 0.5 U/mL 至約 2 U/ml 之第 VIII 因子。因此，於一些情況中，本發明之抗體或抗原結合片段將可增進無 FVIII 存在時之凝血酶形成達至少為存有 0.5 U/ml 至 2 U/ml 之 FVIII 時所觀察到之水準的約 1%。於進一步之實施態樣中，該抗體(或

其抗原結合片段)將可增進無 FVIII 存在時之凝血酶形成達正常血漿中(即，在生理水準之第 VIII 因子的存在下)之凝血酶形成水準之至少約 2%、至少約 3%、至少約 5%、至少約 7%或至少約 10%。

[0182] 該抗體或抗原結合片段亦可投予缺乏凝血酶或血友病之動物模型以決定 TFPI 之體內抑制活性特徵。該等體內模型為本技藝下所已知且包括，例如經投予抗 FVIII 抗體以誘導 A 型血友病之小鼠(Tranholm et al., Blood, 102, 3615-3620 (2003))；凝血因子基因剔除模型，諸如，但不限於 FVIII 剔除小鼠(Bi et al., Nat. Genet., 10(1), 119-121 (1995))及 FIX 剔除小鼠(Wang et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 94(21):11563-11566 (1997)；兔子之經誘導的 A 型血友病 (Shen et al., Blood, 42(4):509-521 (1973))；及 Chapel Hill HA 狗(Lozier et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 99:12991-12996 (2002))。

[0183] 於某些實施態樣中，本發明揭示之抗體(或抗原結合片段)增強在 TFPI 之存在下的 FXa 活性，其半最大有效濃度(EC_{50})不超過 1×10^{-4} M、不超過 1×10^{-5} M、不超過 1×10^{-6} M、不超過 1×10^{-7} M、不超過 1×10^{-8} M、不超過 1×10^{-9} M、不超過 1×10^{-10} M、不超過 1×10^{-11} M 或不超過 1×10^{-12} M。較佳地，該 EC_{50} 為約 5×10^{-7} M 至 1×10^{-11} M，諸如約 1×10^{-7} M 至 5×10^{-10} M、約 1×10^{-7} M 至 1×10^{-10} M、1×10^{-7} M 至 5×10^{-9} M、5×10^{-7} M 至 5×10^{-10} M、約 5×10^{-7} M 至 1×10^{-10} M 或約 5×10^{-7} M 至 5×10^{-9} M。

[0184] 於某些實施態樣中，本發明之抗體(或抗原結合片段)中和 TFPI 對由 FVIIa/TF 介導之 FX 活化的抑制作用，其半最大有效濃度(EC_{50})不超過 1×10^{-4} M、不超過 1×10^{-5} M、不超過 1×10^{-6} M、不超過 1×10^{-7} M、不超過 1×10^{-8} M、不超過 1×10^{-9} M、不超過 1×10^{-10} M、不超過 1×10^{-11} M 或不超過 1×10^{-12} M。較佳地，該 EC_{50} 為約 5×10^{-7} M 至 1×10^{-11}M，諸如約 1×10^{-7} M 至 5×10^{-10} M、約 1×10^{-7} M 至 1×10^{-10} M、1×10^{-7} M 至 5×10^{-9} M、5×10^{-7} M 至 5×10^{-10} M、約 5×10^{-7} M 至 1×10^{-10} M 或約 5×10^{-7} M 至 5×10^{-9} M。

[0185] 於某些實施態樣中，如在基於血漿之稀釋凝血酶原時間分析中所測量者，本發明揭示之抗體(或抗原結合片段)減少凝血時間，其半最大有效濃度(EC_{50})不超過 1×10^{-4} M、不超過 1×10^{-5} M、不超過 1×10^{-6} M、不超過 1×10^{-7} M、不超過 1×10^{-8} M、不超過 1×10^{-9} M、不超過 1×10^{-10} M、不超過 1×10^{-11} M 或不超過 1×10^{-12} M。較佳地，該 EC_{50} 為約 5×10^{-7} M 至 1×10^{-11} M，諸如約 1×10^{-7} M 至 5×10^{-10} M、約 1×10^{-7} M 至 1×10^{-10} M、1×10^{-7} M 至 5×10^{-9} M、5×10^{-7} M 至 5×10^{-10} M、約 5×10^{-7} M 至 1×10^{-10} M 或約 5×10^{-7} M 至 5×10^{-9} M。

[0186] 於某些實施態樣中，本發明揭示之抗體(或抗原結合片段)增加凝血酶生成速率指數，其半最大有效濃度(EC_{50})不超過 1×10^{-4} M、不超過 1×10^{-5} M、不超過 1×10^{-6} M、不超過 1×10^{-7} M、不超過 1×10^{-8} M、不超過 1×

10^{-9} M、不超過 1×10^{-10} M、不超過 1×10^{-11} M 或不超過 1×10^{-12} M。較佳地，該 EC_{50} 為約 5×10^{-7} M 至 1×10^{-11} M，諸如約 1×10^{-7} M 至 5×10^{-10} M、約 1×10^{-7} M 至 1×10^{-10} M、1×10^{-7} M 至 5×10^{-9} M、5×10^{-7} M 至 5×10^{-10} M、約 5×10^{-7} M 至 1×10^{-10} M 或約 5×10^{-7} M 至 5×10^{-9} M。

[0187] 於某些實施態樣中，本發明揭示之抗體及抗體片段亦可進一步藉由，例如其他生物活性分析評定，以評估其效力、藥學活性及作為治療劑之潛在效力。該等分析為本技藝已知且取決於該靶的抗原和該抗體之所欲用途。實例包括，例如腫瘤細胞生長抑制分析；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)及補體介導之細胞毒性(CDC)分析；激動活性或拮抗活性分析。

C.多核苷酸，載體及宿主細胞

[0188] 本發明亦提供編碼本發明之任一 TFPI 結合抗體的多核苷酸，包括本文所描述之抗體片段和經修飾之抗體，諸如，例如具有減弱之 Fc 效應子功能之抗體。於另一態樣中，本發明提供製造本文所描述之任一多核苷酸的方法。多核苷酸可藉由本技藝已知之程序製造及表現。因此，本發明提供多核苷酸或組成物(包括包含編碼本發明之任一 TFPI 抗體及其抗原結合片段之多核苷酸的醫藥組成物)。

[0189] 於一實施態樣中，該 VH 和 VL 結構域、或彼等之抗原結合片段、或全長 HC 或 LC 係由個別多核苷酸

編碼。或者，VH 和 VL 二者、或彼等之抗原結合片段、或 HC 和 LC 係由單一多核苷酸編碼。

[0190] 本發明提供編碼本發明之任一 TFPI 抗體及其抗原結合片段之多核苷酸或包含該多核苷酸之組成物，本發明之 TFPI 抗體包括，但不限於 TFPI-23、TFPI-24、TFPI-106、TFPI-107 及 4D8，其中該多核苷酸之序列包含 SEQ ID NO：175(編碼 TFPI-106 VH 區)、SEQ ID NO：176(編碼 TFPI-106 VL 區)、SEQ ID NO：177(編碼 TFPI-106 重鏈)及 SEQ ID NO：178(編碼 TFPI-106 輕鏈)之序列。

[0191] 於另一態樣中，本發明提供編碼特異性結合 TFPI 之抗體的 VH 區或其抗原結合部分的經分離之核酸，其包含存在於寄存在 ATCC 編號為 PTA-122329 之質體中的插入子之核酸序列。

[0192] 於另一態樣中，本發明提供編碼特異性結合 TFPI 之抗體的 VL 區或其抗原結合部分的經分離之核酸，其包含存在於寄存在 ATCC 編號為 PTA-122328 之質體中的插入子之核酸序列。

[0193] 於另一態樣中，本發明提供編碼 TFPI 抗體或其部分之多核苷酸及其變體，其中該等變體多核苷酸包含與本發明揭示之任一特定核酸序列分享至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 87%、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%或至少 99%之序列

同一性的核酸序列。在任何長度之多核苷酸序列上的序列同一性程度可利用本技藝之一般技術人士所熟悉之方法計算。於一非限制性實施態樣中，二或多個相關核苷酸序列之間的序列同一性百分比可利用可從國立醫學圖書館取得之核苷酸 BLAST 伺服器(http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/)測定。該軟體提供不同的設置使得本技藝之一般技術人士可根據督如長度、複雜性之類的因素及其他因素來將序列比較最優化。

[0194] 本發明提供包含如下述之核苷酸序列的核酸分子：該核苷酸序列編碼本發明之任一 TFPI 抗體及其抗原結合片段之胺基酸序列(包括，但不限於表 33 中提供之抗體或其抗原結合片段的胺基酸序列，例如 SEQ ID NO：21-174 之胺基酸序列)及與本發明抗體結合至相同之抗原決定部位及/或競爭結合 TFPI 的任一抗體。

[0195] 於另一態樣中，本發明提供編碼 TFPI 抗體之多核苷酸及其變體，其中該等變體多核苷酸編碼與本發明揭示之任一 TFPI 抗體胺基酸序列分享至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、在至少 87%、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%、或至少 99%之序列同一性的胺基酸序列。

[0196] 於其他實施態樣中，介於包含編碼 TFPI 抗體或其部分之變體多核苷酸序列的核酸與包含本發明揭示之任何特定核苷酸序列的核酸之間的相關程度可藉由測試該

變體序列(或其補體)是否可與特定之核苷酸序列(或其補體)在中度或高度嚴格的條件下，在北方點墨或南方點墨分析形式中雜交。示例性和非限制性之“中度嚴格條件”包括在 5×SSC、0.5% SDS、1.0 mM EDTA(pH8.0)之溶液中預洗；在 50℃至 65℃，5×SSC 中雜交一整夜；接著再在 65℃下以含有 0.1%SDS 之 2X、0.5X 和 0.2X SSC 各清洗 20 分鐘，二次。

[0197] 示例性而非限制性的，“高度嚴格條件”或“高嚴格性條件”係指下列者：(1)採用低離子強度和高溫以用於清洗，例如在 50℃下，0.015 氯化鈉/ 0.0015 檸檬酸鈉/0.1 %十二烷基硫酸鈉；(2)在 42℃下，在雜交過程中採用變性劑，諸如甲醯胺(例如 50%(v/v)甲醯胺)與 0.1% 牛血清白蛋白/0.1% Ficoll/0.1% 聚乙烯吡咯啶酮/50mM 磷酸鈉緩衝液，pH 6.5 加 750 mM 氯化鈉、75mM 檸檬酸鈉；或(3)在 42℃下，採用 50%甲醯胺、5×SSC(0.75 M NaCl、0.075 M 檸檬酸鈉)、50mM 磷酸鈉(pH 為 6.8)、0.1%焦磷酸鈉、5×Denhardt 溶液、經超音波處理之鮭魚精子 DNA(50μg/ml)、0.1%SDS 及 10%硫酸葡聚醣，並在 42℃，0.2×SSC(氯化鈉/檸檬酸鈉)及 55℃，50%甲醯胺中清洗，隨後以 55℃，含有 EDTA 之 0.1×SSC 的高度嚴格清洗液清洗。本技藝之技術熟習人士將察知如何依需要調整溫度，離子強度，等以適應諸如探針長度，等因素。本技藝之一般技術人士亦將熟悉用於進行北方或南方點墨分析之標準技術以檢測介於核苷酸序列變體與本發明之特定核

苷酸序列之間的相關程度。

[0198] 本發明亦包含與任一該等序列互補之多核苷酸。多核苷酸可為單股(編碼或反義)或雙股且可為DNA(基因組、cDNA或合成的)或RNA分子。RNA分子包括hnRNA分子(其含有內含子並以一對一的方式對應於DNA分子)及不含有內含子之mRNA分子。另外之編碼或非編碼序列可，但不一定存在於本發明之多核苷酸中。

[0199] 或者，變體亦可基本上與天然基因、或其一部分或其補體同源。該等多核苷酸變體能夠在中等嚴格條件下與編碼天然抗體(或互補序列)之天然DNA序列雜交。

[0200] 本技藝之一般技術人士將可察知由於遺傳密碼之簡併性，有許多核苷酸序列能夠編碼本發明所揭示之任一TFPI抗體或其部分。這些多核苷酸中有些可能與本發明所提供之TFPI抗體的任一特定核苷酸序列具有相當低之序列同一性，但編碼相同胺基酸序列。然而，由於密碼子用途之差異而有所變化的多核苷酸為本發明所特別考慮的。

[0201] 本發明之多核苷酸可使用化學合成、重組方法或PCR來取得。化學多核苷酸合成方法為本技藝所周知，並不需要在本文中詳細地描述。本技藝之技術熟習人士可使用本文提供之序列及市售之DNA合成儀來產生所需之DNA序列。

[0202] 在使用重組方法製備多核苷酸方面，可將包

含所需序列之多核苷酸插入合適之載體中，然後可將該載體引入適合用於複製和擴增之宿主細胞中(如本文所進一步討論者)。多核苷酸可藉由本技藝中已知之任何方法插入宿主細胞中。細胞可經由直接攝取、胞吞作用、轉染、F-交配或電穿孔引入外源多核苷酸來轉化。一旦引入後，可將該外源多核苷酸以非整合載體(例如質體)之形式保持在細胞內或被整合入宿主細胞基因組中。如此擴增之多核苷酸可藉由本技藝所周知之方法從宿主細胞中分離出。參見，例如 Sambrook et al.,1989。

[0203] 或者，PCR 允許複製 DNA 序列。PCR 技術為本技藝所周知且描述於美國專利案第 4,683,195、4,800,159、4,754,065 和 4,683,202 號以及 PCR: The Polymerase Chain Reaction, Mullis et al. eds., Birkauswer Press, Boston, 1994 中。

[0204] RNA 可利用在合適之載體中的分離之 DNA，並將其插入合適之宿主細胞來取得。當細胞複製而 DNA 轉錄成 RNA 時，該 RNA 可隨後利用本技藝之技術熟習人士所周知的方法(例如 Sambrook et al., 1989(同上)中所列舉者)被分離出。

[0205] 合適之選殖載體可根據標準技術構建或可從本技藝中可用之大量選殖載體中選擇。雖然所選定之選殖載體可根據欲使用之宿主細胞而變化，有用之選殖載體通常具有自我複製之能力、可能擁有用於特定之限制性內切酶的單一靶的及/或可能攜帶可用於選擇含有該載體之選

殖株的標記之基因。合適之實例包括質體和細菌病毒，例如 pUC18、pUC19、Bluescript(例如 pBS SK+)及其衍生物、mp18、mp19、pBR322、pMB9、ColE1、PCR1、RP4、噬菌體 DNA 及穿梭載體，諸如 PSA3 和 pAT28。這些和許多其他選殖載體可從商業供應商，諸如 BioRad、Stratagene 和 Invitrogen 公司取得。

[0206] 進一步提供表現載體。表現載體通常為含有根據本發明之多核苷酸的可複製多核苷酸構建體。其暗示表現載體必須能在宿主細胞中或以游離基因(episome)或以染色體 DNA 之組成部分形式複製。合適之表現載體包括，但不限於質體、病毒載體，包括腺病毒、腺相關病毒、逆轉錄病毒、黏粒及 PCT 刊物第 WO 87/04462 號中所揭示之表現載體。載體組分通常可包括，但不限於一或多種下列物質：信號序列；複製起點；一或多個標記基因；合適之轉錄控制元件(諸如啟動子、增強子和終止子)。為了表現(即轉譯)，通常亦需要一或多個轉譯控制元件，諸如核糖體結合位點、轉譯起始位點及終止密碼子。

[0207] 含有所欲多核苷酸之載體及/或該多核苷酸自身可藉由多種適當方式之任一種引入宿主細胞中，包括電穿孔、採用氯化鈣、氯化銣、磷酸鈣、DEAE-葡聚醣或其他物質轉染；基因槍法(microprojectile bombardment)；脂質體轉染；及感染(例如其中該載體為感染劑，諸如牛痘病毒)。引入載體或多核苷酸之選擇通常係取決於該宿主細胞之特性。

[0208] 本發明亦提供包含本文所描述之任一多核苷酸的宿主細胞。任何能過度表現異源 DNA 之宿主細胞均可用於分離編碼所欲抗體、多肽或蛋白質之基因。非限制性哺乳動物宿主細胞之實例包括，但不限於：猿 COS、人 HeLa、人胚胎腎(HEK)293、Sp2.0 及中國倉鼠卵巢(CHO)細胞。亦參見 PCT 刊物第 WO 87/04462 號。合適之非哺乳動物宿主細胞包括原核生物(諸如大腸桿菌(*E. coli*)或枯草芽孢桿菌(*B. subtillis*))和酵母(諸如釀酒酵母(*S. cerevisae*)、粟酒裂殖酵母(*S. pombe*)；或乳酸克魯維酵母(*K. lactis*))。表現 TFPI 抗體或其抗原結合部分之宿主細胞的篩選可使用免疫結合分析檢測，諸如 ELISA、FACS 或其他本技藝之一般技術人士熟悉之分析來檢測。

[0209] 因此，本發明之抗體(或其抗原結合片段)可使用合適之宿主細胞來重組製造。編碼該抗體或其抗原結合片段之核酸可經選殖入表現載體中，然後可將其引入不會另外產生免疫球蛋白之宿主細胞(諸如大腸桿菌細胞、酵母細胞、昆蟲細胞、COS 細胞、CHO 細胞或骨髓瘤細胞)中以達成在該重組宿主細胞中合成單株抗體。示例性宿主細胞包括 CHO 細胞、HEK 293 及 Sp2.0 細胞。

[0210] 表現載體可用於指導 TFPI 抗體之表現。本技藝之技術熟習人士熟悉如何投予表現載體以達到在體內表現外源蛋白。參見，例如美國專利案第 6,436,908；6,413,942；及 6,376,471 號。表現載體之投予包括局部或全身性投予，包括注射、口服投予、粒子槍或插管投予及

局部投予。根據某些非限制性實施態樣，該表現載體係直接投予至肝臟、骨骼肌、骨髓或其他組織。

[0211] 亦可使用靶向投遞之含有表現載體或亞基因組多核苷酸之治療組成物。由受體介導之 DNA 遞送技術描述於，例如 Findeis et al., Trends Biotechnol., 1993, 11:202；Chiou et al., Gene Therapeutics: Methods And Applications Of Direct Gene Transfer, J.A. Wolff, ed., 1994；Wu et al., J. Biol. Chem., 1988, 263:621；Wu et al., J. Biol. Chem., 1994, 269:542；Zenke et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1990, 87:3655；Wu et al., J. Biol. Chem., 1991, 266:338 中。在基因療法方案中，用於局部投予之含有多核苷酸之治療組成物的投予量為約 100ng 至約 200mg 之 DNA。在基因療法方案期間亦可使用濃度範圍在約 500ng 至約 50 mg、約 1μg 至約 2 mg、約 5μg 至約 500μg、約 20μg 至約 100μg 之 DNA。該治療性多核苷酸和多肽可使用基因遞送載體遞送。該基因遞送載體可為病毒或非病毒來源(一般參見 Jolly, Cancer Gene Therapy, 1994, 1:51；Kimura, Human Gene Therapy, 1994, 5:845；Connelly, Human Gene Therapy, 1995, 1:185；及 Kaplitt, Nature Genetics, 1994, 6:148)。該等編碼序列之表現可使用內源性哺乳動物啟動子或異源啟動子誘導。該編碼序列之表現可為組成型或經調節的。

[0212] 用於遞送所需之多核苷酸並在理想之細胞中表現的基於病毒之載體為本技藝所周知。示例性之基於病

毒的載劑包括，但不限於重組逆轉錄病毒(參見，例如PCT刊物第WO 90/07936；WO 94/03622；WO 93/25698；WO 93/25234；WO 93/11230；WO 93/10218；WO 91/02805號；美國專利案第5, 219,740和4,777,127號；GB專利案第2,200,651號；及EP專利案第0 345 242號)、基於α病毒屬之載體(例如新培斯病毒(Sindbis)載體、塞姆利基森林(Semliki forest)病毒(ATCC VR-67；ATCC VR-1247)、羅斯河(Ross River)病毒(ATCC VR-373；ATCC VR-1246)和委內瑞拉馬腦炎(Venezuelan equine encephalitis)病毒(ATCC VR-923；ATCC VR-1250、ATCC VR 1249；ATCC VR-532))及腺相關病毒(AAV)載體(參見，例如PCT刊物第WO 94/12649、WO 93/03769；WO 93/19191；WO 94/28938；WO 95/11984和WO 95/00655號)。亦可採用投予如Curiel, Hum. Gene Ther., 1992, 3:147中所描述之連接經滅殺之腺病毒的DNA。

[0213] 亦可採用非病毒遞送載體和方法，包括，但不限於連接或未連接單獨之經滅殺的腺病毒之聚陽離子性縮聚DNA (參見，例如Curiel, Hum. Gene Ther., 1992, 3:147)；配體連接之DNA(參見，例如Wu, J. Biol. Chem., 1989, 264:16985)；真核細胞遞送載劑細胞(參見，例如美國專利案第5,814,482號；PCT刊物第WO 95/07994；WO 96/17072；WO 95/30763；和WO 97/42338號)及核酸電荷中和或與細胞膜融合。亦可採用裸出之DNA。示例

性之裸出之 DNA 導入方法描述於 PCT 刊物第 WO 90/11092 號和美國專利案第 5,580,859 號中。可作為基因遞送載劑之脂質體描述於美國專利案第 5,422,120 號；PCT 刊物第 WO 95/13796；WO 94/23697；WO 91/14445 號；及 EP 0524968 中。另外之方法描述於 Philip, Mol. Cell Biol., 1994, 14:2411 和 Woffendin, Proc. Natl. Acad. Sci., 1994, 91:1581 中。

[0214] 所欲抗體(或其抗原結合片段)之序列及編碼該等抗體(或其抗原結合片段)之核酸可使用標準之測序技術測定。編碼所欲抗體(或片段)之核酸序列可插入用於重組製造及表徵之其他載體(例如選殖和表現載體)中。重鏈(或該重鏈之片段)和輕鏈(或該輕鏈之片段)可選殖在相同載體或不同載體中。

[0215] 合適之選殖和表現載體可以包括各種組分，諸如啟動子、增強子及其他轉錄調節序列。該載體亦可經建構以允許抗體可變結構域在不同載體之間移動。

[0216] 抗體片段可藉由蛋白水解抗體或其他抗體降解方法、藉由重組方法或藉由化學合成來製備。抗體之多肽，尤其是至多約 50 個胺基酸之較短多肽可方便地藉由化學合成製造。化學合成方法為本技藝中已知且可購得。

[0217] 本發明揭示之抗體或其抗原結合片段可為親和力成熟的。例如，親和力成熟之抗體可藉由本技藝中已知之程序來製造(Marks et al., 1992, Bio/Technology, 10:779-783；Barbas et al., 1994, Proc. Nat. Acad. Sci.

USA 91:3809-3813；Schier et al., 1995, Gene, 169:147-155；Yelton et al., 1995, J. Immunol., 155:1994-2004；Jackson et al., 1995, J. Immunol., 154(7):3310-3319；Hawkins et al., 1992, J. Mol. Biol., 226:889-896；和WO2004/058184)。

4. 調製劑及用途

[0218] 本文所描述之抗體或抗原結合片段可配製成醫藥調製劑。該呈凍乾調製劑或水溶液形式之醫藥調製劑可進一步包含醫藥上可接受之載體、賦形劑或穩定劑(Remington: The Science and practice of Pharmacy 20th Ed., 2000, Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover)。可接受之載體、賦形劑或穩定劑在該劑量和濃度下對接受者無毒且可包含緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸和甲硫胺酸；防腐劑(諸如十八烷基二甲苄基氯化銨；氯化己烷雙胺；苯扎氯銨、苄索氯銨；苯酚、丁基或苄基醇；烷基對羥基苯甲酸酯，諸如甲基或丙基對羥基苯甲酸酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；和間甲酚)；低分子量(少於約10 個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩胺醯胺、天門冬醯胺、組胺酸、精胺酸或賴胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或右旋糖酐；螯合劑，諸如 EDTA；糖類，諸如蔗

糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；形成鹽之抗衡離子，諸如鈉；金屬複合物(例如 Zn-蛋白質複合物)；及/或非離子性表面活性劑，諸如 TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。本文中進一步描述醫藥上可接受之賦形劑。

[0219] 本文所描述之抗體或抗原結合片段可用於各種治療或診斷目的。例如該抗體或其抗原結合片段可作為親和性純化劑(例如用於在玻管內純化 TFPI)、作為診斷劑(例如用於檢測特定細胞、組織或血清中之 TFPI 表現)。

[0220] 本發明之抗體及抗體片段的示例性治療用途包括治療血小板減少症(thrombocytopenia)、血小板病症(血小板功能或數目之病症)及出血病症(例如 A 型血友病、B 型血友病及 C 型血友病)。該抗體和抗體片段亦可用於治療適應症中之不受控制的出血，諸如創傷和出血性中風。該抗體和抗體片段亦可用於預防性治療(例如在外科手術之前)。

[0221] 尤其是，本文所描述之抗體或抗原結合片段可用於治療凝血不足或凝血缺陷。例如，本文所描述之抗體或抗原結合片段可用於減少或抑制 TFPI 與 FXa 交互作用，或減少 TFPI 依賴性抑制 TF/FVIIa/FXa 活性之作用。

[0222] 在治療應用方面，本文所描述之抗體或抗原結合片段可藉由習知技術投予哺乳動物，尤其是人類，諸如經由靜脈內(為大丸藥形式或在一段時間內藉由連續輸注)、肌肉內、腹膜內、腦脊內、皮下、關節內、滑膜內、鞘內、口服、局部途徑或經由吸入。抗體或抗原結合

片段亦適合經由瘤內、腫瘤周圍、病灶內或病灶周圍途徑投予。

[0223] 因此，於一態樣中，本發明提供降低組織因子途徑抑制劑(TFPI)活性之方法，其包含投予有此需要之個體治療有效量之本發明的抗體或抗原結合片段。於另一態樣中，本發明提供縮短出血時間之方法，其包含投予有此需要之個體治療有效量之本文描述的抗體或抗原結合片段。

[0224] 於某些實施態樣中，該個體為人類。

[0225] 於某些實施態樣中，該個體罹患或易發生凝血缺陷。凝血缺陷包括，例如類血友病(von Willebrand disease)(vWD)、A、B 或 C 型血友病及其他血小板病症(諸如先天性血小板缺陷、先天及後天儲存池缺乏症、出血時間延長)。

[0226] 於某些實施態樣中，本文描述之抗體或抗原結合片段係經由皮下投予。於某些實施態樣中，本文描述之抗體或抗原結合片段係經由靜脈內投予。

[0227] 該醫藥組成物可以不同頻率投予有此需要之個體，該頻率可隨著出血事件之嚴重性而變化，在預防性療法之情況中，可能隨著患者凝血缺陷之嚴重性而變化。

[0228] 該組成物可以大丸藥之形式或藉由連續輸注投予有需要之患者。例如，以 Fab 片段呈現之抗體當以大丸藥之形式投予時，投予量可為 0.0025 至 100mg/kg(體重)、0.025 至 0.25mg/kg、0.010 至 0.10mg/kg 或 0.10 至

0.50mg/kg。在連續輸注方面，以 Fab 片段呈現之抗體的投予量可為在 1 至 24 小時、1 至 12 小時、2 至 12 小時、6 至 12 小時、2 至 8 小時或 1 至 2 小時之期間內投遞 0.001 至 100mg/kg(體重)/分鐘、0.0125 至 1.25mg/kg/分鐘、0.010 至 0.75mg/kg/分鐘、0.010 至 1.0mg/kg/分鐘或 0.10 至 0.50mg/kg/分鐘。

[0229] 在投予為全長抗體(具有完整之恆定區)形式之抗體方面，劑量可為約 1 mg/kg 至約 10 mg/kg、約 2 mg/kg 至約 10mg/kg、約 3 mg/kg 至約 10 mg/kg、約 4 mg/kg 至約 10mg/kg、約 5 mg/kg 至約 10 mg/kg、約 1mg/kg 至約 20mg/kg、約 2mg/kg 至約 20mg/kg、約 3mg/kg 至約 20mg/kg、約 4 mg/kg 至約 20 mg/kg、約 5mg/kg 至約 20 mg/kg、約 1mg/kg 或更多、約 2 mg/kg 或更多、約 3 mg/kg 或更多、約 4 mg/kg 或更多、約 5 mg/kg 或更多、約 6 mg/kg 以上、約 7 mg/kg 或更多、約 8 mg/kg 或更多、約 9 mg/kg 或更多、約 10 mg/kg 或更多、約 11mg/kg 或更多、約 12 mg/kg 或更多、約 13 mg/kg 或更多、約 14 mg/kg 或更多、約 15 mg/kg 或更多、約 16 mg/kg 或更多、約 17 mg/kg 或更多、約 19 mg/kg 或更多或約 20 mg/kg 或更多。投予頻率將取決於病況之嚴重程度。頻率範圍可為每週三次至每二週或每三週一次。

[0230] 此外，該組成物可經由皮下注射投予患者。例如，可將劑量為 1 至 100mg 之抗 TFPI 抗體每天一次、

每2天一次、每3天一次、每4天一次、每5天一次、每6天一次、每週二次、每週、每二週、或每月一次經由皮下注射投予患者。

[0231] 於某些實施態樣中，該醫藥組成物係按每週之時間表經由皮下投予約 0.1mg/kg 至約 10mg/kg、約 0.5mg/kg 至約 10mg/kg、約 1mg/kg 至約 10mg/kg、約 1.5mg/kg 至約 10mg/kg、約 2mg/kg 至約 10mg/kg、約 0.1mg/kg 至約 8mg/kg、約 0.5mg/kg 至約 8mg/kg、約 1mg/kg 至約 8mg/kg、約 1.5mg/kg 至約 8mg/kg、約 2mg/kg 至約 8mg/kg、約 0.1mg/kg 至約 5mg/kg、約 0.5mg/kg 至約 5mg/kg、約 1mg/kg 至約 5mg/kg、約 1.5mg/kg 至約 5mg/kg、約 2mg/kg 至約 5mg/kg、約 0.5mg/kg、約 1.0mg/kg、約 1.5mg/kg、約 2.0mg/kg、約 2.5mg/kg、約 3.0mg/kg、約 3.5mg/kg、約 4.0mg/kg、約 4.5mg/kg、約 5.0mg/kg、約 5.5mg/kg、約 6.0mg/kg、約 6.5mg/kg、約 7.0mg/kg、約 7.5mg/kg、約 8.0mg/kg、約 8.5mg/kg、約 9.0mg/kg、約 9.5mg/kg 或約 10.0mg/kg 之劑量。

[0232] 於某些實施態樣中，該醫藥組成物係按每週之時間表經由皮下投予約 2.0mg/kg 之劑量。於某些實施態樣中，該醫藥組成物係按每週之時間表經由皮下投予約 3.0mg/kg 之劑量。

[0233] 本文描述之抗體和抗體片段可以單一療法或與其他療法組合使用來解決止血失調。例如，共同投予本

發明之一或多種本發明之抗體(或抗體片段)與凝血劑(諸如第 VIIa 因子、第 VIII 因子、第 IX 因子或傳明酸)對治療血友病是有用的。

[0234] 於一實施態樣中，本發明提供用於治療凝血缺陷或縮短出血時間之方法，其包含投予(a)第一個量之本發明的抗體或抗原結合片段，及(b)第二個量之第 VIII 因子或第 IX 因子。可選擇地，不共同投予第 VII 因子。於另一實施態樣中，本發明提供用於治療凝血缺陷或縮短出血時間之方法，其包含投予(a)第一個量之本發明的抗體或抗原結合片段，及(b)第二個量之第 VIII 因子或第 IX 因子。可選擇地，不共同投予第 VII 因子。本技藝之技術熟習人士將察知於治療凝血缺陷時，縮短出血時間亦可稱為縮短凝血時間。

[0235] 本發明亦包括包含治療有效量之本發明抗體(或抗體片段)與第 VIII 因子或第 IX 因子之組合物的醫藥組成物，其中該組合物不包含第 VII 因子。“第 VII 因子”包括第 VII 因子和第 VIIa 因子。

生物寄存

[0236] 本發明之代表性物質於 2015 年 7 月 22 日寄存於美國典型培養物保藏中心(美國維吉尼亞州 Manassas，大學大道 10801 號)。ATCC 編號 PTA-122329 之質體載體 mAb-TFPI-106 VH 包含編碼抗體 TFPI-106 之重鏈可變區的 DNA 插入子，而 ATCC 編號 PTA-122328

之質體載體 mAb-TFPI-106 VL 包含編碼抗體 TFPI-106 之輕鏈可變區的 DNA 插入子。該存放係根據國際間承認用於專利程序和規則項(布達佩斯條約)下有關微生物寄存之布達佩斯條約。這確保該寄存之培養物從寄存之日起 30 年可保持存活。該寄存物將根據布達佩斯條約之條款由 ATCC 提供並受輝瑞公司和 ATCC 之間的協議管制，此協議確保該寄存之培養物後代在相關的美國專利案發佈時或在任何美國或外國專利申請案(以先到者為準)開放給公眾時的永久和無限制可用性，並確保由美國專利和商標專員按照 35 USC 第 122 條及符合條件之專員規則(包括 37 CFR 1.14 節，特別參考 886 OG 638)決定具有權利者可取得該後代。

[0237] 本申請案之受讓人已同意若存放之培養物在合適之條件下培養時死亡或遺失或損壞，將在通知時及時更換另一相同物質。寄存之物質的可用性不應被理解為允許在違背任何政府當局根據其專利法之授權下實施本發明。

[實施例]

[0238] 本發明藉由參考下列實施例做進一步之詳細描述。除非另有規定，這些實施例僅用於說明，而不意圖用於限制。因此，本發明不應在任一方面被解釋為限於下列實施例，而應被解釋為包含因本文所提供之教示而變得顯明之任何及所有變化。

實施例 1. 實驗材料及方法

1. TFPI 蛋白試劑

[0239] 表 1 中列出用於致免疫、噬菌體展示選擇及表徵抗 TFPI 抗體之蛋白質試劑，而彼等之序列 ID 列於表 2 中。

[0240] 使 TFPI 構建體(pSMED2 載體)瞬時表現於 HEK293F 細胞中並在轉染後 120 小時收穫該條件培養基。使用鎳瓊脂糖 HP (Nickel Sepharose HP)從條件培養基捕捉所欲之蛋白質並藉由尺寸排阻色層分析法進一步純化。從血液學技術公司取得第 Xa 因子及 X 因子。從 Sekisui Diagnostics 取得用於第 Xa 因子之醯胺水解分析的發色受質 Spectrozyme®FXa。

表 1

用於致免疫、噬菌體展示選擇及鑑別抗 TFPI 抗體之蛋白質試劑

		SeqID (見表 2)		
蛋白試劑	物種	分泌型領導序列	TFPI	C 端標籤
humTFPI K1K2	人類	9	1	8
humTFPI K1K2K3	人類	9	2	8
humTFPI2 K1K2K3	人類	9	3	8
murTFPI K1K2	小鼠	9	4	8
cynTFPI K1K2	食蟹猴	9	5	8
rabTFPI K1K2	兔子	9	6	8
ratTFPI K1K2	大鼠	9	7	8

表2

TFPI試劑序列識別號碼、描述及序列

Seq ID	描述	序列
1	人 TFPIα K1K2 (登錄編號 P10646, 殘基 29-177)	DSEEDEEHTI ITDTELPPLK LMHSFCAFKA DDGPCKAIMK RFFFNIFTRQ CEEFIYGGCE GNQNRFESLE ECKKMCTRDN ANRIIKTTLQ QEKPDFCFLE EDPGICRGYI TRYFYNNQTK QCERFKYGGC LGNMNNFETL EECKNICED
2	人 TFPIα K1K2K3 (登錄編號 P10646, 殘基 29-282)	DSEEDEEHTI ITDTELPPLK LMHSFCAFKA DDGPCKAIMK RFFFNIFTRQ CEEFIYGGCE GNQNRFESLE ECKKMCTRDN ANRIIKTTLQ QEKPDFCFLE EDPGICRGYI TRYFYNNQTK QCERFKYGGC LGNMNNFETL EECKNICEDG PNGFQVDNYG TQLNAVNNSL TPQSTKVPSL FEFHGPSWCL TPADRGLCRA NENRFYYNSV IGKCRPFKYS GCGGNENNFT SKQECLRACK KGFIQRISKG GLIK
3	人 TFPI2 K1K2K3 (登錄編號 P10646, 殘基 23-211)	DAAQEPTGNN AEICLLPLDY GPCRALLLRY YYDRYTQSCR QFLYGGCEGN ANNFYTWEAC DDACWRIEKV PKVCRLQVSV DDQCEGSTEK YFFNLSSMTC EKFFSGGCHR NRIENRFPDE ATCMGFCAPK KIPSFCYSPK DEGLCSANVT RYYFNPRYRT CDAFTYTGCG GNDNNFVSRE DCKRACAKA
4	小鼠 TFPI K1K2 (登錄編號 O54819, 殘基 29-174)	LSEEADDTDS ELGSMKPLHT FCAMKADDGP CKAMIRSYFF NMYTHQCEEF IYGGCEGNEN RFDTLEECKK TCIPGYEKTA VKAASGAERP DFCFLEEDPG LCRGYMKRYL YNNQTKQCER FVYGGCLGNR NNFETLDECK KICENP
5	食蟹猴 TFPI K1K2 (登錄編號 Q2PFV4, 殘基 29-177)	DSEEDEEYTI ITDTELPPLK LMHSFCAFKP DDGPCKAIMK RFFFNIFTRQ CEEFIYGGCG GNQNRFESME ECKKVCTRDN VNRIIQTALQ KEKPDFCFLE EDPGICRGYI TRYFYNNQSK QCERFKYGGC LGNMNNFETL EECKNTCED
6	兔子 TFPI K1K2 (登錄編號 P19761, 殘基 29-177)	AAEEDEEFTN ITDIKPPLQK PTHSFCAMKV DDGPCRAYIK RFFFNILTHQ CEEFIYGGCE GNENRFESLE ECKEKCARDY PKMTTKLTFQ KGKPDFCFLE EDPGICRGYI TRYFYNNQSK QCERFKYGGC LGNLNNFESL EECKNTCEN
7	大鼠 TFPI K1K2 (登錄編號 Q02445, 殘基 29-176)	LPEEDDDTIN TDSELRPMKP LHTFCAMKAE DGPCKAMIRS YYFNMNSHQC EEFIYGGCRG NKNRFDTLEE CRKTCIPGYK KTTIKTTSGA EKPDFCFLEE DPGICRGFMT RYFYNNQSKQ CEQFKYGGCL GNSNNFETLE ECRNTCED
8	間隔子殘基為斜體字, AviTag™ 下方劃線, His-8 標籤為粗體	*GGGSGGGLND IFEAQKIEWH EGGPP***HHHHH HHHHH**
9	小鼠 Igκ分泌領導序列 (登錄編號 P01661, 殘基 1-20)	METDTLLLWV LLLWVPGSTG

2. 抗體試劑

[0241] 用於比較目的之單株抗體(參考抗體 2A8、2A8-200、3F18、hz4F36)列於表 3 中。抗體描述、來源及序列列於表 4 中(第 5 圖)。將輕鏈和重鏈序列選殖入適當之載體中並瞬時表現在人胚腎-293(HEK-293)細胞中，再藉由蛋白 A 瓊脂糖(Protein A Sepharose) 及尺寸排阻色層

分析法純化。從 R&D 系統(目錄 # MAB2974)取得 Mab2974。

表3

輕鏈(LC)CDR1、2、3、可變輕鏈(VL)、恆定輕鏈(CL)、輕鏈(LC)、重鏈(HC)CDR1、2、3、可變重鏈(VH)、恆定重鏈(CH)及重鏈(HC)區之抗體序列識別號碼(SeqID)。表 4 中為 Seq ID 編號之序列組成。

	輕鏈 SeqID (見表 4)						重鏈 SeqID (見表 4)					
抗體	LC CDR 1	LC CDR 2	LC CDR 3	VL	CL	LC	HC CDR 1	HC CDR 2	HC CDR 3	VH	CH	HC
TFPI-3	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
TFPI-21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	20	32
TFPI-23	33	34	35	36	26	37	38	39	40	41	20	42
TFPI-24	43	44	45	46	26	47	48	49	50	51	20	52
TFPI-26	53	54	55	56	26	57	58	59	60	61	20	62
TFPI-106	33	34	35	36	26	37	38	39	40	63	20	64
TFPI-107	33	34	35	36	26	37	38	39	40	65	20	66
TFPI-108	43	44	45	46	26	47	48	49	50	67	20	68
TFPI-109	43	44	45	46	26	47	48	49	50	69	20	70
TFPI-110	43	44	45	71	26	72	48	49	50	51	20	52
TFPI-111	43	44	45	73	26	74	48	49	50	51	20	52
TFPI-112	43	44	45	75	26	76	48	49	50	51	20	52
TFPI-113	43	44	45	77	26	78	48	49	50	51	20	52
TFPI-114	43	44	45	46	26	47	48	49	50	79	20	80
TFPI-115	43	44	45	71	26	72	48	49	50	67	20	68
TFPI-118	43	44	45	77	26	78	48	49	50	67	20	68
TFPI-119	43	44	45	71	26	72	48	49	50	69	20	70
TFPI-122	43	44	45	77	26	78	48	49	50	69	20	70
TFPI-123	43	44	45	71	26	72	48	49	50	51	20	52
TFPI-126	43	44	45	77	26	78	48	49	50	51	20	52
4D8.b1	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92
mu-hu 4D8 嵌合型	81	82	83	84	14	93	87	88	89	90	20	94
4D8-V_k1.0 x V_H1.0	81	82	83	109	14	110	87	88	89	95	20	96
4D8-V_k1.0 x V_H1.1	81	82	83	109	14	110	87	88	89	97	20	98
4D8-V_k1.0 x V_H1.2	81	82	83	109	14	110	87	88	89	99	20	100
4D8-V_k1.0 x V_H1.3	81	82	83	109	14	110	87	88	89	101	20	102
4D8-V_k1.0 x V_H1.4	81	82	83	109	14	110	87	88	89	103	20	104
4D8-V_k1.0 x V_H1.5	81	82	83	109	14	110	87	88	89	105	20	106
4D8-V_k1.0 x V_H1.6	81	82	83	109	14	110	87	88	89	107	20	108
4D8-V_k1.1 x V_H1.0	81	82	83	111	14	112	87	88	89	95	20	96
4D8-V_k1.1 x V_H1.1	81	82	83	111	14	112	87	88	89	97	20	98
4D8-V_k1.1 x V_H1.2	81	82	83	111	14	112	87	88	89	99	20	100
4D8-V_k1.1 x V_H1.3	81	82	83	111	14	112	87	88	89	101	20	102
4D8-V_k1.1 x V_H1.4	81	82	83	111	14	112	87	88	89	103	20	104
4D8-V_k1.1 x V_H1.5	81	82	83	111	14	112	87	88	89	105	20	106
4D8-V_k1.1 x V_H1.6	81	82	83	111	14	112	87	88	89	107	20	108
hz4D8	81	82	83	111	14	112	87	88	89	103	20	104
6B7.c5	113	114	115	116	85	117	118	119	120	121	91	122
7A4.D9	123	124	125	126	85	127	128	129	130	131	91	132
2A8	133	134	135	136	26	137	138	139	140	141	20	142
2A8-200	143	144	145	146	26	147	148	149	150	151	20	152
3F18	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	81	163
hz4F36	164	165	166	167	14	168	169	170	171	172	173	174

3. TFPI 結合 ELISA

[0242] 利用 AviTag™系統將重組 humTFPI K1K2、murTFPI K1K2、cynTFPI K1K2、ratTFPI K1K2、rabTFPI K1K2 或 TFPI2 生物素化並捕捉在塗覆濃度為 1×10^{-8} M(在 ELISA 分析緩衝液中)之格瑞納(Greiner)鏈親和素(streptavidin)的 96 孔盤上。將純化之抗 TFPI 抗體在 ELISA 分析緩衝液中稀釋成 1μg/ml，再連續稀釋 3 倍以產生 8-點稀釋系列。在每一孔中加入體積為 100μL 之稀釋的抗體。將該 96 孔盤在室溫下溫育 2 小時。以 PBS/0.05% Tween20 清洗該 96 孔盤後，將該盤與稀釋 10,000 倍之與辣根過氧化物酶(Pierce)軛合之山羊抗小鼠 IgG-Fc 多株抗體一起溫育。溫育 1 小時後，藉由加入 TMB 受質溶液來檢測經結合之抗體。讀取在 450nm 之吸光度並藉由 GraphPad Prism 軟體分析數據。

4. 表面離子體共振(SPR)

[0243] 藉由胺偶聯抗人類 IgG 抗體(目錄編號 BR-1008-39，GE Healthcare)至經塗覆羧甲基化之葡聚醣的傳感器晶片(CM5)(目錄編號 BR100530，GE Healthcare)上的所有四個流動池來製備抗人類 Fc 傳感器晶片。經由注射 400mM 1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳二醯亞胺鹽酸鹽(EDC)和 N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)之 1:1 混合物 7 分鐘，流速為 10μl/分鐘來活化該流動池。將抗-人類 IgG 抗體在 10mM 醋酸鈉，pH 5.0 中稀釋成 25μg/ml 並注射在所

有流動池上 7 分鐘，流速為 10μl/分鐘。以 1M 乙醇胺 HCL(ETH)阻斷所有流通池 7 分鐘，流速為 10μl/分鐘。該捕捉抗體之最終固定水準為約 10,000 共振單位(RU)。用於固定和動力學之運行緩衝液為 10mM HEPES，pH 7.4、150MM NaCl、3mM EDTA、0.05%(v/v)Tween-20 (HBS-EP +)。為了表徵抗 TFPI 抗體與人類 TFPI 之結合，將該抗體在 HBS-EP +中稀釋成 0.5μg/ml，並由固定在流動池 2、3 和 4 中之抗人類 IgG，以 5μL/分鐘之流速捕捉 30 秒至 1 分鐘，以達到 70 至 300RU 之捕捉水準。使用流動池 1 作為參考表面。捕捉抗體後，將流速增加至 50μL/分鐘並將緩衝液或在 HBS-EP+中，濃度為 0.2nM 至 200nM 之人類 TFPI 注射在所有流動池上以結合 1.0 分鐘，再允許其解離 10 至 15 分鐘。使用所收集之每個捕捉抗體的緩衝液循環以供雙重參考(Myszka,D.G. *J.Mol.Recognit.* 12, 279-284(1999))。在每個週期結束時，藉由脈衝 3M $MgCl_2$ 60 秒使整個抗 IgG 表面再生。在 25℃下，在 BIAcore T200 儀器(GE Healthcare)上以 10Hz 之收集速率進行動力學分析。經由將數據擬合至 BIAcore T200 評估軟體版本 1.0 (GE)之 1：1 模型來測定速率常數和親和力。

5. 第 Xa 因子 TFPI 抑制逆轉法

[0244] 在玻管內評估在抑制性濃度之 TFPI 的存在下，經純化之抗 TFPI 抗體回復第 Xa 因子活性之能力。將

在 PBS 中稀釋之濃度為 1nM 至 500nM 的抗 TFPI 抗體與在活性緩衝液(20mM HEPES，pH 值 8.0、150 mM NaCl、5mM $CaCl_2$、0.5mg/mL BSAT)中之 10nM 重組型人類 TFPI K1K2 或 10nM 兔子 TFPI K1K2 蛋白在 37℃下預溫育 30 分鐘。加入 2nM 源自人類血漿之第 Xa 因子並將反應物在 37℃下溫育 30 分鐘。將發色受質 Spectrozyme Xa 加入其中，使 100μl 之最終反應體積的最終濃度為 500μM。對照反應包括不含第 Xa 因子以控制分析背景、不含 TFPI 以允許 FXa 之產量最大(100%活性)或不含抗 TFPI 抗體(單獨之 PBS)之反應。立即在 SpectraMax M5e 多功能盤式分析儀上，在 60 分鐘之期間內，每隔 2 分鐘在 405nm 波長處讀取反應之吸光度。以 Prism Graph Pad 軟體計算 EC_{50}。

6.二階段 TF-FVIIa-FX 抑制逆轉分析

[0245] 在玻管內評估在抑制性濃度之 TFPI 的存在下，經純化之抗 TFPI 抗體回復第 VIIa 組織因子活性之能力。將濃度為 1nM 至 500nM 之抗 TFPI 抗體與在活性緩衝液中之 10nM 重組型 TFPI K1K2 蛋白在 37℃下預溫育 30 分鐘。將約 1pM 之脂化的組織因子和 1nM 重組型第 VIIa 因子(NovoSeven)加入該反應物中並在 37℃溫育 5 分鐘。將 150nM 之人類第 X 因子引入該反應物中。在每個孔中加入發色受質 Spectrozyme Xa，使 100μl 之最終反應體積的最終濃度為 500μM。對照反應包括不含第 VIIa 因子、不含第 X 因子、不含組織因子、不含 TFPI 或不含抗

TFPI 抗體 (單獨之 PBS)之反應。立即在 SpectraMax M5e 多功能盤式分析儀上，在 60 分鐘之期間內，每隔 2 分鐘在 405nm 波長處讀取反應之吸光度。以 Prism Graph Pad 軟體計算 EC_{50}。

7. 凝血酶生成分析(TGA)

[0246] 使用自動校準之凝血酶曲線(CAT)系統在凝血酶生成分析中評估經純化之抗 TFPI 抗體回復在第 VIII 因子活性衰減之血漿中之凝血酶生成的能力。將在 PBS 中稀釋之濃度為 1nm 至 500nm 的抗 TFPI 抗體引入含有人類第 VIII 因子缺乏血漿及 PPP-低試劑、含有 4μM 磷脂及 1pM 組織因子的反應物中。對照反應物使用 PBS，不含抗體。加入含有螢光生成凝血酶受質及 $CaCl_2$ 之 Fluca 緩衝液來觸發反應。立即使用 Fluoroskan Ascent 盤式分析儀，使用 Thrombinoscope 軟體在 60 分鐘內，每隔 20 秒讀取各反應物之螢光。將各反應物與含有 PBS、凝血酶校準物、第 VIII 因子缺乏血漿及 FLUCA 緩衝液之校準對照孔相比較。使用 Thrombinoscope 軟體(Thrombinoscope BV 版本)分析 Thrombinoscope 凝血酶生成曲線(nM 凝血酶對時間)以推斷出延遲時間、波峰高度及達到峰值時間及曲線下面積或內源性凝血酶潛能(ETP)。使用這些數據來計算速度指數(峰值凝血酶濃度/達到峰值時間-延遲時間)。

[0247] 亦評估經純化之抗 TFPI 抗體回復在第 VIII 因子活性衰減之兔子血漿中之凝血酶生成的能力。在 37℃

下，以最終濃度為 100μg/mL 之抗 FVIII 抗體(GM-8015)或濃度為 100μg/mL 之對照組小鼠抗人類 IgG2a 處理正常之紐西蘭白兔血漿 60 分鐘。在加入反應孔前不久，將兔子血漿在緩衝液(20mM HEPES，140 mM NaCl)中稀釋 3 倍。依上述，以該 FVIII 中和之兔子血漿進行凝血酶生成分析。

8. 產生用於結構研究之食蟹猴(cynomolgus)TFPI K2 結構域

[0248] 將食蟹猴(cyno)TFPI K1K2(表 1)表現在 HEK293 細胞中並在轉染後 120 小時收穫條件培養基。將純化之 Cyno TFPI K1K2120 與人類中性粒細胞彈性蛋白酶(HNE)以 1:70(莫耳比 HNE：TFPI)之比例在室溫下一起溫育 120 分鐘以發生裂解。在 HQ50(Poros)上利用陰離子交換色層分析法將 cyno K1 從 cyno K2 分離。使用 Superdex 75 進行尺寸排阻色層分析來作為最終純化步驟。使用內蛋白酶 AspN 將殘基 AviTag 從 cyno K2 結構域之 C 端修剪掉。

9. 產生用於結構研究之抗體 Fab/cyno TFPI K2 複合物

[0249] 依照製造商(Thermo/Pierce)之方案，以經固定之木瓜蛋白酶分解抗 TFPI 抗體 4D8.b1、TFPI-23、TFPI-24、2A8-200(表 3)及 Mab 2974(R&D 系統)。使用 MabSelect SuRe 純化來自該分解物之 Fab，再將其與 cyno

TFPI K2 形成複合物。然後，將 Fab/cyno TFPI K2 複合物濃縮成約 16 mg/ml。再使用該濃縮物篩選蛋白質結晶條件。

實施例 2. 產生小鼠抗 TFPI 抗體

1. 小鼠免疫化和產生雜交瘤

[0250] 經由皮下途徑以在完全弗氏佐劑中乳化之 5 μg 之 humTFPI K1K2 和 5 μg 之 murTFPI K1K2 蛋白的混合物將一群共 5 隻之 BALB/c 小鼠各自免疫化。隨後每週以在不完全弗氏佐劑中乳化或在 PBS 中稀釋之蛋白混合物輪流將小鼠免疫化 2 次。在第 17 天及 27 天(分別在第五和第七次免疫化之後)採取血液樣本，藉由 ELISA 測試血清中是否存有循環之抗 TFPI 抗體。在第 27 天前，每隻小鼠經由腹腹內注射接受最後一次蛋白質混合物(10 μg)之加強注射。四天後，收穫引流之淋巴結(腋窩、腹股溝及腿)並將匯集之淋巴結細胞與 P3X63.Ag8.653 細胞以 1：1 之比例混合並進行電-細胞融合。將融合之細胞平皿接種在輔以 FBS(25%)、NCTC-109(12.5%)、Glutamax(1%)、青黴素-鏈黴素(1%)、雜交瘤選殖補充劑(5%)和 HAT(1×10^{-4} M 次黃嘌呤、4×10^{-7} M 胺基喋呤(aminopterin)及 1.6×10^{-5} M 胸苷)之 RPMI1640 培養基中。14 天後藉由 ELISA 測試該融合雜交瘤培養上清液與 humTFPI K1K2 之結合情形。根據其結合活性及其在功能分析中之效力，選擇來自三個雜交瘤 4D8、6B7 和 7A4 之抗體漢用於進一步表徵。

2. 源自雜交瘤之抗 TFPI 抗體的選殖和定序

[0251] 製備來自雜交瘤 4D8、6B7 和 7A4 之 RNA 並藉由 RT-PCR 選殖取得來自該表現之抗體的可變區 DNA 序列。將 PCR 產物選殖入 TOPO-TA 選殖載體中，然後藉由常規方法測序。從雜交瘤 6B7 和 7A4 檢測到一個重鏈和輕鏈 cDNA 對。從 4D8 中檢測到二個重鏈和輕鏈 cDNA。

實施例 3. 小鼠雜交瘤抗 TFPI 抗體之表徵

[0252] 藉由有限稀釋將親代雜交瘤 4D8、6B7 和 7A4 分殖以取得單株雜交瘤細胞株。藉由 ELISA 篩選與 humTFPI K1K2 之反應性以鑑定陽性分殖株並擴增之。將來自各雜交瘤的一個分殖株之純化的抗體進一步表徵。

1. 結合 TFPI

[0253] 藉由蛋白質結合 ELISA 測試經純化之抗 TFPI 抗體 4D8.B1、6B7.C5 和 7A4.D9 與重組型人類和兔 TFPI 蛋白之結合。各抗體對 humTFPI K1K2-aviHis10 及 rabTFPI K1K2 之 EC50 值顯示於表 5 中。

表5

小鼠抗 TFPI 單株抗體對人類和兔子 TFPI 之 EC 50 值(nM)

抗體	EC50 (nM) humTFPI K1K2	EC50 (nM) rabTFPI K1K2
4D8.B1	0.0959	0.0976
6B7.C5	0.1209	0.1289
7A4.D9	0.0887	0.0887

[0254] 進行表面離子體共振實驗以評估該經純化之小鼠抗 TFPI 抗體對人類和兔子 TFPI K1K2 蛋白的親和力。各抗體與人類和兔子 TFPI K1K2 結合之 k_a、k_d和 K_D 值顯示於表 6 中。

表6

抗 TFPI 小鼠雜交瘤選殖株結合人類和兔子 TFPI 之動力學測量

分析物	配體	k_a (1/Ms)	k_d(1/s)	K_D (nM)
humTFPI K1K2	4D8.B1	9.58×10^5	1.14×10^{-3}	1.19
humTFPI K1K2	6B7.C5	5.52×10^5	3.63×10^{-3}	6.58
humTFPI K1K2	7A4.D9	1.48×10^6	9.21×10^{-3}	6.22
rabTFPI K1K2	4D8.B1	2.01×10^6	1.26×10^{-3}	0.63
rabTFPI K1K2	6B7.C5	1.14×10^6	5.64×10^{-3}	4.95
rabTFPI K1K2	7A4.D9	5.30×10^6	1.88×10^{-2}	3.55

2. 玻管內活性分析

[0255] 在 FXa 和 TF-FXa-FVIIa 抑制逆轉分析及凝血酶生成分析(TGA)中測試該抗 TFPI 小鼠單株抗體之活性。選擇最有效的抗體 4D8.B1 進行進一步研究。

表7

抗 TFPI 小鼠單株抗體在 FXa 和 TF-FXa-FVIIa 抑制逆轉分析及凝血酶生成分析(TGA)中的活性

抗體	FXa EC50 (nM)	FXa-FVIIa EC50 (nM)	在 20nM 之 TGA 速度指數
4D8.B1	5.9	6.67	26.3
6B7.C5	13.9	12.13	23.5
7A4.D9	22.3	9.35	23.3

實施例 4. 從選殖株 4D8 產生嵌合型及人化抗體

1. 產生小鼠人類嵌合型抗體 4D8

[0256] 將源自雜交瘤 4D8 之可變區 cDNA 分殖入哺乳動物表現載體中以產生其中該小鼠重鏈可變區與人類 IgG1 3M(SEQ 20，表 4)在框架中融合，而該小鼠輕鏈可變區與人類 Igκ 恆定區(SEQ 62，表 4)在框架中融合的嵌合型抗體。將該嵌合型構建體瞬時轉染入 HEK293 細胞中。以所有可能之重和輕鏈組合進行共四次之瞬時轉染以鑑定來自雜交瘤 4D8 之正確的重和輕鏈對。從其中一次轉染產生之抗體被稱為 hu-mu 4D8 嵌合體(表 3 和 4)。

2. 小鼠-人類嵌合型抗體 4D8(hu-mu 4D8)之表徵

[0257] 藉由蛋白質結合 ELISA(表 8)和 SPR(表 9)測試 Mu-hu 4D8 嵌合體與人類和兔子 TFPI K1K2 蛋白結合的能力。該 KD 和 EC50 值與那些以純化之小鼠 Mab 4D8.B1 測得的數值非常相似，證明移植到人類 IgG1 屬性之小鼠可變區的移植物可保留結合活性。

表 8

Mu-hu 4D8 嵌合體對人類和兔 TFPI 之 EC50(nM)值

抗體	EC50 (nM) humTFPI K1K2	EC50 (nM) rabTFPI K1K2
mu-hu 4D8 嵌合體	0.0577	0.0680

表 9

Mu-hu 4D8 嵌合體與人類和兔子 TFPI 結合之動力學測量值

抗體	配體	k_a (1/Ms)	k_d(1/s)	K_D (nM)
humTFPI K1K2	mu-hu 4D8 嵌合體	9.58×10^5	1.14×10^{-3}	1.19
rabTFPI K1K2	mu-hu 4D8 嵌合體	2.01×10^6	1.26×10^{-3}	0.63

3. hu-mu 4D8 嵌合體之人化

[0258] 藉由 CDR 移植到人類受體框架序列上來將 hu-mu 4D8 嵌合體序列人化。選擇 DP54 框架和 DPK9 框架。然後表現該重和輕鏈構建體之組合(參見表 3)。在 ELISA 結合分析中測試抗體與人類和兔子 TFPI 結合(表 10)及在 SPR 結合分析中測試抗體與人類 TFPI 結合(表 11)。

表 10

人化 4D8 抗體與人類和兔子 TFPI K1K2 蛋白質結合之 EC50(nM)值

抗體	EC50 (nM) humTFPI K1K2	EC50 (nM) rabTFPI K1K2
4D8 V_k 1.0 x V_H 1.0	0.0772	0.0785
4D8 V_k 1.0 x V_H 1.1	0.0884	0.0705
4D8 V_k 1.0 x V_H 1.2	0.0758	0.0422
4D8 V_k 1.0 x V_H 1.3	0.0822	0.0556
4D8 V_k 1.0 x V_H 1.4	0.0560	0.0426
4D8 V_k 1.1 x V_H 1.0	0.0429	0.0451
4D8 V_k 1.1 x V_H 1.1	0.0818	0.0788
4D8 V_k 1.1 x V_H 1.2	0.0590	0.0783
4D8 V_k 1.1 x V_H 1.3	0.0651	0.0511
4D8 V_k 1.1 x V_H 1.4	0.0493	0.0716

表 11

人化 4D8 抗體與 humTFPI K1K2 蛋白結合的 SPR 分析

抗體	k_a (1/Ms)	K_d (1/s)	K_D, nM
4D8 V_k 1.0 x V_H 1.0	6.77×10^4	4.70×10^{-4}	6.94×10^{-9}
4D8 V_k 1.0 x V_H 1.1	6.06×10^4	1.54×10^{-3}	2.54×10^{-8}
4D8 V_k 1.0 x V_H 1.2	2.38×10^5	1.65×10^{-4}	6.95×10^{-10}
4D8 V_k 1.0 x V_H 1.3	7.95×10^4	5.71×10^{-4}	7.19×10^{-9}
4D8 V_k 1.0 x V_H 1.4	7.55×10^4	8.35×10^{-4}	1.11×10^{-8}
4D8 V_k 1.1 x V_H 1.0	1.25×10^5	8.35×10^{-4}	5.50×10^{-10}
4D8 V_k 1.1 x V_H 1.1	1.93×10^5	1.61×10^{-4}	8.32×10^{-10}
4D8 V_k 1.1 x V_H 1.2	1.51×10^5	9.49×10^{-5}	6.27×10^{-10}
4D8 V_k 1.1 x V_H 1.3	1.59×10^5	1.31×10^{-4}	8.23×10^{-10}
4D8 V_k 1.1 x V_H 1.4	2.21×10^5	5.28×10^{-5}	2.93×10^{-10}

[0259] 基於這些數據，選擇 4D8 Vk 1.1 xVH 1.4 進行進一步表徵且命名為 hz4D8(表 3)。在抑制逆轉分析、二階段 TF-FVIIa-FX 抑制分析和凝血酶生成分析中比較人化抗 TFPI 抗體(hz4D8)與小鼠 4D8.B1FXa 之活性。表 12 中之數據顯示出與小鼠抗體相比較，人化抗體在所有三個分析中均具有改善的活性，這指出 TFPI 結合活性被完全

保留在人化抗體中。

表 12

在 FXa 和 FXa-FVIIa 抑制逆轉分析和凝血酶生成分析(TGA)中比較 4D8.B1 和 hz4D8 抗體

抗體	FXa 之 EC50 (nM)	FXa-FVIIa 之 EC50 (nM)	在 20nM 之 TGA 速度指數
4D8.B1	4.15	3.5	13.5
Hz4D8	1.87	1.57	15.7

實施例 5. 藉由噬菌體展示技術產生另外之抗 TFPI 抗體

1. 藉由噬菌體展示選擇抗 TFPI 抗體

[0260] 使用源自未經免疫化之人類供體的 scFv 抗體片段之噬菌體展示庫進行 4 輪選擇後鑑定結合重組型人類和小鼠 TFPI K1K2 之單鏈片段可變(scFv)抗體。使用鏈親和素小珠在溶液中執行噬菌體選擇。經由與 140mM 之三乙醇胺(TEA)，pH 11.5 或 50mM 之 MES，pH 5.5 在室溫下，旋轉振盪器上溫育 10 分鐘並以 1M Tris-HCl，pH7.5 中和之來洗提出經結合之噬菌體。

[0261] 使用洗提出之噬菌體匯集體感染 10mL 已生長至中期對數期之大腸桿菌 ER2738 培養(相當於 OD_{600} 為約 0.5)。在 37℃下，以噬菌體感染細菌 30 分鐘，不搖動，藉由離心濃縮並進行平皿接種，再在 30℃下生長一整夜。在下一輪選擇方面，經由接種在 25mL 之 2×TYAG/四環素達到 OD_{600} 為約 0.1，再令其在 37℃下生長至 OD_{600} 為 0.3 至 0.5 來救回噬菌體。以 1:20 細胞/輔助噬菌體之比率，以 MK13K07 輔助噬菌體超感染細胞並在 37℃下溫育 30 分鐘，不搖動，再在 150rpm 搖動 60 分鐘。然後將

細胞離心並將沉澱小丸重新懸浮在含有卡那黴素/非葡萄糖之培養基中。令此培養物在 25℃生長一整夜。離心後收穫上清液中之噬菌體並用於下一輪之選擇。

2. 製備用於 ELISA 分析之粗周質材料

[0262] 根據所使用之生長條件，ScFv 抗體片段可表現在噬菌體粒子表面上或在細菌周質空間之溶液中。為了誘導 scFv 抗體片段釋入周質中，將來自解凍之甘油貯存物接種在含有 2X TY 培養基與 0.1%葡萄糖/100μg/ mL 胺苄青黴素之 96 深孔盤中，並在 37℃下生長約 4 小時。藉由滲透性休克釋出細菌周質之內容物(peripreps)。將盤離心並收穫含有該 scFv 之上清液。

3. 藉由 ELISA 測量表現在周質中之 scFv 與人類和小鼠 TFPI K1K2 之結合

[0263] 隨機從所有分支選擇之第 2、3 和 4 輪中挑出總共 1984 個選殖株。藉由周質製品(periprep)結合 ELISA 來鑑定 TFPI scFv 結合株。將在 PBS 中，濃度為 1μg/mL 之經生物素化的人類和小鼠 TFPI K1K2 塗覆在 384 孔 Nunc Maxisorp 鏈親和素盤上。將 TFPI K1K2 溶液移除並將該盤在室溫下，在 0.05% Tween 20/1% BSA/PBS 中阻斷 1 小時。製備周質製品並在室溫下，等體積之 6%乳汁/1%BSA 中阻斷 1 小時。將 20μl/孔之經阻斷的周質 scFv 和對照抗體轉移至適當的盤中並在室溫下溫育 1 小時。加

入抗 myc 辣根過氧化物酶(HRP)之 1：2,000 稀釋液或山羊抗人類 HRP 二次抗體之 1:10,000 稀釋液以檢測經結合之 scFv 或抗 TFPI 對照抗體。使用 3,3',5,5'-四甲基聯苯胺發展信號並在 Envision 盤式分析儀(Perkin Elmer)上讀取在 450nm 之吸光度。共有 883 個 scFV 選殖株被鑑定為 TFPI 結合株。為該 883 個 TFPI 結合 scFv 進行測序以鑑定獨特之選殖株。選出 288 個獨特之選殖株來測試 TFPI/FXa 競爭性結合。

4. 藉由 ELISA 鑑定與 FXa 競爭結合人類和小鼠 TFPI K1K2 之 scFv

[0264] 在 FXa/TFPI 競爭性結合 ELISA 中共測試 288 個獨特選殖株。將在 PBS 中濃度為 1μg/mL 之人類 FXa 塗覆在 384 孔 Nunc Maxisorp 盤上一整夜。將 FXa 溶液移除並將該盤在室溫下，在 0.05% Tween 20/1% BSA/PBS 中阻斷 1 小時。製備週質製品並在室溫下，等體積之 6%乳汁/1%BSA 中阻斷 1 小時。將 20μl/孔之經阻斷的週質 scFv 和對照抗體與經生物素化之 humTFPI K1K2 混合並在室溫下溫育 1 小時。將混合物轉移至經 FXa 塗覆之盤並在室溫下 1 溫育小時。加入鏈親和素辣根過氧化物酶之 1：2000 稀釋液以檢測經結合之 TFPI。使用 3,3',5,5'-四甲基聯苯胺發展信號，在 Envision 盤式分析儀(Perkin Elmer)上，讀取在 450nm 之吸收度。共有 48 個 scFV 抗體被歸類為 TFPI/FXa 結合之競爭性抑制劑。

5. ScFv 轉化成人類 IgG

[0265] 共選出 48 個顯示出結合 TFPI 及在 TFPI/FXa 競爭性 ELISA 中之抑制作用之具有獨特序列的 scFV 抗體以分殖到人類 IgG-3M 選殖載體中。簡單地說，藉由標準 PCR 擴增片段。將 VH 或 VL 片段進行凝膠純化並連接入含有人類 IgG1-3M(VH)或 κ 或 λ 恆定區(VK/VL)之哺乳動物表現載體中。然後，使用 VH 和 VK/VL 配對之表現載體在 HEK 293 細胞中以供哺乳動物瞬時表現並純化。

6. 決定人類 IgG-3M 抗 TFPI 抗體之特徵

[0266] 在各種分析(包括 FXa 和 TF/FVII/FXa 抑制逆轉分析)中將 48 種抗 TFPI 抗體分級。TFPI-3、TFPI-21、TFPI-23、TFPI-24 和 TFPI-26 具有所期望之性質，諸如 TFPI 跨物種，與 humTFPI2 K1K2K3 之結合力低或無(表 13)。此相同 5 種抗體之 FXa 和 TF/FVIIa/FXa 抑制逆轉分析數據顯示於表 14 中，而 SPR 結合數據顯示於表 15 中。

表13

顯示出結合多個TFPI物種(人類、猴、鼠、兔和大鼠)且不與人類TFPI2結合或結合力弱的TFPI抗體

抗體	humTFPI K1K2	cynTFPI K1K2	murTFPI K1K2	rabTFPI K1K2	ratTFPI K1K2	humTFPI2 K1K2K3
TFPI-3	++	++	++	++	-	-
TFPI-21	++	++	++	++	++	-
TFPI-23	++	++	++	++	++	-
TFPI-24	++	++	++	++	++	+/-
TFPI-26	++	++	++	++	++	-

表14

FXa、TF/FVIIa/ FXa抑制逆轉分析及凝血酶生成分析中的TFPI抗體活性

抗體	FXa EC50 (nM)	FXa-FVIIa EC50 (nM)	在 20nM 之 TGA 速度指數
TFPI-3	207.9	37.4	NT
TFPI-21	80.64	54.1	24.71
TFPI-23	46	32.2	23.28
TFPI-24	23	9.3	23.21
TFPI-26	12.8	9.6	18.65

表15

TFPI抗體對人類和小鼠TFPI之SPR結合動力學

分析物	配體	k_a (1/Ms)	k_d(1/s)	K_D (nM)
humTFPI K1K2	TFPI-3	6.25×10^4	1.7×10^{-3}	27.05
humTFPI K1K2	TFPI-21	7.85×10^5	3.47×10^{-2}	43.95
humTFPI K1K2	TFPI-23	9.18×10^5	9.71×10^{-3}	9.89
humTFPI K1K2	TFPI-24	1.59×10^5	8.62×10^{-4}	5.46
humTFPI K1K2	TFPI-26	2.05×10^5	1.18×10^{-3}	5.79
murTFPI K1K2	TFPI-3	2.15×10^5	8.24×10^{-4}	3.81
murTFPI K1K2	TFPI-21	1.73×10^6	7.71×10^{-3}	4.54
murTFPI K1K2	TFPI-23	1.69×10^6	2.48×10^{-3}	1.46
murTFPI K1K2	TFPI-24	2.48×10^5	5.96×10^{-3}	24.1
murTFPI K1K2	TFPI-26	1.29×10^6	4.76×10^{-3}	3.68

實施例 6. 藉由 SPR 測繪抗 TFPI 抗體之抗原決定部位圖譜

[0267] 使用三明治 SPR 分析來測繪本文件中發明及揭示之抗 TFPI 抗體(TFPI-21、TFPI-23、TFPI-24、4D8、6B7.c5 和 7A4.D9)的抗原決定部位之圖譜。其他已知之參考抗體(hz4F36、2A8-200 和 Mab2974) 亦包括在抗原決定部位測繪實驗中。使用 NHS 化學將抗體 1 固定在 CM5 biacore 晶片上。首先將人類 TFPI(humTFPI K1K2)注射在該晶片上直到結合接近表觀平衡。停止注射人類 TFPI 後不久，將抗體 2 注射在該晶片上。如果抗體 2 結合在該 CM5 晶片表面上之抗體 1 和人類 TFPI 的複合物，則抗體 2 相對於抗體 1 具有不同且非重疊之 TFPI 結合抗原決定部位(記為+)。若抗體 2 顯示出無結合，則其相對於抗體 1 被記為明顯重疊之抗原決定部位(負(-))與抗體 1。若抗體 2 顯示出結合力弱，則抗體 1 和 2 被認為在 TFPI 抗原決定部位具有部分重疊(記為+/-)。如表 16 中所示，TFPI-21 和 TFPI-23 具有類似之抗原決定部位且該數據亦顯示 TFPI-21 和 TFPI-23 具有與 mab2974 和 hz4F36 完全不同的抗原決定部位。

表16

使用SPR三明治分析測繪抗TFPI抗體之抗原決定部位圖譜

抗體 1	抗體 2								
	TFPI-21	TFPI-23	TFPI-24	hz4F36	2A8-200	Mab2479	4D8.b1	6B7.c5	7A4.D9
TFPI-21	-	-	-	+	-	+	+	+	-
TFPI-23	-	-	-	+	-	+	+	+	-
TFPI-24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
hz4F36	+	+	-	-	-	-	-	-	-
2A8-200	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mab2479	+	+	-	-	-	-	-	-	+/-
4D8.b1	+	+	-	-	-	-	-	-	+
6B7.c5	+	+	-	-	-	-	-	-	+
7A4.D9	-	-	-	-	-	+/-	+	+	-

將抗體 1 固定在 CM5 晶片之表面上。然後將人類 TFPI(humTFPI K1K2)注射到表面上，直到該測量值接近表觀平衡。停止 TFPI 注射後立即注射抗體 2 以測量與抗體 1/TFPI 複合物之結合。具有完全不同之抗原決定部位的抗體 1 和 2 配對給予"+"記號。具有強烈重疊之抗原決定部位的抗體配對給予"-"記號。若抗體 2 顯示出結合力弱，則抗體 1 和 2 被認為在 TFPI 抗原決定部位中有一些部分重疊(記為+/-)。

實施例 7. 種系化 TFPI-23 抗體之人類框架

[0268] 製造二種 TFPI-23 的變體以增加人類框架種系殘基之含量。TFPI-106 含有 H1Q 至 E 及 H5V 至 L 之突變(Kabat 編號)，而 TFPI-107(表 3 和 4)含有 H1Q 至 E、H5V 至 L 及 H94I 至 K 之突變(Kabat 編號)。表現 TFPI-106、TFPI-107 和 TFPI-23，純化後藉由 SPR 測試與 humTFPI K1K2 之結合。表 17 中之數據顯示出與 TFPI-23 親本抗體比較時，TFPI-106 種系變體保留全部結合親和力。

表17

TFPI-23人類框架種系變體對人類TFPI的SPR結合動力學

分析物	配體	k_a (1/Ms)	k_d(1/s)	K_D (nM)
humTFPI K1K2	TFPI-23	9.18×10^5	9.71×10^{-3}	9.89
humTFPI K1K2	TFPI-106	2.72×10^6	9.74×10^{-3}	3.7
humTFPI K1K2	TFPI-107	-	-	未結合

當與親本 TFPI-23 抗體比較時，TFPI-106 顯示出結合力適度改善。

實施例 8. 種系化 TFPI-24 抗體之人類框架

[0269] 製造四種 TFPI-24 VL 變體(TFPI-110、TFPI-111、TFPI-112、TFPI-113)並與 TFPI-24 VH 序列配對。製造三種 TFPI-24 VH 變體(TFPI-108、TFPI-109、TFPI-114)並與 TFPI-24 VL 序列配對。根據這些數據，將最佳之 VL 變體 TFPI-113 與最佳之 VH 變體 TFPI-108 配對以產生抗體 TFPI-118。藉由 SPR 測試 TFPI-118 和 TFPI-24 與人類 TFPI 結合，表 18 中之結果顯示出相當之結合動力學。

表18

使用SPR比較TFPI-24和人類框架變體TFPI-118與人類TFPI結合之結合動力學

分析物	配體	k_a (1/Ms)	k_d(1/s)	K_D (nM)
humTFPI K1K2	TFPI-24	9.18×10^5	9.71×10^{-3}	3.68
humTFPI K1K2	TFPI-118	1.25×10^5	1.19×10^{-3}	9.61

TFPI-118 顯示出與親本 TFPI-23 抗體相當之結合動力學。

實施例 9. 抗 TFPI 抗體與來自不同物種之 TFPI 的 SPR 結合動力學

[0270] 藉由 SPR 分析抗 TFPI 抗體(TFPI-106、TFPI-118 及 hz4F36)以測定對來自不同動物物種之 TFPI(人類(huTFPI K1K2)、食蟹猴(cynTFPI K1K2)、兔子(rabTFPI K1K2)、小鼠(murTFPI K1K2)及大鼠(ratTFPI K1K2)；表 1) 的結合動力學。本實驗中亦包括三種比較抗體(hz4F36、2A8 和 2A8-200)。

表19

抗 TFPI 抗體對人類、食蟹猴、兔子、大鼠及小鼠 TFPI 之 SPR 結合動力學
(k_d 值為來自 2 個實驗的平均值)

分析物	配體	k_a (1/Ms)	k_d(1/s)	K_D (nM)
humTFPI K1K2	TFPI-106	2.72×10^6	9.74×10^{-3}	3.7
humTFPI K1K2	TFPI-118	1.25×10^5	1.19×10^{-3}	9.61
humTFPI K1K2	hz4D8	3.16×10^6	1.32×10^{-3}	0.42
humTFPI K1K2	hz4F36	1.89×10^6	9.30×10^{-4}	0.49
humTFPI K1K2	2A8	3.55×10^5	3.77×10^{-3}	10.6
humTFPI K1K2	2A8-200	1.16×10^6	3.81×10^{-3}	0.327
cynTFPI K1K2	TFPI-106	6.55×10^6	8.01×10^{-3}	1.22
cynTFPI K1K2	TFPI-118	7.21×10^5	1.27×10^{-3}	1.8
cynTFPI K1K2	hz4D8	2.93×10^7	1.95×10^{-3}	0.067
cynTFPI K1K2	hz4F36	6.86×10^6	2.88×10^{-3}	0.425
cynTFPI K1K2	2A8	2.37×10^5	3.06×10^{-2}	13.25
cynTFPI K1K2	2A8-200	1.25×10^6	8.09×10^{-4}	0.637
rabTFPI K1K2	TFPI-106	3.66×10^6	1.55×10^{-2}	4.25
rabTFPI K1K2	TFPI-118	2.01×10^5	1.55×10^{-2}	5.79
rabTFPI K1K2	hz4D8	3.16×10^6	2.9×10^{-3}	0.502
rabTFPI K1K2	hz4F36	4.2×10^6	7.6×10^{-3}	1.81
rabTFPI K1K2	2A8	7.3×10^5	1.23×10^{-3}	1.69
rabTFPI K1K2	2A8-200	1.92×10^6	2.77×10^{-4}	0.145
murTFPI K1K2	TFPI-106	4.05×10^6	2.32×10^{-3}	0.575
murTFPI K1K2	TFPI-118	2.19×10^5	9.82×10^{-3}	45.6
murTFPI K1K2	hz4D8	-	-	未結合
murTFPI K1K2	hz4F36	-	-	未結合
murTFPI K1K2	2A8	1.91×10^5	6.32×10^{-3}	33.65
murTFPI K1K2	2A8-200	2.54×10^6	1.17×10^{-3}	0.455
ratTFPI K1K2	TFPI-106	3.01×10^6	4.71×10^{-3}	1.57
ratTFPI K1K2	TFPI-118	4.83×10^5	1.75×10^{-3}	3.65
ratTFPI K1K2	hz4D8	-	-	未結合
ratTFPI K1K2	hz4F36	-	-	未結合
ratTFPI K1K2	2A8	-	-	未測試
ratTFPI K1K2	2A8-200	-	-	未測試

實施例 10. 抗 TFPI 抗體/ TFPI 複合物結構

1. 4D8.b1 Fab/cyno TFPI K2 複合物結構

[0271] 將 4D8.b1 Fab 和 cyno TFPI K2 以 1：1 之莫耳比混合以形成複合物。使用 Superdex 200 柱進行最後的純化。將複合物濃縮成 12.6 mg/ml 以供結構研究。在 100mM Tris-HCl pH8.5-20% PEG10000 中取得 TFPI K2+4D8 Fab 複合物之晶體。其產生衍射達 2.9Å 之棒狀晶體。將晶體瞬時低溫保護並在 Advanced Photon Source 遠程執行同步加速器數據收集。使用軟體 AutoPROC(Global Phasing 有限公司)處理影像框。該數據屬於空間群 P212121，單位晶胞如下：a =62.102Å，b=82.284Å，c =103.628Å，$\alpha=\beta=\gamma=90°$，每一不對稱單位具有一個複合物。使用 4D8 Fab 之同源模型及可公開取得之 TFPI K2 結構域的結構(RSCB 蛋白資料庫；PDB 密碼 1TFX 和 4DTG) 進行分子置換搜索來產生令人信服之各組分的解答。使用軟體 autoBUSTER(Global Phasing 有限公司)進行細修，該在 2.9Å 之最終 R/Rfree 因子分別為 0.1707 和 0.2424，鍵之 RMSD 為 0.010Å，角度之 RMSD 為 1.26°。基於 Fab/TFPI K2 界面處之殘基的掩藏之表面積(BSA)及 BSA 百分比(%BSA)，測定 4D8 Fab 之抗原決定部位及抗體結合部位。下列 TFPI 之 K2 結構域中的殘基涉及直接接觸 4D8 Fab(根據 BSA 之抗原決定部位)：E101、P103、Y109、I110、T111、Y113、F114、S119、Q121、C122、

E123、R124、F125、K126 和 L140。下列 4D8 Fab 之重鏈中的殘基包含重鏈抗體結合部位：D50、T57、L58、Y59、Q61、K64、D98、Y99 和 D100。下列 4D8 Fab 之輕鏈中的殘基包含輕鏈抗體結合部位：H30、W50、H91、Y92、T93、T94、P95 和 Y96。該抗原決定部位和抗體結合部位殘基之 BSA 和%BSA 值顯示於表 20 中。

表20

由4D8.b1 Fab/cyno TFPI K2複合物結構中之界面殘基的掩藏之表面積(BSA)和BSA百分比(%BSA)所界定之抗TFPI抗體4D8.b1抗原決定部位和抗體結合部位殘基(抗體輕鏈(LC)和重鏈(HC)殘基係使用Kabat定義編號)。在BSA分析中應用截斷(BSA為20Å^{2}或更大，或涉及靜電交互作用)。

殘基	鏈	殘基 #	類別	BSA	%BSA
GLU	TFPIK2	101	抗原決定部位	33.93	48.73
PRO	TFPIK2	103	抗原決定部位	34.91	74.82
TYR	TFPIK2	109	抗原決定部位	71.54	55.15
THR	TFPIK2	111	抗原決定部位	41.72	66.65
SER	TFPIK2	119	抗原決定部位	32.89	65.61
GLN	TFPIK2	121	抗原決定部位	67.99	86.51
GLU	TFPIK2	123	抗原決定部位	63.53	99.15
ARG	TFPIK2	124	抗原決定部位	147.09	97.31
LYS	TFPIK2	126	抗原決定部位	114.72	95.85
LEU	TFPIK2	140	抗原決定部位	41.62	60.14
ASP	4D8.b1 HC	50	抗體結合部位	5.98	52.56
THR	4D8.b1 HC	57	抗體結合部位	26.48	42.04
LEU	4D8.b1 HC	58	抗體結合部位	72.95	93.41
TYR	4D8.b1 HC	59	抗體結合部位	15.75	33.75
GLN	4D8.b1 HC	61	抗體結合部位	59.14	45.41
ASP	4D8.b1 HC	98	抗體結合部位	62.87	50.71
TYR	4D8.b1 HC	99	抗體結合部位	44.28	59.06
ASP	4D8.b1 HC	100	抗體結合部位	5.83	27.84
HIS	4D8.b1 LC	30	抗體結合部位	53.18	56.60
TRP	4D8.b1 LC	50	抗體結合部位	53.41	51.52
TYR	4D8.b1 LC	92	抗體結合部位	97.99	96.61
THR	4D8.b1 LC	93	抗體結合部位	39.89	73.42
THR	4D8.b1 LC	94	抗體結合部位	48.00	95.74
TYR	4D8.b1 LC	96	抗體結合部位	15.49	72.23

2. 2A8 和 2A8-200 Fab/cyno K1K2 複合物結構

[0272] 將 2A8 Fab 和 cyno TFPI K1K2 以 1：1 之莫

耳比混合以形成複合物。使用 Superdex 200 柱進行最後的純化。將複合物濃縮成 10.8 mg/ml 以供結構研究。在下列二個條件中取得含有 2A8 Fab 及 TFPI K1K2 之複合物的結晶：(1)100mM HEPES pH7.5、12.5% PEG8000，其產生衍射達 3.0Å 之針狀晶體；(2)100mM HEPES pH 7.5、1600 mM 硫酸銨、2% PEG1000，其產生衍射達 3.3Å 之塊狀晶體。將晶體瞬時低溫保護並在 Advanced Photon Source 遠程執行同步加速器數據收集。使用軟體 AutoPROC(Global Phasing 有限公司)處理影像框。該數據屬於空間群 P3221，單位晶胞如下：a= b =196.146Å，c =41.262Å，α=β= 90°，γ= 120°，每一不對稱單位具有一個複合物。使用 2A8 Fab 之同源模型及可公開取得之 TFPI K2 結構域的結構(RSCB 蛋白資料庫；PDB 密碼 1TFX 和 4DTG)進行分子置換搜索來產生各組分之令人類信服的解答。使用軟體 PHENIX 進行細修，該在 3.0Å 之最終 R/Rfree 因子分別為 0.1667 和 0.2088，鍵之 RMSD 為 0.011Å，角度之 RMSD 為 1.474°。基於 Fab TFPI K1K2 界面處之殘基的掩藏之表面積(BSA)及 BSA 百分比(%BSA)測定該複合物之抗原決定部位及抗體結合部位。下列 TFPI 之 TFPI K1K2 結構域中的殘基涉及直接接觸 2A8 Fab(根據 BSA 之抗原決定部位)：D31、D32、G33、P34、C35、K36、E100、E101、P103、G104、I105、C106、R107、G108、Y109、E123、K126、Y127 和 G128。下列 2A8 Fab 之重鏈中的殘基包含重鏈抗體結合部位：G26，T28，S31，Y32，Y96，R97，

Y98，W99 和 D101(Kabat 編號)。下列 2A8 Fab 之輕鏈中的殘基包含輕鏈抗體結合部位：L28、R29、N30、Y31、Y32、Y49、Y50、D51 和 N66(Kabat 編號)。複抗原決定部位和抗體結合部位殘基之 BSA 和%BSA 值顯示於表 21 中。亦使用基本上完全相同的方法解析在具有 TFPI K1K2 之複合物中之密切相關的抗體 2A8-200。此抗體之抗原決定部位和抗體結合部位與 2A8 的一致。

表 21

由 2A8 Fab/cyno TFPI K2 複合物結構中之界面殘基的掩藏之表面積(BSA)和 BSA 百分比(%BSA)所界定之抗 TFPI 抗體 2A8 抗原決定部位和抗體結合部位殘基(抗體輕鏈(LC)和重鏈(HC)殘基係使用 Kabat 定義編號)。在 BSA 分析中應用截斷(BSA 為 20Å^{2}或更大，或涉及靜電交互作用)。

殘基	鏈	殘基 #	類別	BSA	%BSA
ASP	TFPI K1K2	31	抗原決定部位	41.9	59.8
ASP	TFPI K1K2	32	抗原決定部位	4.9	44.0
PRO	TFPI K1K2	34	抗原決定部位	98.8	88.7
CYS	TFPI K1K2	35	抗原決定部位	40.5	91.8
LYS	TFPI K1K2	36	抗原決定部位	143.6	73.4
GLU	TFPI K1K2	100	抗原決定部位	47.6	35.6
GLU	TFPI K1K2	101	抗原決定部位	90.2	90.7
PRO	TFPI K1K2	103	抗原決定部位	56.8	79.2
ILE	TFPI K1K2	105	抗原決定部位	9.3	39.1
ARG	TFPI K1K2	107	抗原決定部位	111.0	71.3
GLY	TFPI K1K2	108	抗原決定部位	20.5	55.8
TYR	TFPI K1K2	109	抗原決定部位	128.1	79.1
GLU	TFPI K1K2	123	抗原決定部位	26.5	43.0
LYS	TFPI K1K2	126	抗原決定部位	49.3	60.2
TYR	TFPI K1K2	127	抗原決定部位	1.5	9.0
GLY	TFPI K1K2	128	抗原決定部位	3.2	47.7
GLY	2A8 HC	26	抗體結合部位	29.3	46.5
THR	2A8 HC	28	抗體結合部位	61.6	74.1
SER	2A8 HC	31	抗體結合部位	46.5	56.7
TYR	2A8 HC	32	抗體結合部位	54.2	85.6
TYR	2A8 HC	96	抗體結合部位	85.7	99.1
ARG	2A8 HC	97	抗體結合部位	104.4	78.6
TYR	2A8 HC	98	抗體結合部位	89.3	81.3
TRP	2A8 HC	99	抗體結合部位	20.0	96.7
ASP	2A8 HC	101	抗體結合部位	16.5	51.6
LEU	2A8 LC	28	抗體結合部位	7.4	67.0
ASN	2A8 LC	30	抗體結合部位	43.4	38.7
TYR	2A8 LC	31	抗體結合部位	49.6	58.2
TYR	2A8 LC	32	抗體結合部位	94.8	72.8
TYR	2A8 LC	49	抗體結合部位	43.0	79.4
TYR	2A8 LC	50	抗體結合部位	41.2	92.9
ASP	2A8 LC	51	抗體結合部位	15.7	64.4

3.Mab 2974 Fab /TFPI K2 複合物結構

[0273] 將 Mab 2974(R&D 系統)Fab 和 cyno TFPI K2 以 1：1.2 之莫耳比混合以形成複合物。使用 Superdex 200

柱進行最後的純化。將複合物濃縮成 17.5 mg/ml 以供結構研究。在 100mM 檸檬酸鈉 pH5.6、20%異丙醇、20% PEG4000 中取得含有 Mab 2974 Fab 及 TFPI K2 之複合物的晶體，其產生衍射達 2.15Å 之塊形晶體。將晶體瞬時低溫保護並在 Advanced Photon Source 遠程執行同步加速器數據收集。使用軟體 AutoPROC(Global Phasing 有限公司)處理影像框。該複合物之數據屬於空間群 P212121，單位晶胞如下：a =82.075Å，b=117.829Å，c =170.945Å，$\alpha = \beta = \gamma = 90°$，每一不對稱單位具有三個複合物。由於 Mab 2974 Fab 之序列無法取得，收集單獨之 Fab(1.63Å)的高解析數據組，連同生物信息學分析以破譯蛋白序列。使用 Mab 2974 Fab 之結構及可公開取得之 TFPI K2 結構域的結構(RSCB 蛋白資料庫；PDB 密碼 1TFX 和 4DTG)進行分子置換搜索可產生令人信服之各組分的解答。使用軟體 autoBUSTER 進行細修，該在 2.15Å 之最終 R/Rfree 因子分別為 0.1702 和 0.2161，鍵之 RMSD 為 0.010Å，角度之 RMSD 為 1.13°。基於 Fab TFPI K2 界面處之殘基的掩藏之表面積(BSA)及 BSA 百分比(%BSA)，測定該複合物之抗原決定部位。下列 TFPI 之 TFPI K2 結構域中的殘基涉及直接接觸 Mab 2974 Fab(根據 BSA 之抗原決定部位)：E100、E101、P103、R107、Y109、T111、N116、Q118、S119、Q121、E123、R124、F125。抗原決定部位殘基之 BSA 和%BSA 值顯示於表 22 中。

表 22

由 Mab 2974 Fab/cyno TFPI K2 複合物結構中之界面殘基的掩藏之表面積(BSA)和 BSA 百分比(%BSA)所界定之抗 TFPI 抗體 Mab 297 抗原決定部位。在 BSA 分析中應用截斷(BSA 為 20Å^{2}或更大，或涉及靜電交互作用)。

殘基	鏈	殘基#	類別	BSA	%BSA
GLU	TFPI K2	100	抗原決定部位	25.9	16.8
GLU	TFPI K2	101	抗原決定部位	42.2	54.7
PRO	TFPI K2	103	抗原決定部位	26.8	58.5
ARG	TFPI K2	107	抗原決定部位	32.3	16.4
TYR	TFPI K2	109	抗原決定部位	83.1	62.9
THR	TFPI K2	111	抗原決定部位	13.8	18.9
ASN	TFPI K2	116	抗原決定部位	23.9	71.9
GLN	TFPI K2	118	抗原決定部位	107.0	62.7
SER	TFPI K2	119	抗原決定部位	48.4	87.6
GLN	TFPI K2	121	抗原決定部位	51.6	53.3
GLU	TFPI K2	123	抗原決定部位	61.6	79.8
ARG	TFPI K2	124	抗原決定部位	56.0	33.2
LYS	TFPI K2	126	抗原決定部位	114.8	91.8

4. TFPI-23 Fab /cyno TFPI K2 複合物結構

[0274] 將 TFPI-23 Fab 和 cyno TFPI K2 以 1：2 之莫耳比混合以形成複合物。使用 Superdex 200 柱進行最後的純化。將複合物濃縮成 12.4 mg/ml 以供結構研究。在 100mM Bis-Tris pH6.5、20% PEGMME5000 中取得 TFPI K2+4D8 Fab 複合物之晶體。其產生衍射達 2.9Å 之纖維狀結晶。將晶體瞬時低溫保護並在 Advanced Photon Source 遠程執行同步加速器數據收集。使用軟體 AutoPROC (Global Phasing 有限公司)處理影像框。該數據屬於空間群 P1，單位晶胞如下：a =74.669Å，b=101.372Å，c =119.275Å，α= 101.83°，β= 92.27°，γ= 96.78°，每一不對稱單位具有六個複本。使用 TFPI-23 Fab 之同源模型及可公開取得之 TFPI K2 結構域的結構(RSCB 蛋白資料庫；

PDB 密碼 1TFX 和 4DTG)之分子置換搜索可產生各組分之令人類信服的解答。使用軟體 autoBUSTER 進行細修，且在 2.9Å 之最終 R/Rfree 因子分別為 0.1961 和 0.2344，鍵之 RMSD 為 0.010Å，角度之 RMSD 為 1.22°。基於 Fab TFPI K2 界面處之殘基的 BSA 及 BSA 百分比(%BSA)，測定該複合物之抗原決定部位及抗體結合部位。下列 TFPI 之 K2 結構域中的殘基涉及直接接觸 TFPI-23 Fab(根據 BSA 之抗原決定部位)：D102、I105、C106、R107、G108、R112、Y127、G129、C130、L131、G132、M134 和 E138。下列在 4D8 Fab 之重鏈中的殘基包含重鏈抗體結合部位：A33、W47、A50、I51、S52、S56、Y58、L95、G96、A97、T98、S99、L100 和 S100A。下列 4D8 Fab 之輕鏈中的殘基包含輕鏈抗體結合部位：A29、Y31、Y91、S95A、G95B 及 S95C。抗原決定部位和抗體結合部位殘基之 BSA 和%BSA 值顯示於表 23 中。

表23

由TFPI-23 Fab/cyno TFPI K2複合物結構中之界面殘基的掩藏之表面積(BSA)和BSA百分比(%BSA)所界定之抗TFPI抗體TFPI-23抗原決定部位和抗體結合部位殘基(抗體輕鏈(LC)和重鏈(HC)殘基係使用Kabat定義編號)。在BSA分析中應用截斷(BSA為20Å^{2}或更大，或涉及靜電交互作用)。

殘基	鏈	殘基#	類別	BSA	%BSA
ASP	TFPI K2	102	抗原決定部位	27.4	49.2
ILE	TFPI K2	105	抗原決定部位	116.0	81.9
CYS	TFPI K2	106	抗原決定部位	46.8	97.0
ARG	TFPI K2	107	抗原決定部位	99.9	49.5
GLY	TFPI K2	108	抗原決定部位	23.1	45.7
ARG	TFPI K2	112	抗原決定部位	42.8	70.4
TYR	TFPI K2	127	抗原決定部位	18.7	92.6
GLY	TFPI K2	129	抗原決定部位	36.7	69.5
CYS	TFPI K2	130	抗原決定部位	26.7	100.0
LEU	TFPI K2	131	抗原決定部位	120.8	97.5
GLY	TFPI K2	132	抗原決定部位	29.3	77.8
MET	TFPI K2	134	抗原決定部位	48.7	38.2
GLU	TFPI K2	138	抗原決定部位	43.8	31.7
ALA	TFPI-23 HC	33	抗體結合部位	20.3	70.5
TYR	TFPI-23 HC	58	抗體結合部位	107.0	82.7
LEU	TFPI-23 HC	95	抗體結合部位	31.6	93.4
GLY	TFPI-23 HC	96	抗體結合部位	20.8	73.1
ALA	TFPI-23 HC	97	抗體結合部位	12.1	34.0
THR	TFPI-23 HC	98	抗體結合部位	5.6	4.9
SER	TFPI-23 HC	99	抗體結合部位	2.4	80.7
LEU	TFPI-23 HC	100	抗體結合部位	87.0	55.9
SER	TFPI-23 HC	100A	抗體結合部位	24.7	83.8
ALA	TFPI-23 LC	29	抗體結合部位	38.7	86.9
TYR	TFPI-23 LC	31	抗體結合部位	60.8	86.0
TYR	TFPI-23 LC	91	抗體結合部位	27.0	94.3
SER	TFPI-23 LC	95A	抗體結合部位	71.4	64.9
GLY	TFPI-23 LC	95B	抗體結合部位	25.3	96.5

5. TFPI-24 Fab/獼猴 TFPI K2 結構複雜

[0275] 將 TFPI-24 Fab 和 cyno TFPI K2 以 1：2 之莫耳比混合以形成複合物。使用 Superdex 200 柱進行最後的純化。將複合物濃縮成 12.2 mg/ml 以供結構研究。在 20% PEG3350、200mM 硝酸銨中取得 TFPI K2/TFPI-24

Fab 複合物之晶體。其產生衍射達 1.75Å 之晶體。將晶體瞬時低溫保護並在 Advanced Photon Source 遠程執行同步加速器數據收集。使用軟體 AutoPROC 處理影像框。該數據屬於空間群 P212121，單位晶胞如下：a =42.817Å，B =71.362Å 中，c = 14 8.729Å，$\alpha=\beta=\gamma=90°$，每一不對稱單位具有一個複合物。使用 TFPI-24 Fab 之同源模型及可公開取得之 TFPI K2 結構域的結構(RSCB 蛋白資料庫；PDB 密碼 1TFX 和 4DTG) 進行分子置換搜索可產生令人信服之各組分的解答。使用軟體 autoBUSTER 進行細修，該在 1.75Å 之最終 R/Rfree 因子分別為 0.1900 和 0.2269，鍵之 RMSD 為 0.010Å，角度之 RMSD 為 1.18°。基於 Fab/TFPI K2 界面處之殘基的掩藏之表面積(BSA)及 BSA 百分比(%BSA)，測定該複合物之抗原決定部位及抗體結合部位。下列 TFPI 之 K2 結構域中的殘基涉及直接接觸 TFPI-24 Fab(根據 BSA 之抗原決定部位)：E100、E101、D102、G104、I105、C106、R107、G108、Y109、I110、G129、C130、L131 和 G132。下列 TFPI-24 Fab 之重鏈中的殘基包含重鏈抗體結合部位：A33、Q35、W47、G50、I51、S52、N53、R55、S56、I57、G58、F95、L96、H97、S99 和 D101。下列 TFPI-24 Fab 之輕鏈中的殘基包含輕鏈抗體結合部位：M31、Y32、H34、Y36、L46、R50、W91 和 Y96。抗原決定部位和抗體結合部位殘基之 BSA 和%BSA 值顯示於表 24 中。

表 24

由 TFPI-24 Fab/cyno TFPI K2 複合物結構中之界面殘基的掩藏之表面積(BSA)和 BSA 百分比(%BSA)所界定之抗 TFPI 抗體 TFPI-24 抗原決定部位和抗體結合部位殘基(抗體輕鏈(LC)和重鏈(HC)殘基係使用 Kabat 定義編號)。在 BSA 分析中應用截斷(BSA 為 20Å^{2}或更大，或涉及靜電交互作用)。

殘基	鏈	殘基#	類別	BSA	%BSA
GLU	TFPI K2	100	抗原決定部位	44.1	30.0
GLU	TFPI K2	101	抗原決定部位	12.3	13.7
ASP	TFPI K2	102	抗原決定部位	57.1	93.5
GLY	TFPI K2	104	抗原決定部位	22.0	84.1
ILE	TFPI K2	105	抗原決定部位	137.7	99.1
CYS	TFPI K2	106	抗原決定部位	45.2	91.5
ARG	TFPI K2	107	抗原決定部位	202.7	99.7
GLY	TFPI K2	108	抗原決定部位	33.1	79.3
TYR	TFPI K2	109	抗原決定部位	106.1	76.3
CYS	TFPI K2	130	抗原決定部位	25.1	83.9
LEU	TFPI K2	131	抗原決定部位	66.8	54.9
GLY	TFPI K2	132	抗原決定部位	4.7	14.4
ALA	TFPI-24 HC	33	抗體結合部位	33.1	74.0
GLN	TFPI-24 HC	35	抗體結合部位	14.3	95.5
SER	TFPI-24 HC	52	抗體結合部位	26.3	99.3
ASN	TFPI-24 HC	53	抗體結合部位	54.6	52.6
ARG	TFPI-24 HC	55	抗體結合部位	22.0	11.0
SER	TFPI-24 HC	56	抗體結合部位	68.7	93.5
PHE	TFPI-24 HC	95	抗體結合部位	47.2	92.9
LEU	TFPI-24 HC	96	抗體結合部位	18.4	41.5
HIS	TFPI-24 HC	97	抗體結合部位	70.9	44.2
SER	TFPI-24 HC	99	抗體結合部位	1.0	2.1
ASP	TFPI-24 HC	101	抗體結合部位	3.7	11.6
MET	TFPI-24 LC	31	抗體結合部位	30.9	46.0
TYR	TFPI-24 LC	32	抗體結合部位	23.3	22.5
HIS	TFPI-24 LC	34	抗體結合部位	23.7	85.2
TYR	TFPI-24 LC	36	抗體結合部位	4.3	96.5
ARG	TFPI-24 LC	50	抗體結合部位	62.5	60.1
TRP	TFPI-24 LC	91	抗體結合部位	58.3	85.6
TYR	TFPI-24 LC	96	抗體結合部位	43.2	78.5

6. hz4F36 之抗原決定部位分析

[0276] 具有人類 TFPI K2 結構域之複合物中的 hz4F36fab 之結構可從蛋白質資料庫取得(PDB 登錄碼 4DTG)。基於 hz4F36/TFPI K2 複合物結構中之界面殘基的

BSA 和 BSA 百分比(%BSA)所界定之抗原決定部位殘基顯示於表 25 中。

表 25

由 hz4F36 Fab/cyno TFPI K2 複合物結構中之界面殘基的掩藏之表面積(BSA)和 BSA 百分比(%BSA)所界定之抗 TFPI 抗體 hz4F36 抗原決定部位殘基(PDB 登錄碼 4DTG)。在 BSA 分析中應用截斷(BSA 為 20Å^{2}或更大，或涉及靜電交互作用)。

殘基	鏈	殘基#	類別	BSA	%BSA
GLU	TFPI K2	100	抗原決定部位	103.9	72.9
GLU	TFPI K2	101	抗原決定部位	44.4	68.0
ASP	TFPI K2	102	抗原決定部位	31.9	55.3
PRO	TFPI K2	103	抗原決定部位	45.7	91.7
ARG	TFPI K2	107	抗原決定部位	105.0	55.8
TYR	TFPI K2	109	抗原決定部位	75.9	67.4
THR	TFPI K2	111	抗原決定部位	24.1	51.5
TYR	TFPI K2	113	抗原決定部位	51.9	100.0
ASN	TFPI K2	116	抗原決定部位	17.6	63.0
GLN	TFPI K2	118	抗原決定部位	76.6	34.8
GLN	TFPI K2	121	抗原決定部位	43.5	50.3
GLU	TFPI K2	123	抗原決定部位	27.3	63.6
ARG	TFPI K2	124	抗原決定部位	129.9	80.9
LYS	TFPI K2	126	抗原決定部位	60.8	63.6
LEU	TFPI K2	140	抗原決定部位	33.4	61.9

7. 抗 TFPI 抗體抗原決定部位之比較

[0277] 表 26 和表 27 中比較表 20 至 25 中所顯示之抗 TFPI 抗體的抗原決定部位。表 26 顯示特異於 TFPI K2 結構域之抗體的抗原決定部位。表 27 包括另外 2 個同時結合 K1 和 K2 結構域之抗體(2A8 和 2A8-200)。

表 26

根據表 20、22 至 25 中之數據的抗 TFPI 抗體抗原決定部位殘基

人 TFPI 殘基	TFPI 結構域	TFPI-24	TFPI-23	4D8.b1	hz4F36	Mab 2974
E100	K2	X			X	X
E101	K2	X		X	X	X
D102	K2	X	X		X	
P103	K2			X	X	X
G104	K2	X				
I105	K2	X	X			
C106	K2	X	X			
R107	K2	X	X		X	X
G108	K2	X	X			
Y109	K2	X		X	X	X
I110	K2					
T111	K2			X	X	X
R112	K2		X			
Y113	K2				X	
F114	K2					
Y115	K2					
N116	K2				X	X
N117	K2					
Q118	K2				X	X
S119	K2			X		X
K120	K2					
Q121	K2			X	X	X
C122	K2					
E123	K2			X	X	X
R124	K2			X	X	X
F125	K2					
K126	K2			X	X	X
Y127	K2		X			
G128	K2					
G129	K2		X			
C130	K2	X	X			
L131	K2	X	X			
G132	K2	X	X			
N133	K2					
M134	K2		X			
N135	K2					
N136	K2					
F137	K2					
E138	K2		X			
T139	K2					
L140	K2			X	X	
E141	K2					

X 表示為該抗原決定部位之一部分的 TFPI 胺基酸殘基。X(粗體)表示本發明揭示之抗體的新穎抗原決定部位殘基。注意，TFPI-23 不會與 hz4F36、4D8 或 mab2974 競爭結合 TFPI，但確實與 TFPI-24 競爭結合 TFPI。抗體 2A8 和 2A8-200 不包括在此表中，因為它們同時需要 K1&K2 結構域以用於結合且不單獨結合 K2 結構域。

表27

根據表20至25中所示之數據比較抗TFPI抗體抗原決定部位殘基

人TFPI殘基	TFPI I結構域	TFPI-24	TFPI-23	4D8	hz4F36	R&D2974	2A8	2A8-200
D31	K1						X	X
D32	K1						X	X
G33	K1							
P34	K1						X	X
C35	K1						X	X
K36	K1						X	X
C59	K1							
E100	K2	X			X	X	X	X
E101	K2	X		X	X	X	X	X
D102	K2	X	X		X			
P103	K2			X	X	X	X	X
G104	K2	X						
I105	K2	X	X				X	X
C106	K2	X	X					
R107	K2	X	X		X	X	X	X
G108	K2	X	X				X	X
Y109	K2	X		X	X	X	X	X
I110	K2							
T111	K2			X	X	X		
R112	K2		X					
Y113	K2				X			
F114	K2							
Y115	K2							
N116	K2				X	X		
N117	K2							
Q118	K2				X	X		
S119	K2			X		X		
K120	K2							
Q121	K2			X	X	X		
C122	K2							
E123	K2			X	X	X		
R124	K2			X	X	X		
F125	K2							
K126	K2			X	X	X	X	X
Y127	K2		X				X	X
G128	K2						X	X
G129	K2		X					
C130	K2	X	X					
L131	K2	X	X					
G132	K2	X	X					
N133	K2							
M134	K2		X					
N135	K2							
N136	K2							
F137	K2							
E138	K2		X					
T139	K2							
L140	K2			X	X			
E141	K2							

X表示為抗原決定部位之一部分的TFPI胺基酸殘基。X(粗體)表示本發明揭示之抗體的新穎抗原決定部位殘基。抗體2A8和2A8-200同時需要K1&K2結構域二者以用於結合且不單獨結合K2或K1結構域。

表 28

藉由丙胺酸掃描，使用計算方法預測用於 TFPI-23 之關鍵 TFPI 抗原決定部位殘基
(Accelrys Discovery Studio 4.1)

抗原決定部位基因突變	突變能量 (kcal/mol)	突變之影響	VDW 方面	靜電方面	熵方面
ASP102>ALA	0.73	中性	1.56	0.37	-0.3
GLY104>ALA	-0.19	中性	-0.25	-0.13	0
ILE105>ALA	2.19	不穩定	5.28	-0.05	-0.53
CYS106>ALA	0.43	中性	0.96	-0.01	-0.05
ARG107>ALA	2.63	不穩定	7.35	0.35	-1.52
GLY108>ALA	0.3	中性	0.74	-0.02	-0.08
ARG112>ALA	-0.07	中性	0.05	-0.18	0
TYR127>ALA	0.12	中性	0.18	0.07	0
GLY129>ALA	-0.33	中性	-0.35	-0.19	-0.08
CYS130>ALA	0.06	中性	0.26	-0.08	-0.04
LEU131>ALA	2.12	不穩定	4.15	0.03	0.04
GLY132>ALA	-0.06	中性	-0.08	-0.04	0
MET134>ALA	0.02	中性	0.05	-0.01	0
GLU138>ALA	0.07	中性	0.02	0.13	0

根據>1 kcal/mol 之任意閾值，預測當 3 個 TFPI 殘基(Ile105、Arg107 及 Leu131)突變為丙胺酸時對 TFPI-23 與 TFPI 之結合具有顯著貢獻。

表 29A

位於 TFPI K2 抗原決定部位之 4Å 內的 TFPI-23 CDR 和框架殘基

第 1 列	第 2 列	第 3 列	第 4 列	第 5 列	第 6 列
對應之 TFPI 殘基	TFPI-23 CDR/抗體結合位殘基	CDR/框架	可能之取代		
			<0.5 kcal/mol 親和力	<-0.5 kcal/mol 親和力	前 3
105 Ile	H33 Ala	VH1	Asn, Gly, His, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Val	Val	Val, His, Phe
131 Leu	H47 Trp	HFR2	Tyr	無	Tyr
105 Ile, 131 Leu	H50 Ala	VH2	Arg, Gly, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Tyr, Val	無	Thr, Ser, Phe
105 Ile	H51 Ile	VH2	Ala, Arg, Asn Asp, Gln, Glu, Gly, His, Leu, Lys, Met, Phe Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val	無	Arg, Lys, Pro
105 Ile	H52 Ser	VH2	Ala, Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Trp, Tyr, Val	Arg, Lys, Phe, Tyr	Phe, Arg, Tyr
105 Ile	H56 Ser	VH2	Arg, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val	Arg, Lys	Lys, Tyr, Phe
102 Asp, 104 Gly, 105 Ile, 131 Leu, 132 Gly	H58 Tyr	VH2	無	無	無
105 Ile	H95 Leu	VH3	Gln, Ile, Phe, Tyr	none	Ile, Gln, Phe
107 Arg	H96 Gly	VH3	Ala, Arg, Asn Asp, Gln, Ile, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Val	Ala, Arg, Asn, Lys, Pro, Ser, Val	Arg, Asn, Lys
107 Arg	H97 Ala	VH3	Ala, Arg, Asn Asp, Gln, Glu, Gly, His, Leu, Lys, Met, Phe Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val	無	Leu, Tyr, Ile
107 Arg	H98 Thr	VH3	Ala, Arg, Asn Asp, Gln, Glu, Gly, His, Leu, Met, Phe Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val	His, Ile, Leu, Met, Phe, Tyr	Tyr, Phe, His
107 Arg	H99 Ser	VH3	Ala, Gly, Phe, Pro	無	Pro, Ala, Phe
106 Cys, 107 Arg, 108 Gly	H100 Leu	VH3	Arg, His, Ile, Leu, Lys, Phe, Pro, Trp, Tyr, Val	Phe, Trp, Tyr	Tyr, Trp, Phe
106 Cys	H100A Ser	VH3	Ala, Arg, Asn Asp, Gln, Glu, His, Leu, Lys, Met, Phe Pro, Ser, Thr, Trp	Arg, Asn, Gln, Glu His, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Trp	Arg, Leu, Trp
112 Arg, 138 Gly	L29 Ala	VL1	Ala, Arg, Asn Asp, Gln, Glu, Gly, His, Leu, Lys, Met, Phe Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val	無	Glu, Asp, Gln
112 Arg, 127	L31 Tyr	VL1	Ala, Arg, Asn Asp,	無	Glu, Asp,

Tyr, 129 Gly			Gln, Glu, Gly, His, Leu, Lys, Met, Phe Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val		Trp
130 Cys	L91 Tyr	VL3	Arg	無	Arg
131 Leu, 132 Gly, 134 Met	L95A Ser	VL3	Ala, Arg, Asn Asp, Gln, Glu, Gly, His, Leu, Lys, Met, Phe Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val	Phe, Trp, Tyr	Phe, Tyr, His
130 Cys, 131 Leu	L95B Gly	VL3	Ala, Arg, Asn Asp, Gln, Glu, Gly, His, Leu, Lys, Met, Phe Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val	無	Glu, Asp, Pro
131 Leu	L95C Ser	VL3	Ala, Arg, Asn Asp, Gln, Glu, Gly, His, Leu, Lys, Met, Phe Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val	Arg, Asn, Gln, Glu, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Trp, Tyr, Val	Trp, Tyr, Phe
*138 Glu (4.07 Å)	L93 Ser	VL3	Ala, Arg, Asn Asp, Gln, Glu, Gly, His, Leu, Lys, Met, Phe Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val	無	Glu, Asp, His
*131 Leu (4.03 Å)	L96 Gly	VL3	Asn	無	Asn

使用計算預測方法(Accelrys Discovery Studio 4.1)，亦顯示被預測不會負面影響 TFPI-23 之穩定性或對 TFPI 之親和力(<0.5 kcal/mol，第 4 至 6 列)的各 CDR /抗體結合部位殘基之可能的胺基酸取代。這些被分為三組：(1)對結合具有至少為中性之影響者(<0.5kcal/mol 親和力，第 4 列)，(2)對結合具有中性/穩定之影響者(<-0.5kcal/mol 親和力，第 5 列)及(3)對親和力具有最穩定之影響的前 3 個預測位點。所有殘基均使用 Kabat 編號 (第 6 列)。138Glu/L93Ser 和 131Leu /L96Gly 由於距離略微超過 4Å(分別為 4.07Å 和 4.03Å)，但足夠接近 4Å (四捨五入後為 4 Å)，其被包括在內作為可選擇之接觸殘基。

表 29B

TFPI 抗原決定部位殘基及對應之 TFPI-23 抗體結合部位殘基

TFPI 抗原決定部位殘基	TFPI-23 抗體結合部位殘基
在抗體 TFPI-23 上殘基之 4.0 Å 內的 TFPI 殘基	
102 Asp	H58 Tyr
104 Gly	H58 Tyr
105 Ile	H33 Ala, H50 Ala, H51 Ile, H52 Ser, H56 Ser, H58 Tyr, H95 Leu
106 Cys	H100 Leu, H100A Ser
107 Arg	H96 Gly, H97 Ala, H98 Thr, H99 Ser, H100 Leu
108 Gly	H100 Leu
112 Arg	L29 Ala, L31 Tyr
127 Tyr	L31 Tyr
129 Gly	L31 Tyr
130 Cys	L91 Tyr, L95B Gly
131 Leu	H47 Trp, H50 Ala, H58 Tyr, L95A Ser, L95B Gly, L95C Ser
132 Gly	H58 Tyr, L95A Ser
134 Met	L95A Ser
138 Glu	L29 Ala
氫鍵結合之殘基對	
102 Asp	H58 Tyr
107 Arg	H100 Leu
107 Arg	H96 Gly
107 Arg	H99 Ser
107 Arg	H97 Ala
107 Arg	H98 Thr
112 Arg	L29 Ala
127 Tyr	L31 Tyr
131 Leu	L95B Gly
由於與同源抗原/抗體交互作用而導致之在掩藏之表面積中的非零變化。 應用截斷(BSA 為 20Å^2 或更大，或涉及靜電交互作用)。	
102 Asp	H58 Tyr
105 Ile	H33 Ala, H58 Tyr, H95 Leu
106 Cys	H95 Leu, H100 Leu, H100A Ser, L91 Tyr
107 Arg	H96 Gly, H97 Ala, H98 Thr, H99 Ser, H100 Leu
108 Gly	H100 Leu
112 Arg	L29 Ala, L31 Tyr
127 Tyr	L31 Tyr, L95B Gly
129 Gly	H100A Ser, L31 Tyr, L91 Tyr
130 Cys	H95 Leu, H100A Ser, L31 Tyr, L91 Tyr, L95B Gly
131 Leu	H58 Tyr, H95 Leu, L31 Tyr, L91 Tyr, L95A Ser, L95B Gly
132 Gly	H58 Tyr, L95A Ser
134 Met	L95A Ser
138 Glu	L29 Ala

表29C

藉由 BSA 之 TFPI 抗原決定部位殘基和對應之 TFPI-23 抗體結合部位殘基(未應用最小 BSA 截斷)

由於與同源抗原/抗體交互作用而導致之在掩藏之表面積中的非零變化	
TFPI 抗原決定部位殘基	TFPI 抗原決定部位殘基
102 Asp	H56 Ser, H58 Tyr
104 Gly	H58 Tyr
105 Ile	H33 Ala, H34 Met, H50 Ala, H51 Ile, H52 Ser, H56 Ser, H58 Tyr, H95 Leu
106 Cys	H95 Leu, H100 Leu, H100A Ser, L91 Tyr
107 Arg	H96 Gly, H97 Ala, H98 Thr, H99 Ser, H100 Leu
108 Gly	H100 Leu
112 Arg	L29 Ala, L31 Tyr, L93 Ser
127 Tyr	L31 Tyr, L95B Gly
129 Gly	H100A Ser, L31 Tyr, L91 Tyr
130 Cys	H95 Leu, H100A Ser, L31 Tyr, L91 Tyr, L95B Gly
131 Leu	H47 Trp, H50 Ala, H58 Tyr, H95 Leu, L31 Tyr, L91 Tyr, L95A Ser, L95B Gly, L95C Ser, L96 Gly
132 Gly	H58 Tyr, L95A Ser
133 Asn	L95A Ser
134 Met	L93 Ser, L94 Ser, L95A Ser
138 Glu	L28 Gly, L29 Ala, L93 Ser

實施例 11. 稀釋凝血酶原時間(DPT)

[0278] 利用稀釋凝血酶原時間(PT)分析來研究抗 TFPI 抗體抑制人類第 FVIII 因子缺乏之血漿(A 型血友病)中的內源性 TFPI 之能力。稀釋 PT 為利用經稀釋之組織因子(Innovin)延長凝血時間之經修飾的 PT 檢測。

[0279] 在人類第 FVIII 因子缺乏之血漿(George King 生物醫學)中的 dPT 分析方面，將 Innovin®試劑在稀釋緩衝液(咪唑 50mM、氯化鈉 0.1M、BSA 1mg/ml、$CaCl_2$ 8.34mM，pH 7.4)中稀釋 1：3000 並預溫育至 3℃。在分析前不久，將血漿在 37℃水浴中解凍 5 分鐘。在 PBS 中製備抗 TFPI 抗體之稀釋液並加入血漿中，再將該血漿在室溫下溫育 20 分鐘。溫育後，將 50μL 之血漿在 37℃溫育 1 分鐘，加入 50μL 之暖至 37℃的 Innovin®試劑之 1：3000 稀釋液後立即起始凝血反應。在 37℃下使用

STart®4 凝血分析儀執行達到凝血之時間的分析。收集數據點，一式二份，將數據輸入 Microsoft Excel 並使用 GraphPad Prism®估計 50%有效濃度(EC50)。結果顯示於表 30 中。

[0280] TFPI 下調凝血之外在 FVIIa/TF/FXa 途徑，減少產生 FXa 且最終減少凝血酶。dPT 測量對外在凝血途徑之影響。數據顯示出在 A 型血友病血漿中添加抗 TFPI 抗體會劑量依賴地縮短凝血時間。300nM 之對照 IgG 對凝血時間沒有影響。

表 30

	抗 TFPI-23	抗 TFPI-106	抗 TFPI-24	抗 TFPI-118	抗 TFPI-4F36	抗 TFPI-h4D8
EC50(nM)	0.98	1.24	0.57	1.16	0.44	0.47

實施例 12 血栓彈力圖(THROMBOELASTOGRAPHY) (TEG)

[0281] 血栓彈力圖(TEG)為測量全血中血塊形成之動力學的全面止血分析。從健康人類供體分離出全血並抽入含有 3.2 %檸檬酸鈉之塑料血液收集管中且盡量減少引進凝是活化劑，諸如組織因子，丟棄第一管抽出的血。以對照小鼠抗人類 IgG2(100μg/ml)或以抑制性 FVIII 抗體(GM1805(Green Mountain)，100μg/ml)處理該檸檬酸化之全血 1 小時以抑制內源性 FVIII，誘導出 A 型血友病樣表型。將給予抗 TFPI 抗體或 IgG1 對照抗體之劑量的全血(320μL)加入 TEG®反應杯中，該反應杯中含有 20μL 之

0.2M 氯化鈣及 20μL 之在 20mM HEPES、150mM 氯化鈉，pH 7.4 中稀釋之脂化的組織因子(Innovin®)，而導致在每個反應中之稀釋 200,000 倍之最終的脂化組織因子稀釋液。以一式二份運行反應，並在將全血加入 TEG 杯時立即開始。根據製造商之指示以第 I 級和第 II 級對照組(Haemonetics)校準後利用 TEG®軟體在 TEG 5000 止血分析儀上進行分析。在 37℃下進行該反應 60 分鐘。參見表 31。

表31

以抗 TFPI 抗體處理之抗體誘導型 A 型血友病(HA)血液中的 TEG 參數

	TEG 參數			
組別	R 值 分鐘	K 值 分鐘	α 角 度	MA mm
A 型血友病血	41.45 ±2.33	6 ± 0.7	33.75 ±1.6	59.8 ± 4.67
抗 TFPI-4F36 (100 nM)	23 ±0.14	4.65 ±0.21	41.4 ±1.8	60.4 ±0.14
抗 TFPI-4F36 (300 nM)	24.05 ±0.07	7.0 ± 0.42	28.35 ±2.9	56.45 ±0.49
抗 TFPI-2A8-200 (100nM)	26.85 ± 0.92	8.3 ±0.14	24.5 ±0.14	50.75 ±0.49
抗-TFPI-2A8-200 (300nM)	20.4 ±0.84	6.25 ±0.77	31.7 ±5.09	54.05 ±1.9
抗 TFPI-106 (100 nM)	25.25 ± 0.92	5.35 ±0.07	38.3 ± 1.2	67.6 ±0.98
抗 TFPI-106 (300 nM)	17.85 ±0.07	4.65 ±0.21	40.85 ±1.2	59.15 ±1.34
正常血液	10 ± 0.28	2.2	60.2 ±0.56	62.8 ± 1.98

[0282] 表 31 顯示以 FVIII 抗體處理全血顯著延長 TEG-R 值達 41.5 分鐘。在全血之存在下，抗 TFPI 106 顯示出相對於 2A8-200 和 4F36 之有利的變化形廓。添加 TFPI-106、2A8-200 或 4F36(300nM)導致 TEG-R 值分別縮短成 17.85 分鐘、20.4 分鐘及 24.05 分鐘。由 TEG-R 值之下降及觀察到之 TEG-α 角度的增加顯示出抗 TFPI 106 促進血友病血液凝固。

實施例 13. 中和 TFPI 及凝血酶生成

[0283] 利用二種發色分析，直接第 Xa 因子活性分析及基於 TFPI 抑制 TF-FVIIa 產生 FXa 之二階段 FVIIa/TF/FXa 分析來測量藉由 TFPI 抗體中和 TFPI。在第一種分析中，將不同濃度(0 至 500nM)之 TFPI-106、TFPI-118、hz4D8 和二種參考抗體 4F36 或 2A8-200 分別與固定濃度之人類重組型 TFPI K1K2 和 FXa 預溫育以允許形成複合物。使用發色 FXa 受質評估 FXa 活性。在此分析中添加本發明之 TFPI 抗體會引起 FXa 活性劑量依賴性地增加(參見表 32，Xa 抑制分析，EC_{50} 值)。

[0284] 在體內，二種主要形式之 TFPI 為 TFPI-α(K1K2K3) 及 TFPI-β(K1K2)。在二階段 FVIIa/TF/FXa 分析中評估 TFPI 抗體抑制重組型 TFPI K1K2 或 TFPI K1K2K3 之能力。該分析測量中和該 TFPI 抑制 FXa 和 FVIIa/TF/FXa 二組的合併效果。將遞增濃度(0 至 500nM)之抗體與 TFPI 一起溫育，加入使用 FXa 生色受質來測量 FVIIa/TF/FXa 和 FXa 活性的分析中。本發明之 TFPI 抗體中和該 TFPI K1K2 對由 FVIIa/TF 介導之 FX 活化的抑制作用(參見，表 32，FVIIa/TF/Xa EC_{50} 值)。本發明之示例性抗體亦能有效抑制 TFPI K1K2K3 (TFPI-106 之用於中和 TFPI K1K2K3 對 FVIIa/TF/FXa 之抑制作用的 EC_{50} 為 8.47nM)。該數據證明抑制全長和截短之 TFPI。

[0285] 血友病之臨床嚴重性與凝血因子活性之殘留

水準有關。因子活性<1%與嚴重之表型相關，中度血友病與 2 至 5%之因子活性相關，而輕度血友病與因子活性>5%至<40%相關)。血友病之內源性凝血途徑的缺陷導致凝血酶生成不足。利用凝血酶生成分析(TGA)來檢查對血小板貧乏之血友病血漿中的內源性 TFPI 的抑制作用。該 TGA 分析測量凝血酶生成之初始階段、活化階段和失活階段。利用自動校準之凝血酶(Calibrated Automated Thrombin)(CAT)生成分析測試 TFPI 抗體回復血小板貧乏之血友病血漿中的凝血酶生成之能力。將 TFPI-106、TFPI-118、hz4D8 和二種參考抗體 4F36 或 2A8-200(0 至 500nM)在血友病血漿中溫育以中和 TFPI，再加入該分析中。與正常人類之混合血漿相比較，人類血友病血漿中之凝血酶生成顯著減少。當將正常對照組 FACT(其係經標準化為 1U/mL FVIII)摻入 A 型血友病血漿中時可觀察到劑量依賴性反應。類似地，加入 200ng/mL(1U/mL)之 B 結構域缺失型 FVIII 可回復凝血酶生成達 100nM。在 60 分鐘之分析時程內，在血友病血漿中觀察到最少的凝血酶生成。將血漿與本發明之抗體一起溫育導致峰值凝血酶、內源性凝血酶潛能和速度指數劑量依賴地增加。亦分析參考抗體 2A8-200 和 4F36 以供比較(表 32，TGA 速度 EC_{50} 值)。

實施例 14. 在血友病小鼠模型中之體內效力

[0286] 在血友病小鼠中利用急性斷尾分析測試某些抗

TFPI 抗體作為促凝血劑之效力。在該分析中，將尾巴之遠端部分截斷導致大量失血，若在切斷前或切斷後不久投予止血劑可減少失血。經由尾靜脈給予血友病小鼠體積為 4 ml/kg 之抗 TFPI 抗體(6 mg/kg)、非特異性 IgG 對照組(6 mg/kg)或鹽水載劑的單次靜脈內(IV)劑量。在給藥後不同的時間，依下述評估抗體對出血的影響。

[0287] 經由腹膜內途徑以氯胺酮/甲苯噻嗪混合物將小鼠麻醉。將尾巴浸入 37℃，50 毫升預溫熱之磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中 2 分鐘。製造 3mm 之斷尾並收集血液到 PBS 中共 10 分鐘。利用下列技術藉由測量該 PBS 之血紅素含量來定量失血量。將試管離心以收集紅血球，再懸浮於 5 毫升之細胞溶解緩衝液(8.3 g/l 氯化銨、1.0 g/l 碳酸氫鉀及 0.037g/l EDTA)中並藉由分光光度計測量樣本在 575 nM 的吸光度。利用標準曲線將吸光度數值轉化成總失血量(μL)。藉由方差分析(ANOVA)，再使用 GraphPad Prism 軟體進行 Dunnett 多重比較試驗以評估各種方式之間的差異之統計顯著性。結果以平均值±平均值之標準差(SEM)表示。在下文描述之附圖中，統計顯著性之定義為 P 值<0.05，並藉由數據上方星號指明。

[0288] 第 3A 圖顯示與載劑對照組(鹽水)相比較，在斷尾前之不同時間給予 2A8-200 抗體劑量對 A 型血友病小鼠(表示為 FVIII -/-)在斷尾後之失血的影響。第 3B 圖顯示與載劑對照組(鹽水)和非特異性人類 IgG1(表示為 $hIgG_1$)相比較，在斷尾前之不同時間給予 2A8 抗體劑量對

A 型血友病小鼠(表示為 FVIII -/-)在斷尾後之失血的影響。第 3B 圖亦顯示在斷尾前之二個不同時間給予 2A8 抗體劑量對正常小鼠(表示為 FVIII +/+)在斷尾後之失血的影響。第 3C 圖顯示與載劑對照組(鹽水)相比較，在斷尾前之不同時間給予抗體 4D8、21、23、24 劑量對 A 型血友病小鼠在斷尾後之失血的影響。第 3D 圖顯示與載劑對照組(鹽水)相比較，在斷尾前之不同時間給予抗體 106 劑量對 A 型血友病小鼠在斷尾後之失血的影響。第 3E 圖顯示與載劑對照組(鹽水)相比較，在斷尾前之不同時間給予抗體 118 劑量對 A 型血友病小鼠在斷尾後之失血的影響。第 4 圖顯示與載劑對照組(鹽水)相比較，在斷尾前之不同時間給予抗體 106 劑量對 B 型血友病小鼠在斷尾後之失血的影響。

[0289] 如第 3D 圖和第 4 圖所示，在急性外傷性損傷模型中，當抗體係在斷尾受傷前之不同時間投予時，經投予 6 mg/kg 之抗 TFPI 抗體 106 的 A 型血友病或 B 型血友病小鼠失血減少。在 A 型血友病小鼠中，該止血效果在投予後可持續至少長達 189 小時，雖然在投予後 240 小時該效果回復成對照組水準。在 B 型血友病小鼠中，該效果在投予後可持續至少長達 72 小時並在投予後 192 小時回復成基線水準。

[0290] 上述之數據和結果表明該測試之抗體(包括抗體 TFPI 106)可預防性地投予具有 A 型血友病或 B 型血友病之個體以在外傷或其他類型之出血發作前減少出血。

[0291] 亦測試抗體 TFPI 106 在 A 型血友病小鼠中作為止血劑的效果以測定當在斷尾後不久投予時是否能減少出血。使用類似用於測試在斷尾前投予抗體之效果的方法進行這些實驗，但在斷尾後立即經由插入頸靜脈之導管注入 TFPI 106(6mg/kg)或重組型第 VIII 因子(200 單位/ kg)的 IV 劑量，然後，收集血液 10 分鐘以用於定量失血。在第二組實驗中，在夾住尾巴後 2 分鐘分別投予 A 型血友病小鼠不同劑量之 TFPI 106 和第 VIII 因子(200 U/kg)，然後，收集血 10 分鐘再定量失血。

[0292] 第 9A 圖顯示出與載劑對照組相比較，斷尾後立即投予 6mg/ml 之抗體 TFPI 106 能有效減少 A 型血友病小鼠中之失血，雖然沒有達到以同樣方式投予之 200 U/kg 之第 VIII 因子所取得的相同程度。第 9B 圖顯示出在斷尾後 2 分鐘投予 A 型血友病小鼠抗體 TFPI 106 可劑量反應性地減少 A 型血友病小鼠之出血，且當在斷尾後 2 分鐘同時投予抗體 TFPI 106 和重組型第 VIII 因子時，在所測試之最高劑量(6mg/kg)下 TFPI 106 約與 200 U/kg 之重組型第 VIII 因子同樣有效。這些圖中所描述之數據和結果表明抗體 TFPI 106 可有效地作為已因為外傷或某些其他原因而開始出血之個體的需求性治療(on demand treatment)。

實施例 15. 藥代動力學和產物代謝

[0293] 經由靜脈(IV)及/或皮下(SC)途徑給予劑量後

在 Wistar Han 大鼠、紐西蘭白兔和食蟹猴中決定 TFPI-106 之藥代動力學(PK)及/或毒物動力學 (TK)的特徵。

[0294] 在 Gyrolab 上使用三明治免疫分析定量在檸檬酸鈉化之兔子血漿中之抗 TFPI。藉由 Gyrolab 儀器，在 1%光電倍增管(PMT)裝置讀取反應單位。藉由內插法從標準曲線測定樣本濃度，該標準曲線係使用配上 1/y2 反應加權之 5 參數邏輯曲線擬合。含有 5%匯集之檸檬酸鈉化兔子血漿的分析緩衝液中之標準點範圍為 0.78 ng/ml 至 891 ng/ml，而在 100%兔子血漿基質中之定量範圍為 90 ng/ml 至 5500 ng/ml。使用在含有 5%匯集之檸檬酸鈉化兔子血漿的分析緩衝液中之五個抗 TFPI 樣本(濃度為 0.45、8.0、47.15、153、275 ng/ml)作為定性對照組。

[0295] 依上述，亦在 Gyrolab 上使用三明治免疫分析定量在檸檬酸鈉化大鼠血漿中的抗 TFPI。含有 5%匯集之檸檬酸鈉化大鼠血漿的分析緩衝液中之標準點範圍為 0.78 ng/ml 至 891 ng/ml，而在 100%大鼠血漿基質中之定量範圍為 90 ng/ml 至 5500 ng/ml。使用在含有 5%匯集之檸檬酸鈉化大鼠血漿的分析緩衝液中之五個抗 TFPI 樣本(濃度為 0.45、8.1、47.15、153、275 ng/ml)作為定性對照組。

[0296] 使用利用 Meso Scale Discovery(MSD)分析平台之全人類 Ig 定量性配體結合分析定量在食蟹猴血漿中之抗 TFPI 抗體。以經釕化之小鼠抗-人類 IgG Fc 抗體檢測經結合之抗 TFPI 抗體以在 MSD 儀器內產生電化學發光(electrochemiluminescence)信號。藉由內插法從使用 5-參

數邏輯程式擬合之標準曲線測定樣本濃度，用於標準曲線之加權公式為 1/y^ 2。在 5%猴子血漿中之標準點範圍為 0.999 ng/ml 至 1156 ng/ml 之抗 TFPI 抗體，而在 100%血漿中之定量範圍為 64.8 ng/ml 至 7136 ng/ml。將五個在 100%血漿中，濃度為 64.8、117、680、3964 及 7136 ng/ml 之抗 TFPI 抗體樣本稀釋成 MRD 為 1:20(在 5%血漿中分別為 3.24、5.83、34.0、198 和 357ng/ml)作為定性對照組。

[0297] 與同種型對照單株抗體(mAb)相比較，TFPI-106 在紐西蘭白兔中顯示出較快之清除率(CL)。在食蟹猴中，TFPI-106 在低劑量下顯示出非線性 PK 動力學，與在抗 TFPI 抗體所觀察到之靶的介導之藥物分佈(TMDD) 相一致。參見表 32。

[0298] 表 32 摘要本發明之示例性抗 TFPI 抗體(hum4D8、TFPI-106 和 TFPI-108)及二個參考抗體(4F36 和 2A8-200)之某些藥代動力學性質和藥理學活性。

表 32

示例性抗 TFPI 抗體之藥代動力學性質和藥理學活性

	hz4D8	TFPI-106	TFPI-118	4F36	2A8-200
來源	雜交瘤	λ集合庫	λ集合庫	參考 Ab	參考 Ab
種系框架	DP-54 & DPK9	DP-47/VH3 和 DPL8/VL1	DP-31/VH3 和 DPL3/VL1	NA	NA
人類 IgG 亞型		IgG1-3M		IgG4	
Kd (nM) 人類 TFPI K1K2	0.42	3.7	9.61	0.493	0.327
Kd (nM) 獼猴 TFPI K1K2	0.067	1.22	1.8	0.425	0.637
Kd (nM) 兔子 TFPI K1K2	0.502	4.25	5.79	1.81	0.145
Kd (nM) 小鼠 TFPI K1K2	未結合	0.575	45.6	未結合	0.455
Kd (nM) 大鼠 TFPI K1K2	未結合	1.57	3.65	未結合	NA
抗原決定部位	K2	K2	K2	K2	K1K2
Biacore 競爭與 4F36	是	無	是	NA	是
多反應性篩選	陰性	陰性	陰性	ND	是
Xa 抑制分析 EC50 nM	6.92	18.08	20.8	6.57	2.42
FVIIa/TF/Xa EC_{50} nM	0.4	4.3	4.03	1.85	4.84
TGA 速度 EC_{50} nM	3.9	3.07	7.72	1.7	
稀釋 PT EC_{50} nM	0.47	1.24	1.16	0.44	1
小鼠 HA 夾尾 IC_{50}	NA	2.4	1.1	NA	NT
HA 小鼠夾尾 -0.5 h 96 小時 196 小時	NA	55% 39% ~ 6%	55% 39% 19%	NA	32% 32%
兔子 IHM 在 0.5 小時期間之效力藉由 aPTT /稀釋 PT	60% ≥48 小時	60% ≥48 小時	60% ≥48 小時	60% ≥ 48 小時	27% ≥48 小時
兔子半衰期 t1/2 (在 2mg/kg)	14 小時	29 hours	15 小時	11 小時	12 小時

實施例 16. 抗體在由雷射誘導之血友病小鼠損傷模型中抑制 TFPI 之止血作用增強體內血小板累積及纖維蛋白生成

[0299] 如本文他處之陳述，組織因子途徑抑制劑(TFPI)為直接結合並抑制組織因子(TF)/第 VIIa 因子/第 Xa 因子複合物並調控由 TF 誘導之凝血起始的血漿絲胺酸蛋白酶抑制劑。阻斷 TFPI 可能促進由 TF/FVIIa 起始之止血，補償在 A 型或 B 型血友病中第 VIII 因子(FVIII)或第

IX 因子損失。本發明之抗體以廣泛之物種交叉反應性抑制 TFPI。此處，使用活體顯微鏡(IVM)在 A 型和 B 型血友病小鼠中評估 TFPI-106 對體內血小板血栓形成及纖維蛋白沉積的止血效果。

[0300] **材料與方法**：依先前本文他處之描述製備 TFPI-106 抗體、重組型第 VIII 因子及載劑(磷酸鹽緩衝之鹽水)。從 Emfret Analytica(德國)取得 Dylight-649 抗 CD42c 抗體。根據製造商之說明書(Life Technologies 公司，加州 Carlsbad)使用蛋白質標記套組，以 Alexa Fluor 488 標記纖維蛋白抗體選殖株 59D8(Hui KY et al. (1983) Science 222(4628):1129-1132)。從保持在 Charles River 實驗室(麻州 Wilmington)之專有線取得平均體重為 30 至 35 克之雄性 A 型血友病小鼠(F8 KO)。在實驗程序前使小鼠至少適應環境 3 天。

[0301] 經由靜脈內途徑給予雄性 A 型血友病、B 型血友病或 C57BL/6J 野生型(WT)小鼠單次 TFPI-106 (6mg/kg)、載劑、重組型人類 FVIII(rFVIII，200IU/kg)或經 Alexa-488 標記之 TFPI-106 (0.7mg/kg)劑量。使用 IVM 觀察經麻醉之小鼠的提睾肌微循環。在對提睾肌動脈之血管壁進行雷射熱傷害後定量血小板累積和纖維蛋白生成。使用 Dylight-649 抗 CD42c(GP1bβ)將血小板可視化並藉由 Alexa-488 抗纖維蛋白選殖株 59D8 檢測纖維蛋白。

[0302] 更具體地，為了準備用於活體顯微鏡成像之 A 型血友病小鼠，經由腹膜內遞送，以氯胺酮/甲苯噻嗪

混合物將動物麻醉。在頸靜脈插管並使用戊巴比妥鈉(5mg/kg，靜脈內)維持麻醉。在氣管插管以保持氣道通暢。然後，使提睾肌暴露以令微血管可視化。在整個照像期間將動物保持在溫暖的加熱墊上，以溫緩衝液浸泡暴露之提睾肌組織。經由頸部導管輸注針對血小板之經標記的抗體 Dylight 649 CD42c(GP1bβ)及不會與纖維蛋白原交叉反應之纖維蛋白抗體(Alexa Fluor 488 anti-fibrin clone 59D8)。使用聚焦之雷射光束(532nM)在小鼠提睾肌微血管上起始損傷。每隻小鼠接受 2 次由雷射誘導之損傷。在未經處理之小鼠中製造第一個損傷作為對照組。在相同小鼠中製造第二個損傷並立即經由頸部導管靜脈內投予 TFPI-106(6mg/kg)。從血小板累積和纖維蛋白沉積之螢光強度監測二個損傷中之血塊形成。

[0303] 收集數據點(螢光強度)並使用 SlideBook 軟體分析(版本 6.0)。繪製中位數螢光強度作為每一個別凝血之時間函數並使用 GraphPad®Prism 軟體(版本編號 6.03)測量對應之曲線下面積。使用 GraphPad®Prism 軟體(版本編號 6.03)，利用 Mann-Whitney 試驗測定統計之顯著性。

[0304] **結果：**使用經 Alexa 488 標記之 TFPI-106 檢測 WT 小鼠中血小板凝塊及內皮內膜中之血小板聚集部位的 TFPI(第 5 圖)。第 5A 圖包含六個在上方的圖格(編號 1 至 6)，其顯示出在經投予對照 IgG(使用 Alexa 488 標記)之 WT 小鼠中，使用雷射誘導損傷後 0 秒(圖格 5A-1)、15 秒(圖格 5A-2)、30 秒(圖格 5A-3)、60 秒(圖格 5A-4)、90

秒(圖格 5A-5)和 120 秒(圖格 5A-6) 後以 Dylight 649 CD42c 檢測血小板。在損傷部位之血小板血栓中未檢測(使用 Dylight 649 CD42c 檢測)到 Alexa 488 標記。第 5B 圖包含在該圖形底部的六個圖格(編號 1 至 6)，其顯示出使用雷射在 WT 小鼠中誘導損傷後約 15 秒，可在沿著內皮之血小板血栓中開始檢測到經 Alexa 488 標記之 TFPI-106 (圖格 5B-2)，螢光強度從約 30 秒(圖格 5B-3)、60 秒(圖格 5B-4)和 90 秒(圖格 5B-5)逐漸增加，然後持續強度至約 120 秒(圖格 5B-6)，其中該血小板係使用經 Dylight 649 標記之 CD42c 檢測。

[0305] 約 0.5 小時與以載劑處理之 A 型血友病小鼠相比較，TFPI-106 增進在 A 型血友病(F8 KO)小鼠中之血小板累積和纖維蛋白生成且該效果持續約 168 小時。更具體地，在以 TFPI-106 處理之 F8 KO 小鼠(A 型血友病)中，IVM 顯示出損傷部位在 0.5 小時左右綠色螢光(Alexa 488 抗纖維蛋白選殖株 59D8)和紅色螢光(Dylight 649 標記之 CD42c 抗 GP1bβ 檢測血小板)增加，其持續約 168 小時且該螢光樣式類似於在以載劑處理之 WT 小鼠中所觀察到者。然而，在以載劑處理之 A 型血友病小鼠(其中既未觀察到血小板累積也未觀察到纖維蛋白生成)中並未檢測到這類螢光。

[0306] A 型血友病小鼠顯示出在給予 TFPI-106 劑量後 0.5 小時左右血小板累積(第 6A 圖)和纖維蛋白沉積(第 6B 圖)增加，類似於藉由 rFVIII 所達到之水準(* = P

<0.005 指示在每個圖上)。以 TFPI-106 處理之 A 型血友病小鼠的止血效果持續達 168 小時。類似地，以 TFPI-106 處理之 B 型血友病小鼠同樣顯示出與載劑對照組相比較，在給藥後約 30 分鐘止血改善、血小板累積且纖維蛋白生成增加。接受 TFPI-106 和 rFVIII 劑量之血友病小鼠無一達到如在非血友病 WT 小鼠中所觀察到之纖維蛋白沉積的最高水準。因此，該數據表明在雷射傷害內皮後，TFPI 可在損傷部位檢測到。更重要的是，該數據證明投予血友病小鼠 TFPI-106 可在雷射損傷模型中導致顯著且持久之止血改善。

[0307] **實施例 17. 抗 TFPI 凝血酶與 FVIIA 之組合在 A 型和 B 型血友病 TGA 中對凝血酶生成的影響**

[0308] **方法：凝血酶生成分析(TGA)**

[0309] 使用凝血酶生成分析(TGA)評估單獨之抗 TFPI 抗體 TFPI-106 及其與重組型 FVIIa(rFVIIa)之組合在血友病血漿中對凝血酶生成的影響。從來自 George King 生物醫學公司(堪薩斯州 Overland Park) 和 HRF(北卡羅來納州 Raleigh)之先天不足的供體取得檸檬酸化之血小板貧乏之嚴重 A 型血友病(FVIII 不足)、具有抑制劑之嚴重 A 型血友病或 B 型血友病(FIX 不足)血漿。從 George King 生物醫學公司取得正常之混合血漿(非血友病)。凝血酶生成試劑；PPP-試劑 LOW(在最終反應中為 4μl 磷脂及 1pM 組織因子)；FluCa 緩衝液(含有氯化鈣和螢光受質)及從 Diagnostica Stago(紐澤西州 Parsippany)取得之凝血酶校準

劑。使用包括 Fluoroskan Ascent 螢光分析儀(Thrombinoscope BV，荷蘭馬斯特里赫特)之自動校準凝血酶圖(CAT)進行凝血酶生成分析。

[0310] 將濃度達 20 μg/mL 之重組型 FVIIa(rFVIIa 在 20mM HEPES、150mM 氯化鈉、1%牛血清白蛋白(BSA)，pH7.4)加入 70μl 之 A 型血友病血漿中。將 20μl 之 PPP-試劑 LOW 和 10μl 之抗 TFPI 106 加入反應孔中，使最終濃度為 16μg/mL。參考之經校準的對照反應包括 20μl 之凝血酶校準劑與 70μl 血漿。使用載劑(磷酸鹽緩衝之鹽水(PBS))來測試濃度 0μg/mL。將 10μl 載劑加入參考校準劑之孔中。在第二組反應中，將在 HEPES 緩衝液中之 rFVIIa(5μl)或 HEPES 緩衝液(5μl)加入 70 μl 之血友病血漿樣本(A 型血友病、具有抑制劑之 A 型血友病或 B 型血友病)中，使血漿中之 rFVIIa 的最終濃度為 2μg/ml。將 20μl PPP 試劑 LOW 和 5μL 之抗 TFPI 106(在 PBS 中稀釋)或 PBS(5μl)加入經給予 rFVIIa 劑量之血友病血漿樣本(75 μl)及經 HEPES 緩衝液處理之血友病血漿(75μl)中，使最終濃度為 16μg/mL。此外，分析在經 HEPES 緩衝液處理之非血友病血漿(75μl)中的抗 TFPI 106(16 μg/mL)。該分析中包括未經處理之對照組非血友病血漿(80μl)。同時運行參考之校準反應(添加 20 μl 凝血酶校準劑與 80 μl 載劑劑量之血友病或非血友病血漿或 80 μl 未經處理之非血友病血漿)。所有反應均以一式二份運行。將樣本在 37℃溫育 5 分鐘，然後經由添加 20μl 之 FluCa 使總反應體積為 120μl

來起始反應。在 Fluoroskan Ascent 螢光計上，在 37℃下每隔 20 秒讀取血漿反應之螢光並與參考凝血酶校準劑反應相比較，以測定凝血酶濃度。在 37℃下，使用 CAT 持續監控螢光信號之強度。

[0311] **結果**：凝血因子 FVIII(A 型血友病)和 FIX(B 型血友病)不足富妨礙生成足夠之凝血酶來將纖維蛋白原轉化為纖維蛋白以發展穩定之血凝塊。抗 TFPI-106(一種特異性結合並抑制及/或中和 TFPI 之抑制活性的新穎單株抗體)靶向外在組織因子/FVIIa 凝血途徑。接受 TFPI-106 之具有抑制劑的患者亦可接受 rFVIIa 以治療突破性出血。因此，在有或無 rFVIIa 之存在下，使用本技藝所認可之 TGA(凝血酶生成分析)在玻管內檢查 TFPI-106 對血友病血漿中之凝血酶生成的影響。

[0312] 在檸檬酸化之血小板貧乏的第 VIII 因子不足之人類血漿中使用凝血酶生成分析進行玻管內研究以研究在 rFVIIa 存在下之 TFPI-106 活性。在一項研究中，將固定濃度(16 μg/mL)(已知此濃度之 rFVIIa 會增加 A 型血友病血漿中之凝血酶生成)之抗 TFPI 106 加入第 VIII 因子不足之人類血漿中。將高達 20 μg/mL 之遞增濃度之 rFVIIa 加入分析中。令人驚訝地，TFPI-106 和 rFVIIa 之組合物恢復凝血酶生成達到在正常血漿中所觀察到的水準。以 TFPI-106 與範圍在 0.2、2 和 20 μg/mL 之 rFVIIa(依他凝血素 α)的組合物觀察到之峰值凝血酶水準相似。如第 7 圖中所示之數據證明 TFPI-106 可改善經給

予 rFVIIa 劑量之嚴重 A 型血友病血漿的凝血酶生成反應(第 7 圖，實心黑色、深灰色和淺灰色線)。

[0313] 亦在非血友病血漿(其將具有充分補充之凝血因子)中測量 TFPI-106(16μg/mL；第 7 圖，深灰色虛線)對凝血酶生成之影響。與 TFPI-106 之 TFPI 外源性途徑抑制活性一致，添加抗 TFPI 106 導致凝血酶生成增加，伴隨滯後時間減少及凝血酶峰值增加。添加 TFPI-106 和 rFVIIa 之峰值凝血酶～200nM 係在正常非血友病血漿之報告範圍內。

[0314] 在另外之 A 型血友病血漿(第 8A 圖；1pM 組織因子及 4μM 磷脂)、B 型血友病血漿(第 8C 圖；3 BU 抑制劑)及具有抑制劑之 A 型血友病血漿(第 8B 圖；3 BU 抑制劑)中進一步研究在有和無 rFVIIa 之存在下，TFPI-106 對凝血酶生成之 TFPI 抑制活性且結果分別以圖形顯示於第 8A 圖、第 8C 圖和第 8B 圖中。將 TFPI-106 加入該血漿中使最終濃度為 16μg/mL。在這些研究中，rFVIIa 之最終濃度為 2μg/ml。與載劑對照相比較，在血友病血漿中加入 2μg/mL rFVIIa 導致凝血酶生成適度增加。與添加單獨之 rFVIIa 相比較，加入單獨之 16μg/mL TFPI-106 或 16μg/mL TFPI-106 與 rFVIIa 之組合可導致凝血酶生成增加，包括較高之峰值凝血酶濃度及縮短之滯後時間。在以 rFVIIa 和 TFPI-106 共同治療後觀察到凝血酶生成之最小加成效果。以單獨之 16μg/mL TFPI-106 或 16μg/mL TFPI-106 與 rFVIIa 之組合所取得之峰值凝血酶水準與那

些在非血友病血漿中所觀察到者相當，且不超過在給予TFPI-106劑量之非血友病血漿中所觀察到之水準。這些數據證明TFPI-106能有效地繞過在A型血友病、B型血友病及具有抑制劑之A型血友病血漿中之凝血酶生成缺陷。

實施例18. 人類血友病血液和血漿中之促凝血活性

[0315] 本實施例描述當使用從具有A和B型血友病之人類個體取得之全血和血漿測試時，抗體TFPI-106與重組型凝血因子VIII和因子IX之止血活性的比較。

[0316] 材料和方法。在機構審查委員會批准之方案下，從年滿18歲之志願血友病患者取得全血和血漿(富含血小板及血小板貧乏的)。該個體具有中度或重度第VIII因子(FVIII)或第IX因子(FIX)不足、具有或不具有抑制性抗體，但在其他方面為健康且為非出血狀態。若志願者們在進入研究前48小時內曾使用任何因子替代療法、具有活動性出血或具有血栓形成之醫療史或家族史則將他們排除在外。在11位志願者中，5位為嚴重FVIII不足，2位為中度FVIII不足，1位為中度FIX不足且3位為具有FVIII抑制劑之嚴重FVIII不足。為了完成該研究的所有目標，經由無菌靜脈穿刺從每個志願者採集46mL之血液(10管血)入含有3.2%檸檬酸鈉之真空管中。

[0317] 測試物包括TFPI 106、陰性對照組同種型匹配之抗人類IgG_1、重組型人類第VIII因子及重組型人類

第 IX 因子，根據實驗，將彼等加入全血或血漿中。根據該分析，測試 1、5、20、50 或 100nM 之 TFPI 106、100nM 之對照 IgG_1 抗體及可達到正常因子活性之 5%、10%或 40%的重組型 FVIII 或 FIX 水準(基於活化部分凝血活酶(thromboplastin)時間(aPTT)分析)。為了取得所需濃度，以稀釋緩衝液，pH 7.4(包含 20mM HEPES、150mM NaCl 及 0.5%牛血清白蛋白)稀釋試驗品。

[0318] 使用三種類型之分析來測定該試驗品之促凝血(procoagulant)效果，包括旋轉血栓彈性描記法(ROTEM)、凝血酶生成分析(TGA) 及稀釋凝血酶原時間(dPT)分析。

[0319] ROTEM 測量該全血樣本在低剪切條件下凝血時之黏彈性質。當凝血進行時，該樣本之黏度增加，此可藉由圖形分析。使用 ROTEM 分析儀(Pentapharm GmbH，德國慕尼黑)，利用 Pentapharm 軟體 1.0.04 進行 ROTEM 以評估全血中之凝血。經由在 0.300mL 之檸檬酸化的全血中添加 0.020mL 脂化組織因子(Innovin，西門子醫療公司)之 1: 2333 稀釋液(使最終反應物稀釋 42000 倍)及添加 0.020mL $CaCl_2$ 來起始凝血。所有反應均以一式二份運行。監測 ROTEM 參數並分析 ROTEM 凝血時間(CT)。將藉由設備軟體收集之數據輸出到 Microsoft Excel 2010 及/或 GraphPad Prism(第 6 版)以供分析。在每位志願者方面，相關於來自相同志願者之未經處理的樣本計算該經處理之樣本的 ROTEM 凝血時間之變化百分比。

[0320] 使用凝血酶生成分析(TGA)，在富含血小板之血漿(PRP)和血小板貧乏之血漿(PPP)中評估凝血酶生成之動力學，該富含血小板之血漿(PRP)和血小板貧乏之血漿(PPP)係根據 Hemker, et al., Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. Pathophysiolol Haemost Thromb , 33:4-15 (2003)之方法從志願者之血液製備。簡單地說，將給予試驗品之劑量的全血樣本在室溫下，在 150 xg 離心 10 分鐘以取得 PRP，或在室溫下，在 2500 xg 離心 15 分鐘以取得 PPP。將未使用之血漿冷凍並儲存在-80℃。在 PRP 血漿中，以自體 PPP 將血小板計數調整成每微升含 150,000 個血小板。立即在新鮮 PRP 中測量凝血酶生成。在 PRP 樣本方面，在 96 孔微量滴定盤的孔中添加 20µl 之 1 pM 組織因子(PRP 試劑，Diagnostica Stago 公司，紐澤西州帕西帕尼)及 80µl 之 PRP，一式三份。經由加入 20µl 之 FLUCa 緩衝液(16.7 mmol/l $CaCl_2$ 最終濃度及 417 mmol/l 之 Z-Gly-Gly-Arg-AMC 螢光凝血酶受質)來起始凝血酶生成。使用 Fluoroskan Ascent 螢光儀檢測螢光強度。在 PPP 樣本方面，使用 PPP 試劑-LOW(最終濃度為 1 pM 之組織因子及 4 微莫耳之促凝血磷脂)代替 PRP-試劑並依 PRP 樣本之描述運行。使用 Thrombinoscope 軟體版本 5.0.0.742(Thrombinoscope BV，荷蘭，馬斯特里赫特)計算凝血酶生成。將從 Thrombinoscope 軟體取得之數據輸出到 Microsoft Excel 2010 及/或 GraphPad Prism(第 6 版)以供分析。在各志願

者方面，相關於來自同一志願者之未經處理的樣本計算經處理之樣本的 TGA 峰值凝血酶濃度的百分比變化。

[0321] 在 STart4 凝血分析儀(Diagnostica Stago 公司，紐澤西州帕西帕尼)上進行稀釋凝血酶原時間(dPT)分析。將冷凍之 PPP 解凍並給予濃度為 1、5、20 和 100nM 之抗 TFPI 106 劑量或濃度為 100nM 之同種型對照抗體濃度。在 dPT 測定分析前將經給予劑量之血漿在 37℃溫育 30 分鐘。將 50 微升之血漿加入 STart 4 比色皿中並在 37℃下溫育 60 秒。經由加入在稀釋緩衝液(50 mM 咪唑、0.1M 氯化鈉、1mg/ml 牛血清白蛋白及 8.34mM $CaCl_2$，pH7.4)中製備之稀釋 6000 倍的組織因子試劑(Innovin)來活化反應物並在 37℃下預溫育。在 37℃下測量達到凝血塊的時間，以一式二份運行反應。將凝血時間輸出到 Microsoft Excel 2010 或 GraphPad Prism(第 6 版)以進行分析。相關於各志願者之未經處理的樣本之 dPT 凝血時間計算經測試品處理之樣本的 dPT 凝血時間之變化百分比。

[0322] 如圖形中所描述者，如同使用 ROTEM 方法所測量者，抗體 TFPI-106 造成來自具有 A 型或 B 型血友病之志願者的全血之凝血呈劑量依賴地增加。具體地說，與陰性對照組相比較，該抗體縮短凝血時間並增加最大血塊硬度。此外，當添加在從血友病患者取得之富含血小板和血小板貧乏之血漿中，TFPI-0106 導致凝血酶生成呈劑量依賴地增加，此可由與陰性對照組相比較，滯後時間減少及生成之凝血酶濃度峰值增加證明。

[0323] 第 10A 和 10B 圖說明 TFPI-106 在從具有嚴重 A 型血友病之志願者取得之全血和血漿中的促凝效果。第 10A 圖顯示出與陰性對照組 IgG 和足以取得 5%、10%和 40%之正常活性的重組型 FVIII 濃度相比較，二種濃度之 TFPI 106 在 ROTEM 分析中對血液凝固的影響。第 10B 圖顯示出與陰性對照組和 FVIII 相比較，三種濃度之 TFPI-106 在富含血小板之血漿中之尖峰凝血酶生成。該分析顯示出由 TFPI 106 所導致之劑量依賴性凝血時間減少及尖峰凝血酶生成增加的效果。

[0324] 第 11A、11B 及 11C 圖說明 TFPI-106 在來自具有嚴重 A 型血友病及針對 FVIII 之抑制性抗體(抑制劑)的志願者之全血和血漿中的促凝效果。第 11A 圖顯示出與陰性對照組 IgG 相比較，二種濃度之 TFPI-106 在 ROTEM 分析中對血液凝固的效果。第 11B 圖顯示出與陰性對照組相 IgG 比較，三種濃度之 TFPI-106 在富含血小板之血漿中之尖峰凝血酶生成。第 11C 圖顯示出與陰性對照組 IgG 相比較，四種濃度之 TFPI-106 在稀釋 PT 分析中對血小板貧乏血漿之血塊形成的影響。該分析顯示出由 TFPI 106 所導致之劑量依賴性凝血時間減少及尖峰凝血酶生成增加的效果。

[0325] 第 12A、12B 及 12C 圖說明 TFPI-106 在來自具有中度 A 型血友病的志願者之全血和血漿中的促凝效果。第 12A 圖顯示出與陰性對照組 IgG 及足以取得 5%、10%和 40%之正常活性的重組型 FVIII 濃度相比較，二種

濃度之 TFPI 106 在 ROTEM 分析中對血液凝固的影響。第 12B 圖顯示出與陰性對照組和 FVIII 相比較，三種濃度之 TFPI-106 在富含血小板之血漿中之尖峰凝血酶生成。第 12C 圖顯示出與陰性對照組 IgG 相比較，四種濃度之 TFPI-106 在稀釋 PT 分析中對從血小板貧乏血漿形成血塊的影響。該分析顯示由 TFPI 106 所導致之劑量依賴性凝血時間減少及尖峰凝血酶生成增加的效果。

[0326] 第 13A、13B 及 13C 圖說明 TFPI-106 在來自具有中度 B 型血友病的志願者之全血和血漿中的促凝效果。第 13A 圖顯示出與陰性對照組 IgG 及足以取得 5%、10%和 40%之正常活性之重組型 FVIII 濃度相比較，二種濃度之 TFPI 106 在 ROTEM 分析中對血液凝固的效果。第 13B 圖顯示出與陰性對照組和 FIX 相比較，三種濃度之 TFPI-106 對富含血小板之血漿中之凝血酶生成峰值的效果。第 13C 圖顯示出與陰性對照組 IgG 相比較，四種濃度之 TFPI-106 在稀釋 PT 分析中對從血小板貧乏血漿形成血塊的影響。該分析顯示由 TFPI 106 所導致之劑量依賴性凝血時間減少及尖峰凝血酶生成增加的效果。

[0327] 第 14A、14B 及 14C 圖說明 TFPI-106 在來自具有中度 A 型血友病之志願者的全血和血漿中的促凝效果。第 14A 圖顯示出與陰性對照組 IgG 及足以取得 5%、10%和 40%之正常活性的重組型 FVIII 濃度相比較，三種濃度之 TFPI 106 在 ROTEM 分析中對血液凝固的效果。每個數據點代表相對於來自相同志願者之未經處理的血液樣

本之凝固時間，以 TFPI-106 或 FVIII 處理之單一志願者的血液樣本之凝血時間的減少百分比。代表每一處理之數據點之間的最寬水平棒條代表所有測試之志願者樣本之凝血時間的平均減少百分比。第 14B 圖顯示出與 FVIII 相比較，三種濃度之 TFPI-106 對富含血小板之血漿中之尖峰凝血酶生成的效果。每個數據點代表相對於來自相同志願者之未經處理的血液樣本之尖峰凝血酶生成，以 TFPI-106 或 FVIII 處理之單一志願者的血漿樣本之尖峰凝血酶生成的增加百分比。代表每一處理之數據點之間的最寬水平棒條代表所有測試之志願者樣本之尖峰凝血酶生成的增加百分比。第 14C 圖顯示出四種濃度之 TFPI-106 在稀釋 PT 分析中對從血小板貧乏血漿形成血塊的效果。每個數據點代表相對於來自相同志願者之未經處理的血液樣本的凝固時間，以 TFPI-106 處理之單一志願者的血漿樣本之凝血時間的減少百分比。每一處理之數據點之間的最寬水平棒條代表所有測試之志願者樣本之凝血時間的平均減少百分比。該稀釋 PT 分析顯示出由 TFPI 106 所導致之劑量依賴性凝血時間減少且該凝血酶生成分析顯示出由 TFPI 106 所導致之劑量依賴性尖峰凝血酶生成增加。

表 33
序列

SEQ ID NO:	描述	序列
10	mAb-TFPI-3 LC CDR1	RASQGISSSL A
11	mAb-TFPI-3 LC CDR2	AASTLQS
12	mAb-TFPI-3 LC CDR3	QQLDSYPLS
13	mAb-TFPI-3 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	AIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS SSLAWYQQKP GKAPKLLIYA ASTLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ LDSYPLSFGQ GTKLEIK
14	Human Ig kappa constant	RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC
15	mAb-TFPI-3 LC CDR1, 2, 3 下方劃線. 可變序列以斜體表示	*AIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS SSLAWYQQKP GKAPKLLIYA ASTLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ LDSYPLSFGQ GTKLEIK*RTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
16	mAb-TFPI-3 HC CDR1	GYTFTGYYMH
17	mAb-TFPI-3 HC CDR2	WINPNSGGTN YAQKFQG
18	mAb-TFPI-3 HC CDR3	GIARLQWLPT EADFDY
19	mAb-TFPI-3 HL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT GYYMHWVRQA PGQGLEWMGW INPNSGGTNY AQKFQGRVTM TRDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCARGI ARLQWLPTEA DFDYWGQGTL VTVSS
20	人類 IgG1 恆定重鏈 效應子功能突變: L117A, L118A, G120A 下方劃線. C 端離胺酸缺失.	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPEAAGA PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
21	mAb-TFPI-3 HC CDR1, CDR2 及 CDR3 下方劃線. 可變序列以斜體表示. 效應子功能突變以粗體表示.	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT GYYMHWVRQA PGQGLEWMGW INPNSGGTNY AQKFQGRVTM TRDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCARGI ARLQWLPTEA DFDYWGQGTL VTVSSASTKG PSVFPLAPSS KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSS LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KKVEPKSCDK THTCPPCPAP **EAAGA**PSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPG
22	mAb-TFPI-21 LC CDR1	TGSSSNIGAG YDVH
23	mAb-TFPI-21 LC CDR2	GNSNRPS
24	mAb-TFPI-21 LC CDR3	QSYDSSLSGS VV
25	mAb-TFPI-21 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方	QSVLTQPPSV SGAPGQRVTI SCTGSSSNIG AGYDVHWYQQ LPGTAPKLLI YGNSNRPSGV PDRFSGSKSG TSASLAITGL

	劃線	QAEDEADFYC QSYDSSLSGS VVFGGGTKVT VLG
26	人類 Ig λ CL	QPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTVA WKADSSPVKA GVETTTPSKQ SNNKYAASSY LSLTPEQWKS HRSYSCQVTH EGSTVEKTVA PTECS
27	mAb-TFPI-21 LC CDR1, 2, 3 下方劃線. 可變序列以斜體表示	*QSVLTQPPSV SGAPGQRVTI SCTGSSSNIG AGYDVHWYQQ* *LPGTAPKLLI YGNSNRPSGV PDRFSGSKSG TSASLAITGL* *QAEDEADFYC QSYDSSLSGS VVFGGGTKVT VLG*QPKAAP SVTLFPPSSE ELQANKATLV CLISDFYPGA VTVAWKADSS PVKAGVETTT PSKQSNNKYA ASSYLSLTPE QWKSHRSYSC QVTHEGSTVE KTVAPTECS
28	mAb-TFPI-21 HC CDR1	GFTFSSYAMS
29	mAb-TFPI-21 HC CDR2	AISGSGGSTY YADSVKG
30	mAb-TFPI-21 HC CDR3	LGATSLSAFD I
31	mAb-TFPI-21 VH	QVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAILG ATSLSAFDIW GQGTMVTVSS
32	mAb-TFPI-21 HC CDR1, CDR2 及 CDR3 下方劃線. 可變序列以斜體表示. 效應子功能突變以粗體表示.	QVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAILG ATSLSAFDIW GQGTMVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPE**AA**G**A** PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
33	mAb-TFPI-23 LC CDR1	TGSSSNIGAG YDVH
34	mAb-TFPI-23 LC CDR2	GNSNRPS
35	mAb-TFPI-23 LC CDR3	QSYDSSLSGS GV
36	mAb-TFPI-23 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	QSVLTQPPSV SGAPGQRVTI SCTGSSSNIG AGYDVHWYQQ LPGTAPKLLI YGNSNRPSGV PDRFSGSKSG TSASLAITGL QAEDEADYYC QSYDSSLSGS GVFGGGTKLT VLG
37	mAb-TFPI-23 LC CDR1, 2, 3 下方劃線. 可變序列以斜體表示	*QSVLTQPPSV SGAPGQRVTI SCTGSSSNIG AGYDVHWYQQ* *LPGTAPKLLI YGNSNRPSGV PDRFSGSKSG TSASLAITGL* *QAEDEADYYC QSYDSSLSGS GVFGGGTKLT VLG*QPKAAPS VTLFPPSSEE LQANKATLVC LISDFYPGAV TVAWKADSSP VKAGVETTTP SKQSNNKYAA SSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQ VTHEGSTVEK TVAPTECS
38	mAb-TFPI-23 HC CDR1	GFTFSSYAMS
39	mAb-TFPI-23 HC CDR2	AISGSGGSTY YADSVKG
40	mAb-TFPI-23 HC CDR3	LGATSLSAFD I
41	mAb-TFPI-23 VH	QVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAILG ATSLSAFDIW GQGTMVTVSS
42	mAb-TFPI-23 HC CDR1, CDR2 及 CDR3 下方劃線. 可變序列以斜體表示. 效應子功能突變以粗體表示.	*QVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA* *PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY* *LQMNSLRAED TAVYYCAILG ATSLSAFDIW GQGTMVTVSS* ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPE**AA**G**A** PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW

		YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
43	mAb-TFPI-24 LC CDR1	SGSTSNIGTM YVH
44	mAb-TFPI-24 LC CDR2	RNNHRPS
45	mAb-TFPI-24 LC CDR3	LAWDDTLRAY V
46	mAb-TFPI-24 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	QSVLTQPPSV SGTPGQRVTI SCSGSTSNIG TMYVHWYQHV PGTAPKLLIY RNNHRPSGVP DRFSGSKSGT SGSLAISGLR SEDEADYYCL AWDDTLRAYV FGTGTKVTVL G
47	mAb-TFPI-24 LC CDR1, 2, 3 下方劃線. 可變序列以斜體表示	*QSVLTQPPSV SGTPGQRVTI SCSGSTSNIG TMYVHWYQHV PGTAPKLLIY RNNHRPSGVP DRFSGSKSGT SGSLAISGLR SEDEADYYCL AWDDTLRAYV FGTGTKVTVL* GQPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADSSPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS
48	mAb-TFPI-24 HC CDR1	GLTIDNYAMQ
49	mAb-TFPI-24 HC CDR2	GISGNSRSIG YADSVKG
50	mAb-TFPI-24 HC CDR3	FLHESDY
51	mAb-TFPI-24 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	EVQLVESGGG SVQPGRSLRL SCAVSGLTID NYAMQWVRQR PGKGLEWVSG ISGNSRSIGY ADSVKGRLTI SRDNAKNSLY LQIDSLRADD TALYYCAIFL HESDYWGQGT LVTVSS
52	mAb-TFPI-24 HC CDR1, CDR2 及 CDR3 下方劃線. 可變序列以斜體表示. 效應子功能突變以粗體表示.	*EVQLVESGGG SVQPGRSLRL SCAVSGLTID NYAMQWVRQR PGKGLEWVSG ISGNSRSIGY ADSVKGRLTI SRDNAKNSLY LQIDSLRADD TALYYCAIFL HESDYWGQGT LVTVSS*ASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PE**AA**G**A**PSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPG
53	mAb-TFPI-26 LC CDR1	TGSSSNLGAD YDVQ
54	mAb-TFPI-26 LC CDR2	GNNNRPS
55	mAb-TFPI-26 LC CDR3	QSYDRSLSGS MV
56	mAb-TFPI-26 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	QSVLTQPPSL SGAPGQRVTI SCTGSSSNLG ADYDVQWYQQ LPGTAPKLLI FGNNNRPSGV PDRFSGSRSG TSASLAITGL QAEDEANYYC QSYDRSLSGS MVFGGGTKLT VLG
57	mAb-TFPI-26 LC CDR1, 2, 3 下方劃線. 可變序列以斜體表示	*QSVLTQPPSL SGAPGQRVTI SCTGSSSNLG ADYDVQWYQQ LPGTAPKLLI FGNNNRPSGV PDRFSGSRSG TSASLAITGL QAEDEANYYC QSYDRSLSGS MVFGGGTKLT VLG*QPKAAP SVTLFPPSSE ELQANKATLV CLISDFYPGA VTVAWKADSS PVKAGVETTT PSKQSNNKYA ASSYLSLTPE QWKSHRSYSC QVTHEGSTVE KTVAPTECS
58	mAb-TFPI-26 HC CDR1	GFTFSSYAMS
59	mAb-TFPI-26 HC CDR2	AISGSGGSTY YADSVKG
60	mAb-TFPI-26 HC CDR3	NGAAAAWDY
61	mAb-TFPI-26 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANNG AAAAWDYWGQ GTLVTVSS
62	mAb-TFPI-26 HC	*EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA*

	CDR1, CDR2 及 CDR3 下方劃線. 可變序列以斜體表示. 效應子功能突變以粗體表示.	*PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCANNG AAAAWDYWGQ GTLVTVSSAS* TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPC PAPE**AA**G**A**PS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPG
63	mAb-TFPI-106 VH SEQ 26 具有 Q1E, V5L 突變(以粗體表示)	**E**VQLLESGGG LV**Q**PGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVS**A** ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAILG ATSLSAFDIW GQGTMVTVSS
64	mAb-TFPI-106 HC CDR1, CDR2 及 CDR3 下方劃線. 可變序列以斜體表示. Q1E,V5L 突變以粗體表示	*E**V**QLL**E**SGGG LV**Q**PGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAILG ATSLSAFDIW GQGTMVTVSS* ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPE**AAGA** PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
65	mAb-TFPI-107 VH SEQ 26 具有 Q1E, V5L, I94K 突變(以粗體表示)	**E**VQLL**E**SGGG LV**Q**PGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVS**A** ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCA**K**LG ATSLSAFDIW GQGTMVTVSS
66	mAb-TFPI-107 HC CDR1, CDR2 及 CDR3 下方劃線. 可變序列以斜體表示. Q1E, V5L, I94K 突變以粗體表示	*E**V**QLL**E**SGGG LV**Q**PGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCA**K**LG ATSLSAFDIW GQGTMVTVSS* ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPE**AAGA** PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
67	mAb-TFPI-108 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線.SEQ 38 具有 S11L, R40A, L67F, I82M, D82aN, D85E 突變(以粗體表示)	EVQLVESGGG **L**VQPGRSLRL SCAVSGLTID NYAM**Q**WVRQ**A** PGKGLEWVSG ISGNSRSIGY ADSVKGR**F**TI SRDNAKNSLY LQ**MN**SLRA**E**D TALYYCAIFL HESDYWGQGT LVTVSS
68	mAb-TFPI-108 HC CDR1, CDR2 及 CDR3 下方劃線. 可變序列以斜體表示. S11L, R40A, L67F, I82M, D82aN, D85E 突	*EVQLVESGGG **L**VQPGRSLRL SCAVSGLTID NYAM**Q**WVRQ**A** PGKGLEWVSG ISGNSRSIGY ADSVKGR**F**TI SRDNAKNSLY LQ**MN**SLRA**E**D TALYYCAIFL HESDYWGQGT LVTVSS*ASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PEAAGAPSVF

	變以粗體表示	LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPG
69	mAb-TFPI-109 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線.SEQ 38 具有 S11L, V24A, R40A, I82M, D82aN, D85E 突變以粗體表示	EVQLVESGGG LVQPGRSLRL SCA**A**SGLTID NYAMQWVRQ**A** PGKGLEWVSG ISGNSRSIGY ADSVKGRLTI SRDNAKNSLY LQ**MN**SLRA**E**D TALYYCAIFL HESDYWGQGT LVTVSS
70	mAb-TFPI-109 HC CDR1, CDR2 及 CDR3 下方劃線. 可變序列以斜體表示. S11L, V24A, R40A, I82M, D82aN, D85E 突變以粗體表示	*EVQLVESGGG LVQPGRSLRL SCA**A**SGLTID NYAMQWVRQ**A** PGKGLEWVSG ISGNSRSIGY ADSVKGRLTI SRDNAKNSLY LQ**MN**SLRA**E**D TALYYCAIFL HESDYWGQGT LVTVSS*ASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PEAAGAPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPG
71	mAb-TFPI-110 VL CDR1, CDR2, CDR3 及下方劃線.SEQ 32 具有 V10A, V39L, G71A 突變(以粗體表示).	QSVLTQPPS**A** SGTPGQRVTI SCSGSTSNIG TMYVHWYQH**L** PGTAPKLLIY RNNHRPSGVP DRFSGSKSGT S**A**SLAISGLR SEDEADYYCL AWDDTLRAYV FGTGTKVTVL G
72	mAb-TFPI-110 LC CDR1, 2, 3 下方劃線. 可變序列以斜體表示. V10A, V39L, G71A 突變以粗體表示.	*QSVLTQPPS**A** SGTPGQRVTI SCSGSTSNIG TMYVHWYQH**L** PGTAPKLLIY RNNHRPSGVP DRFSGSKSGT S**A**SLAISGLR SEDEADYYCL AWDDTLRAYV FGTGTKVTVL* GQPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADSSPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS
73	mAb-TFPI-111 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線.SEQ 32 具有 V10A, H38Q, V39L 突變(以粗體表示).	QSVLTQPPS**A** SGTPGQRVTI SCSGSTSNIG TMYVHWYQ**QL** PGTAPKLLIY RNNHRPSGVP DRFSGSKSGT SGSLAISGLR SEDEADYYCL AWDDTLRAYV FGTGTKVTVL G
74	mAb-TFPI-111 LC CDR1, 2, 3 下方劃線. 可變序列以斜體表示. V10A, H38Q, V39L 突變以粗體表示.	*QSVLTQPPS**A** SGTPGQRVTI SCSGSTSNIG TMYVHWYQ**QL** PGTAPKLLIY RNNHRPSGVP DRFSGSKSGT SGSLAISGLR SEDEADYYCL AWDDTLRAYV FGTGTKVTVL* GQPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADSSPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS
75	mAb-TFPI-112 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線.SEQ 32 具體 V10A, V39L 突體以粗體表示.	QSVLTQPPS**A** SGTPGQRVTI SCSGSTSNIG TMYVHWYQH**L** PGTAPKLLIY RNNHRPSGVP DRFSGSKSGT SGSLAISGLR SEDEADYYCL AWDDTLRAYV FGTGTKVTVL G
76	mAb-TFPI-112 LC CDR1, 2, 3 下方劃線. 可變序列以斜體表示.	*QSVLTQPPS**A** SGTPGQRVTI SCSGSTSNIG TMYVHWYQH**L** PGTAPKLLIY RNNHRPSGVP DRFSGSKSGT SGSLAISGLR SEDEADYYCL AWDDTLRAYV FGTGTKVTVL* GQPKAAPSVT

	V10A, V39L 突變以粗體表示.	LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADSSPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS
77	mAb-TFPI-113 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線.SEQ 32 具有 V10A, H38Q, V39L, G71A 突變以粗體表示.	QSVLTQPPS**A** SGTPGQRVTI SCSGSTSNIG TMYVHWYQ**Q**L PGTAPKLLIY RNNHRPSGVP DRFSGSKSGT S**A**SLAISGLR SEDEADYYCL AWDDTLRAYV FGTGTKVTVL G
78	mAb-TFPI-113 LC CDR1, 2, 3 下方劃線. 可變序列以斜體表示. V11A, H38Q, V39L, G71A 突變以粗體表示.	*QSVLTQPPS**A** SGTPGQRVTI SCSGSTSNIG TMYVHWYQ**Q**L PGTAPKLLIY RNNHRPSGVP DRFSGSKSGT S**A**SLAISGLR SEDEADYYCL AWDDTLRAYV FGTGTKVTVL* GQPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADSSPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS
79	mAb-TFPI-114 HC VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線.SEQ 38 具有 S11L, R40A, I82M, D82AN, D85E 突變(以粗體表示)	EVQLVESGGG **L**VQPGRSLRL SCAVSGLTID NYAMQWVRQ**A** PGKGLEWVSG ISGNSRSIGY ADSVKGRLTI SRDNAKNSLY LQ**MN**SLRA**E**D TALYYCAIFL HESDYWGQGT LVTVSS
80	mAb-TFPI-114 HC CDR1, CDR2 及 CDR3 下方劃線. 可變序列以斜體表示. S11L, R40A, I82M, D82AN, D85E 突變以粗體表示	*EVQLVESGGG **L**VQPGRSLRL SCAVSGLTID NYAMQWVRQ**A** PGKGLEWVSG ISGNSRSIGY ADSVKGRLTI SRDNAKNSLY LQ**MN**SLRA**E**D TALYYCAIFL HESDYWGQGT LVTVSS*ASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PEAAGAPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPG
81	小鼠 4d8.b1 VL CDR1	KASQDVHTAV A
82	小鼠 4d8.b1 VL CDR2	WASTRHT
83	小鼠 4d8.b1 VL CDR3	QQHYTTPYT
84	小鼠 4d8.b1 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITCKASQDVH TAVAWYQQKP GQSPRLLIYW ASTRHTGVPD RFTGCGSGTD YTLTISSVQA EDLALYYCQQ HYTTPYTFGG GTKLEMK
85	小鼠 Ig κ 恆定區	ADAAPTVSIF PPSSEQLTSG GASVVCFLNN FYPKDINVKW KIDGSERQNG VLNSWTDQDS KDSTYSMSST LTLTKDEYER HNSYTCEATH KTSTSPIVKS FNRNEC
86	小鼠 4d8.b1 LC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITCKASQDVH TAVAWYQQKP GQSPRLLIYW ASTRHTGVPD RFTGCGSGTD YTLTISSVQA EDLALYYCQQ HYTTPYTFGG GTKLEMK*ADA APTVSIFPPS SEQLTSGGAS VVCFLNNFYP KDINVKWKID GSERQNGVLN SWTDQDSKDS TYSMSSTLTL TKDEYERHNS YTCEATHKTS TSPIVKSFNR NEC
87	小鼠 4d8.b1 VH CDR1	GYTFTDYNLD
88	小鼠 4d8.b1 VH CDR2	DINPINGATL YNQKFKG
89	小鼠 4d8.b1 VH CDR3	YYGDYDAMDY
90	小鼠 4d8.b1 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	EVLLQQSGPE LVKPGASVKI PCKASGYTFT DYNLDWVKQS HGKSLEWIGD INPINGATLY NQKFKGKATL TVDQSSSTAY MELRSLTSED TAVYYCSIYY GDYDAMDYWG QGASVTVSS

91	小鼠 Igh 恆定重鏈	AKTTPPSVYP LAPGSAAQTN SMVTLGCLVK GYFPEPVTVT WNSGSLSSGV HTFPAVLQSD LYTLSSSVTV PSSTWPSETV TCNVAHPASS TKVDKKIVPR DCGCKPCICT VPEVSSVFIF PPKPKDVLTI TLTPKVTCVV VDISKDDPEV QFSWFVDDVE VHTAQTQPRE EQFNSTFRSV SELPIMHQDW LNGKEFKCRV NSAAFPAPIE KTISKTKGRP KAPQVYTIPP PKEQMAKDKV SLTCMITDFF PEDITVEWQW NGQPAENYKN TQPIMDTDGS YFVYSKLNVQ KSNWEAGNTF TCSVLHEGLH NHHTEKSLSH SPGK
92	小鼠 4d8.b1 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*EVLLQQSGPE LVKPGASVKI PCKASGYTFT DYNLDWVKQS* *HGKSLEWIGD INPINGATLY NQKFKGKATL TVDQSSSTAY* *MELRSLTSED TAVYYCSIYY GDYDAMDYWG QGASVTVSSA* KTTPPSVYPL APGSAAQTNS MVTLGCLVKG YFPEPVTVTW NSGSLSSGVH TFPAVLQSDL YTLSSSVTVP SSTWPSETVT CNVAHPASST KVDKKIVPRD CGCKPCICTV PEVSSVFIFP PKPKDVLTIT LTPKVTCVVV DISKDDPEVQ FSWFVDDVEV HTAQTQPREE QFNSTFRSVS ELPIMHQDWL NGKEFKCRVN SAAFPAPIEK TISKTKGRPK APQVYTIPPP KEQMAKDKVS LTCMITDFFP EDITVEWQWN GQPAENYKNT QPIMDTDGSY FVYSKLNVQK SNWEAGNTFT CSVLHEGLHN HHTEKSLSHS PGK
93	Mu-hu 4d8 嵌合型 LC CDR1, 2, 3 下方劃線. 可變序列以斜體表示	*DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITCKASQDVH TAVAWYQQKP* *GQSPRLLIYW ASTRHTGVPD RFTGCGSGTD YTLTISSVQA* *EDLALYYCQQ HYTTPYTFGG GTKLEMK*RTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
94	Mu-hu 4d8 嵌合型 HC CDR1, 2, 3 下方劃線. 可變序列以斜體表示	*EVLLQQSGPE LVKPGASVKI PCKASGYTFT DYNLDWVKQS* *HGKSLEWIGD INPINGATLY NQKFKGKATL TVDQSSSTAY* *MELRSLTSED TAVYYCSIYY GDYDAMDYWG QGASVTVSSA* STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPEAAGAP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG
95	4d8-VH1.0 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA PGKGLEWVAD INPINGATLY NQKFKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSS
96	4d8-VH1.0 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA* *PGKGLEWVAD INPINGATLY NQKFKGRFTI SRDNAKNSLY* *LQMNSLRAED TAVYYCARYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSSA* STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPEAAGAP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG
97	4d8-VH1.1 VH	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA

	CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 回復突變 A49G, F67A, R71V, N73Q, L78A 以粗體表示	PGKGLEWVGD INPINGATLY NQKFKGRATI SVDQAKNSAY LQMNSLRAED TAVYYCARYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSS
98	4d8-VH1.1 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示 回復突變 A49G, F67A, R71V, N73Q, L78A 以粗體表示	*EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA* *PGKGLEWVGD INPINGATLY NQKFKGRATI SVDQAKNSAY* *LQMNSLRAED TAVYYCARYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSSA* STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPEAAGAP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG
99	4d8-VH1.2 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 回復突變 A49G 以粗體表示	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA PGKGLEWVGD INPINGATLY NQKFKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSS
100	4d8-VH1.2 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示 回復突變 A49G 以粗體表示	*EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA* *PGKGLEWVGD INPINGATLY NQKFKGRFTI SRDNAKNSLY* *LQMNSLRAED TAVYYCARYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSSA* STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPEAAGAP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG
101	4d8-VH1.3 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 回復突變 F67A 以粗體表示	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA PGKGLEWVAD INPINGATLY NQKFKGRATI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSS
102	4d8-VH1.3 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示 回復突變 F67A 以粗體表示	*EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA* *PGKGLEWVAD INPINGATLY NQKFKGRATI SRDNAKNSLY* *LQMNSLRAED TAVYYCARYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSSA* STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPEAAGAP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG
103	4d8-VH1.4 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 回復突變 N73Q 以粗體表示	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA PGKGLEWVAD INPINGATLY NQKFKGRFTI SRDQAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSS

104	4d8-VH1.4 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示 回復突變 N73Q 以粗體表示	*EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA* *PGKGLEWVAD INPINGATLY NQKFKGRFTI SRD**Q**AKNSLY* *LQMNSLRAED TAVYYCARYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSS*A STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPEAAGAP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG
105	4d8-VH1.5 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 回復突變 L78A 以粗體表示	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA PGKGLEWVAD INPINGATLY NQKFKGRFTI SRDNAKNS**A**Y LQMNSLRAED TAVYYCARYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSS
106	4d8-VH1.5 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示 回復突變 L78A 以粗體表示	*EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA* *PGKGLEWVAD INPINGATLY NQKFKGRFTI SRDNAKNS**A**Y* *LQMNSLRAED TAVYYCARYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSS*A STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPEAAGAP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG
107	4d8-VH1.6 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 回復突變 A49G, F67A, R71V, N73Q, L78A, A93S, R94I 以粗體表示	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA PGKGLEWV**G**D INPINGATLY NQKFKGR**A**TI S**V**D**Q**AKNS**A**Y LQMNSLRAED TAVYYC**S**IYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSS
108	4d8-VH1.6 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示 回復突變 A49G, F67A, R71V, N73Q, L78A, A93S, R94I 以粗體表示	*EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT DYNLDWVRQA* *PGKGLEWV**G**D INPINGATLY NQKFKGR**A**TI S**V**D**Q**AKNS**A**Y* *LQMNSLRAED TAVYYC**S**IYY GDYDAMDYWG QGTLVTVSS*A STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPEAAGAP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG
109	4D8-VK1.0 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVH TAVAWYQQKP GKAPKLLIYW ASTRHTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTTPYTFGQ GTKLEIK
110	4D8-VK1.0 LC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 VL 以粗體表示	*DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVH TAVAWYQQKP* *GKAPKLLIYW ASTRHTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP* *EDFATYYCQQ HYTTPYTFGQ GTKLEIK*RTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHKV YACEVTHQGL

		SSPVTKSFNR GEC
111	4D8-VK1.1 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 回復突變 F71Y 以粗體表示	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVH TAVAWYQQKP GKAPKLLIYW ASTRHTGVPS RFSGSGSGTD YTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTTPYTFGQ GTKLEIK
112	4D8-VK1.1 LC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 VL 以粗體表示	*DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVH TAVAWYQQKP* *GKAPKLLIYW ASTRHTGVPS RFSGSGSGTD YTLTISSLQP* *EDFATYYCQQ HYTTPYTFGQ GTKLEIK*RTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHKV YACEVTHQGL SSPVTKSFNR GEC
113	小鼠 6b7.c5 VL CDR1	KASQDVITAV A
114	小鼠 6b7.c5 VL CDR2	WASTRHT
115	小鼠 6b7.c5 VL CDR3	QQHYSTPYT
116	小鼠 6b7.c5 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITCKASQDVI TAVAWYQQKP GQSPKLLIYW ASTRHTGVPV RFTGSGSGTD YTLTIISVQA EDLALYYCQQ HYSTPYTFGG GTKLEIK
117	mouse 6b7.c5 LC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITCKASQDVI TAVAWYQQKP* *GQSPKLLIYW ASTRHTGVPV RFTGSGSGTD YTLTIISVQA* *EDLALYYCQQ HYSTPYTFGG GTKLEIK*ADA APTVSIFPPS SEQLTSGGAS VVCFLNNFYP KDINVKWKID GSERQNGVLN SWTDQDSKDS TYSMSSTLTL TKDEYERHNS YTCEATHKTS TSPIVKSFNR NEC
118	小鼠 6b7.c5 VH CDR1	GYTFTDYTMD
119	小鼠 6b7.c5 VH CDR2	DINPSNGGSI YNRKFKG
120	小鼠 6b7.c5 VH CDR3	MHYNYDGFPY
121	小鼠 6b7.c5 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	EVLLQQSGPE LVKPGSSVKI PCKASGYTFT DYTMDWVKQS HGKSLEWIGD INPSNGGSIY NRKFKGKATL TVDKSSSTAY MELRSLTSED TAVYYCARMH YNYDGFPYWG QGTLVTVSA
122	小鼠 6b7.c5 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*EVLLQQSGPE LVKPGSSVKI PCKASGYTFT DYTMDWVKQS* *HGKSLEWIGD INPSNGGSIY NRKFKGKATL TVDKSSSTAY* *MELRSLTSED TAVYYCARMH YNYDGFPYWG QGTLVTVSA*A STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPEAAGAP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG
123	小鼠 7A4.D9 VL CDR1	RASKSVSTSG YTYMH
124	小鼠 7A4.D9 VL CDR2	LASNLES
125	小鼠 7A4.D9 VL CDR3	QHIRELPFT
126	小鼠 7A4.D9 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASKSVS TSGYTYMHWY QQKPGQPPKL LIYLASNLES GVPARFSGSG SGTDFTLNIH PVEEEDAAAY YCQHIRELPF TFGSGTKLEI K
127	小鼠 7A4.D9 LC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASKSVS TSGYTYMHWY* *QQKPGQPPKL LIYLASNLES GVPARFSGSG SGTDFTLNIH* *PVEEEDAAAY YCQHIRELPF TFGSGTKLEI K*ADAAPTVSI FPPSSEQLTS GGASVVCFLN NFYPKDINVK WKIDGSERQN GVLNSWTDQD SKDSTYSMSS TLTLTKDEYE RHNSYTCEAT

		HKTSTSPIVK SFNRNEC
128	小鼠 7A4.D9 VH CDR1	GYTFTSYVMH
129	小鼠 7A4.D9 VH CDR2	YLNPYNDGTK YNEKFKG
130	小鼠 7A4.D9 VH CDR3	TLLYAMDY
131	小鼠 7A4.D9 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	EVQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFT SYVMHWVKQK PGQGLEWIGY LNPYNDGTKY NEKFKGKASL ISDKSSSTVY MELSSLTSED SAVYYCATTL LYAMDYWGQG SSVTVSS
132	小鼠 7A4.D9 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*EVQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFT SYVMHWVKQK* *PGQGLEWIGY LNPYNDGTKY NEKFKGKASL ISDKSSSTVY* *MELSSLTSED SAVYYCATTL LYAMDYWGQG SSVTVSS*AST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APEAAGAPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEM
133	2A8 VL CDR1	SGDNLRNYYA H
134	2A8 VL CDR2	YDNNRPS
135	2A8 VL CDR3	QSWDDGVPV
136	2A8 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	DIELTQPPSV SVAPGQTARI SCSGDNLRNY YAHWYQQKPG QAPVVVIYYD NNRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISGTQAE DEADYYCQSW DDGVPVFGGG TKLTVLG
137	2A8 LC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*DIELTQPPSV SVAPGQTARI SCSGDNLRNY YAHWYQQKPG* *QAPVVVIYYD NNRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISGTQAE* *DEADYYCQSW DDGVPVFGGG TKLTVL*GQPK AAPSVTLFPP SSEELQANKA TLVCLISDFY PGAVTVAWKA DSSPVKAGVE TTTPSKQSNN KYAASSYLSL TPEQWKSHRS YSCQVTHEGS TVEKTVAPTE CS
138	2A8 VH CDR1	GFTFRSYGMS
139	2A8 VH CDR2	SIRGSSSSTY YADSVKG
140	2A8 VH CDR3	KYRYWFDY
141	2A8 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	QVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SYGMSWVRQA PGKGLEWVSS IRGSSSSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARKY RYWFDYWGQG TLVTVSS
142	2A8 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*QVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SYGMSWVRQA* *PGKGLEWVSS IRGSSSSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY* *LQMNSLRAED TAVYYCARKY RYWFDYWGQG* TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APEAAGAPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPG
143	2A8-200 VL CDR1	SGDNLRNYYA H
144	2A8-200 VL CDR2	YDVNRPS
145	2A8-200 VL CDR3	QSWWDGVPV
146	2A8-200 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	DIELTQPPSV SVAPGQTARI SCSGDNLRNY YAHWYQQKPG QAPVVVIFYD VNRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISGTQAE DEADYYCQSW WDGVPVFGGG TKLTVLG
147	2A8-200 LC	*DIELTQPPSV SVAPGQTARI SCSGDNLRNY YAHWYQQKPG*

	CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*QAPVVVIFYD VNRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISGTQAE DEADYYCQSW WDGVPVFGGG* TKLTVLGQPK AAPSVTLFPP SSEELQANKA TLVCLISDFY PGAVTVAWKA DSSPVKAGVE TTTPSKQSNN KYAASSYLSL TPEQWKSHRS YSCQVTHEGS TVEKTVAPTE CS
148	2A8-200 VH CDR1	GFTFRSYGMD
149	2A8-200 VH CDR2	SIRGSRSSTY YADSVKG
150	2A8-200 VH CDR3	LYRYWFDY
151	2A8-200 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	QVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SYGMDWVRQA PGKGLEWVSS IRGSRSSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARLY RYWFDYWGQG TLVTVSS
152	2A8-200 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*QVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFR SYGMDWVRQA PGKGLEWVSS IRGSRSSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARLY RYWFDYWGQG TLVTVSS*AST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APEAAGAPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPG
153	3F18 VL CDR1	SGDNLRNYYA H
154	3F18 VL CDR2	YDNNRPS
155	3F18 VL CDR3	QSWDDGVPV
156	3F18 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	DIELTQPPSV SVAPGQTARI SCSGDNLRNY YAHWYQQKPG QAPVVVIYYD NNRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISGTQAE DEADYYCQSW DDGVPVFGGG TKLTVLG
157	小鼠 Ig λCL	QPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADSSPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS
158	3F18 LC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*DIELTQPPSV SVAPGQTARI SCSGDNLRNY YAHWYQQKPG QAPVVVIYYD NNRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISGTQAE DEADYYCQSW DDGVPVFGGG* TKLTVLGQPK AAPSVTLFPP SSEELQANKA TLVCLISDFY PGAVTVAWKA DSSPVKAGVE TTTPSKQSNN KYAASSYLSL TPEQWKSHRS YSCQVTHEGS TVEKTVAPTE CS
159	3F18 VH CDR1	GFTFSNYALS
160	3F18 VH CDR2	SISSGGATYY PDSVEG
161	3F18 VH CDR3	GAYGSDYFDY
162	3F18 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	EVKLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS NYALSWVRQT PDKRLEWVAS ISSGGATYYP DSVEGRFTIS RDNVRNILYL QMSSLQSEDT AMYYCTRGAY GSDYFDYWGQ GTTLTVSS
163	3F18 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*EVKLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS NYALSWVRQT PDKRLEWVAS ISSGGATYYP DSVEGRFTIS RDNVRNILYL QMSSLQSEDT AMYYCTRGAY GSDYFDYWGQ GTTLTVSS*AK TTPPSVYPLA PGSAAQTNSM VTLGCLVKGY FPEPVTVTWN SGSLSSGVHT FPAVLQSDLY TLSSSVTVPS STWPSETVTC NVAHPASSTK VDKKIVPRDC GCKPCICTVP EVSSVFIFPP KPKDVLTITL TPKVTCVVVD ISKDDPEVQF SWFVDDVEVH TAQTQPREEQ FNSTFRSVSE LPIMHQDWLN GKEFKCRVNS AAFPAPIEKT ISKTKGRPKA PQVYTIPPPK EQMAKDKVSL TCMITDFFPE DITVEWQWNG QPAENYKNTQ PIMDTDGSYF

		VYSKLNVQKS NWEAGNTFTC SVLHEGLHNH HTEKSLSHSP G
164	hz4F36 VL CDR1	KSSQSLLESD GKTYLN
165	hz4F36 VL CDR2	LVSILDS
166	hz4F36 VL CDR3	LQATHFPQT
167	hz4F36 VL CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	DIVMTQTPLS LSVTPGQPAS ISCKSSQSLL ESDGKTYLNW YLQKPGQSPQ LLIYLVSILD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCLQATHFP QTFGGGTKVE IK
168	hz4F36 LC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*DIVMTQTPLS LSVTPGQPAS ISCKSSQSLL ESDGKTYLNW* *YLQKPGQSPQ LLIYLVSILD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI* *SRVEAEDVGV YYCLQATHFP QTFGGGTKVE IK*RTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
169	hz4F36 VH CDR1	GFTFSNYAMS
170	hz4F36 VH CDR2	TISRSGSYSY FPDSVQG
171	hz4F36 VH CDR3	LGGYDEGDAM DS
172	hz4F36 VH CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線	EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS NYAMSWVRQT PEKRLEWVAT ISRSGSYSYF PDSVQGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARLG GYDEGDAMDS WGQGTTVTVS S
173	hz4F36 CH 人類 IgG4 恆定重鏈	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK
174	hz4F36 HC CDR1, CDR2, CDR3 下方劃線 可變序列以斜體表示	*EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS NYAMSWVRQT* *PEKRLEWVAT ISRSGSYSYF PDSVQGRFTI SRDNAKNSLY* *LQMNSLRAED TAVYYCARLG GYDEGDAMDS WGQGTTVTVS* *S*ASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTK TYTCNVDHKP SNTKVDKRVE SKYGPPCPPC PAPEFLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
175	mAb-TFPI-106 VH 編碼 CDR1, CDR2, CDR3 之核酸下方劃線	GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCTGGCGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGG GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCT ATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG GTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTC CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATAT TACTGTGCGATTCTGGGAGCTACTTCGTTATCGGCTTTTGATATCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCGAGC
176	mAb-TFPI-106 VL 編碼 CDR1, CDR2, CDR3 之核酸下方劃線; 可變序列以斜體表示	CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCA GAGGGTCACCATCTCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCAG GTTATGATGTACACTGGTACCAGCAGCTTCCAGGAACAGCCCCCAAA CTCCTCATCTATGGTAACAGCAATCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCG ATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCACTG GGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCCTATGAC AGCAGCCTGAGTGGTTCAGGGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGAC

		CGTCCTA
177	mAb-TFPI-106 HC 編碼 CDR1, CDR2, CDR3 之核酸 encoding; 可變序列以體表示	*GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCTGGCGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGG* *GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCT* *ATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG* *GTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTC* *CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGC* *TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATAT* *TACTGTGCGATTCTGGGAGCTACTTCGTTATCGGCTTTTGATATCTG* *GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCGAGC*GCGTCGACCAAGGGCC CATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT GACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCT TCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAA CGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGC CCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCT GAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAA GGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGG TGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA GTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCA GCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGA TGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAA CAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCT TCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTA CACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGT
178	mAb-TFPI-106 LC 編碼 CDR1, CDR2, CDR3 之核酸下方劃線; 可變序列以斜體表示	*CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCA* *GAGGGTCACCATCTCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCAG* *GTTATGATGTACACTGGTACCAGCAGCTTCCAGGAACAGCCCCCAAA* *CTCCTCATCTATGGTAACAGCAATCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCG* *ATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCACTG* *GGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCCTATGAC* *AGCAGCCTGAGTGGTTCAGGGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGAC* *CGTCCTA*GGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGC CCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTC ATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGA TAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCCAAAC AAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCT GAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGA AGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA

抗體 SeqID(序列識別)號嗎之描述和序列組成(當指特定殘基時，使用 Kabat 編號。藉由使用 Kabat 定義來定義 VH 和 VL CDR 開始和結束點)

[0328] 上文之個別章節中所提及之本發明之各種特徵和實施態樣如做適當變動，依適當情況亦適用於其他章節。因此，在一個章節中具體說明之特徵可與其他章節中具體說明之特徵依適當情況組合。本文所引用之所有參考資料，包括專利、專利申請案、論文、教科書和列舉之序列登錄號，及其中引用之參考文獻的全文以引用方式併入本文。當一或多個該併入之文獻及類似材料與本申請案不同或互相矛盾時(包括，但不限於定義之術語、術語用途、所描述之技術，等)，以本申請案為準。

序列表

<110> 輝瑞股份有限公司(Pfizer Inc.)

<120> 組織因子途徑抑制劑(TFPI)抗體類及其用途

<140> TW 105126115
<141> 2016-08-16

<150> US 62/207,229
<151> 2015-08-19

<150> US 62/360,205
<151> 2016-07-08

<160> 178

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1
<211> 149
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1

Asp Ser Glu Glu Asp Glu Glu His Thr Ile Ile Thr Asp Thr Glu Leu
1 5 10 15

Pro Pro Leu Lys Leu Met His Ser Phe Cys Ala Phe Lys Ala Asp Asp
20 25 30

Gly Pro Cys Lys Ala Ile Met Lys Arg Phe Phe Phe Asn Ile Phe Thr
35 40 45

Arg Gln Cys Glu Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Glu Gly Asn Gln Asn
50 55 60

Arg Phe Glu Ser Leu Glu Glu Cys Lys Lys Met Cys Thr Arg Asp Asn
65 70 75 80

Ala Asn Arg Ile Ile Lys Thr Thr Leu Gln Gln Glu Lys Pro Asp Phe
85 90 95

Cys Phe Leu Glu Glu Asp Pro Gly Ile Cys Arg Gly Tyr Ile Thr Arg
100 105 110

Tyr Phe Tyr Asn Asn Gln Thr Lys Gln Cys Glu Arg Phe Lys Tyr Gly
115 120 125

Gly Cys Leu Gly Asn Met Asn Asn Phe Glu Thr Leu Glu Glu Cys Lys
130 135 140

Asn Ile Cys Glu Asp
145

<210> 2
<211> 254
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

Asp Ser Glu Glu Asp Glu Glu His Thr Ile Ile Thr Asp Thr Glu Leu
1 5 10 15

Pro Pro Leu Lys Leu Met His Ser Phe Cys Ala Phe Lys Ala Asp Asp
20 25 30

Gly Pro Cys Lys Ala Ile Met Lys Arg Phe Phe Phe Asn Ile Phe Thr
35 40 45

Arg Gln Cys Glu Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Glu Gly Asn Gln Asn
50 55 60

Arg Phe Glu Ser Leu Glu Glu Cys Lys Lys Met Cys Thr Arg Asp Asn
65 70 75 80

Ala Asn Arg Ile Ile Lys Thr Thr Leu Gln Gln Glu Lys Pro Asp Phe
85 90 95

Cys Phe Leu Glu Glu Asp Pro Gly Ile Cys Arg Gly Tyr Ile Thr Arg
100 105 110

Tyr Phe Tyr Asn Asn Gln Thr Lys Gln Cys Glu Arg Phe Lys Tyr Gly
115 120 125

Gly Cys Leu Gly Asn Met Asn Asn Phe Glu Thr Leu Glu Glu Cys Lys
130 135 140

Asn Ile Cys Glu Asp Gly Pro Asn Gly Phe Gln Val Asp Asn Tyr Gly
145 150 155 160

Thr Gln Leu Asn Ala Val Asn Asn Ser Leu Thr Pro Gln Ser Thr Lys
165 170 175

Val Pro Ser Leu Phe Glu Phe His Gly Pro Ser Trp Cys Leu Thr Pro
180 185 190

Ala Asp Arg Gly Leu Cys Arg Ala Asn Glu Asn Arg Phe Tyr Tyr Asn
195 200 205

Ser Val Ile Gly Lys Cys Arg Pro Phe Lys Tyr Ser Gly Cys Gly Gly
210 215 220

Asn Glu Asn Asn Phe Thr Ser Lys Gln Glu Cys Leu Arg Ala Cys Lys
225 230 235 240

Lys Gly Phe Ile Gln Arg Ile Ser Lys Gly Gly Leu Ile Lys
245 250

<210> 3
<211> 189
<212> PRT
<213> 智人

<400> 3

Asp Ala Ala Gln Glu Pro Thr Gly Asn Asn Ala Glu Ile Cys Leu Leu
1 5 10 15

Pro Leu Asp Tyr Gly Pro Cys Arg Ala Leu Leu Leu Arg Tyr Tyr Tyr
20 25 30

Asp Arg Tyr Thr Gln Ser Cys Arg Gln Phe Leu Tyr Gly Gly Cys Glu
35 40 45

Gly Asn Ala Asn Asn Phe Tyr Thr Trp Glu Ala Cys Asp Asp Ala Cys
50 55 60

Trp Arg Ile Glu Lys Val Pro Lys Val Cys Arg Leu Gln Val Ser Val
65 70 75 80

Asp Asp Gln Cys Glu Gly Ser Thr Glu Lys Tyr Phe Phe Asn Leu Ser
85 90 95

Ser Met Thr Cys Glu Lys Phe Phe Ser Gly Gly Cys His Arg Asn Arg
100 105 110

Ile Glu Asn Arg Phe Pro Asp Glu Ala Thr Cys Met Gly Phe Cys Ala
115 120 125

Pro Lys Lys Ile Pro Ser Phe Cys Tyr Ser Pro Lys Asp Glu Gly Leu
130 135 140

Cys Ser Ala Asn Val Thr Arg Tyr Tyr Phe Asn Pro Arg Tyr Arg Thr
145 150 155 160

Cys Asp Ala Phe Thr Tyr Thr Gly Cys Gly Gly Asn Asp Asn Asn Phe
165 170 175

Val Ser Arg Glu Asp Cys Lys Arg Ala Cys Ala Lys Ala
180 185

<210> 4
<211> 146
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 4

Leu Ser Glu Glu Ala Asp Asp Thr Asp Ser Glu Leu Gly Ser Met Lys
1 5 10 15

Pro Leu His Thr Phe Cys Ala Met Lys Ala Asp Asp Gly Pro Cys Lys
20 25 30

Ala Met Ile Arg Ser Tyr Phe Phe Asn Met Tyr Thr His Gln Cys Glu
35 40 45

Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Glu Gly Asn Glu Asn Arg Phe Asp Thr
50 55 60

Leu Glu Glu Cys Lys Lys Thr Cys Ile Pro Gly Tyr Glu Lys Thr Ala
65 70 75 80

Val Lys Ala Ala Ser Gly Ala Glu Arg Pro Asp Phe Cys Phe Leu Glu
85 90 95

Glu Asp Pro Gly Leu Cys Arg Gly Tyr Met Lys Arg Tyr Leu Tyr Asn
100 105 110

Asn Gln Thr Lys Gln Cys Glu Arg Phe Val Tyr Gly Gly Cys Leu Gly
115 120 125

Asn Arg Asn Asn Phe Glu Thr Leu Asp Glu Cys Lys Lys Ile Cys Glu
130 135 140

Asn Pro
145

<210> 5
<211> 149
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 5

Asp Ser Glu Glu Asp Glu Glu Tyr Thr Ile Ile Thr Asp Thr Glu Leu
1 5 10 15

Pro Pro Leu Lys Leu Met His Ser Phe Cys Ala Phe Lys Pro Asp Asp
20 25 30

Gly Pro Cys Lys Ala Ile Met Lys Arg Phe Phe Phe Asn Ile Phe Thr
35 40 45

Arg Gln Cys Glu Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Gly Gly Asn Gln Asn
50 55 60

Arg Phe Glu Ser Met Glu Glu Cys Lys Lys Val Cys Thr Arg Asp Asn
65 70 75 80

Val Asn Arg Ile Ile Gln Thr Ala Leu Gln Lys Glu Lys Pro Asp Phe
85 90 95

Cys Phe Leu Glu Glu Asp Pro Gly Ile Cys Arg Gly Tyr Ile Thr Arg
100 105 110

Tyr Phe Tyr Asn Asn Gln Ser Lys Gln Cys Glu Arg Phe Lys Tyr Gly
115 120 125

Gly Cys Leu Gly Asn Met Asn Asn Phe Glu Thr Leu Glu Glu Cys Lys
130 135 140

Asn Thr Cys Glu Asp
145

<210> 6
<211> 149
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 6

Ala Ala Glu Glu Asp Glu Glu Phe Thr Asn Ile Thr Asp Ile Lys Pro
1 5 10 15

Pro Leu Gln Lys Pro Thr His Ser Phe Cys Ala Met Lys Val Asp Asp
20 25 30

Gly Pro Cys Arg Ala Tyr Ile Lys Arg Phe Phe Phe Asn Ile Leu Thr
35 40 45

His Gln Cys Glu Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Glu Gly Asn Glu Asn
50 55 60

Arg Phe Glu Ser Leu Glu Glu Cys Lys Glu Lys Cys Ala Arg Asp Tyr
65 70 75 80

Pro Lys Met Thr Thr Lys Leu Thr Phe Gln Lys Gly Lys Pro Asp Phe
85 90 95

Cys Phe Leu Glu Glu Asp Pro Gly Ile Cys Arg Gly Tyr Ile Thr Arg
100 105 110

Tyr Phe Tyr Asn Asn Gln Ser Lys Gln Cys Glu Arg Phe Lys Tyr Gly
115 120 125

Gly Cys Leu Gly Asn Leu Asn Asn Phe Glu Ser Leu Glu Glu Cys Lys
130 135 140

Asn Thr Cys Glu Asn
145

<210> 7
<211> 148
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 7

Leu Pro Glu Glu Asp Asp Asp Thr Ile Asn Thr Asp Ser Glu Leu Arg
1 5 10 15

Pro Met Lys Pro Leu His Thr Phe Cys Ala Met Lys Ala Glu Asp Gly
20 25 30

Pro Cys Lys Ala Met Ile Arg Ser Tyr Tyr Phe Asn Met Asn Ser His
35 40 45

Gln Cys Glu Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Arg Gly Asn Lys Asn Arg
50 55 60

Phe Asp Thr Leu Glu Glu Cys Arg Lys Thr Cys Ile Pro Gly Tyr Lys
65 70 75 80

Lys Thr Thr Ile Lys Thr Thr Ser Gly Ala Glu Lys Pro Asp Phe Cys
85 90 95

Phe Leu Glu Glu Asp Pro Gly Ile Cys Arg Gly Phe Met Thr Arg Tyr
100 105 110

Phe Tyr Asn Asn Gln Ser Lys Gln Cys Glu Gln Phe Lys Tyr Gly Gly
115 120 125

Cys Leu Gly Asn Ser Asn Asn Phe Glu Thr Leu Glu Glu Cys Arg Asn
130 135 140

Thr Cys Glu Asp
145

<210> 8
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 8

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys
1 5 10 15

Ile Glu Trp His Glu Gly Gly Pro Pro His His His His His His His
20 25 30

His His His
35

<210> 9
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 9

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly
20

<210> 10
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 10

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 11
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 11

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 12

Gln Gln Leu Asp Ser Tyr Pro Leu Ser
1 5

<210> 13
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 13

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ser Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr 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 Leu Asp Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 14
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 14

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 15
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 15

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ser Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr 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 Leu Asp Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

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> 16
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 16

Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His
1 5 10

<210> 17
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 17

Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 18
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 18

Gly Ile Ala Arg Leu Gln Trp Leu Pro Thr Glu Ala Asp Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 19
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 19

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Ile Ala Arg Leu Gln Trp Leu Pro Thr Glu Ala Asp Phe
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 20
<211> 329
<212> PRT
<213> 智人

<400> 20

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

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 21
<211> 454
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 21

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

```
Ala Arg Gly Ile Ala Arg Leu Gln Trp Leu Pro Thr Glu Ala Asp Phe
            100                 105                 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
        115                 120                 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
    130                 135                 140

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145                 150                 155                 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
                165                 170                 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
            180                 185                 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
        195                 200                 205

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
    210                 215                 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225                 230                 235                 240

Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
                245                 250                 255

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
            260                 265                 270

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
        275                 280                 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
    290                 295                 300

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
305                 310                 315                 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
                325                 330                 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
            340                 345                 350

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
        355                 360                 365

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
    370                 375                 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385                 390                 395                 400
```

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
405 410 415

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 22
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 22

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His
1 5 10

<210> 23
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 23

Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 24
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 24

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Val Val
1 5 10

<210> 25
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 25

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly

20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Phe Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
85 90 95

Leu Ser Gly Ser Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

Gly

<210> 26
<211> 105
<212> PRT
<213> 智人

<400> 26

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

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
50 55 60

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65 70 75 80

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 27
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 27

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

```
Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
            20                  25                  30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
        35                  40                  45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Phe Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
                85                  90                  95

Leu Ser Gly Ser Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
            100                 105                 110

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

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
    130                 135                 140

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
145                 150                 155                 160

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
                165                 170                 175

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
            180                 185                 190

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
        195                 200                 205

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
    210                 215
```

<210> 28
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 28

```
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
1               5                   10
```

<210> 29
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 29

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 30
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 30

Leu Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 31
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 31

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala 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 Ile Leu Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 32
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 32

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala 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 Ile Leu Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Met 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 Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala
225                 230                 235                 240

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300
```

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

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

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 33
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 33

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His
1 5 10

<210> 34
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 34

Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 35
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 35

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Gly Val
1 5 10

<210> 36
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 36

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
85 90 95

Leu Ser Gly Ser Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

Gly

<210> 37
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 37

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
85 90 95

Leu Ser Gly Ser Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

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

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
130 135 140

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
145 150 155 160

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
165 170 175

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
180 185 190

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
195 200 205

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 38

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
1 5 10

<210> 39
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 39

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 40

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 40

Leu Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 41
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 41

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala 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 Ile Leu Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 42
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 42

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala 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 Ile Leu Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met 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 Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala
225 230 235 240

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

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

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 43
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 43

Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Met Tyr Val His
1 5 10

<210> 44
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 44

Arg Asn Asn His Arg Pro Ser
1 5

<210> 45
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 45

Leu Ala Trp Asp Asp Thr Leu Arg Ala Tyr Val
1 5 10

<210> 46
<211> 111

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 46

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Met
20 25 30

Tyr Val His Trp Tyr Gln His Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Gly Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Asp Asp Thr Leu
85 90 95

Arg Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 47
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 47

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Met
20 25 30

Tyr Val His Trp Tyr Gln His Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Gly Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Asp Asp Thr Leu
85 90 95

Arg Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 48
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 48

Gly Leu Thr Ile Asp Asn Tyr Ala Met Gln
1 5 10

<210> 49
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 49

Gly Ile Ser Gly Asn Ser Arg Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 50
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 50

Phe Leu His Glu Ser Asp Tyr
1 5

<210> 51
<211> 116

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 51

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Leu Thr Ile Asp Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Gln Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Asn Ser Arg Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ile Phe Leu His Glu Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 52
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 52

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Leu Thr Ile Asp Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Gln Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Asn Ser Arg Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ile Phe Leu His Glu Ser 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 Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

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

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

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

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

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

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

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

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

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

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

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

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

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 53
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 53

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Leu Gly Ala Asp Tyr Asp Val Gln
1 5 10

<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 54

Gly Asn Asn Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 55
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 55

Gln Ser Tyr Asp Arg Ser Leu Ser Gly Ser Met Val
1 5 10

<210> 56
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 56

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Leu Gly Ala Asp
20 25 30

Tyr Asp Val Gln Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

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

Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Ser
85 90 95

Leu Ser Gly Ser Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

Gly

<210> 57
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 57

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Leu Gly Ala Asp
20 25 30

Tyr Asp Val Gln Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

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

Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Ser
85 90 95

Leu Ser Gly Ser Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

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

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
130 135 140

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
145 150 155 160

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
165 170 175

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
180 185 190

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
195 200 205

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 58
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 58

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
1 5 10

<210> 59
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 59

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 60

Asn Gly Ala Ala Ala Ala Trp Asp Tyr
1 5

<210> 61
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 61

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala 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 Asn Asn Gly Ala Ala Ala Ala Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 62
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 62

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala 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 Asn Asn Gly Ala Ala Ala Ala Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

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

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

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

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

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
        195                 200                 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
    210                 215                 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser
225                 230                 235                 240

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

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
            260                 265                 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
        275                 280                 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
    290                 295                 300

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

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

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

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
        355                 360                 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
    370                 375                 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385                 390                 395                 400

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

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
            420                 425                 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 63
<211> 120
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 63

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 Ile Leu Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 64
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 64

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 Ile Leu Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met 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 Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala
225 230 235 240

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

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

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 65
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 65

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 Lys Leu Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 66
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 66

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 Lys Leu Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Met 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 Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala
225                 230                 235                 240

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335
```

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

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

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 67
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 67

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Leu Thr Ile Asp Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Asn Ser Arg Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ile Phe Leu His Glu Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 68
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 68

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Leu Thr Ile Asp Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Asn Ser Arg Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ile Phe Leu His Glu Ser 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 Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

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

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

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

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

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

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

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

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

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

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

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

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

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 69
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 69

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Ile Asp Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Asn Ser Arg Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ile Phe Leu His Glu Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 70
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 70

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Ile Asp Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Asn Ser Arg Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ile Phe Leu His Glu Ser 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 Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

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

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

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

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

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

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

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

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

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

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

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

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

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 71
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 71

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Met
20 25 30

Tyr Val His Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Asp Asp Thr Leu
85 90 95

Arg Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 72
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 72

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Met
20 25 30

Tyr Val His Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Asp Asp Thr Leu
85 90 95

Arg Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

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

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr

165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 73
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 73

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Met
20 25 30

Tyr Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Gly Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Asp Asp Thr Leu
85 90 95

Arg Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 74
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 74

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Met
20 25 30

Tyr Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Gly Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Asp Asp Thr Leu
85 90 95

Arg Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

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

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 75
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 75

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Met
20 25 30

Tyr Val His Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Gly Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Asp Asp Thr Leu

85 90 95

Arg Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 76
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 76

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Met
20 25 30

Tyr Val His Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Gly Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Asp Asp Thr Leu
85 90 95

Arg Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

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

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 77
<211> 111

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 77

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Met
20 25 30

Tyr Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Asp Asp Thr Leu
85 90 95

Arg Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 78
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 78

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Thr Met
20 25 30

Tyr Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Asp Asp Thr Leu
85 90 95

Arg Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 79
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 79

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Leu Thr Ile Asp Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Asn Ser Arg Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ile Phe Leu His Glu Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 80
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成之構建體

<400> 80

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Leu Thr Ile Asp Asn Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Gly Ile Ser Gly Asn Ser Arg Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ile Phe Leu His Glu Ser 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 Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220

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

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

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285
```

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

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

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

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

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

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

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

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

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 81
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 81

Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 82
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 82

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5

<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成之構建體

<400> 83

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 84
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 84

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Cys Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
100 105

<210> 85
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 85

Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
1 5 10 15

Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
35 40 45

Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
65 70 75 80

His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
85 90 95

Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
100 105

<210> 86
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 86

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Cys Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys Ala Asp Ala Ala Pro
100 105 110

Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn
130 135 140

Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn
145 150 155 160

Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr
180 185 190

Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 87
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 87

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn Leu Asp
1 5 10

<210> 88
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 88

Asp Ile Asn Pro Ile Asn Gly Ala Thr Leu Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 89
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 89

Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 90
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 90

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

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

Asn Leu Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

Ser Ile Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 91
<211> 324
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 91

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala
1 5 10 15

Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val
65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
85 90 95

Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro
100 105 110

Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
115 120 125

Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser
130 135 140

Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu
145 150 155 160

Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
165 170 175

Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn
180 185 190

Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro
195 200 205

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln
210 215 220

Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val
225 230 235 240

Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val
245 250 255

Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln
260 265 270

Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn
275 280 285

Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val
290 295 300

Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His
305 310 315 320

Ser Pro Gly Lys

<210> 92
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 92

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

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

Asn Leu Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

Ser Ile Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp
145 150 155 160

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

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220

Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270

Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300

Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320

Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350

Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe
355 360 365

Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380

Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415

Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430

Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 93
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 93

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Cys Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met 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> 94
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 94

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

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

Asn Leu Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

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

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

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

Ser Ile Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Ala Ser 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 Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro
225                 230                 235                 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285
```

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 95
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 95

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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 Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 96
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 96

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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 Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr 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 Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro
225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 97
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 97

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Val Asp Gln Ala Lys Asn Ser Ala 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 Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 98
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 98

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Val Asp Gln Ala Lys Asn Ser Ala 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 Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr 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 Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro
225                 230                 235                 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 99
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 99

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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 Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 100
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 100

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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 Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr 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 Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro
225                 230                 235                 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415
```

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 101
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<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 Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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 Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 102
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 102

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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 Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr 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 Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro
225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 103
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<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 Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gln Ala Lys Asn Ser 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 Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 104
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 104

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
            20                  25                  30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gln Ala Lys Asn Ser 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 Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr 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 Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro
225                 230                 235                 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300
```

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 105
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 105

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Ala 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 Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 106
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 106

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Ala 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 Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr 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 Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 107
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 107

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Val Asp Gln Ala Lys Asn Ser Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Ile Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 108
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 108

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Val Asp Gln Ala Lys Asn Ser Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Ile Tyr Tyr Gly Asp Tyr Asp Ala Met Asp Tyr 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 Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro
225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 109
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 109

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 Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 110
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 110

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 Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

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> 111
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 111

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 Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 112
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 112

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 Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

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> 113
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 113

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ile Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 114
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 114

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5

<210> 115
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 115

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 116
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 116

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ile Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Val Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ile Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 117
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 117

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ile Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Val Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ile Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ala Asp Ala Ala Pro
100 105 110

Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn
130 135 140

Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn
145 150 155 160

Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr
180 185 190

Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 118
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 118

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Thr Met Asp
1 5 10

<210> 119
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 119

Asp Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Arg Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 120
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 120

Met His Tyr Asn Tyr Asp Gly Phe Pro Tyr
1 5 10

<210> 121
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 121

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

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

Thr Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Arg Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Met His Tyr Asn Tyr Asp Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 122
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 122

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

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

```
Thr Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Asp Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Arg Lys Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Met His Tyr Asn Tyr Asp Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala 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 Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro
225                 230                 235                 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335
```

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 123
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 123

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Thr Tyr Met His
1 5 10 15

<210> 124
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 124

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 125
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 125

Gln His Ile Arg Glu Leu Pro Phe Thr
1 5

<210> 126
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 126

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Thr Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

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

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys Gln His Ile Arg
85 90 95

Glu Leu Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 127
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 127

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Thr Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

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

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys Gln His Ile Arg
85 90 95

Glu Leu Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ala
100 105 110

Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu
115 120 125

Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn
145 150 155 160

Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His
180 185 190

Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile
195 200 205

Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

<210> 128
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 128

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Val Met His
1 5 10

<210> 129
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 129

Tyr Leu Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 130
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 130

Thr Leu Leu Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 131
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 131

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

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

Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Leu Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Thr Thr Leu Leu Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ser Ser
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 132
<211> 358
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 132

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

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

Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Leu Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Thr Thr Leu Leu Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ser Ser
100 105 110

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

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

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

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

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

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

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
225 230 235 240

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

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

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

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

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

Pro Ser Arg Glu Glu Met
355

<210> 133
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 133

Ser Gly Asp Asn Leu Arg Asn Tyr Tyr Ala His
1 5 10

<210> 134
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 134

Tyr Asp Asn Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 135
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 135

Gln Ser Trp Asp Asp Gly Val Pro Val
1 5

<210> 136
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 136

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Arg Asn Tyr Tyr Ala
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Ile Tyr
35 40 45

Tyr Asp Asn Asn 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 Trp Asp Asp Gly Val Pro Val
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105

<210> 137
<211> 212
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 137

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Arg Asn Tyr Tyr Ala
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Ile Tyr
35 40 45

Tyr Asp Asn Asn 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 Trp Asp Asp Gly Val Pro 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> 138
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 138

Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Gly Met Ser
1 5 10

<210> 139
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 139

Ser Ile Arg Gly Ser Ser Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 140
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 140

Lys Tyr Arg Tyr Trp Phe Asp Tyr
1 5

<210> 141
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 141

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Arg Gly Ser Ser Ser 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 Lys Tyr Arg Tyr Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 142

<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 142

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Arg Gly Ser Ser Ser 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 Lys Tyr Arg Tyr Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

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

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

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

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

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

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

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
225 230 235 240

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

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

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

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

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

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

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

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

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

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 143
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 143

Ser Gly Asp Asn Leu Arg Asn Tyr Tyr Ala His
1 5 10

<210> 144
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 144

Tyr Asp Val Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 145

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 145

Gln Ser Trp Trp Asp Gly Val Pro Val
1 5

<210> 146
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 146

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Arg Asn Tyr Tyr Ala
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Ile Phe
35 40 45

Tyr Asp Val Asn 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 Trp Trp Asp Gly Val Pro Val
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105

<210> 147
<211> 212
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 147

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Arg Asn Tyr Tyr Ala
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Ile Phe
35 40 45

Tyr Asp Val Asn 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 Trp Trp Asp Gly Val Pro 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> 148
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 148

Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Gly Met Asp
1 5 10

<210> 149
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 149

Ser Ile Arg Gly Ser Arg Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 150

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 150

Leu Tyr Arg Tyr Trp Phe Asp Tyr
1 5

<210> 151
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 151

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Arg Gly Ser Arg Ser 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 Leu Tyr Arg Tyr Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 152
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 152

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Arg Gly Ser Arg Ser 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 Leu Tyr Arg Tyr Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

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

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

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

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

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

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

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
225 230 235 240

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

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

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

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

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

340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

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

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

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

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 153
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 153

Ser Gly Asp Asn Leu Arg Asn Tyr Tyr Ala His
1 5 10

<210> 154
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 154

Tyr Asp Asn Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 155
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 155

Gln Ser Trp Asp Asp Gly Val Pro Val
1 5

<210> 156
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成之構建體

<400> 156

```
Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1               5                  10                  15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Arg Asn Tyr Tyr Ala
            20                  25                  30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Ile Tyr
        35                  40                  45

Tyr Asp Asn Asn 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 Trp Asp Asp Gly Val Pro Val
                85                  90                  95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
            100                 105
```

<210> 157
<211> 105
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 157

```
Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1               5                  10                  15

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
            20                  25                  30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
        35                  40                  45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
    50                  55                  60

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65                  70                  75                  80

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
                85                  90                  95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
            100                 105
```

<210> 158
<211> 212
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 158

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Arg Asn Tyr Tyr Ala
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Ile Tyr
35 40 45

Tyr Asp Asn Asn 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 Trp Asp Asp Gly Val Pro 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> 159
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 159

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Leu Ser
1 5 10

<210> 160
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 160

Ser Ile Ser Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Glu Gly
1 5 10 15

<210> 161
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 161

Gly Ala Tyr Gly Ser Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 162
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 162

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Val Arg Asn Ile Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Ser Ser Leu Gln Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Thr
85 90 95

Arg Gly Ala Tyr Gly Ser Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 163
<211> 441
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 163

```
Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Ser Ile Ser Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Glu
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Val Arg Asn Ile Leu Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Met Ser Ser Leu Gln Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Thr
                85                  90                  95

Arg Gly Ala Tyr Gly Ser Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro
        115                 120                 125

Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly
    130                 135                 140

Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn
145                 150                 155                 160

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

Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr
            180                 185                 190

Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser
        195                 200                 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro
    210                 215                 220

Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
225                 230                 235                 240

Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys
                245                 250                 255

Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp
            260                 265                 270

Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu
        275                 280                 285
```

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met
290 295 300

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

Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
325 330 335

Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln
340 345 350

Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe
355 360 365

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

Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe
385 390 395 400

Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn
405 410 415

Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
420 425 430

Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly
435 440

<210> 164
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 164

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 165
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 165

Leu Val Ser Ile Leu Asp Ser
1 5

<210> 166
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 166

Leu Gln Ala Thr His Phe Pro Gln Thr
1 5

<210> 167
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 167

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Ile Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 168
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 168

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Ile Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 169
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 169

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Ser
1 5 10

<210> 170
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 170

Thr Ile Ser Arg Ser Gly Ser Tyr Ser Tyr Phe Pro Asp Ser Val Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 171
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 171

Leu Gly Gly Tyr Asp Glu Gly Asp Ala Met Asp Ser
1 5 10

<210> 172
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 172

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Arg Ser Gly Ser Tyr Ser Tyr Phe Pro Asp Ser Val
50 55 60

Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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 Leu Gly Gly Tyr Asp Glu Gly Asp Ala Met Asp Ser Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 173
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 173

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 174
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 174

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Ser Arg Ser Gly Ser Tyr Ser Tyr Phe Pro Asp Ser Val
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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 Leu Gly Gly Tyr Asp Glu Gly Asp Ala Met Asp Ser Trp Gly
            100                 105                 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
        115                 120                 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
        195                 200                 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
    210                 215                 220

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

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

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
            260                 265                 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
        275                 280                 285
```

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

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

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

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

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

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 175
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 175
gaggtgcagc tgctggagtc tggcggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gattctggga 300

gctacttcgt tatcggcttt tgatatctgg ggccaaggga caatggtcac cgtctcgagc 360

<210> 176
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 176
cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60

tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcaggttatg atgtacactg gtaccagcag 120

cttccaggaa cagcccccaa actcctcatc tatggtaaca gcaatcggcc ctcaggggtc 180

cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240

caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtggttca 300

ggggtattcg gcggagggac caagctgacc gtccta 336

<210> 177
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 177
gaggtgcagc tgctggagtc tggcggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gattctggga 300

gctacttcgt tatcggcttt tgatatctgg ggccaaggga caatggtcac cgtctcgagc 360

gcgtcgacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 660

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaagc cgctggggca 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200

ctggactccg acggctcctt cttcctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320

cagaagagcc tctccctgtc cccgggt 1347

<210> 178
<211> 654
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成之構建體

<400> 178

cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60

tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcaggttatg atgtacactg gtaccagcag 120

cttccaggaa cagccccaa actcctcatc tatggtaaca gcaatcggcc ctcaggggtc 180

cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240

caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtggttca 300

ggggtattcg gcggagggac caagctgacc gtcctaggtc agcccaaggc tgcccctcg 360

gtcactctgt tcccgccctc ctctgaggag cttcaagcca acaaggccac actggtgtgt 420

ctcataagtg acttctaccc gggagccgtg acagtggcct ggaaggcaga tagcagcccc 480

gtcaaggcgg gagtggagac caccacaccc tccaaacaaa gcaacaacaa gtacgcggcc 540

agcagctatc tgagcctgac gcctgagcag tggaagtccc acagaagcta cagctgccag 600

gtcacgcatg aagggagcac cgtggagaag acagtggccc ctacagaatg ttca 654

201718659

發明摘要

※申請案號：105126115

※申請日：105 年 08 月 16 日　　※IPC 分類：C07K 16/38 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)
A61P 7/04 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

組織因子途徑抑制劑(TFPI)抗體類及彼等之用途

Tissue factor pathway inhibitor antibodies and uses thereof

【中文】

本發明關於特異結合組織因子途徑抑制劑(TFPI)並抑制其活性之抗體類及彼等之抗原結合片段。該等抗體類及片段可用於治療出血性病症並縮短凝血時間。

【英文】

The invention relates to antibodies, and antigen-binding fragments thereof, that specifically bind TFPI and inhibit an activity thereof. Such antibodies and fragments are useful for treating bleeding disorders and shortening clotting time.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第(1)圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無

申請專利範圍

1. 一種特異結合組織因子途徑抑制劑(TFPI)之Kunitz結構域2(K2)的抗原決定部位之經分離之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位包含選自由下列所組成之群組的殘基：

(a) 殘基Ile105、Arg107及Leu131(根據SEQ ID NO：2編號)；

(b) 殘基Ile105、Arg107、Leu131及一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Cys106、Gly108、Cys130及Gly132(根據SEQ ID NO：2編號)；

(c) 殘基Ile105、Arg107、Leu131及一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Asp102、Arg112、Tyr127、Gly129、Met134及Glu 138(根據SEQ ID NO：2編號)；

(d) 殘基Ile105、Arg107、Leu131及一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Cys106、Gly 108、Cys130及Gly132，且進一步包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Asp102、Arg112、Tyr127、Gly129、Met134及Glu138(根據SEQ ID NO：2編號)。

2. 如申請專利範圍第1項之抗體或其抗原結合片段，其包含下列重(H)鏈及輕(L)鏈殘基(根據Kabat編號)：H33 Ala、H58 Tyr、H95 Leu、H96 Gly、H97 Ala、H98 Thr、H99 Ser、H100 Leu、H100A Ser、L29 Ala、L31 Tyr、L91 Tyr、L95A Ser及L95B Gly。

3. 如申請專利範圍第2項之抗體或其抗原結合片

段，其包含下列殘基(根據 Kabat 編號)：

(a)H33 為 Ala 或 Val；

(b)H47 為 Trp；

(c)H50 為 Ala；

(d)H51 為 Ile；

(e)H52 為 Ser、Arg、Lys、Phe 或 Tyr；

(f)H56 為 Ser、Arg 或 Lys；

(g)H58 為 Tyr；

(h)H95 為 Leu；

(i)H96 為 Gly、Ala、Arg、Asn、Lys、Pro、Ser 或 Val；

(j)H97 為 Ala；

(k)H98 為 Thr、His、Ile、Leu、Met、Phe 或 Tyr；

(1)H99 為 Ser；

(m)H100 為 Leu、Phe、Trp 或 Tyr；

(n)H100A 為 Ser、Arg、Asn、Gln、Glu、His、Leu、Lys、Met、Phe、Pro 或 Trp；

(o)L29 為 Ala；

(p)L31 為 Tyr；

(q)L91 為 Tyr；

(r)L95A 為 Ser、Phe、Trp 或 Tyr；

(s)L95B 為 Gly；及

(t)L95C 為 Ser、Arg、Asn、Gln、Glu、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Trp、Tyr 或 Val；

並可選擇地包含下列殘基：(u)L93 為 Ser；

(v)L96 為 Gly。

4. 一種特異結合 TFPI 之 K2 的經分離之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體係選自由包含下列者之抗體所組成的群組：

(a) 包含重鏈可變區(VH)互補決定區 1(CDR-H1)、CDR-H2 及 CDR-H3 之 VH，該 CDR-H1 包含 SEQ ID NO：38 之胺基酸序列，該 CDR-H2 包含 SEQ ID NO：39 之胺基酸序列且該 CDR-H3 包含 SEQ ID NO：40 之胺基酸序列；

(b) 包含 SEQ ID NO：41 之胺基酸序列的 VH；

(c) 包含 SEQ ID NO：63 之胺基酸序列的 VH；

(d) 包含輕鏈可變區(VL)互補決定區 1(CDR-L1)、CDR-L2 及 CDR-L3 之 VL，該 CDR-L1 包含 SEQ ID NO：33 之胺基酸序列，該 CDR-L2 包含 SEQ ID NO：34 之胺基酸序列且該 CDR-L3 包含 SEQ ID NO：35 之胺基酸序列；

(e) 包含 SEQ ID NO：36 之胺基酸序列的 VL；

(f) 包含 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列的重鏈恆定區(CH)；

(g) 包含 SEQ ID NO：26 之胺基酸序列的輕鏈恆定區(CL)；

(h) 包含 SEQ ID NO：64 之胺基酸序列的重鏈；

(i) 包含 SEQ ID NO：42 之胺基酸序列的重鏈；

(j) 包含 SEQ ID NO：37 之胺基酸序列的輕鏈；

(k) 包含 SEQ ID NO：48 之胺基酸序列的 CDR-H1、包含 SEQ ID NO：49 之胺基酸序列的 CDR-H2 及包含 SEQ ID NO：50 之胺基酸序列的 CDR-H3；

(l) 包含 CDR-L1、CDR-L2 及 CDR-L3 之 VL，該 CDR-L1 包含 SEQ ID NO：43 之胺基酸序列，該 CDR-L2 包含 SEQ ID NO：44 之胺基酸序列且該 CDR-L3 包含 SEQ ID NO：45 之胺基酸序列；

(m) 包含 CDR-H1、CDR-H2 及 CDR-H3 之 VH 和包含 CDR-L1、CDR-L2 及 CDR-L3 之 VL，該 CDR-H1 包含 SEQ ID NO：38 之胺基酸序列，該 CDR-H2 包含 SEQ ID NO：39 之胺基酸序列且該 CDR-H3 包含 SEQ ID NO：40 之胺基酸序列，且該 CDR-L1 包含 SEQ ID NO：33 之胺基酸序列，該 CDR-L2 包含 SEQ ID NO：34 之胺基酸序列且該 CDR-L3 包含 SEQ ID NO：35 之胺基酸序列；

(n) 包含 SEQ ID NO：63 之胺基酸序列的 VH 和包含 SEQ ID NO：36 之胺基酸序列的 VL；及

(o) 由 SEQ ID NO：64 之胺基酸序列所組成的重鏈及由 SEQ ID NO：37 之胺基酸序列所組成的輕鏈。

5. 如申請專利範圍第 1 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗原決定部位進一步包含一或多個選自由下列所組成之群組的殘基：Glu100、Glu101、Asp102、Gly104 及 Tyr109(根據 SEQ ID NO：2 之編號)。

6. 一種特異結合 TFPI 之 K2 的經分離之抗體或其抗

原結合片段，其中該抗原決定部位包含殘基 Glu101、Pro103、Tyr109、Thr111、Ser119、Gln121、Glu123、Arg124、Lys126 及 Leu 140(根據 SEQ ID NO：2 之編號)。

7. 如申請專利範圍第 6 項之抗體或其抗原結合片段，其包含：

(a) 包含 CDR-H1、CDR-H2 及 CDR-H3 之 VH，該 CDR-H1 包含 SEQ ID NO：87 之胺基酸序列，該 CDR-H2 包含 SEQ ID NO：88 之胺基酸序列且該 CDR-H3 包含 SEQ ID NO：89 之胺基酸序列；及

(b) 包含 CDR-L1、CDR-L2 及 CDR-L3 之 VL，該 CDR-L1 包含 SEQ ID NO：81 之胺基酸序列，該 CDR-L2 包含 SEQ ID NO：82 之胺基酸序列且該 CDR-L3 包含 SEQ ID NO：83 之胺基酸序列。

8. 如申請專利範圍第 1 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體係選自由下列所組成之群組：

(a) 包含至少一個抗體結合部位(paratope)殘基(根據 Kabat 編號)之抗體，該抗體結合部位殘基係如下述般位於 TFPI 之至少一個抗原決定部位殘基(根據 SEQ ID NO：2 編號)之 4.0Å 內：抗原決定部位殘基 102 Asp 係位於抗體結合部位殘基 H58 Tyr 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 104 Gly 係位於抗體結合部位殘基 H58 Tyr 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 105 Ile 係位於抗體結合部位殘基 H33 Ala、H50 Ala、H51 Ile、H52 Ser、H56 Ser、H58 Tyr

及 H95 Leu 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 106 Cys 係位於抗體結合部位殘基 H100 Leu 和 H100A Ser 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 107 Arg 係位於抗體結合部位殘基 H96 Gly、H97 Ala、H98 Thr、H99 Ser 及 H100 Leu 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 108 Gly 係位於抗體結合部位殘基 H100 Leu 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 112 Arg 係位於抗體結合部位殘基 L29 Ala 和 L31 Tyr 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 127 Tyr 係位於抗體結合部位殘基 L31 Tyr 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 129 Gly 係位於抗體結合部位殘基 L31 Tyr 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 130 Cys 係位於抗體結合部位殘基 L91 Tyr 和 L95B Gly 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 131 Leu 係位於抗體結合部位殘基 H47 Trp、H50 Ala、H58 Tyr、L95A Ser、L95B Gly 和 L95C Ser 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 132 Gly 係位於抗體結合部位殘基 H58 Tyr 和 L95A Ser 之 4.0Å 內；抗原決定部位殘基 134 Met 係位於抗體結合部位殘基 L95A Ser 之 4.0Å 內；且，抗原決定部位殘基 138 Glu 係位於抗體結合部位殘基 L29 Ala 之 4.0Å 內；

(b) 包含至少一個如下述般可與 TFIP 之抗原決定部位殘基(根據 SEQ ID NO：2 編號)形成氫鍵的抗體結合部位殘基(根據 Kabat 編號)：抗原決定部位殘基 102 Asp 可與抗體結合部位殘基 H58 Tyr 形成氫鍵；抗原決定部位殘基 107 Arg 可與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基形成氫鍵：H96 Gly、H97 Ala、H98

Thr、H99 Ser 和 H100 Leu；抗原決定部位殘基 112 Arg 可與抗體結合部位殘基 L29 Ala 形成氫鍵；抗原決定部位殘基 127 Tyr 可與抗體結合部位殘基 L31 Tyr 形成氫鍵；且，抗原決定部位殘基 131 Leu 可與抗體結合部位殘基 L95B Gly 形成氫鍵；及

(c) 包含至少一個抗體結合部位殘基(根據 Kabat 編號)之抗體，該抗體結合部位殘基包含於掩藏的表面積中非零變化，該非零變化係由於如下述般與抗原決定部位殘基(根據 SEQ ID NO：2 編號)之交互作用：抗原決定部位殘基 102 Asp 與抗體結合部位殘基 H58 Tyr 交互作用；抗原決定部位殘基 104 Gly 與抗體結合部位殘基 H58 Tyr 交互作用；抗原決定部位殘基 105 Ile 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H33 Ala、H34 Met、H50 Ala、H51 Ile、H52 Ser、H56 Ser、H58 Tyr 和 H95 Leu；抗原決定部位殘基 106 Cys 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H95 Leu、H100 Leu、H100A Ser 和 L91 Tyr；抗原決定部位殘基 107 Arg 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H96 Gly、H97 Ala、H98 Thr、H99 Ser 和 H100 Leu；抗原決定部位殘基 108 Gly 與抗體結合部位殘基 H100 Leu 交互作用；抗原決定部位殘基 112 Arg 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：L29 Ala、L31 Tyr 和 L93 Ser；抗原決定部位殘基 127 Tyr 與至少一個選自由下列所組成之

群組的抗體結合部位殘基交互作用：L31 Tyr 和 L95B Gly；抗原決定部位殘基 129 Gly 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H100A Ser、L31 Tyr 和 L91 Tyr；抗原決定部位殘基 130 Cys 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H95 Leu、H100A Ser、L31 Tyr、L91 Tyr 和 L95B Gly；抗原決定部位殘基 131 Leu 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H47 Trp、H50 Ala、H58 Tyr、H95 Leu、L31 Tyr、L91 Tyr、L95A Ser、L95B Gly、L95C Ser 和 L96 Gly；抗原決定部位殘基 132 Gly 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：H58 Tyr 和 L95A Ser；抗原決定部位殘基 133 Asn 與抗體結合部位殘基 L95A Ser 交互作用；抗原決定部位殘基 134 Met 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：L93 Ser、L94 Ser 和 L95A Ser；且，抗原決定部位殘基 138 Glu 與至少一個選自由下列所組成之群組的抗體結合部位殘基交互作用：L28 Gly、L29 Ala 和 L93 Ser。

9. 一種經分離之單株抗體，其競爭結合 TFPI 及/或與如申請專利範圍第 4 項之抗體或其抗原結合片段結合相同的抗原決定部位。

10. 如申請專利範圍第 1 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體 或其抗原結合片段以約 1×10^{-8} M 至約 1×10^{-10} M 之結合親和力(Kd)值結合 TFPI。

11. 如申請專利範圍第 1 項之抗體或其抗原結合片段，其中該特異結合該包含殘基(a)之抗原決定部位的抗體或其抗原結合片段：(i)減少如基於血漿之稀釋凝血酶原時間分析所測量之凝血時間；(ii)減少如藉由血栓消融術(thromboelastrography)測量之全血凝血時間；(iii)增加凝血酶產生；(iv)增加在 TFPI 之存在下的 FXa 活性；(v)增強在 TFPI 之存在下的血小板積累；(vi)增加在 TFPI 之存在下的纖維蛋白(fibrin)產生；或(vii)彼等之任何組合。

12. 如申請專利範圍第 11 項之抗體或其抗原結合片段，其中該血漿或全血缺乏第 VIII 因子或第 IX 因子。

13. 一種經分離之核酸分子，其包含編碼如申請專利範圍第 1 項之抗體或其抗原結合片段的核苷酸序列。

14.一種經分離之核酸分子，其包含編碼如申請專利範圍第 4 項之抗體的核苷酸序列。

15. 如申請專利範圍第 14 項之核酸分子，其中該核苷酸序列編碼 VH 和 VL，該 VH 包含 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3 且該 VL 包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3，該 CDR-H1 包含 SEQ ID NO：38 之胺基酸序列，該 CDR-H2 包含 SEQ ID NO：39 之胺基酸序列且該 CDR-H3 包含 SEQ ID NO：40 之胺基酸序列，且該 CDR-L1 包含 SEQ ID NO：33 之胺基酸序列，該 CDR-L2 包含 SEQ ID NO：34 之胺基酸序列且該 CDR-L3 包含 SEQ ID NO：35 之胺基酸序列。

16. 如申請專利範圍第 15 項之核酸分子，其中該核

苷酸序列編碼包含 SEQ ID NO：63 之胺基酸序列的 VH 及包含 SEQ ID NO：36 之胺基酸序列的 VL。

17. 如申請專利範圍第 14 項之核酸分子，其包含選自由下列所組成之群組的核苷酸序列：

(a)SEQ ID NO：175 之序列；

(b)SEQ ID NO：176 之序列；

(c)SEQ ID NO：177 之序列；

(d)SEQ ID NO：178 之序列；

(e)存在於寄存在 ATCC 編號為 PTA-122328 之質體的插入子序列；及

(f)存在於寄存在 ATCC 編號為 PTA-122329 之質體的插入子序列。

18. 一種醫藥組成物，其包含如申請專利範圍第 1 項之抗體或其抗原結合片段及醫藥上可接受之載體或賦形劑。

19. 一種如申請專利範圍第 1 項之抗體或其抗原結合片段於製備用於降低個體之組織因子途徑抑制劑(TFPI)的活性之藥物的用途。

20. 一種如申請專利範圍第 4 項之抗體或其抗原結合片段於製備用於降低個體之組織因子途徑抑制劑(TFPI)的活性之藥物的用途，其中該抗體為如申請專利範圍第 4 項之第(m)或(n)項所敘述之抗體。

21. 一種如申請專利範圍第 7 項之抗體或其抗原結合片段於製備用於降低個體之組織因子途徑抑制劑(TFPI)的

活性之藥物的用途。

22. 一種如申請專利範圍第 1 項之抗體或其抗原結合片段於製備用於縮短個體之出血時間之藥物的用途。

23. 一種如申請專利範圍第 4 項之抗體或其抗原結合片段於製備用於縮短個體之出血時間之藥物的用途，其中該抗體為如申請專利範圍第 4 項之第(m)或(n)項所敘述之抗體。

24. 一種如申請專利範圍第 7 項之抗體或其抗原結合片段於製備用於縮短個體之出血時間之藥物的用途。

25. 如申請專利範圍第 22 項之用途，其中該個體罹患或易感於 A 型血友病(hemophilia)、B 型血友病、類血友病(von Willebrand disease)(vWD)或血小板病症。

26. 如申請專利範圍第 23 項之用途，其中該個體罹患或易感於 A 型血友病、B 型血友病、類血友病(vWD)或血小板病症。

27. 如申請專利範圍第 19 項之用途，其中該藥物進一步包含 FVIIa。

28. 如申請專利範圍第 20 項之用途，其中該藥物進一步包含 FVIIa。

29. 一種如申請專利範圍第 1 項之抗體或其抗原結合片段與凝血劑之組合於製備用於縮短個體之出血時間之藥物的用途。

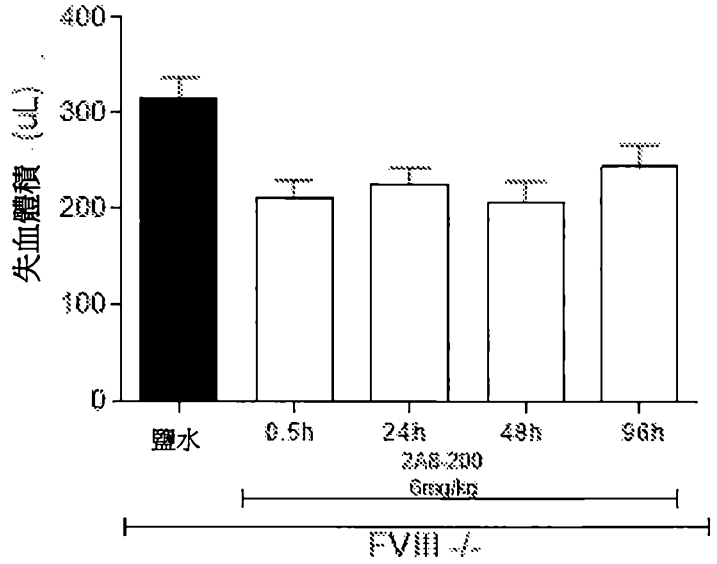
30. 如申請專利範圍第 29 項的用途，其中該個體罹患或易感於 A 型血友病或 B 型血友病且該凝血劑係選自

由下列所組成之群組：第 VIIa 因子、第 VIII 因子、第 IX 因子及傳明酸(tranexamic acid)。

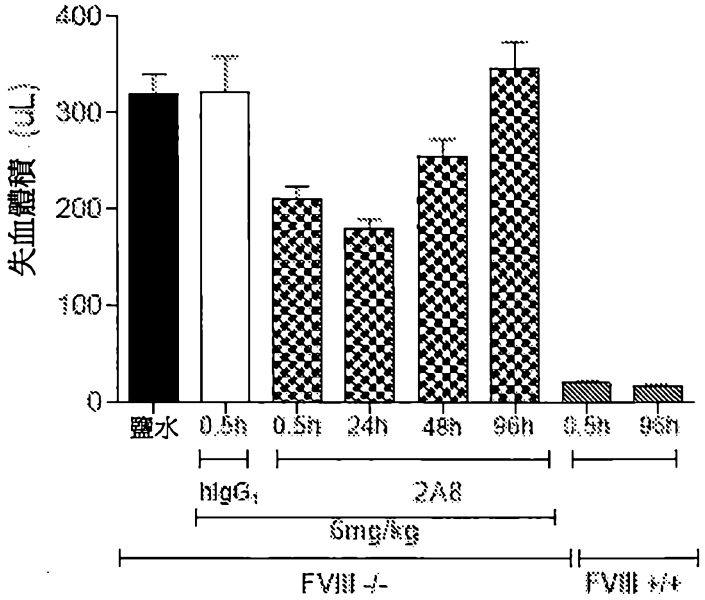
31. 一種如申請專利範圍第 4 項之抗體或其抗原結合片段與凝血劑之組合於製備用於縮短個體之出血時間之藥物的用途，其中該抗體為如申請專利範圍第 4 項之第(m)或(n)項所敘述之抗體。

32. 如申請專利範圍第 31 項之用途，其中該個體罹患或易感於 A 型血友病或 B 型血友病且該凝血劑係選自由下列所組成之群組：第 VIIa 因子、第 VIII 因子、第 IX 因子及傳明酸。

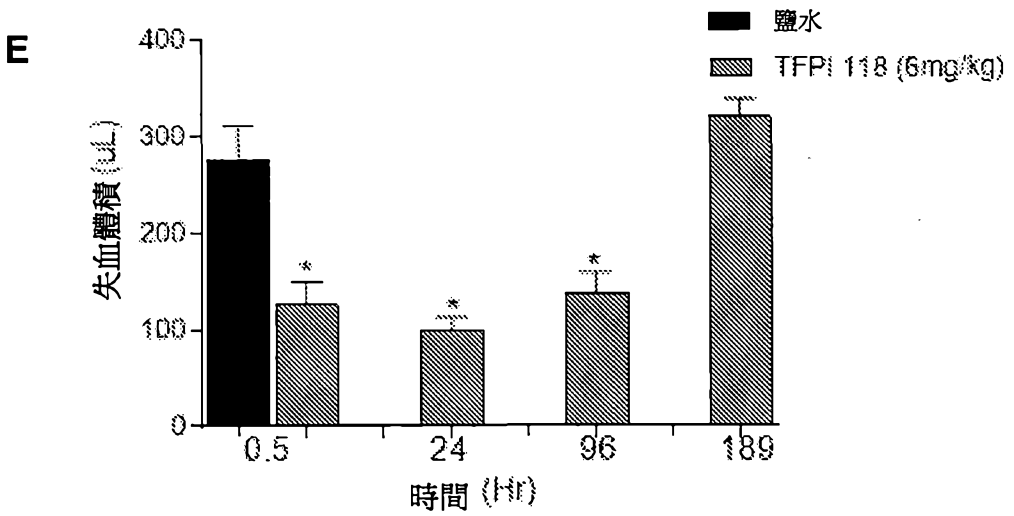
A


400
300
200
100
0
失血體積 (uL)
鹽水
0.5h
24h
48h
96h
2A8-200
6mg/kg
FVIII -/-

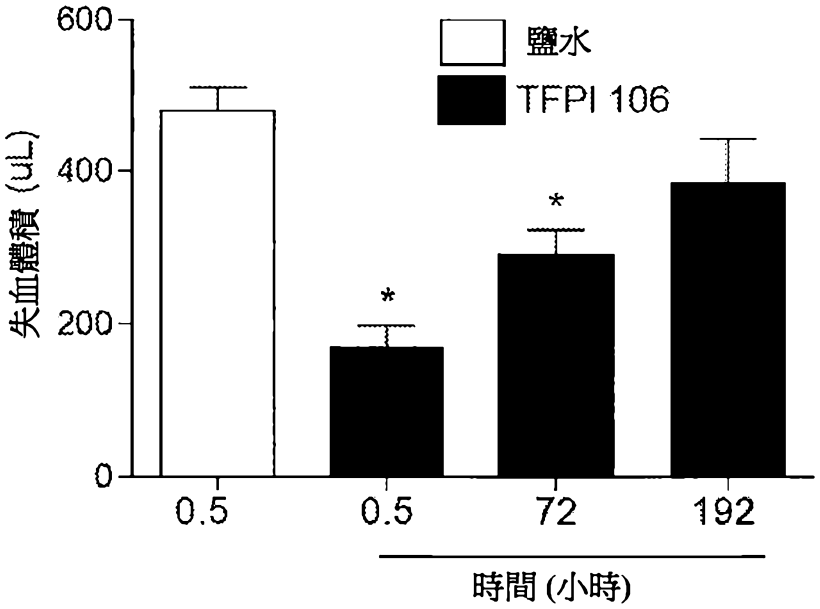
B


400
300
200
100
0
失血體積 (uL)
鹽水
0.5h
0.5h
24h
48h
96h
0.5h
96h
hIgG1
2A8
5mg/kg
FVIII -/-
FVIII +/+

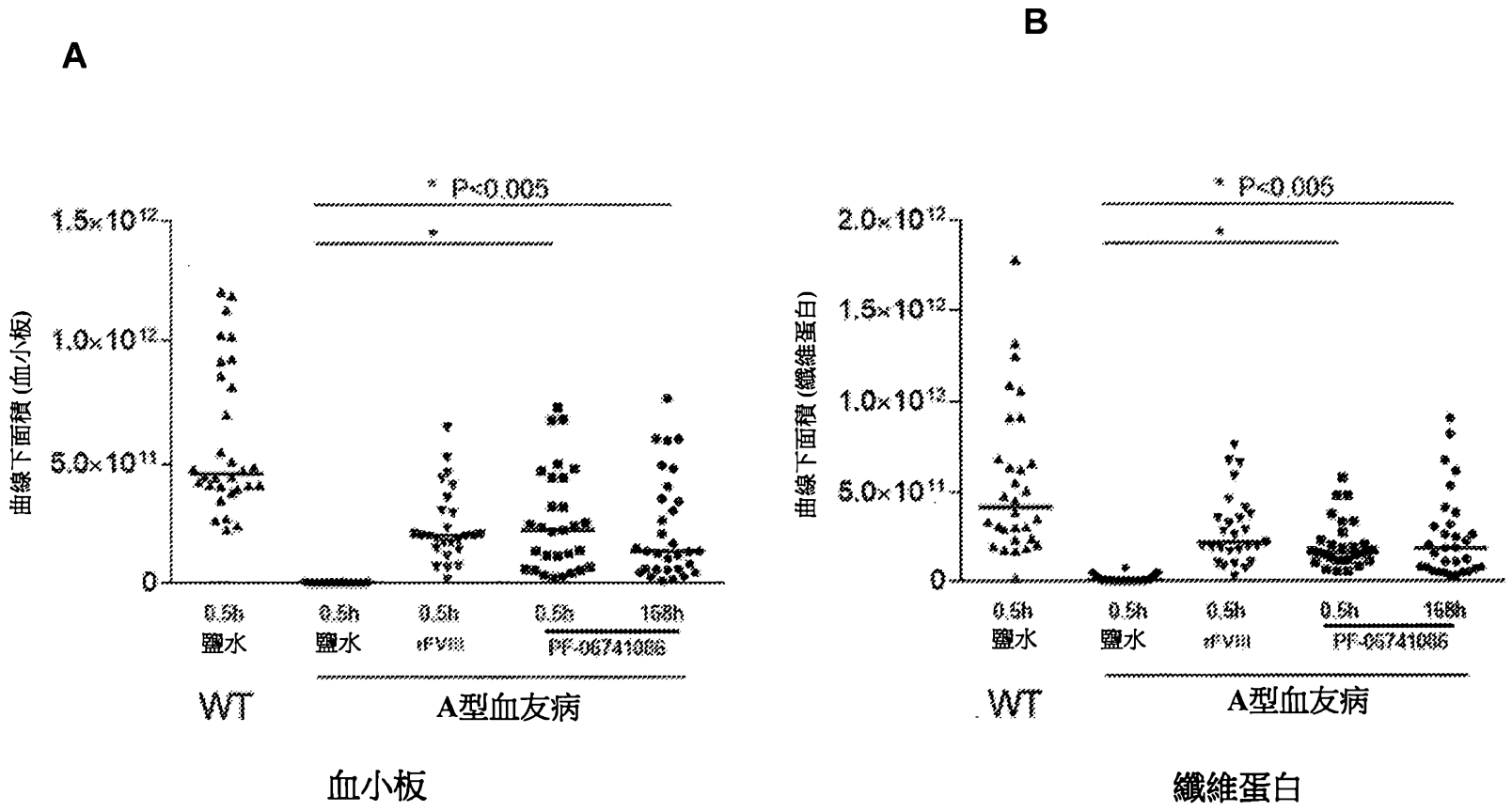
第 3A-3B 圖



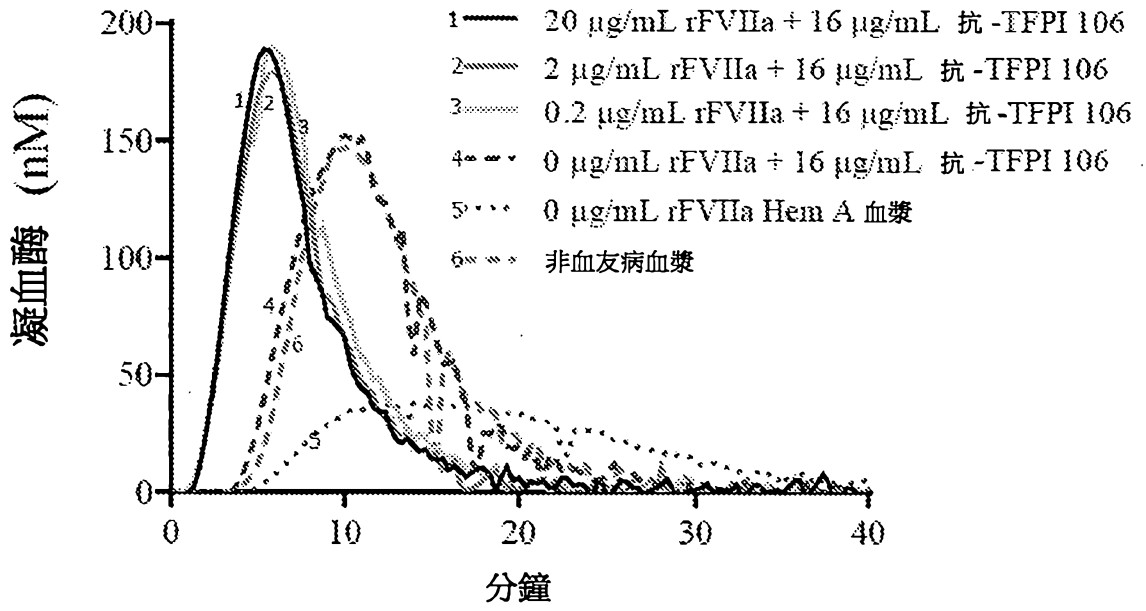
第 3E 圖



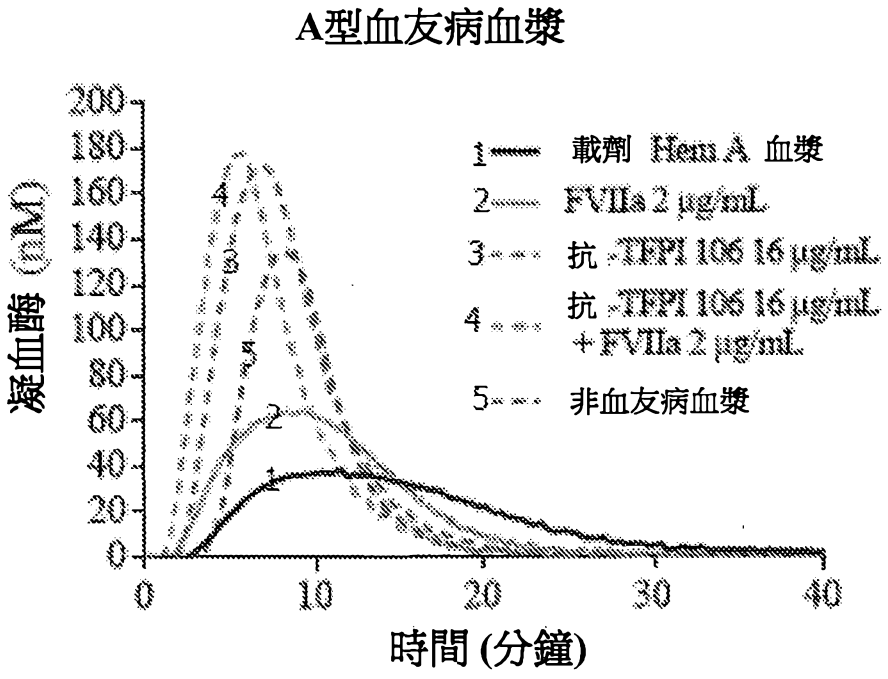
第 4 圖


A
* P<0.005
*
1.5×10^12
1.0×10^12
5.0×10^11
0
曲線下面積 (血小板)
0.5h
鹽水
0.5h
鹽水
0.5h
rFVIII
0.5h
168h
PF-06741086
WT
A型血友病
血小板
B
* P<0.005
*
2.0×10^12
1.5×10^12
1.0×10^12
5.0×10^11
0
曲線下面積 (纖維蛋白)
0.5h
鹽水
0.5h
鹽水
0.5h
rFVIII
0.5h
168h
PF-06741086
WT
A型血友病
纖維蛋白

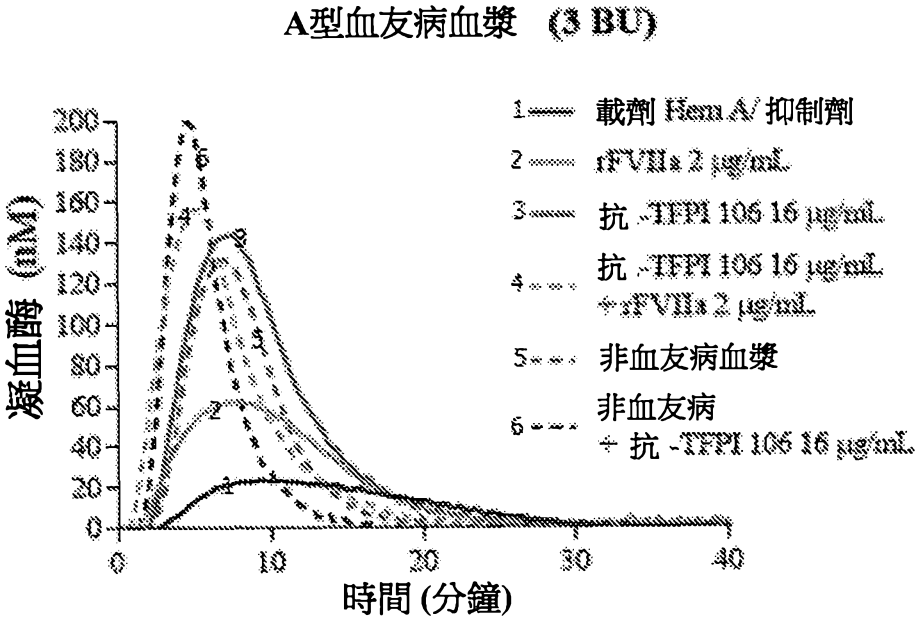
第 6A-6B 圖


凝血酶 (nM)
200
150
100
50
0
0
10
20
30
40
分鐘
1 20 μg/mL rFVIIa + 16 μg/mL 抗 -TFPI 106
2 2 μg/mL rFVIIa + 16 μg/mL 抗 -TFPI 106
3 0.2 μg/mL rFVIIa + 16 μg/mL 抗 -TFPI 106
4 0 μg/mL rFVIIa + 16 μg/mL 抗 -TFPI 106
5 0 μg/mL rFVIIa Hem A 血漿
6 非血友病血漿

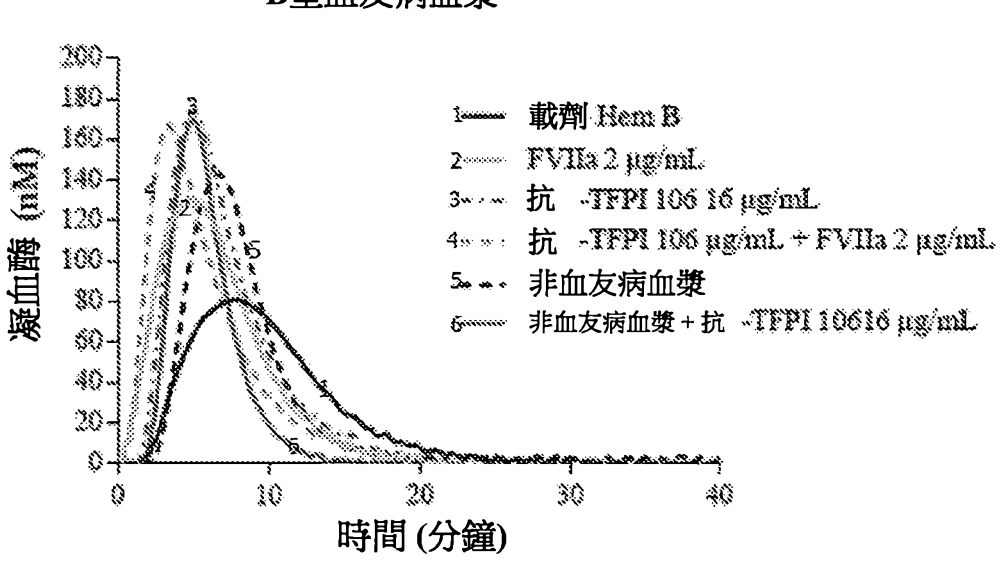
第 7 圖


A型血友病血漿
凝血酶 (nM)
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
40
時間 (分鐘)
1 載劑 Hem A 血漿
2 FVIIa 2 μg/mL
3 抗-TFPI 106 16 μg/mL
4 抗-TFPI 106 16 μg/mL +FVIIa 2 μg/mL
5 非血友病血漿

第 8A 圖

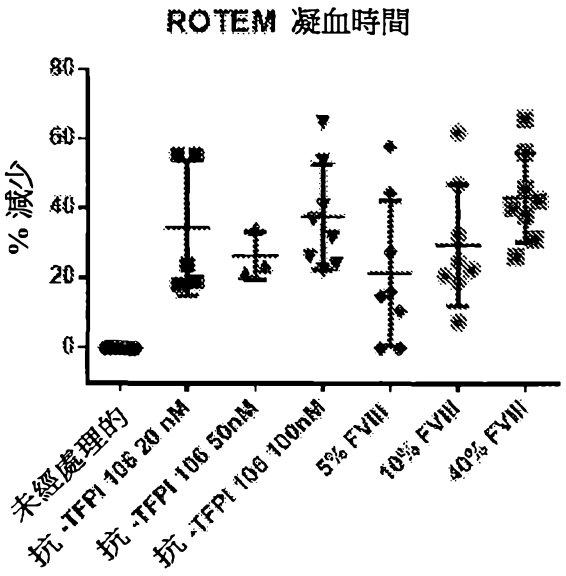

A型血友病血漿 (3 BU)
凝血酶 (nM)
時間 (分鐘)
1 載劑 Hem A/ 抑制劑
2 rFVIIa 2 μg/mL
3 抗 -TFPI 106 16 μg/mL
4 抗 -TFPI 106 16 μg/mL + rFVIIa 2 μg/mL
5 非血友病血漿
6 非血友病 + 抗 -TFPI 106 16 μg/mL
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
0
10
20
30
40

第 8B 圖

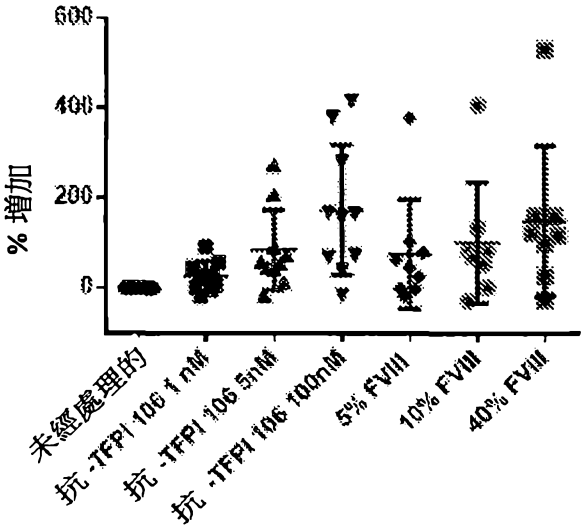

B型血友病血漿
凝血酶 (nM)
時間 (分鐘)
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
0
10
20
30
40
1 載劑 Hem B
2 FVIIa 2 µg/mL
3 抗 -TFPI 106 16 µg/mL
4 抗 -TFPI 106 µg/mL + FVIIa 2 µg/mL
5 非血友病血漿
6 非血友病血漿 + 抗 -TFPI 10616 µg/mL

第 8C 圖

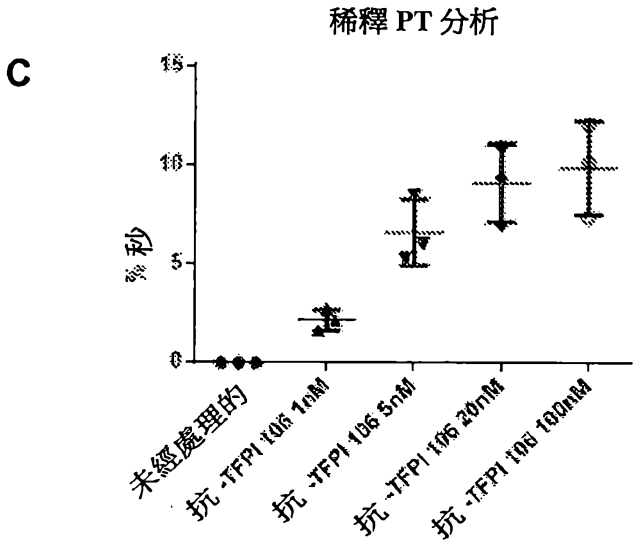
A


ROTEM 凝血時間
% 減少
80
60
40
20
0
未經處理的
抗 -TFPI 106 20 nM
抗 -TFPI 106 50nM
抗 -TFPI 106 100nM
5% FVIII
10% FVIII
40% FVIII

B


PRP中之TGA, 尖峰凝血酶
% 增加
600
400
200
0
未經處理的
抗 -TFPI 106 1 nM
抗 -TFPI 106 5nM
抗 -TFPI 106 100nM
5% FVIII
10% FVIII
40% FVIII

第 14A-14B 圖


C
稀釋 PT 分析
15
10
5
0
秒
未經處理的
抗 -TFPI 106 1nM
抗 -TFPI 106 5nM
抗 -TFPI 106 20nM
抗 -TFPI 106 100nM

第 14C 圖