(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105980409 B
(45)授权公告日 2023.07.18

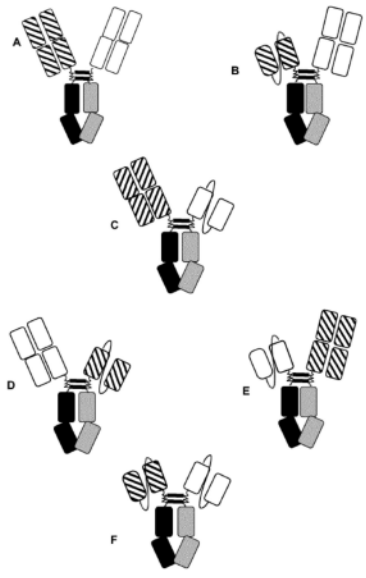
(21)申请号 201480074300.2
(22)申请日 2014.11.27
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105980409 A
(43)申请公布日 2016.09.28
(30)优先权数据
61/910,026 2013.11.27 US
62/000,908 2014.05.20 US
62/009,125 2014.06.06 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2016.07.27
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CA2014/051140 2014.11.27
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2015/077891 EN 2015.06.04
(73)专利权人 酵活生物制药有限公司
地址 加拿大不列颠哥伦比亚省
(72)发明人 N·E·韦塞 G·Y·K·吴
G·R·威克曼 S·B·迪克西特
E·埃斯科巴-卡布瑞拉
M·桑彻斯
(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 陈文平 侯宝光
(51)Int.Cl.
C07K 16/46(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61K 47/62(2017.01)
A61P 35/00(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
C12N 15/13(2006.01)
C12N 5/10(2006.01)
C40B 40/08(2006.01)
(56)对比文件
刘文泰.抗体的生物学作用.《医学免疫学》.中国中医药出版社,2009,27.
审查员 李翠莹
权利要求书4页 说明书115页
序列表179页 附图67页

(54)发明名称

靶向HER2的双特异性抗原结合构建体

(57)摘要

本文提供了特异性结合HER2的双互补位抗原结合构建体。所述双互补位抗原结合构建体包含与HER2的ECD2结合的一个抗原结合部分、与HER2的ECD4结合的第二抗原结合部分和Fc。所述抗原结合部分中的至少一个为scFv。所述双互补位抗原结合构建体可用于癌症的治疗。



CN 105980409 B

1.一种抗原结合构建体,其包含

包含重链1和轻链1且特异性地结合HER2 ECD2的第一抗原结合多肽构建体;

包含重链2且特异性地结合HER2 ECD4的第二抗原结合多肽构建体;

其中所述第一抗原结合多肽构建体为Fab且所述第二抗原结合多肽构建体为scFv;

其中:

a.所述重链1包含分别如SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:103所示的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3序列;

b.所述重链2包含分别如SEQ ID NO:299、SEQ ID NO:303、SEQ ID NO:301、SEQ ID NO:307、SEQ ID NO:311和SEQ ID NO:309所示的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3序列;

c.所述轻链1包含分别如SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:75所示的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3序列。

2.根据权利要求1所述的抗原结合构建体,其中:

a.所述重链1包含如SEQ ID NO:99所示的VH序列;

b.所述重链2包含如SEQ ID NO:297所示的VL序列和如SEQ ID NO:305所示的VH序列;以及

c.所述轻链1包含如SEQ ID NO:71所示的VL序列。

3.根据权利要求2所述的抗原结合构建体,其中:

a.所述重链1包含如SEQ ID NO:97所示的序列;

b.所述重链2包含如SEQ ID NO:295所示的序列;和

c.所述轻链1包含如SEQ ID NO:69所示的序列。

4.根据权利要求3所述的抗原结合构建体,其中:

a.所述重链1由如SEQ ID NO:97所示的序列组成;

b.所述重链2由如SEQ ID NO:295所示的序列组成;和

c.所述轻链1由如SEQ ID NO:69所示的序列组成。

5.根据权利要求1-4中任一项所述的抗原结合构建体,其中所述构建体是糖基化的。

6.根据权利要求1-4中任一项所述的抗原结合构建体,其中所述构建体是无岩藻糖基化的。

7.根据权利要求1-4中任一项所述的抗原结合构建体,其中所述构建体与药物偶联。

8.根据权利要求7所述的抗原结合构建体,其中所述药物为美登素(DM1)。

9.根据权利要求8所述的抗原结合构建体,其中所述构建体经SMCC接头与DM1偶联。

10.一种药物组合物,其包含根据权利要求1-9中任一项所述的抗原结合构建体和药物载体。

11.根据权利要求10所述的药物组合物,所述药物载体包括缓冲剂、抗氧化剂、低分子量分子、药物、蛋白质、氨基酸、碳水化合物、脂质、螯合剂、稳定剂或赋形剂。

12.根据权利要求1-9中任一项所述的抗原结合构建体或根据权利要求10-11中任一项所述的药物组合物在制备用于治疗患有HER2表达(HER2+)肿瘤的受试者的药物中的用途。

13.根据权利要求12所述的用途,其中所述治疗的结果是缩小所述肿瘤、抑制所述肿瘤的生长、增加所述肿瘤进展的时间、延长所述受试者的无病生存期、减少转移、增加所述受

试者的无进展生存期或增加所述受试者的总生存期。

14.根据权利要求12所述的用途，其中所述肿瘤为胰腺癌、头颈癌、胃癌、结直肠癌、乳腺癌、肾癌、宫颈癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫癌、恶性黑素瘤、咽癌、口腔癌或皮肤癌。

15.根据权利要求12所述的用途，其中所述肿瘤包含每个肿瘤细胞表达平均10,000个或更多个HER2拷贝的细胞。

16.根据权利要求12所述的用途，其中如通过免疫组织化学(IHC)所测定，所述肿瘤为HER2 1+、HER2 2+或HER2 3+。

17.根据权利要求16所述的用途，其中如通过IHC所测定，所述肿瘤表达2+或更低水平的HER2。

18.根据权利要求12所述的用途，其中如通过IHC所测定，所述HER2+肿瘤是表达HER2 2+/3+的卵巢癌并且经基因扩增并且对曲妥珠单抗适度敏感。

19.根据权利要求12所述的用途，其中如通过免疫组织化学(IHC)所测定，所述HER2+肿瘤是表达2+水平或更低的HER2的乳腺癌。

20.根据权利要求12所述的用途，其中所述HER2+肿瘤是(i)HER2 3+雌激素受体阴性(ER-)、孕酮受体阴性(PR-)、曲妥珠单抗抗性、化疗抗性浸润性乳腺导管癌，(ii)HER2 3+ER-、PR-、曲妥珠单抗抗性炎性乳腺癌，(iii)HER2 3+、ER-、PR-浸润性导管癌或(iv)HER2 2+HER2基因扩增的曲妥珠单抗和帕妥珠单抗抗性乳腺癌。

21.根据权利要求12-20中任一项所述的用途，其中所述受试者先前尚未用抗HER2抗体治疗。

22.根据权利要求12-20中任一项所述的用途，其中所述肿瘤对帕妥珠单抗、曲妥珠单抗和/或TDM1有抗性或使用其难治。

23.根据权利要求12-20中任一项所述的用途，其中所述受试者先前已经用帕妥珠单抗、曲妥珠单抗和/或TDM1治疗。

24.根据权利要求12-20中任一项所述的用途，其中所述药物组合物还包括另外的试剂，任选地化疗剂。

25.根据权利要求24所述的用途，其中

i.所述肿瘤为非小细胞肺癌，并且所述另外的试剂为顺铂、卡铂、紫杉醇、多西他赛、吉西他滨、长春瑞滨、伊立替康、依托泊苷、长春花碱或培美曲塞中的一种或多种；

ii.所述肿瘤为非小细胞肺癌，并且所述另外的试剂为顺铂、卡铂、白蛋白结合型紫杉醇、多西他赛、吉西他滨、长春瑞滨、伊立替康、依托泊苷、长春花碱或培美曲塞中的一种或多种；

iii.所述肿瘤为胃癌或胃部癌，并且所述另外的试剂为5-氟尿嘧啶、卡培他滨、卡铂、顺铂、多西他赛、表柔比星、伊立替康、奥沙利铂或紫杉醇中的一种或多种；

iv.所述肿瘤为胃癌或胃部癌，并且所述另外的试剂为有亚叶酸的5-氟尿嘧啶、卡培他滨、卡铂、顺铂、多西他赛、表柔比星、伊立替康、奥沙利铂或紫杉醇中的一种或多种；

v.所述肿瘤为胰腺癌，并且所述另外的试剂为吉西他滨、亚叶酸钙、abraxane或5-氟尿嘧啶中的一种或多种；

vi.所述肿瘤为雌激素和/或孕酮阳性乳腺癌，并且所述另外的试剂为(a)多柔比星和表柔比星的组合，(b)紫杉醇和多西他赛的组合，或(c)氟尿嘧啶、环磷酰胺和卡铂的组合中

的一种或多种;

vii.所述肿瘤为头颈癌,并且所述另外的试剂为紫杉醇、卡铂、多柔比星或顺铂中的一种或多种;或者

viii.所述肿瘤为卵巢癌并且所述另外的试剂为顺铂、卡铂或紫杉烷中的一种或多种。

26.根据权利要求12-20中任一项所述的用途,其中所述受试者为人。

27.根据权利要求1-9中任一项所述的抗原结合构建体在制备用于检测或测量样品中的HER2的药剂中的用途。

28.根据权利要求1-9中任一项所述的抗原结合构建体在制备用于杀伤HER2表达肿瘤细胞或抑制HER2表达肿瘤细胞生长的药物中的用途。

29.根据权利要求28所述的用途,其中所述肿瘤细胞为HER2 1+或2+人胰腺癌细胞、HER2 3+人肺癌细胞、HER2 2+高加索人细支气管肺泡癌细胞、人咽癌细胞、HER2 2+人舌鳞状细胞癌细胞、HER2 2+咽部鳞状细胞癌细胞、HER2 1+或2+人结直肠癌细胞、HER2 3+人胃癌细胞、HER2 1+人乳腺导管ER+(雌激素受体阳性)癌细胞、HER22+/3+人ER+、HER2-扩增乳腺癌细胞、HER2 0+/1+人三阴性乳腺癌细胞、HER2 2+人子宫内膜癌细胞、HER2 1+肺转移性恶性黑素瘤细胞、HER2 1+人宫颈癌细胞、Her2 1+人肾细胞癌细胞或HER2 1+人卵巢癌细胞。

30.根据权利要求28所述的用途,其中所述肿瘤细胞为HER2 1+或2+或3+人胰腺癌细胞、HER2 2+转移性胰腺癌细胞、HER2 0+/1+、+3+人肺癌细胞、HER2 2+高加索人细支气管肺泡癌细胞、HER2 0+间变性肺癌细胞、人非小细胞肺癌细胞、人咽癌细胞、HER2 2+人舌鳞状细胞癌细胞、HER2 2+咽部鳞状细胞癌细胞、HER2 1+或2+人结直肠癌细胞、HER2 0+、1+或3+人胃癌细胞、HER2 1+人乳腺导管ER+(雌激素受体阳性)癌细胞、HER2 2+/3+人ER+、HER2扩增乳腺癌细胞、HER2 0+/1+人三阴性乳腺癌细胞、HER2 0+人乳腺导管癌细胞、HER2 2+ER+乳腺癌细胞、HER2 0+人转移性乳腺癌细胞、人子宫中胚叶肿瘤细胞、2+人子宫内膜癌细胞、HER2 1+人皮肤表皮样癌细胞、HER2 1+肺转移性恶性黑素瘤细胞、HER2 1+恶性黑素瘤细胞、人宫颈表皮样癌细胞、HER2 1+人膀胱癌细胞、HER2 1+人宫颈癌细胞、Her2 1+人肾细胞癌细胞或HER2 1+、2+或3+人卵巢癌细胞,并且其中所述抗原结合构建体与美登素(DM1)偶联。

31.根据权利要求28所述的用途,其中所述肿瘤细胞是选自以下的细胞:胰腺肿瘤细胞系BxPC3、Capan-1、MiaPaca2;肺部肿瘤细胞系Calu-3、NCI-H322;头颈部肿瘤细胞系Detroit 562、SCC-25、FaDu;结直肠肿瘤细胞系HT29、SNU-C2B;胃肿瘤细胞系NCI-N87;乳腺肿瘤细胞系MCF-7、MDAMB175、MDAMB361、MDA-MB-231、BT-20、JIMT-1、SkBr3、BT-474;子宫肿瘤细胞系TOV-112D;皮肤肿瘤细胞系Malme-3M;宫颈肿瘤细胞系Caski、MS751;膀胱肿瘤细胞系T24;卵巢肿瘤细胞系CaOV3和SKOV3。

32.根据权利要求28所述的用途,其中所述肿瘤细胞是选自以下的细胞:胰腺肿瘤细胞系BxPC3、Capan-1、MiaPaca2、SW 1990、Panc1;肺部肿瘤细胞系A549、Calu-3、Calu-6、NCI-H2126、NCI-H322;头颈部肿瘤细胞系Detroit 562、SCC-15、SCC-25、FaDu;结直肠肿瘤细胞系Colo201、DLD-1、HCT116、HT29、SNU-C2B;胃肿瘤细胞系SNU-1、SNU-16、NCI-N87;乳腺肿瘤细胞系SkBr3、MCF-7、MDAMB175、MDAMB361、MDA-MB-231、ZR-75-1、BT-20、BT549、BT-474、CAMA-1、MDAMB453、JIMT-1、T47D;子宫肿瘤细胞系SK-UT-1、TOV-112D;皮肤肿瘤细胞系

A431、Malme-3M、SKEMEL28;宫颈肿瘤细胞系Caski、MS751;膀胱肿瘤细胞系T24;肾肿瘤细胞系ACHN;卵巢肿瘤细胞系CaOV3、Ovar-3和SKOV3;并且其中所述抗原结合构建体与美登素偶联。

33.根据权利要求28所述的用途,其中所述肿瘤细胞选自HER22/3+、基因扩增型卵巢癌细胞;HER2 0+/1+三阴性乳腺癌细胞;ER+、HER2 1+乳腺癌细胞;曲妥珠单抗抗性HER2 2+乳腺癌细胞;ER+、HER2+乳腺癌细胞;或HER2 3+乳腺癌细胞。

34.一种分离的多核苷酸或分离的多核苷酸集合,其编码根据权利要求1-9中任一项所述的抗原结合构建体。

35.一种载体或载体集合,其包含根据权利要求34所述的多核苷酸或多核苷酸集合中的一种或多种。

36.一种分离的细胞,其包含根据权利要求34所述的多核苷酸或多核苷酸集合,或根据权利要求35所述的载体或载体集合。

靶向HER2的双特异性抗原结合构建体

[0001] 相关申请案的交叉引用

[0002] 本申请要求2013年11月27日提交的美国临时申请第61/910,026 号;2014年5月20日提交的美国临时申请第62/000,908号;和2014 年6月6日提交的美国临时申请第62/009,125号的权益,所述临时申 请全部据此通过引用整体并入。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含将经由EFS-Web提交并且据此通过引用整体并入的序 列表。2015年1月8日创建的所述ASCII拷贝命名为 28087PCT_CRF_sequencelisting.txt,并且大小为275,091字节。

[0005] 发明背景

[0006] 大多数当前上市的抗体治疗剂是针对由两个抗原结合结构域赋 予的高亲和力结合和亲合力而优化和选择的二价单特异性抗体。由诱 变引起的FcgR结合的无岩藻糖基化或增强已经用于经由抗体Fc依 赖性细胞毒性作用机制使抗体更有效。无岩藻糖基化抗体或FcgR结 合增强的抗体仍在临床试验中遭受不完整的疗效并且对于这些抗体 中的任一种而言尚待获得上市药物状态。与毒素偶联的典型二价抗体 (抗体药物偶联物)更有效但是更广泛的临床实用性受剂量限制性毒 性的限制。

[0007] 理想地,治疗性抗体会具有某些微小特征,包括靶特异性、生物稳定性、生物利用度和施用给受试患者后的生物分布,及足够的靶标结合亲和力和高靶标占有率以使抗体依赖性治疗效果达到最大限度。通常治疗性抗体为单特异性的。然而单特异性靶向不针对在信号传导 和发病机制中可能有关的其它靶表位,允许药物抗性和逃避机制。当 前的一些治疗范例需要使用靶向同一靶抗原的两个不同表位的两种 治疗性单特异性抗体的组合。一个实例为使用曲妥珠单抗 (Trastuzumab)和帕妥珠单抗(Pertuzumab)的组合,两者靶向一些 癌细胞表面上的HER2受体蛋白,但是患者仍有疾病进展,而具有较 低HER2受体水平(通过Hercept试验HER2<3+)的其它患者显示 无治疗益处。在GenMab的WO 2012/143523和Genentech的WO 2009/154651中公开了靶向HER2的治疗性抗体。在WO 2009/068625 和WO 2009/068631中也描述了抗体。

[0008] 2011年11月4日提交的共有专利申请PCT/CA2011/001238、2012 年11月2日提交的PCT/CA2012/050780、2013年5月10日提交的 PCT/CA2013/00471和2013年5月8日提交的PCT/CA2013/050358 描述了治疗性抗体。每一个共有专利申请均据此通过引用整体并入用于所有目的。

[0009] 发明概述

[0010] 本文描述了结合HER2的二价抗原结合构建体。所述抗原结合构 建体包含单价且特异性地结合HER2表达细胞上的HER2(人表皮生 长因子受体2)ECD2(胞外结构域2)抗原的第一抗原结合多肽构建 体和单价且特异性地结合HER2表达细胞上的HER2ECD4(胞外结 构域4)抗原的第二抗原结合多肽构建体,第一和第二接头多肽,其 中所述第一接头多肽与所述第一抗原结合多肽构建体可操作地连接, 并且所述第二接头多肽与所述第二抗原结合多肽构建体可操作地连 接;其中所述接头多肽能够相互形成共价键,其中ECD2结合多肽构

建体或ECD4结合多肽构建体中的至少一个为scFv。在某些实施方案 中,ECD2结合多肽构建体为scFv,并且ECD2结合多肽构建体为 Fab。在某些实施方案中,ECD2结合多肽构建体为Fab而ECD4结 合多肽构建体为scFv。在一些实施方案中,ECD2结合多肽构建体和 ECD4结合多肽构建体两者均为scFv。在一些实施方案中,所述抗原 结合构建体具有包含CH3序列的二聚Fc。在一些实施方案中,Fc是 在CH3序列中具有一个或多个修饰的异二聚体,所述修饰促进具有 与野生型同二聚体Fc相当的稳定性的异二聚体的形成。在一些实施 方案中,异二聚体CH3序列的解链温度(Tm)为68℃或更高。还描 述了编码抗原结合构建体的核酸,及载体和细胞。还描述了使用本文 描述的抗原结合构建体治疗病症,如癌症的方法。

[0011] 本文还提供了经修饰的帕妥珠单抗构建体,其包含在VL区中具 有突变Y96A且在VH区具有突变T30A/A49G/L70F(根据Kabat编 号)。在一个实施方案中,经修饰的帕妥珠单抗构建体为单价的,并 且对HER2ECD2具有比帕妥珠单抗高7至9倍的亲和力。在某些实 施方案中,经修饰的帕妥珠单抗构建体具有Fab/Fab、Fab/scFv或 scFv/scFv形式。

[0012] 附图简述

[0013] 图1A描绘呈Fab-Fab形式的双互补位抗体的结构。图1B至1E 描绘呈scFv-Fab形式的双互补位抗体的可能型式的结构。在图1B中, 抗原结合结构域1为scFv,与A链融合,而抗原结合结构域2为Fab, 与B链融合。在图1C中,抗原结合结构域1为Fab,与A链融合, 而抗原结合结构域2为scFv,与B链融合。在图1D中,抗原结合结 构域2为Fab,与A链融合,而抗原结合结构域1为scFv,与B链 融合。在图1E中,抗原结合结构域2为scFv,与A链融合,而抗原 结合结构域1为Fab,与B链融合。在图1F中,两个抗原结合结构 域均为scFv。

[0014] 图2描绘对示例性抗HER2双互补位抗体的表达和纯化的表征。 图2A和2B描绘蛋白A纯化抗体的SEC色谱,及对v5019的10L表 达和纯化的非还原SDS-PAGE分析。图2C描绘对v10000的25L表 达和纯化的SDS-PAGE分析。

[0015] 图3描绘对通过蛋白A和SEC纯化的示例性抗HER2双互补位 抗体的UPLC-SEC分析的结果。图3A示出了v5019的结果,其中上 图示出了纯化的结果而下图示出了y轴刻度扩大的相同结果。在 UPLC-SEC结果下面提供了获得的数据总结。图3B示出了v10000 的结果。

[0016] 图4描绘对示例性抗HER2双互补位抗体的异二聚体纯度的 LCMS分析。图4A描绘来自于对v5019的合并SEC成分的LC-MS 分析的结果。图4B描绘来自于对v10000的合并蛋白A成分的LC-MS 分析的结果。

[0017] 图5描绘对示例性抗HER2双互补位抗体的25L规模制备物的分 析。图5A描绘在MabSelect™和HiTrap™ SP FF纯化后示例性抗 HER2双互补位抗体的SDS-PAGE图谱。图5B描绘纯化抗体的LCMS 分析。

[0018] 图6,如通过FACS所测量,将示例性双互补位抗HER2抗体与 展示出不同HER2受体密度的HER2+全细胞结合的能力与对照抗体 比较。图6A和图6E描绘与SKOV3细胞的结合;图6B描绘与JIMT1 细胞的结合;图6C和图6F描绘与MCF7细胞的结合;图6D描绘与 MDA-MB-231细胞的结合;并且图6G描绘与WI-38细胞的结合。

[0019] 图7描绘示例性抗HER2双互补位抗体抑制HER2+细胞生长的 能力。图7A和图7D示出了SKOV3细胞中的生长抑制;图7B示出 了BT-474细胞中的生长抑制;图7C示出了SKBR3细胞中的生长抑 制,并且图7E示出了JIMT-1细胞中的生长抑制。

[0020] 图8描绘关于示例性抗HER2双互补位抗体的互补位的SPR结 合数据。图8A说明单

价抗Her2抗体(v1040;表示示例性抗Her2 双互补位抗体的CH-B上的抗原结合结构域)与固定Her2ECD或二 聚Her2-Fc结合的K_D值(nM)。图8B说明单价抗Her2抗体(v4182; 表示示例性抗Her2双互补位抗体的CH-A上的抗原结合结构域)与 固定Her2ECD或二聚Her2-Fc结合的K_D值(nM)。

[0021] 图9描绘示例性抗HER2双互补位抗体在HER2+细胞中内化的 能力。图9A描绘在BT-474细胞中的内化,而图9b描绘在JIMT-1 细胞中的内化。

[0022] 图10描绘示例性抗HER2双互补位抗体的表面结合和内化。图 10A(v5019)描绘在BT-474细胞中的结果;图10B(v5019)和图 10F(v5019和v10000)描绘在JIMT1细胞中的结果;图10C(v5019) 和图10E(v5019和v10000)描绘在SKOV3细胞中的结果,并且图 10D(v5019)描绘在MCF7细胞中的结果。

[0023] 图11描绘示例性抗HER2双互补位抗体在SKOV3细胞中介导 ADCC的能力。在图11A中,使用5:1的效应子:靶细胞比率进行测 定;在图11B中,使用3:1的效应子:靶细胞比率进行测定;并且在 图11C中,使用1:1的效应子:靶细胞比率进行测定。

[0024] 图12描绘单价抗HER2(v630和v4182)和示例性双互补位抗 Her2抗体(v5019)与重组人HER2的亲和力和结合动力学的表征。 图12A示出了ka(1/Ms)的测量。图12B示出了kd(1/s)的测量。 图12C示出了K_D(M)的测量。

[0025] 图13描绘示例性双互补位抗HER2抗体与重组人HER2在一系 列抗体捕获水平的亲和力和结合特征。图13A描绘对于示例性双互 补位抗Her2抗体(v5019)而言在一系列抗体捕获水平测定的对HER2 ECD的kd(1/s)的测量。图13B描绘对于单价抗Her2抗体(v4182) 而言在一系列抗体捕获水平测定的对HER2ECD的kd(1/s)的测量。 图13C描绘对于单价抗Her2抗体(v630)而言在一系列抗体捕获水 平测定的对HER2ECD的kd(1/s)的测量。

[0026] 图14示出了单特异性抗ECD4HER2抗体(左)和Fab-scFv双 互补位抗ECD2x ECD4HER2抗体(右)的结合机制的比较。单特异 性抗ECD4HER2抗体能够使一个抗体分子与两个HER2分子结合; 而双互补位抗ECD2x ECD4HER2抗体能够使一个抗体与两个HER2 分子结合,以及2个抗体与一个HER2分子结合及其组合,导致HER2 受体交联及晶格形成,接着是如箭头所指示的下游生物效应如内化和 /或生长抑制。IEC表示“免疫效应细胞”。HER2的四个胞外结构域编 号为1、2、3或4,其中1=ECD1、2=ECD2、3=ECD3及4=ECD4。

[0027] 图15描绘在BT-474细胞中示例性抗HER2双互补位抗体对AKT 磷酸化的影响。

[0028] 图16描绘示例性抗HER2双互补位抗体对心肌细胞活力的影响。图16A描绘v5019及相应的ADC v6363对心肌细胞活力的影响;图 16B描绘v5019、v7091和v10000及相应的ADC v6363、7148、10553 对心肌细胞活力的影响,并且图16C描绘v5019、v7091和v10000 及相应的ADC v6363、7148、10553对经多柔比星(doxorubicin)预 处理的心肌细胞活力的影响。

[0029] 图17描绘示例性抗HER2双互补位抗体药物偶联物抑制HER2+ 细胞生长的能力。图17A示出了ADC v6363抑制JIMT1细胞生长的 能力。图17B示出了ADC v6363抑制SKOV3细胞生长的能力。图 17C示出了ADC v6363抑制MCF7细胞生长的能力。图17D示出了 ADC v6363抑制MDA-MB-231细胞生长的能力。图17E示出了ADC v6363、v10553和v1748抑制SKOV3细胞生长的能力。图17F示出 了ADC v6363、v10553和v1748抑制JIMT-1细胞生长的能力。图17G示出了ADC v6363、v10553和v1748抑制NCI-N87细胞生长的能力。

[0030] 图18描绘双互补位抗HER2抗体在人卵巢癌系异种移植模型 (SKOV3)中的作用。图18A示出了抗体对平均肿瘤体积的影响。图18B示出了抗体对动物存活百分比的影响。

[0031] 图19描绘在双互补位抗HER2抗体药物偶联物(ADC)人卵巢 癌系异种移植模型(SKOV3)中的作用。图19A示出了抗体对平均 肿瘤体积的影响。图19B示出了抗体对动物存活百分比的影响。

[0032] 图20描绘双互补位抗HER2抗体药物偶联物(ADC)在人乳腺 原代细胞异种移植模型(HBCx-13b)中对平均肿瘤体积的影响。

[0033] 图21描绘双互补位抗HER2抗体药物偶联物(ADC)在人乳腺 原代细胞异种移植模型(T226)中对平均肿瘤体积的影响。

[0034] 图22描绘双互补位抗HER2抗体药物偶联物(ADC)在人乳腺 原代细胞异种移植模型(HBCx-5)中对平均肿瘤体积的影响。

[0035] 图23描绘双互补位抗HER2抗体药物偶联物(ADC)在人细胞 系异种移植模型(SKOV3)中对抗HER2治疗抗性肿瘤的影响。

[0036] 图24描绘双互补位抗HER2抗体药物偶联物(ADC)在人原代 细胞异种移植模型(HBCx-13b)中对抗HER2治疗抗性肿瘤的影响。

[0037] 图25描绘示例性抗HER2双互补位抗体的热稳定性。图25A描 绘v5019的热稳定性。图25B描绘v10000的热稳定性。图25C描绘 v7091的热稳定性。

[0038] 图26描绘示例性抗HER2双互补位抗体药物偶联物的热稳定性。 图26A描绘v6363的热稳定性。图26B描绘v10553的热稳定性。图 26C描绘v7148的热稳定性。

[0039] 图27描绘抗HER2双互补位抗体在HER2+细胞中介导ADCC的 能力。图27C中所示的图例适用于图27A和图27B。图27A描绘在 SKBR3细胞中的这种能力;图27B描绘在JIMT-1细胞中的这种能力; 图27C描绘在MDA-MB-231细胞中的这种能力;并且图27D描绘在 WI-38细胞中的这种能力。

[0040] 图28描绘无岩藻糖基化对抗HER2双互补位抗体介导ADCC的 能力的影响。图28B中所示的图例也适用于图28A。图28A比较了 在SKOV3细胞中无岩藻糖基化型式的v5019介导ADCC的能力与赫 塞汀™介导ADCC的能力。图28B比较了在MDA-MB-231细胞中无 岩藻糖基化型式的v5019介导ADCC的能力与赫塞汀™介导ADCC 的能力。图28C比较了在ZR-75-1细胞中无岩藻糖基化型式的v10000 介导ADCC的能力与赫塞汀™介导ADCC的能力。

[0041] 图29描绘在生长刺激性配体存在或缺乏时v5019抑制BT-474细 胞生长的能力。

[0042] 图30描绘在人乳腺癌异种移植模型(HBCx13B)中无岩藻糖基 化型式的v5019(v7187)对肿瘤体积的影响。

[0043] 图31描绘抗HER2双互补位抗体和抗HER2双互补位-ADC与 HER2+肿瘤细胞结合的能力。图31A将在SKOV3细胞中v6363与 T-DM1类似物(v6246)的结合进行比较。图31B将在JIMT-1细胞 中v6363与T-DM1类似物(v6246)的结合进行比较。图31C将在 SKOV3细胞中几种示例性抗HER2双互补位抗体和抗HER2双互补 位-ADC的结合与对照进行比较。图31D将在JIMT-1细胞中几种示 例性抗HER2双互补位抗体和抗HER2双互补位-ADC的结合与对照 进行比较。

[0044] 图32描绘在HER2 3+(ER-PR阴性)患者来源的异种移植模型 (HBCx13b)中示例性抗HER2双互补位-ADC的剂量依赖性肿瘤生 长抑制。图32A示出了v6363对肿瘤体积的影响，

而图32B示出了 对存活百分比的影响。

[0045] 图33描绘在曲妥珠单抗抗性PDX HBCx-13b异种移植模型中与 护理标准组合(Standard of Care Combinations)相比双互补位抗 HER2-ADC v6363的作用。图33A描绘处理对肿瘤体积的影响,而 图33B描绘处理对存活率的影响。

[0046] 图34描绘在HER2+曲妥珠单抗抗性乳腺癌细胞来源的肿瘤异种 移植模型(JIMT-1)中双互补位抗HER2-ADC的功效。

[0047] 图35描绘在曲妥珠单抗敏感性卵巢癌细胞来源的肿瘤异种移植 模型(SKOV3)中示例性抗HER2双互补位抗体在体内的功效。图 35A描绘处理对肿瘤体积的影响,而图35B描绘处理对存活率的影 响。

[0048] 图36描绘在曲妥珠单抗敏感性卵巢癌细胞来源的肿瘤异种移植 模型(SKOV3)中示例性抗HER2双互补位抗体在体内的剂量依赖 性功效。

[0049] 图37描绘抗HER2双互补位抗体和抗HER2双互补位-ADC抑 制以3+、2+或1+水平表达HER2和EGFR和/或HER3的细胞系的生 长的能力。图37A描绘v10000抑制所选细胞系生长的能力。图37B 描绘v10553抑制所选细胞系生长的能力。

[0050] 图38描绘v10000和v10553在一组细胞系中抑制生长的能力的 总结。带有连字符号的值(例如1/2)指示如文献中报道的有差异的 erbb受体水平;Erbb IHC值内部获得或来自于文献。未报道值时受 体量未知和/或未报道。*IHC水平估计值基于erBb2基因表达数据(Crown BioSciences)。下面描述了编号的参考文献。

[0051] 图39描绘v10000在HER2+细胞中介导ADCC的能力。图39A 描绘在FaDu细胞中的结果。图39B描绘在A549细胞中的结果。图 39C描绘在BxPC3细胞中的结果。图39D描绘在MiaPaca2细胞中的 结果。

[0052] 图40描绘抗HER2双互补位抗体在HER2+细胞中介导ADCC的 能力。图40A描绘在A549细胞中的结果。图40B描绘在NCI-N87 细胞中的结果。图40C描绘在HCT-116细胞中的结果。

[0053] 图41描绘抗HER2双互补位抗体形式对结合HER2+细胞的影 响。图41A描绘形式对与BT-474细胞结合的影响。图41B描绘形式 对与JIMT-1细胞结合的影响。图41C描绘形式对与MCF7细胞结合 的影响。图41D描绘形式对与MDA-MB-231细胞结合的影响。

[0054] 图42描绘抗HER2双互补位抗体形式对抗体在HER2+细胞中内 化的影响。图42A描绘对在BT-474细胞中内化的影响。图42B描绘 对在JIMT-1细胞中内化的影响。图42C描绘对在MCF7细胞中内化 的影响。

[0055] 图43描绘抗HER2双互补位抗体形式对在HER2+细胞中介导 ADCC的能力的影响。图43A描绘在JIMT-1细胞中的影响。图43B 描绘在MCF7细胞中的影响。图43C描绘在HER2 0/1+ MDA-MB-231 乳腺肿瘤细胞中的影响。

[0056] 图44描绘抗HER2双互补位抗体形式对抗体在BT-474细胞中在 生长刺激性配体存在或缺乏时抑制HER2+肿瘤细胞生长的能力的影 响。

[0057] 图45描绘抗HER2双互补位抗体形式对抗体抑制SKBR3细胞生 长的能力的影响。

[0058] 图46描绘抗HER2双互补位抗体形式对抗体抑制HER2+肿瘤细 胞生长的能力的影响。图46A描绘在SKOV3细胞中的生长抑制。图 46B描绘在JIMT-1细胞中的生长抑制。图46C描绘在MCF7细胞中 的生长抑制。

[0059] 图47描绘对通过SPR测量的不同形式的抗HER2双互补位抗体 的结合特征的比较。图47A描绘用v6903和v7091在不同抗体捕获 水平下对kd(1/s)的散点图和线性回归分析。图47B描绘用v6903 和v7091在不同抗体捕获水平下对KD(M)的散点图和线性回归分 析。

[0060] 图38中找到的参考文献如下:1.Labouret et al.2012,Neoplasia 14:121-130;2.Ghasemi et al.2014,Oncogenesis doi:10.1038/oncsis.2014.31;3.Gaborit et al.2011J Bio Chem, 286:1133-11345;4.Kimura et al.2006,Clin Cancer Res;12:4925-4932; 5.Komoto et al.2009,Cane Sci;101:468-473;6.Cretellaet al.2014,Molecular Cancer 13:143-155;7.Bunn et al.2001,Clin Cancer Res; 7:3239-3250;8.Lewis Phillips et al.2013,Clin Cancer Res,20:456-468; 9.McDonagh et al.2012,11:582-593;10.Coldren et al.2006,Mol Cancer Res:521-528;11.Cavazzoni et al.2012Mol Cancer,11:91-115; 12.Li et al.2014,Mol Cancer Res,doi: 10.1158/1541-7786.MCR-13-0396;13.Chmielewski et al.2004, Immunology,173:7647-7653;14.Kuwada et al.2004,Int J Cancer, 109:291-301;15.Fujimoto-Ouchi et al.2007,Clin Chemother Pharmacol, 59:795-805;16.Chavez-Bianco et al.2004,BMC Cancer,4:59;17. Campiglio et al.2004,J Cellular Physiology.198:259-268;18.Lehmann et al.2011,J Clin Investigation,121:2750-2767;19.Collins et al.2011, Annals Oncology,23:1788-1795;20.Takai et al.2005,Cancer, 104:2701-2708;21.Rusnack et al.2007,Cell Prolif,40:580-594;22.Ma et al.2013,PLOS ONE,8:e73261-e73261;23.Meira et al.2009,British J Cancer,101:782-791;24.Hayashi MP28-14poster;25.Wang et al.2005 J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.25:326-8;26.Makhjaet al. 2010.J Cline Oncolo 28:1215-1223.

具体实施方式

[0061] 本文描述了一种抗原结合构建体,其包含单价且特异性地结合 HER2表达细胞上的HER2(人表皮生长因子受体2)ECD2(胞外结 构域2)抗原的第一抗原结合多肽构建体和单价且特异性地结合 HER2表达细胞上的HER2ECD4(胞外结构域4)抗原的第二抗原结 合多肽构建体,其中ECD2结合多肽构建体或ECD4结合多肽构建体 中的至少一个为scFv。在某些实施方案中,ECD2结合多肽构建体为 scFv,而ECD4结合多肽构建体为Fab。在某些实施方案中,ECD2 结合多肽构建体为Fab而ECD4结合多肽构建体为scFv。在一些实施 方案中,ECD2结合多肽构建体和ECD4结合多肽构建体两者均为 scFv。在一些实施方案中,所述抗原结合构建体具有包含CH3序列 的二聚Fc。在一些实施方案中,Fc是在CH3序列中具有一个或多个修饰的异二聚体,所述修饰促进具有与野生型同二聚体Fc相当的稳 定性的异二聚体的形成。在一些实施方案中,异二聚体CH3序列的 解链温度(Tm)为68℃或更高。

[0062] 所述抗原结合构建体在体外表现出抗肿瘤活性,如(i)在表皮 生长因子或调蛋白(heregulin)的刺激存在或缺乏时抑制癌细胞生长 的能力,(ii)在癌细胞中内化的能力及(iii)介导抗体指导的效应细 胞杀伤(ADCC)的能力。用裸抗原结合构建体(即未与药物或毒素 偶联)和用与美登素(maytansine)偶联的抗原结合构建体,并且在 不同的HER2表达水平下(1+、2+和3+)均获得这些体外活性。

[0063] 本文显示抗原结合构建体的形式(scFv/scFv、scFv/Fab或 Fab/Fab)在决定其功

能图特性方面很重要。在某些实施方案中，抗 HER2结合构建体与其中ECD2结合多肽构建体和ECD4结合多肽构 建体两者均为Fab的参考双互补位抗原结合构建体相比表现出被 HER2表达肿瘤细胞内化的能力增强。其中ECD2结合多肽构建体和 ECD4结合多肽两者均为scFv的一个实施方案在比具有Fab/scFv形 式的等效亲和力的构建体更高的程度上被表达1+、2+或3+水平的 HER2的肿瘤细胞内化，具有Fab/scFv形式的等效亲和力的构建体又 比具有Fab/Fab形式的等效亲和力的构建体更有效被内化。易于内化 的实施方案是抗体-药物偶联物的优良候选物，其需要被肿瘤细胞内 化才能实现杀伤。

[0064] 在某些实施方案中，所述抗原结合构建体与具有Fab/Fab形式的 等效亲和力的构建体相比在表达低水平HER2的肿瘤细胞的ADCC 杀伤方面表现出效力增强。在一个实施方案中，具有Fab/scFv形式 的抗原结合构建体在表达低水平HER2(HER2 0-1+或1+)的肿瘤细胞的ADCC杀伤方面比具有Fab/Fab形式的抗HER2构建体更有效，具有Fab/Fab形式的抗HER2构建体又比具有scFv/scFv形式的抗原 结合构建体更有效。

[0065] 在一些实施方案中，抗HER2抗原结合构建体经糖基化。

[0066] 在一些实施方案中，抗HER2结合构建体无岩藻糖基化。在一些 实施方案中，抗HER2结合构建体与药物偶合。在一些实施方案中， 抗HER2结合构建体通过SMCC接头与美登素(DM1)偶合。

[0067] 本文还描述了通过向受试者施用抗HER2抗原结合构建体而治 疗患有HER2+肿瘤的受试者的方法。在一些实施方案中，肿瘤上 HER2表达的水平为2+或更低。在一些实施方案中，所述抗原结合构 建体与美登素偶联。在某些实施方案中，所述肿瘤为胰腺癌、头颈癌、胃癌、结直肠癌、乳腺癌、肾癌、宫颈癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子 宫癌、恶性黑素瘤、咽癌、口腔癌或皮肤癌。在一些实施方案中，所 述肿瘤是(i)HER2 3+雌激素受体阴性(ER-)、孕酮受体阴性(PR-)、曲妥珠单抗抗性、化疗抗性浸润性乳腺导管癌，(ii)HER2 3+ER-、PR-、曲妥珠单抗抗性炎性乳腺癌，(iii)HER2 3+、ER-、PR-浸润性 导管癌或(iv)HER2 2+HER2基因扩增的曲妥珠单抗和帕妥珠单抗 抗性乳腺癌。

[0068] 本文还提供了通过施用所述抗原结合构建体抑制肿瘤细胞生长 或杀伤肿瘤细胞的方法。

[0069] 本文还提供了经修饰的帕妥珠单抗构建体，其包含在VL区中的 突变Y96A和在VH区的突变T30A/A49G/L70F(根据Kabat编号)。在一个实施方案中，经修饰的帕妥珠单抗构建体为单价的，并且对 HER2ECD2具有比帕妥珠单抗高7至9倍的亲和力。在某些实施方 案中，经修饰的帕妥珠单抗构建体具有Fab/Fab、Fab/scFv或scFv/scFv 形式。

[0070] 双特异性抗原结合构建体

[0071] 本文提供了结合HER2的双特异性抗原结合构建体。双特异性抗 原结合构建体包括两个抗原结合多肽构建体，各自特异性地结合 HER2的不同表位。在一些实施方案中，抗原结合构建体衍生自已知 的抗体或抗原结合构建体。如下面更加详细的描述，抗原结合多肽构 建体可以是，但不限于，蛋白质构建体如Fab(抗原结合片段)、scFv (单链Fv)和sdab(单结构域抗体)。通常所述抗原结合构建体包括 Fc。

[0072] 术语“抗原结合构建体”是指能够与抗原结合的任何试剂，如多肽 或多肽复合物。在一些方面抗原结合构建体是与目标抗原特异性结合 的多肽。抗原结合构建体可以是单体、二聚体、多聚体、蛋白质、肽、 或蛋白质或肽复合物；抗体、抗体片段或其抗原结合片段；

scFv等。抗原结合构建体可以是单特异性、双特异性或多特异性的多肽构建 体。在一些方面，抗原结合构建体可包括，例如，与一个或多个Fc 连接的一个或多个抗原结合组分(例如，Fab或scFv)。在下面描述 并且在实施例中提供了抗原结合构建体的其它实例。

[0073] 术语“双特异性”旨在包括具有两个抗原结合部分(例如抗原结合 多肽构建体)，各自具有独特结合特异性的任何试剂，例如抗原结合 构建体。例如，第一抗原结合部分与第一抗原上的表位结合，而第二 抗原结合部分与第二抗原上的表位结合。如本文中所用的术语“双互 补位”是指双特异性抗体，其中第一抗原结合部分和第二抗原结合部 分与同一抗原上的不同表位结合。双互补位双特异性抗体可与同一抗 原分子上的两个表位结合，或者可与两个不同抗原分子上的表位结 合。

[0074] 单特异性抗原结合构建体是指具有一种结合特异性的抗原结合 构建体。换言之，两个抗原结合部分均与同一抗原上的相同表位结合。 单特异性抗原结合构建体的实例包括例如与HER2结合的曲妥珠单 抗、帕妥珠单抗。

[0075] 抗原结合构建体可以是抗体或其抗原结合部分。如本文中所用， “抗体”或“免疫球蛋白”是指大体上由一个免疫球蛋白基因或多个免 疫球蛋白基因编码的特异性结合并识别分析物(例如，抗原)的多肽 或其片段。公认的免疫球蛋白基因包括κ、λ、α、γ、δ、ε和μ恒定 区基因，以及无数免疫球蛋白可变区基因。轻链分类为κ或λ。抗体 或免疫球蛋白的“类别”是指其重链所具有的恒定结构域或恒定区的 类型。有五大类抗体：IgA、IgD、IgE、IgG和IgM，并且这些中的 几类可进一步分为亚类(同种型)，例如IgGi、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgAi 和IgA_2。对应于不同类别的免疫球蛋白的重链恒定结构域分别称为α、δ、ε、γ和μ。

[0076] 示例性免疫球蛋白(抗体)结构单元由两对多肽链构成，每一对 具有一条“轻”链(约25kD)和一条“重”链(约50-70kD)。每条链的 N端结构域限定约100至110个或更多个氨基酸的主要负责抗原识别 的可变区。术语可变轻链(VL)和可变重链(VH)分别指这些轻链和重链结构域。IgG1重链从N到C端分别由VH、CH1、CH2和CH3 结构域组成。轻链从N到C端由VL和CL结构域组成。IgG1重链 包含介于CH1和CH2结构域之间的铰链。在某些实施方案中，免疫 球蛋白构建体包含来自于IgG、IgM、IgA、IgD或IgE的与治疗性多 肽连接的至少一个免疫球蛋白结构域。在一些实施方案中，在本文提 供的抗原结合构建体中找到的免疫球蛋白结构域来自于或衍生自基 于免疫球蛋白的构建体如双链抗体或纳米抗体。在某些实施方案中， 本文描述的免疫球蛋白构建体包含来自于重链抗体如骆驼抗体的至 少一个免疫球蛋白结构域。在某些实施方案中，本文提供的免疫球蛋 白构建体包含来自于哺乳动物抗体如牛抗体、人抗体、骆驼抗体、小 鼠抗体或任何嵌合抗体的至少一个免疫球蛋白结构域。

[0077] 如本文中所用，术语“高变区”或“HVR”是指在序列上高度可变和 /或形成结构限定的环(“高变环”)的抗体可变结构域的每个区域。通常，天然四链抗体包含六个HVR；三个在VH中(H1、H2、H3)， 且三个在VL中(L1、L2、L3)。HVR通常包含来自于高变环和/或 来自于互补决定区(CDR)的氨基酸残基，后者具有最高的序列变异 性和/或参与抗原识别。除VH中的CDR1外，CDR通常包含形成高 变环的氨基酸残基。高变区(HVR)也称为“互补决定区”(CDR)，并且这些术语在提及形成抗原结合区的可变区部分时在本文中可交 换使用。这个特定区域已经被Kabat等，U.S.Dept.of Health and Human Services，Sequences of Proteins of Immunological Interest(1983) 和Chothia等，J Mol Biol 196:901-917(1987)描述，其中定义包括相 互比较时氨基酸残基的重叠或子集。然而，应用任一种定义

指抗体或 其变体的CDR都旨在落入本文定义和使用的术语范围之内。涵盖以 上引用的每个参考文献定义的CDR的适当氨基酸残基下面在表1中 作为比较而列出。涵盖特定CDR的确切残基数将根据CDR的序列和 大小而改变。考虑到抗体的可变区氨基酸序列,本领域的技术人员可 按常规确定哪些残基组成特定CDR。

[0078] 如本文中所用,术语“单链”是指包含通过肽键线性连接的氨基酸 单体的分子。在某些实施方案中,其中一个抗原结合多肽构建体为单 链Fab分子,即其中Fab轻链和Fab重链通过肽接头连接形成单一肽 链的Fab分子。在此类具体实施方案中,在单链Fab分子中Fab轻链 的C端与Fab重链的N端连接。在某些其它实施方案中,其中一个 抗原结合多肽构建体为单链Fv分子(scFv)。如本文更加详细的描述, scFv具有通过多肽链从其C端与重链可变结构域(VH)的N末端连 接的轻链可变结构域(VL)。可选地scFv由多肽链组成,其中VH的C末端通过多肽链与VL的N末端连接。

[0079] 抗原结合多肽构建体

[0080] 双特异性抗原结合构建体包含两个抗原结合多肽构建体,其各自 与HER2的特定结构域或表位结合。在一个实施方案中,每个抗原结 合多肽构建体均与HER2的胞外结构域,例如ECD2或ECD4结合。抗原结合多肽构建体可根据应用为(例如)Fab或scFv。

[0081] 双特异性抗原结合构建体的形式决定双特异性抗原结合构建体 的功能特征。在一个实施方案中,双特异性抗原结合构建体具有 scFv-Fab形式(即一个抗原结合多肽构建体为scFv而另一个抗原结 合多肽构建体为Fab,也称为Fab-scFv形式)。在另一实施方案中, 双特异性抗原结合构建体具有scFv-scFv形式(即两个抗原结合多肽 构建体均为scFv)。

[0082] “Fab片段”(也称为抗原结合片段)含有轻链的恒定结构域(CL) 和重链的第一恒定结构域(CH1)连同分别在轻链和重链上的可变结 构域VL和VH。可变结构域包含参与抗原结合的互补决定环(CDR, 也称为高变区)。Fab’片段与Fab片段不同之处在于在重链CH1结构 域的羧基端添加几个残基,包括来自于抗体铰链区的一个或多个半胱 氨酸。

[0083] “单链Fv”或“scFv”包括抗体的VH和VL结构域,其中这些结构 域存在于单一多肽链中。在一个实施方案中,Fv多肽还包含介于VH 和VL结构域之间的多肽接头,其使得scFv能够形成抗原结合所需 的结构。对scFv的综述,参见Pluckthun,The Pharmacology of Monoclonal Antibodies中,第113卷,Rosenburg和Moore编, Springer-Verlag,New York,第269-315页(1994)。在WO93/16185、美 国专利第5,571,894号和美国专利第5,587,458号中描述了HER2抗体 scFv片段。

[0084] “单结构域抗体”或“sdAb”形式是独立免疫球蛋白结构域。Sdab 相当稳定且易于作为具有抗体Fc链的融合伴侣表达(Harmsen MM, De Haard HJ(2007).″Properties, production,and applications of camelid single-domain antibody fragments″.Appl.Microbiol Biotechnol.77(1): 13-22)。

[0085] 抗原结合构建体的形式和功能

[0086] 本文提供了具有两个抗原结合多肽构建体的双互补位HER2抗 原结合构建体,其中第一个与HER2ECD2特异性结合,而第二个与 HER2ECD4特异性结合。抗原结合构建体的形式是这样的是,使得 第一或第二抗原结合多肽中的至少一个为scFv。抗原结合构建体的形式可为scFv-scFv或Fab-scFv或scFv-Fab(分别为第一抗原结合多肽 构建体-第二抗原结

合多肽)。

[0087] 在某些实施方案中,抗原结合构建体在体外表现出抗肿瘤活性, 如(i)在表皮生长因子或调蛋白的刺激存在或缺乏时抑制癌细胞生 长的能力,(ii)在癌细胞中内化的能力(通过与HER2抗原结合并使 其内化)及(iii)介导抗体指导的效应细胞杀伤(ADCC)的能力。用裸抗原结合构建体和用与美登素偶联的抗原结合构建体,并且在不 同的HER2表达水平下(1+、2+和3+)均获得这些体外活性。

[0088] 本文的实例显示抗原结合构建体的形式(scFv/scFv、scFv/Fab或 Fab/Fab)在决定其功能特性上很重要。在某些实施方案中,抗HER2 结合构建体与其中ECD2结合多肽构建体和ECD4结合多肽构建体两 者均为Fab的参考抗原结合构建体相比表现出被HER2表达肿瘤细胞 内化的能力增强。预计可通过增强一种或两种抗原结合多肽构建体对 ECD2或ECD4的亲和力而进一步提高抗HER2抗原结合构建体的内 化程度。其中ECD2结合多肽和ECD4结合多肽两者均为scFv的一 个实施方案是在比具有Fab/scFv形式的等效亲和力的构建体更高的 程度上被表达1+、2+或3+水平的HER2的肿瘤细胞内化,具有 Fab/scFv形式的等效亲和力的构建体又比具有Fab/Fab形式的等效亲 和力的构建体内化更有效。易于内化的实施方案是抗体-药物偶联物 的优良候选物,其需要被肿瘤细胞内化才能实现杀伤。相反,在某些 实施方案中,不易内化的抗原结合构建体与具有Fab/Fab形式的等效 亲和力的构建体相比在表达低水平HER2的肿瘤细胞的ADCC杀伤 方面表现出效力增强。在一个实施方案中,具有Fab/scFv形式的抗 原结合构建体在表达低水平HER2(HER2 0-1+或1+)的肿瘤细胞的ADCC杀伤方面比具有Fab/Fab形式的抗HER2构建体更有效,具有 Fab/Fab形式的抗HER2构建体又比具有scFv/scFv形式的抗原结合构 建体更有效。一些实施方案的ADCC效力增强可能是由于1)其亲和 性地结合具有低HER2受体密度且随后使HER2受体在靶细胞表面聚 集并介导下游细胞介导的杀伤的能力增强;和/或2)其留在细胞表面 的能力增强(而不引起内化);因此它们更适用于细胞介导的效应子 杀伤。

[0089] HER2

[0090] 本文描述的抗原结合构建体具有与HER2的ECD2和ECD4结合 的抗原结合多肽构建体。

[0091] 措辞“ErbB2”和“HER2”在本文中可交换使用并且是指,例如在 Semba等,PNAS(USA)82:6497-6501(1985)和Yamamoto等Nature 319:230-234(1986)中描述的人HER2蛋白(基因库登录号X03363)。术语“erbB2”和“neu”是指编码人ErbB2蛋白的基因。p185或p185neu 是指neu基因的蛋白质产物。

[0092] HER2为HER受体。“HER受体”是属于人表皮生长因子受体 (HER)家族的受体蛋白酪氨酸激酶并且包括EGFR、HER2、HER3 和HER4受体。HER受体通常将包含可结合HER配体的胞外结构域; 亲脂性跨膜结构域;保守性胞内酪氨酸激酶结构域;和带有几个可以 磷酸化的酪氨酸残基的羧基端信号传导结构域。所谓“HER配体”意指 结合和/或活化HER受体的多肽。

[0093] HER2的胞外(外)结构域包括四个结构域,结构域I(ECD1, 约1-195的氨基酸残基)、结构域II(ECD2,约196-319的氨基酸残 基)、结构域III(ECD3,约320-488的氨基酸残基)和结构域IV(ECD4, 约489-630的氨基酸残基)(残基编号,无信号肽)。参见Garrett等Mol.Cell.11:495-505(2003),Cho等Nature 421:756-760(2003), Franklin等Cancer

Cell 5:317-328(2004),Tse等Cancer Treat Rev.2012 年4月;38(2):133-42(2012),或Plowman等Proc.Natl.Acad.Sci. 90:1746-1750(1993)。

[0094] HER2的序列如下;ECD边界为结构域I:1-165;结构域II: 166-322;结构域III:323-488;结构域IV:489-607。

[0095]

```
  1 tqvctgtdmk lrlpaspeth ldmlrhlyqg cqvvqgnlel tylptnasls flqdiqevqg
 61 yvliahnqvr qvplqrlriv rgtqlfedny alavldngdp lnnttpvtga spgglrelql
121 rslteilkgg vliqrnpqlc yqdtilwkdi fhknnqlalt lidtnrsrac hpcspmckgs
181 rcwgessedc qsltrtvcag gcarckgplp tdccheqcaa gctgpkhsdc laclhfnhsg
241 icelhcpalv tyntdtfesm pnpegrytfg ascvtacpyn ylstdvgsct lvcplhnqev
301 taedgtqrce kcskpcarvc yglgmehlre vravtsaniq efagckkifg slaflpesfd
361 gdpasntapl qpeqlqvfet leeitgylyi sawpdslpdl svfqnlqvir grilhngays
421 ltlqglgisw lglrslrelg sglalihhnt hlcfvhtvpw dqlfrnphqa llhtanrped
481 ecvgeglach qlcarghcwg pgptqcvncs qflrgqecve ecrvlqglpr eyvnarhclp
541 chpecqpqng svtcfgpead qcvacahykd ppfcvarcps gvkpdlsymp iwkfpdeega
601 cqpcpin (SEQ ID NO:xxx)
```

[0096] “表位2C4”是HER2的胞外结构域中与抗体2C4结合的区域。表 位2C4包含来自于HER2胞外结构域中结构域II的残基。2C4和帕 妥珠单抗在结构域I、II和III的接合处与HER2胞外结构域结合。Franklin等Cancer Cell 5:317-328(2004)。为了筛选与2C4表位结合 的抗体,可以进行诸如Antibodies,A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,Harlow和David Lane编辑(1988)中描述的常规交 叉阻断测定。可选地,可以使用本领域已知的方法进行表位作图以估 计抗体是否与HER2的2C4表位结合和/或可以研究抗体-HER2结构 (Franklin等Cancer Cell 5:317-328(2004))以了解HER2的哪个结构域被抗体结合。

[0097] “表位4D5”是HER2胞外结构域中与抗体4D5(ATCC CRL 10463)和曲妥珠单抗结合的区域。该表位靠近HER2的跨膜结构域，并且在HER2的结构域IV内。为筛选与4D5表位结合的抗体,可以 进行诸如Antibodies,A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,编辑Harlow和David Lane(1988)中描述的常规交叉阻断 测定。可选地,可以进行表位作图以估计抗体是否与HER2的4D5 表位(例如,从大约残基529到大约残基625(包括端点)的区域内 的任一个或多个残基,参见美国专利公布第2006/0018899号的图1) 结合。

[0098] “特异性地结合”、“特异性结合”或“选择性结合”意为结合对于抗 原而言是选择性的并且可以与不需要或非特异性的相互作用区别开。抗原结合构建体与特定抗原决定簇结合的能力可通过酶联免疫吸附 测定(ELISA)或本领域技术人员熟悉的其它技术测量,例如表面等 离子体共振(SPR)技术(在BIAcore仪器上分析)(Liljeblad等，Glyco J 17,323-329(2000))和传统结合测定(Heeley,Endocr Res 28, 217-229(2002))。在一个实施方案中,正如(例如)通过SPR所测量 那样,抗原结合部分与无关蛋白结合的程度低于抗原结合构建体与抗 原结合的约10%。在某些实施方案中,与抗原结合的抗原结合构建体，或包含抗原结合部分的抗原结合分子,解离常数(K_D)<1μM、<100nM、 <10nM、<1nM、<0.1nM、<0.01nM或<0.001nM(例如10^{-8}M或更低， 例如从10^{-8}M至10^{-13}M,例如从10^{-9}M至10^{-13}M)。

[0099] “调蛋白”(HRG)在本文中使用时是指如美国专利第5,641,869 号或Marchionni

等,Nature,362:312-318(1993)中公开的调蛋白基因 产物编码的多肽。调蛋白的实例包括调蛋白-α、调蛋白-β1、调蛋白-β2 和调蛋白-β3(Holmes等,Science,256:1205-1210(1992);和美国专 利第5,641,869号);neu分化因子(NDF)(Peles等Cell 69:205-216(1992));乙酰胆碱受体诱导活性(ARIA)(Falls等Cell 72:801-815 (1993));胶质生长因子(GGF)(Marchionni等,Nature,362:312-318 (1993));感觉和运动神经元来源性因子(SMDF)(Ho等J.Biol.Chem. 270:14523-14532(1995));γ-调蛋白(Schaefer等Oncogene 15:1385-1394(1997))。该术语包括天然序列HRG多肽的生物活性片 段和/或氨基酸序列变体,如其EGF样结构域片段(例如 HRGβ1177-244)。

[0100] “HER活化”或“HER2活化”是指任何一种或多种HER受体或 HER2受体的活化或磷酸化。通常,HER活化引起信号转导(例如通 过HER受体或底物多肽中的HER受体磷酸化酪氨酸残基的胞内激酶 结构域引起的信号转导)。HER活化可通过HER配体与包含目标HER 受体的HER二聚体的结合而介导。HER配体与HER二聚体的结合 可以活化二聚体中的一个或多个HER受体的激酶结构域并从而引起 一个或多个HER受体中的酪氨酸残基磷酸化和/或附加底物多肽,如 Akt或MAPK胞内激酶中的酪氨酸残基的磷酸化。

[0101] 衍生的抗原结合多肽构建体

[0102] 抗原结合多肽构建体可衍生自已知的抗HER2抗体或抗HER2结 合结构域,而与结构域的类型无关。结构域类型的实例包括Fab片段、scFv和sdAb。此外,如果已知的抗HER2抗体或结合结构域的抗原 结合部分为Fab,则Fab可以转换为scFv。同样,如果已知的抗HER2 抗体或结合结构域的抗原结合部分为scFv,则scFv可以转换为Fab。在抗原结合结构域类型之间转换的方法在本领域已知(参见例如 Zhou等(2012)Mol Cancer Ther 11:1167-1476描述的将scFv转换为 Fab形式的示例方法。本文描述的方法通过引用并入。)。

[0103] 本文描述的抗原结合构建体可衍生自与ECD2或ECD4结合的已 知抗HER2抗体。如本文其它地方所述,与ECD2或ECD4结合的抗 体在本领域已知并且包括例如,2C4或帕妥珠单抗(结合ECD2)、4D5或曲妥珠单抗(结合ECD4)。在本领域中,例如在WO 2011/147982(Genmab A/S)中还已描述了与HER2的ECD2或ECD4 结合的其它抗体。

[0104] 在一些实施方案中,抗原结合构建体的抗原结合多肽构建体衍生 自将抗体4D5或曲妥珠单抗与HER2的ECD4的结合阻断50%或更 高的抗体。在一些实施方案中,抗原结合构建体的抗原结合多肽构建 体衍生自将抗体2C4或帕妥珠单抗与HER2的ECD2的结合阻断50% 或更高的抗体。在一些实施方案中,抗原结合构建体衍生自将抗体 2C4或帕妥珠单抗与HER2的ECD2的结合阻断30%或更高的抗体。

[0105] 在一个实施方案中,抗原结合多肽构建体衍生自曲妥珠单抗或帕 妥珠单抗的Fab片段。在一个实施方案中,抗原结合多肽衍生自scFv。

[0106] 在某些实施方案中抗原结合多肽衍生自这些抗体的人源化或嵌 合型式。

[0107] 非人(例如啮齿动物)抗体的“人源化”形式是含有衍生自非人免 疫球蛋白的最小序列的嵌合抗体。对于大部分而言,人源化抗体为人 免疫球蛋白(受者抗体),其中来自于受者高变区的残基被来自于具 有所需特异性、亲和力和容量的非人类物种(供者抗体)如小鼠、大 鼠、兔子或非人灵长类动物的高变区的残基置换。在一些情况下,人 免疫球蛋白的骨架区(FR)残基被相应的非人残基置换。此外,人 源化抗体可包含在受者抗体中或在供者抗体中并未发现的残基。进行 这些修饰是为了进一步改进抗体性能。一般而言,人源化

抗体将包含 至少一个且通常两个可变结构域的绝大部分,其中全部或绝大部分的 高变环对应于非人免疫球蛋白的高变环并且全部或绝大部分的FR是 人免疫球蛋白序列的FR。人源化抗体任选地还将包含免疫球蛋白恒 定区(Fc)的至少一部分,通常为人免疫球蛋白的至少一部分。更多 详情,参见Jones等,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等,Nature 332:323-329(1988);和Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。

[0108] 人源化HER2抗体包括如通过引用明确并入本文的美国专利第 5,821,337号的表3中描述的huMAb4D5-1、huMAb4D5-2、 huMAb4D5-3、huMAb4D5-4、huMAb4D5-5、huMAb4D5-6、huMAb4D5-7和huMAb4D5-8或曲妥珠单抗(赫塞汀®);美国专利 公布第2006/0018899号中描述的人源化520C9(WO93/21319)和20’人源化2C4抗体。

[0109] 亲和力成熟

[0110] 在一些实施方案中,使用亲和力成熟由已知的HER2结合抗体衍 生抗原结合构建体。

[0111] 在期望增加抗原结合多肽对其同源抗原的亲和力的情况下,可使 用本领域已知的方法增加抗原结合多肽对其抗原的亲和力。在以下参 考文献中描述了此类方法的实例:Birtalan等(2008)JMB 377, 1518-1528;Gerstner等(2002)JMB 321,851-862;Kelley等(1993) Biochem 32(27),6828-6835;Li等(2010)JBC 285(6),3865-3871,及 Vajdos等(2002)JMB 320,415-428。

[0112] 如下描述了用于HER2抗原结合结构域的亲和力成熟的一种示 例性方法。曲妥珠单抗/HER2(PDB代码1N8Z)复合物和帕妥珠单 抗/HER2复合物(PDB代码1S78)的结构用于建模。可采用分子动 力学(MD)评价WT复合物在水环境中的内在动态性质。平均场和 死端排除法连同柔性骨架可用于优化和制备待筛选突变体的模型结 构。包装后将为许多特征评分,包括接触密度、碰撞得分(clash score)、疏水性和静电。一般化Born方法将允许对溶剂环境效应的精确建模 并计算蛋白质中特定位置突变而改变残基类型之后的自由能差。接触 密度和碰撞得分将提供对互补性的量度,这是蛋白质有效包装的关键 方面。筛选程序采用以知识为基础的潜力以及依赖成对残基相互作用 能的偶合分析方案和熵计算。在下表中总结了已知增强HER2结合的 文献突变及其组合。

[0113] 表A4.对于曲妥珠单抗-HER2体系而言已知增加与HER2的结合的曲妥珠单抗突变。

[0114]

突变	报道的提高量
H_D102W (H_D98W)	3.2X
H_D102Y	3.1X
H_D102K	2.3X
H_D102T	2.2X
H_N55K	2.0X
H_N55T	1.9X
L_H91F	2.1X
L_D28R	1.9X

[0115] 表A5.对于帕妥珠单抗-HER2体系而言已知增加与HER2的结合的帕妥珠单抗突变。

突变	报道的提高量
L_I31A	1.9X
L_Y96A	2.1X
L_Y96F	2.5X
H_T30A	2.1X
H_G56A	8.3X
H_F63V	1.9X

[0116]

[0117] 抗原结合构建体的Fc。

[0118] 在一些实施方案中,本文描述的抗原结合构建体包含Fc,例如 二聚Fc。

[0119] 本文中术语“Fc结构域”或“Fc区”用于定义含恒定区的至少一个 部分的免疫球蛋白重链的C端区域。该术语包括天然序列Fc区和变 体Fc区。除非本文另有说明,否则Fc区或恒定区中氨基酸残基的编 号是根据EU编号系统,也称为EU指数,如Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service, National Institutes of Health,Bethesda,MD,1991所述。如本文中所用 二聚Fc的“Fc多肽”是指形成二聚Fc结构域的两个多肽之一,即包含 免疫球蛋白重链的C端恒定区,能够稳定自我缔合的多肽。例如, 二聚IgG Fc的Fc多肽包含IgG CH2和IgG CH3恒定结构域序列。

[0120] Fc结构域包含CH3结构域或CH3和CH2结构域。CH3结构域 包含两个CH3序列,一个来自于二聚Fc的两个Fc多肽中的每一个。CH2结构域包含两个CH2序列,一个来自于二聚Fc的两个Fc多肽 中的每一个。

[0121] 在一些方面,Fc包含至少一个或两个CH3序列。在一些方面, Fc经或不经一个或多个接头与第一抗原结合构建体和/或第二抗原结 合构建体偶合。在一些方面,Fc为人Fc。在一些方面,Fc为人IgG 或IgG1Fc。在一些方面,Fc为异二聚体Fc。在一些方面,Fc包含 至少一个或两个CH2序列。

[0122] 在一些方面,Fc包含在至少一个CH3序列中的一个或多个修饰。 在一些方面,Fc包含在至少一个CH2序列中的一个或多个修饰。在 一些方面,Fc为单个多肽。在一些方面,Fc为多个多肽,例如两个 多肽。

[0123] 在一些方面,Fc是2011年11月4日提交的专利申请 PCT/CA2011/001238或2012年11月2日提交的PCT/CA2012/050780 中描述的Fc,每个专利申请的全部内容据此通过引用整体并入用于 所有目的。

[0124] 经修饰的CH3结构域

[0125] 在一些方面,本文描述的抗原结合构建体包含异二聚体Fc,其 包含已经不对称性修饰的经修饰的CH3结构域。异二聚体Fc可包含 两个重链恒定结构域多肽:第一Fc多肽和第二Fc多肽,其可交换使 用,只要Fc包含一个第一Fc多肽和一个第二Fc多肽。通常,第一Fc多肽包含第一CH3序列而第二Fc多肽包含第二CH3序列。

[0126] 包含以不对称方式引入的一个或多个氨基酸修饰的两个CH3序 列,当两个CH3序列二聚化时,通常产生异二聚体Fc,而不是同二 聚体。如本文中所用,“不对称氨基酸修饰”

是指其中第一CH3序列 上特定位置的氨基酸不同于第二CH3序列上相同位置的氨基酸，并且第一和第二CH3序列优先配对形成异二聚体，而不是同二聚体的 任何修饰。这种异二聚化可能是每个序列上各相同氨基酸位置的两个 氨基酸中仅一个修饰；或在第一和第二CH3序列中每一个上各相同 位置处每个序列上的两个氨基酸均修饰的结果。异二聚体Fc的第一 和第二CH3序列可包含一个或一个以上不对称氨基酸修饰。

[0127] 表A提供了人IgG1Fc序列的氨基酸序列，对应于全长人IgG1 重链的氨基酸231至447。CH3序列包含全长人IgG1重链的氨基酸 341-447。

[0128] 通常Fc可包括能够二聚化的两个连续重链序列(A和B)。在一 些方面，Fc的一个或两个序列包括在以下位置的一个或多个突变或 修饰：L351、F405、Y407、T366、K392、T394、T350、S400和/或 N390，使用EU编号。在一些方面，Fc包括表X所示的突变序列。 在一些方面，Fc包括变体1A-B的突变。在一些方面，Fc包括变体 2A-B的突变。在一些方面，Fc包括变体3A-B的突变。在一些方面， Fc包括变体4A-B的突变。在一些方面，Fc包括变体5A-B的突变。

[0129] 表A：IgG1Fc序列

[0130]

人 IgG1 Fc 序列 231-447 (EU 编号)	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: xxx)	
变体 IgG1 Fc 序列 (231-447)	**链**	**突变**
1	A	L351Y_F405A_Y407V
1	B	T366L_K392M_T394W
2	A	L351Y_F405A_Y407V
2	B	T366L_K392L_T394W
3	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
3	B	T350V_T366L_K392L_T394W
4	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
4	B	T350V_T366L_K392M_T394W
5	A	T350V_L351Y_S400E_F405A_Y407V
5	B	T350V_T366L_N390R_K392M_T394W

[0131] 关于全长人IgG1重链的氨基酸231至447，第一和第二CH3序 列可包含如本文描述的氨基酸突变。在一个实施方案中，异二聚体 Fc包含经修饰的CH3结构域，其第一CH3序列在位置F405和Y407 处具有氨基酸修饰，而第二CH3序列在位置T394处具有氨基酸修饰。 在一个实施方案中，异二聚体Fc包含经修饰的CH3结构域，其第一 CH3序列具有选自L351Y、F405A和Y407V的一个或多个氨基酸修 饰，而第二CH3序列具有选自T366L、T366I、K392L、K392M和 T394W的一个或多个氨基酸修饰。

[0132] 在一个实施方案中，异二聚体Fc包含经修饰的CH3结构域，其 第一CH3序列在位置L351、F405和Y407处具有氨基酸修饰，而第 二CH3序列在位置T366、K392和T394处具有氨基

酸修饰，并且第 一或第二CH3序列之一还包含在位置Q347处的氨基酸修饰，而另一 CH3序列还包含在位置K360处的氨基酸修饰。在另一个实施方案中， 异二聚体Fc包含经修饰的CH3结构域，其第一CH3序列在位置 L351、F405和Y407处具有氨基酸修饰，而第二CH3序列在位置T366、K392和T394处具有氨基酸修饰，第一或第二CH3序列之一还包含 在位置Q347处的氨基酸修饰，而另一个CH3序列还包含在位置K360 处的氨基酸修饰，并且所述CH3序列中的一个或两个还包含氨基酸 修饰T350V。

[0133] 在一个实施方案中，异二聚体Fc包含经修饰的CH3结构域，其 第一CH3序列在位置L351、F405和Y407处具有氨基酸修饰，而第 二CH3序列在位置T366、K392和T394处具有氨基酸修饰并且所述 第一和第二CH3序列之一还包含D399R或D399K的氨基酸修饰而 另一个CH3序列还包含T411E、T411D、K409E、K409D、K392E和 K392D中的一种或多种。在另一个实施方案中，异二聚体Fc包含经 修饰的CH3结构域，其第一CH3序列在位置L351、F405和Y407 处具有氨基酸修饰，而第二CH3序列在位置T366、K392和T394处 具有氨基酸修饰，所述第一和第二CH3序列之一还包含D399R或 D399K的氨基酸修饰而另一个CH3序列包含T411E、T411D、K409E、 K409D、K392E和K392D中的一种或多种，并且所述CH3序列中的 一个或两个还包含氨基酸修饰T350V。

[0134] 在一个实施方案中，异二聚体Fc包含经修饰的CH3结构域，其 第一CH3序列在位置L351、F405和Y407处具有氨基酸修饰，而第 二CH3序列在位置T366、K392和T394处具有氨基酸修饰，其中所 述CH3序列中的一个或两个还包含T350V的氨基酸修饰。

[0135] 在一个实施方案中，异二聚体Fc包含包括以下氨基酸修饰的经 修饰的CH3结构域，其中“A”表示对第一CH3序列的氨基酸修饰， 而“B”表示对第二CH3序列的氨基酸修饰：A:L351Y_F405A_Y407 V,B:T366L_K392M_T394W,A:L351Y_F405A_Y407V,B:T36 6L_K392L_T394W,A:T350V_L351Y_F405A_Y407V,B:T350V_ T366L_K392L_T394W,A:T350V_L351Y_F405A_Y407V,B:T35 0V_T366L_K392M_T394W,A:T350V_L351Y_S400E_F405A_Y407 V,和/或B:T350V_T366L_N390R_K392M_T394W。

[0136] 所述一个或多个不对称氨基酸修饰可促进异二聚体Fc的形成， 其中异二聚体CH3结构域具有与野生型同二聚体CH3结构域相当的 稳定性。在一个实施方案中，所述一个或多个不对称氨基酸修饰促进 异二聚体Fc结构域的形成，其中异二聚体Fc结构域具有与野生型同 二聚体Fc结构域相当的稳定性。在一个实施方案中，所述一个或多 个不对称氨基酸修饰促进异二聚体Fc结构域的形成，其中异二聚体 Fc结构域具有在差示扫描量热法研究中经由解链温度(Tm)所观察 到的稳定性，并且其中解链温度在对于相应对称野生型同二聚体Fc 结构域所观察到的解链温度的4℃以内。在一些方面，Fc包含在至少 一个C_{H3}序列中促进具有与野生型同二聚体Fc结构域的相当稳定性 的异二聚体Fc形成的一个或多个修饰。

[0137] 在一个实施方案中，可通过测量CH3结构域的解链温度，例如 通过差示扫描量热法(DSC)评估CH3结构域的稳定性。因此，在 另一个实施方案中，CH3结构域的解链温度为约68℃或更高。在另 一个实施方案中，CH3结构域的解链温度为约70℃或更高。在另一 个实施方案中，CH3结构域的解链温度为约72℃或更高。在另一个 实施方案中，CH3结构域的解链温度为约73℃或更高。在另一个实 施方案中，CH3结构域的解链温度为约75℃或更高。在另一个实施 方案中，CH3结构域的解链温度为约78℃或更高。在一些方面，二 聚化CH3序列

的解链温度(Tm)为约68、69、70、71、72、73、74、 75、76、77、77.5、78、79、80、81、82、83、84或85℃或更高。

[0138] 在一些实施方案中,在表达产物中包含经修饰的CH3序列的异 二聚体Fc与同二聚体Fc相比可以至少约75%的纯度形成。在另一个 实施方案中,异二聚体Fc可以高于约80%的纯度形成。在另一个实 施方案中,异二聚体Fc可以高于约85%的纯度形成。在另一个实施 方案中,异二聚体Fc可以高于约90%的纯度形成。在另一个实施方 案中,异二聚体Fc可以高于约95%的纯度形成。在另一个实施方案 中,异二聚体Fc可以高于约97%的纯度形成。在一些方面,Fc是在 表达时以高于约75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%的 纯度形成的异二聚体。在一些方面,Fc是在经由单细胞表达时以高 于约75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、 89、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%的纯度形成的异 二聚体。

[0139] 在国际专利公布第WO 96/027011号(knobs into holes)中,在 Gunasekaran等(Gunasekaran K.等(2010)J Biol Chem.285,19637-46, electrostatic design to achieve selective heterodimerization)中,在Davis 等(Davis,JH.等(2010)Prot Eng Des Sel;23(4):195-202,strand exchange engineered domain(SEED)technology)中,及在Labrijn等 [Efficient generation of stable bispecific IgG1by controlled Fab-arm exchange.Labrijn AF、Meesters JI、de Goeij BE、van den Bremer ET、 Neijssen J、van Kampen MD、Strumane K、Verploegen S、Kundu A、 Gramer MJ、van Berkel PH、van de Winkel JG、Schuurman J、Parren PW. Proc Natl Acad Sci USA.2013年3月26日;110(13):5145-50中描述了 另外的修饰单体Fc多肽以促进异二聚体Fc形成的方法。

[0140] CH2结构域

[0141] 在一些实施方案中,抗原结合构建体的Fc包含CH2结构域。Fc 的CH2结构域的一个实例为表A所示序列的氨基酸231-340。几种 效应子功能由与抗体的Fc结合的Fc受体(FcR)介导。

[0142] 术语“Fc受体”和“FcR”用于描述与抗体的Fc区结合的受体。例 如,FcR可以是天然序列人FcR。通常,FcR是结合IgG抗体的FcR (γ受体)并且包括FcγRI、FcγRII和FcγRIII亚类的受体,包括这些 受体的等位基因变体和可变剪切形式。FcγRII受体包括FcγRIIA(“活 化受体”)和FcγRIIB(抑制受体),其具有主要在其细胞质结构域上 不同的相似氨基酸序列。其它同种型的免疫球蛋白也可被某些FcR 结合(参见,例如,Janeway等,Immuno Biology:the immune system in health and disease,(Elsevier Science Ltd.,NY)(第4版,1999))。活化受体FcγRIIA在其细胞质结构域中含有免疫受体酪氨酸基活化 基序(ITAM)。抑制受体FcγRIIB在其细胞质结构域中含有免疫受体 酪氨酸基抑制基序(ITIM)(在Daëron,Annu Rev.Immunol.15:203-234 (1997)中有评论)。在Ravetch和Kinet,Annu.Rev.Immunol 9:457-92 (1991);Capel等,Immunomethods 4:25-34(1994);和de Haas等,J.Lab. Clin.Med.126:330-41(1995)中评论了FcR。其它FcR,包括将来鉴定 的FcR,均被本文的术语“FcR”所涵盖。该术语还包括新生儿受体, FcRn,其负责母体IgG向胎儿的转移(Guyer等,J.Immunol.117:587 (1976);和Kim等,J.Immunol.24:249(1994))。

[0143] CH2结构域中的修饰可影响FcR与Fc的结合。Fc区中的许多氨 基酸修饰在本领域中已知选择性地改变Fc对不同Fcγ受体的亲和力。 在一些方面,Fc包含促进Fc-γ受体的选

择性结合的一个或多个修饰。

[0144] 下面列出了改变Fcr与Fc的结合的示例性突变：

[0145] S298A/E333A/K334A、S298A/E333A/K334A/K326A(Lu Y、Vernes JM、Chiang N等J Immunol Methods.2011Feb 28;365(1-2): 132-41)；

[0146] F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L、F243L/R292P/Y300L/L235V/ P396L(Stavenhagen JB、Gorlatov S、Tuaillon N等Cancer Res.20 07年9月15日;67(18):8882-90;Nordstrom JL、Gorlatov S、Zhang W等Breast Cancer Res.2011年11月30日;13(6):R123)；

[0147] F243L(Stewart R、Thom G、Levens M等Protein Eng Des Sel.2011 年9月;24(9):671-8.)、S298A/E333A/K334A(Shields RL、Namenuk AK、Hong K等J Biol Chem.2001年3月2日;276(9):6591-604)；

[0148] S239D/I332E/A330L,S239D/I332E(Lazar GA、Dang W、Karki S 等Proc Natl Acad Sci USA.2006年3月14日;103(11):4005-10)；

[0149] S239D/S267E、S267E/L328F(Chu SY、Vostiar I、Karki S等Mol Immunol.2008年9月;45(15):3926-33)；

[0150] S239D/D265S/S298A/I332E、S239E/S298A/K326A/A327H、G23 7F/S298A/A330L/I332E、S239D/I332E/S298A、S239D/K326E/A330L/ I332E/S298A、G236A/S239D/D270L/I332E、S239E/S267E/H268D、L 234F/S267E/N325L、G237F/V266L/S267D和通过引用并入本文的W O2011/120134和WO2011/120135中所列的其它突变。Therapeutic A ntibody Engineering(William R.Strohl和Lila M.Strohl,2012年1 0月在Biomedicine No 11,ISBN 1 907568 37 9中的Woodhead Pu blishing系列)在第283页列出了突变。

[0151] 在一些实施方案中本文描述的抗原结合构建体包含结合抗原的 抗原结合多肽构建体;和二聚Fc,其具有优良生物物理性质如稳定 性并且相对于不包括相同二聚Fc的抗原结合构建体易于生产。在一 些实施方案中CH2结构域包含一个或多个不对称氨基酸修饰。在国 际专利申请第PCT/CA2014/050507号中描述了示例性不对称突变。

[0152] 改善效应子功能的附加修饰。

[0153] 在一些实施方案中本文描述的抗原结合构建体包括改善其介导 效应子功能的能力的修饰。此类修饰在本领域已知并且包括无岩藻糖 基化或Fc针对活化受体的亲和力的工程化,对于ADCC而言主要是 FCGR3a,且对于CDC而言是针对C1q。下表B总结了文献中对于效应子功能工程化而报道的各种设计。

[0154] 生成在Fc糖基化位点上(Asn 297EU编号)具有很少或没有岩 藻糖的抗原结合构建体,而不改变氨基酸序列的方法在本领域已知。GlymaX®技术(ProBioGen AG)是基于引入使岩藻糖生物合成的细 胞途径偏向用于抗原结合构建体生成的细胞的酶的基因。这样通过生 成抗原结合构建体的细胞防止向N-连接的抗体碳水化合物部分添加 糖“岩藻糖”。(von Horsten等(2010)Glycobiology.2010年12月;20(12): 1607-18。获得岩藻糖基化水平降低的抗原结合构建体的另一种方法 可以在美国专利8,409,572中找到,其教示选择用于抗原结合构建体 生成的细胞系的抗原结合构建体上产生更低岩藻糖基化水平的能力。抗原结合构建体可完全无岩藻糖基化(意味着其不含可检测的岩藻 糖)或其可部分无岩藻糖基化,意味着分离的抗体含有对于由哺乳动 物表达系统生成的类似抗体通常所检

测到的岩藻糖量的不到95％、不 到85％、不到75％、不到65％、不到55％、不到45％、不到35％、 不到25％、不到15％或不到5％。

[0155] 因此，在一个实施方案中，本文描述的构建体可包括二聚Fc， 其包含如表B中指出的赋予改善的效应子功能的一个或多个氨基酸 修饰。在另一个实施方案中，构建体可无岩藻糖基化以改善效应子功 能。

[0156] 表B:CH2结构域和效应子功能工程化。

[0157]

参考文献	突变	作用
Lu, 2011, Ferrara 2011, Mizushima 2011	无岩藻糖基化	ADCC 增强
Lu, 2011	S298A/E333A/K334A	ADCC 增强
Lu, 2011	S298A/E333A/K334A/K326A	ADCC 增强
Stavenhagen, 2007	F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L	ADCC 增强
Nordstrom, 2011	F243L/R292P/Y300L/L235V/P396L	ADCC 增强
Stewart, 2011	F243L	ADCC 增强
Shields, 2001	S298A/E333A/K334A	ADCC 增强
Lazar, 2006	S239D/I332E/A330L	ADCC 增强
Lazar, 2006	S239D/I332E	ADCC 增强
Bowles, 2006	AME-D, 未说明的突变	ADCC 增强
Heider, 2011	37.1, 未公开的突变	ADCC 增强
Moore, 2010	S267E/H268F/S324T	CDC 增强

[0158] 减少FcγR和/或补体结合和/或效应子功能的Fc修饰在本领域已 知。近期出版物描述了已用于工程化效应子活性降低或沉默的抗体的 策略(参见Strohl,WR(2009),Curr Opin Biotech 20:685-691,和Strohl, WR和Strohl LM,在Therapeutic Antibody Engineering中的“Antibody Fc engineering for optimal antibody performance”, Cambridge: Woodhead Publishing(2012),第225-249页)。这些策略包括通过糖基 化的修饰、使用IgG2/IgG4骨架或在Fc的铰链或CH2区引入突变而 降低效应子功能。例如，美国专利公布第2011/0212087号(Strohl)、 国际专利公布第WO 2006/105338号(Xencor)、美国专利公布第 2012/0225058号(Xencor)、美国专利公布第2012/0251531号 (Genentech)和Strop等((2012)J.Mol.Biol.420:204-219)描述了 减少FcγR或补体与Fc结合的特异性修饰。

[0159] 减少FcγR或补体与Fc结合的已知氨基酸修饰的具体、非限制性 实例包括下表中

标识的那些：

[0160] 表C:减少FcγR或补体与Fc结合的修饰

[0161]

公司	突变
GSK	N297A
Ortho Biotech	L234A/L235A
Protein Design labs	IGG2 V234A/G237A
Wellcome Labs	IGG4 L235A/G237A/E318A
GSK	IGG4 S228P/L236E
Alexion	IGG2/IGG4组合
Merck	IGG2H268Q/V309L/A330S/A331S
Bristol-Myers	C220S/C226S/C229S/P238S
Seattle Genetics	C226S/C229S/E3233P/L235V/L235A
Amgen	大肠杆菌(E.coli)生成,非糖基化
Medimune	L234F/L235E/P331S
Trubion	铰链突变体,可能是C226S/P230S

[0162] 在一个实施方案中,Fc包含上表所标识的至少一个氨基酸修饰。在另一个实施方案中,Fc包含L234、L235或D265中至少一个的氨 基酸修饰。在另一个实施方案中,Fc包含在L234、L235和D265处 的氨基酸修饰。在另一个实施方案中,Fc包含氨基酸修饰L234A、L235A和D265S。

[0163] 接头和接头多肽

[0164] 抗原结合构建体的每一个抗原结合多肽构建体与接头多肽可操 作地连接,其中所述接头多肽能够相互形成共价键。包含第一和第二 抗原结合多肽构建体及接头多肽的抗原结合构建体的空间构象与通 过木瓜蛋白酶消化生成的F(ab')2片段的互补位的相对空间构象类 似,虽然在本文描述的双特异性抗原结合构建体的情况下,两个抗原 结合多肽构建体呈Fab-scFv或scFv-scFv形式。

[0165] 因此,选择接头多肽使其保持F(ab')片段的互补位的相对空间构 象,并且能够形成与IgG核心铰链中的二硫键等效的共价键。合适的 接头多肽包括IgG铰链区,例如来自于IgG1、IgG2或IgG4的铰链 区。也可以使用这些示例性接头的经修饰型式。例如,在本领域中已 知提高IgG4铰链稳定性的修饰(参见例如,Labrijn等(2009)Nature Biotechnology 27,767-771)。

[0166] 在一个实施方案中,接头多肽与此处描述的骨架,例如Fc可操 作地连接。在一些方面,Fc经一个或多个接头与所述一个或多个抗 原结合多肽构建体偶合。在一些方面,Fc通过接头与每个抗原结合 多肽的重链偶合。

[0167] 在其它实施方案中,接头多肽与除Fc以外的骨架可操作地连接。许多替代性蛋白质或分子结构域在本领域已知并且可用于形成两个 不同抗原结合多肽的选择性配对。实例为亮氨酸拉链结构域如一起选 择性配对的Fos和Jun[S A Kostelny、M S Cole和J Y Tso.Formation of a bispecific antibody by the use of leucine zippers.J Immunol 1992 148:1547-53;Bemd J.Wranik、Erin L.Christensen、Gabriele Schaefer、Janet K.Jackman、Andrew C.Vendel和Dan Eaton.LUZ-Y,a Novel Platform for the

Mammalian Cell Production of Full-length IgG-bispecific AntibodiesJ.Biol.Chem.2012 287:43331-43339]。可选 地,也可以采用其它选择性配对分子对如芽胞杆菌RNA酶抑制剂 (barnase barstar)对[Deyev,S.M.、Waibel,R.、Lebedenko,E.N.、Schubiger,A.P.和Plückthun,A.(2003).Design of multivalent complexes using the barnase*barstar module.Nat Biotechnol 21,1486-1492]、DNA链对[ZahidaN.Chaudri、Michael Bartlet-Jones、George Panayotou、Thomas Klonisch、Ivan M.Roitt、Torben Lund、Peter J.Delves,Dual specificity antibodies using a double-stranded oligonucleotide bridge, FEBS Letters,第450卷,1-2期,1999年4月30日,第23-26页]、脱落荧光蛋白对[Ulrich Brinkmann,Alexander Haas.Fluorescent antibody fusion protein,its production and use,WO 2011135040A1]。

[0168] 解离常数(K_D)和最大结合量(Bmax)

[0169] 在一些实施方案中,通过功能特征,包括但不限于解离常数和最 大结合量描述抗原结合构建体。

[0170] 如本文中所用的术语“解离常数(K_D)”意在指特定配体-蛋白质 相互作用的平衡解离常数。如本文中所用,配体-蛋白质相互作用是 指,但不限于蛋白质-蛋白质相互作用或抗体-抗原相互作用。K_D量度 两种蛋白质(例如AB)可逆地解离成较小组分(A+B)的倾向,并 且定义为解离速率(也称为“分离速率(k_{off})”)与缔合速率(或“结 合速率(k_{on})”)之比。因此,K_D等于k_{off}/k_{on}并且表示为摩尔浓度(M)。 由此断定K_D越小,结合亲和力越强。因此,1mM的K_D指示与1nM 的K_D相比较弱的结合亲和力。可使用本领域完善的方法测定抗原结 合构建体的K_D值。一种测定抗原结合构建体K_D的方法是通过使用 表面等离子体共振(SPR),通常使用生物传感系统如Biacore®系统。 等温滴定量热法(ITC)是另一种可以用于测定的方法。

[0171] 可通过各种技术测定抗原结合构建体的结合特征。其中一种是通 过流式细胞术(FACS,荧光活化细胞分选)测量与表达抗原的靶细 胞的结合。通常,在此类实验中,使表达目标抗原的靶细胞与抗原结 合构建体在不同浓度下温育,洗涤,与用于检测抗原结合构建体的辅 助试剂温育,洗涤并且在流式细胞仪中分析以测量表示细胞上检测信 号的强度的中位荧光强度(MFI),检测信号的强度又和与细胞结合 的抗原结合构建体的数量有关。然后将抗原结合构建体浓度与MFI 数据拟合到饱和结合方程式中以得到两个关键结合参数,Bmax和表 观K_D。

[0172] 表观K_D或表观平衡解离常数,表示观察到半最大细胞结合量时 的抗原结合构建体浓度。显然,K_D值越小,达到最大细胞结合量所 需的抗原结合构建体浓度越小并且因此抗原结合构建体的亲和力越 高。表观K_D取决于细胞结合实验的条件,如在细胞上表达的不同受 体水平和温育条件,并且因此表观K_D通常不同于由无细胞分子实验 如SPR和ITC测定的K_D值。然而,在不同方法之间通常存在良好的 一致性。

[0173] 术语“Bmax”或最大结合量,是指在抗原结合构建体的饱和浓度 下细胞上的最高抗原结合构建体结合水平。该参数为了相对比较可以 按任意单位MFI报道,或借助于标准曲线转化成对应于和细胞结合 的抗原结合构建体的数量的绝对值。在一些实施方案中,抗原结合构 建体展示出为参考抗原结合构建体的Bmax的1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、 1.6、1.7、1.8、1.9或2.0倍的Bmax。

[0174] 对于本文描述的抗原结合构建体而言，Bmax与FSA最明确的分 离发生在饱和浓度下和其中Bmax不能再随FSA增加时。在非饱和 浓度下显著性较低。在一个实施方案中与参考抗原结合构建体相比所 述抗原结合构建体的Bmax和KD的增加不依赖靶细胞上的靶抗原表 达水平。

[0175] 在一些实施方案中本文描述了分离的抗原结合构建体，其中所述 抗原结合构建体与相应参考抗原结合构建体相比在对于表达所述抗 原的靶细胞的Bmax(最大结合量)方面展示出增加。在一些实施方 案中所述Bmax的增加是相应参考抗原结合构建体的Bmax的至少约 125％。在某些实施方案中，Bmax的增加是相应参考抗原结合构建体 的Bmax的至少约150％。在一些实施方案中，Bmax的增加是相应参 考抗原结合构建体的Bmax的至少约200％。在一些实施方案中，Bmax 的增加高于相应参考抗原结合构建体的Bmax的约110％。

[0176] 增强的效应子功能

[0177] 在一个实施方案中，本文描述的双特异性抗原结合构建体与每种 相应的单特异性二价抗原结合构建体相比(即，和与ECD2结合的单 特异性二价抗原结合构建体或与ECD4结合的单特异性二价抗原结 合构建体相比)和/或与两种单特异性二价抗原结合构建体的组合相 比展示出增强的效应子功能。抗体“效应子功能”是指可归因于抗体 Fc结构域(天然序列Fc结构域或氨基酸序列变体Fc结构域)的那 些生物活性。抗体效应子功能的实例包括C1q结合；补体依赖性细 胞毒性(CDC)；Fc受体结合；抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)；抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)；细胞表面受体(例 如B细胞受体；BCR)的下调等。

[0178] ADCC

[0179] 因此，在一个实施方案中，双特异性抗原结合构建体呈Fab-scFv 形式并且在ADCC测定中在表达1+水平的HER2的细胞中展示出比 呈Fab-Fab形式的形式参考抗原结合构建体更高的效力。

[0180] 在一个实施方案中，双特异性抗原结合构建体在ADCC测定中 展示出比为曲妥珠单抗或其类似物的参考抗原结合构建体更高的最 大限度细胞裂解作用。在一个实施方案中，双特异性抗原结合构建体 呈Fab-scFv形式并且在ADCC测定中展示出比为曲妥珠单抗或其类 似物，或曲妥珠单抗或帕妥珠单抗类似物组合的参考抗原结合构建体 更高的最大限度细胞裂解作用。在一个实施方案中，双特异性抗原结 合构建体呈Fab-scFv形式并且在ADCC测定中在表达1+或更高水平 的HER2的细胞中展示出比为曲妥珠单抗或其类似物的参考抗原结 合构建体更高的最大限度细胞裂解作用。在一个实施方案中，双特异 性抗原结合构建体呈Fab-scFv形式并且在ADCC测定中在HER2 2+/3+细胞中展示出比为曲妥珠单抗或其类似物的参考抗原结合构建 体更高的效力。

[0181] 内化

[0182] 本文描述的双特异性抗原结合构建体通过与受体HER2结合内 化于HER2+细胞中。因此，本文描述的双特异性抗原结合构建体能 够诱导在HER2+细胞中的受体内化。在一个实施方案中，双特异性 抗原结合构建体呈Fab-scFv形式并且在表达3+水平的HER2的细胞中诱导比呈Fab-Fab形式的形式参考抗原结合构建体更强的HER2内 化。在一个实施方案中，双特异性抗原结合构建体呈Fab-scFv形式 并且在表达2+或3+水平的HER2的细胞中诱导比呈Fab-Fab形式的 形式参考抗原结合构建体更强的HER2内化。在一个实施方案中，双特异性抗原结合构建体呈scFv-scFv形式并且在表达1+、2+或3+水 平的HER2的细胞中诱导

比呈Fab-Fab形式的形式参考抗原结合构建 体更强的HER2内化。

[0183] 细胞毒性

[0184] 双特异性抗原结合构建体可如本文其它地方所述制备成ADC并 且对细胞有毒性。在一个实施方案中,双特异性抗原结合构建体ADC 在细胞毒性或细胞存活测定中在HER2+乳腺癌细胞中比为曲妥珠单 抗或其类似物的参考抗原结合构建体,或在HER2 1+、2+、2+/3+或 3+细胞中比为T-DM1和帕妥珠单抗的组合的参考抗原结合构建体展 示出更高的效力。

[0185] 对FcγR增加的结合能力

[0186] 在一些实施方案中,双特异性抗原结合构建体对一种或多种 FcγR表现出更高的结合能力(Rmax)。在一个实施方案中,双特异 性抗原结合构建体在对一种或多种FcγR的Rmax上表现出高于为 v506或v6246,具有同二聚体Fc的参考抗原结合构建体约1.3至2 倍之间的增加。在一个实施方案中,双特异性抗原结合构建体在对 CD16FcγR的Rmax上表现出高于参考二价抗原结合构建体约1.3至 1.8倍之间的增加。在一个实施方案中,双特异性抗原结合构建体在 对CD32FcγR的Rmax上表现出高于参考二价抗原结合构建体约1.3 至1.8倍之间的增加。在一个实施方案中,双特异性抗原结合构建体 在对CD64FcγR的Rmax上表现出高于参考二价抗原结合构建体约 1.3至1.8倍之间的增加。

[0187] 对FcγR增强的亲和力

[0188] 本文提供的双特异性抗原结合构建体与参考抗原结合构建体如 曲妥珠单抗相比对FcγR具有增强的亲和力。由结合引起的Fc浓度增 加与增强的ADCC和/或其它免疫效应子杀伤机制一致。

[0189] 在一些实施方案中,双特异性抗原结合构建体对一种或多种 FcγR表现出增强的亲和力。在一个实施方案中,双特异性抗原结合 构建体包含与HER2结合的抗原结合多肽时,双特异性抗原结合构建 体对至少一种FcγR表现出增强的亲和力。与该实施方案一致,双特 异性抗原结合构建体对CD32表现出增强的亲和力。

[0190] FcRn结合和PK参数

[0191] 在一些实施方案中,本文描述的抗原结合构建体能够结合FcRn。正如本领域中已知,与FcRn的结合使内吞抗体从内体循环回到血流 中(Raghavan等,1996,Annu Rev Cell Dev Biol 12:181-220;Ghetie 等,2000,Annu Rev Immunol 18:739-766)。这个过程,加上由于全 长分子的大尺寸引起的妨碍肾过滤,产生范围为1至3周的有利抗体 血清半衰期。Fc与FcRn的结合在抗体运输方面也起关键作用。

[0192] 药代动力学参数

[0193] 在某些实施方案中,本文提供的双特异性抗原结合构建体表现出 与市场上可买到的治疗性抗体相当的药代动力学(PK)性质。在一 个实施方案中,就血清浓度、t1/2、β半衰期和/或CL而言,本文描 述的双特异性抗原结合构建体表现出与已知治疗性抗体类似的PK性 质。在一个实施方案中,双特异性抗原结合构建体表现出比得上或高 于所述单特异性二价抗原结合构建体的体内稳定性。此类体内稳定性 参数包括血清浓度、t1/2、β半衰期和/或CL。

[0194] 双特异性抗原结合构建体的测试。FcγR、FcRn和C1q结合

[0195] 双特异性抗原结合构建体的效应子功能可如下测试。可进行体外 和/或体内细胞毒性测定以评估ADCP、CDC和/或ADCC活性。例如, 可进行Fc受体(FcR)结合测定以测量Fcγ

R结合。介导ADCC的原 代细胞,NK细胞,仅表达Fc γ RIII,而单核细胞表达Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII。在Ravetch和Kinet,Annu.Rev.Immunol 9:457-92(1991) 第464页上的表3中总结了造血细胞上的FcR表达。在美国专利第 5,500,362或5,821,337号中描述了评估目标分子的ADCC活性的体外 测定的实例。用于此类测定的有用的效应细胞包括外周血单核细胞 (PBMC)和天然杀伤(NK)细胞。可选地或另外,可以在体内, 例如在诸如Clynes等PNAS(USA)95:652-656(1998)公开的动物模型 中评估目标分子的ADCC活性。也可进行C1q结合测定以确定双特 异性抗原结合构建体是否能够结合C1q并因此激活CDC。为评估补 体活化,可进行CDC测定,例如,如Gazzano-Santoro等,J.Immunol. Methods 202:163(1996)中所述。也可以使用本领域公知的方法进行抗 体的FcRn结合(如通过SPR)和体内PK测定。

[0196] 抗原结合构建体的测试:HER2结合

[0197] 在体外测试本文描述的抗原结合构建体或药物组合物,然后在人 中使用之前,在体内测试其所需的治疗或预防活性。例如,证明化合 物或药物组合物的治疗或预防实用性的体外测定包括化合物对细胞 系或患者组织样品的影响。化合物或组合物对细胞系和/或组织样品 的影响可以利用本领域技术人员已知的技术测定,包括但不限于玫瑰 花形成测定(rosette formation assay)和细胞裂解测定。根据本发明,可 用于确定是否指示施用特异性抗原结合构建体的体外测定包括体外 细胞培养测定,或其中患者组织样品在培养中生长,暴露于或以其它 方式施用抗原结合构建体的体外测定,并且观察到此类抗原结合构建 体对组织样品的影响。

[0198] 可使用表达HER2的细胞,例如乳腺癌细胞系测定候选抗原结合 构建体。下面表D描述了在几种代表性癌细胞系中HER2的表达水 平。

[0199] 表D-在目标细胞系中HER2的相对表达水平

[0200]

细胞系	描述	IHC 评分	HER2 受体/个细胞
NCI-N87	人胃癌	3+	未评估
A549	人肺泡癌（非小细胞肺癌）	0/1+	未评估
BxPC-3	人胰腺癌	1+	未评估
MIAPaCa-2	人胰腺导管腺癌	2+	未评估
FaDu	人咽部鳞状细胞癌	2+	未评估
HCT-116	人结直肠上皮癌	1+	未评估
WI-38	正常胎儿肺	0	1.0x10E4
MDA-MB-231	人三阴性乳腺上皮腺癌	0/1+	1.7x10E4-2.3x10E4
MCF-7	人雌激素受体阳性乳腺上皮腺癌	1+	4x10E4-7x10E4
JIMT-1	曲妥珠单抗抗性乳腺上皮癌，扩增的 HER2 致癌基因，对 HER2 抑制性药物（即赫塞汀™）不敏感	2+	2x10E5-8x10E5
ZR-75-1	雌激素受体阳性乳腺导管癌	2+	3x10E5
SKOV-3	人卵巢上皮腺癌，HER2 基因扩增	2/3+	5x10E5-1x10E6
SK-BR-3	人乳腺上皮腺癌	3+	>1x10E6
BT-474	人乳腺上皮导管癌	3+	>1x10E6

[0201] McDonagh等Mol Cancer Ther.2012年3月;11(3):582-93;Subik 等(2010)Breast Cancer:Basic Clinical Research:4;35-41;Carter等 PNAS,1994:89;4285-4289;Yarden

2000,HER2:Basic Research, Prognosis and Therapy;Hendricks等Mol Cancer Ther 2013;12:1816-28。

[0202] 正如本领域已知,可采用许多测定以便鉴定适合用于本文描述的 方法的抗原结合构建体。这些测定可在表达HER2的癌细胞中进行。表A5中鉴定了合适的癌细胞的实例。如下描述了可进行的测定的实 例。

[0203] 例如,为鉴定结合HER2的生长抑制性候选抗原结合构建体,可 筛选抑制表达HER2的癌细胞的生长的抗体。在一个实施方案中,所 选候选抗原结合构建体与对照抗原结合构建体相比能够抑制细胞培 养中的癌细胞的生长约20-100%并且优选约50-100%。

[0204] 为选择诱导细胞死亡的候选抗原结合构建体,可相对于对照评估 由例如PI(磷脂酰肌醇)、锥虫蓝或7AAD摄取量指示的膜完整性丧 失。

[0205] 为了选择诱导凋亡的候选抗原结合构建体,可采用膜联蛋白 (annexin)结合测定。除膜联蛋白结合测定外,也可使用DNA染色 测定。

[0206] 在一个实施方案中,如同在免疫共沉淀实验中所测定的那样,目 标候选抗原结合构建体可比单克隆抗体4D5大体上更有效地,并且 优选比单克隆抗体7F3大体上更有效地阻断在MCF7和SK-BR-3细 胞中ErbB2与ErbB3的调蛋白依赖性缔合。

[0207] 为筛选与被目标抗体结合的ErbB2上的表位结合的抗原结合构 建体,可进行诸如Antibodies,A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,Harlow和David Lane编辑(1988)中描述的常规交叉阻断 测定。可选地或另外,可通过本领域已知的方法进行表位作图。

[0208] 可通过其中受验抗原结合构建体抑制或阻断参考抗原结合构建 体与共同抗原的特异性结合的测定来确定抗原结合构建体之间的竞 争(参见,例如,Junghans等,Cancer Res.50:1495,1990;Fendly等 Cancer Research 50:1550-1558;US 6,949,245)。如在竞争结合测定中 所测量的,如果过量的测试抗原结合构建体(例如,至少2倍、5倍、 10倍、20倍或100倍)抑制或阻断参考抗原结合构建体的结合例如 至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%,则测 试抗原结合构建体与参考抗原结合构建体竞争。通过竞争测定鉴定的 抗原结合构建体(竞争性抗原结合构建体)包括与和参考抗原结合构 建体相同的表位结合的抗原结合构建体及与足够靠近被参考抗原结 合构建体结合的表位的相邻表位结合而发生位阻的抗原结合构建体。例如,可以鉴定与本文描述的第一抗原结合构建体竞争与HER2结合 的第二竞争性抗原结合构建体。在某些情况下,在竞争结合测定中所 测量的,第二构建体可阻断或抑制第一构建体的结合,例如至少50%、 60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%。在某些情况下, 第二构建体可置换第一构建体高于50%、60%、70%、75%、80%、 85%、90%、95%或99%。

[0209] 在一些实施方案中,测定本文描述的抗原结合构建体在体内,例 如在动物模型中的功能。在一些实施方案中,动物模型是表E中描述 的动物模型。在一些实施方案中,所述抗原结合构建体与参考抗原结 合构建体相比在动物模型中表现出治疗功效方面的增强。

[0210] 表E:用于测试HER2结合抗原结合构建体的动物模型

[0211]

异种移植模型	描述	参考文献
SKOV3 人卵巢癌	HER2+/3+，基因扩增，对曲妥珠单抗中度敏感	Rhodes 等 2002. American Journal of Pathology 118:408-417; Sims 等 2012. British Journal of Cancer 106: 1779-1789
HBCx-13b 人转移性乳腺癌	HER2 3+、雌激素受体阴性、孕酮受体阴性；浸润性乳腺导管癌；化疗抗性、曲妥珠单抗抗性	Marangoni 等 2007. Clinical Cancer Research 13:3989-3998；Reyal 等 2012. Breast Cancer Research 14: R11
T226 人乳腺癌	HER2 3+、雌激素受体阴性、孕酮受体阴性；炎性乳腺癌；曲妥珠单抗抗性、多西他赛（Docetaxel）和卡培他滨（capecitabine）中度敏感、阿霉素（Adriamycin）/环磷酰胺（cyclophosphamide）敏感	
HBCx-5 人乳腺癌	HER2 3+、雌激素受体阴性、孕酮受体阴性；浸润性导管癌，管腔 B 型；曲妥珠单抗抗性、多西他赛中度敏感、卡培他滨、阿霉素/环磷酰胺敏感	Marangoni 等 2007. Clinical Cancer Research 13:3989-3998；Reyal 等 2012. Breast Cancer Research 14: R11
JIMT-1 人乳腺癌	HER2 2+、HER2 基因扩增、曲妥珠单抗和帕妥珠单抗抗性	Tanner 等 2004. Molecular Cancer Therapeutics 3: 1585-1592

[0212]

[0213] 参考抗原结合构建体

[0214] 在一些实施方案中，将本文描述的双特异性抗原结合构建体的功 能特征与参考抗原结合构建体的功能特征做比较。参考抗原结合构建 体的特性取决于测量的功能特征或产生的区别。例如，在比较示例性 双特异性抗原结合构建体的功能特征时，参考抗原结合构建体可为曲 妥珠单抗类似物，例如v506，或可为抗体如曲妥珠单抗和帕妥珠单 抗的组合(v4184)。在比较双特异性抗原结合构建体的形式的实施方 案中，参考抗原结合构建体为，例如双互补位抗HER2抗体，其中两 个抗原结合部分均呈Fab-Fab形式(形式参考抗原结合构建体)。后 一种构建体的实例包括v6902和v6903。

[0215] 抗原结合构建体和抗体药物偶联物(ADC)

[0216] 在某些实施方案中抗原结合构建体与药物，例如毒素、化疗剂、免疫调节剂或放射性同位素偶联。在本领域中已知几种制备ADC(抗 体药物偶联物或抗原结合构建体药物偶联物)的方法并且例如在美国 专利8,624,003(一锅法)、8,163,888(一步法)和5,208,020(两步法) 中有描述。

[0217] 在一些实施方案中，所述药物选自美登素、澳瑞他汀(auristatin)、卡奇霉素(calicheamicin)或其衍生物。在其它实施方案中，所述药 物是选自DM1和DM4的美登素。下面描述了更多实例。

[0218] 在一些实施方案中，所述药物经SMCC接头(DM1)或SPDB 接头(DM4)与分离的抗原结合构建体偶联。下面描述了另外的实例。药物:抗原结合蛋白比率(DAR)可为1.0至6.0或3.0至5.0或3.5-4.2。

[0219] 在一些实施方案中，抗原结合构建体与细胞毒性剂偶联。如本文 中所用的术语“细胞毒性剂”是指抑制或妨碍细胞功能和/或引起细胞 破坏的物质。该术语旨在包括放射性同位素(例如At211、I131、I125、 Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32和Lu177)、化疗剂及毒 素如细菌、真菌、植物或动物来源的小分子毒素或酶活性毒素，包括 其片段和/或变体。下面描述了更多实例。

[0220] 药物

[0221] 在ADC的各个实施方案中使用的药物或有效负载的非限制性实 例包括DM1(美登素，N2’-脱乙酰基-N2’-(3-巯基-1-氧代丙基)-或N2’- 脱乙酰基-N2’-(3-巯基-1-氧代丙基)-美登素)、mc-MMAD(6-马来酰 亚胺己酰基-单甲基澳瑞他汀-D或N-甲基-L-缬氨酰-N-[(1S,2R)-2-甲 氧基-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-[[(1S)-2-苯基-1-(2- 噻唑基)乙基]氨基]丙基]-1-吡咯烷基]-1-[(1S)-1-甲基丙基]-4-氧代丁 基]-N-甲基-(9C1)-L-缬氨酰胺)、mc-MMAF(马来酰亚胺己酰基-单甲 基澳瑞他汀F或N-[6-(2,5-二氢-2,5-二氧代-1H-吡咯-1-基)-1-氧代己 基]-N-甲基-L-缬氨酰-L-缬氨酰-(3R,4S,5S)-3-甲氧基-5-甲基-4-(甲氨 基)庚酰-(αR,βR,2S)-[β-甲氧基-α-甲基-2-吡咯烷丙酰基-L-苯丙氨酸) 和mc-Val-Cit-PABA-MMAE(6-马来酰亚胺己酰基-ValcCit-(对氨基苄 氧基羰基)-单甲基澳瑞他汀E或N-[[[4-[[N-[6-(2,5-二氢-2,5-二氧-1H- 吡咯-1-基)-1-氧代己基]-L-缬氨酰-N5-(氨基羰基)-L-鸟氨酰]氨基]苯 基]甲氧基]羰基]-N-甲基-L-缬氨酰 -N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[(1R,2S)-2-羟基-1-甲基-2-苯乙基]氨 基]-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基]-1-吡咯烷基]-2-甲氧基-1-[(1S)-1-甲 基丙基]-4-氧代丁基]-N-甲基-L-缬氨酰胺)。DM1是微管蛋白抑制剂 美登素的衍生物，而MMAD、MMAE和MMAF是澳瑞他汀衍生物。

[0222] 美登木素(Maytansinoid)药物部分

[0223] 如上所示，在一些实施方案中所述药物为美登素。示例性美登木 素包括DM1、DM3(N^2’-脱乙酰基-N^2’-(4-巯基-1-氧代戊基)美登素) 和DM4(N^2’-脱乙酰基-N^2’-(4-甲基-4-巯基-1-氧代戊基)甲基美登素) (参见US20090202536)。

[0224] 已知美登素化合物上的许多位置根据连接的类型可用作连接位 置。例如，为了形成酯键，具有羟基的C-3位置、经羟甲基修饰的 C-14位置、经羟基修饰的C-15位置和具有羟基的C-20位置全部适 合。

[0225] 对于本文描述的ADC考虑到了美登木素(maytansinoid)药物部 分的所有立体异构体，即在D手性碳上的R和S构型的任何组合。

[0226] 澳瑞他汀

[0227] 在一些实施方案中，所述药物为澳瑞他汀，如澳瑞他汀E(在本 领域中也称为尾海兔素-10(dolastatin-10)的衍生物)或其衍生物。澳瑞他汀可以是，例如，澳瑞他汀E和酮酸之间形成的酯。例如，澳 瑞他汀E可与对乙酰苯甲酸或苯甲酰戊酸反应分别生成AEB和AEVB。其它典型澳瑞他汀包括AFP、MMAF和MMAE。在美国专 利第6,884,869、7,098,308、7,256,257、7,423,116、7,498,298和7,745,394 中公开了示例性澳瑞他汀的合成和结构，所

述每个专利通过引用整体 并入本文并用于所有目的。

[0228] 化疗剂

[0229] 在一些实施方案中,抗原结合构建体与化疗剂偶联。实例包括但 不限于顺铂(Cisplantin)和拉帕替尼(Lapatinib)。“化疗剂”是用于 癌症治疗的化学化合物。

[0230] 化疗剂的实例包括烷化剂如噻替派(thiotepa)和环磷酰胺 (CYTOXAN™);磺酸烷基酯类如白消安(busulfan)、英丙舒凡 (improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan);氮丙啶类(aziridine)如苯 佐替派(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、美妥替派(meturedopa)和乌瑞替派(uredopa);乙烯亚胺类和甲基蜜胺类(methylamelamines), 包括六甲蜜胺、三亚乙基蜜胺、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰 胺和三羟甲基蜜胺;氮芥类,如苯丁酸氮芥(chlorambucil)、萘氮芥 (chlornaphazine)、氯磷酰胺、雌氮芥(estramustine)、异环磷酰胺 (ifosfamide)、氮芥(mechlorethamine)、氧化氮芥盐酸盐 (mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法仑(melphalan)、新恩 比兴(novembichin)、苯芥胆甾醇(phenesterine)、泼尼氮芥 (prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥;硝基脲类 (nitrosureas),如卡莫司汀(carmustine)、氯脲霉素(chlorozotocin)、 福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine) 和雷莫司汀(ranimustine);抗生素类,如阿克拉霉素(aclacinomysin)、 放线菌素(actinomycin)、氨茴霉素(authramycin)、偶氮丝氨酸 (azaserine)、博来霉素(bleomycin)、放线菌素C(cactinomycin)、 卡奇霉素、卡拉比星(carabicin)、洋红霉素(carminomycin)、嗜癌 霉素(carzinophilin)、色霉素(chromomycin)、放线菌素D (dactinomycin)、柔红霉素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、 6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸、多柔比星、表柔比星(epirubicin)、依 索比星(esorubicin)、伊达比星(idarubicin)、麻西罗霉素(marcellomycin)、丝裂霉素(mitomycin)、麦考酚酸、诺拉霉素 (nogalamycin)、橄榄霉素(olivomycin)、培洛霉素(peplomycin)、 泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素(puromycin)、三铁阿霉素 (quelamycin)、罗多比星(rodorubicin)、链黑霉素(streptonigrin)、 链佐星(streptozocin)、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、 净司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin);抗代谢物类,如甲氨 蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物,如二甲叶酸(denopterin)、 甲氨蝶呤、蝶罗呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate);嘌呤类 似物,如氟达拉滨(fludarabine)、6-巯嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、 硫鸟嘌呤(thioguanine);嘧啶类似物,如安西他滨(ancitabine)、阿 扎胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷、双 脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨(enocitabine)、氟尿苷、5-FU; 雄激素类,如卡普睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、环硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾内 酯(testolactone);抗肾上腺素药,如氨鲁米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane);叶酸补充剂,如亚叶酸 (frolinic acid);醋葡醛内酯;醛磷酰胺糖苷;氨基乙酰丙酸;安吖 啶(amsacrine);bestrabucil;比生群(bisantrene);依达曲沙(edatraxate); 地磷酰胺(defofamine);地美可辛(demecolcine);地吖醌(diaziquone); 依氟鸟氨酸(elfornithine);依利醋铵(elliptinium acetate);依托格鲁 (etoglucid);硝酸镓;羟基脲;香菇多糖(lentinan);氯尼达明 (lonidamine);米托胍腙(mitoguazone);米托蒽醌(mitoxantrone); 莫哌达醇

(mopidamol)；二胺硝吖啶(nitracrine)；喷司他丁 (pentostatin)；蛋氨氮芥(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；鬼臼 酸(podophyllinic acid)；2-乙基酰肼；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK7； 雷佐生(razoxane)；西佐喃(sizofiran)；锗螺胺(spirogermanium)； 细交链孢菌酮酸；三亚胺醌(triaziquone)；2,2',2'＝-三氯三乙胺；乌 拉坦(urethan)；长春地辛(vindesine)；达卡巴溱(dacarbazine)；甘 露莫司汀(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴卫矛醇 (mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；gacytosine；阿糖胞苷 (“Ara-C”)；环磷酰胺；噻替派；紫杉烷类，例如紫杉醇(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology,Princeton,N.J.)和多西他赛 (TAXOTERE®, Rhône-PoulencRorer,Antony,France)；苯丁酸氮芥 (chlorambucil)；吉西他滨(gemcitabine)；6-硫鸟嘌呤；巯基嘌呤； 甲氨蝶呤；铂类似物，如顺铂和卡铂(carboplatin)；长春花碱；铂； 依托泊苷(etoposide)(VP-16)；异环磷酰胺；丝裂霉素C；米托蒽 醌；长春新碱(vincristine)；长春瑞滨(vinorelbine)；诺维苯(navelbine)； 能灭瘤(novantrone)；替尼泊苷(teniposide)；柔红霉素(daunomycin)； 氨基蝶呤(aminopterin)；希罗达(xeloda)；伊班膦酸盐(ibandronate)； CPT-11；拓朴异构酶抑制剂RFS 2000；二氟甲基鸟氨酸(DMFO)； 维甲酸；埃斯培拉霉素(esperamicin)；卡培他滨(capecitabine)；及 以上任何烷化剂的药学上可接受的盐、酸或衍生物。在本定义中还包括起调节或抑制对肿瘤的激素作用的抗激素剂，如抗雌激素药，包括 例如他莫昔芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、抑制芳香酶的 4(5)-咪唑类、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、盐酸雷洛西 芬(keoxifene)、LY117018、奥那司酮(onapristone)和托瑞米芬 (toremifene)(Fareston)；和抗雄激素药，如氟他胺(flutamide)、尼 鲁米特(nilutamide)、比卡鲁胺(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide) 和戈舍瑞林(goserelin)；及以上任何试剂的药学上可接受的盐、酸 或衍生物。

[0231] 偶联接头

[0232] 在一些实施方案中，所述药物通过接头与抗原结合构建体，例如 抗体连接。接头与抗体的连接可按多种方式实现，例如通过表面赖氨 酸、与氧化碳水化合物的还原偶合及通过还原链间二硫键释放的半胱 氨酸残基。在本领域中已知多种ADC连接系统，包括腙键、二硫键 和肽基键。

[0233] 合适的接头包括，例如，可裂解和不可裂解的接头。可裂解接头 通常对在细胞内条件下的裂解敏感。合适的可裂解接头包括，例如， 可被细胞内蛋白酶，如溶酶体蛋白酶或内体蛋白酶裂解的肽接头。在 示例性实施方案中，接头可为二肽接头，如缬氨酸-瓜氨酸(val-cit)、 苯丙氨酸-赖氨酸(phe-lys)接头，或马来酰亚胺己酸-缬氨酸-瓜氨酸 -对氨基苄氧羰基(mc-Val-Cit-PABA)接头。另一种接头是4-[N-马来 酰亚胺基甲基]环己烷-1-羧酸磺基琥珀酰亚胺酯(SMCC)。磺基-smcc 偶联经由与巯基(硫醇，-SH)反应的马来酰亚胺基团发生，而其磺 基-NHS酯对伯胺有反应性(正如在赖氨酸和蛋白质或肽N-端发现的 那样)。再一种接头是马来酰亚胺己酰基(MC)。其它合适的接头包 括在特定pH或pH范围可水解的接头，如腙接头。另外合适的接头 包括二硫化物接头。所述接头可与抗体共价结合达到使得抗体必须在 细胞内降解才能释放药物的程度，例如MC接头等。

[0234] ADC的制备

[0235] ADC可通过几种途径，采用本领域技术人员已知的有机化学反 应、条件和试剂制

备，包括：(1)抗体的亲核基团或亲电子基团与二 价接头试剂反应，经由共价键形成抗体-接头中间产物Ab-L，接着是 与活化药物部分D的反应；和(2)药物部分的亲核基团或亲电子基 团与接头试剂反应，经由共价键形成药物-接头中间产物D-L，接着 是与抗体的亲核基团或亲电子基团的反应。偶联方法(1)和(2)可 与多种抗体、药物部分和接头一起用于制备此处描述的抗体-药物偶 联物。

[0236] 在本领域中已知制备ADC的方法的几个具体实例并且在美国专 利8,624,003(一锅法)、8,163,888(一步法)和5,208,020(两步法) 中有描述。

[0237] 抗原结合构建体的制备方法

[0238] 本文描述的抗原结合构建体可使用，例如美国专利第4,816,567 号中描述的重组方法和组合物生成。

[0239] 在一个实施方案中，提供了编码本文描述的抗原结合构建体的分 离核酸。此类核酸可编码组成抗原结合构建体的VL的氨基酸序列和 /或组成抗原结合构建体的VH的氨基酸序列(例如，抗原结合构建 体的轻链和/或重链)。在另一个实施方案中，提供了一种或多种包含 此类核酸的载体(例如，表达载体)。在一个实施方案中，在多顺反 子载体中提供核酸。在另一个实施方案中，提供了包含此类核酸的宿 主细胞。在一个此类实施方案中，宿主细胞包含(例如，已经被以下 载体转化)：(1)包含编码组成抗原结合构建体的VL的氨基酸序列 和组成抗原结合多肽构建体的VH的氨基酸序列的核酸的载体，或 (2)包含编码组成抗原结合多肽构建体的VL的氨基酸序列的核酸 的第一载体和包含编码组成抗原结合多肽构建体的VH的氨基酸序 列的核酸的第二载体。在一个实施方案中，宿主细胞为真核的，例如 中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或人胚肾(HEK)细胞或淋巴样细胞(例 如，Y0、NS0、Sp20细胞)。在一个实施方案中，提供了制备抗原结 合构建体的方法，其中所述方法包括在适于表达抗原结合构建体的条 件下培养如以上所提供的包含编码抗原结合构建体的核酸的宿主细胞，并且任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)中回收抗原结合构 建体。

[0240] 为了抗原结合构建体的重组生产，分离(例如)如上所述的编码 抗原结合构建体的核酸并插入一个或多个载体中以供进一步在宿主 细胞中克隆和/或表达。此类核酸可容易地分离并使用常规程序测序 (例如，通过使用能够与编码抗原结合构建体重链和轻链的基因特异 性结合的寡核苷酸探针)。

[0241] 术语“大体上纯的”是指本文描述的构建体，或其变体可大体上或 基本上没有如同在其自然发生环境中所发现的那样通常伴随蛋白质 或与蛋白质相互作用的组分，即在某些实施方案中大体上没有细胞物 质的天然细胞，或在重组产生的异源多聚体情况下的宿主细胞包括具 有少于约30％、少于约25％、少于约20％、少于约15％、少于约10％、 少于约5％、少于约4％、少于约3％、少于约2％或少于约1％(按干 重计)的污染蛋白质的蛋白质制剂。当异源多聚体或其变体由宿主细 胞重组产生时，在某些实施方案中蛋白质按细胞干重的约30％、约 25％、约20％、约15％、约10％、约5％、约4％、约3％、约2％或 约1％或更少存在。当异源多聚体或其变体由宿主细胞重组产生时， 在某些实施方案中蛋白质按细胞干重的约5g/L、约4g/L、约3g/L、 约2g/L、约1g/L、约750mg/L、约500mg/L、约250mg/L、约100mg/L、 约50mg/L、约10mg/L或约1mg/L或更低存在于培养基中。在某些 实施方案中，正如通过适当方法如SDS/PAGE分析、RP-HPLC、SEC 和毛细管电泳所测定那样，通过本文描述的方法生成的“大体上纯的” 异源多聚体具有至少约30％、至少约35％、至少约40％、至少

约45％、至少约50％、至少约55％、至少约60％、至少约65％、至少约70％ 的纯度水平，特别地，至少约75％、80％、85％的纯度水平，并且更 具体地，至少约90％的纯度水平，至少约95％的纯度水平，至少约 99％或更高的纯度水平。

[0242] 适于克隆或表达编码抗原结合构建体的载体的宿主细胞包括本 文描述的原核或真核细胞。

[0243] “重组宿主细胞”或“宿主细胞”是指包括外源性多核苷酸的细胞，与用于插入的方法无关，例如，直接摄取、转导、f-交配或本领域中 已知产生重组宿主细胞的其它方法。外源性多核苷酸可保持为非整合 载体，例如，质粒，或可选地，可整合到宿主基因组中。

[0244] 如本文中所用，术语“真核生物”是指属于真核种系发生域的生物 体，如动物(包括但不限于哺乳动物、昆虫、爬行动物、鸟类等)、纤毛虫、植物(包括但不限于单子叶植物、双子叶植物、藻类等)、真菌、酵母、鞭毛虫、微孢子目、原生生物等。

[0245] 如本文中所用，术语“原核生物”是指原核生物体。例如，非真核 生物可属于真细菌类(Eubacteria)(包括但不限于大肠杆菌 (Escherichia coli)、嗜热栖热菌(Thermus thermophilus)、嗜热脂 肪芽孢杆菌(Bacillus stearothermophilus)、荧光假单胞菌(Pseudomonas fluorescens)、绿脓假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)、恶臭假单胞菌(Pseudomonas putida)等)种系发生域 或古生菌类(Archaea)(包括但不限于詹氏甲烷球菌(Methanococcus jannaschii)、嗜热自养甲烷杆菌(Methanobacterium thermoautotrophicum)、嗜盐菌(Halobacterium)(如沃氏富盐菌 (Haloferax volcanii)和嗜盐菌NRC-1)、闪烁古生球菌(Archaeoglobus fulgidus)、强烈炽热球菌(Pyrococcus furiosus)、超嗜热古菌 (Pyrococcus horikoshii)、嗜热古菌(Aeuropyrum pemix)等)种系 发生域。

[0246] 例如，尤其是当不需要糖基化和Fc效应子功能时，可在细菌中 产生抗原结合构建体。对于抗原结合构建体片段和多肽在细菌中的表 达，参见，例如美国专利第5,648,237、5,789,199和5,840,523号。(还 参见Charlton,Methods in Molecular Biology，第248卷(B.K.C.Lo,编 辑,Humana Press,Totowa,N.J.,2003)，第245-254页，其描述了抗体 片段在大肠杆菌(E.coli)中的表达。表达后，可从细菌细胞浆的可 溶性成分中分离出抗原结合构建体并且可进一步纯化。

[0247] 除原核生物外，真核微生物如丝状真菌或酵母是适合的编码抗原 结合构建体的载体的克隆或表达宿主，包括糖基化途径已经“人源 化”，导致产生具有部分或完全人糖基化模式的抗原结合构建体的真 菌和酵母菌株。参见Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004)，和Li等,Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0248] 适合的表达糖基化抗原结合构建体的宿主细胞也衍生自多细胞 生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物 和昆虫细胞。已经鉴定了可连同昆虫细胞一起，特别用于草地贪夜蛾 (Spodoptera frugiperda)细胞转染的许多杆状病毒菌株。

[0249] 植物细胞培养物也可用作宿主。参见，例如，美国专利第 5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978和6,417,429号(描述了 用于在转基因植物中产生抗原结合构建体的PLANTIBODIES™技 术)。

[0250] 脊椎动物细胞也可用作宿主。例如，适应于悬浮生长的哺乳动物 细胞系可能有

用。有用的哺乳动物宿主细胞系的其它实例为SV40转 化的猴肾CV1系(COS-7);人胚肾系(例如,在Graham等,J.Gen Virol.36:59(1977)中描述的293或293细胞);幼仓鼠肾细胞(BHK); 小鼠塞尔托利细胞(例如,在Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980) 中描述的TM4细胞);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76); 人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK;布法罗大鼠肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞(例如,在Mather等,Annals N.Y.Acad.Sci. 383:44-68(1982)中所述);MRC 5细胞;和FS4细胞。其它有用的哺 乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR-CHO 细胞(Urlaub等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));和骨髓 瘤细胞系如YO、NSO和Sp2/0。适于抗原结合构建体产生的某些哺乳 动物细胞系的综述,参见,例如,Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo,编辑,Humana Press,Totowa,N.J.), 第255-268页(2003)。

[0251] 在一个实施方案中,本文描述的抗原结合构建体在稳定哺乳动物 细胞中,通过包括以下步骤的方法测试:按预定比率,用编码抗原结 合构建体的核酸转染至少一个稳定哺乳动物细胞;并且在所述至少一 种哺乳动物细胞中表达核酸。在一些实施方案中,在瞬时转染实验中 测定核酸的预定比率以确定在表达产物中产生最高百分比的抗原结 合构建体的输入核酸的相对比率。

[0252] 在一些实施方案中是在如本文描述的稳定哺乳动物细胞中测试 抗原结合构建体的方法,其中所述至少一种稳定哺乳动物细胞的表达 产物包含与单体重链或轻链多肽或其它抗体相比较大百分比的所需 糖基化抗原结合构建体。

[0253] 在一些实施方案中是在本文描述的稳定哺乳动物细胞中产生糖 基化抗原结合构建体的方法,所述方法包括鉴定并纯化所需糖基化抗 原结合构建体。在一些实施方案中,所述鉴定是通过液相色谱法和质 谱法中的一种或两种进行。

[0254] 若需要,可以在表达之后纯化或分离抗原结合构建体。可按本领 域技术人员已知的多种方式分离或纯化蛋白质。标准的纯化方法包括 色谱技术,包括离子交换、疏水相互作用、亲和力、分级或凝胶过滤 及反相色谱法,在大气压力或高压下使用诸如FPLC和HPLC等系统 进行。纯化方法还包括电泳、免疫学、沉淀、透析和色谱聚焦技术。 超滤和渗滤技术,连同蛋白质浓缩,也有用。正如本领域所公知,多 种天然蛋白质结合Fc和抗体,并且这些蛋白质可用于本发明中用于 纯化抗原结合构建体。例如,细菌蛋白质A和G与Fc区结合。同样, 细菌蛋白质L与一些抗体的Fab区结合。常常可以通过特定融合伴侣 使纯化成为可能。例如,如果采用GST融合,则可以使用谷胱甘肽 树脂纯化抗体,如果采用His-标签,则可以使用Ni^{+2}亲和色谱法纯化 抗体,或者如果使用flag-标签,则可以使用固定抗flag抗体纯化抗 体。合适的纯化技术的通用指南,参见,例如通过引用整体并入的 Protein Purification:Principles and Practice第3版,Scopes, Springer-Verlag,NY,1994,其通过引用整体并入。必要的纯化程度将 根据抗原结合构建体的用途而改变。在一些实施方案中,不必纯化。

[0255] 在某些实施方案中,使用阴离子交换色谱法纯化抗原结合构建 体,包括但不限于在Q-琼脂糖、DEAE琼脂糖、poros HQ、poros DEAF、 Toyopearl Q、Toyopearl QAE、Toyopearl DEAE、Resource/Source Q 和DEAE、Fractogel Q和DEAE柱上的色谱法。

[0256] 在具体实施方案中使用阳离子交换色谱法纯化本文描述的蛋白 质,包括但不限

于SP-琼脂糖、CM琼脂糖、poros HS、poros CM、Toyopearl SP、Toyopearl CM、Resource/Source S和CM、Fractogel S 和CM柱及其等效方案和同等方案。

[0257] 另外，可使用本领域已知的技术化学合成本文描述的抗原结合构 建体(例如，参见Creighton，1983，Proteins:Structures and Molecular Principles，W.H.Freeman&Co.，N.Y和Hunkapiller等，Nature, 310:105-111(1984))。例如，可通过使用肽合成仪合成对应于多肽片 段的多肽。此外，若需要，可向多肽序列引入非经典氨基酸或氨基酸 化学类似物作为取代或添加。非经典氨基酸包括但不限于常见氨基酸 的D-异构体、2,4二氨基丁酸、α-氨基异丁酸、4氨基丁酸、Abu、2- 氨基丁酸、g-Abu、e-Ahx、6氨基己酸、Aib、2-氨基异丁酸、3-氨基 丙酸、鸟氨酸、正亮氨酸、正缬氨酸、羟脯氨酸、肌氨酸、瓜氨酸、 高瓜氨酸、磺基丙氨酸、叔丁基甘氨酸、叔丁基丙氨酸、苯基甘氨酸、 环己基丙氨酸、□-丙氨酸、氟代-氨基酸、设计师氨基酸如□-甲基氨 基酸、C□-甲基氨基酸、N□-甲基氨基酸及通常的氨基酸类似物。此 外，氨基酸可为D(右旋性)或L(左旋性)。

[0258] 翻译后修饰：

[0259] 在某些实施方案中本文描述的抗原结合构建体在翻译期间或之 后经差异化修饰。

[0260] 术语“修饰”，如本文中所用，是指对指定多肽所做的任何变化，如对多肽长度、氨基酸序列、化学结构的变化、共翻译修饰或翻译后 修饰的变化。形式“(修饰)”的术语意指所讨论的多肽经任选地修饰，即，讨论的多肽可经修饰或未修饰。

[0261] 术语“翻译后修饰”是指在天然或非天然氨基酸已经并入多肽链 之后对此类氨基酸发生的任何修饰。仅举例而言，该术语涵盖共翻译 体内修饰、共翻译体外修饰(如在无细胞翻译系统中)、翻译后体内 修饰和翻译后体外修饰。

[0262] 在一些实施方案中，修饰是以下的至少一种：糖基化、乙酰化、 磷酸化、酰胺化、通过已知保护/封端基团的衍生化、溶蛋白性裂解 及与抗体分子或抗原结合构建体或其它细胞配体的连接。在一些实施 方案中，通过已知技术化学修饰抗原结合构建体，包括但不限于用溴 化氰、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、木瓜蛋白酶、V8蛋白酶、$NaBH_4$进行特异性化学裂解；乙酰化、甲酰化、氧化、还原及在衣霉素存在 下的代谢合成。

[0263] 本文描述的抗原结合构建体另外的翻译后修饰包括，例如，N- 连接或O-连接碳水化合物链、N-端或C-端的加工)、化学部分与氨基 酸骨架的连接、N-连接或O-连接碳水化合物链的化学修饰及由于原 核宿主细胞表达引起的N-端蛋氨酸残基的添加或缺失。本文描述的 抗原结合构建体经可检测标记，如酶、荧光、同位素或亲和力标记修 饰以允许检测和分离蛋白质。在某些实施方案中，合适的酶标记的实 例包括辣根过氧物酶、碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶； 合适的辅基复合物的实例包括链霉亲和素生物素和抗生物素蛋白/生 物素；合适的荧光物质的实例包括伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、 若丹明、二氯三嗪氨荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白；发光物质的实例 包括鲁米诺(luminol)；生物发光物质的实例包括荧光素酶、萤光素 和水母发光蛋白；并且合适的放射性物质的实例包括碘、碳、硫、氚、 铟、镓、铑、镓、钯、钼、氙、氟。

[0264] 在具体实施方案中，本文描述的抗原结合构建体连接到与放射性 金属离子缔合的大环螯合剂。

[0265] 在一些实施方案中，本文描述的抗原结合构建体通过自然过程， 如翻译后加工，

或通过本领域熟知的化学修饰技术修饰。在某些实施 方案中，在指定多肽的几个位点可存在相同或不同程度的同类修饰。 在某些实施方案中，来自于本文描述的抗原结合构建体的多肽例如由 于泛素化分支，并且在一些实施方案中为环状，有或无分支。环状、 分支及分支环状多肽是翻译后自然过程的结果或通过合成方法制成。 修饰包括乙酰化、酰化、ADP-核糖基化、酰胺化、核黄素的共价连 接、血红素部分的共价连接、核苷酸或核苷酸衍生物的共价连接、脂 质或脂质衍生物的共价连接、磷脂酰肌醇的共价连接、交联、环化、 二硫键形成、脱甲基化、共价交联的形成、半胱氨酸的形成、焦谷氨 酸盐的形成、甲酰化、γ-羧化、糖基化、GPI锚点形成、羟基化、碘 化、甲基化、豆蔻酰化、氧化、聚乙二醇化、蛋白酶解加工、磷酸化、 异戊二烯化、外消旋、硒酰化(selenoylation)、硫酸盐化、转运RNA 介导的向蛋白质添加氨基酸如精氨酰化和泛素化。(参见，例如， PROTEINS-STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES，第2版， T.E.Creighton,W.H.Freeman and Company,New York(1993)； POST-TRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATION OF PROTEINS,B.C.Johnson编辑,Academic Press,New York,第1-12 页(1983)；Seifter等,Meth.Enzymol.182:626-646(1990)；Rattan等， Ann.N.Y.Acad.Sci.663:48-62(1992))。

[0266] 在某些实施方案中，本文描述的抗原结合构建体与固体支撑体连 接，固体支撑体对于被本文描述的蛋白质结合、与本文描述的蛋白质 结合或缔合的多肽的免疫测定或纯化特别有用。此类固体支撑体包括 但不限于玻璃、纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙(nylon)、聚苯乙烯、聚 氯乙烯或聚丙烯。

[0267] 药物组合物

[0268] 本文还提供了包含本文描述的抗原结合构建体的药物组合物。药 物组合物包含所述构建体和药学上可接受的载体。

[0269] 术语“药学上可接受的”意为通过联邦或国家政府监管机构批准 或列入美国药典或其它普遍公认的药典中用于动物，并且更特别地用 于人。术语“载体”是指治疗剂与之一起施用的稀释剂、佐剂、赋形剂 或媒介物。此类药物载体可为无菌液体，如水和油，包括石油、动物、 植物或合成来源的油，如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。在一 些方面，载体是在自然界中尚未发现的人造载体。当药物组合物经静 脉施用时可用水作为载体。也可采用盐水溶液及含水葡萄糖和甘油溶 液作为液体载体，特别是对于可注射液而言。合适的药物赋形剂包括 淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、水稻、面粉、白垩、硅胶、 硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂乳粉、甘油、丙烯、 乙二醇、水、乙醇等。若需要，所述组合物也可含有少量的润湿剂或 乳化剂，或pH缓冲剂。这些组合物可呈溶液、混悬剂、乳剂、片剂、 丸剂、胶囊、粉剂、缓释制剂等形式。可用传统的粘合剂和载体如甘 油三酯将组合物配制成栓剂。口服制剂可包括标准载体如药用级甘露 糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。在 “Remington’s Pharmaceutical Sciences”中E.W.Martin描述了合适的药 物载体的实例。此类组合物将含有治疗有效量的优选呈纯化形式的化 合物，连同适量的载体以便向患者提供用于正确施用的形式。所述制 剂应适合施用模式。

[0270] 在某些实施方案中，根据常规程序将包含所述构建体的组合物配 制成适于向人类静脉施用的药物组合物。通常，用于静脉施用的组合 物是在无菌等渗水性缓冲液中的溶液。必要时，所述组合物也可包括 助溶剂和局部麻醉剂如利多卡因(lignocaine)以减轻注射部位的疼 痛。通常，所述成分在指示活性剂的量的气密容器如安瓿或小袋中呈 单位剂

型，例如，呈冻干粉剂或无水浓缩物单独提供或混在一起。当 要通过输注施用所述组合物时，可用装有药用级无菌水或盐水的输液 瓶分配组合物。当通过注射施用所述组合物时，可提供一安瓿的注射 用无菌水或盐水，以便可在施用之前混合所述成分。

[0271] 在某些实施方案中，将本文描述的组合物配制成中性或盐形式。药学上可接受的盐包括与阴离子如衍生自盐酸、磷酸、乙酸、草酸、 酒石酸等的阴离子形成的盐，及与阳离子如衍生自钠、钾、铵、钙、 氢氧化铁异丙胺、三乙胺、2-乙基氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因(procaine)等的阳离子形成的盐。

[0272] 治疗方法

[0273] 在某些实施方案中，提供了一种治疗疾病或病症的方法，其包括 以有效治疗、预防或改善所述疾病或病症的量，向需要此类治疗、预 防或改善的受试者施用本文描述的抗原结合构建体。

[0274] “病症”是指将得益于用本文描述的抗原结合构建体或方法治疗 的任何病状。这包括慢性和急性病症或疾病，包括使哺乳动物易感染 所讨论的病症的那些病理状况。在一些实施方案中，所述病症为癌症， 如下面更详细地描述那样。

[0275] 术语“受试者”是指为治疗、观察或实验的对象的动物，在一些实 施方案中为哺乳动物。动物可为人、非人灵长类动物、宠物(例如， 狗、猫等)、家畜(例如，牛、羊、猪、马等)或实验动物(例如， 大鼠、小鼠、豚鼠等)。

[0276] 如本文中所用的术语“哺乳动物”包括但不限于人、非人灵长类动 物、犬科动物、猫科动物、鼠科动物、牛、马和猪。

[0277] “治疗”是指试图改变受治个体或细胞的自然病程的临床干预，并 且可以是为了预防或在临床病理过程中进行。理想的治疗效果包括预 防疾病发生或复发，缓和症状，减少疾病的任何直接或间接病理后果， 预防转移，降低疾病进展的速率，改善或减轻疾病状态，及缓解或改 善预后。在一些实施方案中，本文描述的抗原结合构建体用于延迟疾 病或病症的发展。在一个实施方案中，本文描述的抗原结合构建体和 方法实现肿瘤消退。在一个实施方案中，本文描述的抗原结合构建体 和方法实现肿瘤/癌症生长的抑制。

[0278] 理想的治疗效果包括但不限于预防疾病发生或复发，缓和症状， 减少疾病的任何直接或间接病理后果，预防转移，降低疾病进展的速 率，改善或减轻疾病状态，提高生存期及缓解或改善预后。在一些实 施方案中，本文描述的抗原结合构建体用于延迟疾病的发展或减缓疾 病的进展。

[0279] 如本文中所用的术语“有效量”是指将实现所述方法的目标，例如 在一定程度上减轻受治疾病、病状或病症的一种或多种症状而施用的 构建体的量。在与治疗性蛋白质的异常表达和/或活性相关的疾病或 病症的治疗、抑制和预防方面将有效的本文描述的组合物的量可通过 标准临床技术测定。另外，可任选地采用体外测定以帮助鉴定最佳剂 量范围。要在制剂中采用的精确剂量还将取决于施用途径和疾病或病 症的严重性，并且应根据从业者的判断和每位患者的情况而决定。由 从体外或动物模型测试系统得到的剂量反应曲线推断有效剂量。

[0280] 向受试者施用抗原结合构建体。已知各种递送系统并且可用于施 用本文描述的抗原结合构建体制剂，例如，封装在脂质体、微粒、微 胶囊中，能够表达所述化合物的重组细胞，受体介导的胞吞作用(参 见，例如，Wu和Wu,J.Biol.Chem.262:4429-4432(1987))，作

为逆 转录病毒或其它载体的一部分的核酸的构建等。引入方法包括但不限 于皮内、肌肉内、腹膜内、静脉、皮下、鼻内、硬膜外和口服途径。所述化合物或组合物可通过任何方便的途径施用，例如通过输注或快 速浓注，通过上皮或粘膜皮肤内衬(例如，口腔粘膜、直肠和肠粘膜 等)吸收并且可与其它生物活性剂一起施用。施用可以是全身的或局 部的。另外，在某些实施方案中，理想的是将本文描述的抗原结合构 建体组合物通过任何合适的途径，包括心室内和鞘内注射引入中枢神 经系统中；用(例如)与储库，如Ommaya储库连接的脑室内导管 可利于脑室内注射。也可采用肺部施用，例如，通过使用吸入器或喷 雾器，和具有雾化剂的制剂。

[0281] 在一个具体实施方案中，理想的是向需要治疗的区域局部施用本 文描述的抗原结合构建体或组合物；这可通过(例如而非限制)手术 期间局部输注、局部敷用(例如在手术后连同伤口敷料一起)、注射、 借助于导管、借助于栓剂或借助于植入物而实现，所述植入物为多孔、无孔或凝胶材料，包括膜如硅橡胶膜或纤维。优选地，当施用蛋白质， 包括本文描述的抗原结合构建体时，必须小心使用向其中吸收蛋白质 的材料。

[0282] 在另一个实施方案中，抗原结合构建体或组合物可以在囊泡，尤 其是脂质体中递送(参见Langer，Science 249:1527-1533(1990)；Treat 等，在Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer中， Lopez-Berestein和Fidler(编辑)，Liss，New York，第353-365页(1989)； Lopez-Berestein，同上，第317-327页；通常参见同上)。

[0283] 再一个实施方案中，抗原结合构建体或组合物可以在控释系统中 递送。在一个实施方案中，可以使用泵(参见Langer，同上；Sefton， CRC Crit.Ref.Biomed.Eng.14:201(1987)；Buchwald等，Surgery 88:507(1980)；Saudek等，N.Engl.J.Med.321:574(1989))。在另一 个实施方案中，可以使用聚合材料(参见Medical Applications of Controlled Release，Langer和Wise(编辑)，CRC Pres.，Boca Raton，Fla. (1974)；Controlled Drug Bioavailability，Drug Product Design and Performance，Smolen和Ball(编辑)，Wiley，New York(1984)；Ranger 和Peppas，J.，Macromol.Sci.Rev.Macromol.Chem.23:61(1983)；同 样参见Levy等，Science 228:190(1985)；During等，Ann.Neurol.25:351 (1989)；Howard等，J.Neurosurg.71:105(1989))。再一个实施方案 中，可将控释系统置于治疗目标，例如脑部附近，从而仅需全身剂量 的一部分(参见，例如，Goodson，在Medical Applications of Controlled Release中，第2卷，第115-138页(1984))。

[0284] 在包含编码本文描述的抗原结合构建体的核酸的一个具体实施 方案中，可通过将核酸构建为恰当核酸表达载体的一部分并将其施用 使其变成细胞内的，例如通过使用逆转录病毒载体(参见美国专利第 4,980,286号)，或通过直接注射，或通过使用微粒轰击(例如，基因 枪；Biolistic，Dupont)或涂布脂质或细胞表面受体或转染剂，或通过 使其处于与已知进入细胞核的同源盒样肽的连接中施用(参见例如， Joliot等，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:1864-1868(1991))等在体内施 用核酸以促进其编码的蛋白质的表达。可选地，可以在细胞内引入核 酸并且通过同源重组并入宿主细胞DNA中以便表达。

[0285] 在某些实施方案中本文描述的抗原结合构建体作为与具有非重 叠结合靶表位的抗原结合构建体的组合施用。

[0286] 在疾病或病症的治疗、抑制和预防中将有效的抗原结合构建体的 量可通过标准

临床技术测定。另外，可任选地采用体外测定以帮助鉴 定最佳剂量范围。要在制剂中采用的精确剂量还将取决于施用途径和 疾病或病症的严重性，并且应根据从业者的判断和每位患者的情况而 决定。由从体外或动物模型测试系统得到的剂量反应曲线推断有效剂量。

[0287] 本文描述的抗原结合构建体可单独或与其它类型的治疗(例如， 放疗、化疗、激素疗法、免疫疗法和抗肿瘤剂)组合施用。通常，优 选施用与患者相同物种的物种来源或物种反应性(在抗体的情况下) 的产品。因此，在一个实施方案中，向人患者施用人抗原结合构建体、片段衍生物、类似物或核酸用于治疗或预防。

[0288] 治疗癌症的方法

[0289] 本文描述了使用本文描述的抗原结合构建体在受试者中治疗 HER2+癌症或肿瘤的方法，及抑制HER2+肿瘤细胞生长或杀伤 HER2+肿瘤细胞的方法。

[0290] 所谓HER2+癌症意指表达HER2，使得本文描述的抗原结合构建 体能够与所述癌症结合的癌症。正如本领域中所知，HER2+癌症表达 不同水平的HER2。为测定癌症中的ErbB，例如ErbB2(HER2)表 达，各种诊断/预后测定可用。在一个实施方案中，可通过IHC，例 如使用HERCEPTEST®(Dako)分析ErbB2过表达。可使来自于肿 瘤活检的石蜡包埋组织切片经历IHC测定并且符合如下ErbB2蛋白 质染色强度标准：

[0291] 得分0：未观察到染色或在少于10％的肿瘤细胞中观察到膜染色。

[0292] 得分1+：在多于10％的肿瘤细胞中检测到模糊的/几乎不能看出 的膜染色。仅在其一部分膜中细胞被染色。

[0293] 得分2+：在多于10％的肿瘤细胞中观察到弱至中等的全膜染色。

[0294] 得分3+：在多于10％的肿瘤细胞中观察到中等至强烈的全膜染 色。

[0295] 对于ErbB2过表达评估得分为0或1+的那些肿瘤可表征为不过 表达ErbB2，而得分为2+或3+的那些肿瘤可表征为过表达ErbB2。

[0296] 可选地，或另外，可对福尔马林(formalin)固定、石蜡包埋的 肿瘤组织进行荧光原位杂交(FISH)测定如INFORM™(由Ventana, Ariz.销售)或PATHVISION™(Vysis,Ill.)以确定肿瘤中ErbB2过表 达的程度(若有)。与IHC测定相比，测量HER2基因扩增的FISH 测定似乎与患者对用赫塞汀®治疗的反应相关性更佳，并且目前被认 为是鉴定可能得益于赫塞汀®治疗的患者的优选测定。

[0297] 表D描述了在几个代表性乳腺癌和其它癌细胞系上HER2的表 达水平(Subik等(2010)Breast Cancer:Basic Clinical Research:4; 35-41;Prang等(2005)British Journal of Cancer Research:92;342-349)。如表中所示，认为MCF-7和MDA-MB-231细胞是HER2低表达细胞； 认为JIMT-1和ZR-75-1细胞是HER2中等表达细胞，并且认为SKBR3 和BT-474细胞是HER2高表达细胞。认为SKOV3(卵巢癌)细胞是 HER2中等表达细胞。

[0298] 本文描述了治疗患有HER2+癌症或肿瘤的受试者的方法，其包 括向受试者施用有效量的包含本文描述的抗原结合构建体的药物组 合物。

[0299] 本文还描述了本文描述的HER2抗原结合构建体用于制造用于 治疗癌症或肿瘤的药剂的用途。本文还描述了用于癌症或肿瘤治疗的 HER2抗原结合构建体。

[0300] 在具体实施方案中，抗原结合构建体为v10000、v7091、v5019 或v5020。在一个实施方案中，抗原结合构建体为v10000。在一些实 施方案中，抗原结合构建体与美登素(DM1)

偶联。当与DM1偶联 的抗原结合构建体内化到肿瘤细胞中时,DM1在细胞内从构建体裂 解,并杀伤肿瘤细胞。

[0301] 在一些实施方案中,受治受试者患有胰腺癌、头颈癌、胃癌、结 直肠癌、乳腺癌、肾癌、宫颈癌、卵巢癌、脑癌、子宫内膜癌、膀胱 癌、非小细胞肺癌或表皮源癌症。在一些实施方案中,肿瘤是转移性 的。

[0302] 一般而言,受治受试者中的肿瘤每个肿瘤细胞平均表达10,000 或更多个HER2拷贝。在某些实施方案中,如通过IHC测定,肿瘤 为HER2 0-1+、1+、HER2 2+或HER2 3+。在一些实施方案中肿瘤为 HER2 2+或更低,或HER2 1+或更低。

[0303] 在一些实施方案中,用抗原结合构建体治疗的受试者的肿瘤为乳 腺癌。在一个具体实施方案中,乳腺癌表达2+水平或更低的HER2。 在一个具体实施方案中,乳腺癌表达1+水平或更低的HER2。在一些 实施方案中,乳腺癌表达雌激素受体(ER+)和/或孕酮受体(PR+)。 在一些实施方案中,乳腺癌为ER-和/或PR-。在一些实施方案中,乳 腺癌具有扩增的HER2基因。在一些实施方案中,乳腺癌为HER2 3+ 雌激素受体阴性(ER-)、孕酮受体阴性(PR-)、曲妥珠单抗抗性、 化疗抗性浸润性乳腺导管癌。在另一个实施方案中,乳腺癌为HER2 3+ER-、PR-、曲妥珠单抗抗性炎性乳腺癌。在另一个实施方案中, 乳腺癌为HER2 3+、ER-、PR-、浸润性导管癌。在另一个实施方案 中,乳腺癌为HER2 2+HER2基因扩增的曲妥珠单抗和帕妥珠单抗抗 性乳腺癌。在一些实施方案中,乳腺癌为三阴性(ER-、PR-及HER2 低表达)。

[0304] 在一个实施方案中,所述肿瘤是具有扩增的HER2基因的HER2 2/3+卵巢上皮腺癌。

[0305] 本文提供了用于治疗患有抗或变得抗其它标准护理疗法的 HER2+肿瘤的受试者的方法,其包括向受试者施用包含本文描述的抗 原结合构建体的药物组合物。在某些实施方案中,任选地与一种或多 种当前的抗HER2疗法组合,向对当前疗法无反应的受试者提供本文 描述的抗原结合构建体。在一些实施方案中,当前的抗HER2疗法包 括但不限于抗HER2或抗HER3单特异性二价抗体、曲妥珠单抗、帕 妥珠单抗、T-DM1、双特异性HER2/HER3scFv或其组合。在一些实 施方案中,所述癌症对各种化疗剂如紫杉烷有抗性。在一些实施方案 中所述癌症对曲妥珠单抗有抗性。在一些实施方案中所述癌症对帕妥 珠单抗有抗性。在一个实施方案中,所述癌症对TDM1(与DM1偶 联的曲妥珠单抗)有抗性。在一些实施方案中,受试者先前已经用抗 HER2抗体如曲妥珠单抗、帕妥珠单抗或DM1治疗。在一些实施方 案中,受试者先前尚未用抗HER2抗体治疗。在一个实施方案中,当 患者在先前抗HER2疗法时已有进展时,向受试者提供抗原结合构建 体以治疗转移性癌症。

[0306] 本文提供了治疗患有HER2+肿瘤的受试者的方法,其包括提供 有效量的包含本文描述的抗原结合构建体连同另外的抗肿瘤剂的药 物组合物。所述另外的抗肿瘤剂可为如上所述的治疗性抗体,或化疗 剂。与本发明的抗原结合构建体组合使用的化疗剂包括顺铂、卡铂、 紫杉醇、白蛋白结合紫杉醇、多西他赛、吉西他滨、长春瑞滨、伊立 替康(irinotecan)、依托泊苷、长春花碱、培美曲塞(pemetrexed)、 5-氟尿嘧啶(有或无亚叶酸)、卡培他滨、卡铂、表柔比星、奥沙利 铂(oxaliplatin)、亚叶酸钙(folfirinox)、abraxane和环磷酰胺。

[0307] 在一些实施方案中,所述肿瘤为非小细胞肺癌,并且所述另外的 试剂为顺铂、卡铂、紫杉醇、白蛋白结合型紫杉醇、多西他赛、吉西 他滨、长春瑞滨、伊立替康、依托泊苷、长

春花碱或培美曲塞中的一 种或多种。在实施方案中，所述肿瘤为胃癌或胃部癌，并且所述另外 的试剂为5-氟尿嘧啶(有或无亚叶酸)、卡培他滨、卡铂、顺铂、多 西他赛、表柔比星、伊立替康、奥沙利铂或紫杉醇中的一种或多种。在其它实施方案中，所述肿瘤为胰腺癌，并且所述附加试剂为吉西他 滨、亚叶酸钙、abraxane或5-氟尿嘧啶中的一种或多种。在其它实施 方案中，所述肿瘤为雌激素和/或孕酮阳性乳腺癌，并且所述另外的 试剂为(a)多柔比星和表柔比星的组合，(b)紫杉醇和多西他赛的 组合，或(c)5-氟尿嘧啶、环磷酰胺和卡铂的组合中的一种或多种。在其它实施方案中，所述肿瘤为头颈癌，并且所述另外的试剂为紫杉 醇、卡铂、多柔比星或顺铂中的一种或多种。在其它实施方案中，所 述肿瘤为卵巢癌并且所述另外的试剂可为顺铂、卡铂或紫杉烷如紫杉 醇或多西他赛中的一种或多种。

[0308] 所述另外的试剂可与抗原结合构建体同时或依次向受试者施用。

[0309] 用抗原结合构建体治疗的受试者可为人、非人灵长类动物或其它 哺乳动物如小鼠。

[0310] 在一些实施方案中，向患有肿瘤的受试者提供有效量的抗原结合 构建体的结果是缩小肿瘤，抑制肿瘤的生长，增加肿瘤进展的时间， 延长受试者的无病生存期，减少转移，增加受试者的无进展生存期， 或增加受试者的总生存期或增加接受治疗的一组受试者的总生存期。

[0311] 本文还描述了杀伤HER2表达肿瘤细胞或抑制HER2表达肿瘤细 胞生长的方法，其包括使所述细胞与本文提供的抗原结合构建体接 触。

[0312] 在各个实施方案中，肿瘤细胞可为HER2 1+或2+人胰腺癌细胞、HER2 3+人肺癌细胞、HER2 2+高加索人细支气管肺泡癌细胞、人咽 癌细胞、HER2 2+人舌鳞状细胞癌细胞、HER2 2+咽部鳞状细胞癌细 胞、HER2 1+或2+人结直肠癌细胞、HER2 3+人胃癌细胞、HER2 1+ 人乳腺导管ER+(雌激素受体阳性)癌细胞、HER2 2+/3+人ER+、HER2-扩增乳腺癌细胞、HER2 0+/1+人三阴性乳腺癌细胞、HER2 2+ 人子宫内膜癌细胞、HER2 1+肺转移性恶性黑素瘤细胞、HER2 1+人 宫颈癌细胞、Her2 1+人肾细胞癌细胞或HER2 1+人卵巢癌细胞。

[0313] 在抗原结合构建体与DM1偶联的实施方案中，肿瘤细胞可为 HER2 1+或2+或3+人胰腺癌细胞、HER2 2+转移性胰腺癌细胞、HER2 0+/1+、+3+人肺癌细胞、HER2 2+高加索人细支气管肺泡癌细胞、 HER2 0+间变性肺癌细胞、人非小细胞肺癌细胞、人咽癌细胞、HER2 2+人舌鳞状细胞癌细胞、HER2 2+咽部鳞状细胞癌细胞、HER2 1+或 2+人结直肠癌细胞、HER2 0+、1+或3+人胃癌细胞、HER2 1+人乳腺 导管ER+(雌激素受体阳性)癌细胞、HER2 2+/3+人ER+、HER2 扩增乳腺癌细胞、HER2 0+/1+人三阴性乳腺癌细胞、HER2 0+人乳腺 导管癌(基底B型、间充质样三阴性)细胞、HER2 2+ER+乳腺癌细 胞、HER2 0+人转移性乳腺癌细胞(ER-、HER2-扩增、管腔A型、 TN)、人子宫中胚叶肿瘤(混合III级)细胞、2+人子宫内膜癌细胞、 HER2 1+人皮肤表皮样癌细胞、HER2 1+肺转移性恶性黑素瘤细胞、 HER2 1+恶性黑素瘤细胞、人宫颈表皮样癌、HER2 1+人膀胱癌细胞、 HER2 1+人宫颈癌细胞、Her2 1+人肾细胞癌细胞或HER2 1+、2+或 3+人卵巢癌细胞。

[0314] 在一些实施方案中肿瘤细胞可为以下细胞系中的一种或多种(在 图37和38中示出)：胰腺肿瘤细胞系BxPC3、Capan-1、MiaPaca2； 肺部肿瘤细胞系Calu-3、NCI-H322；头颈部肿瘤细胞系Detroit 562、 SCC-25、FaDu；结直肠肿瘤细胞系HT29、SNU-C2B；胃肿瘤细胞系NCI-N87；乳腺肿瘤细胞系MCF-7、MDAMB175、MDAMB361、 MDA-MB-231、BT-20、JIMT-1、

SkBr3、BT-474;子宫肿瘤细胞系 TOV-112D;皮肤肿瘤细胞系Malme-3M;宫颈肿瘤细胞系Caski、 MS751;膀胱肿瘤细胞系T24;卵巢肿瘤细胞系CaOV3和SKOV3。

[0315] 在抗原结合构建体与DM1偶联的实施方案中,肿瘤细胞可为以 下细胞系中的一种或多种(在图37和38中示出):胰腺肿瘤细胞系 BxPC3、Capan-1、MiaPaca2、SW 1990、Panc1;肺部肿瘤细胞系A549、 Calu-3、Calu-6、NCI-H2126、NCI-H322;头颈部肿瘤细胞系Detroit 562、SCC-15、SCC-25、FaDu;结直肠肿瘤细胞系Colo201、DLD-1、 HCT116、HT29、SNU-C2B;胃肿瘤细胞系SNU-1、SNU-16、NCI-N87; 乳腺肿瘤细胞系SkBr3、MCF-7、MDAMB175、MDAMB361、MDA-MB-231、ZR-75-1、BT-20、BT549、BT-474、CAMA-1、 MDAMB453、JIMT-1、T47D;子宫肿瘤细胞系SK-UT-1、TOV-112D; 皮肤肿瘤细胞系A431、Malme-3M、SKEMEL28;宫颈肿瘤细胞系Caski、MS751;膀胱肿瘤细胞系T24;肾肿瘤细胞系ACHN;卵巢 肿瘤细胞系CaOV3、Ovar-3和SKOV3。

[0316] 试剂盒及制品

[0317] 本文还描述了包含一个或多个抗原结合构建体的试剂盒。试剂盒 的单独组分将被包装在独立的容器中并且,伴随此类容器的可以是呈 管制医药品或生物产品的生产、使用或销售的政府机关所规定的形式 的须知,该须知反映了该机关对生产、使用或销售的批准。试剂盒可 任选地装有概述抗原结合构建体的使用方法或施用方案的说明书或 指南。

[0318] 当试剂盒的一种或多种组分作为溶液,例如水溶液或无菌水溶液 提供时,容器装置本身可为吸入器、注射器、移液管、滴眼管或其它 类似装置,溶液可从中施用给受试者或施加到试剂盒的其它组分中并 与之混合。

[0319] 试剂盒的组分也可以呈干燥或冻干形式提供并且试剂盒可另外 装有用于冻干组分的复水的合适溶剂。无论容器的数量或类型如何, 本文描述的试剂盒也可包含帮助向患者施用组合物的器具。此类器具 可为吸入器、鼻喷雾装置、注射器、移液管、镊子、量匙、滴眼管或 类似医学上批准的递送工具。

[0320] 在本文描述的另一方面,提供了装有用于上述病症的治疗、预防 和/或诊断的材料的制品。所述制品包括容器及容器上或伴随容器的 标签或包装说明书。合适的容器包括,例如,瓶、小瓶、注射器、静 脉(IV)输液袋等。容器可由多种材料如玻璃或塑料形成。容器容纳 单独的组合物或与对治疗、预防和/或诊断所述病状有效的另一种组 合物组合的并且可具有无菌进入孔(例如容器可为静脉输液袋或具有 可用皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。组合物中至少一种活性剂为本 文描述的T细胞活化抗原结合构建体。标签或包装说明书指出该组合 物用于治疗所选病状。而且,所述制品可包含(a)其中装有组合物 的第一容器,其中所述组合物包含本文描述的抗原结合构建体;和(b) 其中装有组合物的第二容器,其中所述组合物包含另一种细胞毒性剂 或其它治疗剂。本文描述的这个实施方案中的制品还可包含指出所述 组合物可用于治疗特定病状的包装说明书。可选地,或另外,所述制 品还可包含第二(或第三)容器,其包含药学上可接受的缓冲剂,如 抑菌剂注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液(Ringer's solution)和葡萄糖溶液。其还可包括从商业和用户角度来看合乎需 要的其它材料,包括其它缓冲剂、稀释剂、过滤器、针和注射器。

[0321] 多肽和多核苷酸

[0322] 本文描述的抗原结合构建体包含至少一个多肽。还描述了编码本 文描述的多肽

的多核苷酸。通常分离抗原结合构建体。

[0323] 如本文中所用，“分离”意指已经从其自然细胞培养环境中鉴定并 分离和/或回收了试剂(例如，多肽或多核苷酸)。其自然环境的污 染物组分是会干扰抗原结合构建体的诊断或治疗用途的材料，并且可 包括酶、激素和其它蛋白质或非蛋白质溶质。分离还指已经(例如) 经由人为干涉通过合成方式产生的试剂。

[0324] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可交换地用于指氨基酸残 基的聚合物。即，针对多肽的描述同样适用于对肽的描述和对蛋白质 的描述，并且反之亦然。该术语适用于自然发生的氨基酸聚合物以及 其中一个或多个氨基酸残基为非自然编码的氨基酸的氨基酸聚合物。 如本文中所用，该术语涵盖任何长度的氨基酸链，包括全长蛋白质， 其中氨基酸残基通过共价肽键连接。

[0325] 术语“氨基酸”是指自然发生和非自然发生的氨基酸，以及以类似 于自然发生的氨基酸的方式起作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。 自然编码的氨基酸是20种常见氨基酸(丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、 天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨 酸、亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、 色氨酸、酪氨酸和缬氨酸)及吡咯赖氨酸和硒半胱氨酸。氨基酸类似 物是指具有与自然发生的氨基酸相同的基本化学结构，即与氢结合的 碳、羧基、氨基和R基团的化合物，如高丝氨酸、正亮氨酸、蛋氨 酸亚砜、甲基蛋氨酸锍盐。此类类似物具有经修饰的R基团(如正 亮氨酸)或经修饰的肽骨架，但是保持与自然发生的氨基酸相同的基 本化学结构。提到氨基酸包括，例如，自然发生的成蛋白质性 (proteogenic)L-氨基酸；D-氨基酸，经化学修饰的氨基酸如氨基酸变 体和衍生物；自然发生的非成蛋白质性氨基酸如β-丙氨酸、鸟氨酸等； 及具有本领域已知是氨基酸特有的性质的化学合成化合物。非自然发 生的氨基酸的实例包括但不限于α-甲基氨基酸(例如，α-甲基丙氨 酸)、D-氨基酸、组氨酸样氨基酸(例如，2-氨基-组氨酸、β-羟基-组氨酸、高组氨酸)、在侧链上具有额外亚甲基的氨基酸(“高”氨基 酸)及其中侧链上的羧酸官能团被磺酸基团置换的氨基酸(例如，磺 基丙氨酸)。非自然氨基酸，包括合成的非天然氨基酸、经取代的氨 基酸或一种或多种D-氨基酸向本发明蛋白质中的并入可在许多不同 方面有利。含D-氨基酸的肽等与含L-氨基酸的对应物相比在体外或 体内表现出增强的稳定性。因此，并入D-氨基酸的肽等的构建在期 望或需要更高的细胞内稳定性时可特别有用。更具体地，D-肽等对内 源性肽酶和蛋白酶有抗性，从而在期望此类性质时提供提高的分子生 物利用率和延长的体内寿命。另外，因为向T辅助细胞的呈递受主要 组织相容性复合物II类限制而不能有效加工D-肽等，并且因此，不 大可能在整个生物体中诱导体液免疫应答。

[0326] 在本文中可用其通常已知的三字母符号或用IUPAC-IUB生化命 名委员会推荐的单字母符号指氨基酸。同样，可用其普遍认可的单字 母符号指核苷酸。

[0327] 在本发明中还包括编码抗原结合构建体的多肽的多核苷酸。术语 “多核苷酸”或“核苷酸序列”旨在指示一段连续的两个或更多个核苷 酸分子。核苷酸序列可以是基因组、cDNA、RNA、半合成或合成来 源的，或其任何组合。

[0328] 术语“核酸”是指呈单链或双链形式的脱氧核糖核苷酸、脱氧核糖 核苷、核糖核苷或核糖核苷酸及其聚合物。除非特别限定，否则该术 语涵盖含有天然核苷酸的已知类似物，具有与参考核酸相似的结合性 质并且以类似于自然发生的核苷酸的方式代谢的核酸。

除非另外特别 限定,否则该术语还指寡核苷酸类似物,包括PNA(肽核酸)、用于 反义技术中的DNA类似物(硫代磷酸酯、磷酰胺等)。除非另外指 出,否则特定核酸序列还暗含其保守性修饰变体(包括但不限于简并 密码子取代)和互补序列以及明确指示的序列。特别地,简并密码子 取代可通过生成其中一个或多个所选(或全部)密码子的第三个位置 经混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代的序列而实现(Batzer等,Nucleic Acid Res.19:5081(1991);Ohtsuka等,J.Biol.Chem.260:2605-2608 (1985);Rossolini等,Mol.Cell.Probes 8:91-98(1994))。

[0329] “保守性修饰变体”适用于氨基酸和核酸序列。就特定核酸序列而 言,“保守性修饰变体”是指编码相同或基本上相同的氨基酸序列的那 些核酸,或其中所述核酸不将氨基酸序列编码成基本上相同的序列。由于遗传密码的简并性,许多功能相同的核酸编码任何指定蛋白质。例如,密码子GCA、GCC、GCG和GCU全部编码氨基酸丙氨酸。因此,在密码子指定丙氨酸的每个位置,可将密码子改为任何相应的 所需密码子,而不改变编码的多肽。此类核酸变异为“沉默变异”,是 保守性修饰变异的一种。本文编码多肽的每个核酸序列也描述了核酸 每种可能的沉默变异。本领域的普通技术人员将认识到核酸中的每个 密码子(除通常是蛋氨酸的唯一密码子的AUG和通常是色氨酸的唯 一密码子的TGG外)均可修饰以产生功能相同的分子。因此,在每 个描述的序列中隐含了编码多肽的核酸的每个沉默变异。

[0330] 至于氨基酸序列,本领域的普通技术人员将认识到对核酸、肽、 多肽或蛋白质序列进行的在编码序列中改变、添加或缺失单个氨基酸 或一小部分氨基酸的单独取代、缺失或添加,在所述改变导致氨基酸 缺失、氨基酸添加或氨基酸经化学相似氨基酸取代时,为“保守性修 饰变体”。本领域的普通技术人员已知提供了功能相似氨基酸的保守 性取代表。此类保守性修饰变体是除本文描述的多态变体、种间同源 物和等位基因以外的并且不排除这些。

[0331] 本领域的普通技术人员已知提供了功能相似氨基酸的保守性取 代表。下列八组各自含相互的保守性取代的氨基酸:1)丙氨酸(A)、 甘氨酸(G);2)天冬氨酸(D)、谷氨酸(E);3)天冬酰胺(N)、 谷氨酰胺(Q);4)精氨酸(R)、赖氨酸(K);5)异亮氨酸(I)、 亮氨酸(L)、蛋氨酸(M)、缬氨酸(V);6)苯丙氨酸(F)、酪氨 酸(Y)、色氨酸(W);7)丝氨酸(S)、苏氨酸(T);和[0139]8) 半胱氨酸(C)、蛋氨酸(M)(参见,例如,Creighton,Proteins:Structures and Molecular Properties(W H Freeman&Co.;第2版(1993年12月)。

[0332] 在两个或更多个核酸或多肽序列的情况下,术语“相同”或“同一 性”百分比涉及相同的两个或更多个序列或子序列。正如使用以下序 列比较算法之一(或本领域普通技术人员可用的其它算法)或通过人 工比对和目视检查所测量的那样,在比较窗口或指定区域上比较和比 对最大一致性时,如果序列有一定比例的氨基酸残基或核苷酸相同 (即,在指定区域上约60%同一性、约65%、约70%、约75%、约 80%、约85%、约90%或约95%同一性),则序列“大体上相同”。这 个定义还涉及测试序列的互补序列。可在长度为至少约50个氨基酸 或核苷酸的区域上,或在长度为75-100个氨基酸或核苷酸的区域上, 或未指定时,在多核苷酸或多肽的整个序列上存在同一性。编码本发 明的多肽的多核苷酸,包括来自于除人以外的物种的同源物,可通过 包括以下步骤的方法获得:在严格杂交条件下用具有本文描述的多核 苷酸序列或其片段的标记探针筛选文库,并且分离含所述多核苷酸序 列的

全长cDNA和基因组克隆。此类杂交技术为技术人员所公知。

[0333] 对于序列比较而言,通常一个序列作为与测试序列比较的参考序 列。当使用序列比较算法时,将测试和参考序列输入计算机,如有必 要指定子序列坐标,并且指定序列算法程序参数。可使用默认程序参 数,或可指定替代参数。然后序列比较算法基于程序参数计算测试序 列相对于参考序列的序列同一性百分比。

[0334] 本文中所使用的"比较窗口"包括参考具有选自以下的任一数量 的连续位置的区段:20至600,通常约50至约200,更通常地约100 至约150,在该区段中在对两个序列进行最优比对后,可将序列与相 同数量的连续位置的参考序列进行比较。用于比较的序列比对方法为 本领域普通技术人员已知。用于比较的最优序列比对可以按以下方法 来进行,包括但不限于,通过Smith和Waterman(1970)Adv.Appl. Math.2:482c的局部同源性算法,通过Needleman和Wunsch(1970)J. Mol.Biol.48:443的同源性比对算法,通过Pearson和Lipman(1988) Proc.Nat'l.Acad.Sci.USA 85:2444的相似性搜索方法,通过计算机执 行这些算法(Wisconsin遗传学软件包(Genetics Computer Group,575 Science Dr.,Madison,Wis.)中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA), 或通过人工比对和目视检查(参见,例如,Ausubel等,Current Protocols in Molecular Biology(1995年增刊))。

[0335] 适于测定序列同一性百分比和序列相似性的算法的一个实例为 BLAST和BLAST 2.0算法,其分别在Altschul等(1997)Nuc.Acids Res. 25:3389-3402和Altschul等(1990)J.Mol.Biol.215:403-410中有描述。 用于进行BLAST分析的软件通过在万维网ncbi.nlm.nih.gov上可用的 国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)公开可用。BLAST算法参数W、T和X决定了算法的 灵敏度和速度。BLASTN程序(对于核苷酸序列而言)默认使用字长 (W)为11、期望值(E)为10、M=5、N=-4和两条链的比较。对 于氨基酸序列而言,BLASTP程序默认使用字长为3、期望值(E) 为10及BLOSUM62打分矩阵(参见Henikoff和Henikoff(1992)Proc. Natl.Acad.Sci.USA 89:10915)比对(B)为50、期望值(E)为10、 M=5、N=-4和两条链的比较。通常在关闭"低复杂度"滤波器的情况 下进行BLAST算法。

[0336] BLAST算法还进行两个序列之间相似性的统计分析(参见,例 如,Karlin和Altschul(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:5873-5787)。BLAST算法提供的一种对相似性的量度是最小和概率(smallest sum probability)(P(N)),其指示在两个核苷酸或氨基酸序列之间因偶然 而发生匹配的概率。例如,如果在测试核酸与参考核酸的比较中最小和概率小于约0.2,或小于约0.01,或或小于约0.001,则认为核酸与 参考序列相似。

[0337] 短语"与……选择性(或特异性)杂交"是指在严格杂交条件下分 子仅与特定核苷酸序列(当该序列存在于复杂混合物(包括但不限于 总细胞或文库DNA或RNA)中时)的结合、双链化或杂交。

[0338] 短语"严格杂交条件"是指如本领域所知在低离子强度和高温条 件下DNA、RNA或其它核酸或其组合的序列的杂交。通常,在严格 条件下探针将与其在核酸复杂混合物(包括但不限于总细胞或文库 DNA或RNA)中的靶子序列杂交,但不与复杂混合物中的其它序列杂交。严格条件依赖于序列并且在不同环境下将会不同。越长的序列 在越高的温度下特异性杂交。在Tijssen,Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology—Hybridization with Nucleic Probes,"Overview of principles of

hybridization and the strategy of nucleic acid assays”(1993)中找到对核酸杂交的大量指导。

[0339] 如本文中所用,术语“工程化”被认为包括对肽骨架的任何操纵或 对自然发生的或重组多肽或其片段的翻译后修饰。工程化包括对氨基 酸序列、糖基化模式或单独的氨基酸侧链基团的修饰,以及这些方法 的组合。通过标准的分子生物学技术表达和生成工程化蛋白质。

[0340] 所谓“分离的核酸分子或多核苷酸”指已经从其天然环境中去除 的核酸分子、DNA或RNA。例如,载体中所含的编码多肽的重组多 核苷酸被认为已分离。分离的多核苷酸的其它实例包括保持在异源宿 主细胞中的重组多核苷酸或溶液中的纯化(部分或大体上)多核苷酸。 分离的多核苷酸包括通常含有多核苷酸分子的细胞中所含的多核苷 酸分子,但是多核苷酸分子存在于染色体外或不同于其天然染色体位 置的染色体位置。分离的RNA分子包括体内或体外RNA转录产物, 以及正链和负链形式和双链形式。本文描述的分离的多核苷酸或核酸 还包括经合成方式,例如经由PCR或化学合成而产生的此类分子。 另外,多核苷酸或核酸,在某些实施方案中,包括调控元件如启动子、核糖体结合位点或转录终止子。

[0341] 术语“聚合酶链式反应”或“PCR”通常是指例如美国专利第 4,683,195号中所述,在体外扩增所需核苷酸序列的方法。一般而言, PCR方法牵涉引物延伸合成的重复循环,使用能够优先与模板核酸杂 交的寡核苷酸引物。

[0342] 所谓具有与本发明的参考核苷酸序列至少(例如)95%“相同”的 核苷酸序列的核酸或多核苷酸,是指除参考核苷酸序列的每100个核 苷酸中多核苷酸序列可包括多达5个点突变外,多核苷酸的核苷酸序 列与参考序列相同。换言之,为获得具有与参考核苷酸序列具有至少 95%同一性的核苷酸序列的多核苷酸,参考序列中多达5%的核苷酸 可缺失或用另一核苷酸取代,或可向参考序列中插入多达参考序列中 总核苷酸的5%的数量的核苷酸。参考序列的这些改变可发生在参考 核苷酸序列的5’或3’末端位置或那些末端位置之间的任何地方,单独 地散布在参考序列中的残基之间或在参考序列内的一个或多个连续 基团中。实际情况是,按照惯例可以使用已知的计算机程序,如以上 对于多肽所讨论的计算机程序(例如,ALIGN-2)确定任何特定多核 苷酸序列是否与本发明的核苷酸序列具有至少80%、85%、90%、95%、 96%、97%、98%或99%同一性。

[0343] 如果衍生物或变体的氨基酸序列与来自于原始肽的100个氨基 酸的序列具有至少50%同一性,则称多肽的衍生物或变体与所述肽共 有“同源性”或与之“同源”。在某些实施方案中,衍生物或变体与具有 和衍生物相同数量的氨基酸残基的肽或肽的片段具有至少75%同一 性。在某些实施方案中,衍生物或变体与具有和衍生物相同数量的氨 基酸残基的肽或肽的片段具有至少85%同一性。在某些实施方案中, 衍生物的氨基酸序列与具有和衍生物相同数量的氨基酸残基的肽或 肽的片段具有至少90%同一性。在一些实施方案中,衍生物的氨基酸 序列与具有和衍生物相同数量的氨基酸残基的肽或肽的片段具有至少95%同一性。在某些实施方案中,衍生物或变体与具有和衍生物相 同数量的氨基酸残基的肽或肽的片段具有至少99%同一性。

[0344] 术语“修饰”,如本文中所用,是指对指定多肽所做的任何变化, 如对多肽长度、氨基酸序列、化学结构的变化、共翻译修饰或翻译后 修饰。形式“(修饰)”的术语意指所讨论的多肽经任选地修饰,即, 讨论的多肽可经修饰或未修饰。

[0345] 在一些方面,抗原结合构建体包含与本文公开的表或登录号中列 出的有关氨基酸序列或其片段具有至少80、85、90、91、92、93、 94、95、96、97、98、99或100％同一性的氨基酸序列。在一些方面，分离的抗原结合构建体包含由与本文公开的表或登录号中列出的有关核苷酸序列或其片段具有至少80、85、90、91、92、93、94、95、 96、97、98、99或100％同一性的多核苷酸编码的氨基酸序列。

[0346] 应理解本发明不限于本文描述的特定方案、细胞系、构建体和试 剂并且正因如此可以改变。还应理解本文使用的术语仅仅是为了描述 特定实施方案的目的,而非旨在限制本发明的范围。

[0347] 本文提到的所有出版物和专利通过引用并入本文用于描述和公 开(例如)出版物中描述的构建体和方法的目的,其可以连同当前描 述的发明一起使用。本文讨论的出版物只是为了在本申请的提交日期 之前公开而提供。不得将本文任何内容解释为承认本发明人无权凭借 先前发明或出于任何其它原因使本发明先于此公开。

[0348] 参考文献：

[0349] Bowles JA,Wang SY,Link BK,Allan B,Beuerlein G,Campbell MA,Marquis D,Ondek B,Wooldridge JE,Smith BJ,Breitmeyer JB,Weiner GJ.Anti-CD20monoclonal antibody with enhanced affinity for CD16activates NK cells at lower concentrations and more effectively than rituximab.Blood.2006 Oct 15;108(8):2648-54.Epub 2006 Jul 6.

[0350] Desjarlais JR,Lazar GA.Modulation of antibody effector function.Exp Cell Res.2011 May 15;317(9):1278-85.

[0351] Ferrara C,Grau S,Jäger C,Sondermann P,Brünker P,Waldhauer l,Hennig M,Ruf A,Rufer AC,Stihle M,Umaña P,Benz J.Unique carbohydrate-carbohydrate interactions are required for high affinity binding between FcgammaRIII and antibodies lacking core fucose. Proc Natl Acad Sci USA.2011 Aug 2;108(31):12669-74.

[0352] Heider KH,Kiefer K,Zenz T,Volden M,Stilgenbauer S,Ostermann E,Baum A,Lamche H,KüpcüZ,Jacobi A,Müller S,Hirt U,Adolf GR,Borges E.A novel Fc-engineered monoclonal antibody to CD37with enhanced ADCC and high proapoptotic activity for treatment of B-cell malignancies.Blood.2011Oct13;118(15):4159-68.Epub 2011 Jul 27.Blood.2011 Oct 13;118(15):4159-68.Epub 2011 Jul 27.

[0353] Lazar GA,Dang W,Karki S,Vafa O,Peng JS,Hyun L,Chan C,Chung HS, Eivazi A,Yoder SC,Vielmetter J,Carmichael DF,Hayes RJ,Dahiyat BI.Engineered antibody Fc variants with enhanced effector function.Proc Natl Acad Sci U S A.2006 Mar 14;103(11):4005-10.Epub 2006 Mar 6.

[0354] Lu Y,Vernes JM,Chiang N,Ou Q,Ding J,Adams C,Hong K,Truong BT,Ng D,Shen A,Nakamura G,Gong Q,Presta LG,Beresini M,Kelley B,Lowman H,Wong WL, Meng YG.Identification of IgG(1)variants with increased affinity to FcγRIIIa and ualtered affinity to FcγRI and FcRn:comparison of soluble receptor-based and

cell-based binding assays. J Immunol Methods.2011 Feb 28;365(1-2):132-41.Epub 2010 Dec 23.

[0355] Mizushima T,Yagi H,Takemoto E,Shibata-Koyama M,Isoda Y,Iida S,Masuda K,Satoh M,Kato K.Structural basis for improved efficacy of therapeutic antibodies on defucosylation of their Fc glycans.Genes Cells.2011 Nov;16(11):1071-1080.

[0356] Moore GL,Chen H,Karki S,Lazar GA.Engineered Fc variant antibodies with enhanced ability to recruit complement and mediate effector functions.MAbs.2010 Mar- Apr;2(2):181-9.

[0357] Nordstrom JL,Gorlatov S,Zhang W,Yang Y,Huang L,Burke S,Li H,Ciccarone V,Zhang T,Stavenhagen J,Koenig S,Stewart SJ,Moore PA,Johnson S,Bonvini E. Anti-tumor activity and toxicokinetics analysis of MGAH22,an anti-HER2 monoclonal antibody with enhanced Fc-gamma receptor binding properties.Breast Cancer Res.2011 Nov 30;13(6):R123.[Epub ahead of print]

[0358] Richards JO,Karki S,Lazar GA,Chen H,Dang W,Desjarlais JR.Optimization of antibody binding to FcgammaRIIa enhances macrophage phagocytosis of tumor cells.Mol Cancer Ther.2008 Aug;7(8):2517-27.

[0359] Schneider S,Zacharias M.Atomic resolution model of the antibody Fc interaction with the complement C1q component.Mol Immunol.2012 May;51(1):66-72.

[0360] Shields RL,Namenuk AK,Hong K,Meng YG,Rae J,Briggs J,Xie D,Lai J,Stadlen A,Li B,Fox JA,Presta LG.High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc gamma RI,Fc gamma RII,Fc gamma RIII,and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc gamma R.J Biol Chem.2001 Mar 2;276(9):6591-604.

[0361] Stavenhagen JB,Gorlatov S,Tuaillon N,Rankin CT,Li H,Burke S,Huang L,Vijh S,Johnson S,Bonvini E,Koenig S.Fc optimization of therapeutic antibodies enhances their ability to kill tumor cells in vitro and controls tumor expansion in vivo via low-affinity activating Fcgamma receptors.Cancer Res.2007 Sep 15;67(18):8882-90.

[0362] Stewart R,Thom G,Levens M,Güler-Gane G,Holgate R, Rudd PM,Webster C,Jermutus L,Lund J,A variant human IgG1-Fc mediates improved ADCC.Protein Eng Des Sel. 2011 Sep;24(9):671-8.Epub 2011 May 18.

[0363] 实施例

[0364] 下面是进行本发明的具体实施方案的实施例。提供实施例仅仅是 为了说明的目的,而非旨在以任何方式限制本发明的范围。已经做出 努力确保关于所用数字(例如,量、温度等)的精确性,但是当然应 允许一定实验误差和偏差。

[0365] 除非另外指出,否则本发明的实践将采用本领域技术范围内的蛋 白质化学、生物化学、重组DNA技术和药理学的常规方法。文献中 全面地解释了此类技术。参见,例如,

T.E.Creighton,Proteins：Structures and Molecular Properties(W.H.Freeman和公司,1993)； A.L.Lehninger,Biochemistry(Worth Publishers,Inc.,当前增加)；Sambrook等,Molecular Cloning:A Laboratory Manual(1989年,第 2版);Methods In Enzymology(S.Colowick和N.Kaplan编辑， Academic Press,Inc.);Remington′s Pharmaceutical Sciences,第18版 (Easton,Pennsylvania:Mack Publishing Company,1990);Carey和 Sundberg Advanced Organic Chemistry第3版(Plenum Press)A和B 卷(1992)。

[0366] 实施例1:示例性抗HER2双特异性抗体和对照的制备

[0367] 如下所述制备多种示例性抗HER2双互补位抗体(或抗原结合构 建体)和对照。已经制备了呈不同形式的抗体和对照,并且表1中示 出了示例性双互补位形式的示意图。在图1所示的所有形式中,用一 条显示为黑色的链(A链)和另一条显示为灰色的链(B链)描绘异二聚体Fc,而一个抗原结合结构域(1)显示为阴影线填充,而另一个抗原结合结构域(2)显示为白色。

[0368] 图1A描绘呈Fab-Fab形式的双互补位抗体的结构。图1B至1E 描绘呈scFv-Fab形式的双互补位抗体的可能型式的结构。在图1B中， 抗原结合结构域1为scFv,与A链融合,而抗原结合结构域2为Fab， 与B链融合。在图1C中,抗原结合结构域1为Fab,与A链融合， 而抗原结合结构域2为scFv,与B链融合。在图1D中,抗原结合结 构域2为Fab,与A链融合,而抗原结合结构域1为scFv,与B链 融合。在图1E中,抗原结合结构域2为scFv,与A链融合,而抗原 结合结构域1为Fab,与B链融合。在图1F中,两个抗原结合结构 域均为scFv。

[0369] 在实施例之后的序列表中提供了以下变体的序列。使用Kabat和 Chothia方法的组合鉴定CDR区。区域可根据用于鉴定的方法而略有 不同。

[0370] 示例性抗HER2双互补位抗体

[0371] 如表1所示制备示例性抗HER2双互补位抗体。

[0372] 表1:示例性抗HER2双互补位抗体

[0373]

变体		A 链	B 链
5019	含表位的结构域	ECD2	ECD4
	形式	Fab	scFv
	抗体名称	帕妥珠单抗	曲妥珠单抗
	CH3 序列取代	T350V_L351Y_F405A_Y407V	T366I_N390R_K392M_T394W
5020	含表位的结构域	ECD4	ECD2
	形式	scFv	Fab
	抗体名称	曲妥珠单抗	帕妥珠单抗
	CH3 序列取代	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T350V_T366L_K392L_T394W
7091	含表位的结构域	ECD2	ECD4
	形式	Fab	scFv
	抗体名称	帕妥珠单抗	曲妥珠单抗

[0374]

	CH3 序列取代	T350V_L351Y_F405A_Y407V	T350V_T366L_K392L_T394W
10000	含表位的结构域	ECD2	ECD4
	形式	Fab	scFv
	抗体名称	帕妥珠单抗-在 VL 区有 Y96A 并且在 VH 区有 T30A/A49G/L69F	曲妥珠单抗
	CH3 序列取代	T350V_L351Y_F405A_Y407V	T350V_T366L_K392L_T394W
6902	含表位的结构域	ECD2	ECD4
	形式	Fab	Fab
	抗体名称	曲妥珠单抗	帕妥珠单抗
	Fab 取代	HC：L143E_K145T LC：Q124R	HC：D146G_Q179K LC：Q124E_Q160E_T180E
	CH3 序列取代	T350V_L351Y_F405A_Y407V	T350V_T366L_K392L_T394W
6903	含表位的结构域	ECD2	ECD4
	形式	Fab	Fab
	Fab 取代	HC：L143E_K145T LC: Q124R_Q1160K_T178R	HC：D146G_Q179K LC：Q124E_Q160E_T180E
	抗体名称	曲妥珠单抗	帕妥珠单抗
	CH3 序列取代	T350V_L351Y_F405A_Y407V	T350V_T366L_K392L_T394W
6717	含表位的结构域	ECD4	ECD2
	形式	scFv	scFv
	抗体名称	帕妥珠单抗	曲妥珠单抗
	CH3 序列取代	T350V_L351Y_F405A_Y407V	T366I_N390R_K392M_T394W

[0375] 注意：

[0376] •CH3编号根据EU索引，如同Kabat中提到EU抗体的编号那 样(Edelman等，1969，Proc Natl Acad Sci USA63:78-85)；

[0377] •Fab或可变结构域编号根据Kabat(Kabat和Wu，1991；Kabat 等，Sequences of proteins ofimmunological interest。第5版-美国卫生 与人类服务部(US Department of Health and Human Services)，NIH 出版n°91-3242，第647页(1991))

[0378] •“含表位的结构域”＝与抗原结合部分结合的HER2的结构域；

[0379] •“抗体名称”＝抗体结合部分从中来源的抗体，存在时包括与野生 型相比的取代；

[0380] •“Fab取代”＝Fab中促进轻链正确配对的取代；

[0381] •“CH3序列取代”＝CH3结构域中促进异二聚体Fc形成的取代

[0382] 示例性抗HER2单价对照抗体

[0383] v1040：单价抗HER2抗体，其中HER2结合结构域是衍生自曲 妥珠单抗A链上的Fab，并且Fc区是A链中具有突变 T350V_L351Y_F405A_Y407V，B链中具有突变 T350V_T366L_

K392L_T394W的异二聚体,并且B链的铰链区具有 突变C226S;抗原结合结构域与HER2的结构域4结合。

[0384] v630-单价抗HER2抗体,其中HER2结合结构域是衍生自曲妥 珠单抗A链上的scFv,并且Fc区是A链中具有突变 L351Y_S400E_F405A_Y407V,B链中具有突变 T366I_N390R_K392M_T394W的异二聚体;并且铰链区在两条链上 均具有突变C226S(EU编号);抗原结合结构域与HER2的结构域4 结合。

[0385] v4182:单价抗HER2抗体,其中HER2结合结构域是衍生自帕 妥珠单抗A链上的Fab,并且Fc区是A链中具有突变 T350V_L351Y_F405A_Y407V,B链中具有突变 T350V_T366L_K392L_T394W的异二聚体,并且B链的铰链区具有 突变C226S;抗原结合结构域与HER2的结构域2结合。

[0386] 示例性抗HER2单特异性二价抗体对照(全尺寸抗体(full-sized antibody),FSA)

[0387] v506是在中国仓鼠卵巢(CHO)细胞内部产生的野生型抗HER2, 作为对照。两个HER2结合结构域均衍生自呈Fab形式的曲妥珠单抗 并且Fc为野生型同二聚体;抗原结合结构域与HER2的结构域4结 合。这种抗体也称为曲妥珠单抗类似物。

[0388] v792是具有IgG1铰链的野生型曲妥珠单抗,其中两个HER2结 合结构域均衍生自呈Fab形式的曲妥珠单抗,并且Fc区是A链中具 有突变T350V_L351Y_F405A_Y407V且B链中具有突变 T350V_T366L_K392L_T394W的异二聚体;抗原结合结构域与HER2 的结构域4结合。这种抗体也称为曲妥珠单抗类似物。

[0389] v4184是二价抗HER2抗体,其中两个HER2结合结构域均衍生 自呈Fab形式的帕妥珠单抗,并且Fc区是A链中具有突变 T350V_L351Y_F405A_Y407V且B链中具有突变 T350V_T366L_K392L_T394W的异二聚体。抗原结合结构域与HER2 的结构域2结合。这种抗体也称为帕妥珠单抗类似物。

[0390] hIgG是商用非特异性多克隆抗体对照(Jackson ImmunoResearch, #009-000-003)。

[0391] 如下克隆并表达这些抗体和对照(除人IgG以外)。使用针对人 /哺乳动物表达优化的密码子经由基因合成构建编码抗体重链和轻链 的基因。由已知的结合HER2/neu结构域4的抗体生成曲妥珠单抗Fab 序列(Carter P.等(1992)Humanization of an anti p185HER2antibody for human cancer therapy.Proc Natl Acad Sci 89,4285.)并且Fc为IgG1 同种型。由曲妥珠单抗的VH和VL结构域使用甘氨酸-丝氨酸接头生 成scFv序列(Carter P.等(1992)Humanization of an anti p185her2 antibody for human cancer therapy.Proc Natl Acad Sci 89,4285.)。由已 知的结合HER2/neu结构域2的抗体生成帕妥珠单抗Fab序列(Adams CW等(2006)Humanization of a recombinant monoclonal antibody to produce a therapeutic her dimerization inhibitor, Pertuzumab.Cancer Immunol Immunother,2006;55(6):717-27)。

[0392] 最终基因产物经亚克隆至哺乳动物表达载体PTT5(NRC-BRI, Canada)中并且在CHO细胞中表达(Durocher,Y.,Perret,S.和Kamen, A.High-level and high-throughput recombinant protein production by transient transfection of suspension-growing CHO cells.Nucleic acids research 30,e9(2002))。

[0393] 在指数生长期(150至200万个细胞/ml)用1mg/ml 25kDa聚乙 烯亚胺水溶液(PEI,

polysciences)按2.5:1的PEI:DNA比率转染CHO 细胞。(Raymond C.等A simplified polyethylenimine-mediated transfection process for large-scale and high-throughput applications. Methods.55(1):44-51(2011))。为测定形成异二聚体的最佳浓度范围，按允许异二聚体形成的重链a(HC-A)、轻链(LC)和重链B(HC-B) 的最佳DNA比率(例如,HC-A/HC-B/LC比率＝30:30:40(v5019) 转染DNA。5-6天后用在4000rpm下离心后收集的培养基收获转染的 细胞并且使用0.45μm过滤器澄清。

[0394] 将澄清的培养基装到MabSelect SuRe(GE Healthcare)蛋白-A 柱上并用10倍柱体积的PBS缓冲液(pH 7.2)洗涤。用10倍柱体积 的柠檬酸盐缓冲液(pH 3.6)洗脱抗体,合并成分含有经pH 11的TRIS 中和的抗体。

[0395] 通过凝胶过滤(SEC)进一步纯化蛋白-A抗体洗脱物。对于凝胶 过滤,将3.5mg抗体混合物浓缩至1.5mL并经由AKTA Express FPLC 按1mL/min的流速装到Sephadex 200HiLoad 16/600 200pg柱(GE Healthcare)上。按1mL/min的流速使用PBS缓冲液(pH 7.4)。收集 对应纯化抗体的成分,浓缩至约1mg/mL。

[0396] 如上所述克隆、表达并纯化具有不同分子形式的示例性抗HER2 ECD2x ECD4双互补位抗体(例如v6717,scFv-scFv IgG1;v6903 和v6902Fab-Fab IgG1;v5019、v7091和v10000Fab-scFv IgG1)。

[0397] 为定量抗体纯度和测定靶异二聚体蛋白和可能的同二聚体和/或 半抗体和/或错配轻链污染物的量,进行LC-MS完整的质量分析。如 实施例2中所述进行LC-MS完整的质量分析,用于ADC分子的DAR 分析计算除外。

[0398] 数据示于表2中。表2显示这些双互补位抗体的表达和纯化对于 v6717而言产生100％的所需产物,对于v6903而言产生91％的所需 异二聚体产物,并且对于v6902而言产生62％的所需产物。括号内的 数字指+81Da的主峰加上侧峰的量。通常用含有C端HA标签的变体 (如v6903和v6902的变体)检测到这个侧峰。对于v6903和v6903 而言,将主峰和侧峰加起来得到大约98％和67％的异二聚体纯度。基于高异二聚体纯度,鉴定v6903为代表性Fab-Fab抗HER2双互补 位变体,用于和scFv-scFv和Fab-scFv形式直接比较。在所有形式比较测定中均包括v6903。

[0399] 表2:抗体的表达和纯化

[0400]

变体	所需异二聚体种类(+侧峰)
6717	100.0
6903	90.9(97.7)
6902	62.4(67.4)

[0401] 实施例2:示例性抗HER2双互补位抗体药物偶联物(ADC)的制备

[0402] 制备以下抗HER2双互补位抗体药物偶联物(抗HER2双互补位 ADC)。制备变体5019、7091、10000和506的ADC。这些ADC鉴 定如下：

[0403] v6363(与DM1偶联的v5019)

[0404] v7148(与DM1偶联的v7091)

[0405] v10553(与DM1偶联的v10000)

[0406] v6246(与DM1偶联的v506,类似于T-DM1、曲妥珠单抗 -emtansine)

[0407] v6249(与DM1偶联的人IgG)

[0408] 经由与美登素直接偶合而制备ADC。如实施例1中所述,通过 蛋白A和SEC纯化的抗体(>95%纯度)用于制备ADC分子。按照 Kovtun YV、Audette CA、Ye Y等Antibody-drug conjugates designed to eradicate tumors with homogeneous and heterogeneous expression of the target antigen.Cancer Res 2006;66:3214-21中描述的方法偶联ADC。正如通过LC/MS所测定和如下所述,ADC具有每个抗体3.0个美登 木素生物碱分子的平均摩尔比。

[0409] ADC偶联反应中所用试剂的详情如下:偶联缓冲液1:50mM磷 酸钾/50mM氯化钠,pH 6.5,2mM EDTA。偶联缓冲液2:50mM琥 珀酸钠,pH 5.0。ADC配制缓冲液:20mM琥珀酸钠、6%(w/v)海 藻糖、0.02%聚山梨醇酯20,pH 5.0。二甲基乙酰胺(DMA);10mM 于DMA中的SMCC(偶联之前制备)、10mM于DMA中的DM1-SH (偶联之前制备)、1mM于PBS中的DTNB、1mM于缓冲液中的半 胱氨酸、20mM琥珀酸钠,pH 5.0。UV-VIS分光光度计(来自于Fisher Scientific的Nano drop 100)、PD-10柱(GE Healthcare)。

[0410] ADC制备如下。将原始抗体溶液装到PD-10柱上,该柱先前用 25mL偶联缓冲液1,接着用0.5ml偶联缓冲液1平衡。收集抗体洗 脱物并且在A_{280}下测量浓度并将浓度调至20mg/mL。制备10mM于 DMA中的SMCC-DM1溶液。向抗体溶液中添加7.5摩尔当量的 SMCC-DM1-抗体并且添加DMA至10%v/v的最终DMA体积。简单 地混合反应物并且在室温下温育2h。第二根PD-10柱用25ml偶联缓 冲液1平衡并且向柱中添加抗体-MCC-DM1溶液,接着添加0.5ml 缓冲液1。收集抗体-MCC-DM1洗脱物并且测量抗体溶液的A_{252}和 A_{280}。计算抗体-MCC-DM1浓度(□=1.45$mg^{-1}cm^{-1}$或217500$M^{-1}cm^{-1}$)。在SEC-HPLC柱上分析ADC进行高MW分析(SEC-HPLC柱TOSOH,G3000-SWXL,7.8mmx30cm,缓冲液、100mM磷酸钠、 300mM氯化钠,pH 7.0,流速:1ml/min)。

[0411] 使用Tosoh TSK凝胶丁基-NPR柱(4.6mmx3.5mmx2.5mm)通过 HIC-HPLC分析ADC药物:抗体比率(DAR)。洗脱按1ml/min在25 分钟内使用10-90%缓冲液B,接着用100%缓冲液B的梯度进行4 分钟。缓冲液A包含20mM磷酸钠、1.5M硫酸铵(pH 7.0)。缓冲液 B包含20mM磷酸钠、25%v/v异丙醇(pH 7.0)。

[0412] 用LC-MS通过以下方法测定ADC药物:抗体比率(DAR)。在装 入LC-MS之前用肽N-糖酰胺酶F(PNGase F)使抗体去糖基化。在 下列条件下在Agilent 1100系列HPLC上进行液相色谱法。

[0413] 流速:1mL/min柱后分流至100uL/min进入MS。溶剂:A=0.1% 于ddH20中的甲酸,B=65%乙腈、25%THF、9.9%ddH20、0.1%甲 酸。柱:2.1x30mm PorosR2。柱温:80℃;溶剂也经预热。梯度:20% B(0-3min)、20-90%B(3-6min)、90-20%B(6-7min)、20%B(7-9min)。

[0414] 随后在下列条件下在LTQ-Orbitrap XL质谱仪上进行质谱分析 (MS):使用Ion Max Electrospray的电离法。校准和调谐方法:按 10μL/min的流速输注2mg/mL的CsI溶液。在m/z 2211上使用自动 调谐功能调谐Orbitrap(观察到的总体CsI离子范围:1690至2800)。锥孔电压:40V;镜筒透镜:115V;FT分辨率:7,500;扫描范围m/z 400-4000;扫描延迟:1.5min。使用Thermo的Promass反卷积软生 成数据的分子量曲线。根据在每个部分峰值处观察到的DAR确定样 品的平均DAR(使用的计算:Σ(DARx部分峰值强度))。

[0415] 表3总结了ADC分子的平均DAR。示例性抗HER2双互补位抗 体和对照的平均DAR大约为3。

[0416] 表3:ADC的平均DAR

[0417]

	DAR(LC-MS)	DAR(HIC)	n
v6246	2.9	3.0	5
v6363	2.6	3.3	5
v7148	3.4	3.9	1
v10553	4.0	4.0	1

[0418] 实施例3:抗HER2双互补位抗体的表达和实验室规模纯化

[0419] 使实施例1中描述的抗HER2双互补位抗体(v5019、v7091和 v10000)在10和/或25L体积中表达并且如下通过蛋白A和尺寸排阻 色谱法(SEC)纯化。

[0420] 将澄清的培养基装到MabSelect SuRe(GE Healthcare)蛋白-A 柱上并用10倍柱体积的PBS缓冲液(pH 7.2)洗涤。用10倍柱体积 的柠檬酸盐缓冲液(pH 3.6)洗脱抗体,合并成分含有经pH 11的Tris 中和的抗体。

[0421] 通过凝胶过滤(SEC)进一步纯化蛋白-A抗体洗脱物。对于凝胶 过滤,将3.5mg抗体混合物浓缩至1.5mL并经由AKTA Express FPLC 按1mL/min的流速装到Sephadex 200HiLoad 16/600 200pg柱(GE Healthcare)上。按1mL/min的流速使用pH 7.4的PBS缓冲液。收集 对应纯化抗体的成分,浓缩至约1mg/mL。如实施例2中所述,通过 LC-MS分析纯化的蛋白质。

[0422] 图2A和2B中示出了10L表达及实验室规模蛋白A和SEC纯化 的结果。图2A示出了蛋白A纯化的v5019的SEC色谱并且图2B示 出了非还原性SDS-PAGE凝胶,其比较蛋白A合并成分以及SEC成 分15和19和合并SEC成分16-18的相对纯度。这些结果显示抗HER2 双互补位抗体表达并且通过蛋白A和SEC纯化得到纯蛋白质样品。通过UPLC-SEC和LC-MS分析进行进一步定量并且在实施例4中有 描述。

[0423] 在图2C中示出了25L表达及实验室规模蛋白A纯化的结果。图 2C示出了SDS-PAGE凝胶,其比较蛋白A纯化的v10000的相对纯 度。泳道M含有:蛋白质分子量标准;泳道1含有:还原条件下的 v10000;泳道2含有非还原条件下的v10000。SDS-PAGE凝胶显示 v10000纯净并且在非还原条件下在大约125kDa的正确预测分子量 处。在还原条件下两条重链带可见,对应于CH-A重链(大约49kDa) 和CH-B重链(大约52.5kDa);CH-A轻链可见并且在大约23.5kDa 的正确预测分子量处。这些结果显示抗HER2双互补位抗体表达并且 通过蛋白A一步纯化得到纯蛋白质样品。通过UPLC-SEC和LC-MS 分析进行进一步定量并且在实施例4中有描述。

[0424] 实施例4:通过UPLC-SEC和LC-MS分析双互补位抗HER2抗体纯度

[0425] 用描述的方法通过UPLC-SEC测定示例性蛋白A和SEC纯化的 双互补位抗HER2异源多聚体的纯度和聚集百分比。

[0426] 使用设为30℃(2.5mL,4.6x150mm,不锈钢,1.7μm粒子)的 Waters BEH200SEC柱按0.4ml/min进行UPLC-SEC分析。运行时间 由7min组成并且每次注射的总体积为2.8mL,运行缓冲液为25mM 磷酸钠、150mM柠檬酸钠(pH 7.1);及150mM磷酸钠(pH 6.4-7.1)。在190-400nm下并且用在280nm下激发且从300-360nm采集发射的 荧光促进通过吸光度的检测。用Empower 3软件分析峰值积分。

[0427] 在图3A中示出了合并的v5019SEC成分的UPLC-SEC结果。这 些结果表明通过蛋白A

和SEC色谱法将示例性抗HER2双互补位抗 体纯化至>99％纯度，含有少于1％的HMW物质。

[0428] 在图3B中示出了合并的v10000蛋白A成分的UPLC-SEC结果。这些结果表明通过蛋白A色谱法将示例性抗HER2双互补位抗体纯 化至>96％纯度，含有少于1％的HMW物质。

[0429] 在标准条件下通过实施例2中描述的方法使用LC-MS测定示例 性双互补位抗HER2抗体的纯度。图4A中示出了来自于对v5019的 合并SEC成分的LC-MS分析的结果。该数据显示示例性双互补位抗 HER2异二聚体具有100％的异二聚体纯度。图4B中示出了来自于对v10000的合并蛋白A成分的LC-MS分析的结果。该数据显示示例性 双互补位抗HER2异二聚体在一步蛋白A纯化后具有98％的异二聚 体纯度。

[0430] 通过蛋白A色谱法和/或蛋白A和SEC纯化的抗体用于以下实施 例中描述的测定。

[0431] 实施例5：通过蛋白A和CEX色谱法纯化的双互补位抗HER2抗体的大规模表达及可生产性评估

[0432] 在实施例1中描述的示例性抗HER2双互补位抗体v5019如下以 25L规模表达并纯化。

[0433] 从上清液获得抗体，接着进行两步纯化法，其由蛋白A纯化 (MabSelect™树脂；GE Healthcare)，接着是按照所述方案的阳离 子交换色谱法(HiTrap™ SP FF树脂；GE Healthcare)组成。

[0434] 将CHO-3E7细胞保持在定轨振荡器(VWR Scientific,Chester, PA)上37℃下具有5％CO2的锥形烧瓶(Erlenmeyer Flask)(Corning Inc.,Acton,MA)中的无血清Freestyle CHO表达培养基(Invitrogen, Carlsbad,CA,USA)中。转染前两天，使用摇动式生物反应器系统 20/50(Wave Bioreactor System 20/50)(GE Healthcare Bio-Science Corp)按适当密度将细胞接种在50L CellBag中，体积为25L。在转 染当天，将DNA和PEI(Polysciences,Eppelheim,Germany)按最佳 比率混合并且使用实施例1中描述的方法添加到细胞中。第6天收集 的细胞上清液用于进一步纯化。

[0435] 对细胞培养肉汤进行离心和过滤，然后按10.0mL/min装到包装 在XK26/20(GE Healthcare,Uppsala,Sweden)中的30mL Mabselect™树脂上。用适当缓冲液洗涤和洗脱之后，收集成分并用1M Tris-HCl (pH 9.0)中和。经由包装在XK16/20(GE Healthcare, Uppsala, Sweden)中的20mL SP FF树脂进一步纯化靶蛋白。经MabSelect™纯化的样品用20mM NaAC(pH 5.5)稀释以将电导率调至<5ms/cm 并且添加50mM柠檬酸(pH3.0)将样品pH值调至5.5。按1mL/min 将样品装到HiTrap™ SP FF树脂(GE Healthcare)上并用20mM NaAC洗涤。使用0-100％的20mM NaAC、1M NaCl(pH5.5)梯度洗脱，10倍柱体积(CV)按1mL/min洗脱蛋白质。

[0436] 通过如实施例1中描述的SDS-PAGE分析纯化的蛋白质，并且 通过实施例4中描述的方法通过LC-MS分析异二聚体纯度。结果示 于图5A和5B中。图5A示出了MabSelect™和HiTrap™ SP FF纯化 后v5019的SDS-PAGE结果，泳道M含有：蛋白质分子量标准；条 带1：还原条件下的v5019(3μg)；泳道2：非还原条件下的v5019 (2.5μg)。SDS-PAGE凝胶显示v5019在MabSelect™和HiTrap™ SP FF纯化后相对较纯，并且在非还原条件下，在大约125kDa的正确预 测分子量处。在还原条件下两条重链带可见，对应于CH-A重链(大 约49kDa)和CH-B重链(大约52.5kDa)；CH-A轻链可见并且在大 约23.5kDa的正确预测质量处。

[0437] 使用实施例4中描述的方法进行经MabSelect™和HiTrap™ SP FF纯化的v5019的

LC-MS分析以测定异二聚体纯度。图5B中示出 了来自于LC-MS分析的结果。这些结果显示使用MabSelect™和 HiTrap™ SP FF纯化v5019得到具有>99％异二聚体纯度且具有很少 (<1％)或不可检测的同二聚体或半抗体污染的蛋白质。

[0438] 实施例6:表达低至高水平HER2的细胞系中双互补位抗HER2抗体的Bmax与对照的Bmax的比较

[0439] 进行以下实验以测量与对照相比,示例性双互补位抗HER2抗体 与表达不同水平的HER2的细胞结合的能力。所用细胞系为SKOV3 (HER2 2+/3+)、JIMT-1(HER2 2+)、MDA-MB-231(HER2 0/1+) 和MCF7(HER2 1+)。测试的双互补位抗HER2抗体包括v5019、v7091 和v10000。如下所述,经B_{max}和表观K_D(平衡解离常数)的具体测 量,测定双互补位抗HER2抗体与HER2表达(HER2+)细胞结合的 能力。

[0440] 通过流式细胞术测定测试抗体与HER2+细胞表面的结合。用PBS 洗涤细胞并且按$1x10^5$个细胞/100μl重新悬浮在DMEM中。向每个 微量离心管添加100μl细胞悬浮液,接着按10μl/管添加抗体变体。所 述管在旋转器上4℃温育2小时。微量离心管在室温下以2000RPM离心2min并且用500μl培养基洗涤细胞团块。使每个细胞团块重新 悬浮在100μl于培养基中稀释为2μg/份样品的荧光染料标记的二抗 中。然后在旋转器上4℃温育样品1小时。温育之后,在2000rpm下 离心细胞2min并且在培养基中洗涤。使细胞重新悬浮在500μl培养 基中,在装有5μl碘化丙啶(PI)的管中过滤并且在BD LSR II流式 细胞仪上根据生产商的说明进行分析。通过FACS和在GraphPad Prism中进行的数据分析和曲线拟合估计示例性双互补位抗HER2异 二聚体抗体和对照抗体的K_D。

[0441] 结果示于图6A-6G中。结果证明示例性双互补位抗HER2抗体 (v5019、v7091和v10000)可以与HER2+细胞结合,与抗HER2FSA (v506)相比Bmax高大约1.5倍。图6A-6G中的结果也显示双互补 位抗HER2抗体(v5019、v7091和v10000)可以与HER2+细胞结合, 与两种抗HER2FSA(v506+v4184)的组合相比Bmax相似。

[0442] 在图6A、6E及表4和表5中示出了对于HER2+SKOV3细胞 (HER2 2/3+)的结合结果。图6A和表4中的结果显示示例性双互 补位抗HER2抗体(v5019)在与SKOV3细胞的结合方面与两种不 同的抗HER2FSA(v506或v4184)相比展示出高大约1.5倍的Bmax。结果还显示示例性双互补位抗HER2抗体(v5019)与两种抗HER2 FSA(v506+v4184)的组合相比展示出相等Bmax。v5019与SKOV3 结合的表观K_D与单独的抗HER2FSA(v506或v4184)或两种抗HER2 FSA(v506+v4184)的组合相比高大约2至4倍。

[0443] 表4:与SKOV3细胞的结合

[0444]

抗体变体	K_D (nM)	Bmax
v506	2.713	29190
v4184	4.108	29204
v5019	8.084	47401
v506 + v4184	4.414	49062

[0445] 图6E和表5中的结果显示示例性双互补位抗HER2抗体(v5019、7091和v10000)在与SKOV3细胞的结合方面与两种不同的抗HER2 FSA(v506或v4184)相比展示出高大约1.5至1.6倍的Bmax。结果 还显示示例性双互补位抗HER2抗体(v5019、7091和v10000)与两 种抗

HER2FSA(v506+v4184)的组合相比展示出相等Bmax。v5019、7091和v10000及两种抗HER2FSA(v506+v4184)的组合与SKOV3 结合的表观K_D与单独的抗HER2FSA(v506或v4184)相比高大约 2至3倍。

[0446] 表5:与SKOV3细胞的结合

抗体变体	K_D (nM)	Bmax
v506	4.8	30007
v4184	5.6	27628
v506 + v4184	10.0	49014
v5019	13.6	47693
v7091	14.5	44737
v10000	10.3	48054

[0447]

[0448] 在JIMT-1细胞系(HER2 2+)中的结合曲线示于图6B和表6中。这些结果显示示例性双互补位抗HER2抗体(v5019)在与JIMT-1细 胞的结合方面与抗HER2FSA(v506)相比展示出高大约1.5倍的 Bmax。结果还显示示例性双互补位抗HER2抗体(v5019)与两种抗HER2FSA(v506+v4184)的组合相比展示出相等Bmax。v5019与 JIMT-1结合的表观K_D与抗HER2FSA(v506)相比高大约2倍,而 与两种抗HER2FSA(v506+v4184)的组合相比相似(高大约1.2倍)。

[0449] 表6:与JIMT-1细胞的结合

抗体变体	K_D (nM)	Bmax
v506	1.875	4905
v5019	4.317	7203
v506 + v4184	5.057	7200

[0450]

[0451] 在MCF7细胞系(HER2 1+)中的结合曲线示于图6C、6F及表 7和8中。这些结果显示示例性双互补位抗HER2抗体(v5019、7091 和v10000)在与MCF7细胞的结合方面与抗HER2FSA(v506)相 比展示出高大约1.5倍的Bmax。图6C中的结果还显示示例性双互补 位抗HER2抗体(v5019)与两种抗HER2FSA(v506+v4184)的组 合相比展示出相等Bmax。v5019与MCF7结合的表观K_D与抗HER2 FSA(v506)和两种抗HER2FSA(v506+v4184)的组合相似。

[0452] 表7:与MCF7细胞的结合

抗体变体	K_D (nM)	Bmax
v506	1.301	542
v5019	1.506	872
v506 + v4184	2.095	903

[0453]

[0454] 图6F和表8中的结果显示示例性双互补位抗HER2抗体(v5019、v7091和v10000)与FSA单特异性v506相比展示出高大约1.6至1.7 倍的Bmax。v5019、v7091和v10000的表观K_D与抗HER2FSA(v506) 相似。

[0455] 表8:与MCF7细胞的结合

抗体变体	K_D (nM)	Bmax
v506	3.5	571
v5019	5.6	968
v7091	6.5	918
v10000	3.7	915

[0456]

[0457] 在MDA-MB-231细胞系(HER2 0/1+)中的结合曲线示于图6D 和表9中。这些结果显示示例性双互补位抗HER2抗体(v5019)在 与MDA-MB-231细胞的结合方面与抗HER2FSA(v506)相比展示 出高大约1.5倍的Bmax。结果还显示示例性双互补位抗HER2抗体 (v5019)与两种抗HER2FSA(v506+v4184)的组合相比展示出相 等Bmax。v5019与MDA-MB-231结合的表观K_D与抗HER2FSA (v506)相比低大约2.4倍而与两种抗HER2FSA(v506+v4184)的 组合相比高大约1.7倍。

[0458] 表9:与MDA-MB-231细胞的结合

抗体变体	K_D (nM)	Bmax
v506	8.364	0.9521
v5019	3.543	1.411
v506 + v4184	2.040	1.542

[0459]

[0460] 在WI-38肺成纤维细胞系中的结合曲线示于图6G和表10中。WI-38细胞系是表达基底水平(HER2 0+,约10,000个受体/个细胞) 的HER2的正常肺上皮细胞(Carter等1992,PNAS,89:4285-4289; Yarden 2000,HER2:Basic Research,Prognosis and Therapy)。这些结 果显示示例性双互补位抗HER2抗体(v5019、v7091和v10000)在 与WI-38细胞的结合方面与抗HER2FSA(v506)相比展示出等效细 胞表面修饰(decoration)(Bmax);然而,注意到对于v506的结合似 乎未达到饱和,并且因此不能测定KD。示例性双互补位抗HER2抗 体之间的表观K_D相等。

[0461] 表10:与WI-38细胞的结合

[0462]

抗体变体	K_D (nM)	Bmax
v506	未测定	约366
v5019	7.0	380
v7091	8.3	371
v10000	8.4	418

[0463] 这些结果显示示例性双互补位抗HER2抗体可与HER2 1+、2+ 和3+肿瘤细胞结合,达到比抗HER2单特异性FSA高大约1.5至1.6 倍的水平,并且示例性双互补位抗HER2抗体可与HER2 1+、2+和 3+肿瘤细胞结合,达到与具有不同表位特异性的两种独特单特异性抗HER2FSA的组合等效的水平。这些结果还显示双互补位抗HER2抗 体(即与单特异性抗HER2抗体v506相比)未显示出与表达大约 10,000个HER2受体/个细胞或更少的基底HER2表达细胞的结合增 加,并且与双互补位抗HER2抗体的细胞表面结合增加的阈值出现在 HER2受体

水平为大约>10,000个受体/个细胞时。基于该数据,预期 示例性双互补位抗HER2抗体与HER2 3+、2+和1+肿瘤细胞的细胞 表面结合将增加,但是与按大约10,000个受体或更少表达基底水平 的HER2受体的非肿瘤细胞的细胞表面结合不会增加。

[0464] 实施例7:双互补位抗HER2抗体抑制HER2+细胞生长的能力

[0465] 测量示例性双互补位抗HER2抗体抑制表达3+和2+水平的 HER2的细胞生长的能力。在HER2 3+细胞系BT-474、SKBr3、SKOV3 和HER2 2+JIMT-1中进行实验。测试双互补位抗HER2抗体v5019、 v7091和v10000。如下所述测量双互补位抗HER2抗体抑制BT-474 细胞(200nM抗体)、SKOV3、SKBr3和JIMT-1细胞(300nM抗体) 的能力。

[0466] 将测试抗体稀释于培养基中并按10μl/孔添加到细胞中,一式三 份。将板在37℃下温育3天。使用AlamarBlue™(Biosource#dal1100) 或Celltiter-Glo®测量细胞活力并且按照生产商的说明读取吸光度。将 数据归一化为未处理的对照并且在GraphPad prism中进行分析。

[0467] 生长抑制结果示于图7A-E中。表11A和11B中提供了结果的总 结。图7A-B和表11A的结果表明示例性抗HER2双互补位抗体 (v5019)能够抑制HER2+SKOV3和BT-474细胞系的生长。图10A 显示抗HER2双互补位抗体在与抗HER2FSA(v506)相比时和在与 两种抗HER2FSA抗体(v506+v4184)的组合相比时,介导对SKOV3 的最强生长抑制。

[0468] 表11A:对HER2 3+癌细胞的生长抑制

[0469]

处理	存活%	
	SKOV3 HER2 2+/3+	BT-474 HER2 3+
v506	88	37
v506 + v4184	96	32
v5019	77	43

[0470] 图7C-E和表11B中的结果表明示例性抗HER2双互补位抗体 (v5019、v7091和v10000)可以抑制HER2 3+SKBR3、HER2 2+/3+ SKOV3和HER2 2+JIMT-1肿瘤细胞系的生长。图7C显示抗HER2 双互补位抗体v7091和v10000介导对HER2 3+SKBr3乳腺肿瘤细胞 的最强生长抑制。图7D显示抗HER2双互补位抗体(v7091和v10000) 介导对HER2 3+SKOV3卵巢肿瘤细胞的最强生长抑制。图7E显示 抗HER2双互补位抗体(v7091和v10000)介导对HER2 2+赫塞汀 (Herceptin)抗性JIMT-1肿瘤细胞的最强生长抑制。在测试的所有 细胞系中,示例性抗HER2双互补位抗体(v7091和v10000)与抗 HER2FSA单特异性抗体(v506)相比介导更强的生长抑制。

[0471] 表11B:对HER2 3+癌细胞的生长抑制

[0472]

处理	存活%		
	SKBr3 HER2 3+	SKOV3 HER2 2+/3+	JIMT-1 HER2 2+
v506	52	107	107
v5019	59	83	106
v7091	35	79	85
v10000	34	73	84

[0473] 这些结果显示示例性饱和浓度的双互补位抗HER2抗体可以抑 制HER2 3+和2+乳腺和卵巢肿瘤细胞及HER2 2+曲妥珠单抗抗性肿 瘤细胞生长,比FSA抗HER2单特异性抗体强大约20%。

[0474] 实施例8:与HER2ECD相比双互补位抗HER2抗体的互补位与二聚HER2优先结合

[0475] 进行该实验是为了测定示例性双互补位抗HER2抗体单独的互 补位与二聚HER2和HER2ECD结合的能力,作为膜结合HER2 (HER2-Fc)和脱落HER2ECD之间差异性结合的替代。实验如下进 行。

[0476] 表面等离子体共振(SPR)分析:使用来自于Biacore(GE Healthcare)的T200系统通过SPR测量单价抗HER2抗体(v1040或 v4182)与HER2胞外结构域(sHER-2,Ebioscience BMS362,_其编 码全长蛋白质的氨基酸23-652)和HER2-Fc(二聚HER2-Fc融合物, 其编码胞外结构域的氨基酸1-652;Sino Biological Inc.,10004-H02H) 结合的亲和力。通过以下方法测定与HER2ECD的结合。通过达到 44RU(反应单位)水平的胺偶合将在10mm Hepes(pH 6.8)中的 HER2ECD固定在CM5芯片上。使单价抗HER2抗体通过HER2固 定芯片的表面,浓度范围为0.76-60nM。通过以下方法测定与HER2-Fc 的结合。通过达到43RU水平的胺偶合将在10mm Hepes(pH 6.8) 中的HER2-Fc固定在CM5芯片上。使单价抗HER2抗体通过HER2 固定芯片的表面,浓度范围为0.76-60nM。分析对于结合的抗体浓度, 一式三份。使用单循环动力学方法测定平衡解离结合常数(K_D)和 动力学参数(ka和kd)。将传感图(Sensogram)全局性拟合为1:1 Langmuir结合模型。所有实验均在室温下进行。

[0477] 结果示于图8A、图8B、表11C和表11D中。图8A和表11C中 的结果示出了单价抗HER2抗体(v1040;代表示例性抗HER2双互 补位抗体的CH-B上的抗原结合结构域)的SPR结合数据。图8A说 明了v1040与固定的HER2ECD或HER2-Fc结合的K_D值(nM)并 且显示单价抗HER2抗体与HER2-Fc的结合与HER2ECD相比具有 更低的K_D。表11C示出了单价抗HER2抗体(OA)与全尺寸抗HER2 抗体(FSA)相比在与HER2ECD和HER2-FC('HER2mem')结合 中的ka(1/M s)和kd(1/s)值。该数据示出了OA和FSA与HER2 ECD和HER2-Fc结合的相当的结合(ka)和分离(kd)速率。

[0478] 表11C:单价抗HER2抗体(OA)与全尺寸抗HER2抗体(FSA) 相比在与HER2ECD和HER2-FC('HER2mem'结合中的ka(1/M s)和kd(1/s)值

[0479]

	ka(1/Ms)	kd(1/s)
OA与HER2ECD	2.00E+05	6.15E-05
FSA与HER2ECD	4.14F+05	2.01E-05
OA与HER2mem	1.88E+05	4.38E-05
FSA与HER2mem	3.41E+05	4.94E-06*

[0480] 图8B和表11D中的结果示出了单价抗HER2抗体(v4182;代 表示例性抗HER2双互补位抗体的CH-A上的抗原结合结构域)的 SPR结合数据。图8B说明了v4182与固定的HER2ECD或HER2-Fc 结合的K_D值(nM)并且显示单价抗HER2抗体与HER2-Fc的结合 与HER2ECD相比具有更低的K_D。表11D示出了单价抗HER2抗体 (OA)与全尺寸抗HER2抗体(FSA)相比在与HER2ECD和 HER2-FC('HER2mem')结合中的ka(1/M s)和kd(1/s)值。该 数据示出了OA和FSA与HER2ECD和HER2-Fc结合的相当的结合 (ka)和分离(kd)速率。

[0481] 表11D:

[0482]

	ka(1/Ms)	kd(1/s)
OA与HER2ECD	9.08E+04	6.17E-04
FSA与HER2ECD	9.55E+04	3.93E-04
OA与HER2mem	1.39E+05	2.04E-04
FSA与HER2mem	1.77E+05	6.84E-05

[0483] 这些数据显示示例性抗HER2双互补位抗体的每个互补位与二 聚HER2抗原(膜结合HER2的代表)的结合与HER2ECD相比具 有更低的K_D。基于该数据,预计与患病患者血清中存在的并且可以 作为治疗性抗体的接收池的脱落HER2ECD相比,示例性抗HER2 抗体对膜结合HER2抗原将具有更高的结合亲和力(Brodowicz T等 Soluble HER-2/neu neutralizes biologic effects of anti-HER-2/neu antibody on breast cancer cells in vitro.Int J Cancer.1997;73:875-879)。例如,≤15ng/mL的基线HER2ECD水平;而患有进行性疾病的患者 具有≥38ng/mL的HER2ECD。

[0484] 实施例9:在HER2+细胞中双互补位抗HER2抗体的全细胞负荷和内化

[0485] 进行该实验是为了评估示例性双互补位抗HER2抗体被内化于 HER2 2+细胞中的能力。根据Schmidt,M.等,Kinetics of anticar cinoembryonic antigen antibody internalization:effects of affinity, bivalency,and stability.Cancer Immunol Immunother(2008) 57:1879-1890中详述的方案仿效直接内化法。具体地,使用AlexaFluor®488蛋白标记试剂盒(Invitrogen,cat.no.A10235),根据 生产商的说明直接标记抗体。

[0486] 对于内化测定而言,用1x10^5个细胞/孔接种12孔板并且在37℃ +5%CO2下温育过夜。第二天,按在DMEM+10%FBS中200nM添 加标记抗体并且在37℃+5%CO2下温育24小时。在黑暗条件下,抽 吸培养基并且用2x500μL PBS洗涤孔。为收获细胞,在37℃下添加 (250μL)细胞解离缓冲液。细胞沉淀并重新悬浮在100μL无或有抗 Alexa Fluor 488、50μg/mL的兔IgG成分(Molecular Probes,A1 1094) 的DMEM+10%FBS中,并于冰上温育30min。分析前,添加300μL DMEM+10%FBS过滤样品4μl碘化丙啶。使用LSRII流式细胞仪分 析样品。

[0487] 在图9A和图9B中示出了示例性抗HER2双互补位抗体在 HER2+细胞中内化的能力。图9A示出了在与示例性抗HER2双互补 位抗体和抗HER2FSA对照温育24小时后,在BT-474细胞中可检测 表面和内部抗体的结果。这些结果显示与示例性抗HER2双互补位抗 体(v5019)温育与抗HER2FSA对照相比在BT-474细胞中产生多大 约2倍的内化抗体。图9B示出了在与示例性抗HER2双互补位抗体 和抗HER2FSA对照温育24小时后,在JIMT-1细胞中可检测表面和 内部抗体的结果。这些结果显示与示例性抗HER2双互补位抗体 (v5019)温育与抗HER2FSA对照相比在JIMT-1细胞中产生多大约 2倍的内化抗体。在BT-474和JIMT-1细胞中双互补位抗HER2和抗 HER2FSA之间24小时后表面染色的量相当。

[0488] 图10A-F中的结果示出了在4℃下2小时后与全细胞表面结合的 可检测抗体与在37℃下24小时后与表面结合的抗体的比较;除在 37℃下24小时后内化抗体的量以外。图10A示出了在BT-474细胞 中与示例性抗HER2双互补位抗体和抗HER2FSA对照温育后的结果。这些结果显示示例性抗HER2双互补位抗体和BT-474细胞一起 温育24小时导致全细胞表面上检测到的抗体减少15%。图10A还显 示与示例性抗HER2双互补位抗体(v5019)温育后在BT-474细胞中 产生与抗HER2FSA对照相比多大约2倍的内化抗体。

[0489] 图10B示出了在JIMT-1细胞中用示例性抗HER2双互补位抗体 和抗HER2FSA对照温育后的结果。图10B是图9B中所示实验的重 复,增加了在4℃下2小时后的表面染色。这些结果显示示例性抗 HER2双互补位抗体和JIMT-1细胞一起温育24小时导致全细胞表面 上检测到的抗体减少57％。图10B还显示与示例性抗HER2双互补 位抗体(v5019)温育在BT-474细胞中在37℃下温育24小时后与抗 HER2FSA对照相比产生更多的内化抗体。

[0490] 图10C示出了在SKOV3细胞中与示例性抗HER2双互补位抗体 温育后的结果。这些结果显示示例性抗HER2双互补位抗体和SKOV3 细胞一起温育24小时导致全细胞表面上检测到的抗体减少大约 32％。

[0491] 图10D示出了在MCF7细胞中与示例性抗HER2双互补位抗体 温育后的结果。这些结果显示示例性抗HER2双互补位抗体和MCF7 细胞一起温育24小时导致全细胞表面上检测到的抗体减少大约 45％。

[0492] 图10E示出了在SKOV3细胞中与示例性抗HER2双互补位抗体 v5019、v7091和v10000温育后的结果。这些结果显示示例性抗HER2 双互补位抗体和SKOV3细胞一起温育产生与抗HER2FSA对照相比 多1.5至1.8倍的内化抗体。与抗HER2FSA对照温育24小时导致在全细胞表面上检测到的抗体减少最多(约77％)。

[0493] 图10F示出了在JIMT-1细胞中与示例性抗HER2双互补位抗体 v5019、v7091和v10000温育后的结果。这些结果显示示例性抗HER2 双互补位抗体和JIMT-1细胞一起温育产生与抗HER2FSA对照相比 多1.4至1.8倍的内化抗体。与抗HER2双互补位抗体(v5019和v10000)温育24小时导致在全细胞表面上检测到的抗体减少最多(约 64％)。

[0494] 这些结果显示示例性抗HER2双互补位抗体与单特异性抗HER2 FSA相比在HER2+细胞中具有优良的内化性质。在37℃下温育24 小时后检测到的表面抗体减少表明示例性抗HER2双互补位抗体在 HER2+细胞中温育后能够减少细胞表面HER2受体的量并且在HER2 2+肿瘤细胞中温育后表面HER2减少最多。

[0495] 实施例10:抗HER2双互补位抗体在和HER2+细胞一起温育后在1、3和16小时的细胞染色和定位

[0496] 进行该实验是为了分析在不同时间点示例性抗HER2双互补位 抗体在HER2+JIMT-1细胞中的内化并且按照实施例9中呈现的方法 的正交法分析全细胞负荷和内化。

[0497] 在无血清DMEM中在37℃+5％CO_2下将JIMT-1细胞与200nM 的抗体(v506、v4184、v5019或v506和v4184的组合)温育1小时、3小时和16小时。用温热无菌PBS(500ml/孔)轻轻洗涤细胞两次。在室温下用250ml的10％福尔马林/PBS溶液固定细胞10min。用PBS (500μl/孔)洗涤固定的细胞三次,用250μl/孔的含有0.2％Triton X-100的PBS透化5min,并用500μl/孔PBS洗涤三次。在室温下用 500μl/孔的PBS+5％山羊血清封闭细胞1小时。去除封闭缓冲液,并 且在室温下温育300μl/孔的二抗(Alexa Fluor 488偶联的AffiniPure Fab片段山羊抗人IgG(H+L);Jackson ImmunoResearch Laboritories, Inc.;109-547-003)1小时。用500μl/孔的PBS洗涤细胞三次并且然后 使用含DAPI的Prolong gold anti-fade (Life Technologies;#P36931) 将容纳固定的细胞的盖玻片固定在载玻片上。使用Olympus FV1000 共聚焦显微镜获取60倍单幅图像。

[0498] 结果表明在3小时时示例性抗HER2双互补位抗体(v5019)内 化到JIMT-1细胞中并且主要位于细胞核附近。比较温育3小时的图 像显示与两种抗HER2FSA(v506+v4184)的组

合相比和与单独的抗 HER2FSA(v506或v4184)相比,与抗HER2双互补位抗体相关的 内部染色的量更大。将抗HER2双互补位抗体(v5019)结果与抗HER2 FSA(v4184)做比较时看到抗体染色的细胞定位方面的差异;其中 抗HER2FSA(v4184)在1、3和16小时时间点显示出明显的质膜 染色。对于抗HER2FSA(v506)、两种抗HER2FSA(v506+v4184) 的组合及抗HER2双互补位抗体处理(数据未示出)而言,可检抗体 的量在第16小时减少。

[0499] 这些结果显示示例性抗HER2双互补位抗体v5019内化于 HER2+细胞中并且在3小时温育后内化抗体可检。这些结果与实施例 9中呈现的结果一致,显示示例性抗HER2双互补位抗体与抗HER2 FSA相比在HER2+细胞中可以内化达到更大的量。

[0500] 实施例11:与对照相比双互补位抗HER2抗体介导的HER2+细胞的ADCC

[0501] 进行该实验是为了测量示例性双互补位抗HER2抗体在SKOV3 细胞(卵巢癌,HER2 2+/3+)中介导ADCC的能力。

[0502] 将靶细胞与测试抗体(从45μg/ml开始的10倍递减浓度)预温 育30分钟,接着按5:1的效应细胞/靶细胞比率添加效应细胞并且在 37℃+5%CO_2下继续温育6小时。用8种从45μg/ml开始10倍递减的 浓度测试样品。使用LDH测定试剂盒测量LDH释放量。

[0503] 用不同浓度的样品,以5:1、3:1和1:1的效应细胞/靶细胞(E/T) 比率进行剂量-反应研究。使用GraphPad prism用S形剂量反应非线 性回归拟合分析半最大有效浓度(EC_{50})值。

[0504] 将细胞保持在37℃/5%CO_2下的McCoy 5a完全培养基中并定期 用补充了10%FBS的合适培养基根据来自于ATCC的方案传代培养。传代数少于p10的细胞用于测定。在用于测定之前用补充了1%FBS 和1%青霉素/链霉素的无酚红DMEM培养基将样品稀释到介于0.3-300nM之间的浓度。

[0505] 图11A和表12中示出了在5:1的效应细胞/靶细胞比率下HER2+ SKOV3细胞中的ADCC结果。这些结果显示与抗HER2FSA(v792) 和两种不同的抗HER2FSA的组合(v792+v4184)相比时,示例性双 互补位抗HER2抗体(v5019)通过ADCC介导最大百分比的最大限度靶细胞裂解。示例性双互补位抗HER2抗体介导的最大限度细胞裂 解的差异与抗HER2FSA相比高大约1.6倍,而与两种不同的抗HER2 FSA(v792+v4184)的组合相比高大约1.2倍。

[0506] 表12:

[0507]

抗体变体	EC_{50} (nM)	最大限度细胞裂解%
v792	约0.032	17.82
v5019	约0.164	28.57
v792 + v4184	约0.042	23.85

[0508] 图11B和表13中示出了在3:1的效应细胞/靶细胞比率下HER2+ SKOV3细胞中的ADCC结果。这些结果显示与抗HER2FSA(v792) 和两种不同的抗HER2FSA的组合(v792+v4184)相比时,示例性双 互补位抗HER2抗体(v5019)通过ADCC介导最大百分比的最大限度靶细胞裂解。示例性双互补位抗HER2抗体介导的最大限度细胞裂 解的差异与抗HER2FSA相比高大约1.3倍,而与两种不同的抗HER2 FSA(v792+v4184)的组合相比高大约1.8倍。

[0509] 表13:

[0510]

抗体变体	EC_{50} (nM)	最大限度细胞裂解%
v792	1.064	16.9
v5019	约0.4608	22.3
v792 + v4184	约1.078	12.3

[0511] 图11C和表14中示出了在1:1的效应细胞/靶细胞比率下HER2+ SKOV3细胞中的ADCC结果。这些结果显示与抗HER2FSA(v792) 和两种不同的抗HER2FSA的组合(v792+v4184)相比时,示例性双 互补位抗HER2抗体(v5019)通过ADCC介导最大百分比的最大限度靶细胞裂解。示例性双互补位抗HER2抗体介导的最大限度细胞裂 解的差异与抗HER2FSA相比高大约1.8倍,而与两种不同的抗HER2 FSA(v792+v4184)的组合相比高大约1.13倍。

[0512] 表14:

[0513]

抗体变体	EC_{50} (nM)	最大限度细胞裂解%
v792	1.429	7.529
v5019	约1.075	13.29
v792 + v4184	约0.1121	11.73

[0514] 图11和表12-14中的结果显示与抗HER2FSA和两种抗HER2 FSA的组合相比时,示例性双互补位HER2抗体在不同E:T比率下均 介导SKOV3细胞的最强ADCC。在化疗后表达可变和/或减少的循环 效应细胞的HER2+患病患者中将预计会观察到抗HER2双互补位抗 体介导的ADCC增加(Suzuki E.等Clin Cancer Res 2007;13:1875-1882)。图11中的观察结果与实施例6中呈现的全细胞 结合Bmax一致,其显示与抗HER2FSA相比,在与示例性抗HER2 双互补位抗体的细胞结合增加大约1.5倍。

[0515] 实施例12:示例性抗HER2抗体与HER2ECD结合的能力

[0516] SPR测定用于评价示例性抗HER2双互补位抗体与HER2ECD 结合的机制;具体地,用于了解一个双互补位抗体分子的两个互补位 是否可以与一个HER2ECD结合(顺式结合;1:1抗体:HER2分子) 或一个双互补位抗体的每个互补位是否可以结合两个不同的HER2 ECD(反式结合;1:2抗体:HER2分子)。图14中说明了顺式与反式 结合的示意图。分离速率降低(更慢)与抗体捕获水平(表面密度) 提高之间的相关性指示反式结合(即一个抗体分子与两个HER2分子 结合。

[0517] 使用来自于Biacore(GE Healthcare)的T200系统通过SPR测量 示例性双互补位抗HER2抗体(v5019)与重组人HER2的亲和力及 结合动力学参数并且与单价抗HER2抗体(v630或v4182;包含v5019 的单独互补位)的亲和力及结合动力学参数比较。使用标准胺偶合将 介于2000和4000RU之间在介于5和10μg/ml之间的浓度下注射的 抗人Fc固定在CM5芯片上。单价抗HER2抗体(v630或v4182)和 示例性双互补位抗HER2抗体(v5019)被捕获在抗人Fc上(在PBST 中在范围为0.08至8μg/ml的浓度下,按10μl/min注射1分钟),反 应水平范围为350-15RU。将重组人HER2稀释于PBST中并且在 120nM、200nM或300nM的起始浓度下稀释3倍注射并且按50μl/分 钟的流速注射3分钟,接着在末次注射结束时再解离30分钟。分析 HER2稀释物,一式两份。将传感图全局性拟合为1:1Langmuir结合 模型。所有实验均在25℃下进行。

[0518] 结果示于图12和图13中。

[0519] 图12A中的结果示出了在一定注射和捕获抗体浓度范围内在芯 片表面上单价抗HER2(v630和v4182)及示例性双互补位抗HER2 抗体(v5019)与重组人HER2结合的ka(1/Ms)。这些结果显示对 于v630、v4182和v5019而言时在不同抗体捕获水平下ka不变。

[0520] 图12B中的结果示出了在一定注射和捕获抗体浓度范围内在芯 片表面上单价抗HER2(v630和v4182)及示例性双互补位抗HER2 抗体(v5019)与重组人HER2结合的kd(1/s)。这些结果显示仅对 于示例性抗HER2双互补位抗体(v5019)而言在递增的抗体捕获水 平下kd降低。

[0521] 图12C中的结果示出了在一定注射和捕获抗体浓度范围内在芯 片表面上单价抗HER2(v630和v4182)及示例性双互补位抗HER2 抗体(v5019)与重组人HER2结合的K_D(M)。这些结果显示仅对 于示例性抗HER2双互补位抗体(v5019)而言在递增的抗体捕获水 平下K_D降低。这个结果与图15B中所示递减的kd值相关。

[0522] 图13A中的结果示出了在一定抗体捕获水平范围内示例性双互 补位抗HER2抗体(v5019)与重组人HER2结合的kd(1/s)。这些 结果显示kd值与芯片表面上捕获的抗体的更高RU成反比(即在越 高的抗体捕获水平下分离速率越慢)。结果表明正如在较高的抗体捕获水平下分离速率降低所证明那样,示例性双互补位抗HER2抗体 (v5019)能够结合两个独立HER2分子上的HER2ECD2和HER2 ECD4(即反式结合)。该数据受图47中呈现且实施例43中讨论的类 似实验支持,其中二价单特异性抗HER2FSA(v506)展示出顺式结 合(1:1抗体:HER2),其中正如对这种分子所预期的那样,kd(1/s) 和K_D(M)值在递增的抗体捕获水平下保持不变。

[0523] 图13B中的结果示出了在一定抗体捕获水平范围内单价抗HER2 抗体(v4182)与重组人HER2结合的kd(1/s)。这些结果显示在芯 片表面上捕获的不同抗体RU范围内kd值无变化。这些结果显示单 价抗HER2抗体(v4182)1:1单价结合(顺式结合)。

[0524] 图13C中的结果示出了在一定抗体捕获水平范围内单价抗HER2 抗体(v630)与重组人HER2结合的kd(1/s)。这些结果显示在芯片 表面上捕获的不同抗体RU范围内kd值无变化。这些结果显示单价 抗HER2抗体(v630)1:1单价结合(顺式结合)。该数据受图47中 呈现且实施例43X中讨论的实验支持,其中二价单特异性抗HER2 FSA(v506)在kd(1/s)上未显示出变化。

[0525] 图12和图13中的结果表明示例性双互补位抗HER2抗 体(v5019)能够呈反式同时与两个HER2分子结合(抗体:HER2比 率1:2)。通过SPR检测的反式结合机制与实施例6中呈现的较高细 胞表面饱和结合数据(Bmax),连同实施例9和10中呈现的内化数 据一致。

[0526] 实施例13:示例性双互补位抗HER2抗体温育对BT-474细胞中AKT磷酸化的影响

[0527] 使用AKT Colorimetric In-Cell ELISA试剂盒(Thermo Scientifiic; 目录号62215)根据生产商的说明,做以下修改测试示例性抗HER2 双互补位抗体减少BT-474细胞中的pAKT信号传导的能力。按$5x10^3$个/孔接种细胞并且在37℃+5%CO_2下温育24小时。将细胞与100nM 抗体温育30min,接着与rhHRG-β1温育15min。根据说明洗涤、固 定及透化细胞。添加二抗(1:5000;Jackson ImmunoReasearch,HRP- 驴抗小鼠IgG,JIR,Cat#715-036-150;HRP-驴抗兔IgG,JIR,目录 号711-036-452)并且根据生产商的说明进行测定。

[0528] 图15中的结果显示与示例性抗HER2双互补位抗体温育在 HRGβ1的存在下相对于

人IgG对照(CTL)介导p-Akt水平降低大约 1.2倍。两种抗HER2FSA的组合(v506+v4184)在HRGβ1的存在 下介导p-Akt水平降低最多,与人IgG对照相比低大约1.5倍。在无 配体(HRGβ1)时用示例性抗HER2双互补位抗体与人IgG对照抗 体相比检测到p-Akt适度降低。

[0529] 这些数据显示示例性抗HER2双互补位抗体可以阻断HER2+细 胞中的配体活化的信号传导。

[0530] 实施例14:双互补位抗HER2抗体对心肌细胞活力的影响

[0531] 测量示例性双互补位抗HER2抗体和ADC对心肌细胞活力的影 响是为了获得潜在心脏毒性作用的初步指征。

[0532] 根据生产商的说明培育表达基底水平的HER2受体的iCell心肌 细胞(Cellular Dynamics International,CMC-100-010)并且用作靶细 胞以评估在抗体处理后的心肌细胞健康状况。测定如下进行。将细胞 接种在96孔板中(15,000个细胞/孔)并维持48小时。将细胞培养 基更换为维持培养基并将细胞维持72小时。为评估抗体诱导的心脏 毒性的影响,用10和100nM的单独或组合变体处理细胞72小时。 为评估蒽环类诱导的心脏毒性的影响(单独的或与示例性双互补位抗 HER2抗体组合),用3uM(约IC_{20})多柔比星处理细胞1小时,接 着用10和100nM的单独或组合变体处理72小时。通过用 CellTiter-Glo®发光细胞生存期测定(Promega,G7570)和/或磺酰罗 丹明(Sigma 230162-5G)按照生产商的说明定量细胞ATP水平而评 估细胞活力。

[0533] 结果示于图16A-C中。图16A中的结果显示将心肌细胞与治疗 相关浓度的示例性抗HER2双互补位抗体(v5019)和示例性抗HER2 双互补位ADC(v6363)温育,相对于未处理的对照('mock')不影 响心肌细胞活力。

[0534] 图16B中的结果显示将心肌细胞与治疗相关浓度的示例性抗 HER2双互补位抗体(v5019、v7091和v10000)和示例性抗HER2 双互补位ADC(v6363、v7148和v10553)温育相对于未处理的对照 ('mock')对心肌细胞活力没有影响。基于图16A和16B中的结果, 预计示例性抗HER2双互补位抗体和示例性抗HER2双互补位ADC 应不会(例如)通过线粒体功能障碍诱导心肌病,正如用其它抗HER2 靶向抗体所报道的一样(Grazette L.P.等Inhibition of ErbB2Causes Mitochondrial Dysfunction in Cardiomyocytes;Journal of the American College of Cardiology:2004;44:11)。

[0535] 图16C中的结果显示用多柔比星预处理心肌细胞,接着与治疗 相关浓度的示例性抗HER2双互补位抗体(v5019、v7091和v10000) 和示例性抗HER2双互补位ADC(v6363、v7148和v10553)温育相 对于未处理的对照+多柔比星('Mock+多柔比星')对心肌细胞活力没 有影响。基于图16C中的结果,预计示例性抗HER2双互补位抗体 和示例性抗HER2双互补位ADC在接受蒽环类同时治疗的患者中应 不会引起心功能障碍的风险升高(Seidman A、Hudis C、Pierri MK等 Cardiac dysfunction in the trastuzumab clinical trials experience.J Clin Oncol(2002)20:1215-1221)。

[0536] 图16A-C显示将心肌细胞与抗HER2双互补位抗体和ADC温育 与单特异性抗HER2FSA抗体(v506)、抗HER2FSA抗体组合 (v506+v4184)和ADC(v6246)相比,单独或与多柔比星组合处理 时具有等效作用。基于这些结果,预计示例性抗HER2双互补位抗体 和ADC与抗单特异性抗HER2FSA、曲妥珠单抗或ADC、T-DM1相 比不会具有更强的心脏毒性作用。

[0537] 实施例15:示例性双互补位抗HER2-ADC在HER2+细胞中的细胞毒性

[0538] 测量示例性双互补位抗HER2-ADC抗体(v6363、v7148和 v10553)在HER2+细胞中介导细胞毒性的能力。在一些情况下将与 DM1偶联的人IgG(v6249)用作对照。在HER2+乳腺肿瘤细胞系 JIMT-1、MCF7、MDA-MB-231、HER2+卵巢肿瘤细胞系SKOV3和 HER2+胃细胞系NCI-N87中进行实验。评价示例性双互补位抗 HER2-ADC抗体在HER2+细胞中的细胞毒性并且与单特异性抗 HER2FSA-ADC(v6246)和抗HER2-FSA-ADC+抗HER2-FSA对照 (v6246+v4184)做比较。如实施例7中所述执行所述方法,做以下 修改。将抗HER2ADC与SKOV3和JIMT-1(图17A和B)靶细胞 一起温育24小时,洗涤细胞,更换培养基并且在37℃下温育5天后 评价细胞生存期。抗HER2ADC与靶MCF7和MDA-MB-231靶细胞 一起温育6小时(图17C和D),洗涤细胞,更换培养基并且在37℃ 下温育5天后评价细胞生存期。在图17E-G中,将抗HER2ADC同 时与SKOV3、JIMT-1、NCI-N87靶细胞一起温育5天。如实施例7 中所述使用AlamarBlue™(图17A-D)或Celltiter-Glo®(图17E-G) 测量细胞活力。

[0539] 结果示于图17A-G中并且数据总结于表15和16中。

[0540] 图17A及表15和16中的结果显示示例性抗HER2双互补位ADC (v6363)与抗HER2-FSA-ADC(v6246)和抗HER2-FSA-ADC+抗 HER2-FSA(v6246+v4184)的组合相比在JIMT-1中更具细胞毒性。示例性抗HER2双互补位ADC具有与抗HER2-FSA-ADC对照相比 低大约13倍的优良EC_{50}。

[0541] 图17B及表15中的结果显示示例性抗HER2双互补位ADC (v6363)与抗HER2-FSA-ADC(v6246)和抗HER2-FSA-ADC+抗 HER2-FSA(v6246+v4184)的组合相比在SKOV3中更具细胞毒性。示例性抗HER2双互补位ADC具有与抗HER2-FSA-ADC对照相比 低大约5倍的优良EC_{50}。

[0542] 图17C及表15中的结果显示示例性抗HER2双互补位ADC (v6363)与抗HER2-FSA-ADC(v6246)和抗HER2-FSA-ADC+抗 HER2-FSA(v6246+v4184)的组合相比在MCF7中更具细胞毒性。示例性抗HER2双互补位ADC具有与抗HER2-FSA-ADC对照相比 低大约2倍的优良EC_{50}。

[0543] 图17D及表15中的结果显示示例性抗HER2双互补位ADC (v6363)与抗HER2-FSA-ADC(v6246)和抗HER2-FSA-ADC+抗 HER2-FSA(v6246+v4184)的组合相比在MDA-MB-231中更具细胞 毒性。示例性抗HER2双互补位ADC具有与抗HER2-FSA-ADC对 照相比低大约2倍的优良EC_{50}。

[0544] 表15:

[0545]

v6246	0.9225	5.942	122.0	约1075
v6246 + 4184	3.146	12.68	约24432	136.4
v6363	0.1776	0.4443	58.55	141.0

[0546] 图17E及表16中的结果显示示例性抗HER2双互补位ADC (v6363、v7148和v10553)与抗HER2-FSA-ADC(v6246)相比在 SKOV3卵巢肿瘤细胞中更具细胞毒性。示例性抗HER2双互补位 ADC具有与抗HER2-FSA-ADC对照相比低大约2至7倍的优良EC_{50}值。

[0547] 图17F及表16中的结果显示示例性抗HER2双互补位ADC (v6363、v7148和v10553)与抗HER2-FSA-ADC(v6246)相比在 JIMT-1乳腺肿瘤细胞中更具细胞毒性。示例性抗HER2双

互补位ADC 具有与抗HER2-FSA-ADC对照相比低大约6至9倍的优良EC_{50}值。

[0548] 图17G及表16中的结果显示示例性抗HER2双互补位ADC (v6363、v7148和v10553)在NCI-N87胃肿瘤细胞中具细胞毒性。示例性抗HER2双互补位ADC具有与抗HER2-FSA-ADC对照相比 大致相等的EC_{50}值。

[0549] 表16：

[0550]

抗体 变体	EC_{50} (nM)		
	SKOV3	JIMT-1	NCI-N87
v6246	0.22	3.52	1.04
v6363	0.03	0.56	1.33
v7148	0.06	0.56	2.74
v10553	0.09	0.39	1.69

[0551] 这些结果显示示例性抗HER2双互补位ADC(v6363、v7148和 v10553)与抗HER2-FSA-ADC对照相比在HER2 3+、2+和1+乳腺肿 瘤细胞中更具细胞毒性。这些结果还显示示例性抗HER2双互补位 ADC(v6363、v7148和v10553)在HER2 2/3+胃肿瘤细胞中具细胞 毒性。这些结果与实施例9中呈现的内化结果一致。

[0552] 实施例16:双互补位抗HER2抗体在人卵巢癌细胞异种移植模型中的作用

[0553] 使用建立的人卵巢癌细胞来源的异种移植模型SKOV3评估示例 性双互补位抗HER2抗体的抗肿瘤功效。

[0554] 雌性无胸腺裸鼠经由皮下插入1mm^3肿瘤碎片而接种肿瘤。监测 肿瘤,直至其达到220mm^3的平均体积;然后将动物随机分为3个处 理组:IgG对照、抗HER2FSA(v506)和双互补位抗HER2抗体 (v5019)。

[0555] 每组包括15只动物。每个组的剂量如下：

[0556] A)在研究第1天以30mg/kg的负荷剂量将IgG对照静脉给药， 然后是20mg/kg的维持剂量每周两次直至研究第39天。

[0557] B)在研究第1天以15mg/kg的负荷剂量将抗HER2FSA(v506) 静脉给药,然后是10mg/kg的维持剂量每周两次直至研究第18天。 在第22至39天,将5mg/kg抗HER2FSA静脉给药,每周两次。同 时按5mg/kg将抗HER2FSA(v4184)腹膜内给药,每周两次。

[0558] C)在研究第1天以15mg/kg的负荷剂量将双互补位抗HER2抗 体静脉给药,然后是10mg/kg的维持剂量每周两次直至研究第39天。

[0559] 在研究过程中每周测量肿瘤体积两次,在第22天评估反应数和 中位生存期。结果示于图18和表17中。

[0560] 双互补位抗HER2和抗HER2FSA与IgG对照相比展示出优良的 肿瘤生长抑制。双互补位抗HER2抗体与抗HER2FSA组合相比诱导 优良的肿瘤生长抑制(图18A)。在第22天双互补位抗HER2抗体与 抗HER2FSA v506相比伴有反应肿瘤数增加(分别为11和5)(表 17)。示例性双互补位抗HER2抗体和抗HER2FSA与IgG对照相比 展示出优良的生存期。双互补位抗HER2抗体与抗HER2FSA(36 天)相比具有优良的中位生存期(61天)(图18B和表17)。在研究第22天添加第二抗HER2FSA(v4184)与抗HER2FSA(v506)组 合。两种抗HER2FSA的组合与单独的抗HER2FSA(v506)相比诱 导进一步的肿瘤生长抑制。

[0561] 表17：

[0562]

n=15，第 22 天	IgG	v506	v5019
平均肿瘤体积（TV）（mm3）（从基线的变化%）	1908（+766%）	1291（+486%）	697（+217%）
% TGI	0	32	63
反应数（TV<对照的 50%）	0/15	5/15	11/15
中位生存期（天）	22	36	61

[0563] 实施例17：双互补位抗HER2抗体药物偶联物(ADC)在人卵巢癌细胞系异种移植模型中的作用

[0564] 使用建立的人卵巢癌细胞来源的异种移植模型SKOV3评估与 DM1偶联的示例性双互补位抗HER2抗体(v6363)的抗肿瘤功效。

[0565] 雌性无胸腺裸鼠经由皮下插入1mm^{3}肿瘤碎片而接种肿瘤。监测 肿瘤，直至其达到220mm^{3}的平均体积；然后将动物随机分为3个处 理组：IgG对照、抗HER2FSA-ADC和双互补位抗HER2-ADC。

[0566] 每组包括15只动物。每个组的剂量如下：

[0567] A)在研究第1天以30mg/kg的负荷剂量将IgG对照静脉给药，然后是20mg/kg的维持剂量每周两次直至研究第39天。

[0568] B)在研究第1天以10mg/kg的负荷剂量将抗HER2FSA-ADC (v6246)静脉给药，然后在第15和29天是5mg/kg的维持剂量。

[0569] C)在研究第1天以10mg/kg的负荷剂量将双互补位抗HER2抗 体-ADC(v6363)静脉给药，然后在第15和29天是5mg/kg的维持 剂量。

[0570] 在整个研究期间测量肿瘤体积，并在第22天评估反应数和中位 生存期。结果示于图19中。表18中示出了结果总结。

[0571] 双互补位抗HER2-ADC和抗HER2FSA-ADC抑制肿瘤生长比 IgG对照更佳(图19A和表18)。双互补位抗HER2-ADC抑制肿瘤 生长达到比抗HER2FSA-ADC更高的程度。双互补位抗HER2-ADC 组与抗HER2FSA-ADC相比伴有反应肿瘤数增加(分别为11和9)。 双互补位抗HER2-ADC和抗HER2FSA-ADC组与IgG对照相比展示 出优良的生存期(图19B和表18)。与具有36天的中位生存期的抗 HER2FSA-ADC相比，双互补位抗HER2抗体组展示出61天的中位 生存期(图19B和表18)。

[0572] 表18：

[0573]

n=15，第 22 天	IgG	v6246	v6363
平均肿瘤体积（TV）（mm3）（从基线的变化%）	1908（+766%）	873（+297%）	632（+187%）
% TGI	0	54%	67%
反应数（TV<对照的 50%）	0/15	9/15	11/15
中位生存期（天）	22	36	61

[0574] 实施例18：双互补位抗HER2抗体药物偶联物(ADC)在人原代细胞异种移植模型

(HBCx-13b)中的作用

[0575] 使用来自于人乳腺癌的曲妥珠单抗抗性患者来源的异种移植模 型HBCx-13B,评估与DM1偶联的示例性双互补位抗HER2抗体的 抗肿瘤功效。

[0576] 雌性无胸腺裸鼠经由皮下插入20mm^{3}肿瘤碎片而接种肿瘤。监 测肿瘤,直至其达到100mm^{3}的平均体积;然后将动物随机分为3个 处理组:抗HER2FSA(v506)、抗HER2FSA-ADC(v6246)和双互 补位抗HER2-ADC(v6363)。每个组包括7只动物。每个组的剂量 如下:

[0577] A)在研究第1天以15mg/kg的负荷剂量将抗HER2FSA静脉给 药,然后在研究第4、8、11、15、18、22和25天施用10mg/kg的维 持剂量。

[0578] B)在研究第1天以10mg/kg的负荷剂量将抗HER2FSA-ADC静 脉给药,然后在第22天是5mg/kg的维持剂量。

[0579] C)在研究第1天以10mg/kg的负荷剂量将双互补位抗HER2抗 体-ADC静脉给药,然后在第22天是5mg/kg的维持剂量。

[0580] 在整个研究期间测量肿瘤体积,并在第50天评估平均肿瘤体积、完全反应和零残留疾病参数。结果示于图20中。表19中示出了结果 总结。

[0581] 双互补位抗HER2-ADC和抗HER2FSA-ADC比抗HER2FSA (v506)展示出更强的肿瘤生长抑制。双互补位抗HER2-ADC抑制 肿瘤生长比抗HER2FSA-ADC更佳。双互补位抗HER2-ADC组与抗 HER2FSA-ADC组相比伴有显示出完全反应(比基线降低10%以上) (分别为7和4)和显示出零残留疾病(分别为5和2)的肿瘤数增 加。

[0582] 表19:

[0583]

n=15, 第 50 天	v506	v6246	v6363
平均肿瘤体积 (TV) (mm3) (从基线的变化%)	1149 (+1018%)	262 (+153%)	26 (-75%)
% TGI	0%	77%	98%
完全反应 (>10%基线消退)	0	4/7	7/7
零残留疾病 (TV<20mm3)	0	2/7	5/7

[0584] 实施例19:双互补位抗HER2抗体药物偶联物(ADC)在人原代细胞异种移植模型(T226)中的作用

[0585] 使用来自于人乳腺癌的患者来源的曲妥珠单抗抗性异种移植模 型T226,评估示例性双互补位抗HER2-ADC的抗肿瘤功效。

[0586] 雌性无胸腺裸鼠经由皮下插入20mm^{3}肿瘤碎片而接种肿瘤。监 测肿瘤,直至其达到100mm^{3}的平均体积;然后将动物随机分为4个 处理组:IgG对照(n=15)、抗HER2FSA(v506;n=15)、抗HER2 FSA-ADC(v6246;n=16)和双互补位抗HER2-ADC偶联物(v6363; n=16)。每个组的剂量如下:

[0587] A)在研究第1天以15mg/kg的负荷剂量将IgG对照静脉给药, 并且在研究第4、8、11、15、18、22和25天施用10mg/kg的维持剂 量。

[0588] B)在研究第1天以15mg/kg的负荷剂量将抗HER2FSA静脉给 药,并且在研究第4、8、11、15、18、22和25天施用10mg/kg的维 持剂量。

[0589] C)在研究第1和15天以5mg/kg将抗HER2FSA-ADC静脉给药。

[0590] D)在研究第1和15天以5mg/kg将双互补位抗HER2-ADC偶联 物静脉给药。

[0591] 在整个研究期间测量肿瘤体积，并在第31天评估平均肿瘤体积 和完全反应参数。结果示于图21中。表20中示出了结果总结。

[0592] 双互补位抗HER2-ADC和抗HER2FSA-ADC与抗HER2FSA (v506)和IgG对照相比展示出更佳的肿瘤生长抑制。在这种模型中 示例性双互补位抗HER2-ADC与抗HER2FSA-ADC相比(图21和 表20)诱导等效肿瘤生长抑制和完全基线消退。

[0593] 表20：

[0594]

第 31 天	IgG（n=13）	v506（n=13）	v6246（n=16）	v6363（n=16）
平均肿瘤体积（TV）（mm3）（从基线的变化%）	1797（+1728%）	1611（+1573）	422（+332%）	572（+483%）
% TGI（与 hIgG 对比）	0%	11%	77%	68%
完全反应（>10%基线消退）	0/13	0/14	1/16	1/16

[0595] 实施例20：双互补位抗HER2抗体药物偶联物(ADC)在人原代细胞异种移植模型(HBCx-5)中的作用

[0596] 使用来自于人乳腺癌的患者来源的曲妥珠单抗抗性异种移植模 型HBCx-5(浸润性导管癌，管腔B型)，评估示例性双互补位抗 HER2-ADC的抗肿瘤功效。

[0597] 雌性无胸腺裸鼠经由皮下插入20mm^3肿瘤碎片而接种肿瘤。监 测肿瘤，直至其达到100mm^3的平均体积；然后将动物随机分为4个 处理组：IgG对照(n＝15)、抗HER2FSA(v506；n＝15)、抗HER2 FSA-ADC(v6246；n＝16)和双互补位抗HER2-ADC(v6363；n＝16)。每个组的剂量如下：

[0598] A)在研究第1天以15mg/kg的负荷剂量将IgG对照静脉给药， 并且在研究第4、8、11、15、18、22和25天施用10mg/kg的维持剂 量。

[0599] B)在研究第1天以15mg/kg的负荷剂量将抗HER2FSA静脉给 药，并且在研究第4、8、11、15、18、22和25天施用10mg/kg的维 持剂量。

[0600] C)在研究第1和15、22、29、36天以10mg/kg将抗HER2 FSA-ADC静脉给药。

[0601] D)在研究第1和15、22、29、36天以10mg/kg将双互补位抗 HER2-ADC静脉给药。

[0602] 在整个研究期间测量肿瘤体积，并在第43天评估平均肿瘤体积、T/C比率、反应数、完全反应和零残留疾病参数。结果示于图22中。表21中示出了结果总结。

[0603] 双互补位抗HER2-ADC和抗HER2FSA-ADC与抗HER2FSA (v506)和IgG对照相比展示出更佳的肿瘤生长抑制。在曲妥珠单抗 抗性HBCx-5人乳腺癌异种移植模型中示例性双互补位抗 HER2-ADC与抗HER2FSA-ADC相比(图22和表21)诱导等效肿 瘤生长抑制而且具有增加的反应数。

[0604] 表21：

[0605]

第 43 天	IgG（n=4）	赫塞汀（n=5）	T-DM1（n=7）	6363（n=7）
平均肿瘤体积（TV）（mm3）（从基线的变化%）	922（+693%）	815（+598%）	193（+65%）	241（+106%）
T/C（IgG）比率	1	0.88	0.21	0.26
反应数（TV<对照的 50%）	0/4	1/5	6/7	7/7
完全反应（>10%基线消退）	0/4	0/5	1/7	0/7
零残留疾病（TV<20mm3）	0/4	0/5	0/7	0/7

[0606] 实施例21:在人细胞系异种移植模型(SKOV3)中双互补位抗HER2抗体药物偶联物(ADC)对抗HER2治疗抗性肿瘤的影响

[0607] 使用实施例17中描述的建立的人卵巢癌细胞来源的异种移植模 型SKOV3评估在抗HER2治疗抗性肿瘤中示例性双互补位抗 HER2-ADC的抗肿瘤功效。

[0608] 按照如实施例17中所述的方法,做以下修改。在研究第1天以 15mg/kg并且在第4、8、15天以10mg/kg为一个群组的动物静脉给 药抗HER2抗体;然而,在这种模型中这种处理到第15天也未能展 示出有效反应。然后将该处理组转为用示例性双互补位抗HER2抗体 药物偶联物(v6363)处理并且在研究第19和27天以5mg/kg和在研 究第34、41和48天以15mg/kg给药。

[0609] 在整个实验过程中每周测量肿瘤体积两次。

[0610] 结果示于图23中并且表明用示例性双互补位抗HER2-ADC (v6363)处理的组显示肿瘤消退至小于220mm^{3}的初始平均体积的 平均肿瘤体积。

[0611] 实施例22:在人原代细胞异种移植模型(HBCx-13b)中双互补位抗HER2抗体药物偶联物(ADC)对抗HER2治疗抗性肿瘤的影响

[0612] 使用来自于人乳腺癌的曲妥珠单抗抗性患者来源的异种移植模 型HBCx-13B,评估与DM1偶联的示例性双互补位抗HER2抗体的 抗肿瘤功效。

[0613] 按照如实施例18中所述的方法,做以下修改。在研究第1天以 15mg/kg并且在第4、8、15、18、22和25天以10mg/kg为一个群组 的动物静脉给药双特异性抗ErbB家族靶向抗体;然而,这种处理也 未能展示出有效反应。然后将该处理组转为用示例性双互补位抗 HER2抗体药物偶联物(v6363)处理并且在第31、52天以10mg/kg 和在第45天以5mg/kg给药。在整个研究持续期间测量肿瘤体积。

[0614] 结果示于图24中。这些结果显示示例性双互补位抗HER2-ADC (v6363)防止肿瘤进展。从首次剂量到第57天,v6363处理组的肿 瘤体积增长低于2%,而在同一时间间隔v506处理组生长110%以上。

[0615] 实施例23:示例性双互补位抗HER2抗体的岩藻糖含量的分析

[0616] 进行糖肽分析以定量示例性双互补位抗HER2抗体(v5019、v7091和v10000)的N连接聚糖的岩藻糖含量。

[0617] 如下进行糖肽分析。在56℃下用10mM DTT还原抗体样品1小 时并且在室温下用55mM碘乙酰胺烷基化1小时并在37℃下在50mM 碳酸氢铵中经胰蛋白酶溶液消化过夜。在QTof-Ultima上通过纳米 LC-MS/MS分析胰蛋白酶消化物。用Mascot搜索NCBI数据库以鉴定蛋白质序列。使用MaxEnt3(MassLynx)去卷积糖肽离子并定量不 同的糖型。

[0618] 糖肽分析结果的总结在表22中。示例性双互补位抗HER2抗体 (v5019、v7091和v10000)的N连接的聚糖大约90％岩藻糖基化 (10％N连接聚糖无岩藻糖)。单特异性抗HER2FSA(v506)N连接 的聚糖大约96％岩藻糖基化(4％N连接的聚糖无岩藻糖)并且赫塞汀®大约87％岩藻糖基化(4％N连接的聚糖无岩藻糖)。

[0619] 表22:Fc N连接的糖肽分析

[0620]

抗体变体	观察到有岩藻糖的糖肽的平均%	观察到无岩藻糖的糖肽的平均%	n
v506	96.4	3.6	5
赫塞汀®	86.5	13.4	4
v5019	90.5	9.4	6
v7091	89.9	26.9	3
v10000	89.2	10.7	5

[0621] 这些结果显示在CHO细胞中瞬时表达的双互补位抗HER2抗体 (具有异二聚体Fc)与商用赫塞汀®相比在N-聚糖中具有高大约3% 的岩藻糖含量。在CHO细胞中瞬时表达的同二聚体抗HER2FSA (v506)具有大约为96％的最高岩藻糖含量。

[0622] 实施例24:示例性双互补位抗HER2抗体的热稳定性

[0623] 如下所述通过DSC测量示例性双互补位抗HER2抗体(v5019、 v7091和v10000)和ADC(v6363、v7148和v10533)的热稳定性。

[0624] 在MicroCal™ VP-Capillary DSC(GE Healthcare)中使用在PBS 中调节为约0.3mg/ml的纯蛋白样品(抗HER2双互补位抗体和抗 HER2双互补位-ADC)进行DSC。从20至100℃按60℃/小时的速 率,以低反馈、8秒过滤、5分钟preTstat和70psi氮气压力扫描样品。使用Origin7软件对所得热谱图进行分析。

[0625] 示例性双互补位抗HER2抗体(v5019、v7091和v10000)的热 稳定性结果示于图25A-C中。图25A示出了v5019的热谱图 (thermogram);Fc和各自的A链Fab具有75℃的T_m而5019的B 链scFv具有69℃的T_m。图25B示出了v10000的热谱图;Fc CH3 结构域具有82℃的T_m,Fab A链具有76.5℃的T_m且B链scFv有69.5℃ 的T_m。图25C示出了v7091的热谱图;Fc CH3结构域具有82℃的 T_m,Fab A链具有76.7℃的T_m且B链scFv有69.5℃的T_m。

[0626] 示例性双互补位抗HER2ADC(v6363、v7148和v10533)的热 稳定性结果示于图26A-C中。图26A示出了v6363的热谱图;Fc具 有75℃的T_m且A链Fab和Fc CH3结构域具有75℃的T_m。6363的 B链scFv具有69℃的T_m。图26B示出了v10533的热谱图;Fc CH3 结构域具有83℃的T_m,A链Fab具有75.7℃的T_m,并且B链scFv 具有66.2℃的T_m。图26C示出了v7148的热谱图;Fc CH3结构域具 有82.6℃的T_m,A链Fab具有74.8℃的T_m且B链scFv具有66.6℃ 的T_m。

[0627] 示例性双互补位抗体和ADC具有与野生型IgG相当的热稳定 性。

[0628] 实施例25:示例性双互补位抗HER2抗体引起表达不同水平的HER2的乳腺肿瘤细胞的ADCC的能力

[0629] 检查示例性双互补位抗体(v5019)引起HER2阳性3+、2+和0/1+ 表达HER2(三阴性)的乳腺癌细胞系的剂量依赖性ADCC的能力。如实施例11中所述进行ADCC实验,除NK效应细

胞与靶细胞比率 保持5:1不变外。

[0630] ADCC结果示于图27和表23中。图27A-C中的结果显示示例 性双互补位抗体(v5019)与赫塞汀®相比引起HER2阳性3+、2+和 0/1+表达HER2的乳腺癌细胞高大约1.2至1.3倍的最大限度细胞裂 解。结果还显示v5019(90%N-聚糖有岩藻糖)与赫塞汀®(86%N-聚糖有岩藻糖;实施例23)相比,尽管在N-聚糖中具有高大约4% 的岩藻糖含量(导致对NK细胞上CD16的结合亲和力更低),但更 有效地介导HER2阳性3+、2+和0/1+表达HER2的乳腺癌细胞的 ADCC。v5019引起的更高靶细胞杀伤大概是由于如实施例6中所述 肿瘤细胞修饰增加。

[0631] 表23:HER2 3+、2+和0/1+表达HER2的乳腺癌细胞的ADCC

[0632]

处理	SKBr3 HER2 3+		JIMT-1 HER2 2+		MDA-MB-231 HER2 0/1+	
	最大靶细胞裂解%	EC_{50} (nM)	最大靶细胞裂解%	EC_{50} (nM)	最大靶细胞裂解%	EC_{50} (nM)
v5019	30	约 0.9	60	0.001	53	0.9
赫塞汀®	23	约 0.9	51	0.002	44	0.9

[0633] 图27D中的ADCC结果显示示例性双互补位抗体(v7091和 v10000)与赫塞汀®相比在表达基底HER2的WI-38细胞系中引起类 似的最大程度细胞裂解。ADCC结果支持细胞结合数据(实施例6), 显示增加的结合和ADCC的阈值出现在HER2受体水平大于10,000 个HER2/个细胞时。基于该数据,预计示例性双互补位抗HER2抗体 将增加HER2 3+、2+和1+肿瘤细胞的细胞表面结合和ADCC,但是 按大约10,000个受体或更少表达基底水平的HER2的非肿瘤细胞的 细胞表面结合和ADCC不会增加。

[0634] 实施例26:抗体无岩藻糖基化对ADCC的影响

[0635] 检查无岩藻糖基化示例性双互补位抗体(v5019-无岩藻糖基、10000-无岩藻糖基)引起HER2阳性2/3+、2+和0/1+表达HER2(三 阴性)的乳腺癌细胞系的剂量依赖性ADCC的能力。如实施例11中 所述在SKOV3细胞、MDA-MB-231细胞和ZR75-1细胞中进行ADCC 实验,除使用5:1的恒定NK效应细胞或PBMC效应细胞与靶(E:T) 细胞比率外。如实施例1中所述,使用如von Horsten等2010 Glycobiology 20:1607-1618中描述的瞬时表达的RMD酶在CHO细胞 中瞬时产生无岩藻糖基化示例性双互补位抗体。如实施例23中所述 测量v5019-无岩藻糖基和v10000-无岩藻糖基的岩藻糖含量并且确定 小于<2%岩藻糖基化(数据未示出)。使用NK效应细胞的数据示于 图28A-B中,而使用PBMC的数据示于图28C中。

[0636] 图28A、图28B和表24显示无岩藻糖基化v5019(v5019-无岩 藻糖基)引起HER 2/3+和0/1+表达HER2的乳腺癌细胞的ADCC, 最大限度细胞裂解比赫塞汀®高大约1.5至1.7倍。

[0637] 表24:HER2 2/3+和表达基底HER2(三阴性)乳腺癌细胞的 ADCC

[0638]

处理	SKOV3 HER2 2+/3+		MDA-MD-231 HER2 0/1+	
	最大靶细胞裂解%	EC_{50} (nM)	最大靶细胞裂解%	EC_{50} (nM)
v5019-无岩藻糖基化	24	约 0.6	58	约 0.6
赫塞汀®	14	约 0.6	40	约 0.3

[0639] 图28C和表25中的结果显示v10000引起HER2 2+ZR-75-1乳 腺癌细胞的ADCC,最大

限度细胞裂解比赫塞汀®高大约1.3倍，并 且v10000-无岩藻糖基引起比赫塞汀®高大约1.5倍的最大限度细胞 裂解。

[0640] 表25:HER2 2/3+乳腺癌细胞的ADCC

[0641]

处理	ZR-751 HER2 2+	
	最大靶细胞裂解%	EC_{50}（nM）
v10000	28	约 0.06
v10000-无岩藻糖基化	32	约 0.7
赫塞汀®	21	约 0.5

[0642] ADCC结果显示将赫塞汀®用作基准时，示例性无岩藻糖基化双 互补位抗体(v5019-无岩藻糖基、v10000-无岩藻糖基)与岩藻糖基 化抗体(v5019实施例25、v10000)相比引起高大约15-25％的最大 限度细胞裂解。这些结果显示减少Fc N-聚糖的岩藻糖含量导致由 ADCC引起的最大限度细胞裂解增加。

[0643] 实施例27:在外源生长刺激性配体(EGF和HRG)的存在下示例性双互补位抗HER2抗体抑制HER2 3+乳腺癌细胞生长的能力

[0644] 检查在外源生长刺激性配体(EGF和HRG)的存在下5019抑制 HER2 3+乳腺癌细胞生长的能力。

[0645] 向BT-474HER2 3+靶细胞中添加测试抗体和外源配体(10ng/mL HRG或50ng/mL EGF)，一式三份，并且在37℃下温育5天。使用 AlamarBlue™(37℃，2小时)测量细胞活力，在530/580nm读取吸 光度。将数据归一化为未处理的对照并且使用GraphPad prism进行分析。

[0646] 结果示于图29和表26中。结果显示示例性双互补位抗体v5019 在无生长刺激性配体时(70％抑制)，以及在EGF(40％抑制)或HRG (约10％抑制)的存在下抑制HER2 3+乳腺癌细胞生长。抗HER2 单特异性FSA(v506)不经由其它erbB受体EGFR和HER3阻断EGF 或HRG诱导的肿瘤细胞生长。在经由其它伴侣erbB受体抑制HER2 和配体依赖性二聚化和生长方面，v5019优于v506。

[0647] 表26:HER2 3+癌细胞的生长抑制

[0648]

处理	存活率%		
	仅抗体	+EGF	+HRG
Mock	100	122	110
v506	41	114	129
v5019	31	56	92

[0649] 这些结果显示示例性双互补位抗体能够减少HER2+细胞的配体 依赖性生长，大概是由于抗ECD2A链Fab臂的结合和对配体刺激的 受体同二聚化和异二聚化的后续阻断，及erbB信号传导。

[0650] 实施例28:在浸润性乳腺导管癌的曲妥珠单抗抗性和化疗抗性HER2 3+患者来源(PDX)的转移性乳腺癌异种移植模型中双互补位抗HER2抗体的作用

[0651] 使用来自于人浸润性乳腺导管癌的HER2 3+(ER-PR阴性)患者 来源的异种移植模型HBCx-13B，评估示例性双互补位抗HER2抗体 v7187的抗肿瘤功效。v7187是v5019的无岩

藻糖基化型式。该模型 对单一试剂曲妥珠单抗、曲妥珠单抗和帕妥珠单抗(参见实施例31)、卡培他滨、多西他赛及多柔比星/环磷酰胺的组合有抗性。

[0652] 雌性无胸腺裸鼠皮下接种20mm^{3}肿瘤碎片。然后监测肿瘤,直 至达到140mm3的平均体积。然后将动物随机分为2个处理组:媒介 物对照和v7187,每组8只动物。IV剂量如下。以5ml/kg制剂缓冲 液将媒介物对照静脉给药,每周两次直到研究第43天。以10mg/kg 将v7187静脉给药,每周两次直到研究第43天。在整个研究期间测 量肿瘤体积,并且如表27所示在第43天评估其它参数。

[0653] 结果示于图30和表27中。结果显示经媒介物对照处理的肿瘤显 示出持续进展并且到研究第43天超过1600mm^3。经v7187处理的小 鼠显示出明显较强的肿瘤生长抑制(T/C-0.44),在第43天平均肿瘤 体积为740mm^3。v7187在5/8肿瘤中诱导反应,在研究第43天单个肿瘤显示出完全消退和零残留疾病。经v7187处理的动物与经媒介物 对照处理的0/8小鼠相比,具有更优的反应率,5/8肿瘤对治疗反应。 另外,用v7187处理与媒介物对照相比明显延迟肿瘤进展,倍增时间 分别为19和11天。

[0654] 表27:

[0655]

肿瘤反应		媒介物	v7087
第 43 天	平均肿瘤体积(TV)(mm3)(从基线的变化%)	1683 (+1079%)	740 (+422%)
	T/C 比率	1	0.44
	反应数(TV<对照的 50%)	0/8	5/8
	PR(>10%基线消退)	0/8	1/8
	ZRD(TV<20mm3)	0/8	1/8
进展时间	倍增时间(天)	11	19

[0656] 这些数据显示示例性抗HER2双互补位(v7187)在曲妥珠单抗+ 帕妥珠单抗抗性HER2 3+转移性乳腺癌肿瘤异种移植模型中有效。v7187处理具有高反应率并且可以显著地削弱标准护理治疗抗性 HER2 3+乳腺癌的肿瘤进展。

[0657] 实施例29:对双互补位抗HER2ADC与HER2+肿瘤细胞系结合的评估

[0658] 如实施例6中所述,通过FACS分析示例性双互补位抗HER2 ADC结合并饱和HER2阳性3+、2+、乳腺和卵巢肿瘤细胞系的能力。

[0659] 数据示于图31中。图31A示出了v6363与SKOV3肿瘤细胞系 的结合,在饱和浓度下Bmax(MFI)比T-DM1(v6246)高大约2.0 倍。图31B示出了v6363与JIMT-1肿瘤细胞系结合,在饱和浓度下 Bmax(MFI)比T-DM1(v6246)高大约1.6倍。这些数据显示v6363 (ADC)与未偶联的v5019亲本抗体(实施例6)相比,具有细胞表 面结合增加的相似肿瘤细胞结合性质。v5019与SMCC-DM1(v6363) 的偶联不改变抗体的抗原结合性质。

[0660] 重复FACS结合测定以包括与示例性双互补位抗体(v5019、v7091和v10000)和ADC(v6363、v7148和v10553)的直接比较。数据示于图31C和图31D中。示例性双互补位抗HER2ADC(v6363、v7148和v10553)与未标记的双互补位抗体(v5019、v7091和v10000) 相比具有相等的细胞表面饱和度(Bmax)。

[0661] 这些数据显示示例性双互补位抗体(v5019、v7091和v10000) 与SMCC-DM1的偶联不改变结合性质。示例性抗HER2双互补位抗 HER2ADC(v6363、v7148和v10553)与单特异性

抗HER2ADC (v6246、T-DM1)相比具有增加大约1.5倍(或更高)的细胞表面 结合。

[0662] 实施例30:在HER2 3+(ER-PR阴性)患者来源的异种移植模型中示例性抗HER2双互补位-ADC的剂量依赖性肿瘤生长抑制

[0663] 使用来自于人浸润性乳腺导管癌的HER2 3+(ER-PR阴性)患者 来源的异种移植模型HBCx-13B,评估示例性双互补位抗HER2ADC (v6363)的抗肿瘤功效。该模型对单一试剂曲妥珠单抗、曲妥珠单 抗和帕妥珠单抗(参见实施例31)、卡培他滨、多西他赛及多柔比星 /环磷酰胺的组合有抗性。

[0664] 雌性无胸腺裸鼠经由皮下插入20mm^{3}肿瘤碎片接种肿瘤。监测 肿瘤,直至其达到160mm^{3}的平均体积;然后将动物随机分为5个处 理组:非特异性人IgG对照和4个递增剂量的v6363。每组包括8-10 只动物。每组的剂量如下。以10mg/kg将IgG对照静脉给药,每周两次直到研究第29天。在研究第1、15和29天以0.3、1、3或10mg/kg 将v6363静脉给药。在整个研究期间评估肿瘤体积并且如表29所示 进行参数评估。

[0665] 结果示于图32和表28中。这些结果显示示例性抗HER2双互补 位ADC(v6363)在曲妥珠单抗抗性HBCx-13b PDX模型中介导剂量 依赖性肿瘤生长抑制(图32A)。另外,v6363以剂量依赖性方式改 善总生存期,其中与IgG对照的43天相比,对于3mg/kg和10mg/kg 剂量而言中位生存时间为63天以上(图32B和表28)。3mg/kg剂量 与对照(0/8)相比伴有反应率增加(5/10)。按10mg/kg剂量经v6363 处理的所有小鼠不但对治疗反应(9/9),而且显示出对肿瘤进展的预 防。而且,大多数肿瘤有客观部分反应(7/9)并且,在研究结束时, 许多肿瘤具有零残留疾病(6/9)。v6363在所有剂量下耐受良好,未 观察到不良事件并且未观察到体重减轻。

[0666] 表28:

[0667]

肿瘤反应		IgG	6363 0.3mg/kg	6363 1mg/kg	6363 3mg/kg	6363 10mg/kg
第 43 天	平均肿瘤体积(TV)(mm3)(从基线的变化%)	1963 (+1119%)	1916 (+1073%)	1613 (+895%)	1268 (+682%)	84 (-49%)
	T/C(IgG)比率	1	0.97	0.82	0.64	0.04
	反应数(TV<对照的50%)	0/8	0/10	2/10	5/10	9/9
	PR (>10%基线消退)	0/8	0/10	0/10	0/10	7/9
	ZRD(TV<20mm3)	0/8	0/10	0/10	0/10	6/9
进展时间	肿瘤倍增时间(天)	9	9	14	17	52
生存反应	中位生存期(天)	43	41	50	>63	>63
体重	从基线的变化%	+10%	+10%	+9%	+5%	+0%

[0668] 这些数据显示示例性抗HER2双互补位ADC(v6363)在曲妥珠 单抗+帕妥珠单抗抗性HER2 3+转移性乳腺癌肿瘤异种移植模型中有 效。在标准护理抗性HER2 3+乳腺癌中v6363治疗伴有高反应率,显 著削弱肿瘤进展,并且延长生存期。

[0669] 实施例31:在曲妥珠单抗抗性PDX HBCx-13b中双互补位抗HER2-ADC与标准护理组

合比较

[0670] 评价v6363在HER2 3+、ER-PR阴性曲妥珠单抗抗性患者来源的 乳腺癌异种移植模型(HBCx-13b)中的功效并且与以下组合比较：赫塞汀™+Perjeta™;及赫塞汀™+多西他赛。

[0671] 雌性无胸腺裸鼠经由皮下插入20mm3肿瘤碎片而接种肿瘤。监 测肿瘤,直至其达到100mm3的平均体积;然后将动物随机分为4 个处理组(8-10只动物/组):非特异性人IgG对照、赫塞汀™+多西 他赛、赫塞汀™+Perjeta™及v6363。每组的剂量如下。以10mg/kg 将IgG对照静脉给药,每周两次直到研究第29天。以10mg/kg IV将 赫塞汀™+多西他赛组合赫塞汀™静脉给药,每周两次直到研究第29 天并且在研究第1和22天以20mg/kg将多西他赛腹膜内给药。以 5mg/kg将赫塞汀™+Perjeta™组合赫塞汀静脉给药,每周两次直到研 究第29天并且以5mg/kg将Perjeta™静脉给药,每周两次直到研究第 29天。赫塞汀™和Peijeta™同时给药。在研究第1、15和29天以 10mg/kg将v6363静脉给药。

[0672] 结果示于图33和表29中。图33A示出了随时间推移的肿瘤体 积,并且图33B示出了生存期图。这些结果显示赫塞汀™+Perjeta™的组合与对照IgG相比不产生任何肿瘤生长抑制并且在第39天超过 1800mm^3。赫塞汀™+多西他赛的组合未显著降低肿瘤生长,但与IgG对照的43天相比的确将中位生存期延长至53天。v6363产生显著的 肿瘤生长抑制(T/C-0.04),其中,所有肿瘤均对治疗反应并且7/10 肿瘤经历完全消退(零残留疾病)。v6363与两种组合疗法相比显著 延长了生存期。群组的体重未受治疗显著影响。

[0673] 表29：

[0674]

肿瘤反应		IgG	赫塞汀 TM +PeijetaTM	赫塞汀 TM +多西他赛	v6363 10mg/kg
第 39 天	平均肿瘤体积（TV）（mm3）（从基线的变化%）	1809 （+1023%）	1975 （+1085%）	1328 （+714%）	76 （-54%）
	T/C（IgG）比率	1.0	1.10	0.73	0.04
	反应数（TV<对照的 50%）	0/8	0/8	1/10	9/9
	PR （>10%基线消退）	0/8	0/8	0/10	8/9
	ZRD（<20mm3）	0/8	0/8	0/10	6/9
生存反应	中位生存期（天）	43	39	53	>63
体重	从基线的变化%	+10%	+7%	+3%	-2%

[0675] 这些结果显示示例性抗HER2双互补位ADC(v6363)就在这个 异种移植模型中测试的所有参数而言,优于标准护理组合。

[0676] 实施例32:在HER2+曲妥珠单抗抗性乳腺癌细胞来源的肿瘤异种移植模型中双互补位抗HER2-ADC的功效

[0677] 评价在HER2 3+曲妥珠单抗抗性乳腺癌细胞来源(JIMT-1、HER2 2+)的异种移植模型中v6363的功效(Tanner等2004.Molecular Cancer Therapeutics 3:1585-1592)。

[0678] 雌性RAG2小鼠皮下接种肿瘤。监测肿瘤,直至其达到115mm^{3}的平均体积;然后将动物随机分为2个处理组:曲妥珠单抗(n＝10) 和v6363。每个组的剂量如下。在研究第1天以

15mg/kg将曲妥珠单 抗静脉给药并且以10mg/kg给药每周两次直到研究第26天。在研究 第1和15天以5mg/kg且在第23和30天以10mg/kg并且在第37和 44天以9mg/kg将v6363静脉给药。

[0679] 结果示于图34和表30中。这些结果显示在研究第36天v6363 与曲妥珠单抗相比显著抑制肿瘤生长(T/C-0.74)。v6363和曲妥珠单 抗处理未显示改变体重。在首次10mg/kg剂量7天后,v6363血清暴 露为17.9μg/ml。

[0680] 表30:

[0681]

肿瘤反应		曲妥珠单抗	6363
第 36 天	平均肿瘤体积（TV）（mm3）（从基线的变化%）	718（+541）	532（+335%）
	T/C（曲妥珠单抗）比率	1	0.74
	反应数（TV<对照的 50%）	1/10	2/13
	PR（>10%基线消退）	0/10	0/13
	ZRD（<20mm3）	0/10	0/13
体重	从基线的变化%	+5.8%	+3.1%
药物暴露（第 7 天）	平均血清浓度（ug/ml）	187.2	17.9

[0682] 这些结果显示示例性抗HER2双互补位ADC(v6363)在曲妥珠 单抗抗性乳腺癌中有效并且在治疗对当前标准护理有抗性的乳腺癌 方面具有潜在效用。

[0683] 实施例33:FcγR与抗HER2双互补位抗体和抗HER2双互补位-ADC的异二聚体Fc的结合

[0684] 评估具有异二聚体Fc的抗HER2双互补位抗体(v5019、v7019、 v10000)和ADC(v6363、v7148个v10553)与人FcγR的结合并且 与具有同二聚体Fc的抗HER2FSA(v506)和ADC(v6246)做比 较。

[0685] 使用ProteOn XPR36(BIO-RAD)通过SPR测量FcγR对抗体Fc 区的亲和力。通过标准胺偶合将HER2固定(3000RU)在CM5芯 片上。抗体被抗原捕获在HER2表面。按不同浓度(20-30μl/min)注 射纯化FcγR 2分钟,接着解离4分钟。将传感图全局性拟合为1:1 Langmuir结合模型。所有实验均在25℃下进行。

[0686] 结果示于表31中。示例性异二聚体抗HER2双互补位抗体和 ADC以相当的亲和力与CD16aF、CD16aV158、CD32aH、CD32aR131、 CD32bY163和CD64A结合。抗体与SMCC-DM1的偶联不会对FcγR 结合产生负面影响。异二聚体抗HER2双互补位抗体与同二聚体抗 HER2FSA(v506)和ADC(v6246)相比,对CD16aF、CD32aR131、 CD32aH的亲和力高大约1.3至2倍。这些结果显示异二聚体抗HER2 双互补位抗体和ADC以与野生型同二聚体IgG1相似或更高的亲和 力结合免疫效应细胞上不同多形态形式的FcγR。

[0687] 表31:通过SPR测定的人FcγR结合

[0688]

变体	10uM CD16a v158		10uM CD16aF		10uM CD32aR131		10uM CD32aH		10uM CD32b Y163		100nM CD64A	
	KD平均值	SD	KD平均值	SD	KD平均值	SD	KD平均值	SD	KD平均值	SD	KD平均值	SD
v506	1.5E-07	2E-08	7.1E-07	1.E-08	7.6E-07	1.E-07	6.3E-07	2E-08	2.4E-06	1.E-07	8.64E-10	4.33E-10
v6246	1.6E-07	2E-08	7.0E-07	9.E-09	7.4E-07	7.E-08	6.3E-07	2E-08	2.1E-06	7.E-08	1.08E-09	5.13E-10
v10000	1.2E-07	1E-08	4.8E-07	2.E-08	5.1E-07	9.E-08	4.6E-07	2E-08	1.5E-06	7.E-08	8.41E-10	4.74E-10
v10553	1.2E-07	2E-08	4.9E-07	2.E-07	3.5E-07	1.E-07	3.6E-07	4E-09	1.2E-06	7E-08	4.95E-10	1.41E-10
v7091	1.2E-07	1E-08	5.1E-07	2.E-08	5.6E-07	9.E-08	5.0E-07	3E-08	1.7E-06	8E-08	9.68E-10	5.05E-10
v7148	1.2E-07	2E-08	5.4E-07	2.E-07	3.7E-07	1.E-07	4.2E-07	1E-08	1.5E-06	1.E-07	5.77E-10	2.02E-10
v5019	1.3E-07	1E-08	5.2E-07	1.E-08	5.6E-07	6.E-08	4.7E-07	2E-08	1.6E-06	2.E-07	8.44E-10	4.88E-10
v6363	1.2E-07	2E-08	4.5E-07	1.E-07	3.5E-07	1.E-07	3.4E-07	1E-08	1.2E-06	5.E-08	4.58E-10	1.13E-10

[0689] 实施例34:在曲妥珠单抗敏感性卵巢癌细胞来源的肿瘤异种移植模型中体内示例性抗HER2双互补位抗体的功效

[0690] 使用实施例17中描述的建立的人卵巢癌细胞来源的异种移植模 型SKOV3评估示例性双互补位抗HER2抗体v5019、v7091和v10000 的抗肿瘤功效。

[0691] 雌性无胸腺裸鼠在左腹侧皮下接种325,000个细胞于HBSS中的 肿瘤悬浮液。监测肿瘤,直至其达到190mm^3的平均体积并且以随机 交错的方式编入4个处理组:非特异性人IgG对照、v5019、v7091 和v10000。每个组的剂量如下。在研究第1天开始以10mg/kg将非 特异性人IgG对照静脉给药,每周两次直到研究第26天。在研究第 1天开始以3mg/kg将v5019、v7091和v10000静脉给药,每周两次 直到研究第26天。在整个研究期间测量肿瘤体积,并且在第29天测 量表32中所列的参数。

[0692] 数据呈现于图35A(肿瘤生长)、图35B(生存期图)和表32 中并且显示用v5019、v7091和v10000处理与IgG对照相比,在研究 第29天产生相当的肿瘤生长抑制(T/C:0.53-0.71)、反应肿瘤数、进展时间和生存期。在研究第7天v5019、v7091和v10000的血清暴 露相似(31-41μg/ml)。

[0693] 表32:

[0694]

肿瘤反应		IgG (n=8)	v5019 (n=11)	V7091 (n=11)	V10000 (n=11)
第 29 天	平均肿瘤体积(TV)(mm3)(从基线的变化%)	1903 (+899%)	1001 (+416%)	1354 (+618%)	1114 (+503%)
	T/C(曲妥珠单抗)比率	1	0.53	0.71	0.58
	反应数(TV<对照的50%)	1/8	5/11	4/11	6/11
	PR (>10%基线消退)	0/8	1/11	0/11	0/11
	ZRD (<20mm3)	0/8	0/11	0/11	0/11
进展时间	肿瘤倍增时间(天)	12	15	16	15
生存期	中位生存期(天)	29	Na	37	41
药物暴露(第 7 天)	平均血清浓度(ug/ml)	na	31.2	41.0	31.2

[0695] 这些结果显示示例性抗HER2双互补位抗体v5019、v7091和 v10000在治疗适度曲妥珠单抗敏感性HER2过表达卵巢癌方面具有 潜在效用。

[0696] 实施例35:示例性双互补位抗her2抗体在曲妥珠单抗敏感性卵巢癌细胞来源的肿

瘤异种移植物中剂量依赖性抑制肿瘤生长

[0697] 使用实施例17中描述的建立的人卵巢癌细胞来源的异种移植模 型SKOV3评估示例性双互补位抗HER2抗体v10000的剂量依赖性 功效。

[0698] 雌性无胸腺裸鼠在左腹侧皮下接种325,000个细胞于HBSS中的 肿瘤悬浮液。监测肿瘤,直至其达到190mm^{3}的平均体积并且以随机 交错的方式编入6个处理组:非特异性人IgG对照和5个递增剂量的 v10000。每组包括9-13只动物。每个组的剂量如下。以10mg/kg将IgG对照静脉给药,每周两次直到研究第26天。以0.1、0.3、1、3 或10mg/kg将v10000静脉给药,每周两次。

[0699] 数据呈现于图36和表33中并且显示用v10000处理与对照IgG 相比剂量依赖性诱导肿瘤生长抑制(T/C:0.28-0.73)。另外,在研究 第29天v10000剂量依赖性地伴有肿瘤反应(在10mg/kg下为7/9而 在0.1mg/kg为3/11),进展时间增加(在10mg/kg下为24天而在0.1mg/kg为12天)。在第7天v10000的血清暴露依赖剂量并且从 0.1mg/kg剂量的0.46μg/ml增加到10mg/kg剂量的79.3μg/ml。

[0700] 表33:

[0701]

肿瘤反应		IgG(n=8)	V10000,10mg/kg(n=9)	V10000,3mg/kg(n=11)	V10000,1mg/kg(n=11)	V10000,0.3mg/kg(n=13)	V10000,0.1mg/kg(n=11)
第29天	平均肿瘤体积(TV)(mm3)(从基线的变化%)	1903(+899%)	543(+281%)	1114(+503%)	1534(+688%)	1535(+694%)	1385(+643%)
	T/C比率	1	0.28	0.58	0.81	0.81	0.73
	反应数(TV<对照的50%)	1/8	7/9	6/11	2/11	3/13	3/11
	PR(>10%基线消退)	0/8	1/9	0/11	0/11	0/13	0/11
	ZRD(<20mm3)	0/8	0/9	0/11	0/11	0/13	0/11
进展时间	肿瘤倍增时间(天)	12	24	15	14	12	12
药物暴露(第7天)	平均血清浓度(ug/ml)	na	79.3	31.2	4.7	1.5	0.46

[0702] 这些结果显示示例性抗HER2双互补位抗体v10000以剂量依赖 方式抑制肿瘤进展。

[0703] 实施例36:抗HER2双互补位抗体和抗HER2双互补位-ADC抑制表达3+、2+或1+水平的HER2和EGFR和/或HER3的细胞系生长的能力

[0704] 进行以下实验以测量示例性双互补位抗HER2抗体(v10000)和 相应的双互补位抗HER2ADC(v10553)抑制选择的通过IHC所定 义的表达3+、2+、1+或0+水平的HER2和EGFR和/或HER3的乳腺、 结直肠、胃、肺、皮肤、卵巢、肾、胰腺、头颈部、子宫和膀胱肿瘤 细胞系生长的能力。

[0705] 如下进行实验。唯一测定每个细胞系的最适接种密度以鉴定在测 定持续72小时后产生大约60-90%融合的接种密度。每个细胞系按最 适接种密度接种于96孔板中,每个

细胞系在适当生长培养基中并且 在36℃和5％CO_2下温育24℃。连同阳性和媒介物对照一起，添加三 个浓度的抗体(300、30和0.3nM的v10000；300、1、0.1nM的v10553)。阳性对照是5-FU(5-氟尿嘧啶)、紫杉醇、顺铂、依托泊苷(25μM) 的化学混合剂(chemococktail)药物组合，媒介物对照由PBS组成。抗体处理和对照与细胞一起在细胞培养箱中在36℃和5％CO_2下温育 72小时。板在1200RPM下离心10分钟并且通过抽吸完全去除培养 基。向每个孔添加RPMI SFM培养基(200μL)和MTS(20μL)并 且在36℃和5％CO_2下温育3小时。在490nM下读取光密度并且测定 相对于媒介物对照的生长抑制百分比。

[0706] 结果示于图37中并且在图38中示出了所有测试结果的总结。图 37A示出了v10000的生长抑制结果。这些结果显示v10000可以抑制 在3+、2+、1+或0+水平下表达HER2且共表达EGFR和/或HER3 的乳腺、结直肠、胃、肺、皮肤、卵巢、肾、胰腺、头颈部、子宫和 子宫内膜肿瘤细胞系的生长。图38中总结了v10000和v10553在 300nM下的活性，其中‘+’指示细胞系在300nM下显示细胞活力降 低，>媒介物对照的5％，而‘-’指示≤媒介物对照5％的活力。

[0707] 图37B示出了v10553的生长抑制结果。这些结果显示v10553 可以抑制在3+、2+、1+或0+水平下表达HER2且共表达EGFR和/ 或HER3的乳腺、结直肠、胃、肺、皮肤、卵巢、肾、胰腺、头颈部、 子宫和膀胱肿瘤细胞系的生长(同样参见图38)。图37B中绘制的结 果由在300和1nM下显示出最低限度的剂量依赖性生长抑制的细胞 系定义，并且其中在1nM下的生长抑制等于或高于5％(图37B)。

[0708] 这些结果显示示例性双互补位抗体v10000和ADC v10553可以 抑制来源于乳腺、结直肠、胃、肺、皮肤、卵巢、肾、胰腺、头颈部、 子宫和膀胱组织，表达3+、2/3+、2+、1+和0/1+水平的HER2并且 共表达2+、1+水平的EGFR和/或HER3的肿瘤细胞的生长。

[0709] 实施例37：抗HER2双互补位抗体介导HER2 2+、1+和0/1+癌细胞的ADCC的能力

[0710] 进行以下实验以测定抗HER2双互补位抗体介导表达2+、1+和/ 或0/1+水平的HER2且共表达2+或1+水平的EGFR和/或HER3的肿 瘤细胞的ADCC的能力。测试的抗HER2双互补位抗体为5019、10000 和10154(v10000的无岩藻糖基化型式)，其中以赫塞汀™和v506作 为对照。

[0711] 如实施例11和实施例25中所述以E/T 5:1用NK-92效应细胞(图 39)，并且如实施例26中所述以E/T 30:1用PBMC效应细胞进行 ADCC实验。

[0712] 结果示于图39(NK-92效应细胞)和图40(PBMC效应细胞) 中。图39A示出了HER2 2+头颈部肿瘤细胞系(下咽癌)FaDu的 ADCC结果，其中抗HER2双互补位引起大约15％的最大限度细胞裂 解。图39C示出了HER2 1+BxPC3胰腺肿瘤细胞系的ADCC结果， 并且图39D示出了HER2 2+MiaPaca2胰腺肿瘤细胞系的ADCC结果。 图39B示出了HER2 0/1+A549NSCLC(非小细胞肺癌)肿瘤细胞系 的ADCC结果。在BxPC3、MiaPaca2和A549肿瘤细胞系中，v10000 介导大约5％的最大限度肿瘤细胞裂解。

[0713] 图40示出了在A549、NCI-N87和HCT-116细胞中的ADCC结 果，其中PBMC用作效应细胞。图40A示出了HER2 0/1+A549NSCLC 肿瘤细胞系的ADCC结果，其中v10000引起约28％的最大限度细胞 裂解并且这与在N-连接的聚糖中具有相等水平的岩藻糖含量的赫塞 汀™相当。示例性100％无岩藻糖基化(0％岩藻糖)双互补位v10154 与在N-连接的聚糖中具有大约88％岩藻糖的v10000和赫塞汀相比， 显示出最大限度细胞裂解增加(40％最大限度细胞裂解)和效力增强。

[0714] 图40B示出了HER2 3+胃肿瘤细胞系NCI-N87的ADCC结果。图40B显示示例性双互补位v5019(大约88％岩藻糖基化)介导大约 23％的最大限度细胞裂解并且与曲妥珠单抗v506(大约98％岩藻糖 基化)相比具有更低的EC50。

[0715] 图40C示出了HER2 1+HCT-116结直肠肿瘤细胞系的ADCC结 果。图40C显示示例性双互补位v5019(大约88％岩藻糖基化)介导 大约25％的最大限度细胞裂解并且与曲妥珠单抗v506(大约98％岩 藻糖基化)相比更有效。

[0716] 这些结果显示示例性抗HER2双互补位抗体可以引起来源于头 颈部、胃、NSCLC和胰腺肿瘤组织的HER2 01/+、2+和3+肿瘤细胞 的ADCC。在作为效应细胞的NK-92细胞存在下ADCC具有明显的 HER2 2+受体水平要求(即2+或更高)以显示更高(>5％)百分比的 最大限度细胞裂解。然而,当PBMC细胞用作效应细胞时,达到更 高水平的最大限度细胞裂解(>5％和高达28％或40％;分别为v10000 和v10154)并且不依赖于HER2受体密度,因为在0/1+、1+和3+HER2 受体水平下发现ADCC>5％。

[0717] 实施例38:通过SPR测量的HER2结合亲和力和动力学参数

[0718] 如实施例1所示,构建具有不同抗原结合部分形式的抗HER2双 互补位抗体,如表1所述。所述形式包括scFv-scFv形式(v6717)、Fab-Fab形式(v6902和v6903),连同Fab-scFv形式(v5019、v7091 和v10000)。进行以下实验以比较这些示例性抗HER2双互补位抗体 形式的HER2结合亲和力和动力学参数。

[0719] 用来自Biacore(GE Healthcare)的T200SPR系统通过单循环动 力学(single cycle kinetics)测量对鼠HER2ECD(Sino Biological 50714-M08H)的亲和力和结合动力学。使用标准胺偶合将介于 2000-4000RU的抗人Fc固定在CM5芯片上。按50RU将5019捕获在抗人Fc表面。按50μl/分钟注射重组HER2ECD(1.8-120nM)3 分钟,接着在末次注射后解离30分钟。分析HER2稀释物,一式两 份。将传感图全局性拟合为1:1Langmuir结合模型。所有实验均在室 温25℃下进行。

[0720] 表34中的结果显示Fab-scFv双互补位抗体(v5019和v7091)、Fab-Fab变体(v6902和v6903)和scFv-scFv变体(v6717)具有相 当的结合亲和力(1-4nM)。Fab-scFv变体v10000具有大约0.6nM的 较高结合亲和力(更低的KD)。在测定中包括单特异性抗HER2ECD4 抗体(v506)和抗HER2ECD2抗体(v4184)作为对照。这些结果 表明包括v6717、v6902、v6903、v5019和/或v7091在内的分子形式 具有相等的结合亲和力,并且因此认为这些抗体之间功能上的差异是 由形式上的差异而引起。

[0721] 表34:

[0722]

	平均值			STD DEV		
抗体变体	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)
v506	7.34E+04	4.08E-05	5.56E-10	1.13.E+03	3.04E-06	3.28E-11
v4184	3.61E+04	5.46E-04	1.56E-08	7.78.E+03	2.80E-05	4.12E-09
v5019	6.01E+04	7.77E-05	1.29E-09	1.30.E+03	8.56E-07	4.24E-11
v7091	5.17E+04	1.19E-04	2.31E-09	2.70.E+03	1.49E-05	4.09E-10
v10000	6.44E+04	3.69E-05	5.79E-10	6.18.E+03	6.72.E-06	1.42.E-10
v6902	6.83E+04	1.72E-04	2.72E-09	1.93E+04	4.49E-05	1.43E-09
v6903	7.10E+04	1.71E-04	2.75E-09	3.60E+04	3.96E-06	1.34E-09
v6717	1.50E+05	5.33E-04	4.45E-09	1.28E+05	2.54E-04	2.11E-09

[0723] 实施例39:抗HER2双互补位抗体形式对与HER2+肿瘤细胞结合的影响

[0724] 进行以下实验以比较具有不同分子形式的示例性抗HER2ECD2 x ECD4双互补位抗体(例如v6717,scFv-scFv IgG1;v6903和v6902 Fab-Fab IgG1;v5019、v7091和v10000Fab-scFv IgG1)的全细胞结 合性质(Bmax和表观K_D)。

[0725] 如实施例6中所述进行实验。结果示于图41和表35-38中。图 41A和表35示出了示例性双互补位抗体与BT474HER2 3+乳腺肿瘤 细胞系的FACS结合结果。结果显示所有抗HER2抗体与单特异性二 价抗HER2抗体v506比较时具有更高的Bmax(高1.5至1.7倍)。与v506相比,Fab-scFv(v5019、v7091和v10000)和Fab-Fab(v6903) 形式具有增加大约1.7倍的Bmax并且scFv-scFv形式(v6717)具有 增加大约1.5倍的Bmax。FSA v506和v4184的等摩尔组合引起Bmax 增加1.7倍。示例性抗HER2双互补位抗体的表观K_D与单特异性v506 相比高大约2至3倍。

[0726] 表35:BT-474的FACS结合

[0727]

抗体变体	K_D(nM)	Bmax
v506	9.0	23536
v10000	16	39665
v506+v4184	16	40320
v5019	21	39727
v7091	22	36718
v6717	30	36392
v6903	31	40321

[0728] 图41B和表36示出了与JIMT-1HER2 2+乳腺肿瘤细胞系的 FACS结合结果。结果显示所有抗HER2抗体与单特异性二价抗HER2 抗体v506相比时具有更高的Bmax(高1.5至1.8倍)。与v506相比, Fab-scFv(v7091和v10000)和Fab-Fab(v6903)形式具有增加大约 1.7倍的Bmax,scFv-scFv形式(v6717)具有增加大约1.5倍的Bmax 并且Fab-scFv(v5019)和FSA组合(v506+v4184)具有增加大约1.8 倍的Bmax。示例性抗HER2双互补位Fab-scFv抗体的表观K_D与单 特异性v506相比高大约2至4倍;而Fab-Fab(v6903)和scFv-scFv (v6717)的K_D与

v506相比高大约8倍。

[0729] 表36:JIMT-1的FACS结合

[0730]

抗体变体	K_D(nM)	Bmax
v506	3.5	2574
v10000	7.6	4435
v506+v4184	8.0	4617
v5019	12	4690
v7091	14	4456
v6717	26	3769
v6903	28	4452

[0731] 图41C和表37示出了示例性双互补位抗体与HER2 1+MCF7乳 腺肿瘤细胞系的FACS结合结果。结果显示抗HER2抗体v10000和 FSA组合(v506+v4184)与单特异性二价抗HER2抗体v506相比具 有高1.6倍的Bmax。与v506相比,Fab-scFv(v5019、v7091)具有 增加大约1.4倍的Bmax;scFv-scFv形式(v6717)具有增加1.3倍的 Bmax,并且Fab-Fab形式(v6903)具有增加1.2倍的Bmax。示例性 抗HER2双互补位Fab-scFv、Fab-Fab(v6903)和FSA组合 (v506+v4184)的表观K_D与v506相比低大约2至3倍;而scFv-scFv (v6717)的K_D与v506相比高大约3倍。

[0732] 表37:MCF7的FACS结合

[0733]

抗体变体	K_D(nM)	Bmax
v506+v4184	4.5	1410
v7091	6.1	1216
v5019	6.3	1201
v10000	6.8	1381
v6903	7.1	1105
v506	12	889
v6717	32	1167

[0734] 图41D和表38示出了示例性双互补位抗体与HER2 0/1+ MDA-MD-231乳腺肿瘤细胞系的FACS结合结果。结果显示示例性 双互补位抗HER2抗体与单特异性二价抗HER2抗体v506相比具有 增加大约1.3至1.4倍的Bmax。FSA组合(v506+v4184)具有增加 1.7倍的Bmax。示例性抗HER2双互补位Fab-scFv抗体(v5019、v7091、 v10000)和FSA组合(v506+v4184)的表观K_D与v506的K_D大致相 等;而Fab-Fab(v6903)和scFv-scFv(v6717)与v506相比,分别 具有高大约4和16倍的K_D。

[0735] 表38:MDA-MB-231的FACS结合

[0736]

抗体变体	K_D(nM)	Bmax
v506	4.8	395
v10000	5.6	558
v506+v4184	7.3	662
v7091	7.9	525

v5019	8.7	548
v6903	17	534
v6717	77	524

[0737] 肿瘤细胞结合结果显示与二价单特异性抗HER2抗体相比，具有 不同分子形式的抗HER2双互补位抗体在HER2 3+、2+、1+和0/1+ 肿瘤细胞上具有增加的Bmax。在不同的抗HER2双互补位抗体中，scFv-scFv形式在HER2 3+、2+、1+和0/1+肿瘤细胞上相对于v506 具有最低的Bmax增量。这些结果还显示scFv-scFv和Fab-Fab形式 与单特异性v506(增加3至16倍)和双互补位Fab-scFv形式(大约 2倍或更高)相比，在HER2 3+、2+、1+和0/1+肿瘤细胞上K_D增加 最大。K_D增加指示亲和性结合减少并且表明不同的双互补位形式具 有独特的与细胞表面上HER2结合的机制。

[0738] 实施例40:抗HER2双互补位抗体形式对在HER2+细胞中内化的影响

[0739] 进行以下实验以比较具有不同分子形式的示例性抗HER2ECD2 x ECD4双互补位抗体(例如，v6717，scFv-scFv IgG1；v6903和v6902 Fab-Fab IgG1；v5019、v7091和v10000Fab-scFv IgG1)在表达不同 水平的HER2的HER2+细胞中内化的能力。

[0740] 如实施例9详述那样进行实验。结果示于图42和表39-41中。图42A和表39示出了在HER23+BT-474中的内化结果。这些结果 显示Fab-scFv形式(v10000)和FSA组合(v506+v4184)与单特异 性抗HER2v506相比，具有高2.2倍量的胞内抗体。与v506相比， scFv-scFv形式(v6717)具有高1.9倍；Fab-scFv形式(v5019和v7091) 具有高1.5至1.7倍，并且Fab-Fab形式(v6902和v6903)具有高1.2 至1.3倍量的胞内抗体积聚。

[0741] 表39:内化BT-474

[0742]

抗体变体	表面4℃	表面37℃	内部37℃
v506	2156	1590	3453
v6902	2407	2077	4035
v6903	2717	986	4573
v7091	2759	2227	5111
v5019	2867	2675	5710
v6717	2006	1212	6498
v10000	3355	2851	7528
v506+v4184	3998	2326	7569

[0743] 图42B和表40示出了在HER2 2+JIMT-1中的内化结果。这些 结果显示Fab-scFv形式(v10000)和FSA组合(v506+v4184)与单 特异性抗HER2v506相比分别具有高1.8和1.9倍量的胞内抗体。与 v506相比，scFv-scFv形式(v6717)和Fab-scFv形式(v5019)具有 高1.4倍；并且Fab-scFv(v7091)和Fab-Fab形式(v6902和v6903) 具有高1.2倍量的胞内抗体积聚。

[0744] 表40:内化JIMT-1

[0745]

抗体变体	表面 4°C	表面 37°C	内部 37°C
v506	337	-7.1	759
v6902	389	152	926
v7091	426	102	935
v6903	392	130	945
v5019	437	5.2	1035
v6717	247	31	1082
v10000	474	103	1375
v506 + v4184	583	89	1449

[0746] 图42C和表41示出了在HER2 1+MCF7中的内化结果。这些结 果显示scFv-scFv形式和Fab-scFv形式与单特异性抗HER2v506相比 具有高3.0和2.8倍量的胞内抗体。与v506相比,Fab-scFv形式 (v10000)和FSA组合(v506+v4184)具有高大约2倍;Fab-scFv (v7091)和Fab-Fab(v6903)形式具有高1.8倍量的胞内抗体积聚。

[0747] 表41:内化MCF7

[0748]

抗体变体	表面 4°C	表面 37°C	内部 37°C
v506	48	10	48
v7091	77	27	87
v6903	81	35	89
v10000	78	20	96
v506 + v4184	87	19	103
v5019	81	17	134
v6717	48	31	145

[0749] 这些结果显示具有不同分子形式的抗HER2双互补位抗体在就 抗原结合结构域的结构和形式而言不同的HER2 3+、2+和1+肿瘤细 胞中具有独特的内化程度。一般而言,v506和v4184的单特异性FSA 组合、Fab-scFv(v10000、v7091和v5019)和scFv-scFv(v6717)双互补位形式在HER2 3+、2+和1+肿瘤细胞中具有更高的内化值。然 而,Fab-Fab双互补位形式(v6902和v6903)在HER2 3+、2+和1+ 肿瘤细胞中具有最低的内化值。这些数据表明抗原

结合结构域的分子 形式和几何间距对双互补位抗体交联HER2受体及随后在HER2+肿 瘤细胞中内化的能力有影响。在两个抗原结合结构域之间具有最大距 离的Fab-Fab双互补位形式，产生最低的内化程度，而在抗原结合结 构域之间具有较短距离的Fab-scFv和scFv-scFv形式，在HER2+细 胞中具有较强的内化。这与Jost等2013，Structure 21，1979-1991)中描述的效力和较短接头长度之间的相关性一致。

[0750] 实施例41：抗HER2双互补位抗体形式对HER2+细胞中的ADCC的影响

[0751] 进行以下实验以比较具有不同分子形式的示例性抗HER2ECD2 x ECD4双互补位抗体(例如，v6717，scFv-scFv IgG1；v6903和v6902 Fab-Fab IgG1；v5019、v7091和v10000Fab-scFv IgG1)在表达不同 水平的HER2的HER2+细胞中介导ADCC的能力。

[0752] 在进行ADCC测定之前，对抗体样品进行糖肽分析以定量N连 接的糖肽中的岩藻糖含量。按照如实施例23中所述的方法。结果示 于表42中；数据显示示例性双互补位变体v5019、v6717、v6903在 N连接的聚糖中具有相等的岩藻糖含量(91-93％)。选择在N-聚糖中具有相等的岩藻糖水平的抗体样品进行ADCC测定以在ADCC测定 结果的解释中对岩藻糖含量归一化。

[0753] 表42：LC-MS胰蛋白酶消化肽分析

[0754]

变体	观察到有岩藻糖的糖肽的百分比	观察到无岩藻糖的糖肽的百分比
v6903	90.7	9.3
v6717	92.8	7.2
v5019	91.3	8.7

[0755] 如实施例11中所述以E/T:5:1用NK-92效应细胞进行ADCC实 验。ADCC结果示于图43和表43-45中。图43A和表43示出了在 HER2 2+JIMT-1乳腺肿瘤细胞中的ADCC结果。这些数据显示 v5019、v6717和v6903引起类似水平的最大限度细胞裂解并且当 HER2 2+肿瘤细胞为靶标时scFv-scFv形式(v6717)与v5019和v6903 相比效力较低。

[0756] 表43：JIMT-1ADCC

[0757]

抗体变体	EC50(nM)	最大限度细胞裂解％
v6903	约0.03	48
v5019	约0.16	47
v6717	约0.72	51

[0758] 图43B和表44示出了在HER2 1+MCF7乳腺肿瘤细胞中的 ADCC结果。这些数据显示v5019和v6717与v6903(24％)相比具 有略高的最大限度细胞裂解(27-30％)。这些数据还显示v6717效力 较低，其次是v6903和v5019，其具有更低的EC50值。

[0759] 表44：MCF7ADCC

[0760]

抗体变体	EC_{50}(nM)	最大限度细胞裂解％
v5019	约0.69	27
v6717	109	30
v6903	0.94	24

[0761] 图43C和表45示出了在HER2 0/1+MDA-MB-231乳腺肿瘤细胞 中的ADCC结果。这些数据显示v5019与v6903(62％)和v6717(63％) 相比具有略高的最大限度细胞裂解(77％)。

这些数据还显示v6717 效力较低，其次是v6903和v5019，其具有更低的EC_{50}值。

[0762] 表45：MDA-MB-231ADCC

[0763]

抗体变体	EC_{50}(nM)	最大限度细胞裂解％(仅最高)
v5019	0.20	71
v6717	10	63
v6903	0.79	62

[0764] 这些数据显示示例性抗HER2ECD2x ECD4双互补位抗体在 HER2 2+和1+肿瘤细胞中通过ADCC引起类似水平的最大限度细胞 裂解。尽管在最大限度细胞裂解方面类似，但这些数据还显示不同的 分子形式具有独特的ADCC效力。在HER2 2+和HER2 1+中scFv-scFv效力最低(EC_{50}值最高)。在针对HER2 1+细胞的ADCC数据中看到 三种形式间的差异性效力，其中EC50值v6717>v6903>v5019。这些 数据与实施例40中呈现的观察结果(FACS结合)一致，其中在 Fab-Fab和scFv-scFv形式的情况下观察到K_D增大(亲和力降低)。

[0765] 实施例42：抗HER2双互补位抗体形式对HER2+肿瘤细胞生长的影响

[0766] 进行以下实验以比较抗HER2双互补位抗体形式对HER2 3+、2+ 和1+肿瘤细胞生长(基本生长或受配体刺激的生长)的影响。如实 施例15所述测量基本生长，而如实施例27所述测量受配体刺激的生 长。在两种类型的实验中，将生长测量为相对于对照处理的存活％。

[0767] 图44和表46示出了在外源生长刺激性配体(EGF和HRG)的 存在下，示例性抗HER2ECD2x ECD4双互补位抗体对HER2 3+乳 腺癌细胞(BT-474)生长的影响。在无EGF或HRG时，抗HER2双 互补位抗体能够抑制BT-474细胞的生长，其中每个处理组的存活％ 等级如下：v6903<v506+v4184<506<v7091<v5019<v10000<v6717。在 HRG的存在下，仅用v506+v4184的FSA组合实现相对于mock对照 的生长抑制。在EGF的存在下，实现相对于mock对照的生长抑制， 其中每个处理组的存活％等级如下： v6903<v506+v4184<7091<v10000<5019。

[0768] 表46

[0769]

处理	存活 %		
	仅抗体	+ HRG	+ EGF
Mock	100	143	131
v6717	113	126	129
v10000	70	118	78
v5019	67	133	81
v7091	61	119	61
v506	53	141	118
v506 + v4184	43	89	45
v6903	32	120	39

[0770] 图45示出了抗HER2双互补位抗体形式对SKBr3HER2 3+细胞 系的生长抑制的剂量依赖性影响。数据与图44中呈现的结果一致，其中在HER2 3+肿瘤细胞中双互补位形式的效力/功效等级顺序如下 Fab-Fab>Fab-scFv>scFv-scFv。

[0771] 图46中示出了抗HER2双互补位抗体形式对HER2+细胞存活的 影响，其中图46A示出了在300nM下在曲妥珠单抗敏感性SKOV3 HER2 2+/3+细胞系中的结果；图46B示出了在300nM下在JIMT-1 HER2 2+(曲妥珠单抗抗性)细胞中的结果，并且图46C示出了在 300nM下在MCF7HER2 1+细胞系中的结果。在SKOV3细胞系中，在双互补位形式之间在生长抑制程度上观察到少许差异，并且在 JIMT-1和MCF7细胞中用任何测试抗体均未观察到生长抑制。

[0772] 图44和图45中的数据显示具有Fab-scFv和Fab-Fab形式的抗H ER2ECD2x ECD4双互补位抗体(v5019、v7091、v10000、v6903) 在EGF或HRG缺乏和存在时能够抑制HER2 3+肿瘤细胞生长。在H ER2 3+细胞系BT-474和SKBR3中，相对于mock对照的生长抑制 等级顺序如下，其中v506+v4184>v6903>v7091>v10000>v5019>v506> v6717。抗原结合结构域之间的距离(Fab-Fab>Fab-scFv>scFv-sc Fv)与在HER2 3+肿瘤细胞中的生长抑制的等级顺序相关。基于在 曲妥珠单抗敏感性肿瘤细胞BT-474和SKBr3中的数据，可预计形式 间的生长抑制差异在HER2 3+水平下显著，但是在HER2 2+或HER 2 1+水平下不太显著。

[0773] 实施例43：对不同抗体捕获水平下HER2结合亲和力和动力学的评价

[0774] 进行以下实验以通过SPR比较示例性抗HER2ECD2x ECD4双 互补位抗体在不同表面密度下捕获时的HER2结合动力学(kd，分离 速率)。分离速率降低与抗体捕获水平(表面密度)提高之间的相关 性指示反式结合(即一个抗体分子与两个HER2分子结合，如实施例12所述)。在这项实验中，将Fab-Fab形式(v6903)与Fab-scFv形 式(v7091)做比较以测定变体间在反式结合方面的潜在差异。由于 抗原结合结构域之间较大的空间距离，假设Fab-Fab形式能够顺式结 合(工程化一个HER2分子上的ECD 2和4)；然而，Fab-scFv将由 于其抗原结合结构域之间的距离较短而不能顺式结合。抗HER2单特 异性v506包括在内作为对照。

[0775] 如实施例12中所述，通过SPR进行实验。数据示于图47中。图47A示出了用v6903和

v7091在不同抗体捕获水平下kd(1/s)的 图和线性回归分析。v7091和v6093两者随着表面捕获水平提高显示 出分离速率降低的趋势;然而,与Fab-scFv变体(v7091;P值＝0.023)的相关性显著,而不是Fab-Fab形式(v6093;P值＝0.053)。对于抗 HER2单特异性对照v506而言,随着抗体捕获水平变化,分离速率 保持不变。

[0776] 图47B示出了用v6903和v7091在不同抗体捕获水平下K_D(M) 的图和线性回归分析。与分离速率比较类似,v7091和v6093两者随 着表面捕获水平提高显示出亲和力增强(K_D值降低)的趋势。然而, 与Fab-scFv变体(v7091;P值＝0.04)的相关性显著,而不是Fab-Fab 形式(v6093;P值＝0.51)。对于抗HER2单特异性对照v506而言, 随着抗体捕获水平变化,K_D保持不变。图47中的数据显示Fab-Fab 和Fab-scFv抗HER2双互补位抗体形式随着抗体表面捕获水平提高 显示出分离速率降低的趋势;这些趋势与单特异性抗Her2抗体相比是独特的。

[0777] 实施例44:帕妥珠单抗Fab的亲和力和稳定性工程化

[0778] 如表1所示,一种变体(v10000)含有帕妥珠单抗Fab中的突变。这种Fab衍生自计算机模拟的亲和力和稳定性工程化成果,在实验室 将其作为单价或单臂抗体(OAA)测量。

[0779] 变体9996:单价抗HER2抗体,其中HER2结合结构域是衍生 自帕妥珠单抗A链上的Fab,VL区中具有Y96A且VH区中具有 T30A/A49G/L69F(Rabat编号)并且Fc区是在A链中具有突变 T350V_L351Y_F405A_Y407V(EU编号),在B链中具有突变 T350V_T366L_K392L_T394W(EU编号)的异二聚体,并且B链的 铰链区具有突变C226S;抗原结合结构域与HER2的结构域4结合。

[0780] 变体10014:单价抗HER2抗体,其中HER2结合结构域是衍生 自帕妥珠单抗A链上的Fab,VL区中具有Y96A且VH区中具有T30A (Rabat编号)并且Fc区是在A链中具有突变T350V_L351Y_F405A_Y407V(EU编号),在B链中具有突变 T350V_T366L_K392L_T394W(EU编号)的异二聚体,并且B链的 铰链区具有突变C226S;抗原结合结构域与HER2的结构域4结合。

[0781] 变体10013:单价抗HER2抗体,其中HER2结合结构域是衍生 自帕妥珠单抗A链上的Fab,并且Fc区是在A链中具有突变 T350V_L351Y_F405A_Y407V(EU编号),在B链中具有突变T350V_T366L_K392L_T394W(EU编号)的异二聚体,并且B链的 铰链区具有突变C226S;抗原结合结构域与HER2的结构域4结合。

[0782] 进行以下实验以比较工程化帕妥珠单抗变体的HER2结合亲和 力和稳定性。

[0783] 如实施例1中所述克隆并表达OAA变体。

[0784] 如实施例1中所述,通过蛋白A色谱法和尺寸排阻色谱法纯化 OAA。

[0785] 使用Caliper LabChip GXII(Perkin Elmer#760499)通过非还原 高通量蛋白质表达测定评估异二聚体纯度(即,具有异二聚体Fc的 OAA的量)。程序根据HT蛋白质表达LabChip用户指南(HT Protein Express LabChip User Guide)第2版LabChip GXII使用手册(LabChip GXII User Manual)进行,做以下修改。连同7μl的HT蛋白质表达 样品缓冲液(Perkin Elmer#760328)一起,向96孔板的单独孔中添 加2μl或5μl(浓度范围5-2000ng/μl)的异二聚体样品。然后使异二 聚体样品在70℃下变性15min。使用HT蛋白质表达芯片(Perkin Elmer#760499)和Ab-200测定装置操作LabChip仪器。使用后,用 MilliQ水清洁芯片并储存于4℃下。

[0786] 如用实施例24所示的方案通过DSC测定那样，通过测量解链温 度或Tm评估样品的稳定性。在SEC纯化之前和之后测量DSC。

[0787] 按照来自于实施例12的方案通过SPR测量样品对HER2ECD的 亲和力。在SEC纯化之前和之后测量SPR。如表47A和47B中所总 结的那样，与野生型帕妥珠单抗相比，可变结构域中的突变已增强了 Fab的HER2亲和力，同时保持了野生型稳定性。([1]通过Caliper LabChip测定的纯度；[2]KD(野生型)/KD(突变体)

[0788] 表47A：

[0789]

OAA 变体	Fab HC 突变	LC 突变	蛋白 A 产率（mg/L）	SPR SEC 前				SEC 后的 Het 纯度 [1]	SPR SEC 后			
				KD 平均值（nM）	KD 标准差（nM）	n	相对于野生型的倍数 [2]		KD 平均值（nM）	KD 标准差（nM）	n	相对于野生型的倍数
v9996	T30A/A49G/L69F	Y96A	22	1.7E-09	1.7E-10	5	9.6	93%	1.8E-09	1.6E-11	2	8.4
vl0014	T30A	Y96A	20	2.0E-09	3.1E-10	4	8.1	81%	2.1E-09	5.2E-10	3	7.0
v!0013	野生型	野生型	18	1.6E-08	5.1E-09	16	1.0	91%	1.5E-08	3.5E-09	4	1.0

[0790] 表47B：

[0791]

OAA 变体	DSC SEC 前		DSC SEC 后	
	Tm（C）	相对于野生型的△Tm（C）	Tm（C）	相对于野生型的△Tm（C）
v9996	77.2	-0.2	77.2	-0.7
v10014	75.5	-1.9	75.5	-2.4
v10013	77.4	0.0	77.9	0.0

[0792] 实施例中采用的试剂通常可商购或者可以使用本领域已知的可 商购的仪器、方法或试剂制备。前述实施例说明了本文描述的各个方 面及本文描述的方法的实践。实施例并非旨在提供对本发明许多不同 实施方案的详尽描述。因此，虽然为了理解清楚的目的已经通过说明 和举例的方式相当详细地描述了前述发明，但是本领域的普通技术人 员将容易认识到在不背离所附权利要求书的精神或范围的前提下，可 以对其做许多变化和修改。

[0793] 本说明书中提到的所有出版物、专利和专利申请通过引用在本文 中并入说明书中，其程度如同特别地且单独地指出将每个单独的出版 物、专利或专利申请通过引用并入本文一样。

[0794] 序列表

[0795]

变体	H1克隆名称	H2克隆名称	L1克隆名称	L2克隆名称
792	1011	1015	-2	-2
5019	3057	720	1811	NA
5020	719	3041	NA	1811
7091	3057	5244	1811	NA
10000	6586	5244	3382	NA
6903	5065	3468	5037	3904
6902	5065	3468	5034	3904
6717	3317	720	NA	NA

1040	4560	4553	NA	4561
630	719	716	NA	NA
4182	4560	3057	NA	1811
506	642	642	-2	-2
4184	3057	3041	1811	1811
9996	4372	6586	NA	3382

[0796]

SEQ ID NO.	克隆	描述	序列（氨基酸或
1	642	全部	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
2	642	全部	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGATTCAACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGG AGTGGGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTCCGTGAAGGGGAGGTTT ACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACACTGCTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATAC CGCTGTGTACTATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGGGGACAGGGGA CCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCCTCTACCAAGGGCCCCAGTGTGTTTCCCCTGGCTCCTTCTAGTAAA TCCACCTCTGGAGGGACAGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCCGAGCCTGTGACCGT

[0797]

			GAGTTGGAACTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGCACACTTTTCCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGC TGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTGACAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAAC GTGAATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATAAGACCCA CACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGC CAAAAGACACTCTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAG GACCCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAG AGAGGAACAGTACAACTCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCT AAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACACACTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAA GAACCAGGTGTCCCTGACATGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAAT CAAATGGACAGCCAGAGAACAATTACAAGACCACACCTCCAGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTC CTGTATTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTCAGTGAT GCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAA
3	642	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
4	642	VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGATTCAACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGG AGTGGGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTCCGTGAAGGGGAGGTTT ACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACACTGCTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATAC CGCTGTGTACTATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGGGGACAGGGGA CCCTGGTGACAGTGAGCTCC
5	642	H1	GFNIKDTY
6	642	H1	GGATTCAACATCAAGGACACCTAC
7	642	H3	SRWGGDGFYAMDY
8	642	H3	AGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTAT
9	642	H2	IYPTNGYT
10	642	H2	ATCTATCCCACTAATGGATACACC
11	642	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
12	642	CH1	GCCTCTACCAAGGGCCCCAGTGTGTTTCCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGACAGC CGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCCGAGCCTGTGACCGTGAGTTGGAACTCAGGCGCCC TGACAAGCGGAGTGCACACTTTTCCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCCTCTGTG GTGACAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCATAAGCCCTCAAA TACAAAAGTGGACAAGAAAGTG
13	642	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
14	642	CH2	GCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGAT TTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAACTCC ACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTG CAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCTAAGGCCAAA
15	642	CH3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
16	642	CH3	GGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACACACTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGACATGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCAGAGAACAATTACAAGACCACACCTCCAGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTATTCC AAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAAGC CCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
17	3468	全部	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRF TLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKGYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLKSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV

[0798]

			NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
18	3468	全部	GAAGTGCAGCTGGTCGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCCCTGCGCCTGTCTTGCGC CGCTAGTGGCTTCACTTTTACCGACTACACCATGGATTGGGTGCGACAGGCACCTGGAAAGGGCCTGG AGTGGGTCGCCGATGTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCCATCTACAACCAGCGGTTCAAGGGCCGGTTC ACCCTGTCAGTGGACCGGAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGCGAGCCGAAGATAC TGCTGTGTACTATTGCGCCCGGAATCTGGGGCCCTCCTTCTACTTTGACTATTGGGGGCAGGGAACTC TGGTCACCGTGAGCTCCGCCTCCACCAAGGGACCTTCTGTGTTCCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCC ACATCTGGGGGAACTGCAGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGGCTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTC TTGGAACAGTGGCGCTCTGACTTCTGGGGTCCACACCTTTCCTGCAGTGCTGAAGTCAAGCGGGCTGT ACAGCCTGTCCTCTGTGGTCACCGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTG AATCACAAGCCATCCAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAACCCAAGTCTTGTGATAAAACCCATAC ATGCCCCCCTTGTCCTGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTA AAGATACACTGATGATTAGTAGGACCCCAGAAGTCACATGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGAC CCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCCAGGGA GGAACAGTACAACAGTACCTATCGCGTCGTGTCAGTCCTGACAGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACG GGAAAGAGTATAAGTGCAAAGTGAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAATTTCCAAG GCAAAAGGACAGCCTAGAGAACCACAGGTGTACGTGCTGCCTCCATCAAGGGATGAGCTGACAAAGAA CCAGGTCAGCCTGCTGTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCTCTGACATTGCTGTGGAGTGGGAAAGTA ATGGCCAGCCTGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCTTTCTG TATAGCAAGCTGACCGTCGACAAATCCCGGTGGCAGCAGGGGAATGTGTTTAGTTGTTCAGTCATGCA CGAGGCACTGCACAACCATTACACCCAGAAGTCACTGTCACTGTCACCAGGG
19	3468	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRF TLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS
20	3468	VH	GAAGTGCAGCTGGTCGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCCCTGCGCCTGTCTTGCGC CGCTAGTGGCTTCACTTTTACCGACTACACCATGGATTGGGTGCGACAGGCACCTGGAAAGGGCCTGG AGTGGGTCGCCGATGTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCCATCTACAACCAGCGGTTCAAGGGCCGGTTC ACCCTGTCAGTGGACCGGAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGCGAGCCGAAGATAC TGCTGTGTACTATTGCGCCCGGAATCTGGGGCCCTCCTTCTACTTTGACTATTGGGGGCAGGGAACTC TGGTCACCGTGAGCTCC
21	3468	H1	GFTFTDYT
22	3468	H1	GGCTTCACTTTTACCGACTACACC
23	3468	H3	ARNLGPSFYFDY
24	3468	H3	GCCCGGAATCTGGGGCCCTCCTTCTACTTTGACTAT
25	3468	H2	VNPNSGGS
26	3468	H2	GTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCC
27	3468	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKGYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLKSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
28	3468	CH1	GCCTCCACCAAGGGACCTTCTGTGTTCCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACATCTGGGGGAACTGC AGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGGCTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTCTTGGAACAGTGGCGCTC TGACTTCTGGGGTCCACACCTTTCCTGCAGTGCTGAAGTCAAGCGGGCTGTACAGCCTGTCCTCTGTG GTCACCGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCCAA TACAAAAGTCGACAAGAAAGTG
29	3468	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
30	3468	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGATACACTGATGAT TAGTAGGACCCCAGAAGTCACATGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTA ACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCCAGGGAGGAACAGTACAACAGT ACCTATCGCGTCGTGTCAGTCCTGACAGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGGAAAGAGTATAAGTG

[0799]

			CAAAGTGAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAATTTCCAAGGCAAAA
31	3468	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
32	3468	CH3	GGACAGCCTAGAGAACCACAGGTGTACGTGCTGCCTCCATCAAGGGATGAGCTGACAAAGAACCAGGT CAGCCTGCTGTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCTCTGACATTGCTGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCC AGCCTGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCTTTCTGTATAGC AAGCTGACCGTCGACAAATCCCGGTGGCAGCAGGGGAATGTGTTTAGTTGTTCAGTCATGCACGAGGC ACTGCACAACCATTACACCCAGAAGTCACTGTCACTGTCACCAGGG
33	1811	全部	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
34	1811	全部	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCAAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTGGGCGACCGAGTCACCATCACATG CAAGGCTTCCCAGGATGTGTCTATTGGAGTCGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAAGCACCCAAGC TGCTGATCTATAGCGCCTCCTACCGGTATACCGGCGTGCCCTCTAGATTCTCTGGCAGTGGGTCAGGA ACAGACTTTACTCTGACCATCTCTAGTCTGCAGCCTGAGGATTTCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCATATACCTTTGGCCAGGGGACAAAAGTGGAGATCAAGAGGACTGTGGCCGCTCCCT CCGTCTTCATTTTTCCCCCTTCTGACGAACAGCTGAAAAGTGGCACAGCCAGCGTGGTCTGTCTGCTG AACAATTTCTACCCTCGCGAAGCCAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCTCTGCAGAGCGGCAACAG CCAGGAGTCTGTGACTGAACAGGACAGTAAAGATTCAACCTATAGCCTGTCAAGCACACTGACTCTGA GCAAGGCAGACTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGCGAAGTCACACATCAGGGGCTGTCCTCTCCT GTGACTAAGAGCTTTAACAGAGGAGAGTGT
35	1811	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK
36	1811	VL	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCAAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTGGGCGACCGAGTCACCATCACATG CAAGGCTTCCCAGGATGTGTCTATTGGAGTCGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAAGCACCCAAGC TGCTGATCTATAGCGCCTCCTACCGGTATACCGGCGTGCCCTCTAGATTCTCTGGCAGTGGGTCAGGA ACAGACTTTACTCTGACCATCTCTAGTCTGCAGCCTGAGGATTTCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCATATACCTTTGGCCAGGGGACAAAAGTGGAGATCAAG
37	1811	L1	QDVSIG
38	1811	L1	CAGGATGTGTCTATTGGA
39	1811	L3	QQYYIYPYT
40	1811	L3	CAGCAGTACTATATCTACCCATATACC
41	1811	L2	SAS
42	1811	L2	AGCGCCTCC
43	1811	CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
44	1811	CL	AGGACTGTGGCCGCTCCCTCCGTCTTCATTTTTCCCCCTTCTGACGAACAGCTGAAAAGTGGCACAGC CAGCGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTTCTACCCTCGCGAAGCCAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACG CTCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGTCTGTGACTGAACAGGACAGTAAAGATTCAACCTATAGCCTG TCAAGCACACTGACTCTGAGCAAGGCAGACTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGCGAAGTCACACA TCAGGGGCTGTCCTCTCCTGTGACTAAGAGCTTTAACAGAGGAGAGTGT
45	5034	全部	DYKDDDDKDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPS RFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDERLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
46	5034	全部	GACTACAAAGACGACGATGACAAAGATATCCAGATGACCCAGTCCCCTAGCTCCCTGTCCGCTTCTGT GGGCGATAGGGTCACTATTACCTGCCGCGCATCTCAGGACGTGAACACCGCAGTCGCCTGGTACCAGC AGAAGCCTGGGAAAGCTCCAAAGCTGCTGATCTACAGTGCATCATTCCTGTATTCAGGAGTGCCCAGC CGGTTTAGCGGCAGCAGATCTGGCACCGATTTCACACTGACTATTTCTAGTCTGCAGCCTGAGGACTT TGCCACATACTATTGCCAGCAGCACTATACCACACCCCCTACTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGA

			TCAAGCGAACTGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCATTTTTCCACCCAGCGATGAAAGACTGAAGTCCGGC ACAGCTTCTGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCCAGAGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAGGTCGA CAACGCTCTGCAGAGTGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACAGAACAGGATTCCAAAGACTCTACTTATA GTCTGTCAAGCACCCTGACACTGAGCAAGGCAGACTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCCTGTGAGGTC ACACATCAGGGGCTGTCATCACCAGTCACCAAATCATTCAATCGGGGGGAGTGC
47	5034	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
48	5034	VL	GATATCCAGATGACCCAGTCCCCTAGCTCCCTGTCCGCTTCTGTGGGCGATAGGGTCACTATTACCTG CCGCGCATCTCAGGACGTGAACACCGCAGTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGGAAAGCTCCAAAGC TGCTGATCTACAGTGCATCATTCCTGTATTCAGGAGTGCCCAGCCGGTTTAGCGGCAGCAGATCTGGC ACCGATTTCACACTGACTATTTCTAGTCTGCAGCCTGAGGACTTTGCCACATACTATTGCCAGCAGCA CTATACCACACCCCCTACTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGATCAAG
49	5034	L1	QDVNTA
50	5034	L1	CAGGACGTGAACACCGCA
51	5034	L3	QQHYTTPPT
52	5034	L3	CAGCAGCACTATACCACACCCCCTACT
53	5034	L2	SAS
54	5034	L2	AGTGCATCA
55	5034	CL	RTVAAPSVFIFPPSDERLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
56	5034	CL	CGAACTGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCATTTTTCCACCCAGCGATGAAAGACTGAAGTCCGGCACAGC TTCTGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCCAGAGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAGGTCGACAACG CTCTGCAGAGTGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACAGAACAGGATTCCAAAGACTCTACTTATAGTCTG TCAAGCACCCTGACACTGAGCAAGGCAGACTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCCTGTGAGGTCACACA TCAGGGGCTGTCATCACCAGTCACCAAATCATTCAATCGGGGGGAGTGC
[0800] 57	5037	全部	DYKDDDDKDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPS RFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDERLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSKESVTEQDSKDSTYSLSSRLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
58	5037	全部	GACTACAAAGACGACGATGACAAAGATATCCAGATGACCCAGTCCCCTAGCTCCCTGTCCGCTTCTGT GGGCGATAGGGTCACTATTACCTGCCGCGCATCTCAGGACGTGAACACCGCAGTCGCCTGGTACCAGC AGAAGCCTGGGAAAGCTCCAAAGCTGCTGATCTACAGTGCATCATTCCTGTATTCAGGAGTGCCCAGC CGGTTTAGCGGCAGCAGATCTGGCACCGATTTCACACTGACTATTTCTAGTCTGCAGCCTGAGGACTT TGCCACATACTATTGCCAGCAGCACTATACCACACCCCCTACTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGA TCAAGCGAACTGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCATTTTTCCACCCAGCGATGAAAGACTGAAGTCCGGC ACAGCTTCTGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCCAGAGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAGGTCGA CAACGCTCTGCAGAGTGGCAACAGCAAGGAGAGCGTGACAGAACAGGATTCCAAAGACTCTACTTATA GTCTGTCAAGCAGACTGACACTGAGCAAGGCAGACTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCCTGTGAGGTC ACACATCAGGGGCTGTCATCACCAGTCACCAAATCATTCAATCGGGGGGAGTGC
59	5037	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
60	5037	VL	GATATCCAGATGACCCAGTCCCCTAGCTCCCTGTCCGCTTCTGTGGGCGATAGGGTCACTATTACCTG CCGCGCATCTCAGGACGTGAACACCGCAGTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGGAAAGCTCCAAAGC TGCTGATCTACAGTGCATCATTCCTGTATTCAGGAGTGCCCAGCCGGTTTAGCGGCAGCAGATCTGGC ACCGATTTCACACTGACTATTTCTAGTCTGCAGCCTGAGGACTTTGCCACATACTATTGCCAGCAGCA CTATACCACACCCCCTACTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGATCAAG
61	5037	L1	QDVNTA
62	5037	L1	CAGGACGTGAACACCGCA
63	5037	L3	QQHYTTPPT
64	5037	L3	CAGCAGCACTATACCACACCCCCTACT

[0801]

65	5037	L2	SAS
66	5037	L2	AGTGCATCA
67	5037	CL	RTVAAPSVFIFPPSDERLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSKESVTEQDSKDSTYSL SSRLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
68	5037	CL	CGAACTGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCATTTTTCCACCCAGCGATGAAAGACTGAAGTCCGGCACAGC TTCTGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCCAGAGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAGGTCGACAACG CTCTGCAGAGTGGCAACAGCAAGGAGAGCGTGACAGAACAGGATTCCAAAGACTCTACTTATAGTCTG TCAAGCAGACTGACACTGAGCAAGGCAGACTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCCTGTGAGGTCACACA TCAGGGGCTGTCATCACCAGTCACCAAATCATTCAATCGGGGGGAGTGC
69	3382	全部	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
70	3382	全部	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCAAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTGGGCGACCGAGTCACCATCACATG CAAGGCTTCCCAGGATGTGTCTATTGGAGTCGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAAGCACCCAAGC TGCTGATCTATAGCGCCTCCTACCGGTATACCGGCGTGCCCTCTAGATTCTCTGGCAGTGGGTCAGGA ACAGACTTTACTCTGACCATCTCTAGTCTGCAGCCTGAGGATTTCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCAGCCACCTTTGGCCAGGGGACAAAAGTGGAGATCAAGAGGACTGTGGCCGCTCCCT CCGTCTTCATTTTTCCCCCTTCTGACGAACAGCTGAAAAGTGGCACAGCCAGCGTGGTCTGTCTGCTG AACAATTTCTACCCTCGCGAAGCCAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCTCTGCAGAGCGGCAACAG CCAGGAGTCTGTGACTGAACAGGACAGTAAAGATTCAACCTATAGCCTGTCAAGCACACTGACTCTGA GCAAGGCAGACTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGCGAAGTCACACATCAGGGGCTGTCCTCTCCT GTGACTAAGAGCTTTAACAGAGGAGAGTGT
71	3382	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPATFGQGTKVEIK
72	3382	VL	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCAAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTGGGCGACCGAGTCACCATCACATG CAAGGCTTCCCAGGATGTGTCTATTGGAGTCGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAAGCACCCAAGC TGCTGATCTATAGCGCCTCCTACCGGTATACCGGCGTGCCCTCTAGATTCTCTGGCAGTGGGTCAGGA ACAGACTTTACTCTGACCATCTCTAGTCTGCAGCCTGAGGATTTCGCTACCTACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCAGCCACCTTTGGCCAGGGGACAAAAGTGGAGATCAAG
73	3382	L1	QDVSIG
74	3382	L1	CAGGATGTGTCTATTGGA
75	3382	L3	QQYYIYPAT
76	3382	L3	CAGCAGTACTATATCTACCCAGCCACC
77	3382	L2	SAS
78	3382	L2	AGCGCCTCC
79	3382	CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
80	3382	CL	AGGACTGTGGCCGCTCCCTCCGTCTTCATTTTTCCCCCTTCTGACGAACAGCTGAAAAGTGGCACAGC CAGCGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTTCTACCCTCGCGAAGCCAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACG CTCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGTCTGTGACTGAACAGGACAGTAAAGATTCAACCTATAGCCTG TCAAGCACACTGACTCTGAGCAAGGCAGACTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGCGAAGTCACACA TCAGGGGCTGTCCTCTCCTGTGACTAAGAGCTTTAACAGAGGAGAGTGT
81	5065	全部	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCEVTDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFA LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
82	5065	全部	GAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCACTGCGACTGAGCTGCGC

[0802]

			AGCTTCCGGCTTCAACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTCCGCCAGGCTCCTGGAAAAGGCCTGG AGTGGGTGGCACGAATCTATCCAACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATTTCTGCAGATACAAGTAAAAACACTGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATAC AGCCGTGTACTATTGCAGCCGATGGGGAGGCGACGGCTTCTACGCTATGGATTATTGGGGGCAGGGAA CCCTGGTCACAGTGAGCTCCGCATCAACAAAGGGGCCTAGCGTGTTTCCACTGGCCCCCTCTAGTAAA TCCACCTCTGGGGGAACAGCAGCCCTGGGATGTGAGGTGACCGACTACTTCCCAGAGCCCGTCACTGT GAGCTGGAACTCCGGCGCCCTGACATCTGGGGTCCATACTTTTCCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGCC TGTACAGCCTGTCCTCTGTGGTCACTGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAAC GTGAATCACAAGCCATCCAATACCAAAGTCGACAAGAAAGTGGAACCCAAGTCTTGTGATAAAACACA TACTTGCCCCCCTTGTCCTGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGC CTAAAGACACCCTGATGATTAGTAGGACTCCAGAAGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAG GACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAACCCAG GGAGGAACAGTACAACTCCACTTATCGCGTCGTGTCTGTCCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAATTTCC AAGGCTAAAGGGCAGCCTAGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCTCCATCTAGGGACGAGCTGACCAA GAACCAGGTCAGTCTGACATGTCTGGTGAAAGGGTTCTATCCCAGCGATATCGCAGTGGAGTGGGAAT CCAATGGACAGCCTGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGAAGTTTCGCC CTGGTGAGTAAGCTGACCGTCGATAAATCACGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGAT GCACGAAGCACTGCACAACCACTACACCCAGAAAAGCCTGTCCCTGTCCCCCGGC
83	5065	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
84	5065	VH	GAGGTGCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCACTGCGACTGAGCTGCGC AGCTTCCGGCTTCAACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTCCGCCAGGCTCCTGGAAAAGGCCTGG AGTGGGTGGCACGAATCTATCCAACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATTTCTGCAGATACAAGTAAAAACACTGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATAC AGCCGTGTACTATTGCAGCCGATGGGGAGGCGACGGCTTCTACGCTATGGATTATTGGGGGCAGGGAA CCCTGGTCACAGTGAGCTCC
85	5065	H1	GFNIKDTY
86	5065	H1	GGCTTCAACATCAAGGACACCTAC
87	5065	H3	SRWGGDGFYAMDY
88	5065	H3	AGCCGATGGGGAGGCGACGGCTTCTACGCTATGGATTAT
89	5065	H2	IYPTNGYT
90	5065	H2	ATCTATCCAACTAATGGATACACC
91	5065	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCEVTDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
92	5065	CH1	GCATCAACAAAGGGGCCTAGCGTGTTTCCACTGGCCCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGGGGAACAGC AGCCCTGGGATGTGAGGTGACCGACTACTTCCCAGAGCCCGTCACTGTGAGCTGGAACTCCGGCGCCC TGACATCTGGGGTCCATACTTTTCCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCTCTGTG GTCACTGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCCAA TACCAAAGTCGACAAGAAAGTG
93	5065	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
94	5065	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGAT TAGTAGGACTCCAGAAGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAACCCAGGGAGGAACAGTACAACTCC ACTTATCGCGTCGTGTCTGTCCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTG CAAAGTGAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAATTTCCAAGGCTAAA
95	5065	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
96	5065	CH3	GGGCAGCCTAGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCTCCATCTAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGT CAGTCTGACATGTCTGGTGAAAGGGTTCTATCCCAGCGATATCGCAGTGGAGTGGGAATCCAATGGAC

[0803]

			AGCCTGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGAAGTTTCGCCCTGGTGAGT AAGCTGACCGTCGATAAATCACGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGTTCAGTGATGCACGAAGC ACTGCACAACCACTACACCCAGAAAAGCCTGTCCCTGTCCCCCGGC
97	6586	全部	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFADYTMDWVRQAPGKGLEWVGDVNPNSGGSIYNQRFKGRF TFSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
98	6586	全部	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGAGGGGGCCTGGTGCAGCCCGGAGGGTCTCTGCGACTGTCATGTGC CGCTTCTGGGTTCACTTTCGCAGACTACACAATGGATTGGGTGCGACAGGCCCCCGGAAAGGGACTGG AGTGGGTGGGCGATGTCAACCCTAATTCTGGCGGGAGTATCTACAACCAGCGGTTCAAGGGGAGATTC ACTTTTTCAGTGGACAGAAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAAGATAC CGCTGTCTACTATTGCGCTCGCAATCTGGGCCCCAGTTTCTACTTTGACTATTGGGGGCAGGGAACCC TGGTGACAGTCAGCTCCGCTAGCACTAAGGGGCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCC ACCTCTGGAGGCACAGCTGCACTGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAG TTGGAACTCAGGGGCTCTGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGACTGT ACTCCCTGTCCTCTGTGGTCACCGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATATCTGCAACGTG AATCACAAGCCATCAAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATAAAACTCATAC CTGCCCACCTTGTCCGGCGCCAGAACTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTA AAGACACCCTGATGATTTCCCGGACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGTCTCACGAGGAC CCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAACCCCGGGA GGAACAGTACAACTCTACCTATAGAGTCGTGAGTGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAATG GGAAGGAGTATAAGTGTAAAGTGAGCAACAAAGCCCTGCCCGCCCCAATCGAAAAAACAATCTCTAAA GCAAAAGGACAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTCTACCCCCCATCAAGAGATGAACTGACAAAAAA TCAGGTCTCTCTGACATGCCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTA ACGGCCAGCCCGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTCCTGGACTCTGATGGGAGTTTCGCTCTG GTGTCAAAGCTGACCGTCGATAAAAGCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTTAGCTGCTCCGTCATGCA CGAAGCCCTGCACAATCACTACACACAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
99	6586	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFADYTMDWVRQAPGKGLEWVGDVNPNSGGSIYNQRFKGRF TFSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS
100	6586	VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGAGGGGGCCTGGTGCAGCCCGGAGGGTCTCTGCGACTGTCATGTGC CGCTTCTGGGTTCACTTTCGCAGACTACACAATGGATTGGGTGCGACAGGCCCCCGGAAAGGGACTGG AGTGGGTGGGCGATGTCAACCCTAATTCTGGCGGGAGTATCTACAACCAGCGGTTCAAGGGGAGATTC ACTTTTTCAGTGGACAGAAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAAGATAC CGCTGTCTACTATTGCGCTCGCAATCTGGGCCCCAGTTTCTACTTTGACTATTGGGGGCAGGGAACCC TGGTGACAGTCAGCTCC
101	6586	H1	GFTFADYT
102	6586	H1	GGGTTCACTTTCGCAGACTACACA
103	6586	H3	ARNLGPSFYFDY
104	6586	H3	GCTCGCAATCTGGGCCCCAGTTTCTACTTTGACTAT
105	6586	H2	VNPNSGGS
106	6586	H2	GTCAACCCTAATTCTGGCGGGAGT
107	6586	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
108	6586	CH1	GCTAGCACTAAGGGGCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGCACAGC TGCACTGGGATGTCTGGTGAAGGATTACTTCCCTGAACCAGTCACAGTGAGTTGGAACTCAGGGGCTC TGACAAGTGGAGTCCATACTTTTCCCGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGACTGTACTCCCTGTCCTCTGTG GTCACCGTGCCTAGTTCAAGCCTGGGCACCCAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCAAA TACAAAAGTCGACAAGAAAGTG

[0804]

109	6586	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
110	6586	CH2	GCGCCAGAACTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGAT TTCCCGGACTCCTGAGGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTCGAAGTGCATAATGCCAAGACCAAACCCCGGGAGGAACAGTACAACTCT ACCTATAGAGTCGTGAGTGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTG TAAAGTGAGCAACAAAGCCCTGCCCGCCCCAATCGAAAAAACAATCTCTAAAGCAAAA
111	6586	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
112	6586	CH3	GGACAGCCTCGCGAACCACAGGTCTACGTCTACCCCCCATCAAGAGATGAACTGACAAAAAATCAGGT CTCTCTGACATGCCTGGTCAAAGGATTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGTAACGGCC AGCCCGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTCCTGGACTCTGATGGGAGTTTCGCTCTGGTGTCA AAGCTGACCGTCGATAAAAGCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTTAGCTGCTCCGTCATGCACGAAGC CCTGCACAATCACTACACACAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
113	3904	全部	YPYDVPDYATGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYT GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEE LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSEESVTEQDSKDSTYSLSSTLELSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
114	3904	全部	TATCCCTACGATGTGCCTGACTACGCTACTGGCTCCGATATCCAGATGACCCAGTCTCCAAGCTCCCT GAGTGCATCAGTGGGGGACCGAGTCACCATCACATGCAAGGCTTCCCAGGATGTGTCTATTGGAGTCG CATGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAAGCACCCAAGCTGCTGATCTACAGCGCCTCCTACCGGTATACT GGGGTGCCTTCCAGATTCTCTGGCAGTGGGTCAGGAACCGACTTTACTCTGACCATCTCTAGTCTGCA GCCCGAGGATTTCGCCACCTACTATTGCCAGCAGTACTATATCTACCCTTATACCTTTGGCCAGGGGA CAAAAGTGGAGATCAAGAGGACAGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCATTTTTCCCCCTTCCGACGAAGAG CTGAAAAGTGGAACTGCTTCAGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTTCTACCCCCGCGAAGCCAAAGTGCA GTGGAAGGTCGATAACGCTCTGCAGAGCGGCAATTCCGAGGAGTCTGTGACAGAACAGGACAGTAAAG ATTCAACTTATAGCCTGTCAAGCACACTGGAGCTGTCTAAGGCAGACTACGAGAAGCACAAAGTGTAT GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGGCTGTCCTCTCCCGTGACAAAGAGCTTTAACAGAGGAGAGTGT
115	3904	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK
116	3904	VL	GATATCCAGATGACCCAGTCTCCAAGCTCCCTGAGTGCATCAGTGGGGGACCGAGTCACCATCACATG CAAGGCTTCCCAGGATGTGTCTATTGGAGTCGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAAGCACCCAAGC TGCTGATCTACAGCGCCTCCTACCGGTATACTGGGGTGCCTTCCAGATTCTCTGGCAGTGGGTCAGGA ACCGACTTTACTCTGACCATCTCTAGTCTGCAGCCCGAGGATTTCGCCACCTACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCTTATACCTTTGGCCAGGGGACAAAAGTGGAGATCAAG
117	3904	L1	QDVSIG
118	3904	L1	CAGGATGTGTCTATTGGA
119	3904	L3	QQYYIYPYT
120	3904	L3	CAGCAGTACTATATCTACCCTTATACC
121	3904	L2	SAS
122	3904	L2	AGCGCCTCC
123	3904	CL	RTVAAPSVFIFPPSDEELKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSEESVTEQDSKDSTYSL SSTLELSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
124	3904	CL	AGGACAGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCATTTTTCCCCCTTCCGACGAAGAGCTGAAAAGTGGAACTGC TTCAGTGGTCTGTCTGCTGAACAATTTCTACCCCCGCGAAGCCAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACG CTCTGCAGAGCGGCAATTCCGAGGAGTCTGTGACAGAACAGGACAGTAAAGATTCAACTTATAGCCTG TCAAGCACACTGGAGCTGTCTAAGGCAGACTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGGCTGTCCTCTCCCGTGACAAAGAGCTTTAACAGAGGAGAGTGT
125	4553	全部	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN

[0805]

			VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFA LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
126	4553	全部	GAAGTCCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGCTTCAACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGAAAAGGCCTGG AGTGGGTGGCACGAATCTATCCAACTAATGGATACACCCGGTATGCAGACAGCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATTAGCGCAGATACATCCAAAAACACTGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATAC TGCTGTGTACTATTGCAGTCGGTGGGGAGGCGACGGCTTCTACGCTATGGATTATTGGGGGCAGGGAA CCCTGGTCACAGTGAGCTCCGCATCTACAAAGGGGCCTAGTGTGTTTCCACTGGCCCCCTCTAGTAAA TCCACCTCTGGGGGAACAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCAGAGCCCGTCACTGT GAGTTGGAACTCAGGCGCCCTGACATCCGGGGTCCATACTTTTCCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGCC TGTACTCTCTGTCCTCTGTGGTCACCGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAAC GTGAATCACAAGCCAAGCAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAACCCAAGAGCTGTGATAAAACACA TACTTGCCCCCCTTGTCCTGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGC CTAAAGACACCCTGATGATTTCCAGGACTCCAGAAGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGTCTCACGAG GACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAACCCAG GGAGGAACAGTACAACTCAACTTATCGCGTCGTGAGCGTCCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACCATTAGC AAGGCCAAAGGGCAGCCTAGAGAACCACAGGTCTACGTGTATCCTCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAA GAACCAGGTCTCCCTGACATGTCTGGTGAAAGGGTTTTACCCCAGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAAT CAAATGGACAGCCTGAAAACAATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCGCT CTGGTCTCCAAGCTGACTGTGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGAT GCATGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAA
127	4553	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
128	4553	VH	GAAGTCCAGCTGGTCGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGCTTCAACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGAAAAGGCCTGG AGTGGGTGGCACGAATCTATCCAACTAATGGATACACCCGGTATGCAGACAGCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATTAGCGCAGATACATCCAAAAACACTGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATAC TGCTGTGTACTATTGCAGTCGGTGGGGAGGCGACGGCTTCTACGCTATGGATTATTGGGGGCAGGGAA CCCTGGTCACAGTGAGCTCC
129	4553	H1	GFNIKDTY
130	4553	H1	GGCTTCAACATCAAGGACACCTAC
131	4553	H3	SRWGGDGFYAMDY
132	4553	H3	AGTCGGTGGGGAGGCGACGGCTTCTACGCTATGGATTAT
133	4553	H2	IYPTNGYT
134	4553	H2	ATCTATCCAACTAATGGATACACC
135	4553	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
136	4553	CH1	GCATCTACAAAGGGGCCTAGTGTGTTTCCACTGGCCCCCTCTAGTAAATCCACCTCTGGGGGAACAGC AGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCAGAGCCCGTCACTGTGAGTTGGAACTCAGGCGCCC TGACATCCGGGGTCCATACTTTTCCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGCCTGTACTCTCTGTCCTCTGTG GTCACCGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAA TACAAAAGTCGACAAGAAAGTG
137	4553	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
138	4553	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGACACCCTGATGAT TTCCAGGACTCCAGAAGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAACCCAGGGAGGAACAGTACAACTCA ACTTATCGCGTCGTGAGCGTCCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTG

[0806]

			CAAAGTGAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACCATTAGCAAGGCCAAA
139	4553	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
140	4553	CH3	GGGCAGCCTAGAGAACCACAGGTCTACGTGTATCCTCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGT CTCCCTGACATGTCTGGTGAAAGGGTTTTACCCCAGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCTGAAAACAATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCGCTCTGGTCTCC AAGCTGACTGTGGATAAATCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAGGC ACTGCACAATCATTACACCCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
141	716	全部	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLICLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENRYMTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
142	716	全部	GAGCCCAAGAGCAGCGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACC TAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCT GCGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAA GTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAACTCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCT GACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGC CTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACACACTG CCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGATCTGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCC TAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAGATACATGACCTGGCCTCCAG TGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTATTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAG GGGAACGTGTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTC CCTGTCTCCCGGCAAA
143	716	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
144	716	CH2	GCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGAT TTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAACTCC ACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTG CAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCTAAGGCCAAA
145	716	CH3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLICLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENRYMTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
146	716	CH3	GGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACACACTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGATCTGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCAGAGAACAGATACATGACCTGGCCTCCAGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTATTCC AAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAAGC CCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
147	719	全部	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDEDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
148	719	全部	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGGCAAGTCAGGACGTTAACACCGCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGC TCCTGATCTATTCTGCATCCTTTTTGTACAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTCGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGCA TTACACTACCCCACCCACTTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAAGGTGGTTCTGGTGGTGGTT CTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGA GGCTTGGTACAGCCTGGCGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACATTAAAGATAC

[0807]

			TTATATCCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCGCACGTATTTATCCCACAA ATGGTTACACACGGTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCGCAGACACTTCCAAGAAC ACCGCGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTTTATTACTGTTCAAGATGGGG CGGAGACGGTTTCTACGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCGCCG AGCCCAAGAGCAGCGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCT AGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTG CGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAG TGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAACTCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTG ACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACACATACC CACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACATGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCT AGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAATTACAAGACCACACCTCCAGT GCTGGACGAGGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGG GGAACGTGTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCC CTGTCTCCCGGCAAA
149	719	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
150	719	VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGGCAAGTCAGGACGTTAACACCGCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGC TCCTGATCTATTCTGCATCCTTTTTGTACAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTCGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGCA TTACACTACCCCACCCACTTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAA
151	719	L1	QDVNTA
152	719	L1	CAGGACGTTAACACCGCT
153	719	L3	QQHYTTPPT
154	719	L3	CAACAGCATTACACTACCCCACCCACT
155	719	L2	SAS
156	719	L2	TCTGCATCC
157	719	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
158	719	VH	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGC AGCCTCTGGATTCAACATTAAAGATACTTATATCCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGG AGTGGGTCGCACGTATTTATCCCACAAATGGTTACACACGGTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTC ACCATCTCCGCAGACACTTCCAAGAACACCGCGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACAC GGCCGTTTATTACTGTTCAAGATGGGGCGGAGACGGTTTCTACGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGGA CCCTGGTCACCGTCTCCTCA
159	719	H1	GFNIKDTY
160	719	H1	GGATTCAACATTAAAGATACTTAT
161	719	H3	SRWGGDGFYAMDY
162	719	H3	TCAAGATGGGGCGGAGACGGTTTCTACGCTATGGACTAC
163	719	H2	IYPTNGYT
164	719	H2	ATTTATCCCACAAATGGTTACACA
165	719	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
166	719	CH2	GCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGAT TTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAACTCC ACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTG CAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCTAAGGCCAAA
167	719	CH3	GQPREPQVYTYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDEDGSFALVS

[0808]

			KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
168	719	CH3	GGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACACATACCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGACATGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCAGAGAACAATTACAAGACCACACCTCCAGTGCTGGACGAGGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCC AAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAAGC CCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
169	720	全部	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLICLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENRYMTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
170	720	全部	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGGCAAGTCAGGACGTTAACACCGCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGC TCCTGATCTATTCTGCATCCTTTTTGTACAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTCGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGCA TTACACTACCCCACCCACTTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAAGGTGGTTCTGGTGGTGGTT CTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTTCTGGTGAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGA GGCTTGGTACAGCCTGGCGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAACATTAAAGATAC TTATATCCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCGCACGTATTTATCCCACAA ATGGTTACACACGGTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCGCAGACACTTCCAAGAAC ACCGCGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTTTATTACTGTTCAAGATGGGG CGGAGACGGTTTCTACGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCGCCG AGCCCAAGAGCAGCGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCT AGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTG CGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAG TGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAACTCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTG ACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACACACTGC CACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGATCTGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCT AGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAGATACATGACCTGGCCTCCAGT GCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTATTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGG GGAACGTGTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCC CTGTCTCCCGGCAAA
171	720	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
172	720	VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGGCAAGTCAGGACGTTAACACCGCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGC TCCTGATCTATTCTGCATCCTTTTTGTACAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTCGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGCA TTACACTACCCCACCCACTTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAA
173	720	L1	QDVNTA
174	720	L1	CAGGACGTTAACACCGCT
175	720	L3	QQHYTTPPT
176	720	L3	CAACAGCATTACACTACCCCACCCACT
177	720	L2	SAS
178	720	L2	TCTGCATCC
179	720	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS

[0809]

180	720	VH	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGC AGCCTCTGGATTCAACATTAAAGATACTTATATCCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGG AGTGGGTCGCACGTATTTATCCCACAAATGGTTACACACGGTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTC ACCATCTCCGCAGACACTTCCAAGAACACCGCGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACAC GGCCGTTTATTACTGTTCAAGATGGGGCGGAGACGGTTTCTACGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGGA CCCTGGTCACCGTCTCCTCA
181	720	H1	GFNIKDTY
182	720	H1	GGATTCAACATTAAAGATACTTAT
183	720	H3	SRWGGDGFYAMDY
184	720	H3	TCAAGATGGGGCGGAGACGGTTTCTACGCTATGGACTAC
185	720	H2	IYPTNGYT
186	720	H2	ATTTATCCCACAAATGGTTACACA
187	720	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
188	720	CH2	GCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGAT TTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAACTCC ACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTG CAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCTAAGGCCAAA
189	720	CH3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLICLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENRYMTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
190	720	CH3	GGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACACACTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGATCTGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCAGAGAACAGATACATGACCTGGCCTCCAGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTATTCC AAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAAGC CCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
191	4561	全部	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
192	4561	全部	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCTAGCTCCCTGTCCGCTTCTGTGGGCGACAGGGTCACTATCACCTG CCGCGCATCTCAGGATGTGAACACCGCAGTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGGAAAGCTCCAAAGC TGCTGATCTACAGTGCATCATTCCTGTATTCAGGAGTGCCCAGCCGGTTTAGCGGCAGCAGATCTGGC ACCGACTTCACACTGACTATCTCTAGTCTGCAGCCTGAGGATTTTGCCACATACTATTGCCAGCAGCA CTATACCACACCCCCTACTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGATCAAGCGAACTGTGGCCGCTCCAA GTGTCTTCATTTTTCCACCCAGCGACGAACAGCTGAAATCCGGCACAGCTTCTGTGGTCTGTCTGCTG AACAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACGCTCTGCAGAGTGGCAACAG CCAGGAGAGCGTGACAGAACAGGACTCCAAAGATTCTACTTATAGTCTGTCAAGCACCCTGACACTGA GCAAGGCAGACTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCCTGTGAGGTGACCCATCAGGGGCTGTCTTCTCCC GTGACCAAGTCTTTCAACCGAGGCGAATGT
193	4561	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
194	4561	VL	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCTAGCTCCCTGTCCGCTTCTGTGGGCGACAGGGTCACTATCACCTG CCGCGCATCTCAGGATGTGAACACCGCAGTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGGAAAGCTCCAAAGC TGCTGATCTACAGTGCATCATTCCTGTATTCAGGAGTGCCCAGCCGGTTTAGCGGCAGCAGATCTGGC ACCGACTTCACACTGACTATCTCTAGTCTGCAGCCTGAGGATTTTGCCACATACTATTGCCAGCAGCA CTATACCACACCCCCTACTTTCGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGATCAAG
195	4561	L1	QDVNTA
196	4561	L1	CAGGATGTGAACACCGCA
197	4561	L3	QQHYTTPPT

[0810]

198	4561	L3	CAGCAGCACTATACCACACCCCCTACT
199	4561	L2	SAS
200	4561	L2	AGTGCATCA
201	4561	CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
202	4561	CL	CGAACTGTGGCCGCTCCAAGTGTCTTCATTTTTCCACCCAGCGACGAACAGCTGAAATCCGGCACAGC TTCTGTGGTCTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAGGTCGATAACG CTCTGCAGAGTGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACAGAACAGGACTCCAAAGATTCTACTTATAGTCTG TCAAGCACCCTGACACTGAGCAAGGCAGACTACGAAAAGCATAAAGTGTATGCCTGTGAGGTGACCCA TCAGGGGCTGTCTTCTCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGAGGCGAATGT
203	3041	全部	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRF TLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
204	3041	全部	GAAGTGCAGCTGGTCGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCCCTGCGCCTGTCTTGCGC CGCTAGTGGCTTCACTTTTACCGACTACACCATGGATTGGGTGCGACAGGCACCTGGAAAGGGCCTGG AGTGGGTCGCCGATGTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCCATCTACAACCAGCGGTTCAAGGGCCGGTTC ACCCTGTCAGTGGACCGGAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGCGAGCCGAAGATAC TGCTGTGTACTATTGCGCCCGGAATCTGGGGCCCTCCTTCTACTTTGACTATTGGGGGCAGGGAACTC TGGTCACCGTGAGCTCCGCCTCCACCAAGGGACCTTCTGTGTTCCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCC ACATCTGGGGGAACTGCAGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTC TTGGAACAGTGGCGCTCTGACTTCTGGGGTCCACACCTTTCCTGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGT ACAGCCTGTCCTCTGTGGTCACCGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTG AATCACAAGCCATCCAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAACCCAAGTCTTGTGATAAAACCCATAC ATGCCCCCCTTGTCCTGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTA AAGATACACTGATGATTAGTAGGACCCCAGAAGTCACATGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGAC CCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCCAGGGA GGAACAGTACAACAGTACCTATCGCGTCGTGTCAGTCCTGACAGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACG GGAAAGAGTATAAGTGCAAAGTGAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAATTTCCAAG GCAAAAGGACAGCCTAGAGAACCACAGGTGTACGTGCTGCCTCCATCAAGGGATGAGCTGACAAAGAA CCAGGTCAGCCTGCTGTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCTCTGACATTGCTGTGGAGTGGGAAAGTA ATGGCCAGCCTGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCTTTCTG TATAGCAAGCTGACCGTCGACAAATCCCGGTGGCAGCAGGGGAATGTGTTTAGTTGTTCAGTCATGCA CGAGGCACTGCACAACCATTACACCCAGAAGTCACTGTCACTGTCACCAGGG
205	3041	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRF TLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS
206	3041	VH	GAAGTGCAGCTGGTCGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCCCTGCGCCTGTCTTGCGC CGCTAGTGGCTTCACTTTTACCGACTACACCATGGATTGGGTGCGACAGGCACCTGGAAAGGGCCTGG AGTGGGTCGCCGATGTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCCATCTACAACCAGCGGTTCAAGGGCCGGTTC ACCCTGTCAGTGGACCGGAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGCGAGCCGAAGATAC TGCTGTGTACTATTGCGCCCGGAATCTGGGGCCCTCCTTCTACTTTGACTATTGGGGGCAGGGAACTC TGGTCACCGTGAGCTCC
207	3041	H1	GFTFTDYT
208	3041	H1	GGCTTCACTTTTACCGACTACACC
209	3041	H3	ARNLGPSFYFDY
210	3041	H3	GCCCGGAATCTGGGGCCCTCCTTCTACTTTGACTAT
211	3041	H2	VNPNSGGS
212	3041	H2	GTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCC

[0811]

213	3041	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
214	3041	CH1	GCCTCCACCAAGGGACCTTCTGTGTTCCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACATCTGGGGGAACTGC AGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTCTTGGAACAGTGGCGCTC TGACTTCTGGGGTCCACACCTTTCCTGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACAGCCTGTCCTCTGTG GTCACCGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCCAA TACAAAAGTCGACAAGAAAGTG
215	3041	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
216	3041	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGATACACTGATGAT TAGTAGGACCCCAGAAGTCACATGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTA ACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCCAGGGAGGAACAGTACAACAGT ACCTATCGCGTCGTGTCAGTCCTGACAGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGGAAAGAGTATAAGTG CAAAGTGAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAATTTCCAAGGCAAAA
217	3041	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
218	3041	CH3	GGACAGCCTAGAGAACCACAGGTGTACGTGCTGCCTCCATCAAGGGATGAGCTGACAAAGAACCAGGT CAGCCTGCTGTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCTCTGACATTGCTGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCC AGCCTGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCTTTCTGTATAGC AAGCTGACCGTCGACAAATCCCGGTGGCAGCAGGGGAATGTGTTTAGTTGTTCAGTCATGCACGAGGC ACTGCACAACCATTACACCCAGAAGTCACTGTCACTGTCACCAGGG
219	3057	全部	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRF TLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFAL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
220	3057	全部	GAAGTGCAGCTGGTCGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCCCTGCGCCTGTCTTGCGC CGCTAGTGGCTTCACTTTTACCGACTACACCATGGATTGGGTGCGACAGGCACCTGGAAAGGGCCTGG AGTGGGTCGCCGATGTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCCATCTACAACCAGCGGTTCAAGGGCCGGTTC ACCCTGTCAGTGGACCGGAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGCGAGCCGAAGATAC TGCTGTGTACTATTGCGCCCGGAATCTGGGGCCCTCCTTCTACTTTGACTATTGGGGGCAGGGAACTC TGGTCACCGTGAGCTCCGCCTCCACCAAGGGACCTTCTGTGTTCCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCC ACATCTGGGGGAACTGCAGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTC TTGGAACAGTGGCGCTCTGACTTCTGGGGTCCACACCTTTCCTGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGT ACAGCCTGTCCTCTGTGGTCACCGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTG AATCACAAGCCATCCAATACAAAAGTCGACAAGAAAGTGGAACCCAAGTCTTGTGATAAAACCCATAC ATGCCCCCCTTGTCCTGCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTA AAGATACACTGATGATTAGTAGGACCCCAGAAGTCACATGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGAC CCCGAAGTCAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCCAGGGA GGAACAGTACAACAGTACCTATCGCGTCGTGTCAGTCCTGACAGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACG GGAAAGAGTATAAGTGCAAAGTGAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAATTTCCAAG GCAAAAGGACAGCCTAGAGAACCACAGGTGTACGTGTATCCTCCATCAAGGGATGAGCTGACAAAGAA CCAGGTCAGCCTGACTTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCTCTGACATTGCTGTGGAGTGGGAAAGTA ATGGCCAGCCTGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCGCGCTG GTGAGCAAGCTGACCGTCGACAAATCCCGGTGGCAGCAGGGGAATGTGTTTAGTTGTTCAGTCATGCA CGAGGCACTGCACAACCATTACACCCAGAAGTCACTGTCACTGTCACCAGGG
221	3057	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRF TLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS
222	3057	VH	GAAGTGCAGCTGGTCGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCCCTGCGCCTGTCTTGCGC CGCTAGTGGCTTCACTTTTACCGACTACACCATGGATTGGGTGCGACAGGCACCTGGAAAGGGCCTGG

[0812]

			AGTGGGTCGCCGATGTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCCATCTACAACCAGCGGTTCAAGGGCCGGTTC ACCCTGTCAGTGGACCGGAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGCGAGCCGAAGATAC TGCTGTGTACTATTGCGCCCGGAATCTGGGGCCCTCCTTCTACTTTGACTATTGGGGGCAGGGAACTC TGGTCACCGTGAGCTCC
223	3057	H1	GFTFTDYT
224	3057	H1	GGCTTCACTTTTACCGACTACACC
225	3057	H3	ARNLGPSFYFDY
226	3057	H3	GCCCGGAATCTGGGGCCCTCCTTCTACTTTGACTAT
227	3057	H2	VNPNSGGS
228	3057	H2	GTGAACCCAAATAGCGGAGGCTCC
229	3057	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
230	3057	CH1	GCCTCCACCAAGGGACCTTCTGTGTTCCCACTGGCTCCCTCTAGTAAATCCACATCTGGGGGAACTGC AGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTCACAGTGTCTTGGAACAGTGGCGCTC TGACTTCTGGGGTCCACACCTTTCCTGCAGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACAGCCTGTCCTCTGTG GTCACCGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGAACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCATCCAA TACAAAAGTCGACAAGAAAGTG
231	3057	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
232	3057	CH2	GCACCAGAGCTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCTAAAGATACACTGATGAT TAGTAGGACCCCAGAAGTCACATGCGTGGTCGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTTA ACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCCAGGGAGGAACAGTACAACAGT ACCTATCGCGTCGTGTCAGTCCTGACAGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGGAAAGAGTATAAGTG CAAAGTGAGCAATAAGGCTCTGCCCGCACCTATCGAGAAAACAATTTCCAAGGCAAAA
233	3057	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
234	3057	CH3	GGACAGCCTAGAGAACCACAGGTGTACGTGTATCCTCCATCAAGGGATGAGCTGACAAAGAACCAGGT CAGCCTGACTTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCCTCTGACATTGCTGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCC AGCCTGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGCAGCTTCGCGCTGGTGAGC AAGCTGACCGTCGACAAATCCCGGTGGCAGCAGGGGAATGTGTTTAGTTGTTCAGTCATGCACGAGGC ACTGCACAACCATTACACCCAGAAGTCACTGTCACTGTCACCAGGG
235	1011	全部	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFA LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
236	1011	全部	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGATTCAACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGG AGTGGGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTCCGTGAAGGGGAGGTTT ACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACACTGCTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATAC CGCTGTGTACTATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGGGGACAGGGGA CCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCCTCTACCAAGGGCCCCAGTGTGTTTCCCCTGGCTCCTTCTAGTAAA TCCACCTCTGGAGGGACAGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCCGAGCCTGTGACCGT GAGTTGGAACTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGCACACTTTTCCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGC TGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTGACAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAAC GTGAATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATAAGACCCA CACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGC CAAAAGACACTCTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAG GACCCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAG

[0813]

			AGAGGAACAGTACAACTCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCT AAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACGTGTACCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAA GAACCAGGTGTCCCTGACATGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAAT CAAATGGACAGCCAGAGAACAATTACAAGACCACACCTCCAGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCGCC CTGGTGTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTCAGTGAT GCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAA
237	1011	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
238	1011	VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGATTCAACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGG AGTGGGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTCCGTGAAGGGGAGGTTT ACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACACTGCTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATAC CGCTGTGTACTATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGGGGACAGGGGA CCCTGGTGACAGTGAGCTCC
239	1011	H1	GFNIKDTY
240	1011	H1	GGATTCAACATCAAGGACACCTAC
241	1011	H3	SRWGGDGFYAMDY
242	1011	H3	AGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTAT
243	1011	H2	IYPTNGYT
244	1011	H2	ATCTATCCCACTAATGGATACACC
245	1011	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
246	1011	CH1	GCCTCTACCAAGGGCCCCAGTGTGTTTCCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGACAGC CGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCCGAGCCTGTGACCGTGAGTTGGAACTCAGGCGCCC TGACAAGCGGAGTGCACACTTTTCCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCCTCTGTG GTGACAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCATAAGCCCTCAAA TACAAAAGTGGACAAGAAAGTG
247	1011	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
248	1011	CH2	GCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGAT TTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAACTCC ACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTG CAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCTAAGGCCAAA
249	1011	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
250	1011	CH3	GGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACGTGTACCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGACATGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCAGAGAACAATTACAAGACCACACCTCCAGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGTCC AAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAAGC CCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
251	4560	全部	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVL PPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
252	4560	全部	GAACCTAAAAGCAGCGACAAGACCCACACATGCCCCCCTTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACC AAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAAGATACACTGATGATCAGCCGAACTCCCGAGGTCACCT GCGTGGTCGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAA GTGCATAATGCAAAGACTAAACCACGGGAGGAACAGTACAACTCTACATATAGAGTCGTGAGTGTCCT GACTGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTATAAGTGCAAAGTGTCTAATAAGGCCCTGC

[0814]

			CTGCTCCAATCGAGAAAACTATTAGTAAGGCAAAAGGGCAGCCCAGGGAACCTCAGGTCTACGTGCTG CCTCCAAGTCGCGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTCTCACTGCTGTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCC TTCCGATATTGCCGTGGAGTGGGAATCTAATGGCCAGCCAGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTG TGCTGGACAGCGATGGGTCCTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTGGACAAAAGCAGATGGCAGCAG GGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCACGAAGCCCTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCTCTGAG TCTGTCACCTGGCAAA
253	4560	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
254	4560	CH2	GCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAAGATACACTGATGAT CAGCCGAACTCCCGAGGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTCGAAGTGCATAATGCAAAGACTAAACCACGGGAGGAACAGTACAACTCT ACATATAGAGTCGTGAGTGTCCTGACTGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTATAAGTG CAAAGTGTCTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAGAAAACTATTAGTAAGGCAAAA
255	4560	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
256	4560	CH3	GGGCAGCCCAGGGAACCTCAGGTCTACGTGCTGCCTCCAAGTCGCGACGAGCTGACCAAGAACCAGGT CTCACTGCTGTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCTTCCGATATTGCCGTGGAGTGGGAATCTAATGGCC AGCCAGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGGTCCTTCTTTCTGTATTCA AAGCTGACAGTGGACAAAAGCAGATGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCACGAAGC CCTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCTGGC
257	3317	全部	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
258	3317	全部	GACATTCAGATGACCCAGAGCCCTAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTCGGGGACAGGGTGACTATCACCTG CAAGGCTTCACAGGATGTCAGCATTGGCGTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAAGCACCCAAGC TGCTGATCTATAGCGCCTCCTACAGGTATACAGGCGTGCCATCCCGCTTCTCTGGCAGTGGGTCAGGA ACTGACTTTACACTGACTATTTCTAGTCTGCAGCCCGAAGATTTCGCCACATACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCTTATACTTTTGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGATTAAGGGCGGAGGAGGCTCCGGAG GAGGAGGGTCTGGAGGAGGAGGAAGTGAGGTCCAGCTGGTGGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCA GGAGGGTCCCTGAGGCTGTCTTGTGCCGCTAGTGGCTTCACCTTTACAGACTACACAATGGATTGGGT GCGCCAGGCACCAGGAAAGGGACTGGAATGGGTCGCTGATGTGAACCCTAATAGCGGAGGCTCCATCT ACAACCAGCGGTTCAAAGGACGGTTCACCCTGTCAGTGGACCGGAGCAAGAACACCCTGTATCTGCAG ATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGATACTGCTGTGTACTATTGCGCCAGGAATCTGGGCCCAAGCTTCTA CTTTGACTATTGGGGGCAGGGAACACTGGTCACTGTGTCAAGCGCAGCCGAACCCAAATCCTCTGATA AGACTCACACCTGCCCACCTTGTCCAGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCA CCCAAGCCAAAAGACACTCTGATGATTTCTAGAACCCCTGAAGTGACATGTGTGGTCGTGGACGTCAG TCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCAACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACCA AACCCCGAGAGGAACAGTACAACTCAACCTATCGGGTCGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCATCAGGAC TGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGAGCAACAAGGCTCTGCCTGCACCAATCGAGAAGAC CATTTCCAAGGCTAAAGGGCAGCCCCGCGAACCTCAGGTCTACGTGTATCCTCCAAGCCGAGATGAGC TGACAAAAAACCAGGTCTCCCTGACTTGTCTGGTGAAGGGATTTTACCCAAGTGACATCGCAGTGGAG TGGGAATCAAATGGCCAGCCCGAAAACAATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGGAG TTTCGCACTGGTCTCCAAACTGACCGTGGACAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTT CCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACACAGAAATCTCTGAGTCTGTCACCTGGCAAG
259	3317	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK
260	3317	VL	GACATTCAGATGACCCAGAGCCCTAGCTCCCTGAGTGCCTCAGTCGGGGACAGGGTGACTATCACCTG CAAGGCTTCACAGGATGTCAGCATTGGCGTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAAGCACCCAAGC

[0815]

			TGCTGATCTATAGCGCCTCCTACAGGTATACAGGCGTGCCATCCCGCTTCTCTGGCAGTGGGTCAGGA ACTGACTTTACACTGACTATTTCTAGTCTGCAGCCCGAAGATTTCGCCACATACTATTGCCAGCAGTA CTATATCTACCCTTATACTTTTGGCCAGGGGACCAAAGTGGAGATTAAG
261	3317	L1	QDVSIG
262	3317	L1	CAGGATGTCAGCATTGGC
263	3317	L3	QQYYIYPYT
264	3317	L3	CAGCAGTACTATATCTACCCTTATACT
265	3317	L2	SAS
266	3317	L2	AGCGCCTCC
267	3317	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRF TLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS
268	3317	VH	GAGGTCCAGCTGGTGGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGGTCCCTGAGGCTGTCTTGTGC CGCTAGTGGCTTCACCTTTACAGACTACACAATGGATTGGGTGCGCCAGGCACCAGGAAAGGGACTGG AATGGGTCGCTGATGTGAACCCTAATAGCGGAGGCTCCATCTACAACCAGCGGTTCAAAGGACGGTTC ACCCTGTCAGTGGACCGGAGCAAGAACACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGATAC TGCTGTGTACTATTGCGCCAGGAATCTGGGCCCAAGCTTCTACTTTGACTATTGGGGGCAGGGAACAC TGGTCACTGTGTCAAGC
269	3317	H1	GFTFTDYT
270	3317	H1	GGCTTCACCTTTACAGACTACACA
271	3317	H3	ARNLGPSFYFDY
272	3317	H3	GCCAGGAATCTGGGCCCAAGCTTCTACTTTGACTAT
273	3317	H2	VNPNSGGS
274	3317	H2	GTGAACCCTAATAGCGGAGGCTCC
275	3317	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
276	3317	CH2	GCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCAAAAGACACTCTGATGAT TTCTAGAACCCCTGAAGTGACATGTGTGGTCGTGGACGTCAGTCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACCAAACCCCGAGAGGAACAGTACAACTCA ACCTATCGGGTCGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTG CAAAGTGAGCAACAAGGCTCTGCCTGCACCAATCGAGAAGACCATTTCCAAGGCTAAA
277	3317	CH3	GQPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
278	3317	CH3	GGGCAGCCCCGCGAACCTCAGGTCTACGTGTATCCTCCAAGCCGAGATGAGCTGACAAAAAACCAGGT CTCCCTGACTTGTCTGGTGAAGGGATTTTACCCAAGTGACATCGCAGTGGAGTGGGAATCAAATGGCC AGCCCGAAAACAATTATAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGGAGTTTCGCACTGGTCTCC AAACTGACCGTGGACAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCACGAGGC CCTGCACAATCATTACACACAGAAATCTCTGAGTCTGTCACCTGGC
279	1015	全部	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
280	1015	全部	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGATTCAACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGG AGTGGGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTCCGTGAAGGGGAGGTTT ACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACACTGCTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATAC CGCTGTGTACTATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGGGGACAGGGGA CCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCCTCTACCAAGGGCCCCAGTGTGTTTCCCCTGGCTCCTTCTAGTAAA

[0816]

			TCCACCTCTGGAGGGACAGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCCGAGCCTGTGACCGT GAGTTGGAACTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGCACACTTTTCCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGC TGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTGACAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAAC GTGAATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAGAGCTGTGATAAGACCCA CACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGC CAAAAGACACTCTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAG GACCCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAG AGAGGAACAGTACAACTCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCT AAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACGTGCTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAA GAACCAGGTGTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAAT CAAATGGACAGCCAGAGAACAATTACCTGACCTGGCCTCCAGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTC CTGTATTCCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTCAGTGAT GCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAA
281	1015	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
282	1015	VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGAGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGC CGCTTCAGGATTCAACATCAAGGACACCTACATTCACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGG AGTGGGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTCCGTGAAGGGGAGGTTT ACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACACTGCTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATAC CGCTGTGTACTATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGGGGACAGGGGA CCCTGGTGACAGTGAGCTCC
283	1015	H1	GFNIKDTY
284	1015	H1	GGATTCAACATCAAGGACACCTAC
285	1015	H3	SRWGGDGFYAMDY
286	1015	H3	AGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTAT
287	1015	H2	IYPTNGYT
288	1015	H2	ATCTATCCCACTAATGGATACACC
289	1015	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
290	1015	CH1	GCCTCTACCAAGGGCCCCAGTGTGTTTCCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGACAGC CGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCCGAGCCTGTGACCGTGAGTTGGAACTCAGGCGCCC TGACAAGCGGAGTGCACACTTTTCCTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCCTCTGTG GTGACAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGAATCATAAGCCCTCAAA TACAAAAGTGGACAAGAAAGTG
291	1015	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
292	1015	CH2	GCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACTCTGATGAT TTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCA ACTGGTACGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAACTCC ACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTATAAGTG CAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAAAAAACCATCTCTAAGGCCAAA
293	1015	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
294	1015	CH3	GGCCAGCCAAGGGAGCCCCAGGTGTACGTGCTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAAGGCTTCTATCCTAGTGATATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGAC AGCCAGAGAACAATTACCTGACCTGGCCTCCAGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTATTCC AAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTAGTTGTTCAGTGATGCATGAAGC CCTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCCGGC
295	5244	全部	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGG

[0817]

			GLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKN TAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
296	5244	全部	GACATTCAGATGACACAGAGCCCCAGCTCCCTGAGTGCTTCAGTCGGCGACAGGGTGACTATCACCTG CCGCGCATCCCAGGATGTCAACACCGCTGTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCTGGAAAAGCCCCAAAGC TGCTGATCTACAGCGCTTCCTTCCTGTATTCTGGCGTGCCAAGTCGGTTTTCTGGAAGTAGATCAGGC ACTGACTTCACACTGACTATCTCTAGTCTGCAGCCCGAAGATTTTGCCACCTACTATTGCCAGCAGCA CTATACCACACCCCCTACATTCGGACAGGGCACTAAAGTGGAGATTAAGGGCGGGTCAGGCGGAGGGA GCGGAGGAGGGTCCGGAGGAGGGTCTGGAGGAGGGAGTGGAGAGGTCCAGCTGGTGGAATCTGGAGGA GGACTGGTGCAGCCTGGAGGCTCACTGCGACTGAGCTGTGCCGCTTCCGGCTTTAACATCAAAGACAC ATACATTCATTGGGTCAGGCAGGCACCAGGGAAGGGACTGGAATGGGTGGCCCGCATCTATCCCACAA ATGGGTACACTCGATATGCCGACAGCGTGAAAGGACGGTTTACCATTTCTGCTGATACCAGTAAGAAC ACAGCATACCTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCAGAGGATACAGCCGTGTACTATTGCAGTCGATGGGG GGGAGACGGCTTCTACGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGGACTCTGGTCACCGTGTCAAGCGCAGCCG AACCTAAATCCTCTGACAAGACCCACACATGCCCACCCTGTCCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCA TCCGTGTTCCTGTTTCCTCCAAAGCCTAAAGATACACTGATGATTAGCCGCACTCCCGAAGTCACCTG TGTGGTCGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGG TGCATAATGCCAAGACTAAACCAAGAGAGGAACAGTACAATTCAACCTATAGGGTCGTGAGCGTCCTG ACAGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAAGTGTCTAACAAGGCCCTGCC CGCTCCTATCGAGAAGACTATTAGCAAGGCAAAAGGGCAGCCACGGGAACCCCAGGTCTACGTGCTGC CCCCTAGCAGAGACGAGCTGACCAAAAACCAGGTCTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGCTTTTATCCT AGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGGCAGCCAGAAAACAATTACCTGACATGGCCACCCGT GCTGGACAGCGATGGGTCCTTCTTTCTGTATTCCAAACTGACTGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGG GAAACGTCTTCAGCTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCTCTGAGT CTGTCACCCGGC
297	5244	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
298	5244	VL	GACATTCAGATGACACAGAGCCCCAGCTCCCTGAGTGCTTCAGTCGGCGACAGGGTGACTATCACCTG CCGCGCATCCCAGGATGTCAACACCGCTGTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCTGGAAAAGCCCCAAAGC TGCTGATCTACAGCGCTTCCTTCCTGTATTCTGGCGTGCCAAGTCGGTTTTCTGGAAGTAGATCAGGC ACTGACTTCACACTGACTATCTCTAGTCTGCAGCCCGAAGATTTTGCCACCTACTATTGCCAGCAGCA CTATACCACACCCCCTACATTCGGACAGGGCACTAAAGTGGAGATTAAG
299	5244	L1	QDVNTA
300	5244	L1	CAGGATGTCAACACCGCT
301	5244	L3	QQHYTTPPT
302	5244	L3	CAGCAGCACTATACCACACCCCCTACA
303	5244	L2	SAS
304	5244	L2	AGCGCTTCC
305	5244	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
306	5244	VH	GAGGTCCAGCTGGTGGAATCTGGAGGAGGACTGGTGCAGCCTGGAGGCTCACTGCGACTGAGCTGTGC CGCTTCCGGCTTTAACATCAAAGACACATACATTCATTGGGTCAGGCAGGCACCAGGGAAGGGACTGG AATGGGTGGCCCGCATCTATCCCACAAATGGGTACACTCGATATGCCGACAGCGTGAAAGGACGGTTT ACCATTTCTGCTGATACCAGTAAGAACACAGCATACCTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCAGAGGATAC AGCCGTGTACTATTGCAGTCGATGGGGGGGAGACGGCTTCTACGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGGA CTCTGGTCACCGTGTCAAGC
307	5244	H1	GFNIKDTY
308	5244	H1	GGCTTTAACATCAAAGACACATAC

[0818]

309	5244	H3	SRWGGDGFYAMDY
310	5244	H3	AGTCGATGGGGGGGAGACGGCTTCTACGCCATGGATTAT
311	5244	H2	IYPTNGYT
312	5244	H2	ATCTATCCCACAAATGGGTACACT
313	5244	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
314	5244	CH2	GCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCCTGTTTCCTCCAAAGCCTAAAGATACACTGATGAT TAGCCGCACTCCCGAAGTCACCTGTGTGGTCGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTCGAGGTGCATAATGCCAAGACTAAACCAAGAGAGGAACAGTACAATTCA ACCTATAGGGTCGTGAGCGTCCTGACAGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTG CAAAGTGTCTAACAAGGCCCTGCCCGCTCCTATCGAGAAGACTATTAGCAAGGCAAAA
315	5244	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
316	5244	CH3	GGGCAGCCACGGGAACCCCAGGTCTACGTGCTGCCCCCTAGCAGAGACGAGCTGACCAAAAACCAGGT CTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGCTTTTATCCTAGTGATATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGGC AGCCAGAAAACAATTACCTGACATGGCCACCCGTGCTGGACAGCGATGGGTCCTTCTTTCTGTATTCC AAACTGACTGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGAAACGTCTTCAGCTGTTCCGTGATGCACGAGGC CCTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCCGGC
317	-2	全部	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
318	-2	全部	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGGCAAGTCAGGACGTTAACACCGCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGC TCCTGATCTATTCTGCATCCTTTTTGTACAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTCGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGCA TTACACTACCCCACCCACTTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCAT CTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTG AATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTC CCAAGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGA GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
319	-2	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
320	-2	VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGGCAAGTCAGGACGTTAACACCGCTGTAGCTTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGC TCCTGATCTATTCTGCATCCTTTTTGTACAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTCGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGCA TTACACTACCCCACCCACTTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAA
321	-2	L1	QDVNTA
322	-2	L1	CAGGACGTTAACACCGCT
323	-2	L3	QQHYTTPPT
324	-2	L3	CAACAGCATTACACTACCCCACCCACT
325	-2	L2	SAS
326	-2	L2	TCTGCATCC
327	-2	CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
328	-2	CL	CGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGC CTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACG CCCTCCAATCGGGTAACTCCCAAGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTC

[0819]

			AGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
329	4372	全部	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVL PPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
330	4372	全部	GAACCTAAATCCAGCGACAAGACCCACACATGCCCCCCTTGTCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGACC AAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAAGATACACTGATGATCAGCCGAACTCCCGAGGTCACCT GCGTGGTCGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAA GTGCATAATGCAAAGACTAAACCACGGGAGGAACAGTACAACTCTACATATAGAGTCGTGAGTGTCCT GACTGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTATAAGTGCAAAGTGTCTAATAAGGCCCTGC CTGCTCCAATCGAGAAAACTATTAGTAAGGCAAAAGGGCAGCCCAGGGAACCTCAGGTCTACGTGCTG CCTCCAAGTCGCGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTCTCACTGCTGTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCC TTCCGATATTGCCGTGGAGTGGGAATCTAATGGCCAGCCAGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTG TGCTGGACAGCGATGGGTCCTTCTTTCTGTATTCAAAGCTGACAGTGGACAAAAGCAGATGGCAGCAG GGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCACGAAGCCCTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCTCTGAG TCTGTCACCTGGC
331	4372	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
332	4372	CH2	GCTCCAGAACTGCTGGGAGGACCAAGCGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAAGATACACTGATGAT CAGCCGAACTCCCGAGGTCACCTGCGTGGTCGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAAGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTCGAAGTGCATAATGCAAAGACTAAACCACGGGAGGAACAGTACAACTCT ACATATAGAGTCGTGAGTGTCCTGACTGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTATAAGTG CAAAGTGTCTAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAGAAAACTATTAGTAAGGCAAAA
333	4372	CH3	GQPREPQVYVLPPSRDELTKNQVSLLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
334	4372	CH3	GGGCAGCCCAGGGAACCTCAGGTCTACGTGCTGCCTCCAAGTCGCGACGAGCTGACCAAGAACCAGGT CTCACTGCTGTGTCTGGTGAAAGGATTCTATCCTTCCGATATTGCCGTGGAGTGGGAATCTAATGGCC AGCCAGAGAACAATTACCTGACCTGGCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGGTCCTTCTTTCTGTATTCA AAGCTGACAGTGGACAAAAGCAGATGGCAGCAGGGAAACGTCTTTAGCTGTTCCGTGATGCACGAAGC CCTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCTCTGAGTCTGTCACCTGGC

[0820]

SEQ ID NO:	*帕妥珠单抗野生型 CDR*	*序列*
335	CDR-H2	VNPNSGGS
336	CDR-H3	ARNLGPSFYFDY
337	CDR-H1	GFTFTDYT
338	CDR-L2	SAS
339	CDR-L3	QQYYIYPYT
340	CDR-L1	QDVSIG

[0821]

SEQ ID NO:	帕妥珠单抗野生型 CDR	序列
341	CDR-H2	IYPTNGYT
342	CDR-H3	SRWGGDGFYAMDY
343	CDR-H1	GFNIKDTY
344	CDR-L2	SAS
345	CDR-L3	QQHYTTPPT
346	CDR-L1	QDVNTA

[0822] 帕妥珠单抗变体CDR-L3:QQYYIYPAT

[0823] 克隆3382,变体10000(SEQ ID NO:347)

[0824] 帕妥珠单抗变体CDR-H1:GFTFADYT

[0825] 克隆6586,变体10000(SEQ ID NO:348)

序列表

<110> 酵活有限公司

<120> 靶向 HER2 的双特异性抗原结合构建体

<130> 30712-28087/PCT

<140> PCT/CA2014/051140
<141> 2014-11-27

<150> 62/009,125
<151> 2014-06-06

<150> 62/000,908
<151> 2014-05-20

<150> 61/910,026
<151> 2013-11-27

[0001]

<160> 350

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 1

```
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 Asn Ile Lys Asp Thr
            20                  25                  30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
```

[0002]

35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr 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 Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

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

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

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 Asp Glu Leu 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 Lys
    450
```

[0003]

<210> 2
<211> 1350
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 2

```
gaggtgcagc tggtggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg      60
agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct     120
ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat     180
gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgccgata catccaaaaa cactgcttac     240
ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga     300
ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc     360
gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaatc cacctctgga     420
gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt     480
tggaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc     540
gggctgtact ccctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact     600
tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc     660
aagagctgtg ataagaccca cacctgccct ccctgtccag ctccagaact gctgggagga     720
```

cctagcgtgt tcctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780
gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtct cacgaggacc ccgaagtgaa gttcaactgg 840
tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
tccacttatc gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaaaa aaccatctct 1020
aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacacac tgccacccag cagagacgaa 1080
ctgaccaaga accaggtgtc cctgacatgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacaatt acaagaccac acctccagtg 1200
ctggacagcg atggcagctt cttcctgtat tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 3
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0004] <223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 3

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	Asn	Ile	Lys	Asp	Thr
			20					25				30			
Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40				45				
Ala	Arg	Ile	Tyr	Pro	Thr	Asn	Gly	Tyr	Thr	Arg	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55				60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	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	Arg	Trp	Gly	Gly	Asp	Gly	Phe	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
		115					120								

<210> 4
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 4
gaggtgcagc tggtggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60
agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120
ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat 180
gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgccgata catccaaaaa cactgcttac 240
ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300
ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360

<210> 5
<211> 8
<212> PRT
[0005] <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 5
Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
1 5

<210> 6
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 6
ggattcaaca tcaaggacac ctac 24

<210> 7

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 7

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 8

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

[0006] <223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 8

agtcgatggg gaggagacgg attctacgct atggattat 39

<210> 9

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 9

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 10

<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 10
atctatccca ctaatggata cacc 24

<210> 11
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

[0007] <400> 11

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														

<210> 12
<211> 294
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 12

gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaatc cacctctgga 60

gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 120

tggaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 180

gggctgtact ccctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact 240

tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtg 294

<210> 13

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

[0008]

<400> 13

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

<210> 14

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 14

gctccagaac tgctgggagg acctagcgtg ttcctgtttc cccctaagcc aaaagacact 60

ctgatgattt ccaggactcc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgtc tcacgaggac 120

cccgaagtga agttcaactg gtacgtggat ggcgtggaag tgcataatgc taagacaaaa 180

ccaagagagg aacagtacaa ctccacttat cgcgtcgtga gcgtgctgac cgtgctgcac 240

caggactggc tgaacgggaa ggagtataag tgcaaagtca gtaataaggc cctgcctgct 300

ccaatcgaaa aaaccatctc taaggccaaa 330

<210> 15

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

[0009]

<400> 15

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
1 5 10 15

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
100 105

<210> 16

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 16

ggccagccaa gggagcccca ggtgtacaca ctgccaccca gcagagacga actgaccaag 60

aaccaggtgt ccctgacatg tctggtgaaa ggcttctatc ctagtgatat tgctgtggag 120

tgggaatcaa atggacagcc agagaacaat tacaagacca cacctccagt gctggacagc 180

gatggcagct tcttcctgta ttccaagctg acagtggata aatctcgatg gcagcagggg 240

aacgtgttta gttgttcagt gatgcatgaa gccctgcaca atcattacac tcagaagagc 300

ctgtccctgt ctcccggc 318

<210> 17

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列

[0010]

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 17

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 Thr Asp Tyr
20 25 30

Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg 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 Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe 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

[0011]

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 Gly 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

Lys 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 Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser 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 Val

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Leu

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 Leu Thr Trp 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> 18

<211> 1344

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 18

[0012]

gaagtgcagc tggtcgaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cctgcgcctg 60

tcttgcgccg ctagtggctt cacttttacc gactacacca tggattgggt gcgacaggca 120

cctggaaagg gcctggagtg ggtcgccgat gtgaacccaa atagcggagg ctccatctac 180

aaccagcggt tcaagggccg gttcaccctg tcagtggacc ggagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcagatga atagcctgcg agccgaagat actgctgtgt actattgcgc ccggaatctg 300

gggccctcct tctactttga ctattggggg cagggaactc tggtcaccgt gagctccgcc 360

tccaccaagg gaccttctgt gttcccactg gctccctcta gtaaatccac atctgggggа 420

actgcagccc tgggctgtct ggtgaagggc tacttcccag agcccgtcac agtgtcttgg 480

aacagtggcg ctctgacttc tggggtccac acctttcctg cagtgctgaa gtcaagcggg 540

ctgtacagcc tgtcctctgt ggtcaccgtg ccaagttcaa gcctgggaac acagacttat 600

atctgcaacg tgaatcacaa gccatccaat acaaaagtcg acaagaaagt ggaacccaag 660

tcttgtgata aaacccatac atgccccct tgtcctgcac cagagctgct gggaggacca 720

agcgtgttcc tgtttccacc caagcctaaa gatacactga tgattagtag gaccccagaa 780

gtcacatgcg tggtcgtgga cgtgagccac gaggaccccg aagtcaagtt taactggtac 840

gtggacggcg tcgaggtgca taatgccaag actaaaccca gggaggaaca gtacaacagt 900

acctatcgcg tcgtgtcagt cctgacagtg ctgcatcagg attggctgaa cgggaaagag 960

tataagtgca aagtgagcaa taaggctctg cccgcaccta tcgagaaaac aatttccaag 1020

gcaaaaggac agcctagaga accacaggtg tacgtgctgc ctccatcaag ggatgagctg 1080

acaaagaacc aggtcagcct gctgtgtctg gtgaaaggat tctatccctc tgacattgct 1140

gtggagtggg aaagtaatgg ccagcctgag aacaattacc tgacctggcc ccctgtgctg 1200

gactcagatg gcagcttctt tctgtatagc aagctgaccg tcgacaaatc ccggtggcag 1260

caggggaatg tgtttagttg ttcagtcatg cacgaggcac tgcacaacca ttacacccag 1320

aagtcactgt cactgtcacc aggg 1344

<210> 19

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 19

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 Thr Asp Tyr
20 25 30
Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg 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 Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

[0013]

<210> 20

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 20

gaagtgcagc tggtcgaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cctgcgcctg 60
tcttgcgccg ctagtggctt cacttttacc gactacacca tggattgggt gcgacaggca 120
cctggaaagg gcctggagtg ggtcgccgat gtgaacccaa atagcggagg ctccatctac 180
aaccagcggt tcaagggccg gttcaccctg tcagtggacc ggagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcagatga atagcctgcg agccgaagat actgctgtgt actattgcgc ccggaatctg 300

gggccctcct tctactttga ctattggggg cagggaactc tggtcaccgt gagctcc 357

<210> 21

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 21

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr

1 5

<210> 22

<211> 24

<212> DNA

[0014] <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 22

ggcttcactt ttaccgacta cacc 24

<210> 23

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 23

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 24
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 24
gcccggaatc tggggccctc cttctacttt gactat 36

<210> 25
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

[0015]
<400> 25
Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 26
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 26
gtgaacccaa atagcggagg ctcc 24

<210> 27
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 27

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 Gly 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 Lys 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

[0016] <210> 28

<211> 294

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 28

gcctccacca agggaccttc tgtgttccca ctggctccct ctagtaaatc cacatctggg 60
ggaactgcag ccctgggctg tctggtgaag ggctacttcc cagagcccgt cacagtgtct 120
tggaacagtg gcgctctgac ttctggggtc cacacctttc ctgcagtgct gaagtcaagc 180
gggctgtaca gcctgtcctc tgtggtcacc gtgccaagtt caagcctggg aacacagact 240
tatatctgca acgtgaatca caagccatcc aatacaaaag tcgacaagaa agtg 294

<210> 29

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 29

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

[0017]

<210> 30

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 30

gcaccagagc tgctgggagg accaagcgtg ttcctgtttc cacccaagcc taaagataca 60
ctgatgatta gtaggacccc agaagtcaca tgcgtggtcg tggacgtgag ccacgaggac 120
cccgaagtca agtttaactg gtacgtggac ggcgtcgagg tgcataatgc caagactaaa 180
cccagggagg aacagtacaa cagtacctat cgcgtcgtgt cagtcctgac agtgctgcat 240
caggattggc tgaacgggaa agagtataag tgcaaagtga gcaataaggc tctgcccgca 300
cctatcgaga aaacaatttc caaggcaaaa 330

<210> 31

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 31

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

[0018]

<210> 32

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 32

ggacagccta gagaaccaca ggtgtacgtg ctgcctccat caagggatga gctgacaaag 60
aaccaggtca gcctgctgtg tctggtgaaa ggattctatc cctctgacat tgctgtggag 120
tgggaaagta atggccagcc tgagaacaat tacctgacct ggccccctgt gctggactca 180
gatggcagct tctttctgta tagcaagctg accgtcgaca aatcccggtg gcagcagggg 240
aatgtgttta gttgttcagt catgcacgag gcactgcaca accattacac ccagaagtca 300
ctgtcactgt caccaggg 318

<210> 33

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 33

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 Ser Ile Gly
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr 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 Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

[0019]

<210> 34

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 34

gatattcaga tgacccagtc cccaagctcc ctgagtgcct cagtgggcga ccgagtcacc 60

atcacatgca aggcttccca ggatgtgtct attggagtcg catggtacca gcagaagcca 120

ggcaaagcac ccaagctgct gatctatagc gcctcctacc ggtataccgg cgtgccctct 180

agattctctg gcagtgggtc aggaacagac tttactctga ccatctctag tctgcagcct 240

gaggatttcg ctacctacta ttgccagcag tactatatct acccatatac ctttggccag 300

gggacaaaag tggagatcaa gaggactgtg gccgctccct ccgtcttcat ttttccccct 360

tctgacgaac agctgaaaag tggcacagcc agcgtggtct gtctgctgaa caatttctac 420

cctcgcgaag ccaaagtgca gtggaaggtc gataacgctc tgcagagcgg caacagccag 480

gagtctgtga ctgaacagga cagtaaagat tcaacctata gcctgtcaag cacactgact 540

ctgagcaagg cagactacga gaagcacaaa gtgtatgcct gcgaagtcac acatcagggg 600

ctgtcctctc ctgtgactaa gagctttaac agaggagagt gt 642

[0020]

<210> 35

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 35

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 Ser Ile Gly
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr 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 Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 36

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 36

[0021]

gatattcaga tgacccagtc cccaagctcc ctgagtgcct cagtgggcga ccgagtcacc 60

atcacatgca aggcttccca ggatgtgtct attggagtcg catggtacca gcagaagcca 120

ggcaaagcac ccaagctgct gatctatagc gcctcctacc ggtataccgg cgtgccctct 180

agattctctg gcagtgggtc aggaacagac tttactctga ccatctctag tctgcagcct 240

gaggatttcg ctacctacta ttgccagcag tactatatct acccatatac ctttggccag 300

gggacaaaag tggagatcaa g 321

<210> 37

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 37

Gln Asp Val Ser Ile Gly

1 5

<210> 38

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 38
caggatgtgt ctattgga 18

<210> 39
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 39
Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr
1 5

[0022]

<210> 40
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 40
cagcagtact atatctaccc atatacc 27

<210> 41
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 41
Ser Ala Ser
1

<210> 42
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 42
agcgcctcc 9

<210> 43
<211> 107
<212> PRT
[0023] <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 43
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> 44
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 44
aggactgtgg ccgctccctc cgtcttcatt tttccccctt ctgacgaaca gctgaaaagt 60
ggcacagcca gcgtggtctg tctgctgaac aatttctacc ctcgcgaagc caaagtgcag 120
tggaaggtcg ataacgctct gcagagcggc aacagccagg agtctgtgac tgaacaggac 180
agtaaagatt caacctatag cctgtcaagc acactgactc tgagcaaggc agactacgag 240
aagcacaaag tgtatgcctg cgaagtcaca catcaggggc tgtcctctcc tgtgactaag 300
agctttaaca gaggagagtg t 321

[0024]

<210> 45
<211> 222
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 45
Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
1 5 10 15
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
20 25 30
Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
35 40 45
Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
50 55 60
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr
65 70 75 80
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

85 90 95

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
100 105 110

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
115 120 125

Ser Asp Glu Arg Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
130 135 140

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
145 150 155 160

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
165 170 175

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
180 185 190

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
195 200 205

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

[0025]

<210> 46
<211> 666
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 46

gactacaaag acgacgatga caaagatatc cagatgaccc agtcccctag ctccctgtcc 60
gcttctgtgg gcgatagggt cactattacc tgccgcgcat ctcaggacgt gaacaccgca 120
gtcgcctggt accagcagaa gcctgggaaa gctccaaagc tgctgatcta cagtgcatca 180
ttcctgtatt caggagtgcc cagccggttt agcggcagca gatctggcac cgatttcaca 240
ctgactattt ctagtctgca gcctgaggac tttgccacat actattgcca gcagcactat 300
accacacccc ctactttcgg ccaggggacc aaagtggaga tcaagcgaac tgtggccgct 360
ccaagtgtct tcatttttcc acccagcgat gaaagactga agtccggcac agcttctgtg 420
gtctgtctgc tgaacaattt ttaccccaga gaggccaaag tgcagtggaa ggtcgacaac 480
gctctgcaga gtggcaacag ccaggagagc gtgacagaac aggattccaa agactctact 540
tatagtctgt caagcaccct gacactgagc aaggcagact acgaaaagca taaagtgtat 600
gcctgtgagg tcacacatca ggggctgtca tcaccagtca ccaaatcatt caatcggggg 660

gagtgc 666

<210> 47
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 47
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn 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 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
[0026]
Ser Arg 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 Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 48
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 48
gatatccaga tgacccagtc ccctagctcc ctgtccgctt ctgtgggcga tagggtcact 60
attacctgcc gcgcatctca ggacgtgaac accgcagtcg cctggtacca gcagaagcct 120
gggaaagctc caaagctgct gatctacagt gcatcattcc tgtattcagg agtgcccagc 180

cggtttagcg gcagcagatc tggcaccgat ttcacactga ctatttctag tctgcagcct 240

gaggactttg ccacatacta ttgccagcag cactatacca cacccctac tttcggccag 300

gggaccaaag tggagatcaa g 321

<210> 49

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 49

Gln Asp Val Asn Thr Ala

1 5

<210> 50

<211> 18

[0027] <212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 50

caggacgtga acaccgca 18

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 51

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 52
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 52
cagcagcact ataccacacc ccctact 27

<210> 53
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

[0028]

<400> 53
Ser Ala Ser
1

<210> 54
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 54
agtgcatca 9

<210> 55
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 55

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Arg 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

[0029]

<210> 56

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 56

cgaactgtgg ccgctccaag tgtcttcatt tttccaccca gcgatgaaag actgaagtcc 60
ggcacagctt ctgtggtctg tctgctgaac aatttttacc ccagagaggc caaagtgcag 120
tggaaggtcg acaacgctct gcagagtggc aacagccagg agagcgtgac agaacaggat 180
tccaaagact ctacttatag tctgtcaagc accctgacac tgagcaaggc agactacgaa 240
aagcataaag tgtatgcctg tgaggtcaca catcaggggc tgtcatcacc agtcaccaaa 300
tcattcaatc gggggggagtg c 321

<210> 57

<211> 222

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 57

[0030]

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
1 5 10 15
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
20 25 30
Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
35 40 45
Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
50 55 60
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr
65 70 75 80
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
100 105 110
Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
115 120 125
Ser Asp Glu Arg Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
130 135 140
Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
145 150 155 160
Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Lys Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
165 170 175
Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Arg Leu Thr Leu Ser Lys Ala
180 185 190
Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
195 200 205
Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 58

<211> 666

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 58

[0031]

gactacaaag acgacgatga caaagatatc cagatgaccc agtcccctag ctccctgtcc 60
gcttctgtgg gcgatagggt cactattacc tgccgcgcat ctcaggacgt gaacaccgca 120
gtcgcctggt accagcagaa gcctgggaaa gctccaaagc tgctgatcta cagtgcatca 180
ttcctgtatt caggagtgcc cagccggttt agcggcagca gatctggcac cgatttcaca 240
ctgactattt ctagtctgca gcctgaggac tttgccacat actattgcca gcagcactat 300
accacacccc ctactttcgg ccaggggacc aaagtggaga tcaagcgaac tgtggccgct 360
ccaagtgtct tcatttttcc acccagcgat gaaagactga agtccggcac agcttctgtg 420
gtctgtctgc tgaacaattt ttaccccaga gaggccaaag tgcagtggaa ggtcgacaac 480
gctctgcaga gtggcaacag caaggagagc gtgacagaac aggattccaa agactctact 540
tatagtctgt caagcagact gacactgagc aaggcagact acgaaaagca taaagtgtat 600
gcctgtgagg tcacacatca ggggctgtca tcaccagtca ccaaatcatt caatcggggg 660
gagtgc 666

<210> 59

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 59

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn 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 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg 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 Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 60
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 60

[0032]

gatatccaga tgacccagtc ccctagctcc ctgtccgctt ctgtgggcga tagggtcact 60
attacctgcc gcgcatctca ggacgtgaac accgcagtcg cctggtacca gcagaagcct 120
gggaaagctc caaagctgct gatctacagt gcatcattcc tgtattcagg agtgcccagc 180
cggtttagcg gcagcagatc tggcaccgat ttcacactga ctatttctag tctgcagcct 240
gaggactttg ccacatacta ttgccagcag cactatacca cacccctac tttcggccag 300
gggaccaaag tggagatcaa g 321

<210> 61
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 61
Gln Asp Val Asn Thr Ala
1 5

<210> 62
<211> 18
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 62
caggacgtga acaccgca 18

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 63
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

[0033]

<210> 64
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 64
cagcagcact ataccacacc ccctact 27

<210> 65
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 65
Ser Ala Ser
1

<210> 66
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 66
agtgcatca 9

<210> 67
<211> 107
<212> PRT
[0034] <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 67
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Arg 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 Lys Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Arg 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> 68
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 68
cgaactgtgg ccgctccaag tgtcttcatt tttccaccca gcgatgaaag actgaagtcc 60
ggcacagctt ctgtggtctg tctgctgaac aatttttacc ccagagaggc caaagtgcag 120
tggaaggtcg acaacgctct gcagagtggc aacagcaagg agagcgtgac agaacaggat 180
tccaaagact ctacttatag tctgtcaagc agactgacac tgagcaaggc agactacgaa 240
aagcataaag tgtatgcctg tgaggtcaca catcaggggc tgtcatcacc agtcaccaaa 300
tcattcaatc gggggggagtg c 321

[0035]
<210> 69
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 69
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 Ser Ile Gly
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr 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 Tyr Tyr Ile Tyr Pro Ala

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

[0036]

<210> 70

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 70

gatattcaga tgacccagtc cccaagctcc ctgagtgcct cagtgggcga ccgagtcacc 60

atcacatgca aggcttccca ggatgtgtct attggagtcg catggtacca gcagaagcca 120

ggcaaagcac ccaagctgct gatctatagc gcctcctacc ggtataccgg cgtgccctct 180

agattctctg gcagtgggtc aggaacagac tttactctga ccatctctag tctgcagcct 240

gaggatttcg ctacctacta ttgccagcag tactatatct acccagccac ctttggccag 300

gggacaaaag tggagatcaa gaggactgtg gccgctccct ccgtcttcat ttttccccct 360

tctgacgaac agctgaaaag tggcacagcc agcgtggtct gtctgctgaa caatttctac 420

cctcgcgaag ccaaagtgca gtggaaggtc gataacgctc tgcagagcgg caacagccag 480

gagtctgtga ctgaacagga cagtaaagat tcaacctata gcctgtcaag cacactgact 540

ctgagcaagg cagactacga gaagcacaaa gtgtatgcct gcgaagtcac acatcagggg 600

ctgtcctctc ctgtgactaa gagctttaac agaggagagt gt 642

<210> 71
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 71

[0037]

```
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 Ser Ile Gly
            20                  25                  30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr 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 Tyr Tyr Ile Tyr Pro Ala
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 72
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 72

```
gatattcaga tgacccagtc cccaagctcc ctgagtgcct cagtgggcga ccgagtcacc      60
atcacatgca aggcttccca ggatgtgtct attggagtcg catggtacca gcagaagcca     120
ggcaaagcac ccaagctgct gatctatagc gcctcctacc ggtataccgg cgtgccctct     180
```

agattctctg gcagtgggtc aggaacagac tttactctga ccatctctag tctgcagcct 240

gaggatttcg ctacctacta ttgccagcag tactatatct acccagccac ctttggccag 300

gggacaaaag tggagatcaa g 321

<210> 73

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 73

Gln Asp Val Ser Ile Gly

1 5

<210> 74

<211> 18

[0038] <212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 74

caggatgtgt ctattgga 18

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 75

Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Ala Thr

1 5

<210> 76
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 76
cagcagtact atatctaccc agccacc 27

<210> 77
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

[0039]

<400> 77
Ser Ala Ser
1

<210> 78
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 78
agcgcctcc 9

<210> 79
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 79

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

[0040]

<210> 80

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 80

aggactgtgg ccgctccctc cgtcttcatt tttccccctt ctgacgaaca gctgaaaagt 60
ggcacagcca gcgtggtctg tctgctgaac aatttctacc ctcgcgaagc caaagtgcag 120
tggaaggtcg ataacgctct gcagagcggc aacagccagg agtctgtgac tgaacaggac 180
agtaaagatt caacctatag cctgtcaagc acactgactc tgagcaaggc agactacgag 240
aagcacaaag tgtatgcctg cgaagtcaca catcaggggc tgtcctctcc tgtgactaag 300
agctttaaca gaggagagtg t 321

<210> 81

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 81

[0041]

```
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 Asn Ile Lys Asp Thr
            20                  25                  30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr 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 Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140
Leu Gly Cys Glu Val Thr 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 Leu Leu Gly Gly
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
Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu 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
[0042] 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 Ala Leu Val 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> 82
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 82
gaggtgcagc tggtcgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggagggtc actgcgactg 60

[0043]

```
agctgcgcag cttccggctt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt ccgccaggct      120
cctggaaaag gcctggagtg ggtggcacga atctatccaa ctaatggata cacccggtat      180
gccgactccg tgaagggccg gttcaccatt tctgcagata caagtaaaaa cactgcctac      240
ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat acagccgtgt actattgcag ccgatgggga      300
ggcgacggct tctacgctat ggattattgg gggcagggaa ccctggtcac agtgagctcc      360
gcatcaacaa aggggcctag cgtgtttcca ctggcccccc ctagtaaatc cacctctggg      420
ggaacagcag ccctgggatg tgaggtgacc gactacttcc cagagcccgt cactgtgagc      480
tggaactccg gcgccctgac atctggggtc catacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc      540
ggcctgtaca gcctgtcctc tgtggtcact gtgccaagtt caagcctggg gactcagacc      600
tatatctgca acgtgaatca caagccatcc aataccaaag tcgacaagaa agtggaaccc      660
aagtcttgtg ataaaacaca tacttgcccc ccttgtcctg caccagagct gctgggagga      720
ccaagcgtgt tcctgtttcc acccaagcct aaagacaccc tgatgattag taggactcca      780
gaagtcacct gcgtggtcgt ggacgtgagc cacgaggacc ccgaagtcaa gttcaactgg      840
tacgtggatg gcgtcgaggt gcataatgcc aagacaaaac ccagggagga acagtacaac      900
tccacttatc gcgtcgtgtc tgtcctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag      960
gagtataagt gcaaagtgag caataaggct ctgcccgcac ctatcgagaa aacaatttcc     1020
aaggctaaag ggcagcctag agaaccacag gtgtacgtgt accctccatc tagggacgag     1080
ctgaccaaga accaggtcag tctgacatgt ctggtgaaag ggttctatcc cagcgatatc     1140
gcagtggagt gggaatccaa tggacagcct gagaacaatt acaagaccac acccccctgtg     1200
ctggactctg atggaagttt cgccctggtg agtaagctga ccgtcgataa atcacggtgg     1260
cagcagggca acgtgttcag ctgttcagtg atgcacgaag cactgcacaa ccactacacc     1320
cagaaaagcc tgtccctgtc ccccggc                                         1347
```

<210> 83
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 83

```
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 Asn Ile Lys Asp Thr
            20                  25                  30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
```

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr 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 Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 84
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

[0044]
<400> 84
gaggtgcagc tggtcgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggagggtc actgcgactg 60
agctgcgcag cttccggctt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt ccgccaggct 120
cctggaaaag gcctggagtg ggtggcacga atctatccaa ctaatggata cacccggtat 180
gccgactccg tgaagggccg gttcaccatt tctgcagata caagtaaaaa cactgcctac 240
ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat acagccgtgt actattgcag ccgatgggga 300
ggcgacggct tctacgctat ggattattgg gggcagggaa ccctggtcac agtgagctcc 360

<210> 85
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 85
Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
1 5

<210> 86
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 86
ggcttcaaca tcaaggacac ctac 24

<210> 87
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

[0045]

<400> 87
Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 88
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 88
agccgatggg gaggcgacgg cttctacgct atggattat 39

<210> 89
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 89
Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr
1 5

<210> 90
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 90
atctatccaa ctaatggata cacc 24

[0046]

<210> 91
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 91
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 Glu Val Thr 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

<210> 92

<211> 294

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 92

gcatcaacaa aggggcctag cgtgtttcca ctggcccccc ctagtaaatc cacctctggg 60

ggaacagcag ccctgggatg tgaggtgacc gactacttcc cagagcccgt cactgtgagc 120

tggaactccg gcgccctgac atctggggtc catacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 180

ggcctgtaca gcctgtcctc tgtggtcact gtgccaagtt caagcctggg gactcagacc 240

tatatctgca acgtgaatca caagccatcc aataccaaag tcgacaagaa agtg 294

[0047]

<210> 93

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 93

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100 105 110

<210> 94

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 94

[0048]

gcaccagagc tgctgggagg accaagcgtg ttcctgtttc cacccaagcc taaagacacc 60

ctgatgatta gtaggactcc agaagtcacc tgcgtggtcg tggacgtgag ccacgaggac 120

cccgaagtca agttcaactg gtacgtggat ggcgtcgagg tgcataatgc caagacaaaa 180

cccagggagg aacagtacaa ctccacttat cgcgtcgtgt ctgtcctgac cgtgctgcac 240

caggactggc tgaacggcaa ggagtataag tgcaaagtga gcaataaggc tctgcccgca 300

cctatcgaga aaacaatttc caaggctaaa 330

<210> 95

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 95

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp

1 5 10 15

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

50 55 60

Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
100 105

<210> 96
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 96

[0049]

gggcagccta gagaaccaca ggtgtacgtg taccctccat ctagggacga gctgaccaag 60
aaccaggtca gtctgacatg tctggtgaaa gggttctatc ccagcgatat cgcagtggag 120
tgggaatcca atggacagcc tgagaacaat tacaagacca cacccctgt gctggactct 180
gatggaagtt tcgccctggt gagtaagctg accgtcgata aatcacggtg gcagcagggc 240
aacgtgttca gctgttcagt gatgcacgaa gcactgcaca accactacac ccagaaaagc 300
ctgtccctgt cccccggc 318

<210> 97
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<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 Phe Thr Phe Ala Asp Tyr
20 25 30

Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0050]

35 40 45

Gly Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Val Asp Arg 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 Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe 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 Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser 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 Val

340 345 350

Tyr Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu 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 Ala Leu Val 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> 98

<211> 1344

<212> DNA

<213> 人工序列

[0051]

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 98

gaggtgcagc tggtggaatc aggaggggggc ctggtgcagc ccggagggtc tctgcgactg 60

tcatgtgccg cttctgggtt cactttcgca gactacacaa tggattgggt gcgacaggcc 120

cccggaaagg gactggagtg ggtgggcgat gtcaacccta attctggcgg gagtatctac 180

aaccagcggt tcaaggggag attcactttt tcagtggaca gaagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag ggccgaagat accgctgtct actattgcgc tcgcaatctg 300

ggccccagtt tctactttga ctattggggg cagggaaccc tggtgacagt cagctccgct 360

agcactaagg ggccttccgt gtttccactg gctccctcta gtaaatccac ctctggaggc 420

acagctgcac tgggatgtct ggtgaaggat tacttccctg aaccagtcac agtgagttgg 480

aactcagggg ctctgacaag tggagtccat acttttcccg cagtgctgca gtcaagcgga 540

ctgtactccc tgtcctctgt ggtcaccgtg cctagttcaa gcctgggcac ccagacatat 600

atctgcaacg tgaatcacaa gccatcaaat acaaaagtcg acaagaaagt ggagcccaag 660

agctgtgata aaactcatac ctgcccacct tgtccggcgc cagaactgct gggaggacca 720

agcgtgttcc tgtttccacc caagcctaaa gacaccctga tgatttcccg gactcctgag 780

gtcacctgcg tggtcgtgga cgtgtctcac gaggaccccg aagtcaagtt caactggtac 840

gtggatggcg tcgaagtgca taatgccaag accaaacccc gggaggaaca gtacaactct 900

acctatagag tcgtgagtgt cctgacagtg ctgcaccagg actggctgaa tgggaaggag 960
tataagtgta aagtgagcaa caaagccctg cccgccccaa tcgaaaaaac aatctctaaa 1020
gcaaaaggac agcctcgcga accacaggtc tacgtctacc ccccatcaag agatgaactg 1080
acaaaaaatc aggtctctct gacatgcctg gtcaaaggat tctacccttc cgacatcgcc 1140
gtggagtggg aaagtaacgg ccagcccgag aacaattaca agaccacacc ccctgtcctg 1200
gactctgatg ggagtttcgc tctggtgtca aagctgaccg tcgataaaag ccggtggcag 1260
cagggcaatg tgtttagctg ctccgtcatg cacgaagccc tgcacaatca ctacacacag 1320
aagtccctga gcctgagccc tggc 1344

<210> 99
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

[0052]
<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 Phe Thr Phe Ala Asp Tyr
20 25 30
Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Val Asp Arg 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 Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 100
<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 100

gaggtgcagc tggtggaatc aggaggggggc ctggtgcagc ccggagggtc tctgcgactg 60

tcatgtgccg cttctgggtt cactttcgca gactacacaa tggattgggt gcgacaggcc 120

cccggaaagg gactggagtg ggtgggcgat gtcaacccta attctggcgg gagtatctac 180

aaccagcggt tcaaggggag attcactttt tcagtggaca gaagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag ggccgaagat accgctgtct actattgcgc tcgcaatctg 300

ggccccagtt tctactttga ctattggggg cagggaaccc tggtgacagt cagctcc 357

<210> 101

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

[0053]

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 101

Gly Phe Thr Phe Ala Asp Tyr Thr

1 5

<210> 102

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 102

gggttcactt tcgcagacta caca 24

<210> 103

<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 103
Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 104
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

[0054]
<400> 104
gctcgcaatc tgggccccag tttctacttt gactat 36

<210> 105
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 105
Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 106
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 106

gtcaacccta attctggcgg gagt 24

<210> 107

<211> 98

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 107

[0055]

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

<210> 108

<211> 294

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 108

gctagcacta aggggccttc cgtgtttcca ctggctccct ctagtaaatc cacctctgga 60

ggcacagctg cactgggatg tctggtgaag gattacttcc ctgaaccagt cacagtgagt 120

tggaactcag gggctctgac aagtggagtc catacttttc ccgcagtgct gcagtcaagc 180

ggactgtact ccctgtcctc tgtggtcacc gtgcctagtt caagcctggg cacccagaca 240

tatatctgca acgtgaatca caagccatca aatacaaaag tcgacaagaa agtg 294

<210> 109

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 109

[0056]

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

<210> 110

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 110

gcgccagaac tgctgggagg accaagcgtg ttcctgtttc cacccaagcc taaagacacc 60

ctgatgattt cccggactcc tgaggtcacc tgcgtggtcg tggacgtgtc tcacgaggac 120

cccgaagtca agttcaactg gtacgtggat ggcgtcgaag tgcataatgc caagaccaaa 180

ccccgggagg aacagtacaa ctctacctat agagtcgtga gtgtcctgac agtgctgcac 240

caggactggc tgaatgggaa ggagtataag tgtaaagtga gcaacaaagc cctgcccgcc 300

ccaatcgaaa aaacaatctc taaagcaaaa 330

<210> 111

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 111

[0057]

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

<210> 112

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 112

ggacagcctc gcgaaccaca ggtctacgtc tacccccccat caagagatga actgacaaaa 60

aatcaggtct ctctgacatg cctggtcaaa ggattctacc cttccgacat cgccgtggag 120

tgggaaagta acggccagcc cgagaacaat tacaagacca cacccccctgt cctggactct 180

gatgggagtt tcgctctggt gtcaaagctg accgtcgata aaagccggtg gcagcagggc 240

aatgtgttta gctgctccgt catgcacgaa gccctgcaca atcactacac acagaagtcc 300

ctgagcctga gccctggc 318

<210> 113

<211> 226

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

[0058]

<400> 113

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Thr Gly Ser Asp Ile Gln Met
1 5 10 15

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
20 25 30

Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly Val Ala Trp Tyr
35 40 45

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser
50 55 60

Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
65 70 75 80

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
85 90 95

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
115 120 125

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Glu Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
130 135 140

Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
145 150 155 160
Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Glu Glu Ser Val Thr
165 170 175
Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Glu
180 185 190
Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
195 200 205
Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
210 215 220
Glu Cys
225

<210> 114
<211> 678
<212> DNA
<213> 人工序列

[0059]
<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 114
tatccctacg atgtgcctga ctacgctact ggctccgata tccagatgac ccagtctcca 60
agctccctga gtgcatcagt gggggaccga gtcaccatca catgcaaggc ttcccaggat 120
gtgtctattg gagtcgcatg gtaccagcag aagccaggca aagcacccaa gctgctgatc 180
tacagcgcct cctaccggta tactggggtg ccttccagat tctctggcag tgggtcagga 240
accgacttta ctctgaccat ctctagtctg cagcccgagg atttcgccac ctactattgc 300
cagcagtact atatctaccc ttataccttt ggccagggga caaaagtgga gatcaagagg 360
acagtggccg ctccaagtgt cttcattttt ccccccttccg acgaagagct gaaaagtgga 420
actgcttcag tggtctgtct gctgaacaat ttctaccccc gcgaagccaa agtgcagtgg 480
aaggtcgata acgctctgca gagcggcaat tccgaggagt ctgtgacaga acaggacagt 540
aaagattcaa cttatagcct gtcaagcaca ctggagctgt ctaaggcaga ctacgagaag 600
cacaaagtgt atgcctgcga agtcacccat caggggctgt cctctcccgt gacaaagagc 660
tttaacagag gagagtgt 678

<210> 115
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 115

```
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 Ser Ile Gly
            20                  25                  30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr 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 Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

[0060]

<210> 116

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 116

```
gatatccaga tgacccagtc tccaagctcc ctgagtgcat cagtggggga ccgagtcacc      60
atcacatgca aggcttccca ggatgtgtct attggagtcg catggtacca gcagaagcca     120
ggcaaagcac ccaagctgct gatctacagc gcctcctacc ggtatactgg ggtgccttcc     180
agattctctg gcagtgggtc aggaaccgac tttactctga ccatctctag tctgcagccc     240
gaggatttcg ccacctacta ttgccagcag tactatatct acccttatac ctttggccag     300
gggacaaaag tggagatcaa g                                               321
```

<210> 117

<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 117
Gln Asp Val Ser Ile Gly
1 5

<210> 118
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

[0061]
<400> 118
caggatgtgt ctattgga 18

<210> 119
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 119
Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 120
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 120
cagcagtact atatctaccc ttatacc 27

<210> 121
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 121
Ser Ala Ser
1

[0062]
<210> 122
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 122
agcgcctcc 9

<210> 123
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 123

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Glu 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 Glu Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Glu 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> 124
<211> 321
<212> DNA
[0063] <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 124

aggacagtgg ccgctccaag tgtcttcatt tttccccctt ccgacgaaga gctgaaaagt 60
ggaactgctt cagtggtctg tctgctgaac aatttctacc cccgcgaagc caaagtgcag 120
tggaaggtcg ataacgctct gcagagcggc aattccgagg agtctgtgac agaacaggac 180
agtaaagatt caacttatag cctgtcaagc acactggagc tgtctaaggc agactacgag 240
aagcacaaag tgtatgcctg cgaagtcacc catcaggggc tgtcctctcc cgtgacaaag 300
agctttaaca gaggagagtg t 321

<210> 125
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 125

[0064]

```
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 Asn Ile Lys Asp Thr
            20                  25                  30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr 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 Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
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

Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu 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 Ala Leu Val 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

[0065] Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly Lys

450

<210> 126

<211> 1350

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 126

gaagtccagc tggtcgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggagggtc tctgcgactg 60

agttgcgccg cttcaggctt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgccaggct 120

cctggaaaag gcctggagtg ggtggcacga atctatccaa ctaatggata cacccggtat 180

gcagacagcg tgaagggccg gttcaccatt agcgcagata catccaaaaa cactgcctac 240

ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat actgctgtgt actattgcag tcggtgggga 300

```
ggcgacggct tctacgctat ggattattgg gggcagggaa ccctggtcac agtgagctcc      360
gcatctacaa aggggcctag tgtgtttcca ctggcccccc ctagtaaatc cacctctggg      420
ggaacagcag ccctgggatg tctggtgaag gactatttcc cagagcccgt cactgtgagt      480
tggaactcag gcgccctgac atccggggtc catacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc      540
ggcctgtact ctctgtcctc tgtggtcacc gtgccaagtt caagcctggg gactcagacc      600
tatatctgca acgtgaatca caagccaagc aatacaaaag tcgacaagaa agtggaaccc      660
aagagctgtg ataaaacaca tacttgcccc ccttgtcctg caccagagct gctgggagga      720
ccatccgtgt tcctgtttcc acccaagcct aaagacaccc tgatgatttc caggactcca      780
gaagtcacct gcgtggtcgt ggacgtgtct cacgaggacc ccgaagtcaa gttcaactgg      840
tacgtggatg gcgtcgaggt gcataatgcc aagacaaaac ccagggagga acagtacaac      900
tcaacttatc gcgtcgtgag cgtcctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag      960
gagtataagt gcaaagtgag caataaggct ctgcccgcac ctatcgagaa aaccattagc     1020
aaggccaaag ggcagcctag agaaccacag gtctacgtgt atcctccaag cagggacgag     1080
ctgaccaaga accaggtctc cctgacatgt ctggtgaaag ggttttaccc cagtgatatc     1140
gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcct gaaaacaatt ataagaccac acccccctgtg     1200
ctggacagcg atggcagctt cgctctggtc tccaagctga ctgtggataa atctcggtgg     1260
cagcagggca acgtctttag ttgttcagtg atgcatgagg cactgcacaa tcattacacc     1320
cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa                                      1350
```

[0066]

<210> 127
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 127

```
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 Asn Ile Lys Asp Thr
            20                  25                  30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr 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 Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 128
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 128

[0067]

gaagtccagc tggtcgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggagggtc tctgcgactg 60
agttgcgccg cttcaggctt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgccaggct 120
cctggaaaag gcctggagtg ggtggcacga atctatccaa ctaatggata cacccggtat 180
gcagacagcg tgaagggccg gttcaccatt agcgcagata catccaaaaa cactgcctac 240
ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat actgctgtgt actattgcag tcggtgggga 300
ggcgacggct tctacgctat ggattattgg gggcagggaa ccctggtcac agtgagctcc 360

<210> 129
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 129
Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
1 5

<210> 130
<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 130

ggcttcaaca tcaaggacac ctac 24

<210> 131

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

[0068] <400> 131

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 132

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 132

agtcggtggg gaggcgacgg cttctacgct atggattat 39

<210> 133

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 133
Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr
1 5

<210> 134
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 134
atctatccaa ctaatggata cacc 24

[0069]

<210> 135
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 135
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

<210> 136
<211> 294
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 136
gcatctacaa aggggcctag tgtgtttcca ctggcccccc ctagtaaatc cacctctggg 60
ggaacagcag ccctgggatg tctggtgaag gactatttcc cagagcccgt cactgtgagt 120
tggaactcag gcgccctgac atccggggtc catacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 180
ggcctgtact ctctgtcctc tgtggtcacc gtgccaagtt caagcctggg gactcagacc 240
tatatctgca acgtgaatca caagccaagc aatacaaaag tcgacaagaa agtg 294

[0070]
<210> 137
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 137
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100 105 110

<210> 138

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 138

gcaccagagc tgctgggagg accatccgtg ttcctgtttc cacccaagcc taaagacacc 60

ctgatgattt ccaggactcc agaagtcacc tgcgtggtcg tggacgtgtc tcacgaggac 120

cccgaagtca agttcaactg gtacgtggat ggcgtcgagg tgcataatgc caagacaaaa 180

cccagggagg aacagtacaa ctcaacttat cgcgtcgtga gcgtcctgac cgtgctgcac 240

caggactggc tgaacggcaa ggagtataag tgcaaagtga gcaataaggc tctgcccgca 300

cctatcgaga aaaccattag caaggccaaa 330

[0071]

<210> 139

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 139

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp

1 5 10 15

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

50 55 60

Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

100 105

<210> 140

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 140

[0072]

gggcagccta gagaaccaca ggtctacgtg tatcctccaa gcagggacga gctgaccaag 60

aaccaggtct ccctgacatg tctggtgaaa gggttttacc ccagtgatat cgctgtggag 120

tgggaatcaa atggacagcc tgaaaacaat tataagacca cacccctgt gctggacagc 180

gatggcagct tcgctctggt ctccaagctg actgtggata aatctcggtg gcagcagggc 240

aacgtcttta gttgttcagt gatgcatgag gcactgcaca atcattacac ccagaagagc 300

ctgtccctgt ctcccggc 318

<210> 141

<211> 232

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 141

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
130 135 140
Lys Asn Gln Val Ser Leu Ile Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Arg Tyr
165 170 175
Met Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205
[0073]
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 142
<211> 696
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 142
gagcccaaga gcagcgataa gacccacacc tgccctccct gtccagctcc agaactgctg 60
ggaggaccta gcgtgttcct gtttcccccc aagccaaaag acactctgat gatttccagg 120
actcccgagg tgacctgcgt ggtggtggac gtgtctcacg aggaccccga agtgaagttc 180
aactggtacg tggatggcgt ggaagtgcat aatgctaaga caaaaccaag agaggaacag 240
tacaactcca cttatcgcgt cgtgagcgtg ctgaccgtgc tgcaccagga ctggctgaac 300

gggaaggagt ataagtgcaa agtcagtaat aaggccctgc ctgctccaat cgaaaaaacc 360
atctctaagg ccaaaggcca gccaagggag ccccaggtgt acacactgcc acccagcaga 420
gacgaactga ccaagaacca ggtgtccctg atctgtctgg tgaaaggctt ctatcctagt 480
gatattgctg tggagtggga atcaaatgga cagccagaga acagatacat gacctggcct 540
ccagtgctgg acagcgatgg cagcttcttc ctgtattcca agctgacagt ggataaatct 600
cgatggcagc aggggaacgt gtttagttgt tcagtgatgc atgaagccct gcacaatcat 660
tacactcaga agagcctgtc cctgtctccc ggcaaa 696

<210> 143
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 143
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

[0074]

<210> 144
<211> 330
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 144

gctccagaac tgctgggagg acctagcgtg ttcctgtttc cccctaagcc aaaagacact 60

ctgatgattt ccaggactcc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgtc tcacgaggac 120

cccgaagtga agttcaactg gtacgtggat ggcgtggaag tgcataatgc taagacaaaa 180

ccaagagagg aacagtacaa ctccacttat cgcgtcgtga gcgtgctgac cgtgctgcac 240

caggactggc tgaacgggaa ggagtataag tgcaaagtca gtaataaggc cctgcctgct 300

ccaatcgaaa aaaccatctc taaggccaaa 330

<210> 145

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

[0075]

<400> 145

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
1 5 10 15

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ile Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Arg Tyr Met Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
100 105

<210> 146

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 146

ggccagccaa gggagcccca ggtgtacaca ctgccaccca gcagagacga actgaccaag 60

aaccaggtgt ccctgatctg tctggtgaaa ggcttctatc ctagtgatat tgctgtggag 120

tgggaatcaa atggacagcc agagaacaga tacatgacct ggcctccagt gctggacagc 180

gatggcagct tcttcctgta ttccaagctg acagtggata aatctcgatg gcagcagggg 240

aacgtgttta gttgttcagt gatgcatgaa gccctgcaca atcattacac tcagaagagc 300

ctgtccctgt ctcccggc 318

<210> 147

<211> 481

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

[0076]

<400> 147

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn 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 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg 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 Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Glu
115 120 125

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser

[0077]

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

435 440 445

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

450 455 460

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

465 470 475 480

Lys

<210> 148

<211> 1443

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 148

[0078]

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggacgttaac accgctgtag cttggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctattct gcatcctttt tgtacagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtcgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag cattacacta ccccacccac tttcggccaa 300

gggaccaaag tggagatcaa aggtggttct ggtggtggtt ctggtggtgg ttctggtggt 360

ggttctggtg gtggttctgg tgaagtgcag ctggtggagt ctgggggagg cttggtacag 420

cctggcgggt ccctgagact ctcctgtgca gcctctggat tcaacattaa agatacttat 480

atccactggg tccggcaagc tccagggaag ggcctggagt gggtcgcacg tatttatccc 540

acaaatggtt acacacggta tgcggactct gtgaagggcc gattcaccat ctccgcagac 600

acttccaaga acaccgcgta tctgcaaatg aacagtctga gagctgagga cacggccgtt 660

tattactgtt caagatgggg cggagacggt ttctacgcta tggactactg gggccaaggg 720

accctggtca ccgtctcctc agccgccgag cccaagagca gcgataagac ccacacctgc 780

cctccctgtc cagctccaga actgctggga ggacctagcg tgttcctgtt tcccccctaag 840

ccaaaagaca ctctgatgat ttccaggact cccgaggtga cctgcgtggt ggtggacgtg 900

tctcacgagg accccgaagt gaagttcaac tggtacgtgg atggcgtgga agtgcataat 960

gctaagacaa aaccaagaga ggaacagtac aactccactt atcgcgtcgt gagcgtgctg 1020

accgtgctgc accaggactg gctgaacggg aaggagtata agtgcaaagt cagtaataag 1080

gccctgcctg ctccaatcga aaaaaccatc tctaaggcca aaggccagcc aagggagccc 1140

caggtgtaca catacccacc cagcagagac gaactgacca agaaccaggt gtccctgaca 1200

tgtctggtga aaggcttcta tcctagtgat attgctgtgg agtgggaatc aaatggacag 1260

ccagagaaca attacaagac cacacctcca gtgctggacg aggatggcag cttcgccctg 1320

gtgtccaagc tgacagtgga taaatctcga tggcagcagg ggaacgtgtt tagttgttca 1380
gtgatgcatg aagccctgca caatcattac actcagaaga gcctgtccct gtctcccggc 1440
aaa 1443

<210> 149
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 149
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn 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 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Arg 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 Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

[0079]

<210> 150
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 150
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggacgttaac accgctgtag cttggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctattct gcatcctttt tgtacagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtcgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag cattacacta ccccacccac tttcggccaa 300
gggaccaaag tggagatcaa a 321

<210> 151
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 151
Gln Asp Val Asn Thr Ala
1 5

[0080]
<210> 152
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 152
caggacgtta acaccgct 18

<210> 153
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 153

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 154
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 154
caacagcatt acactacccc acccact 27

<210> 155
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

[0081]

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 155
Ser Ala Ser
1

<210> 156
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 156
tctgcatcc 9

<210> 157

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 157

[0082]

```
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 Asn Ile Lys Asp Thr
            20                  25                  30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr 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 Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 158

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 158

```
gaagtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcgggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt caacattaaa gatacttata tccactgggt ccggcaagct     120
ccagggaagg gcctggagtg ggtcgcacgt atttatccca caaatggtta cacacggtat     180
```

gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccgcagaca cttccaagaa caccgcgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgttt attactgttc aagatggggc 300

ggagacggtt tctacgctat ggactactgg ggccaaggga ccctggtcac cgtctcctca 360

<210> 159

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 159

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 160

<211> 24

<212> DNA

[0083]

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 160

ggattcaaca ttaaagatac ttat 24

<210> 161

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 161

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 162
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 162
tcaagatggg gcggagacgg tttctacgct atggactac 39

<210> 163
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

[0084]

<400> 163
Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr
1 5

<210> 164
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 164
atttatccca caaatggtta caca 24

<210> 165
<211> 110
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 165

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

[0085]

<210> 166

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 166

gctccagaac tgctgggagg acctagcgtg ttcctgtttc cccctaagcc aaaagacact 60
ctgatgattt ccaggactcc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgtc tcacgaggac 120
cccgaagtga agttcaactg gtacgtggat ggcgtggaag tgcataatgc taagacaaaa 180
ccaagagagg aacagtacaa ctccacttat cgcgtcgtga gcgtgctgac cgtgctgcac 240
caggactggc tgaacgggaa ggagtataag tgcaaagtca gtaataaggc cctgcctgct 300
ccaatcgaaa aaaccatctc taaggccaaa 330

<210> 167

<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 167

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

[0086]

<210> 168
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 168

```
ggccagccaa gggagcccca ggtgtacaca tacccaccca gcagagacga actgaccaag      60
aaccaggtgt ccctgacatg tctggtgaaa ggcttctatc ctagtgatat tgctgtggag     120
tgggaatcaa atggacagcc agagaacaat tacaagacca cacctccagt gctggacgag     180
gatggcagct tcgccctggt gtccaagctg acagtggata aatctcgatg gcagcagggg     240
aacgtgttta gttgttcagt gatgcatgaa gccctgcaca atcattacac tcagaagagc     300
ctgtccctgt ctcccggc                                                  318
```

<210> 169

<211> 481

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 169

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn 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 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0087] 65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Glu
115 120 125
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
130 135 140
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
145 150 155 160
Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
165 170 175
Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
180 185 190
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
195 200 205
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
210 215 220

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

[0088]

<210> 170
<211> 1443
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 170

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggacgttaac accgctgtag cttggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctattct gcatcctttt tgtacagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtcgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag cattacacta ccccacccac tttcggccaa 300

gggaccaaag tggagatcaa aggtggttct ggtggtggtt ctggtggtgg ttctggtggt 360

ggttctggtg gtggttctgg tgaagtgcag ctggtggagt ctgggggagg cttggtacag 420

cctggcgggt ccctgagact ctcctgtgca gcctctggat tcaacattaa agatacttat 480

atccactggg tccggcaagc tccagggaag ggcctggagt gggtcgcacg tatttatccc 540

acaaatggtt acacacggta tgcggactct gtgaagggcc gattcaccat ctccgcagac 600

acttccaaga acaccgcgta tctgcaaatg aacagtctga gagctgagga cacggccgtt 660

tattactgtt caagatgggg cggagacggt ttctacgcta tggactactg gggccaaggg 720

accctggtca ccgtctcctc agccgccgag cccaagagca gcgataagac ccacacctgc 780

cctccctgtc cagctccaga actgctggga ggacctagcg tgttcctgtt tccccctaag 840

[0089] ccaaaagaca ctctgatgat ttccaggact cccgaggtga cctgcgtggt ggtggacgtg 900

tctcacgagg accccgaagt gaagttcaac tggtacgtgg atggcgtgga agtgcataat 960

gctaagacaa aaccaagaga ggaacagtac aactccactt atcgcgtcgt gagcgtgctg 1020

accgtgctgc accaggactg gctgaacggg aaggagtata agtgcaaagt cagtaataag 1080

gccctgcctg ctccaatcga aaaaaccatc tctaaggcca aaggccagcc aagggagccc 1140

caggtgtaca cactgccacc cagcagagac gaactgacca agaaccaggt gtccctgatc 1200

tgtctggtga aaggcttcta tcctagtgat attgctgtgg agtgggaatc aaatggacag 1260

ccagagaaca gatacatgac ctggcctcca gtgctggaca gcgatggcag cttcttcctg 1320

tattccaagc tgacagtgga taaatctcga tggcagcagg ggaacgtgtt tagttgttca 1380

gtgatgcatg aagccctgca caatcattac actcagaaga gcctgtccct gtctcccggc 1440

aaa 1443

<210> 171

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 171

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn 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 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Arg 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 Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

[0090]

<210> 172
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 172

```
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca ggacgttaac accgctgtag cttggtatca gcagaaacca     120
gggaaagccc ctaagctcct gatctattct gcatcctttt tgtacagtgg ggtcccatca     180
aggttcagtg gcagtcgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct     240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag cattacacta ccccacccac tttcggccaa     300
gggaccaaag tggagatcaa a                                               321
```

<210> 173
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 173
Gln Asp Val Asn Thr Ala
1 5

<210> 174
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 174
caggacgtta acaccgct 18

[0091] <210> 175
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 175
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 176
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 176
caacagcatt acactacccc acccact 27

<210> 177
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 177
Ser Ala Ser
1

<210> 178
<211> 9
<212> DNA
[0092] <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 178
tctgcatcc 9

<210> 179
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 179
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 Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr 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 Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 180
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

[0093]

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 180
gaagtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcgggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caacattaaa gatacttata tccactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtcgcacgt atttatccca caaatggtta cacacggtat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccgcagaca cttccaagaa caccgcgtat 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgttt attactgttc aagatggggc 300
ggagacggtt tctacgctat ggactactgg ggccaaggga ccctggtcac cgtctcctca 360

<210> 181
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 181
Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
1 5

<210> 182
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 182
ggattcaaca ttaaagatac ttat 24

<210> 183
<211> 13
<212> PRT
[0094] <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 183
Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 184
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 184
tcaagatggg gcggagacgg tttctacgct atggactac 39

<210> 185
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 185
Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr
1 5

<210> 186
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
[0095] <223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 186
atttatccca caaatggtta caca 24

<210> 187
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 187
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100 105 110

<210> 188

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

[0096]

<400> 188

gctccagaac tgctgggagg acctagcgtg ttcctgtttc cccctaagcc aaaagacact 60

ctgatgattt ccaggactcc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgtc tcacgaggac 120

cccgaagtga agttcaactg gtacgtggat ggcgtggaag tgcataatgc taagacaaaa 180

ccaagagagg aacagtacaa ctccacttat cgcgtcgtga gcgtgctgac cgtgctgcac 240

caggactggc tgaacgggaa ggagtataag tgcaaagtca gtaataaggc cctgcctgct 300

ccaatcgaaa aaaccatctc taaggccaaa 330

<210> 189

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 189

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp

1 5 10 15

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ile Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

Asn Arg Tyr Met Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

100 105

<210> 190

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

[0097]

<400> 190

ggccagccaa gggagcccca ggtgtacaca ctgccaccca gcagagacga actgaccaag 60

aaccaggtgt ccctgatctg tctggtgaaa ggcttctatc ctagtgatat tgctgtggag 120

tgggaatcaa atggacagcc agagaacaga tacatgacct ggcctccagt gctggacagc 180

gatggcagct tcttcctgta ttccaagctg acagtggata aatctcgatg gcagcagggg 240

aacgtgttta gttgttcagt gatgcatgaa gccctgcaca atcattacac tcagaagagc 300

ctgtccctgt ctcccggc 318

<210> 191

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 191

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

1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn 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 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Arg 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 Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

[0098]

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> 192
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 192
gatattcaga tgacccagtc ccctagctcc ctgtccgctt ctgtgggcga cagggtcact 60

atcacctgcc gcgcatctca ggatgtgaac accgcagtcg cctggtacca gcagaagcct 120
gggaaagctc caaagctgct gatctacagt gcatcattcc tgtattcagg agtgcccagc 180
cggtttagcg gcagcagatc tggcaccgac ttcacactga ctatctctag tctgcagcct 240
gaggattttg ccacatacta ttgccagcag cactatacca cacccctac tttcggccag 300
gggaccaaag tggagatcaa gcgaactgtg gccgctccaa gtgtcttcat ttttccaccc 360
agcgacgaac agctgaaatc cggcacagct tctgtggtct gtctgctgaa caacttctac 420
cccagagagg ccaaagtgca gtggaaggtc gataacgctc tgcagagtgg caacagccag 480
gagagcgtga cagaacagga ctccaaagat tctacttata gtctgtcaag caccctgaca 540
ctgagcaagg cagactacga aaagcataaa gtgtatgcct gtgaggtgac ccatcagggg 600
ctgtcttctc ccgtgaccaa gtctttcaac cgaggcgaat gt 642

<210> 193
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

[0099]

<400> 193

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10					15		
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Asn	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	Ser	Ala	Ser	Phe	Leu	Tyr	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Arg	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	Pro
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys					
			100					105							

<210> 194
<211> 321
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 194
gatattcaga tgacccagtc ccctagctcc ctgtccgctt ctgtgggcga cagggtcact 60
atcacctgcc gcgcatctca ggatgtgaac accgcagtcg cctggtacca gcagaagcct 120
gggaaagctc caaagctgct gatctacagt gcatcattcc tgtattcagg agtgcccagc 180
cggtttagcg gcagcagatc tggcaccgac ttcacactga ctatctctag tctgcagcct 240
gaggattttg ccacatacta ttgccagcag cactatacca cacccctac tttcggccag 300
gggaccaaag tggagatcaa g 321

<210> 195
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

[0100]
<220>
<223> 人工序列说明: 合成肽

<400> 195
Gln Asp Val Asn Thr Ala
1 5

<210> 196
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 196
caggatgtga acaccgca 18

<210> 197
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 197
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 198
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

[0101] <400> 198
cagcagcact ataccacacc ccctact 27

<210> 199
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 199
Ser Ala Ser
1

<210> 200
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 200

agtgcatca 9

<210> 201

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 201

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

[0102] 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> 202

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 202

cgaactgtgg ccgctccaag tgtcttcatt tttccaccca gcgacgaaca gctgaaatcc 60

ggcacagctt ctgtggtctg tctgctgaac aacttctacc ccagagaggc caaagtgcag 120

tggaaggtcg ataacgctct gcagagtggc aacagccagg agagcgtgac agaacaggac 180

tccaaagatt ctacttatag tctgtcaagc accctgacac tgagcaaggc agactacgaa 240

aagcataaag tgtatgcctg tgaggtgacc catcaggggc tgtcttctcc cgtgaccaag 300

tctttcaacc gaggcgaatg t 321

<210> 203

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

[0103]

<400> 203

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 Thr Asp Tyr
20 25 30

Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg 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 Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe 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 Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser 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
[0104] 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 Val
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Leu
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 Leu Thr Trp 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> 204

<211> 1344

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 204

[0105]

gaagtgcagc tggtcgaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cctgcgcctg 60
tcttgcgccg ctagtggctt cacttttacc gactacacca tggattgggt gcgacaggca 120
cctggaaagg gcctggagtg ggtcgccgat gtgaacccaa atagcggagg ctccatctac 180
aaccagcggt tcaagggccg gttcaccctg tcagtggacc ggagcaaaaa caccctgtat 240
ctgcagatga atagcctgcg agccgaagat actgctgtgt actattgcgc ccggaatctg 300
gggccctcct tctactttga ctattggggg cagggaactc tggtcaccgt gagctccgcc 360
tccaccaagg gaccttctgt gttcccactg gctccctcta gtaaatccac atctgggggа 420
actgcagccc tgggctgtct ggtgaaggac tacttcccag agcccgtcac agtgtcttgg 480
aacagtggcg ctctgacttc tggggtccac acctttcctg cagtgctgca gtcaagcggg 540
ctgtacagcc tgtcctctgt ggtcaccgtg ccaagttcaa gcctgggaac acagacttat 600
atctgcaacg tgaatcacaa gccatccaat acaaaagtcg acaagaaagt ggaacccaag 660
tcttgtgata aaacccatac atgccccct tgtcctgcac cagagctgct gggaggacca 720
agcgtgttcc tgtttccacc caagcctaaa gatacactga tgattagtag gaccccagaa 780
gtcacatgcg tggtcgtgga cgtgagccac gaggaccccg aagtcaagtt taactggtac 840
gtggacggcg tcgaggtgca taatgccaag actaaaccca gggaggaaca gtacaacagt 900
acctatcgcg tcgtgtcagt cctgacagtg ctgcatcagg attggctgaa cgggaaagag 960
tataagtgca aagtgagcaa taaggctctg cccgcaccta tcgagaaaac aatttccaag 1020
gcaaaaggac agcctagaga accacaggtg tacgtgctgc ctccatcaag ggatgagctg 1080
acaaagaacc aggtcagcct gctgtgtctg gtgaaaggat tctatccctc tgacattgct 1140
gtggagtggg aaagtaatgg ccagcctgag aacaattacc tgacctggcc ccctgtgctg 1200
gactcagatg gcagcttctt tctgtatagc aagctgaccg tcgacaaatc ccggtggcag 1260
caggggaatg tgtttagttg ttcagtcatg cacgaggcac tgcacaacca ttacacccag 1320
aagtcactgt cactgtcacc aggg 1344

<210> 205

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 205

```
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 Thr Asp Tyr
            20                  25                  30
Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg 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 Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

[0106]

<210> 206

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 206

```
gaagtgcagc tggtcgaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cctgcgcctg      60
tcttgcgccg ctagtggctt cacttttacc gactacacca tggattgggt gcgacaggca     120
cctggaaagg gcctggagtg ggtcgccgat gtgaacccaa atagcggagg ctccatctac     180
aaccagcggt tcaagggccg gttcaccctg tcagtggacc ggagcaaaaa caccctgtat     240
ctgcagatga atagcctgcg agccgaagat actgctgtgt actattgcgc ccggaatctg     300
gggccctcct tctactttga ctattggggg cagggaactc tggtcaccgt gagctcc        357
```

<210> 207

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 207
Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr
1 5

<210> 208
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明: 合成寡核苷酸

[0107]
<400> 208
ggcttcactt ttaccgacta cacc 24

<210> 209
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 209
Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 210
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 210

gcccggaatc tggggccctc cttctacttt gactat 36

<210> 211

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 211

Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser

1 5

[0108]

<210> 212

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 212

gtgaacccaa atagcggagg ctcc 24

<210> 213

<211> 98

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 213

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

<210> 214
<211> 294
<212> DNA
[0109] <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 214
gcctccacca agggaccttc tgtgttccca ctggctccct ctagtaaatc cacatctggg 60
ggaactgcag ccctgggctg tctggtgaag gactacttcc cagagcccgt cacagtgtct 120
tggaacagtg gcgctctgac ttctggggtc cacacctttc ctgcagtgct gcagtcaagc 180
gggctgtaca gcctgtcctc tgtggtcacc gtgccaagtt caagcctggg aacacagact 240
tatatctgca acgtgaatca caagccatcc aatacaaaag tcgacaagaa agtg 294

<210> 215
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 215

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

<210> 216
<211> 330
<212> DNA
[0110] <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 216

gcaccagagc tgctgggagg accaagcgtg ttcctgtttc cacccaagcc taaagataca 60
ctgatgatta gtaggacccc agaagtcaca tgcgtggtcg tggacgtgag ccacgaggac 120
cccgaagtca agtttaactg gtacgtggac ggcgtcgagg tgcataatgc caagactaaa 180
cccagggagg aacagtacaa cagtacctat cgcgtcgtgt cagtcctgac agtgctgcat 240
caggattggc tgaacgggaa agagtataag tgcaaagtga gcaataaggc tctgcccgca 300
cctatcgaga aaacaatttc caaggcaaaa 330

<210> 217
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 217

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

[0111]

<210> 218
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 218

```
ggacagccta gagaaccaca ggtgtacgtg ctgcctccat caagggatga gctgacaaag      60
aaccaggtca gcctgctgtg tctggtgaaa ggattctatc cctctgacat tgctgtggag     120
tgggaaagta atggccagcc tgagaacaat tacctgacct ggccccctgt gctggactca     180
gatggcagct tctttctgta tagcaagctg accgtcgaca aatcccggtg gcagcagggg     240
aatgtgttta gttgttcagt catgcacgag gcactgcaca accattacac ccagaagtca     300
ctgtcactgt caccaggg                                                   318
```

<210> 219
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 219

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 Thr Asp Tyr
20 25 30
Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg 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 Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

[0112] 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 Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

[0113]

```
            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 Val
            340                 345                 350
Tyr Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu 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 Ala Leu Val 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> 220
<211> 1344
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 220

```
gaagtgcagc tggtcgaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cctgcgcctg      60
tcttgcgccg ctagtggctt cacttttacc gactacacca tggattgggt gcgacaggca     120
cctggaaagg gcctggagtg ggtcgccgat gtgaacccaa atagcggagg ctccatctac     180
aaccagcggt tcaagggccg gttcaccctg tcagtggacc ggagcaaaaa caccctgtat     240
ctgcagatga atagcctgcg agccgaagat actgctgtgt actattgcgc ccggaatctg     300
```

gggccctcct tctactttga ctattggggg cagggaactc tggtcaccgt gagctccgcc 360
tccaccaagg gaccttctgt gttcccactg gctccctcta gtaaatccac atctggggga 420
actgcagccc tgggctgtct ggtgaaggac tacttcccag agcccgtcac agtgtcttgg 480
aacagtggcg ctctgacttc tggggtccac acctttcctg cagtgctgca gtcaagcggg 540
ctgtacagcc tgtcctctgt ggtcaccgtg ccaagttcaa gcctgggaac acagacttat 600
atctgcaacg tgaatcacaa gccatccaat acaaaagtcg acaagaaagt ggaacccaag 660
tcttgtgata aaacccatac atgccccct tgtcctgcac cagagctgct gggaggacca 720
agcgtgttcc tgtttccacc caagcctaaa gatacactga tgattagtag gaccccagaa 780
gtcacatgcg tggtcgtgga cgtgagccac gaggaccccg aagtcaagtt taactggtac 840
gtggacggcg tcgaggtgca taatgccaag actaaaccca gggaggaaca gtacaacagt 900
acctatcgcg tcgtgtcagt cctgacagtg ctgcatcagg attggctgaa cgggaaagag 960
tataagtgca aagtgagcaa taaggctctg cccgcaccta tcgagaaaac aatttccaag 1020
gcaaaaggac agcctagaga accacaggtg tacgtgtatc ctccatcaag ggatgagctg 1080
acaaagaacc aggtcagcct gacttgtctg gtgaaaggat tctatccctc tgacattgct 1140
gtggagtggg aaagtaatgg ccagcctgag aacaattaca agaccacacc ccctgtgctg 1200
gactcagatg gcagcttcgc gctggtgagc aagctgaccg tcgacaaatc ccggtggcag 1260
caggggaatg tgtttagttg ttcagtcatg cacgaggcac tgcacaacca ttacacccag 1320
aagtcactgt cactgtcacc aggg 1344

[0114]

<210> 221
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 221
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 Thr Asp Tyr
20 25 30
Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg 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 Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 222
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 222

[0115]

gaagtgcagc tggtcgaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cctgcgcctg 60
tcttgcgccg ctagtggctt cacttttacc gactacacca tggattgggt gcgacaggca 120
cctggaaagg gcctggagtg ggtcgccgat gtgaacccaa atagcggagg ctccatctac 180
aaccagcggt tcaagggccg gttcaccctg tcagtggacc ggagcaaaaa caccctgtat 240
ctgcagatga atagcctgcg agccgaagat actgctgtgt actattgcgc ccggaatctg 300
gggccctcct tctactttga ctattggggg cagggaactc tggtcaccgt gagctcc 357

<210> 223
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 223
Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr
1 5

<210> 224
<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 224

ggcttcactt ttaccgacta cacc 24

<210> 225

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

[0116] <400> 225

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 226

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 226

gcccggaatc tggggccctc cttctacttt gactat 36

<210> 227

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 227

Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 228

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 228

gtgaacccaa atagcggagg ctcc 24

[0117]

<210> 229

<211> 98

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 229

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

<210> 230
<211> 294
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 230
gcctccacca agggaccttc tgtgttccca ctggctccct ctagtaaatc cacatctggg 60
ggaactgcag ccctgggctg tctggtgaag gactacttcc cagagcccgt cacagtgtct 120
tggaacagtg gcgctctgac ttctggggtc cacacctttc ctgcagtgct gcagtcaagc 180
gggctgtaca gcctgtcctc tgtggtcacc gtgccaagtt caagcctggg aacacagact 240
tatatctgca acgtgaatca caagccatcc aatacaaaag tcgacaagaa agtg 294

[0118]

<210> 231
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 231
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100 105 110

<210> 232

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 232

gcaccagagc tgctgggagg accaagcgtg ttcctgtttc cacccaagcc taaagataca 60

ctgatgatta gtaggacccc agaagtcaca tgcgtggtcg tggacgtgag ccacgaggac 120

cccgaagtca agtttaactg gtacgtggac ggcgtcgagg tgcataatgc caagactaaa 180

cccagggagg aacagtacaa cagtacctat cgcgtcgtgt cagtcctgac agtgctgcat 240

caggattggc tgaacgggaa agagtataag tgcaaagtga gcaataaggc tctgcccgca 300

cctatcgaga aaacaatttc caaggcaaaa 330

[0119]

<210> 233

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 233

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp

1 5 10 15

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

50 55 60

Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

100 105

<210> 234

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 234

[0120]

ggacagccta gagaaccaca ggtgtacgtg tatcctccat caagggatga gctgacaaag 60

aaccaggtca gcctgacttg tctggtgaaa ggattctatc cctctgacat tgctgtggag 120

tgggaaagta atggccagcc tgagaacaat tacaagacca cacccctgt gctggactca 180

gatggcagct tcgcgctggt gagcaagctg accgtcgaca aatcccggtg gcagcagggg 240

aatgtgttta gttgttcagt catgcacgag gcactgcaca accattacac ccagaagtca 300

ctgtcactgt caccaggg 318

<210> 235

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 235

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

[0121]

```
     50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr 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 Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
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
Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu 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 Ala Leu Val 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 Lys

450

<210> 236

<211> 1350

<212> DNA

<213> 人工序列

[0122]

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 236

gaggtgcagc tggtggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60

agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120

ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat 180

gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgccgata catccaaaaa cactgcttac 240

ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300

ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360

gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaatc cacctctgga 420

gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 480

tggaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540

gggctgtact ccctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact 600

tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660

aagagctgtg ataagaccca cacctgccct ccctgtccag ctccagaact gctgggagga 720

cctagcgtgt tcctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780

gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtct cacgaggacc ccgaagtgaa gttcaactgg 840

tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900

tccacttatc gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaaaa aaccatctct 1020
aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgt acccacccag cagagacgaa 1080
ctgaccaaga accaggtgtc cctgacatgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacaatt acaagaccac acctccagtg 1200
ctggacagcg atggcagctt cgccctggtg tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 237
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 237

[0123]

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 Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr 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 Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 238
<211> 360
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 238
gaggtgcagc tggtggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60
agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120
ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat 180
gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgccgata catccaaaaa cactgcttac 240
ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300
ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360

<210> 239
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

[0124]
<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 239
Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
1 5

<210> 240
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明: 合成寡核苷酸

<400> 240
ggattcaaca tcaaggacac ctac 24

<210> 241
<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 241

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 242

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明: 合成寡核苷酸

[0125] <400> 242

agtcgatggg gaggagacgg attctacgct atggattat 39

<210> 243

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 243

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 244

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 244

atctatccca ctaatggata cacc 24

<210> 245

<211> 98

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 245

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

[0126]

<210> 246

<211> 294

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 246

gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaatc cacctctgga 60
gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 120
tggaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 180
gggctgtact ccctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact 240
tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtg 294

<210> 247
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 247
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
[0127] 20 25 30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

<210> 248
<211> 330
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 248

gctccagaac tgctgggagg acctagcgtg ttcctgtttc cccctaagcc aaaagacact 60

ctgatgattt ccaggactcc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgtc tcacgaggac 120

cccgaagtga agttcaactg gtacgtggat ggcgtggaag tgcataatgc taagacaaaa 180

ccaagagagg aacagtacaa ctccacttat cgcgtcgtga gcgtgctgac cgtgctgcac 240

caggactggc tgaacgggaa ggagtataag tgcaaagtca gtaataaggc cctgcctgct 300

ccaatcgaaa aaaccatctc taaggccaaa 330

<210> 249

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 249

[0128]

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp
1 5 10 15

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
100 105

<210> 250

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 250

ggccagccaa gggagcccca ggtgtacgtg tacccaccca gcagagacga actgaccaag 60
aaccaggtgt ccctgacatg tctggtgaaa ggcttctatc ctagtgatat tgctgtggag 120
tgggaatcaa atggacagcc agagaacaat tacaagacca cacctccagt gctggacagc 180
gatggcagct tcgccctggt gtccaagctg acagtggata aatctcgatg gcagcagggg 240
aacgtgttta gttgttcagt gatgcatgaa gccctgcaca atcattacac tcagaagagc 300
ctgtccctgt ctcccggc 318

<210> 251
<211> 232
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

[0129]

<400> 251

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

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

Leu Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 252

<211> 696

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

[0130]

<400> 252

gaacctaaaa gcagcgacaa gacccacaca tgccccccct gtccagctcc agaactgctg 60

ggaggaccaa gcgtgttcct gtttccaccc aagcccaaag atacactgat gatcagccga 120

actcccgagg tcacctgcgt ggtcgtggac gtgtcccacg aggaccccga agtcaagttc 180

aactggtacg tggacggcgt cgaagtgcat aatgcaaaga ctaaaccacg ggaggaacag 240

tacaactcta catatagagt cgtgagtgtc ctgactgtgc tgcatcagga ttggctgaac 300

ggcaaagagt ataagtgcaa agtgtctaat aaggccctgc ctgctccaat cgagaaaact 360

attagtaagg caaaagggca gcccagggaa cctcaggtct acgtgctgcc tccaagtcgc 420

gacgagctga ccaagaacca ggtctcactg ctgtgtctgg tgaaaggatt ctatccttcc 480

gatattgccg tggagtggga atctaatggc cagccagaga acaattacct gacctggccc 540

cctgtgctgg acagcgatgg gtccttcttt ctgtattcaa agctgacagt ggacaaaagc 600

agatggcagc agggaaacgt ctttagctgt tccgtgatgc acgaagccct gcacaatcat 660

tacacccaga agtctctgag tctgtcacct ggcaaa 696

<210> 253

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 253

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

[0131]

<210> 254

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 254

gctccagaac tgctgggagg accaagcgtg ttcctgtttc cacccaagcc caaagataca 60
ctgatgatca gccgaactcc cgaggtcacc tgcgtggtcg tggacgtgtc ccacgaggac 120
cccgaagtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtcgaag tgcataatgc aaagactaaa 180
ccacgggagg aacagtacaa ctctacatat agagtcgtga gtgtcctgac tgtgctgcat 240
caggattggc tgaacggcaa agagtataag tgcaaagtgt ctaataaggc cctgcctgct 300
ccaatcgaga aaactattag taaggcaaaa 330

<210> 255

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 255

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

[0132]

<210> 256

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 256

```
gggcagccca gggaacctca ggtctacgtg ctgcctccaa gtcgcgacga gctgaccaag   60
aaccaggtct cactgctgtg tctggtgaaa ggattctatc cttccgatat tgccgtggag  120
tgggaatcta atggccagcc agagaacaat tacctgacct ggccccctgt gctggacagc  180
gatgggtcct tctttctgta ttcaaagctg acagtggaca aaagcagatg gcagcaggga  240
aacgtcttta gctgttccgt gatgcacgaa gccctgcaca atcattacac ccagaagtct  300
ctgagtctgt cacctggc                                               318
```

<210> 257

<211> 475

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 257

[0133]

```
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 Ser Ile Gly
            20                  25                  30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr 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 Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
            100                 105                 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
        115                 120                 125
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
    130                 135                 140
Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr Met Asp Trp Val Arg
145                 150                 155                 160
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Asp Val Asn Pro Asn
                165                 170                 175
Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe Lys Gly Arg Phe Thr Leu
            180                 185                 190
Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
        195                 200                 205
Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Leu Gly Pro
    210                 215                 220
Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
```

225 230 235 240
Ser Ala Ala Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
245 250 255
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
260 265 270
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
275 280 285
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
290 295 300
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305 310 315 320
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
325 330 335
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
340 345 350
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
355 360 365
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp
370 375 380

[0134]

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385 390 395 400
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
405 410 415
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
420 425 430
Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
435 440 445
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
450 455 460
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470 475

<210> 258
<211> 1425
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 258

[0135]

gacattcaga tgacccagag ccctagctcc ctgagtgcct cagtcgggga cagggtgact 60
atcacctgca aggcttcaca ggatgtcagc attggcgtgg catggtacca gcagaagcca 120
gggaaagcac ccaagctgct gatctatagc gcctcctaca ggtatacagg cgtgccatcc 180
cgcttctctg gcagtgggtc aggaactgac tttacactga ctatttctag tctgcagccc 240
gaagatttcg ccacatacta ttgccagcag tactatatct acccttatac ttttggccag 300
gggaccaaag tggagattaa gggcggagga ggctccggag gaggagggtc tggaggagga 360
ggaagtgagg tccagctggt ggaatctgga ggaggactgg tgcagccagg agggtccctg 420
aggctgtctt gtgccgctag tggcttcacc tttacagact acacaatgga ttgggtgcgc 480
caggcaccag gaaagggact ggaatgggtc gctgatgtga accctaatag cggaggctcc 540
atctacaacc agcggttcaa aggacggttc accctgtcag tggaccggag caagaacacc 600
ctgtatctgc agatgaacag cctgagagcc gaggatactg ctgtgtacta ttgcgccagg 660
aatctgggcc caagcttcta ctttgactat tgggggcagg gaacactggt cactgtgtca 720
agcgcagccg aacccaaatc ctctgataag actcacacct gcccaccttg tccagctcca 780
gagctgctgg gaggacctag cgtgttcctg tttccaccca agccaaaaga cactctgatg 840
atttctagaa cccctgaagt gacatgtgtg gtcgtggacg tcagtcacga ggaccccgaa 900
gtcaaattca actggtacgt ggatggcgtc gaggtgcata atgccaagac caaaccccga 960
gaggaacagt acaactcaac ctatcgggtc gtgagcgtcc tgacagtgct gcatcaggac 1020
tggctgaacg gcaaggagta taagtgcaaa gtgagcaaca aggctctgcc tgcaccaatc 1080
gagaagacca tttccaaggc taaagggcag ccccgcgaac ctcaggtcta cgtgtatcct 1140
ccaagccgag atgagctgac aaaaaaccag gtctccctga cttgtctggt gaagggattt 1200
tacccaagtg acatcgcagt ggagtgggaa tcaaatggcc agcccgaaaa caattataag 1260
accacacccc ctgtgctgga ctctgatggg agtttcgcac tggtctccaa actgaccgtg 1320
gacaagtctc ggtggcagca gggaaacgtc tttagctgtt ccgtgatgca cgaggccctg 1380
cacaatcatt acacacagaa atctctgagt ctgtcacctg gcaag 1425

<210> 259
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 259
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 Ser Ile Gly
            20                  25                  30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr 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 Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 260
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

[0136]

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 260

```
gacattcaga tgacccagag ccctagctcc ctgagtgcct cagtcgggga cagggtgact    60
atcacctgca aggcttcaca ggatgtcagc attggcgtgg catggtacca gcagaagcca   120
gggaaagcac ccaagctgct gatctatagc gcctcctaca ggtatacagg cgtgccatcc   180
cgcttctctg gcagtgggtc aggaactgac tttacactga ctatttctag tctgcagccc   240
gaagatttcg ccacatacta ttgccagcag tactatatct acccttatac ttttggccag   300
gggaccaaag tggagattaa g                                             321
```

<210> 261
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 261
Gln Asp Val Ser Ile Gly
1 5

<210> 262
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 262
caggatgtca gcattggc 18

<210> 263
<211> 9
<212> PRT
[0137] <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 263
Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 264
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 264
cagcagtact atatctaccc ttatact 27

<210> 265
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 265
Ser Ala Ser
1

<210> 266
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

[0138]

<400> 266
agcgcctcc 9

<210> 267
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 267

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	Thr	Asp	Tyr
			20					25					30		
Thr	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			

Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg 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 Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 268
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

[0139]

<400> 268
gaggtccagc tggtggaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc cctgaggctg 60
tcttgtgccg ctagtggctt cacctttaca gactacacaa tggattgggt gcgccaggca 120
ccaggaaagg gactggaatg ggtcgctgat gtgaacccta atagcggagg ctccatctac 180
aaccagcggt tcaaaggacg gttcaccctg tcagtggacc ggagcaagaa caccctgtat 240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggat actgctgtgt actattgcgc caggaatctg 300
ggcccaagct tctactttga ctattggggg cagggaacac tggtcactgt gtcaagc 357

<210> 269
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 269
Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr
1 5

<210> 270
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 270
ggcttcacct ttacagacta caca 24

<210> 271
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

[0140]

<400> 271
Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 272
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 272
gccaggaatc tgggcccaag cttctacttt gactat 36

<210> 273
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 273
Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 274
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 274
[0141] gtgaacccta atagcggagg ctcc 24

<210> 275
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 275
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100 105 110

<210> 276

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 276

[0142]

gctccagagc tgctgggagg acctagcgtg ttcctgtttc cacccaagcc aaaagacact 60

ctgatgattt ctagaacccc tgaagtgaca tgtgtggtcg tggacgtcag tcacgaggac 120

cccgaagtca aattcaactg gtacgtggat ggcgtcgagg tgcataatgc caagaccaaa 180

ccccgagagg aacagtacaa ctcaacctat cgggtcgtga gcgtcctgac agtgctgcat 240

caggactggc tgaacggcaa ggagtataag tgcaaagtga gcaacaaggc tctgcctgca 300

ccaatcgaga agaccatttc caaggctaaa 330

<210> 277

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 277

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Asp

1 5 10 15

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

50 55 60

Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
100 105

<210> 278
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 278

[0143]

gggcagcccc gcgaacctca ggtctacgtg tatcctccaa gccgagatga gctgacaaaa 60
aaccaggtct ccctgacttg tctggtgaag ggattttacc caagtgacat cgcagtggag 120
tgggaatcaa atggccagcc cgaaaacaat tataagacca cacccctgt gctggactct 180
gatgggagtt tcgcactggt ctccaaactg accgtggaca agtctcggtg gcagcaggga 240
aacgtcttta gctgttccgt gatgcacgag gccctgcaca atcattacac acagaaatct 300
ctgagtctgt cacctggc 318

<210> 279
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 279
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 Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

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

[0144]

```
          35                  40                  45
Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
      50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr 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 Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
          115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
      130                 135                 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
          195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
      210                 215                 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
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

Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Leu 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 Leu Thr Trp 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 Lys

450

[0145]

<210> 280

<211> 1350

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 280

gaggtgcagc tggtggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60

agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120

ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat 180

gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgccgata catccaaaaa cactgcttac 240

ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300

ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360

gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaatc cacctctgga 420

gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 480

tggaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540

gggctgtact ccctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact 600

tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660

aagagctgtg ataagaccca cacctgccct ccctgtccag ctccagaact gctgggagga 720

cctagcgtgt tcctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780

gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtct cacgaggacc ccgaagtgaa gttcaactgg 840
tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
tccacttatc gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaaaa aaccatctct 1020
aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgc tgccacccag cagagacgaa 1080
ctgaccaaga accaggtgtc cctgctgtgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacaatt acctgacctg gcctccagtg 1200
ctggacagcg atggcagctt cttcctgtat tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 281
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

[0146]

<400> 281

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	Asn	Ile	Lys	Asp	Thr
			20					25					30		
Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Arg	Ile	Tyr	Pro	Thr	Asn	Gly	Tyr	Thr	Arg	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	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	Arg	Trp	Gly	Gly	Asp	Gly	Phe	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
		115					120								

<210> 282

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 282

gaggtgcagc tggtggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60

agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120

ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat 180

gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgccgata catccaaaaa cactgcttac 240

ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300

ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360

<210> 283

<211> 8

<212> PRT

[0147] <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 283

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 284

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 284

ggattcaaca tcaaggacac ctac 24

<210> 285
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 285
Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 286
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

[0148]

<400> 286
agtcgatggg gaggagacgg attctacgct atggattat 39

<210> 287
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 287
Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr
1 5

<210> 288
<211> 24
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 288
atctatccca ctaatggata cacc 24

<210> 289
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 289

[0149]

```
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
```

<210> 290
<211> 294
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 290

gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaatc cacctctgga 60

gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 120

tggaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 180

gggctgtact ccctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact 240

tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtg 294

<210> 291

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 291

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

[0150] Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

<210> 292

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 292

gctccagaac tgctgggagg acctagcgtg ttcctgtttc cccctaagcc aaaagacact 60

ctgatgattt ccaggactcc cgaggtgacc tgcgtggtgg tggacgtgtc tcacgaggac 120

cccgaagtga agttcaactg gtacgtggat ggcgtggaag tgcataatgc taagacaaaa 180

ccaagagagg aacagtacaa ctccacttat cgcgtcgtga gcgtgctgac cgtgctgcac 240

caggactggc tgaacgggaa ggagtataag tgcaaagtca gtaataaggc cctgcctgct 300

ccaatcgaaa aaaccatctc taaggccaaa 330

<210> 293

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

[0151]

<400> 293

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp
1 5 10 15

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Leu Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
100 105

<210> 294

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 294

ggccagccaa gggagcccca ggtgtacgtg ctgccaccca gcagagacga actgaccaag 60

aaccaggtgt ccctgctgtg tctggtgaaa ggcttctatc ctagtgatat tgctgtggag 120

tgggaatcaa atggacagcc agagaacaat tacctgacct ggcctccagt gctggacagc 180

gatggcagct tcttcctgta ttccaagctg acagtggata aatctcgatg gcagcagggg 240

aacgtgttta gttgttcagt gatgcatgaa gccctgcaca atcattacac tcagaagagc 300

ctgtccctgt ctcccggc 318

<210> 295

<211> 480

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

[0152]

<400> 295

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn 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 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg 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 Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Glu
115 120 125

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser

[0153]

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

435 440 445

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

450 455 460

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

465 470 475 480

<210> 296

<211> 1440

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 296

[0154]

gacattcaga tgacacagag ccccagctcc ctgagtgctt cagtcggcga cagggtgact 60

atcacctgcc gcgcatccca ggatgtcaac accgctgtgg catggtacca gcagaagcct 120

ggaaaagccc caaagctgct gatctacagc gcttccttcc tgtattctgg cgtgccaagt 180

cggttttctg gaagtagatc aggcactgac ttcacactga ctatctctag tctgcagccc 240

gaagattttg ccacctacta ttgccagcag cactatacca cacccctac attcggacag 300

ggcactaaag tggagattaa gggcgggtca ggcggaggga gcggaggagg gtccggagga 360

gggtctggag gagggagtgg agaggtccag ctggtggaat ctggaggagg actggtgcag 420

cctggaggct cactgcgact gagctgtgcc gcttccggct ttaacatcaa agacacatac 480

attcattggg tcaggcaggc accagggaag ggactggaat gggtggcccg catctatccc 540

acaaatgggt acactcgata tgccgacagc gtgaaaggac ggtttaccat ttctgctgat 600

accagtaaga acacagcata cctgcagatg aacagcctgc gcgcagagga tacagccgtg 660

tactattgca gtcgatgggg gggagacggc ttctacgcca tggattattg gggccagggg 720

actctggtca ccgtgtcaag cgcagccgaa cctaaatcct ctgacaagac ccacacatgc 780

ccaccctgtc ctgctccaga gctgctggga ggaccatccg tgttcctgtt tcctccaaag 840

cctaaagata cactgatgat tagccgcact cccgaagtca cctgtgtggt cgtggacgtg 900

tcccacgagg accccgaagt caagttcaac tggtacgtgg acggcgtcga ggtgcataat 960

gccaagacta aaccaagaga ggaacagtac aattcaacct atagggtcgt gagcgtcctg 1020

acagtgctgc atcaggattg gctgaacggc aaggagtata agtgcaaagt gtctaacaag 1080

gccctgcccg ctcctatcga gaagactatt agcaaggcaa aagggcagcc acgggaaccc 1140

caggtctacg tgctgccccc tagcagagac gagctgacca aaaaccaggt ctccctgctg 1200

tgtctggtga agggctttta tcctagtgat atcgctgtgg agtgggaatc aaatgggcag 1260

ccagaaaaca attacctgac atggccaccc gtgctggaca gcgatgggtc cttctttctg 1320

tattccaaac tgactgtgga caagtctaga tggcagcagg gaaacgtctt cagctgttcc 1380

gtgatgcacg aggccctgca caatcattac acccagaagt ctctgagtct gtcacccggc 1440

<210> 297
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 297

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn 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 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Arg 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 Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

[0155]

<210> 298
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 298

gacattcaga tgacacagag ccccagctcc ctgagtgctt cagtcggcga cagggtgact 60
atcacctgcc gcgcatccca ggatgtcaac accgctgtgg catggtacca gcagaagcct 120
ggaaaagccc caaagctgct gatctacagc gcttccttcc tgtattctgg cgtgccaagt 180

cggttttctg gaagtagatc aggcactgac ttcacactga ctatctctag tctgcagccc 240

gaagattttg ccacctacta ttgccagcag cactatacca cacccctac attcggacag 300

ggcactaaag tggagattaa g 321

<210> 299

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 299

Gln Asp Val Asn Thr Ala

1 5

[0156]

<210> 300

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 300

caggatgtca acaccgct 18

<210> 301

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 301

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 302
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 302
cagcagcact ataccacacc ccctaca 27

<210> 303
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

[0157]

<400> 303
Ser Ala Ser
1

<210> 304
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 304
agcgcttcc 9

<210> 305
<211> 120
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 305

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 Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr 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 Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

[0158]

<210> 306

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 306

gaggtccagc tggtggaatc tggaggagga ctggtgcagc ctggaggctc actgcgactg 60
agctgtgccg cttccggctt taacatcaaa gacacataca ttcattgggt caggcaggca 120
ccagggaagg gactggaatg ggtggcccgc atctatccca caaatgggta cactcgatat 180
gccgacagcg tgaaaggacg gtttaccatt tctgctgata ccagtaagaa cacagcatac 240
ctgcagatga acagcctgcg cgcagaggat acagccgtgt actattgcag tcgatggggg 300
ggagacggct tctacgccat ggattattgg ggccagggga ctctggtcac cgtgtcaagc 360

<210> 307
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 307
Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
1 5

<210> 308
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
[0159] <223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 308
ggctttaaca tcaaagacac atac 24

<210> 309
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 309
Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 310

<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 310
agtcgatggg ggggagacgg cttctacgcc atggattat 39

<210> 311
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

[0160] <400> 311
Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr
1 5

<210> 312
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 312
atctatccca caaatgggta cact 24

<210> 313
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 313

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

[0161]

<210> 314

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 314

gctccagagc tgctgggagg accatccgtg ttcctgtttc ctccaaagcc taaagataca 60
ctgatgatta gccgcactcc cgaagtcacc tgtgtggtcg tggacgtgtc ccacgaggac 120
cccgaagtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtcgagg tgcataatgc caagactaaa 180
ccaagagagg aacagtacaa ttcaacctat agggtcgtga gcgtcctgac agtgctgcat 240
caggattggc tgaacggcaa ggagtataag tgcaaagtgt ctaacaaggc cctgcccgct 300
cctatcgaga agactattag caaggcaaaa 330

<210> 315

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 315

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

[0162]

<210> 316

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 316

```
gggcagccac gggaacccca ggtctacgtg ctgcccccta gcagagacga gctgaccaaa    60
aaccaggtct ccctgctgtg tctggtgaag ggcttttatc ctagtgatat cgctgtggag   120
tgggaatcaa atgggcagcc agaaaacaat tacctgacat ggccacccgt gctggacagc   180
gatgggtcct tctttctgta ttccaaactg actgtggaca agtctagatg gcagcaggga   240
aacgtcttca gctgttccgt gatgcacgag gccctgcaca atcattacac ccagaagtct   300
ctgagtctgt cacccggc                                                 318
```

<210> 317

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 317

[0163]

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn 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 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Arg 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 Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 318

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 318

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggacgttaac accgctgtag cttggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctattct gcatcctttt tgtacagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtcgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag cattacacta ccccacccac tttcggccaa 300

gggaccaaag tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccaa 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

[0164]

<210> 319

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 319

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn 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 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg 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 Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 320

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 320

[0165]

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggacgttaac accgctgtag cttggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctattct gcatcctttt tgtacagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtcgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag cattacacta ccccacccac tttcggccaa 300

gggaccaaag tggagatcaa a 321

<210> 321

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 321

Gln Asp Val Asn Thr Ala

1 5

<210> 322

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明: 合成寡核苷酸

<400> 322
caggacgtta acaccgct 18

<210> 323
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 323
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

[0166]

<210> 324
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明: 合成寡核苷酸

<400> 324
caacagcatt acactacccc acccact 27

<210> 325
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 325
Ser Ala Ser
1

<210> 326
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成寡核苷酸

<400> 326
tctgcatcc 9

<210> 327
<211> 107
<212> PRT
[0167] <213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 327
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> 328
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 328
cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60
ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120
tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccaag agagtgtcac agagcaggac 180
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240
aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300
agcttcaaca ggggagagtg t 321

[0168]
<210> 329
<211> 231
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 329
Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Leu Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

Leu Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

225 230

[0169]

<210> 330

<211> 693

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 330

gaacctaaat ccagcgacaa gacccacaca tgccccctt gtccagctcc agaactgctg 60

ggaggaccaa gcgtgttcct gtttccaccc aagcccaaag atacactgat gatcagccga 120

actcccgagg tcacctgcgt ggtcgtggac gtgtcccacg aggaccccga agtcaagttc 180

aactggtacg tggacggcgt cgaagtgcat aatgcaaaga ctaaaccacg ggaggaacag 240

tacaactcta catatagagt cgtgagtgtc ctgactgtgc tgcatcagga ttggctgaac 300

ggcaaagagt ataagtgcaa agtgtctaat aaggccctgc ctgctccaat cgagaaaact 360

attagtaagg caaaagggca gcccagggaa cctcaggtct acgtgctgcc tccaagtcgc 420

gacgagctga ccaagaacca ggtctcactg ctgtgtctgg tgaaaggatt ctatccttcc 480

gatattgccg tggagtggga atctaatggc cagccagaga acaattacct gacctggccc 540

cctgtgctgg acagcgatgg gtccttcttt ctgtattcaa agctgacagt ggacaaaagc 600
agatggcagc agggaaacgt ctttagctgt tccgtgatgc acgaagccct gcacaatcat 660
tacacccaga agtctctgag tctgtcacct ggc 693

<210> 331
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 331
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

[0170]

<210> 332
<211> 330
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 332
gctccagaac tgctgggagg accaagcgtg ttcctgtttc cacccaagcc caaagataca 60

ctgatgatca gccgaactcc cgaggtcacc tgcgtggtcg tggacgtgtc ccacgaggac 120
cccgaagtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtcgaag tgcataatgc aaagactaaa 180
ccacgggagg aacagtacaa ctctacatat agagtcgtga gtgtcctgac tgtgctgcat 240
caggattggc tgaacggcaa agagtataag tgcaaagtgt ctaataaggc cctgcctgct 300
ccaatcgaga aaactattag taaggcaaaa 330

<210> 333
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多肽

<400> 333

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

[0171]

<210> 334
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成多核苷酸

<400> 334

gggcagccca gggaacctca ggtctacgtg ctgcctccaa gtcgcgacga gctgaccaag 60

aaccaggtct cactgctgtg tctggtgaaa ggattctatc cttccgatat tgccgtggag 120

tgggaatcta atggccagcc agagaacaat tacctgacct ggccccctgt gctggacagc 180

gatgggtcct tctttctgta ttcaaagctg acagtggaca aaagcagatg gcagcaggga 240

aacgtcttta gctgttccgt gatgcacgaa gccctgcaca atcattacac ccagaagtct 300

ctgagtctgt cacctggc 318

<210> 335

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 335

Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser

[0172] 1 5

<210> 336

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 336

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 337

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 337
Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr
1 5

<210> 338
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 338
Ser Ala Ser
1

[0173]
<210> 339
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 339
Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 340
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 340
Gln Asp Val Ser Ile Gly
1 5

<210> 341
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 341
Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr
1 5

<210> 342
<211> 13
[0174] <212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 342
Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 343
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 343

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
1 5

<210> 344
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 344
Ser Ala Ser
1

<210> 345
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0175]

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 345
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 346
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 346
Gln Asp Val Asn Thr Ala
1 5

<210> 347
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列说明:合成肽

<400> 347
Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Ala Thr
1 5

<210> 348
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0176] <223> 人工序列说明:合成肽

<400> 348
Gly Phe Thr Phe Ala Asp Tyr Thr
1 5

<210> 349
<211> 607
<212> PRT
<213> 智人

<400> 349
Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys Leu Arg Leu Pro Ala Ser
1 5 10 15
Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His Leu Tyr Gln Gly Cys Gln
20 25 30
Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr Leu Pro Thr Asn Ala Ser
35 40 45
Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val Gln Gly Tyr Val Leu Ile

[0177]

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

[0178]

```
          355                 360                 365
Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe Glu Thr Leu Glu Glu Ile
      370                 375                 380
Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro Asp Ser Leu Pro Asp Leu
385                 390                 395                 400
Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg Gly Arg Ile Leu His Asn
                  405                 410                 415
Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu Gly Ile Ser Trp Leu Gly
              420                 425                 430
Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly Leu Ala Leu Ile His His
          435                 440                 445
Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val Pro Trp Asp Gln Leu Phe
      450                 455                 460
Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr Ala Asn Arg Pro Glu Asp
465                 470                 475                 480
Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala Cys His Gln Leu Cys Ala Arg Gly
                  485                 490                 495
His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Gln Cys Val Asn Cys Ser Gln Phe
              500                 505                 510
Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu Glu Cys Arg Val Leu Gln Gly Leu
          515                 520                 525
Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg His Cys Leu Pro Cys His Pro Glu
      530                 535                 540
Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val Thr Cys Phe Gly Pro Glu Ala Asp
545                 550                 555                 560
Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp Pro Pro Phe Cys Val Ala
                  565                 570                 575
Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu Ser Tyr Met Pro Ile Trp
              580                 585                 590
Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln Pro Cys Pro Ile Asn
          595                 600                 605
```

<210> 350
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<400> 350

[0179]

```
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1               5                  10                  15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
            20                  25                  30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
        35                  40                  45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    50                  55                  60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65                  70                  75                  80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                85                  90                  95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            100                 105                 110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
        115                 120                 125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
    130                 135                 140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145                 150                 155                 160
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                165                 170                 175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
            180                 185                 190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
        195                 200                 205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
    210                 215
```

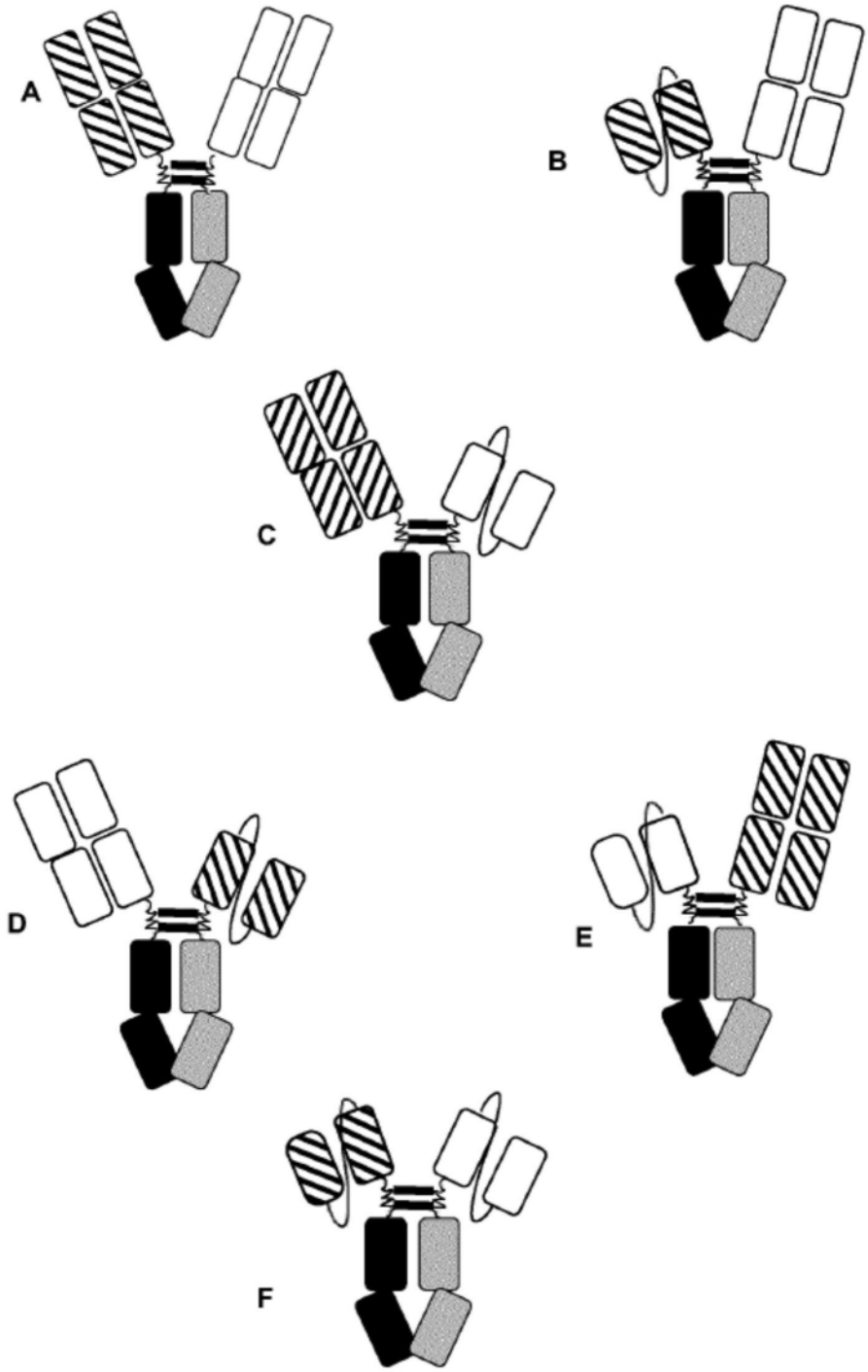


图1

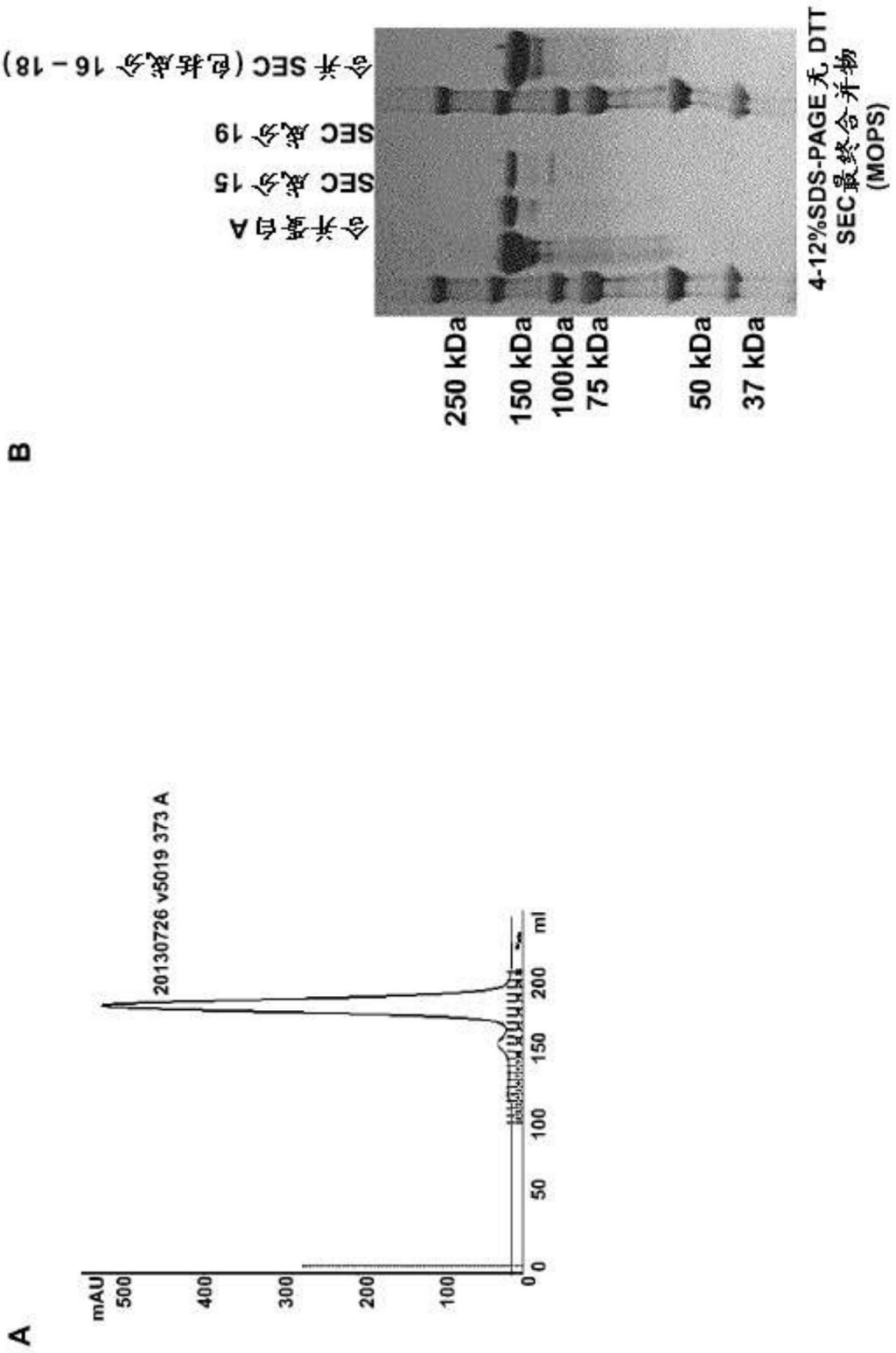

A
20130726 v5019 373 A
mAU
500
400
300
200
100
0
0
50
100
150
200
ml
B
4-12%SDS-PAGE 无 DTT
SEC最终合并物
(MOPS)
250 kDa
150 kDa
100kDa
75 kDa
50 kDa
37 kDa
合并蛋白A
SEC 聚合 15
SEC 聚合 19
合并 SEC (包括聚合 16 – 18)

图2

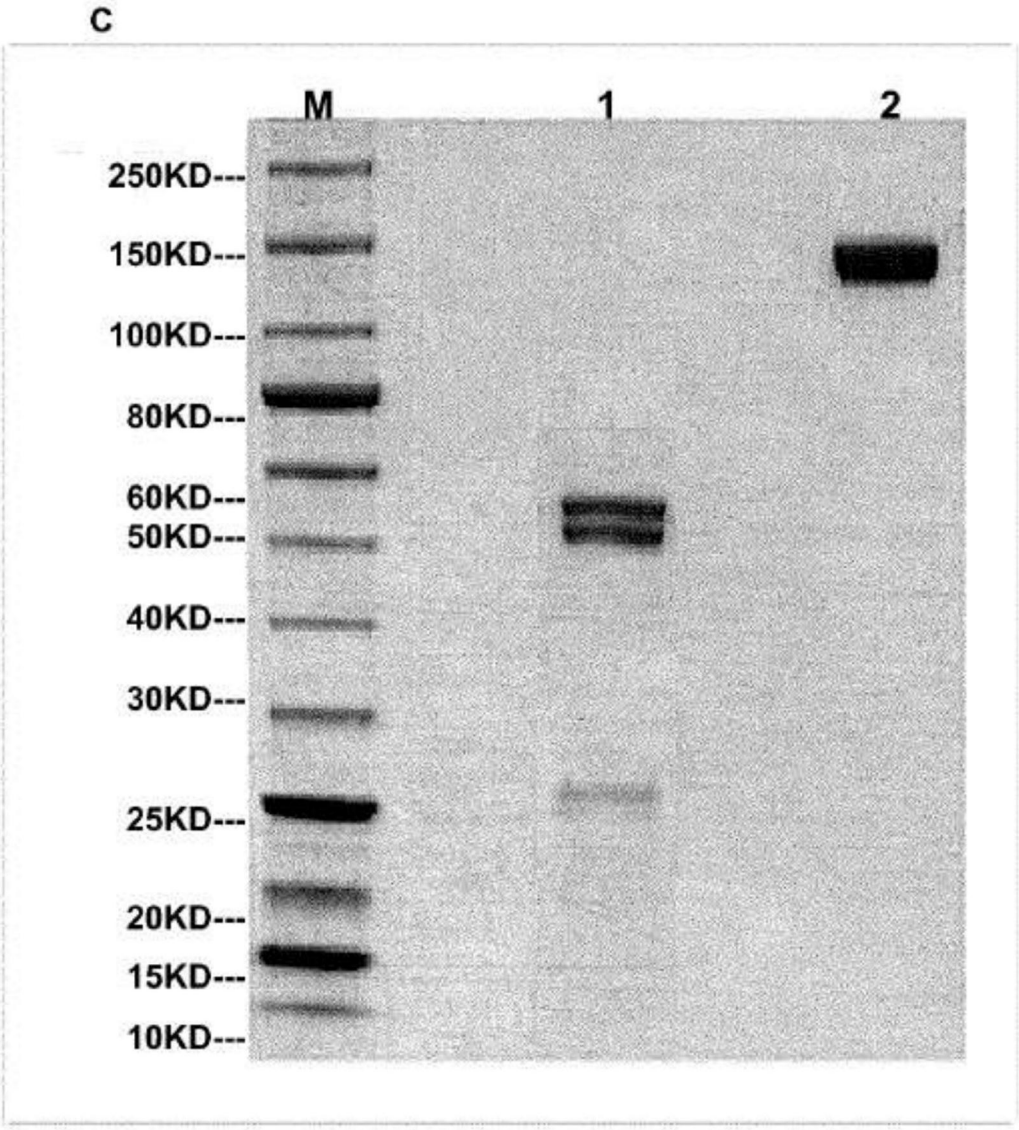
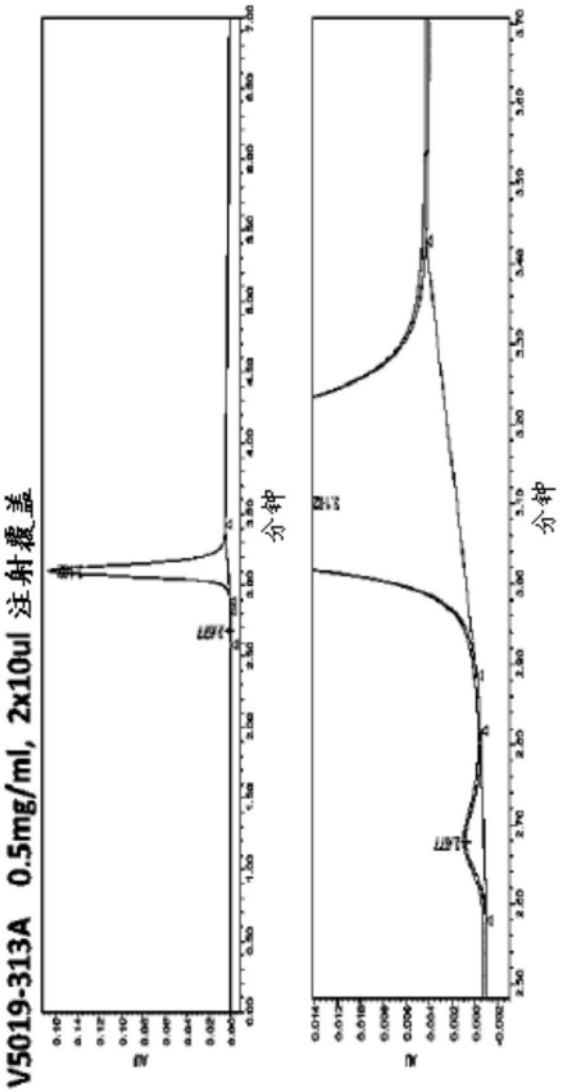
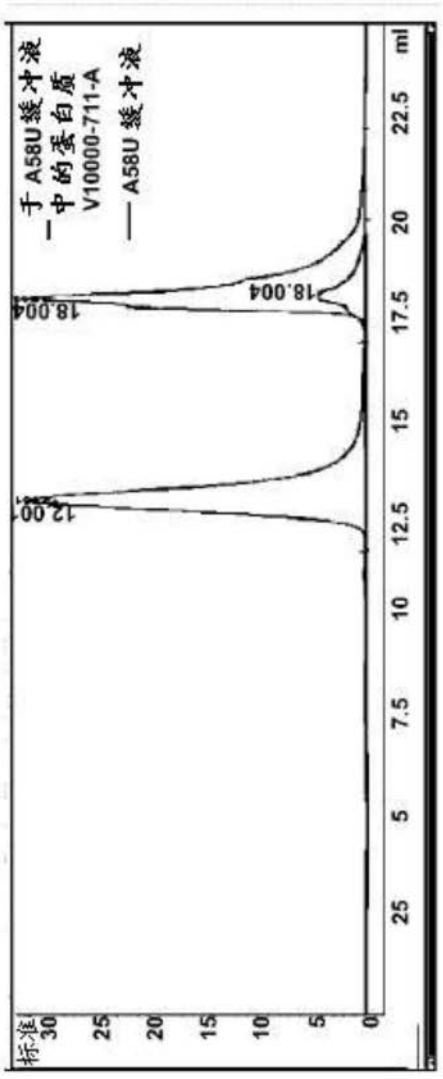

C
M
1
2
250KD---
150KD---
100KD---
80KD---
60KD---
50KD---
40KD---
30KD---
25KD---
20KD---
15KD---
10KD---

图2(续)



v5019-313A	估计分子量	分子量对数	保留时间	峰面积 %
峰 1	300902	5.478426	2.677	0.83
	298938	5.475581	2.680	0.82
峰 2	118957	5.075391	3.102	99.17
	118957	5.075391	3.102	99.18

图3A



峰 #	保留时间（分钟）	类型	高度	面积	面积 %
1	8.022	MF R	0.183	22.103	1.508
2	11.059	MF R	0.179	9.708	0.662
3	12.961	MF R	30.701	1416.498	96.619
4	15.419	FM R	0.299	17.759	1.211

图3B

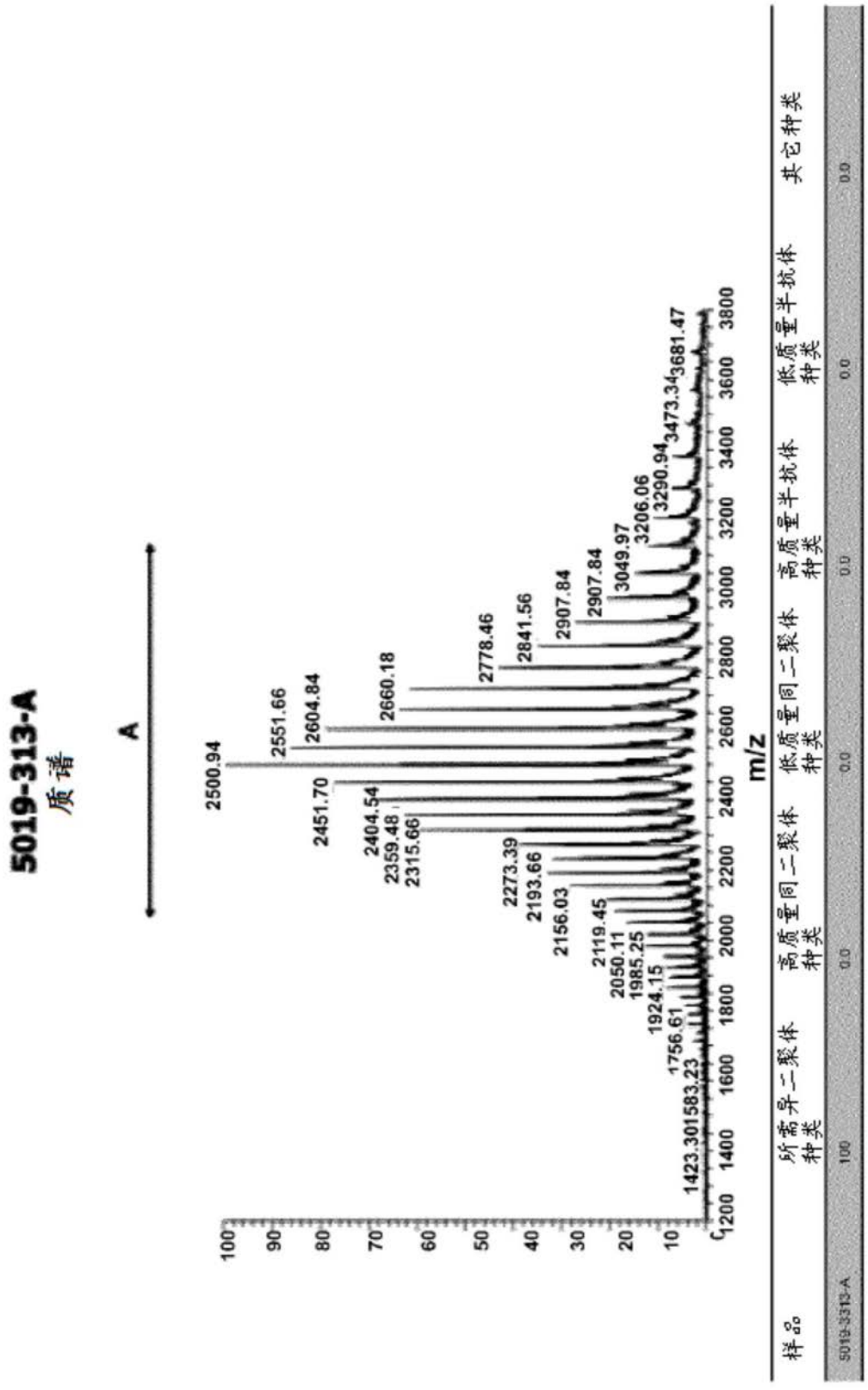

5019-313-A
质谱
A
m/z
样品
5019-313-A
所需异二聚体种类
高质量同二聚体种类
低质量同二聚体种类
高质量半抗体种类
低质量半抗体种类
其它种类

图4A

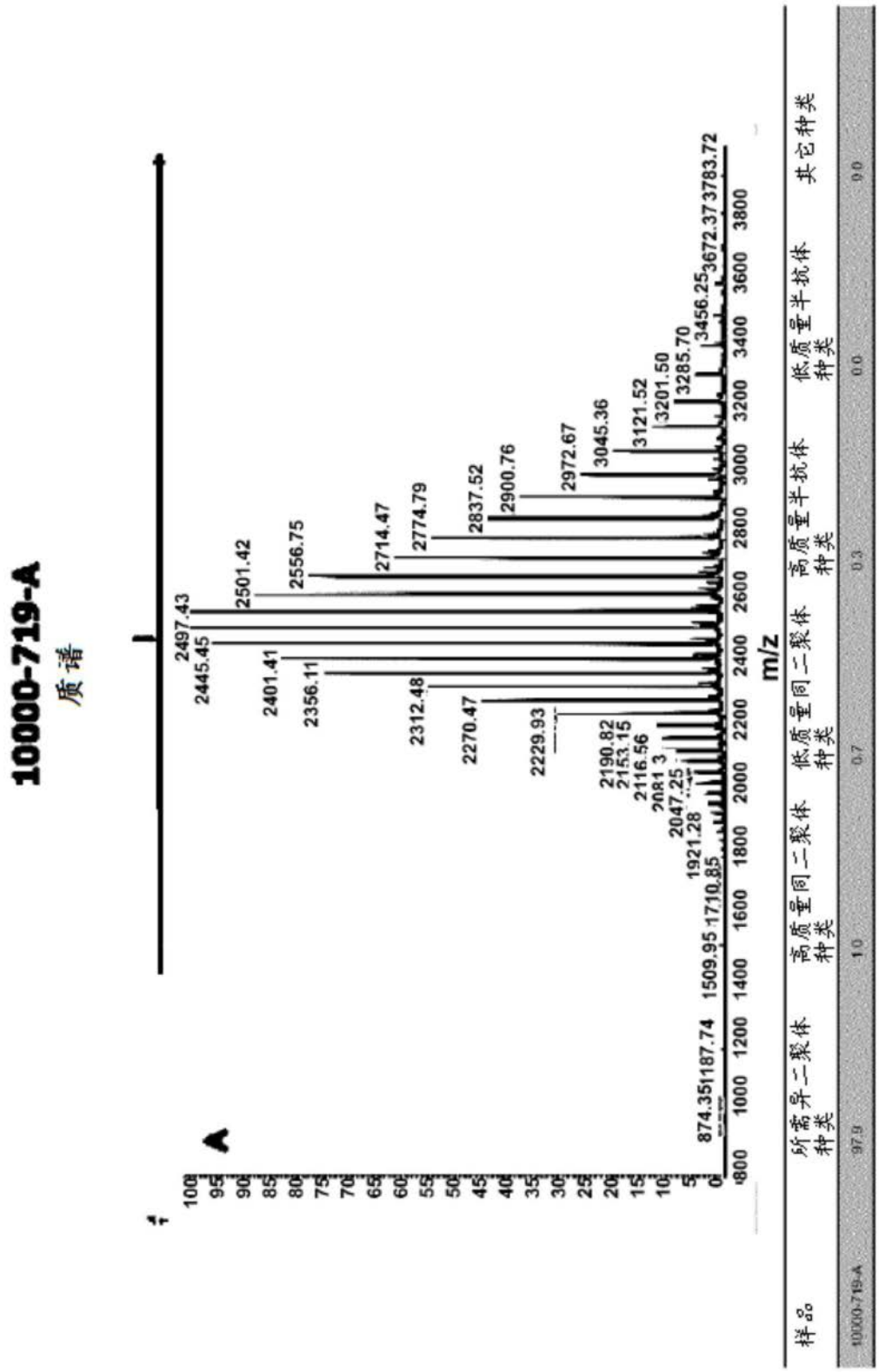

10000-719-A
质谱
A
m/z
2497.43
2445.45
2501.42
2401.41
2556.75
2356.11
2714.47
2774.79
2312.48
2837.52
2270.47
2900.76
2229.93
2972.67
3045.36
3121.52
3201.50
3285.70
3456.25
3672.37
3783.72
874.35
1187.74
1509.95
1710.85
1921.28
2047.25
2116.56
2153.15
2190.82
所需异二聚体种类
高质量同二聚体种类
低质量同二聚体种类
高质量半抗体种类
低质量半抗体种类
其它种类
样品
10000-719-A
97.9
1.0
0.7
0.3
0.0
0.0

图4B

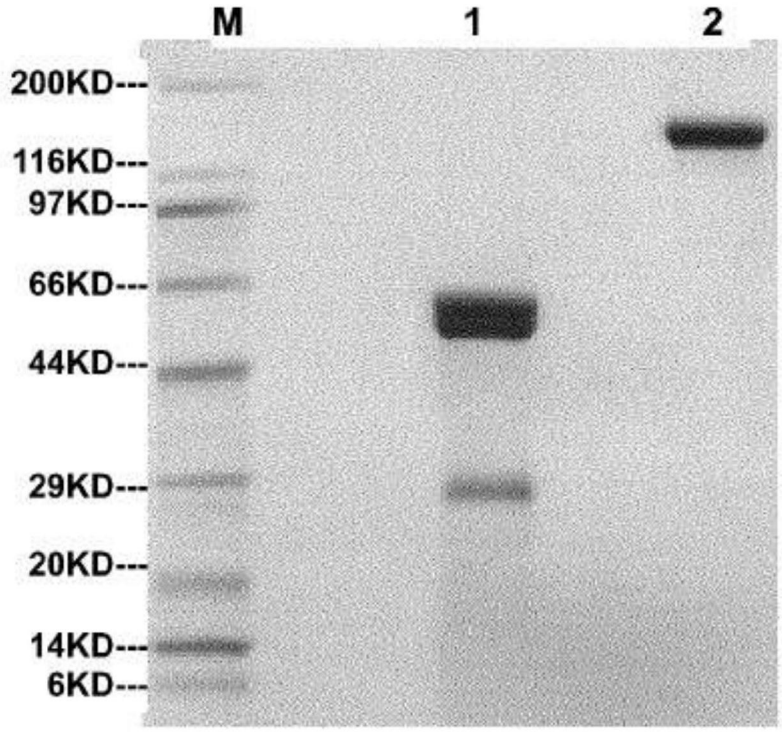
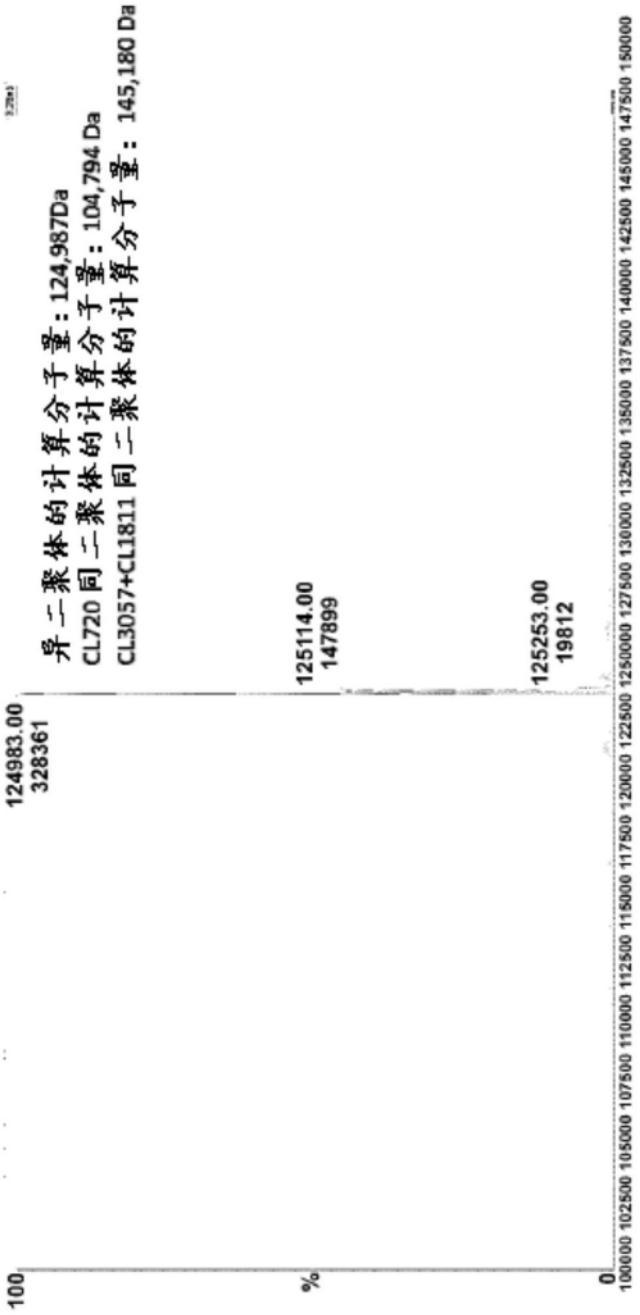


图5A



	表示为所有定量的百分比的每个种类的量				
	异二聚体	CH-A同二聚体	CH-B同二聚体	CH-B单体	CH-A半抗体
v5019	99.4	0.3	0.1	0	0.2

*：该计算中不包括赖氨酸和O-聚糖侧峰

图5B

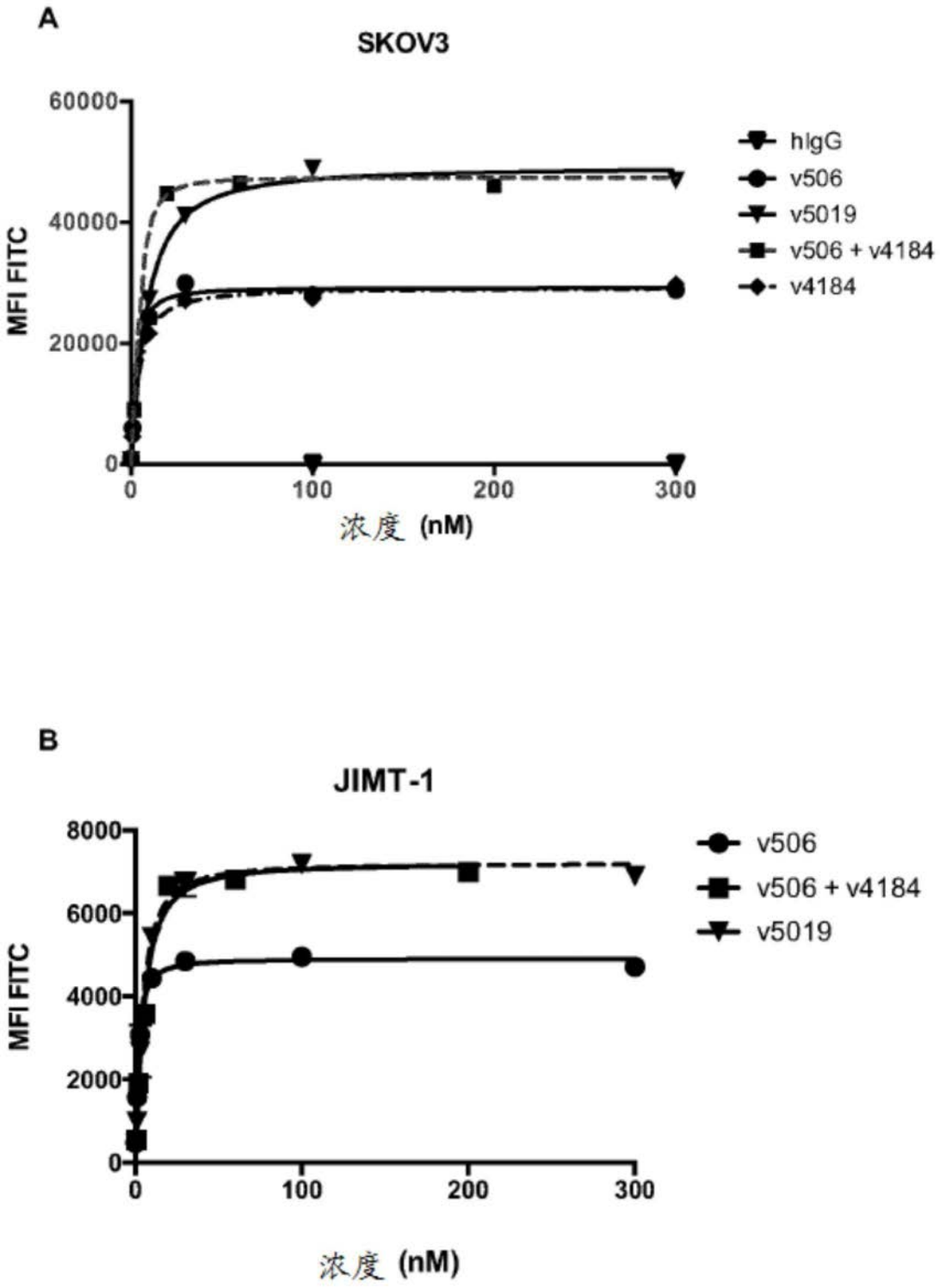

A
SKOV3
60000
40000
20000
0
MFI FITC
0
100
200
300
浓度 (nM)
hIgG
v506
v5019
v506 + v4184
v4184
B
JIMT-1
8000
6000
4000
2000
0
MFI FITC
0
100
200
300
浓度 (nM)
v506
v506 + v4184
v5019

图6

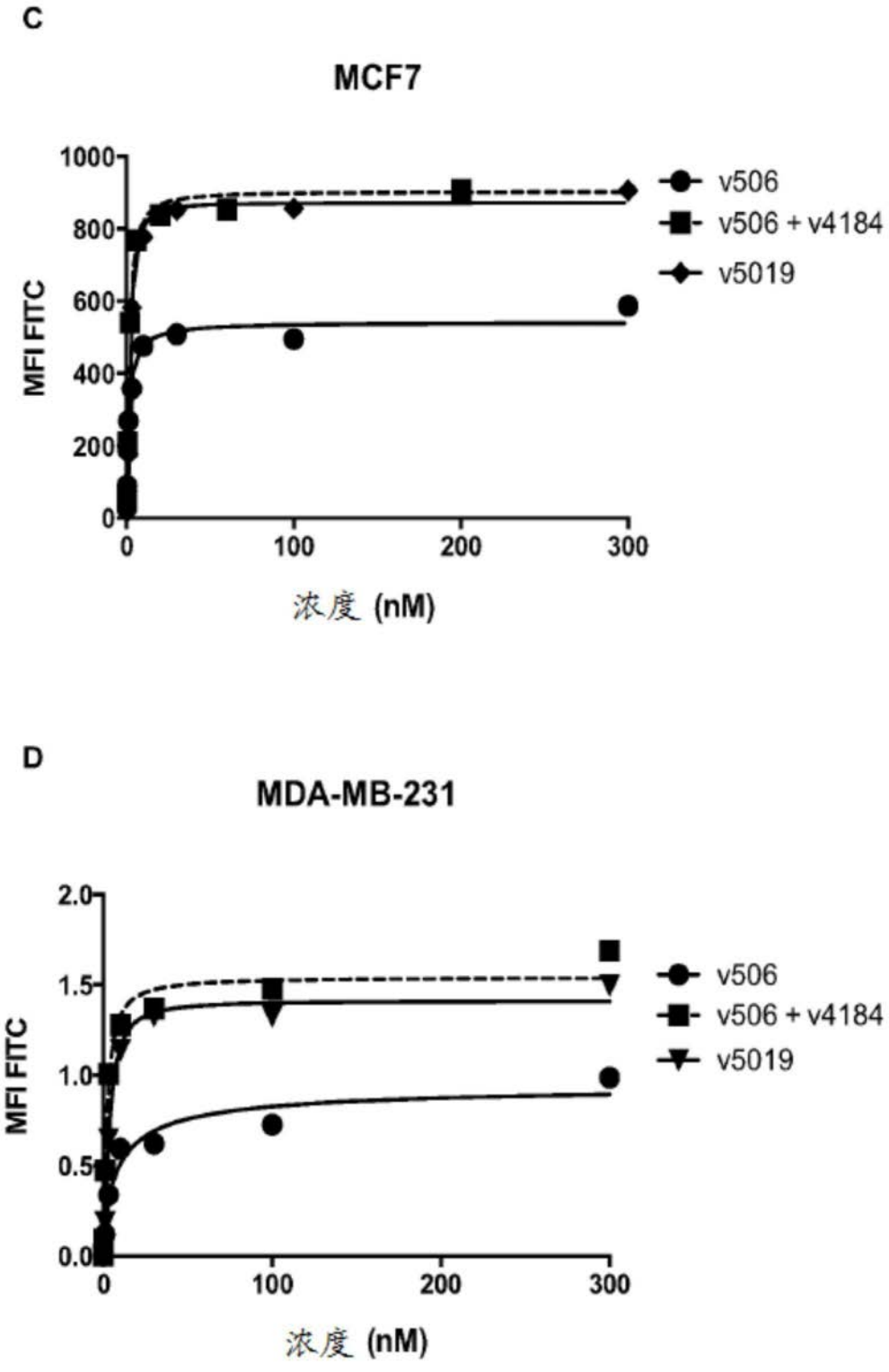
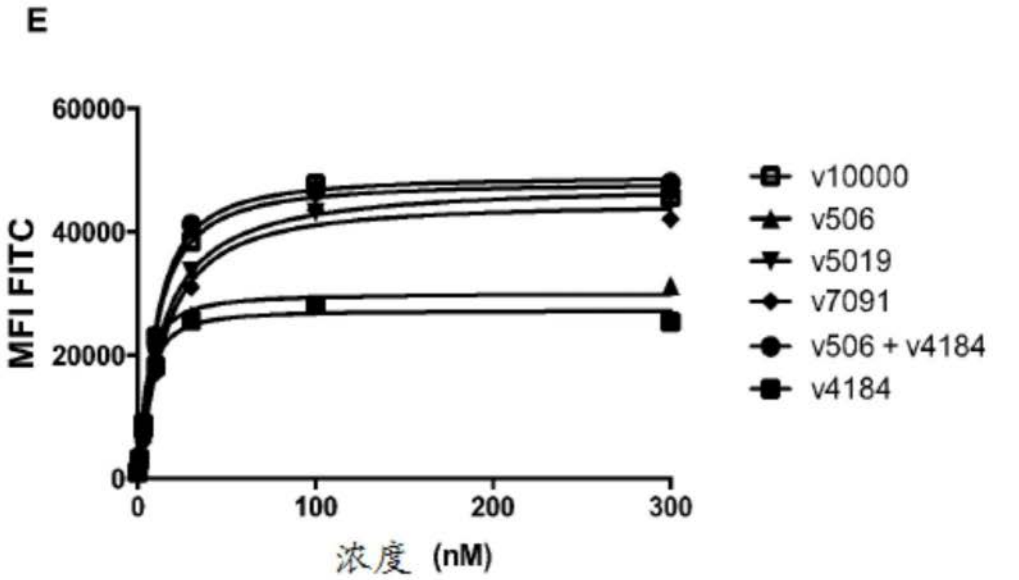

C
MCF7
MFI FITC
1000
800
600
400
200
0
0
100
200
300
浓度 (nM)
v506
v506 + v4184
v5019
D
MDA-MB-231
MFI FITC
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0
100
200
300
浓度 (nM)
v506
v506 + v4184
v5019

图6(续)


E
60000
40000
20000
0
MFI FITC
0
100
200
300
浓度 (nM)
v10000
v506
v5019
v7091
v506 + v4184
v4184

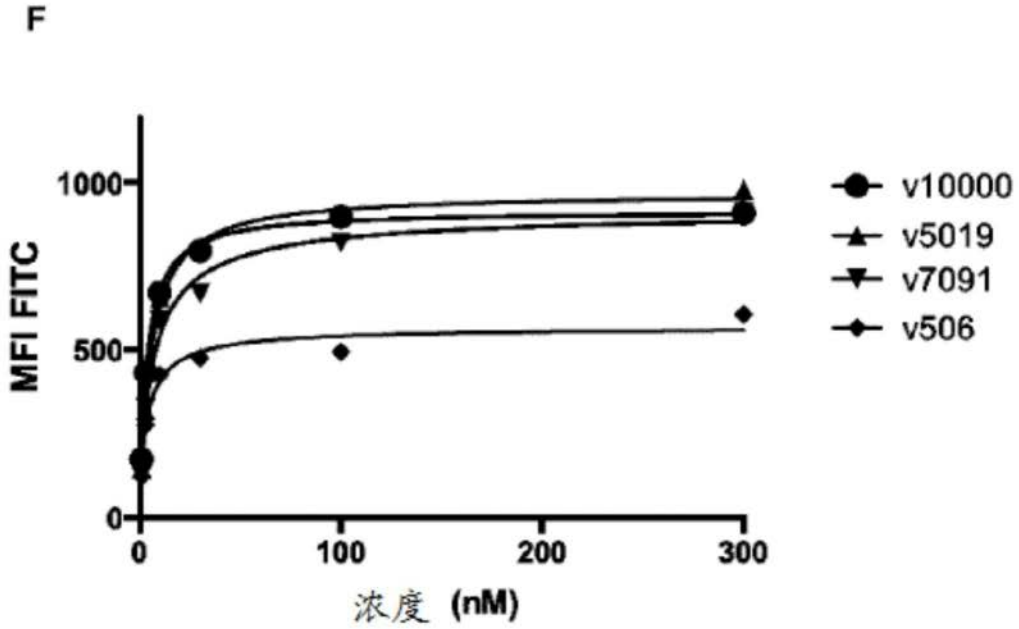

F
1000
500
0
MFI FITC
0
100
200
300
浓度 (nM)
v10000
v5019
v7091
v506

图6(续)

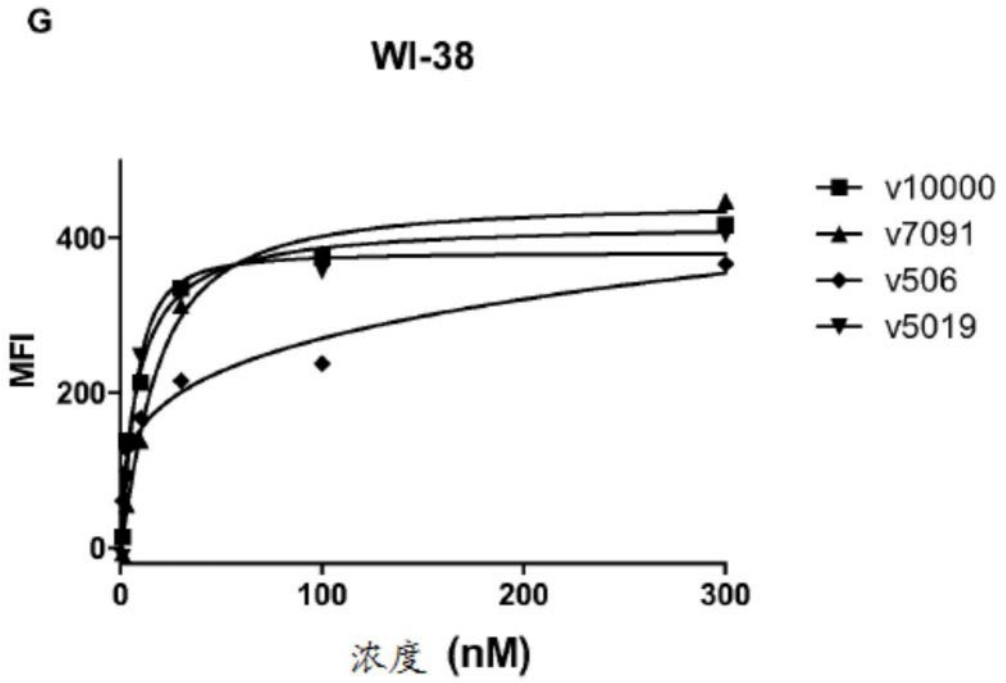


图6(续)

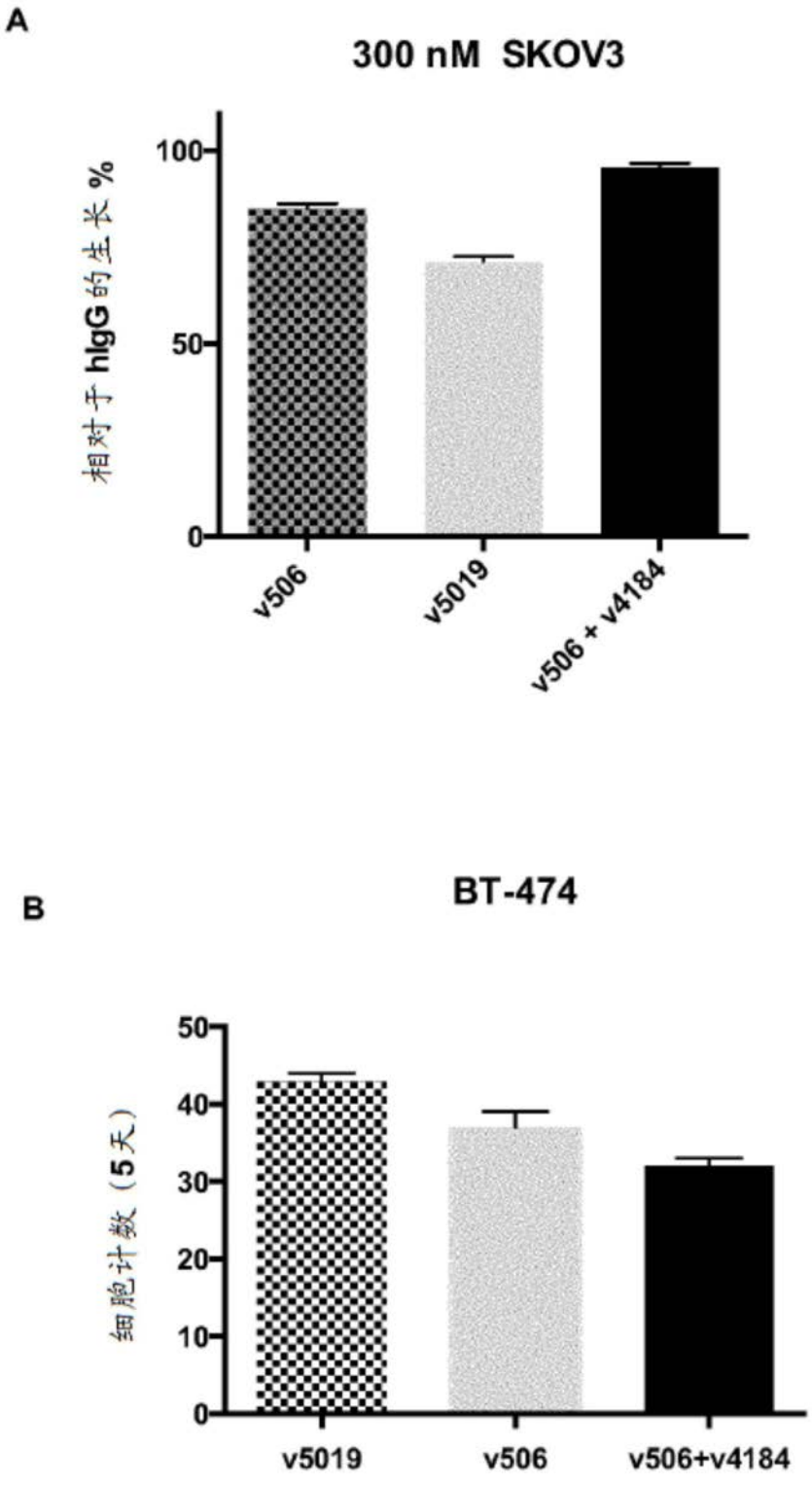

A
300 nM SKOV3
相对于 hIgG 的生长 %
100
50
0
v506
v5019
v506 + v4184
B
BT-474
细胞计数（5天）
50
40
30
20
10
0
v5019
v506
v506+v4184

图7

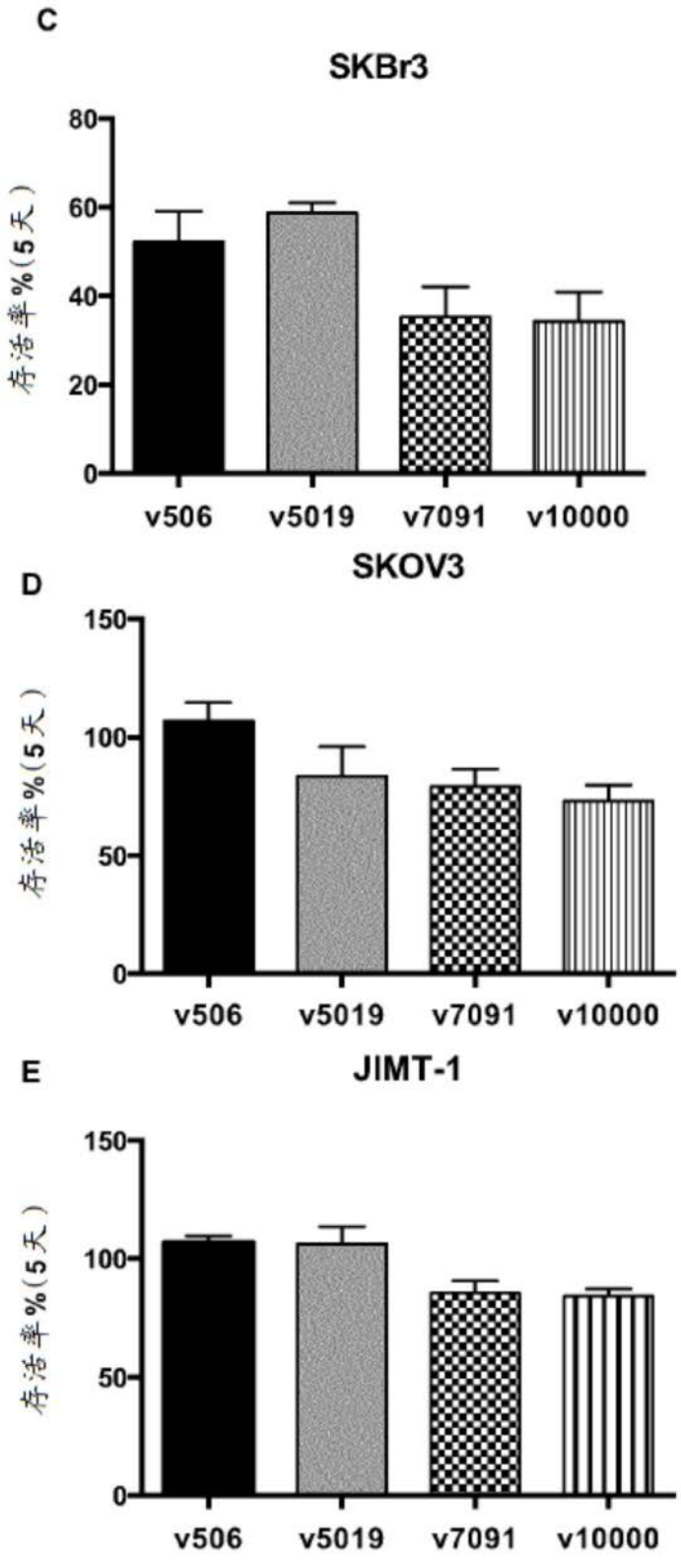

C
SKBr3
存活率%(5天)
80
60
40
20
0
v506
v5019
v7091
v10000
D
SKOV3
存活率%(5天)
150
100
50
0
v506
v5019
v7091
v10000
E
JIMT-1
存活率%(5天)
150
100
50
0
v506
v5019
v7091
v10000

图7(续)

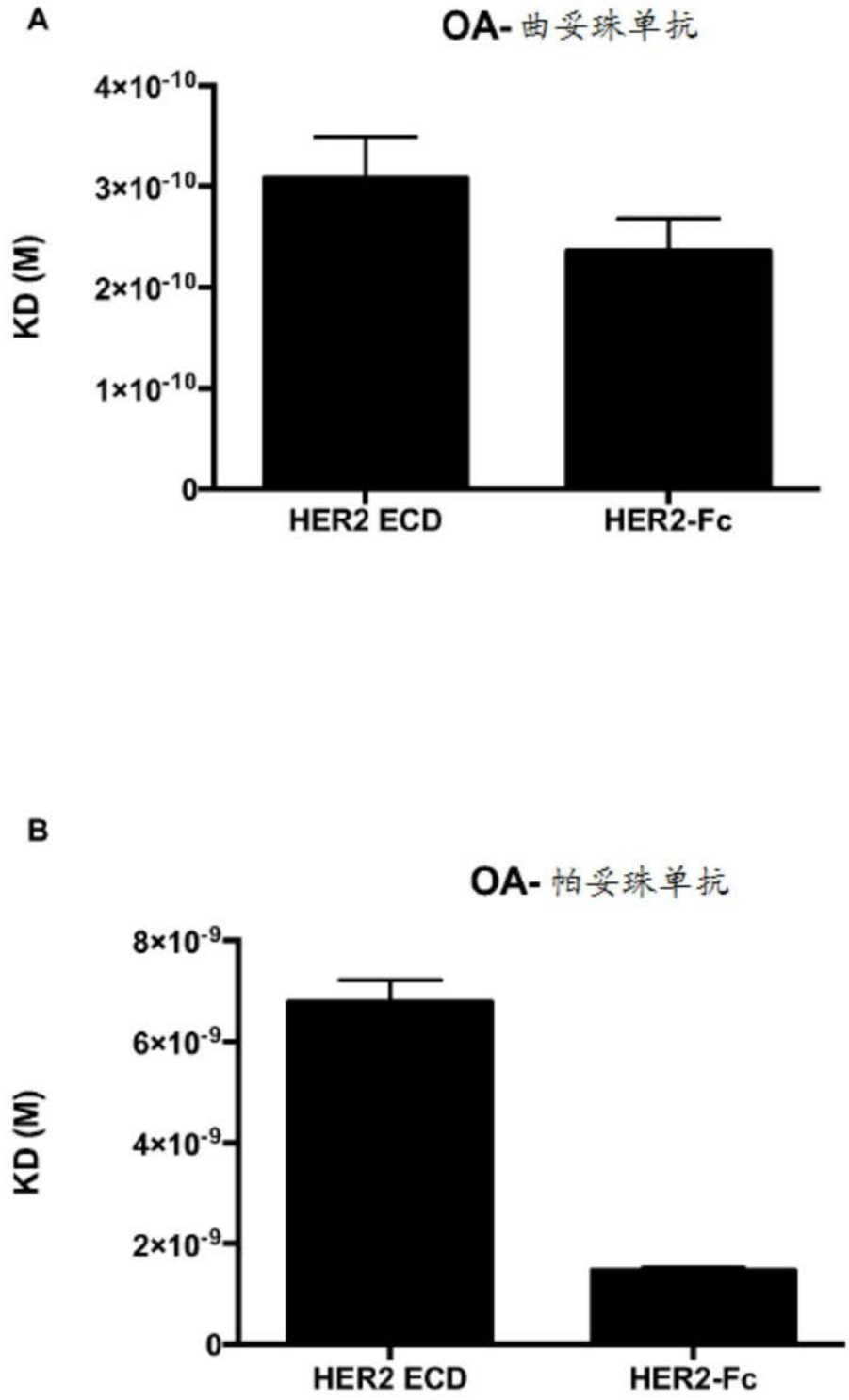

A
OA-曲妥珠单抗
KD (M)
4×10-10
3×10-10
2×10-10
1×10-10
0
HER2 ECD
HER2-Fc
B
OA-帕妥珠单抗
KD (M)
8×10-9
6×10-9
4×10-9
2×10-9
0
HER2 ECD
HER2-Fc

图8

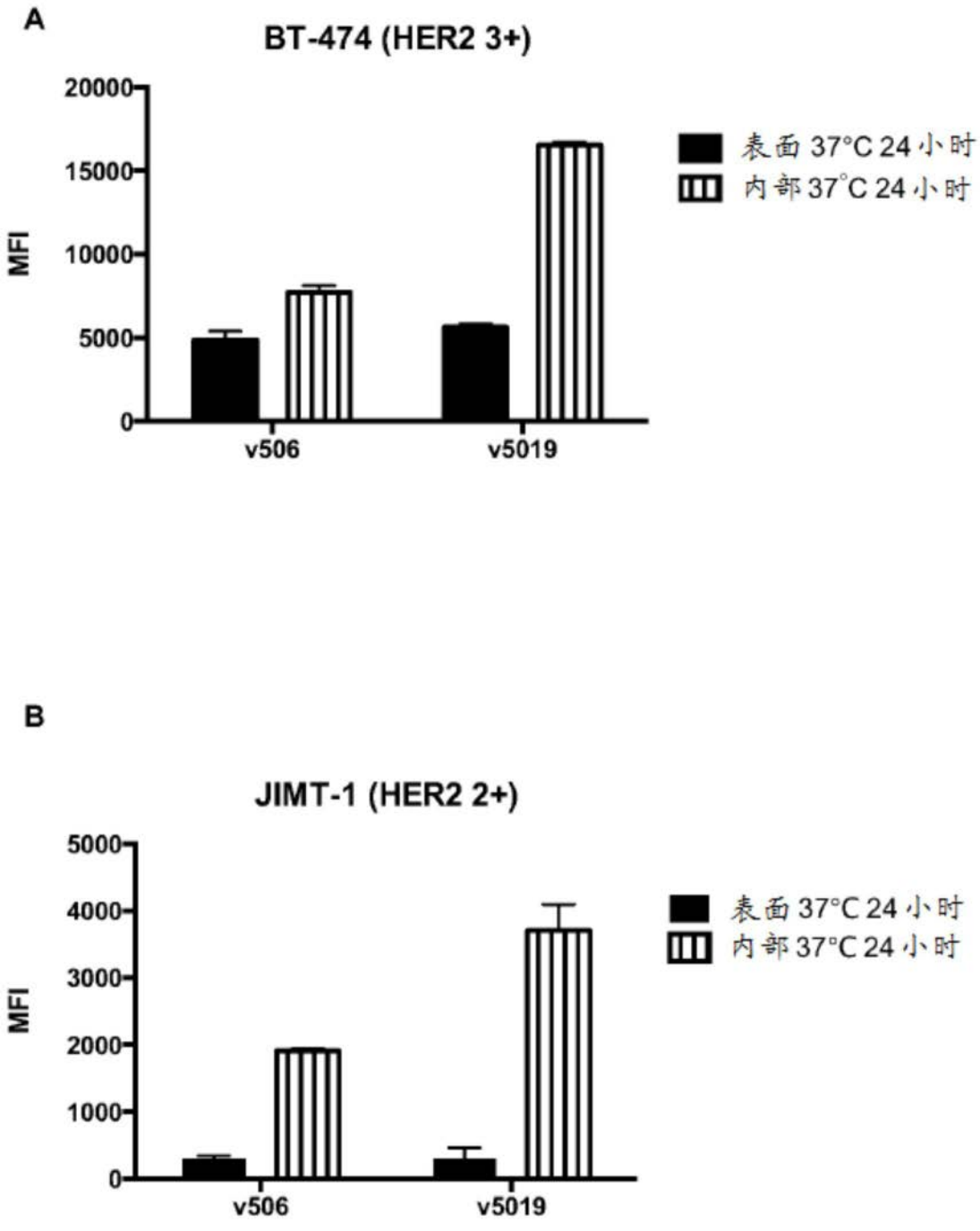

A
BT-474 (HER2 3+)
MFI
20000
15000
10000
5000
0
v506
v5019
表面 37°C 24 小时
内部 37°C 24 小时
B
JIMT-1 (HER2 2+)
MFI
5000
4000
3000
2000
1000
0
v506
v5019
表面 37°C 24 小时
内部 37°C 24 小时

图9

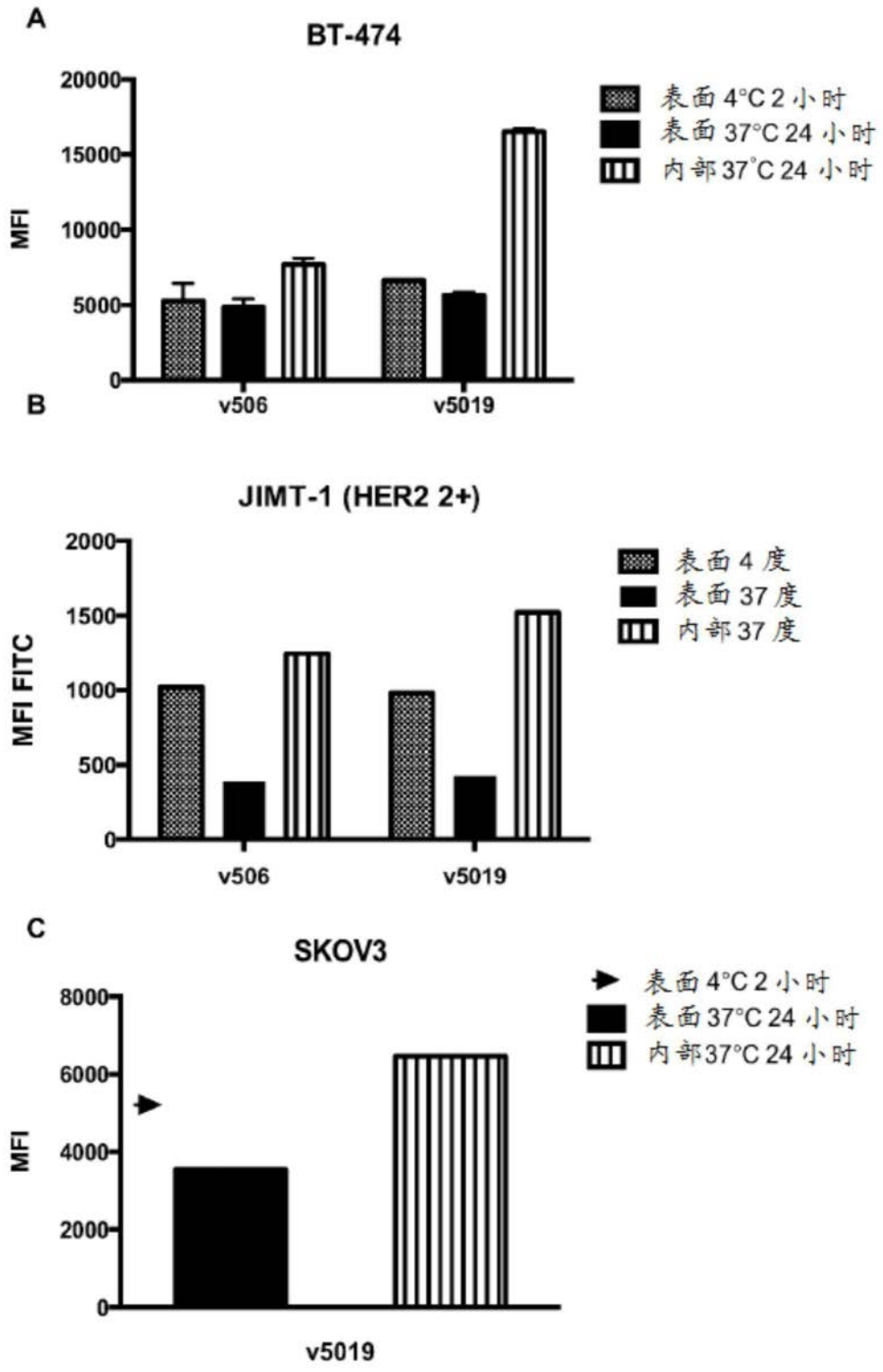

A
BT-474
MFI
20000
15000
10000
5000
0
v506
v5019
表面 4°C 2 小时
表面 37°C 24 小时
内部 37°C 24 小时
B
JIMT-1 (HER2 2+)
MFI FITC
2000
1500
1000
500
0
v506
v5019
表面 4 度
表面 37 度
内部 37 度
C
SKOV3
MFI
8000
6000
4000
2000
0
v5019
表面 4°C 2 小时
表面 37°C 24 小时
内部 37°C 24 小时

图10

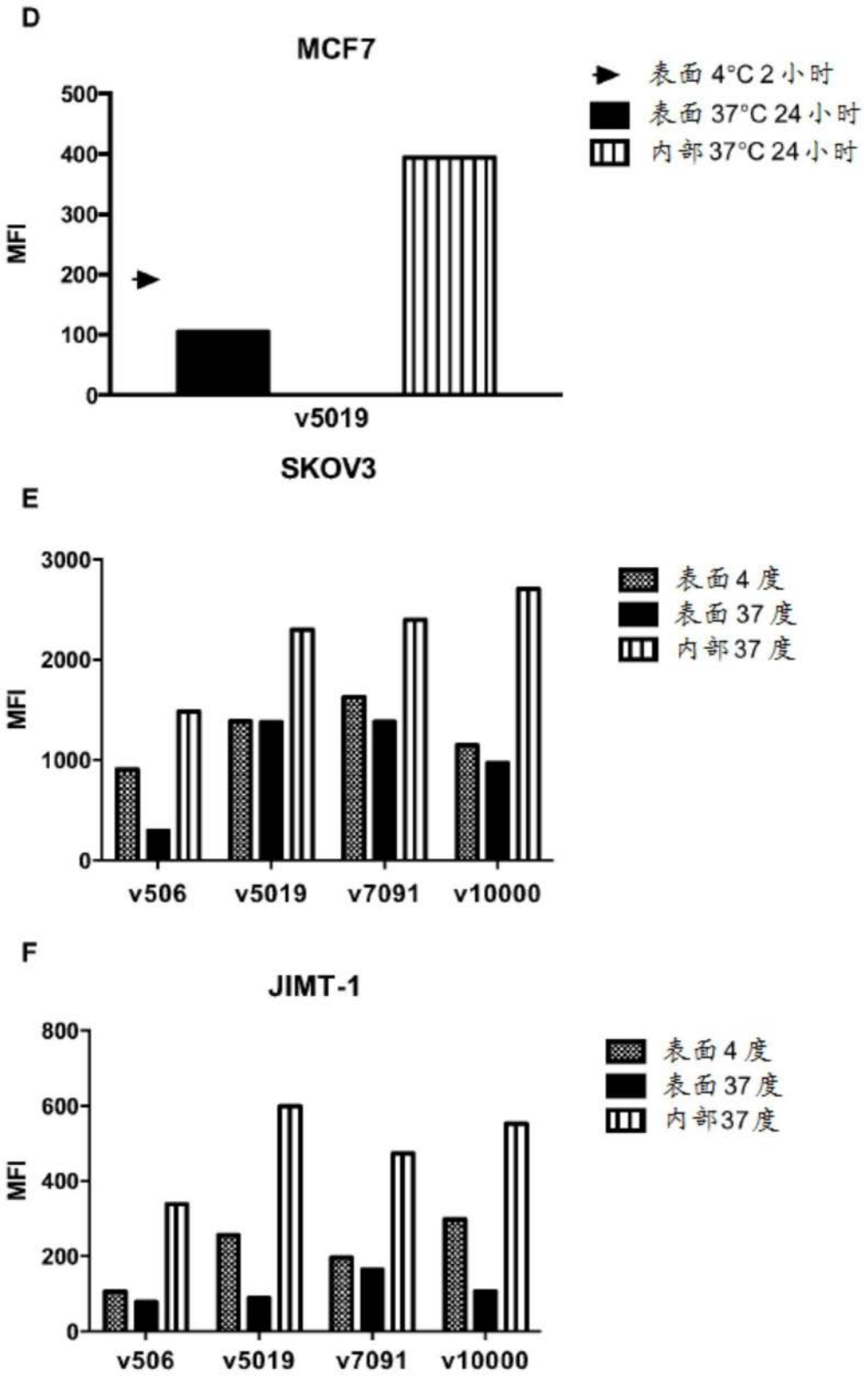

D
MCF7
表面 4°C 2 小时
表面 37°C 24 小时
内部 37°C 24 小时
MFI
500
400
300
200
100
0
v5019
SKOV3
E
3000
2000
1000
0
表面 4 度
表面 37 度
内部 37 度
v506
v5019
v7091
v10000
F
JIMT-1
800
600
400
200
0
表面 4 度
表面 37 度
内部 37 度
v506
v5019
v7091
v10000

图10(续)

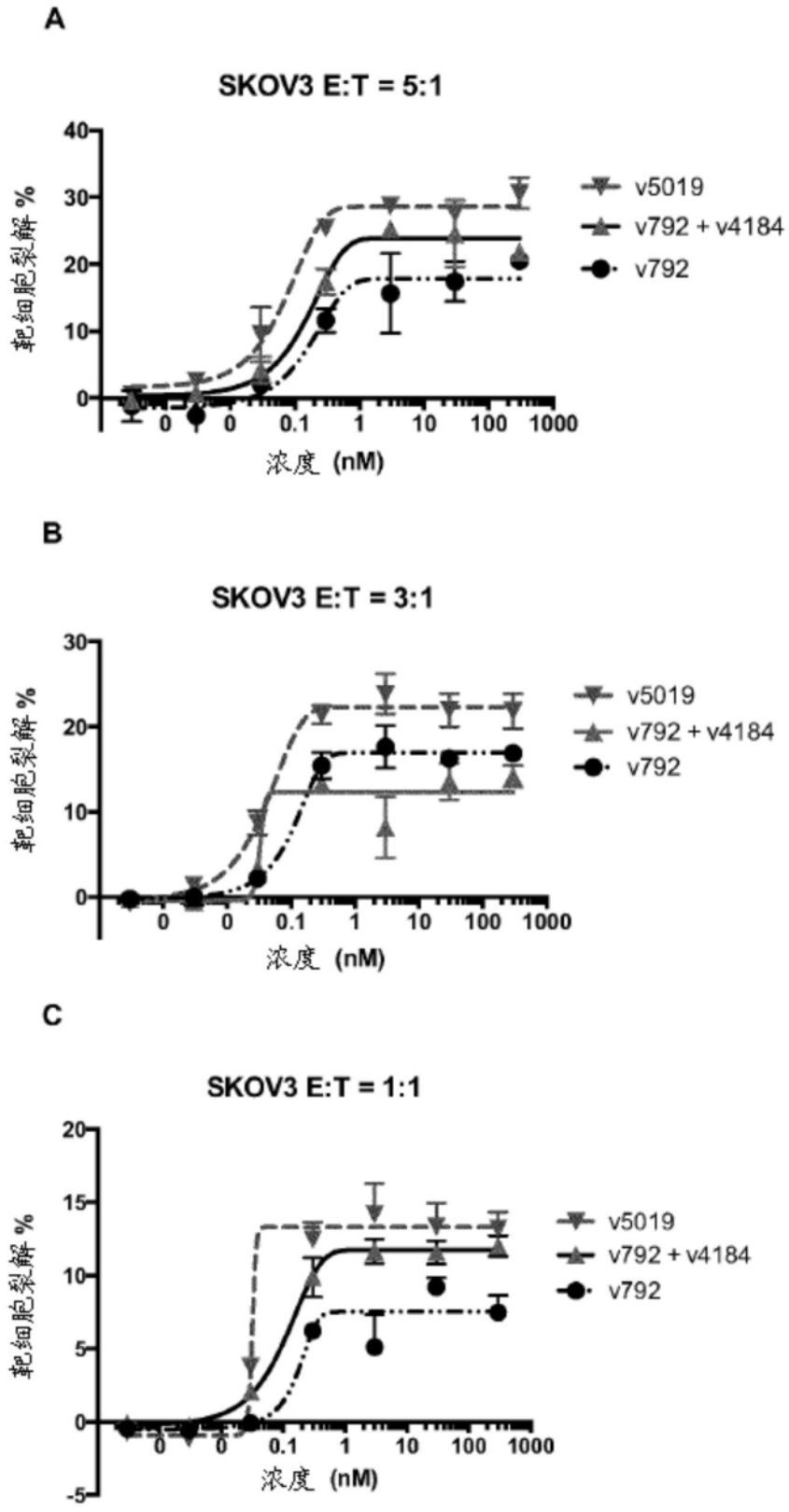

A
SKOV3 E:T = 5:1
靶细胞裂解 %
浓度 (nM)
v5019
v792 + v4184
v792
B
SKOV3 E:T = 3:1
靶细胞裂解 %
浓度 (nM)
v5019
v792 + v4184
v792
C
SKOV3 E:T = 1:1
靶细胞裂解 %
浓度 (nM)
v5019
v792 + v4184
v792

图11

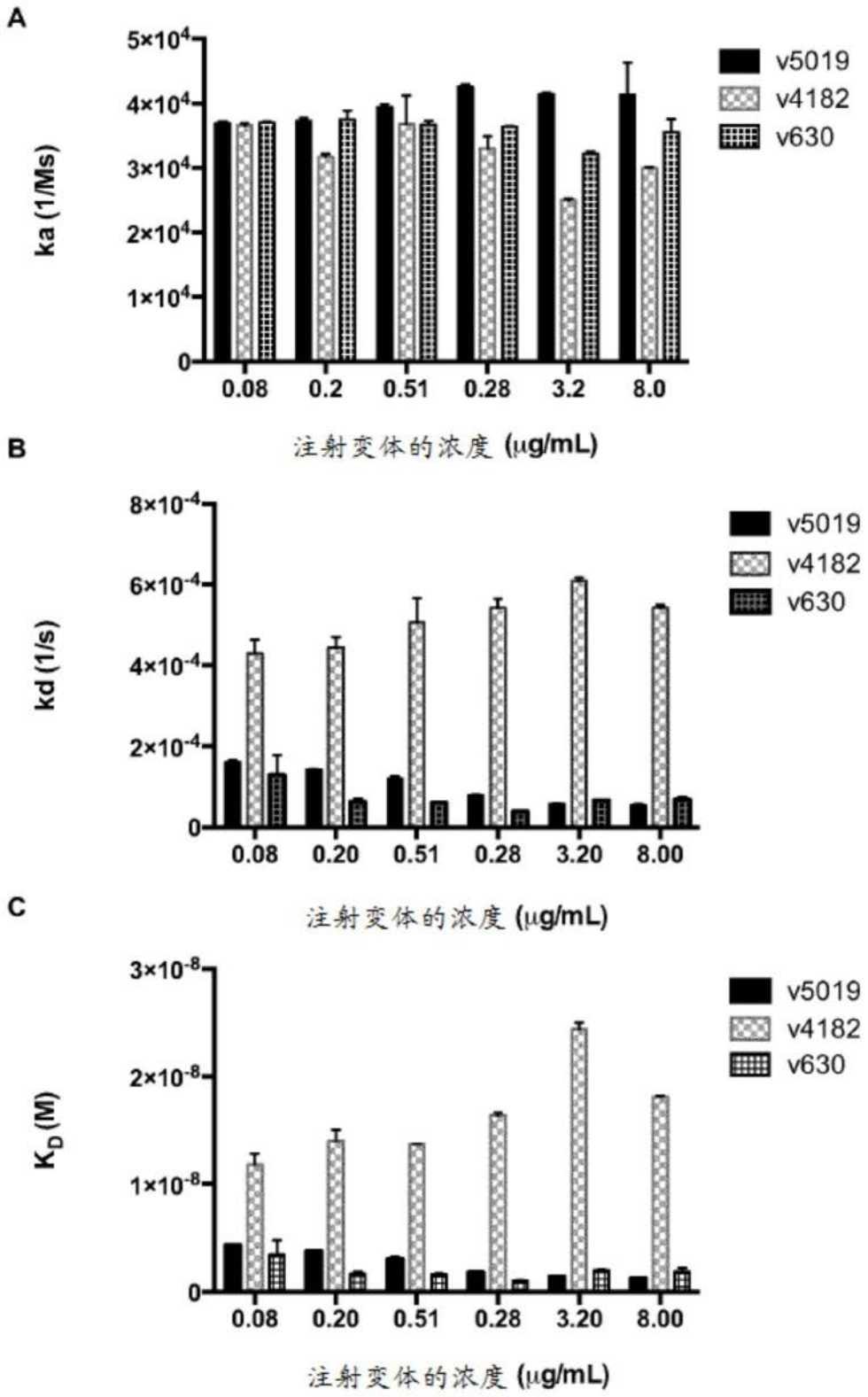

A
ka (1/Ms)
5×10^4
4×10^4
3×10^4
2×10^4
1×10^4
0
0.08
0.2
0.51
0.28
3.2
8.0
注射变体的浓度 (μg/mL)
v5019
v4182
v630
B
kd (1/s)
8×10^-4
6×10^-4
4×10^-4
2×10^-4
0
0.08
0.20
0.51
0.28
3.20
8.00
注射变体的浓度 (μg/mL)
v5019
v4182
v630
C
K_D (M)
3×10^-8
2×10^-8
1×10^-8
0
0.08
0.20
0.51
0.28
3.20
8.00
注射变体的浓度 (μg/mL)
v5019
v4182
v630

图12

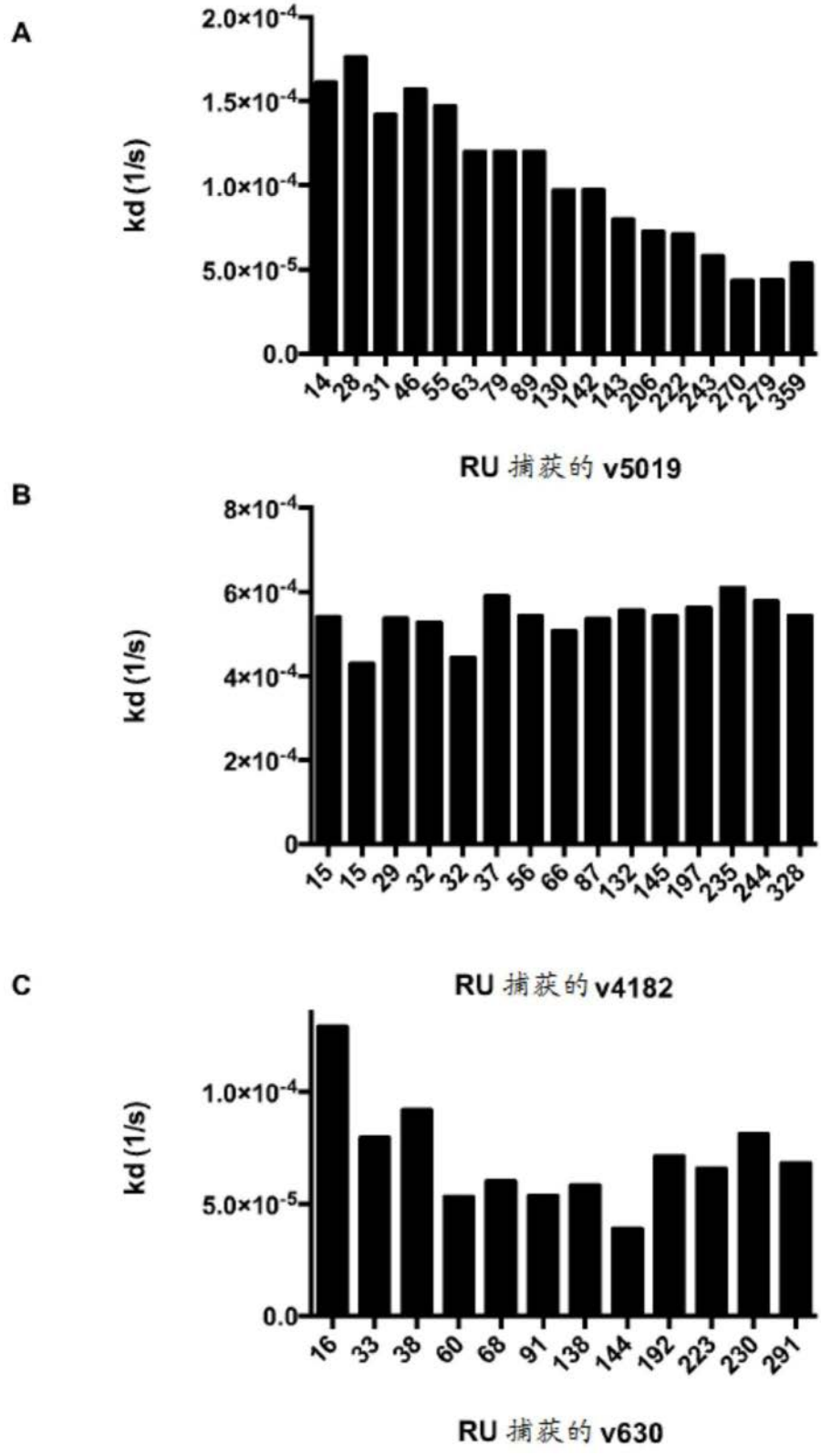

A
kd (1/s)
2.0×10-4
1.5×10-4
1.0×10-4
5.0×10-5
0.0
14 28 31 46 55 63 79 89 130 142 143 206 222 243 270 279 359
RU 捕获的 v5019
B
kd (1/s)
8×10-4
6×10-4
4×10-4
2×10-4
0
15 15 29 32 32 37 56 66 87 132 145 197 235 244 328
RU 捕获的 v4182
C
kd (1/s)
1.0×10-4
5.0×10-5
0.0
16 33 38 60 68 91 138 144 192 223 230 291
RU 捕获的 v630

图13

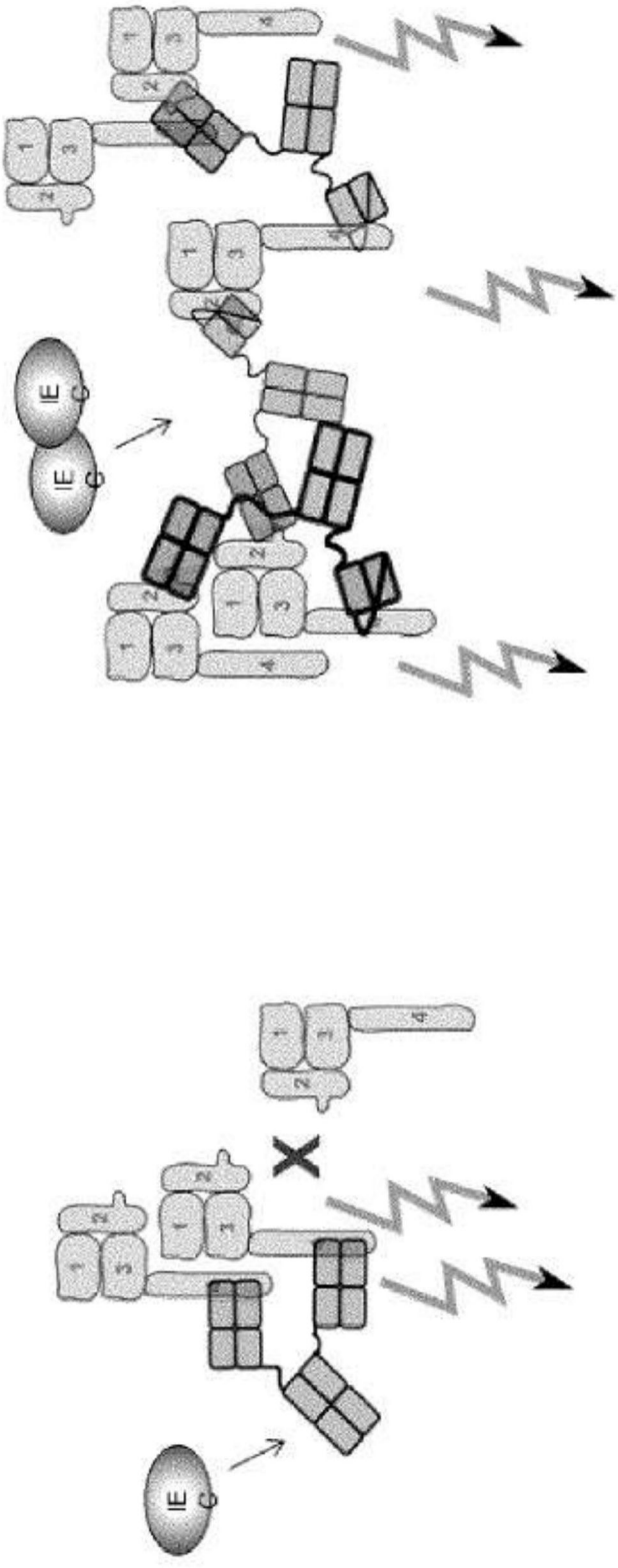


图14

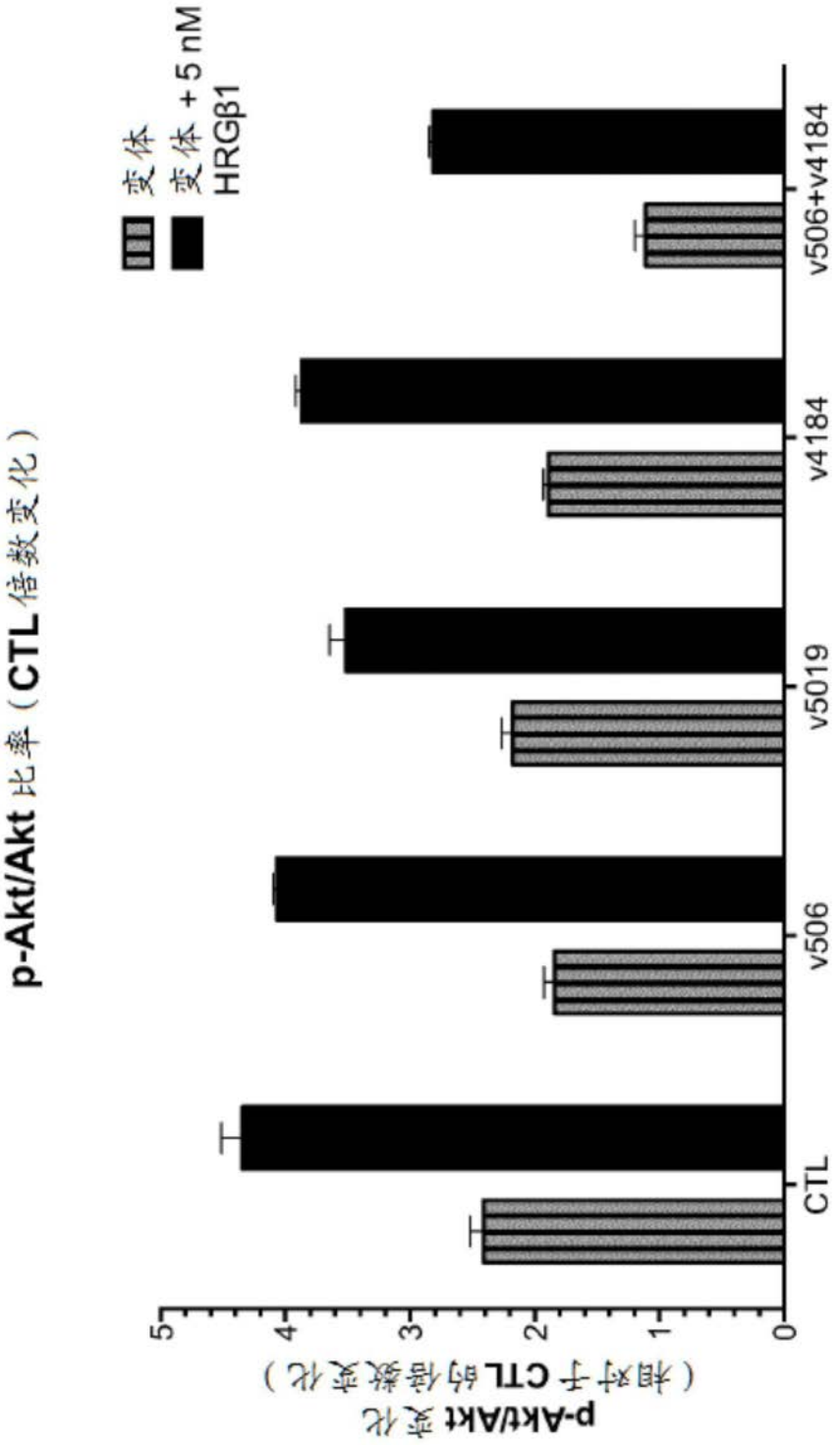

p-Akt/Akt 比率（CTL 倍数变化）
变体
变体 + 5 nM HRGβ1
CTL
v506
v5019
v4184
v506+v4184
p-Akt/Akt 变化
（相对于 CTL 的倍数变化）
0
1
2
3
4
5

图15

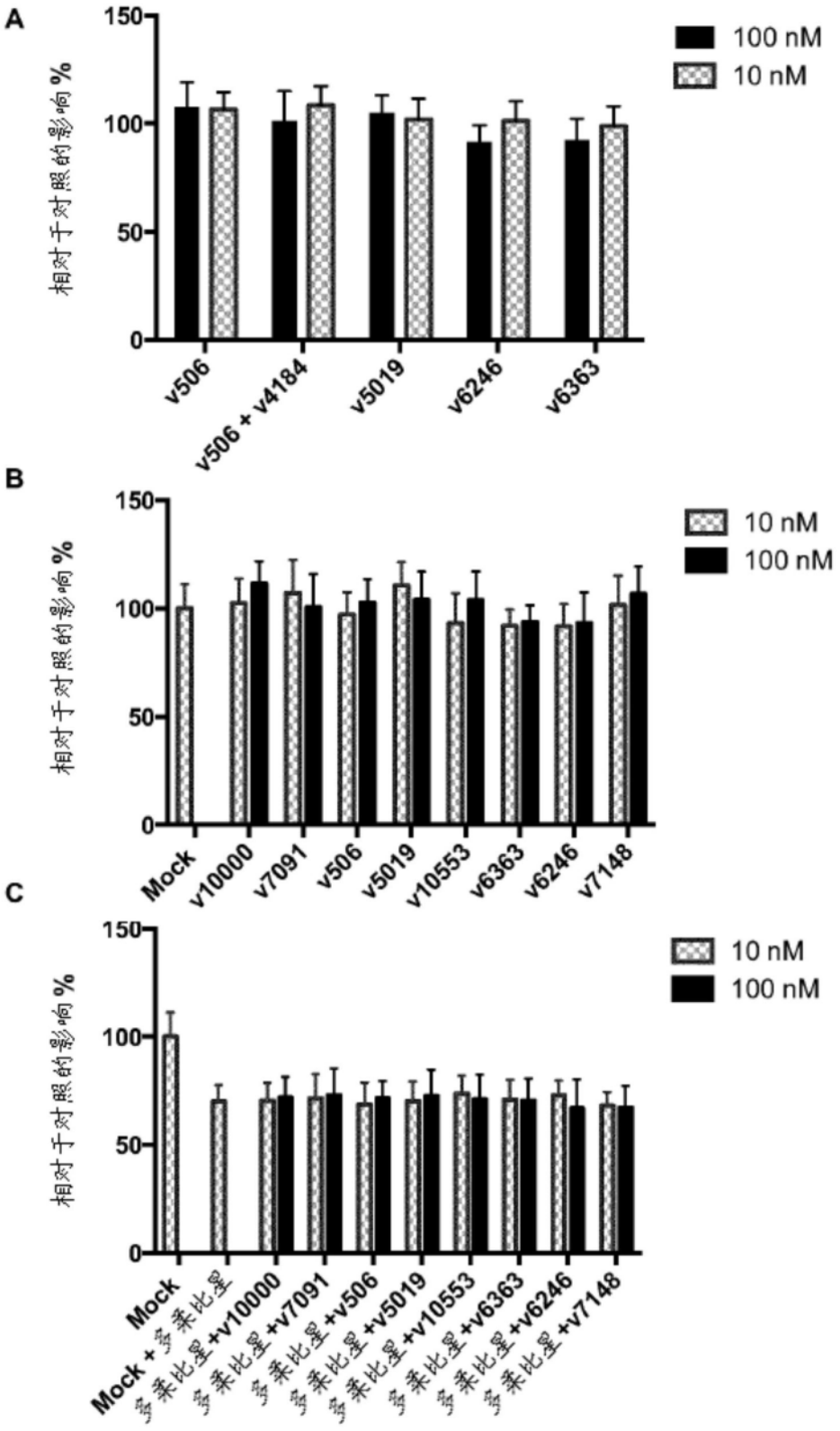

A
150
100
50
0
相对于对照的影响 %
100 nM
10 nM
v506
v506 + v4184
v5019
v6246
v6363
B
150
100
50
0
相对于对照的影响 %
10 nM
100 nM
Mock
v10000
v7091
v506
v5019
v10553
v6363
v6246
v7148
C
150
100
50
0
相对于对照的影响 %
10 nM
100 nM
Mock
Mock + 马莱比星
马莱比星+v10000
马莱比星+v7091
马莱比星+v506
马莱比星+v5019
马莱比星+v10553
马莱比星+v6363
马莱比星+v6246
马莱比星+v7148

图16

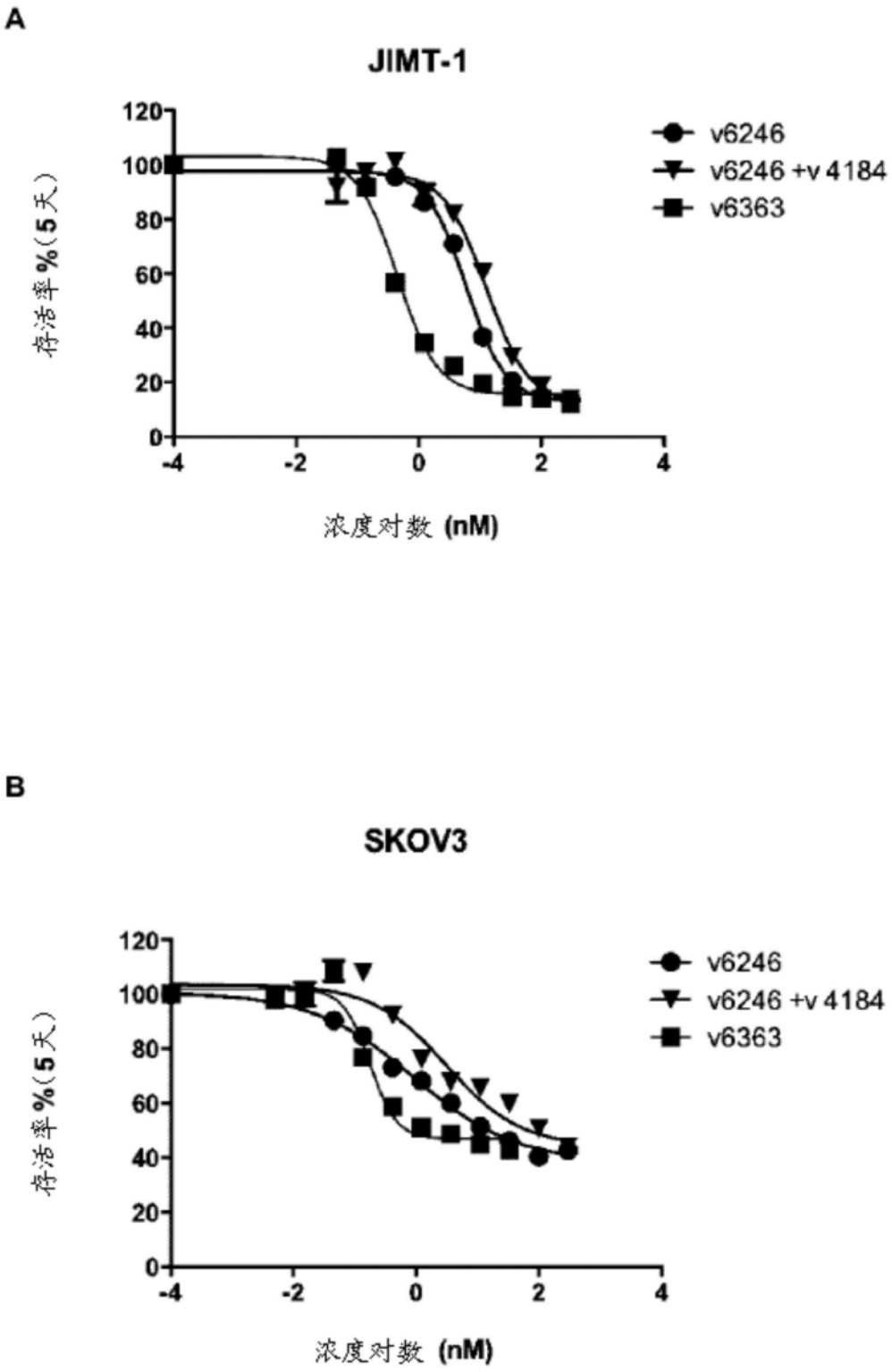
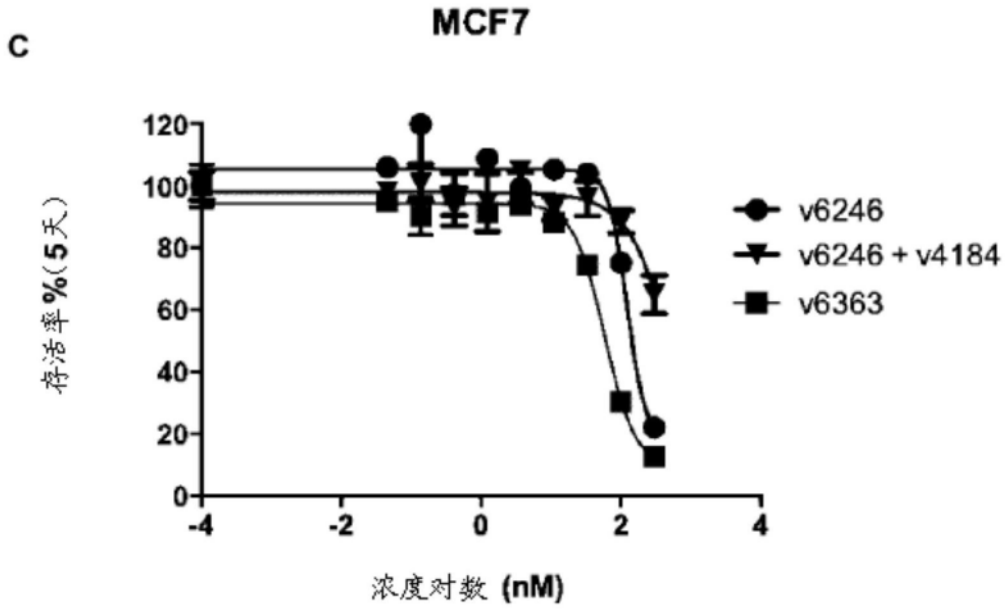

A
JIMT-1
存活率%(5天)
120
100
80
60
40
20
0
-4
-2
0
2
4
浓度对数 (nM)
v6246
v6246 +v 4184
v6363
B
SKOV3
存活率%(5天)
120
100
80
60
40
20
0
-4
-2
0
2
4
浓度对数 (nM)
v6246
v6246 +v 4184
v6363

图17


C
MCF7
存活率%(5天)
120
100
80
60
40
20
0
-4
-2
0
2
4
浓度对数 (nM)
v6246
v6246 + v4184
v6363

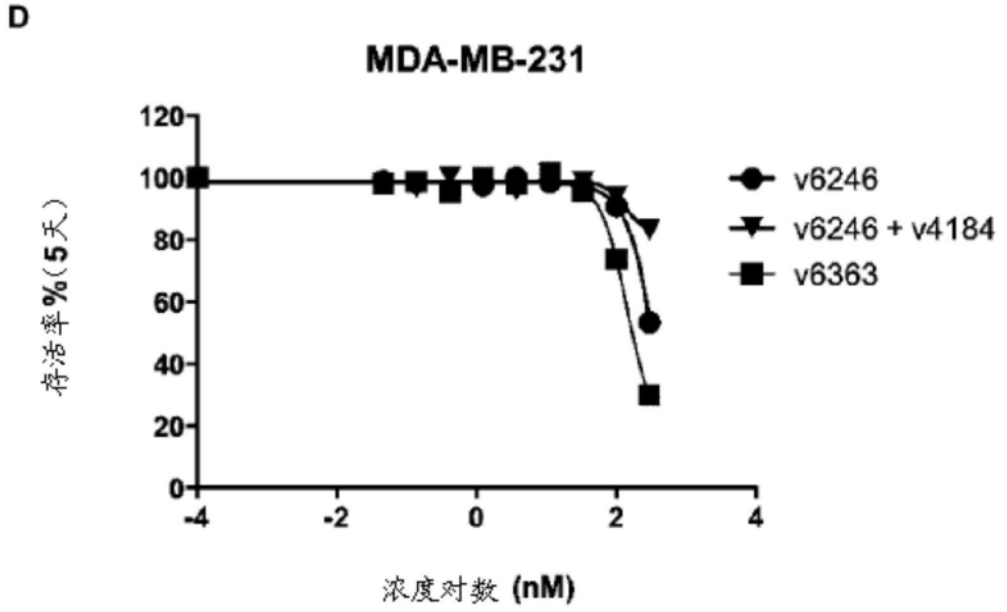

D
MDA-MB-231
存活率%(5天)
120
100
80
60
40
20
0
-4
-2
0
2
4
浓度对数 (nM)
v6246
v6246 + v4184
v6363

图17(续)

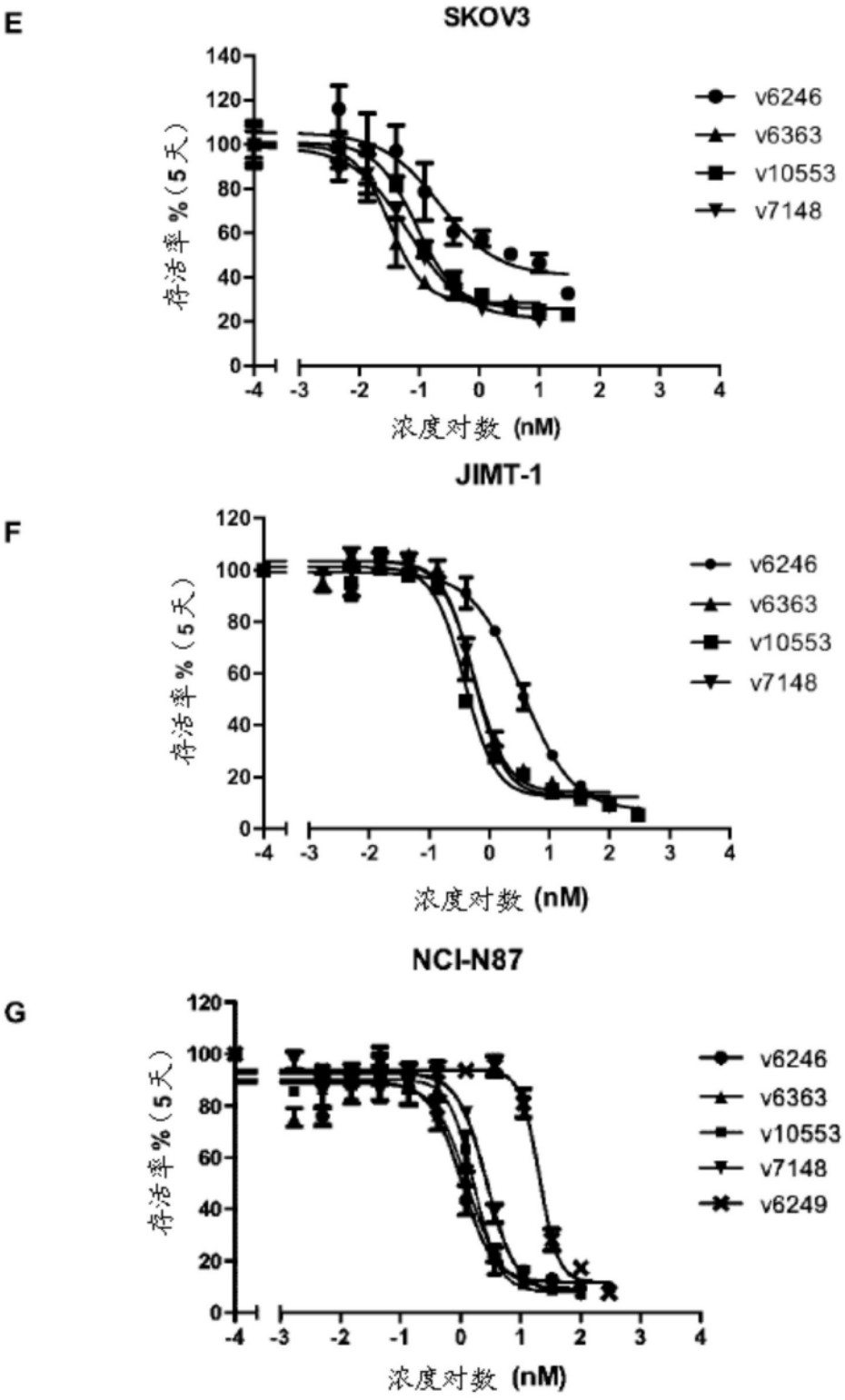

E
SKOV3
存活率%（5天）
浓度对数 (nM)
v6246
v6363
v10553
v7148
F
JIMT-1
存活率%（5天）
浓度对数 (nM)
v6246
v6363
v10553
v7148
G
NCI-N87
存活率%（5天）
浓度对数 (nM)
v6246
v6363
v10553
v7148
v6249

图17(续)

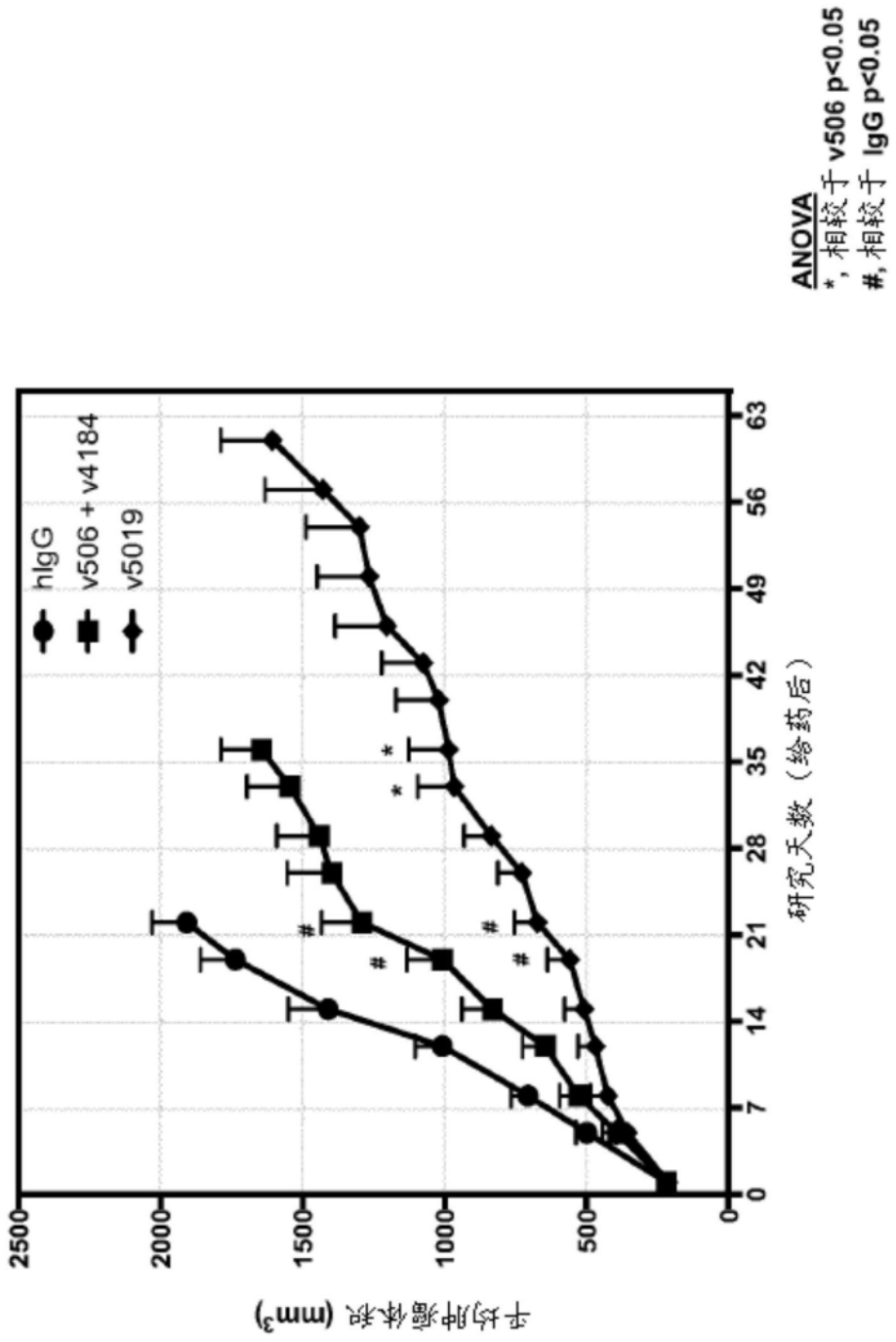

ANOVA
*, 相较于 v506 p<0.05
#, 相较于 IgG p<0.05
hIgG
v506 + v4184
v5019
平均肿瘤体积 (mm³)
研究天数（给药后）
0
500
1000
1500
2000
2500
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63

图18A

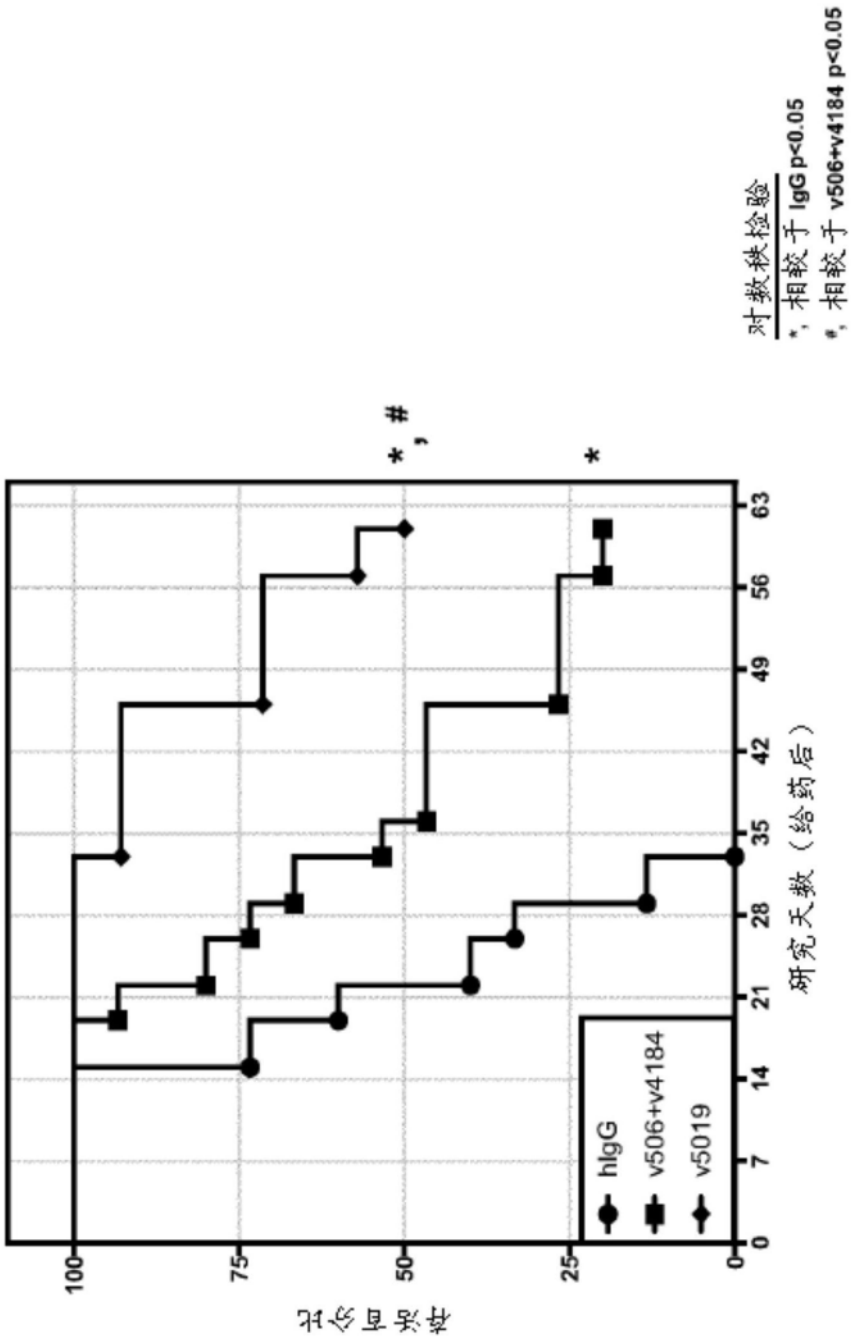

对数秩检验
*, 相较于 IgG p<0.05
#, 相较于 v506+v4184 p<0.05
*
*, #
存活百分比
100
75
50
25
0
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
研究天数（给药后）
hIgG
v506+v4184
v5019

图18B

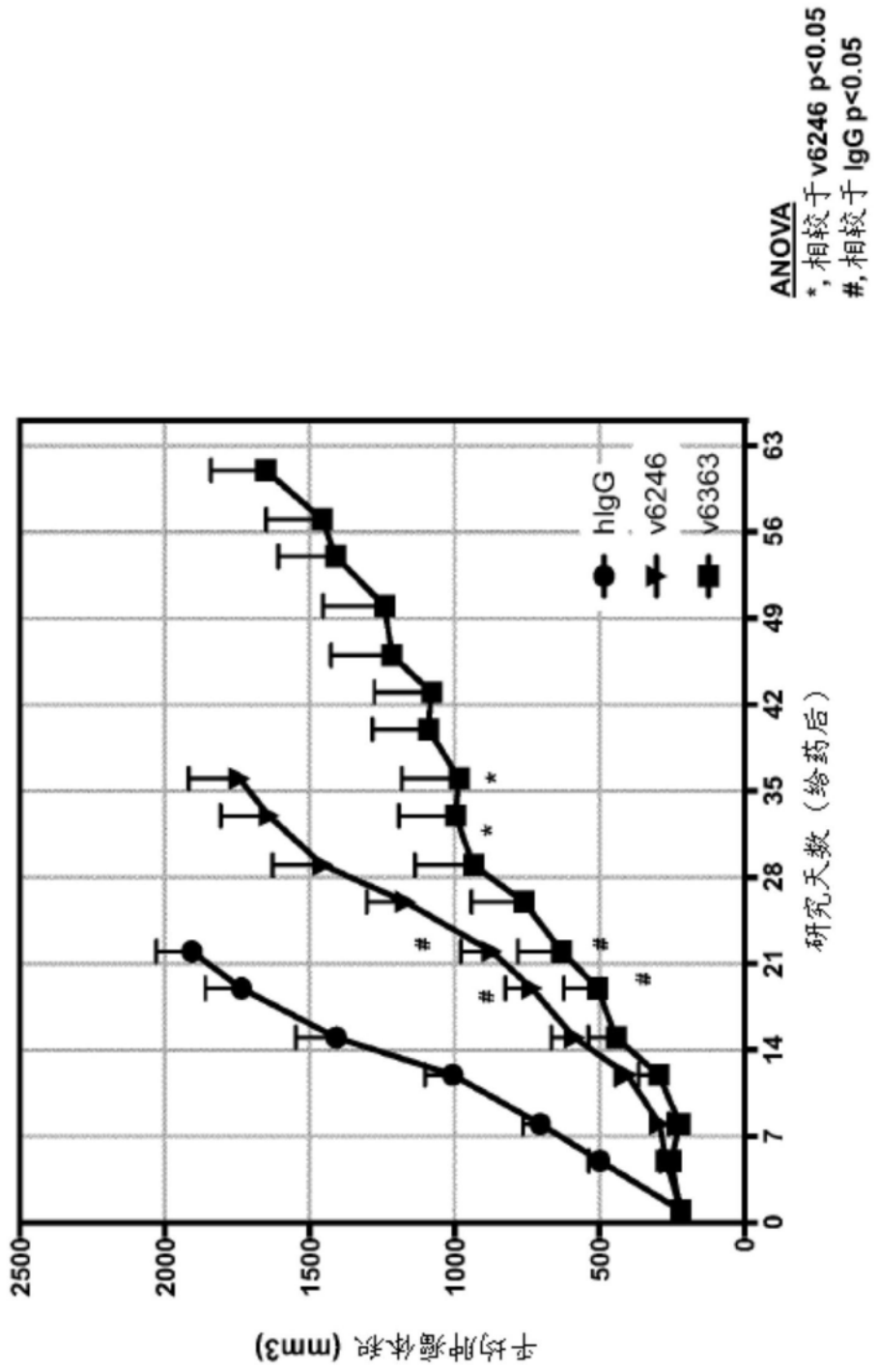

ANOVA
*,相较于v6246 p<0.05
#,相较于 IgG p<0.05
hIgG
v6246
v6363
平均肿瘤体积 (mm3)
研究天数（给药后）
0
500
1000
1500
2000
2500
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63

图19A

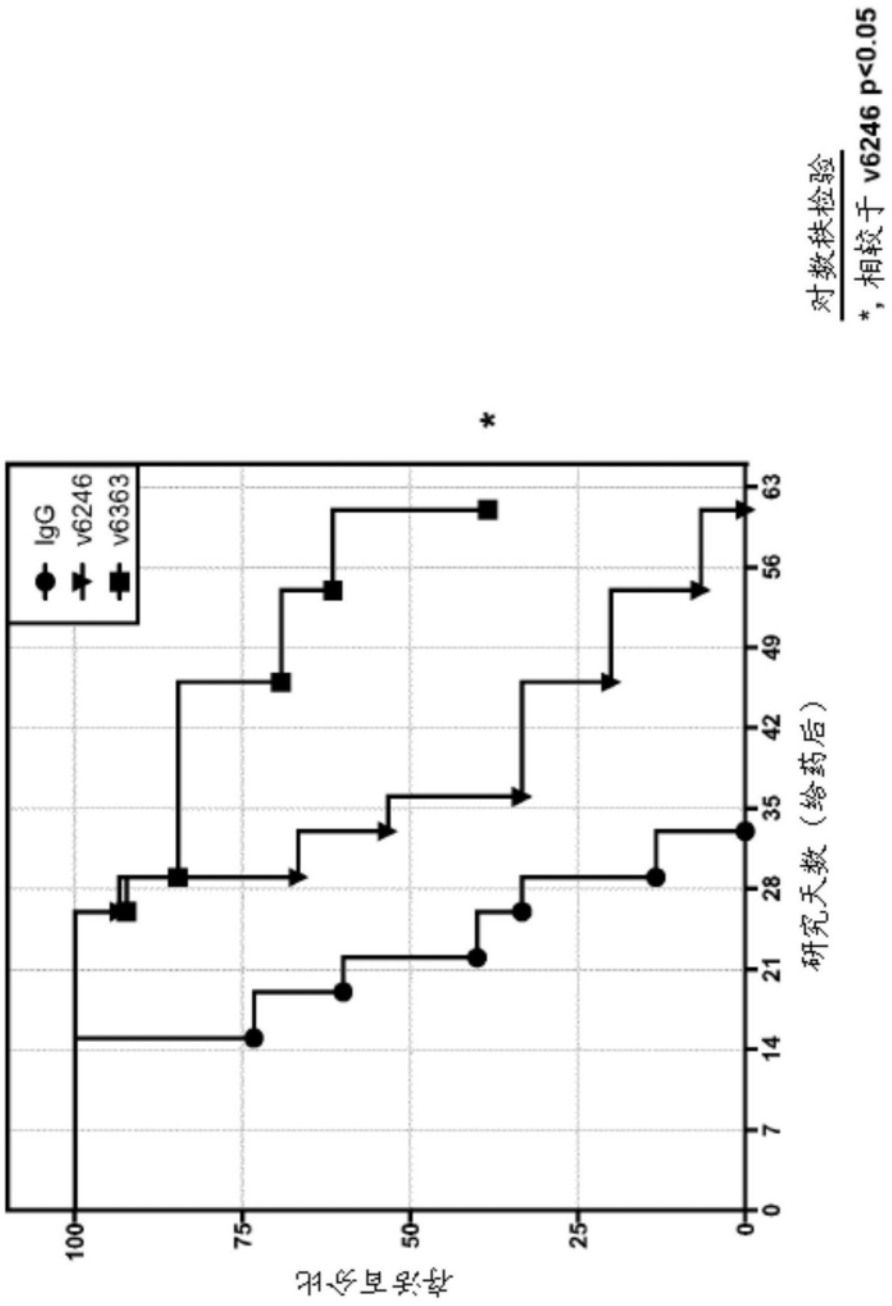

对数秩检验
*，相较于 v6246 p<0.05
*
IgG
v6246
v6363
存活百分比
100
75
50
25
0
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
研究天数（给药后）

图19B

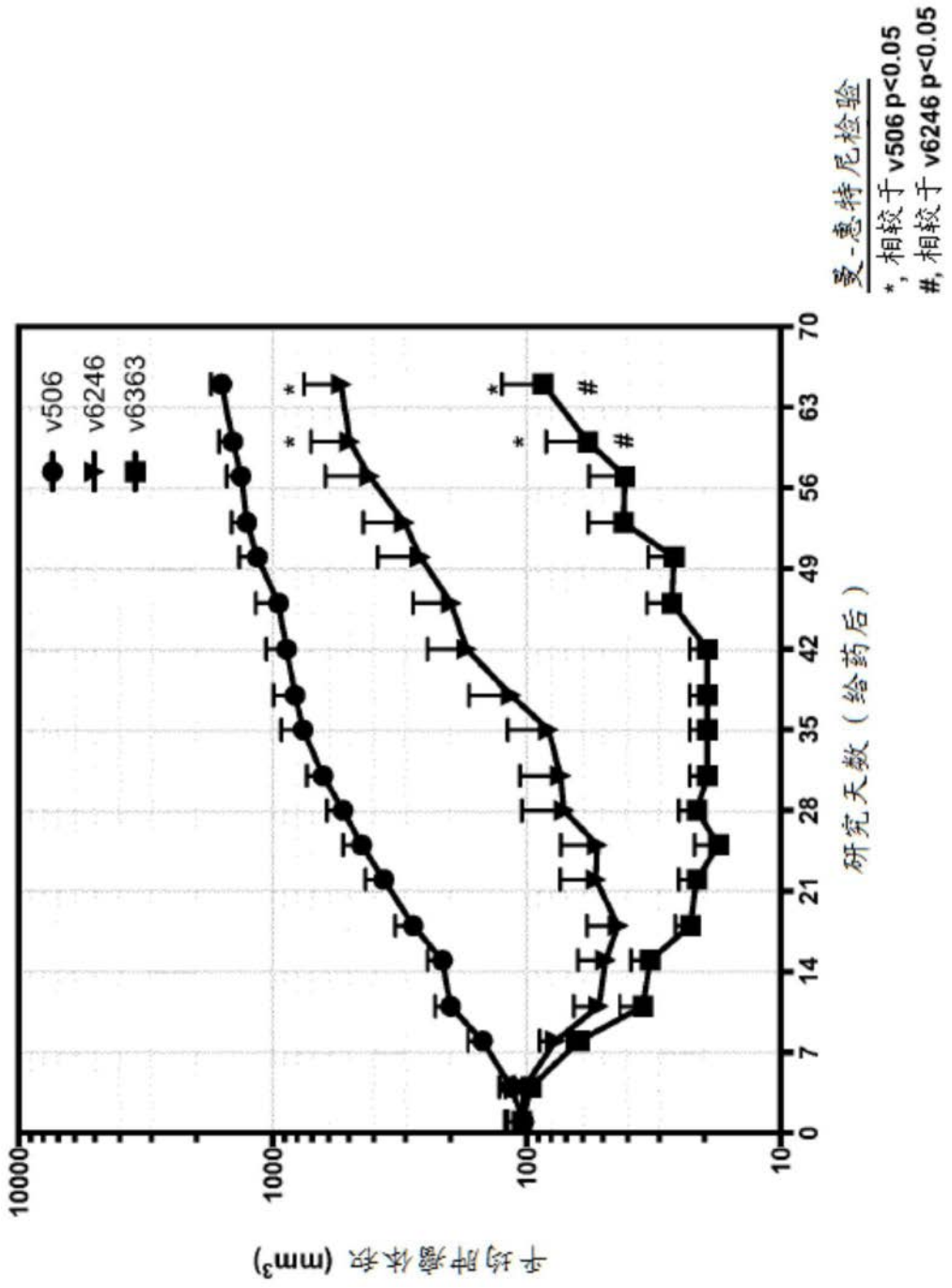

v506
v6246
v6363
10000
1000
100
10
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
70
平均肿瘤体积 (mm³)
研究天数（给药后）
受-惠特尼检验
*，相较于 v506 p<0.05
#，相较于 v6246 p<0.05

图20

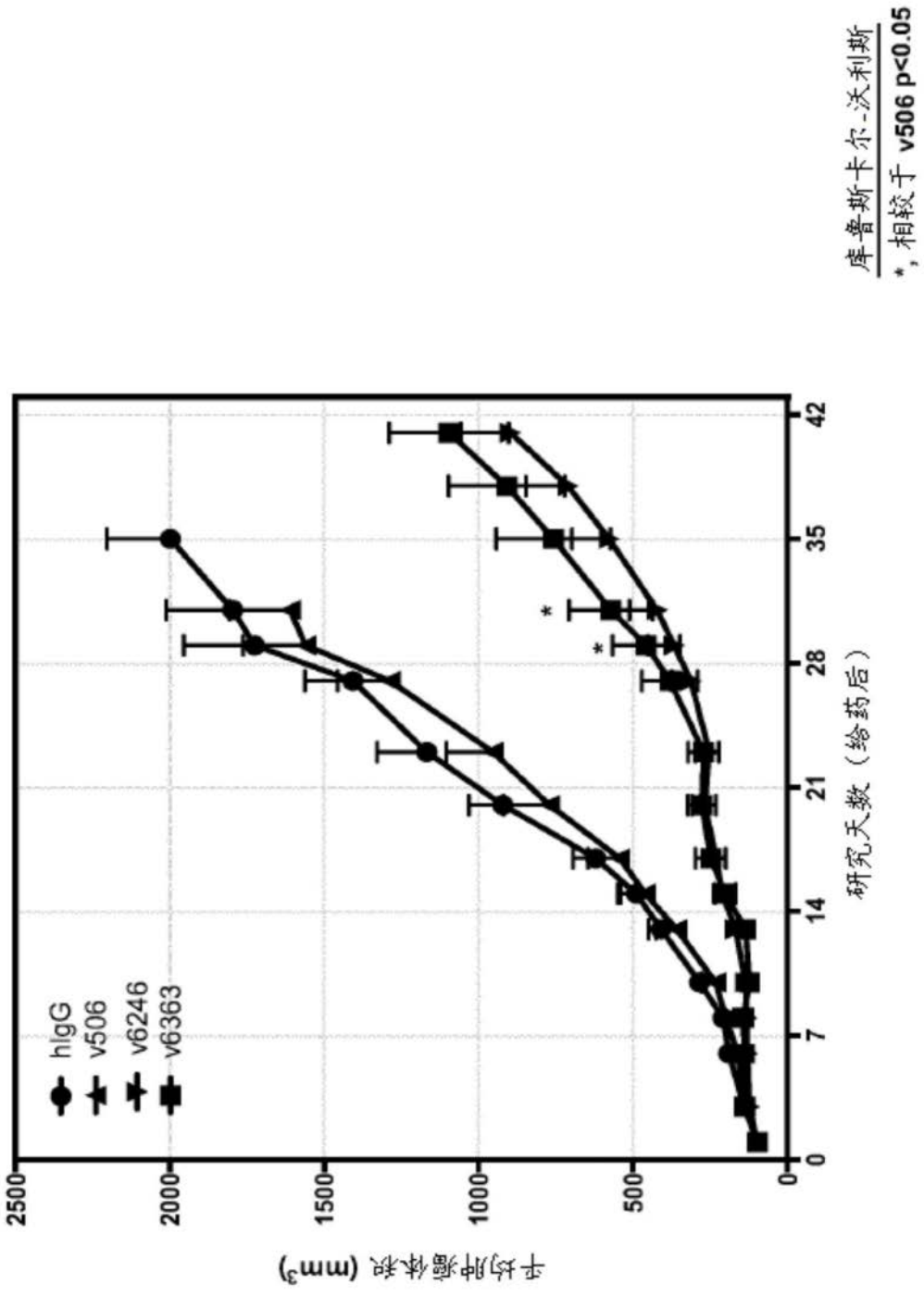

库鲁斯卡尔-沃利斯
*, 相较于 v506 p<0.05
hIgG
v506
v6246
v6363
2500
2000
1500
1000
500
0
0
7
14
21
28
35
42
研究天数（给药后）
平均肿瘤体积 (mm³)

图21

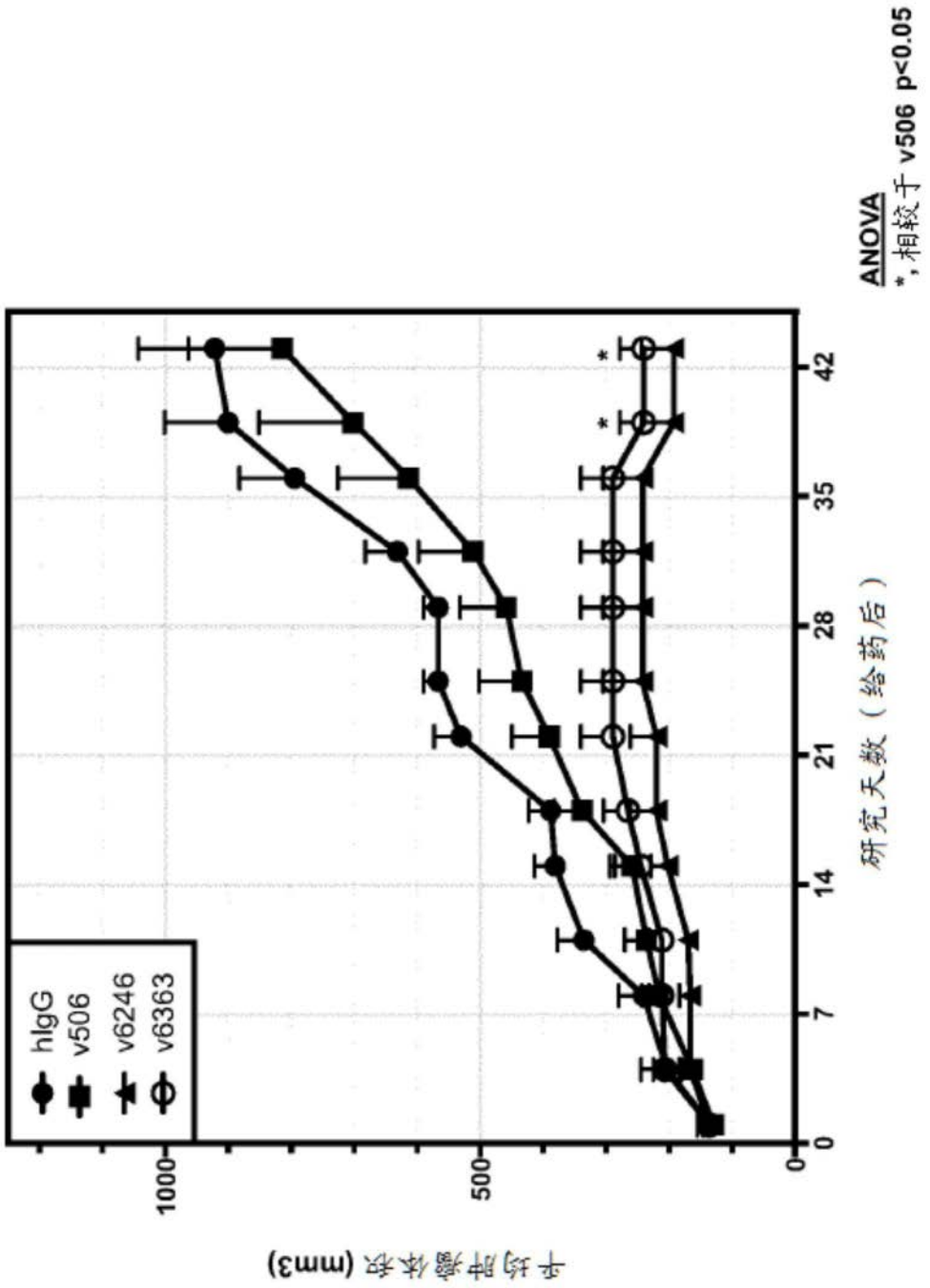

ANOVA
*,相较于 v506 p<0.05
hIgG
v506
v6246
v6363
1000
500
0
0
7
14
21
28
35
42
*
*
研究天数（给药后）
平均肿瘤体积 (mm3)

图22

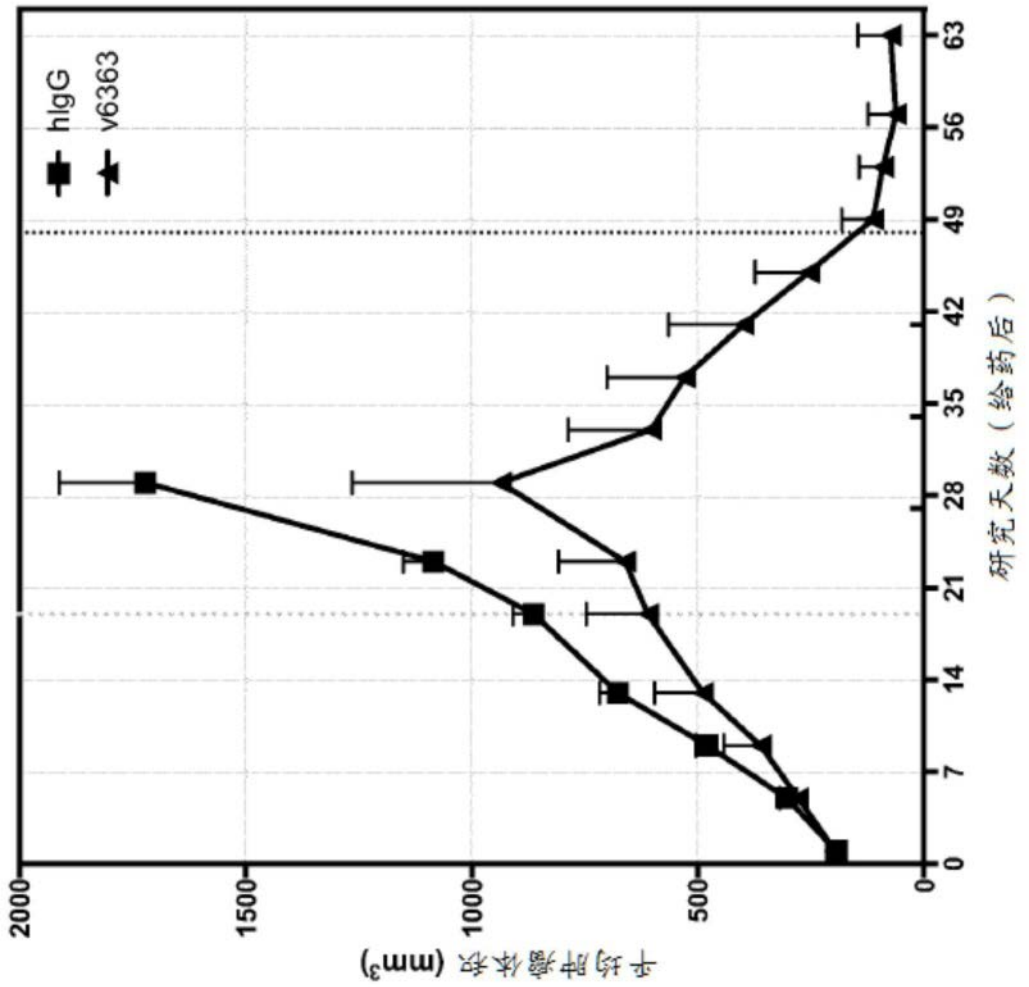

hIgG
v6363
2000
1500
1000
500
0
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
平均肿瘤体积 (mm3)
研究天数（给药后）

图23

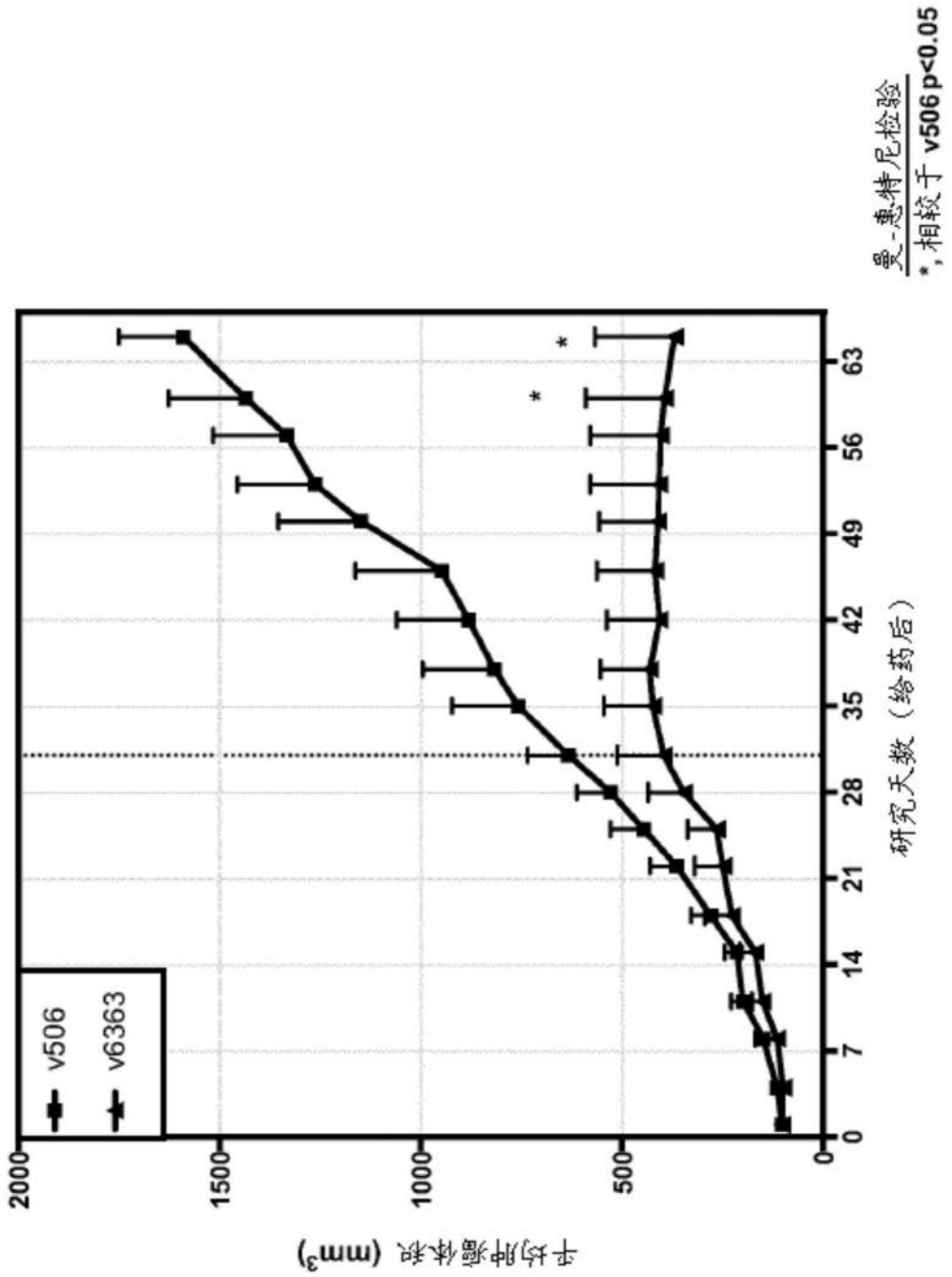

曼-惠特尼检验
*，相较于 v506 p<0.05
平均肿瘤体积 (mm3)
2000
1500
1000
500
0
v506
v6363
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
研究天数（给药后）
*
*

图24

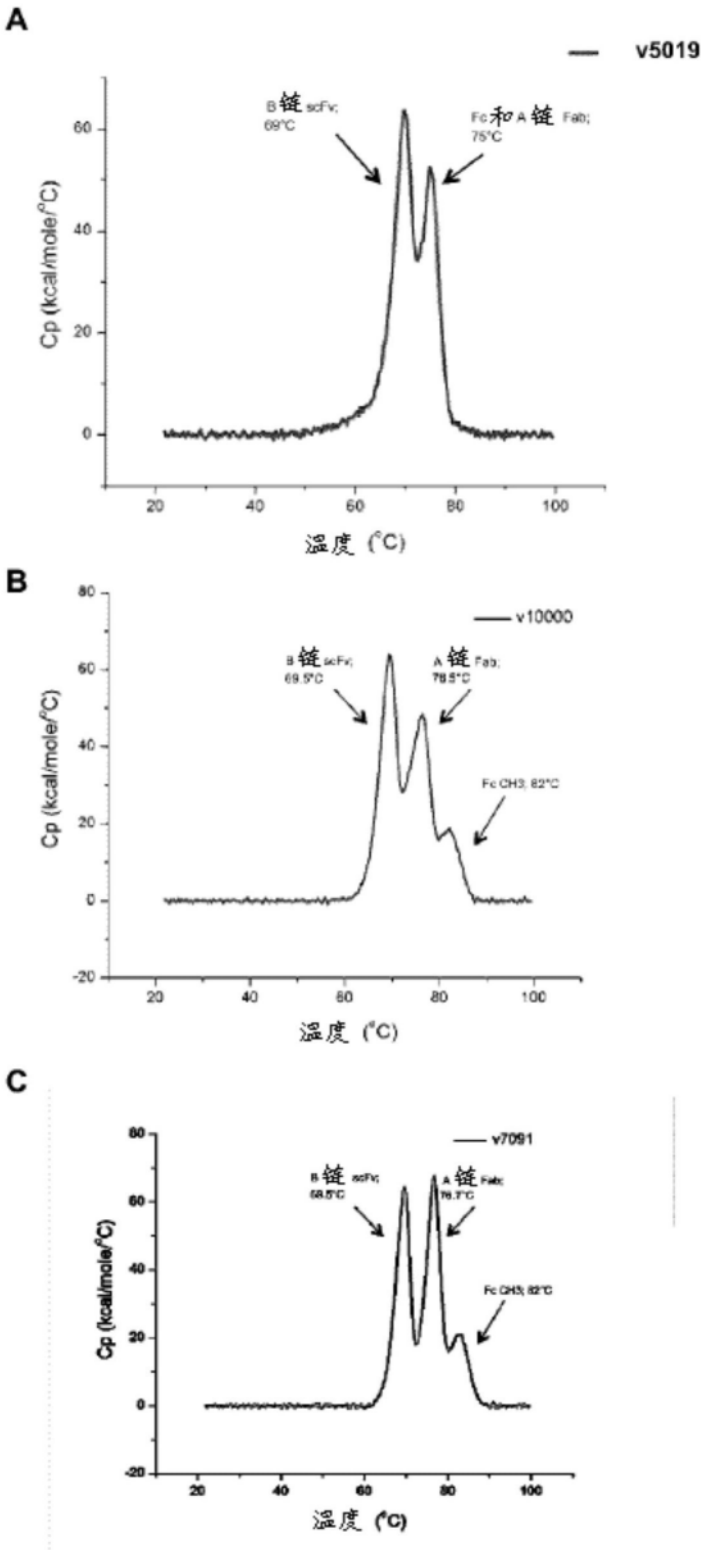

A
v5019
B链 scFv; 69°C
Fc和A链 Fab; 75°C
Cp (kcal/mole/°C)
温度 (°C)
B
v10000
B链 scFv; 69.5°C
A链 Fab; 78.5°C
Fc CH3; 82°C
Cp (kcal/mole/°C)
温度 (°C)
C
v7091
B链 scFv; 68.5°C
A链 Fab; 78.3°C
Fc CH3; 82°C
Cp (kcal/mole/°C)
温度 (°C)

图25

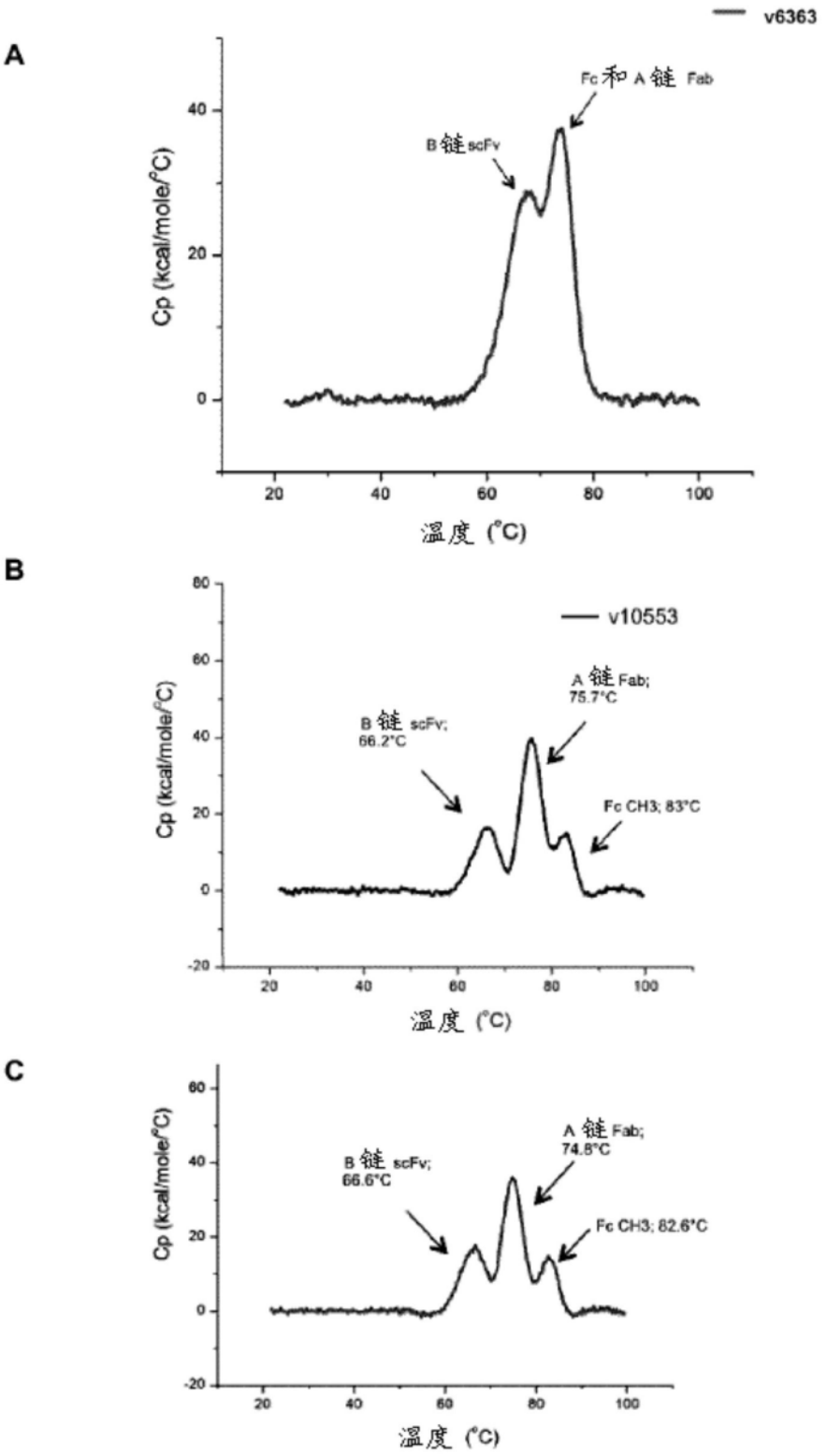
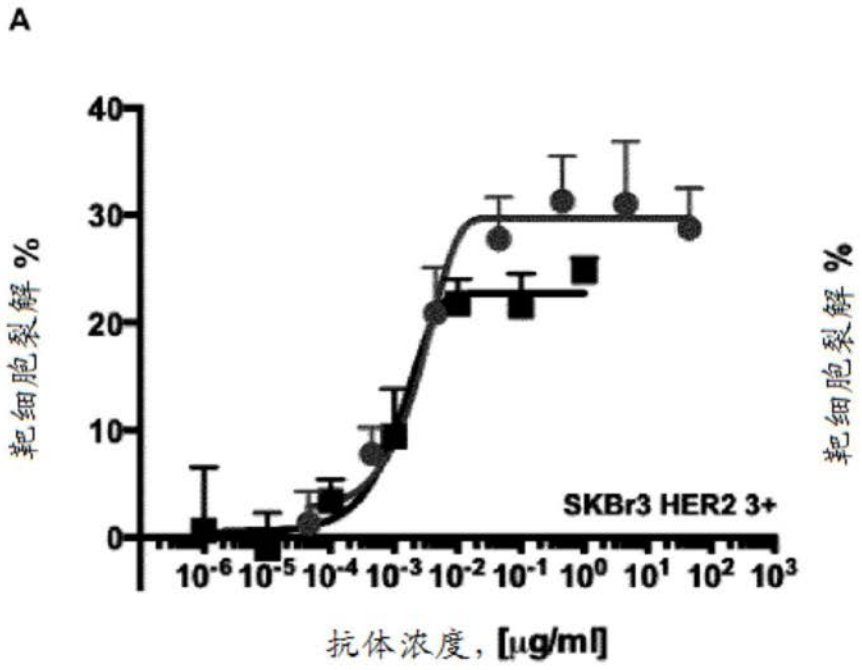

A
v6363
Fc和A链 Fab
B链scFv
Cp (kcal/mole/°C)
温度 (°C)
B
v10553
A链Fab;
75.7°C
B链 scFv;
66.2°C
Fc CH3; 83°C
Cp (kcal/mole/°C)
温度 (°C)
C
A链Fab;
74.8°C
B链 scFv;
66.6°C
Fc CH3; 82.6°C
Cp (kcal/mole/°C)
温度 (°C)

图26


A
靶细胞裂解 %
40
30
20
10
0
SKBr3 HER2 3+
10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102 103
抗体浓度，[μg/ml]
靶细胞裂解 %

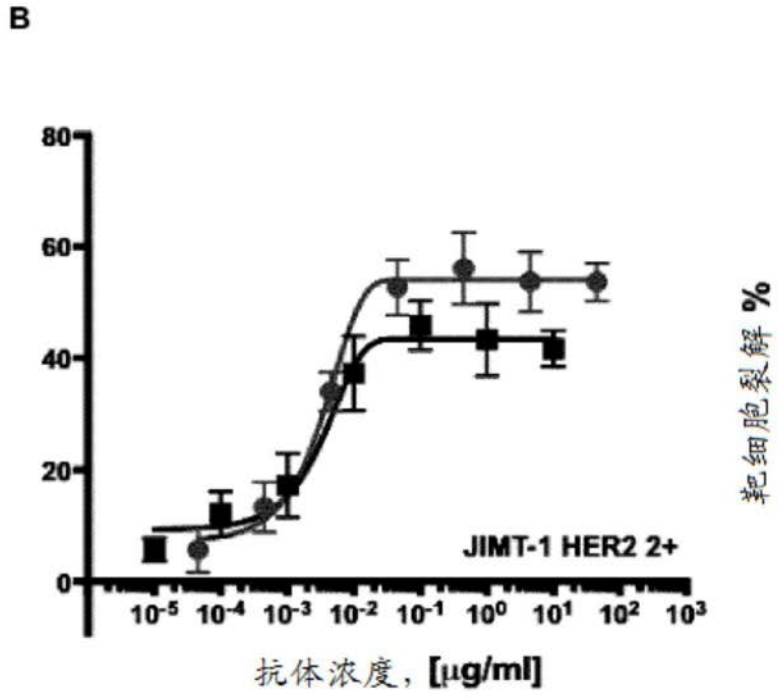
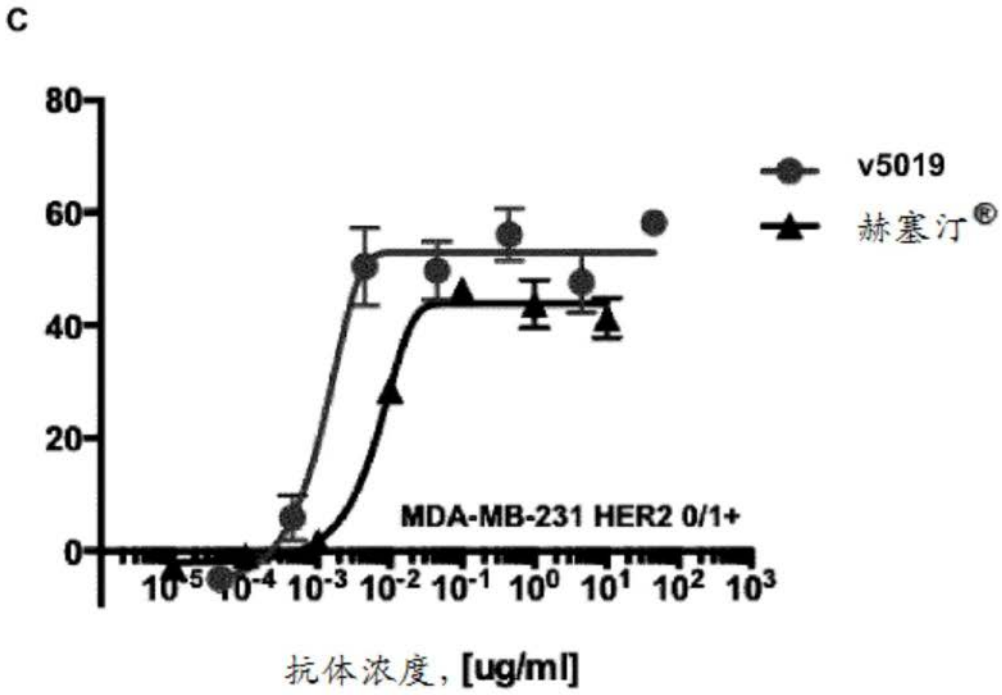

B
80
60
40
20
0
JIMT-1 HER2 2+
10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102 103
抗体浓度，[μg/ml]
靶细胞裂解 %

图27


C
80
60
40
20
0
v5019
赫塞汀®
MDA-MB-231 HER2 0/1+
10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102 103
抗体浓度，[ug/ml]

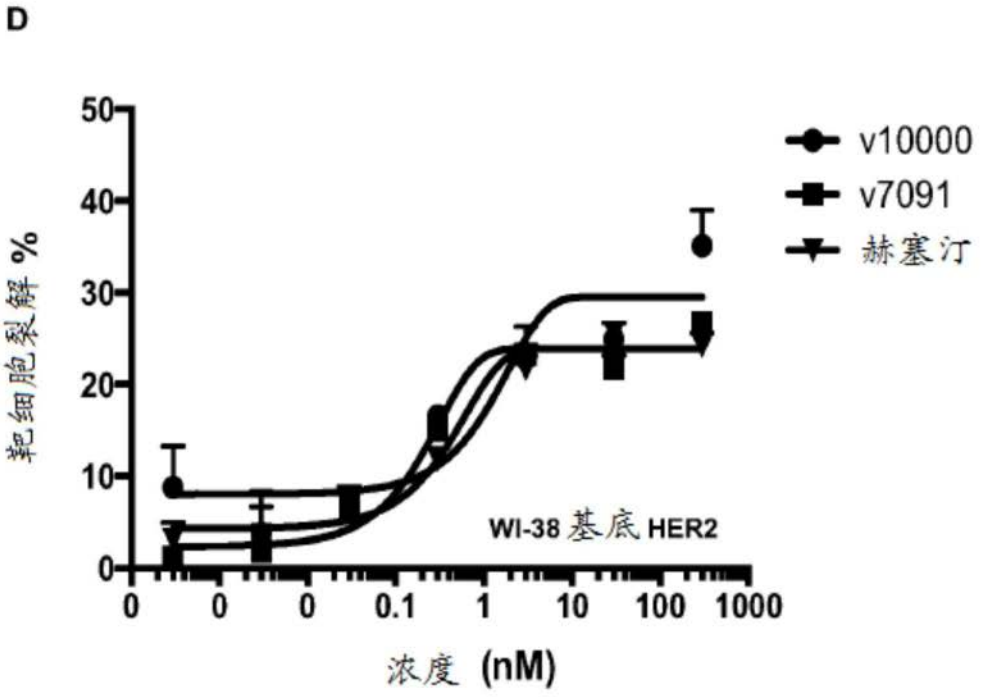

D
50
40
30
20
10
0
靶细胞裂解 %
v10000
v7091
赫塞汀
WI-38 基底 HER2
0 0 0 0.1 1 10 100 1000
浓度 (nM)

图27(续)

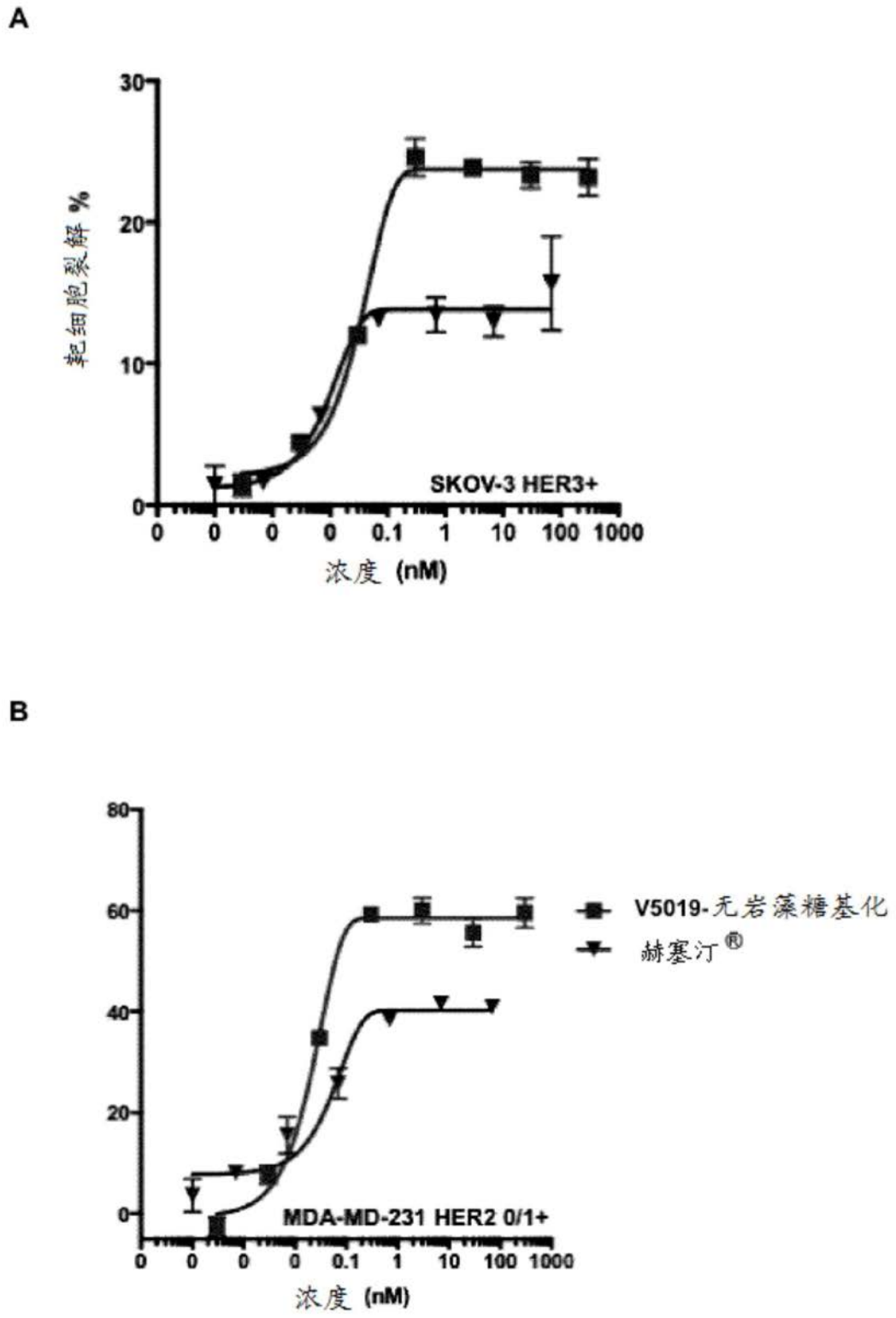

A
靶细胞裂解 %
30
20
10
0
SKOV-3 HER3+
0 0 0 0 0.1 1 10 100 1000
浓度 (nM)
B
80
60
40
20
0
MDA-MD-231 HER2 0/1+
0 0 0 0 0.1 1 10 100 1000
浓度 (nM)
V5019-无岩藻糖基化
赫塞汀®

图28

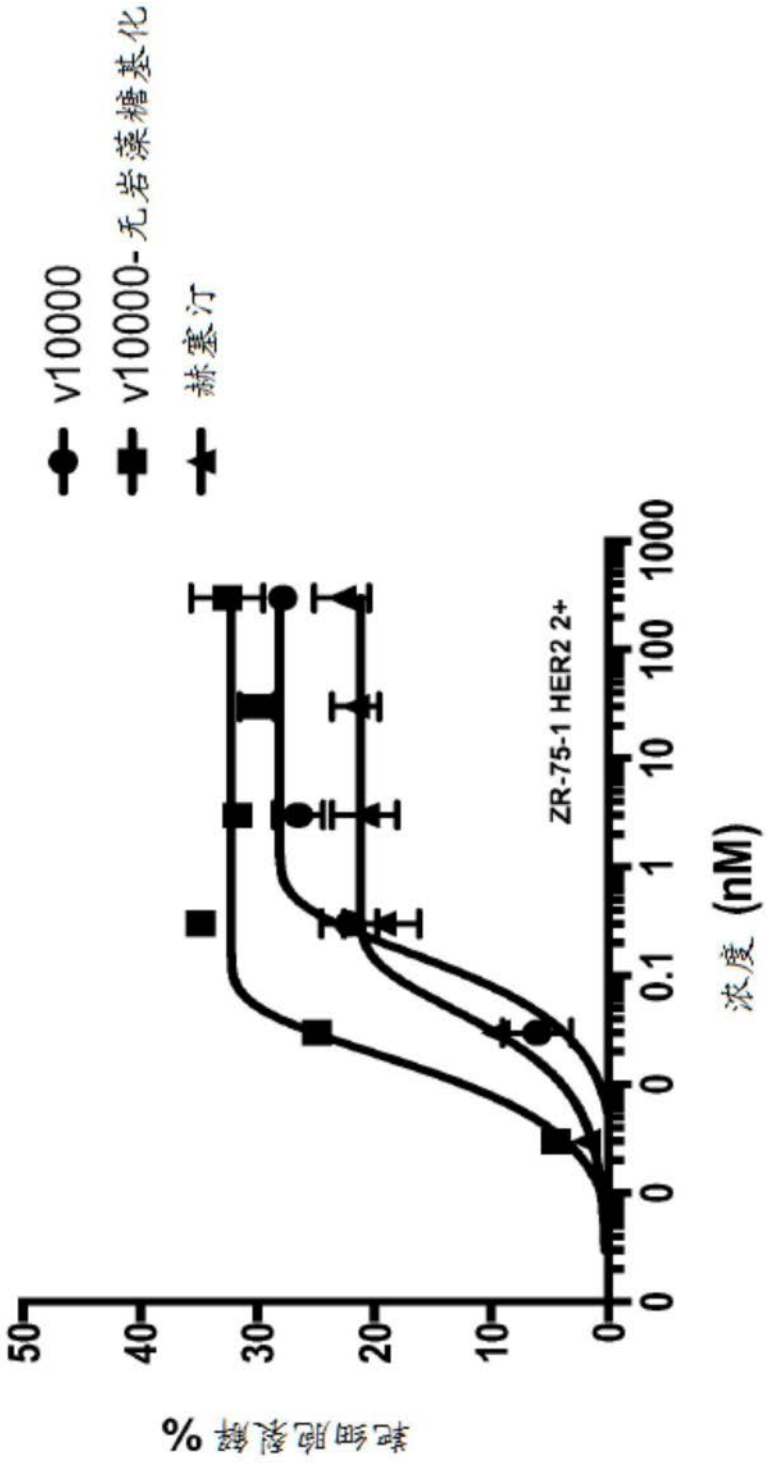

v10000
v10000-无岩藻糖基化
赫塞汀
ZR-75-1 HER2 2+
浓度 (nM)
0
0
0
0.1
1
10
100
1000
0
10
20
30
40
50
靶细胞裂解 %

图28C

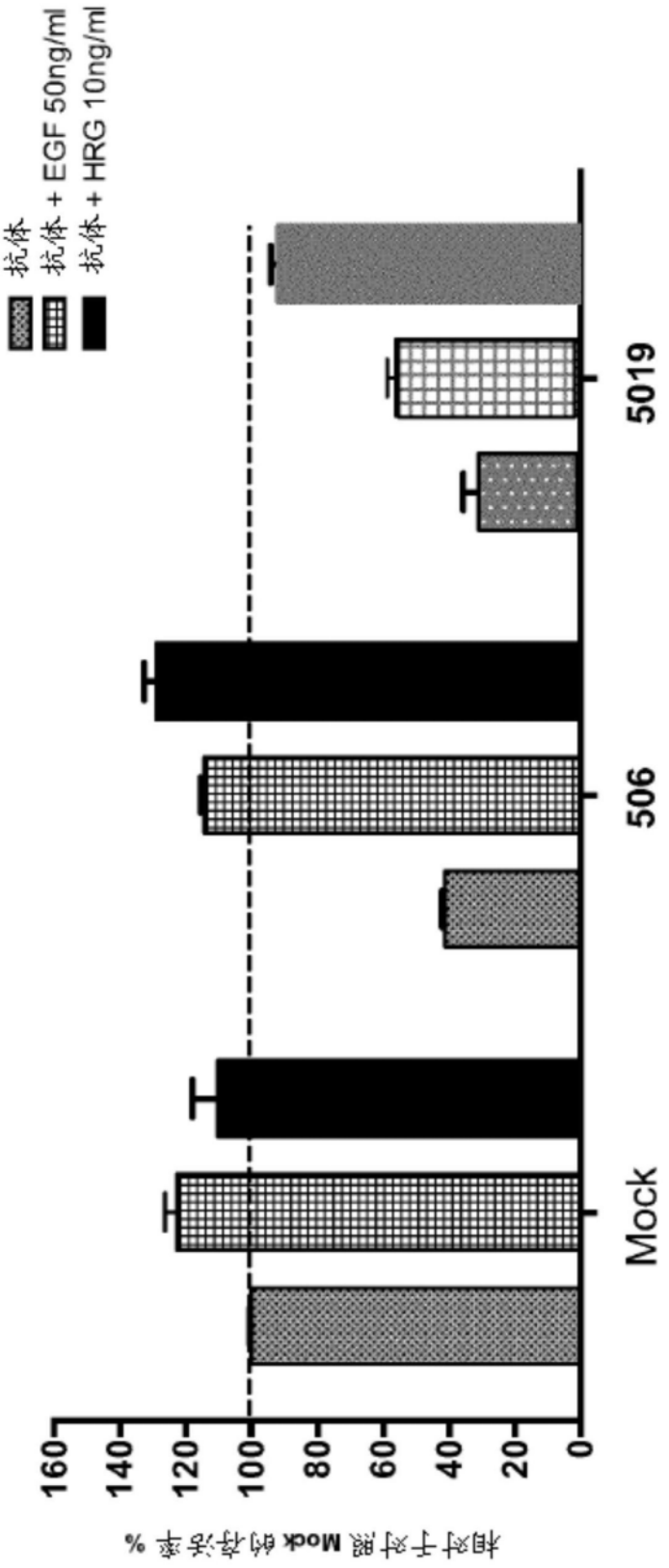

抗体
抗体 + EGF 50ng/ml
抗体 + HRG 10ng/ml
160
140
120
100
80
60
40
20
0
相对于对照 Mock 的存活率 %
Mock
506
5019

图29

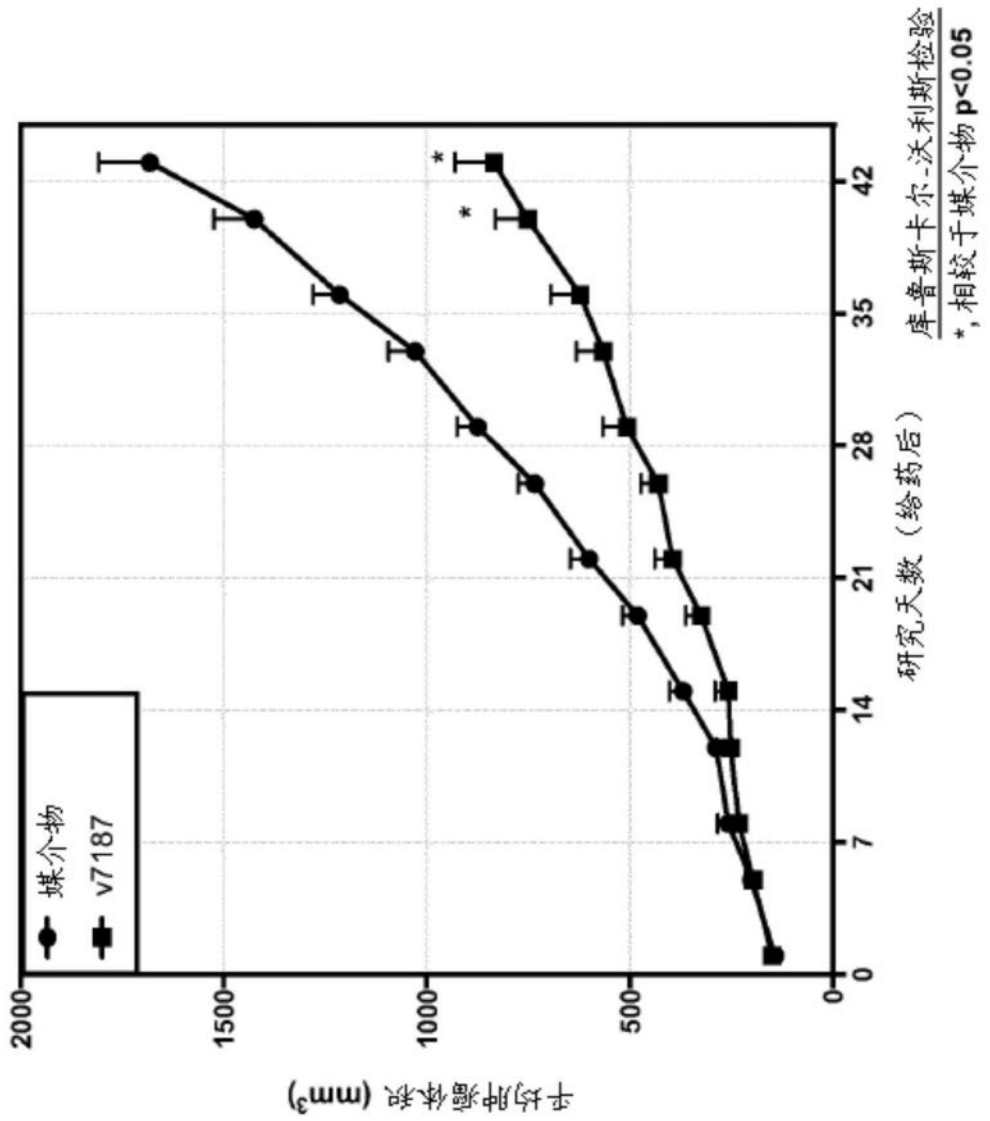

媒介物
v7187
2000
1500
1000
500
0
0
7
14
21
28
35
42
研究天数（给药后）
平均肿瘤体积 (mm³)
*
*
库-鲁斯卡尔-沃利斯检验
*，相较于媒介物 p<0.05

图30

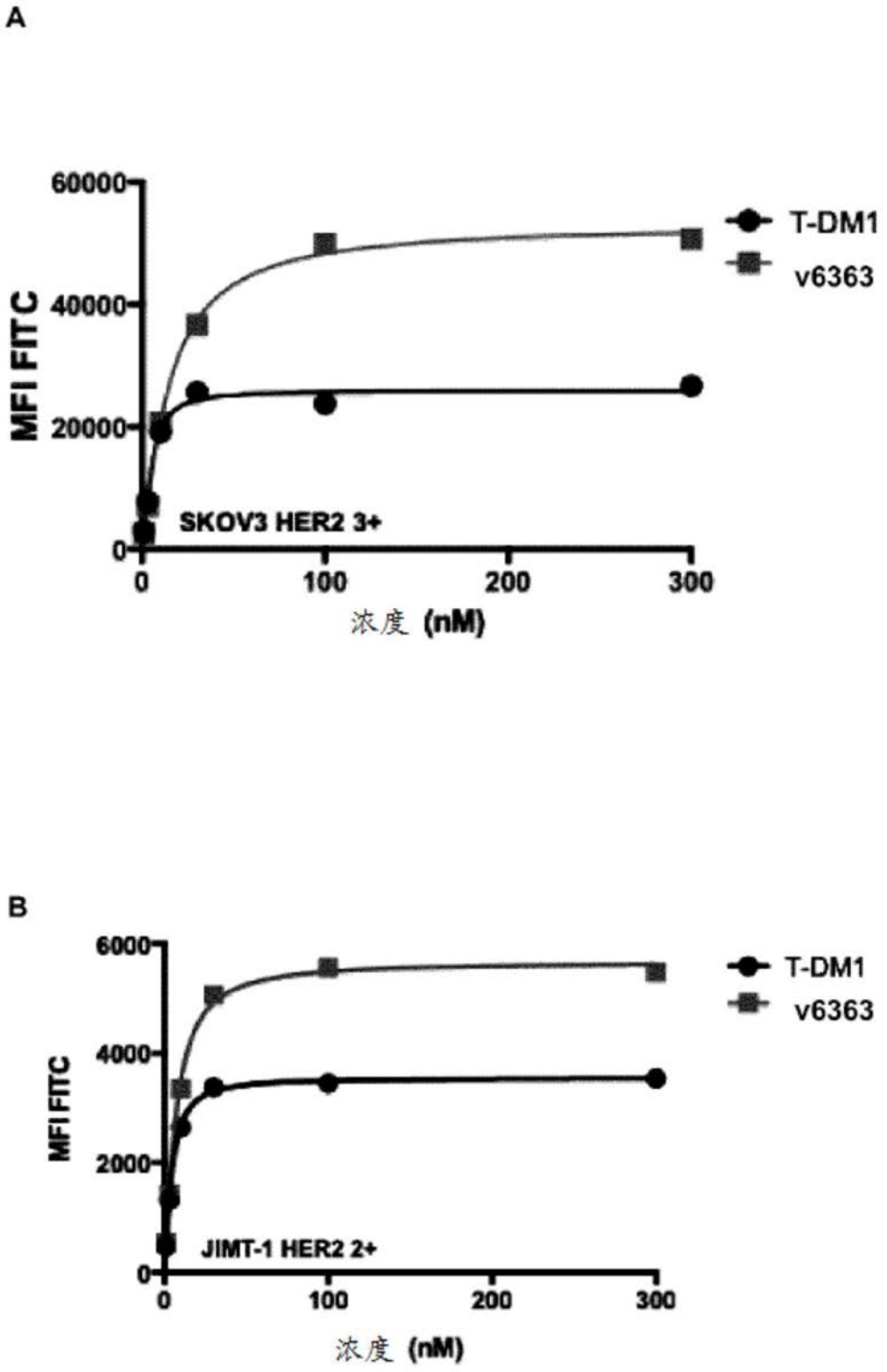

A
60000
40000
20000
0
MFI FITC
SKOV3 HER2 3+
0
100
200
300
浓度 (nM)
T-DM1
v6363
B
6000
4000
2000
0
MFI FITC
JIMT-1 HER2 2+
0
100
200
300
浓度 (nM)
T-DM1
v6363

图31

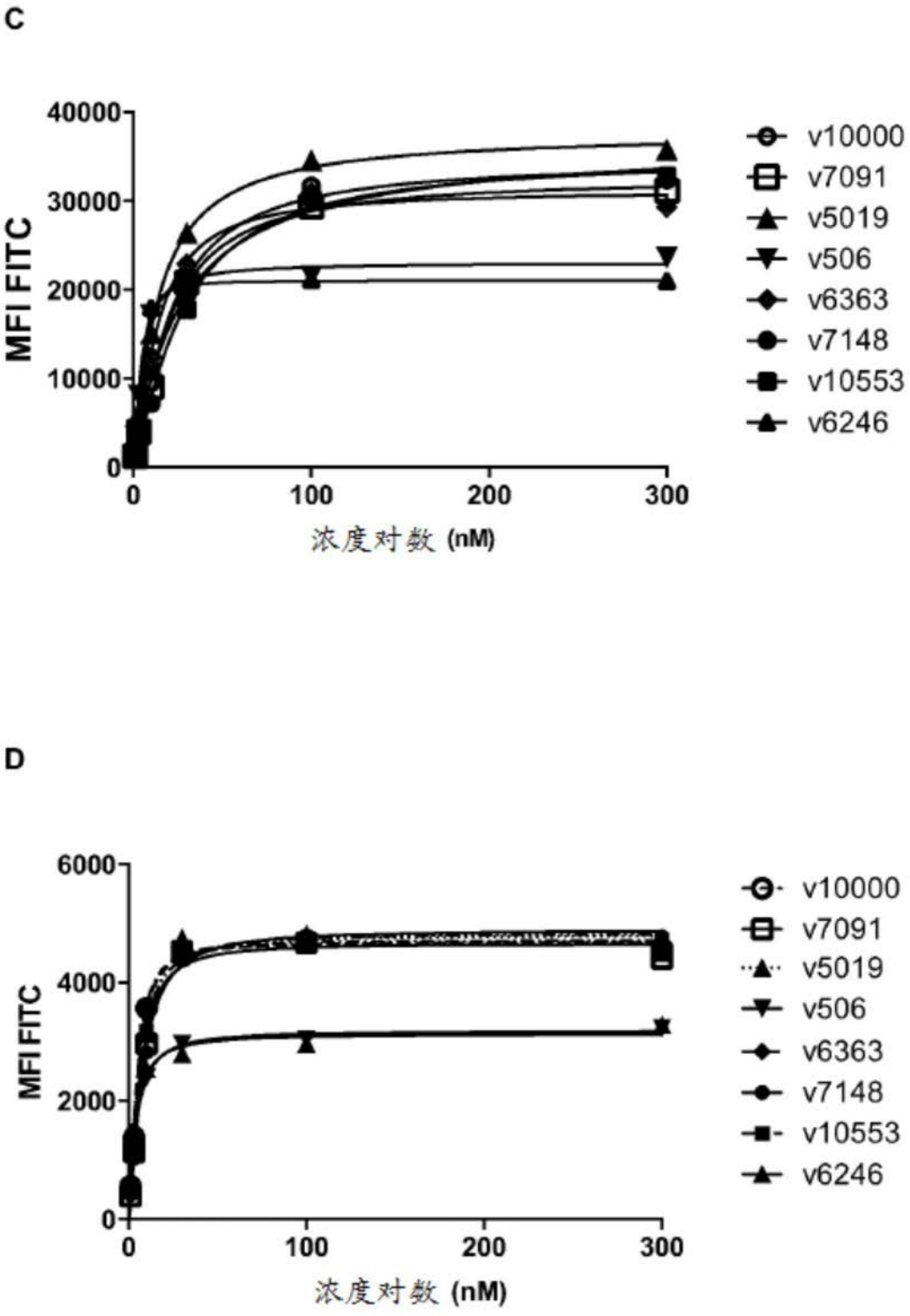

C
40000
30000
20000
10000
0
MFI FITC
0
100
200
300
浓度对数 (nM)
v10000
v7091
v5019
v506
v6363
v7148
v10553
v6246
D
6000
4000
2000
0
MFI FITC
0
100
200
300
浓度对数 (nM)
v10000
v7091
v5019
v506
v6363
v7148
v10553
v6246

图31(续)

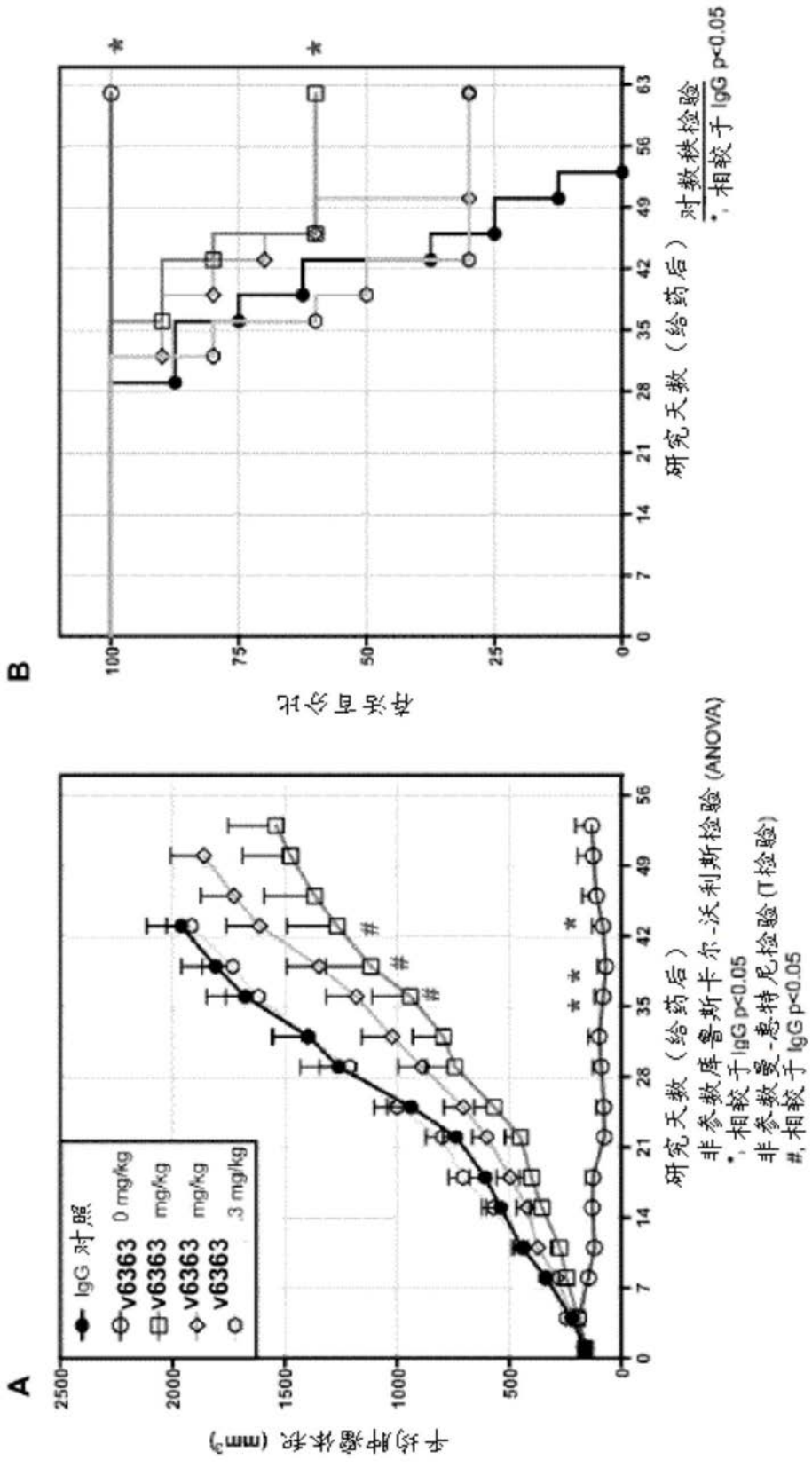

A
B
IgG 对照
v6363 0 mg/kg
v6363 mg/kg
v6363 mg/kg
v6363 .3 mg/kg
平均肿瘤体积 (mm³)
研究天数（给药后）
非参数库鲁斯卡尔-沃利斯检验 (ANOVA)
*，相较于 IgG p<0.05
非参数曼-惠特尼检验 (T检验)
#，相较于 IgG p<0.05
存活百分比
研究天数（给药后）
对数秩检验
*，相较于 IgG p<0.05

图32

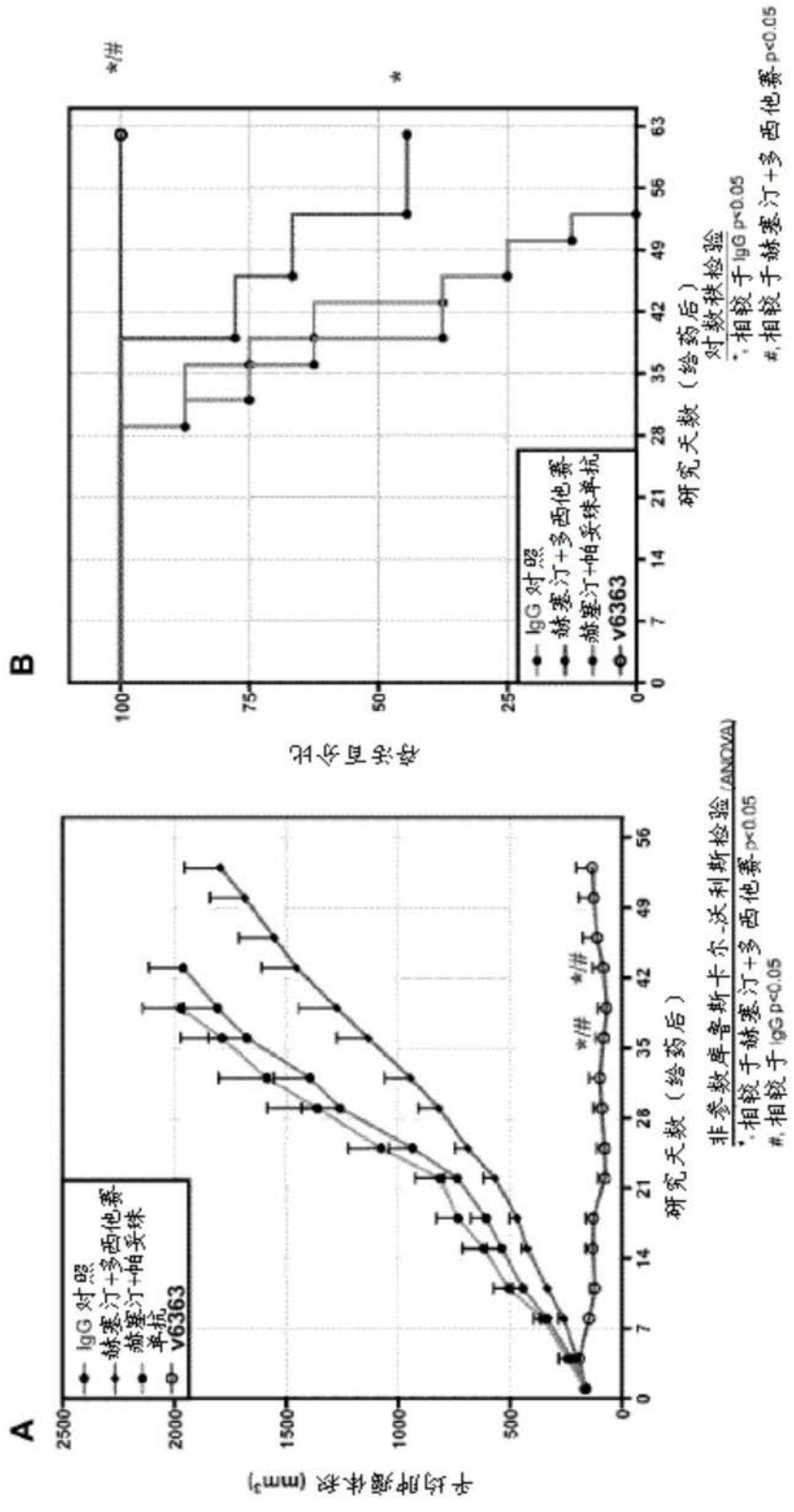

A
平均肿瘤体积 (mm³)
研究天数（给药后）
IgG 对照
赫塞汀+多西他赛
赫塞汀+帕采珠单抗
V6363
非参数库鲁斯卡尔-沃利斯检验（ANOVA）
*,相较于赫塞汀+多西他赛 p<0.05
#,相较于 IgG p<0.05
B
存活百分比
研究天数（给药后）
IgG 对照
赫塞汀+多西他赛
赫塞汀+帕采珠单抗
V6363
对数秩检验
*,相较于 IgG p<0.05
#,相较于赫塞汀+多西他赛 p<0.05

图33

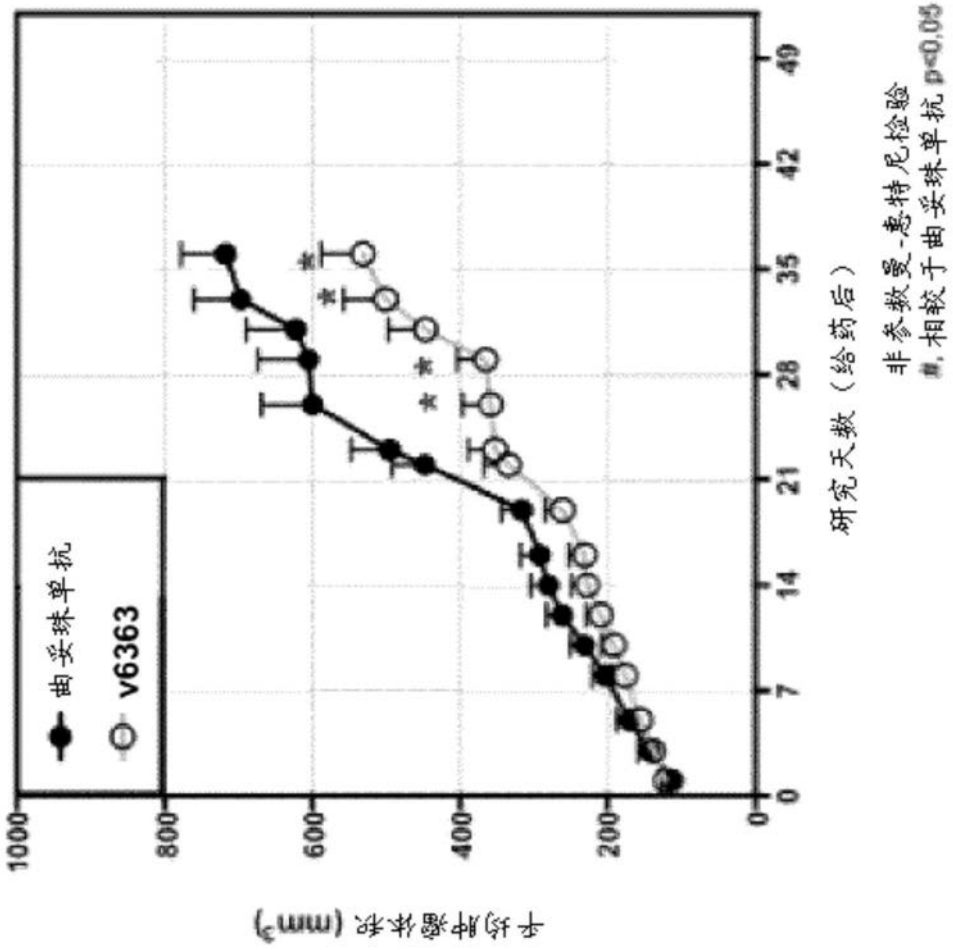

曲妥珠单抗
v6363
1000
800
600
400
200
0
0
7
14
21
28
35
42
49
研究天数（给药后）
非参-秩和-惠特尼检验
#, 相较于曲妥珠单抗 p<0.05
平均肿瘤体积 (mm³)

图34

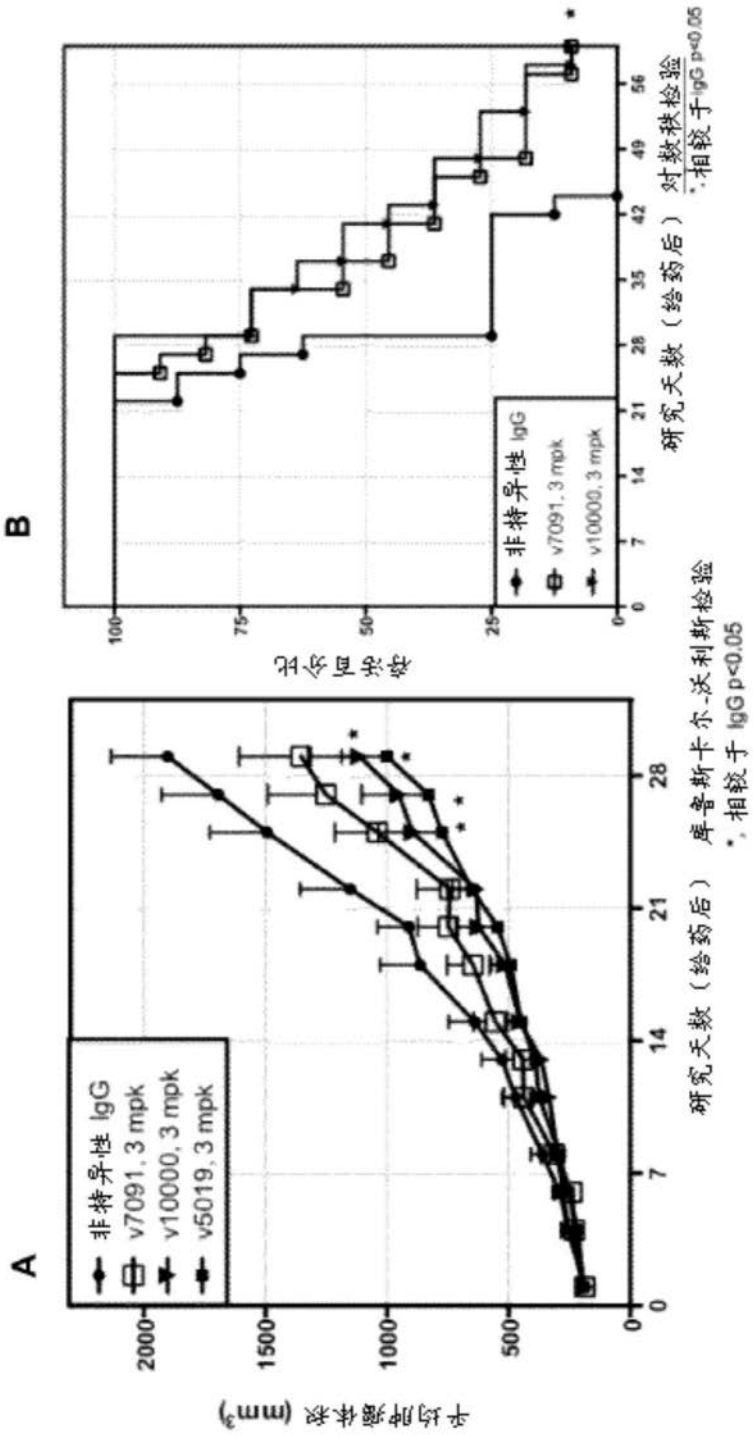

A
非特异性 IgG
v7091, 3 mpk
v10000, 3 mpk
v5019, 3 mpk
平均肿瘤体积 (mm³)
研究天数（给药后）
库鲁斯卡尔-沃利斯检验
*：相较于 IgG p<0.05
B
非特异性 IgG
v7091, 3 mpk
v10000, 3 mpk
存活百分比
研究天数（给药后）
对数秩检验
*：相较于 IgG p<0.05

图35

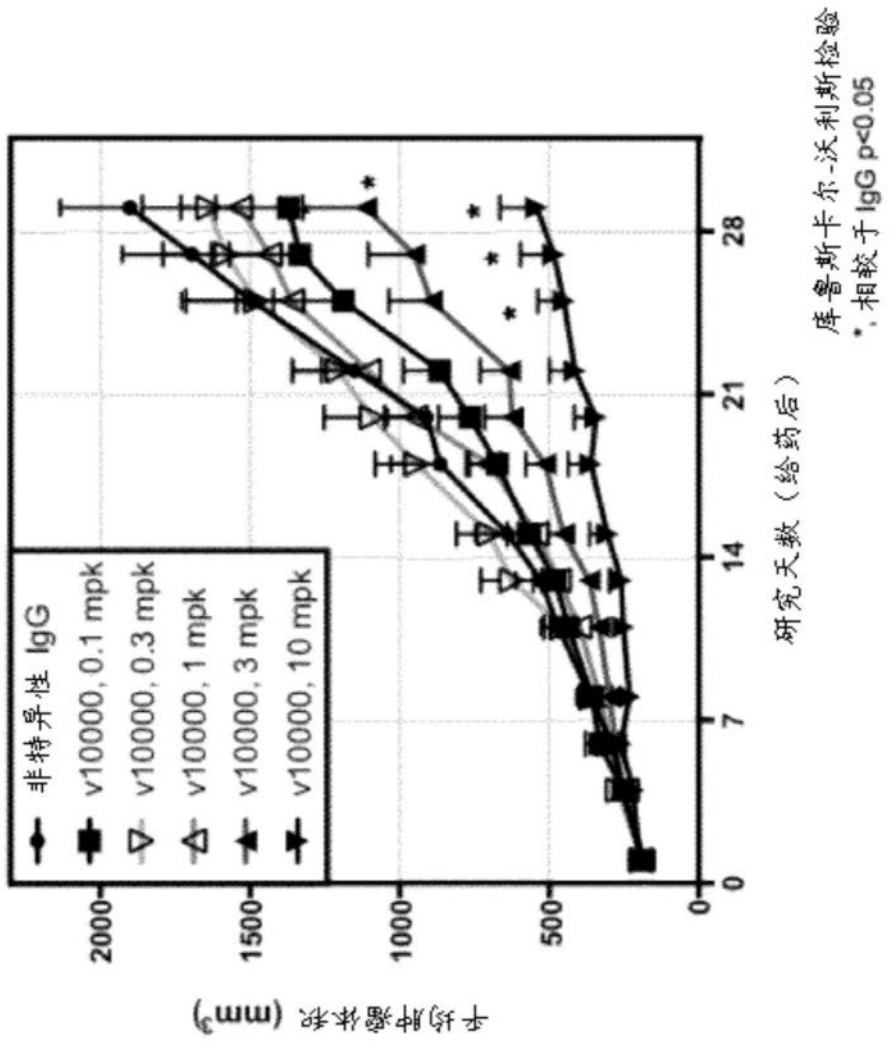

非特异性 IgG
v10000, 0.1 mpk
v10000, 0.3 mpk
v10000, 1 mpk
v10000, 3 mpk
v10000, 10 mpk
平均肿瘤体积 (mm³)
2000
1500
1000
500
0
0
7
14
21
28
研究天数（给药后）
库鲁斯卡尔-沃利斯检验
*：相较于 IgG p<0.05

图36

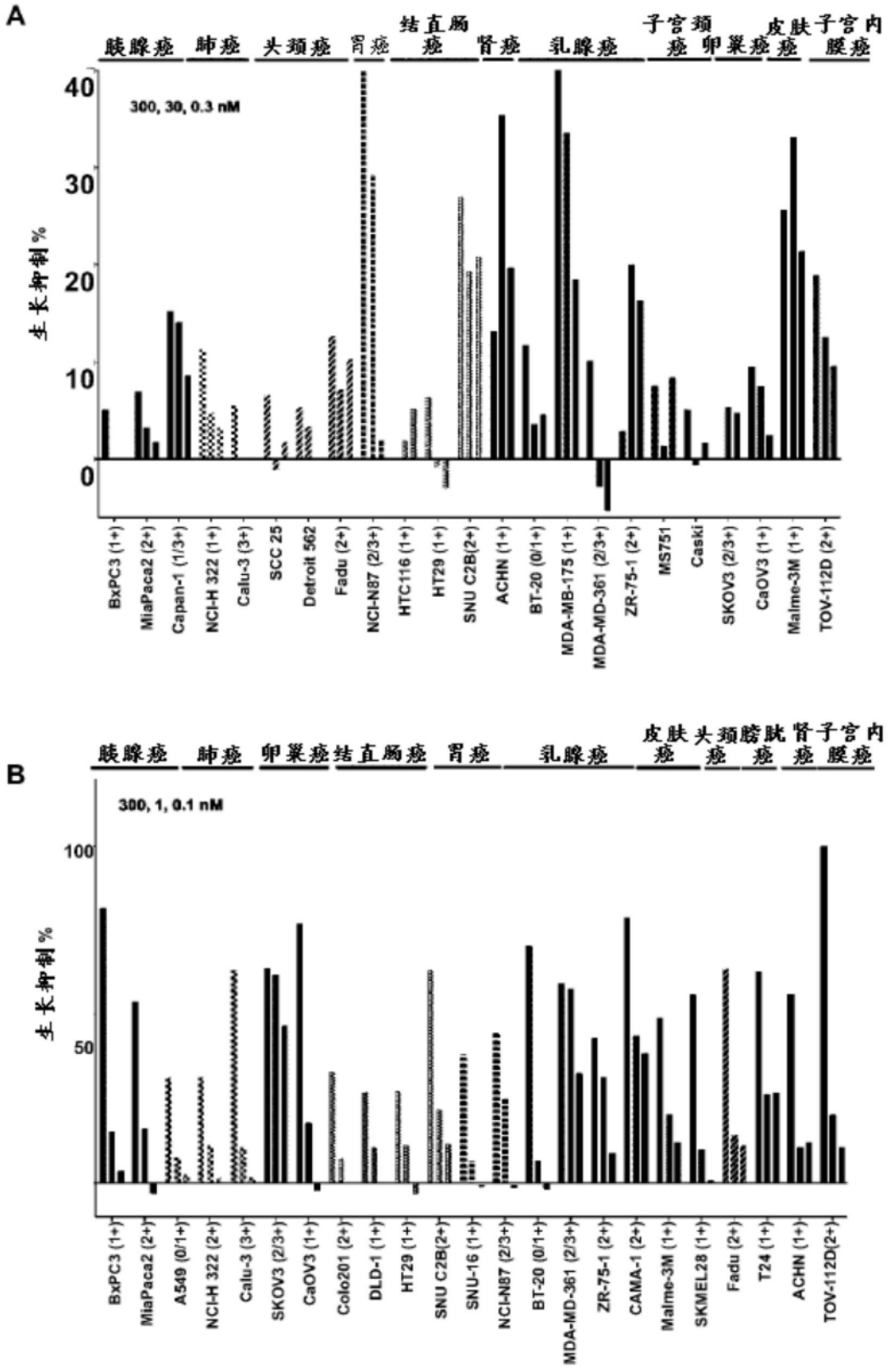

A
胰腺癌
肺癌
头颈癌
胃癌
结直肠癌
肾癌
乳腺癌
子宫颈癌
卵巢癌
皮肤癌
子宫内膜癌
300, 30, 0.3 nM
生长抑制%
40
30
20
10
0
BxPC3 (1+)
MiaPaca2 (2+)
Capan-1 (1/3+)
NCI-H 322 (1+)
Calu-3 (3+)
SCC 25
Detroit 562
Fadu (2+)
NCI-N87 (2/3+)
HTC116 (1+)
HT29 (1+)
SNU C2B(2+)
ACHN (1+)
BT-20 (0/1+)
MDA-MB-175 (1+)
MDA-MD-361 (2/3+)
ZR-75-1 (2+)
MS751
Caski
SKOV3 (2/3+)
CaOV3 (1+)
Malme-3M (1+)
TOV-112D (2+)
B
胰腺癌
肺癌
卵巢癌
结直肠癌
胃癌
乳腺癌
皮肤癌
头颈癌
膀胱癌
肾癌
子宫内膜癌
300, 1, 0.1 nM
生长抑制%
100
50
BxPC3 (1+)
MiaPaca2 (2+)
A549 (0/1+)
NCI-H 322 (2+)
Calu-3 (3+)
SKOV3 (2/3+)
CaOV3 (1+)
Colo201 (2+)
DLD-1 (1+)
HT29 (1+)
SNU C2B(2+)
SNU-16 (1+)
NCI-N87 (2/3+)
BT-20 (0/1+)
MDA-MD-361 (2/3+)
ZR-75-1 (2+)
CAMA-1 (2+)
Malme-3M (1+)
SKMEL28 (1+)
Fadu (2+)
T24 (1+)
ACHN (1+)
TOV-112D(2+)

图37

细胞系	细胞系描述	IHC受体			V1000	V10553	参考文献
		HER2	EGFR	HER3	活性	活性	
BxPC3	人胰腺腺癌	1	2	1	+	+	1,2,3
Capan-1	人胰腺腺癌	1/3	1	0	+	+	1,4,5
MiaPaca2	人胰腺癌	2	1/2	0	+	+	3,4
SW 1990	人胰腺腺癌，转移性	2	1	0	-	+	2,4
Panc1	人胰腺癌	1	1/2		-	+	4
A549	人肺癌	0/1	1		-	+	6,7
Calu-3	人肺腺癌	3	2	1	+	+	6,8,9
Calu-6	人肺未分化癌	0			-	+	6
NCI-H2126	人腺癌；非小细胞肺癌				-	+	10
NCI-H322	高加索人细支气管肺泡癌	2	2		+	+	6,7,11
Detroit 562	人咽癌				+	+	12
SCC-15	人舌鳞状细胞癌		2		-	+	12
SCC-25	人舌鳞状细胞癌		2		+	+	12
FaDu	咽部鳞状细胞癌	2	2		+	+	
Colo201	人结直肠腺癌	2	1		-	+	13
DLD-1	人结直肠腺癌，Dukes C 型	1	0/1		-	+	14
HCT116	人结直肠癌	1	0/1		-	+	14
HT 29	人结直肠腺癌；	1	0		+	+	14
SNU-C2B	人直肠结直肠癌	2*			+	+	
SNU-1	人胃癌	0			-	+	15
SNU-16	人胃癌	1			-	+	15
NCI-N87	人胃癌	3	2	1	+	+	15
MDAMB175	人乳腺导管癌，ER+	1	1	0/1	+	+	8,16
MDAMB361	人乳腺腺癌，ER+, HER2 amp	2/3	1	1	+	+	9,15,17
ZR-75-1	人乳腺导管上皮导管癌，ER+ 管腔 A 型	2	1	1	-	+	9
BT-20	人乳腺癌，基底 A 型 TNBC	0/1	2	1	+	+	18
BT549	人乳腺导管癌，基底 B 型、间充质样 TNBC、ER-	0	0/1	0	-	+	18
CAMA-1	人乳腺腺癌，ER+	2	0	1	-	+	
MDAMB453	人转移性乳腺癌，ER-、HER2amp 管腔 A 型 TNBC	0	0/1	0	-	+	18
T47D	人乳腺导管癌，ER+	1	0	1	-	+	19
SK-UT-1	人子宫中胚叶肿瘤（混合）III 级				-	+	
TOV-112D	人原发性恶性腺癌；子宫内膜癌	2	1	2	+	+	20
A431	人皮肤表皮样癌	1	3		-	+	21
Malme-3M	人肺转移性恶性黑素瘤	1	1	1	+	+	9, 22
SKMEL28	人恶性黑素瘤	1	0		-	+	22
Caski	人宫颈癌	1			+	+	23
MS751	人宫颈表皮样癌				+	+	
T24	人膀胱癌	1	0		-	+	19,21,24
ACHN	人肾细胞腺癌	1	2	0/1	+	+	9, 25
CaOV3	人卵巢腺癌	1	1		+	+	26
Ovcar-3	人卵巢腺癌	1/2	2	2	-	+	20, 26
SKOV3	人卵巢腺癌	2/3	2	0/1	-	+	

图38

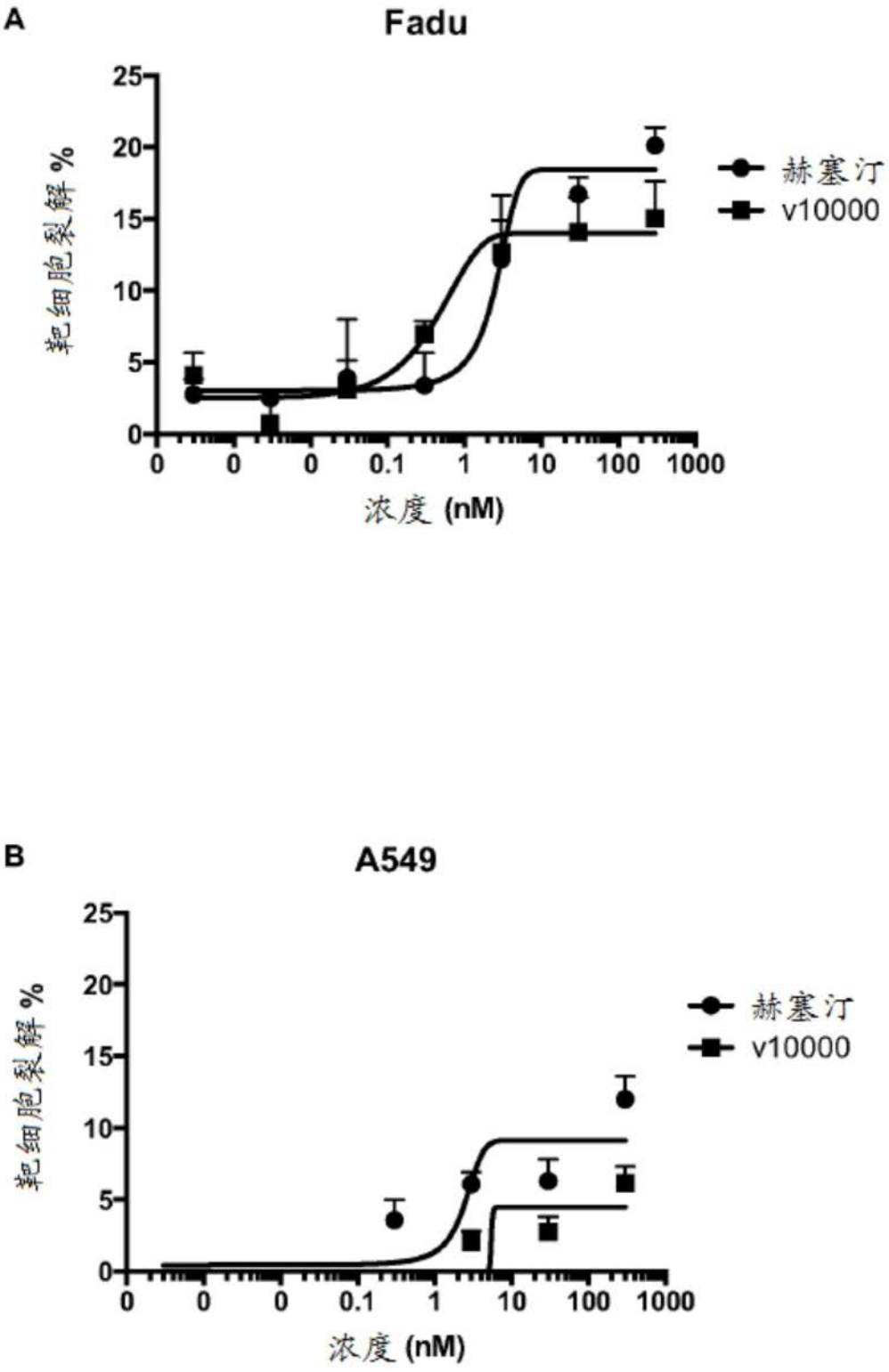
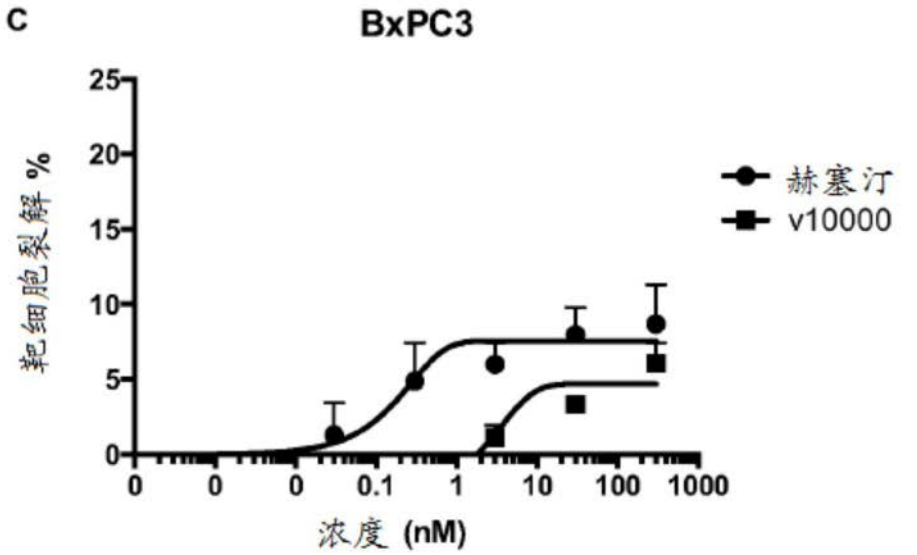

A
Fadu
靶细胞裂解 %
25
20
15
10
5
0
0
0
0
0.1
1
10
100
1000
浓度 (nM)
赫塞汀
v10000
B
A549
靶细胞裂解 %
25
20
15
10
5
0
0
0
0
0.1
1
10
100
1000
浓度 (nM)
赫塞汀
v10000

图39


C
BxPC3
靶细胞裂解 %
25
20
15
10
5
0
0 0 0 0.1 1 10 100 1000
浓度 (nM)
赫塞汀
v10000

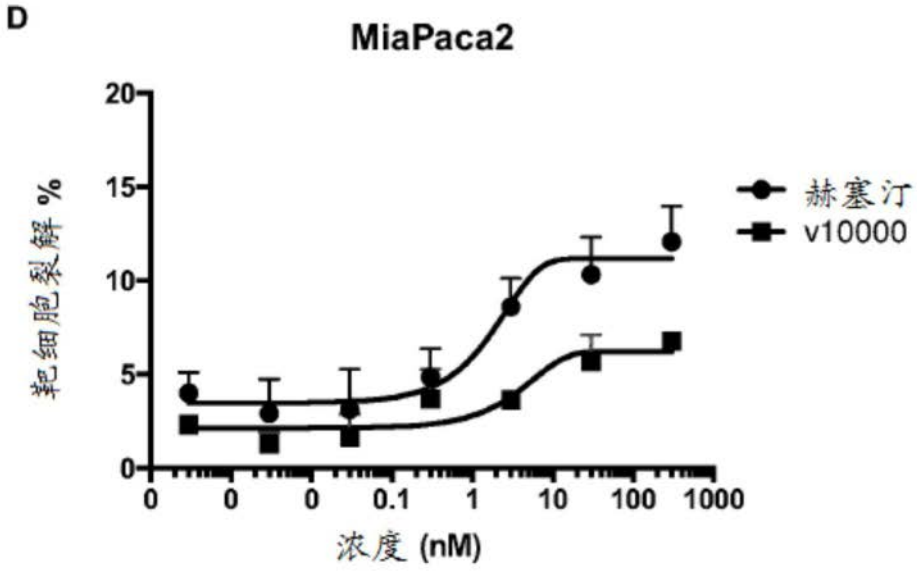

D
MiaPaca2
靶细胞裂解 %
20
15
10
5
0
0 0 0 0.1 1 10 100 1000
浓度 (nM)
赫塞汀
v10000

图39(续)

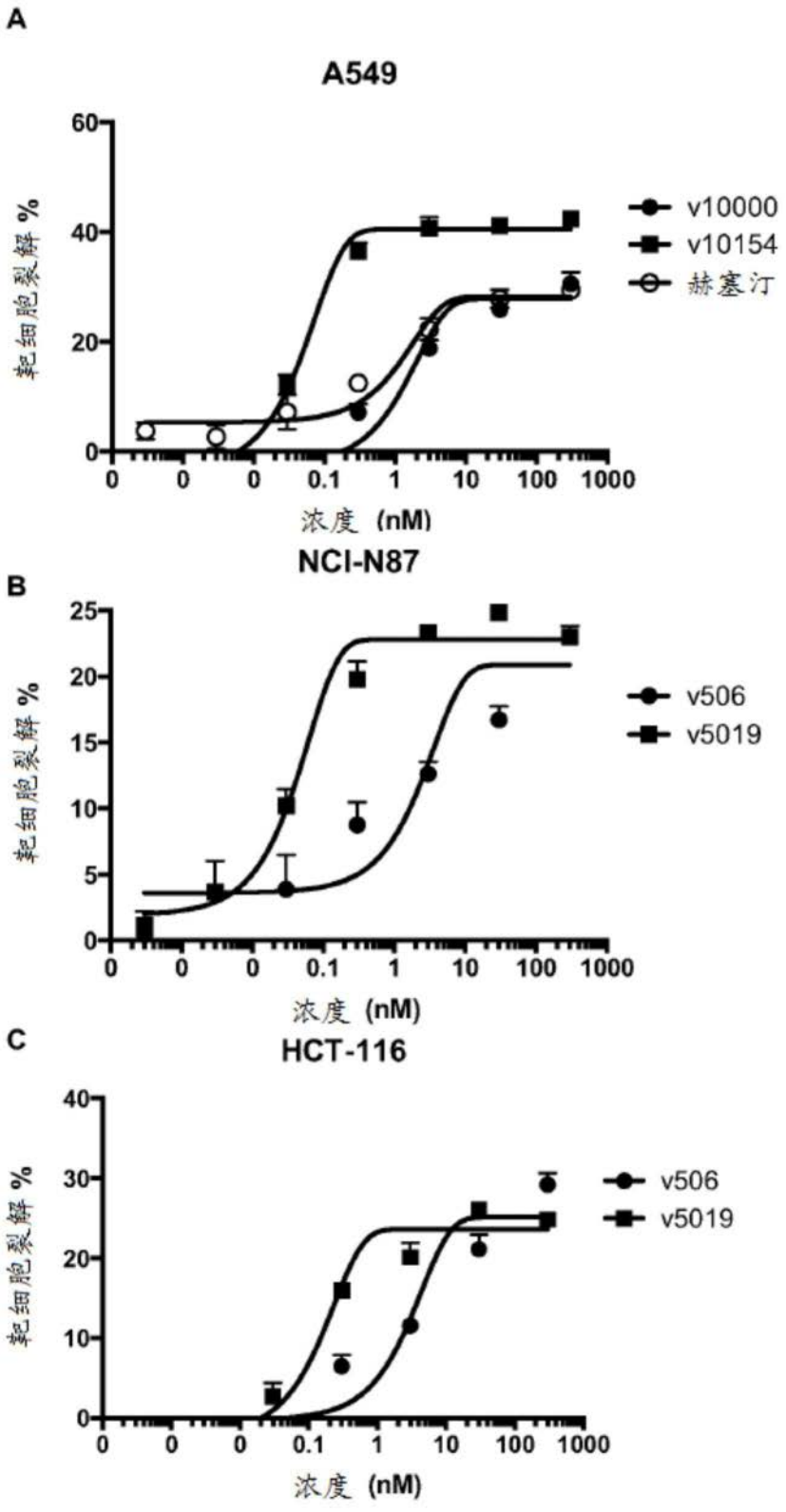

A
A549
靶细胞裂解 %
60
40
20
0
0 0 0 0.1 1 10 100 1000
浓度 (nM)
v10000
v10154
赫塞汀
B
NCI-N87
靶细胞裂解 %
25
20
15
10
5
0
0 0 0 0.1 1 10 100 1000
浓度 (nM)
v506
v5019
C
HCT-116
靶细胞裂解 %
40
30
20
10
0
0 0 0 0.1 1 10 100 1000
浓度 (nM)
v506
v5019

图40

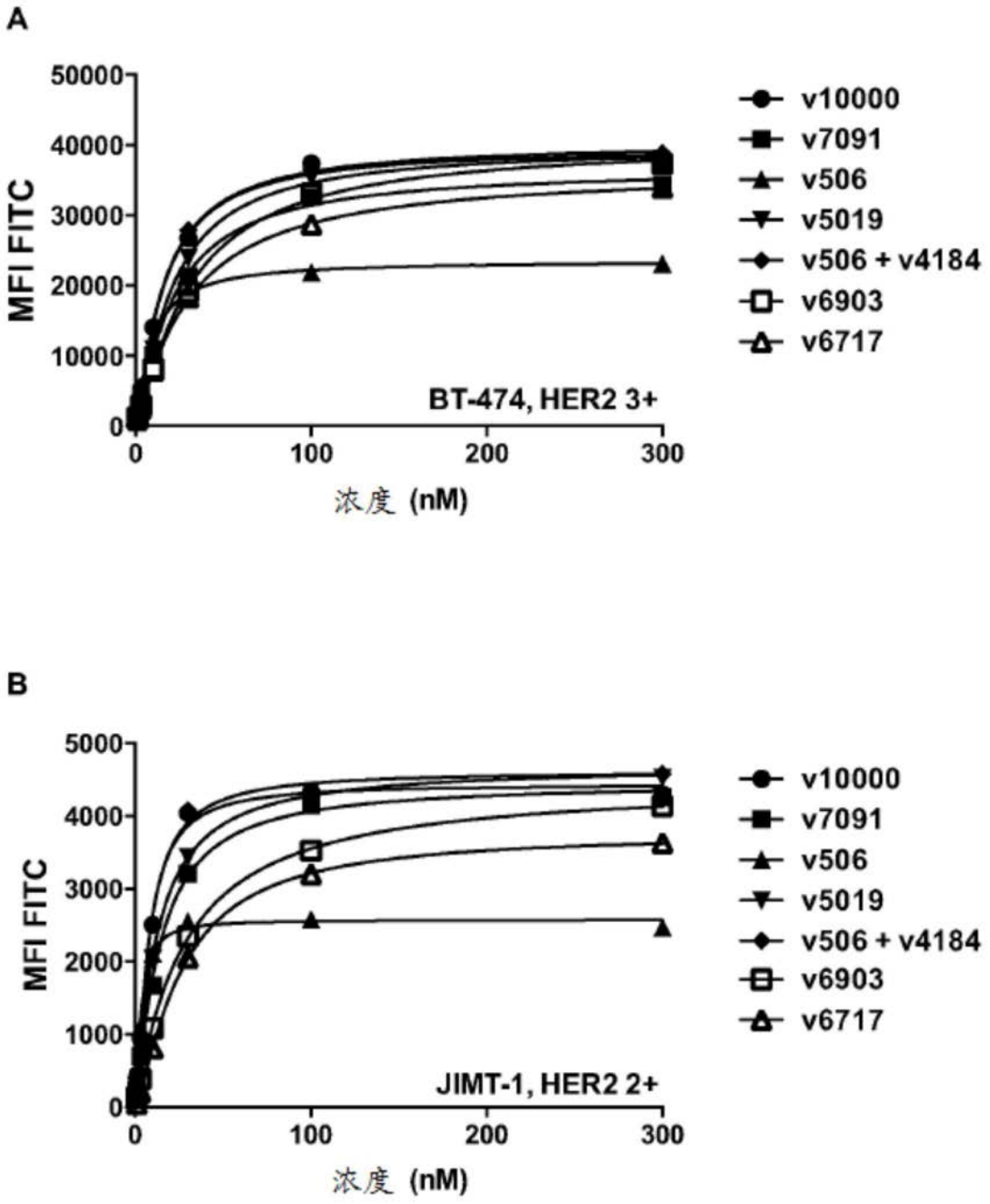

A
50000
40000
30000
20000
10000
0
MFI FITC
BT-474, HER2 3+
0
100
200
300
浓度 (nM)
v10000
v7091
v506
v5019
v506 + v4184
v6903
v6717
B
5000
4000
3000
2000
1000
0
MFI FITC
JIMT-1, HER2 2+
0
100
200
300
浓度 (nM)
v10000
v7091
v506
v5019
v506 + v4184
v6903
v6717

图41

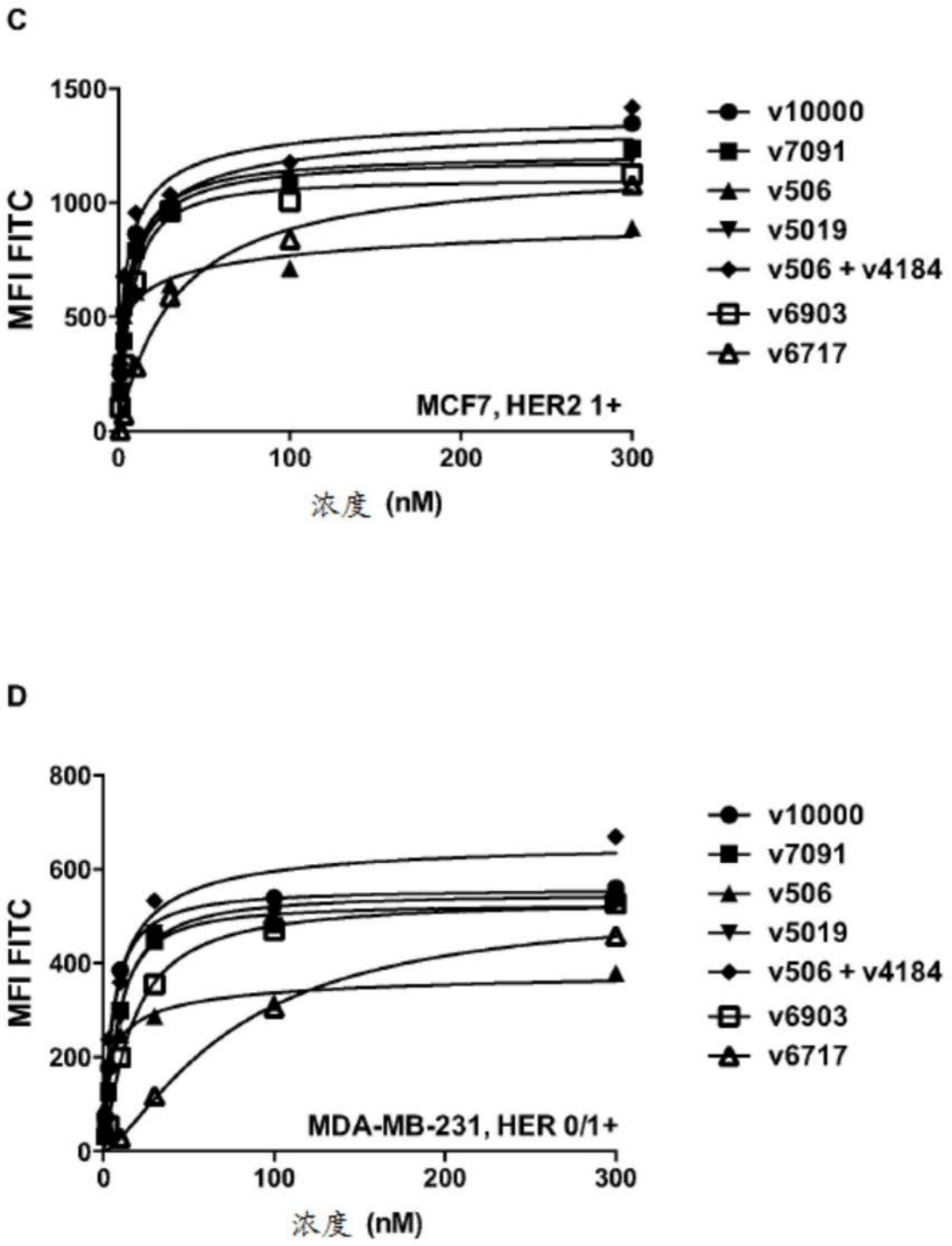

C
MFI FITC
1500
1000
500
0
0
100
200
300
浓度 (nM)
MCF7, HER2 1+
v10000
v7091
v506
v5019
v506 + v4184
v6903
v6717
D
MFI FITC
800
600
400
200
0
0
100
200
300
浓度 (nM)
MDA-MB-231, HER 0/1+
v10000
v7091
v506
v5019
v506 + v4184
v6903
v6717

图41(续)

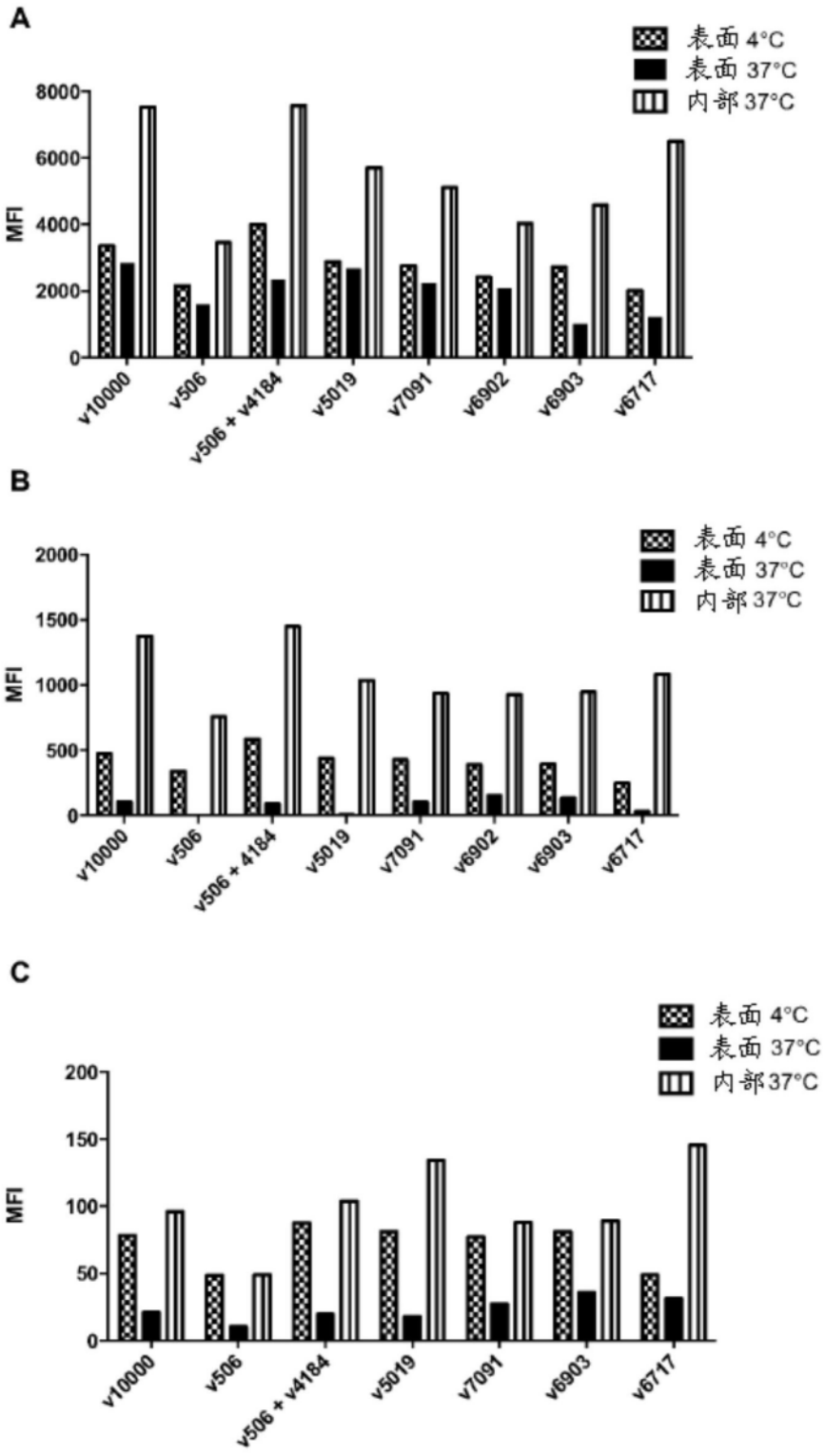

A
表面 4°C
表面 37°C
内部 37°C
MFI
8000
6000
4000
2000
0
v10000
v506
v506 + v4184
v5019
v7091
v6902
v6903
v6717
B
表面 4°C
表面 37°C
内部 37°C
MFI
2000
1500
1000
500
0
v10000
v506
v506 + 4184
v5019
v7091
v6902
v6903
v6717
C
表面 4°C
表面 37°C
内部 37°C
MFI
200
150
100
50
0
v10000
v506
v506 + v4184
v5019
v7091
v6903
v6717

图42

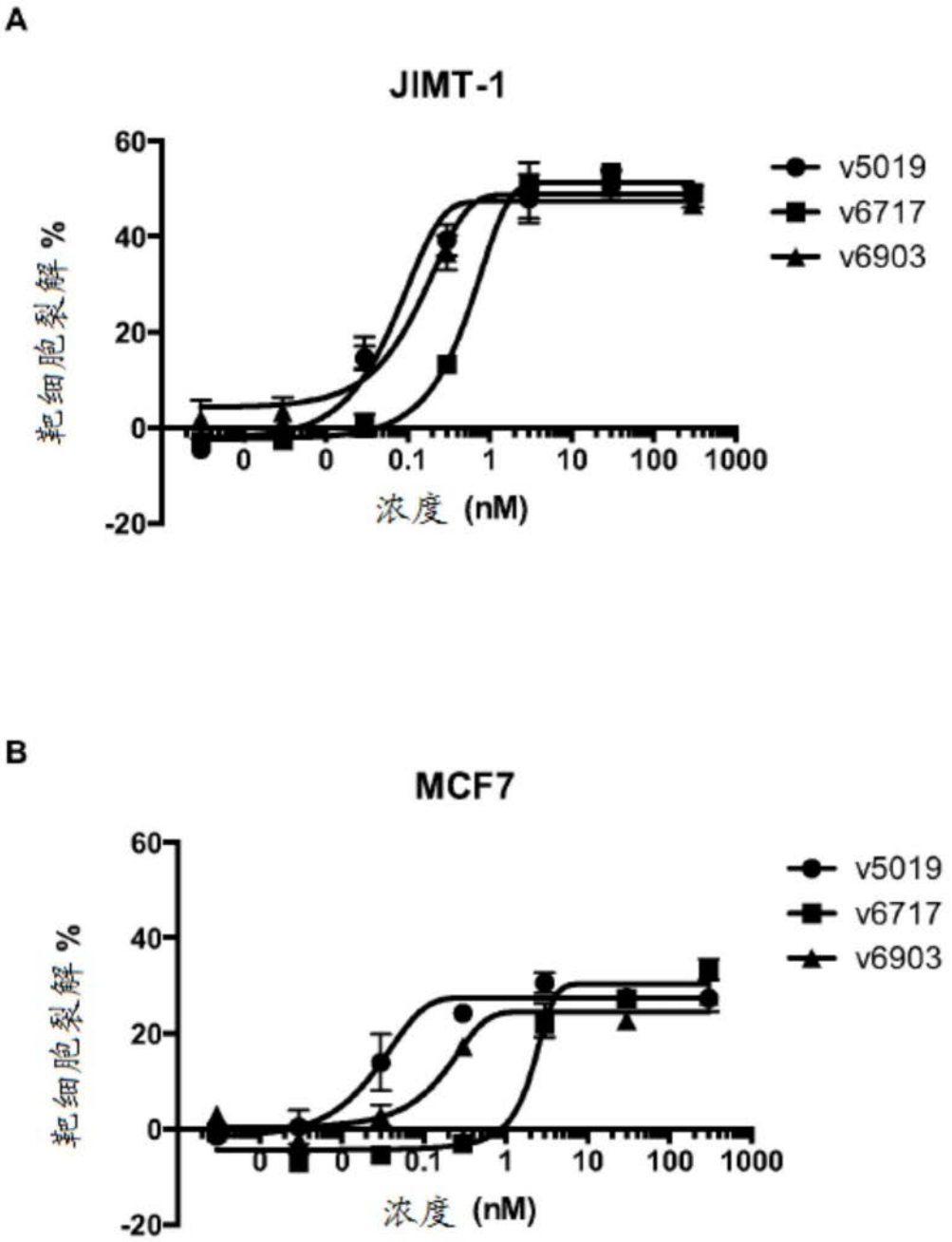

A
JIMT-1
靶细胞裂解 %
60
40
20
0
-20
0
0
0.1
1
10
100
1000
浓度 (nM)
v5019
v6717
v6903
B
MCF7
靶细胞裂解 %
60
40
20
0
-20
0
0
0.1
1
10
100
1000
浓度 (nM)
v5019
v6717
v6903

图43

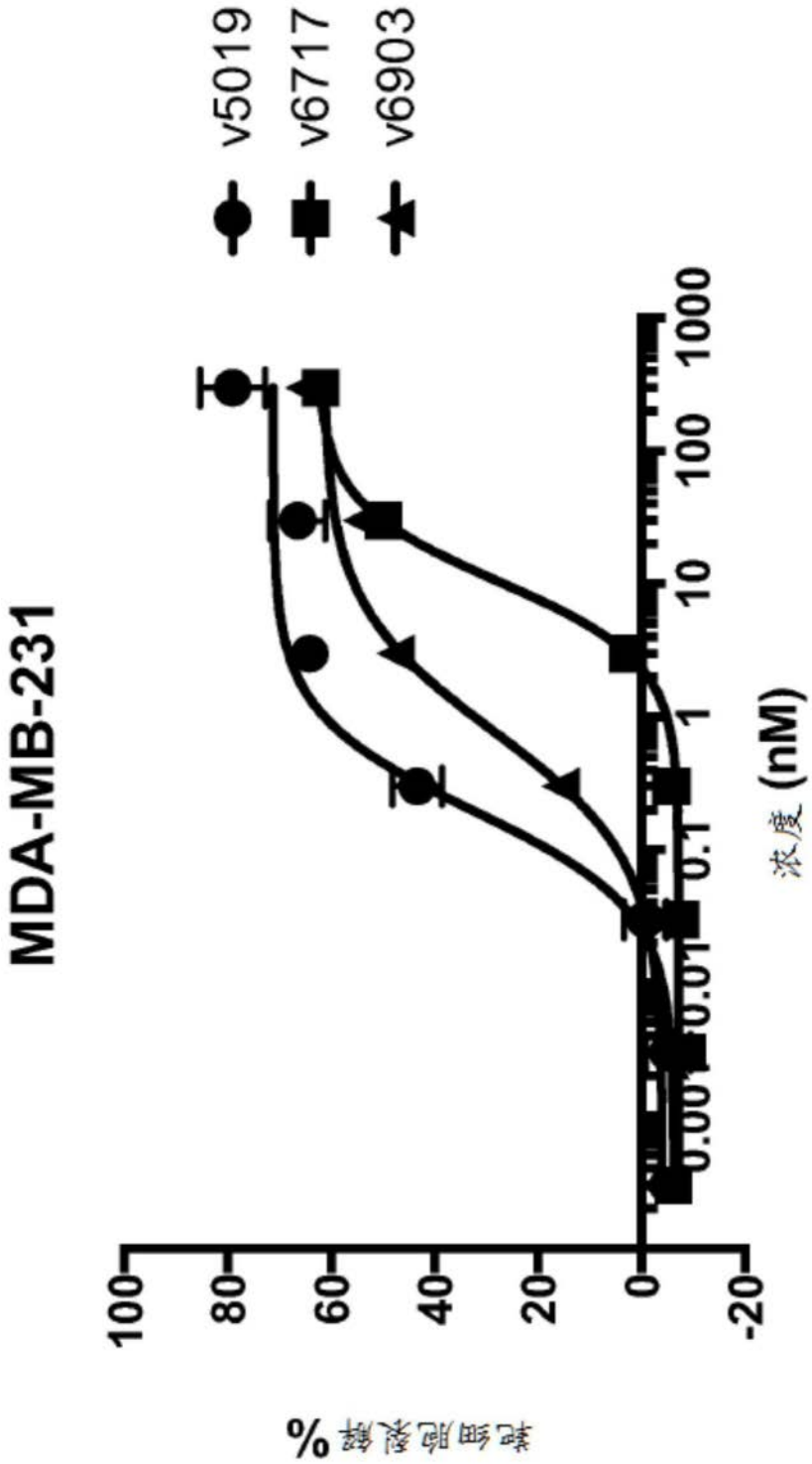

v5019
v6717
v6903
MDA-MB-231
浓度 (nM)
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
100
80
60
40
20
0
-20
靶细胞裂解 %

图43C

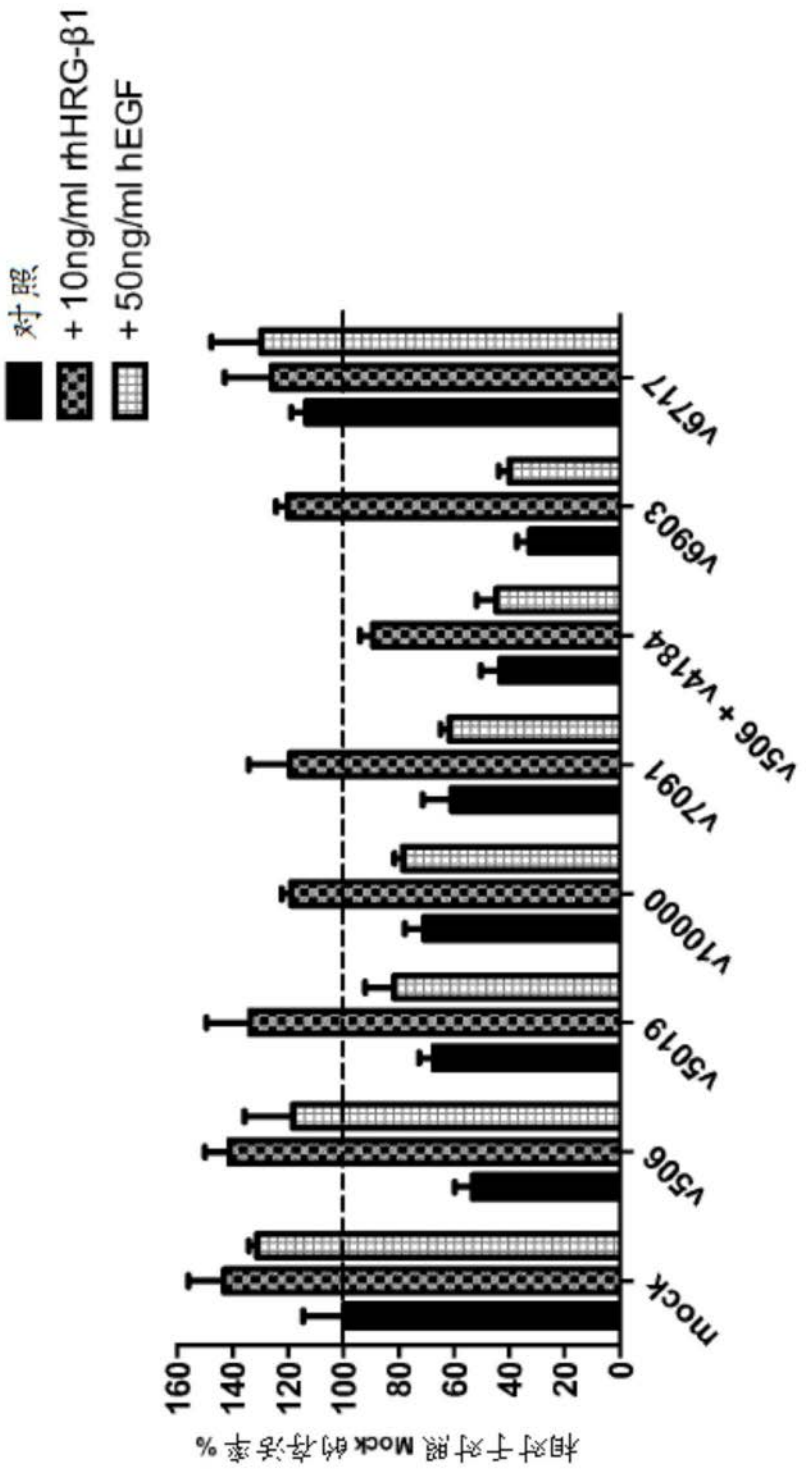

对照
+ 10ng/ml rhHRG-β1
+ 50ng/ml hEGF
相对于对照 Mock 的存活率 %
0
20
40
60
80
100
120
140
160
mock
V506
V5019
V10000
V7091
V506 + V4184
V6903
V6717

图44

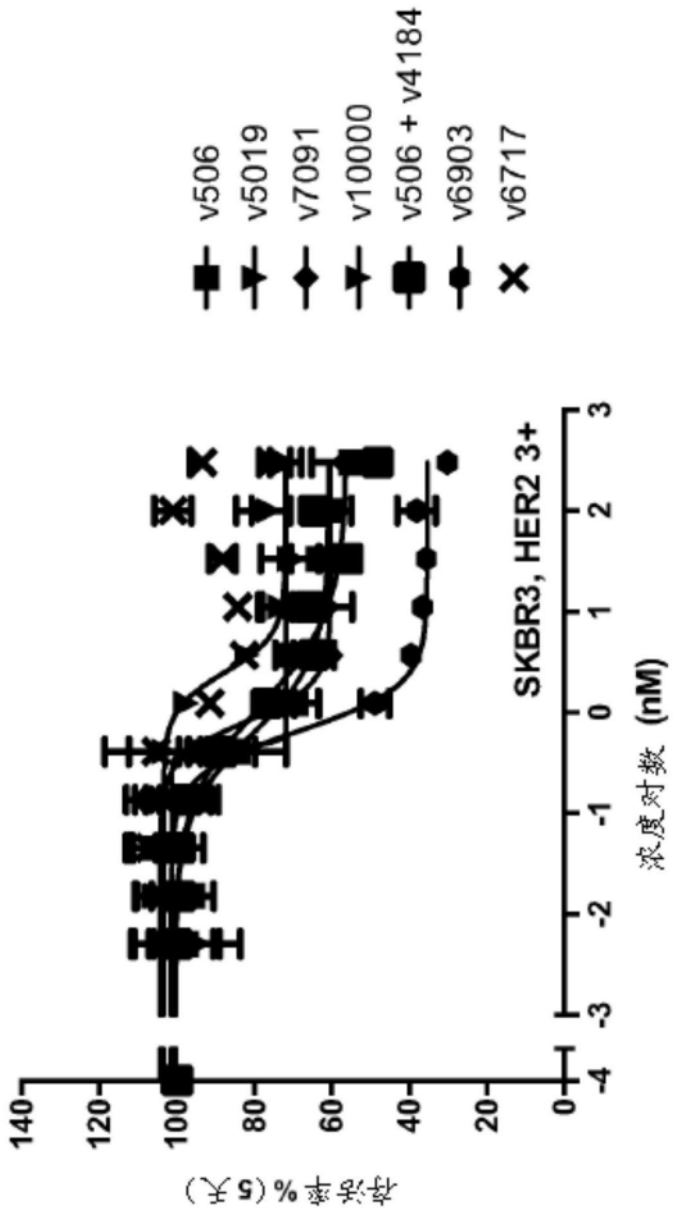

v506
v5019
v7091
v10000
v506 + v4184
v6903
v6717
SKBR3, HER2 3+
浓度对数 (nM)
存活率% (5天)
140
120
100
80
60
40
20
0
-4
-3
-2
-1
0
1
2
3

图45

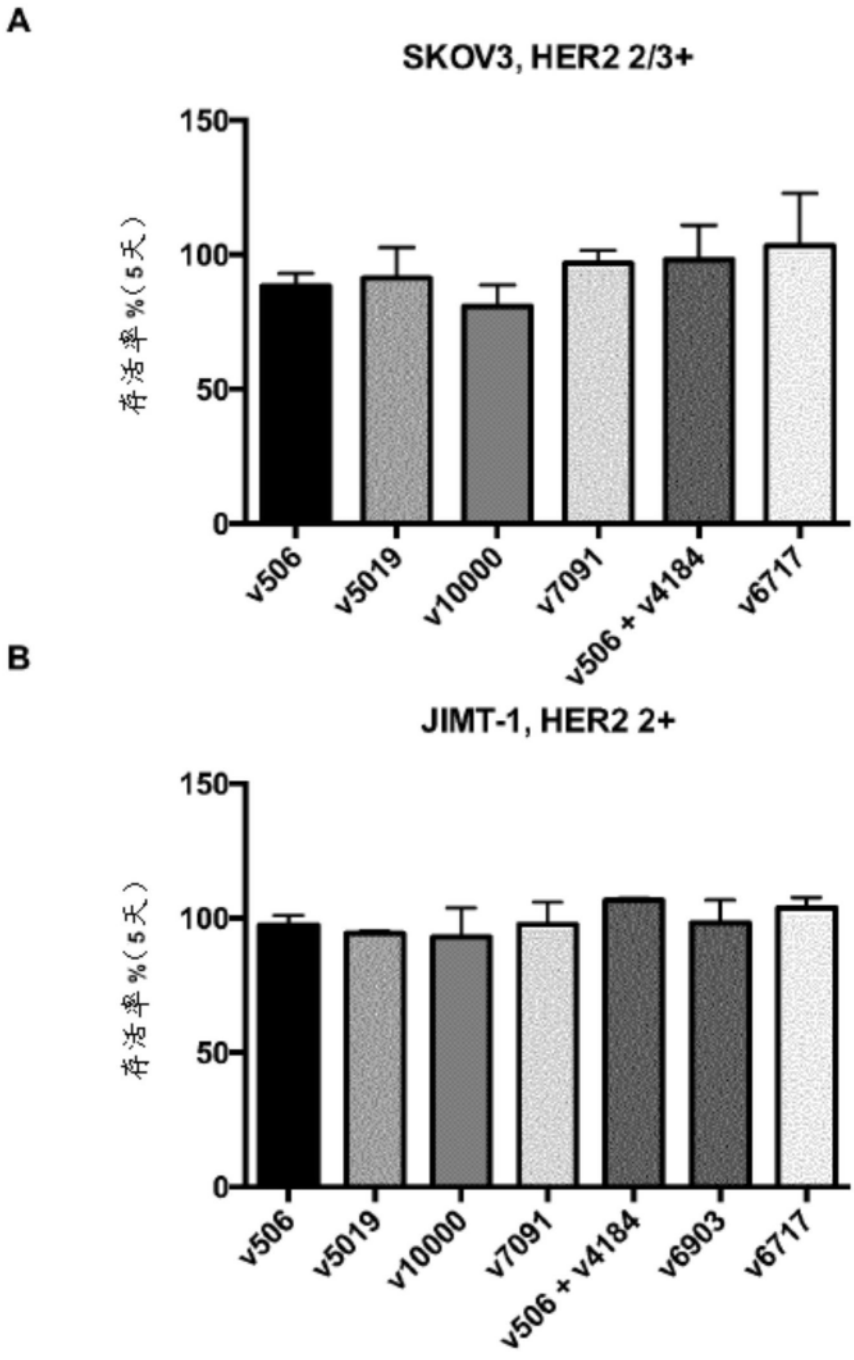

A
SKOV3, HER2 2/3+
存活率%(5天)
150
100
50
0
v506
v5019
v10000
v7091
v506 + v4184
v6717
B
JIMT-1, HER2 2+
存活率%(5天)
150
100
50
0
v506
v5019
v10000
v7091
v506 + v4184
v6903
v6717

图46

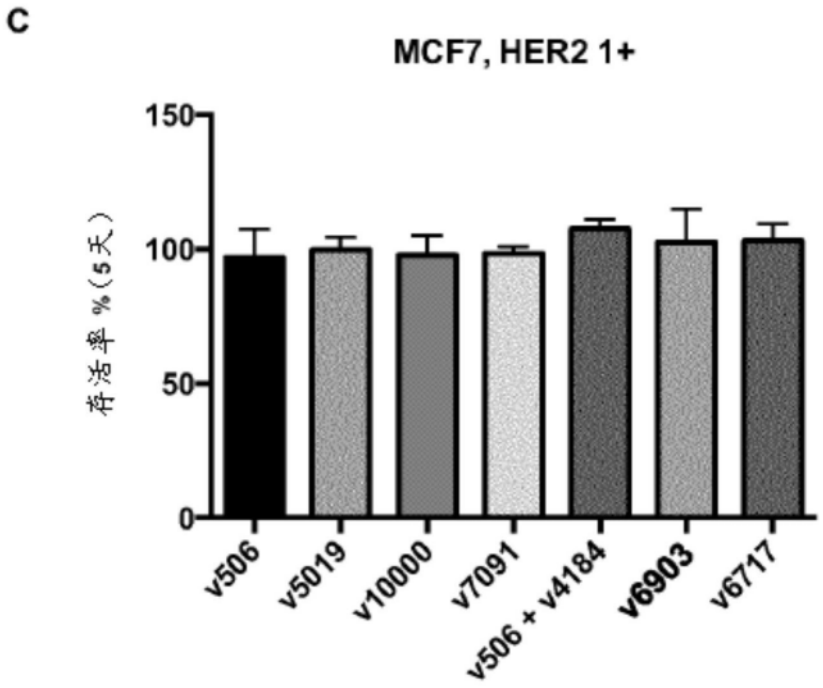

C
MCF7, HER2 1+
存活率 %(5天)
150
100
50
0
v506
v5019
v10000
v7091
v506 + v4184
v6903
v6717

图46(续)

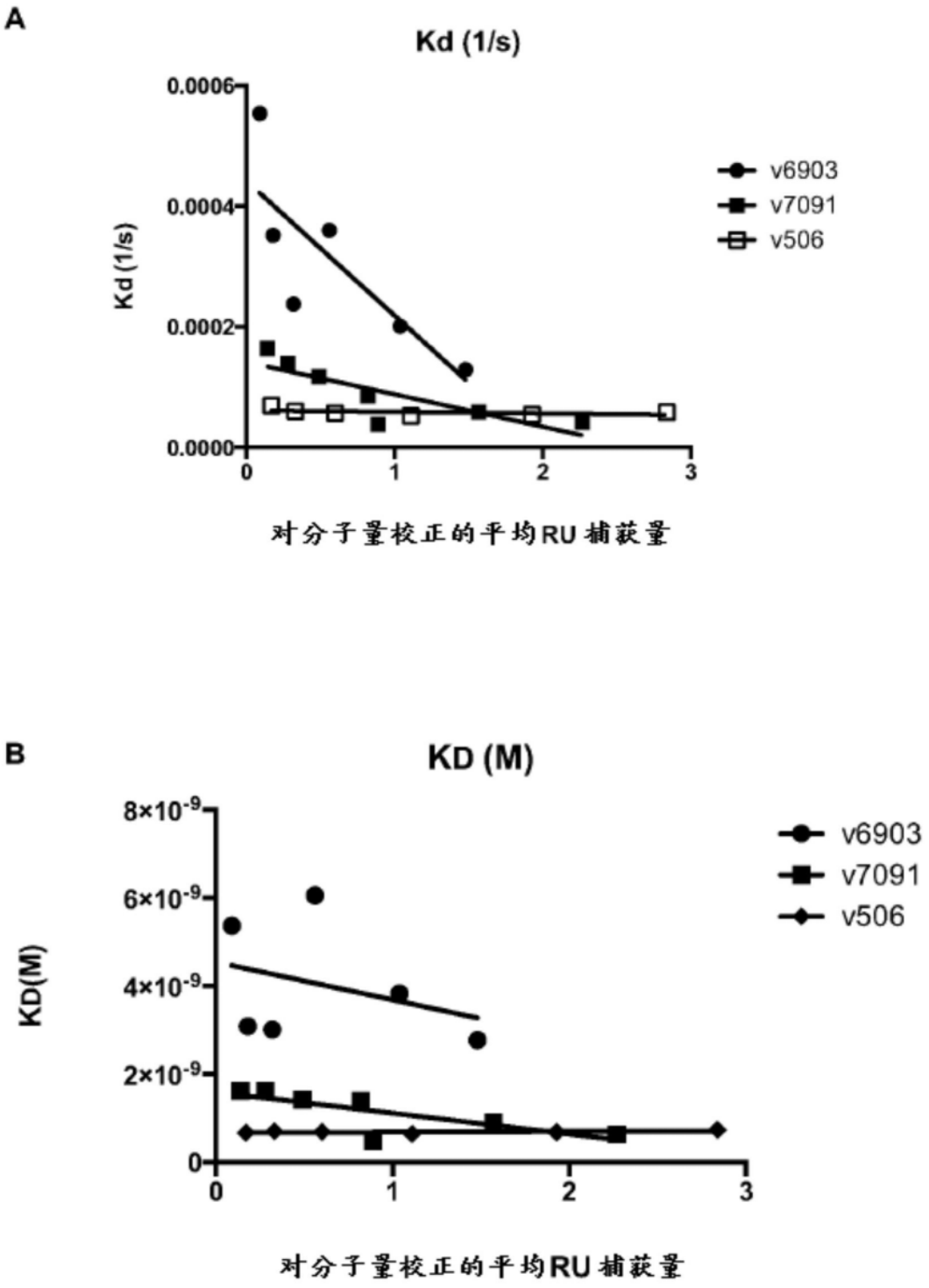

A
Kd (1/s)
0.0006
0.0004
0.0002
0.0000
Kd (1/s)
0
1
2
3
v6903
v7091
v506
对分子量校正的平均RU捕获量
B
KD (M)
8×10-9
6×10-9
4×10-9
2×10-9
0
KD(M)
0
1
2
3
v6903
v7091
v506
对分子量校正的平均RU捕获量

图47