



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107428820 B

(45) 授权公告日 2022.03.22

(21) 申请号 201580072454.2
(22) 申请日 2015.11.18
(65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 107428820 A
(43) 申请公布日 2017.12.01
(30) 优先权数据
 62/081,809 2014.11.19 US
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2017.07.05
(86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/IB2015/002610 2015.11.18
(87) PCT国际申请的公布数据
 W02016/079597 EN 2016.05.26
(73) 专利权人 阿克松神经系统科学公司
 地址 塞浦路斯拉纳卡
(72) 发明人 M. 诺瓦克 E. 孔特塞科瓦
(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
 11105
 代理人 张文辉
(51) Int.Cl.
 C07K 16/18 (2006.01)
 C12N 15/13 (2006.01)
 A61K 39/395 (2006.01)
 A61P 25/28 (2006.01)
 G01N 33/53 (2006.01)
(56) 对比文件
 CN 103502272 A, 2014.01.08
 WO 2013/041962 A1, 2013.03.28
 CN 102459333 A, 2012.05.16
 WO 2012/049570 A1, 2012.04.19
 审查员 赵文莉
 权利要求书2页 说明书103页
 序列表308页 附图58页

(54) 发明名称

在阿尔茨海默氏病中的人源化tau抗体

(57) 摘要

本发明涉及生物化学,分子生物学和阿尔茨海默氏病的诊断、预防和治疗领域。本文提供了能够区分正常(健康)和病理(疾病相关的)tau的针对人tau的人源化抗体。

1. 人源化抗tau抗体,其包含重链和轻链,所述重链包含重链可变区,所述轻链包含轻链可变区,其中所述重链可变区由SEQ ID NO. 16的氨基酸序列组成,并且所述轻链可变区由SEQ ID NO. 26或SEQ ID NO. 27的氨基酸序列组成,并且其中所述抗体是IgG1或IgG4同种型。

2. 权利要求1的抗体,其中所述重链可变区由SEQ ID NO. 16的氨基酸序列组成,并且所述轻链可变区由SEQ ID NO. 26的氨基酸序列组成。

3. 权利要求1的抗体,其中所述重链可变区由SEQ ID NO. 16的氨基酸序列组成,并且所述轻链可变区由SEQ ID NO. 27的氨基酸序列组成。

4. 权利要求1的抗体,其中所述重链由SEQ ID NO. 31或SEQ ID NO. 46的氨基酸序列组成,并且所述轻链由SEQ ID NO. 57或SEQ ID NO. 58的氨基酸序列组成。

5. 权利要求4的抗体,其中所述重链由SEQ ID NO. 31的氨基酸序列组成,并且所述轻链由SEQ ID NO. 57的氨基酸序列组成。

6. 权利要求1的抗体,其中所述抗体是糖基化的。

7. 权利要求1的抗体,其中所述抗体是重组产生的。

8. 权利要求1的抗体,其中所述抗体含有经修饰以改变效应子功能、半衰期、蛋白水解和/或糖基化的Fc区。

9. 权利要求1的抗体,其中所述抗体被修饰以调节选自下组的一种或多种功能特征:抗体依赖性细胞性细胞毒性,补体依赖性细胞毒性、血清半衰期、生物分布和/或与Fc受体的结合。

10. 药物组合物,其包含根据权利要求1-9中任一项的抗体,以及药学上可接受的载体、稀释剂、赋形剂、或稳定剂。

11. 权利要求10的组合物,其中所述组合物包含所述抗体的冻干粉末。

12. 权利要求10的组合物,其中所述组合物被配制用于输注或皮下施用。

13. 权利要求10所述的组合物,其进一步包含第二治疗剂。

14. 权利要求13的组合物,其中所述第二治疗剂和所述抗体是化学缀合的。

15. 权利要求13的组合物,其中所述第二治疗剂用于治疗阿尔茨海默氏病。

16. 权利要求13的组合物,其中所述第二治疗剂选自:gantenerumab、多奈哌齐、利伐斯的明、加兰他敏、美金刚、3-氨基-1-丙磺酸,及其任何药学上可接受的盐。

17. 诊断试剂,其包含权利要求1-9中任一项所述的抗体,以及载体、稀释剂、赋形剂或稳定剂。

18. 具有通式(A) - (L) - (C)的免疫缀合物,其中:(A)是权利要求1-9中任一项的抗体;(L)是接头;和(C)是试剂;并且其中所述接头(L)连接(A)至(C)。

19. 权利要求18的免疫缀合物,其中(C)是治疗剂、显像剂、检测剂或诊断剂。

20. 核酸,其编码权利要求1-9中任一项的抗体。

21. 载体,其包含根据权利要求20的核酸。

22. 包含根据权利要求21的载体的宿主细胞,其中所述宿主细胞不是植物细胞。

23. 产生结合人tau的抗体的方法,其包括培养权利要求22的宿主细胞,使得表达所述核酸并且产生所述抗体。

24. 根据权利要求1-9中任一项的抗体在制备药物中的用途,所述药物用于在患有阿尔

茨海默氏病或另一种tau病变的受试者中治疗阿尔茨海默氏病或另一种tau病变。

25. 根据权利要求1-9中任一项的抗体在制备药物中的用途,所述药物用于在患有阿尔茨海默氏病的受试者中治疗阿尔茨海默氏病。

26. 根据权利要求24的用途,其中将所述药物配制为通过注射施用。

27. 权利要求1-9中任一项的抗体和第二治疗剂在制备药物中的用途,所述药物用于在患有阿尔茨海默氏病或另一种tau病变的受试者中治疗阿尔茨海默氏病或另一种tau病变。

28. 根据权利要求27的用途,其中所述第二治疗剂选自:3-氨基-1-丙磺酸、利伐斯的明、多奈哌齐、加兰他敏、美金刚、gantenerumab及其任何药学上可接受的盐。

在阿尔茨海默氏病中的人源化tau抗体

[0001] 序列表

[0002] 本申请包含已经通过EFS-Web以ASCII格式提交的序列表,并且通过引用以其整体并入本文。将创建于2014年11月19日的所述ASCII副本命名为 11634.6003.00000_SL.txt,大小为284,497字节。

发明领域

[0003] 本发明是生物化学,分子生物学和阿尔茨海默氏病的诊断,预防和治疗领域。本文提供了针对人tau的人源化抗体,其能够区分正常(健康)和病理(疾病相关)tau。

[0004] 发明背景

[0005] 阿尔茨海默氏病(AD)是一种破坏高级脑结构,如涉及于记忆和认知中的那些脑结构的进行性神经变性病症。所述疾病导致认知功能缺陷和记忆、学习、语言衰退以及进行有意和有目的活动的的能力衰退。需要用于治疗 and 预防 AD 的有效的方法和组合物。

[0006] AD的组织学特征在于在脑中存在神经元外斑块以及细胞内和细胞外神经原纤维缠结。斑块主要由β淀粉状蛋白(Aβ)组成,而缠结包含病理性形式的tau,如病理性tau蛋白构象异构体及其聚集体。已在众多研究中证明tau蛋白在AD病变中的公认作用。举例而言,Braak显示AD神经变性的最密切关联是存在tau缠结而非淀粉状蛋白斑块(Braak, H., 等人, Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. Acta Neuropathol 82:239-259 (1991))。

[0007] Tau蛋白属于固有无序蛋白质家族,特征在于在它们的生理环境中不存在刚性三维结构(Skrabana等人,2006)。然而,tau截短和过度磷酸化可导致自固有无序状态向多种可溶性及不溶性错误无序结构(包括成对螺旋丝(PHF)和其它聚集体)的病理性转化(Wischik, C.M., Novak, M., Edwards, P.C., Klug, A., Tichelaar, W., Crowther, R.A. (1988). Structural characterization of the core of the paired helical filament of Alzheimer disease, Proc Natl Acad Sci USA 85, 4884-8; Wischik, C.M., Novak, M., Thøgersen, H.C., Edwards, P.C., Runswick, M.J., Jakes, R., Walker, J.E., Milstein, C., Roth, M., Klug, A. (1988). Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease, Proc Natl Acad Sci USA 85, 4506-10; Novak et al., 1993; Skrabana et al., 2006; Zilka, N., et al. Chaperone-like Antibodies Targeting Misfolded Tau Protein: New Vistas in the Immunotherapy of Neurodegenerative Foldopathies. Journal of Alzheimer's disease 15 (2008) 169-179; Kovacech B, Novak M. (2010). Tau truncation is a productive posttranslational modification of neurofibrillary degeneration in Alzheimer's disease. Curr Alzheimer Res Dec; 7 (8) :708-16; Kovacech B, Skrabana R, Novak M. (2010). Transition of tau protein from disordered to misordered in Alzheimer's disease. Neurodegener Dis 7:24-27)。这些结构变化导致功能的毒性增加,或导致天然蛋白的生理功能丧失,或两者(Zilka et al., 2008; Kovacech B, Novak M. (2010). Tau

truncation is a productive posttranslational modification of neurofibrillary degeneration in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* Dec;7(8):708-16); Kovacech B, Skrabana R, Novak M. (2010). Transition of tau protein from disordered to misordered in Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis* 7:24-27).

[0008] Tau的生理功能在于介导微管蛋白单体装配成构成神经元微管网络的微管 (Buee, L., Bussiere, T., Buee-Scherrer, V., Delacourte, A., Hof, P. R. (2000). Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Research. Brain Research Reviews*. 33, 95-130)。Tau蛋白通过位于蛋白质的C末端部分中的重复区域结合微管。Butner KA, Kirschner MW. 1991. Tau protein binds to microtubules through a flexible array of distributed weak sites. *J Cell Biol* 115:717-730; Lee G, Neve RL, Kosik KS. 1989. The microtubule binding domain of tau protein. *Neuron* 2:1615-1624。这些重复结构域(R1-R4)彼此不相同,但包含高度保守的31-32个氨基酸(Taniguchi T, Sumida M, Hiraoka S, Tomoo K, Kakehi T, Minoura K, Sugiyama S, Inaka K, Ishida T, Saito N, Tanaka C 2005 (Effects of different anti-tau antibodies on tau fibrillogenesis: RTA-1 and RTA-2 counteract tau aggregation. *FEBS Lett* 579:1399-1404; Taniguchi S, Suzuki N, Masuda M, Hisanaga S, Iwatsubo T, Goedert M, Hasegawa M. Inhibition of heparin-induced tau filament formation by phenothiazines, polyphenols, and porphyrins. *J Biol Chem* 280:7614-7623 (2005))。在人脑中,存在因在tau蛋白的N末端部分中存在或不存在某些氨基酸以及在蛋白质的C末端处的3种(R1、R3和R4)或4种(R1-R4)重复结构域而彼此不同的6种独特tau同种型。也参见图1,其显示6种人同种型(按照出现的顺序分别为2N4R、1N4R、2N3R、0N4R、1N3R和0N3R SEQ ID NO.151-156)。已提出tau用以诱导微管聚合的最强力部分是与R1-R2重叠的序列306-VQIVYK-311(SEQ ID NO.146)和274-KVQIINKK-281区(SEQ ID NO.144)。(von Bergen M, Friedhoff P, Biernat J, Heberle J, Mandelkow EM, Mandelkow E. 2000. Assembly of tau protein into Alzheimer paired helical filaments depends on a local sequence motif((306)VQIVYK(311)) forming beta structure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:5129-5134.)同上。

[0009] 此外,tau的病理和生理功能似乎受由全长蛋白质同种型及其片段所采用的特定结构构象和固有无序结构影响。举例而言,Kontsekova等描述某些截短的tau分子内的构象区域(涵盖残基297-IKHVPGGGSVQIVYKPVDSLKVTSKCGSL-325(SEQ ID NO:145)),其与那些截短tau蛋白分子关于微管装配的功能具有重大关系(WO 2004/007547)。

[0010] 除它们的生理作用之外,tau蛋白重复序列被认为参与形成病理性tau蛋白聚集体和其它结构。因此,对能够区分生理性微管结合重复区介导活性与病理性微管结合重复区介导活性的tau蛋白靶向治疗和诊断方法存在需要。举例而言,病理性成对螺旋丝(PHF)的链霉菌蛋白酶(pronase)抗性核心由3重复tau蛋白同种型和4重复tau蛋白同种型的微管结合区组成(Jakes, R., Novak, M., Davison, M., Wischik, C. M. (1991). Identification of 3- and 4-repeat tau isoforms within the PHF in Alzheimer's disease. *EMBO J* 10, 2725-2729; Wischik, 等人, 1988a; Wischik, 等人, 1988b)。此外,Novak等显示PHF的长度为93-95个氨基酸的蛋白酶抗性核心限于3个串联重复序列(Novak, M., Kabat, J., Wischik,

C.M.(1993).Molecular characterization of the minimal protease resistant tau unit of the Alzheimer's disease paired helical filament.EMBO J 12,365-70)。Von Bergen等人确定最小tau肽/相互作用基序(306-VQIVYK-311;SEQ ID NO:146)以及tau蛋白上的第二位点(275-VQIINK-280)(SEQ ID NO:147),其形成β片层且被描述为潜在负责起始病理性tau蛋白聚集体PHF的形成(von Bergen M, Friedhoff P,Biernat J,Heberle J,Mandelkow EM,Mandelkow E.2000. Assembly of tau protein into Alzheimer paired helical filaments depends on a local sequence motif((306)VQIVYK(311)) forming beta structure.Proc Natl Acad Sci U S A 97:5129-5134);EP 1214598;W0 2001/18546)。对于tau的功能图谱,参见图2。因此,当前策略旨在产生不破坏tau蛋白在微管稳定化方面的细胞内作用的抗聚集药物。

[0011] 此外,尽管在生理情况下,tau蛋白被视为细胞内细胞质蛋白,但细胞内tau蛋白可被释放至细胞外间隙中且促进神经变性(Gómez-Ramos,A., Díaz-Hernández,M., Cuadros,R.,Hernández,F.,and Avila,J.(2006). Extracellular tau is toxic to neuronal cells.FEBS Lett 580(20),4842-50)。实际上,神经元损失已与神经原纤维缠结(由tau蛋白组成)在AD脑中的局部解剖分布相关联(West,M.J.,Coleman,P.D.,Flood,D.G.,Troncoso,J.C.(1994). Differences in the pattern of hippocampal neuronal loss in normal ageing and Alzheimer's disease.Lancet 344,769-72;Gómez-Isla,T.,Price,J.L.,McKeel Jr, D.W.,Morris,J.C.,Growdon,J.H.,Hyman,B.T.(1996). Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease.J Neurosci 16(14),4491-500;Gomez-Isla T,Hollister R,West H,Mui S,Growdon JH, Petersen RC,Parisi JE,Hyman BT.Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease.Ann Neurol 41:17-24(1997))。此外,总tau蛋白和磷酸化tau蛋白的水平在AD患者的脑脊髓液(CSF)中增加(Hampel,H.,Blennow,K.,Shaw,L.M.,Hoessler,Y.C.,Zetterberg,H.,Trojanowski,J.Q.(2010).Total and phosphorylated tau protein as biological markers of Alzheimer's disease.Exp Gerontol 45(1),30-40),并且细胞外tau蛋白已被描述为脑中的“鬼影缠结(ghost tangle)”(Frost,B.,Diamond,M.I.(2009). The expanding realm of prion phenomena in neurodegenerative disease.Prion 3(2):74-7),表明胞内tau被释放到细胞外间隙。此外,细胞外tau蛋白聚集体可进入细胞且刺激细胞内tau细丝化(fibrillization),从而进一步播种(seeding)用于产生病理性tau蛋白聚集体的tau蛋白单体(Frost等,2009)。所述研究已强调细胞外不溶性tau蛋白可充当可传播剂来以朊病毒样方式遍及脑散布tau蛋白病变(Frost,B.,Jacks,R.L.,Diamond,M.I.(2009).Propagation of tau misfolding from the outside to the inside of a cell.J Biol Chem 284(19),12845-52;Frost et al.,2009;Frost,B.,Diamond,M.I.(2009).The expanding realm of prion phenomena in neurodegenerative disease.Prion 3(2):74-7)。靶向异常tau可以减少tau相关的胞外和胞内病理。参见,Eva Kontsekova,Norbert Zilka,Branislav Kovacech,Petr Novak,Michal Novak.2014。靶向对于病理性tau-tau相互作用必需的结构决定簇的首次用于人的tau疫苗(First-in-man tau vaccine)降低了阿尔茨海默氏病模型中的tau寡聚和神经原纤维变性.Alzheimer's

Research & Therapy, 6:44。因此,对能够通过阻碍细胞外tau蛋白的形成、促进其清除,或两者来降低细胞外tau蛋白的治疗以及对降低细胞内疾病tau蛋白的治疗存在需要。对在病理性tau蛋白转化以下的分子机制的了解增加已开启出于治疗目的特异性靶向病理性tau蛋白修饰的可能性。

[0012] Novak等人的国际公开号WO 2013/041962描述了在AD中促进tau-tau聚集的四个区域的发现,以及通过结合那四个区域阻止tau聚集的抗体。

[0013] 尽管其他研究已描述结合tau蛋白序列的抗体,且那些抗体中的一些据报道也会干扰tau蛋白聚集和清除 (Asuni AA, Boutajangout A, Quartermain D, Sigurdsson EM. Immunotherapy targeting pathological tau conformers in a tangle mouse model reduces brain pathology with associated functional improvements. *J Neurosci* 27:9115-9129 (2007)),但尚无单克隆抗tau蛋白抗体据报道正经历AD的临床试验。

[0014] 外源(小鼠)单克隆抗体在人类治疗中的成功已经部分地受到人接受者针对此种外来治疗剂产生的免疫原性抗球蛋白应答的阻碍。这些使抗体的安全性和药动学特性变得复杂。这些挑战导致了携带较低的免疫反应风险的工程化抗体的发展。正在不断地开发各种专利工程技术(例如嵌合化,人源化, CDR移植,框架移植,亲和力成熟,噬菌体展示,转基因小鼠)以推进该过程。对于最近的综述,参见Safdari Y1, Farajnia S, Asgharzadeh M, Khalili M. Antibody humanization methods-a review and update. 2013. *Biotechnol Genet Eng Rev*. 29:175-86. doi:10.1080/02648725.2013.801235和Almagro JC1, Fransson J. Humanization of antibodies. 2008. *Front Biosci*. 13:1619-33。

[0015] 主要设计了保留亲本抗体的特异性和亲和力,同时具有人恒定区域的人源化抗体,其理想地将对患者呈现更少的免疫原性靶标。典型的人源化抗体携带小鼠或大鼠来源的亲本抗体的互补决定区(CDR)和主要是人来源的,但经常被突变以保留亲本抗体的结合性质的框架(FR)区和恒定区。但抗原结合亲和力和特异性不是影响抗体生物活性和临床成功的唯一因素。改善抗体对患者免疫系统的激活是一些人源化抗体的价值的关键,而对于其他抗体,减少细胞介导的毒性是目标。最终,对抗体结构和活性的增加的了解使得研究人员通常通过突变来工程化更同质的具有以下性质的更先进的人源化抗体:更好的抗原结合特性(结合亲和力,靶特异性),效应子功能,稳定性,表达水平,纯化特性,药代动力学和药效学。许多这些改进对于给定抗体的商业活力是重要的。有时,在实现靶结合亲和力和特异性之后,有必要突变CDR或FR中的一些氨基酸以降低人源化抗体对聚集的易感性。其他时候,改变(转换或突变)恒定区以改善效应子功能。抗体功能和活性的这些和其它方面继续对临床使用的抗体的开发提出挑战。下面描述了已经被工程化以具有预料不到的有利性质的一组针对tau的人源化抗体。以下还提供了新的方法和组合物,其包含这些高度特异性和高效的抗体,所述抗体具有特异性识别和结合病理性tau,阻碍其聚集的能力。所有这些抗体,方法和组合物用于诊断和治疗AD及相关tau蛋白病变。

[0016] 发明概述

[0017] 在阅读了所公开的实施方案的以下详细描述和所附权利要求之后,本发明的这些和其它目的,特征和优点将变得明显。

- [0018] 本文公开了人源化抗tau抗体或其tau结合片段,其中所述抗体或结合片段包含:
- [0019] 包含分别为SEQ ID NO.1、2、3的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的重链可变区,以及来自人免疫球蛋白M65092的框架(SEQ ID NO.71);
- [0020] 包含分别为SEQ ID NO.4、5、6的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的轻链可变区,以及来自人免疫球蛋白X72449的框架(SEQ ID NO.65);和
- [0021] 各自来自人免疫球蛋白的重链和轻链恒定区;并且其中所述重链框架已经在选自9、21、27、28、30、38、48、67、68、70和95的位置中的一个或多个被取代;所述轻链框架未取代或已经在5位被取代;并且其中所述位置是根据Kabat的。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO. 148),HVPGGG(SEQ ID NO.149)和HKPGGG(SEQ ID NO.150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。
- [0022] 这种抗体和结合片段也以以下的形式考虑:其中所述重链9位由P占据、21位由P占据、27位由Y占据、28位由I占据、30位由T占据、38位由K占据、48位由I占据、67位由K占据、68位由A占据、70位由L占据、和/或95位由F占据。在一个实施方案中,轻链5位由S占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有2个被这样(as such)占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有3个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有4个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有5个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有6个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有7个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有8个被占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有9个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有10个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中的所有11个都被这样占据。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO. 148),HVPGGG(SEQ ID NO.149)和HKPGGG(SEQ ID NO.150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。
- [0023] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是选自RHA至RHM,SEQ ID NO.13-25的那些;并且轻链可变区的序列为SEQ ID NO.26(RKA)。
- [0024] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是选自RHA至RHM,SEQ ID NO.13-25的那些;并且轻链可变区的序列为SEQ ID NO.27(RKB)。
- [0025] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.13,RHA,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。
- [0026] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。
- [0027] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.15,RHC,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。
- [0028] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。
- [0029] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。
- [0030] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.18,RHF,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。
- [0031] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.19,

RHG,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。

[0032] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.20,RHH,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。

[0033] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.21,RHI,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。

[0034] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.22,RHJ,,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。

[0035] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.23,RHK,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。

[0036] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.24,RHL,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。

[0037] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。

[0038] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.13,RHA,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。

[0039] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。

[0040] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.15,RHC,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。

[0041] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。

[0042] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。

[0043] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.18,RHF,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。

[0044] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.19,RHG,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。

[0045] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.20,RHH,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。

[0046] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.21,RHI,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。

[0047] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.22,RHJ,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。

[0048] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.23,RHK,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。

[0049] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.24,RHL,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。

[0050] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。

[0051] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0052] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0053] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0054] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25, RHM,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0055] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0056] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0057] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0058] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0059] 还考虑了人源化抗tau抗体或其tau结合片段,其中所述抗体或结合片段 包含:

[0060] 包含分别为SEQ ID NO.1,2,3的CDR-H1,CDR-H2和CDR-H3的重链可 变区,以及来自人免疫球蛋白M65092的框架(SEQ ID NO.71);和

[0061] 包含分别为SEQ ID NO.4,5,6的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的轻链可 变区,以及来自人免疫球蛋白X72449的框架(SEQ ID NO.65);和

[0062] 来自人免疫球蛋白,优选IgG1或IgG4的重链和轻链恒定区。

[0063] 进一步考虑的是抗tau抗体或其tau结合片段,其中所述抗体或结合片段 包含以下完整链:

[0064] 具有SEQ ID NO.28-40中任一项的氨基酸序列的重链;和

[0065] 具有SEQ ID NO.26和27中任一项的氨基酸序列的轻链可变域。在一些 实施方案中,抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148),HVPGGG (SEQ ID NO:149)和HKPGGG (SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案 中,抗体结合所有三个表位。

[0066] 进一步考虑的是抗tau抗体或其tau结合片段,其中所述抗体或结合片段 包含以下完整链:

[0067] 具有SEQ ID NO.43-55中任一项的氨基酸序列的重链;和

[0068] 具有SEQ ID NO.26和27中任一项的氨基酸序列的轻链可变域。在一些 实施方案中,抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148),HVPGGG (SEQ ID NO:149)和HKPGGG (SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案 中,抗体结合所有三个表位。

[0069] 进一步考虑的是抗tau抗体或其tau结合片段,其中所述抗体或结合片段 包含以下完整链:

[0070] 具有SEQ ID NO.43-55中任一项的氨基酸序列的重链;和

[0071] 具有SEQ ID NO.27和58中任一项的氨基酸序列的轻链可变域。在一些 实施方案中,抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148),HVPGGG (SEQ ID NO:149)和HKPGGG (SEQ ID NO:

150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0072] 进一步考虑的是抗tau抗体或其tau结合片段,其中所述抗体或结合片段包含以下完整链:

[0073] 具有SEQ ID NO.31的氨基酸序列的重链;和

[0074] 具有SEQ ID NO.57的氨基酸序列的轻链可变域。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO:148),HVPGGG(SEQ ID NO:149)和HKPGGG(SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0075] 进一步考虑的是抗tau抗体或其tau结合片段,其中所述抗体或结合片段包含以下完整链:

[0076] 具有的氨基酸序列的重链SEQ ID NO.32;和

[0077] 具有中任一项的氨基酸序列的轻链可变域SEQ ID NO.57。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO:148),HVPGGG(SEQ ID NO:149)和HKPGGG(SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0078] 进一步考虑的是抗tau抗体或其tau结合片段,其中所述抗体或结合片段包含以下完整链:

[0079] 具有SEQ ID NO.31的氨基酸序列的重链;和

[0080] 具有SEQ ID NO.58的氨基酸序列的轻链可变域。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO:148),HVPGGG(SEQ ID NO:149)和HKPGGG(SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0081] 进一步考虑的是抗tau抗体或其tau结合片段,其中所述抗体或结合片段包含以下完整链:

[0082] 具有SEQ ID NO.32的氨基酸序列的重链;和

[0083] 具有SEQ ID NO.58和27的氨基酸序列的轻链可变域。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO:148),HVPGGG(SEQ ID NO:149)和HKPGGG(SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0084] 进一步考虑的是抗tau抗体或其tau结合片段,其中所述抗体或结合片段包含以下完整链:

[0085] 具有SEQ ID NO.46的氨基酸序列的重链;和

[0086] 具有SEQ ID NO.57的氨基酸序列的轻链可变域。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO:148),HVPGGG(SEQ ID NO:149)和HKPGGG(SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0087] 进一步考虑的是抗tau抗体或其tau结合片段,其中所述抗体或结合片段包含以下完整链:

[0088] 具有SEQ ID NO.47的氨基酸序列的重链;和

[0089] 具有SEQ ID NO.57的氨基酸序列的轻链可变域。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO:148),HVPGGG(SEQ ID NO:149)和HKPGGG(SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0090] 进一步考虑的是抗tau抗体或其tau结合片段,其中所述抗体或结合片段包含以下完整链:

[0091] 具有SEQ ID NO.46的氨基酸序列的重链;和

[0092] 具有SEQ ID NO.58的氨基酸序列的轻链可变域。在一些实施方案中, 抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148), HVPGGG (SEQ ID NO:149) 和 HKPGGG (SEQ ID NO:150) 的一个或两个表位。在一些实施方案中, 抗体结合所有三个表位。

[0093] 进一步考虑的是抗tau抗体或其tau结合片段, 其中所述抗体或结合片段 包含以下完整链:

[0094] 具有SEQ ID NO.47的氨基酸序列的重链;和

[0095] 具有SEQ ID NO.58的氨基酸序列的轻链可变域。在一些实施方案中, 抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148), HVPGGG (SEQ ID NO:149) 和 HKPGGG (SEQ ID NO:150) 的一个或两个表位。在一些实施方案中, 抗体结合所有三个表位。

[0096] 还考虑了抗体, 其包含:

[0097] 重链可变区, 其包含SEQ ID NO 1, 2, 3的CDR-H1, CDR-H2和CDR-H3, 并且是与SEQ ID NO.RHA, SEQ ID RHB, SEQ ID RHC, SEQ ID RHD, SEQ ID RHE, SEQ ID RHF, SEQ ID RHG, SEQ ID RHH, SEQ ID RHI, SEQ ID RHJ, SEQ ID RHL, SEQ ID RHM, 即, SEQ ID NO.13-25中的任一项至少85%相同;

[0098] 和成熟轻链可变区, 其分别包含SEQ ID NO 4, 5, 6的CDR-L1、CDR-L2 和CDR-L3, 并且是与SEQ ID NO.26, RKA至少85%相同, 其中所述抗体 结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148), HVPGGG (SEQ ID NO:149) 和 HKPGGG (SEQ ID NO:150) 的一个或两个表位。在一些实施方案中, 抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148), HVPGGG (SEQ ID NO:149) 和 HKPGGG (SEQ ID NO:150) 的一个或两个表位。在一些实施方案中, 抗体结合所有三个表位。在一些实施方案中, 抗体是嵌合的。在一些实施方案中, 抗体是人源化的。

[0099] 还考虑了抗体, 其包含:

[0100] 重链可变区, 包含SEQ ID NO 1, 2, 3的CDR-H1, CDR-H2和CDR-H3, 并且是与SEQ ID NO:RHA, SEQ ID RHB, SEQ ID RHC, SEQ ID RHD, SEQ ID RHE, SEQ ID RHF, SEQ ID RHG, SEQ ID RHH, SEQ ID RHI, SEQ ID RHJ, SEQ ID RHL, SEQ ID RHM, 即, SEQ ID NO.13-25中的任一项至少90%相同;

[0101] 和成熟轻链可变区, 其分别包含SEQ ID NO 4, 5, 6的CDR-L1、CDR-L2 和CDR-L3, 并且是与SEQ ID NO:26, RKA至少90%相同, 其中所述抗体 结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148), HVPGGG (SEQ ID NO:149) 和 HKPGGG (SEQ ID NO:150) 的一个或两个表位。在一些实施方案中, 抗体结合所有三个表位。在一些实施方案中, 抗体是嵌合的。在一些实施方案中, 抗体是人源化的。

[0102] 还考虑了抗体, 其包含:

[0103] 重链可变区, 其包含SEQ ID NO 1, 2, 3的CDR-H1, CDR-H2和CDR-H3, 并且是与SEQ ID NO:RHA, SEQ ID RHB, SEQ ID RHC, SEQ ID RHD, SEQ ID RHE, SEQ ID RHF, SEQ ID RHG, SEQ ID RHH, SEQ ID RHI, SEQ ID RHJ, SEQ ID RHL, SEQ ID RHM, 即, SEQ ID NO.13-25中的任一项至少95%相同;

[0104] 和成熟轻链可变区, 其分别包含SEQ ID NO 4, 5, 6的CDR-L1、CDR-L2 和CDR-L3, 并且是与SEQ ID NO:26, RKA至少95%相同, 其中所述抗体 结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148), HVPGGG (SEQ ID NO:149) 和 HKPGGG (SEQ ID NO:150) 的一个或两个表位。在一些实施

方案中,抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148),HVPGGG (SEQ ID NO:149)和HKPGGG (SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。在一些实施方案中,抗体是嵌合的。在一些实施方案中,抗体是人源化的。

[0105] 根据前面三段,这样的抗体和结合片段也以以下的形式考虑:其中重链9位由P占据,21位由P占据,27位由Y占据,28位由I占据,30位由T占据,38由K占据,48位由I占据,67位由K占据,68位由A占据,70位由L占据,和/或95位由F占据。在一个实施方案中,轻链5位由S占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有2个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有3个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有4个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有4个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有5个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有6个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有7个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有8个被占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有9个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有10个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中的所有11个都被这样占据。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO.148),HVPGGG (SEQ ID NO.149)和HKPGGG (SEQ ID NO.150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0106] 并且还考虑了抗体,其包含:

[0107] 重链可变区,其包含SEQ ID NO.1,2,3的CDR-H1,CDR-H2和CDR-H3的,并且是与SEQ ID NO:RHA,SEQ ID RHB,SEQ ID RHC,SEQ ID RHD,SEQ ID RHE,SEQ ID RHF,SEQ ID RHG,SEQ ID RHH,SEQ ID RHI,SEQ ID RHJ,SEQ ID RHL,SEQ ID RHM,即,SEQ ID NO.13-25中的任一项至少85%相同;

[0108] 和成熟轻链可变区,其分别包含SEQ ID NO 4,5,6的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的,并且是与SEQ ID NO:27RKB至少85%相同,其中所述抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148),HVPGGG (SEQ ID NO:149)和HKPGGG (SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148),HVPGGG (SEQ ID NO:149)和HKPGGG (SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。在一些实施方案中,抗体是嵌合的。在一些实施方案中,抗体是人源化的。

[0109] 并且还考虑了抗体,其包含:

[0110] 重链可变区,包含SEQ ID NO.1,2,3的CDR-H1,CDR-H2和CDR-H3,并且是与SEQ ID NO:RHA,SEQ ID RHB,SEQ ID RHC,SEQ ID RHD,SEQ ID RHE,SEQ ID RHF,SEQ ID RHG,SEQ ID RHH,SEQ ID RHI,SEQ ID RHJ,SEQ ID RHL,SEQ ID RHM,即,SEQ ID NO.13-25中的任一项至少90%相同;

[0111] 和成熟轻链可变区,其分别包含SEQ ID NO 4,5,6的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,并且是与SEQ ID NO:27RKB至少90%相同,其中所述抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148),HVPGGG (SEQ ID NO:149)和HKPGGG (SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148),HVPGGG (SEQ ID NO:149)和HKPGGG (SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。在一些实施方案中,抗体是嵌合的。在一些实施方案中,抗体是人源化的。

[0112] 并且还考虑了抗体,其包含:

[0113] 重链可变区,其包含SEQ ID NO.1,2,3的CDR-H1,CDR-H2和CDR-H3,并且是与SEQ

ID NO:RHA,SEQ ID RHB,SEQ ID RHC,SEQ ID RHD,SEQ ID RHE,SEQ ID RHF,SEQ ID RHG,SEQ ID RHH,SEQ ID RHI,SEQ ID RHJ,SEQ ID RHL,SEQ ID RHM,即,SEQ ID NO.13-25中的任一项至少95%相同;

[0114] 和成熟轻链可变区,其分别包含SEQ ID NO 4,5,6的CDR-L1、CDR-L2 和CDR-L3,并且是与SEQ ID NO:27RKB至少95%相同,其中所述抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO:148),HVPGGG(SEQ ID NO:149)和HKPGGG(SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO:148),HVPGGG(SEQ ID NO:149)和HKPGGG(SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。在一些实施方案中,抗体是嵌合的。在一些实施方案中,抗体是人源化的。

[0115] 根据前面三段,这样的抗体和结合片段也以以下的形式考虑:其中重链 9位由P占据,21位由P占据,27位由Y占据,28位由I占据,30位由T占据,38 由K占据,48位由I占据,67位由K占据,68位由A占据,70位由L占据,和/ 或95位由F占据。在一个实施方案中,轻链5位由S占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有2个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有3 个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有4个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有4个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有5个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有6 个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有7个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有8个被占据。在一些实施方案中,这11 个位置中只有9个被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中只有10个 被这样占据。在一些实施方案中,这11个位置中的所有11个都被这样占据。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO:148),HVPGGG(SEQ ID NO:149)和HKPGGG(SEQ ID NO:150)的一个或两个表 位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0116] 本公开还提供或考虑本节前面所有段落(发明概述)中的抗体,其中所述 抗体或结合片段是Fab,Fab',F(ab')₂,Fd,scFv,(scFv)₂,或scFv-Fc。在一些实施 方案中,这种抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO.148),HVPGGG(SEQ ID NO.149)和HKPGGG(SEQ ID NO.150)的一个或两个表位。在一些实施方案 中,抗体结合所有三个表位。

[0117] 本公开还提供或考虑本节前面段落中的抗体,其中所述抗体或结合片段 是IgG1,IgG2,IgG3,或IgG4抗体。在一些实施方案中,抗体结合选自 HQPGGG(SEQ ID NO:148),HVPGGG(SEQ ID NO:149)和HKPGGG(SEQ ID NO:150)的一个或两个表位。在一些实施方案 中,抗体结合所有三个表位。

[0118] 本公开还提供或考虑本节前面段落中的抗体,其中所述抗体或结合片段 是IgG1抗体。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO:148),HVPGGG(SEQ ID NO:149)和HKPGGG(SEQ ID NO:150)的一个或两个表 位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0119] 本公开还提供或考虑本节前面段落中的抗体,其中所述抗体或结合片段 是糖基化的。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG(SEQ ID NO:148),HVPGGG(SEQ ID NO:149)和HKPGGG(SEQ ID NO:150)的一个或两个表 位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0120] 本公开还提供或考虑本节前面段落中的抗体,其中所述抗体或结合片段 以至少 5×10^{-7} 的亲合力(K_D)结合Tau 151-391/4R。在一些实施方案中,抗体结 合选自HQPGGG(SEQ

ID NO:148), HVPGGG (SEQ ID NO:149) 和 HKPGGG (SEQ ID NO:150) 的一个或两个表位。在一些实施方案中, 抗体结合所有三个表位。在一些实施方案中, 抗体是嵌合的。在一些实施方案中, 抗体是人源化的。在一些实施方案中, 通过SPR测量结合亲和力。在一些实施方案中, 通过ELISA测量结合亲和力。

[0121] 本公开还提供或考虑本节前面段落中的抗体, 其中与由美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection) 保藏的杂交瘤PTA-11994分泌的 DC8E8抗体相比, 所述抗体或结合片段以与至少80%相同的结合亲和力, 基本相同的结合亲和力或更好的结合亲和力结合tau。在一些实施方案中, 抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148), HVPGGG (SEQ ID NO:149) 和 HKPGGG (SEQ ID NO:150) 的一个或两个表位。在一些实施方案中, 抗体结合所有三个表位。在一些实施方案中, 抗体是嵌合的。在一些实施方案中, 抗体是人源化的。在一些实施方案中, 通过SPR测量结合亲和力。在一些实施方案中, 通过ELISA测量结合亲和力。

[0122] 本公开还提供或考虑本节前面段落中的抗体, 其中所述抗体以与由美国典型培养物保藏中心保藏的杂交瘤PTA-11994分泌的DC8E8抗体在至少一个相同表位竞争对tau的结合。在一些实施方案中, 抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148), HVPGGG (SEQ ID NO:149) 和HKPGGG (SEQ ID NO:150) 的一个或两个表位。在一些实施方案中, 抗体结合所有三个表位。在一些实施方案中, 抗体是嵌合的。在一些实施方案中, 抗体是人源化的。

[0123] 本公开还提供或考虑本节前面段落中的抗体, 其中所述抗体是重组产生的。在一些实施方案中, 抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148), HVPGGG (SEQ ID NO:149) 和HKPGGG (SEQ ID NO:150) 的一个或两个表位。在一些实施方案中, 抗体结合所有三个表位。在一些实施方案中, 抗体是嵌合的。在一些实施方案中, 抗体是人源化的。

[0124] 在一些实施方案中, 前4个段落的抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB, 并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地, 抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0125] 在一些其它实施方案中, 前5段中的前4个段落的抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16, RHD, 并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地, 抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0126] 在一些其它实施方案中, 前6段中的前4个段落的抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE, 并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地, 抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0127] 在一些其它实施方案中, 前7段中的前4个段落的抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25, RHM, 并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地, 抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0128] 在一些实施方案中, 抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB, 并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地, 抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0129] 在一些其它实施方案中, 抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16RHD, 并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地, 抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0130] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0131] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0132] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0133] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0134] 在一些实施方案中,前8段中的前4个段落的抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB,并且恒定区是IgG1同种型的。

[0135] 在一些实施方案中,前9段中的前4个段落的抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB,并且恒定区是IgG1同种型的。

[0136] 在一些实施方案中,前10段中的前4个段落的抗体和结合片段抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4同种型的。

[0137] 在一些实施方案中,前11段中的前4个段落的抗体和结合片段抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4同种型的。

[0138] 本公开还提供或考虑本节前面段落中的抗体,其中所述抗体在中国仓鼠 卵巢 (CHO) 细胞系中重组产生。在一些实施方案中,抗体结合选自 HQPGGG (SEQ ID NO:148), HVPGGG (SEQ ID NO:149) 和HKPGGG (SEQ ID NO:150) 的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0139] 本公开还提供或考虑本节前面段落中的抗体,其中所述抗体或结合片段 含有已被修饰以改变效应子功能,半衰期,蛋白水解和/或糖基化的Fc区。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148), HVPGGG (SEQ ID NO:149) 和HKPGGG (SEQ ID NO:150) 的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0140] 以下是前2段中的十四个示例性其他的实施方案:

[0141] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0142] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0143] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同

种型的。

[0144] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0145] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0146] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0147] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型得到。

[0148] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0149] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0150] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0151] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0152] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0153] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0154] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0155] 本公开还提供或考虑本节前面段落中的抗体,其中所述抗体或结合片段被修饰以调节选自抗体依赖性细胞性细胞毒性,补体依赖性细胞毒性、血清半衰期、生物分布和与Fc受体结合的功能特征。在一些实施方案中,抗体结合选自HQPGGG (SEQ ID NO:148), HVPGGG (SEQ ID NO:149) 和 HKPGGG (SEQ ID NO:150) 的一个或两个表位。在一些实施方案中,抗体结合所有三个表位。

[0156] 以下是前面段落中的十四个示例性其他的实施方案:

[0157] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0158] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同

种型的。

[0159] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0160] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0161] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0162] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0163] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0164] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0165] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0166] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0167] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0168] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0169] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0170] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0171] 本公开还提供或考虑本节前面段落中的抗体,其中所述抗体具有等于或大于69℃的热稳定性温度。

[0172] 以下是前面段落中的十四个示例性其他的实施方案:

[0173] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0174] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同

种型的。

[0175] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0176] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0177] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0178] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0179] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0180] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0181] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0182] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0183] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0184] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0185] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0186] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0187] 在本公开的另一方面,考虑了包含本公开的抗体和/或结合片段中的一种和另一种组分的组合物。

[0188] 在本公开的另一方面,考虑了包含本节所述的抗体或结合片段和药学上可接受的载体、稀释剂、赋形剂或稳定剂的药物组合物。

[0189] 以下是前2段中的十四个示例性其他的实施方案:

[0190] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0191] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0192] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0193] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0194] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0195] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0196] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型得到。

[0197] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0198] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0199] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0200] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0201] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0202] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0203] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0204] 还考虑到任何前面的组合物的另外形式,其中所述组合物包含所述抗体或结合片段的冻干粉末。

[0205] 还考虑到任何前面的组合物,其中将所述组合物配制用于输注或皮下施用。

[0206] 还考虑到这些组合物中的任一种,其进一步包含第二治疗剂(也称为组合(combination))。

[0207] 以下是前3段中的十四个示例性其他的实施方案:

[0208] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0209] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0210] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0211] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0212] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1同种型的。

[0213] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1同种型的。

[0214] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4同种型的。

[0215] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4同种型的。

[0216] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0217] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0218] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0219] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0220] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1同种型的。

[0221] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4同种型的。

[0222] 在这些组合物中的一些中,治疗剂和抗体或结合片段是化学缀合的。

[0223] 在这些组合物中的一些中,第二治疗剂用于预防和/或治疗AD。

[0224] 还考虑第二治疗剂选自例如 β -淀粉状蛋白肽(beta-amyloid peptide)(例如 N-

端淀粉状蛋白 β -肽),其可以或可以不与其它化合物缀合,例如突变的白喉毒素;其他抗tau抗体,针对 β -淀粉状蛋白的抗体,如bapineuzumab, solaneuzumab, gantenerumab, crenezumab和IVIG免疫球蛋白,靶向A β 寡聚体的其他免疫疗法,阻止tau高度磷酸化的化合物,预防tau寡聚化和聚集或解聚tau寡聚体的化合物(例如甲基硫堇(methylthionium), rember, 或LMTX)和其他靶向tau聚集体的主动和被动免疫疗法;及其任何药学上可接受的盐。

[0225] 还考虑第二治疗剂选自淀粉状蛋白- β 聚集抑制剂(例如, Tramiprosate), γ -分泌酶抑制剂(例如semagacestat)和 γ -分泌酶调节剂(tarenflurbil);及其任何药学上可接受的盐。

[0226] 以下是前4段中的十四个示例性其他的实施方案:

[0227] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0228] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0229] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0230] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型。

[0231] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0232] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0233] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0234] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0235] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB,并且恒定区是IgG1同种型的。

[0236] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB,并且恒定区是IgG4同种型的。

[0237] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.26,

RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0238] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0239] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0240] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0241] 在一些情况下,第二治疗剂选自乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase)抑制剂(例如,多奈哌齐(donepezil),利伐斯的明(rivastigmine),加兰他敏(galantamine),他克林(tacrine),营养补充剂),N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体拮抗剂(例如美金刚(memantine)),DNA修复抑制剂(例如,哌仑西平(pirenzepine)或其代谢物),过渡金属螯合剂,生长因子,激素,非类固醇抗炎药(NSAID),抗氧化剂,降脂剂,选择性磷酸二酯酶抑制剂,tau聚集抑制剂,蛋白激酶抑制剂,抗线粒体功能障碍药物抑制剂,神经营养蛋白,热休克蛋白抑制剂,脂蛋白相关磷脂酶A₂抑制剂,美金刚,抗凋亡化合物,金属螯合剂,DNA修复抑制剂,3-氨基-1-丙磺酸(3-amino-1-propanesulfonic acid)(3APS),1,3-丙二磺酸(1,3-propanedisulfonate)(1,3PDS),分泌酶激活剂, β -分泌酶抑制剂, γ -分泌酶抑制剂, β -淀粉状蛋白肽, β -淀粉状蛋白抗体,tau肽,神经递质, β -片层破坏剂(beta-sheet breaker),抗炎分子;及其任何药学上可接受的盐。

[0242] 以下是前面段落中的十四个示例性其他的实施方案:

[0243] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0244] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0245] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0246] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0247] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0248] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0249] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同

种型的。

[0250] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0251] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0252] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0253] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0254] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0255] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0256] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0257] 还考虑的是其中第二治疗剂选自在WO 2004/058258中描述的化合物(特别是第16和17页),包括治疗药物靶标(第36-39页),链烷磺酸和链烷醇硫酸(alkanolsulfuric acid)(第39-51页),胆碱酯酶抑制剂(第51-56页),NMDA受体拮抗剂(第56-58页),雌激素(第58-59页),非类固醇抗炎药(第60-61页),抗氧化剂(第61-62页),过氧化物增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptor)(PPAR)激动剂(第63-67页),胆固醇降低剂(第68-75页);淀粉状蛋白抑制剂(第75-77页),淀粉状蛋白形成抑制剂(第77-78页),金属螯合剂(第78-79页),抗精神病药和抗抑郁药(第80-82页),营养补充剂(第83-89页)和增加脑中生物活性物质利用度的化合物(见第89-93页)和前药(第93和94页);及其任何药学上可接受的盐。

[0258] 还考虑了组合物,其中第二治疗剂选自防止tau寡聚和聚集的化合物和解聚tau寡聚体的化合物(例如甲基硫堇、rember或LMTX)。

[0259] 以下是前2段中的十四个示例性其他的实施方案

[0260] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0261] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0262] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0263] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同

种型的。

[0264] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0265] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0266] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16, RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0267] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0268] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0269] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0270] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0271] 在一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是 SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0272] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1 同种型的。

[0273] 在一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14, RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4 同种型的。

[0274] 在另一方面,本公开提供了诊断试剂,其包含根据权利要求1-51中任一 项所述的抗体或结合片段和载体、稀释剂、赋形剂或稳定剂。

[0275] 在这些诊断试剂的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区 的序列是SEQ ID NO.RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.RKA。任 选地,抗体和结合片段是 IgG1同种型的。

[0276] 在这些诊断试剂的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可 变区的序列是SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26 RKA。任选地,抗体和结 合片段是IgG1同种型的。

[0277] 在这些诊断试剂的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可 变区的序列是SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26 RKA。任选地,抗体和结 合片段是IgG1同种型的。

[0278] 在这些诊断试剂的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可 变区的序列是SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO. 26RKA。任选地,抗体和结 合片段是IgG1同种型的。

[0279] 在这些诊断试剂的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1同种型的。

[0280] 在这些诊断试剂的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1同种型的。

[0281] 在这些诊断试剂的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4同种型的。

[0282] 在这些诊断试剂的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4同种型的。

[0283] 在这些诊断试剂的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26 RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0284] 在这些诊断试剂的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26 RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0285] 在这些诊断试剂的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26 RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0286] 在这些诊断试剂的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO. 26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0287] 在这些诊断试剂的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG1同种型的。

[0288] 在这些诊断试剂的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB,并且恒定区是IgG4同种型的。

[0289] 另一方面,本公开提供具有通式(A)-(L)-(C)的免疫缀合物,其中:(A)是权利要求1-51中任一项的抗体或其结合片段;(L)是接头;和(C)是试剂(agent);并且其中所述接头(L)连接(A)至(C)。在某些情况下,(C)是治疗剂,显像剂,可检测剂或诊断剂。在某些情况下,(C)是治疗剂。

[0290] 在这些免疫缀合物的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26 RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0291] 在这些免疫缀合物的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO. 26RKA。任选地,抗体和

结合片段是IgG1同种型的。

[0292] 在这些免疫缀合物的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO. 26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0293] 在这些免疫缀合物的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO. 26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1同种型的。

[0294] 在这些免疫缀合物的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB,并且恒定区是IgG1同种型的。

[0295] 在这些免疫缀合物的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB,并且恒定区是IgG1同种型的。

[0296] 在这些免疫缀合物的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB,并且恒定区是IgG4同种型的。

[0297] 在这些免疫缀合物的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB,并且恒定区是IgG4同种型的。

[0298] 在这些免疫缀合物的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26 RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0299] 在这些免疫缀合物的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO. 26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0300] 在这些免疫缀合物的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO. 26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0301] 在这些免疫缀合物的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO. 26RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG4同种型的。

[0302] 在这些免疫缀合物的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB,并且恒定区是IgG1同种型的。

[0303] 在这些免疫缀合物的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB,并且恒定区是IgG4同种型的。

[0304] 本发明考虑了编码上文公开的任何抗体和tau结合片段的核酸分子(RNA 或DNA)。在一个实施方案中,这样的核酸分子包含一个或多个选自SEQ ID NO.96-124、141-142和

127-140的核酸序列。在其它实施方案中,此类核酸分子包含选自与SEQ ID NO.96-124、141-142和127-140中的任一个至少85% 相同的序列的一种或多种核酸序列。在其它实施方案中,此类核酸分子包含 选自与SEQ ID NO.96-124、141-142和127-140中的任一个至少90%相同的序列的一种或多种核酸序列。在其它实施方案中,此类核酸分子包含选自与SEQ ID NO.96-124、141-142和127-140中的任一个至少95%相同的序列的一种或多种核酸序列。在其它实施方案中,此类核酸分子包含选自与SEQ ID NO.96-124、141-142和127-140中的任一个至少96%相同的序列的一种或多种核酸序列。在其它实施方案中,此类核酸分子包含选自与SEQ ID NO.96-124、141-142和127-140中的任一个至少97%相同的序列的一种或多种核酸序列。在其它实施方案中,此类核酸分子包含选自与SEQ ID NO.96-124、141-142和127-140中的任一个至少98%相同的序列的一种或多种核酸序列。在其它实施方案中,此类核酸分子包含选自与SEQ ID NO.96-124、141-142和127-140中的任一个至少99%相同的序列的一种或多种核酸序列。

[0305] 在一个实施方案中,本公开考虑核酸分子,其包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白M65092的框架(SEQ ID NO.71), (ii)包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的HCVR CDR1, (iii)包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3,并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO:RHA至SEQ ID NO.RHM,即,SEQ ID NO.13-25中任一个的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中,也可以是抗体或其片段包含进一步包含IgG1恒定区的重链的情况。在其它实施方案中,抗体或其片段包含进一步包含IgG4恒定区的重链。

[0306] 核酸分子,其包含编码抗tau抗体的轻链可变区(LCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述LCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白X72449的框架(SEQ ID NO.65), (ii)包含SEQ ID NO.4的氨基酸序列的LCVR CDR1, (iii)包含SEQ ID NO.5的氨基酸序列的LCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.6的氨基酸序列的LCVR CDR3,并且其中所述LCVR或其片段包含与SEQ ID NO:26,RKA,或SEQ ID NO.27,RKB的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中,也可以是抗体或其片段包含进一步包含κ恒定区的重链的情况。

[0307] 在一个实施方案中,本公开考虑核酸分子,其包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白M65092的框架(SEQ ID NO.71), (ii)包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的HCVR CDR1, (iii)包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3,并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO:RHA至SEQ ID NO.RHM,即,SEQ ID NO.13-25中任一个的氨基酸序列相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中,也可以是抗体或其片段包含进一步包含IgG1恒定区的重链的情况。在其它实施方案中,抗体或其片段包含进一步包含IgG4恒定区的重链。

[0308] 核酸分子,其包含编码抗tau抗体的轻链可变区(LCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述LCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白X72449的框架(SEQ ID NO.65), (ii)包含SEQ ID NO.4的氨基酸序列的LCVR CDR1, (iii)包含SEQ ID NO.5的氨基酸序列的LCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.6的氨基酸序列的LCVR CDR3,并且其中所述

LCVR或其片段包含与SEQ ID NO:26,RKA,或SEQ ID NO.27,RKB的氨基酸序列相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中,也可以是抗体或其片段包含进一步包含 κ 恒定区的重链的情况。

[0309] 还考虑核酸分子,其包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白 M65092的框架(SEQ ID NO.71),(ii)包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的 HCVR CDR1,(iii)包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3,并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO:14,RHB的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中,也可以是抗体或其片段包含进一步包含IgG1恒定区的重链的情况。

[0310] 还考虑核酸分子,其包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白 M65092的框架(SEQ ID NO.71),(ii)包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的 HCVR CDR1,(iii)包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3,并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO:16,RHD的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中,也可以是抗体或其片段包含进一步包含IgG1恒定区的重链的情况。

[0311] 还考虑核酸分子,其包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白 M65092的框架(SEQ ID NO.71),(ii)包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的 HCVR CDR1,(iii)包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3,并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO:17,RHE的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中,也可以是抗体或其片段包含进一步包含IgG1恒定区的重链的情况。

[0312] 还考虑核酸分子,其包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白 M65092的框架(SEQ ID NO.71),(ii)包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的 HCVR CDR1,(iii)包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3,并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO:25,RHM的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中,也可以是抗体或其片段包含进一步包含IgG1恒定区的重链的情况。

[0313] 还考虑核酸分子,其包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白 M65092的框架(SEQ ID NO.71),(ii)包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的 HCVR CDR1,(iii)包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3,并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO:14,RHB的氨基酸序列相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中,也可以是抗体或其片段包含进一步包含IgG1恒定区的重链的情况。

[0314] 还考虑核酸分子,其包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白 M65092的框架(SEQ ID

NO.71), (ii) 包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的 HCVR CDR1, (iii) 包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2, 和 (iv) 包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3, 并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO:16, RHD的氨基酸序列相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中, 也可以是抗体或其片段包含进一步包含IgG1恒定区的重链的情况。

[0315] 还考虑核酸分子, 其包含编码抗tau抗体的重链可变区 (HCVR) 或其tau结合片段的核苷酸序列, 其中所述HCVR或其片段包含: (i) 源自人免疫球蛋白 M65092的框架 (SEQ ID NO.71), (ii) 包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的 HCVR CDR1, (iii) 包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2, 和 (iv) 包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3, 并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO:17, RHE的氨基酸序列相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中, 也可以是抗体或其片段包含进一步包含IgG1恒定区的重链的情况。

[0316] 还考虑核酸分子, 其包含编码抗tau抗体的重链可变区 (HCVR) 或其tau结合片段的核苷酸序列, 其中所述HCVR或其片段包含: (i) 源自人免疫球蛋白 M65092的框架 (SEQ ID NO.71), (ii) 包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的 HCVR CDR1, (iii) 包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2, 和 (iv) 包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3, 并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO:25, RHM的氨基酸序列相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中, 也可以是抗体或其片段包含进一步包含IgG1恒定区的重链的情况。

[0317] 在一些实施方案中, 本节刚刚描述的任何核酸分子使得抗体或其片段包含进一步包含IgG1恒定区的重链。

[0318] 还考虑核酸分子, 其包含编码抗tau抗体的轻链可变区 (LCVR) 或其tau结合片段的核苷酸序列, 其中所述LCVR或其片段包含: (i) 源自人免疫球蛋白 X72449的框架 (SEQ ID NO.65), (ii) 包含SEQ ID NO.4的氨基酸序列的LCVR CDR1, (iii) 包含SEQ ID NO.5的氨基酸序列的LCVR CDR2, 和 (iv) 包含SEQ ID NO.6的氨基酸序列的LCVR CDR3, 并且其中所述LCVR或其片段包含与 SEQ ID NO:26, RKA的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中, 也可以是抗体或其片段包含进一步包含 κ 恒定区的重链的情况。

[0319] 还考虑核酸分子, 其包含编码抗tau抗体的轻链可变区 (LCVR) 或其tau结合片段的核苷酸序列, 其中所述LCVR或其片段包含: (i) 源自人免疫球蛋白 X72449的框架 (SEQ ID NO.65), (ii) 包含SEQ ID NO.4的氨基酸序列的LCVR CDR1, (iii) 包含SEQ ID NO.5的氨基酸序列的LCVR CDR2, 和 (iv) 包含SEQ ID NO.6的氨基酸序列的LCVR CDR3, 并且其中所述LCVR或其片段包含与 SEQ ID NO:RKB的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中, 也可以是抗体或其片段包含进一步包含 κ 恒定区的重链的情况。

[0320] 还考虑核酸分子, 其包含编码抗tau抗体的轻链可变区 (LCVR) 或其tau结合片段的核苷酸序列, 其中所述LCVR或其片段包含: (i) 源自人免疫球蛋白 X72449的框架 (SEQ ID NO.65), (ii) 包含SEQ ID NO.4的氨基酸序列的LCVR CDR1, (iii) 包含SEQ ID NO.5的氨基酸序列的LCVR CDR2, 和 (iv) 包含SEQ ID NO.6的氨基酸序列的LCVR CDR3, 并且其中所述LCVR或其片段包含 SEQ ID NO:26, RKA的氨基酸序列相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中, 也可以是抗体或其片段包含进一步包含 κ 恒定区的重链的情况。

[0321] 还考虑核酸分子, 其包含编码抗tau抗体的轻链可变区 (LCVR) 或其tau结合片段的核苷酸序列, 其中所述LCVR或其片段包含: (i) 源自人免疫球蛋白 X72449的框架 (SEQ ID NO.65), (ii) 包含SEQ ID NO.4的氨基酸序列的LCVR CDR1, (iii) 包含SEQ ID NO.5的氨基

酸序列的LCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.6的氨基酸序列的LCVR CDR3,并且其中所述LCVR或其片段包含与SEQ ID NO:RKB的氨基酸序列相同的氨基酸序列。在这些实施方案的每一个中,也可以是抗体或其片段包含进一步包含 κ 恒定区的重链的情况。

[0322] 在一些实施方案中,核酸序列编码SEQ ID NO.13-25 (RHA至RHM)中任一项的HCVR。

[0323] 在一些实施方案中,核酸序列编码SEQ ID NO.4,RHB的HCVR。

[0324] 在这些核酸的一个实施方案中,核酸序列编码SEQ ID NO.16,RHD的HCVR。

[0325] 在这些核酸的一个实施方案中,核酸序列编码SEQ ID NO.17,RHE的HCVR。

[0326] 在这些核酸的一个实施方案中,核酸序列编码SEQ ID NO.25,RHM的HCVR。

[0327] 在这些核酸的一个实施方案中,核酸序列编码SEQ ID NO.26,RKA,和27,RKB中任一项的LCVR。

[0328] 还考虑了核酸序列,其包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白M65092的框架(SEQ ID NO.), (ii)包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的HCVR CDR1, (iii)包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3,并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO:RHA至SEQ ID NO.RHM(即,13-25)中任一个的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列,并且进一步使得所述核酸序列包含在严格条件下与SEQ ID NO:RHA至SEQ ID NO.RHM(即96-108)中任一个的互补链杂交的核苷酸序列,其中所述严格杂交条件包括在5xSSPE,1%SDS,1xDenhardtts溶液中在65°C杂交并在2xSSC,1%SDS中清洗,并且随后在65°C下使用0.2xSSC。

[0329] 还考虑了核酸序列,其包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白M65092的框架(SEQ ID NO.), (ii)包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的HCVR CDR1, (iii)包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3,并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO.14,RHB的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列,并且进一步使得所述核酸序列包含在严格条件下与SEQ ID NO.97,RHB的互补链杂交的核苷酸序列,其中所述严格杂交条件包括在5xSSPE,1%SDS,1xDenhardtts溶液中在65°C杂交并在2xSSC,1%SDS中清洗,并且随后在65°C下使用0.2xSSC。

[0330] 还考虑了核酸序列,其包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白M65092的框架(SEQ ID NO.), (ii)包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的HCVR CDR1, (iii)包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3,并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO.16,RHD的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列,并且进一步使得所述核酸序列包含在严格条件下与SEQ ID NO.99,RHD的互补链杂交的核苷酸序列,其中所述严格杂交条件包括在5xSSPE,1%SDS,1xDenhardtts溶液中在65°C杂交并在2xSSC,1%SDS中清洗,并且随后在65°C下使用0.2xSSC。

[0331] 还考虑了核酸序列,其包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白M65092的框架(SEQ ID NO.), (ii)包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的HCVR CDR1, (iii)包含SEQ ID NO.2的氨

基酸序列的HCVR CDR2,和(iv) 包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3,并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO.17,RHE的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列,并且进一步使得所述核酸序列包含在严格条件下与SEQ ID NO.100,RHE的互补链杂交的核苷酸序列,其中所述严格杂交条件包括在5xSSPE,1%SDS, 1xDenhardtts溶液中在65°C杂交并在2xSSC,1%SDS中清洗,并且随后在65°C 下使用0.2xSSC。

[0332] 还考虑了核酸序列,其包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i) 源自人免疫球蛋白M65092的框架(SEQ ID NO.), (ii) 包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的 HCVR CDR1, (iii) 包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2,和(iv) 包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3,并且其中所述HCVR或其片段包含与SEQ ID NO.25,RHM的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列,并且进一步使得所述核酸序列包含在严格条件下与SEQ ID NO.108,RHM的互补链杂交的核苷酸序列,其中所述严格杂交条件包括在5xSSPE,1%SDS, 1xDenhardtts溶液中在65°C杂交并在2xSSC,1%SDS中清洗,并且随后在65°C 下使用0.2xSSC。

[0333] 还考虑核酸分子,其包含编码抗tau抗体的轻链可变区(LCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述LCVR或其片段包含:(i) 源自人免疫球蛋白 X72449的框架(SEQ ID NO.65), (ii) 包含SEQ ID NO.4的氨基酸序列的LCVR CDR1, (iii) 包含SEQ ID NO.5的氨基酸序列的LCVR CDR2,和(iv) 包含SEQ ID NO.6的氨基酸序列的LCVR CDR3,并且其中所述LCVR或其片段包含与 SEQ ID NO.26,RKA的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列;,并且进一步使得所述核酸序列包含在严格条件下与SEQ ID NO.109,RKA的互补链杂交的核苷酸序列,其中所述严格杂交条件包括在5xSSPE,1%SDS, 1xDenhardtts溶液中在65°C杂交并在2xSSC,1%SDS中清洗,并且随后在65°C 下使用0.2xSSC。

[0334] 还考虑核酸分子,其包含编码抗tau抗体的轻链可变区(LCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述LCVR或其片段包含:(i) 源自人免疫球蛋白 X72449的框架(SEQ ID NO.65), (ii) 包含SEQ ID NO.4的氨基酸序列的LCVR CDR1, (iii) 包含SEQ ID NO.5的氨基酸序列的LCVR CDR2,和(iv) 包含SEQ ID NO.6的氨基酸序列的LCVR CDR3,并且其中所述LCVR或其片段包含与 SEQ ID NO:14,RKB的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列;,并且进一步使得所述核酸序列包含在严格条件下与SEQ ID NO:110,RKB的互补链杂交的核苷酸序列,其中所述严格杂交条件包括在5xSSPE,1%SDS, 1xDenhardtts溶液中在65°C杂交并在2xSSC,1%SDS中清洗,并且随后在65°C 下使用0.2xSSC。

[0335] 还考虑了包含第一核酸分子和第二核酸分子的核酸分子群,其中:

[0336] 所述第一核酸分子是包含编码抗tau抗体的重链可变区(HCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列的核酸分子,其中所述HCVR或其片段包含:(i) 源自人免疫球蛋白M65092的框架(SEQ ID NO.71), (ii) 包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的HCVR CDR1, (iii) 包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2, 和(iv) 包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的HCVR CDR3, 并且其中所述HCVR 或其片段包含与SEQ ID NO:RHA至SEQ ID NO.RHM(即,SEQ ID NO. 13-25)中任一个的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列;

[0337] 并且其中所述第二核酸分子包含编码抗tau抗体的LCVR或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述LCVR或其片段包含:(i) 源自人免疫球蛋白 X72449的框架(SEQ ID NO.65), (ii) 包含SEQ ID NO.4的氨基酸序列的LCVR CDR1, (iii) 包含SEQ ID NO.5的氨基

酸序列的LCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.6的氨基酸序列的LCVR CDR3。

[0338] 还考虑了包含第一核酸分子和第二核酸分子的核酸分子群,其中:

[0339] 包含编码抗tau抗体的轻链可变区(LCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列的核酸分子,其中所述LCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白X72449的框架(SEQ ID NO.65), (ii)包含SEQ ID NO.4的氨基酸序列的LCVR CDR1, (iii)包含SEQ ID NO.5的氨基酸序列的LCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.6的氨基酸序列的LCVR CDR3,并且其中所述LCVR或其片段包含与SEQ ID NO.26,RKA的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列;

[0340] 并且其中所述第二核酸分子包含编码抗tau抗体的HCVR或其tau结合片段的核苷酸序列,其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白M65092的框架(SEQ ID NO.71), (ii)包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的HCVR CDR1, (iii)包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的LCVR CDR3。

[0341] 还考虑了包含第一核酸分子和第二核酸分子的核酸分子群,其中:

[0342] 包含编码抗tau抗体的轻链可变区(LCVR)或其tau结合片段的核苷酸序列的核酸分子,其中所述LCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白X72449的框架(SEQ ID NO.65), (ii)包含SEQ ID NO.4的氨基酸序列的LCVR CDR1, (iii)包含SEQ ID NO.5的氨基酸序列的LCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.6的氨基酸序列的LCVR CDR3,并且其中所述LCVR或其片段包含与SEQ ID NO:27,RKB的氨基酸序列至少98%相同的氨基酸序列;

[0343] 并且其中所述第二核酸分子包含编码抗tau抗体的HCVR或其tau结合片段的核苷酸序列其中所述HCVR或其片段包含:(i)源自人免疫球蛋白M65092的框架(SEQ ID NO.71), (ii)包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列的HCVR CDR1, (iii)包含SEQ ID NO.2的氨基酸序列的HCVR CDR2,和(iv)包含SEQ ID NO.3的氨基酸序列的LCVR CDR3。

[0344] 还考虑了编码重链可变区RHA-RHM(SEQ ID NO.13-25)中的任一种的核酸分子,其中那些核酸序列分别选自SEQ ID NO.28-40,或分别选自SEQ ID NO.43-55中的任一个。任何这些核酸分子可以与下一段落的核酸分子组合。

[0345] 还考虑了编码轻链RKA或RKB中任一种的核酸分子,其中所述核酸分子分别选自SEQ ID NO.57和58。

[0346] 考虑了上面公开的编码如本文所公开的氨基酸或其tau结合片段,可变轻链,完整轻链,可变重链,完整重链的核酸的所有可能的组合。

[0347] 在这些核酸群的一些实例中,它们包含第一核酸分子和第二核酸分子,其中所述第一核酸分子包含编码SEQ ID NO.14,RHB的抗tau抗体的HCVR或其tau结合片段的核苷酸序列,和所述第二核酸分子包含编码SEQ ID NO.26,RKA的LCVR或其tau结合片段的核苷酸序列。

[0348] 在这些群体的一些实例中,它们包含第一核酸分子和第二核酸分子,其中所述第一核酸分子包含编码SEQ ID NO.16,RHD的抗tau抗体的HCVR或其tau结合片段的核苷酸序列,和所述第二核酸分子包含编码SEQ ID NO.26,RKA的LCVR或其tau结合片段的核苷酸序列。

[0349] 在这些群体的一些实例中,它们包含第一核酸分子和第二核酸分子,其中所述第一核酸分子包含编码SEQ ID NO.17,RHE的抗tau抗体的HCVR或其tau结合片段的核苷酸序列,和所述第二核酸分子包含编码SEQ ID NO.26,RKA的LCVR或其tau结合片段的核苷酸序

列。

[0350] 在这些群体的一些实例中,它们包含第一核酸分子和第二核酸分子,其中所述第一核酸分子包含编码SEQ ID NO.25,RHM的抗tau抗体的HCVR或其tau结合片段的核苷酸序列,和所述第二核酸分子包含编码SEQ ID NO.26,RKA的LCVR或其tau结合片段的核苷酸序列。

[0351] 在这些群体的一些实例中,它们包含第一核酸分子和第二核酸分子,其中所述第一核酸分子包含编码SEQ ID NO.16,RHD的抗tau抗体的HCVR或其tau结合片段的核苷酸序列,和所述第二核酸分子包含编码SEQ ID NO.27,RKB的LCVR或其tau结合片段的核苷酸序列。

[0352] 在这些群体的一些实例中,它们包含第一核酸分子和第二核酸分子,其中所述第一核酸分子包含编码SEQ ID NO.17,RHE的抗tau抗体的HCVR或其tau结合片段的核苷酸序列,和所述第二核酸分子包含编码SEQ ID NO.27,RKB的LCVR或其tau结合片段的核苷酸序列。

[0353] 在这些群体的一些实例中,它们包含第一核酸分子和第二核酸分子,其中所述第一核酸分子包含编码SEQ ID NO.14,RKB的抗tau抗体的HCVR或其tau结合片段的核苷酸序列,和所述第二核酸分子包含编码SEQ ID NO.27,RKB的LCVR或其tau结合片段的核苷酸序列。

[0354] 还考虑了一组载体,每一个包含编码如本节前面段落中所描述的抗体重链或结合片段的核酸。考虑的另一组载体是包含编码如本节前面段落中的任一段所描述的抗体轻链或结合片段的核酸的那些。考虑的另一组载体是包含编码如本节前面段落中的任一段所描述的抗体轻链或结合片段和如本节前面段落中所描述的抗体重链或结合片段的核酸的那些。

[0355] 也考虑了包含这些载体中的任一种的宿主细胞。在一些实施方案中,宿主细胞是原核的。在其它实施方案中,宿主细胞是真核的。也考虑了包含上面描述的任何核酸分子群的宿主细胞。

[0356] 在这些宿主细胞的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0357] 在这些宿主细胞的一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0358] 在这些宿主细胞的一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0359] 在这些宿主细胞的一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0360] 在这些宿主细胞的一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。任选地,抗体和

结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0361] 在这些宿主细胞的一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO. 27,RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0362] 在这些宿主细胞的一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO. 27,RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0363] 在这些宿主细胞的一些其它实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO. 26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0364] 考虑任何以上考虑的核酸,抗体,载体和宿主细胞及其各自的组合物用作针对以下的药物:

[0365] 预防或治疗AD或另一种tau病变(tauopathy);

[0366] 在患有、怀疑患有或易于患有阿尔茨海默氏病或另一种tau病变的受试者中治疗阿尔茨海默氏病或另一种tau病变;

[0367] 在患有、怀疑患有或易于患有阿尔茨海默氏病或另一种tau病变的受试者中减慢AD或另一种tau病变的进展;

[0368] 在患有、怀疑患有或易于患有阿尔茨海默氏病或另一种tau病变的受试者中改善AD或相关者的症状;和

[0369] 在患有、怀疑患有或易于患有阿尔茨海默氏病或另一种tau病变的受试者中降低AD或另一种tau病变的风险或延迟AD或另一种tau病变发作。

[0370] 本公开的另一方面是产生结合人tau的抗体或其tau结合片段的方法,其包括培养刚刚描述的任何宿主细胞,使得表达所述核酸并且产生抗体或其tau结合片段。

[0371] 在这种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0372] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0373] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0374] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0375] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0376] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列

是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0377] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0378] 另一方面考虑了在患有、怀疑患有或易于患有阿尔茨海默氏病或另一种 tau病变的受试者中治疗阿尔茨海默氏病或另一种tau病变的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的包含本节中描述的任何抗体或结合片段的组合物。

[0379] 在这种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0380] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0381] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0382] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0383] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0384] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0385] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0386] 另一方面考虑了促进tau聚集体从患有、怀疑患有或易于患有阿尔茨海默氏病或另一种tau病变的受试者的脑中清除的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的包含本节描述的任何抗体或结合片段的组合物。

[0387] 在这种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0388] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0389] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列

是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0390] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0391] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0392] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0393] 另一方面考虑在患有、怀疑患有或易于患有阿尔茨海默氏病或另一种tau 病变的受试者中减慢AD或另一种tau病变的进展的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的包含本节中描述的任何抗体或结合片段的组合物。

[0394] 在这种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0395] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0396] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0397] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0398] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0399] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0400] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0401] 另一方面考虑了在患有、怀疑患有或易于患有阿尔茨海默氏病或另一种 tau病变的受试者中改善AD或相关者的症状的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的包含本节中描述的任何抗体或结合片段的组合物。

[0402] 在这种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ

ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0403] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0404] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0405] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0406] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0407] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0408] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0409] 另一方面考虑了治疗、预防或逆转患有、怀疑患有或易于患有阿尔茨海默氏病或另一种tau病变的受试者中的认知的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的包含本节中描述的任何抗体或结合片段的组合物。

[0410] 在这种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0411] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0412] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0413] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0414] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0415] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列

是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0416] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0417] 另一方面考虑了在患有、怀疑患有或易于患有阿尔茨海默氏病或另一种 tau病变的受试者中降低AD或另一种tau病变的风险或延迟AD或另一种tau病变发作的方法,包括向受试者施用治疗有效量的包含本节中描述的任何抗体或结合片段的组合物。

[0418] 在这种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0419] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0420] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0421] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0422] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0423] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0424] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0425] 在一些实施方案中,这些组合物,抗体和/或结合片段中的任一种通过注射施用。在其它实施方案中,通过静脉内输注施用这些组合物,抗体和/或结合片段中的任一种。

[0426] 还考虑的是以下实施方案,其中将这些组合物,抗体和/或结合片段中的任一种以0.1mg/kg体重至20mg/kg体重的抗体或结合片段的剂量和在每周和每月之间的频率施用于所述受试者,从而治疗所述受试者。在优选的实施方案中,抗体或结合片段以0.1mg/kg体重至10mg/kg体重的剂量施用。在一些优选的实施方案中,抗体或结合片段以这些前面剂量中的任一种在至少三个月,优选至少六个月,可能至少十二个月,可能为二十四个月的时期内施用。在另一个实施方案中,将这些组合物,抗体和/或结合片段中的任一种以0.1mg/kg体重至10mg/kg体重的抗体或结合片段的剂量和在每周和每月之间,优选每两周一次的频率施用于所述受试者,从而治疗所述受试者。在另一个实施方案中,将这些组合

物,抗体和/或结合片段中的任一种以0.01mg/kg 体重至100mg/kg体重的抗体或结合片段的剂量和在每周和每月之间的频率 施用于所述受试者,从而治疗所述受试者。

[0427] 在这两种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的 序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0428] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变 区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0429] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变 区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0430] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变 区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0431] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变 区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0432] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变 区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0433] 在另一方面,本节刚刚描述的任何治疗方法还包括通过选自下组的至少 一种类型的评估来监测受试者的治疗进展:迷你精神状态检查(Mini-Mental State Exam) (MMSE),阿尔茨海默氏病评估量表-认知(Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive) (ADAS-COG),基于临床医生会谈的印象 (Clinician Interview-Based Impression) (CIBI),神经病学成套测试(Neurological Test Battery) (NTB),痴呆失能评估(Disability Assessment for Dementia) (DAD), 临床痴呆评级-盒总和(Clinical Dementia Rating-sum of boxes) (CDR-SOB),神 经精神病调查表(Neuropsychiatric Inventory) (NPI)、正电子发射断层摄影术 (PET成像)扫描(Positron Emission Tomography (PET Imaging) scan)和磁共振 成像(MRI)扫描(Magnetic Resonance Imaging (MRI) scan)。在一个实施方案 中,评估的类型是神经测试组合(NTB)。在另一个实施方案 中,评估的类型 是迷你精神状态检查(Mini-Mental State Exam)。

[0434] 在这种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序 列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是 IgG1或IgG4同种型的。

[0435] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区 的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合 片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0436] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区 的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合

片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0437] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0438] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0439] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0440] 在一些实施方案中,任何这些方法的实践还包括将有效量的至少一种其他的治疗剂同时或顺序地施用至所述受试者。

[0441] 在这种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0442] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0443] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0444] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0445] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0446] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0447] 例如,在这些实施方案的一些中,其他的治疗剂选自抗凋亡化合物,金属螯合剂,DNA修复抑制剂,3-氨基-1-丙磺酸(3APS),1,3-丙二磺酸(1,3PDS),分泌酶激活剂, β -分泌酶抑制剂, γ -分泌酶抑制剂, β -淀粉状蛋白肽,抗 β -淀粉状蛋白抗体,神经递质, β -片层破坏剂,抗炎分子,和胆碱酯酶抑制剂;及其任何药学上可接受的盐。

[0448] 在这些实施方案的其它实施方案中,胆碱酯酶抑制剂是他克林,利伐斯的明,多奈哌齐,加兰他敏,或营养补充剂(nutritive supplement);及其任何药学上可接受的盐。

[0449] 在这两种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0450] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0451] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0452] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0453] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0454] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0455] 在这些实施方案的其它一些实施方案中,其他的治疗剂选自 β -淀粉状蛋白肽(例如,N-末端淀粉状蛋白 β 肽),其可以或可以不与其它化合物缀合,例如突变的白喉毒素;抗 β -淀粉状蛋白的抗体,如bapineuzumab,solaneuzumab, gantenerumab,crenezumab, ponezumab和IVIG免疫球蛋白,靶向A β 寡聚体的其他免疫疗法,阻止tau高度磷酸化的化合物,预防tau寡聚化和聚集或促进tau寡聚体解聚的化合物(例如,甲基硫堇,remember或LMTX)和靶向tau的病理形式(例如聚集体)的其他主动和被动免疫疗法;及其任何药学上可接受的盐。

[0456] 在这些其它实施方案中的一些,其他的治疗剂选自淀粉状蛋白 β 聚集抑制剂(例如Tramiprosate), γ -分泌酶抑制剂(例如semagacestat)和 γ -分泌酶调节剂(tarenflurbil);及其任何药学上可接受的盐。

[0457] 在这两种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0458] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0459] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0460] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0461] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结

合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0462] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0463] 在这些实施方案的一些中,其他的治疗剂选自乙酰胆碱酯酶抑制剂(例如,多奈哌齐,利伐斯的明,加兰他敏,他克林,营养补充剂),N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体拮抗剂(例如美金刚(memantine)),DNA修复抑制剂(例如,哌仑西平(pirenzepine)或其代谢物),过渡金属螯合剂,生长因子,激素,非类固醇抗炎药(NSAID),抗氧化剂,降脂剂,选择性磷酸二酯酶抑制剂,tau聚集抑制剂,蛋白激酶抑制剂,抗线粒体功能障碍药物抑制剂,神经营养蛋白,热休克蛋白抑制剂,脂蛋白相关磷脂酶A2抑制剂,美金刚,抗凋亡化合物,金属螯合剂,DNA修复抑制剂,3-氨基-1-丙磺酸(3APS),1,3-丙二磺酸(1,3PDS),分泌酶激活剂, β -分泌酶抑制剂, γ -分泌酶抑制剂, β -淀粉状蛋白肽, β -淀粉状蛋白抗体,神经递质, β -片层破坏剂,抗炎分子;及其任何药学上可接受的盐。

[0464] 在这两种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0465] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0466] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0467] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0468] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0469] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0470] 在这些实施方案的一些中,其他的治疗剂选自BACE抑制剂;毒蕈碱拮抗剂(muscarinic antagonists),胆碱酯酶抑制剂; γ 分泌酶抑制剂; γ 分泌酶调节剂;HMG-CoA还原酶抑制剂;非类固醇抗炎药;N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂;抗淀粉状蛋白抗体;维生素E;烟碱性乙酰胆碱受体激动剂(nicotinic acetylcholine receptor agonists);CB1受体逆激动剂(CB1 receptor inverse agonist)或CB1受体拮抗剂;抗生素;生长激素促分泌素;组胺H3拮抗剂;AMPA激动剂;PDE4抑制剂;GABA_A逆激动剂,淀粉状蛋白聚集抑制剂;糖原合酶激酶 β 抑制剂; α 分泌酶活性的促进剂;PDE-10抑制剂,胆固醇吸收抑制剂及其任何药学上可接受的盐。

[0471] 在这些实施方案的一些中,其他的治疗剂选自BACE抑制剂;毒蕈碱拮抗剂(muscarinic antagonists),胆碱酯酶抑制剂; γ 分泌酶抑制剂; γ 分泌酶调节剂;HMG-CoA还原酶抑制剂;非类固醇抗炎药;N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂;抗淀粉状蛋白抗体;维生素E;烟碱性乙酰胆碱受体激动剂(nicotinic acetylcholine receptor agonists);CB1受体逆激动剂(CB1 receptor inverse agonist)或CB1受体拮抗剂;抗生素;生长激素促分泌素;组胺H3拮抗剂;AMPA激动剂;PDE4抑制剂;GABA_A逆激动剂,淀粉状蛋白聚集抑制剂;糖原合酶激酶 β 抑制剂; α 分泌酶活性的促进剂;PDE-10抑制剂,胆固醇吸收抑制剂及其任何药学上可接受的盐。

[0472] 在这些实施方案的一些中,其他的治疗剂是第二抗体。在其它实施方案中,第二抗体选自bapineuzumab,solaneuzumab,gantenerumab,crenezumab, ponezumab和IVIG免疫球蛋白。

[0473] 在这两种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0474] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0475] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0476] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0477] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0478] 在这两种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0479] 还考虑了评估患有、怀疑患有或易于患有阿尔茨海默氏病或另一种tau病变的受试者的方法,所述方法包括检测本节中描述的任何抗体或tau结合片段与来自受试者的生物样品的组分的结合,其中所述与生物样品结合的检测指示受试者中的阿尔茨海默氏病或另一种tau病变。在这些实施方案的一些中,生物样品是活组织检查、CSF、血液、血清或血浆样品。

[0480] 在这种方法的一些实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0481] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合

片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0482] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0483] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26, RKA。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0484] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0485] 在这种方法的一些其他实施方案中,抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27, RKB。任选地,抗体和结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0486] 还考虑了在前面段落中描述的任何治疗方法可以用抗体或tau结合片段 来实施,其中所述抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO. 14,RHB,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和 结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0487] 还考虑了在前面段落中描述的任何治疗方法可以用抗体或tau结合片段 来实施,其中所述抗体和结合片段使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.16, RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和结 合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0488] 还考虑了在前面段落中描述的任何治疗方法可以用抗体或tau结合片段 来实施,其中所述抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO. 17,RHE,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和 结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0489] 还考虑了在前面段落中描述的任何治疗方法可以用抗体或tau结合片段 来实施,其中所述抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO. 25,RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.26,RKA。任选地,抗体和 结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0490] 还考虑了在前面段落中描述的任何治疗方法可以用抗体或tau结合片段 来实施,其中所述抗体和结合片段也使得重链可变区的序列是SEQ ID NO. 16,RHD,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。任选地,抗体和 结合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0491] 还考虑了在前面段落中描述的任何治疗方法可以用抗体或tau结合片段 来实施,其中所述抗体和结合片段使得重链可变区的序列是SEQ ID NO.17, RHM,并且轻链可变区的序列是SEQ ID NO.27,RKB。任选地,抗体和结 合片段是IgG1或IgG4同种型的。

[0492] 附图简述

[0493] 图1:人tau六个同种型(isoform)的示意图。

[0494] 图2:人tau(2N4R)的示意功能图;分别公开了“VQIINK”和“VQIVYK”作为SEQ ID NO 147和146。

[0495] 图3:DC8E8 κ 轻链可变区的蛋白质(SEQ ID NO:8)和DNA序列(SEQ ID NO:91)。

[0496] 图4:DC8E8重链可变区的蛋白质(SEQ ID NO:7)和DNA序列(SEQ ID NO:90)。

[0497] 图5:DC8E8 κ 轻链种系分析(以出现顺序分别为SEQ ID NO 167和168)

[0498] 图6:DC8E8重链种系分析(以出现顺序分别为SEQ ID NO 66和169)

[0499] 图7:嵌合的和鼠类DC8E8与Tau 151-391/4R的结合

[0500] 图8:DC8E8重链人源化策略。用黑体字体和斜体字加亮结构上重要的残基(脯氨酸、半胱氨酸和天冬酰胺)。黑体划线的残基表示回译为小鼠残基。CDR区为小写字母并且由表头中的点表示。由表头中的星号表示CDR的4 Å内的残基。图8以出现顺序分别公开了SEQ ID NO 7、71和13-25。注意SEQ ID NO.71(在IMGT数据库中登录号为M65092)显示为没有前导肽 MDWTWRFLFVVAAVTGVQS (SEQ ID NO.174)。

[0501] 图9:DC8E8κ轻链人源化策略。用黑体字体和斜体字加亮结构上重要的残基(脯氨酸、半胱氨酸和天冬酰胺)。黑体划线的残基表示回译为小鼠残基。CDR区为小写字母并且由表头中的点表示。由表头中的星号表示CDR的4 Å内的残基。图9以出现顺序分别公开了SEQ ID NO.8、65和26-27。。注意SEQ ID NO.65(在IMGT数据库中登录号为X72449)显示为没有前导肽 QLLGLLMLWVSGSSG (SEQ ID NO.175)。

[0502] 图10:人源化的和嵌合的DC8E8与Tau 151-391/4R的结合。与DC8E8 RKA或DC8E8 RKB共表达的DC8E8 RHA或DC8E8 RHB的组合编码的抗体与完全嵌合抗体的抗体结合比较。

[0503] 图11:人源化的和嵌合的DC8E8与Tau 151-391/4R的结合:RKA版本。

[0504] 图12:人源化的和嵌合的DC8E8与Tau 151-391/4R的结合:RKB版本。

[0505] 图13:人源化的和嵌合的DC8E8与Tau 151-391/4R的结合:Vk版本(具有嵌合的轻链)。

[0506] 图14:人源化的和嵌合的DC8E8与Tau 151-391/4R的结合:RHM版本。

[0507] 图15:候选人源化DC8E8抗体的热稳定性:在指示的温度下将纯化的抗体加热10分钟,然后在进行Tau结合ELISA之前冷却至4°C。

[0508] 图16:纯化的人源化候选DC8E8抗体的热转移分析:纯化的候选抗体T_m的测定以及与嵌合的和鼠类DC8E8的比较。

[0509] 图17:通过表面等离子共振分析的DC8E8抗体的结合动力学:K_D测定:鼠类DC8E8。

[0510] 图18:通过表面等离子共振分析的DC8E8抗体的结合动力学:K_D测定:嵌合DC8E8

[0511] 图19:通过表面等离子共振分析的DC8E8抗体的结合动力学:K_D测定:人源化DC8E8 RHD/RKA (AX004)

[0512] 图20:通过表面等离子共振分析的DC8E8抗体的结合动力学:K_D测定:人源化DC8E8 RHE/RKA (AX005)

[0513] 图21:通过表面等离子共振分析的DC8E8抗体的结合动力学:K_D测定:人源化DC8E8 RHD/RKB (AX016)

[0514] 图22:通过表面等离子共振分析的DC8E8抗体的结合动力学:K_D测定:人源化DC8E8 RHE/RKB (AX017);

[0515] 图23:Biacore结果概要

[0516] 图24:完全人源化的抗体候选聚集分析:A.AX004 (DA);B.AX005 (EA);C.AX016 (DB);D.AX017 (EB)。

[0517] 图25:评估DC8E8的纯化的人源化抗体候选的可溶性:浓缩过程中的溶解谱。

[0518] 图26:评估DC8E8的纯化的人源化抗体候选的可溶性:浓缩过程中的溶解谱:浓缩后的结合活性。

- [0519] 图27:人源化候选抗体的冰冻/融化应激分析。
- [0520] 图28:完全人源化的抗体候选的热诱导应激分析:A. AX004 (DA) ;B. AX005 (EA) ; C. AX0016 (DB) ;D. AX017 (EB) 。
- [0521] 图29:如通过ELISA测定的(A)嵌合DC8E8和(B)小鼠DC8E8与错误无序的(misdisordered)截短的tau 151-391/4R和生理性tau 2N4R的结合。(C)嵌合的和小鼠抗体对所分析的tau蛋白的EC50值。
- [0522] 图30:通过表面等离子体共振测定小鼠和嵌合DC8E8与错误无序的截短的tau 151-391/4R和全长生理性tau 2N4R的平衡结合常数。
- [0523] 图31:通过ELISA测定(A)嵌合DC8E8和(B)小鼠DC8E8与来源于蛋白tau的重复结构域的tau肽的结合。(C)嵌合的和小鼠抗体对所分析的tau肽的EC50值。
- [0524] 图32:嵌合DC8E8在体外tau细丝化(fibrillization)测定中抑制病理性tau-tau相互作用。通过肝素诱导错误无序的截短的tau 151-391/4R经历构象变化并细丝化,通过硫黄素T(Thioflavin)荧光测量其程度;测试嵌合DC8E8其防止病理性构象变化和tau-tau相互作用的能力。
- [0525] 图33:如通过ELISA测定,DC8E8(IgG4同种型)的人源化前导物和嵌合DC8E8与错误无序的tau 151-391/4R和全长生理性tau 2N4R的结合。(A)人源化抗体AX004的结合;(B)人源化抗体AX005的结合;(C)人源化抗体AX016的结合;(D)人源化抗体AX017的结合。(E)嵌合DC8E8的结合。(F)嵌合DC8E8和人源化前导物AX004、AX005、AX016、AX017对所分析的tau蛋白的EC50值。
- [0526] 图34:如通过ELISA测定,DC8E8(IgG1同种型)的人源化前导物与错误无序的tau 151-391/4R和全长生理性tau 2N4R的结合。(A)人源化抗体AX004的结合;(B)人源化抗体AX005的结合;(C)人源化抗体AX016的结合;(D)人源化抗体AX017的结合。(E)人源化前导物AX004、AX005、AX016、AX017对所分析的tau蛋白的EC50值。
- [0527] 图35:表面等离子共振(SPR)表征人源化DC8E8前导物AX004、AX005、AX016、AX017,结合错误无序的tau151-391/4R和全长2N4R。(A)IgG4版本,(B)IgG1版本。
- [0528] 图36:如通过ELISA测定,人源化抗体(IgG4同种型)与来源于蛋白tau的微管结合重复区的tau肽的结合。(A)人源化抗体AX004的结合;(B)人源化抗体AX005的结合;(C)人源化抗体AX016的结合;(D)人源化抗体AX017的结合。(E)嵌合DC8E8的结合。(F)嵌合DC8E8和人源化版本AX004、AX005、AX016、AX017对所分析的tau蛋白的EC50值。
- [0529] 图37:如通过ELISA测定,人源化抗体(IgG1同种型)与来源于蛋白tau的微管结合重复区的tau肽的结合。(A)人源化抗体AX004的结合;(B)人源化抗体AX005的结合;(C)人源化抗体AX016的结合;(D)人源化抗体AX017的结合。(E)嵌合DC8E8和人源化版本AX004、AX005、AX016、AX017对所分析的tau蛋白的EC50值。
- [0530] 图38:人源化DC8E8前导物在基于荧光的tau细丝化测定中抑制病理性tau-tau相互作用。诱导错误无序的tau 151-391/4R经历构象变化并细丝化,如通过硫黄素T荧光所测定;向细丝化反应中加入人源化抗体并测试其防止病理性构象变化的能力。所有测试的人源化抗体能够抑制病理性tau-tau聚集。(A)IgG4同种型的人源化DC8E8前导物诱导的病理性聚集的抑制和(B)IgG1同种型的人源化抗体诱导的病理性聚集的抑制。
- [0531] 图39:使用人源化DC8E8抗体(IgG1)免疫组织化学染色阿尔茨海默氏病脑。DC8E8

(A) 和嵌合DC8E8 (B) 均识别人AD海马 (CA1) 中高荷载的神经原纤维病理。人源化抗体AX004 (C) 和AX016 (E) 展示与DC8E8相同的染色模式。一般而言,人源化抗体AX005 (D) 和AX017 (F) 识别AD脑中较少的病理性结构。工具条(tool bar):100 μ m

[0532] 图40:使用人源化DC8E8抗体 (IgG4) 免疫组织化学染色阿尔茨海默氏病 脑。DC8E8 (A) 和嵌合DC8E8 (B) 均识别人AD海马 (CA1) 中高荷载的神经原纤维病理。人源化抗体AX004 (C) 和AX016 (E) 展示与DC8E8相同的染色模式。一般而言,人源化抗体AX005 (D) 和AX017 (F) 识别AD脑中较少的病理性结构。工具条:100 μ m

[0533] 图41:使用人源化DC8E8抗体 (IgG1) 免疫组织化学染色FTDP-17脑(在 R406W处的 tau突变)。DC8E8 (A) 和嵌合DC8E8 (B) 均识别人内嗅皮质中高荷载的神经原纤维病理。人源化抗体AX004 (C) 和AX016 (E) 展示与DC8E8相似的染色模式。一般而言,人源化抗体AX005 (D) 和AX017 (F) 识别FTDP-17脑中较少的病理性结构。工具条:100 μ m

[0534] 图42:使用人源化DC8E8抗体 (IgG4) 免疫组织化学染色FTDP-17脑(在 R406W处的 tau突变)。DC8E8 (A) 和嵌合DC8E8 (B) 均识别人内嗅皮质中高荷载的神经原纤维病理。人源化抗体AX004 (C) 和AX016 (E) 展示与DC8E8相同的染色模式。AX005 (D) 和AX017 (F) 不识别FTDP-17脑中任何病理性结构。工具条:100 μ m

[0535] 图43:使用人源化DC8E8抗体 (IgG1) 免疫组织化学染色皮质基底节变性。DC8E8 (A) 和嵌合DC8E8 (B) 均识别人尾状核中大量的神经胶质tau病理。人源化抗体AX004 (C) 和AX016 (E) 展示与DC8E8相同的染色模式。一般而言,人源化抗体AX005 (D) 和AX017 (F) 识别CBD脑中较少的病理性结构,然而染色强度与DC8E8相当。工具条:50 μ m

[0536] 图44:使用人源化DC8E8抗体 (IgG4) 免疫组织化学染色皮质基底节变性。DC8E8 (A) 和嵌合DC8E8 (B) 均识别人尾状核中大量的神经胶质tau病理。人源化抗体AX004 (C) 和AX016 (E) 展示与DC8E8相同的染色模式。一般而言,人源化抗体AX005 (D) 和AX017 (F) 识别CBD脑中较少的病理性结构,然而染色强度与DC8E8相当。工具条:50 μ m

[0537] 图45:使用人源化DC8E8抗体 (IgG1) 免疫组织化学染色进行性核上性麻痹。DC8E8 (A) 和嵌合DC8E8 (B) 均识别人尾状核中大量的神经胶质tau病理。人源化抗体AX004 (C) 和AX016 (E) 展示与DC8E8相同的染色模式。一般而言,人源化抗体AX005 (D) 和AX017 (F) 识别稍微较少的病理性结构。染色强度与DC8E8相当。工具条:50 μ m

[0538] 图46:使用人源化DC8E8抗体 (IgG4) 免疫组织化学染色进行性核上性麻痹。DC8E8 (A) 和嵌合DC8E8 (B) 均识别人尾状核中大量的神经胶质tau病理。人源化抗体AX004 (C) 和AX016 (E) 展示与DC8E8相同的染色模式。一般而言,人源化抗体AX005 (D) 和AX017 (F) 识别稍微较少的病理性结构。染色强度与DC8E8相当。工具条:50 μ m

[0539] 以出现顺序分别在SEQ ID NO.151-156中给出对应于人tau同种型的氨基酸序列:

[0540]

SEQ ID NO: 151 (2N4R):

MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKESPLQT
PTEDGSEEPG SETSDAKSTP TAEDVTAPLV DEGAPGKQAA AQPHTEIPEG
TTAEEAGIGD TPSLEDEAAG HVTQARMVSK SKDGTGSDDK KAKGADGKTK
IATPRGAAPP GQKQGQANATR IPAKTPPAPK TPPSSGEPPK SGDRSGYSSP
GSPGTPGSRS RTPSLPTPPT REPKKVAVVR TPPKSPSSAK SRLQTAPVPM
PDLKNVSKSI GSTENLKHQP GGGKVQIINK KLDLSNVQSK CGSKDNIKHV
PGGGSVQIVY KPVDSLKVT S KCGSLGNIHH KPGGGQVEVK SEKLDFKDRV
QSKIGSLDNI THVPGGGNKK IETHKLTFRE NAKAKTDHGA EIVYKSPVVS
GDTSPRHLSN VSSTGSIDMV DSPQLATLAD EVSASLAKQG L

SEQ ID NO: 152 (1N4R):

MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKESPLQT
PTEDGSEEPG SETSDAKSTP TAEAEAGIG DTPSLEDEAA GHVTQARMVS
KSKDGTGSDD KKAKGADGKT KIATPRGAAP PGQKQGQANAT RIPA KTPPAP
KTPPSSGEPP KSGDRSGYSS PGSPGTPGSR SRTPSLPTPP TREP KKVAVV
RTPPKSPSSA KSRLQTAPVP MPDLKNVSK IGSTENLKHQ PGGGKVQIIN
KKLDLSNVQS KCGSKDNIKH VPGGGSVQIV YKPVDSLKVT SKCGSLGNIH

HKPGGGQVEV KSEKLDKDR VQSKIGSLDN ITHVPGGGNK KIETHKLTFR
 ENAKAKTDHG AEIVYKSPVV SGGTSPRHLS NVSSTGSIDM VDSPQLATLA
 DEVSASLAKQ GL

SEQ ID NO: 153 (2N3R):

MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKESPLQT
 PTEDGSEEPG SETSDAKSTP TAEDVTAPLV DEGAPGKQAA AQPHTIEPEG
 TTAEAEAGIGD TPSLEDEAAG HVTQARMVSK SKDGTGSDDK KAKGADGKTK
 IATPRGAAPP GQKGQANATR IPAKTPPAPK TPPSSGEPPK SGDRSGYSSP
 GSPGTPGSRs RTPSLPTPPT REPKKVAVVR TPPKSPSSAK SRLQTAPVPM
 PDLKNVSKSI GSTENLKHQP GGGKVQIVYK PVDLSKVTSK CGSLGNIHHK
 PGGGQVEVKS EKLDKDRVQ SKIGSLDNIT HVPGGGNKKI ETHKLTFRN
 AKAKTDHGAE IVYKSPVVS GDTSPRHLSNV SSTGSIDMVD SPQLATLADE
 VSASLAKQGL

[0541]

SEQ ID NO: 154 (0N4R):

MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKAEEAGI
 GDTPSLEDEA AGHVTQARMV SKSKDGTGSD DKKAKGADGK TKIATPRGAA
 PPGQKQANA TRIPAKTPPA PKTPSSGEP PKSGDRSGYS SPGSPGTPGS
 RSRTPSLPTP PTREPKKVAV VRTPPKSPSS AKSRLQTAPV PMPDLKNVKS
 KIGSTENLKH QPGGGKVQII NKKLDLSNVQ SKCGSKDNIK HVPGGGSVQI
 VYKPVDSLKV TSKCGSLGNI HHPGGGQVE VKSEKLDKDRVQSKIGSLD
 NITHVPGGGN KKIETHKLTFR ENAKAKTDH GAEIVYKSPV VSGDTSPRHL
 SNVSSTGSID MVDSPQLATL ADEVSASLAK QGL

SEQ ID NO: 155 (1N3R):

MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKESPLQT
 PTEDGSEEPG SETSDAKSTP TAEAEAGIG DTPSLEDEAA GHVTQARMVS

KSKDGTGSDD KKAKGADGKT KIATPRGAAP PGQKGQANAT RIPAKTTPAP
 KTPPSSGEPP KSGDRSGYSS PGSPGTPGSR SRTPSLPTPP TREPKKVAVV
 RTPPKSPSSA KSRLQTAPVP MPDLKNVKS IGSTENLKHQ PGGGKVQIVY
 KPVDLSKVTS KCGSLGNIHH KPGGGQVEVK SEKLDKDRV QSKIGSLDNI
 THVPGGGNKK IETHKLTFR NAKAKTDHGA EIVYKSPVVS GDTSPRHLSN
 VSSTGSIDMV DSPQLATLAD EVSASLAKQG L

[0542]

SEQ ID NO: 156 (0N3R):

MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKAE EAGI
 GDTPSLEDEA AGHVTQARMV SKSKDGTGSD DKKAKGADGK TKIATPRGAA
 PPGQKGQANA TRIPAKTTPA PKTPPSSGEP PKSGDRSGYS SPGSPGTPGS
 RSRTPSLPTP PTREPKKVAV VRTPPKSPSS AKSRLQTAPV PMPDLKNVKS
 KIGSTENLKH QPGGGKVQIV YKPVDLSKVT SKCGSLGNIH HKPGGGQVEV
 KSEKLDKDR VQSKIGSLDN ITHVPGGGNK KIETHKLTFR ENAKAKTDHG
 AEIVYKSPVV SGDTSPRHLS NVSSTGSIDM VDSPQLATLA DEVSASLAKQ GL

[0543] 发明详述

[0544] 定义

[0545] 术语“亲和力”指分子(例如抗体)的单个结合位点与其结合配偶体(例如 抗原)之间非共价相互作用的合计强度。一般可以通过平衡解离常数(K_D) (或 其反平衡结合常数, K_A) 表示分子X对其配偶体Y的亲和力。可以通过本领域 已知的常规方法,包括本文描述的那些来测量亲和力。参见例如,Pope ME, Soste MV, Eyford BA, Anderson NL, Pearson TW. (2009) J Immunol Methods. 341 (1-2) :86-96及本文描述的方法。下文描述了用于测量结合亲和力的特定说明性和示例性实施方案。

[0546] 术语“氨基酸”指天然发生的、修饰的和合成的氨基酸,以及氨基酸类似 物和氨基酸模拟物,其以与天然发生的氨基酸类似的方式起作用。天然发生 的氨基酸是由遗传密码编码的那些,以及稍后修饰的那些氨基酸,例如,羟 基脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸,和O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物指与天然发生的 氨基酸具有相同的基本化学结构,即结合氢的 α -碳、羧基、氨基,和R基团 的化合物,例如高丝氨酸、原亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基硫。此 类类似物具有修饰的R基团(例如,原亮氨酸)或修饰的肽骨架,但是与天然 发生的氨基酸保持相同的基本化学结构。氨基酸模拟物指具有不同于氨基酸 的一般化学结构的结构,但是以与天然发生的氨基酸相似的方式起作用的化 合物。合适的氨基酸包括,但不限于肽中发现的20个常见天然发生的氨基酸 以及通过有机合成或其他代谢途径制备的天然发生的和非天然发生的氨基 酸的D-和L-异构体。此类非天然发生的氨基酸的实例包括,但不限于N-乙酰 葡萄糖氨基-L-丝氨酸、N-乙酰葡萄糖氨基-L-丝氨酸,和O-磷酸酪氨酸。修饰的 氨基酸包括,但不限于羟基脯氨酸、焦谷氨酸、 γ -羧基谷氨酸、O-磷酸丝氨 酸、吡啶羧酸、2-氨

基己二酸、3-氨基己二酸、 β -丙氨酸、氨基丙酸、2-氨基丁酸、4-氨基丁酸、6-氨基己酸、2-氨基庚酸、2-氨基异丁酸、3-氨基异丁酸、2-氨基庚二酸、三-丁基甘氨酸、2,4-二氨基异丁酸、锁链素、2,2'-二氨基庚二酸、2,3-二氨基丙酸、N-乙基甘氨酸、N-甲基甘氨酸、N-乙基天冬酰胺、高脯氨酸、羟基赖氨酸、别羟基赖氨酸、3-羟基脯氨酸、4-羟基脯氨酸、异锁链素、别异亮氨酸、N-甲基丙氨酸、N-甲基甘氨酸、N-甲基异亮氨酸、N-甲基戊基甘氨酸、N-甲基缬氨酸、萘基丙氨酸、原缬氨酸、原亮氨酸、鸟氨酸、戊基甘氨酸、六氢哌啶羧酸和硫代脯氨酸。术语氨基酸还包括天然发生的氨基酸,其是某些生物中的代谢物但不由遗传密码编码用于掺入到蛋白质中。此类氨基酸包括,但不限于鸟氨酸、D-鸟氨酸,和D-精氨酸。

[0547] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”和“ADCC”指细胞介导的反应,其中表达Fc受体(FcRs)的非特异性细胞毒性细胞(例如,天然杀伤(NK)细胞、中性粒细胞和巨噬细胞)识别靶细胞上结合的抗体并随后引起靶细胞的裂解。用于介导ADCC的原代细胞NK细胞仅表达Fc γ RIII,然而单核细胞表达Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII。在Ravetch和Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92(1991)的第464页的表3中总结了造血细胞上的FcR表达。为了评估目的分子的ADCC活性,可以进行体外ADCC测定,如在美国专利号5,500,362或美国专利号5,821,337中描述的测定。用于该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。或者或额外地,可以在体内,例如在动物模型,如Clynes等 *PNAS (USA)* 95:652-656(1998)中公开的动物模型中评估目的分子的ADCC活性。

[0548] “回复突变”是在编码人源化抗体的核苷酸序列中引入的突变,所述突变产生对应于亲本抗体(例如,供体抗体,例如鼠类抗体)中的氨基酸的氨基酸。可以在本公开内容的抗体人源化过程中保留来自亲本抗体的某些框架残基以基本上保留亲本抗体的结合性质,同时将所得抗体的可能免疫原性降至最小。在本文公开的一个实施方案中,亲本抗体是小鼠来源的。例如,回复突变将人框架残基改变成亲本鼠类残基。可以回复突变的框架残基的实例包括,但不限于典型残基、界面包装残基、靠近结合位点的稀有亲本残基、“游标区(Vernier Zone)”(其形成其上驻留CDR的平台)中的残基(Foote&Winter, 1992, *J. Mol. Biol.* 224,487-499),和接近CDR H3的那些残基。

[0549] 术语“嵌合”抗体指下述抗体,其中重链和/或轻链的部分与来源于特定种类的抗体中的相应序列相同或同源或属于特定抗体种类或亚类(例如,嵌合的人源化的,种类转换抗体),同时链的剩余部分与来源于另一种类的抗体中的相应序列相同或同源或属于另一抗体种类或亚类,以及此类抗体的片段,只要它们展示想要的生物活性(美国专利号4,816,567;和Morrison等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855(1984))。在一个实施方案中,术语“嵌合抗体”指下述单克隆抗体,其包含来自一种来源或种类的可变区,即结合区,和来源于不同来源或种类的恒定区的至少一部分,一般通过重组DNA技术制备所述抗体。有时优选包含鼠类可变区和人恒定区的嵌合抗体。此类鼠类/人嵌合抗体是包含编码鼠类免疫球蛋白可变区的DNA区段和编码人免疫球蛋白恒定区的DNA区段的表达免疫球蛋白基因的产物。本发明包括的“嵌合抗体”的其他形式是下述形式,其中已经从初始抗体的类型或亚类修饰或改变了其类型或亚类。此类“嵌合”抗体也称为“种类转换抗体”。用于产生嵌合抗体的方法包括本领域目前已知的常规重组DNA和基因转染技术。参见,例如, Morrison, S.L., 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81(1984) 6851-6855; 美国专利号5,202,238和5,204,244。

[0550] 在下述测定中测定“竞争性结合”，在所述测定中测试下的免疫球蛋白/抗体/结合片段抑制参考抗体与共同抗原，如tau（例如，tau 151-391/4R）的特异性结合。已知许多类型的竞争性结合测定，例如：固相直接或间接放射免疫测定（RIA）、固相直接或间接酶免疫测定（EIA）、夹层竞争测定（参见Stahli等，Methods in Enzymology 9:242(1983)）；固相直接生物素-抗生物素蛋白 EIA（参见Stahli等，Methods in Enzymology 9:242(1983) 137:3614(1986)）；固相直接标记的测定、固相直接标记的夹层测定（参见Harlow和Lane，Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Press(1988)）；使用I¹²⁵标记的固相直接标记RIA（参见Morel等，Mol.Immunol.25(1):7(1988)）；固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA（Cheung等，Virology 176:546(1990)）；和直接标记的RIA。（Moldenhauer等，Scand.J.Immunol.32:77(1990)）。通常，该测定涉及使用结合固体表面的纯化抗原或携带任何这些的细胞，未标记的测试免疫球蛋白和标记的参考免疫球蛋白。通过测定在测试免疫球蛋白存在下结合固体表面或细胞的标记的量来测量竞争性抑制。一般地，所述测试免疫球蛋白过量存在。一般地，当竞争抗体过量存在时，其将抑制参考抗体与共同抗原的特异性结合至少50-55%、55-60%、60-65%、65-70%、70-75%或更多。

[0551] “补体依赖性细胞毒性”或“CDC”指在补体存在下分子裂解靶标的能力。通过补体系统的第一个组分（C1q）结合与同源抗原络合的分子（例如抗体）起始补体激活途径。为了评估补体激活，可以进行CDC测定，例如 Gazzano-Santoro等，J.Immunol.Methods 202:163(1996)中所述。

[0552] 如本文所用，术语“缀合”指从第一个分子（例如，抗体）的功能基团与第二个分子（例如，治疗剂或药物）的功能基团之间的化学反应形成的键或化学部分。此类键包括，但不限于共价键和非共价键，同时此类化学部分包括，但不限于酯类、碳酸酯、亚胺磷酸酯、脘、乙缩醛、原酸酯、肽键，和寡核苷酸键。“水解稳定的键”表示键在水中基本上稳定并且在有用的pH值下不与水反应，包括但不限于在生理条件下反应延长长时间。“水解不稳定的或可降解的键”表示键在水或水性溶液，包括例如血液中是可降解的。“酶不稳定的或可降解的键”表示键被一种或多种酶降解。仅通过举例，某些PEG和相关聚合物包括聚合物骨架或PEG聚合物骨架与本文提供的蛋白质、多肽或肽的一个或多个末端功能基团之间的接头基团中的可降解的键。此类可降解键包括，但限于通过PEG羧酸或激活的PEG羧酸与生物活性剂上的醇基反应形成的酯键，其中此类酯基团一般在生理条件下水解以释放生物活性剂。其他水解可降解的键包括但不限于碳酸酯键；起因于胺与醛反应的亚胺键；通过醇与磷酸基团反应形成的磷酸酯键；脘键，其是酰肼与醛的反应产物；乙缩醛键，其是乙醛与醇的反应产物；原酸酯键，其是甲酸酯与醇的反应产物；由胺基形成的肽键，包括但不限于聚合物如PEG的末端，和肽的羧基；和由亚磷酸酰胺基团形成的寡核苷酸键，包括但不限于，聚合物的末端，和寡核苷酸的5'羟基。

[0553] 术语“DC8E8”指W02013/041962中描述的抗体，并通过在美国典型菌种收藏所（American Type Culture Collection）专利保藏号PTA-11994下保藏的杂交瘤产生。W02013/041962中公开的是下述发现，即特异性结合tau的四个先前未鉴定的功能区的一个或多个的抗体（例如，DC8E8）能够抑制病理性tau聚集体的形成，并能够检测tau的多种病理性形式，其一些在疾病中是最早形成的（例如，病理性单体），所述tau的未鉴定功能区选自268-HQPGGG-273（SEQ ID NO:148）（在tau蛋白的第一个重复结构域中）、299-HVPGGG-

304 (SEQ ID NO:149) (在tau蛋白的第二个重复结构域中)、330-HKPGGG-335 (SEQ ID NO:150) (在tau蛋白的第三个重复结构域中),和362-HVPGGG-367 (SEQ ID NO:149) (在tau蛋白的第四个重复结构域中)。通过免疫组织化学 (IHC) 和酶联免疫吸附测定 (ELISA) 筛选针对人错误无序的tau II (Tau 151-391/4R) (在本申请中也称为tau Δ (1-150;392-441)/4R) 产生的杂交瘤其对人成对螺旋纤丝 (PHF) 特异的单克隆抗体的产生。所得组包括IgG1亚类的小鼠单克隆抗体 (mAb) DC8E8。DC8E8的表位作图揭示其结合人tau上四个先前未鉴定的表位。此外,DC8E8的其他功能分析揭示各表位代表tau内不同的功能区。这些区域(其描述为AD诊断和治疗的新靶标)包含在tau的功能区内,所述tau的功能区选自268-HQPGGG-273 (SEQ ID NO:148) (在tau蛋白的第一个重复结构域中)、299-HVPGGG-304 (SEQ ID NO:149) (在tau蛋白的第二个重复结构域中)、330-HKPGGG-335 (SEQ ID NO:150) (在tau蛋白的第三个重复结构域中),和362-HVPGGG-367 (SEQ ID NO:149) (在tau蛋白的第四个重复结构域中)。

[0554] 如本文所用的术语“诊断(diagnosing)”和“诊断(diagnosis)”指下述方法,技术人员可以通过所述方法评估并甚至测定受试者是否遭受给定疾病或状况,在该情况中是阿尔茨海默氏病和相关tau病变。技术人员经常在一个或多个诊断指示物的基础上进行诊断,如例如生物标志物,其量(包括存在或缺失)指示状况的存在、严重性或缺失。

[0555] 与诊断一起,临床疾病监测和预后也是极其关心和感兴趣的领域。重要的是知道AD进展的阶段和速度以设计最有效的治疗。如果可以进行更精确的预后,可以为患者选择合适的治疗,并且在一些情况中选择较不严格的治疗。测量如本文公开的病理性tau水平可以用以根据AD进展分类将受益于特定治疗的受试者并与其中可选或额外治疗可以更合适的其他受试者区分。

[0556] 例如,DC8E8能够区分临床前AD、临床初期AD和完全发展的终末期AD(参见W02013/041962)。DC8E8展示人临床前AD中病理性tau的早期阶段(tau单体、二体)-Braak's阶段I的染色。抗体识别病理性tau低聚物的阶段和病理性tau聚合物的阶段(缠结)。在完全发展的阿尔茨海默氏病(终末期-Braak's阶段VI)中,DC8E8主要识别神经原纤维缠结、神经斑和神经线形式的病理性tau聚合物。DC8E8识别阿尔茨海默氏病中缠结形成的所有发展阶段。DC8E8识别缠结形成的早期发展阶段-单体、二体和早期低聚物阶段,和晚期低聚物、缠结前阶段,以及病理性tau聚合物的晚期发展阶段-胞内和胞外神经原缠结。

[0557] 因此,如本文所用的“诊断”或“做出诊断”进一步包括做出预后,其可以基于病理性tau水平的测量提供预测临床结果(进行或不进行医学治疗)、选择合适的治疗(或治疗是否有效),或监测目前的治疗和可能改变治疗。

[0558] 抗体“效应功能”指那些生物活性,其可以归因于抗体的Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)。抗体效应功能的实例包括C1q结合;补体依赖性细胞毒性;Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬;和细胞表面受体的下调(例如B细胞受体;BCR)。

[0559] 术语“表位”或“抗原决定簇”指免疫球蛋白或抗体(或其抗原结合片段)特异性结合的抗原上的位点。表位可以通过相邻氨基酸或因蛋白质的三级折叠而紧靠的不相连氨基酸形成。由相邻的氨基酸形成的表位通常对变性溶剂保持暴露,而由三级折叠形成的表位通常在用变性溶剂处理时丧失。表位通常包括经常在独特空间构象中的至少3、4、5、6、

7、8、9、10、11、12、13、14或15个氨基酸。测定表位的空间构象的方法包括例如x射线晶体学和二维核磁共振。参见例如, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, 第66卷, G.E.Morris, 编辑(1996)。“构象表位”是抗体或其tau结合片段以构象特异性方式结合的表位。在基于蛋白质的表位的情况中, 结合可以取决于携带表位的蛋白质的二级、三级或四级结构。换言之, 抗体以结构特异的方式、三级结构特异的方式, 或四级结构特异的方式结合。构象表位是病理性tau(例如, Tau 151-391/4R中存在的)中存在的一种表位。

[0560] 本文所述的抗体和tau结合片段具有以下四个tau位点的任何一个或多个作为其“表位”, 其中一些或全部是构象表位: 268-HQPGGG-273 (SEQ ID NO:148) (在tau蛋白的第一个重复结构域中)、299-HVPGGG-304 (SEQ ID NO:149) (在tau蛋白的第二个重复结构域中)、330-HKPGGG-335 (SEQ ID NO:150) (在tau蛋白的第三个重复结构域中), 和362-HVPGGG-367 (SEQ ID NO:149) (在tau蛋白的第四个重复结构域中)。这些表位在本文中分别称为QT1、QT2、QT3和QT4。DC8E8结合全部QT1-QT4; 事实上, DC8E8的表位是HXPGGG, 其中X是任何氨基酸 (SEQ ID NO.157)。

[0561] 木瓜蛋白酶消化抗体产生两个相同的抗原结合片段, 称为“Fab”片段, 各自具有单个抗原结合位点, 和剩余的“Fc”片段, 其名字反映了其容易结晶的能力(可结晶的片段)。胃蛋白酶处理产生具有两个抗原结合位点并仍然能够交联抗原的F(ab')₂片段。“Fv”是Fab片段中包括的重链的部分。也可以重组产生任何这些片段。抗体的Fc部分与抗体的效应功能, 包括抗体依赖性细胞的细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性或吞噬结合。抗体的Fc区中的改变(例如, 突变或糖基化改变)可以用于调节任何其效应功能以及增加其血清半衰期和其他药物代谢动力学性质。

[0562] Fab片段还含有轻链的恒定域和重链的第一个恒定域(CH1)。Fab'片段因在重链CH1结构域的羧基端添加了一些残基(包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸)而不同于Fab片段。Fab'-SH在本文中是Fab'的命名, 其中恒定域的半胱氨酸残基携带至少一个游离的巯基。F(ab')₂抗体片段最初产生为Fab'片段对, 它们之间具有铰链半胱氨酸。抗体片段的其他化学偶联也是已知的。

[0563] 如本文所用的术语“Fc”包括多肽, 其包含抗体的恒定区, 不包括第一个恒定区免疫球蛋白结构域。因此Fc指IgA、IgD和IgG的最后两个恒定区免疫球蛋白结构域, 和IgE与IgM的最后三个恒定区免疫球蛋白结构域, 以及N-末端到这些结构域的柔性铰链。对于IgA和IgM, Fc可以包括J链。对于IgG, Fc包含免疫球蛋白结构域C γ 2和C γ 3(C γ 2和C γ 3)以及C γ 1(C γ 1)与C γ 2(C γ 2)之间的铰链。尽管Fc区的边界可以变化, 但是人IgG重链Fc区一般限定包含残基C226或P230到其羧基末端, 其中编号根据EU编号系统。对于人IgG1, 在一个实施方案中Fc区在本文中限定包含残基P232到其羧基末端, 其中编号根据EU编号系统 (Edelman G M等, (1969) Proc Natl Acad Sci USA, 63(1):78-85)。例如, 在抗体的产生或纯化过程中, 或通过重组改造编码抗体的重链的核酸去除Fc区的C-末端赖氨酸(根据EU编号系统的447位残基)。因此, 完整抗体的组分可以包含所有K447残基被去除的抗体群、K447残基不被去除的抗体群, 和具有含有和不含有K447残基的抗体混合物的抗体群。Fc可以指分离中的该区域或Fc多肽背景, 例如抗体中的该区域。Fc可以是天然序列Fc或变体Fc。在Fc部分中替换氨基酸残基以改变抗体的效应功能是本领域中已知的(参见例如

Winter等,美国专利号5,648,260和5,624,821)。在PCT申请WO 93/10151(由此通过参考并入)中描述的一个合适的Fc是从N-末端铰链区延伸至人IgG1抗体的Fc区的天然C-末端的单链多肽。另一重要的Fc多肽是美国专利号5,457,035和Baum等,1994,EMBO J.13:3992-4001中描述的Fc突变蛋白。该突变蛋白的氨基酸序列与WO 93/10151中呈现的天然Fc序列的氨基酸序列相同,除了氨基酸19已经从Leu改变为Ala,氨基酸20已经从Leu改变为Glu,并且氨基酸22已经从Gly改变为Ala。突变蛋白对Fc受体展示降低的亲和力。

[0564] 术语“Fc受体”或“FcR”用于描述结合抗体的Fc区的受体。优选的FcR是天然序列人FcR。此外,优选的FcR是下述一种,其结合IgG抗体(γ 受体)并包括Fc. γ .RI、Fc. γ .RII和Fc. γ RIII亚类的受体,包括等位变体和或者这些受体的剪接形式。Fc γ RII受体包括Fc γ RIIA(“激活受体”)和Fc γ RIIB(“抑制受体”),其具有主要在其胞质结构域中不同的类似氨基酸序列。激活受体Fc γ RIIA在其胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的激活基序(ITAM)。抑制受体Fc γ RIIB在其胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(ITIM)(参见综述M. in Dairon,Annu.Rev.Immunol 15:203-234(1997))。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)中综述了FcR。其他FcR,包括在未来要鉴定的那些包括在本文的术语“FcR”中。术语还包括新生儿受体FcRn,其负责将母本IgG转移到胎儿(Guyer等,J.Immunol.117:587(1976)和Kim等,J.Immunol.24:249(1994)),并调节免疫球蛋白的稳态。

[0565] “Fv”也是最小的抗体片段,其含有完整的抗原识别和抗原结合位点。该区域由紧密非共价结合的一个重链和一个轻链可变域的二聚体组成。在该构型中,各可变域的三个高变区相互作用以在VH-VL二聚体的表面上限定抗原结合位点。总体上,六个高变区赋予抗体抗原结合特异性。然而,即使单个可变域(或包含仅三个对抗原特异的高变区的Fv的一半)也具有识别并结合抗原的能力,尽管以比完整结合位点低的亲和力。

[0566] 如本文所用,例如由于天然发生的体细胞突变或有意引入位点定向突变,包含来自特定人种系免疫球蛋白序列的重或轻链可变“框架区”的人源化抗体与特定种系序列的重或轻链可变框架区相比,可以含有氨基酸差异。然而,所选人源化抗体在重或轻链可变区框架区的氨基酸序列上通常与人种系免疫球蛋白基因的重或轻链可变框架区编码的氨基酸序列具有至少90%同一性并且含有下述氨基酸残基,当与其他物种(例如,鼠类种系序列)的种系免疫球蛋白氨基酸序列相比时,其将人源化抗体鉴定为来源于人。在某些情况下,人源化抗体优选在重或轻链可变框架区的氨基酸序列上与种系免疫球蛋白基因编码的重或轻链可变框架区的氨基酸序列具有至少90%,更优选至少95%,更优选至少96%,最优选至少97%,特别至少98%,最特别至少99%的同一性。通常,来源于特定人种系序列的人源化抗体的重或轻链可变框架区将展示与人种系免疫球蛋白基因编码的重或轻链可变框架区的氨基酸序列不超过11个氨基酸,优选不超过5个,或甚至更优选不超过4、3、2或1个不同。

[0567] “人效应细胞”是表达一个或多个FcR并且执行效应功能的粒性白细胞。优选地,细胞表达至少Fc γ RIII并且执行ADCC效应功能。介导ADCC的人粒性白细胞的实例包括外周血单核细胞(PBMC)、天然杀伤(NK)细胞、单核细胞、细胞毒性T细胞和中性粒细胞;优选PBMC和NK细胞。可以从其天然来源,例如从如本文所述的血液或PBMC中分离效应细胞。

[0568] “人种系序列”天然发现于人种群中。那些种系基因的组合产生抗体多样性。抗体轻链的种系抗体序列来自保守的人种系 κ 或 λ -基因和j-基因。同样，重链序列来自种系v-、d-和j-基因(LeFranc,M-P,和LeFranc,G,“The Immunoglobulin Facts Book”Academic Press,2001)。存在用于所有已知种系序列的公开可得的众所周知的数据库。

[0569] 本文中术语“铰链”或“铰链区”或“抗体铰链区”包括下述柔性多肽,其包含抗体或其tau结合片段的第一个和第二个恒定域之间的氨基酸。本文涉及的“铰链区”是长度为6-62个氨基酸的序列区,仅存在于IgA、IgD和IgG中,其包括桥接两条重链的半胱氨酸残基。在一个实施方案中,在结构上,IgG CH1 结构域结束于EU位置220,并且IgG CH2结构域开始于残基EU位置237。因此,对于IgG,在一个实施方案中,抗体铰链在本文中定义为包括位置 221(IgG1中的D221)至231(IgG1中的A231),其中编号根据EU编号系统。

[0570] 术语“人源化抗体”指下述抗体,其中已经修饰了框架区(FR)和/或“互补决定区”(CDR)以与亲本免疫球蛋白(人)的CDR相比包含不同特异性(小鼠)的免疫球蛋白的CDR。在实施方案中,将鼠类CDR移植到人抗体的框架区中,以制备“人源化抗体”。在另一实施方案中,将人框架“移植”或剪切成小鼠抗体,保留小鼠抗体的CDR并利用人来源的框架替换其框架。可以通过多种重组DNA技术学,包括PCR和诱变完成移植和剪切。本领域中存在多种人源化方法(例如,CDR移植、重塑、转基因动物、组合文库)。参见例如,Riechmann, L.,等,Nature 332(1988)323-327;Neuberger,M.S.,等,Nature 314(1985)268-270;Sastry L, Alting-Mess M,Huse WD,Short JM,Sorge JA,Hay BN,Janda KD,Benkovic SJ,Lerner RA(1989)Cloning of the immunological repertoire in for generation of monoclonal catalytic antibodies:construction of a heavy chain variable region-specific cDNA library.Proc Natl Acad Sci USA 86, 5728-5732;和Huse WD,Sastry S,Iverson SA,Kang AS,Alting-Mees M,Burton DR,Benkovic SJ,Lerner RA(1989)Generation of a large combinatorial library of the immunoglobulin repertoire in phage lambda.Science 246,1275-1281。人源化抗体起因于遗传改造的另一抗体以使得其更像人,同时保留其原始抗原结合性质.Presta,L.G.Engineering of therapeutic antibodies to minimize immunogenicity and optimize function.Advanced Drug Delivery Reviews,第58卷,Issues 5-6:640-656(2006)。选择人可变域(轻链和重链)待用于制备人源化抗体对降低抗原性非常重要。根据所谓的“最佳拟合”方法,针对已知人可变域序列的文库或人种系序列的文库筛选啮齿类抗体可变域的序列。然后将与啮齿类的序列最相近的人序列接受为用于人源化抗体的人框架区(Sims等,J.Immunol.1993;151:2296 et seq.;Chothia等,Chothia和Lesk,J. Mol.Biol.1987;196:901-917)。另一方法使用特定的框架区,其来源于轻链或重链特定亚组的所有人抗体的共有序列。相同的框架可以用于若干不同的人源化抗体(Carter等,PNAS USA,1992;89:4285 et seq.;Presta等,J Immunol 1993;151:2623 et seq.)。设计用于降低人患者中抗体分子的免疫原性的其他方法包括修饰的抗体(参见例如,美国专利号6,797,492和美国专利申请公开20020034765和20040253645)和已经通过T细胞表位分析和去除修饰的抗体(参见例如美国专利申请公开20030153043和美国专利号5,712,120)。

[0571] 本文所述的人源化抗体的特别优选的CDR对应于小鼠单克隆DC8E8抗体,即SEQ ID NO.1-6的CDR序列。通过重组方法或任何其他方法制备的本文所述的人源化抗体及其

tau结合片段的拷贝(例如具有相同重链或轻链可变区的免疫球蛋白,如本文所述的那些)(除了天然存在的抗体)也是所述术语范围内的人源化抗体或其tau结合片段。

[0572] 当用于本文时,术语“高变区”指负责抗原结合的抗体的氨基酸残基。在一个实施方案中,根据Kabat,高变区一般包含来自“互补决定区”或“CDR”的氨基酸残基(例如轻链可变域中的残基24-34(L1)、50-56(L2)和89-97(L3)和重链可变域中的31-35(H1)、50-65(H2)和95-102(H3);Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1991))和/或来自“高变环”的那些残基(例如轻链可变域中的残基26-32(L1)、50-52(L2)和91-96(L3)和重链可变域中的26-32(H1)、53-55(H2)和96-101(H3);Chothia和Lesk J. Mol.Biol.196:901-917(1987))。

[0573] “框架区”或“FR”残基是除本文中定义的高变区残基之外的那些可变域残基。在IMGT独特的编号系统中,保守的氨基酸始终具有相同的位置,例如半胱氨酸23(1st-CYS)、色氨酸41(CONSERVED-TRP)、疏水氨基酸89、半胱氨酸104(2nd-CYS)、苯丙氨酸或色氨酸118(J-PHE或J-TRP)。参见例如,Lefranc M.-P.,Immunology Today 18,509(1997);Lefranc M.-P.,The Immunologist,7,132-136(1999);Lefranc,M.-P.,Pommié,C.,Ruiz,M., Giudicelli,V.,Foulquier,E.,Truong,L.,Thouvenin-Contet,V.和Lefranc,Dev.Comp.Immunol.,27,55-77(2003)。在另一实施方案中,IMGT独特的编号提供了框架区(FR1-IMGT:位置1-26,FR2-IMGT:39-55,FR3-IMGT:66-104和FR4-IMGT:118-128)和互补决定区:CDR1-IMGT:27-38,CDR2-IMGT:56-65和CDR3-IMGT:105-117的标准化限定。空白代表未占用的位置,CDR-IMGT长度(括号之间显示并通过点分隔,例如[8.8.13])变成了重要的信息。IMGT独特的编号用于2D图解表示中,命名为IMGT Colliers de Perles。参见例如,Ruiz,M.和Lefranc,M.-P.,Immunogenetics,53,857-883(2002);Kaas,Q.和Lefranc,M.-P.,Current Bioinformatics,2,21-30(2007)。其也用于代表3D结构。参见例如,IMGT/3Dstructure-DB Kaas,Q.,Ruiz,M.和Lefranc,M.-P.,T cell receptor and MHC structural data.Nucl.Acids.Res.,32,D208-D210(2004)。框架或FR残基是括号内的高变区之外的那些可变域残基。

[0574] 使用Kabat编号系统,实际线性的氨基酸序列可以含有对应于缩短或插入到可变域的FR或HVR中的较少或额外氨基酸。例如,重链可变域可以包括在H2的残基52之后的单个氨基酸插入(根据Kabat的残基52a)和重链FR残基82之后插入的残基(例如根据Kabat的残基82a、82b和82c等)。可以通过在抗体序列的同源区域上与“标准的”Kabat编号序列比对测定给定抗体的残基的Kabat编号。

[0575] 如本文所用的术语“免疫原性”或免疫原的指对施用治疗药物的抗体响应。使用定量和定性测定获得针对本文提供的抗体和tau结合片段的免疫原性用于检测针对生物液体中所述治疗蛋白、多肽和肽的抗体。此类测定包括,但不限于放射免疫测定(RIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、发光免疫测定(LIA),和荧光免疫测定(FIA)。该免疫原性的分析包括比较施用本文提供的抗体和tau结合片段后的抗体应答与施用对照治疗蛋白、多肽或肽或递送媒介物或递送缓冲液后的抗体应答。

[0576] 来自任何脊椎动物物种的抗体的“轻链”可以根据它们恒定域的氨基酸序列被分为两个明显不同类型中的一种,称为 κ (κ)和 λ (λ)。

[0577] “天然抗体”一般是由两条相同的轻(L)链和两条相同的重(H)链组成的约 150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白。每条轻链与重链通过一个共价二硫键结合,而二硫键的数量在不同免疫球蛋白同种型的重链之间是不同的。每条重链和轻链还具有规则间隔的链内二硫键。每一条重链在一端具有一个可变域(VH),随后为多个恒定域。每一条轻链在一端具有一个可变域(VL),并在其另一端具有恒定域。轻链的恒定域与重链的第一个恒定域对齐,并且轻链可变域与重链的可变域对齐。相信特定的氨基酸残基在轻链和重链可变域之间形成界面。

[0578] 如本文所用的术语“核酸”旨在包括DNA分子和RNA分子。核酸分子可以是单链或双链的,但优选为双链DNA。

[0579] 两条核酸或氨基酸序列之间的“百分比同一性”表示最佳比对后待比较的两条序列之间相同核苷酸或氨基酸残基的百分比,该百分比是纯统计学上的并且两条序列之间的差异沿其长度随机分布。传统上通过已经最佳比对后比较序列进行两条核酸或氨基酸序列的比较,所述比较能够通过区段或通过使用“比较窗”而进行。除了手工比较外,用于比较的序列的最佳比可以通过以下进行,通过Smith和Waterman(1981)[Ad.App.Math.2:482]的局部同源性算法、通过Neddleman和Wunsch(1970)[J.Mol.Biol.48:443]的局部同源性算法、通过Pearson和Lipman(1988)[Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:2444]的相似性搜索方法或通过使用这些算法的计算机软件(Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group,575 Science Dr.,Madison,WI,中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA或通过比较软件BLAST NR或BLAST P)。例如,序列同一性可以存在于长度为至少约75-100个连续单元的区域,长度为至少约50个连续单元的区域,或未明确说明时,横跨多肽序列的完整序列。

[0580] 通过比较最佳比对的序列测定两条核酸或氨基酸序列之间的百分比同一性,其中待比较的核酸或氨基酸序列与用于在两条序列之间最佳比对的参考序列相比可以具有添加或缺失。通过测定两条序列之间,例如两条完整序列之间相同的氨基酸核苷酸或残基上的位置数量计算百分比同一性,相同位置数量除以比对窗中位置的总数并将结果乘以100以获得两条序列之间的百分比同一性。在一个实施方案中,利用通过Kabat编号惯例最大比对的抗体序列测定抗体之间的百分比序列同一性。比对后,如果受试者抗体区(例如,重链或轻链的完整的成熟可变区)与参考抗体的相同区域进行比较,那么受试者与参考抗体区之间的百分比序列同一性是受试者和参考抗体区中相同氨基酸所占的位置数量除以两个区域的比对位置的总数乘以100以转换成百分比,其中空位不计数。

[0581] 例如,可在网址<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.html>上可得的BLAST程序、“BLAST 2序列”(Tatusova等,“Blast 2 sequences-a new tool for comparing protein and nucleotide sequences”,FEMS Microbiol.,1999, Lett.174:247-250)可以以默认参数使用(特别是参数“开放空位罚分”:5,和“延伸空位罚分”:2;所选矩阵例如是程序建议的“BLOSUM 62”矩阵);直接通过所述程序计算两条序列之间的百分比同一性以进行比较。

[0582] 对于与参考氨基酸序列展示至少80%,例如85%、90%、95%和98%同一性的氨基酸序列,优选的实例包括含有参考序列、某些修饰,特别是至少一个氨基酸的缺失、添加或取代、截短或延伸的那些。在取代一个或多个保守或非保守氨基酸的情况中,优选下述

取代,其中取代的氨基酸被“等同”氨基酸替换。在本文中,表述“等同氨基酸”意思是指可能取代结构氨基酸之一但不修改相应抗体和下文定义的那些具体实例的生物活性的任何氨基酸。

[0583] 可以在其与它们取代的氨基酸的结构同源性上或可能产生的多个抗体之间生物活性的比较测试结果上测定等同氨基酸。作为非限制性实例,下文表1概述了可能进行但不导致相应的修饰抗体的生物活性显著改变的可能取代;相反的取代在相同条件自然是可能的。

[0584]

原始残基	取代
Ala (A)	Val、Gly、Pro
Arg (R)	Lys、His
Asn (N)	Gln
Asp (D)	Glu
Cys (C)	Ser
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp
Gly (G)	Ala
His (H)	Arg
Ile (I)	Leu
Leu (L)	Ile、Val、Met
Lys (K)	Arg
Met (M)	Leu
Phe (F)	Tyr
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr、Cys
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr
Tyr (Y)	Phe、Trp
Val (V)	Leu、Ala

[0585] 表1

[0586] 在该公开内容的上下文中,术语“病理性tau”和“疾病tau”包括病理性tau 构象体和结构并包括所有以下:tau类型IA、IB、IIA和IIB(详细描述于 W02004/007547 A2中),紊乱的、错误无序的tau(单体、二体、三体、寡聚体)、错误无序的可溶性tau、肌氨酰不可溶性tau、胞外tau沉积物、tau聚集体、成对螺旋纤丝、神经原纤维病理,包括神经元纤维损伤、缠结、线、原纤维、轴突球状体、截短的tau和全长tau的高度磷酸化形式,或与AD或另一tau病变(tauopathy)相关的tau的任何其他形式(其可以通过本文所述的抗体或tau结合片段检测)。Tau 151-391/4R(也称为tau Δ(1-150;92-441)/4R)代表病理性tau 的形式。

[0587] 术语“药学上可接受的”意指生物学上或药理学上适合体内用于动物或人中,并优选意指通过联邦或州政府的管理机构批准或列于美国药典或其他通常认可的用于动物或更具体为人中的药典里。

[0588] 如本文所用,术语“重组宿主细胞”(或简单地“宿主细胞”)旨在指其中已引入重组表达载体的细胞。应理解此类术语旨在不仅指具体的受试者细胞还指此类细胞的后代。因为由于突变或环境影响,某些修饰可以在继代中发生,此类后代实际上可能与母细胞不相同,但仍包括在如本文所用的术语“宿主细胞”的范围内。

[0589] 术语“另一tau病变”包括在患者脑中伴随微管结合蛋白的异常形式出现的所有神经疾病。术语包括但不限于以下疾病:阿尔茨海默氏病、

Gerstmann-Sträussler-Scheinker疾病、英国痴呆(British dementia)、丹麦痴呆(Danish dementia)、皮克氏病(Pick's disease)、进行性核上性麻痹、皮质基底节变性、嗜银颗粒病、关岛帕金森-痴呆综合征、Tangle-only痴呆、具有球形神经胶质内含物的白质tau病变、额颞痴呆(例如,FTDP-17),和与染色体17连锁的帕金森综合征。参见例如,Goedert M,Clavaguera F和Tolnay M.The propagation of prion-like protein inclusions in neurodegenerative diseases.Trends Neurol.Sci.在一个实施方案中,在至少一个测定中通过本文所述的抗体或结合片段之一识别tau的那些异常形式的一种或多种。在一些实施方案中,测定是IHC。在其他实施方案中,测定是ELISA。

[0590] 如本文所用,提及抗体时的“特异性结合”意指抗体以比其结合结构上不同的抗原或表位高的亲和力结合其靶抗原或表位。

[0591] 如本文所用,术语“表面等离子共振”指通过检测生物传感器基质内的蛋白质浓度改变来允许分析实时生物特异性相互作用的光学现象,例如使用BIAcore系统(Pharmacia Biosensor AB,Uppsala,Sweden and Piscataway,N.J.)。对于其他描述,参见实施例1和Jonsson,U.,等(1993)Ann.Biol.Clin.51:19-26; Jonsson,U.,等(1991)Biotechniques 11:620-627;Jonsson,B.,等(1995)J. Mol.Recognit.8:125-131;和Johnson,B.,等(1991)Anal.Biochem.198:268-277。

[0592] “单链Fv”或“scFv”抗体片段包含抗体的VH和VL结构域,其中这些结构域存在于单条多肽链中。优选地,Fv多肽还在VH和VL结构域之间包含多肽接头,其使得scFv能够形成想要的结构用于抗原结合。对于scFv的综述,参见Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷, Rosenberg和Moore编辑, Springer-Verlag, New York, 第269-315页(1994)。

[0593] 如本文所用的术语“治疗”定义为向患有疾病、具有疾病症状或针对疾病的遗传缺陷的受试者应用或施用治疗剂,目的是治疗、治愈、减轻、缓解、改变、补救、改善、提高或影响疾病、疾病的症状或针对疾病的遗传缺陷。此外,与在缺少使用人源化抗tau抗体或其tau结合片段组合物时的症状相比,只要本公开内容的组合物单独或与另一治疗剂组合治疗、治愈、减轻、缓解、改变、补救、改善、提高或影响所治疗的阿尔茨海默氏病或另一tau病变的至少一种症状,则应该认为结果是对潜在病征的治疗,不管是不是病征的所有症状均被治疗、减轻、缓解、改变、补救、改善、提高或影响。

[0594] 术语“可变的”指下述事实,即可变域的某些部分在抗体之间序列广泛不同并且用于各个特定抗体对其特定抗原的结合和特异性中。然而,可变性在抗体的可变域内并不平均分布。其富集于轻链和重链可变域中称为高变区的三个区段中。可变域更加高度保守的部分称为框架区(FR)。天然重链和轻链的可变域各自包含四个FR,大多采取 β -折叠构型,通过三个高变区连接,所述高变区形成环形连接,并且在一些情况下形成部分 β -折叠

结构。各条链中的高变区(HVR)通过FR紧密邻近地结合在一起,与来自另一条链的高变区促进形成抗体的抗原结合位点(参见Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1991))。恒定区不直接参与抗体结合抗原,但是显示出多种效应功能,如抗体参与抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。

[0595] 如本文所用,术语“载体”旨在指能够转运已经与其连接的另一种核酸的核酸分子。一种类型的载体是“质粒”,其指额外的DNA区段可以连入其中的环状双链DNA环。另一种类型的载体是病毒载体,其中额外的DNA区段可以连入病毒基因组中。某些载体可以在它们导入其中的宿主细胞(例如,具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体)中自主复制。其他载体(例如,非附加型哺乳动物载体)在引入宿主细胞中时可以整合入宿主细胞的基因组中,并由此随宿主基因组进行复制。此外,某些载体能够指导与其有效连接的基因的表达。此类载体在本文中称为“重组表达载体”(或简单地,“表达载体”)。一般地,重组DNA技术中有用的表达载体经常是质粒形式。在本说明书中,“质粒”和“载体”可以互换使用,因为质粒是最常用的载体形式。然而,本发明旨在包括表达载体的其他形式,如病毒载体(例如,复制缺陷型逆转录病毒、腺病毒和腺伴随病毒),其行使等同功能。

[0596] 可以通过参考本文中包括的以下具体实施方案的详细描述容易地理解本公开内容。尽管已经参考其某些实施方案的具体详细信息描述了本公开内容,但是并不预期认为此类详细信息是对公开内容范围的限制。

[0597] 结合疾病tau的人源化抗体

[0598] 本文提供的是针对人疾病/病理性tau的第一个人源化抗体,其能够以构象依赖性方式识别tau的四个不同区域。更特别地,本文所述的人源化抗体能够以它们区分野生型/正常tau和与AD相关的tau(疾病tau)的构象的这种方式结合QT1-QT4的至少一个、两个、三个或四个。在一些实施方案中,QT1-QT4的两个、三个或四个可以同时被这些抗体占据。换言之,本文所述的抗体和tau结合片段具有以下四个tau位点的任何一个或多个作为其“表位”,其中一些或全部是构象表位:268-HQPGGG-273(SEQ ID NO:148)(在tau蛋白的第一个重复结构域中)、299-HVPGGG-304(SEQ ID NO:149)(在tau蛋白的第二个重复结构域中)、330-HKPGGG-335(SEQ ID NO:150)(在tau蛋白的第三个重复结构域中),和362-HVPGGG-367(SEQ ID NO:149)(在tau蛋白的第四个重复结构域中)。这些表位在本文中也分别称为QT1、QT2、QT3和QT4。DC8E8结合全部QT1-QT4;事实上,DC8E8的表位是HXPGGG,其中X是任何氨基酸。

[0599] 在一个实施方案中,抗体和tau结合片段对Tau 151-139/4R具有至少80%的亲合力,其如果不好于亲本小鼠单克隆抗体DC8E8的亲合力则与其一样好。在一个实施方案中,抗体和tau结合片段保留对小鼠DC8E8抗体识别的表位的特异性。在一个实施方案中,这些抗体具有一种或多种有利的生物化学性质(例如,人恒定区和因此降低的免疫原性、高表达水平、高溶解性、纯化后缺少明显的蛋白聚集、高稳定性),其致使它们最适用于临床用于在人中治疗AD和相关的tau病变。

[0600] 通过操作框架残基根据经验优化DC8E8的人源化。初始人源化版本RHA/RKA(AX001)相对于嵌合DC8E8构建体在对tau的结合亲和力上展示10倍降低。这些数据暗示一个或多个框架氨基酸残基对于以很少由此造成的结合活性损失人源化DC8E8是重要的。相

反,单个框架回复突变足以恢复 RHD (AX004) 人源化抗体中的结合亲和力。该优势是未曾预料到的。其他单点回复突变在结合亲和力上不具有相同的未曾预料到的优势。参见例如, RHF/RKA (AX006) 和RHG/RKA (AX007) 构建体。并且下一个最佳抗体携带 10个回复突变。参见 AX002。在所测试的所有回复突变组合中,AX004证明对tau具有最佳结合亲和力(在本文所述的测定中),尽管具有单一回复突变,并且不像其他单一回复突变构建体。亲和力提高的其他人源化构建体包括例如AX002、AX005、AX037和AX014、AX016、AX017、AX038,分别在RKA和RKB轻链版本中。

[0601] 还提供的是本文所述的人源化抗体的tau结合片段(例如抗体部分)。这些片段也能够以它们区分野生型/正常tau和与AD相关的tau的构象的这种方式结合QT1-QT4的至少一个、两个、三个或四个(上文定义)。在一些实施方案中,QT1-QT4的所有四个可以被本文所述的抗体或tau结合片段的四个占据。在一些实施方案中,片段或部分以与小鼠单克隆抗体DC8E8相同的亲和力和性质结合tau。例如,能够结合QT1-QT4中的一个或多个的抗体片段或部分包括,但不限于Fab(例如,通过木瓜蛋白酶消化)、Fd、Fab'(例如,通过胃蛋白酶消化和部分还原)并且本发明提供F(ab')₂(例如,通过胃蛋白酶消化)、facb(例如,通过纤维蛋白溶酶消化)、pFc'(例如,通过胃蛋白酶或纤维蛋白溶酶消化)、Fd(例如,通过胃蛋白酶消化、部分还原和再聚集)、Fv或scFv(例如,通过分子生物学技术)片段。也参见, William E. Paul(编辑)Fundamental Immunology,第6版,Lippincott Williams&Wilkins, NY, N.Y. 2008,以其整体通过参考并入本文。已经通过缀合到其他分子上增加了半衰期的任何其他片段,包括聚乙二醇化的片段也在本发明的范围内。可以通过如本领域常规已知的或本文提供的酶切割、合成或重组技术产生某些片段。还可以使用抗体基因(其中一个或多个终止密码子已经引入天然终止位点上游)产生多种截短形式的抗体。例如,可以设计编码F(ab')₂重链部分的组合基因以包括编码重链的CH1结构域和/或铰链区的DNA序列。可以通过常规技术用化学方法将抗体的多个部分连接在一起,或可以使用常规遗传改造技术将其制备为邻接蛋白。

[0602] 根据它们的重链的恒定域的氨基酸序列,完整抗体可以被分派为不同的“种类”。在一个实施方案中,具有六个主要种类的完整抗体:IgA、IgD、IgE、IgG、IgY和IgM,并且这些中的若干种可以进一步分成“亚类”(同种型),例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA和IgA2。对应于不同种类的抗体的重链恒定域分别称为 α (α)、 δ (δ)、 ϵ (ϵ)、 γ (γ)和 μ (μ)。不同种类的免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是众所周知的。在一个实施方案中,本文所述的抗体具有任何现有免疫原同种型的恒定区。例如,恒定区可以是 λ 或 κ 区和 γ -1、 γ -2、 γ -3,或 γ 4区的恒定区。混合同种型的恒定区也在本公开内容的范围内(例如混合有IgG4的IgG1)。已经认识到一些同种型优于其他同种型。Bruggemann M, Williams GT, Bindon CI, Clark MR, Walker MR, Jefferis R, Waldmann H, Neuberger MS (1987) Comparison of the effector functions of human immunoglobulins using a matched set of chimeric antibodies. *J. Exp. Med.* 166, 1351-1361; Bindon CI, Hale G, Bruggemann M, Waldmann H (1988) Human monoclonal IgG isotypes differ in complement activating function at the level of C4 as well as C1q. *J. Exp. Med.* 168, 127-42; Shaw DR, Khazaeli MB, LoBuglio AF (1988) Mouse/human chimeric antibodies to a tumor associated antigen: biologic activity of the four human IgG subclasses. *J. Natl. Cancer*

Inst.80, 1553-9;Steplewski Z,Sun LK,Shearman CW,Ghrayeb J,Daddona P,Koprowski,H(1988)Biological activity of human-mouse IgG1,IgG2,IgG3,and IgG4chimeric monoclonal antibodies with antitumor specificity. Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85,4852-6.在一组实验中,如这些参考文献所述,比较人同种型IgM、IgG1、IgG2、IgG3(两个同种异型)、IgG4、IgA和IgE的 自体补体介导的裂解以及抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)。对于补 体介导的裂解,人IgM和IgG1证明是最有效的,IgG3的两个同种异型是第二 最好的。IgG2产生弱的裂解,而其他同种型看起来不产生裂解。ADCC的结果是IgG1紧随IgG2、IgG3或IgG4再次非常有效,这取决于测定(例如,细胞 类型)。其他同种型,包括IgM是无效的。但是抗体具有许多其他活性(例如,通过巨噬细胞促进调理作用),并且最终难以或甚至不可能预测哪种同种型 将具有最佳性质集合用于其预期用途。

[0603] 影响人源化抗体的免疫原性的另一因素是恒定区中存在多态性决定簇。可以将这些差异最小化用于降低的抗原性。观察到人IgG具有18个同种异型,其在群体中具有合理的频率:IgG1具有4;IgG2具有1;IgG3具有13;IgG4 具有0。WHO(1976)Review of the notation for the allotypic and related markers of human immunoglobulins.Eur.J.Immunol.6,599-601。此外,存在人k轻链的 三个同种异型。一些同种异型存在于一些个体中,而不存在于其他中。一些 主要在日本人群中表达。

[0604] 已经在本领域中描述了用于人源化非人抗体的许多方法。在一个实施方案中,人源化抗体具有从非人来源引入其中的一个或更多氨基酸残基。这些 非人氨基酸残基经常称为“输入”残基,其通常取自“输入”可变域。在一个实 施方案中,可基本根据Winter及其同事(Jones等,Nature,321:522-525(1986); Riechmann等,Nature,332:323-327(1988); Verhoeyen等,Science, 239:1534-1536(1988))的方法,通过将高变区序列替换人抗体的相应序列来 进行人源化。因此,此类“人源化”抗体是嵌合抗体(美国专利号4,816,567),其中基本上少于完整人可变域已经被非人物种的相应序列替换。在一些实施 方案中,人源化抗体是人抗体,其中一些高变区残基和可能的一些FR残基被 啮齿类抗体中类似位点的残基替换。

[0605] 选择人可变域(轻链和重链)待用于制备人源化抗体对降低抗原性是重要 的。根据所谓的“最佳拟合”方法,针对已知人可变域序列的整个文库筛选啮 齿类抗体可变域的序列。与啮齿类的序列最相近的人序列(完整的可变区或 仅框架)然后被接受为人框架区(FR)用于人源化抗体(Sims等,J.Immunol., 151:2296(1993);Chothia等,J.Mol.Biol., 196:901(1987))。另一方法使用特定 的框架区,其来源于轻链或重链特定亚组的所有人抗体的共有序列。相同的 框架可用于若干不同的人源化抗体(Carter等, Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 89:4285(1992);Presta等,J.Immunol,151:2623(1993))。

[0606] 在一些实施方案中,重要的是保留对抗原的高亲和力和亲本(例如,小 鼠抗体)的其他有利生物学性质人源化抗体。为了实现该目标,根据一个实 施方案,通过分析亲本序 列和多种概念上的人源化产物的过程,使用亲本和 人源化序列的三维模型制备人源化抗体。通常可获得三维免疫球蛋白模型,并且其为本领域技术人员所熟悉。可获得计算机程 序,其阐明并展示所选的 候选免疫球蛋白序列的三维构象结构。这些展示的检查允许分析 残基在候选 免疫球蛋白序列功能中的可能作用,即,分析影响候选免疫球蛋白结合其抗

原的能力的残基。这样,可从受体和输入序列中选择并组合FR残基,以便实现想要的抗体特征,如对靶抗原提高的亲合力。一般而言,高变区残基直接 并最实质地参与影响抗原结合。

多肽	SEQ ID NO.	仅可变区	SEQ ID NO.
CDR-H1	1	重链DC8E8	7
CDR-H2	2	轻链DC8E8	8
CDR-H3	3	重链 嵌合	9 (与7相同)
[0607] CDR-L1	4	轻链 嵌合	10 (与8相同)
CDR-L2	5	优化的重链 DC8E8	11 (与7相同)
CDR-L3	6	优化的轻链 DCBE8	12 (与8相同)

[0608] 表2

[0609] 先前的表2提供了本文所述的一些氨基酸序列的SEQ ID NO.。在另一实施方案中,如本文所述的人源化抗体或tau结合片段包含SEQ ID NO.1、2、3 分别作为重链CDR1、2和3, SEQ ID NO.4、5、6分别作为轻链CDR 1、2和3。在一些实施方案中,该抗体或片段包含至少一个CDR,如根据Kabat定义,其序列与SEQ ID NO.1-6的任何一项进行最佳比对后具有至少80%,优选至少85%、90%、95%和98%同一性。

[0610] 在一个实施方案中,抗体 (AX001) 或其tau结合片段包含重链可变区RHA (SEQ ID NO.13) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.26)。为该抗体提供IgG1 (AX001-IgG1) 或IgG4 (AXON001-IgG4) 恒定区。

[0611] 在一个实施方案中,抗体 (AX002) 或其tau结合片段包含重链可变区RHB (SEQ ID NO.14) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.26)。为该抗体提供IgG1 (AX002-IgG1) 或IgG4 (AXON002-IgG4) 恒定区。

[0612] 在一个实施方案中,抗体 (AX003) 或其tau结合片段包含重链可变区RHC (SEQ ID NO.15) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.26)。为该抗体提供IgG1 (AX003-IgG1) 或IgG4 (AXON003-IgG4) 恒定区。

[0613] 在一个实施方案中,抗体 (AX004) 或其tau结合片段包含重链可变区RHD (SEQ ID NO.16) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.26)。为该抗体提供IgG1 (AX004-IgG1) 或IgG4 (AXON004-IgG4) 恒定区。

[0614] 在一个实施方案中,抗体 (AX005) 或其tau结合片段包含重链可变区RHE (SEQ ID NO.17) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.26)。为该抗体提供IgG1 (AX005-IgG1) 或IgG4 (AXON005-IgG4) 恒定区。

[0615] 在一个实施方案中,抗体 (AX006) 或其tau结合片段包含重链可变区RHF (SEQ ID NO.18) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供IgG1 (AX006-IgG1) 或IgG4

(AXON006-IgG4) 恒定区。

[0616] 在一个实施方案中, 抗体 (AX007) 或其tau结合片段包含重链可变区RHG (SEQ ID NO.19) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.26)。为该抗体提供IgG1 (AX007-IgG1) 或IgG4 (AXON007-IgG4) 恒定区。

[0617] 在一个实施方案中, 抗体 (AX008) 或其tau结合片段包含重链可变区RHH (SEQ ID NO.20) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.26)。为该抗体提供IgG1 (AX008-IgG1) 或IgG4 (AXON008-IgG4) 恒定区。

[0618] 在一个实施方案中, 抗体 (AX009) 或其tau结合片段包含重链可变区RHI (SEQ ID NO.21) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.26)。为该抗体提供IgG1 (AX009-IgG1) 或IgG4 (AXON009-IgG4) 恒定区。

[0619] 在一个实施方案中, 抗体 (AX010) 或其tau结合片段包含重链可变区RHJ (SEQ ID NO.22) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.26)。为该抗体提供IgG1 (AX010-IgG1) 或IgG4 (AXON010-IgG4) 恒定区。

[0620] 在一个实施方案中, 抗体 (AX011) 或其tau结合片段包含重链可变区RHK (SEQ ID NO.23) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.26)。为该抗体提供IgG1 (AX011-IgG1) 或IgG4 (AXON011-IgG4) 恒定区。

[0621] 在一个实施方案中, 抗体 (AX012) 或其tau结合片段包含重链可变区RHL (SEQ ID NO.24) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.26)。为该抗体提供IgG1 (AX012-IgG1) 或IgG4 (AXON012-IgG4) 恒定区。

[0622] 在一个实施方案中, 抗体 (AX013) 或其tau结合片段包含重链可变区RHA (SEQ ID NO.1) 和轻链可变区RKB (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供IgG1 (AX013-IgG1) 或IgG4 (AXON013-IgG4) 恒定区。

[0623] 在一个实施方案中, 抗体 (AX014) 或其tau结合片段包含重链可变区RHB (SEQ ID NO.2) 和轻链可变区RKB (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供IgG1 (AX014-IgG1) 或IgG4 (AXON014-IgG4) 恒定区。

[0624] 在一个实施方案中, 抗体 (AX015) 或其tau结合片段包含重链可变区RHC (SEQ ID NO.15) 和轻链可变区RKB (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供IgG1 (AX015-IgG1) 或IgG4 (AXON015-IgG4) 恒定区。

[0625] 在一个实施方案中, 抗体 (AX016) 或其tau结合片段包含重链可变区RHD (SEQ ID NO.16) 和轻链可变区RKB (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供IgG1 (AX016-IgG1) 或IgG4 (AXON016-IgG4) 恒定区。

[0626] 在一个实施方案中, 抗体 (AX017) 或其tau结合片段包含重链可变区RHE (SEQ ID NO.17) 和轻链可变区RKB (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供IgG1 (AX017-IgG1) 或IgG4 (AXON017-IgG4) 恒定区。

[0627] 在一个实施方案中, 抗体 (AX018) 或其tau结合片段包含重链可变区RHF (SEQ ID NO.18) 和轻链可变区RKB (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供IgG1 (AX018-IgG1) 或IgG4 (AXON018-IgG4) 恒定区。

[0628] 在一个实施方案中, 抗体 (AX019) 或其tau结合片段包含重链可变区RHG (SEQ ID NO.19) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供IgG1 (AX019-IgG1) 或IgG4

(AXON019-IgG4) 恒定区。

[0629] 在一个实施方案中, 抗体 (AX020) 或其tau结合片段包含重链可变区RHH (SEQ ID NO.20) 和轻链可变区RKB (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供IgG1 (AX020-IgG1) 或IgG4 (AXON020-IgG4) 恒定区。

[0630] 在一个实施方案中, 抗体 (AX021) 或其tau结合片段包含重链可变区RHI (SEQ ID NO.21) 和轻链可变区RKB (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供IgG1 (AX021-IgG1) 或IgG4 (AXON021-IgG4) 恒定区。

[0631] 在一个实施方案中, 抗体 (AX022) 或其tau结合片段包含重链可变区RHJ (SEQ ID NO.22) 和轻链可变区RKB (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供IgG1 (AX022-IgG1) 或IgG4 (AXON022-IgG4) 恒定区。

[0632] 在一个实施方案中, 抗体 (AX023) 或其tau结合片段包含重链可变区RHK (SEQ ID NO.23) 和轻链可变区RKB (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供 IgG1 (AX023-IgG1) 或IgG4 (AXON023-IgG4) 恒定区。

[0633] 在一个实施方案中, 抗体 (AX024) 或其tau结合片段包含重链可变区RHL (SEQ ID NO.24) 和轻链可变区RKB (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供IgG1 (AX024-IgG1) 或IgG4 (AXON024-IgG4) 恒定区。

[0634] 在一个实施方案中, 抗体 (AX025) 或其tau结合片段包含重链可变区RHA (SEQ ID NO.13) 和轻链可变区VK (SEQ ID NO.8)。为该抗体提供IgG1 (AX025-IgG1) 或IgG4 (AXON025-IgG4) 恒定区。

[0635] 在一个实施方案中, 抗体 (AX026) 或其tau结合片段包含重链可变区RHB (SEQ ID NO.14) 和轻链可变区VK (SEQ ID NO.8)。为该抗体提供IgG1 (AX026-IgG1) 或IgG4 (AXON026-IgG4) 恒定区。

[0636] 在一个实施方案中, 抗体 (AX027) 或其tau结合片段包含重链可变区RHC (SEQ ID NO.15) 和轻链可变区VK (SEQ ID NO.8)。为该抗体提供IgG1 (AX027-IgG1) 或IgG4 (AXON027-IgG4) 恒定区。

[0637] 在一个实施方案中, 抗体 (AX028) 或其tau结合片段包含重链可变区RHD (SEQ ID NO.16) 和轻链可变区VK (SEQ ID NO.8)。为该抗体提供IgG1 (AX028-IgG1) 或IgG4 (AXON028-IgG4) 恒定区。

[0638] 在一个实施方案中, 抗体 (AX029) 或其tau结合片段包含重链可变区RHE (SEQ ID NO.17) 和轻链可变区VK (SEQ ID NO.8)。为该抗体提供IgG1 (AX029-IgG1) 或IgG4 (AXON029-IgG4) 恒定区。

[0639] 在一个实施方案中, 抗体 (AX030) 或其tau结合片段包含重链可变区RHF (SEQ ID NO.18) 和轻链可变区VK (SEQ ID NO.8)。为该抗体提供IgG1 (AX030-IgG1) 或IgG4 (AXON030-IgG4) 恒定区。

[0640] 在一个实施方案中, 抗体 (AX031) 或其tau结合片段包含重链可变区RHG (SEQ ID NO.19) 和轻链可变区VK (SEQ ID NO.8)。为该抗体提供IgG1 (AX031-IgG1) 或IgG4 (AXON031-IgG4) 恒定区。

[0641] 在一个实施方案中, 抗体 (AX032) 或其tau结合片段包含重链可变区RHH (SEQ ID NO.20) 和轻链可变区VK (SEQ ID NO.8)。为该抗体提供IgG1 (AX032-IgG1) 或IgG4

(AXON032-IgG4) 恒定区。

[0642] 在一个实施方案中, 抗体 (AX033) 或其tau结合片段包含重链可变区RHI (SEQ ID NO.21) 和轻链可变区VK (SEQ ID NO.8)。为该抗体提供IgG1 (AX033-IgG1) 或IgG4 (AXON033-IgG4) 恒定区。

[0643] 在一个实施方案中, 抗体 (AX034) 或其tau结合片段包含重链可变区RHJ (SEQ ID NO.22) 和轻链可变区VK (SEQ ID NO.8)。为该抗体提供IgG1 (AX034-IgG1) 或IgG4 (AXON034-IgG4) 恒定区。

[0644] 在一个实施方案中, 抗体 (AX035) 或其tau结合片段包含重链可变区RHK (SEQ ID NO.23) 和轻链可变区VK (SEQ ID NO.8)。为该抗体提供IgG1 (AX035-IgG1) 或IgG4 (AXON035-IgG4) 恒定区。

[0645] 在一个实施方案中, 抗体 (AX036) 或其tau结合片段包含重链可变区RHL (SEQ ID NO.24) 和轻链可变区VK (SEQ ID NO.8)。为该抗体提供IgG1 (AX036-IgG1) 或IgG4 (AXON036-IgG4) 恒定区。

[0646] 在一个实施方案中, 抗体 (AX037) 或其tau结合片段包含重链可变区RHE (SEQ ID NO.25) 和轻链可变区RKA (SEQ ID NO.26)。为该抗体提供IgG1 (AX037-IgG1) 或IgG4 (AXON037-IgG4) 恒定区。

[0647] 在一个实施方案中, 抗体 (AX038) 或其tau结合片段包含重链可变区RHM (SEQ ID NO.) 和轻链可变区RKB (SEQ ID NO.27)。为该抗体提供IgG1 (AX037-IgG1) 或IgG4 (AXON037-IgG4) 恒定区。

[0648] 在另一实施方案中, 本发明提供抗体重链, 其包含选自重链可变区RHA、RHB、RHC、RHD、RHE、RHF、RHG、RHH、RHI、RHJ、RHK、RHL和 RHM任何一个的可变区。任何这些可变区可以连接任何人同种型的恒定区, 包括具有混合同种型的恒定区。

[0649] 在另一实施方案中, 本发明提供包含选自RKA和RKB的可变区的抗体轻链。任何这些可变区可以连接任何人同种型的恒定区, 包括具有混合同种型的恒定区。

[0650] 在另一实施方案中, 本发明提供SEQ ID NO.28-40和43-55任何一项的抗体重链。

[0651] 在另一实施方案中, 本发明提供选自SEQ ID NO.57-59的抗体轻链。

[0652] 人源化抗体的重链和轻链可变区可以连接至少一部分人恒定区。如上文在定义中所述, 恒定区的选择部分依赖于是否想要抗体依赖性细胞介导的细胞毒性、抗体依赖性细胞的吞噬和/或补体依赖性细胞毒性。在一个实施方案中, 人同种型 (isotypes) IgG1和IgG3具有补体依赖性细胞毒性, 而人同种型 IgG2和IgG4不具有。在一个实施方案中, 人IgG1和IgG3也诱导比人IgG2和 IgG4更强的细胞介导的效应功能。轻链恒定区可以是λ或κ。示例性人轻链κ 恒定区具有SEQ ID NO:170的氨基酸序列。可以省略SEQ ID NO:170的N末端精氨酸, 在所述情况下轻链κ恒定区具有SEQ ID NO:171的氨基酸序列。示例性人IgG1重链恒定区具有SEQ ID NO:172的氨基酸序列。示例性人IgG4重链 恒定区具有SEQ ID NO:173的氨基酸序列。可以将抗体表达为含有两条轻链 和两条重链的四聚体、单独的重链、轻链、Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv、或单链 抗体, 其中重链和轻链成熟可变域通过间隔物连接。

[0653] 编码人抗体的恒定区的cDNA序列为本领域普通技术人员所知。在一个 实施方案中, 通过例如GenBank可获得的示例性cDNA序列 (各自以其整体通 过参考并入) 如下: 人IgG1恒定重链区: GenBank登录号: J00228; 人IgG2恒 定重链区: GenBank登录号: J00230; 人

IgG3恒定重链区:GenBank登录号:X04646;人IgG4恒定重链区:GenBank登录号:K01316;和人κ轻链恒定区:GenBank登录号:J00241。在一个实施方案中,可以根据已知方法进一步修饰恒定区。例如,在IgG4恒定区中,可以将残基S241突变成脯氨酸(P)残基以允许铰链处完整的二硫键形成(参见例如,Angel等,Mol.Immunol.1993; 30:105-8)。

[0654] 为了更清楚,下文表3中概述了对应于本文所述的一些人源化抗体的多个可变区的多条氨基酸序列。

仅人源化可变重链区	SEQ ID NO.	仅人源化可变轻链区	SEQ ID NO.
RHA	13	RKA	26
RHB	14	RKB	27
RHC	15		
RHD	16		
RHE	17		
[0655] RHF	18		
RHG	19		
RHH	20		
RHI	21		
RHJ	22		
RHK	23		
RHL	24		
RHM	25		

[0656] 表3

[0657] 下文表4概述了对应于本文所述的小鼠和人源化抗体的多条全长序列的氨基酸序列。

	完整的可变区和 重链恒定IgG1	SEQ ID NO.	完整的可变区和 重链恒定IgG4	SEQ ID NO.
	RHA	28	RHA	43
	RHB	29	RHB	44
	RHC	30	RHC	45
	RHD	31	RHD	46
	RHE	32	RHE	47
	RHF	33	RHF	48
[0658]	RHG	34	RHG	49
	RHH	35	RHH	50
	RHI	36	RHI	51
	RHJ	37	RHJ	52
	RHK	38	RHK	53
	RHL	39	RHL	54
	RHM	40	RHM	55
	cDC8E8	41	cDC8E8	56
	小鼠DC8E8	42		

[0659] 表4

[0660] 下文表5概述了对应于本文所述的人源化抗体的轻链的多条全长序列的 多条氨基酸序列。

完整的人源化可变轻链恒定K	SEQ ID NO.
RKA	57
RKB	58
cDC8E8 κ	59

[0662] 表5

[0663] 还提供的是嵌合抗体及其tau结合片段。在一个实施方案中,嵌合抗体或其tau结合片段包含重链可变区DC8E8 VH(SEQ ID NO.9)和轻链可变区 DC8E8 VK(SEQ ID NO.10)与人IgG1恒定区(SEQ ID NO.172)一起用于重链 和 κ 恒定区(SEQ ID NO.170)用于轻链。在另一实施方案中,嵌合抗体或其tau 结合片段包含重链可变区DC8E8 VH(SEQ ID NO.9)和轻链可变区DC8E8 VK(SEQ ID NO.10)与人IgG4恒定区(SEQ ID NO.173)一起用于重链和 κ 恒定 区(SEQ ID NO.170)用于轻链。

[0664] 在一个实施方案中,重组制备人源化抗体或其tau结合片段/部分。在另一实施方案中,至少部分通过化学合成制备人源化抗体或其tau结合片段/部 分。在一个实施方案中,重组制备嵌合抗体或其tau结合片段/部分。在另一 实施方案中,至少部分通过化学合成制备嵌合抗体或其tau结合片段/部分。

[0665] 表6概述了本文所述的一些其他人源化相关分子的序列。

分子	氨基酸SEQ ID NO.	核酸SEQ ID NO.
Y15982 Igkv8-21*01	60	72
L17135 Igkv8-28*02	61	73
Y15980 IGKV8-19*01	62	74
AJ235948 IGKV8-30*01	63	75
AJ235947 IGKV8-28*01	64	76
X72449	65	77
AC160990 Musmus IGHV1-81*01	66	78
AC160473 Musmus IGHV1-77*01	67	79
AC160990 Musmus IGHV1-83*01	68	80
AC160473 Musmus IGHV1-75*01	69	81
X02064 Musmus IGHV1-54*02	70	82
M65092	71	83

[0666] 表6

[0668] 涵盖本文所述的抗体的氨基酸序列修饰。例如，希望提高抗体的结合亲和力和/或其他生物学性质。抗体的氨基酸序列变体通过将适当的核苷酸改变引入到抗体核酸中，或通过肽合成进行制备。此类修饰包括例如，抗体的氨基酸序列内残基的缺失，和/或插入和/或取代。进行缺失、插入和取代的任何组合以实现最终的构建体，只要最终的构建体拥有期望的特征。氨基酸改变还可以改变抗体的翻译后过程，如改变糖基化位点的数量或位置。

[0669] 本公开内容还包含的是抗体和结合片段，其序列已经通过以下被改变，其中通过将至少一个，特别是至少两个，更特别是至少3或更多个保守取代分别引入到SEQ ID NO: 13-25和SEQ ID NO: 26和27的序列中，以便所述抗体基本上维持其全部功能。

[0670] 可以选择来自人成熟可变区框架残基的某些氨基酸用于取代，这基于其对CDR构象和/或结合抗原，介导重链和轻链之间的相互作用，与恒定区的相互作用，成为用于期望的或非期望的翻译后修饰的位点，成为人可变区序列中其位置上不常见的残基并因而可能具有免疫原性的可能影响等等原因。本领域一名普通技术人员将知道怎样挑取某些氨基酸用于取代，然后评估该取代的结果。在许多实施方案中，根据经验选择用于在框架内取代的位置和待取代的氨基酸。

[0671] 还可以在CDR中进行氨基酸取代。一种可能的变异是利用来自人CDR序列的相应残基，通常是来自用于设计示例性人源化抗体的人受体序列的CDR的相应残基取代小鼠

DC8E8抗体的CDR中的某些残基。在一些抗体中,仅部分CDR,即结合所需的CDR残基的亚组(称为SDR)需要在人源化抗体中保留结合。可以基于先前的研究,从位于Chothia高变环外的Kabat CDR区(Chothia, J.Mol.Biol.196:901,1987),通过分子建模和/或根据经验,或如Gonzales等, Mol.Immunol.41:863 (2004)中所述鉴定不接触抗原并且不在SDR中的CDR残基(例如CDR H2中的残基H60-H65经常是不需要的)。在此类人源化抗体中,在其中一个或多个供体CDR残基缺失或其中完整供体CDR省略的位置上,占据所述位置的氨基酸可以是占据受体抗体序列中相应位置(通过Kabat编号)的氨基酸。CDR中包括的该受体对供体氨基酸的取代数量反映了竞争考虑的平衡。此类取代在减少人源化抗体中小鼠氨基酸的数量并因此降低可能的免疫原性中可能有利。然而,取代还可以引起亲和力改变,并且优选避免亲和力的明显降低。还可以根据经验选择待取代的用于在CDR和氨基酸内取代的位置。

[0672] 在一个实施方案中,抗体及其tau结合片段包含重链可变区,其分别包含 SEQ ID NO 1、2和3的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,并且与SEQ ID NO.28-40(完整RHA-RHM)的成熟重链具有至少90%同一性;和轻链可变区,其分别包含SEQ ID NO.4、5和6的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,并且与SEQ ID NO.57(RKA)或SEQ ID NO.58(RKB)的成熟轻链具有至少90%同一性。在一些实施方案中,成熟重链可变区与SEQ ID NO.28-40的任何一项具有至少95%、96%、97%、98%或99%同一性。在一些实施方案中,成熟轻链可变区与SEQ ID NO.57或SEQ ID NO.58的任何一项具有至少95%、96%、97%、98%或99%同一性。

[0673] 用于鉴定抗体的某些残基或区域(其为用于诱变的优选位置)的有用方法称为“丙氨酸扫描诱变”,其如Cunningham和Wells Science,244:1081-1085(1989)所述。此处,鉴定残基或目标残基组(例如,带电荷的残基,如arg、asp、his、lys和glu)并通过中性或带负电氨基酸(最优选丙氨酸或聚丙氨酸)替换以影响氨基酸与抗原的相互作用。然后通过取代位点上或为取代位点引入进一步或其他变体精制对取代展示功能敏感性的那些氨基酸位置。因此,尽管用于引入氨基酸序列变异的位点是预定的,但是突变性质本身不需要预定。例如,为了分析给定位点上的突变表现,在目标密码子或区域上进行丙氨酸扫描或随机诱变并且筛选所表达的抗体变体的期望活性。

[0674] 氨基酸序列插入包括长度在一个残基至含有数百个或更多个残基的多肽范围内的氨基和/或羧基末端融合,以及单个或多个氨基酸残基的序列间插入。末端插入的实例包括具有N-末端甲硫氨酰残基的抗体或融合另一治疗剂的抗体。抗体分子的其他插入变体包括融合抗体的N-或C-末端至酶(例如,对于ADEPT)或增加抗体的血清半衰期的多肽。

[0675] 另一种类型的变体是氨基酸取代变体。这些变体在抗体分子中至少一个氨基酸残基被不同残基替换。在一个实施方案中,最感兴趣用于取代诱变的位点包括高变区,但也涵盖FR改变。在上文以及下文表中显示了保守取代。可以引入在氨基酸种类中命名的更多实质改变并筛选产物。

[0676] 通过选择在其对维持以下方面的影响中显著不同的取代实现抗体生物学性质的实质修饰:(a)取代区中多肽骨架的结构,例如作为折叠或螺旋构象,(b)目标位点上分子的电荷或疏水性,或(c)侧链体积。可以根据其侧链性质的相似性分组氨基酸(A.L.Lehninger,Biochemistry,第2版,第73-75页,Worth Publishers,New York(1975)):

[0677] (1)非极性:Ala(A)、Val(V)、Leu(L)、Ile(I)、Pro(P)、Phe(F)、Trp(W)、Met(M)

[0678] (2) 不带电荷的极性:Gly (G)、Ser (S)、Thr (T)、Cys (C)、Tyr (Y)、Asn (N)、Gln (Q)

[0679] (3) 酸性:Asp (D)、Glu (E)

[0680] (4) 碱性:Lys (K)、Arg (R)、His (H)

[0681] 或者,可以基于其他常见的侧链性质将天然发生的残基分组:

[0682] (1) 疏水的:原亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile

[0683] (2) 中性亲水的:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

[0684] (3) 酸性:Asp、Glu;

[0685] (4) 碱性:His、Lys、Arg;

[0686] (5) 影响链定向的残基:Gly、Pro;

[0687] (6) 芳香族:Trp、Tyr、Phe。

[0688] 非保守性取代通常使得将这些种类之一的成员交换成另一种类的成员成为必需。

[0689] 一般也可以利用丝氨酸取代不参与维持抗体的正确构象的任何半胱氨酸残基以提高分子的抗氧化稳定性并防止异常交联。相反,可以向抗体添加半胱氨酸键以提高其稳定性(特别是其中抗体是抗体片段,如Fv片段时)。

[0690] 特别优选的取代变体类型包括取代亲本抗体(例如人源化或人抗体)的一个或多个高变区残基。一般地,为进一步开发所选的所得变体相对于产生其的亲本抗体将具有改善的生物学性质。用于产生此类取代变体的常规方式包括使用噬菌体展示的亲和力成熟。简言之,将若干高变区位点(例如6-7个位点)突变以在各位点上产生所有可能的氨基取代。因此产生的抗体变体展示为从丝状噬菌体颗粒作为与各颗粒内M13包装的基因III产物的融合的单价形式。然后筛选噬菌体展示的变体其如本文公开的生物学活性(例如,结合亲和力)。为了鉴定用于修饰的候选高变区位点,可以进行丙氨酸扫描诱变以鉴定主要促进抗原结合的高变区残基。或者,或此外,其可能有益于分析抗原-抗体复合体的晶体结构以鉴定抗体与人tau之间的接触点。此类接触残基和邻近残基是用于根据本文详细说明书的技术进行取代的候选物。一旦产生了此类变体,使一组变体如本文所述经受筛选并可以选择在一个或多个相关测定中具有优良性质的抗体用于进一步开发。

[0691] 另一种类型的抗体的氨基酸变体改变抗体的初始糖基化模式。通过改变表示缺失在抗体中发现的一个或多个碳水化合物部分,和/或添加抗体中不存在的一个或多个糖基化位点。

[0692] 抗体的糖基化通常为N-连接的或O-连接的。N-连接的指碳水化合物部分与天冬酰胺残基的侧链的连接。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸,其中X为除脯氨酸之外的任何氨基酸,是碳水化合物部分与天冬酰胺侧链的酶连接的识别序列。因此,这些三肽序列的任一种在多肽中存在产生潜在的糖基化位点。O-连接的糖基化指糖N-乙酰半乳糖胺、半乳糖或木糖之一连接到羟基氨基酸,最常见的是丝氨酸或苏氨酸上,尽管也可以使用5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸。

[0693] 通过改变氨基酸序列便利地完成向抗体添加糖基化位点以便其含有一个或多个上述三肽序列(对于N-连接的糖基化位点)。也可以通过向初始抗体的序列中添加一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基或通过一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基取代进行改变(对于O-连接的糖基化位点)。

[0694] 其中抗体包含Fc区时,可以改变附着其上的碳水化合物。例如,在US Pat Appl No US 2003/0157108 A1, Presta, L. 也参见US 2004/0693621 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd) 中描述了具有成熟碳水化合物结构的抗体,其缺少附着到抗体的Fc区上的海藻糖。在W003/011878, Jean-Mairet等和美国专利号 6,602,684, Umana等中参考了下述抗体,其碳水化合物中二等分N-乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc) 附着到抗体的Fc区上。在W097/30087, Patel等也参见关于改变的碳水化合物附着到其Fc区的抗体的W098/58964 (Raju, S.) 和W099/22764 (Raju, S.) 中报道了下述抗体,其寡糖中至少一个半乳糖残基附着到抗体的Fc区上。

[0695] 期望修饰本公开内容的抗体或tau结合片段的半衰期。在一个实施方案中,将一个或多个Fc氨基酸突变以增加血液中抗体的半衰期,或其中已经缺失了Fc的一个或多个糖部分,或添加一个或多个糖部分以增加抗体的血液半衰期。常见的血浆蛋白,如人血清白蛋白 (HSA) 和免疫球蛋白 (Igs), 包括人源化抗体显示长的半衰期,通常是2-3周,这可归因于其与新生Fc受体 (FcRn) 的特异性相互作用,其导致内含体再循环 (Ghetie (2002) Immunol Res, 25:97-113)。相反,大多数其他药学上感兴趣的蛋白,特别是重组抗体片段、激素和干扰素经受快速的(血液)清除。这对大小低于约70kDa肾过滤阈值的蛋白质尤其正确 (Caliceti (2003) Adv Drug Deliv Rev 55:1261-1277)。在这些情况下,未修饰的药物蛋白的血浆半衰期大大低于1小时。这可以限制其在大多数治疗应用中的使用。为了实现持久的药理作用,还有提高的患者适应--所需的剂量间隔延长至若干天或甚至若干周--本领域中已经建立并描述了若干策略用于生物药学药物开发。

[0696] 在其他实施方案中,可以通过聚乙二醇化或其他缀合至其他聚集物上修饰抗体或其tau结合片段以影响半衰期或循环时间。聚合物可以是任何分子量,并且可以是分支的或未分支的。对于聚乙二醇,优选分子量在约1kDa-约100kDa之间(术语“约”表示在聚乙二醇的制备中,一些分子将比所述分子量称重更多,一些更少)以便于操作和制备。可以使用其他大小,这取决于期望的治疗谱(例如,期望的持续释放的持续时间、(如果有的话)对生物活性的影响、操作的便利、抗原性的程度或缺少和聚乙二醇对治疗蛋白或类似物的其他已知影响)。例如,聚乙二醇可以具有约200、500、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、8500、9000、9500、10,000、10,500、11,000、11,500、12,000、12,500、13,000、13,500、14,000、14,500、15,000、15,500、16,000、16,500、17,000、17,500、18,000、18,500、19,000、19,500、20,000、25,000、30,000、35,000、40,000、50,000、55,000、60,000、65,000、70,000、75,000、80,000、85,000、90,000、95,000或100,000Da的平均分子量。例如在美国专利号5,643,575; Morpurgo等, Appl. Biochem. Biotechnol. 56:59-72 (1996); Vorobjev等, Nucleosides Nucleotides 18:2745-2750 (1999); 和Caliceti等, Bioconjug. Chem. 10:638-646 (1999) 中描述了分支的聚乙二醇。聚乙二醇可以通过与许多氨基酸残基的任何残基的连接附着到蛋白质上。例如,聚乙二醇可以通过与赖氨酸、组氨酸、天冬氨酸、谷氨酸或半胱氨酸残基的共价键连接多肽。一种或多种反应化学可以用于将聚乙二醇附着到特异性氨基酸残基(例如,赖氨酸、组氨酸、天冬氨酸、谷氨酸或半胱氨酸)上或多种类型的氨基酸残基(例如,赖氨酸、组氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、半胱氨酸及其组合)上。

[0697] 或者,抗体或其片段可以经过与白蛋白(包括但不限于重组人血清白蛋白或其片

段或变体(参见例如,美国专利号5,876,969,1999年3月2日发行,EP Patent 0 413 622,和美国专利号5,766,883,1998年6月16日发行,以其整体通过参考并入本文)或其他循环血液蛋白质如转铁蛋白或铁蛋白融合而具有增加的体内半衰期。在一个实施方案中,本发明的多肽和/或抗体(包括其片段或变体)与人血清白蛋白的成熟形式融合(即,EP专利0 322 094的图1和2中显示的人血清白蛋白的氨基酸1-585),以其整体通过参考并入本文。本发明也涵盖本公开内容的编码融合蛋白的多核苷酸。

[0698] 也可以化学修饰抗体或其tau结合片段以提供额外的优势,如多肽增加的 可溶性、稳定性和循环时间(体内半衰期)或降低的免疫原性(参见例如,美国 专利号4,179,337)。可以从水溶性聚合物如聚乙二醇、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇等选择用于衍生的化学部分。可以在分子 内的随机位置,或在分子内的预定位置修饰抗体及其tau结合片段并且其可以 包括一个、两个、三个或多个附着的化学部分。

[0699] 期望修饰本公开内容的抗体或tau结合片段其效应功能,例如以增强抗体 的抗原依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)。这可以通过在抗体的Fc区中引入一个或多个氨基酸取代来实现。或 者或额外地,可在Fc区引入半胱氨酸残基,由此允许在该区域中形成链间二 硫键。因此生成的同二聚抗体可以具有提高的内化能力和/或增加的补体介导 的细胞杀伤和抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。参见Caron等,J.Exp Med.176:1191-1195(1992)和Shopes,B.J.Immunol.148:2918-2922(1992)。或 者,可改造抗体,其具有二元Fc区并由此具有增强的补体裂解和ADCC能力。参见Stevenson等Anti-Cancer Drug Design 3:219-230(1989)。

[0700] W000/42072(Presta,L.)描述了在存在人效应细胞的情况下具有改善的 ADCC功能的抗体,其中所述抗体在其Fc区中包含氨基酸取代。优选地,具 有改善的ADCC的抗体在Fc区的位置298、333和/或334处包含取代。优选地,改变的Fc区是人IgG1Fc区,其包含这些位置上的一个、两个或三个位置处 的取代或由其组成。

[0701] 具有改变的C1q结合和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)的抗体描述于 W099/51642、美国专利号6,194,551B1、美国专利号6,242,195B1、美国专利 号6,528,624B1和美国专利号6,538,124(Idusogie等)中。抗体在其Fc区的氨基 酸位置270、322、326、327、329、313、333和/或334的一个或多个上包含氨 基酸取代。为了增加抗体的血清半衰期,可以将补救受体结合表位掺入到如 美国专利号5,739,277中描述的抗体(尤其是抗体片段)中。如本文 所用,术语“补救受体结合表位”指负责增加IgG分子的体内血清半衰期的IgG分子(例 如,IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)的Fc区的表位。

[0702] 在W000/42072(Presta,L.)中描述了具有与新生Fc受体(FcRn)提高结合 和增加的半衰期的抗体。这些抗体包含其中具有一个或多个取代的Fc区,其 提高Fc区与FcRn的结合。例如,Fc区可以在位置238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434的一个或多个处具有取代。优选的具有提高的 FcRn结合 的包含Fc区的抗体变体在其Fc区的位置307、380和434的一个、两个或三个 处包含氨基酸取代。

[0703] 在一个实施方案中,人源化抗体或其tau结合片段/部分是单克隆的。本 文所述的单克隆抗体(mAbs)是获自基本上同质性抗体的群的抗体,即包含群 的各个抗体除了可能的可以以少量存在的天然发生突变外均是相同的。单克 隆抗体是高度特异的,其针对单个

抗原位点。每个mAb针对抗原上的单个决定簇(表位)。除了其特异性,单克隆抗体是有利的,因为它们可以通过杂交瘤培养合成,不被其他免疫球蛋白污染。修饰语“单克隆”表示抗体自基本上同质的抗体群体获得的特性,而不应解释为要求通过任何特定方法来产生抗体。例如,可以在永生B细胞或其杂交瘤中制备,或可以通过重组DNA方法制备待根据本发明使用的单克隆抗体。在其他情况中,从单细胞克隆,如编码抗体或其tau结合片段或部分的DNA分子转染的真核宿主细胞的生长制备单克隆抗体。还可以将编码本公开内容的抗体和片段的核酸递送至宿主受试者中用于通过宿主受试者的细胞表达抗体和片段。在1998年10月15日发表的PCT申请号W098/44955中描述了用于将多核苷酸递送至宿主受试者的中枢神经系统中并在其中表达抗senilin抗体的策略的实例。可以修饰任何核酸以增加体内稳定性。可能的修饰包括但不限于在5'和/或3'端添加侧翼序列;在骨架中使用硫代磷酸酯或2'-O-甲基而非磷酸二酯酶键;和/或包括非传统碱基如肌苷、Q核苷(queuosine)和怀丁苷,以及乙酰基-甲基、硫代-或其他修饰形式的腺嘌呤、胞苷、鸟嘌呤、胸腺嘧啶和尿苷。

[0704] 一方面,如本文所述的抗体或tau结合片段对病理性tau能够比对生理性tau展示更高的亲和力。

[0705] 另一方面,如本文所述的抗体或tau结合片段能够抑制tau-tau聚集。

[0706] 另一方面,如本文所述的抗体或tau结合片段能够介导通过小胶质细胞吸收和降解病理性tau蛋白。

[0707] 一方面,如本文所述的抗体或tau结合片段对病理性tau能够比对生理性tau展示更高的亲和力并抑制tau-tau聚集。

[0708] 一方面,如本文所述的抗体或tau结合片段对病理性tau能够比对生理性tau展示更高的亲和力、抑制tau-tau聚集,并介导通过小胶质细胞吸收和降解病理性tau蛋白。

[0709] 下文表7、8和9概述了CDR和可变区的核酸序列和一些本文所述抗体的完整链。

核酸	SEQ ID NO.	可变区	SEQ ID NO.
CDR-H1	84	重链DC8E8	90
CDR-H2	85	轻链DC8E8	91
CDR-H3	86	重链嵌合	92
[0710] CDR-L1	87	轻链嵌合	93
CDR-L2	88	优化的重链DC8E8	94(与92相同)
CDR-L3	89	优化的轻链DCBE8	95(与93相同)

[0711] 表7

[0712]

仅人源化可变重 链区	SEQ ID NO.	仅人源化可变轻 链区	SEQ ID NO.
RHA	96	RKA	109
RHB	97	RKB	110
RHC	98		
RHD	99		
RHE	100		
RHF	101		
RHG	102		
RHH	103		
RHI	104		
RHJ	105		
RHK	106		
RHL	107		
RHM	108		

[0713] 表8

[0714]

完整的可变重链 恒定IgG1	SEQ ID NO.	完整的可变重链 恒定IgG4	SEQ ID NO.
RHA	111	RHA	127
RHB	112	RHB	128
RHC	113	RHC	129
RHD	114	RHD	130
RHE	115	RHE	131
RHF	116	RHF	132
RHG	117	RHG	133
RHH	118	RHH	134
RHI	119	RHI	135
RHJ	120	RHJ	136
RHK	121	RHK	137
RHL	122	RHL	138
RHM	123	RHM	139
cDC8E8	124	cDC8E8	140
小鼠DC8E8	125		
密码子优化的小鼠DC8E8	126 (与124相同)		

[0715] 表9

[0716] 在不同组的实施方案中,本发明提供编码本文所述的抗体或其部分的核酸。已经使用GeneScript's专有技术密码子优化了编码重链可变区DC8E8 VH、RHA、RHB、RHC、RHD、RHE、RHF、RHG、RHH、RHI、RHJ、RHK、RHL和RHM和轻链可变区DC8E8 VK、RKA和RKB的核酸。在本申请的上下文中,密码子优化是以下述方式修饰核苷酸序列的过程,所述方式提高其在真核细胞中的表达、G/C含量、RNA二级结构,和翻译,却不改变其编码的氨基酸序列。

[0717] 在一个实施方案中,本发明提供编码如本文所述的人源化抗体重链可变区的核酸(DNA或RNA)。在一实施方案中,核酸包含编码重链可变区RHA、RHB、RHC、RHD、RHE、RHF、RHG、RHH、RHI、RHJ、RHK、RHL和RHM任何一个的DNA。在下表中呈现了这些核酸。展示至少80%、至少85%、至少90%、至少95%,和至少98%百分比同一性的核酸也在该实施方案的范围内。

[0718] 下文表10概述了对应于本文所述的人源化抗体的轻链的多条全长序列的多条核酸序列。

[0719]

完整的人源化可变轻链恒定K	SEQ ID NO.
RKA	141
RKB	142

cDC8E8κ	143
---------	-----

[0720] 表10

[0721] 在另一实施方案中,本发明提供编码如本文所述的人源化抗体轻链可变区的核酸(DNA或RNA)。在一个实施方案中,核酸包含编码轻链可变区RKA和RKB的任何一个的DNA。在上文中呈现了这些核酸。展示至少80%、至少85%、至少90%、至少95%,和至少98%百分比同一性的核酸也在该实施方案的范围内。

[0722] 本领域普通技术人员将理解作为遗传密码简并性的结果,存在许多编码如本文所述的抗体或其tau结合片段的核苷酸序列。这些核酸中的一些携带与本文所述的任何“野生型”抗体或其tau结合片段的核苷酸序列的最小同源性。尽管如此,由于密码子选择中的差异而不同的核酸由本发明具体考虑。

[0723] 在一个实施方案中,本发明提供编码如本文所述的人源化抗体重链可变区的核酸(DNA或RNA)。在一实施方案中,核酸包含编码重链可变区RHA、RHB、RHC、RHD、RHE、RHF、RHG、RHH、RHI、RHJ、RHK、RHL和RHM任何一个的DNA,其连接人IgG1恒定区。展示至少80%、至少85%、至少90%、至少95%,和至少98%百分比同一性的核酸也在该实施方案的范围内。

[0724] 在一个实施方案中,本发明提供编码如本文所述的人源化抗体重链可变区的核酸(DNA或RNA)。在一实施方案中,核酸包含编码重链可变区RHA、RHB、RHC、RHD、RHE、RHF、RHG、RHH、RHI、RHJ、RHK、RHL和RHM任何一个的DNA,其连接人IgG4恒定区。展示至少80%、至少85%、至少90%、至少95%,和至少98%百分比同一性的核酸也在该实施方案的范围内。

[0725] 在另一实施方案中,本发明提供编码如本文所述的人源化抗体轻链可变区的核酸(DNA或RNA)。在一个实施方案中,核酸包含编码轻链可变区RKA和RKB的任何一个的DNA,其连接人κ区。展示至少80%、至少85%、至少90%、至少95%,和至少98%百分比同一性的核酸也在该实施方案的范围内。

[0726] 在另一实施方案中,本发明提供以密码子优化方式编码各DC8E8's CDR的核酸(DNA或RNA)。

[0727] 与优选序列最佳比对后展示至少80%,例如85%、90%、95%和98%的百分比同一性的核酸序列表示核酸序列对于参考核酸序列展示某些修饰,如,特别是,缺失、截短、延伸、嵌合融合和/或取代,特别精确。在一些实施方案中,这些是下述序列,其编码与参考序列相同的氨基酸序列,这与遗传密码的简并性相关,或是互补序列,其可能与参考序列例如在高度严格条件下,特别是下文定义的那些条件下特异性杂交。

[0728] 高度严格条件下杂交表示以它们允许在两条互补DNA片段之间维持杂交的这种方式选择与温度和离子强度相关的条件。在纯粹说明性基础上,上文所述的为定义多核苷酸片段的目的的杂交步骤的高度严格条件是有利的,如下。

[0729] 以两个步骤进行DNA-DNA或DNA-RNA杂交:(1)在含有5X SSC(1X SSC对应于0.15M NaCl+0.015M柠檬酸钠的溶液)、50%甲酰胺、7%十二烷基硫酸钠(SDS)、10X Denhardt's、5%硫酸葡聚糖和1%鲑精DNA的磷酸盐缓冲液(20mM,pH 7.5)中在42°C下预杂交3小时;(2)根据探针的长度在一定温度下初步杂交20小时(即:对于长度>100个核苷酸的探针,在42°C),随后在2X SSC+2%SDS中在20°C下清洗2次20分钟,在0.1X SSC+0.1%SDS中在20

℃下清洗1次20分钟。对于长度>100个核苷酸的探针,在60℃下在0.1X SSC+0.1%SDS中进行最后的清洗30分钟。可以根据Sambrook,等 (Molecular cloning:a laboratory manual,Cold Spring Harbor Laboratory;第3版, 2001)中所述的方法,由本领域技术人员为上述确定大小的多核苷酸,较长的或较短的寡核苷酸调整高度严格杂交条件。

[0730] 表达系统

[0731] 可以合成制备或通过本领域普通技术人员已知的任何多个表达系统制备抗体及其tau结合片段。为此目的,还提供的是下述实施方案,其涵盖克隆载体、表达载体、宿主细胞,和被转染、转化或其他遗传或重组修饰以含有一个或多个上述核酸序列的转基因动物(除了人)。在一个实施方案中,宿主细胞是真核的。在另一实施方案中,宿主细胞是原核的。在另一实施方案中,宿主细胞表达一个或多个抗体及其tau结合片段。可以培养所选细胞并且如果需要,使用常规技术从培养物中分离目的基因的蛋白产物。在一些实施方案中,表达系统已经适合于以最佳水平表达抗体或其tau结合片段。在一些实施方案中,通过基于合同的抗体表达公司(例如,Lonza)表达抗体及其tau结合片段,所述公司使用专有技术来表达抗体及其tau结合片段作为服务。在另一实施方案中,在无细胞系统中表达抗体及其tau结合片段。

[0732] 常规使用的抗体表达系统的实例包括重组杆状病毒、慢病毒、原生动物(例如,真核寄生虫利什曼原虫(*Leishmania tarentolae*))、微生物表达系统,包括基于酵母(例如毕赤酵母(*Pichia pastoris*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、酵母(*lipolytica*)、多形汉逊酵母(*Hansenula polymorpha*)、曲霉(*Aspergillus*)和木霉真菌)和基于细菌(例如,大肠杆菌(*E.coli*)、液化荧光杆菌(*Pseudomonas fluorescens*)、乳酸菌(*Lactobacillus*)、乳球菌(*Lactococcus*)、巨大芽胞杆菌(*Bacillus megaterium*)、枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)、短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*)、谷氨酸棒状杆菌(*Corynebacterium glutamicum*))、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、CHOK1SVNS0(Lonza)、BHK(幼仓鼠肾),PerC.6or Per.C6(例如,Percivia,Crucell)、HEK 293的不同系、Expi293F™细胞(Life Technologies)、GenScript's YeastHIGH™ Technology(GenScript)、人神经前体细胞系 AGE1.HN(Probiogen)、植物(例如,玉米、苜蓿和烟草)、昆虫细胞、鸟蛋、藻类,和转基因动物(例如,小鼠、山羊、绵羊、猪、牛)的表达系统。

[0733] 这些不同系统表达的抗体的糖基化模式根据表达系统显著不同。例如,CHO细胞的糖基化机器与人糖基化机器多少有些相似,也有一些不同。除了宿主细胞的选择外,在抗体的重组产生过程中影响糖基化的因素包括生长模式、培养基配制、培养密度、氧合作用、pH、纯化方案等。已经提出多种方法改变特定宿主生物中实现的糖基化模式,包括在寡糖产生中涉及的引入或过表达某些酶(美国专利号5,047,335;5,510,261和5,278,299)。例如使用内切糖苷酶(Endo H)从糖蛋白酶促去除糖基化或某些类型的糖基化。此外,可以遗传改造重组宿主细胞以在加工某些类型的多糖中是缺陷的。这些及类似技术为本领域所熟知并且可以用于改变本文所述的抗体及其tau结合片段。

[0734] 已经在文献中综述了这些不同系统的优势和劣势并且为本领域技术人员所知。已经在以下文献中描述了这些中的一些,其全部以其整体通过参考并入本文:Chadd等 Therapeutic antibody expression technology.Curr Opin Biotechnol.2001 Apr;12(2):188-94;Ma等 Human antibody expression in transgenic rats:comparison of

chimeric IgH loci with human VH,D and JH but bearing different rat C-gene regions. *J Immunol Methods*.2013 Dec 31; 400-401:78-86; Zhang等 Monoclonal antibody expression in mammalian cells. *Methods Mol Biol*.2012;907:341-58.

[0735] 药物组合物和制剂

[0736] 本文提供的是包含如本文所述的人源化抗体或其tau结合片段,和另一组分,如载体的组合物。本文还提供的是包含如本文所述的人源化抗体或其tau结合片段,和赋形剂和/或药物载体的药物组合物/治疗制剂。在一个实施方案中,载体不是天然存在的化合物。在一个实施方案中,赋形剂不是天然存在的化合物。在另一实施方案中,稀释剂不是天然存在的化合物。在另一实施方案中,包含如本文所述的人源化抗体或其tau结合片段的制剂不含有天然存在的化合物,任选地除了水以外。

[0737] 在一个实施方案中,通过将具有期望的纯度程度的抗体或其tau结合片段与任选的药学上可接受的载体、稀释剂、赋形剂或稳定剂混合来制备根据本发明使用的抗体的治疗制剂(其为低压冻干制剂或水溶液的形式)用于储存和/或施用(Remington's *Pharmaceutical Sciences*第16版,Osol, A.编辑(1980))。在一个实施方案中,可接受的载体、赋形剂或稳定剂在所使用的剂量和浓度上对受试者是无毒的,并且包括缓冲液如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六甲双铵;氯化苯甲炔铵、苜索氯铵;苯酚、丁醇或苯甲醇;烷基对羟苯甲酸酯如甲基或丙基对羟苯甲酸酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇和m-甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶、或免疫球蛋白;亲水聚合物如聚乙烯吡咯酮;氨基酸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖,和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖,或糊精;螯合剂如EDTA;糖如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;形成盐的平衡离子如钠;金属复合物(例如Zn-蛋白质金属复合物);和/或非离子型表面活性剂如TWEEN、PLURONICS或聚乙二醇(PEG)。低压冻干的抗体制剂的实例描述于WO 97/04801中,通过参考明确并入本文。

[0738] 在其他实施方案中,制剂还包含表面活性剂。在其他实施方案中,制剂还包含表面活性剂。所述表面活性剂例如可以选自去污剂、乙氧基化蓖麻油、聚糖基化(polyglycolyzed)甘油酯、乙酰单酸甘油乙酯、山梨糖醇酐脂肪酸酯、聚氧丙烯-聚氧乙烯封闭聚合物(例如,聚羟体如Pluronic.RTM.F68、聚羟亚烃188和407、Triton X-100)、聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯、聚氧乙烯和聚乙烯衍生物如烷基化和烷氧基化衍生物(tweens,例如Tween-20、Tween-40、Tween-80和Brij-35)、甘油一酯或其乙氧基化衍生物、甘油二酯或其聚氧乙烯衍生物、醇、甘油、凝集素和磷脂(例如磷脂酰丝氨酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、双磷脂酰甘油和鞘磷脂)、磷脂的衍生物(例如二棕榈酰磷脂酸)和溶血磷脂的衍生物(例如,棕榈酰溶血磷脂-L-丝氨酸和乙醇胺、胆碱、丝氨酸或苏氨酸的1-酰基-sn-甘油-3-磷酸酯)和烷基、烷氧基(烷基酯)、烷氧基(烷基酯)-溶血磷脂胆碱和磷脂酰胆碱的衍生物,例如溶血磷脂胆碱、二棕榈酰磷脂酰胆碱的月桂酰和肉豆蔻酰衍生物,和极性头部基团的修饰,其为胆碱、乙醇胺、磷脂酸、丝氨酸、苏氨酸、甘油、肌醇,和带正电的DODAC、DOTMA、DCP、BISHOP,溶血磷脂丝氨酸和溶血磷脂苏氨酸,和甘油磷脂(例如脑磷脂)、甘油糖脂(例如吡喃型半乳糖苷)、鞘糖脂(例如神经酰胺、神经节苷脂)、十二烷基磷酸胆碱、鸡蛋溶血卵磷脂、梭链孢酸衍生物--(例如牛磺二氢梭链孢酸钠等)、

长链脂肪酸及其C6-C12盐（例如油酸和辛酸）、酰基肉毒碱类及衍生物、赖氨酸、精氨酸或组氨酸的Na⁻酰化衍生物、或赖氨酸或精氨酸的侧链酰化衍生物、包括赖氨酸、精氨酸或组氨酸与中性或酸性氨基酸的任何组合的二肽的Na⁻酰化衍生物、包括一个中性氨基酸与两个带电氨基酸的任何组合的三肽的Na⁻酰化衍生物、DSS（多库酯钠，CAS登记号[577-11-7]）、多库酯钙，CAS登记号[128-49-4]）、多库酯钾，CAS登记号[7491-09-0]）、SDS（十二烷基硫酸钠或月桂基硫酸钠）、辛酸钠、胆酸或其衍生物、胆汁酸及其盐和甘氨酸或牛磺酸缀合物、熊脱氧胆酸、胆酸钠、脱氧胆酸钠、牛磺胆酸钠、甘氨酸胆酸钠、N-十六烷基-N,N-二甲基-3-铵基-1-丙磺酸盐、阴离子（烷基-芳基-磺酸盐类）一价表面活性剂、两性离子表面活性剂（例如N-烷基-N,N-二甲基铵基-1-丙磺酸盐、3-氯酰氨基-1-丙基二甲基铵基-1-丙磺酸盐、阳离子表面活性剂（季铵碱）（例如溴化十六烷基三甲铵、氯化十六烷基吡啶）、非离子型表面活性剂（例如十二烷基β-D-吡喃葡萄糖苷）、泊洛沙姆（poloxamine）（例如Tetronic's），其为衍生自依次将环氧丙烷和环氧乙烷加成至乙二胺的四官能嵌段共聚物，或所述表面活性剂可选自咪唑啉衍生物或其混合物。在一个实施方案中，表面活性剂不是天然存在的化合物。这些特异性表面活性剂的每一个组成了本公开内容的可选实施方案。

[0739] 一个实施方案提供抗体和/或其tau结合片段的稳定制剂，其优选包含具有盐或所选盐的磷酸盐缓冲液，以及防腐缓冲液和含有防腐剂的制剂，以及适合药学或兽医用途的多用途防腐制剂，其药学上可接受的制剂中的抗体和/或其tau结合片段。在一个实施方案中，防腐制剂含有至少一种已知的防腐剂，或任选地选自至少一种苯酚、m-甲酚、p-甲酚、o-甲酚、氯甲酚、苯甲醇、硝酸苯基汞、苯氧乙醇、甲醛、三氯叔丁醇、氯化镁（例如，六水合物）、烷基尼泊金酯（甲基、乙基、丙基、丁基等）、氯化苄甲炔铵、氯化苄乙氧铵、甲醋吡喃酮钠和硫柳汞，或其在水稀释剂中的混合物。可以使用本领域已知的任何合适的浓度或混合物，如0.001-5%，或其中的任何范围或值，如，但不限于0.001、0.003、0.005、0.009、0.01、0.02、0.03、0.05、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.3、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9，或其中的任何范围或值。非限制性实例包括，无防腐剂，0.1-2% m-甲酚（例如，0.2、0.3、0.4、0.5、0.9、1.0%）、0.1-3% 苯甲醇（例如，0.5、0.9、1.1、1.5、1.9、2.0、2.5%）、0.001-0.5% 硫柳汞（例如，0.005、0.01）、0.001-2.0% 苯酚（例如，0.05、0.25、0.28、0.5、0.9、1.0%）、0.0005-1.0% 烷基尼泊金酯（例如，0.00075、0.0009、0.001、0.002、0.005、0.0075、0.009、0.01、0.02、0.05、0.075、0.09、0.1、0.2、0.3、0.5、0.75、0.9、1.0%）等。在一个实施方案中，防腐剂或多种防腐剂不是天然存在的化合物。

[0740] 在一个实施方案中，本公开内容的抗体及其tau结合片段可以掺入到适合向受试者施用的药物组合物。在一个常规实施方案中，所述药物组合物包含本发明的抗体或其tau结合片段和药学上可接受的载体。在一个实施方案中，“药学上可接受的载体”包括任何和所有的溶剂、分散介质、涂料、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等，其是生理学上相容的。药学上可接受的载体的额外实例包括水、盐水、磷酸缓冲盐溶液、葡萄糖、甘油、乙醇等的一种或多种，以及其组合。在许多情况下，将优选在组合物中包括等渗剂，例如蔗糖、多元醇诸如甘露醇、山梨醇、或氯化钠。药学上可接受的载体可以进一步包含较

少量的辅助物质如湿润剂或乳化剂、防腐剂或缓冲剂,其提高抗体或其tau结合片段的储存期或有效性。

[0741] 在一个实施方案中,适当量的药学上可接受的盐用于制剂中以致使制剂等渗。载体的实例包括盐水、Ringer's溶液和葡萄糖溶液。在一个实施方案中,溶液的pH可以是约5-约8。在另一实施方案中,pH是约7-约7.5。其他载体包括含有抗体或其tau结合片段的持续释放制剂,如固体疏水聚合物的半透性基质,所述基质呈成形制品例如薄膜、脂质体或微粒的形式。如本文所用的持续释放的基质是由下述物质,一般是可通过酶促或酸/碱水解或通过分解可降解的聚合物制成的基质。一旦插入到体内,基质通过酶和体液起作用。期望通过生物相容的物质,如脂质体、多乳酸化合物(多乳酸)、聚乙醇酸交酯(羟乙酸的聚合物)、多乳酸化合物共乙交酯(乳酸和羟乙酸的共聚物)、聚酞、聚(正)酯、多肽、玻璃酸酶、胶原、硫酸软骨素、羧酸、脂肪酸、磷脂、多糖、核酸、多氨基酸、氨基酸如苯丙氨酸、酪氨酸、异亮氨酸、多核苷酸、聚乙烯丙烯、聚乙烯吡咯酮和硅酮选择持续释放的基质。优选的生物可降解基质是多乳酸化合物、聚乙醇酸交酯或多乳酸化合物共乙交酯(乳酸和羟乙酸的共聚物)之一的基质。

[0742] 对本领域技术人员显而易见的是某些载体可以更优选地依赖于例如施用途径和所施用的抗体的浓度。

[0743] 本发明的组合物可以是多种形式。这些包括例如,液体、半固体和固体剂型,如液体溶液(例如,可注射的和可输注(infusible)的溶液)、分散剂或悬浮剂、片剂、丸剂、粉剂、脂质体和栓剂。在一些实施方案中,该组合物还可以包含缓冲液(例如,中性缓冲盐水或磷酸缓冲盐溶液)、碳水化合物(例如,葡萄糖、甘露糖、蔗糖或葡聚糖)、甘露醇、蛋白质、多肽或氨基酸如甘氨酸、抗氧化剂、螯合剂如EDTA或谷光甘肽、佐剂(例如,氢氧化铝)和/或防腐剂。或者,本发明的组合物可以配制为冻干剂。也可以使用众所周知的技术将抗体及其tau结合片段封装在脂质体内。

[0744] 适合于内部施用的剂量形式一般含有约0.1毫克-约500毫克的抗体或其tau结合片段(活性成分)/单位或容器。在这些药物组合物中,活性成分基于组合物的总重量以重量计通常将以约0.5-99.999%的量存在。

[0745] 治疗组合物/制剂在制造和储存条件下通常必须是无菌和稳定的。组合物可以配制为溶液、微乳剂、分散剂、脂质体,或适合于高药物浓度的其他有序结构。无菌的可注射溶液可以通过将活性化合物(即抗体或其tau结合片段)以需要的量掺入具有一种上文列举的成分或其组合的合适的溶剂中(如需要,随后为过滤灭菌)来制备。通常,分散剂通过将活性化合物掺入无菌媒介物中来制备,所述无菌的媒介物含有基础分散介质和上文列出的那些中需要的其他成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉剂的情况下,优选的制备方法是真空干燥和冰冻干燥,其从其先前无菌过滤的溶液产生活性成分加任何额外想要成分的粉剂。例如,可以通过使用包衣如卵磷脂,在分散剂的情况下通过维持所需要的颗粒大小,并通过使用表面活性剂来维持适当的溶液流动性。可以通过在组合物中包括延迟吸收的试剂,例如单硬脂酸盐和明胶引起可注射组合物的延迟吸收。

[0746] 优选的剂量形式取决于预期的施用模式和治疗应用。本领域技术人员熟悉用于测定该剂量的程序。典型的组合物是可注射的或可输注的溶液的形式,如与利用其他抗体被动免疫人的那些类似的组合物。最典型的施用方式是肠胃外(例如,静脉内、皮下、腹膜

内、肌内)。在优选的实施方案中,抗体通过静脉内输注或注射来施用。在另一优选的实施方案中,抗体通过肌内或皮下注射来施用。

[0747] 本发明的抗体及其tau结合片段可以通过本领域已知的多种方法来施用,尽管对于许多治疗应用,优选的施用途径/方式是静脉内注射或输注。技术人员应当理解,施用的途径和/或方式将根据想要的结果而变化。在某些实施方案中,抗体或其tau结合片段可以与载体来制备,所述载体将保护化合物免于快速释放,如受控释放的制剂,包括植入物、透皮贴剂和微囊化的递送系统。可以使用生物可降解的、生物相容的聚合物,如乙烯醋酸乙酯、聚酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯、和聚乳酸。许多用于此类制剂的制备的方法是获专利的或本领域技术人员通常已知的。参见例如Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, 编辑, Marcel Dekker, Inc., New York, 1978。

[0748] 在某些实施方案中,本发明的抗体或其tau结合片段可以口服施用,例如,连同惰性稀释剂或可同化的可食用载体。抗体或其tau结合片段(如需要,及其他成分)还可以包封在硬壳或软壳明胶胶囊中,压缩入片剂中,或直接掺入受试者的饮食中。对于口服治疗施用,抗体或其tau结合片段可以掺有赋形剂并以可吸收的片剂、口含片(buccal tablet)、锭剂、胶囊、酞剂、悬浮剂、糖浆剂、干胶片(wafer)的形式使用。为了通过除肠胃外施用的方式施用本发明的抗体或其tau结合片段,可能需要用防止它失活的材料包被所述抗体或其tau结合片段或将所述抗体或其tau结合片段与其共同施用。

[0749] 本发明的某些实施方案提供抗体或其tau结合片段以穿过血脑屏障。某些神经变性疾病,包括AD和相关的tau病变与血脑屏障的透过性增加相关,从而所述抗体或其tau结合片段可以被容易地导入脑中。当血脑屏障保持完整时,存在若干领域已知的方法用于将分子转运穿过所述血脑屏障,包括但不限于物理方法、基于脂的方法和基于受体和通道的方法。

[0750] 转运抗体或其tau结合片段穿过血脑屏障的物理方法包括,但不限于完全环绕血脑屏障,或通过血脑屏障中创建开口。环绕方法包括但不限于直接注射到脑中(参见例如,Papanastassiou等, Gene Therapy 9:398-406 (2002))和在脑中植入递送装置(参见例如,Gill等, Nature Med. 9:589-595 (2003);和Gliadel Wafers.TM., Guildford Pharmaceutical)。在屏障中创建开口的方法包括,但不限于超声(参见例如,美国公开号2002/0038086)、渗透压(例如,通过施用高渗甘露醇(Newwelt, E.A., Implication of the Blood-Brain Barrier and its Manipulation, 第1&2卷, Plenum Press, N.Y. (1989))),通过例如bradykinin或透化剂A-7透化(参见例如,美国专利号5,112,596、5,268,164、5,506,206和5,686,416),和利用含有编码抗体或其tau结合片段的基因的载体转染神经元,其横跨血脑屏障(参见例如,美国专利公开号2003/0083299)。

[0751] 基于脂的转运抗体或其tau结合片段横跨血脑屏障的方法包括,但不限于在偶联其活性片段的脂质体中封装抗体或其tau结合片段,所述脂质体结合血脑屏障的血管内皮上的受体(参见例如美国专利申请公开号20020025313),和在低密度脂蛋白颗粒中(参见例如,美国专利申请公开号20040204354)或载脂蛋白E中(参见例如,美国专利申请公开号20040131692)包被抗体或其tau结合片段。

[0752] 基于受体和通道的转运抗体或其tau结合片段横跨血脑屏障的方法包括,但不限于使用糖皮质激素阻断剂以增加血脑屏障的透过性(参见例如,美国专利申请公开号

2002/0065259、2003/0162695和2005/0124533)；激活钾离子通道(参见例如,美国专利申请公开号2003/0073713)；用转铁蛋白包被抗体和调节一种或多种转铁蛋白受体的活性(参见例如,美国专利申请公开号2003/0129186),和阳离子化抗体(参见例如,美国专利号5,004,697)。

[0753] 本领域中已知多种其他方法来实现向脑中施用化合物。例如,抗体或其tau结合片段可以通过直接心室内或鞘内注射,优选经过缓慢输注施用以将对脑实质的影响降至最小。期望的抗体或其tau结合片段也可以使用脑中的缓慢释放植入物,或产生抗体或其tau结合片段的植入重组细胞递送。血脑屏障(BBB)可以进行透化伴随抗体或其tau结合片段施用,以允许抗体或其tau结合片段移动穿过BBB。透化剂包括渗透剂,如高渗甘露醇,或另一透化剂如缓激肽(bradykinin)、烷基甘油、超声、电磁辐射或副交感神经支配。

[0754] 此外,并且不受任何特定机制束缚,也已经认为可能的是血液中的抗体在从脑中去除其靶蛋白中具有“池样”效果。参见例如美国公开申请美国20110158986,第[0017]段。如果是这种情况,抗体及其tau结合片段可能用于从脑中去除病理性tau进入循环,有效地预防其对神经元细胞和组织引起进一步的损伤。

[0755] 本申请中其他地方公开的补充或组合活性化合物或治疗剂也可以掺入到组合物中,同时施用,或与抗体或其tau结合片段连续施用。在某些实施方案中,本发明的抗体或其tau结合片段与一种或多种额外的治疗剂共同配制和/或与其共同施用。这些额外的治疗剂也可以化学缀合其中所述的抗体或其tau结合片段。

[0756] 在一个实施方案中,提供具有式(A)-(L)-(C)的免疫缀合物,其中:(A)是权利要求1-51任何一项的抗体或其结合片段;(L)是接头;并且(C)是试剂;并且其中所述接头(L)连接(A)与(C)。在一个实施方案中,(C)是效应分子,例如治疗剂、成像剂、可检测剂,或诊断剂。在一些实施方案中,这些缀合物在本文中称为抗体-药物-缀合物(ADC)。

[0757] 如本文所用,(L)接头是用于连接(A)至(C)的分子。所述接头能够与抗体和效应分子形成共价键。合适的接头是本领域技术人员熟知的且包括但不限于直链或支链碳接头、杂环碳接头、或肽接头。当抗体和效应分子是多肽时,接头可以通过其侧基(例如,通过与半胱氨酸的二硫键)连接构成氨基酸。然而,在优选的实施方案中,接头可以连接末端氨基酸的 α 碳氨基和羧基。

[0758] 在一些情况中,当缀合物已经到达其靶位点时,期望从抗体游离效应分子。因而,在这些情况中,免疫缀合物将包含可以在靶位点附近切割的连接。可以通过酶促活性或靶细胞内或靶位点附近免疫缀合物所处的条件促进接头的切割以从抗体释放效应分子。在仍然其他实施方案中,接头单元不是可切割的并且例如通过抗体降解释放药物。

[0759] 可获得许多不同反应用于将药物和/或接头附着到抗体或其片段上。这经常通过抗体分子的氨基酸残基,包括赖氨酸的胺基、谷氨酸和天冬氨酸的游离羧基、半胱氨酸的巯基和芳香族氨基酸的多个部分的反应来完成。最常用的共价附着非特异性方法之一是连接化合物的羧基(或氨基)与抗体的氨基(或羧基)的碳化二亚胺反应。此外,双功能剂如二醛或亚氨酸酯已经用于连接化合物的氨基与抗体分子的氨基。还可以用于将药物附着到抗体上的是希夫碱反应。该方法包括含有乙二醇或羟基的药物的高碘酸盐氧化,因此形成然后与结合剂反应的醛。附着通过席夫碱与结合剂的氨基的形成发生。异硫氰酸盐也可以用作偶联剂用于将药物共价附着到结合剂上。

[0760] 在一些实施方案中,接头可以被胞内环境(例如溶酶体或内含体或细胞膜小凹(caveolea)内)中存在的切割剂切割。接头可以是例如肽基接头,其可以被胞内肽酶或蛋白酶,包括但不限于溶酶体或内含体蛋白酶切割。在一些实施方案中,肽基接头是至少两个氨基酸长或至少三个氨基酸长。切割剂可以包括组织蛋白酶B和D和纤维蛋白溶酶,已知其全部水解二肽药物衍生物,导致靶细胞内的活性药物释放(参见例如,Dubowchik和Walker,1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123)。最典型的是肽基接头,其可以被表达191P4D12的细胞中存在的酶切割。此类接头的其他实例描述于例如美国专利号6,214,345。在具体的实施方案中,可被胞内蛋白酶切割的肽基接头是Val-Cit接头或Phe-Lys接头(参见例如,美国专利号6,214,345,其描述了阿霉素与Val-Cit接头的合成)。使用胞内蛋白酶水解释放治疗剂的一个优势是当缀合时所述试剂通常衰减并且缀合物的血清稳定性通常是高的。

[0761] 在其他实施方案中,可切割的接头是pH敏感的,即对某些pH值下的水解敏感。通常,pH敏感的接头在酸性条件下是可水解的。例如,可以使用可在溶酶体中水解的酸不稳定接头(例如,脞、缩氨基脞、硫代缩氨基脞、顺式-乌头酰胺、原酸酯、乙缩醛、缩酮等)。(参见例如,美国专利号5,122,368; 5,824,805;5,622,929;Dubowchik和Walker,1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123;Neville等,1989,Biol. Chem. 264:14653-14661.) 此类接头在中性pH条件下相对稳定,如在血液中的那些,但是在低于pH 5.5或5.0(溶酶体的近似pH)时不稳定。在某些实施方案中,可水解的接头是硫醚接头(如,例如,通过酰脞键附着到治疗剂上的硫醚(参见例如美国专利号5,622,929)。

[0762] 在仍然其他实施方案中,接头在还原条件下是可切割的(例如,二硫键接头)。多种二硫键接头为本领域所知,包括例如可以使用SATA(N-琥珀酰亚胺基-S-硫代乙酸乙酰酯)、SPDP(N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶二硫代)丙酸酯)、SPDB(N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶二硫代)丁酸酯)and SMPT(N-琥珀酰亚胺基-氧羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基-二硫代)甲苯)-、SPDB和SMPT形成的那些。(参见,例如,Thorpe等,1987,Cancer Res. 47:5924-5931; Wawrzynczak等,In Immunoconjugates:Antibody Conjugates in Radioimaging and Therapy of Cancer (C.W.Vogel编辑,Oxford U.Press,1987.还参见美国专利号4,880,935)。

[0763] 在仍然其他具体实施方案中,接头是丙二酸酯接头(Johnson等,1995, Anticancer Res.15:1387-93)、maleimidobenzoyl接头(Lau等,1995, Bioorg-Med-Chem.3(10):1299-1304),或3'-N-酰胺类似物(Lau等,1995, Bioorg-Med-Chem.3(10):1305-12)。

[0764] 在仍然其他实施方案中,接头单元不是可切割的并且通过抗体降解释放药物。(参见美国公开号2005/0238649)。

[0765] 在一个实施方案中,接头对胞外环境基本上不敏感。如本文所用,在接头的背景下“对胞外环境基本上不敏感”表示当抗体-药物缀合化合物存在于胞外环境(例如,血浆)中时,抗体-药物缀合化合物中不多于约20%,通常不多于约15%,更通常不多于约10%,并且甚至更通常不多于约5%,不多于约3%,或不多于约1%的接头被切割。例如可以通过抗体-药物缀合化合物与血浆温育预定时间期限(例如,2、4、8、16或24小时),然后定量血浆中存在的游离药物的量来测定接头对胞外环境是否基本上不敏感。

[0766] 在其他非互相排斥的实施方案中,接头促进细胞内化。在某些实施方案中,当缀

合治疗剂时(即处于如本文所述的抗体-药物缀合化合物的接头-治疗剂部分的环境中),接头促进细胞内化。

[0767] 在WO 2004-010957、美国公开号2006/0074008、美国公开号 20050238649,和美国公开号2006/0024317(其各自以其整体并为了所有目的 通过参考并入本文)中描述了本组合物和方法可以使用的多种示例性接头。

[0768] 临床中目前存在的抗体-药物缀合物(ADC)的一些实例可见于Feng, Y. 等 *Conjugates of Small Molecule Drugs with Antibodies and Other Proteins*. *Biomedicines* 2014, 2, 1-13; doi:10.3390/biomedicines2010001。

[0769] 考虑到已经报道了大量方法用于将多种治疗剂、成像剂、可检测剂、诊断剂、放射诊断化合物、放射治疗化合物、药物、毒素和其他试剂附着到抗体及其片段上,本领域技术人员将能够测定合适的方法用于将指定试剂附着到抗体或其tau结合片段上。在另一实施方案中,(A)与(C)彼此直接结合。

[0770] 在另一实施方案中,(L)是间隔基团或连接基团,如多醛、戊二醛、乙二胺四醋酸(EDTA)或二乙烯三胺五乙酸(DPTA)。用于将抗体或片段连接另一化合物的其他技术包括使用N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基-硫代)丙酸酯(SPDP)和琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺甲基)环己烷-1-羧酸酯(SMCC)或衍生物(如果肽缺少巯基,这可以通过添加半胱氨酸残基来提供)形成二硫键。这些试剂在它们与一个蛋白质肽半胱氨酸残基产生二硫键,并通过赖氨酸上的 ϵ 氨基或其他氨基酸中的其他游离氨基形成酰胺键。*Immun. Rev.* 62, 185 (1982)描述了多种此类二硫化物/酰胺形成剂。其他双功能偶联剂形成硫醚而非二硫键。许多这些硫醚形成剂是商业上可得的并且包括6-maleimidocaproic acid、2-溴乙酸,和2-碘乙酸、4-(N-马来酰亚胺基-甲基)环己烷-1-羧酸的反酯。可以通过将它们与琥珀酰亚胺或1-羟基-2-硝基-4-磺酸、钠盐组合来激活羧基。

[0771] 载药量由p表示并且是分子中每个抗体的药物部分的平均数(例如, A-L-Dp)。载药量可以在1-20个药物部分(D)/抗体之间变化。本发明的ADC包括与1-20个药物部分范围缀合的抗体集合。可以通过常规手段如质谱和ELISA测定来表征来自缀合反应的ADC制剂中每个抗体的药物部分的平均数。也可以测定p单位的ADC的数量分布。在一些情况中,可以通过手段如电泳完成利用其他载药量对同质ADC的分离、纯化和表征,其中p是来自ADC的某一值。

[0772] 对于一些抗体-药物缀合物,可以通过抗体上附着位点的数量来限定p。例如,其中附着是半胱氨酸巯基时,如上文示例性实施方案中,抗体可以具有仅一个或若干个半胱氨酸巯基,或可以具有仅一个或若干个接头可以附着的充分反应性巯基。在某些实施方案中,较高的载药量,例如 $p > 5$ 可以引起某些抗体-药物缀合物的聚集、不溶解、毒性,或细胞透过性的丧失。在某些实施方案中,本发明ADC的载药量在约1-约8;约2-约6;约3-约5;约3-约4;约3.1-约3.9;约3.2-约3.8;约3.2-3.7;约3.2-约3.6;约3.3-约3.8;或约3.3-约3.7的范围内。的确,已经显示对于某些ADC,每个抗体的药物部分的最佳比例可以低于8,并且可以是约2-约5。参见美国专利号7,498,298。

[0773] 在某些实施方案中,缀合反应过程中少于理论最大量的药物部分缀合抗体。抗体可以含有例如赖氨酸残基,其不与药物-接头中间物或接头试剂反应,如下所讨论。一般地,抗体不含有许多游离的和反应性半胱氨酸巯基,其连接药物部分;的确抗体中大多数

半胱氨酸巯基残基以二硫键存在。在某些实施方案中,可以利用还原剂如二硫苏糖醇(DTT)或三羰基乙基磷化氢(tricarbonyl ethylphosphine)(TCEP),在部分或完全还原条件下还原抗体以产生反应性半胱氨酸巯基。在某些实施方案中,抗体经受变性条件以暴露反应性亲核基团如赖氨酸或半胱氨酸。

[0774] 例如通过以下以不同方式控制ADC的载荷(药物/抗体比例):(i)限制药物-接头中间物或接头试剂相对于抗体的摩尔过量,(ii)限制缀合反应时间或温度,(iii)部分或限制还原条件用于半胱氨酸巯基修饰,(iv)通过重组技术改造抗体的氨基酸序列,从而修饰半胱氨酸的数量和位置用于控制接头-药物附着数量和/或位置(如本文和W02006/034488中公开制备的thioMab或thioFab)。

[0775] 应理解,多于一个亲核基团与药物-接头中间物或接头试剂随后与药物部分试剂反应时,那么所得产物是ADC化合物的混合物,其具有一个或多个药物部分附着到抗体上的分布。可以通过二元ELISA抗体测定(其对抗体特异并且对药物特异)从混合物计算每个抗体药物的平均数量。可以通过质谱在混合物中鉴定各ADC分子并通过HPLC,例如疏水性相互作用色谱进行分离(参见例如,Hamblett,K J.,等"Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate," Abstract No.624,American Association for Cancer Research,2004 Annual Meeting,Mar.27-31,2004,Proceedings of the AACR,第45卷,2004年3月;Alley,S.C.,等"Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates,"Abstract No.627,American Association for Cancer Research,2004 Annual Meeting,2004年3月27-31日,2004,Proceedings of the AACR,第45卷,2004年3月)。在某些实施方案中,可以通过电泳或色谱从缀合混合物中分离具有单一负荷值的同质ADC。

[0776] 在一些示例性实施方案中,本文所述的抗体或其tau结合片段可以与也用于预防和/或治疗AD的一种或多种额外化合物共同配制和/或共同施用。这些包括,但不限于用于AD主动和被动免疫治疗的化合物,如 β -淀粉状蛋白肽(例如,N-末端淀粉状蛋白 β 肽)、tau肽,其可能或可能不与其他化合物缀合,如突变的白喉毒素;针对 β 淀粉状蛋白的抗体,如bapineuzumab、solaneuzumab、gantenerumab、crenezumab、ponezumab,和IVIG免疫球蛋白,靶向 $A\beta$ 寡聚物的其他免疫治疗、其他tau抗体、防止tau的高度磷酸化的化合物,和靶向tau聚集体的其他主动和被动免疫治疗。利用本文所述的抗体和tau结合片段用于组合治疗的其他药物是淀粉状蛋白- β 聚集抑制剂(例如,高牛磺酸(Tramiprosate))、 γ -分泌酶抑制剂(例如,司马西特(semagacestat)),和 γ -分泌酶调节剂(tarenflurbil)。此外,本发明的一种或多种抗体可以用于与两种或多种上述治疗剂组合。在疾病的早期阶段,组合治疗可以是有利的。组合治疗在疾病的较晚期阶段也是有利的,如hAb和生长因子以及其他生物活性分子包括神经元可塑性和再生的组合。此类组合治疗可能有利地利用更低剂量的施用治疗剂,因而避免可能的毒性或与多种单一疗法相关的并发症。根据相关实施方案,本文所述的抗体或其tau结合片段用于与选自以下的至少一种组合试剂组合(一种单独施用、在其他之前、与其同时或之后施用):乙酰胆碱酯酶抑制剂(例如,多奈哌齐、利凡斯的明、加兰他敏、他克林、营养补充剂)、N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体拮抗剂(例如,美金刚)、DNA修复的抑制剂(例如,哌仑西平或其代谢物)、过渡金属螯合剂、生长因子、激

素非 类固醇类抗炎药物 (NSAID)、抗氧化剂、降脂剂、选择性磷酸二酯酶抑制剂、tau聚集的抑制剂、蛋白激酶的抑制剂、抗线粒体异常药物的抑制剂、神经营养因子、热激蛋白的抑制剂、脂蛋白结合磷脂酶A₂、及其任何药学上可接受的盐。在一个实施方案中,利用抗体和/或其tau结合片段的治疗与利用胆碱酯酶抑制剂 (ChEI) 和/或美金刚的治疗组合,其提供适度症状益处。在一个实施方案中,组合治疗剂选自抗细胞凋亡化合物、金属螯合剂、DNA修复的抑制剂、3-氨基-1-丙磺酸 (3APS)、1,3-丙二磺酸 (1,3PDS)、分泌酶抑制剂、β分泌酶抑制剂、γ-分泌酶抑制剂、β-淀粉状蛋白肽、β-淀粉状蛋白抗体、神经递质、β-折叠开关 (breaker)、抗炎分子,和胆碱酯酶抑制剂。在一个实施方案中,胆碱酯酶抑制剂是他克林、利凡斯的明、多奈哌齐、加兰他敏,或营养补充剂。在另一实施方案中,额外的治疗剂选自BACE抑制剂;毒蕈碱拮抗剂;胆碱酯酶抑制剂;γ-分泌酶抑制剂;γ分泌酶调节剂;HMG-CoA还原酶抑制剂;非类固醇类抗炎剂;N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂;抗淀粉状蛋白抗体;维生素E;烟碱乙酰胆碱受体激动剂;CB1受体反激动剂或CB1受体拮抗剂;抗生素;生长激素促分泌物;组胺H3拮抗剂;AMPA激动剂;PDE4抑制剂;GABA_A反激动剂;淀粉状蛋白聚集的抑制剂;糖原合成酶激酶β抑制剂;α分泌酶活性的促进剂;PDE-10抑制剂和胆固醇吸收抑制剂。

[0777] 可以适当用于与本文所述的抗体和tau结合片段组合的其他化合物描述于WO 2004/058258中(尤其参见第16页和17页),其包括治疗药物靶标(第36-39页)、alkanesulfonic acids和alkanolsulfuric acids(第39-51页)、胆碱酯酶抑制剂(第51-56页)、NMDA受体拮抗剂(第56-58页)、雌激素(第58-59页)、非类固醇抗炎药(第60-61页)、抗氧化剂(第61-62页)、过氧化物酶体增殖子激活的受体(PPAR)拮抗剂(第63-67页)、降胆固醇剂(第68-75页);淀粉状蛋白抑制剂(第75-77页)、淀粉状蛋白形成抑制剂(第77-78页)、金属螯合剂(第78-79页)、抗精神病药和抗抑郁药(第80-82页)、营养补充剂(第83-89页)和增加脑中生物活性物质的可用性的化合物(参见第89-93页)和前药物(第93和94页)。

[0778] 在一个实施方案中,抗体和/或其tau结合片段用于在治疗时与治疗的目的标准组合,其包括胆碱酯酶抑制剂和美金刚(Namenda) NMDA激动剂。

[0779] 本发明的药物组合物可以包括“治疗有效量”或“预防有效量”的本发明的抗体或其tau结合片段。“治疗有效量”指在剂量上和对于需要的时间周期而言,有效地实现期望的治疗结果的量。治疗有效量的抗体或其tau结合片段根据以下因素可以变化,如个体的疾病状态、年龄、性别和体重,以及抗体或其tau结合片段在个体中引发想要响应的能力。治疗有效量还是下述一种量,其中有益的治疗效果超过抗体或其tau结合片段的任何有毒效果或有害效果。“预防有效量”指在剂量上和对于需要的时间周期而言,有效地实现期望的预防结果的量。通常,由于预防剂量在疾病之前或在疾病的早期阶段中用于受试者,因此预防有效量会少于治疗有效量。

[0780] 给药方案可以进行调整以提供最佳的期望应答(例如,治疗性或预防性应答)。例如,可以施用输注方案或快速灌注,可以随时间施用若干份剂量或可以根据治疗情形的紧急所指示按比例减少或增加剂量。为了容易施用和剂量的一致性,尤其有利的是以剂量单位形式配制肠胃外组合物。如本文所用的剂量单位形式指适合作为用于待治疗的受试者的单一剂量的物质上分离的单位(physically discrete units);每一单位含有经计算

产生期望的治疗 效果的预定量的活性化合物和必需的药物载体。对本发明的剂量单位形式的 规格由 (a) 活性化合物的独特特征和待实现的具体治疗或预防效果,和 (b) 在调 配此 类用于治疗个体中敏感性的活性化合物的领域中固有的限制所指明且 直接取决于它们。

[0781] 应该注意剂量值可以随待减轻的病况的类型和严重程度而不同。进一步 应理解 对于任何特定受试者,具体的给药方案应随时间根据个体需要和施用 组合物或指导组 合物的施用的人的专业判断而有所调整,并且本文中描述的 剂量范围仅为示例性的且不 旨在限制要求保护的组合物的范围或实践。

[0782] 例如,用于治疗下文所述的状况的本公开内容的组合物的有效剂量根据 许多因 素变化,所述因素包括施用手段、靶位点、患者的生理状态、无论患 者是人还是动物、所施 用的其他药剂,和治疗是预防性的还是治疗性的。一 般地,患者是人。治疗剂量需要被滴定 来优化安全性和效能。因此,利用抗 体或其tau结合片段的治疗通常使一段时间内多次剂 量成为必需。

[0783] 用于人的本发明的抗体或其tau结合片段的治疗或预防有效量的示例性 非限制 性范围是0.1-20mg/kg,更优选1-10mg/kg。在一个优选实施方案中,在至少三个月,优选至 少六个月的期间内以多次剂量,和1和10mg/kg的剂 量施用抗体。任选地,以0.01-0.6mg/kg 的剂量和每周一次和每月一次的频率 施用抗体或其tau结合片段。任选地,以0.05-0.5mg/ kg的剂量施用抗体或其tau 结合片段。任选地,以0.05-0.25mg/kg的剂量施用抗体或其tau 结合片段。任 选地,以每周一次到每两周一次0.015-0.2mg/kg的剂量施用抗体或其tau结 合 片段。任选地,以每周一次到每两周一次0.05-0.15mg/kg的剂量施用抗体或 其tau结合 片段。任选地,以每周一次0.05-0.07mg/kg的剂量施用抗体或其tau 结合片段。任选地,以 每周一次0.06mg/kg的剂量施用抗体或其tau结合片段。任 选地,以每两周一次0.1- 0.15mg/kg的剂量施用抗体或其tau结合片段。任 选地,以每月一次0.1-0.3mg/kg的剂量施 用抗体或其tau结合片段。任选地,以每月一次0.2mg/kg的剂量施用抗体或其tau结合片 段。任选地,每年一次施 用抗体或其tau结合片段。任选地,以1-40mg的剂量和每周一次和 每月一次 的频率施用抗体或其tau结合片段。任选地,以5-25mg的剂量施用抗体或其 tau 结合片段。任选地,以2.5-15mg的剂量施用抗体或其tau结合片段。任 选 地,以每周一次到 每两周一次1-12mg的剂量施用抗体或其tau结合片段。任 选地,以每周一次到每两周一次 2.5-0.2mg/kg的剂量施用抗体或其tau结合片 段。任选地,以每周一次2.5-5mg的剂量施用 抗体或其tau结合片段。任选地,以每周一次4-5mg的剂量施用抗体或其tau结合片段。任 选地,以每两周一次 7-10mg的剂量施用抗体或其tau结合片段。

[0784] 在利用如本文所述的抗体或tau结合片段的其他被动免疫实施方案中,剂 量在约 0.0001-100mg/kg,并且更一般地在0.01-5mg/kg宿受试者重的范围内 变化。在一些应用 中,可以以至少0.1mg/kg体重的剂量、至少0.5mg/kg体重、1mg/kg体重的剂量,或0.1- 10mg/kg体重的剂量的任何组合施用抗体或其tau 结合片段的量。在一些方法中,在至少1 个月,至少3个月,或至少6个月的 期间内以多次剂量(相等或不同)施用抗体或其tau结合 片段。任一治疗期间的 剂量总数可以是例如4和6,尽管根据上文讨论的因素可使用其他数 量。可以 通过下文进一步讨论的任何方法监测治疗。

[0785] 还可以通过检查利用其他早已经开发的治疗性单克隆抗体的经验来测 定合适 的抗体制剂。例如,已经显示若干单克隆抗体在临床情形中有效,如 Rituxan(利妥昔单抗)、

Herceptin(曲妥单抗)、Xolair(奥马珠单抗)、Bexxar(托西莫单抗)、Campath(阿仑单抗)、Zevalin、Oncolym、Remicade(英夫利昔单抗)、Lucentis(兰尼单抗)、Synagis(帕利珠单抗)、Soliris(依库丽单抗)、Kadcyla(ado-曲妥单抗emtansine)、Avastin(贝伐单抗)、Erbix(西妥昔单抗)、Simponi(高利单抗)、Tysabri(那他珠单抗)、美罗华(利妥昔单抗)、Stelara(优特克单抗)、普托木单抗和Aducanumab,并且本公开内容的抗体可以使用类似制剂。例如,可以以100mg(10mL)或500mg(50mL)一次性使用的小瓶中10 mg/mL的浓度供应单克隆抗体,所述单克隆抗体在9.0mg/mL氯化钠、7.35 mg/mL柠檬酸钠二水合物、0.7mg/mL聚山梨酯80和无菌注射用水中配制用于IV施用。将pH调节为6.5。在另一实施方案中,在包含约20mM柠檬酸钠、约150mM NaCl,pH约6.0的制剂中供应抗体。

[0786] 治疗和预防的方法

[0787] 本文所述的抗体和组合物可以用于AD和相关tau病变的多种治疗和预防方法。除了降低的免疫原性的有利性质外,这些抗体对疾病tau比对亲本小鼠DC8E8抗体具有至少80%的结合亲和力。在W02013/041962中广泛表征了小鼠DC8E8,其中显示其拥有AD体内模型中的治疗性质。因此,有合理的依据相信人源化DC8E8也将用于人AD的治疗和预防中,同时可能诱发较少的有害免疫应答。

[0788] 在一个实施方案中,所述方法包括向受试者/患者施用如上所述的抗体、编码它们的核酸,或药物组合物。在预防性应用中,以足以消除或降低疾病风险,减少其严重性,或延迟其开始,包括疾病的生物化学、组织学和/或行为症状,疾病发生过程呈现中的其并发症和中间病理表型的量向易受阿尔茨海默氏病或另一tau病变或另外具有阿尔茨海默氏病或另一tau病变风险的患者施用药物组合物或药剂。在治疗性应用中,以足以治愈,或至少部分阻止疾病症状(生物化学、组织学和/或行为学),包括疾病发生过程中其并发症和中间病理表型的量向怀疑或早已患有该疾病的患者施用组合物或药剂。

[0789] 如上定义,治疗包括向患有疾病,具有疾病症状或针对疾病具有倾向的受试者应用或施用治疗剂,目的是治愈、恢复、减轻、缓解、改变、补救、改善、提高或影响疾病、疾病的症状或针对疾病的倾向。此外,与缺少使用人源化抗tau抗体或其tau结合片段组合物的症状相比,只要本公开内容的组合物单独或与另一治疗剂组合治愈、恢复、减轻、缓解、改变、补救、改善、提高或影响阿尔茨海默氏病或正在治疗的另一tau病变的至少一种症状,那么应该认为结果是对潜在病症的有效治疗,不管是否所有病症症状均被治愈、恢复、减轻、缓解、改变、补救、改善、提高或影响。

[0790] “有风险的”个体可能或可能没有可检测的疾病,并且在本文所述的治疗方法之前可能或可能没有展示可检测的疾病。“有风险”表示,个体具有一个或多个所谓的危险因子,其为与阿尔茨海默氏病的发生相关的可测量参数。具有一个或多个这些危险因子的个体比不具有这些危险因子的个体具有发生阿尔茨海默氏病的更高可能性。这些危险因子包括,但不限于年龄、性别、种族、饮食、既往病史、先兆疾病的存在、基因(即遗传)因素,和环境暴露,并且其为本领域技术人员所熟知。

[0791] 在一个实施方案中,本公开内容提供在受试者中治疗或预防阿尔茨海默氏病或另一tau病变的进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的如本文提供的至少一种抗体和/或其tau结合片段。在一些实施方案中,所述方法能够减少运动障碍,改善运动功能,减少认知障碍,改善认知功能,或其组合。

[0792] 在其他实施方案中,本公开内容提供在受试者中改善与阿尔茨海默氏病 或另一 tau病变相关的至少一种症状的方法,所述方法包括向所述受试者施用 有效量的如本文提供的至少一种抗体和/或其tau结合片段。

[0793] 在一个实施方案中,本公开内容提供延迟阿尔茨海默氏病进展的方法。在一个实施方案中,“延迟”阿尔茨海默氏病的进展表示延迟、妨碍、放慢、延迟、稳定和/或延期疾病的发生。该延迟可以是不同的时间长短,这取决于 疾病史和/或正在治疗的个体。如对本领域技术人员显而易见的是,充分的或 显著的延迟实际上可以包括阻止,因为个体不发生该疾病。在一个实施方案 中,“延迟”阿尔茨海默氏病发生的方法是与不使用所述方法相比,在指定期 限中减少疾病发生可能性和/或减少疾病程度的方法。该比较通常基于使用统计 学上显著数量的受试者的临床研究。

[0794] 患者、受试者或个体包括哺乳动物,如人、牛、马、犬、猫、猪,和羊 动物。受试者优选人,并且可以遭受疾病折磨或目前显示症状或不遭受疾病 折磨或目前不显示症状。在阿尔茨海默氏病的情况下,事实上任何人均处于 风险或遭受阿尔茨海默氏病,如果他或她活的足够长。因而,本方法不需要 受试者患者风险的任何评估而向一般群体预防性地施用。

[0795] 在一个实施方案中,本文中的患者在治疗之前任选地进行诊断测试。在 一个实施方案中,本方法用于的确具有阿尔茨海默氏病的已知遗传风险的个 体。此类个体包括具有已经经历该疾病的亲戚的那些,和通过分析遗传或生 物化学标志物测定其风险的那些。对于阿尔茨海默氏病风险的遗传标志物包 括APP基因中的突变,特别是位置717和位置670以及671上的突变,其分别 称为Hardy和Swedish突变(参见Hardy (1997) Trends Neurosci.20:154-9)。风险 的其他标志物是早老素基因PS1和PS2,和ApoE4中的突变,AD的 家族历史, 血胆固醇过多或动脉粥样硬化。可以从特征性的痴呆,以及上文所述的风险 因子的存在识别目前遭受阿尔茨海默氏病的个体。此外,可获得许多诊断测 试用于鉴定患有AD的个体。这些包括CSF tau和淀粉状蛋白-β42水平的测量。升高的tau和降低的淀粉状蛋 白-β42水平表示AD的存在。在一个实施方案中,可以通过ADRD (阿尔茨海默氏病和相关病 征协)标准诊断遭受阿尔茨海默 氏病的个体。在无症状患者中,可以在任何年龄(例如,10、 20、30岁)开始 治疗。然而,一般地,没必要开始治疗,直到患者达到40、50、60或70岁。治疗 通常使得在一段时间内多次剂量成为必需。可以通过本领域已知的多种 方式随时间监测 治疗。在潜在Down's综合征患者的情况下,可以在出生前通 过向母亲施用治疗剂或在出生 后不久开始治疗。

[0796] 可以通过治疗AD和相关tau病变的领域中应用的任何选择标准完成患者 选择。在一个实施方案中,标准是特定临床试验测定的那些。在另一实施方 案中,标准是通过认可 的治疗方案测定的那些。可以应用纳入和排除标准的 组合。纳入标准的实例包括,但不限 于:基于NINCDS/ADRD标准诊断可 能的阿尔茨海默氏病;如果MMSE得分在15-26范围内证 实AD为轻度至中度; 患者脑的核磁共振成像扫描(MRI)结果与AD的诊断一致;通过合适的 成像方 法,例如通过使用(11)C-PBB3或基于南索拉唑的放射性药物测定患者脑中tau 病理的存在;和50到85岁之间的年龄。

[0797] 在一个实施方案中,患者选择遵循在以下中描述的方法:Rollin-Sillaire 等 Reasons that prevent the inclusion of Alzheimer's disease patients in clinical trials.Br J Clin Pharmacol.Apr 2013;75(4):1089-1097。

[0798] 本文提供了许多结果测量和初级终末点用于怎样评估治疗和测定有效量的一些实施方案。在一个实施方案中,指定时帧内的初级结果测量包括阿尔茨海默氏病活动量表-认知分量表13 (ADAS-Cog13) 得分的均值变化和阿尔茨海默氏病协同研究-日常生活的活动 (ADCS-ADL) 得分的均值变化并且二级结果测量包括脑脊髓液中生物标志物(总tau、磷酸化tau、Aβ1-42水平)的变化、MRI容量分析的变化(对结构MRI评估)、临床痴呆评级 (CDR-SB/CDR-GS) 的变化、神经精神行为的变化:神经精神问卷 (NPI) 总的和领域得分、认知的变化:MMSE总得分,和/或安全性:不利事件、严重的不利事件和治疗中断的发生率。在另一实施方案中,初级终末点包括以下中的任何:死亡发生的时间、制度化、进行日常生活活动的丧失、严重的痴呆、减缓疾病进展速率、ADCS-ADL、ADAS-cog得分、MMSE得分、认知表现、血浆CSF生物标志物、ADAS总得分、通过生活质量阿尔茨海默氏病量表评估的生活质量、行为测试得分,和US FDA's临床痴呆评级-盒总和。

[0799] 在一个实施方案中,治疗阿尔茨海默氏病指减少或预防随时间的行为、功能和认知恶化。在一些实施方案中,可以通过本领域技术人员已知的一系列标准化测试的任何一种或多种来评估阿尔茨海默氏病的行为、功能和认知方面,所述标准化测试包括,但不限于神经心理测试、简易精神状态检查、简易认知检查、神经精神问卷、罗斯痴呆评定量表、西班牙语和英语神经心理评定量表 (SENAS)、精神病行为评定、功能评定、画钟测试、Boston命令测试、加利福尼亚言语学习测试、认知症状核对表、连续作业Test、受控的词语联想测试、认知量表、注意力的d2测试、Delis-Kaplan执行功能系统、痴呆评级量表、数字警觉测试、任务的流畅性测试、手指敲击测试、哈氏分类测试、Halstead-Reitan神经心理学试验、Hooper视觉组织测试、Kaplan Baycrest神经认知评定、Kaufman短神经心理学评定、Luria-Nebraska神经心理学试验、记忆评定量表、快速神经学筛选测试、用于评定神经心理学状态的可重复试验、Stroop测试、符号数字模式测试、触觉性能测试、主题理解测试、伦敦塔、踪迹描绘测试A和B、言语(词语)流畅性测试,和威斯康辛卡片分类测试。也使用本领域技术人员已知的用于抑郁、焦虑、失语、兴奋,和行为参考的额外测试。

[0800] 在另一实施方案中,通过选自以下的至少一种评定中恶化等级的提高,或没有恶化,或减少来测定阿尔茨海默氏病的治疗:阿尔茨海默氏病评定量表-认知分量表 (ADAS-cog)、临床痴呆评级-盒总和 (CDR-sb)、阿尔茨海默氏病协同研究日常生活活动量表 (ADCS-ADL)、神经精神问卷 (NPI),和简易精神状态评估 (MMSE)。在一些实施方案中,治疗导致ADAS-cog得分中恶化等级的减少。在其他实施方案中,治疗导致ADAS-cog得分中恶化等级两-五个点的减少。

[0801] 在一个实施方案中,基于从美国食品药品监督管理局更新形式可得的FDA's "Guidance for Industry, Alzheimer's Disease: Developing Drugs for the Treatment of Early Stage Disease," 鉴定和/或选择患者。

[0802] 在一个实施方案中,根据National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) 的标准进行人受试者中阿尔茨海默氏病的诊断。

[0803] 周期性使用一种或多种这些测试可以建议医生或其他医学专业人士关于阿尔茨海默氏病和相关tau病变的进展或退化和用于进一步治疗的需要。测试的选择和治疗成功的确定在阿尔茨海默氏病领域中医学专业人士的专业知识中。一种或多种测试中提高的

得分是受试者中阿尔茨海默氏病严重性降低的指示。

[0804] 诊断方法

[0805] 因为其检测tau病理性形式的的能力,本文所述的抗体及其tau结合片段用于许多其他实际应用。此类应用的实例包括,但不限于病理性tau结合分析、疾病倾向筛选、疾病诊断、疾病预后、疾病进展监测、基于个体类型和病理性tau的水平确定治疗策略、基于病理性tau水平和与疾病相关的类型或响应药物的可能性开发治疗剂、为临床试验分层患者群体用于治疗方案,和预测个体将响应治疗剂的可能性。利用本文公开的抗体和tau结合片段检测与阿尔茨海默氏病和相关tau病变相关的病理性tau蛋白的体外方法包括,但不限于酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)、Western印迹、免疫沉淀、免疫荧光、夹层测定,和组织阵列。

[0806] 在一个实施方案中,本文所述的抗体及其tau结合片段可以用于评估病理性tau异常组织分布、发育过程中异常表达,或异常条件,如阿尔茨海默氏病和相关tau病变下的表达。此外,循环病理性tau的抗体检测可以用于鉴定AD和相关tau病变治疗过程中的tau翻转。

[0807] 在相关实施方案中,本发明提供诊断或筛选受试者中阿尔茨海默氏病或另一tau病变的存在,或测定受试者发生阿尔茨海默氏病或另一tau病变的风险的方法,所述方法包括:

[0808] a) 使受试者,或受试者的细胞、组织、器官、流体或任何其他样品与本文提供的有效量的至少一种抗体和/或其tau结合片段接触;和

[0809] b) 测定包含病理性tau与抗体和/或其tau结合片段的复合体的存在,其中复合体的存在诊断为阿尔茨海默氏病或与病理性tau存在相关的另一种tau病变。

[0810] 在一些实施方案中,抗体和/或其tau结合片段可以用于检测体内、离体、原位、体外、体液(例如,血液、血清、尿液、血浆、脑脊液、唾液)中,或细胞裂解物或上清液中的病理性tau以评估表达的量 and 模式。在一个实施方案中,抗体及其tau结合片段用于体内诊断测定,如体内成像。在这些实施方案的一些中,利用放射性核素(如¹¹¹In、⁹⁹Tc、¹⁴C、¹³¹I、¹²⁵I或³H)标记抗体,以便可以使用immunoscintigraphy定位通过抗体(和病理性tau)的存在标记的目的细胞或组织。其他可检测的标记包括使用分析技术可观察的标记,所述技术包括,但不限于荧光、化学发光、电子自旋共振、紫外线/可见吸收光谱、红外光光谱、质谱、核磁共振、磁共振、放射和电化学方法。

[0811] 在一个实施方案中,抗体及其tau结合片段可以用于评估阿尔茨海默氏病或另一tau病变的治疗效果的方法中。在一个实施方案中,所述方法包括使用抗体及其tau结合片段之一用于监测治疗前、治疗过程中和治疗后病理性tau的存在。在一个实施方案中,病理性tau水平或类型的减少指示对指定治疗的积极响应。在另一实施方案中,病理性tau水平或类型缺少变化或增加指示治疗应该继续。

[0812] 在一个实施方案中,可以在预防或治疗开始之前选择第一个时间点并可以在预防或治疗开始之后选择第二个时间点。可以在从不同时间点获取的各样品中测量病理性tau水平并指出定性和/或定量差异。来自第一份和第二份样品的测量的病理性tau水平一种或多种的量的改变可以与预后相关联,用于测定治疗效率,和/或用于测定受试者中疾病的进展。

[0813] 可以通过将抗体或其tau结合片段偶联(即,物理上连接)可检测物质来促进如本文所述的抗体或其tau结合片段的结合。可检测物质包括,但不限于各种酶、辐基、荧光材料、发光材料、生物发光材料,和放射性材料。合适酶的实例包括辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、或乙酰胆碱酯酶;合适的辐基复合物的实例包括链霉抗生物素/生物素和抗生物素蛋白/生物素;合适的荧光材料的实例包括伞形花内酯、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪胺荧光素、丹磺酰氯、或藻红蛋白;发光材料的实例包括鲁米诺;生物发光材料的实例包括萤光素酶、萤光素、和水母发光蛋白,并且合适的放射性材料的实例包括 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 和 ^3H 。

[0814] 其他用途

[0815] 本文所述的抗体和tau结合片段也可以用于通过标准技术,如亲和层析或免疫沉淀从天然的细胞来源或从重组宿主细胞中分离病理性tau蛋白。在另一实施方案中,本文所述的抗体和tau结合片段通过竞争测定可以用于鉴定结合病理性tau的其他抗体。

[0816] 在一个实施方案中,抗体可以用作亲和-纯化试剂。在一个实施方案中,使用本领域所熟知的方法将抗体或其tau结合片段固定在固相上如SEPHADEX.TM.树脂或磁珠(例如,Dynal品牌的磁珠)或滤纸。固定的抗体与含有待纯化的tau(或其片段)的样品接触,然后利用会去除样品中基本上所有物质(除tau蛋白外)的合适的溶剂清洗支持物,所述tau蛋白结合到固定的抗体上。最终,利用另一合适的溶剂,如甘氨酸缓冲液,pH 5.0(其从抗体上释放tau蛋白)清洗支持物。

[0817] 还提供的是用于使用抗体及其tau结合片段的试剂盒,如用于检测测试样品中病理性tau的存在的试剂盒。示例性试剂盒可以包含抗体及其tau结合片段,如标记的或可标记的抗体和化合物或试剂用于检测生物样品中的变体蛋白;用于测定样品中变体蛋白的量,或存在/缺失的方法;用于比较样品中变体蛋白的量与标准的方法;和使用说明书。

[0818] 在一些实施方案中,本发明提供医学装置,其包含如本文提供的抗体或tau结合片段,其中所述装置适合于通过选自以下的至少一种方式接触或施用抗体或tau结合片段:肠胃外、皮下、肌内、静脉内、关节内、支气管内、腹内、囊内、软骨内、腔内、体腔内、小脑内、脑室内、鞘内、结肠内、颈管内、胃内、肝内、心肌内、骨内、骨盆内、心包内、腹膜内、胸膜内、前列腺内、肺内、直肠内、肾内、视网膜内、脊柱内、滑膜腔内、胸内、子宫内、膀胱内、内伤、丸剂、阴道、直肠、口腔、舌下、鼻内和经皮肤的方式。在一个实施方案中,装置包含注射器(例如,预装注射器)。在另一实施方案中,装置包含补片(patch)。在另一实施方案中,装置包含泵(例如,迷你泵)。在另一实施方案中,装置包含吸入器。在另一实施方案中,装置包含喷雾器。

[0819] 在另一实施方案中,提供用于治疗AD和相关tau病变的物质的制成品。制成品可以包含其中含有具有固定剂量的人源化抗体和/或其tau结合片段的小瓶和,任选地包装说明书。小瓶可以由多种材料,如玻璃或塑料形成,并且可以通过注射器可以穿刺的塞子密封。例如,小瓶可以是formal玻璃类型I玻璃小瓶(例如,20cc小瓶用于某一固定剂量或50cc小瓶用于另一固定剂量),其具有DAIKYO GREY氟代树脂分层塞子和20mm翻盖铝盖。制成品还包括从商业和用户立场出发想要的其他材料,包括其他缓冲盐、稀释剂、过滤器、针和注射器等。在一个实施方案中,制成品包含两个小瓶,其中第一个小瓶含有指定的固定剂量的人源化抗体和/或其tau结合片段,并且第二个小瓶含有不同的固定剂量的人源

化抗体和/或其tau结合片段。

[0820] 抗体可以用于产生抗个体基因型抗体。(参见例如, Greenspan&Bona, FASEB J.7 (5):437-444,1989;和Nissinoff, J.Immunol.147:2429-2438,1991)。此类抗个体基因型抗体可以用于药物代谢动力学、药效动力学、生物分布研究以及利用抗体治疗的个体中的临床人-抗人抗体 (HAHA) 应答研究。例如, 抗个体基因型抗体特异性结合人源化DC8E8抗体的可变区, 并因而可以用于在药物代谢动力学研究中检测人源化DC8E8抗体并帮助定量所治疗个体中 人-抗人抗体 (HAHA)。

[0821] 本说明书中引用的所有出版物、专利申请和专利通过参考并入本文, 就如同每一个单独的出版物、专利申请或专利被明确和单独地说明被通过引用并入一样。具体而言, 本文所引用的所有出版物、专利申请和专利为描述和公开可以与本公开发明结合使用的组合和方法学的目的通过参考明确并入 本文。

[0822] 以下缩写应用于下文提供的实施例。

[0823] Expi293 人胚肾 (HEK293高密度/无血清) 细胞

[0824] A 腺嘌呤

[0825] bp 碱基对

[0826] °C 摄氏度

[0827] C 胞嘧啶

[0828] MEM 最小必需培养基

[0829] DNA 脱氧核糖核酸

[0830] ELISA 酶联免疫吸附测定

[0831] EC50 提供最大一半效应的抗体浓度

[0832] EC80 提供80%最大效应的抗体浓度

[0833] ECD 胞外域

[0834] g 克

[0835] G 鸟嘌呤

[0836] HRP 辣根过氧化物酶

[0837] IgG 免疫球蛋白G

[0838] K G或T (IUPAC条约)

[0839] min 分钟

[0840] M A或C (IUPAC条约)

[0841] nm 纳米

[0842] OD 光密度

[0843] PBS 磷酸盐缓冲盐水

[0844] PCR 聚合酶链式反应

[0845] R A或G (IUPAC条约)

[0846] RNA 核糖核酸

[0847] RT 室温

[0848] s 秒

[0849] S C或G (IUPAC条约)

[0850]	T	胸腺嘧啶
[0851]	TBS	三羟甲基氨基甲烷缓冲盐水
[0852]	UV	紫外光
[0853]	V	A或C或G (IUPAC条约)
[0854]	VH	免疫球蛋白重链可变区
[0855]	VK	免疫球蛋白κ轻链可变区
[0856]	W	A或T (IUPAC条约)
[0857]	Y	C或T (IUPAC条约)

实施例

[0858] 实施例1:DC8E8抗体的嵌合版本的产生

[0859] 使用用于总RNA分离的RNeasy Mini方案(Qiagen)从DC8E8杂交瘤细胞分离总RNA。使用GE Life Sciences第一链cDNA合成试剂盒根据制造商的方案将DC8E8 RNA (3μg) 反转录以产生DC8E8 cDNA。如在8.3部分中所述在3次单独反应中通过PCR扩增DC8E8 cDNA。利用重链引物M13-MHV6 plus MHCmix和κ轻链PCR引物M13-MKV5plus MKC,使用Phusion High-Fidelity PCR Master Mix (Thermo Scientific) PCR扩增免疫球蛋白重链可变区(VH) cDNA。各PCR反应的结果是单个扩增产物,其使用QIAquick PCR纯化试剂盒进行纯化并使用M13-正向(TGTAAAACGACGGCCAGT (SEQ ID NO:158)) 和M13-反向引物(CAGGAAACAGCTATGACC (SEQ ID NO:159))在两个方向上进行测序。

名称	序列(5'→3')
MHV6	<i>TGTAAAACGACGGCCAGTATGGCTGTCCTAGGGCTACTCTTCTGC</i> (SEQ ID NO:160)
MHCG1	<i>CAGGAAACAGCTATGACCCAGTGGATAGACAGATGGGGG</i> (SEQ ID NO:161)
[0860] MHCG2a	<i>CAGGAAACAGCTATGACCCAGTGGATAGACCGATGGGGC</i> (SEQ ID NO:162)
MHCG2b	<i>CAGGAAACAGCTATGACCCAGTGGATAGACTGATGGGGG</i> (SEQ ID NO:163)
MHCG3	<i>CAGGAAACAGCTATGACCCAAGGGATAGACAGATGGGGC</i> (SEQ ID NO:164)

[0861] MHV表示与小鼠重链可变区基因的前导序列杂交的引物,MHCG表示与小鼠恒定区基因杂交的引物。斜体序列表示M13正向或M13反向测序引物。

名称	序列(5'→3')
[0862] MKV5	<i>TGTAAAACGACGGCCAGTATGGATTTTCAGGTGCAGATTATCAGCTTC</i> (SEQ ID NO:165)

[0863]	MKC	CAGGAAACAGCTATGACCACTGGATGGTGGGAAGATGG (SEQ ID NO:166)
--------	-----	--

[0864] MKV表示与小鼠 κ 轻链可变区基因的前导序列杂交的引物;MKC表示与小鼠 κ 恒定区基因杂交的引物。有颜色的部分表示M13正向或M13反向测序引物。将DC8E8 VK PCR的共有序列命名为DC8E8 VK(图3)并将VH的共有DNA序列命名为DC8E8 VH(图4)。序列的种系分析显示 κ 轻链是鼠类VK8,没有体细胞突变(图5)。重链是鼠类VH1,并且在CDR's和框架中显示许多体细胞突变(图6)。认为框架1中出现两个脯氨酸残基是重要的。这些残基在4Å邻近残基外具有结构作用。

[0865] 构建嵌合表达载体需要将扩增的可变区常规克隆至IgG/ κ 载体中(本文是标记的pHuG1、pHuG4和pHuK,其各种均是商业上可得的)。选择产生正确构建体的克隆并测序。

[0866] 利用DC8E8 VH.pHuG1和DC8E8 VK.pHuK或DC8E8 VH.pHuG4和DC8E8 VK.pHuK(各50 μ g DNA),使用ExpiFectamine 293试剂共转染在Expi293转染培养基中生长的Expi293(Invitrogen)悬浮细胞。细胞在100ml生长培养基中生长10天。在条件培养基中通过常规ELISA方法测量 γ 1 κ 和 γ 4 κ (嵌合DC8E8抗体)的存在。

[0867] 通过结合ELISA测量各嵌合抗体的tau蛋白结合活性并将其与初始小鼠DC8E8抗体比较。利用PBS中50 μ L等分式样的330ng/mL的Tau 151-391/4R包被96孔MaxiSorp平板(Nunc)的各孔并在4 $^{\circ}$ C下温育过夜。利用PBS-T(0.1%Tween20)清洗孔三次。利用250 μ L的PBS/0.2%BSA/0.05%Tween20/孔封闭新鲜的孔并在RT下温育1小时。利用PBS-T(0.1%Tween20)清洗孔三次。向第1列的孔中加入240 μ L抗体(必要时在PBS/0.2%BSA/0.05%Tween20中稀释);在其他孔中加入120 μ L的缓冲液(PBS/0.2%BSA/0.05%Tween20)。将120 μ L从第1列转移到第2列的邻近孔中。利用一系列2倍稀释的实验样品将程序持续到第12列。将100 μ L/孔从稀释平板转移到实验平板。平板在RT下温育1小时。利用PBS-T清洗孔3次。在PBS/0.2%BSA/0.05%Tween20中将山羊抗人Fc过氧化物酶缀合物稀释10000倍(或10000倍稀释的抗小鼠)并向各孔中加入100 μ L。平板在RT下温育1小时并重复清洗步骤。每孔加入150 μ L的底物(K-Blue)并在RT下温育150分钟。通过向各孔中加入50 μ L的RED STOP溶液终止反应。在650nm处读取光密度。两个嵌合抗体以相当的EC50值结合Tau 151-391/4R,其与鼠类DC8E8抗体相当(图7)。序列用于设计DC8E8抗体的人源化版本。

[0868] 实施例2:小鼠DC8E8的人源化变体

[0869] 选择免疫球蛋白序列M65092作为用于人源化重链框架(FW)的人供体候选,这是由于其与DC8E8可变重链区(VH)较高的序列同一性和相似性。这两个可变区的序列比对可见于图8。下一步是将CDR1、2和3从DC8E8 VH移植到M65092的受体FW.Kabat位置9、21、27、28、30、38、48、67、68、70和95上的人残基在M65092的野生型可变重链区(RHA)中不保守。由于其位置(在使用程序Discovery Studio(Accelrys)的Kabat CDR的4Å内,除了位置9和21上的Pro),对这些残基测试其在tau结合中的重要性。该步骤是单克隆抗体人源化中最不可预测的程序之一,并且迫使鉴定来自亲本抗体的关键框架残基,其需要被保留以基本上保留亲本抗体的结合性质,同时将所得人源化抗体的可能免疫原性降至最小。这些非保守残基各自回复突变成DC8E8小鼠等同残基,通过RHM产生多个重组可变重链区RHA。(图8)。

[0870] 为了人源化轻链,以与重链类似的方法鉴定人 κ (轻)链。初始分析发现了若干可能的供体候选,但是所有这些证明均是人VK4,其显示弱的表达。将分析扩大至包括少一个残基的CDR1产生单个候选X72449,其比VK4候选显示与鼠类抗体较高级别的序列同源性。DC8E8可变 κ 轻链(VK)的序列与X72449的可变 κ 轻链比对。图9。RKA显示重组可变轻链,其DC8E8's CDRs移植到X72449框架上。在可选项RKB中,DC8E8's CDRs移植到X72449框架上并且Kabat残基5回复突变成相应的DC8E8轻链小鼠残基。

[0871] 通过GenScript和/或PCR诱变合成RHA到RHM、RKA和RKB的基因。使用GenScript专有的软件算法,通过沉默诱变密码子优化基因以使用人细胞优先利用的密码子。然后使用本领域通常进行的方法将RHA到RHM基因的各基因插入到人IgG1和IgG4表达载体中。以相同的方式将RKA和RKB基因插入到 κ 轻链表达载体中。本领域技术人员熟知并可通过商业途径获得此类表达载体的大量实例。将克隆测序并使用QIAGEN Plasmid Miniprep/Maxiprep试剂盒制备表达质粒DNA。编码所有不同的人源化和嵌合VH和VK序列的表达质粒制剂用于使用Invitrogen's Expi293表达系统试剂盒转染Expi293细胞,在无血清培养基中培养10天,在其上收集含有各分泌抗体的条件培养基。当需要时,使用抗体定量的常规方法通过ELISA测量Expi293条件培养基中IgG1k和IgG4k抗体的浓度。

[0872] 实施例3:DC8E8人源化版本的性质

[0873] tau蛋白通过DC8E8抗体的结合

[0874] 如实施例5中所述,通过结合ELISA测量与Tau蛋白(151-139/4R)的结合活性。图10中显示的数据显示了人源化DC8E8初始版本的结合效力。尽管所有版本均结合该初始组的Tau蛋白,但是含有重链RHB版本的那些抗体看起来结合地更好。重链的该版本含有至所有Kabat位置9、21、27、28、30、38、48、67、68、70和95上的鼠类残基的回复突变,表明这些残基的一个或多个对保留全长抗体结合活性是重要的。

[0875] 合成人源化重链的其他版本,其各自具有单个回复突变,并且通过ELISA测试结合。在图11、12和13中显示并概述了IgG4版本的结果。具有RHB、RHD和RHE的抗体版本一贯更好,其具有人源化轻链(RKA和RKB)或嵌合轻链(cDC8E8)。因为RHD和RHE版本仅含有单个鼠类回复突变,与版本RHB中11个鼠类回复突变相反,选择这两个版本作为可能的前导候选,与RKA轻链版本(无鼠类回复突变)缀合。令人惊讶的是,这些回复突变可能已经足以恢复与人源化抗体的结合亲和力。组合RHD和RHE突变(版本RHM)相对于各个单独突变不导致病理性tau结合性质的显著提高。

[0876] 根据上述结果,通过定点诱变产生含有RHD和RHE中存在的两个鼠类回复突变的重链版本(RHM)。图14显示Tau蛋白151-391/4R结合人源化DC8E8抗体的RHM版本,并且表明对于蛋白的亲和力不好于前导候选AX004(RHD/RKA)。

[0877] 人源化候选抗体对高温的热稳定性

[0878] 该实验的目的是比较人源化抗体的热稳定性。当遭受较高温度时,从30°变化至85°C,10分钟,冷却至4°C并以EC80浓度的各候选用于结合ELISA测定中。所测试的所有抗体看起来同样稳定(图15),所有抗体仅在70°C变得失活,但是在此之前对tau结合性质没有任何不想要的影响。

[0879] 人源化候选抗体T_m的测定

[0880] 为了测定前导抗体AX004(DA)、AX005(EA)、AX016(DB)和AX017(DE)的溶解温度,

在2步亲和层析和凝胶过滤系统(如实施例4中所述)中纯化人源化的、嵌合的和小鼠抗体并在热转移中进行测试。该热转移测定是用于监测热溶解曲线的微板结合测定。所述方法使用环境灵敏的染料SYPRO Orange, 其蛋白结合性质随蛋白质变性增加。因而,所分析的蛋白质被热诱导变性后,染料的结合增加并在蛋白质完全变性/展开时达到最大值。作为温度函数绘制的荧光强度因此产生典型的S形曲线,其中拐点(半最大强度)对应于蛋白质的熔解温度(T_m)。样品与荧光染料(Sypro Orange)在qPCR热循环仪中温育71个循环,每个循环增加1°C。在图16中指示了嵌合的和四个人源化抗体的 T_m 并证实了在热稳定性测定中获得的结果:所有的候选抗体具有非常相似的 T_m s (69-70°C)并且与嵌合抗体的那些(70°C)相似,但稍微低于小鼠抗体的 T_m (73°C)。

[0881] 人源化候选抗体的亲和力

[0882] 使用Biacore T200通过SPR分析进行抗体亲和力测定。抗人IgG(GE Healthcare, cat.no.BR-1008-39)或抗鼠类IgG(GE Healthcare, cat.no. BR-1008-38)共价固定到CM5芯片(Cat.no.BR-1005-30)上至饱和点并根据制造商的说明书。在HBS-EP缓冲液[0.01M HEPES pH 7.4, 0.15M NaCl, 3mM EDTA, 0.005%v/v表面活性剂P20, GE Healthcare]中稀释抗体小鼠DC8E8、嵌合DC8E8、AX004、AX005、AX016和AX017并通过亲和力结合固定至144到177RU的水平。在HBS-EP中以加倍稀释的20nM-0.312nM浓度稀释重组单体151-391/4R(在Argon饱和的PBS中),然后以100 μ L/min的流速注射。结合时间设置为150秒,解离时间设置为300秒。根据经验选择tau浓度以在结合相获得曲率。使用BIAcore T200评估软件包2.0根据1:1相互作用模型初步分析结合/解离的动力学。

[0883] 在图17-22中显示感应图。不幸的是,由于解离相的双相性和结合相中额外结合的一些证据,分析动力学是不可能的。使用稳态分析(Steady State Analysis)获得所显示的数据。鼠类和嵌合DC8E8均显示大约10nM的亲和力。前导人源化抗体显示相似的亲和力,从9mM(RHD/RKB)变化至大约16nM(RHE/RKA),其概述于图23中。这些结果提示人源化已经成功地保留了期望参数内的结合活性。

[0884] 人源化候选抗体的聚集

[0885] 认为聚集是药物开发中的一个严重问题,因为聚集可能降低生产过程中的产量,限制保存期限并由于增加的免疫原性在患者中导致降低的效力。以0.4mL/分钟将抗体样品注射到HPLC系统中的尺寸排阻柱中并通过多角度光散射进行分析以测定绝对摩尔质量和检查聚集(参见图24A、B、C和D)。平均分子量在160-169.8kDa之间的所有变体没有显示聚集征兆,所述平均分子量范围是该分析设置中用于IgG单体的预期范围。所有样品是单分散的($M_w/M_n < 1.05$)。质量回收率在99.6-99.9%之间(计算的质量相对于注射的质量),其表明良好的蛋白质回收并且样品看起来没有粘到柱上或不含有不可溶的聚集体,其可能被保护柱留住。总的来说,数据提示在所分析的任何抗DC8E8抗体样品中没有任何聚集问题。

[0886] 人源化候选抗体的溶解性

[0887] 使用溶剂吸附浓缩器(MWCO 7500kDa)浓缩纯化的候选抗体并以时间间隔测量浓度。所有样品均浓缩至35-41mg/ml,没有明显的沉淀,并且在结合ELISA中进行测试,所述结合ELISA显示没有样品丢失与Tau肽的结合可能性(图25和26)。数据提示抗体在高达至少35mg/ml的浓度下不易于沉淀。

[0888] 候选抗体的冰冻/融化应激分析

[0889] 纯化的候选抗体样品在-80℃下15分钟,随后在室温下融化15分钟进行 10个循环。然后通过SEC-MALS分析样品以分析聚集(图27)。数据提示冰冻/融化不诱导所有测试的四个抗体的聚集。总的来说,数据提示在任何所分析的抗DC8E8抗体样品中没有任何聚集问题。

[0890] 候选抗体的热诱导应激分析

[0891] 纯化的候选抗体样品热暴露在a) 室温,b) 37℃和c) 50℃下20天。然后通过SEC-MALS分析样品以分析聚集(图28)。总的来说,数据提示在任何所分析的抗DC8E8抗体样品中没有任何聚集问题。

[0892] 实施例4:重组全长tau同种型2N4R和错误无序的tau 151-391/4R的制备

[0893] 从克隆 τ 40 (Goedert, 1989) 产生重组tau蛋白,其亚克隆到表达质粒 pET-17b (Novagen) 中并在细菌中表达。根据最长的人tau同种型2N4R编号错误无序的tau 151-391/4R和所有的tau肽,所述2N4R长度为441个氨基酸并因此也称为tau441 (D' Souza, 2005)。产生tau蛋白包括以下步骤:a) 在细菌中表达tau;b) 通过离子交换层析进行tau纯化;c) 通过凝胶过滤进行tau纯化;d) 浓缩和储存分离的tau;

[0894] a) 细菌表达人全长tau 2N4R和错误无序的tau151-391/4R:将表达质粒转化到大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 生产菌株BL21 (DE3) 中。培养含有合适的表达质粒的细菌细胞并如Sambrook和Russell (2001) 的“Molecular Cloning: A Laboratory Manual”中所述进行诱导。在37℃下,具有100 μ g/ml氨苄青霉素的500ml的Luria培养液培养基中以300rpm培养BL21 (DE3) 细菌的单克隆并通过加入异丙基- β -D-硫代半乳糖苷 (IPTG) 至0.4mM的终浓度进行诱导,所述 BL21 (DE3) 细菌的单克隆被驱动tau蛋白或其片段表达的pET-17b质粒转化。在37℃进一步温育3小时后,通过在4℃以3,000xg离心15分钟收集细菌。

[0895] b) 基本上如先前所述 (Krajciova等, 2008) 完成碱性和中性tau蛋白(全长tau同种型和tau 151-391/4R) 的阳离子交换层析纯化。表达后,将细菌沉淀重悬于10ml的裂解缓冲液(50mM 1,4-哌嗪二乙磺酸(PIPES) pH 6.9、50mM氯化钠(NaCl)、1mM乙二胺四乙酸(EDTA)、5mM二硫苏糖醇(DTT)、0.1mM苯甲磺酰氟(PMSF)、5% (v/v) 甘油) 中,快速冰冻在液氮中并储存在-80℃直至用于纯化tau蛋白。对于tau蛋白纯化,将冰冻的细菌悬浮液快速融化并置于冰上。通过使用Sonopuls HD 2200,探头TT-13 (Bandelin, Germany) 设置为50% 工作循环,50W功率输出,30秒,停顿30秒,6次在冰上超声破碎细菌细胞壁。通过离心(在4℃下21,000xg, 15分钟) 澄清裂解物并通过0.45 μ m膜过滤器过滤上清液。使用ÄKTA-FPLC工作站 (Amersham Biosciences, Sweden) 在6℃下完成重组tau蛋白的大规模纯化。以3ml/分钟流速将过滤的裂解物装载到利用裂解缓冲液平衡的5-ml HiTrap SP HP柱 (GE Healthcare, Uppsala, Sweden) 上,并利用60ml的裂解缓冲液充分清洗直至280nm处的基线变得稳定。通过缓冲液B(补充有1M NaCl的裂解缓冲液) 的梯度(15ml内0-30%) 洗脱结合的tau蛋白。收集各自1ml级分并通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE) 进行分析。为了去除核酸(其与带正电荷的tau蛋白共纯化),汇集含有tau蛋白的级分并通过第二个阳离子交换层析步骤,使用具有缓冲液B的较缓梯度(45ml内0-30%) 的5-ml HiTrap SP HP柱 (GE Healthcare, Uppsala, Sweden) 进行纯化。

[0896] c) 在纯化的最终凝胶过滤步骤中(对于所有tau蛋白均相同),将通过离子交换层

析获得的汇集tau蛋白级分以3ml/分钟注射到凝胶过滤柱(HiLoad 26/60 Superdex 200 prep grade column, GE Healthcare)上,其在分别用于碱性/中性或酸性tau蛋白的补充有100mM NaCl的PIPES或组氨酸裂解缓冲液中。汇集洗脱的tau蛋白。

[0897] d) 为了在凝胶过滤纯化后进行tau蛋白的浓缩,利用1.5体积的2.5%甘油 稀释汇集的级分,并再次装载到HiTrap SP HP柱(碱性和中性tau蛋白)或 HiTrap Q HP柱(酸性tau蛋白)上。然后从具有1M NaCl不连续梯度的柱上洗脱 浓缩的重组tau蛋白。最后,使用5ml HiTrap脱盐柱(GE Healthcare)将缓冲液 交换成利用氩饱和的磷酸缓冲盐溶液(PBS, 8.09mM磷酸二钠(Na_2HPO_4)、1.47mM磷酸二氢钾(KH_2PO_4)、136.89mM NaCl、2.7mM氯化钠(KCl))。使用二喹啉甲酸(BCA)定量试剂盒(Pierce, USA),利用牛血清白蛋白(BSA)作为标准品完成纯化样品的蛋白定量。将tau蛋白等分成工作等分式样,在液氮中 速冻,并储存在-70℃。

[0898] 实施例5:嵌合DC8E8的性质

[0899] a/嵌合DC8E8对错误无序的tau 151-391/4R比对全长tau 2N4R展示更高的亲和力。

[0900] 通过ELISA和表面等离子共振(SPR)测定嵌合DC8E8对与病理性tau和生理性tau的免疫反应性的辨别能力。

[0901] 对于ELISA和SPR实验,在蛋白G亲和柱上从无血清杂交瘤上清液中纯化小鼠DC8E8,如下。通过加入0.2体积的PBS并利用pH试纸条检查来将杂交 瘤上清液调整至pH 7.5(必要时,通过加入4M NaOH进一步调整pH),通过离心(20,000xg, 4℃, 10分钟)预清除溶液,通过0.45μm膜过滤器过滤,并装载到 1ml蛋白G琼脂糖柱上(以1-0.5ml/分钟的流速)。利用0.1M甘氨酸-HCl, pH 2.7 从柱上洗脱DC8E8。利用1M Tris-HCl pH 9.0立即中和洗脱的级分。针对PBS 透析汇集的级分,通过超滤进行浓缩,并储存在-70℃。通过测量280nm处的吸光度,使用式 $c(\text{mg/ml}) = A_{280\text{nm}}/1.43$ 测定抗体的浓度。

[0902] 在Expi293细胞中表达嵌合DC8E8并通过如上为小鼠DC8E8描述的具有 少许修饰的亲层析和尺寸排阻层析从无血清条件培养基中进行纯化。将细 胞培养基调整至pH 7.5,通过离心预清除,通过0.45μm膜过滤器过滤,并使 用Dulbecco PBS作为结合和清洗缓冲液将其装载到1ml HiTrap MabSelect SuRe蛋白A柱上。利用补充有150mM NaCl的0.1M柠檬酸钠pH 2.5从柱上洗脱 嵌合的DC8E8 mAb。利用1M Tris-HCl pH 9.0立即中和洗脱的级分。在HiLoad 16/600 Superdex 200pg柱上,以Dulbecco PBS作为运行缓冲液,通过尺寸排阻层析精制汇集的级分。通过测量280nm处的吸光度,使用式 $c(\text{mg/ml}) = A_{280\text{nm}}/1.37$ 测定抗体的浓度。

[0903] 对于直接ELISA测定,以PBS中5μg/ml, 50μl/孔将错误无序的tau151- 391/4R或全长tau 2N4R固定在ELISA板上(Nunc, MediSorp),并在37℃温育过 夜。利用PBS-0.05% Tween 20(20-25℃下1小时)封闭以减少非特异性结合后, 平板与封闭缓冲液(PBS, 0.05% Tween 20)中50μl/孔的三倍连续抗体稀释 (10000ng/ml-0.17ng/ml的浓度范围)在37℃下温育1小时。温育和清洗后, 在PBS-Tween缓冲液中以1:4000稀释过氧化物酶缀合的二级抗体(抗人Ig, Pierce, ThermoScientific)并应用到孔中(50μ/孔)在37℃下1小时。清洗后, 利用色蓝溶液(colorburst blue solution)(50μ/孔)作为过氧化物酶底物将反应显 色20分钟并利用50μl的2M H_2SO_4 进行终止。使用Multiscan MCC/340 ELISA 读取器

(Labsystems) 在450nm处测量吸光度。认为吸光值至少是阴性对照 (PBS) 值的两倍的读数是阳性的。

[0904] 分析显示嵌合抗体DC8E8能够在错误无序的tau 151-391/4R与生理性 tau 2N4R之间进行辨别(图29A)。嵌合DC8E8识别生理性tau 2N4R的程度比其识别病理性/错误无序的tau 151-391/4R的程度低得多。重要的是,嵌合 DC8E8的免疫反应性与小鼠DC8E8的免疫反应性相当(图29B)。嵌合DC8E8 和小鼠DC8E8以相似的 EC_{50} 值结合所分析的tau蛋白(病理性和生理性tau),如图29C中所示。总的来说,这些发现提示嵌合DC8E8的结合性质与初始小鼠 DC8E8的结合性质相当。

[0905] 表面等离子体共振 (SPR) 用于检测和定量蛋白结合并通过直接实时监测 结合事件用于测定蛋白复合体(例如,抗体-抗原复合体)的热动力学参数。该技术常规用于表征诊断和治疗抗体(参见例如,Karlsson和Larsson, Affinity Measurement Using Surface Plasmon Resonance, Methods in Molecular Biology, 第248卷:Antibody Engineering: Methods and Protocols. 由B.K.C.Lo ©Humana Press Inc., Totowa, NJ, (2008) 编辑)。

[0906] 具有CM5传感器芯片(Biacore AB, Uppsala)的BIACORE3000仪器用于 SPR测定。从Biacore AB获得胺偶联剂(EDC, NHS, 乙醇胺pH 8.5)、P20去污剂和10mM醋酸钠pH 5.0。这些实验在25°C下具有0.005%的P20 (PBS-P) 作为运行缓冲液的PBS pH 7.4中完成。对于嵌合DC8E8, 山羊抗人Fc多克隆抗体 (SIGMA, Cat. no. I2136) 在pH 5.0时在两个流动室中经过伯胺同时偶联到 5,000RU (应答单位), 所述两个流动室中的一个用于参照测量。对于小鼠DC8E8, 利用多克隆抗小鼠抗体 (No. Z 0420; DakoCytomation, Glostrup, Denmark) 包被分析性流动室。

[0907] 在各分析循环中, 在分析性流动室中分别捕获纯化的嵌合DC8E8和小鼠 DC8E8以达到200-250RU的固定水平。为了测定平衡结合常数(K_A)以及测定动力速率常数(k_{ON} 和 k_{OFF}), 以100 μ l/分钟的流速将两倍连续稀释的 tau151-391/4R和生理性tau 2N4R (针对其测定DC8E8亲和力) 或PBS-P作为对照注射到传感器芯片上。由Myszka (1999) 描述并通过BIA评估软件4.1 (Biacore AB) 拟合分别双重参考动力学结合数据以获得解离速率常数和结合速率常数。平衡结合常数 K_A 获得为结合和解离速率常数的比率。

[0908] 为了定量嵌合DC8E8对所测试的tau蛋白的亲和力, 测定DC8E8与生理性、四个重复tau蛋白同种型2N4R以及病理性错误无序的tau 151-391/4R的结合平衡结合常数(K_A)。如实施例4中所述制备用于SPR的两种tau蛋白。嵌合DC8E8抗体在错误无序的tau151-391/4R蛋白与生理性tau蛋白2N4R之间进行辨别(图30)。嵌合DC8E8的辨别能力的程度甚至稍微高于初始小鼠 DC8E8抗体的辨别能力。这些结果证实:(1) 人源化DC8E8对tau的错误无序的形式的特异性, 和(2) DC8E8对错误无序的tau (即, 疾病或病理性tau) 相对于全长tau (即, 正常的或生理性tau) 的选择性。

[0909] b/嵌合DC8E8结合tau肽, 其各自在蛋白tau的微管结合域的重复区中携带四个DC8E8表位中的一个

[0910] 先前结果显示小鼠DC8E8具有人tau上的四个结合位点或表位(267-273、298-304、329-335和361-367), 其各自分别定位在tau的微管结合域中的重复 中的一个中 (WO/2013/041962, Kontseikova等, 2014)。为了测试嵌合DC8E8结合四个表位任何一个的能力, 通过EZBiolabs (USA) 合成纯度高于95%的tau 肽256-285、282-311、314-342、352-380。各

肽包括四个单独的DC8E8表位之一。通过直接ELISA测量嵌合DC8E8与tau肽的结合活性,如实施例5a/中所述。嵌合DC8E8结合所有测试的MTBR来源肽(图31A),与初始小鼠DC8E8类似(图31B)。重要的是,最高的免疫反应性显示嵌合和小鼠DC8E8与肽282-311,其来源于MTBR11并且其包含位置298-304内的DC8E8表位。嵌合抗体与额外测试的肽(256-285、314-342、352-380)的免疫反应性比与初始小鼠DC8E8的免疫反应性甚至稍微更高,如 EC_{50} 值所示(图31C)。

[0911] c/嵌合DC8E8抑制病理性tau-tau相互作用

[0912] 体外tau细丝化测定用于测定嵌合抗体是否对病理性tau-tau相互作用具有抑制效果。所述测定基于tau蛋白的固有性质,即其与多聚阴离子,如硫酸化的糖胺聚糖肝素相互作用后经历构象变化的能力。一个tau分子上的这种改变的构象进一步导致其与另一tau分子的病理性相互作用,tau-tau复合体通过在相互作用的tau分子的微管结合区中形成交叉- β 折叠结构而稳定,和最后,形成阿尔茨海默氏病样成对螺旋纤丝(PHF)(Skrabana,R.,Sevcik,l.,Novak, M. (2006). *Intrinsically disordered proteins in the neurodegenerative processes: formation of tau protein paired helical filaments and their analysis.* Cell Mol Neurobiol 26,1085-1097)。可以通过荧光染料,像硫黄素T来检测富含 β 折叠的结构形成(Friedhoff P,Schneider A,Mandelkow EM,Mandelkow E. *Rapid assembly of Alzheimer-like paired helical filaments from microtubule-associated protein tau monitored by fluorescence in solution.* Biochemistry 37(28):10223-30 (1998))。

[0913] 对于体外tau细丝化测定,通过实施例5中所述的方法纯化小鼠和嵌合DC8E8。在PBS中设置测定以测量嵌合DC8E8对病理性tau-tau相互作用的影响(通过0.2 μ m过滤器过滤),所述PBS含有:10 μ M(终浓度)的错误无序的tau 151-391/4R;10 μ M肝素(来自猪小肠粘膜的肝素钠盐, ≥ 150 IU/mg,折干计算,平均分子量6000Da,来自SIGMA);和12.5 μ M(终浓度)硫黄素T。各反应(50 μ l终体积)在37 $^{\circ}$ C下在密封的黑色固体聚苯乙烯平板(384孔, Greiner BioOne)中温育20小时。使用荧光读取器(Fluoroskan Ascent FL(Labsystems)),以450nm的激发波长,510nm的发射波长,和200ms的测量时间测量硫黄素T荧光。为了测定嵌合DC8E8对病理性tau-tau相互作用的抑制活性,在37 $^{\circ}$ C温育前向反应混合物中加入10 μ M终浓度的纯化的嵌合DC8E8。在缺少(“无抗体”)和存在嵌合抗体的情况下通过硫黄素T荧光测量构象改变的和细丝化的tau的量(图32)。以10 μ M终浓度添加的嵌合DC8E8和小鼠DC8E8防止错误无序的tau蛋白的病理性构象变化和细丝化。嵌合DC8E8降低细丝化病理性tau形式的量至少于5.9%,小鼠降低细丝化病理性tau形式的量至少于4.7%。数据显示嵌合抗体以与亲本DC8E8相当的能力防止错误无序的tau蛋白的病理性构象变化和细丝化。

[0914] 实施例6:DC8E8的人源化版本的性质

[0915] a/DC8E8的人源化版本对错误无序的tau 151-391/4R比对全长tau 2N4R展示较高的亲和力。

[0916] 为了评估DC8E8的人源化版本在与病理性和生理性tau蛋白的免疫反应性之间的辨别能力,使用ELISA和SPR,如实施例5中所述。根据实施例5中所述用于纯化嵌合DC8E8的方法纯化DC8E8的所有人源化变体,即X004、AX005、AX016、AX017(在同种型IgG4和IgG1中)。

[0917] ELISA显示所有人源化前导AX004、AX005、AX016和AX017 (IgG4和 IgG1同种型的)均能够识别病理性tau151-391/4R(图33A-D;图34A-D)。重要的是,各人源化DC8E8变体对病理性tau 151-391/4R的结合高于对生理性 tau 2N4R的结合。然而,含有重链的RHE版本的前导(AX005和AX017)结合 生理性tau似乎比含有重链的RHD版本的前导AX004和AX016弱(图33F;图 34E)。尽管AX005和AX017结合生理性tau较弱,人源化前导AX004、AX005、AX016和AX017的辨别能力的程度与嵌合DC8E8抗体的类似,如 EC_{50} 值所示。总的来说,测试的人源化抗体的结合性质与嵌合抗体(和亲本小鼠 DC8E8,图29)的结合性质相当。

[0918] 对于如上所述为嵌合DC8E8进行的SPR实验,使用DC8E8单克隆抗体的人源化变体和嵌合DC8E8。在各分析循环中,在分析性流动室中分别捕获 DC8E8的纯化的人源化版本以达到200-250RU的固定水平。为了定量人源化 DC8E8对所测试的tau蛋白各自的亲和力,测定抗体与生理性、四个重复tau 蛋白同种型2N4R以及病理性错误无序的tau 151-391/4R的结合的结合平衡 结合常数(KA)。根据实施例4制备用于SPR的所有tau蛋白。各人源化DC8E8变体对错误无序的tau 151-391/4R的亲和力高于对全长tau 2N4R的亲和力。(图35A、B)。这些结果证实:(1)人源化DC8E8对tau的错误无序的形式的特异性,和(2)DC8E8对错误无序的tau(即,疾病或病理性tau)相对于全长 tau(即,正常的或生理性tau)的选择性。

[0919] b/DC8E8的人源化版本结合tau肽,其各自在tau的微管结合域中携带四个DC8E8表位中的一个

[0920] 该实验的目标是测定DC8E8的人源化前导(AX004、AX005、AX016、AX017,同种型IgG4和同种型IgG1)结合tau肽256-285、282-311、314-342、352-380的能力。这些肽各自包含tau的微管结合重复(MTBR)中的四个单独 DC8E8表位中的一个。通过ELISA测量DC8E8的人源化前导与tau肽的结合活性,如实施例5中所述。所测试的人源化抗体各自结合所有MTBR来源的肽(图 36A-D;图37A-D),与嵌合DC8E8类似(图36E)。这对于IgG1和IgG4同种型版本均是正确的。人源化候选抗体显示与肽282-311的最高免疫反应性,所述肽 来源于MTBR II并且其包含位置298-304内的DC8E8表位,如 EC_{50} 值所示(图 36F;图37E)。含有重链的RHE版本的前导(AX005和AX017)结合其他所测试的肽(256-285,314-342,352-380)比含有重链的RHD版本的前导AX004和 AX016弱(图36F;图37E)。总之,数据提示人源化抗体AX004和AX016与测试的肽的免疫反应性和嵌合DC8E8与测试的肽的免疫反应性类似,如 EC_{50} 值所示(图36F)。

[0921] c/DC8E8的人源化版本能够抑制病理性tau-tau相互作用

[0922] 为了测定人源化候选抗体(即AX004、AX005、AX016、AX017,同种型 IgG4和同种型IgG1)对tau细丝化和tau聚集体形成的影响,进行体外tau细丝化 测定(如实施例5中所述)。如实施例5中所述纯化DC8E8的所有人源化前导。根据实施例4制备用于细丝化测定的病理性tau蛋白151-391/4R。

[0923] 为了测定人源化候选抗体对病理性tau-tau相互作用的抑制活性,在37°C 温育前向反应混合物中加入10 μ M终浓度的纯化的人源化前导AX004、AX005、AX016、AX017(同种型IgG4和同种型IgG1)。在缺少(“无抗体”)和存 在所测试的抗体的情况下通过硫磺素T荧光测量构象改变的和细丝化的tau 的量。结果显示以10 μ M终浓度添加的所有人源化抗体防止错误无序的tau 蛋白的病理性构象变化和细丝化(图38A和B)。抗体的同种型不影响人源化抗体的抑制潜能。人源化前导AX004、AX005、AX016和AX017(IgG4和IgG1 同种型版本)降低

细丝化病理性tau形式的量至少于3%。数据提示人源化抗体 以与原始小鼠DC8E8相当的能力防止错误无序的tau蛋白的病理性构象变化 和细丝化。

[0924] 实施例7:嵌合DC8E8和DC8E8的人源化版本识别阿尔茨海默氏病脑和 其他tau病变中的病理

[0925] 从荷兰脑库中获得人脑组织样品(在石蜡块上)。在切片机上切割块。来自阿尔茨海默氏病脑(Braak's阶段VI)和FTDP17(R406W突变)的海马回内嗅 皮质,来自皮质基底节变性和进行性核上性麻痹的尾状核的石蜡切片(8 μ m) 用于研究。利用冷的(+4 $^{\circ}$ C)98%甲酸处理切片1分钟,随后在压力锅(2100 Retriever)中121 $^{\circ}$ C下热处理20分钟。组织切片在封闭溶液(Section block, Aptum)中在室温下温育10分钟,然后与初级小鼠抗体DC8E8(1:200)、人抗 体AX004、AX005、AX016、AX017和嵌合DC8E8(所有1:1000)温育过夜。随后,切片与生物素化的二级抗体(Vectastain Elite ABC Kit,Vector Laboratories)在室温下温育1小时,然后与抗生物素蛋白-生物素过氧化物酶复 合体反应60分钟(Vectastain Elite ABC Kit,Vector Laboratories),两者均在室温 (25 $^{\circ}$ C)下。利用过氧化物酶底物试剂盒(Vector VIP,Vector laboratories, Ca, USA)使免疫反应可见并且利用甲基绿(Vector Laboratories)进行复染。在光学 显微术以x100-400放大下进行免疫反应性的评估。在细胞定位和染色模式 基础上定义tau免疫阳性损伤的形态详情。使用装配有Olympus DP50数码相机(Olympus BX51显微镜(Olympus Optical Co.,Ltd.,Tokyo,Japan)获取数字 图像。

[0926] 阿尔茨海默氏病、进行性核上性麻痹、皮质基底节变性和FTDP-17患者 的人脑的免疫组织化学染色揭示嵌合DC8E8抗体展示与小鼠DC8E8相同的 染色模式(图39-46,A、B)。我们比较了嵌合抗体与人源化DC8E8抗体-AX004、AX005、AX016和AX017的免疫组织化学染色。一般而言,人源化抗体AX004 和AX016(IgG1和IgG4)展示与小鼠或嵌合DC8E8非常类似的染色模式。人源 化抗体AX004和AX016识别人AD脑中大量的神经原缠结、神经毡细丝和神经炎斑(图39C,E;40C,E)。在人中,tau蛋白上R406W、AX004和AX016 处携带突变的FTDP-17病例免疫标记嗅和颞叶皮层中的神经原缠结和神经毡 细丝(图41C,E;42C,E)。在皮质基底节变性中,AX004和AX016染色尾 状核中的神经胶质tau病理(图43C,E;44C,E)。在进行性核上性麻痹中,AX004和AX016识别大量的少突胶质细胞螺旋体和星形胶质细胞斑块(图45C,E;46C,E)。相反,AX005和AX017在阿尔茨海默氏病(图39D,F;40D,F)中,在FTDP-17(图41D,F)中,在皮质基底节变性(图43D,F;44D, F)中和在进行性核上性麻痹(图45D,F;46D, F)中展示减少的免疫染色。有 趣的是,AX005和AX017的同种型IgG4在FTDP17中不染色病理性结构(图 42D,F)。总的来说,人源化抗体AX004和AX016与DC8E8具有相同的染色 模式。

序列表

<110> NOVAK, MICHAL

KONTSEKOVA, EVA

KOVACECH, BRANISLAV

SKRABANA, ROTISLAV

<120> 阿尔茨海默氏病中的人源化 tau 抗体

<130> 11634.6003.00000

<140>

<141>

[0001]

<160> 177

<170> 专利版本 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
肽

<400> 1

Asp Tyr Val Ile Ser

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
肽

<400> 2

Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

[0002] 1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
肽

<400> 3

Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

肽

[0003]

<400> 4

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

肽

<400> 5

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

[0004] 肽

<400> 6

Lys Gln Ser Phe Tyr Leu Arg Thr

1 5

<210> 7

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 7

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr
 1 5 10 15

Ser Val Lys Met Pro Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

[0005]

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Val Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 8

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 8

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

1 5 10 15

[0006]

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

Met Gln Leu Ser Ser Val Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85

90

95

[0008]

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 10

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 10

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

[0009]

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln

85 90 95

Ser Phe Tyr Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys

100 105 110

Met Gln Leu Ser Ser Val Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115

120

[0011]

<210> 12

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 12

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

1

5

10

15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20

25

30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35

40

45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50

55

60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65

70

75

80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln

85

90

95

[0012]

Ser Phe Tyr Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys

100

105

110

<210> 13

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

多肽

<400> 13

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

[0013]

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 14

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 14

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

[0014]

Ser Val Lys Val Pro Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln			
	100	105	110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
	115	120	

[0015]

<210> 15

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 15

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Pro Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

[0016]

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 16

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

多肽

<400> 16

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Asp Tyr

 20 25 30

[0017]

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

 35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

 50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 17

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

[0018]

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 17

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ile Phe Ser Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

[0019]

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 18

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

多肽

<400> 18

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

[0020]

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 19

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 19

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

[0021]

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln			
	100	105	110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
	115	120	

[0022]

<210> 20

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 20

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

[0023]

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 21

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

多肽

<400> 21

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

 20 25 30

[0024]

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

 35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

 50 55 60

Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 22

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0025]

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 22

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

[0026]

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 23

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

多肽

<400> 23

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

[0027]

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 24

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 24

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

[0028]

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln			
	100	105	110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
	115	120	

[0029]

<210> 25

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 25

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Ser Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

[0030]

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 26

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

多肽

<400> 26

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

 20 25 30

[0031]

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln

 35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys

65 70 75 80

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Lys Gln

 85 90 95

Ser Phe Tyr Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

<210> 27

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

多肽

<400> 27

[0032]

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

1

5

10

15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20

25

30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln

35

40

45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50

55

60

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

[0034]

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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
[0035]			
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

[0036]

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385	390	395	400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp			
	405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His			
	420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro			
	435	440	445

[0037]

Gly Lys
450

<210> 29

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成
多肽

<400> 29

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1	5	10	15
Ser Val Lys Val Pro Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr			
	20	25	30
Val Ile Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile			
	35	40	45
Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe			
	50	55	60
[0038]			
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr			
	65	70	75
			80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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

[0039]

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

[0040]

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305

310

315

320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325

330

335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340

345

350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355

360

365

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

370

375

380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385

390

395

400

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

405

410

415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420

425

430

[0041]

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435

440

445

Gly Lys

450

<210> 30

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多肽

<400> 30

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Pro Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

 20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

 35 40 45

[0042]

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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

[0043]

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

340

345

350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355

360

365

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

370

375

380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385

390

395

400

[0045]

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

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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

[0047]

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

[0048]

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260

265

270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275

280

285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290

295

300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305

310

315

320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

[0049]

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

<210> 32

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

[0050]

<400> 32

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ile Phe Ser Asp Tyr

 20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

[0051]

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

[0052]

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

[0053]

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355

360

365

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

370

375

380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385

390

395

400

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

405

410

415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420

425

430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435

440

445

Gly Lys

450

[0054]

<210> 33

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 33

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Thr Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

[0055]

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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
[0056]			
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

[0057]

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr			
	20	25	30
Val Ile Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
	35	40	45
Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe			
	50	55	60
[0059]			
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr			
	65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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

[0060]

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

[0061]

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305

310

315

320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325

330

335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340

345

350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355

360

365

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

370

375

380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385

390

395

400

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

405

410

415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420

425

430

[0062]

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435

440

445

Gly Lys

450

<210> 35

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多肽

<400> 35

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

 20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

 35 40 45

[0063]

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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

[0064]

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

340

345

350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355

360

365

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

370

375

380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385

390

395

400

[0066]

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

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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

[0068]

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

[0069]

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260

265

270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275

280

285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290

295

300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305

310

315

320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

[0070]

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

<210> 37

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

[0071]

<400> 37

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

[0072]

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

[0073]

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

[0074]

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355

360

365

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

370

375

380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385

390

395

400

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

405

410

415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420

425

430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435

440

445

Gly Lys

450

[0075]

<210> 38

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 38

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

[0076]

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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
[0077]			
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
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

[0078]

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340

345

350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355

360

365

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

370

375

380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr			
	20	25	30
Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
	35	40	45
Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe			
	50	55	60
[0080]			
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr			
	65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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

[0081]

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

[0082]

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305

310

315

320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325

330

335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340

345

350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355

360

365

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

370

375

380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385

390

395

400

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

405

410

415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420

425

430

[0083]

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435

440

445

Gly Lys

450

<210> 40

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多肽

<400> 40

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Ser Asp Tyr

 20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

 35 40 45

[0084]

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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

[0085]

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

340

345

350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355

360

365

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

370

375

380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385

390

395

400

[0087]

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

Met Gln Leu Ser Ser Val Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Ser 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

[0089]

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

[0090]

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260

265

270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275

280

285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290

295

300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305

310

315

320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

[0091]

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

<210> 42

<211> 444

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 42

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr

1 5 10 15

[0092]

Ser Val Lys Met Pro Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65	70	75	80
Met Gln Leu Ser Ser Val Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln			
	100	105	110
Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val			
	115	120	125
[0093]			
Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr			
	130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr			
	145	150	155
Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
	165	170	175
Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser			
	180	185	190

Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
 195 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys
 210 215 220

Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
 245 250 255

[0094]

Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
 260 265 270

Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Ile Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro
 290 295 300

Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val

305	310	315	320	
Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr				
	325	330	335	
Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys				
	340	345	350	
Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn				
	355	360	365	
[0095]				
Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro				
	370	375	380	
Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser				
	385	390	395	400
Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala				
	405	410	415	
Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His				
	420	425	430	

His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys

435

440

<210> 43

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 43

[0096]

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

180

185

190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210

215

220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

225

230

235

240

[0098]

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245

250

255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260

265

270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275

280

285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290

295

300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

[0099]

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435

440

445

<210> 44

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

[0100]

<400> 44

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Pro Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

[0101]

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

115

120

125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210

215

220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

225

230

235

240

[0102]

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245

250

255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260

265

270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275

280

285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290

295

300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305

310

315

320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325

330

335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340

345

350

[0103]

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355

360

365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370

375

380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385

390

395

400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405

410

415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435

440

445

<210> 45

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

[0104]

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 45

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Pro Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

[0105]

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210

215

220

[0106]

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

225

230

235

240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245

250

255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260

265

270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275

280

285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

[0107]

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405

410

415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435

440

445

<210> 46

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

[0108]

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 46

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

[0109]

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210

215

220

[0110]

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

225

230

235

240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245

250

255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260

265

270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

[0111]

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405

410

415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435

440

445

<210> 47

<211> 447

[0112]

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 47

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ile Phe Ser Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

[0113]

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys			
	195	200	205
[0114]			
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro			
	210	215	220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val			
	225	230	235
			240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
	245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu			
	260	265	270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

[0115]

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385	390	395	400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg			
	405	410	415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu			
	420	425	430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys			
	435	440	445

[0116]

<210> 48

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 48

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Thr Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

[0117]

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

130

135

140

260

265

270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275

280

285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290

295

300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305

310

315

320

[0119]

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325

330

335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340

345

350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355

360

365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370

375

380

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

20

25

30

Val Ile Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

[0121]

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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

[0122]

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210

215

220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

225

230

235

240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245

250

255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260

265

270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275

280

285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290

295

300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305

310

315

320

[0123]

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325

330

335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340

345

350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355

360

365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370

375

380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385

390

395

400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405

410

415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

[0124]

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435

440

445

<210> 50

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 50

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr			
	20	25	30
Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile			
	35	40	45
Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe			
	50	55	60
[0125]			
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr			
	65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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

[0126]

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210

215

220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

225

230

235

240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245

250

255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260

265

270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275

280

285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290

295

300

[0127]

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305

310

315

320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325

330

335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340

345

350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355

360

365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370

375

380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385

390

395

400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405

410

415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

[0128]

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435

440

445

<210> 51

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

多肽

<400> 51

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

[0129]

Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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

[0130]

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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210

215

220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

225

230

235

240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245

250

255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260

265

270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275

280

285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290

295

300

[0131]

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305

310

315

320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325

330

335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340

345

350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355

360

365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370

375

380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385

390

395

400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405

410

415

[0132]

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435

440

445

<210> 52

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 52

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

[0133]

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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

[0134]

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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

225	230	235	240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
	245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu			
	260	265	270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
	275	280	285
[0135]			
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
	290	295	300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
	305	310	315
			320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile			
	325	330	335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro			
	340	345	350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355

360

365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370

375

380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385

390

395

400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405

410

415

[0136]

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435

440

445

<210> 53

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多肽

<400> 53

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

 20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

 35 40 45

[0137]

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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

[0138]

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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210

215

220

340

345

350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355

360

365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370

375

380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385

390

395

400

[0140]

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405

410

415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435

440

445

<210> 54

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

多肽

<400> 54

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr

 20 25 30

[0141]

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

 35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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

[0142]

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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210

215

220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

225

230

235

240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245

250

255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260

265

270

[0143]

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275

280

285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290

295

300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305

310

315

320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325

330

335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340

345

350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355

360

365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370

375

380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385

390

395

400

[0144]

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405

410

415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435

440

445

<210> 55

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 55

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Ser Asp Tyr

 20 25 30

[0145]

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

 35 40 45

Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

 50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

130

135

140

[0146]

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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210

215

220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

225

230

235

240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245

250

255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260

265

270

[0147]

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275

280

285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290

295

300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305

310

315

320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325

330

335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340

345

350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355

360

365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370

375

380

[0148]

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385

390

395

400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405

410

415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435

440

445

Met Gln Leu Ser Ser Val Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85

90

95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

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

115

120

125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

130

135

140

[0150]

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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210

215

220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

225

230

235

240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245

250

255

[0151]

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260

265

270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275

280

285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290

295

300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305

310

315

320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325

330

335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340

345

350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355

360

365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370

375

380

[0152]

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385

390

395

400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405

410

415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435

440

445

<210> 57

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 57

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

1 5 10 15

[0153]

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys

65	70	75	80
Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Lys Gln			
	85	90	95
Ser Phe Tyr Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
	100	105	110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu			
	115	120	125
[0154]			
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe			
	130	135	140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln			
145	150	155	160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser			
	165	170	175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu			
	180	185	190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

195

200

205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

215

<210> 58

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列

[0155]

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 58

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

1

5

10

15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20

25

30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln

35

40

45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50

55

60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys

65

70

75

80

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Lys Gln

85

90

95

Ser Phe Tyr Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

[0156]

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

115

120

125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

130

135

140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145

150

155

160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165

170

175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

180

185

190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

195

200

205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

215

[0157]

<210> 59

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 59

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

1

5

10

15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20

25

30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35

40

45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50

55

60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65

70

75

80

[0158]

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln

85

90

95

Ser Phe Tyr Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys

100

105

110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

115

120

125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

130

135

140

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

20

25

30

Val Ser Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser

35

40

45

Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

50

55

60

Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg

65

70

75

80

[0160]

Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

85

90

95

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr

100

105

110

Tyr Cys Lys Gln Ser Tyr Asn Leu

115

120

<210> 61

<211> 101

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 61

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

1 5 10 15

Asp Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

 20 25 30

Arg Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Trp Gln

 35 40 45

[0161]

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

 85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro

100

<210> 62

<211> 121

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 62

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Met Ser Leu Leu Phe Trp Val Ser

1 5 10 15

Gly Thr Cys Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr

20 25 30

[0162]

Val Thr Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser

35 40 45

Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln

50 55 60

Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg

65 70 75 80

Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

85

90

95

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr

100

105

110

Tyr Cys Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro

115

120

<210> 63

<211> 121

<212> PRT

<213> 小家鼠

[0163]

<400> 63

Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser

1

5

10

15

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

20

25

30

Val Ser Val Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser

35

40

45

Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

20

25

30

Val Ser Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser

35

40

45

Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

50

55

60

Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg

65

70

75

80

[0165]

Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

85

90

95

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr

100

105

110

Tyr Cys Gln Asn Asp His Ser Tyr Pro

115

120

<210> 65

<211> 126

<212> PRT

<213> 智人

<400> 65

Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser Gly Ser Ser Gly Asp

1 5 10 15

Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu

 20 25 30

Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ile Asn

 35 40 45

[0166]

Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro

50 55 60

Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp

65 70 75 80

Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser

 85 90 95

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Leu

100 105 110

Gln Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115

120

125

<210> 66

<211> 98

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 66

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala

1

5

10

15

[0167]

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20

25

30

Gly Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35

40

45

Gly Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85

90

95

Ala Arg

<210> 67

<211> 98

<212> PRT

<213> 小家鼠

[0168]

<400> 67

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1

5

10

15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20

25

30

Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35

40

45

Gly Lys Ile Gly Pro Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

50

55

60

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

65

70

75

80

Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala

85

90

95

Arg

[0170]

<210> 69

<211> 98

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 69

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1

5

10

15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20

25

30

Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35

40

45

Gly Trp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

Met Leu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85

90

95

[0171]

Ala Arg

<210> 70

<211> 98

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 70

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr

20

25

30

Leu Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35

40

45

Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

[0172]

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85

90

95

Ala Arg

<210> 71

<211> 139

<212> PRT

<213> 智人

<400> 71

Met Asp Trp Thr Trp Arg Phe Leu Phe Val Val Ala Ala Val Thr Gly
 1 5 10 15

Val Gln Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe
 35 40 45

Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

[0173]

Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Thr Val Thr Thr Gly Asp Phe Asp Tyr

115

120

125

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

130

135

<210> 72

<211> 764

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

[0174]

<400> 72

ggctgctttg catagacgcc tccagcctag cccagctgct cagaatttat aaaccagtat 60

gaactgagaa gcatcagaca ggcagtggga gcaagatgga ttcacaggcc caggttctta 120

tattgctgct gctatgggta tctggtgaga aatttaaag tattatcatt tcagagttaa 180

accTTTTTat ataaggaatt tataatatgt gcaagtgtgt aatatttctt ccataataac 240

tctctgacaa tatgaaatta caaagacctt tgacaaattt caactgttat aataatctat 300

acttgtgtat gtatgcatgt tcactttcta cttatttcag gtacctgtgg ggacattgtg 360

atgtcacagt ctccatcctc cctggctgtg tcagcaggag agaaggtcac tatgagctgc 420

aaatccagtc agagtctgct caacagtaga acccgaaaga actacttggc ttggtaccag 480
 cagaaaccag ggcagtctcc taaactgctg atctactggg catccactag ggaatctggg 540
 gtccctgata gttcacagg cagtggatct gggacagatt tcaactctac catcagcagt 600
 gtgcaggctg aagacctggc agtttattac tgcaagcaat cttataatct tcccacagtg 660
 cttcagtctc ctacacaaac ctcttttaga gtttcaccag ctgcctgcat aacacacagc 720
 catgggtctg cacacttctt ctttctacaa gagagccagc atgc 764

[0175]

<210> 73

<211> 302

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 73

gacattgtga tgacacagtc tccatctctc ctgagtgtgt cagcaggaga taaggctact 60

atgagctgca agtccagtca gagtctgtta aacagtagaa accaaaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaacctg gcagcctcct aaactgctga tctacggggc atccactagg 180

	gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg gaacagattt cactctcacc	240
	atcagcagtg tgcaggctga agacctggca gtttattact gtcagaatga ttatagttat	300
	cc	302
	<210> 74	
	<211> 720	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成	
	多核苷酸	
[0176]		
	<400> 74	
	tttctgtcag ctttgcatgg gttcctccag cccagccac cttctcagaa ttataaacc	60
	aggcctttgc atttgactg atctacatct gaaaggcagg tggagcaaga tggaatcaca	120
	gactcaggtc ctcatgtccc tgctgttctg ggtatctggt aagaaattta aagtattaaa	180
	accitttcaa agtttcatct ttgtaataag caatttataa tatatgccag tatatagtat	240
	ttcttacaca ataatgtttg atattatgac attttaagga catttaaag acaaattaca	300
	actgtaatta taatacatat atattagtgt agctatgcat tttcactgtc tattcattat	360
	ttcaggtacc tgtggggaca ttgtgatgac acagtctcca tcctcctga ctgtgacagc	420

	aggagagaag gtcactatga gctgcaagtc cagtcagagt ctgttaaaca gtggaaatca	480
	aaagaactac ttgacctggt accagcagaa accagggcag cctcctaac tgttgatcta	540
	ctgggcatcc actagggaaat ctgggggtccc tgatcgcttc acaggcagtg gatctggaac	600
	agatttcact ctcacatca gcagtgtgca ggctgaagac ctggcagttt attactgtca	660
	gaatgattat agttatcctc ccacagtget tcagcctcct acacaaacct ccttaagagt	720
	<210> 75	
	<211> 856	
	<212> DNA	
[0177]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
	<400> 75	
	agtgatccct cttgctctct gtgatggcat ttttgttgat tgacaccatc cactctcaca	60
	cacaactgcc aggcatttgc ttttgtattt gctggetgct ttgcatagac ccctccagcc	120
	taaccagct gtcagaatt tataaaccag tatgaactga gcagcatcag acaggcaggg	180
	gaagcaagat ggattcacag gccaggttc ttatgttact gctgctatgg gtatctggtg	240

	agaaatttaa aagtattatc atttcagagt tacacctttt tatataagaa atttatacta	300
	tgtgcaagtg tgtaatatta cttccataat aactctgaca atatgacatt acaaagacct	360
	ttgacaaatt tcaactgtta taataatcta tttgtgatg tattcatgtt cactttctac	420
	ttatttcagg tacctgtggg gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt	480
	cagttggaga gaagttact atgagctgca agtccagtca gaccctttta tatagtagca	540
	atcaaaagaa ctacttggcc tgggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga	600
	tttactgggc atccactagg gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg	660
[0178]	ggacagattt cactctcacc atcagcagtg tgaaggetga agacctggca gtttattact	720
	gtcagcaata ttatagctat cctcccacag tgcttcagcc tcttacacaa acctccttga	780
	gaatttcacc agctgcctgc ataacacaca gtccttggtc tgaacacttc ctctttcttc	840
	atgaaagcca gcatgc	856

<210> 76

<211> 707

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 76

ctgtcagctt tgcatgggtt cctccagccc agcccagctg ctcagaattt ataaaccagg 60

cctttgcatt gtgaactgac tacatctgaa aggcagggtg agcaagatgg aatcacagac 120

tcaggctctc atctccttgc tgttctgggt atctggtaag aaatttaaag tagtaaaacc 180

tttcaaagt ttcactcttg taataagcaa tttacaatat atgccagtgt atagtatttc 240

ttacacaatg atgttttgat attatgacat ttaaggaca tttaaatgac aaattacaac 300

tgttgttata atatatatta gtgtagatat gcattttcac tgtctattca ttatttcagg 360

[0179]

tacctgtggg gacattgtga tgacacagtc tccatctccc ctgagtgtgt cagcaggaga 420

gaaggtcact atgagctgca agtccagtca gagtctgtta aacagtggaa atcaaaagaa 480

ctacttgccc tgggtaccagc agaaaccagg gcagcctcct aaactgttga tctacggggc 540

atccactagg gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg gaaccgattt 600

cactcttacc atcagcagtg tgcaggctga agacctggca gtttattact gtcagaatga 660

tcatagttat cctcccacag tgcttcagcc tctacacaa acctcct 707

<210> 77

<211> 380

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 77

ctcagctcct ggggctgcta atgctctggg tctctggatc cagtgggat attgtgatga 60

ctcagtctcc actctccctg cccgtcaccc ctggagagcc ggcctccatc tctgcaggt 120

ctagtcagag cctcctgcat attaatggat acaactatctt ggatttgtac ctgcagaagc 180

cagggcagtc tccacagctc ctgatctatt tgggttctaa tcgggcctcc ggggtccctg 240

[0180]

acaggttcac tggcagtgga tcaggcacag attttacact gaaaatcagc agagtggagg 300

ctgaggatgt tggggtttat tactgcatgc aagctctaca accgtggacg ttcggccaag 360

ggaccaaggt ggaaatcaaa 380

<210> 78

<211> 294

<212> DNA

<213> 小家鼠

<400> 78

caggttcagc tgcagcagtc tggagetgag ctggcgagge ctggggcttc agtgaagctg 60

	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca agctatggta taagctgggt gaagcagaga	120
	actggacagg gccttgagtg gattggagag atttacccta gaagtggtaa tacttactac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actgcagaca aatcctccag cacagcgtac	240
	atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct atttctgtgc aaga	294
	<210> 79	
	<211> 294	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
[0181]	<400> 79	
	caggtccagc tgaagcagtc tggagctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcact gactactata taaactgggt gaagcagagg	120
	cctggacagg gccttgagtg gattggaaag attggtcctg gaagtggtag tacttactac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actgcagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aaga	294
	<210> 80	
	<211> 294	
	<212> DNA	

<213> 小家鼠

<400> 80

taggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt gaagcagaag 120

cctgggaagg gccttgagtg gattggagag atttatcctg gaagtggtaa tacttactac 180

aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actgcagaca catcctccag cacagcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aaga 294

[0182] <210> 81

<211> 294

<212> DNA

<213> 小家鼠

<400> 81

caggtccagc tacagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttcact gactactata taaactgggt gaagcagagg 120

cctggacagg gacttgagtg gattggatgg atttttcctg gaagtggtag tacttactac 180

aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactt actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgttgctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aaga 294

<210> 82		
<211> 294		
<212> DNA		
<213> 小家鼠		
<400> 82		
caggtccagc tgcagcagtc tggagctgag ctggtaagge ctgggacttc agtgaaggtg		60
tcttgcaagg cttctggata cgccttcaact aattacttga tagagtgggt aaagcagagg		120
cctggacagg gccttgagtg gattggagtg attaatcctg gaagtgggtg tactaactac		180
aatgagaagt tcaagggcaa ggcaaacactg actgcagaca aatcctcaa cacagcctac		240
[0183]		
atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct atttctgtgc aaga		294
<210> 83		
<211> 513		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 83		
gttcctcacc atggactgga cctggagggt cctctttgtg gtggcagcag ttacaggtaa		60
ggggcttctc agtcctaagg ctgaggaagg gatcctgggt tagttaaaga ggattttatt		120
caccctgtg tcctctccac aggtgtccag tcccagggtc agctggtgca gctctggggt		180

gaggtgaaga agcctgggtc ctcggtgaag gtctcctgca aggcttctgg aggcaccttc	240
agcagctatg ctatcagctg ggtgacagag gccctggac aagggttga gtggatggga	300
gggatcatcc ctatctttgg tacagcaaac tacgcacaga agttccaggg cagagtcacg	360
attaccgagg acaaatccac gagcacagcc tacatggagc tgagcagcct gagatctgag	420
gacacggccg tgtattactg tgcgagaggg agtacgggta ctacgggaga ttttgactac	480
tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc tca	513

[0184]

<210> 84

<211> 15

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

寡核苷酸

<400> 84

gattacgtga tctct

15

<210> 85

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成
寡核苷酸

<400> 85

gaaattttcc ccagatccgg atctacttac tataacgaga agtttaaagg c

51

<210> 86

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

[0185] <223> 人工序列的描述: 合成
寡核苷酸

<400> 86

gattactatg ggacaagttt tgccatggac tat

33

<210> 87

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成
寡核苷酸

	<400> 87	
	aagtcttcac agagcctgct gaactcccgg accagaaaga attacctggc a	51
	<210> 88	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
[0186]	<400> 88	
	tgggcatcaa caagggagag c	21
	<210> 89	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 89	
	aaacagagct tctatctgcg aact	24

<210> 90

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(360)

[0187]

<400> 90

cag gtc caa ttg cag cag tct gga cct gag ctg gtg aag cct ggg act 48
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr
 1 5 10 15

tca gtg aag atg ccc tgt aag gct tct gga tac ata ttc act gac tat 96
 Ser Val Lys Met Pro Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

gtc ata agc tgg gtg aag cag aga act gga cag ggc ctt gag tgg att 144
 Val Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

gga gag att ttt cct aga agt ggt agt act tac tac aat gag aag ttc 192
 Gly Glu Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe

	50	55	60	
	aag ggc aag gcc aca ctg act gca gac aaa tcc tcc aac aca gcc tac			240
	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr			
	65	70	75	80
	atg cag ctc agc agc gtg aca tct gag gac tct gcg gtc tat ttc tgt			288
	Met Gln Leu Ser Ser Val Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys			
		85	90	95
	gca aga gat tac tac ggt act tca ttt gct atg gac tac tgg ggt caa			336
	Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln			
		100	105	110
[0188]	gga acc tca gtc acc gtc tcc tca			360
	Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser			
		115	120	
	<210> 91			
	<211> 336			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 人工序列的描述: 合成			
	多核苷酸			
	<220>			

<221> CDS

<222> (1)..(336)

<400> 91

gac att gtg atg tca cag tct cca tcc tcc ctg gct gtg tca gca gga 48

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

1 5 10 15

gag aag gtc act atg agc tgc aaa tcc agt cag agt ctg ctc aac agt 96

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20 25 30

aga acc cga aag aac tac ctg gct tgg tac cag cag aaa cca ggg cag 144

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

[0189]

tct cct aaa ctg ctg atc tac tgg gca tcc act agg gaa tct ggg gtc 192

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

cct gat cgc ttc aca ggc agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc 240

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

atc agc agt gtg cag gct gaa gac ctg gca gtt tat tac tgc aag caa 288

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln

85 90 95

tct ttt tat ctt cgg acg ttc ggt gga ggc acc aag ctg gac atc aaa 336

Ser Phe Tyr Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys

100

105

110

<210> 92

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 92

caggtccagc tgcagcagag cggcccccga ctggtcaaac ccggaacctc cgtgaagatg 60

[0190]

ccttgtaaag cctcaggata cattttcacc gattacgtga tctcttgggt caaacagcga 120

acaggacagg gactggagtg gatcggggaa attttcecca gatccggatc taettactat 180

aacgagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgaca agagctcaa tacagcttac 240

atgcagctgt ctagtgtgac tagtgaagac tcagcagtct atttctgcgc caggattac 300

tatgggacaa gttttgcat ggactattgg ggacagggca cttccgtgac cgtctcaagc 360

<210> 93

<211> 336

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<400> 93

gatattgtca tgtcacagtc accttcatcc ctggcagtca gcgccggaga aaaagtcact 60

atgtcttgta agtcttcaca gaggctgctg aactcccgga ccagaaagaa ttacctggca 120

tggtatcagc agaagcccgg ccagtctcct aaactgctga tctactgggc atcaacaagg 180

gagagcggag tgccagaccg cttcacaggc tctgggagtg gaactgattt taccctgaca 240

attagctccg tgcaggccga agacctggct gtctactatt gcaaacagag cttctatctg 300

[0191]

cgaacttttg gcgggggaac caagctggat atcaaa 336

<210> 94

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<400> 94

caggctccagc tgcagcagag cggccccgaa ctgggtcaaac ccggaacctc cgtgaagatg 60

	ccttgtaaag cctcaggata cattttcacc gattacgtga tctcttgggt caaacagcga	120
	acaggacagg gactggagtg gatcggggaa attttcccca gatccggatc tacttactat	180
	aacgagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgaca agagctccaa tacagcttac	240
	atgcagctgt ctagtgtgac tagtgaagac tcagcagtct atttctgcgc cagggattac	300
	tatgggacaa gttttgccat ggactattgg ggacagggca cttccgtgac cgtctcaagc	360
	<210> 95	
	<211> 336	
	<212> DNA	
[0192]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
	<400> 95	
	gatattgtca tgtcacagtc accttcatcc ctggcagtca gcgccggaga aaaagtcact	60
	atgtcttgta agtcttcaca gaggctgctg aactcccga ccagaaagaa ttacctgga	120
	tggtatcagc agaagcccgg ccagtctcct aaactgetga tctactgggc atcaacaagg	180
	gagagcggag tgccagaccg cttcacagge tctgggagtg gaactgattt taccctgaca	240

	attagctccg tgcaggccga agacctggct gtctactatt gcaaacagag cttctatctg	300
	cgaacttttg gcgggggaac caagctggat atcaaa	336
	<210> 96	
	<211> 360	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
[0193]	<400> 96	
	caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
	tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt cgcacagct	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
	<210> 97	
	<211> 360	

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成
多核苷酸

<400> 97

cagggccagc tgggtcagtc aggccccgaa gtgaagaagc ccggaagtag tgtcaaggtc 60

ccatgtaaag catcagggta tatttttact gattacgtga tcagctgggt caaacaggca 120

ccaggacagg gactggagtg gatcggggaa attttccta gatcaggaag cacatactat 180

[0194] aacgagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgaca agtccacttc taccgcttac 240

atggagctga gctccctgcg gagtgaagac accgcagtgt atttctgcgc cagagattac 300

tatgggacat cctttgcaat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt 360

<210> 98

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成
多核苷酸

	<400> 98	
	caggtccagc tggccagag cggacccgaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
	ccatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggt	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
[0195]	<210> 99	
	<211> 360	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成	
	多核苷酸	
	<400> 99	
	caggtccagc tggccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
	tcatgcaagg caagcgggta tacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggt	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180

	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
	atggagctga gtcacctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
	<210> 100	
	<211> 360	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
[0196]	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
	<400> 100	
	caggtcacg tggccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
	tcatgcaagg caagcggcgg aatTTTTtagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggct	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
	atggagctga gtcacctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360

<210> 101

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 101

caggctccagc tggctccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg 60

tcatgcaagg caagcggcgg aacatttact gattacgtga tctcctgggt ccgacaggtc 120

ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat 180

[0197]

aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc tacgcctac 240

atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac 300

tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt 360

<210> 102

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 102

cagggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaagggtg 60

tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt caaacaggct 120

ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa atttcccta gatcaggaag cacctactat 180

aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac 240

atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac 300

tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt 360

[0198]

<210> 103

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 103

cagggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaagggtg 60

tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggct 120

	ccaggacagg gactggagtg gatcggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgectac	240
	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
	<210> 104	
	<211> 360	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
[0199]	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
	<400> 104	
	caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
	tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacagct	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggcaa ggtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgectac	240
	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360

<210> 105

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

多核苷酸

<400> 105

cagggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaagggtg 60

tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacagget 120

[0200]

ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat 180

aacgagaagt ttaaaggccg cgccaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac 240

atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac 300

tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt 360

<210> 106

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<400> 106

caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaagggtg 60

tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggct 120

ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat 180

aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccctg acagcagaca agtccacttc taccgcctac 240

atggagctga gctccctgcg gagegaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac 300

[0201]

tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt 360

<210> 107

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<400> 107

caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaagggtg 60

tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt cgcacaggct	120
ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct atttctgcgc tagagattac	300
tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360

<210> 108

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

[0202]

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 108

caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
tcatgcaagg caagcgggta tatttttagt gattacgtga tctcctgggt cgcacaggct	120
ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300

	tatgggacat ctttcgccat ggactattgg ggacaggca cactggtgac tgtctctagt	360
<210>	109	
<211>	336	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
<400>	109	
	gacatcgtga tgacacagtc cccaactgtct ctgcccgta ctctgggga gccagcatct	60
[0203]		
	attagttgca agagctcca gagtctgctg aactcacgga ccagaaagaa ttacctggcc	120
	tggtatctgc agaaaccgg acagagccct cagctgctga tctactgggc tagcaccagg	180
	gaatccggag tgccagaccg cttcacagga tcaggaagcg gaaccgattt tacactgaag	240
	atcagccggg tggaggccga agatgtgggc gtctactatt gtaaacagtc cttctatctg	300
	agaacttttg gccaggggac caagtgagg atcaaa	336
<210>	110	
<211>	336	
<212>	DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<400> 110

gacatcgtga tgtctcagag tccactgtct ctgccagtca cccttgaga gccagcatca 60

attagctgca agagctcecca gagtctgtg aactcacgga caagaaagaa ttacctggcc 120

tggtatctgc agaaaccgg acagagccct cagctgtgga tctactgggc tagcacaagg 180

gaatccggag tgccagaccg cttcactgga tccgatctg gaaccgatt tacactgaag 240

[0204]

atcagccggg tggaggccga agatgtgggc gtctactatt gtaaacagag tttctatctg 300

agaacttttg gccaggggac caaggtggag atcaaa 336

<210> 111

<211> 1350

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<400> 111

	caggtccagc tggccagag cggagcagaa gtgaagaac ccggaagtag cgtgaagggtg	60
	tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggct	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacaggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccttc cgtgttcct ctggcccctt cctccaagtc cacctccgcg	420
[0205]	ggcaccgccg ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc	480
	tggaactctg gcgcctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc	540
	ggcctgtact cctgtctctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg cacccagacc	600
	tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660
	aagtctctcg acaagacca cacgtgcctt ccatgcccag ctcccagct gctgggcgga	720
	ccaagcgtgt ttctgttccc tectaagcct aaggacacce tgatgatctc ccgaccctt	780
	gaggtgacgt gcgtgggtgt ggacgtgtcc cacgaggacc cagagtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctcgggagga acagtacaac	900

	tccacctacc ggggtggtgtc tgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag	960
	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgectgccc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020
	aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacaccc tgcctccaag caggaggaa	1080
	atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctacce ttccgatatc	1140
	gccgtggagt gggagtccaa eggccagcct gagaacaact acaagaccac ccctcctgtg	1200
	ctggactccg acggctcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtcccgggtg	1260
	cagcaggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa cactacacc	1320
[0206]	cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa	1350
	<210> 112	
	<211> 1350	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
	<400> 112	
	caggtccagc tgggtgcagtc aggccccgaa gtgaagaagc ccggaagtag tgtaaggtc	60
	ccatgtaaag catcagggta tatttttact gattacgtga tcagctgggt caaacaggca	120

	ccaggacagg gactggagtg gatcggggaa attttccta gatcaggaag cacatactat	180
	aacgagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgaca agtccacttc taccgcttac	240
	atggagctga gctccctgcg gagtgaagac accgcagtgt atttctgcgc cagagattac	300
	tatgggacat cctttgcaat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccttc cgtgttccct ctggcccctt cctccaagtc cacctccggc	420
	ggcaccgccg ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc	480
	tggaactctg ggcacctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcttcc	540
[0207]	ggcctgtaet cctgtctctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg cacccagacc	600
	tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660
	aagtccctgag acaagacca cacgtgccct ccatgcccag ctcccagct gctgggaggga	720
	ccaagcgtgt ttctgttccc tectaagcct aaggacacce tgatgatctc ccggaccctt	780
	gagtgacgt gcgtgggtgt ggacgtgtcc cacgaggacc cagagtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctgaggagga acagtacaac	900
	tccacctacc ggggtggtgtc tgtgtgacc gtgtgcacc aggactggct gaacggcaag	960
	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020

aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacaccc tgcctccaag caggaggaa 1080

atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctaccc ttccgatatc 1140

gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac ccctcctgtg 1200

ctggactccg acggctcctt ctctctgtac tccaagetga ccgtggacaa gtcccgggtg 1260

cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc 1320

cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa 1350

[0208]

<210> 113

<211> 1350

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成
多核苷酸

<400> 113

caggctccagc tggctccagag cggacccgaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg 60

ccatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacagget 120

ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat 180

	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
	atggagctga gtcacctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacaggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccttc cgtgttcct ctggcccctt cctccaagtc cacctccggc	420
	ggcaccgccg ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc	480
	tggaactctg gcgcctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc	540
	ggcctgtact ccctgtctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg cacccagacc	600
[0209]	tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660
	aagtcctgcg acaagacca cacgtgcctt ccatgcccag ctcccagct gctgggcgga	720
	ccaagcgtgt ttctgttccc tctaagcct aaggacacc tgatgatctc ccgaccctt	780
	gaggtgacgt gcgtggtggt ggacgtgtcc cagaggacc cagagtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctcgggagga acagtacaac	900
	tccacctacc ggggtggtgc tgtgctgacc gtgctgcacc aggactggtt gaacggcaag	960
	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020
	aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacacc tgctccaag cagggaggaa	1080

atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctaccc ttccgatac	1140
gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac cctcctgtg	1200
ctggactccg acggetcctt ctctctgtac tccaagetga ccgtggacaa gtcccgggtg	1260
cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg cctgcacaa ccactacac	1320
cagaagagcc tctcctgtc cccgggtaaa	1350

<210> 114

<211> 1350

<212> DNA

<213> 人工序列

[0210]

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 114

caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
tcatgcaagg caagecggta tacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacagct	120
ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa atttcccta gatcaggaag cacctactat	180
aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgectac	240
atggagctga gctcctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgccc tagagattac	300

	tatgggacat ctttcgccat ggactattgg ggacaggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccttc cgtgttccct ctgcccctt cctccaagtc cacctccggc	420
	ggcacgcgctg ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc	480
	tggaactctg gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc	540
	ggcctgtact cctgtctctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg cacccagacc	600
	tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660
	aagtctcgcg acaagacca cacgtgccct ccatgeccag ctcccagct gctgggcgga	720
[0211]	ccaagcgtgt ttctgttccc tectaagcct aaggacacce tgatgatctc ccggaccct	780
	gaggtgacgt gcgtgggtgt ggacgtgtcc cacgaggacc cagaggtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctctgggagga acagtacaac	900
	tccacctacc ggggtggtgtc tgtgtctgacc gtgtctgacc aggactggct gaacggcaag	960
	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020
	aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacacc tgctccaag caggaggaa	1080
	atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctacc ttccgatatc	1140
	gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac ccctcctgtg	1200

	ctggactccg acggtcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtcccgggtg	1260
	cagcaggga acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg cctgcacaa cactacacc	1320
	cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa	1350
	<210> 115	
	<211> 1350	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
[0212]	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
	<400> 115	
	caggtccagc tggccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
	tcatgcaagg caagcggcgg aatTTTTtagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggct	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
	atggagctga gtcacctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatggacat ctttcgcat ggactattgg ggacaggga cactggtgac tgtctctagt	360

	gcctccacca agggcccttc cgtgttcct ctggcccctt cctccaagtc cacctccggc	420
	ggcaccgceg ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc	480
	tggaactctg gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc	540
	ggcctgtact ccctgtcctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg cacccagacc	600
	tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660
	aagtctgcg acaagacca cacgtgcctt ccatgcccag ctcccagct gctgggcgga	720
	ccaagcgtgt ttctgttccc tectaagcct aaggacacc tgatgatctc ccggaccctt	780
[0213]	gaggtgacgt gcgtggtggt ggacgtgtcc cacgaggacc cagagtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctccggagga acagtacaac	900
	tccacctacc ggggtggtgtc tgtgetgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag	960
	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020
	aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacaccc tgctccaag caggaggaa	1080
	atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctacc ttccgatatc	1140
	gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac cctcctgtg	1200
	ctggactceg acggtcctt cttctgtac tccaagctga ccgtggaaa gtcccgttg	1260

	cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg cctgcacaa ccactacacc	1320
	cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa	1350
	<210> 116	
	<211> 1350	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
[0214]	<400> 116	
	caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
	tcatgcaagg caagecggcg aacatttact gattacgtga tctcctgggt ccgacagget	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgctac	240
	atggagctga gtcacctgcg gagegaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccttc cgtgttcct ctggcccctt cctccaagtc cacctccgge	420
	ggcaccgccc ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc	480

	tggaactctg ggcacctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc	540
	ggcctgtact ccctgtcttc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg cacccagacc	600
	tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660
	aagtcctgcg acaagaccca cacgtgccct ccatgcccag ctcccagact gctgggcgga	720
	ccaagcgtgt ttctgttccc tctaagcct aaggacaccc tgatgatctc ccggaccctt	780
	gagtgacgt gcgtggtggt ggacgtgtcc cacgaggacc cagaggtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctctggagga acagtacaac	900
[0215]	tccacctacc ggggtggtgc tgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag	960
	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020
	aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacaccc tgctccaag cagggaggaa	1080
	atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctacc ttccgatatc	1140
	gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac ccctcctgtg	1200
	ctggactccg acggtcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtcccgtggtg	1260
	cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc	1320
	cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa	1350

<210> 117

<211> 1350

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

多核苷酸

<400> 117

cagggccagc tggccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaagggt 60

tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt caaacaggct 120

[0216]

ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat 180

aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac 240

atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac 300

tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt 360

gcctcacca agggcccttc cgtgttccet ctggccctt cctccaagtc cacctcggc 420

ggcaccgccg ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc 480

tggaactctg gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc 540

	ggcctgtact ccctgtcctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg caccagacc	600
	tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660
	aagtctgcg acaagaccca cacgtgcctt ccatgccag ctcccagct gctggcgga	720
	ccaagcgtgt ttctgttccc tctaagcct aaggacacc tgatgatctc cggaccct	780
	gagtgacgt gcgtgggtt ggacgtgtcc cacgaggacc cagagtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaagcc aagaccaagc ctgggagga acagtacaac	900
	tccacctacc ggggtgtgtc tgtgtgacc gtgtgcacc aggactggct gaacggcaag	960
[0217]	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgcc ccatcgaaaa gaccatctc	1020
	aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacacc tgctccaag caggaggaa	1080
	atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctacc ttccgatc	1140
	gccgtggagt gggagtcca cgccagcct gagaacaact acaagaccac cctcctgtg	1200
	ctggactccg acggtcctt cttctgtac tccaagctga ccgtggaaa gtcccgttg	1260
	cagcaggga acgtgttctc ctgctccgtg atgcagagg cctgcacaa ccactacac	1320
	cagaagagcc tctcctgtc cccggtaaa	1350

<210> 118

<211> 1350	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成	
多核苷酸	
<400> 118	
caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacagget	120
ccaggacagg gactggagtg gatcggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
[0218] aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgctac	240
atggagctga gctccctgcg gagegaagac accgcegtct actattgcgc tagagattac	300
tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
gcctccacca agggcccttc cgtgttcct ctggcccctt cctccaagtc cacctccgce	420
ggcaccgccc ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc	480
tggaactctg gcgcctgac cagcggcgtg cacaccttc ctgccgtgct gcagtcctcc	540
ggcctgtact cctgtcctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg caccagacc	600
tacatctgca acgtgaacca caagccttc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660

	aagtcctgcg acaagaccca cacgtgccct ccatgcccag ctcccagct gctgggcgga	720
	ccaagcgtgt ttctgttccc tctaagcct aaggacaccc tgatgatctc ccggaccct	780
	gaggtgacgt gcgtggtggt ggacgtgtcc cacgaggacc cagagtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctctggagga acagtacaac	900
	tccacctacc ggggtggtgtc tgtgetgacc gtgetgcacc aggactggct gaacggcaag	960
	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020
	aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacaccc tgcctccaag caggaggaa	1080
[0219]	atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gttctacc ttccgatatc	1140
	gccgtggagt gggagtccaa cgccagcct gagaacaact acaagaccac cctcctgtg	1200
	ctggactccg acggtcctt cttctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtcccgggtg	1260
	cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg cctgcacaa cactacacc	1320
	cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa	1350
	<210> 119	
	<211> 1350	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 119

cagggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg 60

tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggtc 120

ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat 180

aacgagaagt ttaaaggcaa ggtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac 240

[0220]

atggagctga gtcacctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac 300

tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt 360

gcctccacca agggcccttc cgtgttcct ctggcccctt cctccaagtc cacctccgce 420

ggcaccgccg ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc 480

tggaactctg gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc 540

ggcctgtact cctgtcctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg caccagacc 600

tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct 660

aagtctctgc acaagacca cacgtgcctt ccatgccag ctcccagct gctgggcgga 720

	ccaagcgtgt ttctgttccc tctaagcct aaggacaccc tgatgatctc cggaccct	780
	gagtgacgt gcgtgggtt ggacgtgtcc cacgaggacc cagaggtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctcgaggagga acagtacaac	900
	tccacctacc ggggtgtgtc tgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag	960
	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020
	aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacaccc tgcctccaag caggaggaa	1080
	atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctaccc ttccgatatc	1140
[0221]	gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac cctcctgtg	1200
	ctggactccg acggctcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtcccgggtg	1260
	cagcaggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg cctgcacaa ccactacacc	1320
	cagaagagcc tctcctgtc cccgggtaaa	1350

<210> 120

<211> 1350

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 120	
caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacagget	120
ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
aacgagaagt ttaaaggccg cgccaccatc acagcagaca agtccacttc taccgctac	240
atggagctga gctccctgcg gagegaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
[0222]	
gcctccacca agggcccttc cgtgttccct ctggcccctt cctccaagtc cacctccgce	420
ggcaccgccc ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc	480
tggaactctg gcgcctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc	540
ggcctgtact cctgtctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg caccagacc	600
tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660
aagtctgcg acaagacca cacgtgcctt ccatgccag ctcccagct gctgggcgga	720
ccaagcgtgt ttctgttccc tctaagcct aaggacacce tgatgatctc ccggaccct	780
gaggtgacgt gcgtggtggt ggacgtgtcc cacgaggacc cagaggtgaa gttcaattgg	840

	tacgtggacg gcgtaggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctctgggagga acagtacaac	900
	tccacctacc gggtaggtgtc tgtgetgacc gtgtgcacc aggactggct gaacggcaag	960
	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020
	aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacacc tgcctccaag caggaggaa	1080
	atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtagaagg gcttctacce ttccgatatc	1140
	gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac ccctcctgtg	1200
	ctggactccg acggctcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtcccgggtg	1260
[0223]	cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc	1320
	cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa	1350

<210> 121

<211> 1350

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 121

	caggtccagc tggccagag cggagcagaa gtgaagaac cgggaagtag cgtgaagggtg	60
	tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt cgcacaggct	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccctg acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacaggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccttc cgtgttcct ctggcccctt cctccaagtc cacctccgcg	420
[0224]	ggcaccgccg ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc	480
	tggaactctg gcgcctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc	540
	ggcctgtact cctgtctctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg cacccagacc	600
	tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660
	aagtcctgcg acaagacca cacgtgcctt ccatgcccag ctcccagct gctgggcgga	720
	ccaagcgtgt ttctgttccc tctaagcct aaggacacce tgatgatctc ccggaccctt	780
	gaggtgacgt gcgtgggtgt ggacgtgtcc cacgaggacc cagagtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctcgaggagga acagtacaac	900

tccacctacc ggggtggtgtc tgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag	960
gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgectgccc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020
aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacaccc tgcctccaag caggaggaa	1080
atgaccaaga accagggtgc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctaccc ttccgatatc	1140
gccgtggagt gggagtccaa eggccagcct gagaacaact acaagaccac cctcctgtg	1200
ctggactccg acggctcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtcccgggtg	1260
cagcaggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg cctgcacaa cactacacc	1320
cagaagagcc tctcctgtc cccgggtaaa	1350
[0225]	
<210> 122	
<211> 1350	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
<400> 122	
caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggt	120

	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgectac	240
	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct atttctgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacaggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggccttc cgtgttccct ctggcccctt cctccaagtc cacctcegge	420
	ggcaccgccg ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc	480
	tggaactctg ggcacctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcttcc	540
[0226]	ggcctgtaet cctgtctctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg cacccagacc	600
	tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660
	aagtccctgag acaagacca cacgtgccct ccatgcccag ctcccagct gctgggagga	720
	ccaagcgtgt ttctgttccc tctaagcct aaggacacce tgatgatctc ccggaccctt	780
	gagtgacgt gcgtgggtgt ggacgtgtcc cacgaggacc cagagtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctgaggagga acagtacaac	900
	tccacctacc ggggtggtgtc tgtgtgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag	960
	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020

aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacaccc tgcctccaag caggaggaa 1080

atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctaccc ttccgatata 1140

gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac ccctcctgtg 1200

ctggactccg acggctcctt ctctctgtac tccaagetga ccgtggacaa gtcccgggtg 1260

cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc 1320

cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa 1350

[0227]

<210> 123

<211> 1350

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 123

caggtcacgc tggtcacagc cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg 60

tcatgcaagg caagcgggta tatttttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacagget 120

ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat 180

	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
	atggagctga gtcacctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacaggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccttc cgtgttcct ctggcccctt cctccaagtc cacctccggc	420
	ggcaccgccg ctctgggetg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc	480
	tggaactctg gcgcctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc	540
	ggcctgtact ccctgtctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg cacccagacc	600
[0228]	tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660
	aagtcctgcg acaagacca cacgtgcctt ccatgcccag ctcccagct gctgggcgga	720
	ccaagcgtgt ttctgttccc tctaagcct aaggacacc tgatgatctc ccgaccctt	780
	gaggtgacgt gcgtggtggt ggacgtgtcc cagaggacc cagagtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctcgggagga acagtacaac	900
	tccacctacc ggggtggtgc tgtgctgacc gtgctgcacc aggactggtt gaacggcaag	960
	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020
	aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacacc tgctccaag cagggaggaa	1080

atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctaccc ttccgatac 1140

gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac cctcctgtg 1200

ctggactccg acggetcett ctctctgtac tccaagetga cegtggacaa gtcccgggtg 1260

cagcaggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg cctgcacaa cactacacc 1320

cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa 1350

<210> 124

<211> 1350

<212> DNA

<213> 人工序列

[0229]

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 124

caggtccagc tgcagcagag cggccccgaa ctggtcaaac ccggaacctc cgtgaagatg 60

ccttgtaaag cctcaggata cattttcacc gattactgta tctcttgggt caaacagcga 120

acaggacagg gactggagtg gatcggggaa attttcccca gatccggatc tacttactat 180

aacgagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgaca agagctccaa tacagcttac 240

atgcagctgt ctagtgtgac tagtgaagac tcagcagtct atttctgcgc cagggattac 300

	tatgggacaa gttttgccat ggactattgg ggacaggca cttccgtgac cgtctcaagc	360
	gcctccacca agggcccttc cgtgttccct ctgcccctt cctccaagtc cacctccggc	420
	ggcacgcgctg ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc	480
	tggaactctg gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc	540
	ggcctgtact cctgtctctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg cacccagacc	600
	tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660
	aagtctcgcg acaagacca cacgtgccct ccatgcccag ctcccagct gctgggcgga	720
[0230]	ccaagcgtgt ttctgttccc tctaagcct aaggacacce tgatgatctc ccggaccct	780
	gaggtgacgt gcgtgggtgt ggacgtgtcc cacgaggacc cagaggtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctccggagga acagtacaac	900
	tccacctacc ggggtgtgtc tgtgtgacc gtgtgcacc aggactggct gaacggcaag	960
	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020
	aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacacc tgctccaag caggaggaa	1080
	atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctacc ttccgatatc	1140
	gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac ccctcctgtg	1200

	ctggactccg acggctcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtcccgggtg	1260
	cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg cctgcacaa ccactacacc	1320
	cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa	1350
	<210> 125	
	<211> 1332	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 125	
[0231]	caggccaat tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaage ctgggacttc agtgaagatg	60
	ccctgtaagg cttctggata catattcaact gactatgtca taagctgggt gaagcagaga	120
	actggacagg gccttgagtg gattggagag atttttccta gaagtggtag tacttactac	180
	aatgagaagt tcaaggcaaa ggccacactg actgcagaca aatcctcaa cacagcctac	240
	atgcagctca gcagcgtgac atctgaggac tctgcggtct atttctgtgc aagagattac	300
	tacgtactt catttgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca	360
	gccaaaacga cacccecatc tgtctatcca ctggcccctg gatctgetgc ccaaactaac	420
	tccatggtga ccctgggatg cctggtcaag ggctatttcc ctgagccagt gacagtgacc	480

	tggaactctg gatccctgtc cagcgggtgtg cacaccttcc cagctgtcct gcagtctgac	540
	ctctacactc tgagcagetc agtgactgtc ccctccagea cctggcccag ccagaccgtc	600
	acctgcaacg ttgcccaccc ggccagcagc accaaggtgg acaagaaaat tgtgcccagg	660
	gattgtggtt gtaagccttg catatgtaca gtcccagaag tatcatctgt cttcatcttc	720
	ccccaaagc ccaaggatgt gctcaccatt actctgactc ctaaggteac gtgtgtttgtg	780
	gtagacatca gcaaggatga tcccagggtc cagttcagct ggttttaga tgatgtggag	840
	gtgcacacag ctcagacgaa accccgggag gagcagatca acagcacttt ccgttcagtc	900
[0232]	agtgaacttc ccatcatgca ccaggactgg ctcaatggca aggagttaa atgcagggtc	960
	aacagtgcag ctttccctgc ccccatcgag aaaaccatct ccaaaaccaa aggcagaccg	1020
	aaggetccac aggtgtacac cattccacct cccaaggagc agatggccaa ggataaagtc	1080
	agtctgacct gcatgataac aaacttcttc cctgaagaca ttactgtgga gtggcagtgg	1140
	aatgggcagc cagcggagaa ctacaagaac actcagccca tcatggacac agatggctct	1200
	tacttctct acagcaagct caatgtgcag aagagcaact gggaggcagg aaatactttc	1260
	acctgctctg tgttacatga gggcctgcac aaccaccata ctgagaagag cctctcccac	1320
	tctcctggta aa	1332

	<210> 126	
	<211> 1350	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成	
	多核苷酸	
	<400> 126	
	caggtccagc tgcagcagag cggccccgaa ctggtcaaac cgggaacctc cgtgaagatg	60
	ccttgtaaag cctcaggata cattttcacc gattacgtga tctcttgggt caaacagcga	120
[0233]	acaggacagg gactggagtg gatcggggaa attttcccca gatccggatc tacttactat	180
	aacgagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgaca agagctccaa tacagcttac	240
	atgcagctgt ctagtgtgac tagtgaagac tcagcagtct atttctgcgc cagggattac	300
	tatgggacaa gttttgccat ggactattgg ggacagggca cttccgtgac cgtctcaage	360
	gcctccacca agggcccttc cgtgttcctt ctggcccctt cctccaagtc cacctccggc	420
	ggcaccgceg ctctgggctg cctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgtcc	480
	tggaactctg gcgccctgac cagcgcgctg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc	540
	ggcctgtact cctgtctctc cgtggtgacc gtgccttctt cctccctggg cacccagacc	600

	tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	660
	aagtccctgcg acaagacca cacgtgccct ccatgcccag ctcccagct gctggcgga	720
	ccaagcgtgt ttctgttccc tectaagcct aaggacacce tgatgatctc ccggaccct	780
	gagtgacgt gcgtgggtgt ggacgtgtcc cacgaggacc cagagtgaa gttcaattgg	840
	tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctgggagga acagtacaac	900
	tccacctacc ggggtgtgtc tgtgtgacc gtgtgcacc aggactggct gaacggcaag	960
	gaatacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgcc ccatcgaaaa gaccatctcc	1020
[0234]	aaggecaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacacc tgctccaag caggaggaa	1080
	atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtgaagg gcttctacc ttccgatatc	1140
	gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac ccctcctgtg	1200
	ctggactccg acggetcctt ettctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtcccgggtg	1260
	cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc	1320
	cagaagagcc tctcctgtc cccggtaaa	1350
	<210> 127	
	<211> 1341	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
	<400> 127	
	caggtccagc tggccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
	tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggct	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
[0235]	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgctac	240
	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgcctt gctccaggag cacctccgag	420
	agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480
	tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtctct acagtctca	540
	ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc	600
	tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	660

	aaatatggtc ccccatgccc accatgceca gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc	720
	ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
	tgcgtgggtg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	840
	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
	tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caagccaaa	1020
	gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
[0236]	aaccaggtca gcctgacgtg cctgggtcaaa ggctttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc	1200
	gacggctcct tcttcteta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
	aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
	ctctccctgt ctctgggtaa a	1341
	<210> 128	
	<211> 1341	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 128

caggtccagc tgggtcagtc aggcccccga gtaagaagc ccggaagtag tgtcaagtc 60

ccatgtaaag catcaggta tatttttact gattacgtga tcagctgggt caaacaggca 120

ccaggacagg gactggagtg gatcggggaa attttccta gatcaggaag cacatactat 180

aacgagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgaca agtccacttc taccgettac 240

atggagctga gtcacctgcg gagtgaagac accgcagtgt atttctgcgc cagagattac 300

[0237]

tatgggacat cctttgcaat ggactattgg ggacaggca cactggtgac tgtctctagt 360

gctccacca agggcccata cgtcttcccc ctggcgcctt getccaggag cacctccgag 420

agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480

tggaactcag ggcacctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggetgtcct acagtctca 540

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcctcca gcagcttggg cacgaagacc 600

tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc 660

aaatatggtc ccccatgccc accatgccc gcacctgagt tcttgggggg accatcagtc 720

ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 780

	tgctggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	840
	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtggtca gcgtctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
	tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
	gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
	aaccaggtca gcctgacgtg cctgggtcaaa ggctttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc	1200
[0238]	gacggctcct tcttctctta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
	aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
	ctctccctgt ctctgggtaa a	1341
	<210> 129	
	<211> 1341	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	

<400> 129	
caggtccagc tggccagag cggacccgaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
ccatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggct	120
ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa atttcccta gatcaggaag cacctactat	180
aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgectac	240
atggagctga gtcacctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
gcctccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgcctt gctccaggag cacctccgag	420
[0239]	
agcacagccg ccttgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtctca	540
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc	600
tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	660
aaatatggtc ccccatgccc accatgcccga gcacctgagt tcttgggggg accatcagtc	720
ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	840

	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
	tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
	gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
	aaccaggtca gctgacgtg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc	1200
	gacggctcct tcttctcta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
[0240]	aatgtttct catgetcgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
	ctctccctgt ctctgggtaa a	1341
	<210> 130	
	<211> 1341	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
	<400> 130	
	caggccagc tggccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60

	tcatgcaagg caagcgggta tacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggct	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgccat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgcctt gctccaggag cacctccgag	420
	agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480
[0241]	tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacacettcc cggctgtcct acagtectca	540
	ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc	600
	tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	660
	aaatatggtc ccccatgccc accatgceca gcacctgagt tcttgggggg accatcagtc	720
	ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
	tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	840
	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caagccaaa	1020
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
aaccaggtca gctgacgtg cctgggtcaaa ggctttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt getggactcc	1200
gacggctcct tcttctctta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
aatgtttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
ctctccctgt ctctgggtaa a	1341

[0242]

<210> 131

<211> 1341

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 131

caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg 60

tcatgcaagg caagcggcgg aatttttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacagget 120

	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag	420
	agcacagccg ccctgggctg cctggtaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480
	tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtctca	540
[0243]	ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc	600
	tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	660
	aaatatggtc ccccatgccc accatgccc gcacctgagt tcttgggggg accatcagtc	720
	ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
	tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggctc agttcaactg gtacgtggat	840
	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtggtca gcgtctcac cgtctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
	tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaacctctc caaagccaaa	1020

	gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
	aaccaggtca gctgacgtg cctgggtcaaa ggcttctacc ccagegacat cgccgtggag	1140
	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc	1200
	gacggctcct tcttctcta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
	aatgtttct catgetcgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
	ctctccctgt ctctgggtaa a	1341
	<210> 132	
	<211> 1341	
[0244]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
	<400> 132	
	caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac cgggaagtag cgtgaaggtg	60
	tcatgcaagg caagcggcgg aacatttact gattacgtga tctcctgggt ccgacaggt	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240

	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggea cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgcctt gctccaggag cacctccgag	420
	agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480
	tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacacettcc cggtgtcct acagtectca	540
	ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc	600
	tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtc	660
[0245]	aaatatggtc ccccatgccc accatgceca gcacctgagt tcttgggggg accatcagtc	720
	ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
	tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	840
	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
	tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
	ggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
	aaccaggtca gcctgacgtg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc	1200
gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
aatgtettct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
ctctccctgt ctctgggtaa a	1341

<210> 133

<211> 1341

<212> DNA

<213> 人工序列

[0246]

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成
多核苷酸

<400> 133

cagggccagc tggccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt caaacaggct	120
ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgctac	240
atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300

	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacaggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccac cgtcttcccc ctggcgcct gctccaggag cacctccgag	420
	agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480
	tggaactcag gcgcctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtctca	540
	ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcctcca gcagcttggg cacgaagacc	600
	tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	660
	aaatatggtc ccccatgccc accatgccc gcacctgagt tctgggggg accatcagtc	720
[0247]	ttctgttcc ccccaaaacc caaggacaact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
	tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	840
	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtggtca gcgtctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
	tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
	gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
	aaccaggtca gcctgacgtg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc	1200

	gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
	aatgtttctt catgetcct gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
	ctctccctgt ctctgggtaa a	1341
	<210> 134	
	<211> 1341	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成	
	多核苷酸	
[0248]		
	<400> 134	
	caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
	tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggct	120
	ccaggacagg gactggagtg gatcggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgectac	240
	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgcctt getccaggag cacctccgag	420

	agcacagccg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480
	tggaactcag ggcacctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtctca	540
	ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc	600
	tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	660
	aaatatggtc ccccatgccc accatgccc gcacctgagt tcttgggggg accatcagtc	720
	ttctgttcc ccccaaaacc caaggacct ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
	tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgagggtcc agttcaactg gtacgtggat	840
[0249]	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtggtca gcgctctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
	tgaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
	gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
	aaccaggtca gcctgacgtg cctgggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc	1200
	gacggctcct tcttctcta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
	aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320

	ctctccctgt ctctgggtaa a	1341
	<210> 135	
	<211> 1341	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
	<400> 135	
[0250]	cagggccagc tggccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaagggtg	60
	tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacagget	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggcaa ggtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
	atggagctga gtcacctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccatc cgttttccc ctggcgcctt gctccaggag cacctccgag	420
	agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480

	tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtcctca	540
	ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc	600
	tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	660
	aaatattggtc ccccatgccc accatgccc gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc	720
	ttctgttcc ccccaaaacc caaggacaact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
	tgctgtgtg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	840
	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
[0251]	cgtgtgttca gcgtctcac cgtctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
	tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
	gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
	aaccaggtca gcctgacgtg cctggtcaaa ggctttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc	1200
	gacggctcct tcttctcta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
	aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
	ctctccctgt ctctgggtaa a	1341

	<210> 136	
	<211> 1341	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成	
	多核苷酸	
	<400> 136	
	caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
	tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggtc	120
[0252]	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
	aacgagaagt ttaaaggccg cgccaccatc acagcagaca agtccacttc taccgcctac	240
	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgcegtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccac cgtcttcccc ctggcgcctt gctccaggag cacctccgag	420
	agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480
	tggaactcag gcgcctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtctca	540
	ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcctcca gcagcttggg cacgaagacc	600

	tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	660
	aaatatggtc ccccatgccc accatgccca gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc	720
	ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacaact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
	tgcgtgggtg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	840
	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtggtea gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
	tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caagccaaa	1020
[0253]	gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
	aaccaggtca gcctgacgtg cctggtaaaa ggctttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc	1200
	gacggctect tcttctcta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
	aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
	ctctccctgt ctctgggtaa a	1341
	<210> 137	
	<211> 1341	

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成
多核苷酸

<400> 137

	caggtccagc tggccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggct	60
	tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggct	120
	ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
[0254]	aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccctg acagcagaca agtccacttc taccgectac	240
	atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
	tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
	gcctccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgcctt gctccaggag cacctccgag	420
	agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480
	tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtctca	540
	ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc	600
	tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	660

	aaatatggtc ccccatgccc accatgceca gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc	720
	ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
	tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	840
	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
	tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caagccaaa	1020
	gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
[0255]	aaccaggtca gcctgacgtg cctggtcaaa ggctttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc	1200
	gacgctcct tcttcteta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
	aatgtttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
	ctctccctgt ctctgggtaa a	1341
	<210> 138	
	<211> 1341	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 138

caggtccagc tgggtccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg 60

tcatgcaagg caagcggcgg aacatttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggt 120

ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat 180

aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgectac 240

atggagctga gctccctgcg gagcgaagac accgccgtct atttctgcgc tagagattac 300

[0256]

tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt 360

gectccacca agggcccatc cgttctcccc ctggcgccct getccaggag cacctccgag 420

agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggetgtcct acagtctca 540

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 600

tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtc 660

aaatatggtc ccccatgccc accatgccc gcacctgagt tcttgggggg accatcagtc 720

ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcattgatct cccggacccc tgaggtcacg 780

	tgctggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	840
	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtggtca gcgtctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
	tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
	gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
	aaccaggtca gcctgacgtg cctgggtcaaa ggctttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc	1200
[0257]	gacggtcct tcttctcta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
	aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
	ctctccctgt ctctgggtaa a	1341
	<210> 139	
	<211> 1341	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	

<400> 139	
caggtccagc tggccagag cggagcagaa gtgaagaaac ccggaagtag cgtgaaggtg	60
tcatgcaagg caagcgggta tatttttagt gattacgtga tctcctgggt ccgacaggct	120
ccaggacagg gactggagtg gatgggggaa attttccta gatcaggaag cacctactat	180
aacgagaagt ttaaaggccg cgtgaccatc acagcagaca agtccacttc taccgectac	240
atggagctga gtcacctgcg gagcgaagac accgccgtct actattgcgc tagagattac	300
tatgggacat ctttcgcat ggactattgg ggacagggca cactggtgac tgtctctagt	360
gcctccacca agggcccatc cgttttccc ctggcgcctt gctccaggag cacctccgag	420
[0258]	
agcacagccg cctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtctca	540
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc	600
tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	660
aaatatggtc ccccatgccc accatgccc gcacctgagt tctgggggg accatcagtc	720
ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtgat	840

	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
	tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
	gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
	aaccaggtca gctgacgtg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc	1200
	gacggctcct tcttctcta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
[0259]	aatgtttct catgetcgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
	ctctccctgt ctctgggtaa a	1341
	<210> 140	
	<211> 1341	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
	<400> 140	
	caggtcagc tgcagcagag cggccccgaa ctggtcaaac ccggaacctc cgtgaagatg	60

	ccttgtaaag cctcaggata cattttcacc gattacgtga tctcttgggt caaacagcga	120
	acaggacagg gactggagtg gatcggggaa attttcccca gatccggatc tacttactat	180
	aacgagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgaca agagctcca tacagcttac	240
	atgcagctgt ctagtgtgac tagtgaagac tcagcagtct atttctgcgc cagggattac	300
	tatgggacaa gttttgcat ggactattgg ggacagggca cttccgtgac cgtctcaagc	360
	gcctccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgcct gctccaggag cacctccgag	420
	agcacagccg ccctgggctg cctggtaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480
[0260]	tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacacettcc cggctgtcct acagtectca	540
	ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc	600
	tacacgtgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	660
	aaatatggtc ccccatgccc accatgccc gcacctgagt tcttgggggg accatcagtc	720
	ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
	tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	840
	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
	cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caagccaaa	1020
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	1080
aaccaggtca gctgacgtg cctgggtcaaa ggctttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc	1200
gacggctcct tcttctctta cagcaggcta accgtggaca agagcagatg gcaggagggg	1260
aatgtttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
ctctccctgt ctctgggtaa a	1341

[0261]

<210> 141

<211> 657

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 141

gacatcgtga tgacacagtc cccactgtct ctgcccgtca ctctgggga gccagcatct 60

attagttgca agagctccca gagtctgctg aactcacgga ccagaaagaa ttacctggcc 120

	tggtatctgc agaaaccgag acagagccct cagctgctga tctactgggc tagcaccagg	180
	gaatccggag tgccagaccg cttcacagga tcaggaagcg gaaccgattt tacactgaag	240
	atcagccggg tggaggccga agatgtgggc gtctactatt gtaaacagtc cttctatctg	300
	agaacttttg gccaggggac caaggtggag atcaaaagaa ctgtggcagc accaagcgtc	360
	ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgctg	420
	ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgcctccaa	480
	tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	540
[0262]	agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagteta cgctgcgaa	600
	gtcaccatc agggcctgag ctcgccgctc acaaagagct tcaacagggg agagtgt	657
	<210> 142	
	<211> 657	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 多核苷酸	
	<400> 142	
	gacatcgtga tgtctcagag tccactgtct ctgccagtca cccttgaga gccagatca	60

	attagctgca agagctccca gagtctgctg aactcacgga caagaaagaa ttacctggcc	120
	tggtatctgc agaaacccgg acagagccct cagctgctga tctactgggc tagcacaagg	180
	gaatccggag tgccagaccg cttcactgga tccgatctg gaaccgattt tacactgaag	240
	atcagccggg tggaggccga agatgtgggc gtctactatt gtaaacagag tttctatctg	300
	agaacttttg gccaggggac caagtgagg atcaaaagaa ctgtggcagc accaagcgtc	360
	ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg	420
	ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa	480
[0263]	tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	540
	agcagcacc c tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa	600
	gtcaccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt	657

<210> 143

<211> 657

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多核苷酸

<400> 143		
	gatattgtca tgtcacagtc accttcatcc ctggcagtca ggcgccgaga aaaagtcact	60
	atgtcttgta agtcttcaca gagcctgctg aactccccga ccagaaagaa ttacctggca	120
	tggtatcagc agaagccccg ccagtctcct aaactgctga tctactgggc atcaacaagg	180
	gagagcggag tgccagaccg cttcacagge tctgggagtg gaactgattt tacctgaca	240
	attagctccg tgcaggccga agacctggct gtctactatt gcaaacagag cttctatctg	300
	cgaacttttg gcgggggaac caagctggat atcaaaagaa ctgtggcagc accaagcgtc	360
[0264]	ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgectg	420
	ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa	480
	tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	540
	agcagcacc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa	600
	gtcaccatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt	657
<210> 144		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> 人工序列		

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
肽

<400> 144

Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys

1 5

<210> 145

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

[0265]

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
肽

<400> 145

Ile Lys His Val Pro Gly Gly Gly Ser Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro

1 5 10 15

Val Asp Leu Ser Lys Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser Leu

20 25

<210> 146

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
肽

<400> 146

Val Gln Ile Val Tyr Lys

1 5

<210> 147

<211> 6

<212> PRT

[0266] <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
肽

<400> 147

Val Gln Ile Ile Asn Lys

1 5

<210> 148

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人

<400> 148

His Gln Pro Gly Gly Gly

1 5

<210> 149

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人

<400> 149

His Val Pro Gly Gly Gly

1 5

[0267]

<210> 150

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人

<400> 150

His Lys Pro Gly Gly Gly

1 5

<210> 151

<211> 441

<212> PRT

<213> 智人

<400> 151

Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly

1 5 10 15

Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His

20 25 30

Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu

35 40 45

Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser

50 55 60

[0268]

Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Asp Val Thr Ala Pro Leu Val

65 70 75 80

Asp Glu Gly Ala Pro Gly Lys Gln Ala Ala Ala Gln Pro His Thr Glu

85 90 95

Ile Pro Glu Gly Thr Thr Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly Asp Thr Pro

100 105 110

Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala Arg Met Val

115

120

125

Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys Ala Lys Gly

130

135

140

Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala Ala Pro Pro

145

150

155

160

Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala Lys Thr Pro

165

170

175

[0269]

Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro Lys Ser Gly

180

185

190

Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser

195

200

205

Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg Glu Pro Lys

210

215

220

Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser Ser Ala Lys

225

230

235

240

Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys Asn Val

245

250

255

Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro Gly Gly

260

265

270

Gly Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu Asp Leu Ser Asn Val Gln

275

280

285

Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro Gly Gly Gly

290

295

300

[0270]

Ser Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys Val Thr Ser

305

310

315

320

Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly Gly Gly Gln

325

330

335

Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg Val Gln Ser

340

345

350

Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly Gly Gly Asn

355

360

365

Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn Ala Lys Ala

370

375

380

Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser

385

390

395

400

Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser

405

410

415

[0271]

Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala Asp Glu Val

420

425

430

Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu

435

440

<210> 152

<211> 412

<212> PRT

<213> 智人

<400> 152

Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly

1	5	10	15
Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His			
	20	25	30
Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu			
	35	40	45
Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser			
50	55	60	
[0272]			
Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly			
65	70	75	80
Asp Thr Pro Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala			
	85	90	95
Arg Met Val Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys			
	100	105	110
Ala Lys Gly Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala			
115	120	125	

Ala Pro Pro Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala

130

135

140

Lys Thr Pro Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro

145

150

155

160

Lys Ser Gly Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr

165

170

175

Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg

180

185

190

[0273]

Glu Pro Lys Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser

195

200

205

Ser Ala Lys Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu

210

215

220

Lys Asn Val Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln

225

230

235

240

Pro Gly Gly Gly Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu Asp Leu Ser

245

250

255

Asn Val Gln Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro

260

265

270

Gly Gly Gly Ser Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys

275

280

285

Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly

290

295

300

[0274]

Gly Gly Gln Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg

305

310

315

320

Val Gln Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly

325

330

335

Gly Gly Asn Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn

340

345

350

Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro

355

360

365

Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser
 370 375 380

Thr Gly Ser Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala
 385 390 395 400

Asp Glu Val Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu
 405 410

<210> 153

<211> 410

[0275]

<212> PRT

<213> 智人

<400> 153

Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly
 1 5 10 15

Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His
 20 25 30

Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu
 35 40 45

Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser

50

55

60

Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Asp Val Thr Ala Pro Leu Val

65

70

75

80

Asp Glu Gly Ala Pro Gly Lys Gln Ala Ala Ala Gln Pro His Thr Glu

85

90

95

Ile Pro Glu Gly Thr Thr Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly Asp Thr Pro

100

105

110

[0276]

Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala Arg Met Val

115

120

125

Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys Ala Lys Gly

130

135

140

Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala Ala Pro Pro

145

150

155

160

Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala Lys Thr Pro

165

170

175

Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro Lys Ser Gly

180

185

190

Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser

195

200

205

Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg Glu Pro Lys

210

215

220

[0277]

Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser Ser Ala Lys

225

230

235

240

Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys Asn Val

245

250

255

Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro Gly Gly

260

265

270

Gly Lys Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys Val Thr

275

280

285

Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly Gly Gly

290

295

300

Gln Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg Val Gln

305

310

315

320

Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly Gly Gly

325

330

335

Asn Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn Ala Lys

340

345

350

[0278]

Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro Val Val

355

360

365

Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly

370

375

380

Ser Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala Asp Glu

385

390

395

400

Val Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu

405

410

<210> 154

<211> 383

<212> PRT

<213> 智人

<400> 154

Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly

1 5 10 15

Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His

20 25 30

[0279]

Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Ala Glu Glu Ala

35 40 45

Gly Ile Gly Asp Thr Pro Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val

50 55 60

Thr Gln Ala Arg Met Val Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp

65 70 75 80

Asp Lys Lys Ala Lys Gly Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro

85

90

95

Arg Gly Ala Ala Pro Pro Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg

100

105

110

Ile Pro Ala Lys Thr Pro Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly

115

120

125

Glu Pro Pro Lys Ser Gly Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser

130

135

140

[0280]

Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro

145

150

155

160

Pro Thr Arg Glu Pro Lys Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys

165

170

175

Ser Pro Ser Ser Ala Lys Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met

180

185

190

Pro Asp Leu Lys Asn Val Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu

195

200

205

Lys His Gln Pro Gly Gly Gly Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu

210

215

220

Asp Leu Ser Asn Val Gln Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys

225

230

235

240

His Val Pro Gly Gly Gly Ser Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp

245

250

255

Leu Ser Lys Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His

260

265

270

[0281]

Lys Pro Gly Gly Gly Gln Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe

275

280

285

Lys Asp Arg Val Gln Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His

290

295

300

Val Pro Gly Gly Gly Asn Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe

305

310

315

320

Arg Glu Asn Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr

325

330

335

Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn

340

345

350

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

355

360

365

Thr Leu Ala Asp Glu Val Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu

370

375

380

[0282]

<210> 155

<211> 381

<212> PRT

<213> 智人

<400> 155

Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly

1

5

10

15

Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His

20

25

30

Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu

35

40

45

Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser

50

55

60

Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly

65

70

75

80

Asp Thr Pro Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala

85

90

95

[0283]

Arg Met Val Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys

100

105

110

Ala Lys Gly Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala

115

120

125

Ala Pro Pro Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala

130

135

140

Lys Thr Pro Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro

145

150

155

160

Lys Ser Gly Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr
 165 170 175

Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg
 180 185 190

Glu Pro Lys Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser
 195 200 205

Ser Ala Lys Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu
 210 215 220

[0284]

Lys Asn Val Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln
 225 230 235 240

Pro Gly Gly Gly Lys Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser
 245 250 255

Lys Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro
 260 265 270

Gly Gly Gly Gln Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp

275

280

285

Arg Val Gln Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro

290

295

300

Gly Gly Gly Asn Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu

305

310

315

320

Asn Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser

325

330

335

[0285]

Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser

340

345

350

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

355

360

365

Ala Asp Glu Val Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu

370

375

380

<210> 156

<211> 352

<212> PRT

<213> 智人

<400> 156

Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly

1 5 10 15

Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His

 20 25 30

Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Ala Glu Glu Ala

 35 40 45

[0286]

Gly Ile Gly Asp Thr Pro Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val

50 55 60

Thr Gln Ala Arg Met Val Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp

65 70 75 80

Asp Lys Lys Ala Lys Gly Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro

 85 90 95

Arg Gly Ala Ala Pro Pro Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg

100 105 110

Ile Pro Ala Lys Thr Pro Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly

115

120

125

Glu Pro Pro Lys Ser Gly Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser

130

135

140

Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro

145

150

155

160

Pro Thr Arg Glu Pro Lys Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys

165

170

175

[0287]

Ser Pro Ser Ser Ala Lys Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met

180

185

190

Pro Asp Leu Lys Asn Val Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu

195

200

205

Lys His Gln Pro Gly Gly Gly Lys Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val

210

215

220

Asp Leu Ser Lys Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His

225	230	235	240
His Lys Pro Gly Gly Gly Gln Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp			
	245	250	255
Phe Lys Asp Arg Val Gln Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr			
	260	265	270
His Val Pro Gly Gly Gly Asn Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr			
	275	280	285
[0288]			
Phe Arg Glu Asn Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val			
	290	295	300
Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser			
305	310	315	320
Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu			
	325	330	335
Ala Thr Leu Ala Asp Glu Val Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu			
	340	345	350

<210> 157

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> Any amino acid

[0289]

<400> 157

His Xaa Pro Gly Gly Gly

1

5

<210> 158

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
引物

	<400> 158	
	tgtaaacga cggccagt	18
	<210> 159	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 引物	
[0290]	<400> 159	
	caggaacag ctatgacc	18
	<210> 160	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成 引物	
	<400> 160	
	tgtaaacga cggccagtat ggctgtccta gggctactct tctgc	45

<210> 161

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

引物

<400> 161

caggaaacag ctatgaccca gtggatagac agatggggg

39

[0291]

<210> 162

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

引物

<400> 162

caggaaacag ctatgaccca gtggatagac cgatggggc

39

<210> 163

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
引物

<400> 163

caggaaacag ctatgaccca gtggatagac tgatggggg

39

<210> 164

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

[0292] <223> 人工序列的描述：合成
引物

<400> 164

caggaaacag ctatgaccca agggatagac agatggggc

39

<210> 165

<211> 48

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
引物

<400> 165

tgtaaacga cggccagtat ggattttcag gtgcagatta tcagcttc

48

<210> 166

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

引物

<400> 166

[0293] caggaaacag ctatgaccac tggatggtgg gaagatgg

38

<210> 167

<211> 101

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 167

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

1

5

10

15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20

25

30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35

40

45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50

55

60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65

70

75

80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln

85

90

95

[0294]

Ser Tyr Asn Leu Pro

100

<210> 168

<211> 101

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成

多肽

<400> 168

Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

[0295] Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
 85 90 95

Ser Phe Tyr Leu Arg
 100

Met Gln Leu Ser Ser Val Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 170

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<400> 170

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15

[0297]

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

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

[0300]

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100

105

110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115

120

125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130

135

140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145

150

155

160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

[0301]

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275

280

285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290

295

300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305

310

315

320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

330

[0302]

<210> 173

<211> 327

<212> PRT

<213> 智人

<400> 173

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1

5

10

15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20

25

30

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

35

40

45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50

55

60

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

65

70

75

80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85

90

95

[0303]

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100

105

110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115

120

125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130

135

140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145

150

155

160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

165

170

175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180

185

190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

195

200

205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210

215

220

[0304]

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

225

230

235

240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245

250

255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260

265

270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275

280

285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

290

295

300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305

310

315

320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

[0305]

<210> 174

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人

<400> 174

Met Asp Trp Thr Trp Arg Phe Leu Phe Val Val Ala Ala Val Thr Gly

1

5

10

15

Val Gln Ser

<210> 175

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人

<400> 175

Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser Gly Ser Ser Gly

1 5 10 15

<210> 176

<211> 111

<212> PRT

<213> 智人

[0306] <400> 176

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ile

 20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

[0308]

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Gly Ser Thr Val Thr Thr Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

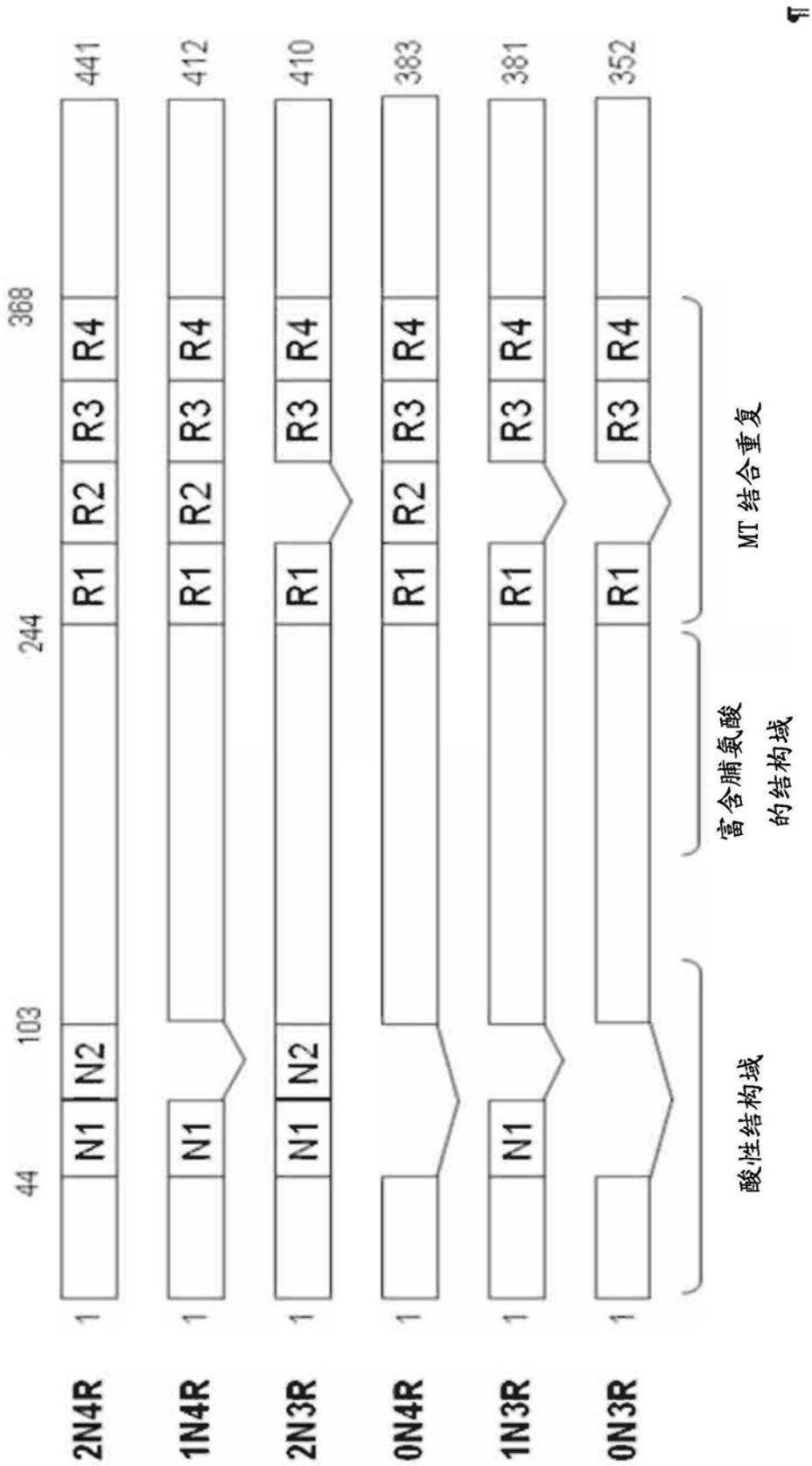


图1

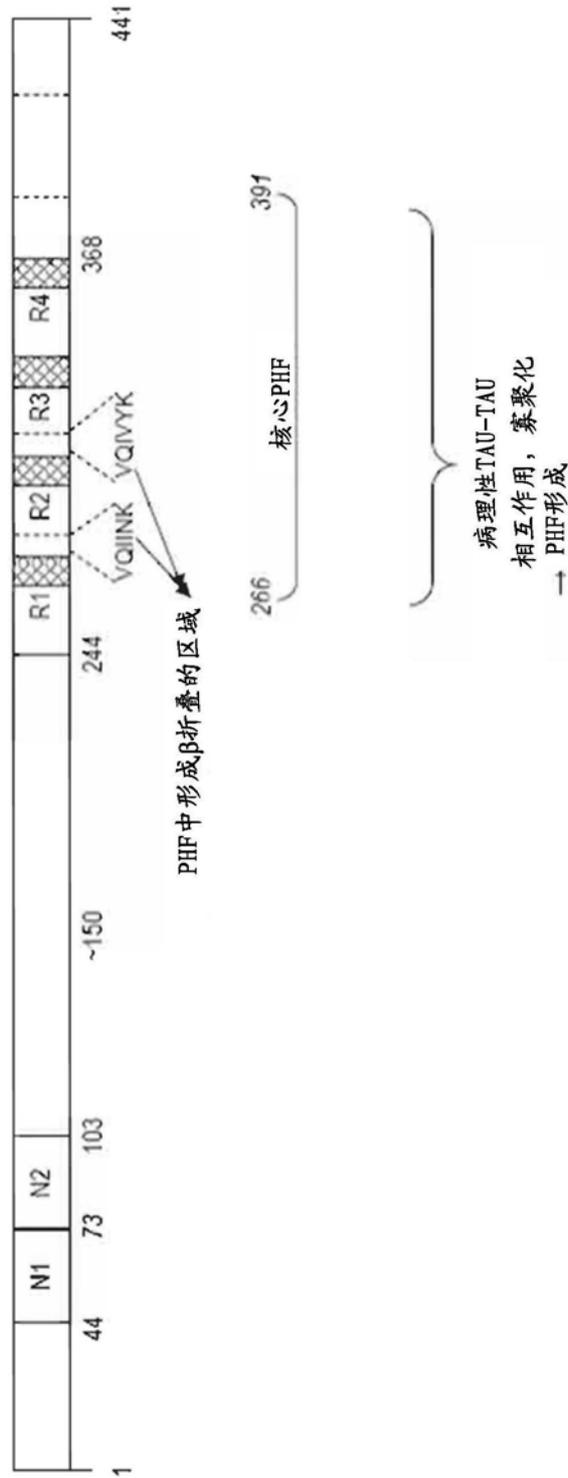


图2

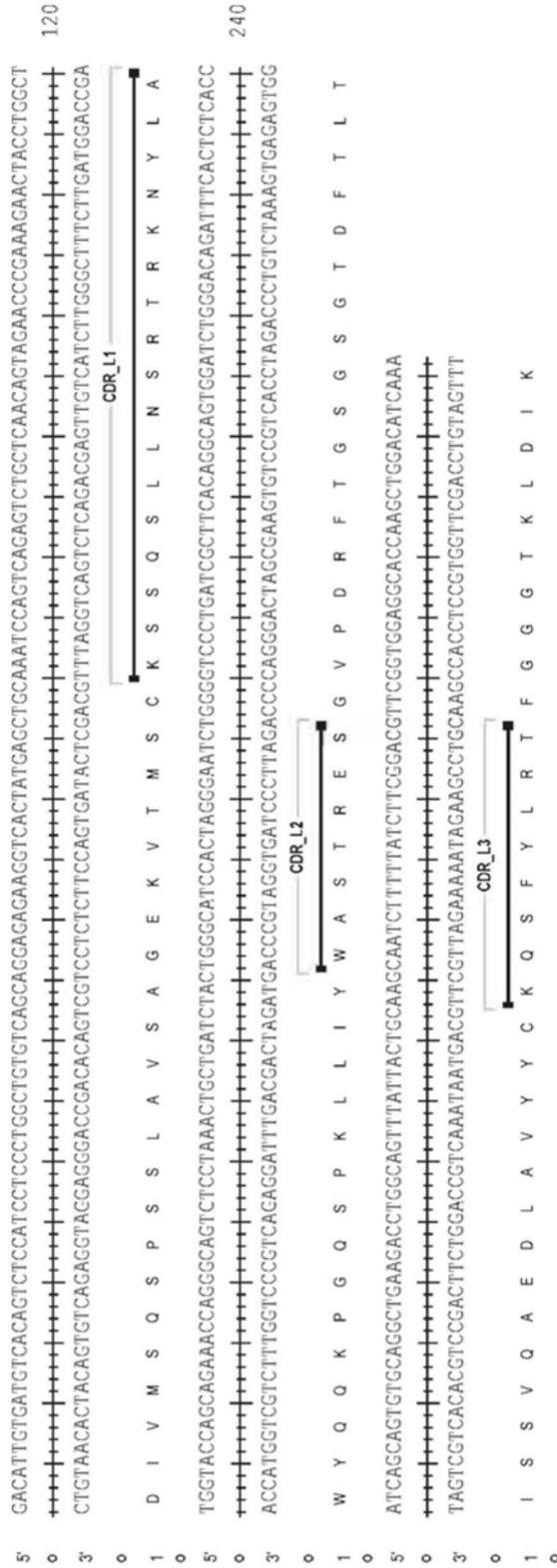


图3

```

5' CAGGTCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGACTTCAGTGAAGATGCCCTGTARGGCTTCTGGATACATAATTCACCTGACTATGTCATAAGCTGGTGAAGCAGAGA
0
3' GTCCAAAGTCGACGTCGTCAGACCTGGACTCGACCCTTGGACCTGAAGTCACTTCTACGGGACATTCGGAAGACCTATGTATAAGTGACTGATACAGTATTCGACCCACCTTCGTCTCT
0
0 Q V Q L Q Q S G P E L V K P G T S V K M P C K A S G Y I F T D Y V I S W V K Q R
1
0 ACTGGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTTTCTTAGAAGTGGTAGTACTTACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACAATCCCTCCACACAGCCCTAC
5'
0 TGACCTGTCCCGGAACCTCACCTAACCTCTCTAAAAGGATCTTCACCATCATGAATGATGTTACTCTCAAGTCCCGTCCCGGTGACTGACGCTGTTTAGGAGGTTGTGTCGGATG
3'
0 T G Q G L E W I G E I F P R S G S T Y Y N E K F K G A T L T A D K S S N T A Y
1
0 ATGCAGCTCAGCAGCGTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCAAGAGATTACTACGGTACTTCAATTTGCTATGGACTGCGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCCGTCCTCCTCA
5'
0 TACGTCGAGTCGTGCGACTGTAGACTCCTGAGACGCCAGATAAAGACACAGTTCCTAATGATGCCATGAAGTAAACGATACCTGATGACCCCACTTCCCTGGAGTCAGTGGCAGAGGAGT
3'
0 M Q L S S V T S E D S A V Y F C A R D Y Y G T S F A M D Y W G Q G T S V T V S S
1
0

```

图4

DC8E8_VH
最近的V-区 (从V-REGION第一个核苷酸到第二个cys密码子估计)

	得分	同一性
AC160990 Musmus IGHV1-81*01 F	1237	92.36% (266/288 nt)
AC160473 Musmus IGHV1-77*01 F	1219	91.67% (264/288 nt)
AC160990 Musmus IGHV1-83*01 P	1210	91.32% (263/288 nt)
AC160473 Musmus IGHV1-75*01 F	1192	90.62% (261/288 nt)
X02064 Musmus IGHV1-54*02 F	1174	89.93% (259/288 nt)

AC160990.seq	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTsygisWVKQRTGQGLEWIGeiYprsgntyyneKfgKATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCAR
DC8E8_VHCP..VK..T...MP.....I..d.v.....f.....s.....N....Q.S.V.....

图6

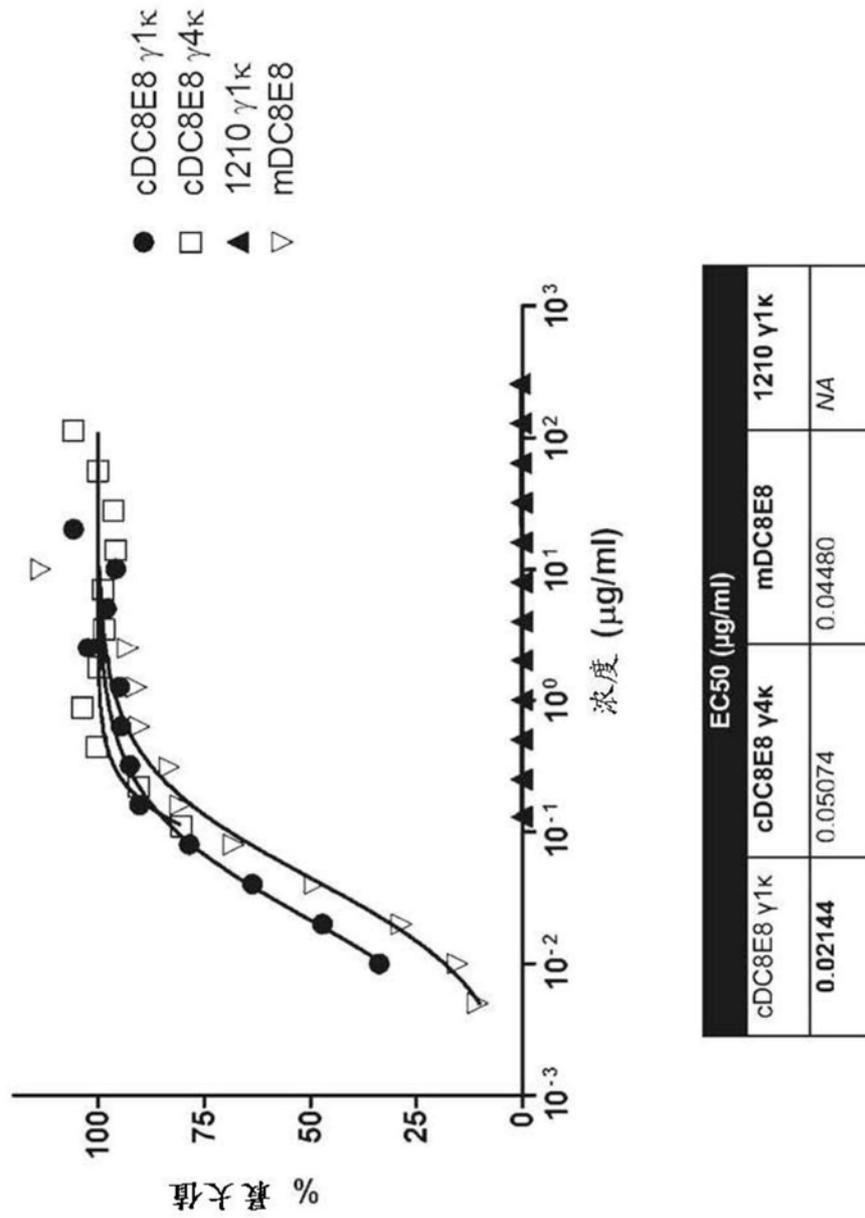


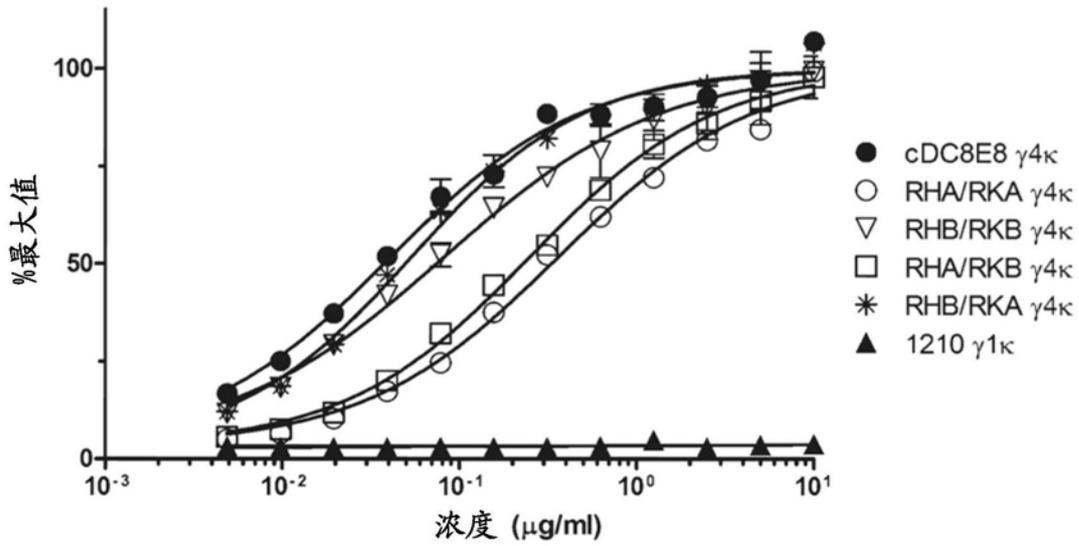
图7

Kabat号	氨基酸序列
DC8E8_重链	QVQLVQSGFELVKPSTSVKRPCKASGYIFDYYVLSWVRKQRTQGLEWIGeIFprgsstyynefkkgKATLTADKSSNTAYMQLSSVTSSEDSAVYFCARDyYgtsfamydWGQGTSVTVSS
M65092	QVQLVQSGAEVKKPQSSVKVSCKASGTEFSSyalsWVRQAPGGLEWNGeIIfpjtanyacfkfgrVITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARgStvttdgfdyWGQGTLLVTVSS
RHA	QVQLVQSGAEVKKPQSSVKVSCKASGTEFSDyviEWVRQAPGGLEWNGeIIfprgsstyynefkkgRVITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARDyYgtsfamydWGQGTLVTVSS
RHB	QVQLVQSGPEVKKPQSSVKVPCCKASGYIFDYYVLSWVRQAPGGLEWIGeIIfprgsstyynefkkgKATLTADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARDyYgtsfamydWGQGTLLVTVSS
RHC	QVQLVQSGPEVKKPQSSVKVPCCKASGTEFSDyviEWVRQAPGGLEWNGeIIfprgsstyynefkkgRVITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARDyYgtsfamydWGQGTLLVTVSS
RHD	QVQLVQSGAEVKKPQSSVKVSCKASGYTEFSDyviEWVRQAPGGLEWNGeIIfprgsstyynefkkgRVITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARDyYgtsfamydWGQGTLLVTVSS
RHE	QVQLVQSGAEVKKPQSSVKVSCKASGTEFSDyviEWVRQAPGGLEWNGeIIfprgsstyynefkkgRVITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARDyYgtsfamydWGQGTLLVTVSS
RHF	QVQLVQSGAEVKKPQSSVKVSCKASGTEFSDyviEWVRQAPGGLEWNGeIIfprgsstyynefkkgRVITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARDyYgtsfamydWGQGTLLVTVSS
RHG	QVQLVQSGAEVKKPQSSVKVSCKASGTEFSDyviEWVRQAPGGLEWNGeIIfprgsstyynefkkgRVITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARDyYgtsfamydWGQGTLLVTVSS
RHH	QVQLVQSGAEVKKPQSSVKVSCKASGTEFSDyviEWVRQAPGGLEWIGeIIfprgsstyynefkkgRVITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARDyYgtsfamydWGQGTLLVTVSS
RHI	QVQLVQSGAEVKKPQSSVKVSCKASGTEFSDyviEWVRQAPGGLEWNGeIIfprgsstyynefkkgRVITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARDyYgtsfamydWGQGTLLVTVSS
RHJ	QVQLVQSGAEVKKPQSSVKVSCKASGTEFSDyviEWVRQAPGGLEWNGeIIfprgsstyynefkkgRVITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARDyYgtsfamydWGQGTLLVTVSS
RHK	QVQLVQSGAEVKKPQSSVKVSCKASGTEFSDyviEWVRQAPGGLEWNGeIIfprgsstyynefkkgRVITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARDyYgtsfamydWGQGTLLVTVSS
RHL	QVQLVQSGAEVKKPQSSVKVSCKASGTEFSDyviEWVRQAPGGLEWNGeIIfprgsstyynefkkgRVITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARDyYgtsfamydWGQGTLLVTVSS
RHM	QVQLVQSGAEVKKPQSSVKVSCKASGYIFSDyviEWVRQAPGGLEWNGeIIfprgsstyynefkkgRVITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAIVYFCARDyYgtsfamydWGQGTLLVTVSS

图8

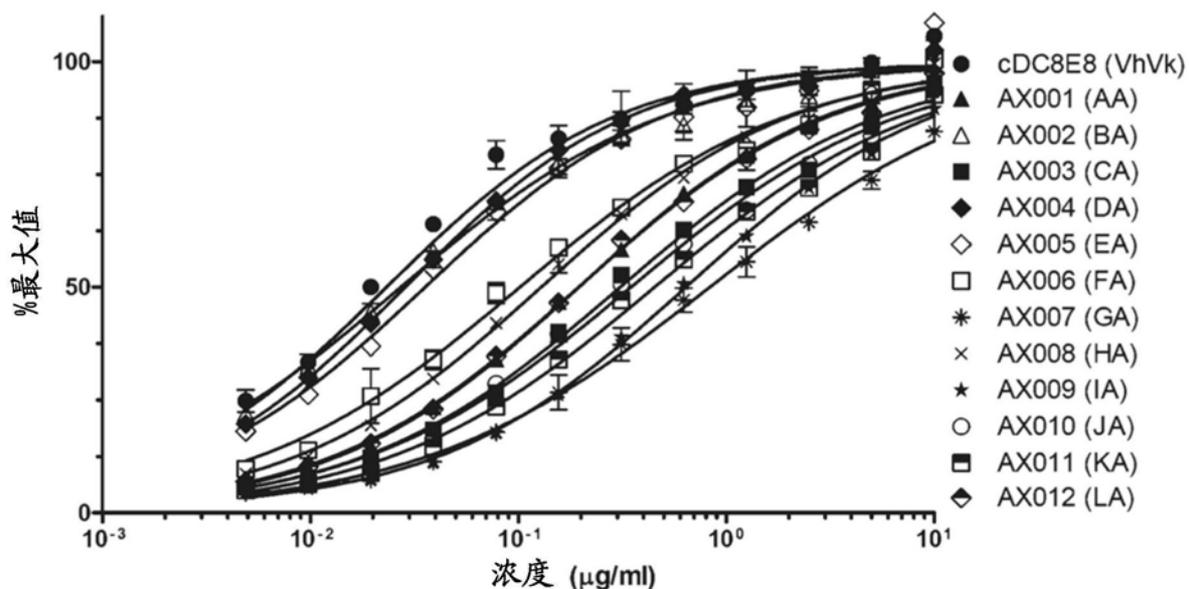
Kabat-号	***** *.....** *****
DC8E8_Kappa	DIVMSQSPSSLAWSAGEKVTMSCKssqslInsrtrknyIaWYQQKPGQSPKLLIYwastresGVDRFTGSGSGTDFLTISVQAEDLAVVYCKqsfylrtFGGTKLDIK
X72449	DIVMTQSPLSIFVTPGEPASISCrssqslIhI-ngynylawVLQKPGQSPQLLIYlgnsrasGVDRFTGSGSGTDFLTKISRVEAEDGVVYChqalqpwrtFGQGTKVEIK
RKA	DIVMTQSPLSIFVTPGEPASISCKssqslInsrtrknyIaWYLOKPGQSPQLLIYwastresGVDRFTGSGSGTDFLTKISRVEAEDGVVYCKqsfylrtFGQGTKVEIK
RKB	DIVMSQSPLSIFVTPGEPASISCKssqslInsrtrknyIaWVLQKPGQSPQLLIYwastresGVDRFTGSGSGTDFLTKISRVEAEDGVVYChqqsfylrtFGQGTKVEIK

图9



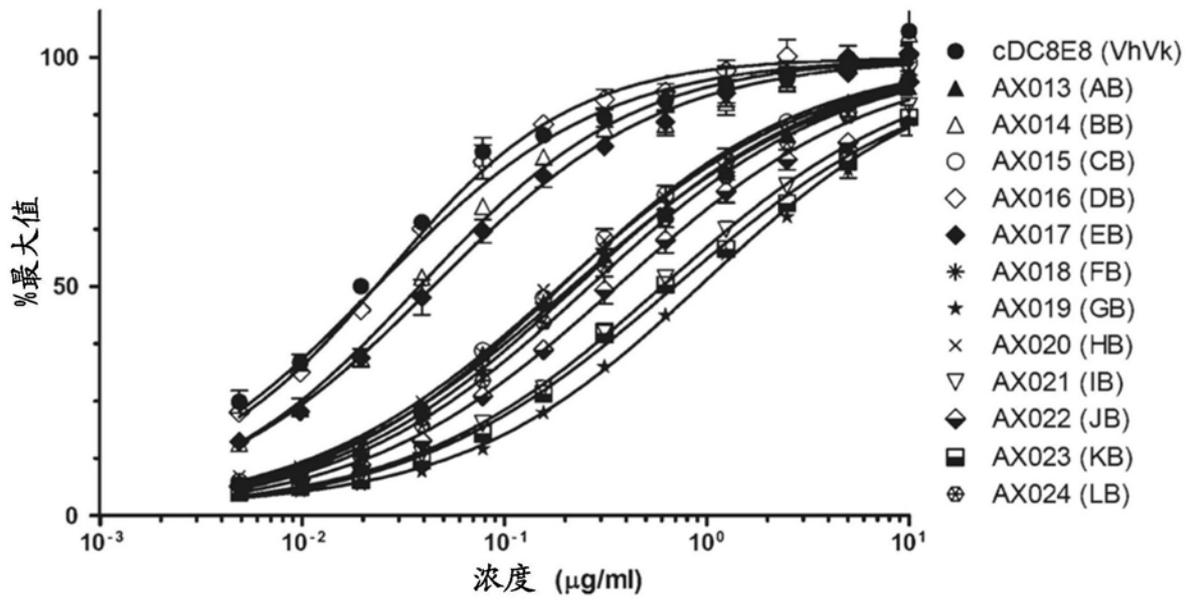
	EC50 (µg/ml)					
	cDC8E8	RHA/RKA	RHB/RKB	RHA/RKB	RHB/RKA	1210 γ1κ
γ1κ	0.02915	0.1884	0.02694	0.2216	0.07770	NA
γ4κ	0.04068	0.3596	0.08151	0.2479	0.05328	NA

图10



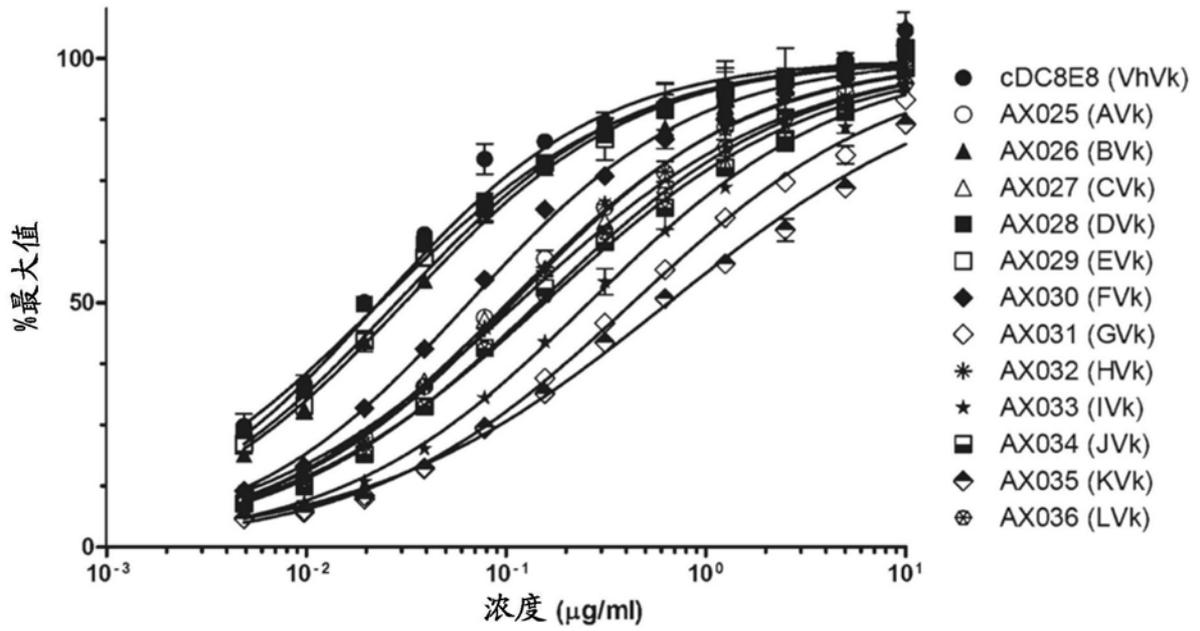
名称	链组成		EC50 (µg/ml)
cDC8E8	VH	VK	0.0199
AX001	RHA	RKA	0.1951
AX002	RHB	RKA	0.0271
AX003	RHC	RKA	0.3083
AX004	RHD	RKA	0.0285
AX005	RHE	RKA	0.0356
AX006	RHF	RKA	0.1015
AX007	RHG	RKA	0.8311
AX008	RHH	RKA	0.1286
AX009	RHI	RKA	0.6491
AX010	RHJ	RKA	0.3471
AX011	RHK	RKA	0.4510
AX012	RHL	RKA	0.1945

图11



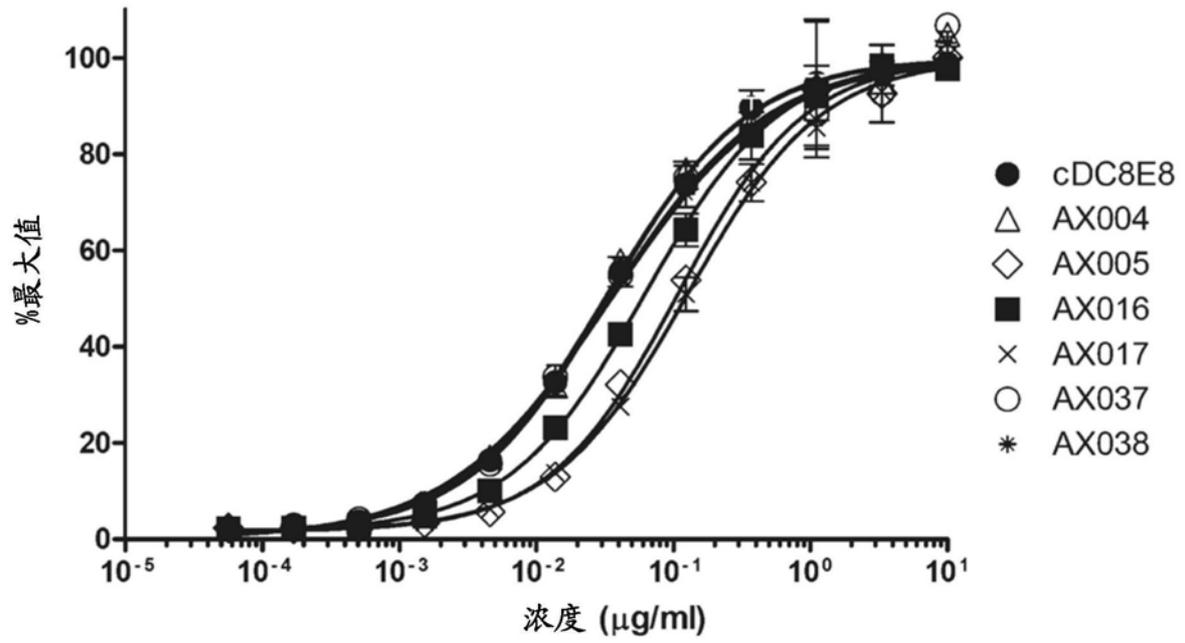
名称	链组成		EC50 (µg/ml)
cDC8E8	VH	VK	0.0199
AX013	RHA	RKB	0.2152
AX014	RHB	RKB	0.0379
AX015	RHC	RKB	0.1907
AX016	RHD	RKB	0.0262
AX017	RHE	RKB	0.0443
AX018	RHF	RKB	0.2264
AX019	RHG	RKB	0.9673
AX020	RHH	RKB	0.1877
AX021	RHI	RKB	0.6141
AX022	RHJ	RKB	0.3593
AX023	RHK	RKB	0.6941
AX024	RHL	RKB	0.2634

图12



名称	链组成		EC50 (µg/ml)
cDC8E8	VH	VK	0.0199
AX025	RHA	Vk	0.1024
AX026	RHB	Vk	0.0310
AX027	RHC	Vk	0.1156
AX028	RHD	Vk	0.0234
AX029	RHE	Vk	0.0283
AX030	RHF	Vk	0.0652
AX031	RHG	Vk	0.4299
AX032	RHH	Vk	0.1126
AX033	RHI	Vk	0.2599
AX034	RHJ	Vk	0.1556
AX035	RHK	Vk	0.6510
AX036	RHL	Vk	0.1463

图13



名称	链组成		EC50 (µg/ml)
cDC8E8	VH	VK	0.0338
AX004	RHD	RKA	0.0322
AX005	RHE	RKA	0.1074
AX016	RHD	RKB	0.0615
AX017	RHE	RKB	0.1265
AX037	RHM	RKA	0.0346
AX038	RHM	RKB	0.0352

图14

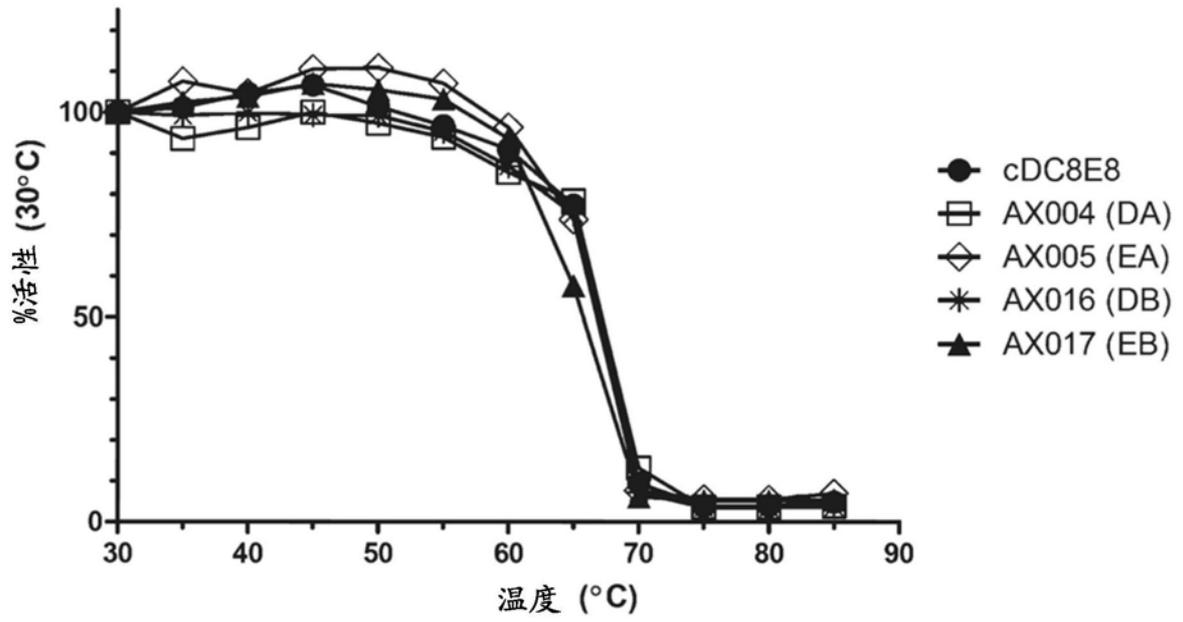
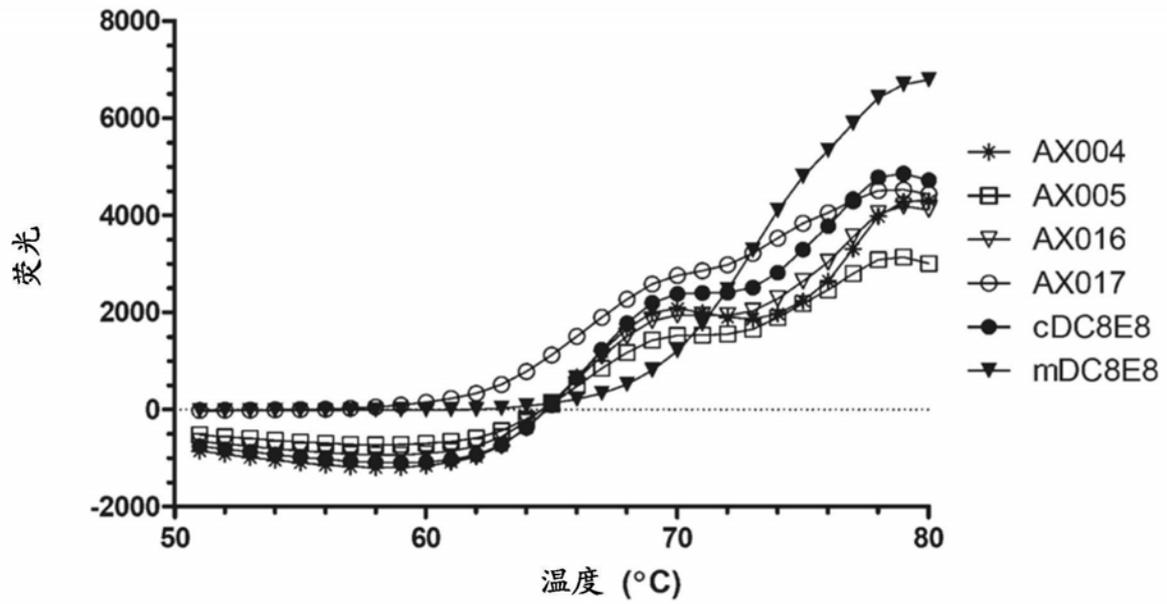
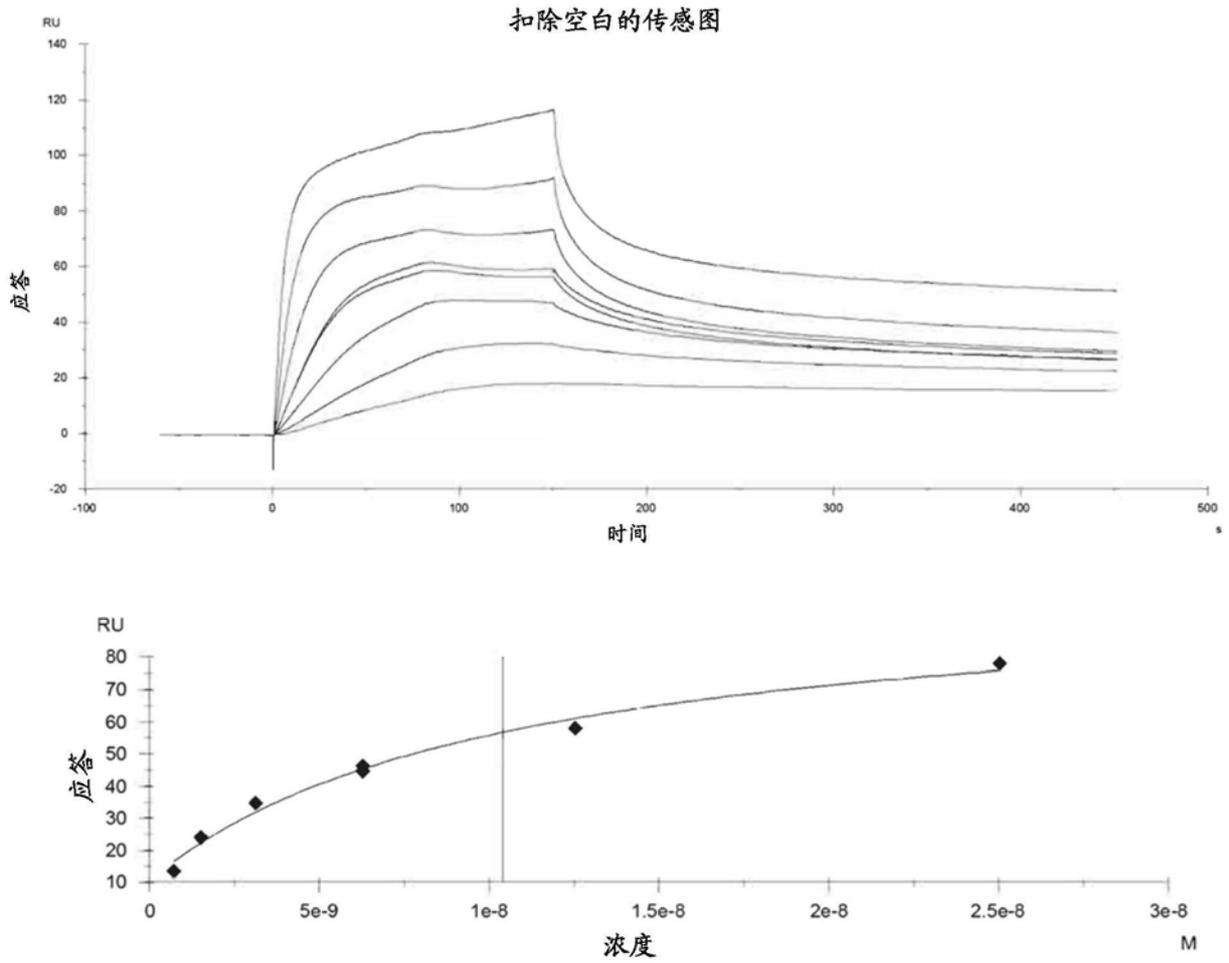


图15



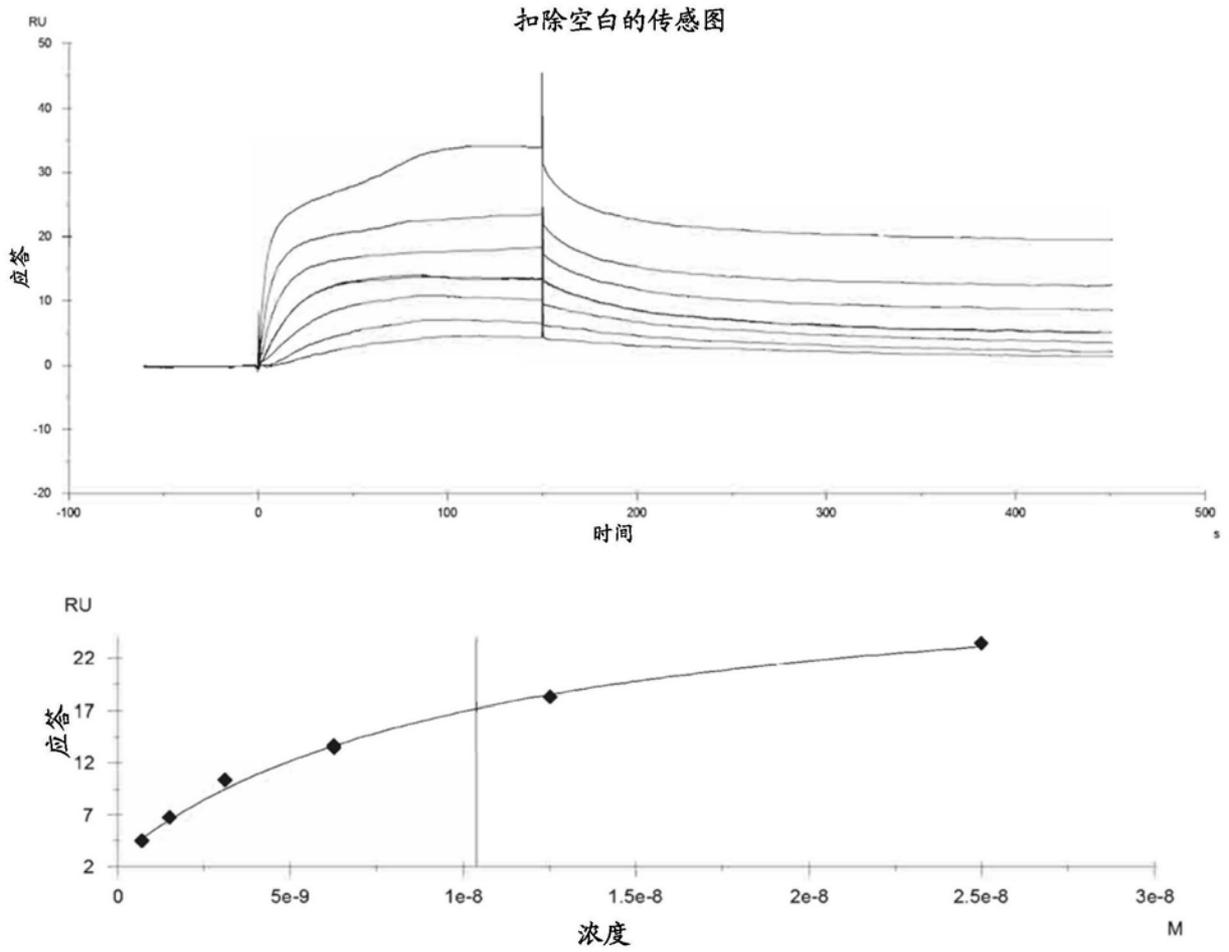
	AX004	AX005	AX016	AX017	cDC8E8	mDC8E8
Tm (圆形的)	70	70	70	69	70	73
最大值	4300.9046	3135.43837	4187.99894	4529.31902	4857.25689	6791.01988
最小值	-1193.26152	-725.47317	-936.2542	-28.01788	-1098.6411	-25.13077
Max - Min	5494.16612	3860.91154	5124.25314	4557.3369	5955.89801	6816.15065
斜率	4.414670596	3.678766181	3.965288376	3.348855489	3.62506314	2.02029628

图16



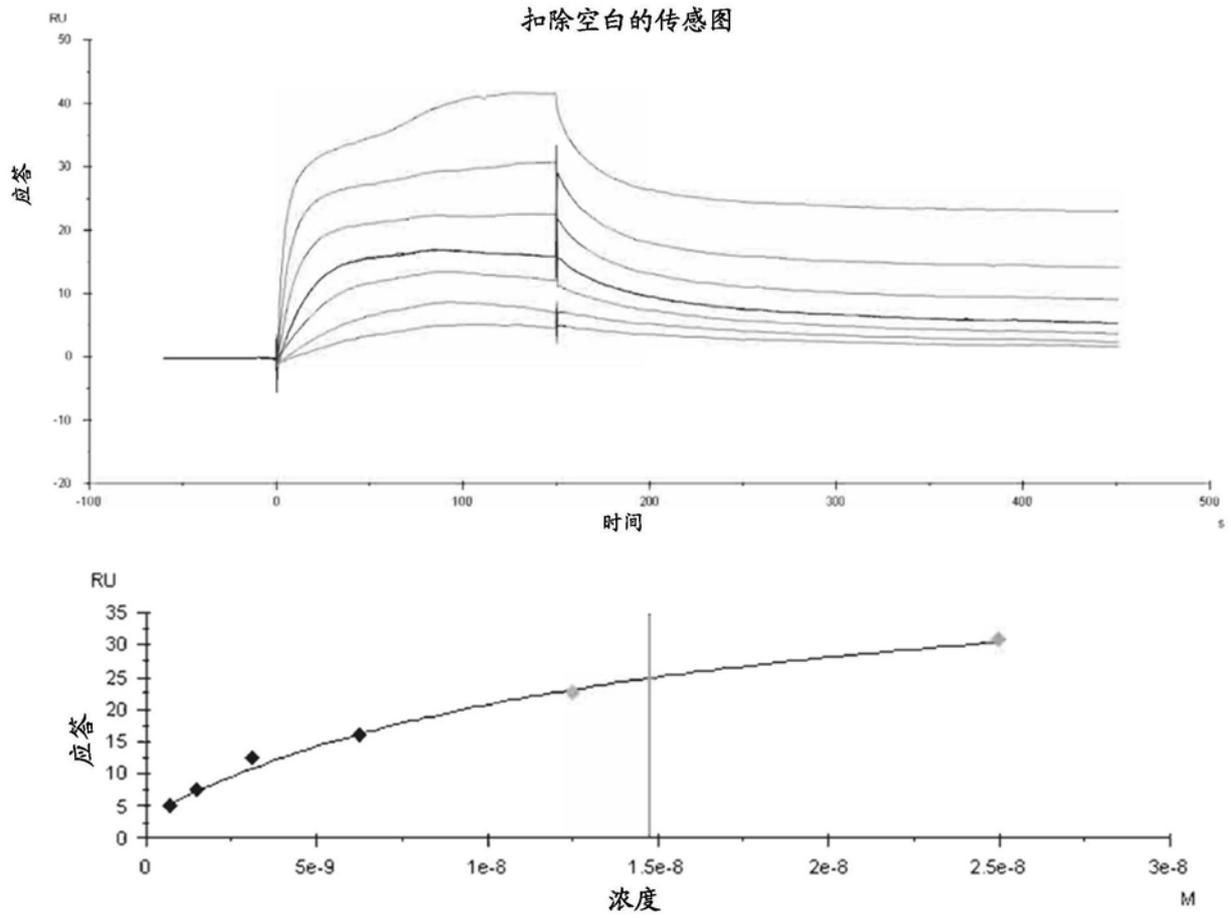
KD (M)	Rmax (RU)	偏移 (RU)	Chi ² (RU ²)
1.040x10 ⁻⁸	92.43	10.61	8.39

图17



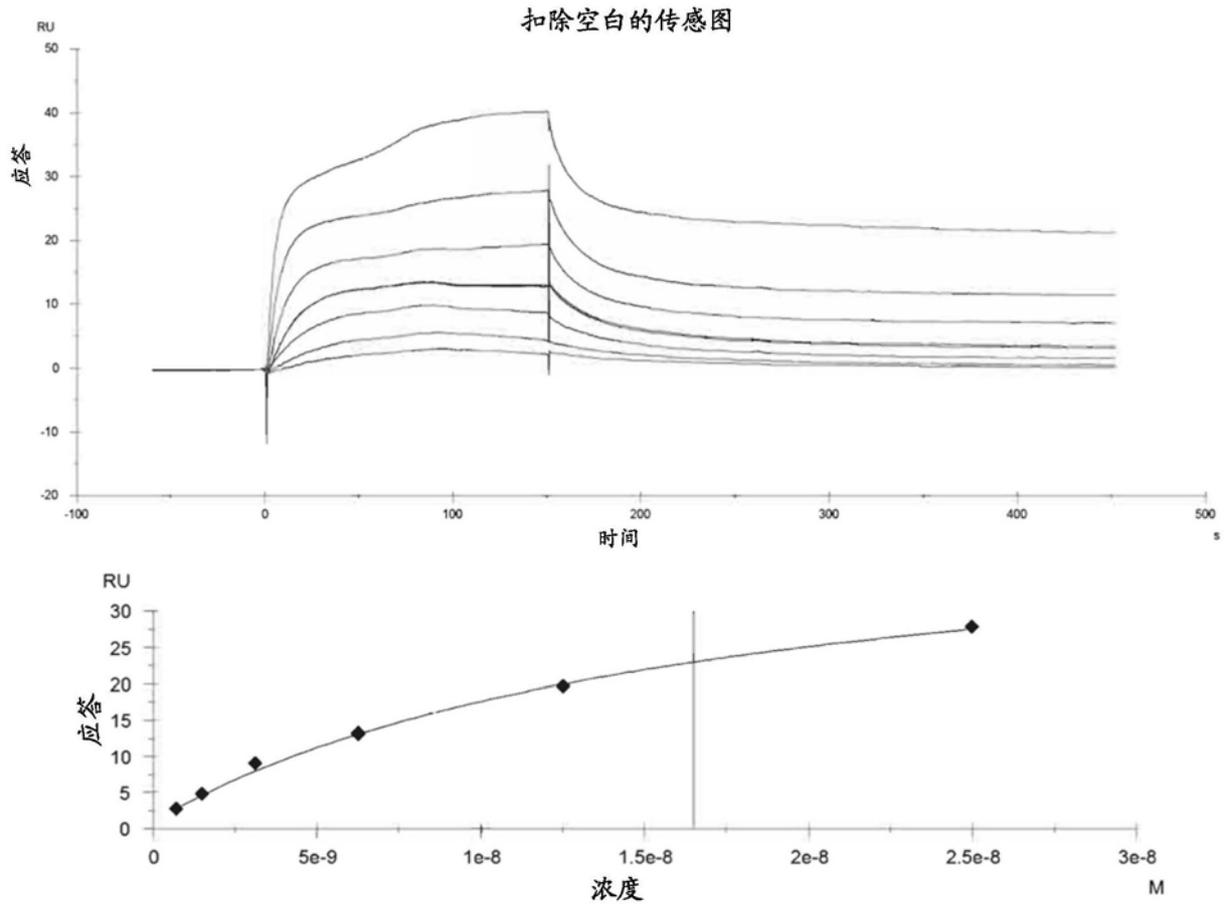
KD (M)	Rmax (RU)	偏移 (RU)	Chi ² (RU ²)
1.037x10 ⁻⁸	28.56	2.921	0.226

图18



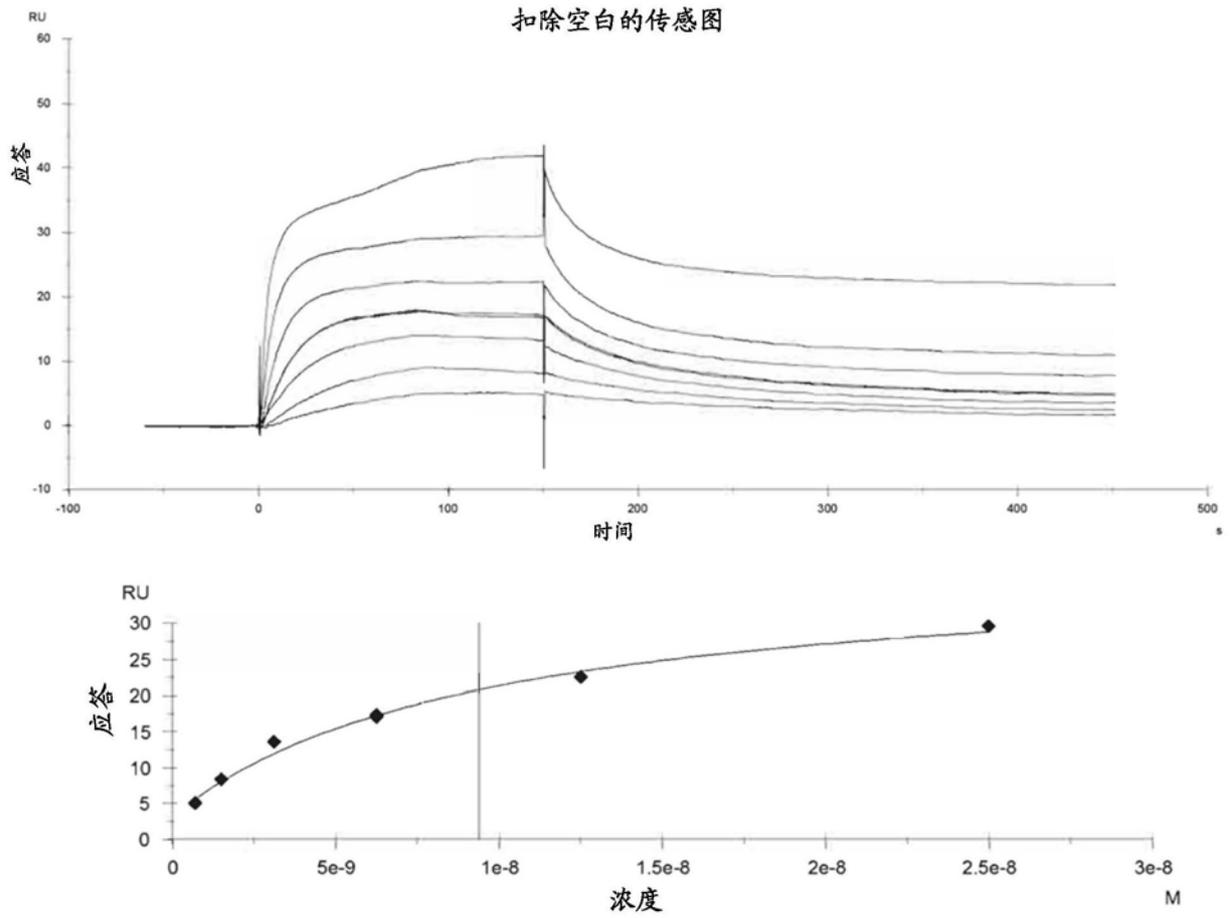
KD (M)	Rmax (RU)	偏移 (RU)	Chi ² (RU ²)
1.473x10 ⁻⁸	43.02	3.320	0.668

图19



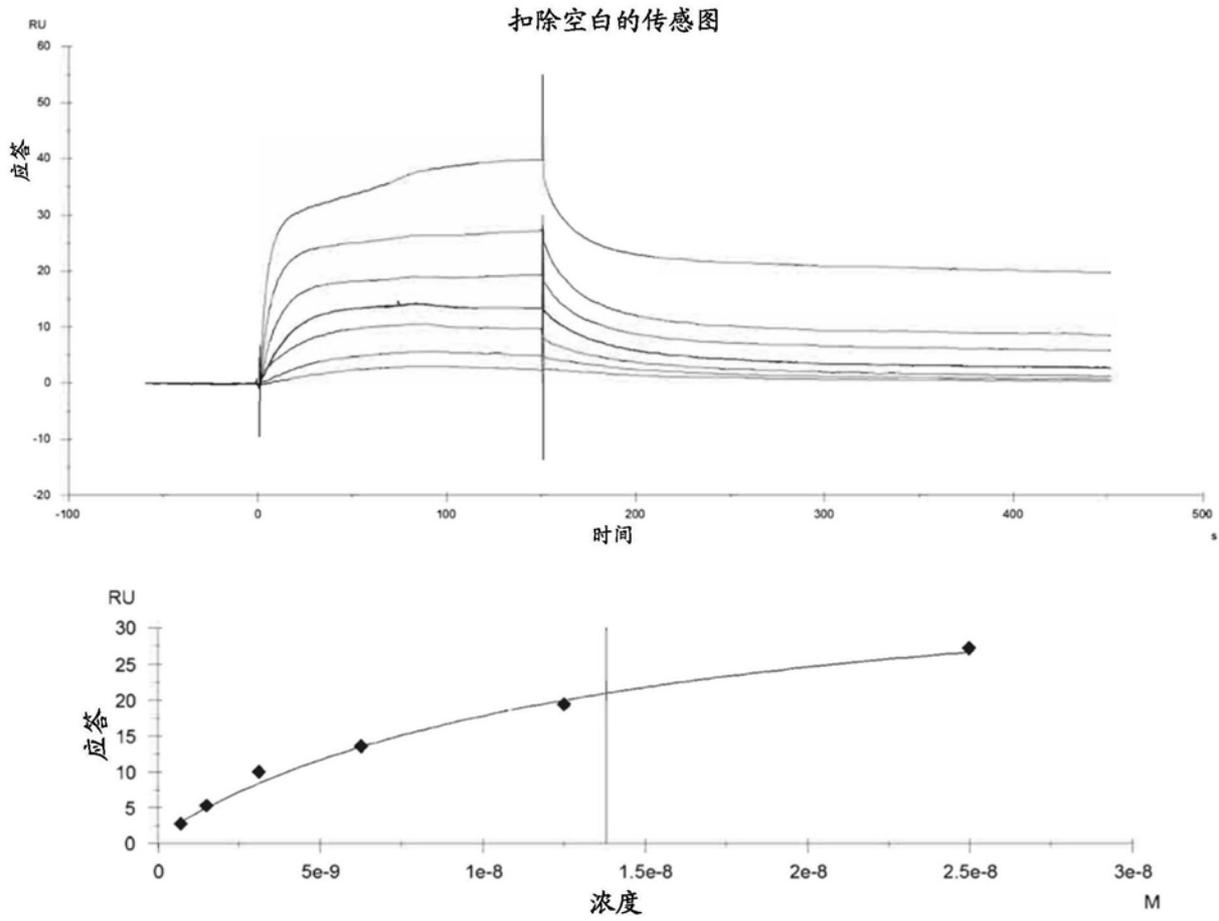
KD (M)	Rmax (RU)	偏移 (RU)	Chi ² (RU ²)
1.649×10 ⁻⁸	43.96	1.011	0.292

图20



KD (M)	Rmax (RU)	偏移 (RU)	Chi ² (RU ²)
9.386x10 ⁻⁹	35.18	3.184	0.987

图21

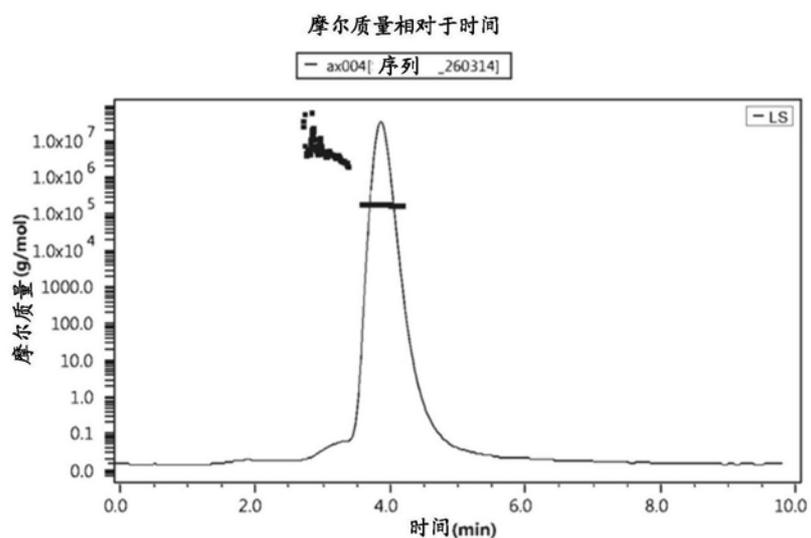


KD (M)	Rmax (RU)	偏移 (RU)	Chi ² (RU ²)
1.381x10 ⁻⁸	39.68	1.130	0.685

图22

	KD (M)	Rmax (RU)	偏移 (RU)	Chi ² (RU ²)
mDC8E8	1.040x10 ⁻⁸	92.43	10.61	8.39
cDC8E8	1.037x10 ⁻⁸	28.56	2.921	0.226
AX004	1.473x10 ⁻⁸	43.02	3.320	0.668
AX005	1.649x10 ⁻⁸	43.96	1.011	0.292
AX016	9.386x10 ⁻⁹	35.18	3.184	0.987
AX017	1.381x10 ⁻⁸	39.68	1.130	0.685

图23



峰	Mw (kDa)	多分散性	质量分率(%)
1	169.8	1.001	99.6

图24A

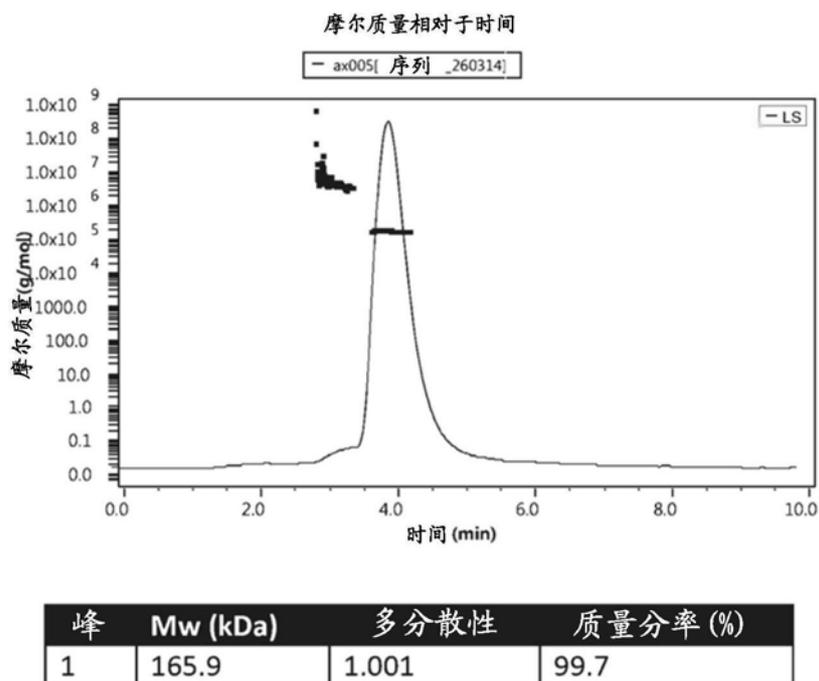


图24B

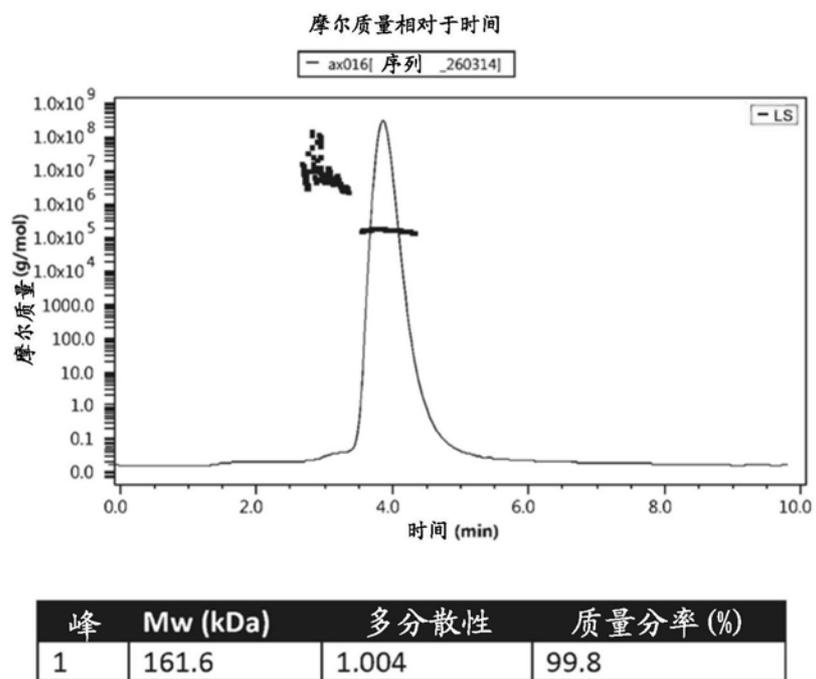
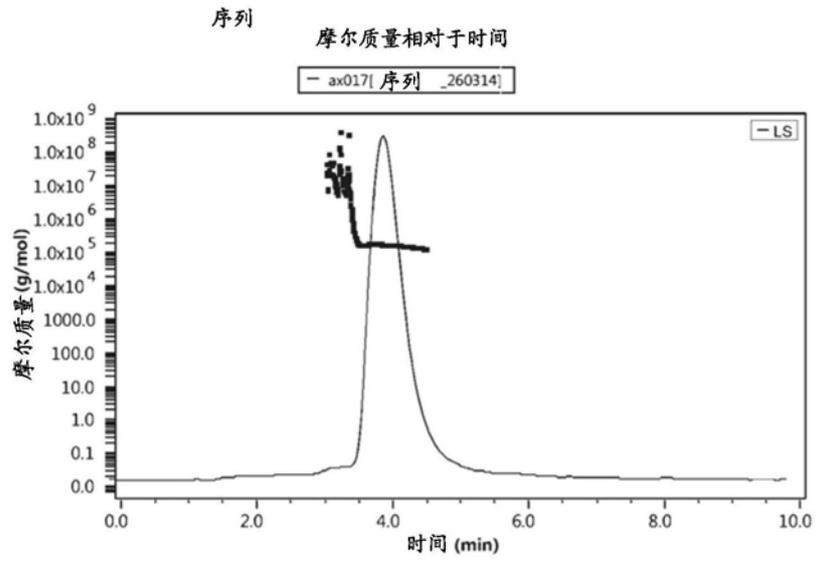
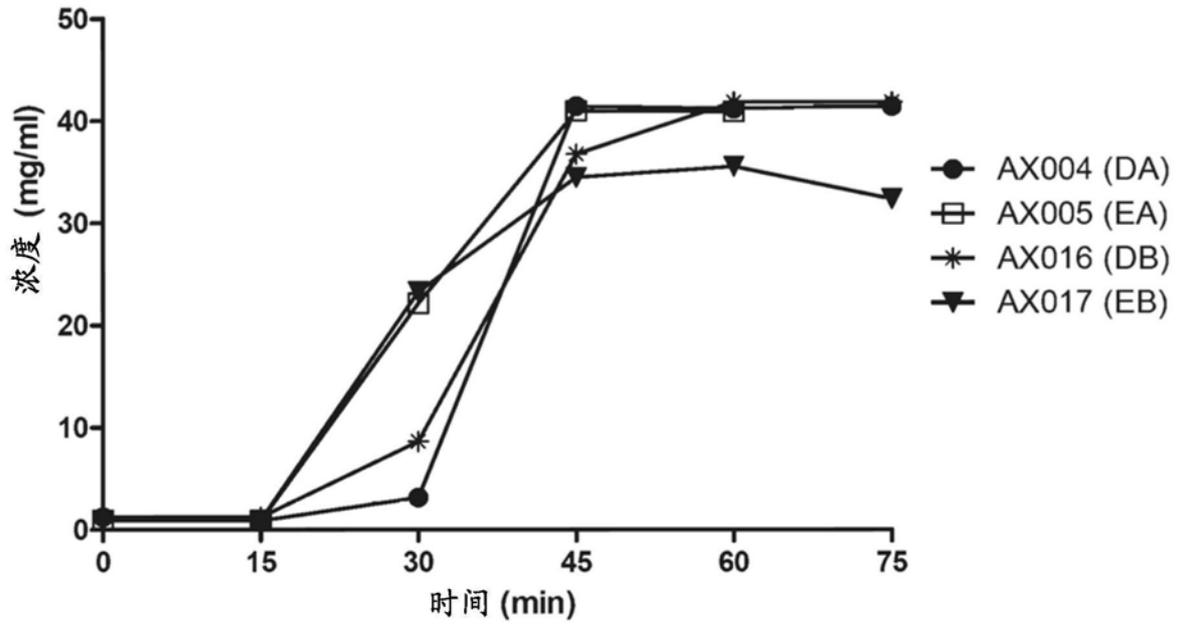


图24C



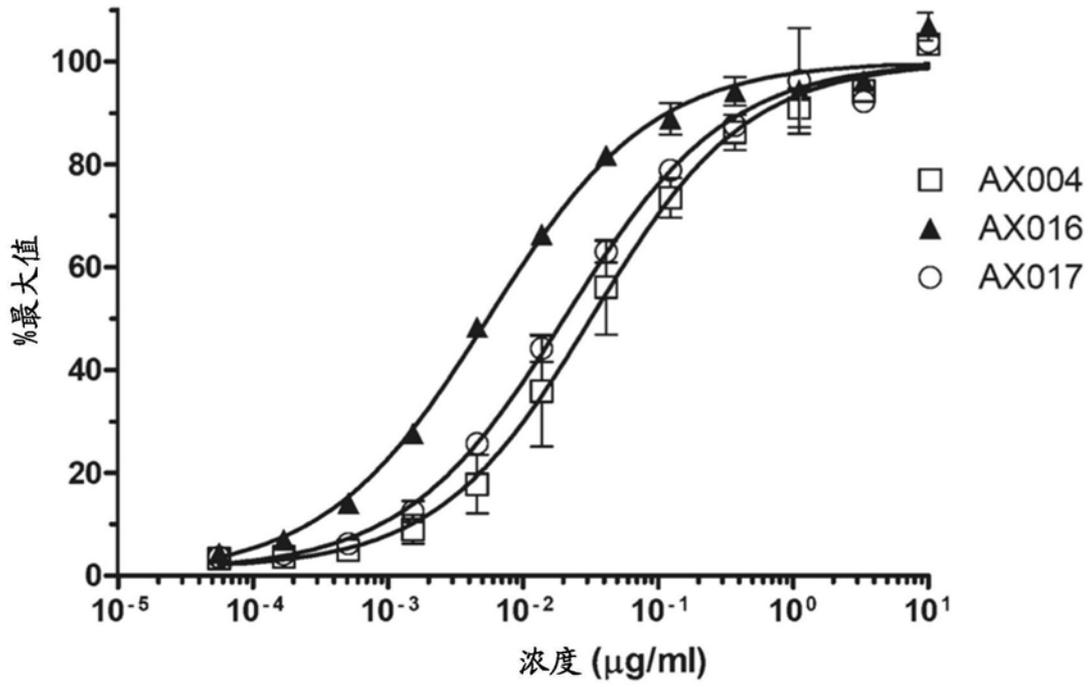
峰	Mw (kDa)	多分散性	质量分率 (%)
1	160.0	1.008	99.9

图24D



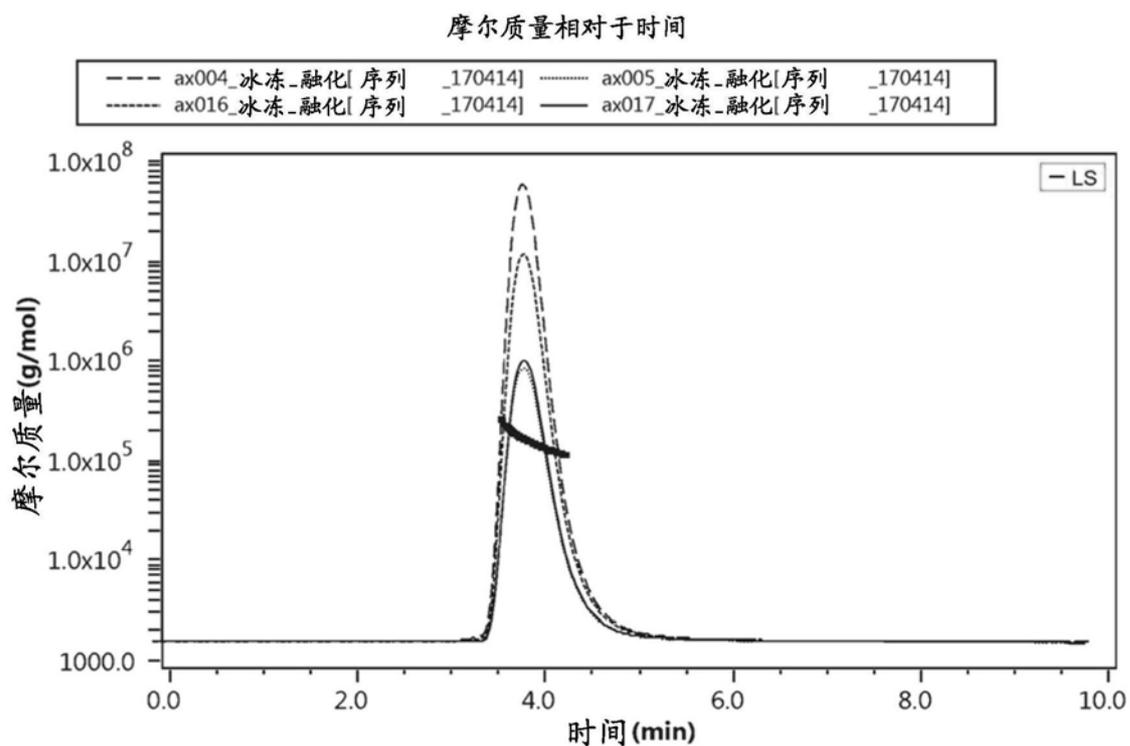
时间 (min)	浓度 (mg/ml)			
	AX004	AX005	AX016	AX017
0	1.248	0.935	1.281	0.961
15	0.900	0.906	1.252	0.969
30	3.175	22.156	8.643	23.296
45	41.455	40.965	36.767	34.497
60	41.204	40.906	41.856	35.545
75	41.447	ND	41.864	32.385

图25



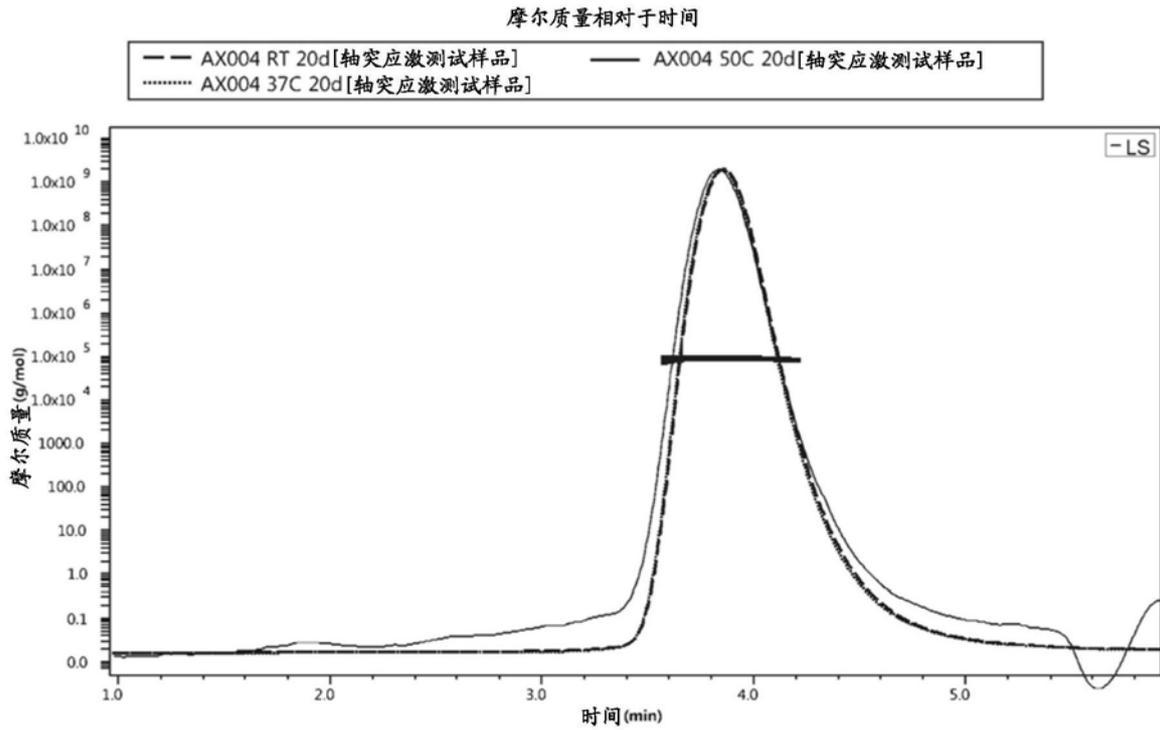
	AX004	AX016	AX017
EC ₅₀	0.03287	0.005483	0.02067

图26



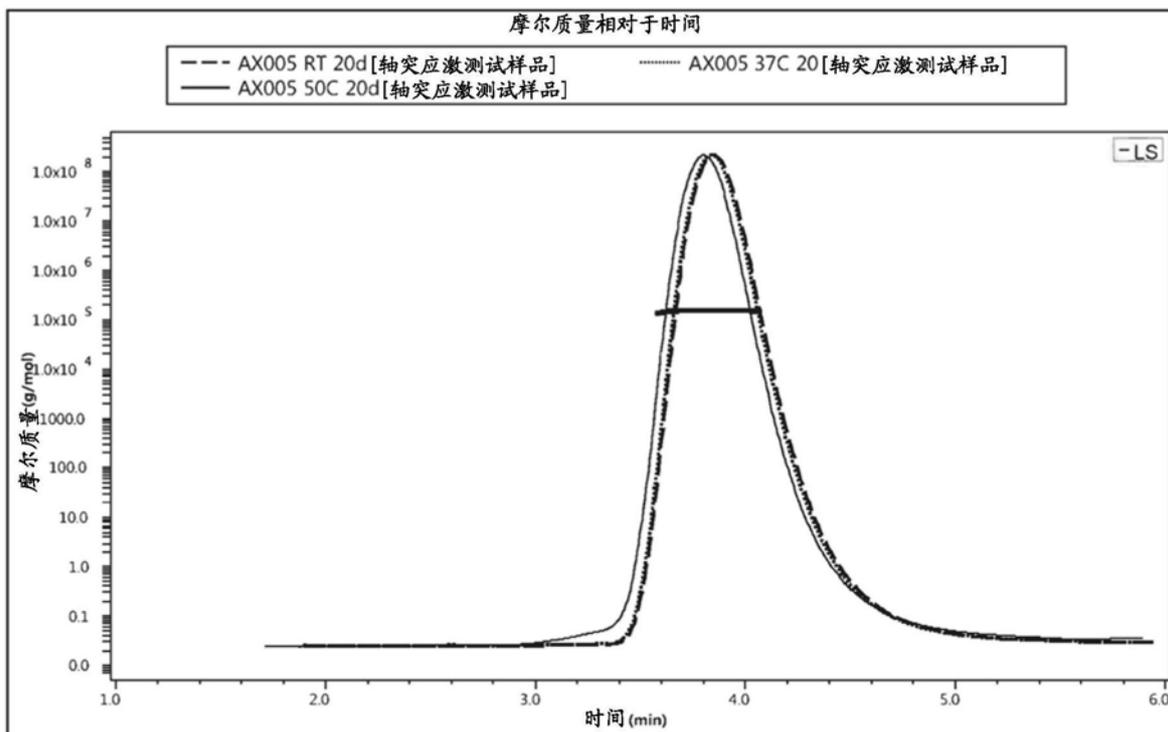
样品	样品 浓度 (mg/ml)	Mw (kDa)	多分散性 (< 1.05 is acceptable)	质量 分率 (%)
Ax004_冰冻-融化	1.25	160.0 ($\pm 0.3\%$)	1.033 ($\pm 0.5\%$)	> 99.5
Ax005_冰冻-融化	0.94	159.9 ($\pm 0.3\%$)	1.037 ($\pm 0.4\%$)	> 99.5
Ax016_冰冻-融化	1.28	157.6 ($\pm 0.3\%$)	1.039 ($\pm 0.5\%$)	> 99.5
Ax017_冰冻-融化	0.96	155.8 ($\pm 0.3\%$)	1.037 ($\pm 0.4\%$)	> 99.5

图27



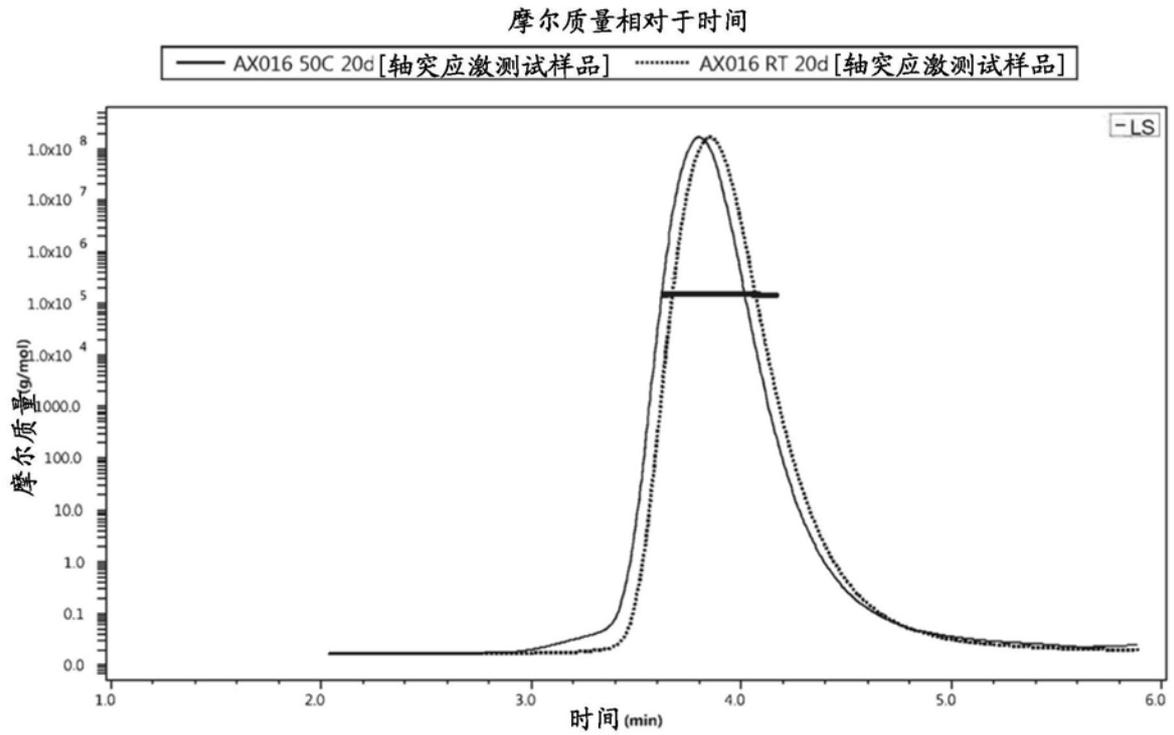
	Mw (kDa)	多分散性 (Mw/Mn)	质量分率 (%)
AX004 RT 20d	146.7 ±0.4	1.014 ±0.004	100.0
AX004 37°C 20d	143.4 ±0.4	1.026 ±0.004	99.7
AX004 50°C 20d	152.4 ±2.4	1.023 ±0.026	99.4

图28A



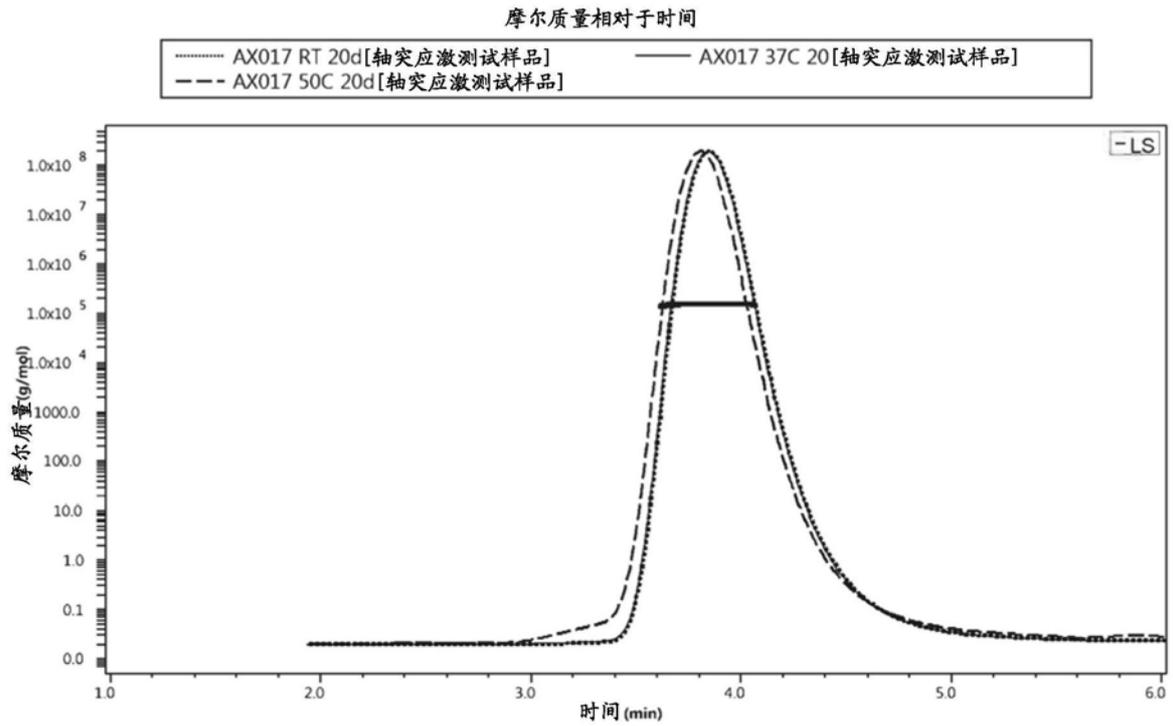
	Mw (kDa)	多分散性 (Mw/Mn)	质量分率 (%)
AX005 RT 20d	145.0 ±0.4	1.013 ±0.005	100.0
AX005 37°C 20d	143.6 ±0.4	1.016 ±0.004	99.9
AX005 50°C 20d	146.3 ±0.3	1.009 ±0.003	99.4

图28B



	Mw (kDa)	多分散性 (Mw/Mn)	质量分率 (%)
AX016 RT 20d	144.0 ±0.4	1.018 ±0.004	99.9
AX016 37°C 20d	N/A	N/A	N/A
AX016 50°C 20d	145.6 ±0.3	1.012 ±0.004	99.3

图28C



	Mw (kDa)	多分散性 (Mw/Mn)	质量分率 (%)
AX017 RT 20d	143.3 ±0.4	1.017 ±0.004	100.0
AX017 37°C 20d	143.2 ±0.3	1.016 ±0.004	99.9
AX017 50°C 20d	146.1 ±0.4	1.009 ±0.004	99.2

图28D

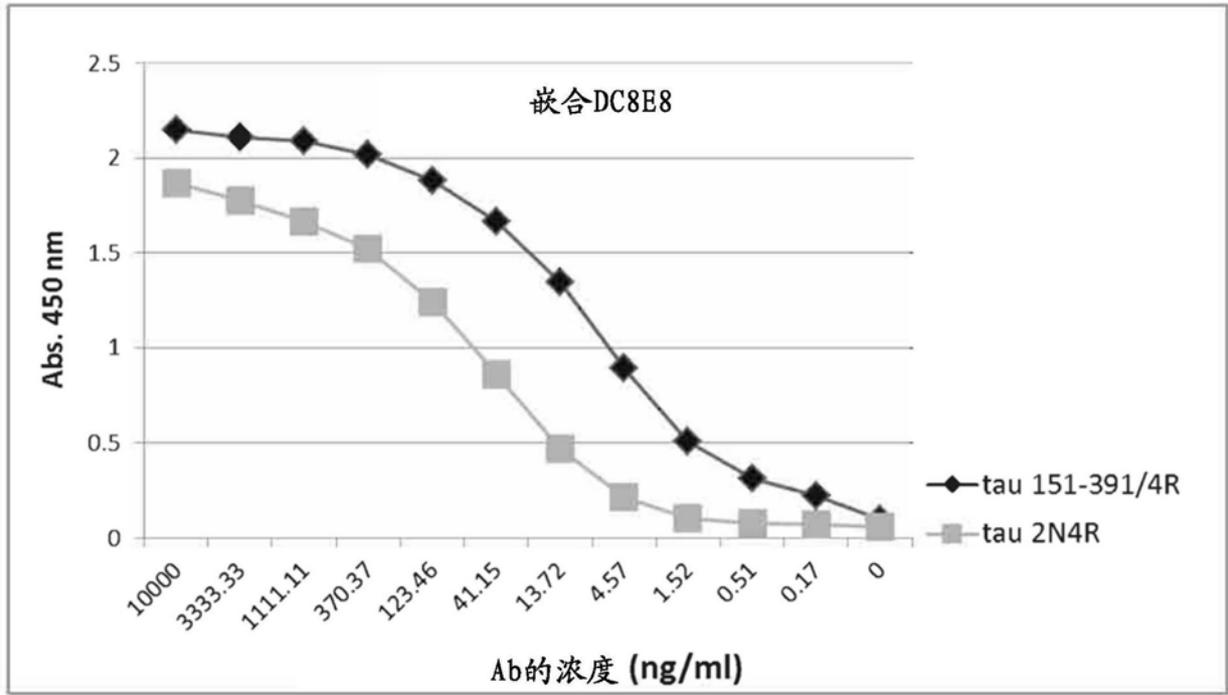


图29A

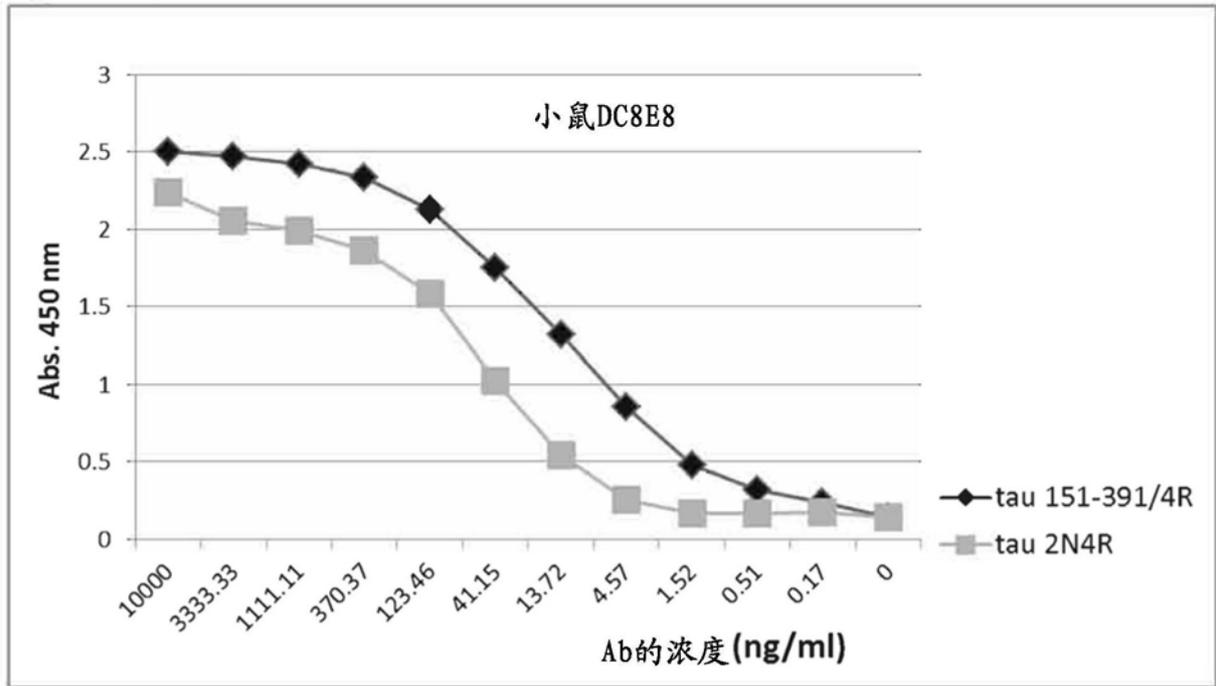
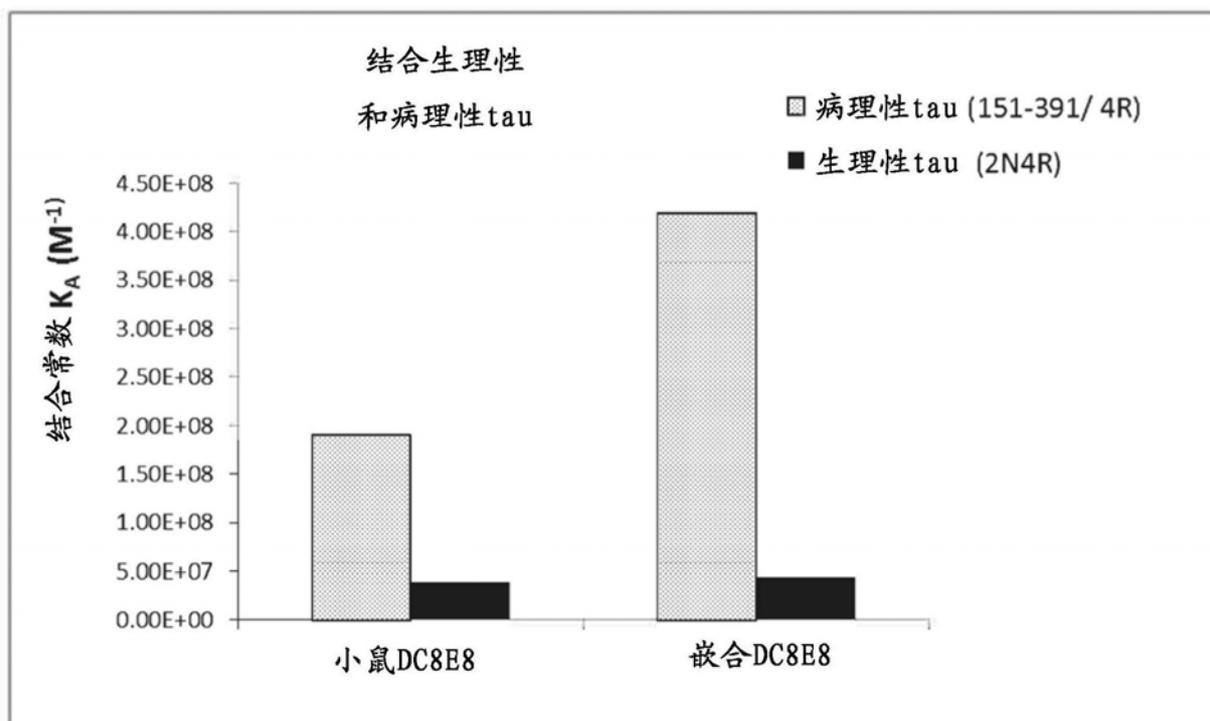


图29B

EC50 (ng/ml)		
Ab	嵌合DC8E8	小鼠DC8E8
Tau 151-391/4R	10.1	15.7
Tau 2N4R	52.7	52.4

图29C



KA (M ⁻¹)		
Ab	嵌合DC8E8	小鼠DC8E8
Tau 151-391/4R	4.2E+08	1.9E+08
Tau 2N4R	4.4E+07	3.9E+07

图30

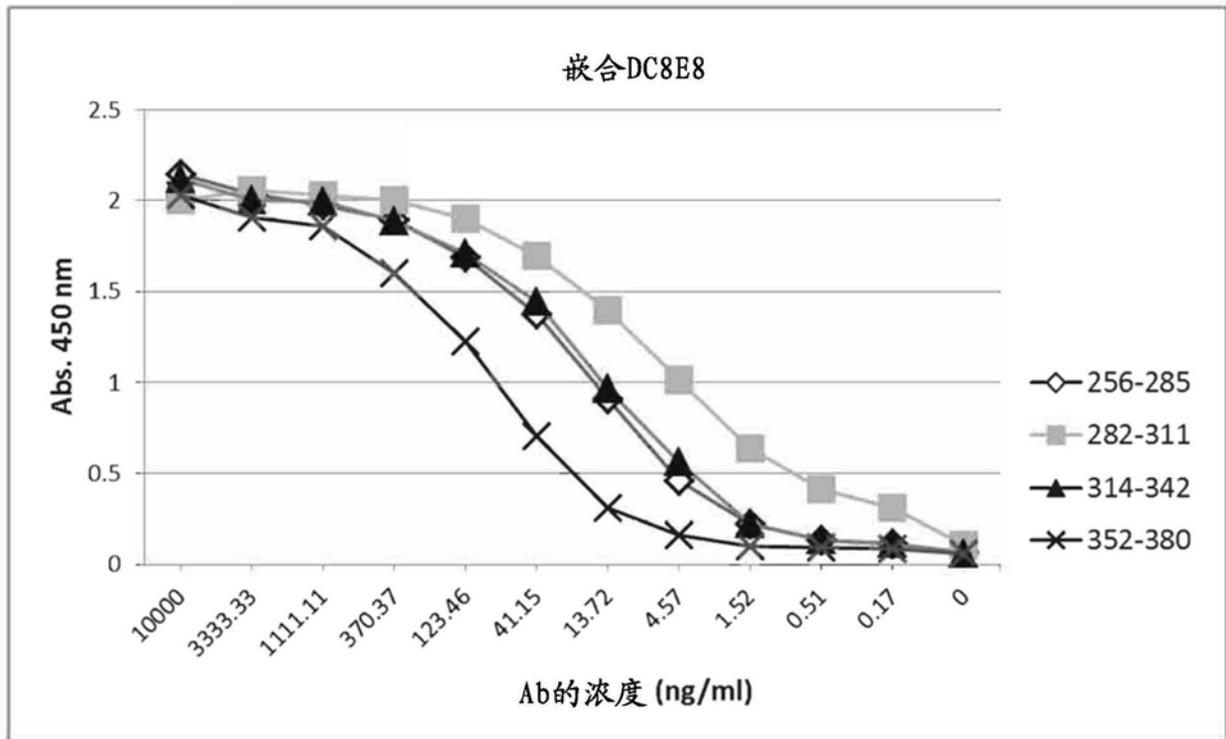


图31A

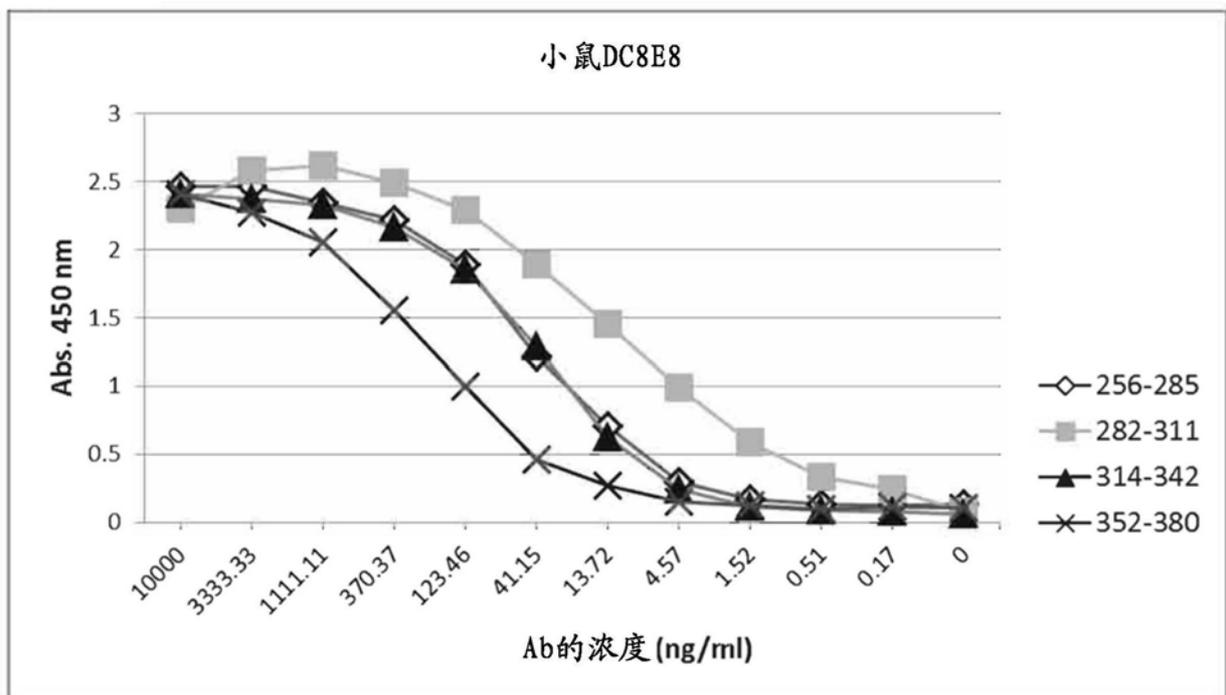


图31B

EC50 (ng/ml)			
	抗体	嵌合DC8E8	小鼠DC8E8
tau肽	256-285	21.2	43.33
tau肽	282-311	7.31	11.76
tau肽	314-342	17.28	38.97
tau肽	352-380	86.96	212.8

图31C

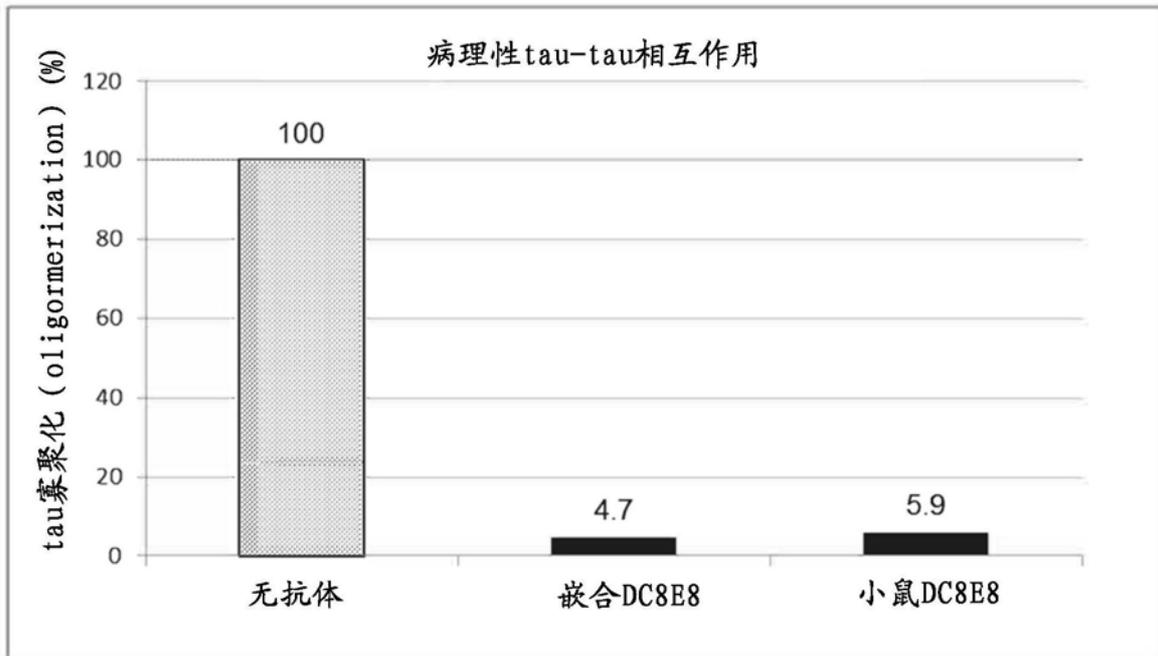


图32

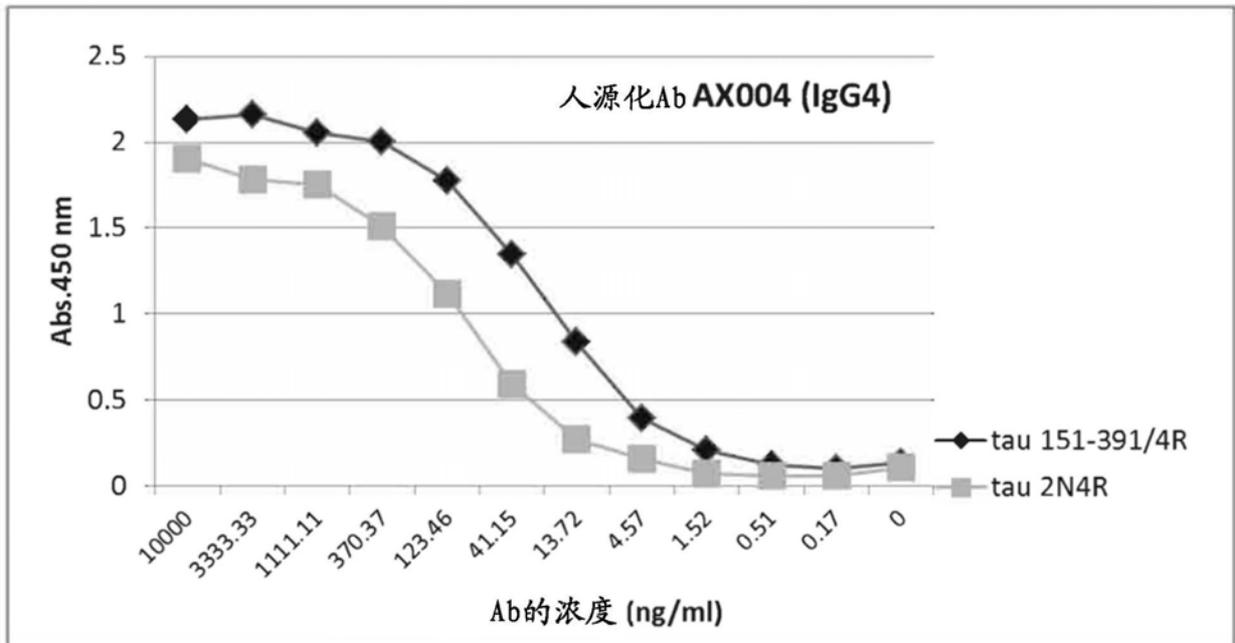


图33A

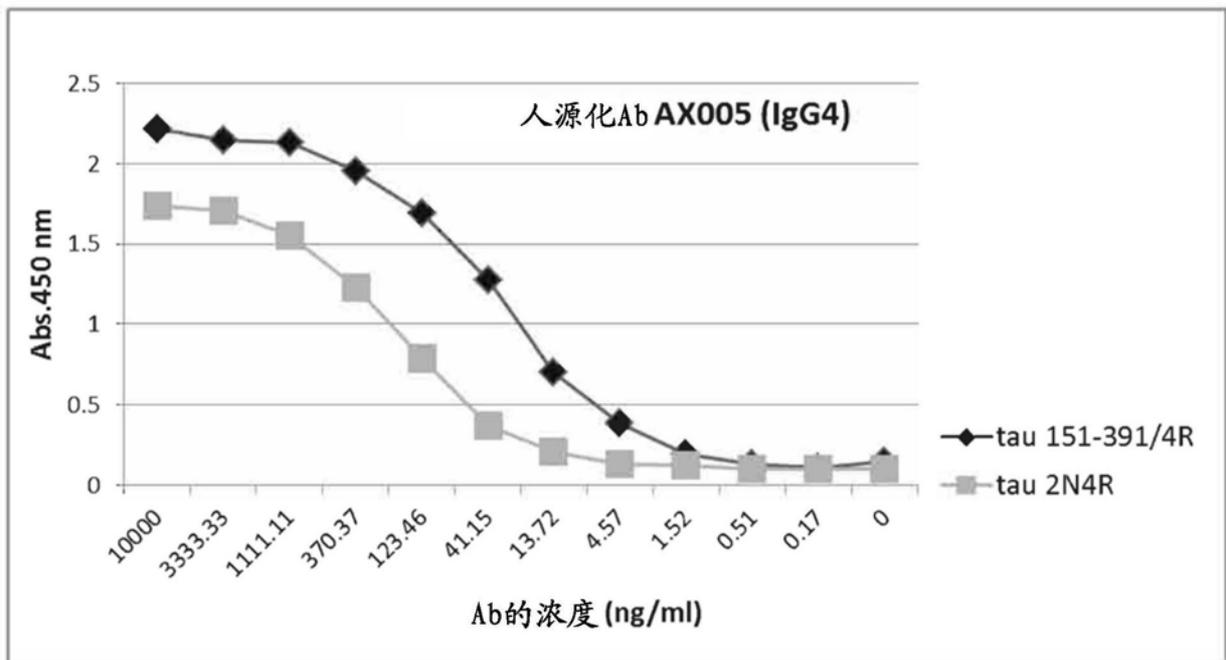


图33B

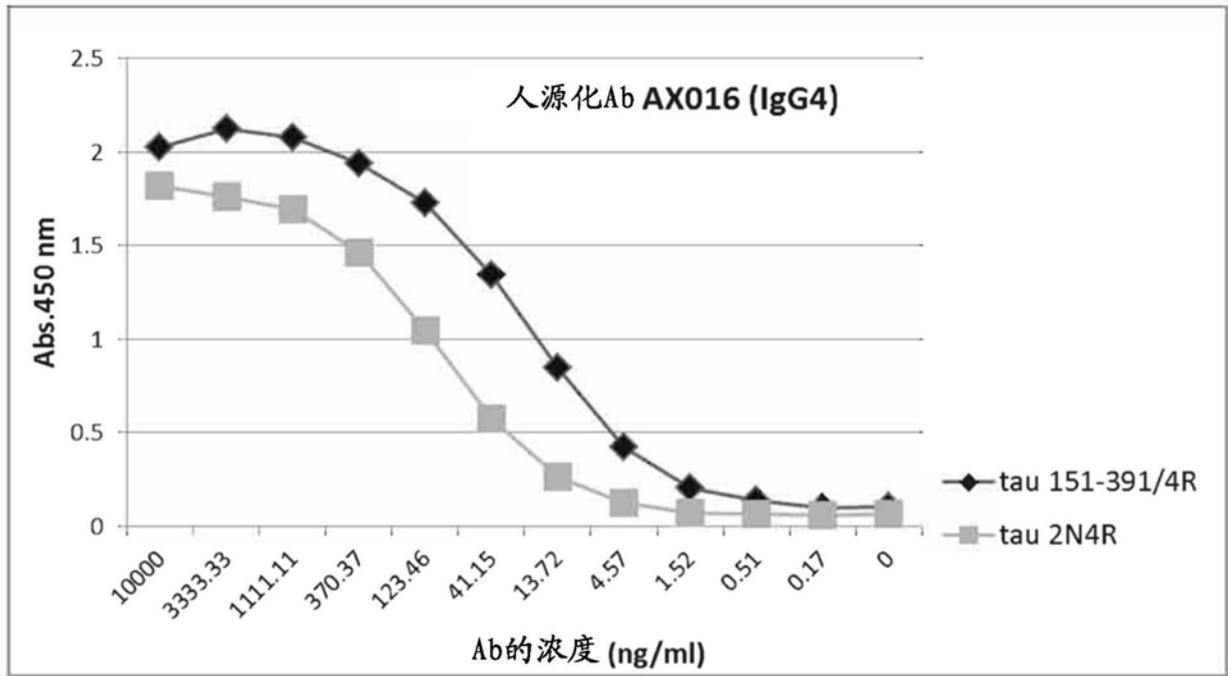


图33C

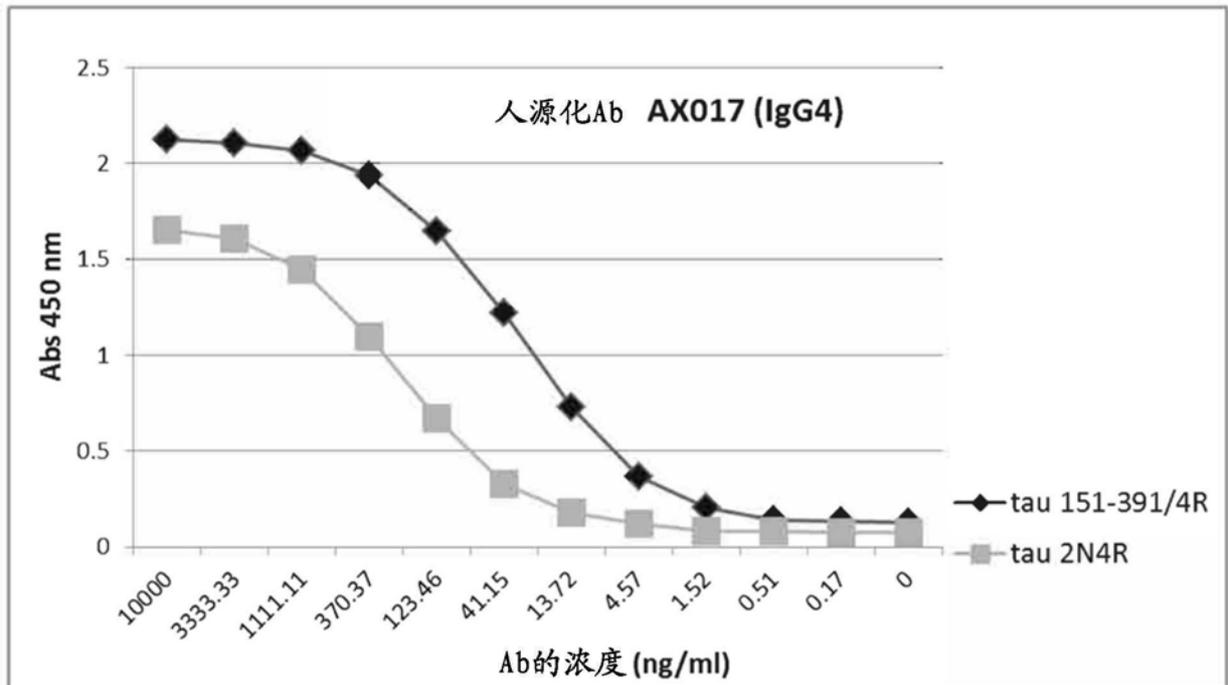


图33D

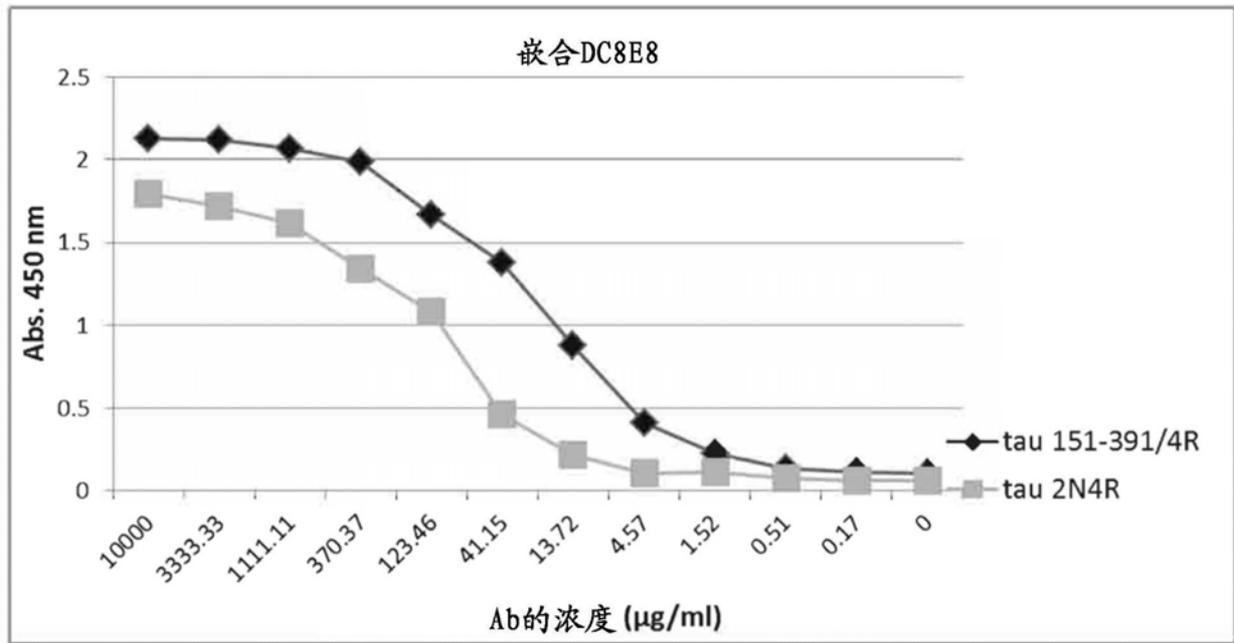


图33E

EC50 (ng/ml)					
人源化Ab/IgG4	AX004	AX005	AX016	AX017	嵌合DC8E8
Tau 151-391/4R	25.19	33.69	23.91	33.96	24.6
Tau 2N4R	93.32	184.1	97.67	215.4	109

图33F

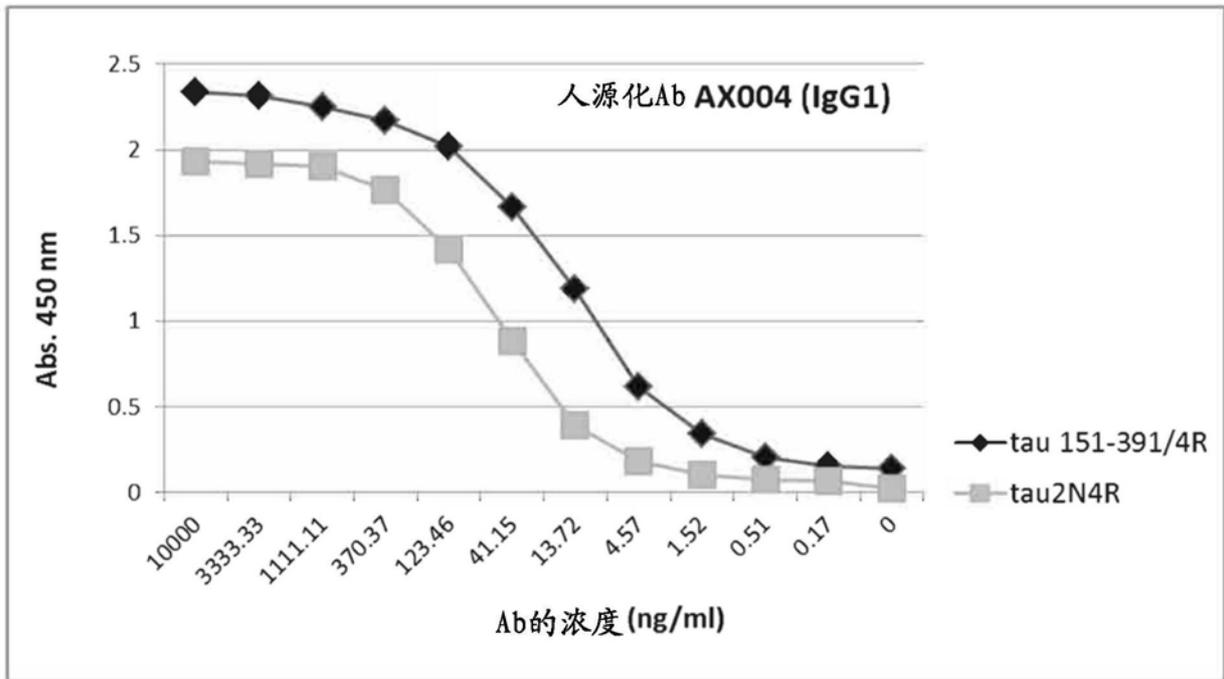


图34A

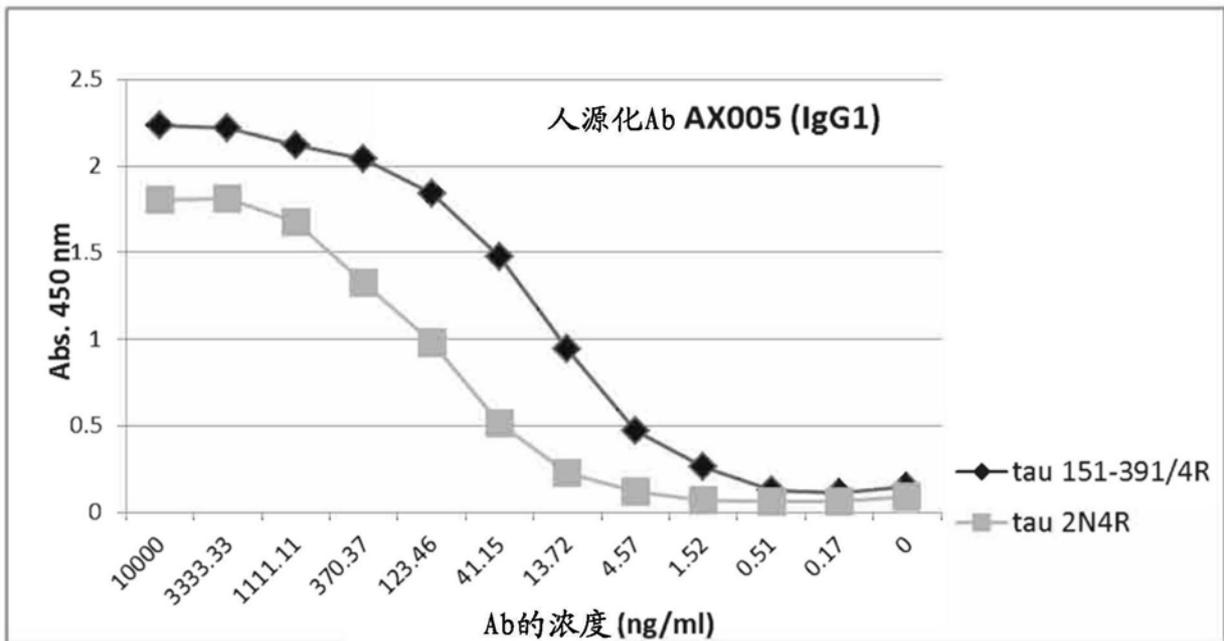


图34B

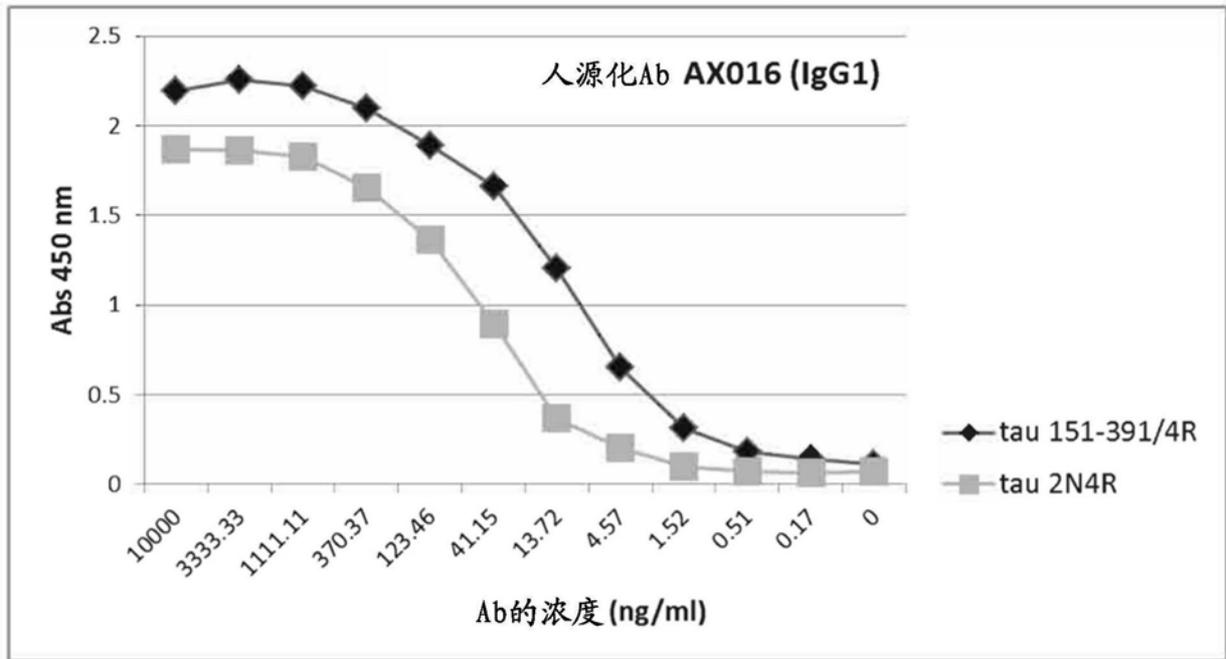


图34C

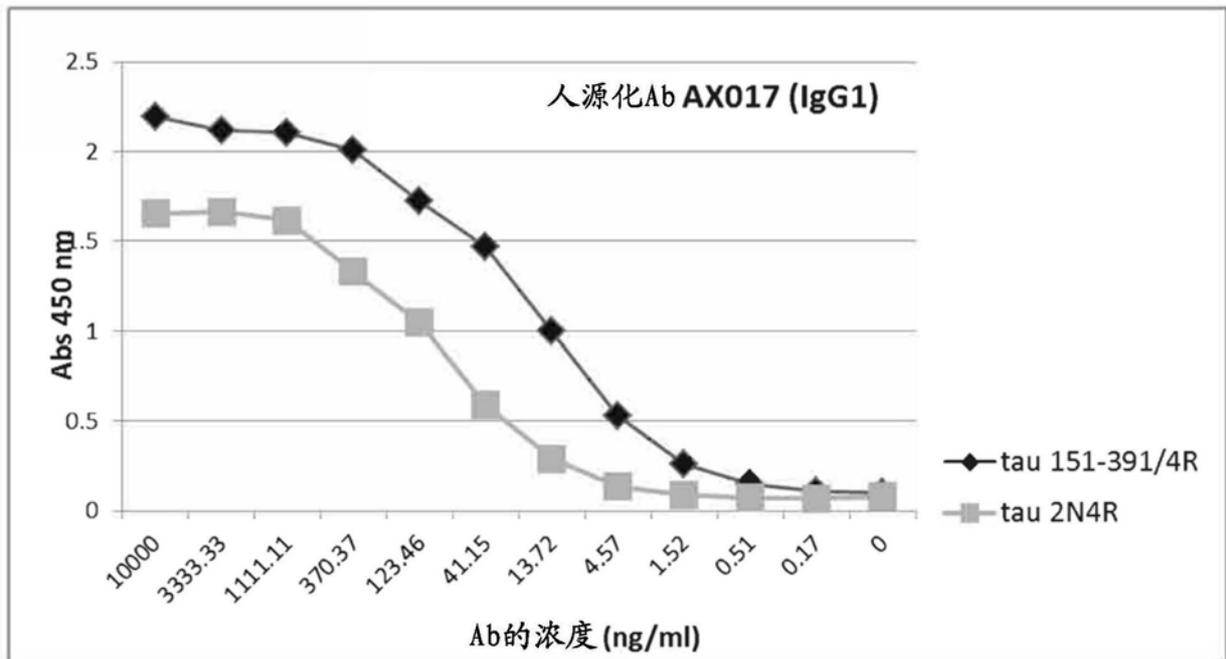
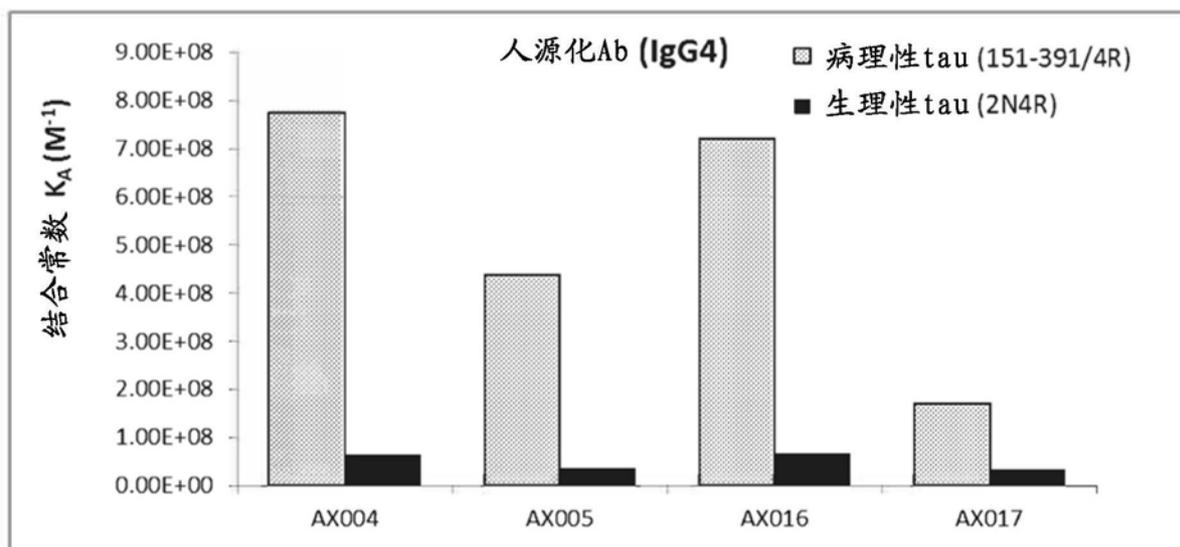


图34D

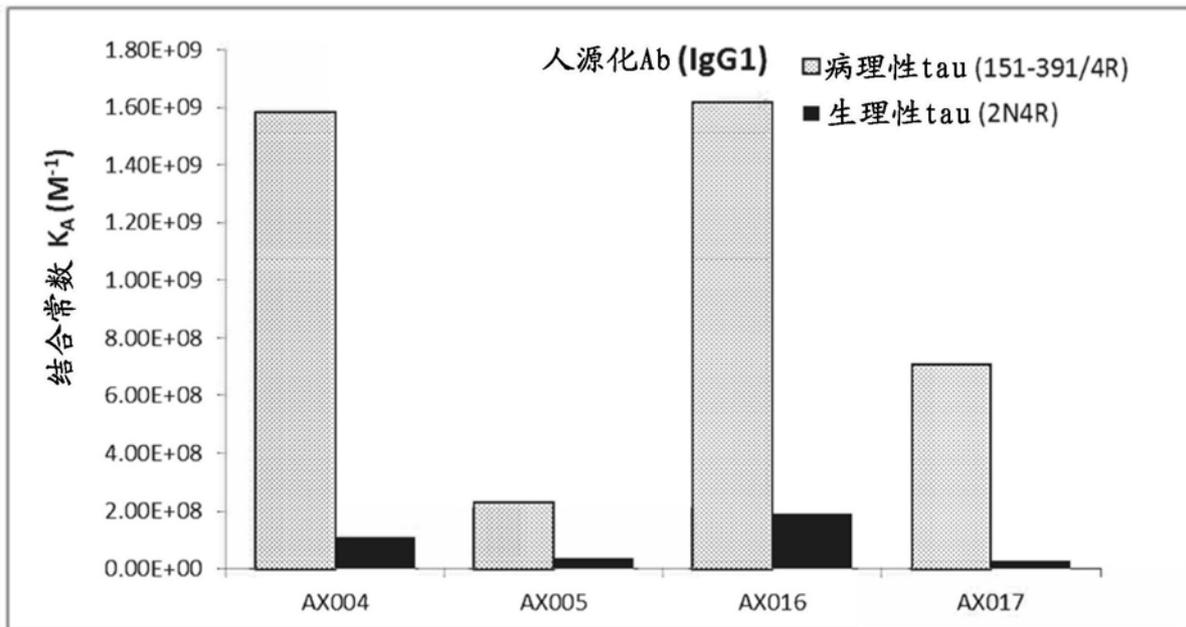
EC50 (ng/ml)				
人源化Ab/IgG1	AX004	AX005	AX016	AX017
Tau 151-391/4R	14.68	20.55	13.71	19.36
Tau 2N4R	53.15	134.5	51.35	91.13

图34E



KA (M ⁻¹)				
Ab(IgG4)	AX004	AX005	AX016	AX017
Tau 151-391/4R	7.75E+08	4.36E+08	7.2E+08	1.7E+08
Tau 2N4R	6.5E+07	3.5E+07	6.6E+07	3.2E+07

图35A



KA (M ⁻¹)				
Ab(IgG1)	AX004	AX005	AX016	AX017
Tau 151-391/4R	1.6E+09	2.3E+08	1.6E+09	7.1E+08
Tau 2N4R	1.1E+08	5.7E+07	1.9E+08	2.95E+07

图35B

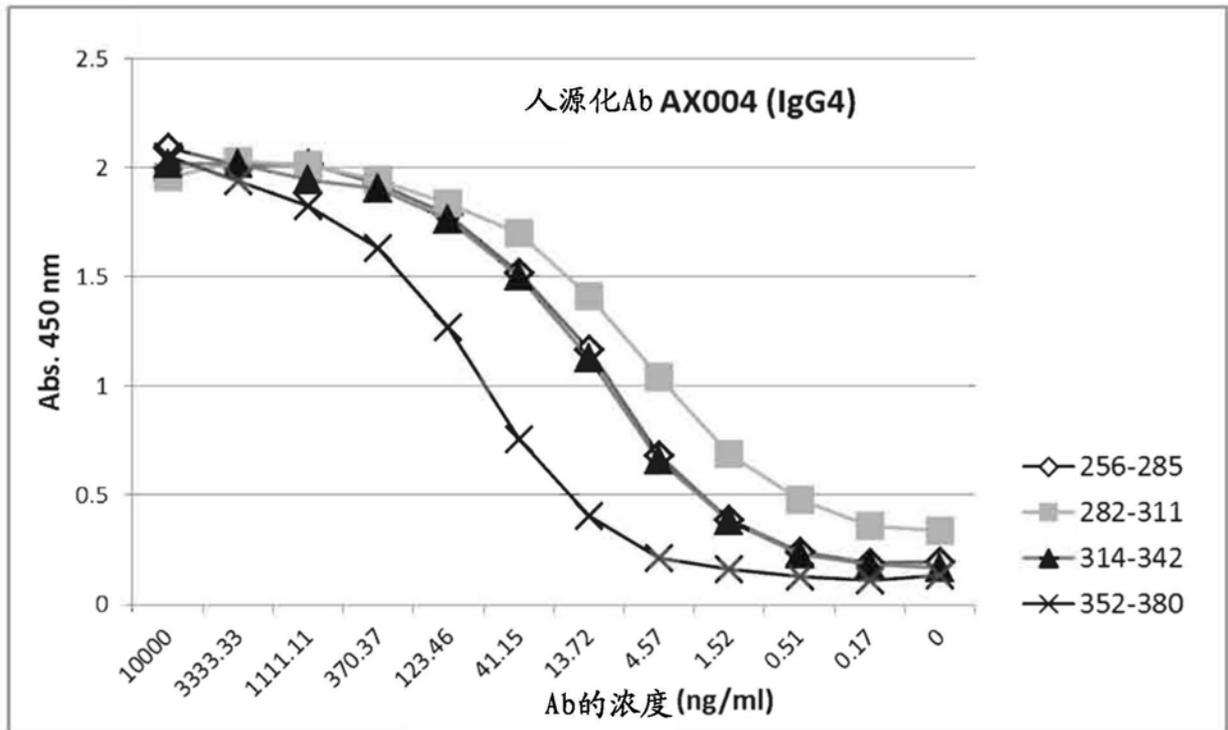


图36A

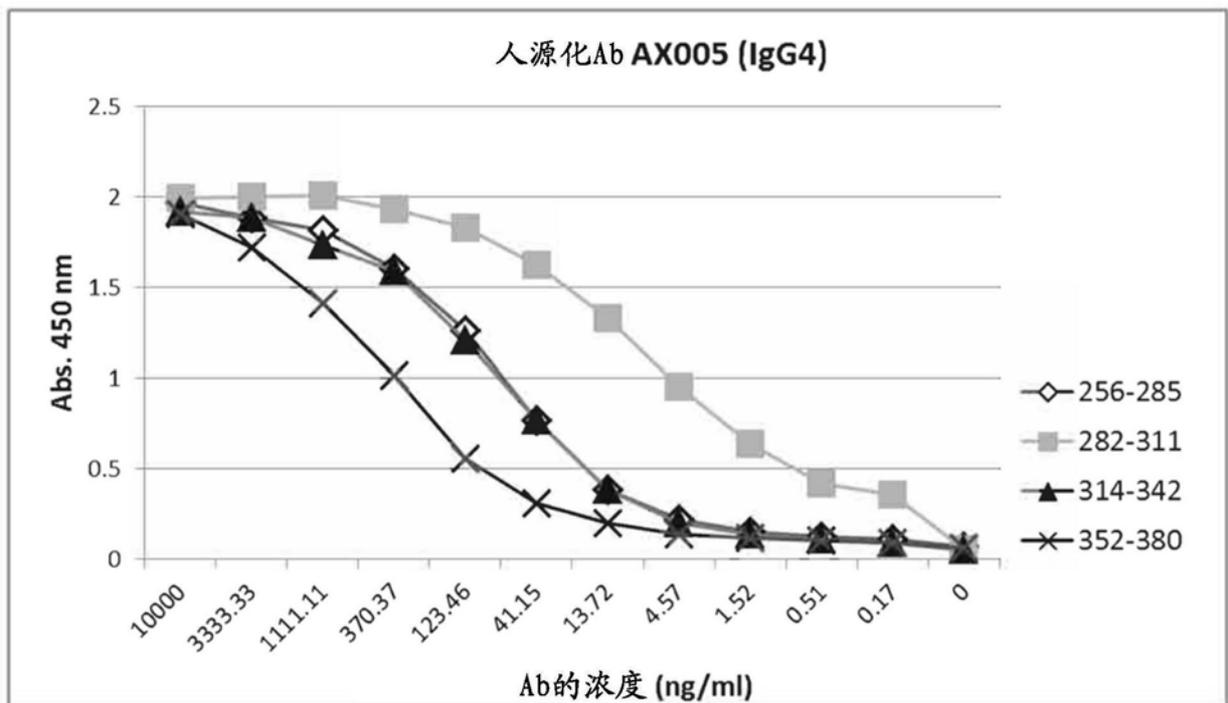


图36B

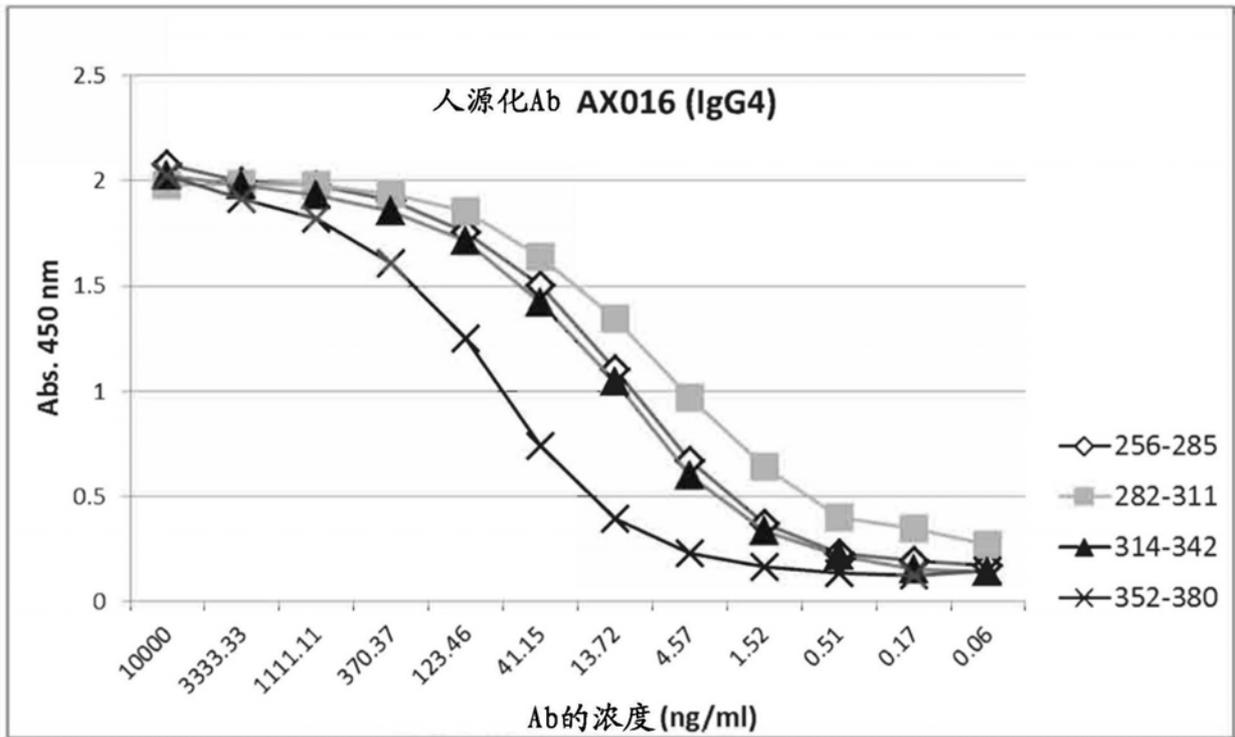


图36C

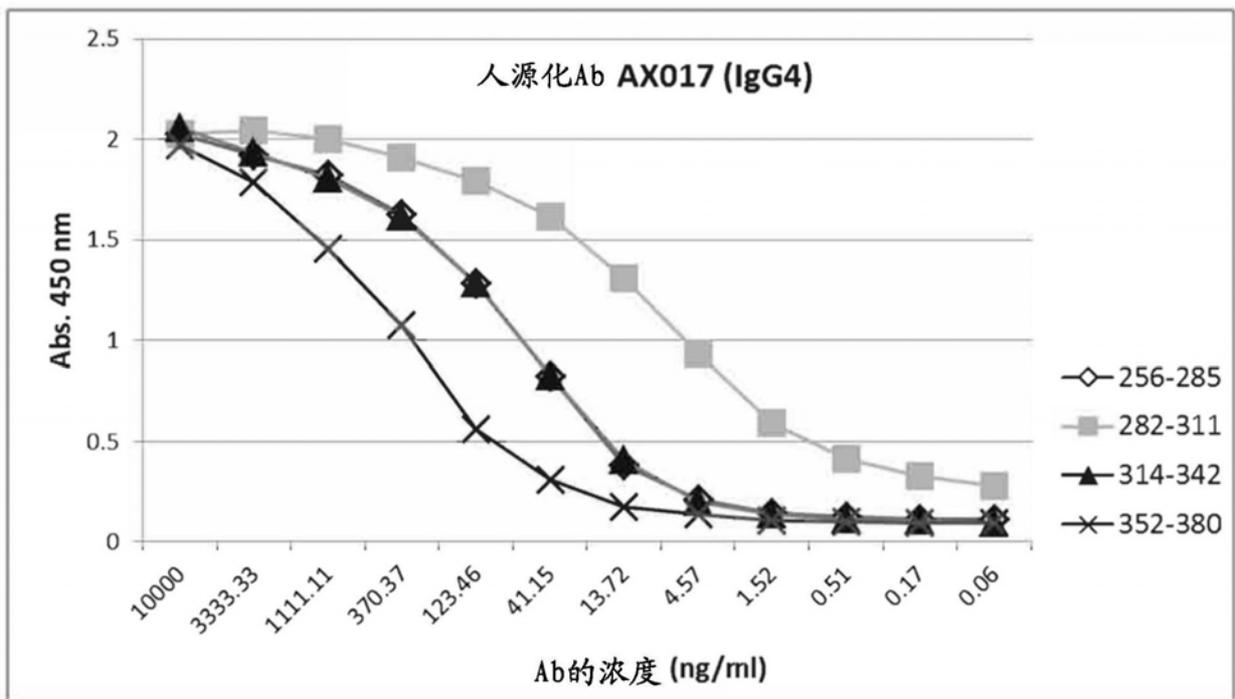


图36D

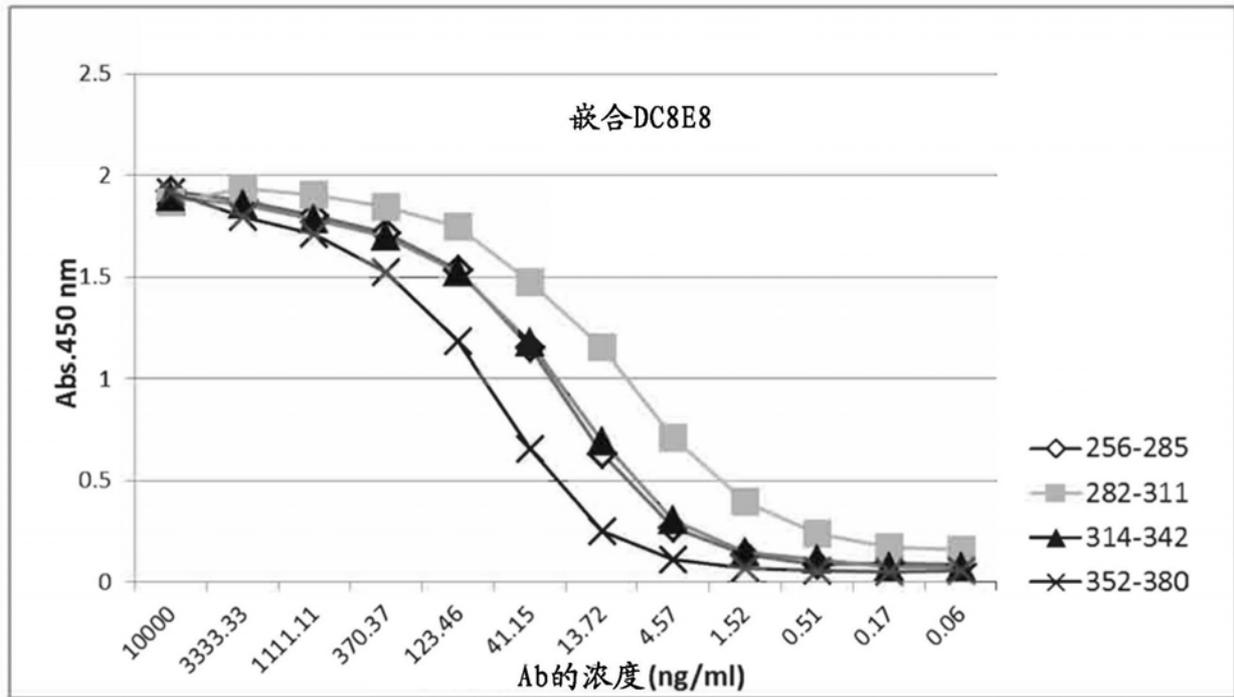


图36E

EC50 (ng/ml)					
人源化Ab /IgG4	AX004	AX005	AX016	AX017	嵌合的 DC8E8
tau肽 256-285	13.18	75.27	13.95	72.47	29.72
tau肽 282-311	6.7	8.982	7.558	9.014	8.52
tau肽 314-342	13.03	74.47	15.27	72.57	26.47
tau肽 352-380	81.37	397.2	85.01	385.3	81.44

图36F

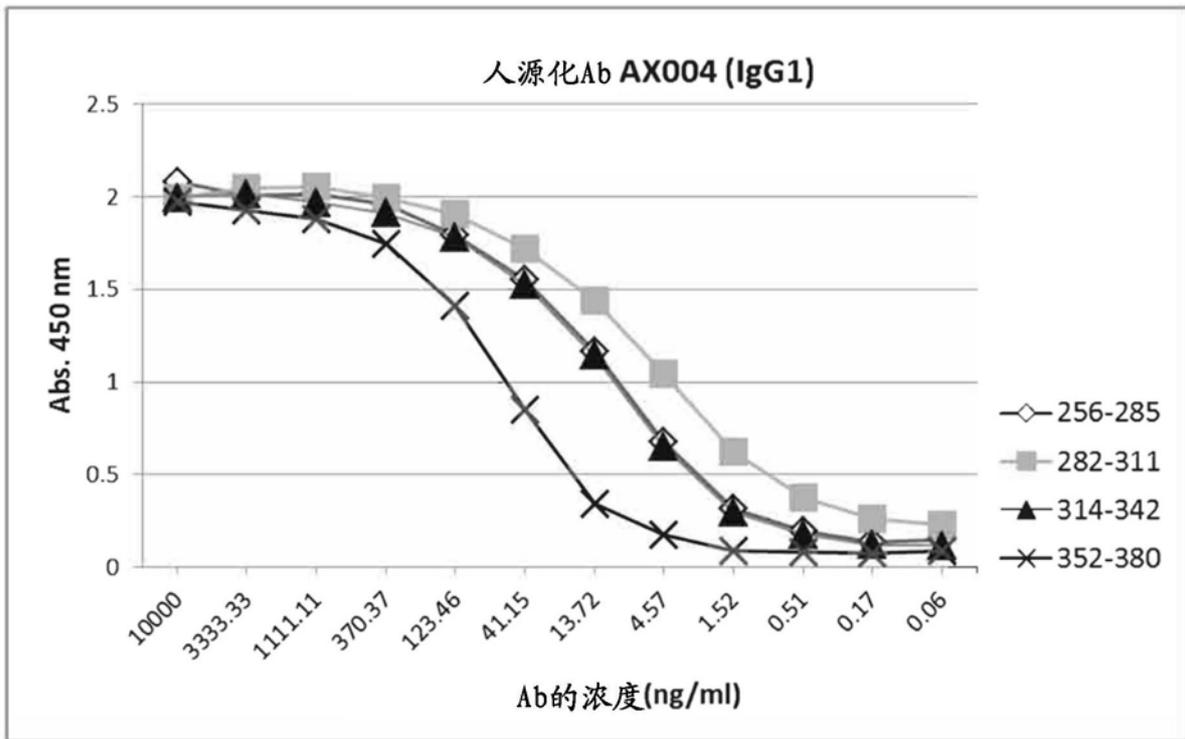


图37A

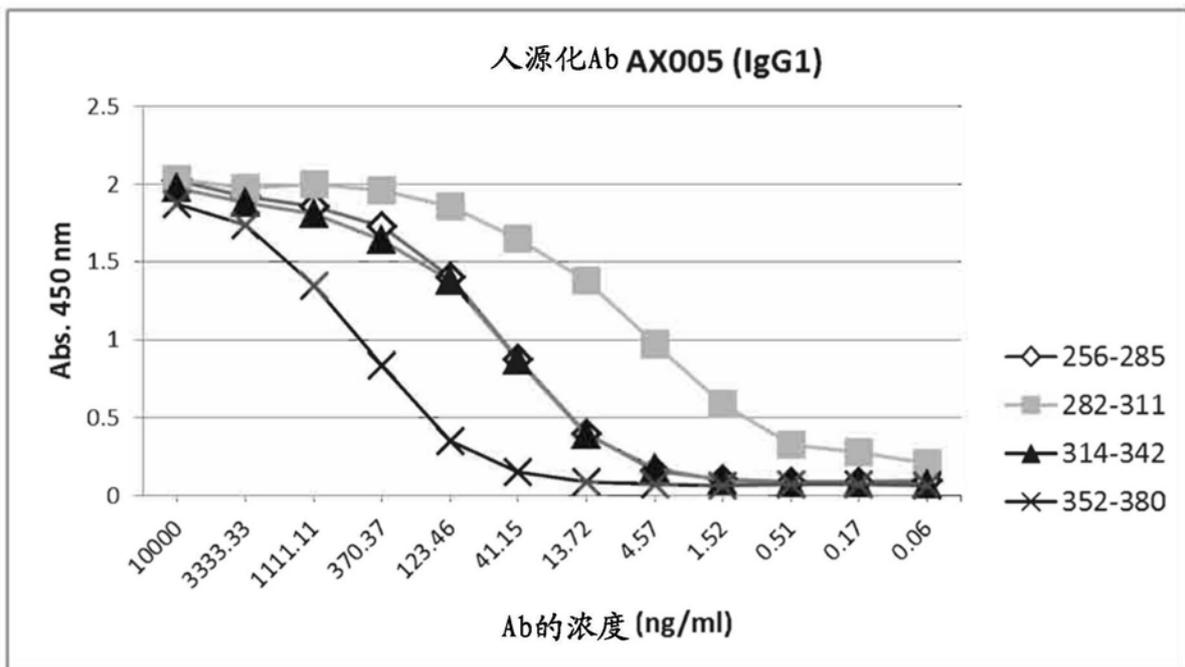


图37B

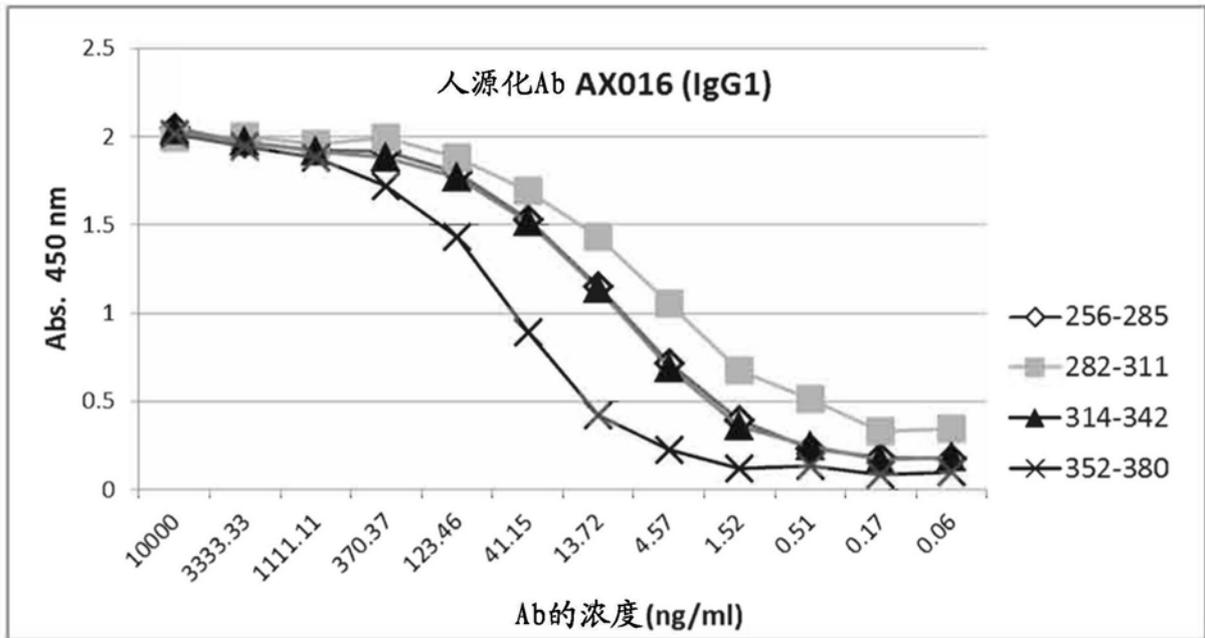


图37C

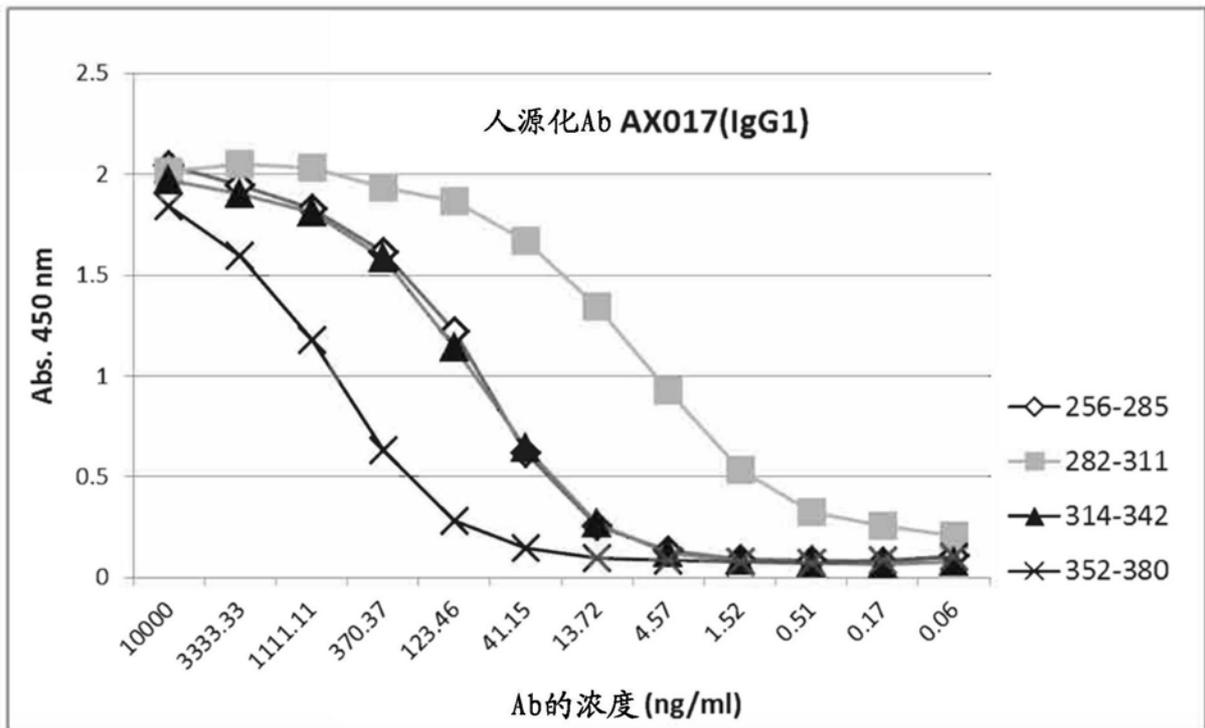


图37D

EC50 (ng/ml)				
人源化Ab /IgG1	AX004	AX005	AX016	AX017
tau肽 256-285	12.06	58.25	11.7	97.95
tau肽 282-311	5.981	6.801	6.474	7.664
tau肽 314-342	11.8	56.22	12.16	95.95
tau肽 352-380	58.72	578.7	56.63	882.7

图37E

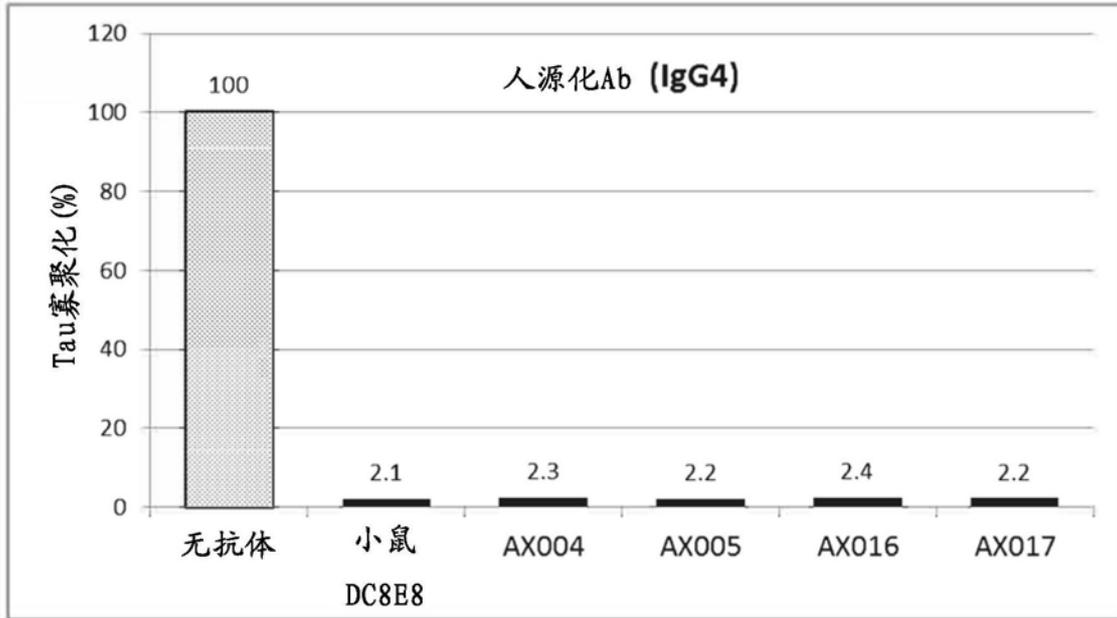


图38A

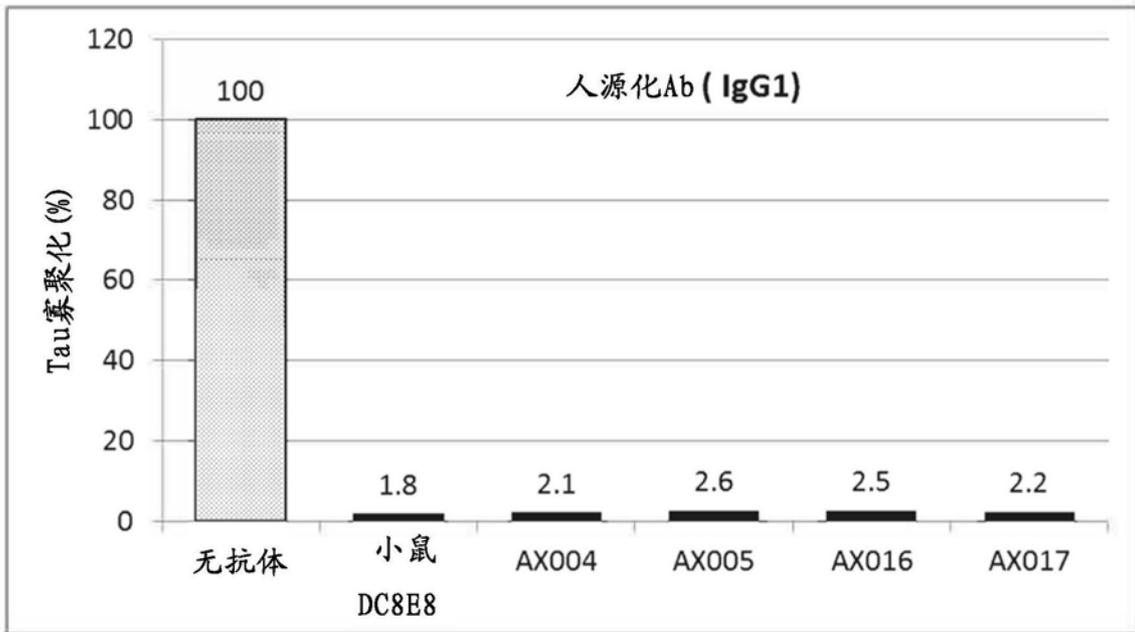


图38B

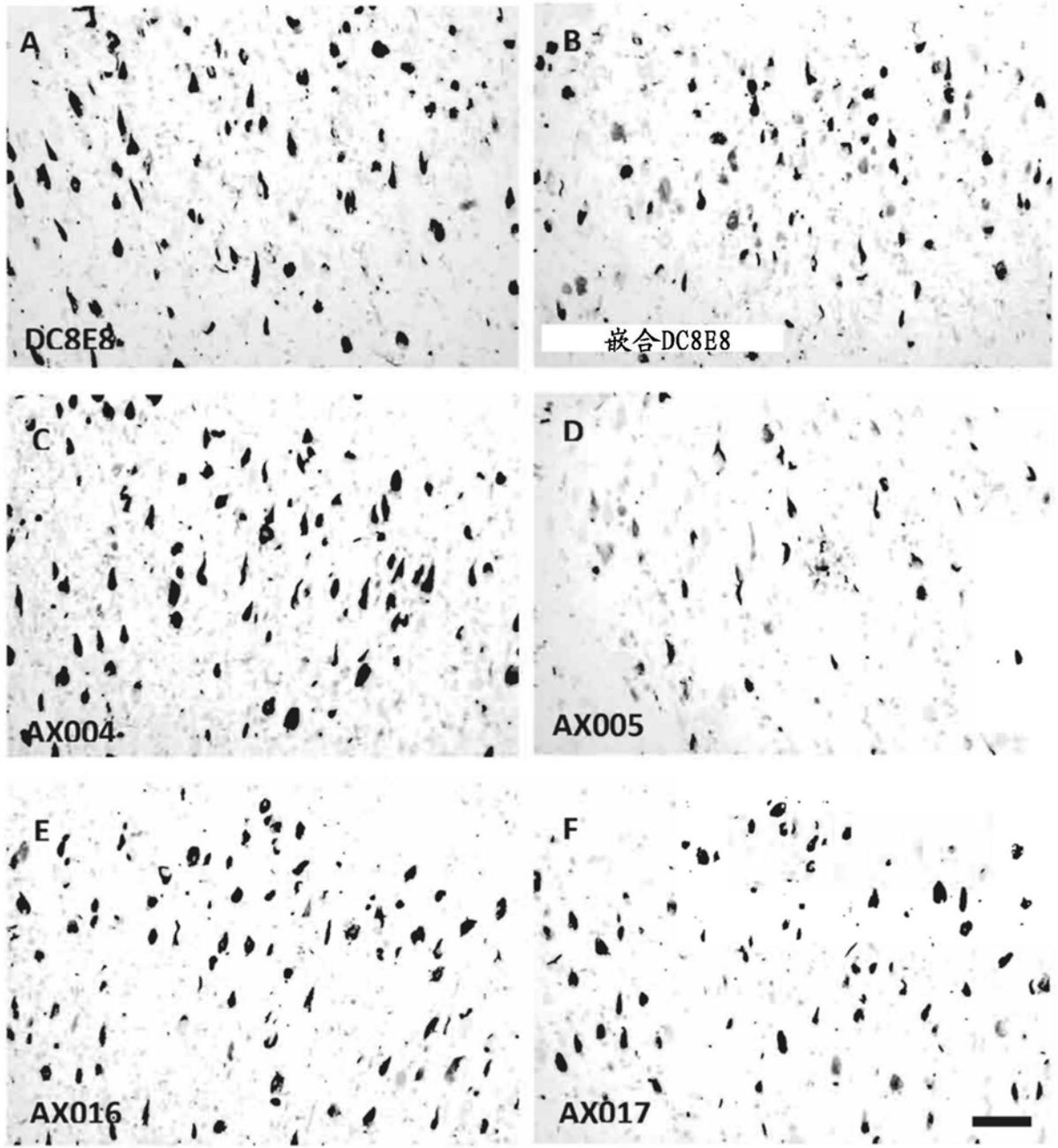


图39

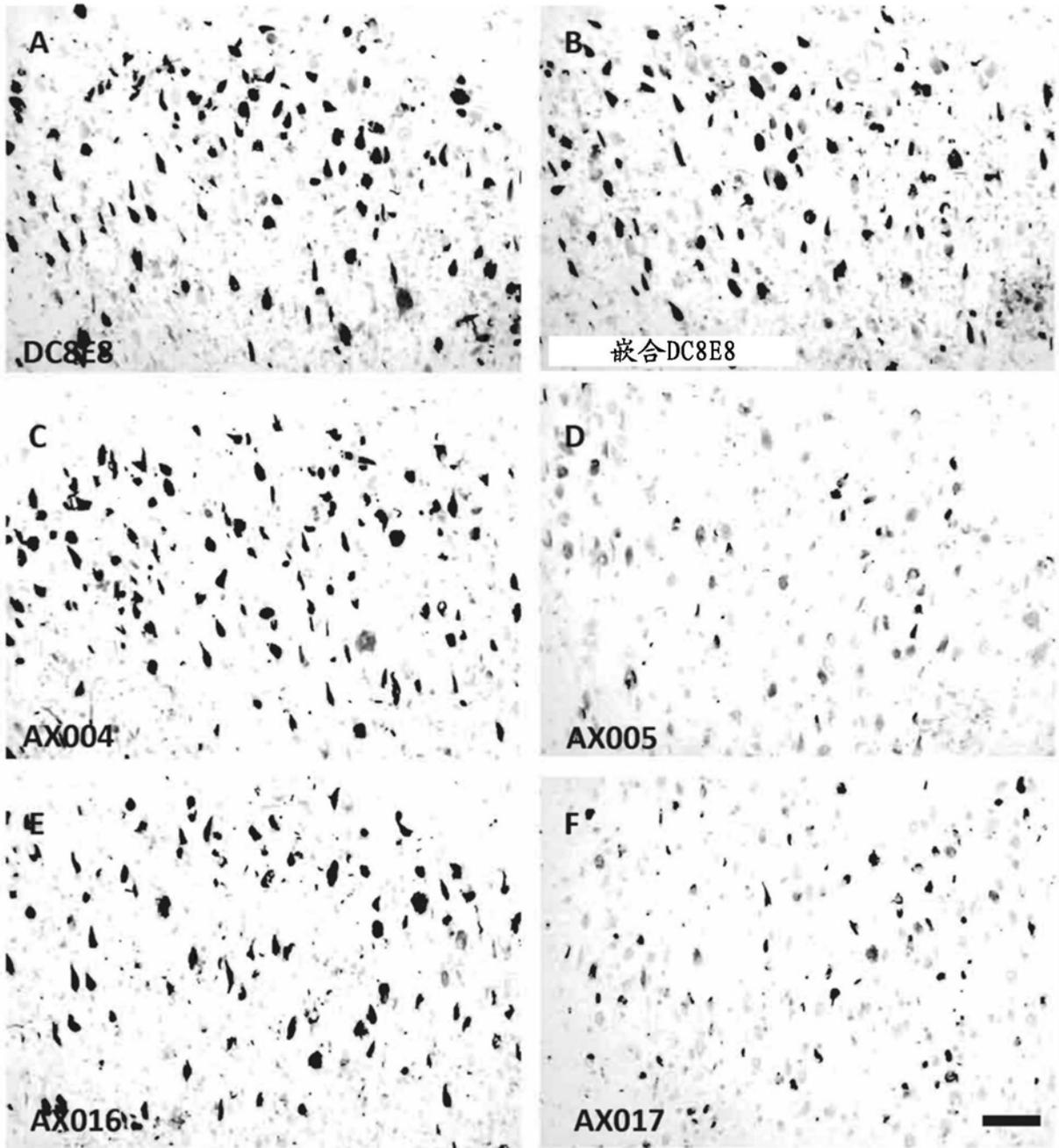


图40

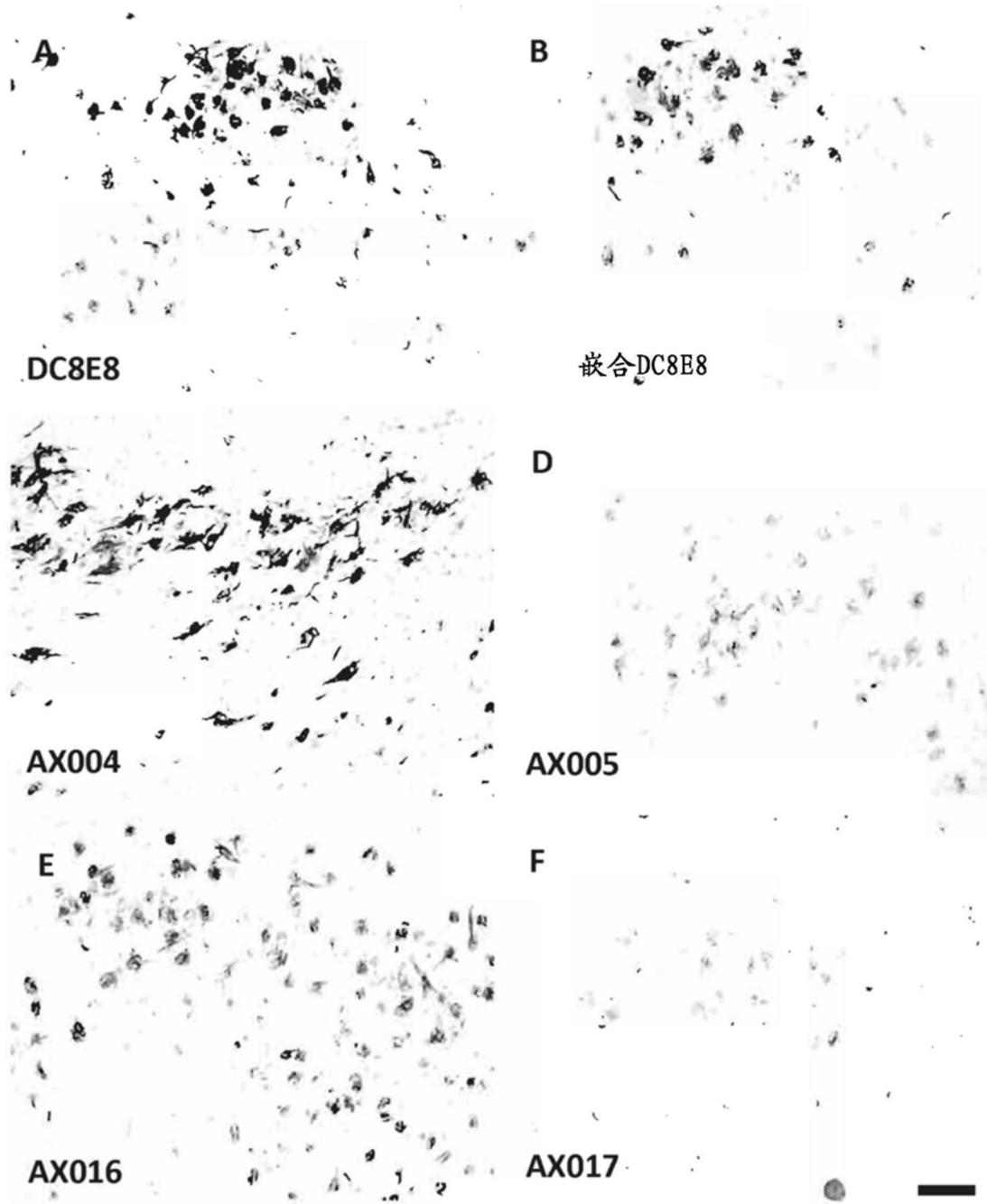


图41

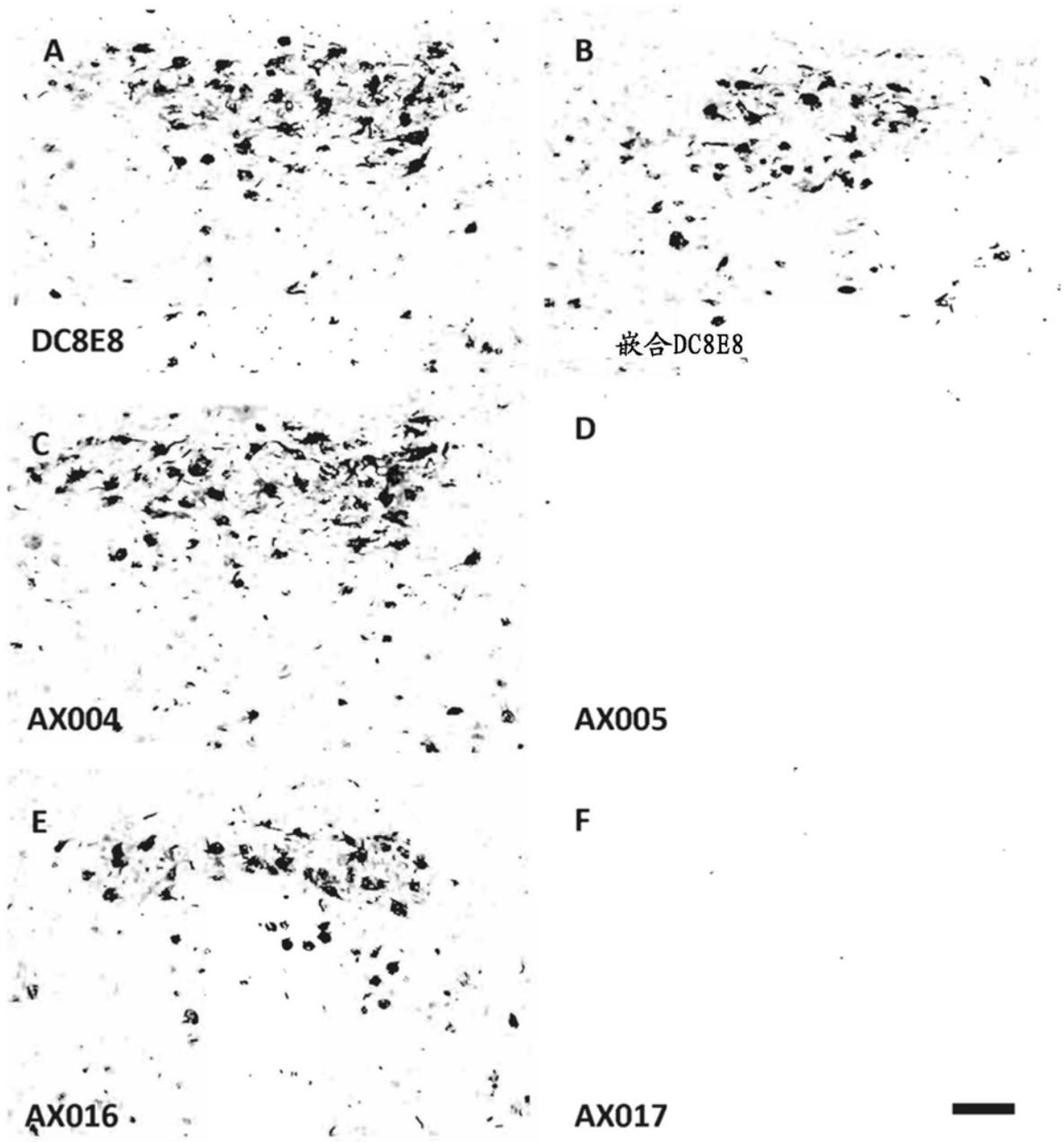


图42

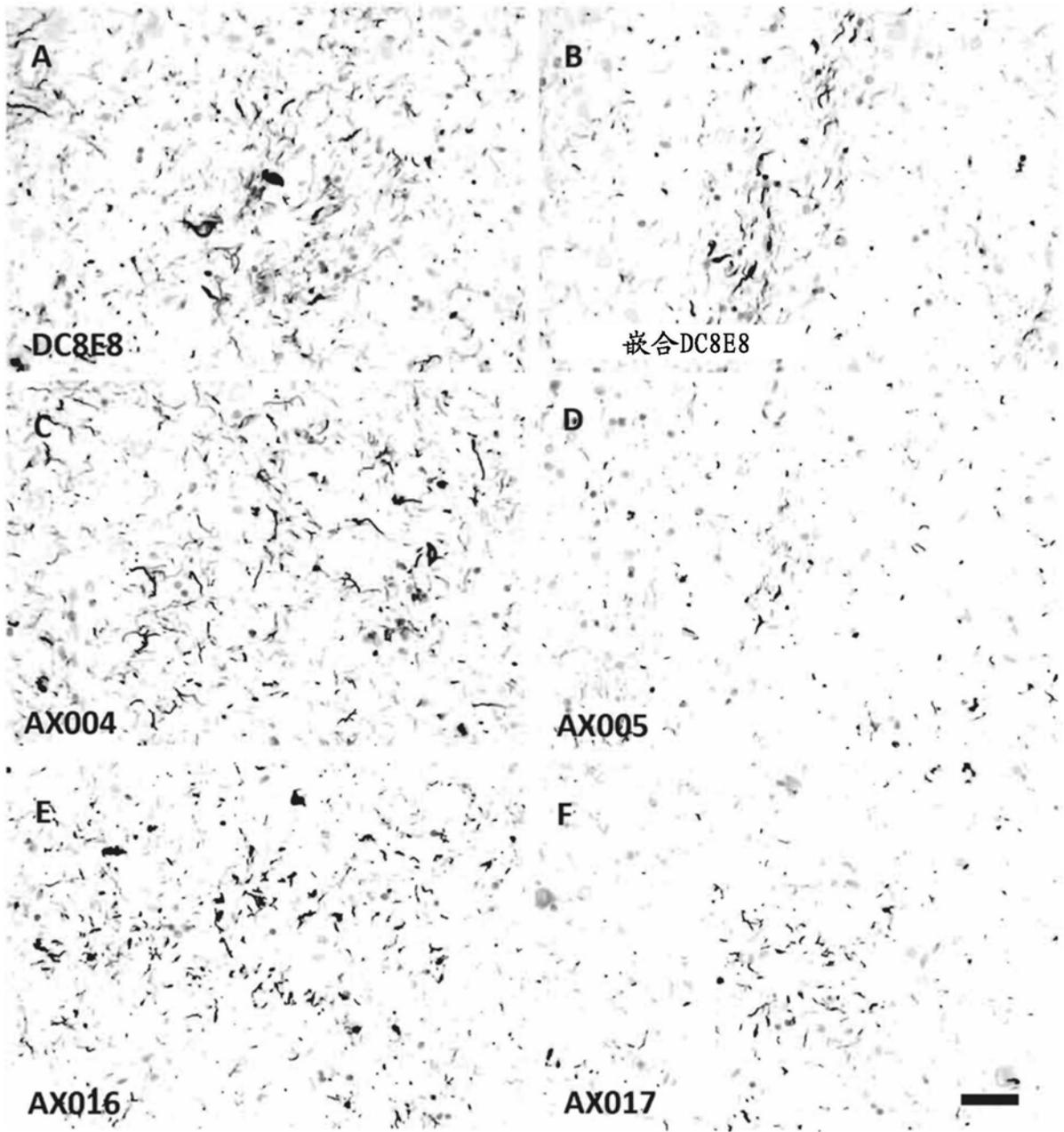


图43

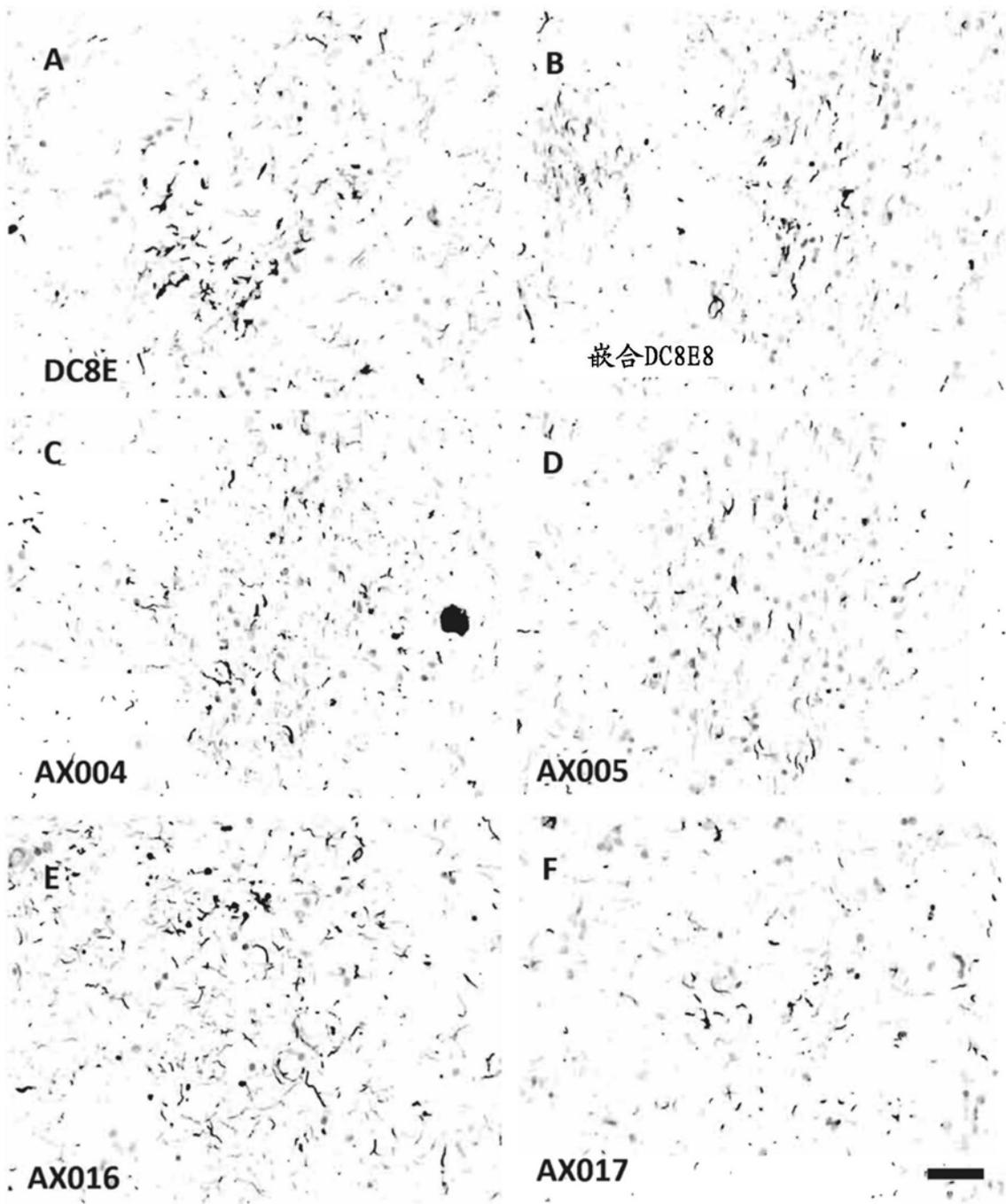


图44

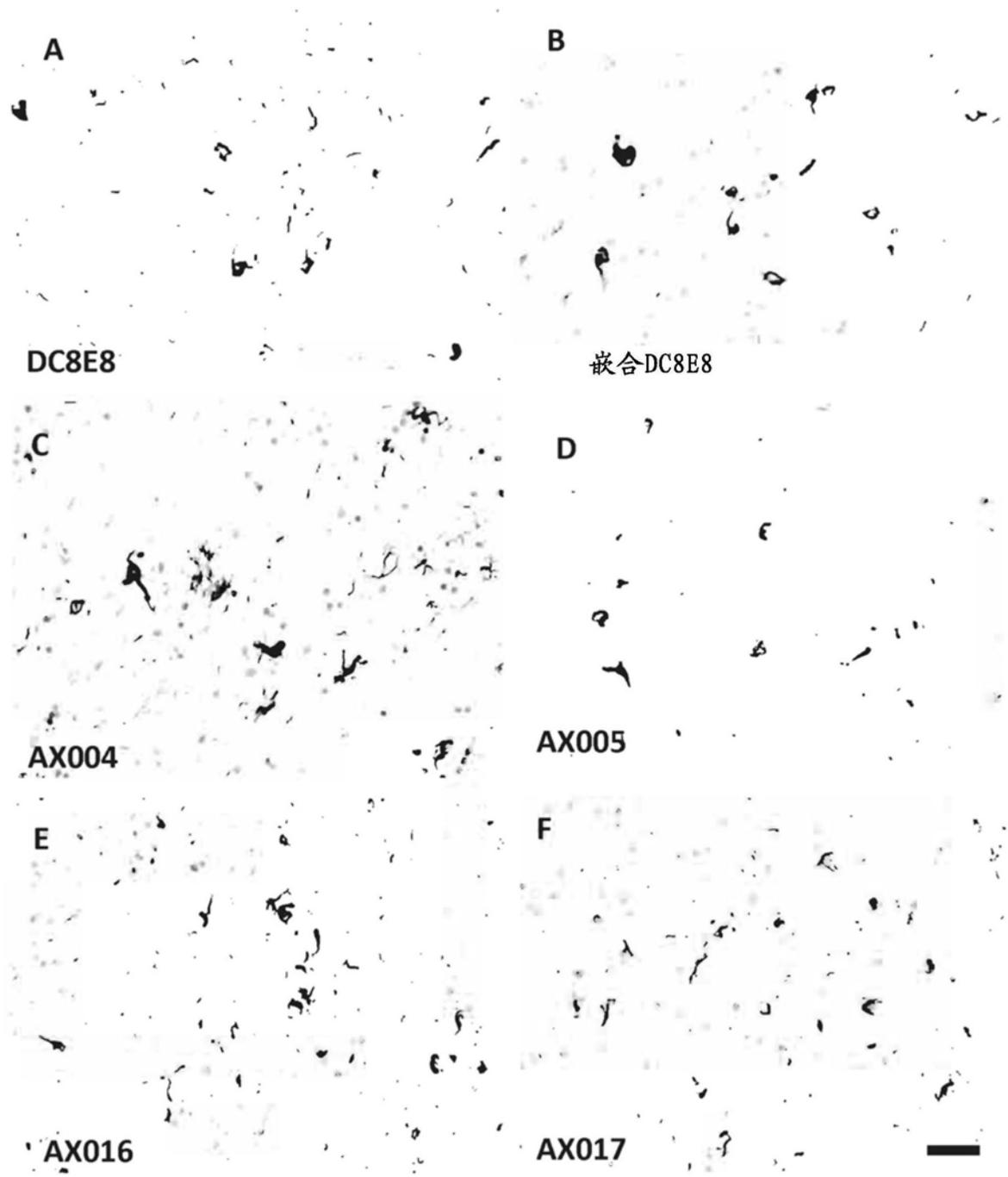


图45

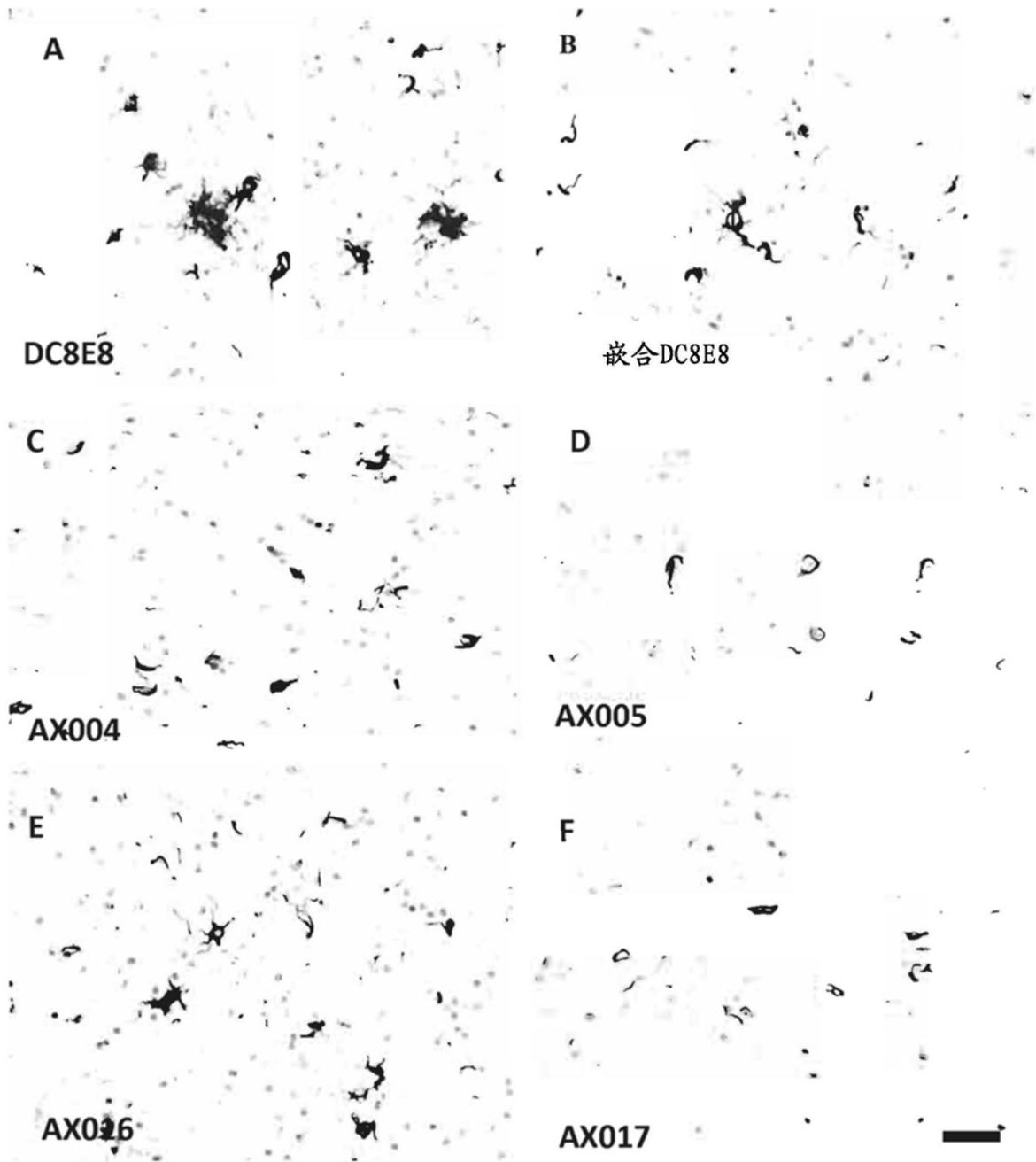


图46