



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I659968 B

(45)公告日：中華民國 108 (2019) 年 05 月 21 日

(21)申請案號：103108584

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 03 月 12 日

(51)Int. Cl. : C07K16/10 (2006.01)

A61K39/42 (2006.01)

A61P31/14 (2006.01)

A61P11/00 (2006.01)

(30)優先權：2013/03/14 美國

61/782,215

2013/12/03 美國

61/911,093

(71)申請人：再生元醫藥公司 (美國) REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國(72)發明人：格尼特邦德 安妮 GURNETT-BANDER, ANNE (US)；佩雷斯卡瓦列羅 大衛
PEREZ-CABALLERO, DAVID (ES)；席為普勒席恩格 蘇馬蒂
SIVAPALASINGAM, SUMATHI (US)；麥克唐納 道格拉斯 MACDONALD,
DOUGLAS (US)；段訓保 DUAN, XUNBAO (US)

(74)代理人：林秋琴；陳彥希

(56)參考文獻：

Wu H et al, "Development of motavizumab, an ultra-potent antibody for the prevention of respiratory syncytial virus infection in the upper and lower respiratory tract.", J Mol Biol. 2007 May 4;368(3): 652-65.

審查人員：余家嫻

申請專利範圍項數：16 項 圖式數：2 共 214 頁

(54)名稱

針對呼吸道融合病毒 F 蛋白質的人類抗體及其使用方法

HUMAN ANTIBODIES TO RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS F PROTEIN AND METHODS OF USE THEREOF

(57)摘要

本發明提供結合於呼吸道融合病毒 F 蛋白質之完全人類抗體、包含該抗體之組成物及使用方法。本發明抗體可用於防止病毒與細胞膜之融合及防止病毒於細胞間擴散，從而提供預防感染、或治療罹患感染病患及改善與該病毒感染關聯之一或多種症狀或併發症之方法。該抗體亦可用於 RSV 感染之診斷。

The present invention provides fully human antibodies that bind to respiratory syncytial virus F protein, compositions comprising the antibodies and methods of use. The antibodies of the invention are useful for preventing fusion of the virus with the cell membrane and preventing cell to cell spread of the virus, thereby providing a means of preventing the infection, or treating a patient suffering from the infection and ameliorating one or more symptoms or complications associated with the viral infection. The antibodies may also be useful for diagnosis of an infection by RSV.

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

針對呼吸道融合病毒 F 蛋白質的人類抗體及其使用方法

HUMAN ANTIBODIES TO RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS F
PROTEIN AND METHODS OF USE THEREOF

【技術領域】

發明領域

【0001】 本發明係有關特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之人類抗體與人類抗體之抗原結合片段、包含此等抗體之組成物及使用此等抗體之方法。

【先前技術】

相關技藝說明

【0002】 呼吸道融合病毒(RSV)係反義、單股RNA病毒，其為嬰兒與兒童嚴重呼吸道感染之主要原因，於院內流行期間，主要感染發生於6週至2歲兒童，生命最初4週較為罕見(Hall *et al.*, 1979, New Engl. J. Med. 300:393-396). (Feigen *et al.*, eds., 1987, In: Textbook of Pediatric Infectious Diseases, W B Saunders, Philadelphia at pages 1653-1675 ; New Vaccine Development, Establishing Priorities, Vol. 1, 1985, National Academy Press, Washington D.C. at pages 397-409 ; Ruuskanen *et al.*, 1993, Curr. Probl. Pediatr. 23:50-79 ; Hall *et al.*, 1979, New Engl. J. Med. 300:393-396)。特定兒童族群瀕

臨形成RSV感染之風險中，包括早產嬰兒(Hall *et al.*, 1979, New Engl. J. Med. 300:393-396)、呼吸道先天性畸形兒童、肺支氣管發育不全兒童(Groothuis *et al.*, 1988, Pediatrics 82:199-203)、先天性心臟病兒童(MacDonald *et al.*, New Engl. J. Med. 307:397-400)、及先天性或後天免疫缺失(Ogra *et al.*, 1988, Pediatr. Infect. Dis. J. 7:246-249；與Pohl *et al.*, 1992, J. Infect. Dis. 165:166-169)及囊狀纖維化症(Abman *et al.*, 1988, J. Pediatr. 113:826-830)兒童。

【0003】 RSV亦可感染成人族群。於此族群中，RSV主要引起上呼吸道疾病，惟年長病患可能瀕臨嚴重感染及肺炎之較大風險中(Evans, A. S., eds., 1989, Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control, 3rd ed., Plenum Medical Book, New York at pages 525-544)，以及免疫低下之成人，特別是骨髓移植病患(Hertz *et al.*, 1989, Medicine 68:269-281)。其他瀕臨風險中之病患包括罹患鬱血性心衰竭及罹患慢性阻塞性肺臟疾病(即，COPD)者。於護理之家病患與機構照護年輕成人間，亦已見流行病之報導(Falseey, A. R., 1991, Infect. Control Hosp. Epidemiol. 12:602-608；與Garvie *et al.*, 1980, Br. Med. J. 281:1253-1254)。

【0004】 雖然針對已確立RSV疾病之治療選擇有限，惟更嚴重之下呼吸道疾病形式往往需要相當多之支持性照護，包括投予濕化氧氣及呼吸輔助(Fields *et al.*, eds, 1990, Fields Virology, 2nd ed., Vol. 1, Raven Press, New York at pages 1045-1072)。

【0005】 利巴韋林(Ribavirin)，被認可用於治療感染之唯一藥物，已被證實治療與RSV感染關聯之肺炎與細支氣管炎有效，及已證實於免疫活性兒童中修飾嚴重RSV疾病之過程(Smith *et al.*, 1991, New Engl. J. Med. 325:24-29)。由於擔心於醫院環境中施用氣溶膠化藥物時，可能暴露其中之

懷孕婦女圍繞著其潛在風險，因此利巴韋林之使用受到限制。

【0006】 同樣地，儘管疫苗可能有用，惟迄今無市售可得之疫苗被開發。已有數個候選疫苗被放棄，其他的正在開發中(Murphy *et al.*, 1994, *Virus Res.* 32:13-36)。疫苗之開發已被證明存在問題。特別是，由於下呼吸道疾病之發生率高峰出現在2至5個月齡時，因此免疫接種需於緊接新生兒期。然而，一般已知此時新生兒免疫反應尚未成熟；加上，嬰兒於該時間點仍具高力價之母體後天性RSV抗體，可能降低疫苗之免疫性(Murphy *et al.*, 1988, *J. Virol.* 62:3907-3910；與Murphy *et al.*, 1991, *Vaccine* 9:185-189)。

【0007】 RSV表面上的兩個醣蛋白質，F與G，已被證實係中和抗體之標靶(Fields *et al.*, 1990，文獻同上；與Murphy *et al.*, 1994，文獻同上)。此二蛋白質主要亦負責病毒辨識及進入標靶細胞中；G蛋白質結合於特定細胞受體，F蛋白質促進病毒與細胞融合。F蛋白質亦於感染細胞表面表現，並負責隨後與其他細胞之融合，導致形成細胞間融合(syncytia formation)及細胞間之病毒擴散。

【0008】 目前，預防RSV疾病唯一被認可的方法為被動免疫。舉例而言，對F蛋白質抗原決定區具特異性之擬人化抗體，帕利珠單抗[palivizumab (SYNAGIS®)]，已被核准於整個RSV季節期間(北半球為十一月至四月)，以15毫克/公斤體重之推薦月劑量肌內投予小兒科病患，以預防由RSV引起之嚴重下呼吸道疾病。SYNAGIS®係人類(95%)與鼠類(5%)抗體序列之複合物(Johnson *et al.*, (1997), *J. Infect. Diseases* 176:1215-1224與美國專利案No. 5,824,307)。

【0009】 雖然SYNAGIS®已成功用於預防小兒科病患之RSV感染，惟需要15毫克/公斤SYNAGIS®多次肌內劑量以達到預防效果。抗體多次肌內劑量給藥之必要性為需重複到醫生診所就診，對病患不僅不方便亦可能導

致遺漏劑量。

【0010】 業界盡力改善抗RSV-F抗體之治療概況，此導致莫維珠單抗(motavizumab)，亦稱為NUMAX™，之鑑定與開發。然而，臨床測試顯示，投予莫維珠單抗之特定病具有嚴重之過敏反應；此擬人化抗RSV-F抗體之進一步開發因此被中斷。

【0011】 針對 RSV-F 蛋白質之其他抗體已被敘述並可於 US6656467、US5824307、US 7786273、US 7670600、US 7083784、US6818216、US7700735、US7553489、US7323172、US7229619、US7425618、US7740851、US7658921、US7704505、US7635568、US6855493、US6565849、US7582297、US7208162、US7700720、US6413771、US5811524、US6537809、US5762905、US7070786、US7364742、US7879329、US7488477、US7867497、US5534411、US6835372、US7482024、US7691603、US8562996、US8568726、US20100015596、WO2009088159A1中找到。

【0012】 因此，業界對於特異性結合於RSV抗原之抗體，例如高度有效且不產生妨礙臨床用途批准之負面影響之RSV-F，仍有所需求。

【發明內容】

發明概述

【0013】 本發明提供特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之經單離之完全人類單株抗體(mAbs)與其抗原結合片段。已知F蛋白質扮演病毒與細胞之融合及病毒之細胞間傳播之角色，本文敘述之抗體提供抑制該過程之方法，因此，可用於預防暴露於RSV或瀕臨RSV感染風險病患之感染、或用於治療及/或改善暴露於RSV或瀕臨RSV感染風險或罹患RSV感染病患之與RSV感染關聯之一或多種症狀。本文敘述之抗體亦可用以

預防或治療由於潛在或已存在之醫學症狀而可能遭遇更嚴重形式RSV感染之RSV感染病患。可從使用本發明抗體治療獲益之病患可為於RSV季節期間[大約晚秋(十一月)至早春(四月)]出生，由於包括先天性心臟病或慢性肺病之其他已存在或潛在醫學症狀而處於風險中之早產嬰兒、足月嬰兒、有或無潛在醫學症狀之大於一歲之幼童、有或無潛在醫學症狀[例如，鬱血性心衰竭(CHF)、或慢性阻塞性肺臟疾病(COPD)]之機構照護或住院病患、或年長成人(> 65歲)。可從此類療法獲益之病患可能罹患由於受損之肺、心血管、神經肌肉、或免疫系統所產生之醫學症狀。舉例而言，該病患可能罹患呼吸道異常、或呼吸道功能障礙、慢性肺病、慢性或先天性心臟病、損害呼吸道分泌物之處理之神經肌肉性疾病；或該病患可能由於嚴重合併性免疫缺失疾病或嚴重後天免疫缺失疾病、或由於導致免疫抑制之任何其他潛在傳染病或癌症症狀而被免疫抑制；或該病患可能由於使用免疫抑制藥物(例如，用於治療移植病患之任何藥物)或放射療法治療而被免疫抑制。可從本發明抗體獲益之病患可為罹患慢性阻塞性肺臟疾病(COPD)、囊狀纖維化症(CF)、肺支氣管發育不全、鬱血性心衰竭(CHF)、或先天性心臟病之病患。

【0014】 由於相較於已知抗體，本發明抗體在中和RSV方面更有效，因此可使用較低劑量之抗體或抗體片段以達到對RSV感染較大程度之保護，及對RSV感染關聯症狀更有效之治療及/或改善。因此，使用較低劑量之免疫特異性結合於RSV-F抗原之抗體或其片段可導致更少或較不嚴重之有害結果。同樣地，使用更有效之中和抗體可導致比先前設想用於預防感染、或用於中和病毒、或用於治療或改善一或多種與RSV感染關聯症狀所需抗體或抗體片段頻繁給藥縮減之需求。RSV感染之症狀可包括由於缺氧造成藍色皮膚(缺氧)、呼吸困難(急促呼吸或呼吸短促)、咳嗽、哮吼狀咳嗽

(“海豹吠聲”咳嗽)、發燒、鼻翼煽動、鼻塞(塞住之鼻)、呼吸中止、食慾減退、脫水、低劣進食(*poor feeding*)、心理狀態改變、或喘鳴。

【0015】 當預防性地投予(在暴露於病毒及病毒感染之前)，以減輕原發性RSV感染之嚴重性或持續時間，或至少改善與該感染關聯之一種症狀時，此類抗體可能有用。抗體可單獨或與可用於治療RSV感染之第二製劑結合使用。於特定具體實例中，抗體可單獨，或與以減輕原發性感染之嚴重性或持續時間，或改善與該感染關聯的至少一種症狀之第二製劑結合，治療性地投予(於暴露及感染該病毒後)。於特定具體實例中，抗體可呈單獨療法預防性地用以保護例如上述瀕臨RSV感染風險之病患。任何彼等病患族群都能從單獨或與第二製劑(包括舉例而言，抗病毒療法之例如利巴韋林或其他抗病毒疫苗)結合使用本發明抗體之治療獲益。

【0016】 本發明抗體可為全長(例如，IgG1或IgG4抗體)，或可僅包含抗原結合部分(例如，Fab、F(ab')₂或scFv片段)，及可被修飾以影響功能性，例如，去除殘留之效應子功能 [Reddy *et al.*, (2000), *J. Immunol.* 164:1925-1933]。

【0017】 因此，於第一態樣中，本發明提供特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段。

【0018】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體具有下述一或多個特性：

- (a) 為完全人類單株抗體；
- (b) 與包含SEQ ID NO: 354約位置161至約位置188範圍內的胺基酸殘基之胺基酸序列交互作用；
- (c) 與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸、或SEQ ID NO: 354位置174之

蘇胺酸交互作用，或與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸以及SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸二者交互作用；

- (d) 能於活體外中和亞型A與亞型B呼吸道融合病毒；
- (e) 於RSV感染之動物模式中，展示顯著降低活體內鼻及/或肺臟病毒載量之能力；或
- (f) 抑制病毒與細胞之融合。

【0019】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體與包含SEQ ID NO: 354約位置161至約位置188範圍內的胺基酸殘基之胺基酸序列交互作用。

【0020】 於一具體實例中，該抗體係特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之完全人類單離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與包含SEQ ID NO: 354約位置161至約位置188範圍內的胺基酸殘基之胺基酸序列交互作用，及其中該抗體於活體外與活體內中和亞型A及/或亞型B呼吸道融合病毒。

【0021】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段於RSV感染之小鼠模式中投予約0.05毫克/公斤至約0.15毫克/公斤範圍內之劑量時，展示顯著降低肺臟病毒載量之能力。

【0022】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與於RSV感染之棉花鼠模式中投予約0.62毫克/公斤至約5.0毫克/公斤劑量範圍內之帕利珠單抗相較時，展示大於1至2個對數值之鼻及/或肺臟病毒力價下降。

【0023】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段於亞型A RSV感染之小鼠模式中投予時，展示約0.15毫克/公斤或更少之ED₉₉。

【0024】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段於亞型A RSV感染之棉花鼠模式中投予時，展示約0.62毫克/公斤或更少之ED₉₉。

【0025】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段於亞型B RSV感染之棉花鼠模式中投予時，展示約2.5毫克/公斤或更少之ED₉₉。

【0026】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段展示比帕利珠單抗或莫維珠單抗之ED₉₉低約2至3倍之ED₉₉。

【0027】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段，於RSV之亞型A RSV病毒株特異性微中和反應檢定中，展示約2 pM至約600 pM之半最大抑制濃度(IC₅₀)。

【0028】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段，於RSV之亞型B RSV病毒株特異性之微中和反應檢定中，展示約6 pM至約100 pM之半最大抑制濃度(IC₅₀)。

【0029】 於一具體實例中，該特異性地結合於RSV-F蛋白質之單離抗體或其抗原結合片段對RSV之一或多種亞型A實驗室病毒株展示比帕利珠單抗增進約15至17倍之中和效力，或對RSV之一或多種亞型A臨床病毒株展

示比帕利珠單抗增進約10至22倍之中和效力。

【0030】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段對RSV之一或多種亞型B實驗室病毒株展示比帕利珠單抗增進約2至5倍之中和效力。

【0031】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段對RSV之一或多種亞型A實驗室病毒株或亞型A臨床病毒株展示比AM-22增進約0.5至2倍之中和效力。

【0032】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離抗體或其抗原結合片段，對RSV之一或多種亞型B實驗室病毒株展示比AM-22增進約2.5至17倍之中和效力。

【0033】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段於利用表面電漿共振測量時，展現 1×10^{-7} M至 6×10^{-10} M範圍內之 K_D 。

【0034】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段於利用表面電漿共振測量時，展現 1×10^{-7} M至 9×10^{-9} M範圍內之 K_D 。

【0035】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段包含選自包括SEQ ID NOs: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322與338的組群之HCVR胺基酸序列內所含三個重鏈CDRs (HCDR1、HCDR2與HCDR3)；及含於選自包括SEQ ID NOs: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330與346的組群之LCVR胺基酸序列內之三個輕鏈CDRs (LCDR1、LCDR2與LCDR3)。

【0036】 用於鑑定HCVR與LCVR胺基酸序列內CDR之方法與技術於此項技藝中為眾所周知，並可用以鑑定本文揭示之特定HCVR及/或LCVR胺基酸序列內之CDR。可用以鑑定CDR邊界之例示約定包括，例如，卡巴特(Kabat)界定、巧西亞(Chothia)界定、與AbM界定。於一般術語中，卡巴特界定係根據序列變異性、巧西亞界定係根據結構環狀區之位置，AbM界定則係卡巴特與巧西亞方法間之折衷方案。參見，例如，Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)；Al-Lazikani *et al.*, (1997), *J. Mol. Biol.* 273:927-948；與Martin *et al.*, (1989), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:9268-9272。亦可利用公用資料庫鑑定抗體內之CDR序列。

【0037】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段包含具有選自包括SEQ ID NOs: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322與338的組群之胺基酸序列之重鏈變異區(HCVR)。

【0038】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段包含具有選自包括SEQ ID NOs: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330與346的組群之胺基酸序列之輕鏈變異區(LCVR)。

【0039】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段包含具有選自包括SEQ ID NOs: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322與338的組群之胺基酸序列之重鏈變

異區(HCVR)；及具有選自包括SEQ ID NOs: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330與346的組群之胺基酸序列之輕鏈變異區(LCVR)。

【0040】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 363之重鏈胺基酸序列與SEQ ID NO: 364之輕鏈胺基酸序列。

【0041】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段包含選自包括SEQ ID NOs: SEQ ID NO: 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330與338/346的組群之HCVR/LCVR胺基酸序列對。

【0042】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段包含選自包括SEQ ID NOs: 274/282與338/346的組群之HCVR/LCVR胺基酸序列對。

【0043】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段包含：

(a) 具有選自包括SEQ ID NOs: 8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、312、328、與344的組群之胺基酸序列之HCDR3功能區；及

(b) 具有選自包括SEQ ID NOs: 16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304、320、336與352的組群之胺基酸序列之LCDR3功能區。

【0044】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白

質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段進一步包含：

(c) 具有選自包括SEQ ID NOs: 4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、308、324與340的組群之胺基酸序列之HCDR1功能區；

(d) 具有選自包括SEQ ID NOs: 6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、310、326與342的組群之胺基酸序列之HCDR2功能區；

(e) 具有選自包括SEQ ID NOs: 12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300、316、332與348的組群之胺基酸序列之LCDR1功能區；及

(f) 具有選自包括SEQ ID NOs: 14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302、318、334與350的組群之胺基酸序列之LCDR2功能區。

【0045】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段包含：

(a) 具有選自包括SEQ ID NOs: 4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、308、324與340的組群之胺基酸序列之HCDR1功能區；

(b) 具有選自包括SEQ ID NOs: 6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、310、326與342的組群之胺基酸序列之HCDR2功能區；

(c) 具有選自包括SEQ ID NOs: 8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、312、328、與344的組群之胺基酸序列之HCDR3功能區；

(d) 具有選自包括SEQ ID NOs: 12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300、316、332與348的組群之胺基酸序列之LCDR1功能區；

(e) 具有選自包括SEQ ID NOs: 14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302、318、334與350的組群之胺基酸序列之LCDR2功能區；及

(f) 具有選自包括SEQ ID NOs: 16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304、320、336與352的組群之胺基酸序列之LCDR3功能區。

【0046】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段包含：

(a) 具有選自包括SEQ ID NOs: 276與340的組群之胺基酸序列之HCDR1功能區；

(b) 具有選自包括SEQ ID NOs: 278與342的組群之胺基酸序列之HCDR2功能區；

(c) 具有選自包括SEQ ID NOs: 280與344的組群之胺基酸序列之HCDR3功能區；

(d) 具有選自包括SEQ ID NOs: 284與348的組群之胺基酸序列之LCDR1功能區；

(e) 具有選自包括SEQ ID NOs: 286與350的組群之胺基酸序列之LCDR2功能區；及

(f) 具有選自包括SEQ ID NOs: 288與352的組群之胺基酸序列之LCDR3功能區。

【0047】 於一具體實例中，該特異性地結合於RSV-F之單離人類抗體

或其抗原結合片段包含分別為SEQ ID NOs: 276、278與280之HCDR1、HCDR2與HCDR3胺基酸序列及分別為SEQ ID NOs: 284、286與288之LCDR1、LCDR2與LCDR3胺基酸序列。

【0048】 於一具體實例中，該特異性地結合於RSV-F之單離人類抗體或其抗原結合片段包含分別為SEQ ID NOs: 340、342與344之HCDR1、HCDR2與HCDR3胺基酸序列及分別為SEQ ID NOs: 348、350與352之LCDR1、LCDR2與LCDR3胺基酸序列。

【0049】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段，與包含選自包括SEQ ID NOs: 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330與338/346的組群之重鏈與輕鏈序列對之抗體或抗原結合片段，競爭與RSV-F之特異性結合。

【0050】 於一具體實例中，該包含選自包括SEQ ID NOs: 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330與338/346的組群之重鏈與輕鏈序列對，及特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段，不和帕利珠單抗、莫維珠單抗、或AM-22競爭與RSV-F之特異性結合。

【0051】 於一具體實例中，該特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段，與RSV-F上被包含選自包括SEQ ID NOs: 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330與338/346的組群之重鏈與輕

鏈序列對之抗體辨識之相同抗原決定區結合。

【0052】 於一具體實例中，該包含選自包括SEQ ID NOs: 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330與338/346組群之重鏈與輕鏈序列對，及特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類抗體或其抗原結合片段，其不結合於RSV-F上與帕利珠單抗或莫維珠單抗相同之抗原決定區。

【0053】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於RSV-F之完全人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其片段展現下述一或多個特徵：(i)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322與338之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCVR；(ii)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330與346之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCVR；(iii)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、312、328與344之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCDR3功能區；及具有選自包括SEQ ID NO: 16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304、320、336與352之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCDR3功能區；(iv)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 4、20、

36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、308、324與340之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCDR1功能區；(v)具有選自包括SEQ ID NOs: 6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、310、326與342之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCDR2功能區；(vi)具有選自包括SEQ ID NOs: 12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300、316、332與348之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCDR1功能區；(vii)及具有選自包括SEQ ID NOs: 14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302、318、334與350之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCDR2功能區；(viii)利用表面電漿共振測量時，展現約 1×10^{-7} M至約 6×10^{-10} M範圍內之 K_D ；(ix)能於活體外中和呼吸道融合病毒亞型A及/或亞型B病毒株；(x)於RSV感染之小鼠模式中投予約0.05毫克/公斤至約0.15毫克/公斤範圍內之劑量時，展示顯著降低病毒載量之能力；(xi)相較於帕利珠單抗，於RSV感染之棉花鼠模式中投予約0.62毫克/公斤至約5.0毫克/公斤範圍內之劑量時，展示大1至2個對數值之鼻及/或肺臟病毒力價下降；(xii)於RSV感染之動物模式(例如，小鼠模式或棉花鼠模式)中投予時，展示約0.15毫克/公斤至約2.5毫克/公斤範圍內之有效劑量 99 (ED_{99})；或(xiii)於RSV之亞型A RSV病毒株特異性微中和反應檢定中，展示約2 pM至約15 pM之半最大抑制濃度(IC_{50})，及於微中和反應檢定中，約6 pM至約100 pM之半最大抑制濃度(IC_{50})。

【0054】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於RSV-F之完全人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其片段展現下述一或多個特徵：(i)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322與338之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCVR；(ii)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330與346之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCVR；(iii)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、312、328與344之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCDR3功能區；及具有選自包括SEQ ID NO: 16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304、320、336與352之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCDR3功能區；(iv)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、308、324與340之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCDR1功能區；(v)具有選自包括SEQ ID NOs: 6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、310、326與342之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCDR2功能區；(vi)具有選自包括SEQ ID

NOs: 12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300、316、332與348之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCDR1功能區；(vii)及具有選自包括SEQ ID NOs: 14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302、318、334與350之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCDR2功能區；(viii)展現約 1×10^{-7} M至約 6×10^{-10} M範圍內之 K_D ；(ix)能於活體外中和呼吸道融合病毒亞型A及/或亞型B病毒株；(x)於RSV感染之動物模式(例如，小鼠模式)中，投予約0.05毫克/公斤至約0.15毫克/公斤範圍內之劑量時，展示顯著降低病毒載量之能力；(xi)相較於帕利珠單抗，於RSV感染之動物模式(例如，棉花鼠模式)中，投予約0.62毫克/公斤至約5.0毫克/公斤範圍內之劑量時，展示大1至2個對數值之鼻及/或肺臟病毒力價下降；(xii)於RSV感染之動物模式(例如，小鼠模式或棉花鼠模式)中投予時，展示範圍約0.05毫克/公斤至約2.5毫克/公斤之有效劑量99 (ED₉₉)；(xiii)展示比帕利珠單抗或莫維珠單抗之ED₉₉低約2至3倍之ED₉₉；(xiv)對RSV之一或多種亞型A實驗室病毒株展示比帕利珠單抗增進約15至17倍之中和效力，或對RSV之一或多種亞型A臨床病毒株展示比帕利珠單抗增進約10至22倍之中和效力；(xv)對RSV之一或多種亞型B實驗室病毒株展示比帕利珠單抗增進約2至5倍之中和效力；(xvi)對RSV之一或多種亞型A實驗室病毒株或亞型A臨床病毒株展示比AM-22增進約0.5至2倍之中和效力；(xvii)對RSV之一或多種亞型B實驗室病毒株展示比AM-22增進約2.5至17倍之中和效力。

【0055】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於RSV-F之完全人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其片段展現下述一或多個

特徵：(i)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322與338之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCVR；(ii)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330與346之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCVR；(iii)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、312、328與344之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCDR3功能區；及具有選自包括SEQ ID NO: 16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304、320、336與352之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCDR3功能區；(iv)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、308、324與340之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCDR1功能區；(v)具有選自包括SEQ ID NOs: 6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、310、326與342之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCDR2功能區；(vi)具有選自包括SEQ ID NOs: 12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300、316、332與348之組群之胺基酸序列，或其具

有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCDR1功能區；(vii)及具有選自包括SEQ ID NOs: 14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302、318、334與350之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCDR2功能區；(viii)展現約 1×10^{-7} M至約 6×10^{-10} M範圍內之 K_D ；(ix)能於活體外中和呼吸道融合病毒亞型A及/或亞型B病毒株；(x)於RSV感染之哺乳動物中，展示顯著降低病毒載量之能力；(xi)與包含SEQ ID NO: 354約位置161至約位置188範圍內的胺基酸殘基之胺基酸序列交互作用；(xii)與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸、或SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸交互作用，或與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸以及SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸二者交互作用；(xiii)抑制RSV與宿主細胞之融合；(xiv)不與帕利珠單抗或AM-22交叉競爭結合於RSV-F。

【0056】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與包含SEQ ID NO: 354約位置161至約位置188範圍內的胺基酸殘基之胺基酸序列交互作用。

【0057】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於RSV-F之單離人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與選自包括SEQ ID NO: 355與356的組群之至少一胺基酸序列交互作用。

【0058】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於RSV-F之單離人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與SEQ ID NO: 354之161至188殘基內之至少一胺基酸殘基交互作用。

【0059】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於RSV-F之單離

人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與SEQ ID NO: 355或SEQ ID NO:356內之至少一胺基酸殘基交互作用。

【0060】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於RSV-F之單離人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸、或SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸交互作用，或與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸以及SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸二者交互作用。

【0061】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段，與包含SEQ ID NO: 354約位置161至約位置188範圍內的胺基酸殘基之胺基酸序列交互作用；及其中該抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO: 274之重鏈變異區(HCVR)胺基酸序列內所含三個重鏈CDRs (HCDR1、HCDR2與HCDR3)，與SEQ ID NO: 282之輕鏈變異區(LCVR)胺基酸序列內所含三個輕鏈CDRs (LCDR1、LCDR2與LCDR3)。

【0062】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於呼吸道融合病毒F蛋白質(RSV-F)之單離人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含：

- (a) 包含SEQ ID NO: 276胺基酸序列之HCDR1功能區；
- (b) 包含SEQ ID NO: 278胺基酸序列之HCDR2功能區；
- (c) 包含SEQ ID NO: 280胺基酸序列之HCDR3功能區；
- (d) 包含SEQ ID NO: 284胺基酸序列之LCDR1功能區；
- (e) 包含SEQ ID NO: 286胺基酸序列之LCDR2功能區；及
- (f) 包含SEQ ID NO: 288胺基酸序列之LCDR3功能區。

【0063】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於RSV-F之單離

人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含SEQ ID NO: 274之重鏈變異區(HCVR)胺基酸序列內所含三個HCDRs；與SEQ ID NO: 282之輕鏈變異區(LCVR)胺基酸序列內所含三個輕鏈CDRs (LCDR1、LCDR2與LCDR3)；及其中該抗體或其抗原結合片段與選自包括SEQ ID NO: 355與356的組群之至少一胺基酸序列交互作用。

【0064】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於RSV-F之單離人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含SEQ ID NO: 274之重鏈變異區(HCVR)胺基酸序列內所含三個HCDRs；與SEQ ID NO: 282之輕鏈變異區(LCVR)胺基酸序列內所含三個輕鏈CDRs (LCDR1、LCDR2與LCDR3)；及其中該抗體或其抗原結合片段與SEQ ID NO: 354之161至188殘基內之至少一胺基酸殘基交互作用。

【0065】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於RSV-F之單離人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含SEQ ID NO: 274之重鏈變異區(HCVR)胺基酸序列內所含三個HCDRs；與SEQ ID NO: 282之輕鏈變異區(LCVR)胺基酸序列內所含三個輕鏈CDRs (LCDR1、LCDR2與LCDR3)；及其中該抗體或其抗原結合片段與SEQ ID NO: 355或SEQ ID NO: 356內之至少一胺基酸殘基交互作用。

【0066】 於一具體實例中，本發明提供特異性地結合於RSV-F之單離人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含SEQ ID NO: 274之重鏈變異區(HCVR)胺基酸序列內所含三個HCDRs；與SEQ ID NO: 282之輕鏈變異區(LCVR)胺基酸序列內所含三個輕鏈CDRs (LCDR1、LCDR2與LCDR3)；其中該抗體或其抗原結合片段與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸、或SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸交互作用，或與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸以及SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸二者交互作用。

【0067】 於一具體實例中，本發明提供一種單離人類抗體或其抗原結合片段，其不與帕利珠單抗或莫維珠單抗交叉競爭結合於RSV-F。

【0068】 於一具體實例中，本發明提供單離之人類抗體或其抗原結合片段，其不與AM-22交叉競爭結合於RSV-F。

【0069】 於一具體實例中，本發明提供單離之人類抗體或其抗原結合片段，其不結合於RSV-F上與帕利珠單抗相同之抗原決定區。

【0070】 於一具體實例中，本發明提供單離之人類抗體或其抗原結合片段，其不結合於RSV-F上與莫維珠單抗相同之抗原決定區。

【0071】 於一具體實例中，本發明提供一種單離人類單株抗體或其抗原結合片段，其不與RSV-F上SEQ ID NO: 354胺基酸殘基255至胺基酸殘基276範圍內之抗原決定區結合。

【0072】 於一具體實例中，該單離人類單株抗體或其抗原結合片段，其不結合於RSV-F上與帕利珠單抗相同之抗原決定區，其中該抗原決定區範圍為SEQ ID NO: 354之約胺基酸殘基255至約胺基酸殘基276。

【0073】 於第二態樣中，本發明提供編碼特異性地結合於RSV-F之抗體或其片段之核酸分子。攜帶本發明核酸之重組表現載體、及已被引入此載體之宿主細胞，亦涵蓋於本發明中；利用於容許抗體生產之條件下培養宿主細胞以產生抗體及回收所產生抗體之方法亦然。

【0074】 於一具體實例中，本發明提供包含由選自包括SEQ ID NO: 1、17、33、49、65、81、97、113、129、145、161、177、193、209、225、241、257、273、289、305、321、與337的組群之核酸序列，或具有至少90%、至少95%、至少98%、或至少99%其同源性之實質上完全相同序列所編碼之HCVR之抗體或其片段。

【0075】 於一具體實例中，該HCVR係由選自包括SEQ ID NO: 273與

337的組群之核酸序列所編碼。

【0076】 於一具體實例中，該抗體或其片段進一步包含由選自包括SEQ ID NO: 9、25、41、57、73、89、105、121、137、153、169、185、201、217、233、249、265、281、297、313、329、與345的組群之核酸序列，或具有至少90%、至少95%、至少98%、或至少99%其同源性之實質上完全相同序列所編碼之LCVR。

【0077】 於一具體實例中，該LCVR係由選自包括SEQ ID NO: 281與345的組群之核酸序列所編碼。

【0078】 於一具體實例中，本發明亦提供抗體或抗體之抗原結合片段，其包含由選自包括SEQ ID NO: 7、23、39、55、71、87、103、119、135、151、167、183、199、215、231、247、263、279、295、311、327、與343之組群或具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之其實質上相似序列之核苷酸序列所編碼之HCDR3功能區；及由選自包括SEQ ID NO: 15、31、47、63、79、95、111、127、143、159、175、191、207、223、239、255、271、287、303、319、335、與351組群，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之其實質上相似序列之核苷酸序列所編碼之LCDR3功能區。

【0079】 於一具體實例中，本發明提供抗體或其片段，其進一步包含由選自包括SEQ ID NO: 3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、179、195、211、227、243、259、275、291、307、323、與339之組群，或具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之其實質上相似序列之核苷酸序列所編碼之HCDR1功能區；由選自包括SEQ ID NO: 5、21、37、53、69、85、101、117、133、149、165、181、197、213、229、245、261、277、293、309、325、與341組群，或具有至少90%、至少95%、至少

98%或至少99%序列同一性之其實質上相似序列之核苷酸序列所編碼之HCDR2功能區；由選自包括SEQ ID NO: 11、27、43、59、75、91、107、123、139、155、171、187、203、219、235、251、267、283、299、315、331、與347組群，或具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之其實質上相似序列之核苷酸序列所編碼之LCDR1功能區；及由選自包括SEQ ID NO: 13、29、45、61、77、93、109、125、141、157、173、189、205、221、237、253、269、285、301、317、333、與349組群，或具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之其實質上相似序列之核苷酸序列所編碼之LCDR2功能區。

【0080】 於第三態樣中，本發明之特徵為對包含由衍生自V_H、D_H與J_H胚原(germline)序列之核苷酸序列區段編碼之HCVR及由衍生自V_K與J_K胚原序列之核苷酸序列區段編碼之LCVR之RSV-F具特異性之人類抗體或抗原結合片段。

【0081】 本發明涵蓋具有經修飾之醣基化模式之抗體。於若干應用中，修飾以移除不為所欲之醣基化部位可能有用，或例如，移除海藻糖部分以增強抗體依賴性細胞毒性(ADCC)功能[參見Shield *et al.* (2002) JBC 277:26733]。於其他應用中，可進行半乳糖基化之修飾以修飾補體依賴性細胞毒性(CDC)。

【0082】 於第四態樣中，本發明提供包含結合於RSV-F之至少一種單離之完全人類單株抗體或其抗原結合片段及醫藥上可接受之載劑或稀釋劑之醫藥組成物。於一具體實例中，本發明提供包含結合於RSV-F上相同抗原決定區或兩個不同抗原決定區之兩種完全人類單株抗體或其抗原結合片段，及醫藥上可接受之載劑或稀釋劑之醫藥組成物。應了解的是，醫藥組成物中可使用如本文所述抗體之任何組合，以達成需要此類療法的病患族

群期望之結果。舉例而言，組成物中可使用辨識及/或結合RSV-F之兩種抗體。替代地，組成物中可使用兩種抗體，一者辨識及/或結合RSV-F，第二抗體結合RSV上另一抗原(例如 RSV-G)。於一具體實例中，於組成物中可使用兩種抗體，一者辨識及/或結合RSV-F，第二抗體結合間質肺炎病毒抗原。替代地，組成物中可使用兩種或兩種以上抗體，一者辨識及/或結合RSV-F，一者結合間質肺炎病毒抗原，另一者結合流感病毒抗原或引致呼吸道疾病之任何其他病毒。

【0083】 於一具體實例中，醫藥組成物包含結合RSV-F及具有選自包括SEQ ID NOs: 274/282與338/346組群之HCVR/LCVR胺基酸序列對之抗體。

【0084】 於一具體實例中，該醫藥組成物包含結合RSV-F及具有包括SEQ ID NOs: 274/282之HCVR/LCVR胺基酸序列對之抗體。

【0085】 於一具體實例中，該醫藥組成物包含結合RSV-F及具有包括SEQ ID NOs: 338/346之HCVR/LCVR胺基酸序列對之抗體。

【0086】 於一具體實例中，醫藥組成物包含結合RSV-F之至少一種抗體，其中該抗體包含選自包括SEQ ID NOs: 274與338之組群內所含任一重鏈變異區(HCVR)胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2與HCDR3)；及選自包括SEQ ID NOs: 282與346之組群內所含任一輕鏈變異區(LCVR)胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2與LCDR3)。

【0087】 於一具體實例中，本發明抗體或含有一或多種本發明抗體之組成物可用以中和得自任何亞型A或亞型B RSV病毒株之RSV。

【0088】 於一具體實例中，本發明之特徵為本發明抗體或抗體之抗原結合片段與第二治療劑組合之組成物。

【0089】 該第二治療劑可為小分子藥物、蛋白質/多肽、抗體、核酸

分子(例如，反義分子或siRNA)；該第二治療劑可為合成或天然衍生。

【0090】 該第二治療劑可為與本發明抗體或其片段有利地結合之任何製劑，例如，抗病毒劑(如，利巴韋林)、RSV特異性疫苗、或流感病毒特異性疫苗、或間質肺炎病毒(MPV)特異性疫苗、RSV抗原特異性siRNA、流感病毒抗原特異性siRNA、間質肺炎病毒(MPV)抗原特異性siRNA、對RSV抗原、或間質肺炎病毒(MPV)抗原、或流行性感冒抗原具特異性之第二抗體、抗IL4R抗體、抗RSV-G抗體或NSAID。於特定具體實例中，該第二治療劑可為有助於抵抗或減輕與本發明抗體或抗體之抗原結合片段關聯之可能發生之任何副作用之製劑。

【0091】 亦應理解的是，本發明之抗體及醫藥上可接受組成物，可用於組合療法，亦即該抗體及醫藥上可接受組成物可與一或多種其他期望之治療法或醫療程序同時、之前或之後施用。用於組合療程之特定組合療法(治療法或程序)應慮及期望治療法及/或程序與欲達到之期望治療效果之相容性。亦應理解的是，針對相同疾患，所用療法可能達到期望效果(例如，抗體可與用以治療相同疾患之另一製劑同時投予)，或可能達到不同效果(例如，控制任何有害效果)。本文中所用之通常用以治療或預防特定疾病或症狀之附加治療劑適用於正在治療中之疾病或症狀。

【0092】 共同施用多重療法時，可如相關技藝所認可，相應地調整劑量。

【0093】 本發明之第五態樣係提供有其需要之病患預防呼吸道融合病毒感染、或治療罹患感染RSV病患、或改善與RSV感染關聯之至少一種症狀或併發症之方法；該方法包括投予有其需要之病患如本文敘述之一或多種抗體或其抗原結合片段、或包含如本文敘述之一或多種本發明抗體或其片段之醫藥組成物，俾使預防RSV感染、或改善與該感染關聯之至少一種

症狀或併發症、緩解或降低嚴重性及/或持續時間。

【0094】 於相關具體實例中，本發明提供包含單獨或組合第二治療劑之本發明一或多種抗體之醫藥組成物，以於有其需要之病患中用於預防呼吸道融合病毒(RSV)感染，或用於治療罹患RSV感染之病患，或用於改善與該感染關聯之至少一種症狀或併發症；其中該感染被預防，或與該感染關聯之至少一種症狀或併發症被預防、改善、或減少嚴重性及/或持續時間。

【0095】 於一具體實例中，本發明提供包含單獨或組合第二治療劑之本發明一或多種抗體之醫藥組成物，以製造於有其需要之病患中用於預防呼吸道融合病毒(RSV)感染，或用於治療罹患RSV感染之病患，或用於改善與該感染關聯之至少一種症狀或併發症之藥劑；其中該感染被預防，或與該感染關聯之至少一種症狀或併發症被預防、改善、或減少嚴重性及/或持續時間。

【0096】 於一具體實例中，需要以本發明抗體或其抗原結合片段治療之病患係指由於潛在或已存在之醫學症狀而可能遭遇更嚴重形式RSV感染之病患。於一具體實例中，該方法於瀕臨其風險之病患中提供預防RSV感染之形成；該方法包括投予該病患有效量之結合於RSV之F蛋白質之抗體或其抗原結合片段，或包含有效量之結合於RSV之F蛋白質之抗體或其抗原結合片段之醫藥組成物，俾使該感染被預防、改善、或減少嚴重性及/或持續時間、或與該感染關聯之至少一種症狀或併發症被預防、改善、或減少嚴重性及/或持續時間。於一具體實例中，投予該單離之人類RSV-F抗體或其抗原結合片段導使防止病患之頻發喘鳴。於一具體實例中，投予該單離之人類RSV-F抗體或其抗原結合片段，導使防止兒童RSV相關之氣喘。於一具體實例中，投予該單離之人類RSV-F抗體或其抗原結合片段，導使防止由亞型A或亞型B呼吸道融合病毒引起之RSV感染。

【0097】 於一具體實例中，該可用本發明抗體或其抗原結合片段治療之與RSV感染關聯之至少一種症狀或併發症，可選自包括缺氧、由於缺氧造成藍色皮膚、呼吸困難(例如，急促呼吸或呼吸短促)、咳嗽、哮吼狀咳嗽(“海豹吠聲”咳嗽)、發燒、鼻翼煽動、鼻塞、喘鳴、肺炎、呼吸中止、脫水、低劣進食、心理狀態改變、食慾減退、或細支氣管炎之組群。

【0098】 於一具體實例中，該瀕臨形成RSV感染風險而可從使用本發明抗體，或使用包含本發明一或多種抗體之組成物治療獲益之病患，可選自包括早產嬰兒、由於若干其他潛在醫學症狀及/或暴露於RSV高峰季節期間受損之足月嬰兒、有或無潛在醫學症狀(例如，先天性心臟病、慢性肺病、囊狀纖維化症、免疫缺失、神經肌肉性疾患)之一歲或大於一歲之幼童、有或無潛在醫學症狀(例如，鬱血性心衰竭或慢性阻塞性肺臟疾病)之機構照護或住院病患、年長成人(≥ 65 歲)、由於潛在疾病或由於免疫抑制治療給藥之免疫受損病患、具有使其容易得到RSV感染之若干潛在醫學症狀[例如，慢性阻塞性肺臟疾病(COPD)、鬱血性心衰竭、囊狀纖維化症、肺支氣管發育不全、呼吸道功能障礙、慢性肺病、癌症病患、或正進行免疫抑制療法之移植病患]之病患之組群。

【0099】 於一具體實例中，使用本發明抗體治療之候選病患可為罹患由於肺、心血管、神經肌肉、或免疫系統受損所導致之症狀者。該症狀可為選自包括呼吸道異常、慢性肺病、慢性心臟病、損害呼吸道分泌物之操縱之神經肌肉性疾病與免疫抑制之組群。慢性肺病可為慢性阻塞性肺臟疾病(COPD)、囊狀纖維化症、或肺支氣管發育不全。慢性心臟病可為鬱血性心衰竭(CHF)、或先天性心臟病。神經肌肉性疾病或症狀可為神經退化性疾病，或由於神經系統損傷或意外事故(例如，中風或脊髓損傷)而無法處理及/或排除呼吸道分泌物。免疫抑制可為嚴重合併性免疫缺失或嚴重後天免疫

缺失之結果、或可為導致免疫抑制之任何其他傳染病或癌症症狀之結果、或為使用免疫抑制劑藥物療法或放射療法治療之結果。

【0100】 於一具體實例中，該抗體係預防性地投予(形成感染前投予)瀕臨形成RSV感染風險、或瀕臨形成與RSV感染關聯之至少一種症狀或併發症風險中之病患。使用本發明抗體治療之候選病患可經由適於投予之任何遞送途徑，包括惟不限於靜脈注射、肌肉注射、或皮下注射，投予包含一或多種抗體之組成物。

【0101】 於一具體實例中，該抗體係治療性地投予(形成感染後投予)病患，以改善或降低與RSV感染關聯之至少一種症狀或併發症之嚴重性及/或持續時間。

【0102】 於一具體實例中，本發明抗體可與用於治療RSV感染之一或多種治療劑組合投予病患。該一或多種治療劑可選自包括抗病毒劑、RSV特異性疫苗、流感病毒特異性疫苗、或間質肺炎病毒(MPV)特異性疫苗、RSV抗原或間質肺炎病毒(MPV)抗原特異性siRNA、RSV抗原或間質肺炎病毒(MPV)抗原特異性第二抗體、抗IL4R抗體、流感病毒抗原特異性抗體、抗RSV-G抗體與NSAID之組群。

【0103】 本發明之第六態樣提供投予個體(較佳為人類)時，於此個體中誘發對呼吸道融合病毒(RSV)抗原之免疫反應之免疫性組成物或疫苗。

【0104】 於一具體實例中，該免疫性組成物，或疫苗，包含RSV抗原(例如，RSV-F蛋白質、多肽、或其免疫原片段，或含於其中及/或得自RSV-F多肽或其片段之抗原之抗原決定區)，及/或包含編碼及表現得自RSV-F多肽或本發明其他多肽抗原之抗原決定區之DNA及/或RNA。

【0105】 於本發明一具體實例中，該免疫性組成物，或疫苗，可包含如SEQ ID NO: 354所示之RSV-F蛋白質。於本發明一具體實例中，該免疫性

組成物，或疫苗，可包含由SEQ ID NO: 354之161至188殘基組成之RSV-F多肽片段。於本發明一具體實例中，該免疫性組成物，或疫苗，可包含SEQ ID NO: 355及/或SEQ ID NO: 356內所含之一或多個胺基酸殘基。於本發明一具體實例中，該免疫性組成物，或疫苗，可包含SEQ ID NO: 355及/或SEQ ID NO: 356。

【0106】 於相關態樣中，本發明提供於個體(特別是哺乳動物，較佳為人類)中誘發免疫反應之方法，該方法係利用投予個體足量之包含RSV-F蛋白質、或其免疫原片段、或包含RSV-F抗原或其片段內所含一或多個抗原決定區之RSV-F抗原或其免疫原片段之免疫性組成物，或疫苗，以產生抗體及/或T細胞免疫反應，保護該個體免受感染，特別是呼吸道融合病毒(RSV)之感染。

【0107】 於一具體實例中，係提供使用本發明之免疫性組成物，或疫苗，誘發導致抑制、或減緩細胞間病毒傳播進展之免疫反應之方法；亦提供利用投予於投予時將於個體中誘發免疫反應之包含至少一種RSV-F抗原、或該RSV-F抗原內所含一或多個抗原決定區之免疫性組成物，或疫苗，以改善與RSV感染關聯之至少一種症狀之方法。

【0108】 舉例而言，於本發明之一具體實例中，係提供於個體中誘發免疫反應之方法，該方法包括遞送包含RSV-F抗原(例如SEQ ID NO: 354所示胺基酸序列)或其抗原片段(例如包含SEQ ID NO: 354之161至188殘基之多肽)、或包含引導此類病毒多肽或其片段或變異體表現之核苷酸序列之核酸載體之免疫性組成物，或疫苗至該個體，以於活體內誘發免疫反應。

【0109】 於本發明一具體實例中，欲於免疫性組成物或疫苗中使用，以於個體中誘發免疫反應之該多肽包含SEQ ID NO: 354之161至188殘基。於本發明一具體實例中，欲於免疫性組成物或疫苗中使用，以於個體中誘

發免疫反應之該多肽包含SEQ ID NO: 355及/或SEQ ID NO: 356內所含之一或多個胺基酸殘基。於本發明一具體實例中，欲於免疫性組成物或疫苗中使用，以於個體中誘發免疫反應之該多肽包含SEQ ID NO: 355及/或SEQ ID NO: 356。於本發明一具體實例中，該免疫性組成物，或疫苗，可引發對RSV之RSV-F抗原具特異性之抗體反應或T細胞反應，其中產生之抗體與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸、或SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸交互作用，或與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸以及SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸二者交互作用。

【0110】 於本發明特定具體實例中，該免疫性組成物，或疫苗，可包含本發明之免疫原多肽及/或多核苷酸、或其組合，以及適當載劑/賦形劑，例如醫藥上可接受之載劑/賦形劑。本發明之免疫性組成物，或疫苗，亦可包含用於增強調配物免疫性之佐劑。

【0111】 於特定具體實例中，有利的是，將RSV-F抗原或其片段調配成包含產生免疫性(較佳為免疫有效)用量之引發對其他病原體(較佳為病毒及/或細菌)的免疫力之附加抗原之免疫性組成物或疫苗。此類附加抗原可包括流感病毒抗原、得自間質肺炎病毒或得自冠狀病毒之抗原、得自流感嗜血桿菌(*Haemophilus influenzae*)、肺炎鏈球菌(*Streptococcus pneumonia*)、或百日咳嗜血桿菌(*Bordetella pertussis*)之抗原。可包含於免疫性組成物或疫苗中之其他RSV抗原為，例如，RSV-G糖蛋白或其免疫原片段、HN蛋白質、或其衍生物。

【0112】 圖1. RSV-F蛋白質之示意圖。

【0113】 圖2A與2B. 展示H1H3592P3利用抑制病毒與細胞膜之融合封阻病毒進入。

詳細說明

【0114】 於敘述本方法之前，須了解的是，本發明不擬受限於所敘述之特定方法、與實驗條件，因為此等方法及條件可能有所不同。亦須了解的是，本文所用之專門用語僅為敘述特定具體實例之目的，而不擬構成侷限，因此本發明範圍僅受隨附申請專利範圍之限制。

【0115】 除非另行界定，否則本文所用之所有技術及科學用語具有一般熟習本發明所屬之此項技藝者通常了解之相同意義。本文所用"約"之表示法，於用於有關特定列舉數值時，意指該數值與列舉數值之不同不超過1%。例如，本文所用之"約100"一詞包括99與101及其間所有數值(例如，99.1、99.2、99.3、99.4等)

【0116】 儘管於實施或測試本發明時可使用與本文所述相似或等同一之任何方法與材料，惟於下文僅敘述較佳之方法與材料。

界定

【0117】 “呼吸道融合病毒-F蛋白質”，亦稱為“RSV-F”，為第一型跨膜表面蛋白質，其具有N端之切割訊息胜肽及接近C端之膜錨[Collins, P.L. *et al.*, (1984), PNAS (USA) 81:7683-7687]。RSV-F蛋白質係以稱為F0之不具活性之67 KDa前驅物被合成[Calder, L.J.; *et al.*, *Virology* (2000), 271,122–131]。於高基氏體中，F0蛋白質有兩個位點被被類弗林(furin-like)蛋白酶蛋白分解地活化，分別從N與C端得到兩個雙硫鍵連接之多肽，F2與F1。所釋出之27個胺基酸胜肽稱為“pep27”。pep27兩側均有弗林蛋白酶之切割位點(FCS)[Collins, P.L.; Mottet, G. (1991), *J.Gen.Virol.*, 72: 3095–3101；Sugrue, R.J, *et al.* (2001), *J..Gen.Virol.*, 82,1375–1386]。F2次單元係由七肽重複區C (HRC)構成，而F1含有融合多肽(FP)、七肽重複區A (HRA)、功能區I、功能區II、七肽重複B (HRB)、跨膜(TM)及細胞質功能區(CP)[參見Sun, Z. *et al.* *Viruses* (2013), 5:211-225]。RSV-F蛋白質於病毒顆粒融合於細胞膜中發揮作

用，並於感染細胞表面表現，因而於細胞間病毒傳播及形成細胞間融合中發揮作用。RSV-F蛋白質之胺基酸序列以登錄編號AAX23994於基因庫(Genbank)中提供，本文中亦稱為SEQ ID NO: 354。

【0118】 RSV-F蛋白質之經遺傳工程改造之建構體於本文中呈具SEQ ID NO: 353之胺基酸序列示出。

【0119】 本文所用之"實驗室病毒株"一詞係指已於活體外細胞培養中經廣泛繼代培養之RSV (亞型A或B)病毒株。"實驗室病毒株"可獲取可能影響其生物性質之適應性突變。本文所用之"臨床病毒株"係指RSV分離株(亞型A或B)，係從感染個體獲得，為已被單離及以低繼代培養於組織培養中生長者。

【0120】 "有效劑量99"或"ED₉₉"一詞係指相對於同型(負)對照組，產生降低99%病毒形成溶菌斑期望效果之製劑劑量。本發明中，ED₉₉係指於活體內中和病毒感染(亦即，降低99%病毒載量)之抗RSV-F抗體之劑量，如實例5所述。

【0121】 本文所用之"IC₅₀"一詞係指"半最大抑制濃度"，該數值測量針對生物或生化效用，化合物(例如，抗RSV-F抗體)抑制之有效性。此定量計量指示特定抑制劑抑制特定生物程序所需量之一半。

【0122】 "帕利珠單抗"，亦稱為"SYNAGIS®"，係擬人化之抗RSV-F抗體，具有如見述於US7635568與5824307之胺基酸序列之重鏈與輕鏈變異功能區(本文中，亦將該抗體之重鏈以SEQ ID NO: 361及將該抗體之輕鏈以SEQ ID NO: 362示出)。免疫特異性地結合於RSV-F蛋白質之此抗體，目前已被FDA核准用於高風險兒童中嚴重RSV疾病之被動免疫預防，於整個RSV季節(北半球為十一月至四月)，以15毫克/公斤體重之推薦月劑量進行肌內投予。SYNAGIS®係由95%人類與5%鼠類抗體序列組成。亦參見Johnson *et*

al., (1997), *J. Infect. Diseases* 176:1215-1224。

【0123】 “莫維珠單抗”，亦稱為“NUMAX™”，係利用帕利珠單抗重鏈與輕鏈互補決定區之活體外親和力成熟作用所衍生之增強效價RSV-F特異性之擬人化單株抗體。為參考之用，NUMAX™抗體之胺基酸序列揭示於美國專利公告案2003/0091584與美國專利案No. 6,818,216及Wu *et al.*, (2005) *J. Mol. Bio.* 350(1):126-144與Wu, *et al.* (2007) *J. Mol. Biol.* 368:652-665。本文中，亦將該抗體之重鏈以SEQ ID NO: 359及輕鏈以SEQ ID NO: 360示出。

【0124】 本文所用之“治療(treat)”、“治療(treatment)”、與“治療(treating)”等詞係指縮減或改善上及/或下呼吸道RSV感染、中耳炎、或由施用一或多種療法(包括，惟不限於，投予一或多種預防或治療劑)產生之與其相關之症狀或呼吸狀況(例如，氣喘、喘鳴、或其組合)之進展、嚴重性、及/或持續時間。於特定具體實例中，該等術語係指RSV複製之縮減或抑制、RSV傳播至其他組織或對象(例如，傳播至下呼吸道)之抑制或縮減、細胞感染RSV之抑制或縮減、或與上及/或下呼吸道RSV感染或中耳炎關聯之一或多種症狀之改善。

【0125】 本文所用之“預防(prevent)”、“預防(preventing)”、與“預防(prevention)”等詞係指於對象中預防或抑制上及/或下呼吸道RSV感染、中耳炎或與其相關之呼吸症狀之形成或發作，預防或抑制上呼吸道RSV感染至下呼吸道RSV感染、中耳炎、或由施用療法(例如，預防或治療劑)產生之與其有關之呼吸症狀之進展，預防上及/或下呼吸道之RSV感染、中耳炎或與其相關之呼吸症狀、或施用組合療法(例如，預防或治療劑之組合)之症狀。

【0126】 本文所用之“抗體”一詞擬意指由四個多肽鏈、利用雙硫鍵互相連接的兩個重(H)鏈及兩個輕(L)鏈組成之免疫球蛋白分子(亦即，“完全抗體分子”)，以及其多聚體(例如，IgM)或其抗原結合片段。各重鏈由重鏈變

異區(“HCVR”或“V_H”)及重鏈恆定區(由功能區C_H1、C_H2與C_H3組成)組成。各輕鏈由輕鏈變異區(“LCVR”或“V_L”)及輕鏈恆定區(C_L)組成。V_H及V_L可進一步細分為稱為互補決定區(CDR)之高度變異區，其間散置著更保守之區域，稱為架構區(FR)。各V_H及V_L由三個CDRs及四個FRs組成，自胺基端至羧基端之排列順序為：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。於本發明特定具體實例中，該抗體(或其抗原結合片段)之FRs可與人類胚原序列完全相同，或可經天然或人工修飾。胺基酸一致序列可根據二或多個CDRs之並列分析予以界定。

【0127】 一或多個CDR殘基之置換或一或多個CDR之刪除亦有可能。於科學文獻中已敘述，抗體中一或兩個CDR可被用以進行結合。根據公告之晶體結構，Padlan *et al.* (1995 FASEB J. 9:133-139)分析抗體及其抗原間之接觸區，結果斷定僅約五分之一至三分之一之CDR殘基真正接觸抗原；亦發現有許多抗體，其一或兩個CDR無胺基酸與抗原接觸(亦參見，Vajdos *et al.* 2002 J Mol Biol 320:415-428)。

【0128】 從位於巧西亞CDRs外側之卡巴特CDRs區，不接觸抗原之CDR殘基可根據先前之研究，利用分子模型及/或經驗予以鑑定(例如，CDRH2中之H60-H65殘基常不需要)。若有CDR或其殘基被刪除，通常會以於另一人類抗體序列或此等序列之一致序列中佔用對應位置之胺基酸置換。CDRs內之置換位置及欲置換之胺基酸可憑經驗挑選；憑經驗之置換可為保守性或非保守性置換。

【0129】 本文揭示之完全人類單株抗體可包含重鏈與輕鏈變異功能區之架構及/或CDR區中，相較於對應胚原序列之一或多個胺基酸置換、插入及/或刪除。此等突變藉由比較本文揭示之胺基酸序列與自，例如，公開抗體序列資料庫取得之胚原序列，可容易地確定。本發明涵蓋抗體及其抗

原結合片段，該等抗原結合片段係衍生自本文揭示之任何胺基酸序列，其中一或多個架構及/或CDR區內之一或多個胺基酸變異至該抗體衍生之胚原序列之對應殘基，或至另一人類胚原序列之對應殘基，或至對應胚原殘基之保守性胺基酸置換(此等序列變化於本文中稱為"胚原突變")。熟習此項技藝人士，從本文揭示之重鏈與輕鏈變異區序列出發，可容易地製造許多包含一或多個個體胚原突變或其組合之抗體及抗原結合片段。於特定具體實例中，V_H及/或V_L功能區中之所有架構及/或CDR殘基均回復變異成為衍生抗體之原始胚原序列中之殘基。於其他具體實例中，只有特定殘基回復變異成為原始胚原序列，例如，僅於FR1之頭8個胺基酸中或FR4之最後8個胺基酸中發現變異殘基，或僅於CDR1、CDR2或CDR3中發現變異殘基。於其他具體實例中，一或多個架構及/或CDR殘基變異成為不同胚原序列(亦即，與原始衍生抗體胚原序列不同之胚原序列)之對應殘基。再者，本發明抗體可含有架構及/或CDR區內兩個或兩個以上胚原突變之任何組合，例如，其中特定個別殘基變異成為特定胚原序列之對應殘基，而仍保留與原始胚原序列不同之特定其他殘基，或變異成為不同胚原序列之對應殘基。一旦獲得含有一或多個胚原突變抗體及抗原結合片段，則可容易地測試其一或多個期望性質，例如，增進之結合特異性、增加之結合親和性、改善或增強之拮抗或促效性生物性質(視情況而定)、降低之免疫性等。於此一般方式中獲得之抗體及抗原結合片段均涵蓋於本發明範圍之內。

【0130】 本發明亦包括完全單株抗體，其包含具一或多個保守性置換之本文揭示之任何HCVR、LCVR、及/或CDR胺基酸序列之變異體。舉例而言，本發明包括，相較於本文揭示之任何HCVR、LCVR、及/或CDR胺基酸序列，具有帶著例如，10個或10個以下、8個或8個以下、6個或6個以下、4個或4個以下等保守性胺基酸置換之HCVR、LCVR、及/或CDR胺基酸序列

之抗體。

【0131】 本文所用之"人類抗體"一詞意欲包括具有衍生自人類胚原免疫球蛋白序列的變異及恆定區之抗體。本發明之人類mAbs可包括，例如於CDRs中，特別是CDR3中，非由人類胚原免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(例如，由活體外隨機或定位突變或由活體內體細胞突變引起之變異)。然而，本文所用之"人類抗體"一詞不擬包括其中衍生自另一哺乳動物物種(例如小鼠)胚原之CDR序列已移植至人類FR序列上之mAbs。

【0132】 "重組"一詞通常係指經由遺傳工程方法產生之任何蛋白質、多肽、或表現所關注基因之細胞。有關蛋白質或多肽所用之"重組"一詞意指經由重組多核苷酸表現所產生之多肽。於本發明之免疫性組成物中所用之蛋白質可從天然來源單離或利用遺傳工程方法產生。

【0133】 於若干具體實例中，本發明之抗體可為重組人類抗體。本文所用之"重組人類抗體"一詞擬包括利用重組方法製備、表現、產生或單離之人類抗體，例如使用轉染入宿主細胞中之重組表現載體表現之抗體(於下文進一步敘述)、自重組、組合人類抗體庫單離之抗體(於下文進一步敘述)、自針對人類免疫球蛋白基因之基因轉殖動物(例如，小鼠)單離之抗體[參見例如，Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295]或利用涉及人類免疫球蛋白基因序列之剪接至其他DNA序列之任何其他方法所製備、表現、產生或單離之抗體。此類重組人類抗體具有衍生自人類胚原免疫球蛋白序列之變異區與恆定區。然而，於特定具體實例中，此類重組人類抗體易遭受活體外突變(或，於使用針對人類Ig序列之基因轉殖動物時，為活體內體細胞突變)，因此該等重組抗體V_H與V_L區之胺基酸序列為雖然衍生自且有關人類胚原V_H與V_L序列，惟可非天然存在活體內之人類胚原抗體譜中之序列。

【0134】 "特異性地結合"、或"特異性結合於"等詞意指抗體或其抗原

結合片段與於生理條件下相當穩定之抗原形成複合物。特異性結合之特徵可為至少約 1×10^{-6} M或更小之平衡解離常數(例如，較小之 K_D 值表示較緊密之結合)。測定兩個分子是否特異性結合之方法於此項技藝中悉知及包括，例如，平衡透析、表面電漿共振等。如本文所述，已利用表面電漿共振，例如，BIACORE™，鑑定特異性地結合於RSV-F之抗體。此外，結合於RSV-F蛋白質及一或多個附加抗原之多重特異性抗體，或結合於RSV-F兩個不同區之雙重特異性抗體，仍被視為係如本文使用之“特異性地結合”之抗體。

【0135】 “高度親和性”抗體一詞係指如利用表面電漿共振，例如BIACORE™或溶液親和性ELISA所測定，對RSV-F具有以 K_D 表示之至少 10^{-9} M，較佳為 10^{-10} M，較佳為 10^{-11} M，較佳為 10^{-12} M之結合親和性之彼等mAbs。

【0136】 “緩離速率”、“Koff”或“ k_d ”等詞意指如利用表面電漿共振，例如BIACORE™所測定，抗體以 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 或更小，較佳為 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 或更小之速率常數與RSV-F解離。

【0137】 本文所用抗體之“抗原結合部分”、抗體之“抗原結合片段”等詞係包括特異性地結合抗原形成複合物之任何天然存在、可利用酵素獲得、合成或經遺傳工程改造之多肽或醣蛋白。本文所用抗體之“抗原結合部分”、或“抗體片段”等詞係指保留與RSV-F結合的能力之抗體之一或多個片段。

【0138】 於特定具體實例中，本發明之抗體或抗體片段可接合於具療效成分(“免疫接合物”)，例如抗生素、第二抗RSV-7抗體、疫苗、或類毒素、或可用於治療RSV感染之任何其他具療效成分。

【0139】 本文所用之“單離抗體”擬意指實質上不含具有不同抗原特異性之其他抗體(Abs)之抗體(例如，與RSV-F或其片段特異性結合之單離抗體實質上不含與RSV-F以外之抗原特異性結合之Abs)。

【0140】 本文所用之“封阻抗體”或“中和抗體”(或“中和RSV-F活性之抗體”)擬意指與RSV-F之結合導致抑制RSV-F至少一種生物活性之抗體。舉例而言，本發明抗體可幫助封阻RSV與宿主細胞之融合、或預防形成細胞間融合、或預防由RSV引起之原發性疾病。替代地，本發明抗體可展示改善至少一種RSV感染症狀之能力。RSV-F生物活性之此抑制可利用一或多種此項技藝中已知之數種標準活體外分析(例如本文所述之中和分析)或活體內分析(例如，用以察看投予一或多種本文敘述之抗體後，受RSV挑戰之保護效果之動物模式)，藉由測定RSV-F生物活性之一或多種指標予以評估。

【0141】 本文所用之“表面電漿共振”一詞係指於生物感測器基質內，例如使用BIACORE™系統(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.)，藉由檢測蛋白質濃度變化，得以分析即時生物分子交互作用之一種光學現象。

【0142】 本文所用之“ K_D ”一詞擬意指特定抗體-抗原交互作用之平衡解離常數。

【0143】 “抗原決定區”一詞係指與抗體分子變異區中所謂互補位(paratope)之特異性抗原結合位點交互作用之抗原決定子。單一抗原可具有一個以上抗原決定區。因此，不同抗體可結合於抗原上之不同區域及可具有不同生物效果。“抗原決定區”一詞亦係指抗原上B及/或T細胞反應之位點；亦係指被抗體結合之抗原區域。抗原決定區可界定為結構性或功能性；功能性抗原決定區通常為結構性抗原決定區之子集，具有直接促成交互作用之親和性之彼等殘基；抗原決定區亦可為構形，亦即，由非線型胺基酸組成。於特定具體實例中，抗原決定區可包括為分子之化學活性表面群集之決定子例如胺基酸、糖側鏈、磷醯基、或磺醯基，及，於特定具體實例中，可具有特異性立體結構特性，及/或特異性電荷特性。

【0144】 "實質上同一性"或"實質上完全相同"等詞於述及核酸或其片段時，係指與另一核酸(或其互補股)進行適當核苷酸插入或刪除之最適排比時，如下文所述，利用任何悉知序列同一性演算法(例如FASTA、BLAST或GAP)所測定，核苷酸鹼基存在至少約90%，更佳為至少約95%、96%、97%、98%或99%之核苷酸序列同一性。與基準核酸分子具有實質上同一性之核酸分子，於特定情況下，可編碼與由該基準核酸分子編碼之多肽具有相同或實質上類似之胺基酸序列之多肽。

【0145】 應用於多肽時，"實質上相似性"或"實質上相似"等詞意指兩個胜肽序列進行最適排比[例如利用GAP或BESTFIT程式，使用預設空位權重(gap weights)]時，享有至少90%序列同一性，又更佳為至少95%、98%或99%序列同一性。較佳為，不完全相同之殘基位置，其保守性胺基酸置換不同。"保守性胺基酸置換"乃其中胺基酸殘基被具有相似化學性質(例如，電荷或疏水性)側鏈(R基團)之另一胺基酸殘基置換者。一般而言，保守性胺基酸置換不會實質上改變蛋白質之功能性。於二或多個胺基酸序列之保守性置換彼此不同之情形下，可向上調整相似百分比或相似度以校正該置換之保守性。進行此調整之方法為熟習此項技藝者所悉知。[參見，例如，Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331]。具有相似化學性質側鏈之胺基酸組群之實例包括(1)脂族側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸與異白胺酸；(2)脂族-羥基側鏈：絲胺酸與蘇胺酸；(3)含醯胺之側鏈：天冬醯胺與麩醯胺；(4)芳族側鏈：苯丙胺酸、酪胺酸、與色胺酸；(5)鹼性側鏈：離胺酸、精胺酸、與組胺酸；(6)酸性側鏈：天冬胺酸與麩胺酸、及(7)含硫側鏈：半胱胺酸與甲硫胺酸。較佳之保守性胺基酸置換組群為：纈胺酸-白胺酸-異白胺酸、苯丙胺酸-酪胺酸、離胺酸-精胺酸、丙胺酸-纈胺酸、麩胺酸-天冬胺酸、及天冬醯胺-麩醯胺。替代地，保守性替換乃於Gonnet *et al.* (1992) *Science*

256: 1443 45中揭示之PAM250似對數矩陣中具有正值之任何變化。"適度保守性"替換乃於PAM250似對數矩陣中具有非負值之任何變化。

【0146】 多肽之序列相似性通常係使用序列分析軟體測定。蛋白質分析軟體使用指定各種置換、刪除及其他修改(包括保守性胺基酸置換)之相似性測量法，使相似序列匹配。舉例而言，GCG軟體含有例如GAP及BESTFIT之程式，可使用預設參數以測定密切相關多肽間之序列同源性或序列同一性，例如得自不同生物物種或野生型蛋白與其變異蛋白間之同源多肽。參見，例如，GCG Version 6.1。亦可使用預設或建議參數之FASTA (GCG Version 6.1中之程式)比較多肽序列；FASTA (例如，FASTA2及FASTA3)提供查詢與搜尋序列間最佳重疊區域之排比及序列同一性百分比[Pearson (2000)，文獻同上]。比較本發明序列與含有得自不同生物大量序列之資料庫之另一較佳演算法為電腦程式BLAST，尤其是使用預設參數之BLASTP或TBLASTN。[參見，例如，Altschul *et al.* (1990) J. Mol. Biol. 215:403 410 及(1997) Nucleic Acids Res. 25:3389 402]。

【0147】 於特定具體實例中，用於本發明方法之抗體或抗體片段可具單一特異性、雙重特異性、或多重特異性。多重特異性抗體可對一標靶多肽之不同抗原決定區具特異性或可含有對一種以上標靶多肽之諸抗原決定區具特異性之抗原結合功能區。可用於本發明場合之例示雙重特異性抗體型式(format)涉及使用第一個免疫球蛋白(Ig) C_H3功能區及第二個Ig C_H3功能區，其中第一及第二個Ig C_H3功能區至少一個胺基酸彼此不同，及其中至少一個胺基酸差異，相較於缺乏該胺基酸差異之雙重特異性抗體，降低了雙特異性抗體與蛋白質A之結合。於一具體實例中，第一個Ig C_H3功能區結合蛋白質A，第二個Ig C_H3功能區含有降低或破壞蛋白質A結合之突變，例如H95R修飾(根據IMGT外顯子編號；H435R，根據EU編號)。第二個C_H3可

進一步包含Y96F修飾(根據IMGT；Y436F，根據EU)。可於第二個C_H3中發現之進一步修飾包括於IgG1 mAbs情形下之D16E、L18M、N44S、K52N、V57M、與V82I(根據IMGT；D356E、L358M、N384S、K392N、V397M、與V422I，根據EU)；於IgG2 mAbs情形下之N44S、K52N、與V82I(IMGT；N384S、K392N、與V422I，根據EU)；及於IgG4 mAbs情形下之Q15R、N44S、K52N、V57M、R69K、E79Q、與V82I(根據IMGT；Q355R、N384S、K392N、V397M、R409K、E419Q、與V422I，根據EU)。雙重特異性抗體型式上之上述變異均涵蓋於本發明範圍之內。

【0148】 “治療有效量”一詞意指投予而產生期望效果之量；精確量係取決於治療目的，將由熟習此項技藝者使用已知技術予以確定[參見，例如，Lloyd (1999) The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding]。

【0149】 “免疫性組成物”係有關含有抗原/免疫原[例如微生物(如病毒或細菌)或其成分、蛋白質、多肽、蛋白質或多肽之片段、不活化之整個細胞、病毒次單元或減毒病毒、或多醣、或其組合]之組成物，經投予以刺激接受者針對存在該免疫性組成物中之一或多種抗原/免疫原之體液性及/或細胞性免疫系統。利用經由全身性途徑投予該免疫性組成物，本發明免疫性組成物可用以治療易受RSV感染之人類。此等給藥可包括經由肌內(i.m.)、皮內(i.d.)、鼻內或吸入途徑，或皮下(s.c.)途徑、以貼片或其他經皮輸送裝置施用。於一具體實例中，免疫性組成物可用於製造疫苗或引發可用以被動保護或治療哺乳動物之多株或單株抗體。

【0150】 可互換使用之“疫苗”或“疫苗組成物”等詞，係指包含於動物中誘發免疫反應之至少一種免疫性組成物之組成物。

【0151】 於本發明一具體實例中，所關注之蛋白質包含抗原。“抗原

"、"免疫原"、"抗原性"、"免疫性"、"抗原活性"與"免疫活性"等詞於涉及分子時，係指能誘發特異性體液及/或細胞傳介之免疫反應之任何物質。於一具體實例中，抗原包含如上文界定之抗原決定區。

【0152】 本文所用之"免疫保護量"為於接受者中誘發足以預防或改善疾病(包括不利健康效應或其併發症)之徵象或症狀之免疫反應之有效抗原量。體液性免疫力或細胞傳介之免疫力或二者均可被誘發。動物對組成物之免疫反應可例如間接經由測量抗體力價、淋巴細胞增殖分析，或直接經由監測以微生物挑戰後之徵象與症狀予以評估。由免疫性組成物或疫苗賦予之保護性免疫力可利用測量例如挑戰生物遮棚(shed)之縮減、例如死亡率、罹病率、溫度等臨床徵象之縮減、及對象之整體身體狀況、健康與表現予以評估。免疫反應可包括，惟不限於，細胞性及/或體液性免疫力之誘發。組成物或疫苗之治療有效量可視所用特定生物、或治療或免疫動物之狀況而不同。

【0153】 本文所用之於對象中之"免疫反應(Immune response)"或"免疫反應(immunological response)"係指對抗原/免疫原之體液性免疫反應、細胞性免疫反應、或體液性及細胞性免疫反應之形成。"體液性免疫反應"係指至少部分係由抗體傳介者。"細胞性免疫反應"係由T淋巴細胞或其他白血球或二者傳介者，包括產生細胞介素、趨化素及由活化之T細胞、白血球、或二者所生產之類似分子。免疫反應可使用此項技藝中已知之標準免疫分析及中和分析測定。本文所用之"免疫性"係指蛋白質或多肽引發特異地針對引起該已確認疾病之細菌或病毒之免疫反應之能力。

一般說明

【0154】 呼吸道融合病毒(RSV)係反義、單股RNA病毒，其為嬰兒與兒童嚴重呼吸道感染之主要原因，於院內流行期間，主要感染發生於6週至

2歲兒童，生命最初4週較為罕見(Hall *et al.*, 1979, New Engl. J. Med. 300:393-396). (Feigen *et al.*, eds., 1987, In: Textbook of Pediatric Infectious Diseases, W B Saunders, Philadelphia at pages 1653-1675 ; New Vaccine Development, Establishing Priorities, Vol. 1, 1985, National Academy Press, Washington D.C. at pages 397-409 ; Ruuskanen *et al.*, 1993, Curr. Probl. Pediatr. 23:50-79 ; Hall *et al.*, 1979, New Engl. J. Med. 300:393-396)。特定兒童族群瀕臨形成RSV感染之風險中，包括早產嬰兒(Hall *et al.*, 1979, New Engl. J. Med. 300:393-396)、呼吸道先天性畸形兒童、肺支氣管發育不全兒童(Groothuis *et al.*, 1988, Pediatrics 82:199-203)、先天性心臟病兒童(MacDonald *et al.*, New Engl. J. Med. 307:397-400)、及先天性或後天免疫缺失(Ogra *et al.*, 1988, Pediatr. Infect. Dis. J. 7:246-249 ; 與 Pohl *et al.*, 1992, J. Infect. Dis. 165:166-169)及囊狀纖維化症(Abman *et al.*, 1988, J. Pediatr. 113:826-830)兒童。

【0155】 RSV亦可感染成人族群。於此族群中，RSV主要引起上呼吸道疾病，惟年長病患可能瀕臨嚴重感染及肺炎之較大風險中(Evans, A. S., eds., 1989, Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control, 3rd ed., Plenum Medical Book, New York at pages 525-544)，以及免疫低下之成人，特別是骨髓移植病患(Hertz *et al.*, 1989, Medicine 68:269-281)。其他瀕臨風險中之病患包括罹患鬱血性心衰竭及罹患慢性阻塞性肺臟疾病(即，COPD)者。於護理之家病患與機構照護年輕成人間，亦已見流行病之報導(Falsey, A. R., 1991, Infect. Control Hosp. Epidemiol. 12:602-608 ; 與 Garvie *et al.*, 1980, Br. Med. J. 281:1253-1254)。

【0156】 雖然針對已確立RSV疾病之治療選擇有限，惟更嚴重之下呼吸道疾病形式往往需要相當多之支持性照護，包括投予濕化氧氣及呼吸輔

助(Fields *et al.*, eds, 1990, Fields Virology, 2nd ed., Vol. 1, Raven Press, New York at pages 1045-1072)。

【0157】 利巴韋林(Ribavirin)，被認可用於治療感染之唯一藥物，已被證實治療與RSV感染關聯之肺炎與細支氣管炎有效，及已證實於免疫活性兒童中修飾嚴重RSV疾病之過程(Smith *et al.*, 1991, New Engl. J. Med. 325:24-29)。然而，由於擔心於醫院環境中施用氣溶膠化藥物時，可能暴露其中之懷孕婦女圍繞著其潛在風險，因此利巴韋林之使用受到限制。其使用亦由於其相對高之成本而受限制。

【0158】 RSV感染之其他胜肽抑制劑已被鑑定，彼等於活體外抑制病毒之生長，惟活體內測試均告失敗，很可能係由於缺少口服可利用性及相當低之循環半衰期 [Lambert, D.M., *et al.* (1996), PNAS (USA) 93:2186-2191 ; Magro, M. *et al.*, (2010), J. Virol. 84:7970-7982 ; Park, M. *et al.* (2011), Anal. Biochem. 409:195-201]。

【0159】 RSV感染之其他小分子抑制劑亦已被鑑定，惟因各種原因而中止，其中有些可能係由於毒性副作用[Wyde, P.R. *et al.* (1998), Antiviral Res. 38:31-42 ; Nikitenko, A.A. *et al.* (2001), Bioorg Med Chem Lett 11:1041-1044 ; Douglas, J.L., *et al.* (2003), J. Virol 77:5054-5064 ; Bonfanti, J.F. *et al.*, (2008), J. Med Chem 51:875-896]。

【0160】 同樣地，儘管疫苗可能有用，惟迄今無市售可得之疫苗被開發。已有數個候選疫苗被放棄，其他的正在開發中(Murphy *et al.*, 1994, Virus Res. 32:13-36)。疫苗之開發已被證明存在問題。特別是，由於下呼吸道疾病之發生率高峰出現在2至5個月齡時，因此免疫接種需於緊接新生兒期。然而，一般已知此時新生兒免疫反應尚未成熟；加上，嬰兒於該時間點仍具高力價之母體後天性RSV抗體，可能降低疫苗之免疫性(Murphy *et al.*,

1988, *J. Virol.* 62:3907-3910 ; 與Murphy *et al.*, 1991, *Vaccine* 9:185-189)。

【0161】 目前，被動免疫似為唯一被認可之預防RSV疾病之方法。提議針對IgG之保護角色之初始證據得自展示於雪貂(Prince, G. A., Ph.D. diss., University of California, Los Angeles, 1975)及人類(Lambrecht *et al.*, 1976, *J. Infect. Dis.* 134:211-217 ; 與Glezen *et al.*, 1981, *J. Pediatr.* 98:708-715)中之母體抗體之研究。

【0162】 Hemming *et al.* (Morell *et al.*, eds., 1986, *Clinical Use of Intravenous Immunoglobulins*, Academic Press, London at pages 285-294)於涉及疑有新生兒敗血症之新生兒中靜脈注射免疫球蛋白(IVIG)之藥物動力學研究期間，確認RSV抗體於治療或預防RSV感染上之可能效用。此同一群組研究人員接著檢驗富含RSV中和抗體之高度免疫血清或免疫球蛋白對抗RSV感染以保護棉花鼠與靈長類動物之能力(Prince *et al.*, 1985, *Virus Res.* 3:193-206 ; Prince *et al.*, 1990, *J. Virol.* 64:3091-3092 ; Hemming *et al.*, 1985, *J. Infect. Dis.* 152:1083-1087 ; Prince *et al.*, 1983, *Infect. Immun.* 42:81-87 ; 與Prince *et al.*, 1985, *J. Virol.* 55:517-520)。此等研究結果暗示，預防性投予RSV中和抗體，抑制棉花鼠呼吸道之RSV複製。於治療性投予時，RSV抗體降低棉花鼠及非人類靈長類動物模式中肺之病毒複製。

【0163】 由於彼等醣蛋白於病毒連結及與宿主細胞融合上所扮演之角色，更近之研究集中於RSV表面發現為中和抗體標靶之稱為F與G兩種醣蛋白之作用(Fields *et al.*, 1990, 文獻同上；及Murphy *et al.*, 1994, 文獻同上)。G蛋白質結合於特定細胞受體，F蛋白質促進病毒與細胞之融合。F蛋白質亦於感染細胞表面表現，並負責隨後與其他細胞之融合，導致形成細胞間融合。因此，針對F蛋白質之抗體可直接中和病毒，或封阻病毒與細胞之融合，或經由預防形成細胞間融合以防止細胞間之擴散。

【0164】 被核准用於小兒科病患以預防RSV引起之嚴重下呼吸道疾病之第一個擬人化抗體為帕利珠單抗(SYNAGIS®)，其免疫特異性結合於F蛋白質，於整個RSV季節(北半球為十一月至四月)，以15毫克/公斤體重之推薦月劑量進行肌內投予。SYNAGIS®係由95%人類與5%鼠類抗體序列組成。(參見Johnson *et al.*, 1997, J. Infect. Diseases 176:1215-1224與美國專利案No. 5,824,307)。

【0165】 儘管SYNAGIS®已成功用於預防小兒科病患之RSV感染，惟為了15毫克/公斤SYNAGIS®之多次肌內劑量，需要多次到醫生診所就診，對病患不僅不方便亦可能導致遺漏劑量。因此，有必要開發可對RSV抗原保留免疫特異性之抗體，惟更有效地，具有增進之藥物動力學特性，並因此具有整體改善之治療概況。此類抗體見述於美國專利公告案2003/0091584，被稱為莫維珠單抗(NUMAX™)。雖然NUMAX™結合特性已改進，可克服關於SYNAGIS®上述之較高劑量需求，惟相較於SYNAGIS®，過敏反應之頻率及嚴重性亦增加3至5倍。NUMAX™於是從日後之開發退出。

【0166】 因此，針對RSV感染之有效療法業界仍有需求，特別是，需要找出用於預防及治療RSV感染而無與上述者關聯之有害副作用之更有效抗體。本文敘述之抗體，雖然展現比關於帕利珠單抗或莫維珠單抗所述之對RSV-F較低之結合親和性(亦即，本發明抗體不像帕利珠單抗牢固地結合於RSV-F)，惟似乎展現較佳中和能力且滿足彼等需求。

【0167】 於特定具體實例中，本發明抗體係得自以例如活、減毒、或不活化的完整RSV顆粒之初級免疫原、或以重組病毒型、或以純化之F蛋白質[參見基因庫登錄編號AAX23994.1 (SEQ ID NO: 354)]或重組產生之F蛋白質(參見SEQ ID NO: 353)免疫處理，隨後以次級免疫原(完整病毒或純化

之F蛋白質)或以具免疫原活性之F蛋白質片段免疫處理之小鼠。

【0168】 免疫原可為編碼F蛋白質或其活性片段之DNA。

【0169】 免疫原可衍生自67 KDa前驅物(F0) N端或C端之功能區，或者得自利用類弗林蛋白酶分別從前驅物之N與C端得到稱為F2與F1之兩個雙硫鍵連接多肽所產生的兩個片段。該片段可衍生自RSV-F蛋白質之任何已知區[參見Sun, Z. *et al.* (2013), *Viruses* 5:211-225]。

【0170】 RSV-F之全長胺基酸序列如SEQ ID NO: 354所示，亦示於基因庫中，登錄編號AAX23994.1。

【0171】 含RSV之F蛋白質之基因建構體如SEQ ID NO: 353所示。

【0172】 於特定具體實例中，特異性結合於RSV-F之抗體可使用上文提及區域之片段，或自本文所述區域N或C端之一或二端延伸超出指定區約5至約20個胺基酸殘基之胜肽予以製備。於特定具體實例中，上文提及區域或其片段之任何組合均可用於製備RSV-F特異性抗體。於特定具體實例中，RSV-F之任一或多個上文提及區域或其片段均可用於製備單一特異性、雙重特異性、或多重特異性抗體。

抗體之抗原結合片段

【0173】 除非另行明確地指示，否則本文所用之"抗體"一詞應被理解為欲涵蓋包含兩個免疫球蛋白重鏈與兩個免疫球蛋白輕鏈之抗體分子(亦即，"完全抗體分子")以及其抗原結合片段。本文所用抗體之"抗原結合部分"、抗體之"抗原結合片段"等詞，係包括特異性地結合於抗原形成複合物之任何天然存在、可利用酵素獲得、合成或經遺傳工程改造之多肽或醣蛋白。本文所用抗體之"抗原結合部分"、或"抗體片段"等詞，係指保留特異性結合RSV-F能力之抗體之一或多個片段。抗體片段可包括Fab片段、F(ab')₂片段、Fv片段、dAb片段、含CDR之片段、或單離之CDR。抗體之抗原結合片段可，

例如，使用如蛋白分解消化或涉及編碼抗體變異與(視需要之)恆定功能區DNA之操縱與表現之重組遺傳工程技術等任何適當標準技術，自完全抗體分子衍生。此等DNA為已知及/或可自例如商業來源、DNA庫(包括，例如，噬菌體抗體庫)容易地取得，或可予以合成。DNA可定序及進行化學操作，或藉由使用分子生物技術，例如，安置一或多個變異及/或恆定功能區至適當組態中，或引入密碼子、產生半胱胺酸殘基、修飾、增加或刪除胺基酸等。

【0174】 抗原結合片段之非限制性實例包括：(i) Fab片段；(ii) F(ab')₂片段；(iii) Fd片段；(iv) Fv片段；(v)單鏈Fv(scFv)分子；(vi) dAb片段；及(vii)由模擬抗體高度變異區[例如，如CDR3胜肽之單離互補決定區(CDR)]之胺基酸殘基或約束性FR3-CDR3-FR4胜肽所構成之最小辨識單元。其他經遺傳工程改造之分子，例如功能區特異性抗體、單一功能區抗體、刪除功能區抗體、嵌合抗體、CDR移植抗體、二聚抗體(diabodies)、三聚抗體(triabodies)、四聚抗體(tetrabodies)、微型抗體(minibodies)、奈米抗體(nanobodies)(例如一價奈米抗體、二價奈米抗體等)、小模塊化免疫藥物(SMIPs)、及鯊魚變異IgNAR功能區，亦均涵蓋於本文所用之"抗原結合片段"表示法中。

【0175】 抗體之抗原結合片段典型地包含至少一個變異功能區。變異功能區可為任何大小或胺基酸組成，通常包含與一或多個架構序列鄰接或於架構內之至少一個CDR。於具有與V_L功能區相關的V_H功能區之抗原結合片段中，V_H及V_L功能區可呈任何適當排列互相關連。舉例而言，該變異區可由兩部分組成及含有V_H-V_H、V_H-V_L或V_L-V_L二聚體。替代地，抗體之抗原結合片段可含單體之V_H或V_L功能區。

【0176】 於特定具體實例中，抗體之抗原結合片段可含有與至少一個恆定功能區共價連接之至少一個變異功能區。於本發明抗體之抗原結合片

段中可發現的變異及恆定功能區之非限制性、例示組態包括：(i) V_H-C_H1 ；(ii) V_H-C_H2 ；(iii) V_H-C_H3 ；(iv) $V_H-C_H1-C_H2$ ；(v) $V_H-C_H1-C_H2-C_H3$ ；(vi) $V_H-C_H2-C_H3$ ；(vii) V_H-C_L ；(viii) V_L-C_H1 ；(ix) V_L-C_H2 ；(x) V_L-C_H3 ；(xi) $V_L-C_H1-C_H2$ ；(xii) $V_L-C_H1-C_H2-C_H3$ ；(xiii) $V_L-C_H2-C_H3$ ；及(xiv) V_L-C_L 。於變異及恆定功能區之任何組態(包括上文列舉之任何例示組態)中，該等變異及恆定功能區可直接彼此互相連接或者利用完整或部分鉸合或鏈接區連接。鉸合區可由至少2個(例如，5、10、15、20、40、60或更多個)胺基酸組成，彼等於單一多肽分子之相鄰變異及/或恆定功能區間產生柔性或半柔性之鏈結。再者，本發明抗體之抗原結合片段可包含上文列舉的任何變異及恆定功能區組態彼此及/或與一或多個單體 V_H 或 V_L 功能區呈非共價結合(例如，利用雙硫鍵)之同質二聚體或異質二聚體(或其他多聚體)。

【0177】 與完全抗體分子相同地，抗原結合片段可具單一特異性或多重特異性(例如，雙重特異性)。抗體之多重特異性抗原結合片段典型地包含至少兩個不同的變異功能區，其中各變異功能區能特異性地與個別抗原或與相同抗原上之不同抗原決定區結合。任何多重特異性抗體形式，包括本文揭示之例示雙重特異性抗體形式，可使用此項技藝中可利用之例行技術，使其適用於本發明抗體之抗原結合片段。

人類抗體之製備

【0178】 於基因轉殖小鼠中產生人類抗體之方法為此項技藝中已知。任何此等已知方法均可於本發明場合中使用，以製造特異性地結合至RSV-F之人類抗體。

【0179】 使用產生單株抗體之VELOCIMMUNE®技術(參見，例如，US 6,596,541，Regeneron Pharmaceuticals，VELOCIMMUNE®)或任何其他已知方法，首先單離出具有人類變異區與小鼠恆定區之對RSV-F之高親和性

嵌合抗體。VELOCIMMUNE®技術涉及產生具有包含可操作地連接於內源小鼠恆定區部位之人類重鏈及輕鏈變異區基因體之基因轉殖小鼠，俾使小鼠反應抗原刺激而產生包含人類變異區及小鼠恆定區之抗體。單離編碼該抗體重鏈及輕鏈變異區之DNA，可操作地連接於編碼人類重鏈及輕鏈恆定區之DNA；然後於能表現完全人類抗體之細胞中表現該DNA。

【0180】 通常，係以所關注抗原挑戰VELOCIMMUNE®小鼠，自表現抗體之小鼠回收淋巴細胞(例如B細胞)。使淋巴細胞與骨髓瘤細胞株融合以製備不朽之融合瘤細胞株，篩選此等融合瘤細胞株，挑選以鑑定對所關注抗原產生特異性抗體之融合瘤細胞株。可單離編碼重鏈及輕鏈變異區之DNA，使其連接於期望之重鏈及輕鏈同型恆定區。此等抗體蛋白質可於細胞(例如CHO細胞)中產生。替代地，編碼該輕鏈及重鏈變異功能區之抗原特異性嵌合抗體之DNA可直接從抗原特異性淋巴細胞單離。

【0181】 首先，單離出具有人類變異區與小鼠恆定區之高親和性嵌合抗體。與下文實驗部分一樣地，就期望之特性(包括親和性、選擇性、抗原決定區等)鑑定及挑選抗體。小鼠恆定區以所需人類恆定區替換，以產生本發明之完全人類抗體，例如野生型或經修飾之IgG1或IgG4。雖然所選定之恆定區可能根據特定用途而不同，惟高親和性抗原結合及標靶特異性特徵係存在變異區中。

【0182】 於特定具體實例中，當利用與固定於固相或呈溶液相之抗原結合進行測定時，本發明抗體具有從約 1.0×10^{-7} M至約 1.0×10^{-12} M範圍內之親和性(K_D)。於特定具體實例中，當利用與固定於固相或呈溶液相之抗原結合進行測定時，本發明抗體具有從約 1×10^{-7} M至約 6×10^{-10} M範圍內之親和性(K_D)。於特定具體實例中，當利用與固定於固相或呈溶液相之抗原結合進行測定時，本發明抗體具有從約 1×10^{-7} M至約 9×10^{-10} M範圍內之親和性

(K_D)。小鼠恆定區以期望之人類恆定區替換，以產生本發明之完全人類抗體。雖然所選定之恆定區可能根據特定用途而不同，惟高親和性抗原結合及標靶特異性特徵係存在變異區中。出人意外地，本發明之特定抗體雖展現比莫維珠單抗更低之親和性，惟就病毒中和反應而言卻更具效力。

生物等效性

【0183】 本發明之抗RSV-F抗體及抗體片段涵蓋具有與所述抗體不同惟保留結合RSV-F能力的胺基酸序列之蛋白質。此等變異抗體及抗體片段相較於母序列時，包含一或多個胺基酸之添加、刪除、或置換，惟展現實質上等同所述抗體之生物活性。同樣地，本發明之編碼抗體之DNA序列涵蓋相較於所揭示序列時，包含一或多個核苷酸之添加、刪除、或置換之序列，惟編碼之抗體或抗體片段實質上與本發明抗體或抗體片段具生物等效性。

【0184】 兩個抗原結合蛋白質或抗體若，舉例而言，於類似實驗條件下，投予相同莫耳劑量(無論單一劑量或多次劑量)時，其吸收率及吸收程度未顯示明顯差異，為醫藥等效物或醫藥替代物，則被認為具生物等效性。一些抗體之吸收程度相同惟其吸收率不同，卻仍被視為具生物等效性，因為此等吸收率差異乃有意圖且反映在標記測定上，對於獲得有效體內藥物濃度並非必要，例如，長期使用；被認為對於所研究之特定藥品就醫藥上而言無足輕重，因此被視為係等效物或醫藥替代物。

【0185】 於一具體實例中，兩個抗原結合蛋白質若其安全性、純度、及效價無臨床上具意義之差異，則具生物等效性。

【0186】 於一具體實例中，若病患可於參考產品與生物產品間轉換一或多次，相較於無此等轉換之持續治療下，並無預期之有害效果(包括免疫性於臨床上顯著變化或有效性減少)風險增加，則此二抗原結合蛋白質具生

物等效性。

【0187】 於一具體實例中，兩個抗原結合蛋白質若均經由使用狀況之共同機制或狀況之作用機制至該等機制為已知之程度，則此二抗原結合蛋白質具生物等效性。

【0188】 生物等效性可利用活體內及/或活體外方法展示。生物等效性測定法包括，例如，(a)於人類或其他哺乳動物中之活體內試驗，其中係以時間為函數測定血液、血漿、血清、或其他生物液體中抗體或其代謝物之濃度；(b)相關聯並合理預測人類活體內生物利用率數據之活體外試驗；(c)於人類或其他哺乳動物中之活體內試驗，其中係以時間為函數測定抗體(或其標靶)之適當急性藥理效應；及(d)建立抗體之安全性、功效、或生物利用性或生物等效性之經良好控制之臨床試驗。

【0189】 本發明抗體之生物等效性變異體可利用，例如，進行非生物活性需要之殘基或序列之各種置換或終端或內部殘基或序列之刪除予以構築。舉例而言，可刪除非生物活性必要之半胱胺酸殘基或以其他胺基酸替換，以防止復性後形成不需要或不正確之分子內雙硫橋鍵。於其他場合中，生物等效抗體可包括包含胺基酸變化(修飾抗體之醣基化特性，例如，消除或去除醣基化之突變)之抗體變異體。

抗體之生物特性

【0190】 一般而言，本發明抗體可經由結合於RSV-F，藉此具有封阻病毒膜與宿主細胞膜融合之作用。本發明抗體亦可經由結合於RSV-F，藉此封阻細胞間之病毒傳播及封阻與細胞RSV感染關聯之形成細胞間融合之作用。

【0191】 於特定具體實例中，本發明抗體可利用經由結合於全長原態F蛋白質(其胺基酸序列示於SEQ ID NO: 354中，亦如基因庫登錄編號

AAX23994.1所示)之任何其他區域或片段，封阻或抑制RSV與細胞膜之融合而起作用。該等抗體亦可結合於存在SEQ ID NO: 353中之任何區域，或存在SEQ ID NO: 353內之片段。

【0192】 於一具體實例中，本發明提供結合於RSV亞型A或B之F蛋白質之完全人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其片段展現下述一或多個特徵：(a)係完全人類單株抗體；(b)展現從約 1×10^{-7} M至約 6×10^{-10} M範圍內之 K_D ；(c)能於活體外中和呼吸道融合病毒亞型A與亞型B病毒株；(d)於RSV感染之動物模式中，展示顯著降低病毒載量之能力；(e)相較於帕利珠單抗時，展示大於1至2個對數值之鼻及/或肺臟病毒力價下降；(f)於RSV亞型A感染之小鼠模式中皮下投予時，展示約0.15毫克/公斤或更少之有效劑量99 (ED₉₉)，或於RSV亞型A感染之棉花鼠模式中投予時，約0.62毫克/公斤或更少之ED₉₉；或於RSV亞型B感染之棉花鼠模式中投予時，約2.5毫克/公斤或更少之ED₉₉；(g)展示比帕利珠單抗或莫維珠單抗之ED₉₉更低約2至3倍之ED₉₉；(h)對RSV之一或多種亞型A實驗室病毒株展示比帕利珠單抗增進約15至17倍之中和效力，或對RSV之一或多種亞型A臨床病毒株展示比帕利珠單抗增進約10至22倍之中和效力；(i)對RSV之亞型B實驗室病毒株展示比帕利珠單抗增進約2至5倍之中和效力；(j)對RSV之亞型A實驗室病毒株或臨床病毒株展示比AM-22增進約0.5至2倍之中和效力；(k)對RSV之一或多種亞型B實驗室病毒株展示比AM-22增進約2.5至17倍之中和效力；(l)包含具有選自包括SEQ ID NO: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322與338之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCVR；(m)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、

282、298、314、330與346之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCVR；(n)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、312、328、與344之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCDR3功能區及具有選自包括SEQ ID NOs: 16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304、320、336與352之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCDR3功能區；(o)包含具有選自包括SEQ ID NOs: 4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、308、324與340之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCDR1功能區；具有選自包括SEQ ID NOs: 6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、310、326與342之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之HCDR2功能區；具有選自包括SEQ ID NOs: 12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300、316、332與348之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCDR1功能區；及具有選自包括SEQ ID NOs: 14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302、318、334與350之組群之胺基酸序列，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性之實質上相似序列之LCDR2功能區；(p)與包含SEQ ID NO: 354約

位置161至約位置188範圍內之殘基之胺基酸序列交互作用；(q) 與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸、或SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸交互作用，或與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸以及SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸二者交互作用；(r)不與帕利珠單抗或莫維珠單抗交叉競爭結合於RSV-F蛋白質；(s)抑制病毒與細胞之融合。

【0193】 如利用活體外分析所測定，本發明之特定抗RSV-F抗體能結合於RSV之F蛋白質及中和RSV亞型A與B二者之感染力。本發明抗體結合及中和RSV諸亞型感染力之能力可使用熟習此項技藝人士已知之任何標準方法(包括如本文敘述之結合分析、或中和分析、或活體內保護分析)測量。

【0194】 用於測量結合活性及活體外中和與活體內效力之非限制性例示活體外與活體內分析，於本文實例3、4、5、7、8、9、10、11及12。實例3，利用表面電漿共振測定人類抗RSV-F抗體之結合親和性與動力學常數，於Biacore 4000或T200儀器上進行測量。實例4，於RSV微中和反應檢定中檢測抗體之效力。實例5展示本發明抗體於兩種不同動物模式中之活體內中和RSV感染之能力。實例7與8展示本發明抗體與RSV-F蛋白質上特定結合位點之交互作用。實例9與10展示抗體與數株RSV亞型A與B之實驗室病毒株與臨床病毒株之中和性能。實例11展示本發明抗體抑制病毒與細胞融合之能力。實例12展示各種抗體對結合於RSV-F之交叉競爭。

抗原決定區圖譜定位(Mapping)及相關技術

【0195】 一般熟習此項技藝人士已知之各種技術可用以測定抗體是否與多肽或蛋白質內之"一或多個胺基酸交互作用"。例示技術包括，例如，可進行如見述於Antibodies, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY)之例行交叉封阻分析。其他方法包括丙胺酸掃描式突變分析、胜肽墨點分析[Reineke (2004) Methods Mol Biol 248:443-63]、胜肽切割

分析晶體學研究法及NMR分析。此外，可使用例如去除抗原決定區、抽取抗原決定區及抗原之化學修飾等方法[Tomer (2000) *Protein Science* 9: 487-496]。可用以鑑定與抗體交互作用之多肽內胺基酸之另一方法為利用質譜法檢測之氫/氘交換。一般而言，氫/氘交換法涉及以氘標識所關注蛋白質，隨後使抗體結合於該氘標識之蛋白質。接著，將該蛋白質/抗體複合物移至水中，受抗體複合物保護的胺基酸內之可交換質子，相較於不為接合界面一部分的胺基酸內之可交換質子，以較慢速率進行氘至氫之逆交換。結果，形成部分蛋白質/抗體接合界面之胺基酸可保留氘，因此相較於不涵蓋於接合界面之胺基酸，展現相對較高之質量。抗體解離後，使標靶蛋白質進行蛋白酶切割及質譜法分析，從而揭示對應於與抗體交互作用的特異性胺基酸之氘標識殘基。參見，例如，Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259; Engen and Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A。

【0196】 "抗原決定區"一詞係指B及/或T細胞於抗原上反應之位點。B細胞抗原決定區可由蛋白質三級摺疊而相鄰之連續胺基酸或者非連續胺基酸形成。由連續胺基酸形成之抗原決定區暴露於變性溶劑時通常仍保留；而由三級摺疊形成之抗原決定區以變性溶劑處理時通常會喪失。於獨特空間構形中，抗原決定區通常包括至少3個，更通常為至少5個或8至10個胺基酸。

【0197】 修飾輔助剖析[Modification-Assisted Profiling (MAP)]，亦為所謂以抗原結構為基底之抗體剖析(ASAP)，乃根據各抗體與經化學或酵素修飾之抗原表面結合概況之相似性，針對相同抗原將大量單株抗體分類之方法(US 2004/0101920)。各類別可能反映出獨特抗原決定區與其他類別所示抗原決定區係明顯不同或係部分重疊。此技術容許迅速過濾基因完全相同之抗體，俾使集中精力鑑定基因不同之抗體。應用於融合瘤篩選時，MAP

有助於確認產生具有期望特徵之單株抗體之罕見融合瘤株。MAP可用以將本發明抗體依結合抗原決定區之不同進行分類。

【0198】 於特定具體實例中，本發明之抗體或抗原結合片段與包含 SEQ ID NO: 354約位置161至約位置188範圍內的胺基酸殘基之胺基酸序列交互作用。於特定具體實例中，本發明抗體可與上文確認區域朝RSV-F蛋白質之胺基端或羧基端延伸超出約5至10個胺基酸殘基、或約10至15個胺基酸殘基、或約15至20個胺基酸殘基之胺基酸殘基交互作用。

【0199】 於一具體實例中，本發明提供特異性結合於RSV-F或其抗原結合片段之單離人類單株抗體，其中該抗體或其抗原結合片段與選自包括 SEQ ID NO: 355與356之組群之至少一胺基酸序列交互作用。

【0200】 於一具體實例中，本發明提供特異性結合於RSV-F或其抗原結合片段之單離人類單株抗體，其中該抗體或其抗原結合片段與SEQ ID NO: 354之161至188殘基內之至少一胺基酸殘基交互作用。

【0201】 於一具體實例中，本發明提供特異性結合於RSV-F或其抗原結合片段之單離人類單株抗體，其中該抗體或其抗原結合片段與SEQ ID NO: 355或SEQ ID NO:356內之至少一胺基酸殘基交互作用。

【0202】 於一具體實例中，本發明提供特異性結合於RSV-F或其抗原結合片段之單離人類單株抗體，其中該抗體或其抗原結合片段與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸、或SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸交互作用，或與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸以及SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸二者交互作用。

【0203】 本發明包括結合於如本文表1中所述之任何特異性例示抗體相同抗原決定區之抗RSV-F抗體。同樣地，本發明亦包括與本文表1中所述之任何特異性例示抗體競爭與RSV-F片段結合之抗RSV-F抗體。

【0204】 於特定具體實例中，本發明抗體不與帕利珠單抗、莫維珠單抗、或AM-22交叉競爭結合於RSV-F。

【0205】 於特定具體實例中，本發明抗體不結合於RSV-F蛋白質上與帕利珠單抗或莫維珠單抗相同之抗原決定區。

【0206】 於特定具體實例中，本發明抗體不與RSV-F上SEQ ID NO: 354胺基酸殘基255至胺基酸殘基276範圍內之抗原決定區結合。

【0207】 使用此項技藝中已知之例行方法易於測定抗體是否與基準抗RSV-F抗體結合於相同抗原決定區，或與基準抗RSV-F抗體競爭結合。舉例而言，欲確定測試抗體與本發明之基準抗RSV-F抗體是否結合於相同抗原決定區時，則於飽和條件下，令基準抗體與RSV-F蛋白質或胜肽結合。接著，評估測試抗體與RSV-F分子結合之能力。若測試抗體能結合於與基準抗RSV-F抗體飽和結合後之RSV-F，即可斷定該測試抗體與基準抗RSV-F抗體結合於不同抗原決定區。另一方面，若測試抗體不能結合於與基準抗RSV-F抗體飽和結合後之RSV-F分子，則該測試抗體可能結合於與本發明基準抗RSV-F抗體結合之相同抗原決定區。

【0208】 欲確定抗體是否與基準抗RSV-F抗體競爭結合，乃從兩個方向進行上述結合方法：第一個方向中，於飽和條件下，令基準抗體結合於RSV-F分子，隨後評估測試抗體與該RSV-F分子之結合；第二個方向中，於飽和條件下，令測試抗體結合於RSV-F分子，隨後評估基準抗體與該RSV-F分子之結合。若，兩個方向中，僅有第一個(飽和)抗體能與RSV-F分子結合，則可斷定測試抗體與基準抗體競爭結合於RSV-F。熟習此項技藝人士將察知，與基準抗體競爭結合之抗體不必然與基準抗體結合於完全相同抗原決定區，惟可能藉由結合重疊或相鄰抗原決定區而立體位阻基準抗體之結合。

【0209】 兩個抗體若各自競爭性地抑制(封阻)另一者與抗原之結

合，亦即，如競爭性結合試驗(參見，例如，Junghans *et al.*, Cancer Res. 1990 50:1495-1502)之測定中，1、5、10、20或100倍過量之一抗體抑制至少50%惟較佳為75%、90%或甚至99%另一抗體之結合，則此二抗體結合於相同或重疊之抗原決定區。替代地，若實質上抗原中減少或消除一抗體之結合之所有胺基酸變異亦減少或消除另一抗體之結合，則兩個抗體具有相同抗原決定區。只要減少或消除一抗體之結合之若干胺基酸變異減少或消除另一抗體之結合，則此二抗體具有重疊之抗原決定區。

【0210】 然後可進行附加之例行實驗(例如，胜肽突變及結合分析)，以確定所觀察測試抗體之未結合是否事實上係由於結合於與基準抗體相同之抗原決定區，或者立體位阻(或另一現象)為所觀察之未結合之主因。此類實驗可使用此項技藝中可用之ELISA、RIA、表面電漿共振、流式細胞測量術或任何其他定量或定性抗體結合試驗進行。

免疫接合物

【0211】 本發明涵蓋與具療效成分[例如能降低原發性RSV感染之嚴重性，或改善與RSV感染關聯之至少一種症狀(包括咳嗽、發燒、肺炎)或其嚴重性之製劑]接合之人類RSV-F單株抗體(“免疫接合物”)。此類製劑可為針對RSV-F之第二個不同抗體或疫苗。可接合於抗RSV-F抗體之具療效成分類型將慮及擬治療之症狀及欲達成之期望治療效果。替代地，若該期望治療效果係治療與RSV感染相關之後遺症或症狀，或由於例如，惟不限於，肺炎之感染產生之任何其他症狀，則以接合適用於治療該症狀之後遺症或徵候或減輕本發明抗體任何副作用之製劑為有利。用於形成免疫接合物之適當製劑為此項技藝中已知，參見，例如，WO 05/103081。

多重特異性抗體

【0212】 本發明抗體可具單一特異性、雙重特異性、或多重特異性。

多重特異性抗體可對標靶多肽之不同抗原決定區具特異性或可含有對一種以上標靶多肽具特異性之抗原結合功能區。參見，例如，Tutt et al., 1991, J. Immunol. 147:60-69；Kufer *et al.*, 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244。本發明之抗體可連接於另一功能分子(例如，另一胜肽或蛋白質)或與其共表現。舉例而言，抗體或其片段可功能性地連接(例如，利用化學偶聯、基因融合、非共價結合或其他方法)於一或多個其他分子實體(例如另一抗體或抗體片段)，以產生具有第二個結合特異性之雙重特異性或多重特異性抗體。

【0213】 可用於本發明場合之例示雙重特異性抗體型式涉及使用第一個免疫球蛋白(Ig) C_{H3}功能區及第二個Ig C_{H3}功能區，其中該第一及第二個Ig C_{H3}功能區至少一個胺基酸彼此不同，及其中相較於缺乏該胺基酸差異之雙重特異性抗體，至少一個胺基酸差異降低雙特異性抗體與蛋白A之結合。於一具體實例中，第一個Ig C_{H3}功能區結合蛋白A，第二個Ig C_{H3}功能區含有降低或破壞蛋白A結合之突變，例如H95R修飾(根據IMGT外顯子編號；H435R，根據EU編號)。第二個C_{H3}可進一步包含Y96F修飾(根據IMGT；Y436F，根據EU)。可於第二個C_{H3}中發現之進一步修飾包括於IgG1抗體情形下之D16E、L18M、N44S、K52N、V57M、與V82I (根據IMGT；D356E、L358M、N384S、K392N、V397M、與V422I，根據EU)；於IgG2抗體情形下之N44S、K52N、與V82I (IMGT；N384S、K392N、與V422I，根據EU)；及於IgG4抗體情形下之Q15R、N44S、K52N、V57M、R69K、E79Q、與V82I (根據IMGT；Q355R、N384S、K392N、V397M、R409K、E419Q、與V422I，根據EU)。雙重特異性抗體型式上之上述變異均涵蓋於本發明範圍之內。

治療性給藥及調配物

【0214】 本發明提供包含本發明抗RSV-F抗體或其抗原結合片段之治療組成物。根據本發明治療組成物之給予係與併入調配物中之適當載

劑、賦形劑、及其他製劑一起給予以提供增進轉移、遞送、耐受性等。許多適當調配物可於所有醫藥化學家已知之處方中發現：Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA。彼等調配物包括，舉例而言，粉劑、糊劑、軟膏、凝膠、蠟類、油類、脂質類、含囊泡之脂質(陽離子性或陰離子性)(例如LIPOFECTIN™)、DNA接合物、無水吸收糊劑、水包油型及油包水型乳劑、碳蠟乳劑(各種分子量之聚乙二醇)、半固態凝膠、及含碳蠟之半固態混合物。亦參見Powell *et al.* "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311

【0215】 本發明各個抗體之劑量可隨投予對象年齡與大小、標靶疾病、症狀、給藥途徑等而不同。當本發明抗體用於治療RSV感染病患、或治療與RSV感染關聯之一或多種症狀(例如，與RSV感染關聯之咳嗽或肺炎病患)、或減輕疾病之嚴重性時，可有利地以約0.01至約30毫克/公斤體重，更佳為約0.1至約20毫克/公斤體重，或約0.1至約15毫克/公斤體重，或約0.02至約7毫克/公斤體重，約0.03至約5毫克/公斤體重，或約0.05至約3毫克/公斤體重，或約1毫克/公斤體重，或約3.0毫克/公斤體重，或約10毫克/公斤體重，或約20毫克/公斤體重之單一劑量經靜脈或皮下正常地投予本發明各個抗體。需要時可投予多次劑量。視症狀之嚴重性，可調整治療頻率及持續時間。於特定具體實例中，本發明抗體或其抗原結合片段可呈至少約0.1毫克至約800毫克、約1至約600毫克、約5至約300毫克、或約10至約150毫克、至約100毫克、或至約50毫克之初始劑量投予。於特定具體實例中，初始劑量之後可投予其量與初始劑量大約相同或較少之抗體或其抗原結合片段之第二個或多個接續劑量，其中接續劑量係相隔至少1天至3天、至少1週、至少2週、至少3週、至少4週、至少5週、至少6週、至少7週、至少8週、至少

9週、至少10週、至少12週、或至少14週。

【0216】 已知有各種遞送系統可用於投予本發明醫藥組成物，例如，於脂質體、微粒、微膠囊中之封裝、能表現突變病毒之重組細胞、受體傳介之胞吞作用[參見，例如，Wu *et al.* (1987) *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432]。引入之方法包括，惟不限於，皮膚內、經皮、肌內、腹膜內、靜脈內、皮下、鼻內、硬膜上、及經口等途徑。組成物可利用任何方便之途徑投予，例如輸注或推注、經由上皮或皮膚黏膜層(例如，口腔黏膜、鼻粘膜、直腸與腸黏膜等)吸收，及可與其他生物活性劑一起投予；投予可為全身性或局部性。組成物可呈氣溶膠化調配物遞送(參見US2011/0311515與US2012/0128669)。利用吸入遞送用於治療呼吸系統疾病之製劑，越來越被廣泛接受[參見A. J. Bitonti and J. A. Dumont, (2006), *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 58:1106-1118]。除了治療局部性肺部疾病有效之外，此類遞送機制亦有用於抗體之全身性遞送[參見Maillet *et al.* (2008), *Pharmaceutical Research*, Vol. 25, No. 6, 2008]。

【0217】 醫藥組成物亦可於囊泡(特別是脂質體)中遞送[參見，例如，Langer (1990) *Science* 249:1527-1533]。

【0218】 於特定情況下，醫藥組成物可於控制釋放系中遞送。於一具體實例中，可使用泵。於另一具體實例中，可使用聚合物材料。於又另一具體實例中，控制釋放系係置於組成物之標靶附近，因此只需要全身性劑量之一小部分。

【0219】 注射製劑可包括用於靜脈、皮下、皮內及肌內注射、滴注等劑型。彼等注射製劑可利用公開已知之方法製備；舉例而言，注射製劑可，例如，在習用於注射之無菌水性介質或油性介質中溶解、懸浮或乳化上述抗體或其鹽進行製備。注射用水性介質，舉例而言，為生理鹽液、含有葡

萄糖及其他輔助劑之等張溶液等，彼等可與適當助溶劑例如醇(例如，乙醇)、多元醇(例如，丙二醇、聚乙二醇)、非離子性界面活性劑[例如，聚山梨醇酯80、HCO-50 (氫化蓖麻油之聚氧乙烯(50莫耳)加成物)]等組合使用。油性介質，可使用，例如，芝麻油、大豆油等，彼等可與助溶劑例如苯甲酸苄酯、苄醇等組合使用。如此製備之注射劑較佳為裝填於適當安瓿中。

【0220】 本發明醫藥組成物可使用標準注射針與注射器經由皮下或靜脈遞送。此外，關於皮下遞送、一種筆型遞送裝置很容易地已應用於遞送本發明醫藥組成物。此等筆型遞送裝置可為重複使用式或拋棄式。重複使用式筆型遞送裝置通常利用含有醫藥組成物之可置換針筒；針筒內所有醫藥組成物一旦投予完畢成為空針筒，則該空針筒即被丟棄，替換成含有醫藥組成物之新針筒；然後重複使用該筆型遞送裝置。拋棄式筆型遞送裝置中則無可置換針筒；而於裝置內儲存器中預先裝填醫藥組成物；儲存器內之醫藥組成物一旦用完後，整個裝置即被丟棄。

【0221】 許多重複使用式筆型及自動注射器遞送裝置已應用於本發明醫藥組成物之皮下遞送；其實例包括，惟當然不限於AUTOPENT™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONIC™筆型(Disetronic Medical Systems, Berghdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25™筆型、HUMALOG™筆型、HUMALIN 70/30™筆型(Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPEN™ I、II與III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD™筆型(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPEN™、OPTIPEN PRO™、OPTIPEN STARLET™、及OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)等等。已應用於本發明醫藥組成物皮下遞送之拋棄式筆型遞送裝置之實例包括，惟當然不限於SOLOSTAR™筆型(sanofi-aventis)、FLEXPEN™ (Novo

Nordisk)、與KWIKPENT™ (Eli Lilly)、SURECLICK™自動注射器(Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN (Dey, L.P.)、及HUMIRA™筆型(Abbott Labs, Abbott Park IL)等等。

【0222】 有利地，供上述經口或非經腸用途之醫藥組成物係配合活性成分之劑量，製備為呈單位劑量之劑型。此等呈單位劑量之劑型包括，舉例而言，錠劑、丸劑、膠囊、注射劑(安瓿)、栓劑等。每一呈單位劑量之劑型所含前述抗體之量通常為約5至約500毫克；尤其是呈注射形式，較佳為所含前述抗體為約5至約100毫克，其他劑型則為約10至約250毫克。

給藥方案

【0223】 根據本發明之特定具體實例，於限定期間內可投予對象多次劑量之抗RSV-F抗體。根據本發明此態樣之方法，包括連續投予對象多次劑量之抗RSV-F抗體。本文所用之"連續投予"意指於不同時間點[例如，由預定時間間隔(例如，小時、天、週或月)分開之不同日]投予該對象各劑量之抗RSV-F抗體。本發明涵蓋包含連續投予病患單一初始劑量之抗RSV-F抗體，接著一或多個第二劑量之抗RSV-F抗體，視需要接著一或多個第三劑量之抗RSV-F抗體之方法。

【0224】 "初始劑量"、"第二劑量"、及"第三劑量"等詞係指抗RSV-F抗體給藥之時間序列。因此，"初始劑量"為治療方案開始時投予之劑量(亦稱為"基線劑量")；"第二劑量"為初始劑量後投予之劑量；及"第三劑量"為第二劑量後投予之劑量。初始、第二、及第三劑量可均含同量之抗RSV-F抗體，惟通常在給藥頻率上可能彼此不同。然而，於特定具體實例中，初始、第二、及/或第三劑量中所含抗RSV-F抗體量，於治療期間彼此不同(例如，適當地向上或向下調整)。於特定具體實例中，於治療方案開始時投予作為"負荷劑量"之二或多個(例如，2、3、4、或5個)劑量，接著較不頻繁地投予

接續劑量(例如，"維持劑量")。

【0225】 於本發明之一例示具體實例中，各第二及/或第三劑量係緊接前一劑量後1至26 (例如，1、1½、2、2½、3、3½、4、4½、5、5½、6、6½、7、7½、8、8½、9、9½、10、10½、11、11½、12、12½、13、13½、14、14½、15、15½、16、16½、17、17½、18、18½、19、19½、20、20½、21、21½、22、22½、23、23½、24、24½、25、25½、26、26½、或更多)週投予。本文所用"緊接前一劑量"之詞組意指於多次給藥序列中，於投予該序列中之下一劑量之前，無中間劑量之投予病患抗RSV-F抗體之劑量。

【0226】 根據本發明此態樣之方法可包括投予病患任何次數之抗RSV-F抗體之第二及/或第三劑量。舉例而言，於特定具體實例中，僅投予病患一個第二劑量。於其他具體實例中，係投予病患二或多個(例如，2、3、4、5、6、7、8、或更多個)第二劑量。同樣地，於特定具體實例中，僅投予病患一個第三劑量。於其他具體實例中，係投予病患二或多個(例如，2、3、4、5、6、7、8、或更多個)第三劑量。

【0227】 於涉及多次第二劑量之具體實例中，各第二劑量可以如其他第二劑量之相同頻率投予。舉例而言，各第二劑量可緊接前一劑量之1至2週後投予病患。同樣地，於涉及多次第三劑量之具體實例中，各第三劑量可以如其他第三劑量之相同頻率投予。舉例而言，各第三劑量可緊接前一劑量之2至4週後投予病患。替代地，於治療方案期間，第二及/或第三劑量投予病患之頻率可不同。於治療期間，給藥頻率亦可由醫生視個別病患臨床檢查後之需要進行調整。

抗體之治療用途

【0228】 本發明抗體由於可與RSV融合蛋白質(RSV-F)結合/交互作用，因此可用於預防病毒與宿主細胞膜之融合、預防病毒於細胞間之傳播、

及抑制形成細胞間融合。因此，於預防性投予時，本發明抗體可用於預防對象遭RSV感染。替代地，本發明抗體可用於改善與該感染關聯之至少一種症狀(例如，咳嗽、發燒、肺炎)，或減輕該感染之嚴重性、持續時間、及/或頻率。本發明抗體亦被考慮對瀕臨形成或遭RSV感染風險病患之預防性用途。彼病患包括於RSV季節期間(晚秋至早春)出生之早產兒、足月兒，由於疾病或使用免疫抑制療法治療之年長者(例如，任何65歲或以上的老年人)或免疫受損病患，或可能具有使其易遭RSV感染之潛在醫學症狀之病患(例如，囊狀纖維化症病患、鬱血性心衰竭或其他心臟症狀病患、呼吸道損傷病患、COPD病患)；亦考慮本發明抗體可單獨使用，或與第二製劑或第三製劑結合用於治療RSV感染、或減輕與RSV感染關聯之至少一種症狀或併發症(例如，發燒、咳嗽、細支氣管炎)或與此類感染關聯或引起之肺炎。第二或第三製劑可與本發明抗體同時遞送，或可於本發明抗體之前或之後分開投予。第二或第三製劑可為抗病毒(例如，利巴韋林、NSAID)或其他降低發燒或疼痛之製劑，特異性結合於RSV-F之其他第二種不同之抗體，結合於其他RSV抗原(例如，RSV-G、抗RSV之疫苗、特異於RSV抗原之siRNA)之製劑(例如，抗體)。

【0229】 於本發明又進一步具體實例中，係使用本發明抗體製備供治療罹患RSV感染病患之醫藥組成物。於本發明又另一具體實例中，係使用本發明抗體製備供降低原發性RSV感染之嚴重性、或降低該感染之持續時間、或降低與RSV感染關聯之至少一種症狀之醫藥組成物。於本發明進一步具體實例中，係使用本發明抗體與用於治療RSV感染之任何其他製劑[包括，抗病毒劑、類毒素、疫苗、第二RSV-F抗體、或特異於RSV抗原之任何其他抗體(包括，RSV-G抗體)]作為輔助療法，或熟習此項技藝人士所悉知之任何其他緩解性療法。

組合療法

【0230】 如上所述，根據特定具體實例，本發明方法包括投予病患與抗RSV-F抗體組合之一或多種附加治療劑。本文中所用"組合"表示法意指該附加治療劑係於包含抗RSV-F抗體之醫藥組成物之前、之後、或同時投予。"組合"一詞亦包括抗RSV-F抗體與第二治療劑之連續或同時給藥。

【0231】 舉例而言，於包含抗RSV-F抗體之醫藥組成物"之前"投予時，該附加治療劑可於投予包含抗RSV-F抗體醫藥組成物約72小時、約60小時、約48小時、約36小時、約24小時、約12小時、約10小時、約8小時、約6小時、約4小時、約2小時、約1小時、約30分鐘、約15分鐘或約10分鐘之前給藥；於包含抗RSV-F抗體之醫藥組成物"之後"投予時，該附加治療劑可於投予包含抗RSV-F抗體醫藥組成物約10分鐘、約15分鐘、約30分鐘、約1小時、約2小時、約4小時、約6小時、約8小時、約10小時、約12小時、約24小時、約36小時、約48小時、約60小時或約72小時之後給藥；與包含抗RSV-F抗體之醫藥組成物"同時"或一起給藥，意指該附加治療劑係以不同劑型，於投予包含抗RSV-F抗體醫藥組成物不到5分鐘之內(之前、之後、或於相同時間)投予病患，或呈包含附加治療劑與抗RSV-F抗體二者之單一結合劑量調配物投予該對象。

【0232】 組合療法可包括本發明之抗RSV-F抗體及可與本發明抗體或本發明抗體之生物活性片段有利地結合之任何附加治療劑。

【0233】 舉例而言，第二或第三治療劑可用於幫助降低肺臟中之病毒載量，如抗病毒劑(例如，利巴韋林)。抗體亦可與如上述之其他療法[包括類毒素、特異於RSV之疫苗、特異於RSV-F之第二抗體、或特異於另外RSV抗原之抗體(例如，RSV-G)]結合使用。

抗體之診斷用途

【0234】 本發明之抗RSV抗體亦可用以檢測及/或測定試樣中之RSV以，例如，供診斷用途。可展望的是利用經由使用本發明之任一或多種抗體進行測定病毒之存在，可確認被認為是由RSV引起之感染。RSV之診斷分析可包含，例如，以本發明抗RSV-F抗體接觸得自病患之試樣，其中該抗RSV-F抗體以可檢測標記或報導分子予以標識，或作為捕捉配體用，以自病患試樣中選擇性地單離出含F蛋白質之病毒。替代地，於診斷應用中可組合使用未標記之抗RSV-F抗體及其本身已具檢測標記之二次抗體。可檢測標記或報導分子可為放射性同位素，例如³H、¹⁴C、³²P、³⁵S、或¹²⁵I；螢光或化學發光成分例如螢光異硫氰酸鹽、或玫瑰紅；或酵素例如鹼性磷酸酶、β-半乳糖苷酶、辣根過氧化酶、或螢光素酶。可用以檢測或測定試樣中含F蛋白質之RSV之特定測定法實例包括酵素免疫分析法(ELISA)、放射性免疫分析(RIA)、及螢光流式細胞分選法(FACS)。

【0235】 於根據本發明RSV診斷分析法中可使用之試樣包括，於正常或病理狀況下，可自病患獲得之含有可檢測量之RSV-F蛋白質、或其片段之任何組織或流體試樣。通常，係測定從健康病患(例如，未罹患與RSV-F之存在關聯疾病或症狀之病患)獲得之特定試樣中RSV-F之量，首先從RSV建立F蛋白質之基線或標準量。然後將此RSV-F基線量與得自懷疑具有RSV感染或與此類感染關聯的個體之試樣中測得之RSV-F量進行比較。

疫苗及免疫性組成物

【0236】 本發明之一態樣提供一種免疫性組成物或疫苗，當投予個體(較佳為人類)時，於此個體中誘發對呼吸道融合病毒(RSV)抗原(例如，RSV-F多肽)之免疫反應，其中該組成物可包含重組RSV-F蛋白質、或RSV-F蛋白質之多肽片段、或含於及得自RSV-F多肽或其片段之抗原決定區、及/或包含編碼及表現RSV-F多肽或本發明其他多肽抗原抗原決定區之DNA及/

或RNA。該免疫性組成物或疫苗可治療性或預防性使用，可用以引出抗體免疫力及/或細胞性免疫力，例如CTL或CD4+T細胞產生之細胞性免疫力。

【0237】 於本發明一具體實例中，該免疫性組成物，或疫苗，可包含如SEQ ID NO: 354所示之RSV-F蛋白質。於本發明一具體實例中，該免疫性組成物，或疫苗，可包含由SEQ ID NO: 354之161至188殘基組成之RSV-F多肽片段。於本發明一具體實例中，該免疫性組成物，或疫苗，可包含SEQ ID NO: 355及/或SEQ ID NO: 356內所含之一或多個胺基酸殘基。於本發明一具體實例中，該免疫性組成物，或疫苗，可包含SEQ ID NO: 355及/或SEQ ID NO: 356。

【0238】 於相關態樣中，本發明提供於個體(特別是哺乳動物，較佳為人類)中誘發免疫反應之方法，該方法係利用投予個體足量之包含RSV-F蛋白質、或其免疫原片段、或包含RSV-F抗原或其片段內所含一或多個抗原決定區之RSV-F抗原或其免疫原片段之免疫性組成物，或疫苗，以產生抗體及/或T細胞免疫反應，保護該個體免受感染，特別是呼吸道融合病毒(RSV)之感染。亦提供使用本發明之免疫性組成物，或疫苗，誘發導致抑制、或減緩細胞間病毒傳播進展之免疫反應之方法；亦提供利用投予於投予時將於個體中誘發免疫反應之包含至少一種RSV-F抗原、或該RSV-F抗原內所含一或多個抗原決定區之免疫性組成物，或疫苗，以改善與RSV感染關聯之至少一種症狀之方法。

【0239】 舉例而言，於本發明之一具體實例中，係提供於個體中誘發免疫反應之方法，該方法包括遞送包含RSV-F抗原(例如SEQ ID NO: 354所示胺基酸序列)或其抗原片段(例如包含SEQ ID NO: 354之161至188殘基之多肽)、或包含引導此類病毒多肽或其片段或變異體表現之核苷酸序列之核酸載體之免疫性組成物，或疫苗至該個體，以於活體內誘發免疫反應。

【0240】 於本發明一具體實例中，欲於免疫性組成物或疫苗中使用，以於個體中誘發免疫反應之該多肽包含SEQ ID NO: 354之161至188殘基。於本發明一具體實例中，欲於免疫性組成物或疫苗中使用，以於個體中誘發免疫反應之該多肽包含SEQ ID NO: 355及/或SEQ ID NO: 356內所含之一或多個胺基酸殘基。於本發明一具體實例中，欲於免疫性組成物或疫苗中使用，以於個體中誘發免疫反應之該多肽包含SEQ ID NO: 355及/或SEQ ID NO: 356。於本發明一具體實例中，該免疫性組成物，或疫苗，可引發對RSV之RSV-F抗原具特異性之抗體反應或T細胞反應，其中產生之抗體與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸、或SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸交互作用，或與SEQ ID NO: 354位置173之絲胺酸以及SEQ ID NO: 354位置174之蘇胺酸二者交互作用。

【0241】 於特定具體實例中，有利的是，將RSV-F抗原或其片段調配成包含產生免疫性(較佳為免疫有效)用量之引發對其他病原體(較佳為病毒及/或細菌)的免疫力之附加抗原之免疫性組成物或疫苗。此類附加抗原可包括流感病毒抗原、得自間質肺炎病毒或得自冠狀病毒之抗原、得自流感嗜血桿菌、肺炎鏈球菌、或百日咳嗜血桿菌之抗原。可包含於免疫性組成物或疫苗中之其他RSV抗原為，例如，RSV-G糖蛋白或其免疫原片段、HN蛋白質、或其衍生物。於特定具體實例中，欲包含於本發明免疫性組成物或疫苗中之流感病毒抗原可包括於卵或MDCK細胞、或非洲綠猴腎(Vero)細胞中生長之整個、活的或不活化之病毒、或整個流感病毒之類病毒體、或其純化或重組蛋白質，例如，HA、NP、NA、或M蛋白質或其組合物。

【0242】 於本發明特定具體實例中，免疫性組成物、或疫苗調配物可包含本發明之免疫性重組多肽及/或多核苷酸、或其組合物，以及適當載劑/賦形劑，例如醫藥上可接受之載劑/賦形劑。免疫性組成物及/或疫苗較佳為

非經腸(包括，例如，皮下、肌內、靜脈內、或皮內給藥)投予。適於非經腸給藥之調配物包括可含抗氧化劑、緩衝液、靜菌化合物及使該調配物與個體體液(較佳為血液)等滲之溶質之水性與非水性無菌注射液；及可包含懸浮劑或增稠劑之水性與非水性無菌懸浮液。該調配物可存在單一劑量或多次劑量容器(例如，密封之安瓿及小瓶)中及可貯存於冷凍乾燥條件下，僅需在使用前立即添加無菌液體載劑。

【0243】 本發明之免疫性組成物或疫苗調配物亦可包含佐劑以增強該調配物之免疫原性。此時，被廣泛用於人體之僅有佐劑為明礬(磷酸鋁或氫氧化鋁)與磷酸鈣凝膠。佛氏(Freund's)完全佐劑及研究與獸醫應用上使用之其他佐劑具有毒性，限制其在人類疫苗上之潛在用途。然而，化學成分確定之製劑，如油乳劑與界面活性劑系調配物，例如，MF59 [微射流(microfluidized)清潔劑穩定之水包油型乳劑]、QS21 (純化皂素)、AS02 [SBAS2](水包油型乳劑 + MPL + QS-21)、Montanide ISA-51與ISA-720 (穩定之油包水型乳劑)，亦在開發中。再者，微生物衍生物(天然與合成)，例如，胞壁醯二肽、單磷醯脂質A (例如，3 De-O-醯基化之單磷醯脂質A，亦稱3D-MPL，係由Ribi Immunochem，Montana製造)、Detox [MPL + 牛草分枝桿菌(*M. Phlei*)之細胞壁骨架]、AGP [RC-529](合成之醯基化單醣)、DCCHol [能自行組成脂質體之碘化油(lipiodal)免疫刺激劑]、OM-174 (脂質A衍生物)、CpG基序(motifs)(含免疫刺激CpG基序之合成寡核苷酸)、經修飾之LT與CT (提供無毒佐劑作用之基因改造細菌毒素)、及QS21 [得自皂皮樹(*Quillaja Saponaria* Molina)樹皮經高效液相層析法純化之無毒區分]，已全被開發於人類用途。

【0244】 3 De-O-醯基化之單磷醯脂質A之較佳形式已揭示於歐洲專利案0 689 454 B1 (SmithKline Beecham Biologicals SA)。

【0245】 其他微粒佐劑包括，例如，類病毒體(併入病毒抗原之單層脂質體載劑)、AS04 ([SBAS4]具MPL之鋁鹽)、ISCOMS (皂素與脂質之結構複合物)、聚乳酸甘醇酸(PLG)。

【0246】 其他適當佐劑包括所有可接受之免疫刺激化合物，例如，細胞介素、趨化素、或群落刺激因子。舉例而言，彼等可包括介白素IL-1、IL-2、IL-4、IL-7、IL-12、 γ -干擾素、與hGM-CSF。

【0247】 應理解的是，欲使用之佐劑及/或免疫刺激化合物，將視投予疫苗或免疫性組成物之對象、注射途徑與注射次數而定。

【0248】 本發明雖已參照特定RSV-F多肽進行說明，惟應理解的是，其涵蓋天然存在多肽之片段，及具有加成、刪除或置換而實質上不影響該重組多肽或多核苷酸免疫性質之類似多肽。

【圖式簡單說明】

圖1：RSV-F蛋白質之示意圖。

圖2A與2B：展示H1H3592P3利用抑制病毒與細胞膜之融合封阻病毒進入。

【實施方式】

實施例

【0001】 茲提出下述實施例以便提供一般熟習此項技藝者如何製造及使用本發明方法與組成物之完整揭示內容及說明，惟不擬限制發明人等視為其發明之範圍。發明人等已致力於確保有關所用數值(例如，數量、溫度等)之準確性，惟若干實驗誤差及偏差應予以說明。除非另行指示，否則份數為重量份，分子量為平均分子量，溫度為攝氏度數，壓力則為大氣壓力或接近大氣壓力。

實例1. 針對RSV-F蛋白質之人類抗體之產生

【0002】 可使用包含下述任一者之免疫原產生針對RSV-F蛋白質之抗體。於特定具體實例中，本發明之抗體係以初級免疫原(例如，整個呼吸道融合病毒分離株，無論是活的、減毒的或死的/不活化的)免疫處理小鼠獲得。小鼠可給予含相同病毒分離株之一或多次追加注射，或可用RSV-F蛋白質本身追加注射。於特定具體實例中，小鼠係注射活病毒，隨後用如SEQ ID NO: 353所示建構體或用得自病毒分離株或重組製備之單離RSV-F蛋白質追加注射。(亦參見基因庫登錄編號AAX23994.1)

【0003】 於特定具體實例中，本發明抗體係以初級免疫原[例如，生物活性RSV、亞型A或B、及/或RSV融合(F)蛋白質]、或RSV融合(RSV-F)蛋白質之免疫原片段、或編碼全長蛋白質或其活性片段之DNA免疫處理小鼠獲得。免疫原可經由包括惟不限於肌內、皮下、靜脈或鼻內之任何途徑遞送至動物。

【0004】 於特定具體實例中，整個病毒、或RSV-F蛋白質或其片段，可用於製備單一特異性、雙重特異性、或多重特異性抗體。

【0005】 如上所述，作為免疫原用之整個病毒、或全長蛋白質、或其片段，係與佐劑一起，直接投予包含編碼人類免疫球蛋白重鏈與 κ 輕鏈變異區的DNA之VELOCIMMUNE[®]小鼠，以刺激免疫反應。利用RSV-F免疫分析監測抗體免疫反應。於達到期望之免疫反應時，收集脾臟細胞並與小鼠骨髓瘤細胞融合以保持其活力及形成融合瘤細胞株。篩選並選定融合瘤細胞株以鑑定產生RSV-F-特異性抗體之細胞株。使用此技術與上述各種免疫原，獲得數個嵌合抗體(亦即，具有人類變異功能區與小鼠恆定功能區之抗體);以此方法產生之特定例示抗體稱為H1M3621N、H1M3622N、H1M2634N

與H1M3627N。

【0006】 如U.S. 2007/0280945A1中所述，抗RSV-F抗體亦可不融合於骨髓癌細胞，直接自抗原陽性B細胞單離。使用此方法，得到數個完全人類抗RSV-F抗體(亦即，具有人類變異功能區與人類恆定功能區之抗體)；以此方法產生之例示抗體定名如下：H1H3564P、H1H3565P、H1H3566P、H1H3567P、H1H3581P、H1H3583P、H1H3589P、H1H3591P、H1H3592P、H1H3597P、H1H3598P、H1H3603P、H1H3604P、H1H3605P、H1H3607P、H1H3608P2、H1H3592P2與H1H3592P3。

【0007】 根據本實例方法所產生例示抗體之生物性質，將於下文提出之實例中詳細說明。

實例2. 重鏈與輕鏈變異區胺基酸序列

【0008】 表1列載對RSV-F蛋白質具特異性之所選定抗體重鏈與輕鏈變異區之胺基酸序列對及其對應之抗體識別符。本文通常根據下述命名法命名抗體：Fc字首(例如，“H4H”、“H1M”、“H2M”)，接著是數字識別符(例如，表1所示之“3117”)，接著是“P”或“N”字尾。因此，根據此命名法，抗體可稱為，例如“H1H3117”。本文使用抗體名稱上之H4H、H1M、與H2M字首指出抗體之特定Fc區。例如，“H2M”抗體具有小鼠IgG2 Fc，而“H4H”抗體具有人類IgG4 Fc。一般熟習此項技藝人士將理解，H1M或H2M抗體可轉變為H4H抗體，反之亦然，惟無論如何，由表1所示數字識別符指示之變異功能區(包括CDRs)，將保持不變。具有相同數字抗體名稱惟N、B或P字尾字母不同之抗體，係指具有完全相同CDR序列惟於CDR序列外區域(亦即，架構區)具序列變異之重鏈與輕鏈之抗體。因此，特定抗體之N、B與P變異體於其重鏈與輕鏈變異區內具有完全相同之CDR序列，惟於其架構區內則

彼此不同。

抗體比較組(Antibody Comparators)

【0009】 下述實例中包含抗RSV-F之抗體對照組，以供比較之用。實例中亦使用同型配對之負對照組。一種抗RSV-F對照抗體於本文中命名為對照組I，係擬人化抗RSV-F抗體，具有如US7635568與US5824307中提出之帕利珠單抗(SYNAGIS®)擬人化抗體之重鏈與輕鏈變異功能區序列。該變異之輕鏈與重鏈分別以人類κ與γ-1恆定區表現。一種抗RSV-F抗體於本文中命名為對照組II，係帕利珠單抗之擬人化抗RSV-F抗體變異體，具有於US2003/0091584中及由Wu *et al*, (2007), J. Mol. Biol. 368:652-665所述之莫維珠單抗(NUMAX™)擬人化抗體之重鏈與輕鏈變異功能區序列。該變異之輕鏈與重鏈分別以人類κ與γ-1恆定區表現。另一抗RSV-F抗體命名為對照組III (亦稱為AM-22)，見述於美國專利案No. 8568726中。AM-22重鏈與輕鏈之胺基酸序列示於SEQ ID NO: 357 (該抗體之重鏈)及SEQ ID NO: 358 (該抗體之輕鏈)。

表 1

抗體名稱	SEQ ID NOs:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H3564P	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H3565P	18	20	22	24	26	28	30	32
H1H3566P	34	36	38	40	42	44	46	48
H1H3567P	50	52	54	56	58	60	62	64
H1H3581P	66	68	70	72	74	76	78	80
H1H3583P	82	84	86	88	90	92	94	96
H1H3589P	98	100	102	104	106	108	110	112
H1H3591P	114	116	118	120	122	124	126	128
H1H3592P	130	132	134	136	138	140	142	144
H1H3597P	146	148	150	152	154	156	158	160

【0011】 本發明之抗RSV-F抗體對RSV-F.mmh顯示廣範圍之親和性。根據US 7,635,568提出之帕利珠單抗公開序列產生之對照組I，與如見述於Wu *et al*, (2007), (J. Mol. Biol. 368:652-665)之莫維珠單抗公開序列產生之對照組II，於親和性上顯示先前已報導之大約~70倍之差異(對照組I；38nM vs對照組II；0.43nM)。

表 2: 融合瘤單株抗體於 25°C 之 Biacore 結合親和性

於 25°C 結合/單株抗體捕捉格式				
AbPID	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (分鐘)
H1M3621N	2.05E+05	2.08E-04	1.01E-09	56
H1M3622N	3.84E+04	9.13E-05	2.38E-09	127
H1M3624N	1.79E+05	1.83E-04	1.02E-09	63
H1M3627N	2.59E+05	5.23E-04	2.02E-09	22

表 3: 人類 Fc 單株抗體於 25°C 之 Biacore 結合親和性

於 25°C 結合/單株抗體捕捉格式				
AbPID	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (分鐘)
H1H3564P	3.10E+03	7.78E-05	2.50E-08	148
H1H3565P	1.93E+04	5.80E-05	3.01E-09	199
H1H3566P	2.04E+04	4.20E-05	2.06E-09	275
H1H3567P	6.05E+04	2.63E-03	4.34E-08	4
H1H3581P	NB	NB	NB	NB
H1H3583P	8.94E+04	3.08E-03	3.44E-08	4
H1H3589P	3.77E+04	9.14E-03	2.43E-07	1
H1H3591P	4.46E+04	1.53E-03	3.42E-08	8
H1H3592P	1.06E+05	4.66E-04	4.39E-09	25
H1H3592P2	9.93E+04	1.46E-03	1.47E-08	8
H1H3592P3	8.86E+04	7.47E-04	8.43E-09	15
H1H3597P	NB	NB	NB	NB
H1H3598P	NB	NB	NB	NB
H1H3603P	3.00E+03	1.23E-04	4.10E-08	94
H1H3604P	3.10E+03	9.27E-05	3.00E-08	125
H1H3605P	2.80E+03	1.68E-04	5.90E-08	69
H1H3607P	4.20E+03	1.48E-04	3.50E-08	78
H1H3608P2	4.85E+03	2.60E-05	5.35E-09	445
H1H3627N	2.56E+05	1.49E-04	5.81E-10	78
對照組 I	6.75E+04	2.57E-03	3.81E-08	4
對照組 II	1.89E+05	8.13E-05	4.29E-10	142

NB: 於實驗條件下未觀察到結合

實例4. 呼吸道融合病毒融合(RSV-F)蛋白質抗體針對RSV亞型A與亞型B病毒株展現強效中和能力

【0012】 於RSV微中和反應檢定中測試純化抗體以確定效價。簡言之，將培養於補充5% Hyclone FBS、L-麩醯胺與抗生素之MEM高葡萄糖培養基中之 10^4 個HEp-2細胞接種入96槽透明黑底微量盤中，培育16-18小時(37°C，5% CO₂)。接著，起始於666 nM，隨後在培養基中進行1:5稀釋之各種濃度之抗體，以0.04之MOI，與RSV 1540 (A2)病毒株一起培養2小時(37C，5% CO₂)；納入無病毒及不相關之同型對照組。

【0013】 培育後，添加抗體:病毒混合物至HEp-2細胞中，維持感染3天。於2% PFA中固定細胞，使用山羊抗RSV/抗山羊HRP抗體進行ELISA，以測定感染程度。添加發光試劑至各槽，使用微量盤讀取計(Victor X3，Perkin Elmer)檢測信號。於11點反應曲線上，利用三參數對數方程式分析發光值(GraphPad Prism)。

【0014】 本發明抗體針對RSV A2 (1540)病毒株展現廣範圍之中和活性(表4至5)。數種抗體展現比對照組I更低之IC₅₀值，而只有H1H3627N、H1H3591P、H1H3592P與H1H3592P3幾個例示抗體具有比對照組II更佳之中和能力。所選定抗體(H1H3627N、H1H3592P3)亦測試其中和RSV亞型B病毒株之能力(表6)。

【0015】 此實例展示本發明抗體於活體外，跨越兩個亞型，中和RSV-F數個病毒株之功效，較所確立對照組先前之展示具更大效力。

表 4. 所選定單株抗體對 RSV A2 (1540)之中和效力

AbPID	RSV A2 中和反應之 IC ₅₀ [pM]:						
	試驗 1	試驗 2	試驗 3	試驗 4	試驗 5	試驗 6	試驗 7
H1M3621N	582	180	-	-	-	-	-

H1M3622N	320	82	-	-	-	-	-
H1M3624N	540	270	92	-	-	-	-
H1M3627N	4	4	5	-	-	10	-
H1H3564P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H3565P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H3566P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H3567P	-	-	-	257	-	390	-
H1H3581P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H3583P	-	-	-	-	50	-	-
H1H3589P	-	-	-	-	300	-	-
H1H3591P	-	-	-	6	-	8	6
H1H3592P	-	-	-	6	-	5	4
H1H3592P3							10
H1H3597P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H3598P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H3603P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H3604P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H3605P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H3607P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H3608P2	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H3570P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H3627N	-	-	-	-	-	-	3
對照組 1	1820	950	290	530	160	500	250
對照組 2	50	30	23	20	12	12	12

表 5. 所選定單株抗體對 RSV 亞型 A 之中和效力

	亞型 A 中和反應：IC ₅₀ &相對於對照組 1 之增進倍數			
AbPID	RSV-A2 (1540) 中和反應 IC ₅₀ [pM]	倍數	RSV-Long 中和反應 IC ₅₀ [pM]	倍數
H1H3627N	2.6	138	7.3	73
H1H3592P3	10	36	15	35
對照組 I	360	--	536	--
對照組 II	14	25	65	8.2

表 6. 所選定單株抗體對 RSV 亞型 B 之中和效力

	亞型 B 中和反應: IC ₅₀ & 相對於對照組 1 之增進倍數			
AbPID	RSV – 1580 中和反應 IC ₅₀ [pM]	倍數	RSV-9320 中和反應 IC ₅₀ [pM]	倍數
H1H3627N	6.7	55	11	42
H1H3592P3	31	12	100	4.6
對照組 I	375	--	460	--
對照組 II	43	8.7	56	8.2

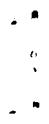
實例5. 所選定抗RSV-F抗體於活體內顯示強效中和RSV感染

A. 小鼠模式

【0016】 選定例示抗體H1H3627N與H1H3592P3，供Balb/c小鼠活體內RSV中和研究之用。簡言之，使用H1H3627N、H1H3592P3、對照組I、對照組II或者同型匹配抗體，以兩種劑量(0.15或0.05毫克/公斤)對7週齡Balb/c小鼠(n=4-5)進行皮下注射。所有實驗中，藉由使用載劑抗體(1毫克/公斤)，使抗RSV-F抗體之損失減至最小。

【0017】 注射一天後，以50微升(10^6 pfu) RSV A2 (1540)病毒株鼻內挑戰小鼠。感染四天後，抽取血清，犧牲小鼠，取出肺臟，使用OmniGLH均質機，於1毫升PBS中使其均質化。離心肺臟均質物以去除細胞碎片，部分上清液用以測定肺中之抗RSV-F單株抗體濃度。其餘上清液用於進行系列稀釋，使其與HEp-2細胞一起培育2小時，從而使病毒進入。其後，移除上清液，以1%甲基纖維素覆蓋細胞。六天後，細胞以結晶紫染色，計算溶菌斑數，相對於同型對照組，計算log₁₀病毒縮減。

【0018】 於活體內，例示抗體H1H3627N與H1H3592P3比對照組I或對照組II抗RSV-F抗體更有效地減少病毒載量(表7a至7e)。具體而言，於0.15



毫克/公斤劑量下，相較於對照組I，抗體H1H3627N、H1H3592P3與對照組II皆有效降低肺中之RSV感染至接近檢測不到之量(病毒縮減log(10)倍數變化 ≥ 2.10)。於肺及血清中之總人類IgG測量證實，各組別間之抗體量相當一致。

【0019】 較低投予劑量下，相較於對照組I，三個抗體間中和功效之較大差異顯而易見。0.05毫克/公斤時，相較於H1H3627N1之1.08至1.36個對數值及對照組II之0.01至0.65個對數值病毒載量縮減倍數變化，H1H3592P3之倍數變化在1.49至 > 2.07 個對數值之範圍內，顯示病毒載量之最大縮減。此較低劑量下之對照組I，具0.03至1.03個對數值之病毒載量縮減變化，僅適度有效。

【0020】 結果指出，H1H3627N與H1H3592P3二者於活體內為強效RSV中和抗體，後者於較低劑量時，顯示為RSV感染更有效之中和劑之趨勢。

【0021】 依照上文敘述之相同實驗流程進行劑量範圍實驗，皮下注射4種不同劑量之對照組I抗體(0.6、0.3、0.15與0.05毫克/公斤)，及兩種劑量(0.15與0.05毫克/公斤)之H1H3592P3與對照組II。於肺中之病毒縮減計算為同型對照組之百分比(Exp M4，表7d至e)。

【0022】 例示抗體H1H3592P3比對照組I或對照組II抗RSV-F抗體於活體內(小鼠中)更有效縮減病毒載量。此外，對照組I需要達到於肺中99%病毒縮減之劑量比H1H3592P3之劑量高3至4倍。

表 7 (a 至 e): 於小鼠中投予抗 RSV-F 抗體後之 RSV 病毒縮減(log (10))

表 7a

Exp M1		劑量：0.15 毫克/公斤			劑量：0.05 毫克/公斤		
PID	每組小鼠數	病毒縮減 (log10)	mAb [奈克/毫升] 肺臟	mAb [奈克/毫升] 血清	病毒縮減 (log10)	mAb [奈克/毫升] 肺臟	mAb [奈克/毫升] 血清



H1H3627N	5	>2.10	35 ± 18	1041 ± 212	1.20	7 ± 4	274 ± 38
H1H3592P3	5	>2.10	44 ± 14	1731 ± 770	>2.07	17 ± 4	438 ± 51
對照組 I	5	1.02	33 ± 11	895 ± 132	1.03	9 ± 5	365 ± 111
對照組 II	5	>2.10	82 ± 24	1948 ± 429	0.65	7 ± 4	555 ± 80
同型對照組	5	NA	76 ± 28	2180 ± 197	NA	25 ± 2	1287 ± 120

表 7b

Exp M2		劑量：0.15 毫克/公斤			劑量：0.05 毫克/公斤		
PID	每組小鼠數	病毒縮減 (log10)	mAb [奈克/毫升] 肺臟	mAb [奈克/毫升] 血清	病毒縮減 (log10)	mAb [奈克/毫升] 肺臟	mAb [奈克/毫升] 血清
H1H3627N	5	>2.51	23 ± 8	724 ± 148	1.08	3 ± 3	300 ± 35
H1H3592P3	5	>2.51	27 ± 5	1261 ± 74	1.49	10 ± 2	333 ± 55
對照組 I	5	0.79	9 ± 2	611 ± 61	0.15	1 ± 1	221 ± 35
對照組 II	5	2.31	13 ± 8	587 ± 36	0.01	1 ± 3	237 ± 22
同型對照組	5	NA	46 ± 12	1389 ± 170	NA	15 ± 4	498 ± 92

表 7c

Exp M3		劑量：0.15 毫克/公斤			劑量：0.05 毫克/公斤		
PID	每組小鼠數	病毒縮減 (log10)	mAb [奈克/毫升] 肺臟	mAb [奈克/毫升] 血清	病毒縮減 (log10)	mAb [奈克/毫升] 肺臟	mAb [奈克/毫升] 血清
H1H3627N	4	2.7	26 ± 6	1143 ± 83	1.36	7 ± 1	394 ± 16
H1H3592P3	4	>2.83	31 ± 12	947 ± 105	1.66	13 ± 4	371 ± 21

...

對照組 I	4	1.00	58 ± 14	1426 ± 114	0.03	6 ± 5	442 ± 27
對照組 II	4	2.35	20 ± 6	1152 ± 142	0.54	BDL	373 ± 21
同型對照組	4	NA	41 ± 3	808 ± 52	NA	37 ± 8	326 ± 26

表 7d

Exp M4 (ED ₉₉)		劑量：0.6 毫克/公斤		劑量：0.3 毫克/公斤	
PID	每組 小鼠數	病毒縮減 (%)	mAb [奈克/毫升] 血清	病毒縮減 (%)	mAb [奈克/毫升] 血清
對照組 I	5	>99	8451.9 ± 2562	96.9	3129.7 ± 403

ND: 未測定

表 7e

Exp M4 (ED ₉₉)		劑量：0.15 毫克/公斤		劑量：0.05 毫克/公斤	
PID	每組 小鼠數	病毒縮減(%)	mAb [奈克/毫升] 血清	病毒縮減(%)	mAb [奈克/毫升] 血清
H1H3592P3	5	>99	1578.9 ± 256	90.6	524.0 ± 42
對照組 I	5	57.9	1561.2 ± 282	24.2	547.5 ± 59
對照組 II	5	96.7	1566.0 ± 354	48.5	465.7 ± 85
同型對照組	5	NA	1406.0 ± 196	NA	375.3 ± 86

ND: 未測定

B. 棉花鼠模式

【0023】 選定例示抗體H1H3627N與H1H3592P3，供棉花鼠活體內RSV中和研究之用。簡言之，使用H1H3627N、H1H3592P3、對照組I、對照組II或者同型匹配抗體，以兩種劑量(5或0.6毫克/公斤)對6至8週齡棉花鼠(n=5)進行肌內注射。



【0024】 注射一天後，以100微升(10^5 pfu) RSV A2病毒株鼻內挑戰大鼠。感染四天後，抽取血清，犧牲小鼠，取出肺與鼻組織供病毒滴定用。離心肺臟均質物以去除細胞碎片，部分上清液用以測定肺中之抗RSV-F單株抗體濃度。其餘上清液用於進行系列稀釋，使其與HEp-2細胞一起培育，從而使病毒進入。其後，移除上清液，以1%甲基纖維素覆蓋細胞。六天後，進行細胞染色，計算溶菌斑數，相對於同型對照組，計算 $\log_{10}$ 病毒縮減。

【0025】 於活體內，例示抗體H1H3592P3比對照組I更有效地減少肺與鼻中之病毒載量，於肺中和對照組II一樣有效，於鼻中則更佳。於鼻中，例示抗體H1H3627N只比對照組I更佳，而與對照組II一樣有效(表8)。具體而言，於5毫克/公斤劑量下，相較於同型對照組，抗體H1H3627N、H1H3592P3、對照組I與對照組II皆有效降低肺中之RSV感染至接近檢測不到之量(病毒縮減 $\log(10)$ 倍數變化 ≥ 2.33)。然而，於鼻中，相較於對照組I，H1H3627N、H1H3592P3、對照組II間中和功效之較大差異顯而易見。相較於H1H3627N (1.46個對數值)或對照組II (1.33個對數值)，H1H3592P3顯示病毒載量之更大縮減(2.65個對數值)。

【0026】 較低投予劑量下，於肺中，相較於對照組I，三個抗體之間中和功效之較大差異顯而易見。0.6毫克/公斤下，H1H3592P3與對照組II於病毒載量上顯示相似縮減(1.5個對數值)，二者均比對照組I (0.624個對數值)更有效。H1H3627N顯示比其他三個抗體更小之功效。

【0027】 接著選定例示抗RSV-F抗體H1H3592P3，使用棉花鼠模式，於活體內測試其中和RSV亞型B之能力。和RSV/A一樣，6至8週齡棉花鼠($n=4-6$ /組/實驗)於肌內投予5或者0.6毫克/公斤H1H3592P3、對照組I或對照組II。第二天，以 10^5 pfu RSV/B病毒株18537挑戰動物。挑戰四天後，測定肺與鼻中之病毒力價以及血清抗體力價。表9中所示結果係收集自兩個獨立實

驗之數據。

【0028】 於高低兩種劑量下，H1H3592P3均顯示於肺中縮減RSV/B病毒載量之功效(表9)。5.0毫克/公斤時，相較於對照組I縮減2.11個對數值及對照組II縮減2.18個對數值，H1H3592P3於肺中之RSV/B病毒載量縮減2.21個對數值。0.6毫克/公斤時，相較於對照組I縮減0.75個對數值及對照組II縮減0.83個對數值，H1H3592P3於肺中之RSV/B病毒載量縮減1.29個對數值。

【0029】 總之，0.6毫克/公斤時，H1H3592P3於肺中顯示比對照組I與II優越之RSV亞型B之中和作用。5毫克/公斤時，H1H3592P3於肺中之縮減病毒載量上，顯示與對照組I與對照組II可相較之中和能力。

【0030】 結果表示，於棉花鼠中，H1H3592P3係活體內RSV亞型病毒株A與B之強效中和劑，在鼻中於高劑量及在肺中於較低劑量下，為RSV感染更有效之中和劑。於低劑量下之該功效指出臨床上較低劑量療法之可能性。

表 8: 棉花鼠中投予抗 RSV-F 抗體後之 RSV-A 病毒縮減(log (10))

Exp R1		劑量：0.6 毫克/公斤			劑量：5.0 毫克/公斤		
PID	每組大鼠數	病毒縮減肺臟 (log10)	病毒縮減鼻 (log10)	mAb [奈克/毫升] 血清第 4 天	病毒縮減肺臟 (log10)	病毒縮減鼻 (log10)	mAb [奈克/毫升] 血清第 4 天
H1H3627N	5	0.34	0.22	3.43 ± 0.25	2.33	1.46	21.52 ± 5.47
H1H3592P3	5	1.66	0.19	3.49 ± 0.55	2.56	2.66	46.28 ± 7.69
對照組 I	5	0.62	0.21	3.04 ± 0.29	2.37	1.07	39.95 ± 5.23
對照組 II	5	1.50	0.20	4.26 ± 0.66	2.55	1.33	24.06 ± 2.96
同型對照組	4	NA	NA	3.78 ± 0.99	NA	NA	30.43 ± 6.66



表9: 棉花鼠中投予抗RSV-F抗體後之RSV-B病毒縮減(log (10))

Exp R2		劑量：0.6 毫克/公斤			劑量：5.0 毫克/公斤		
PID	每組 大鼠 數	病毒縮減 肺臟 (log10)	病毒縮減 鼻 (log10)	mAb [奈克/ 毫升] 血清 第4天	病毒縮減 肺臟 (log10)	病毒縮減 鼻 (log10)	mAb [奈克/ 毫升] 血清 第4天
H1H359 2P3	10	1.29	0.21	3.89 ± 0.99	2.21	0.86	42.31 ± 13.5
對照組 I	11	0.75	0.15	3.87 ± 0.73	2.11	0.79	35.28 ±11.8
對照組 II	11	0.83	0.10	3.75 ± 0.49	2.18	1.24	27.65 ±7.49
同型對 照組	10	NA	NA	3.56 ± 1.17	NA	NA	34.28 ±9.24

C. 棉花鼠模式 – 測定例示抗體H1H3592P3之ED₉₉

【0031】 使用棉花鼠進行劑量範圍研究以測定例示抗體H1H3592P3降低>99%病毒載量之劑量(亦即ED₉₉)。IMH1H3592P3或對照組1抗體以10、5、2.5、1.25或0.62毫克/公斤之劑量預防性投予棉花鼠。此外，於此研究中，同型對照抗體也以10或0.62毫克/公斤給藥，以便與活性製劑相提並論。經抗體治療後，進行亞型A (RSV A2病毒株)或者亞型B (RSV B病毒株18537)之鼻內RSV挑戰。感染四天後，抽取血清，犧牲大鼠，取出肺臟組織供病毒滴定用。相較於對照組1於肺中達到>99%病毒載量縮減需要2.5毫克/公斤之劑量，H1H3592P3於0.62毫克/公斤劑量達到同樣>99%病毒縮減(表10)。於所計算ED₉₉下，對照組1之平均終點濃度(27微克/毫升)與先前發表之文獻具良好相關性(Scott and Lamb, 1999)，該文獻指示，於RSV感染時，30-40微克/毫升之血清帕利珠單抗濃度(亦即對照組1)與肺臟病毒載量之99%縮減相關聯。H1H3592P3平均終點濃度(4.9微克/毫升)與於其ED₉₉遞送之低4倍劑

量有很好的關聯性。針對亞型B挑戰之結果亦相似(表11)，H1H3592P3於2.5毫克/公斤達到ED₉₉，而對照組1需要大約大4倍之劑量(10毫克/公斤)才得到相同之>99%肺臟病毒縮減。

【0032】 總之，彼等研究支持，用藥頻率較少之H1H3592P3可賦予與帕利珠單抗目前所用每月給藥模式相同之保護程度。

表10. RSV亞型A挑戰後，針對抗RSV-F抗體之ED₉₉測定

具 RSV 亞型 A 之 ED ₉₉ 測定					
肺臟病毒縮減%					
PID	10 毫克/公斤	5 毫克/公斤	2.5 毫克/公斤	1.25 毫克/公斤	0.62 毫克/公斤
H1H3592P3	>99	>99	>99	>99	>99
對照組 I	>99	>99	>99	98.9	95.9
同型對照組	NA	NA	NA	NA	NA
抗體血清濃度(微克/毫升)					
H1H3592P3	107.2 ±3.4	48.44 ±6.1	20.15 ±1.8	10.55 ±1.5	4.91 ±0.7
對照組 I	89.16 ±6.5	58.07 ±6.3	26.93 ±3.3	12.72 ±2.2	6.65 ±0.5
同型對照組	90.57 ±12.6	--	--	--	5.39 ±0.5

表11. RSV亞型B挑戰後，針對抗RSV-F抗體之ED₉₉測定

具 RSV 亞型 B 之 ED ₉₉ 測定					
肺臟病毒縮減%					
PID	10 毫克/公斤	5 毫克/公斤	2.5 毫克/公斤	1.25 毫克/公斤	0.62 毫克/公斤
H1H3592P3	>99	>99	>99	98.4	96.7
對照組 I	>99	97.7	98.4	96.3	88.2
同型對照組	NA	NA	NA	NA	NA
抗體血清濃度(微克/毫升)					
H1H3592P3	98.04 ±18.4	50.99 ±7.8	27.82 ±4.9	10.49 ±1.7	7 ±0.3
對照組 I	98.89 ±10.9	42.74 ±8.9	26.46 ±3.3	16.06 ±2.2	7.58 ±1.1
同型對照組	99.72 ±17.4	NA	NA	NA	5.38 ±0.5

實例6. 雙重特異性抗體之產生

【0033】 產生各種雙重特異性抗體，用於實施本發明方法。舉例而



言，產生呈雙重特異性型式("雙重特異性")之RSV-F特異性抗體，其中結合於RSV-F蛋白質不同功能區之變異區連接在一起，以賦予單一結合分子內之雙功能區特異性。適當設計之雙重特異性經由增加特異性以及結合親和性可增強整體病毒中和功效。各個功能區具特異性之變異區於結構性支架上成對，俾使各區同時結合於不同抗原決定區，或結合於一功能區內之不同區。於雙重特異性之一實例中，得自對一功能區具特異性的結合子(binder)之重鏈變異區(V_H)與得自對第二功能區具特異性的一系列結合子之輕鏈變異區(V_L)再結合，以鑑定可與原始 V_H 配對之非同源 V_L 搭檔，而不破壞對 V_H 之原始特異性。以此方式，單一 V_L 區段(例如， V_{L1})可與兩個不同 V_H 功能區(例如， V_{H1} 與 V_{H2})結合，產生由兩個結合"臂"(V_{H1} - V_{L1} 與 V_{H2} - V_{L1})構成之雙重特異性。使用單一 V_L 區段降低系統之複雜性，從而簡化及提高用以產生雙重特異性之轉殖、表現、與純化過程中之效率(參見，例如，USSN13/022759與US2010/0331527)。

【0034】 替代地，結合RSV-F與第二標靶(例如，惟不限於，舉例而言，第二個不同之抗RSV-F抗體)之抗體、或類毒素、或疫苗可使用本文敘述之技術，或熟習此項技藝者已知之其他技術呈雙重特異性型式予以製備。結合於不同區之抗體變異區可與結合於，例如，不同病毒抗原上相關位點之變異區連接在一起，以賦予單一結合分子內之雙抗原特異性。此適當設計之雙重特異性質性具有雙重功能。例如，於結合如RSV-F與RSV-G之雙重特異性抗體之情形下，不需要投予含兩種不同抗體之組成物，即能更適當地中和該病毒。具RSV-F特異性之變異區，與具RSV-G特異性之變異區結合，於容許各變異區結合於不同抗原之結構性骨架上成對。

【0035】 於上文所述抗體之任何分析中，測試雙重特異性結合子關於標靶抗原(例如，RSV-F與RSV-G)之結合及功能性封阻。舉例而言，使用測

量可溶性蛋白質結合之標準方法以評估雙重特異性交互作用，例如Biacore、ELISA、粒徑排阻層析法、多角度雷射光散射法、直接掃描量熱法、及其他方法。經由使用ELISA結合分析，測定雙重特異性抗體對RSV-F與RSV-G二者之結合，其中於微量滴定盤之諸盤塗覆代表不同抗原之合成胜肽，經由使用第二檢測抗體測定雙重特異性之結合。亦可使用表面電漿共振實驗進行結合實驗，其中胜肽與抗體之即時結合交互作用係利用使胜肽或雙重特異性流過感測器表面，於其上分別捕捉雙重特異性或胜肽而測定。RSV-F與RSV-G二者由於雙重特異性之活體外功能性封阻，係使用任何生物分析法例如本文所述之中和分析，或利用例如本文所述之於適當動物模式中，或於活體內肺臟發炎模式中之活體內保護研究予以測定。

實例7. 活體外產生RSV逃脫突變體(Escape Mutant)以測定H1H3592P3之結合抗原決定區

產生對H1H3592P3之逃脫突變體

【0036】 於6槽盤中，平板培養 3×10^5 個Hep-2細胞/槽24小時。37°C下，使濃度在50微克/毫升至0.016微克/毫升範圍內之H1H3592P3與RSV亞型A病毒株1540或RSV亞型B病毒株1580混合物1小時。共培育後，以10個溶菌斑形成單位(pfu)/細胞之感染複數(MOI)添加先前接種之RSV/抗體混合物至HEp-2細胞。培育細胞6天，每天使用光學顯微鏡監測細胞病變效應。於第6天，收集各槽內容物，調整至抗體之初始濃度，用以感染新鮮接種之HEp-2細胞。重複此序列繼代培養，直到於高濃度H1H3592P3 (50微克/毫升)觀察到明顯之細胞病變效果，其為表明病毒突變體存在之比抗體IC₅₀高出大約2個對數值。經由微中和反應檢定(於下文敘述)證實諸槽之上清液存在抗性病毒，於10公分組織培養盤進行溶菌斑單離。於6槽盤中擴展10個單獨溶菌

斑，經由微中和反應再測試病毒抗性；然後針對彼等病毒突變體進行定序。

微中和反應檢定

【0037】 為了確認於H1H3592P3壓力下產生之逃脫突變體對中和反應是否具抗性，乃於Hep-2細胞中進行微中和反應檢定。簡言之，將培養於補充5% Hyclone FBS、L-麩醯胺與抗生素之DMEM 1x培養基中之 10^5 個Hep2細胞接種入96槽透明黑底微量盤中，培育16-18小時(37C，5% CO₂)。

【0038】 接著，起始於666 nM，在培養基中進行1:5稀釋之各種濃度之抗體，以0.04至0.4之MOI，與得自亞型A以及B之RSV野生型(亞型A或B)或逃脫突變體一起培育2小時(37C，5% CO₂)；納入不含病毒之對照組或含病毒但不含抗體之對照組。抗體之所有稀釋均以二重複進行。培育後，添加抗體/病毒混合物至細胞中，令其感染3天。於2% PFA中固定細胞，使用山羊抗RSV/抗山羊HRP抗體進行ELISA，以測定感染。添加發光試劑至各槽，使用微量盤讀取計(Victor X3，Perkin Elmer)檢測信號。於11點反應曲線上，利用三參數對數方程式分析發光值(GraphPad Prism)。

結果

【0039】 產生呼吸道融合病毒逃脫突變體以勘測H1H3592P3與RSV-F之特異性結合區。簡言之，使感染RSV病毒株1540 (亞型A)或1580 (亞型B)之HEp-2細胞進行50微克/毫升至0.016微克/毫升範圍內之H1H3592P3治療。6天後，使用各槽內容物感染新鮮接種之HEp-2細胞。持續此序列繼代培養直到即使於最高抗體劑量存在下仍於HEp-2細胞中觀察到細胞病變效果，表明於選擇壓力下產生的RSV病毒突變體之存在。總之，從十個不同溶菌斑單離病毒突變體，證實H1H3592P3存在下之中和反應抗性，接著

予以定序。

【0040】 序列分析證實，在RSV-F (SEQ ID NO: 354)胺基酸位置173與174 (S173Y與T174K)發現關於H1H3592P3之逃脫突變體，表明彼等胺基酸於抗體結合及病毒中和反應中具有重要作用。先前報告已確定，抗RSV對照組I與對照組II抗體之結合抗原決定區位於S255 – N276之間。彼等研究之數據暗示RSV-F上H1H3592P3之結合位點於病毒中和反應中具有主要作用(參見表12)，且與先前確立之對照組抗體所需不同。

表 12: H1H3592P3 與抗 RSV 對照抗體針對 RSV 亞型 A 與 B 病毒株及相關逃脫突變體之中和功效

病毒	H1H3592P3 (IC50 , pM)	對照組 I (IC50 , pM)	對照組 II (IC50 , pM)
wt 亞型 A (RSV/A)	177	1140	108
RSV/A S173Y	抗性	1710	170
Wt 亞型 B (RSV/B)	290	1900	260
RSV/B S173T	抗性	1900	177
RSV/B T174K	抗性	640	108
RSV/B S173T/T174K	抗性	980	218

實例8. 使用氫氙交換&質譜法測定H1H3592P3對RSV-F之結合抗原決定區

【0041】 進行結合胃蛋白酶分解與質譜測定法之氫/氙交換(H/D交換)，以測定抗RSV-F抗體H1H3592P3對重組RSV-F之結合抗原決定區。使用兩種H/D交換型式(於下文詳細說明)：其中RSV-F胜肽片段受H1H3592P3保護，阻止其逆交換而保留D₂O，經質譜測定得到較高分子量(m/z值)之‘溶液啟動/珠粒終止(on-solution/off-beads)’法，及建立所有RSV-F胜肽之m/z基線值之‘珠粒啟動/珠粒終止(on-beads/off-beads)’對照法。從使用‘溶液啟動/珠粒終止’法得到之m/z值減去對照m/z值，產生顯示非零m/z值差量(delta)之特定胺基酸區，亦即對應於H1H3592P3與RSV-F間結合抗原決定區之殘留



D₂O。

方法

溶液啟動/珠粒終止型式

【0042】 於‘溶液啟動/珠粒終止’(於溶液中啟動交換隨後於珠粒上終止交換)型式中，係使RSV-F.mmh蛋白質(SEQ ID NO: 353)於以D₂O製備之PBS緩衝液中氘化5分鐘或10分鐘，然後經由2分鐘培育，使其與共價連接於N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)洋菜糖膠體珠粒(GE Lifescience)之H1H3592P3結合。以PBS緩衝液(用非氘化H₂O製備)洗滌RSV-F / H1H3592P3珠粒複合物，然後於PBS緩衝液中培育該交換之一半時間。終止交換後，使用冰冷之低pH TFA溶液將結合之RSV-F從珠粒中溶洗出來。然後用固定化胃蛋白酶(Thermo Scientific)分解溶洗出之RSV-F 5分鐘。所得胜肽使用ZipTip色層分析微量吸管尖脫鹽，立即以UltrafleXtreme基質輔助雷射脫附飛行時間(MALDI-TOF)-TOF質譜測定法(MS)分析。

珠粒啟動/珠粒終止型式

【0043】 於‘珠粒啟動/珠粒終止(on-beads/off-beads)’(於珠粒上啟動交換隨後於珠粒上終止交換)型式中，首先使RSV-F.mmh蛋白質(SEQ ID NO: 353)結合於H1H3592P3洋菜糖膠體珠粒，然後於D₂O中培育5分鐘或10分鐘進行交換。以PBS緩衝液(用非氘化H₂O製備)洗滌RSV-F / H1H3592P3珠粒複合物，然後於PBS緩衝液中培育該交換之一半時間。終止交換後，使用冰冷之低pH TFA溶液將結合之RSV-F從珠粒中溶洗出來。然後用固定化胃蛋白酶(Thermo Scientific)分解溶洗出之RSV-F 5分鐘。所得胜肽使用ZipTip色層分析微量吸管尖脫鹽，立即以MALDI-TOF-TOF質譜測定法分

析。計算所有檢測胜肽之質心值(centroid value)或平均質荷比(m/z)，將其與‘溶液啟動/珠粒終止’實驗進行比較。

胜肽鑑定

【0044】 使用液體層析法-Orbitrap Elite (Thermo Scientific)進行胜肽鑑定。

結果

【0045】 表13係於H/D交換及胃蛋白酶分解後，利用MALDI-TOF質譜測定法檢測之所有RSV-F胜肽質心值(m/z)差量之詳細比較。對應於胺基酸161-171 [EGEVNKKISAL，(SEQ ID NO: 355)]與SEQ ID NO: 354之172-188 [LSTNKAVVSLSNGVSVL，(SEQ ID NO: 356)]的兩個區段具有高於0.20之質心值差量(其被視為係指示抗體-蛋白質接觸所觀察之固有閾值)，因此為抗原決定區。亦應注意的是，對應於胺基酸161-171之胜肽訊息由於低訊息噪聲而未於10分鐘之啟動交換實驗中定量。然而，5分鐘之啟動交換實驗時檢測之0.88差量值則遠高於0.2之閾值，並可歸因於RSV-F結合於H1H3592P3後，H/D交換率上之顯著變化。

【0046】 再者，對應於胺基酸172-188之胜肽區段含有對H1H3592P3治療具抗性的兩個RSV逃脫突變體胺基酸(S173Y與T174K，參見實例7)，表示此二胺基酸於抗體結合及病毒中和中起作用。因此，定序逃脫RSV突變體以及H/D交換之組合，支撐SEQ ID NO: 354胺基酸161-188至少部分地界定RSV-F中對抗體H1H3592P3之結合區。

表13. 於H1H3592P3不存在(溶液啟動/珠粒終止)及存在(珠粒啟動/珠粒終止)下，經氘化及再逆交換後，RSV-F胃蛋白酶分解胜肽之質心值(m/z)

97

No ID	1090.41	1090.45	0.04	1090.48	1090.51	0.03
No ID	1143.51	1143.61	0.10	1143.53	1143.57	0.04
No ID	1325.52	1325.56	0.04	1325.54	1325.66	0.12
No ID	1353.69	1353.64	-0.06	1353.77	1353.61	-0.16
No ID	1550.39	1550.44	0.05	1550.45	1550.40	-0.05
No ID	2074.49	2074.41	-0.08	2074.52	2074.36	-0.15
No ID	2257.71	2257.70	-0.01	2257.89	2257.85	-0.04
No ID	2365.83	2365.72	-0.12	2365.94	2365.87	-0.07
No ID	2385.18	2385.17	-0.01	2385.23	2385.25	0.02
No ID	2405.22	2405.09	-0.12	2405.17	2405.15	-0.02
No ID	2456.18	2456.24	0.07	2456.14	2456.09	-0.05
No ID	2513.28	2513.26	-0.01	2513.32	2513.19	-0.14

實例9. 呼吸道融合病毒融合(RSV-F)蛋白質抗體針對RSV亞型A與亞型B實驗室病毒株展現強效中和能力

【0047】 於RSV微中和反應檢定中測試H1H3592P3及對照組I與II抗體以確定效價。簡言之，將培養於補充5% Hyclone FBS、L-麩醯胺與抗生素之DMEM 1x培養基中之10⁴個HEp-2細胞接種入96槽透明黑底微量盤中，培育16-18小時(37°C，5% CO₂)。接著，起始於666 nM，隨後在培養基中進行1:5稀釋之各種濃度之抗體，以0.04之MOI，與ATCC提供之各種RSV亞型A實驗室病毒株一起培養2小時(37C，5% CO₂)；納入無病毒及不相關之同型對照組。

【0048】 培育後，添加抗體:病毒混合物至HEp-2細胞，維持感染3天。於2% PFA中固定細胞，使用山羊抗RSV/抗山羊HRP抗體進行ELISA，以測定感染程度。添加發光試劑至各槽，使用微量盤讀取計(Victor X3，Perkin Elmer)檢測信號。於11點反應曲線上，利用三參數對數方程式分析發光值(GraphPad Prism)。

【0049】 本發明抗體針對RSV實驗室病毒株展現廣範圍之中和活性(表14)。相較於對照組II，抗體H1H3592P3與AM22對RSV亞型A實驗室病毒



株顯示相似之效力。相較於對照組I，H1H3592P3顯示15-17倍多之效力(IC50 44-140 pM)，而AM22顯示9-23倍多之效力(IC50 86-91 pM) (表14)。至於亞型B，抗體H1H3592P3相較於對照組II顯示相似之效力，但是優於AM22與對照組I。相較於對照組I，H1H3592P3顯示2-5倍多之效力(IC50 33-230 pM)，而AM22顯示0.13-2倍多之效力(IC50 190-2508 pM)。

【0050】 此實例展示本發明抗體於活體外中和得自亞型A與B數個RSV實驗室病毒株之功效，較所確立對照組先前之展示具更大效力。

表 14

亞型/病毒株	H1H3592P3 IC50 (pM)	對照組 I IC50 (pM)	對照組 II IC50 (pM)	對照組 III IC50 (pM)
A/A2	140	2080	202	91
A/Long	44	752	83	86
B/18537	230	1190	187	660
B/1400	33	113	38	190
B/1A2	48	223	40	580
B/9320	151	338	76	2508

實例10. 呼吸道融合病毒融合(RSV-F)蛋白質抗體針對RSV亞型A臨床分離株展現強效中和能力

【0051】 於RSV微中和反應檢定中測試H1H3592P3及對照組I、II與III抗體以確定效價。簡言之，將培養於補充5% Hyclone FBS、L-麩醯胺與抗生素之DMEM 1x培養基中之10⁴個HEp-2細胞接種入96槽透明黑底微量盤中，培育16-18小時(37°C，5% CO₂)。接著，起始於666 nM，隨後在培養基中進行1:5稀釋之各種濃度之抗體，以0.015至0.128範圍內之MOI，與由Dr. Moore (Emory University)提供之各種RSV亞型A臨床分離株一起培養2小時(37C，5% CO₂)；納入無病毒及不相關之同型對照組。

【0052】 培育後，添加抗體:病毒混合物至HEp-2細胞，維持感染3天。



於2% PFA中固定細胞，使用山羊抗RSV/抗山羊HRP抗體進行ELISA，以測定感染程度。添加發光試劑至各槽，使用微量盤讀取計(Victor X3，Perkin Elmer)檢測信號。於11點反應曲線上，利用三參數對數方程式分析發光值(GraphPad Prism)。

【0053】 本發明抗體針對RSV臨床分離株展現廣範圍之中和活性(表15)。抗體H1H3592P3對多數臨床分離株顯示與對照組II和III相似之效力。相較於對照組I，H1H3592P3顯示10-22倍多之效力(IC50 34-66 pM) (表15)。

【0054】 此實例展示本發明抗體於活體外中和數個RSV臨床分離之功效，較所確立對照組先前之展示具更大效力。

表 15. RSV-F 抗體針對 RSV 亞型 A 臨床分離株展現強效中和能力

	MOI	H1H3592P3 IC50 (pM)	對照組 I IC50 (pM)	對照組 II IC50 (pM)	對照組 III IC50 (pM)	基因庫
A2001/2-20	0.016	43	935	74	72	JX069798.1
A2001/3-12	0.018	66	1259	129	60	JX069799.1
A1997/12-35	0.015	40	478	41	20	JX069800.1
A1998/3-2	0.128	35	344	36	31	JX069801.1
A1998/12-21	0.026	34	580	68	43	JX069802.1
A2000/3-4	0.040	50	899	88	55	JX069803.1

實例11. H1H3592P3利用抑制病毒與細胞膜之融合封阻病毒進入

【0055】 進行研究以確定本發明抗體封阻呼吸道融合病毒(RSV)感染之機制。測試本發明之一例示抗體，H1H3592P3，以確定其是否具預防/抑制RSV與宿主細胞融合之作用(圖2A與2B)。對照組I (根據帕利珠單抗序列之正對照單株抗體)之作用機制先前已被敘述為抑制病毒與宿主細胞之融合[Huang *et al.*, J. of Virol., (2010), Aug. 84(16):8132-40]。由於RSV-F涉及經由宿主受體核仁素之交互作用與細胞連結，以及病毒與原生質膜之融合，因此乃進行分析以確定H1H3592P3之機制。



【0056】 連結分析(圖2A)之進行係於H1H3592P3或者正對照抗體(對照組I)存在下，培育RSV (亞型A，病毒株A2)，接著於4°C培育該混合物與HEp-2細胞一小時，令病毒與細胞結合。洗掉未結合之病毒，固定細胞，利用ELISA測定病毒之連結百分比。使用封阻RSV連結之肝素作為對照組。

【0057】 病毒融合之檢測係於4°C令病毒連結，洗掉未結合之病毒，然後與H1H3592P3、正對照組I、或同型負對照組抗體於4°C一起培育，將細胞移至37°C，以促進病毒融合與進入。3天後，利用ELISA測定病毒感染(圖2B)。RLU：相對發光單位。

【0058】 H1H3592P3，和對照組I一樣，封阻RSV融合，RSV未連結於細胞表面，而同型(陰性)對照單株抗體則對病毒融合無影響(圖2B)。肝素有效封阻RSV連結於細胞[Hallack *et al.*, Virology (2000), 271(2):264-75]，而無一抗體抑制RSV連結(圖2A)。於此分析型式中，H1H3592P3以230pM之IC₅₀封阻病毒融合，而正對照單株抗體(對照組I)則以IC₅₀ 1nM封阻病毒融合(圖2B)。RSV亞型B病毒株觀察到相似結果(數據未顯示)。

實例12. 抗RSV-F抗體結合於RSV-F之八位元(Octet)交叉競爭

【0059】 於Octet® HTX生物感測器(Pall ForteBio Corp.)上，使用即時、無標記生物層干涉法分析，測定一組抗RSV-F單株抗體間之結合競爭。整個實驗係於25°C，在HBST動力學緩衝液(0.01 M HEPES pH7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA、0.05% v/v界面活性劑Tween-20、0.1毫克/毫升BSA)中進行，盤振盪速度1000 rpm。為了評估兩個抗體是否能彼此競爭結合於經表現具C端之myc-myc-六組胺酸標誌(RSV-F-mmH)之重組RSV-F蛋白質上之其各自之抗原決定區，先將生物感測器浸於含重組RSV-F-mmH之10微克/毫升溶液之各槽中3分鐘，以於塗覆抗Penta-His抗體之Octet生物感測器

(Fortebio Inc, Cat# 18-5079)上捕捉大約0.36nm RSV-F-mmH。然後浸於含 mAb-1之100-200微克/毫升溶液之各槽10分鐘，使生物感測器捕獲之抗原與第一個抗RSV-F單株抗體(其後簡稱mAb-1)飽和。隨後使生物感測器浸入含第二個抗RSV-F單株抗體(其後簡稱mAb-2)之100-200微克/毫升溶液之各槽5分鐘，以檢查先行與mAb-1結合的RSV-F-mmH與mAb-2之結合。實驗之每一步驟間，以HBST動力學緩衝液洗滌生物感測器。監測整個實驗期間之即時結合反應，並記錄所有步驟之結合反應。測定先行與mAb-1結合的RSV-F-mmH與mAb-2之結合反應，確定不同抗RSV-F單株抗體之競爭性/非競爭性行為。

結果

【0060】 於Octet® HTX上進行之連續結合研究展示，沒有任何抗RSV-F單株抗體互相競爭，且能非競爭性地結合於RSV-F-mmH。如表16所示，黑色字體暗灰格子表明係自我競爭之結合反應。表明不同結合抗原決定區之抗體間不存在競爭以黑色字體白格子表示。第一個抗RSV-F單株抗體(mAb-1)與抗His捕捉之RSV-F-mmH蛋白質之結合未妨礙第二個抗RSV-F單株抗體(mAb-2)之結合。就此研究中之所有抗RSV-F單株抗體而言，發現所觀察之mAb-2結合訊息與mAb-1不存在下(無mAb)之觀察相若。此外，發現所有抗RSV-F單株抗體所觀察之mAb-2結合與抗RSV-F抗體之結合順序無關；表明研究調查中之抗RSV-F抗體具有不同結合抗原決定區。

表 16. 抗 RSV-F 單株抗體之交叉競爭

				mAb-2 與所捕獲 RSV-F-mmH & mAb-1 預複合物之結合			
mAb-1	所捕獲 10 微 克/毫升	100-200 微 克/毫升	mAb#	1	2	3	4



	RSV_F.mmh 之量± Std Dev (nm)	mAb-1 結合 量(nm)					
比較組 III (AM-22)	0.36 ± 0.01	0.33 ± 0.01	1	0.01	0.34	0.44	0.00
H1H3592P3	0.36 ± 0.01	0.35 ± 0.01	2	0.26	0.00	0.30	0.00
比較組 I (帕利珠單抗)	0.39 ± 0.01	0.45 ± 0.02	3	0.29	0.23	0.01	-0.01
無 mAb	0.36 ± 0.01	-0.01 ± 0.01	4	0.20	0.17	0.36	0.00

序列表

<110> 再生元醫藥公司

<120> 針對呼吸道融合病毒F蛋白質的人類抗體及其使用方法

<130> 1800-WO

<140> TBA

<141>

<150> 61/782,215

<151> 2013-03-14

<150> 61/911,093

<151> 2013-12-03

<160> 364

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 366

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 1

caggtgcagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	citctggagg	caccctcagt	aataacgctt	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gttgggaggg	itcaaccgga	tctttgatac	tgcaaaactac	180
gcgcaaaagt	tccagggcag	aatcacgata	accctggacg	catccacggg	cacagtctac	240
atggaactga	gcagcctgag	atctgaggac	acgggcgtgt	attactgcgc	gggaactggg	300
gcccattttg	agttctgggg	ccaggggaacc	ctggtcaccg	tctcctcagc	ctccaccaag	360
ggccca						366

<210> 2

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 2

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	Leu	Ser	Asn	Asn
			20					25					30		
Ala	Phe	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Leu
		35					40					45			

Gly Gly Phe Asn Pro Ile Phe Asp Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ile Thr Ile Thr Leu Asp Ala Ser Thr Gly Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Gly Thr Gly Ala His Phe Glu Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120

<210> 3
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 3
ggaggcaccc tcagtaataa cgct 24

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 4
Gly Gly Thr Leu Ser Asn Asn Ala
1 5

<210> 5
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 5
ttcaaccgga tctttgatac tgca 24

<210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成





<400> 6
Phe Asn Pro Ile Phe Asp Thr Ala
1 5

<210> 7
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 7
gcgggaactg gggcccatTT tgagttc 27

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 8
Ala Gly Thr Gly Ala His Phe Glu Phe
1 5

<210> 9
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 9
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc ggacaagtca gagcattagc acctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
ggaaaagccc ctaagttcct gatctatgct gcatccacct tacaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agtgtcagtg tcccgtacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 10
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Val Ser Val Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 11
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 11
cagagcatta gcacctat 18

<210> 12
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 12
Gln Ser Ile Ser Thr Tyr
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 13
gctgcatcc 9

<210> 14
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列



<220>
<223> 合成

<400> 14
Ala Ala Ser
1

<210> 15
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 15
caacagagtg tcagtgtccc gtacact 27

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 16
Gln Gln Ser Val Ser Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 17
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 17
caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccitcaat agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacattc atatggtctg atggaagtaa taaatattat 180
ttagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggcigtat attactgtgc gagaagtgga 300
ctagcctcct attattatta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcacctgc 360
tcctca 366

<210> 18
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 18
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Thr Phe Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Leu Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Gly Leu Ala Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 19
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 19
ggattcacct tcaatagtta tggc 24

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 20
Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr Gly
1 5

<210> 21
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 21
atatggtctg atggaagtaa taaa 24



<210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 22
Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 23
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 23
gcgagaagtg gactagcctc ctattattat tacggtatgg acgtc 45

<210> 24
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 24
Ala Arg Ser Gly Leu Ala Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 25
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 25
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatggt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcaactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg ccacttattc ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 26

<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 26
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Ser Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 27
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 27
cagggcatta gaaatgat 18

<210> 28
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 28
Gln Gly Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成



<400> 29
ggtgcatcc 9

<210> 30
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 30
Gly Ala Ser
1

<210> 31
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 31
ctacagcata atagttaccc gtggacg 27

<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 32
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 33
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 33
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtcgggatt caccctcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggtatct ctatggtatg atggaagtaa taaacactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacattgtat 240
ttgcaaatga atagtctgag agccgaggac acggctgtat attactgtgc gagaagtgga 300

ctagcctcct attattatta cagtatggac gtcctggggcc aaggggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 34
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 34
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Val Phe Leu Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Gly Leu Ala Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 35
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 35
ggattcacct tcagtagtta tggc 24

<210> 36
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 36
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 37



<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 37
ctatggtatg atggaagtaa taaa 24

<210> 38
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 38
Leu Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 39
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 39
gcgagaagtg gactagcctc ctattattat tacagtatgg acgtc 45

<210> 40
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 40
Ala Arg Ser Gly Leu Ala Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 41
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 41
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatggt gcatccagtt tacacagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa itcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttattc ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gticggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 42
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 42
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Ser Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 43
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 43
cagggcatta gaaatgat 18

<210> 44
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 44
Gln Gly Ile Arg Asn Asp
1 5



<210> 45
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 45
ggtgcatcc

9

<210> 46
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 46
Gly Ala Ser
1

<210> 47
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 47
ctacagcata atagttaccc gtggacg

27

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 48
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 49
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 49
cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggccctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg ctctcggata caccctcacc ggctattatc tacactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta ccagtgggtg cactaaactat 180
gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag tgcagccctc 240
atggagctga gtaggctgag atctgacgac acggccgtgt atcacgtgac gagagaattt 300
tggccccacg gtaatggacgt ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 50
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 50
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Thr Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Ala Ala Phe
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr His Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Phe Trp Pro His Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 51
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 51
ggatacaccc tcaccggcta ttat 24

<210> 52
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>



<223> 合成

<400> 52
Gly Tyr Thr Leu Thr Gly Tyr Tyr
1 5

<210> 53
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 53
atcaacccta ccagtgggtgg caca 24

<210> 54
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 54
Ile Asn Pro Thr Ser Gly Gly Thr
1 5

<210> 55
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 55
gcgagagaat tttggcccca cggtatggac gtc 33

<210> 56
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 56
Ala Arg Glu Phe Trp Pro His Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 57
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 57
gccatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca ggccattaga aatgatitag gctgggatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ciaagctcct gatctatgct tcatccagtt tacaaagtgg ggtcccttca 180
aggttcagcg gcagtggatc tggcacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcttgca gattacaaat acacgtggac gticggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 58
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 58
Ala Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ala Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ser Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Ala Asp Tyr Lys Tyr Thr Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 59
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 59
caggccatta gaaatgat 18

<210> 60
<211> 6
<212> PRT



<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 60

Gln Ala Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 61

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 61

gcttcatcc

9

<210> 62

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 62

Ala Ser Ser
1

<210> 63

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 63

cttgagatt acaaatacac gtggacg

27

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 64

Leu Ala Asp Tyr Lys Tyr Thr Trp Thr

1

5

<210> 65
 <211> 378
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 65
 gaggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc ttggtacacc cggggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgaag ccctctggatt cacacttagc agccatgtca tgagctgggt ccgccagggt 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtctcacgt atcagtggtc ctggaggtag tacaaagtat 180
 gcggactccg tgcagggccg gtccaccacc tccagagaca actccaagaa caccctgtat 240
 ctacaaatga acagcctgat agccgaggac tcggccgcat attactgtgc gaaagggggg 300
 ggatatagtg gctacgattg ggacttttat tacggtatgg acgtctgggg ccaaggggacc 360
 acggtcaccg tctcctca 378

<210> 66
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 66
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser His
 20 25 30
 Val Met Ser Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Arg Ile Ser Gly Pro Gly Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Gln Gly Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Ile Ala Glu Asp Ser Ala Ala Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Gly Gly Tyr Ser Gly Tyr Asp Trp Asp Phe Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 67
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成



<400> 67
ggattcacac ttagcagcca tgtc 24

<210> 68
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 68
Gly Phe Thr Leu Ser Ser His Val
1 5

<210> 69
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 69
atcagtggtc ctggtggtag taca 24

<210> 70
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 70
Ile Ser Gly Pro Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 71
<211> 57
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 71
gcgaaagggg ggggatatag tggctacgat tgggactttt attacggtat ggacgtc 57

<210> 72
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 72

Ala Lys Gly Gly Gly Tyr Ser Gly Tyr Asp Trp Asp Phe Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15
 Met Asp Val

<210> 73

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 73

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtc gggatattag agctggtag cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattitg caacttacta ttgtcaacag actaacagtt tccctctcac tttcggcgga 300
 gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 74

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105

<210> 75

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 75
cagggtatta gcagctgg

18

<210> 76
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 76
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 77
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 77
gctgcatcc

9

<210> 78
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 78
Ala Ala Ser
1

<210> 79
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 79
caacagacta acagtttccc tctcact

27

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 80
Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 81
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 81
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagt ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg ctcttgagg caccctcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
ccgggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac aggaaattac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accacggacg aatccacgag cacagcctat 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attattgtgc gagagatagc 300
agctcgtccc cgaggtacta cggtatggac gtctggggcc acgggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 82
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 82
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Ser Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Gly Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Thr Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Ser Ser Ser Ser Pro Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly His Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser



115 120

<210> 83
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 83
ggaggcacct tcagcagcta tgct 24

<210> 84
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 84
Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 85
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 85
atcatcccta tctttggtac agga 24

<210> 86
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 86
Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Gly
1 5

<210> 87
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 87
gcgagagata gcagctcgtc cccgagggtac tacgggtatgg acgtc 45

<210> 88
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 88
Ala Arg Asp Ser Ser Ser Ser Pro Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 89
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 89
gaaatttgtt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtggtacc agctacttag cctggtacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gtatccaaga gggccactgg catccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg caacttatta tigtacgcag cgtagcaact ggccctccac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 90
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 90
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Val Ser Lys Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80



Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 91
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 91
cagagtgtta ccagctac 18

<210> 92
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 92
Gln Ser Val Thr Ser Tyr
1 5

<210> 93
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 93
gatgtatcc 9

<210> 94
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 94
Asp Val Ser
1

<210> 95

<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 95
cagcagcgta gcaactggcc tcccacc 27

<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 96
Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr
1 5

<210> 97
<211> 375
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 97
gaggigcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttgggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgaag cctctggatt cacctttagt acctattgga tgagtgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctagagtg ggtggccaac ataaaacaag atggaagtgt gaaatacttt 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccgtc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctctgt atcactgtgc gagagagagg 300
cacagaggga gctactacgg ctactacgac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cctca 375

<210> 98
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 98
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45



11

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Val Lys Tyr Phe Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr His Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Arg His Arg Gly Ser Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Asp Gly Met
100 105 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 99
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 99
ggattcacct ttagtaccta ttgg 24

<210> 100
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 100
Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Trp
1 5

<210> 101
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 101
ataaaacaag atggaagtgt gaaa 24

<210> 102
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 102
Ile Lys Gln Asp Gly Ser Val Lys
1 5

<210> 103
<211> 54
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 103
gcgagagaga ggcacagagg gagctactac ggctactacg acggtatgga cgtc 54

<210> 104
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 104
Ala Arg Glu Arg His Arg Gly Ser Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Asp Gly Met
1 5 10 15
Asp Val

<210> 105
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 105
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca aaacattgac atctatttaa attggtatca ggagaggcca 120
gggaaagccc ctaatctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggctcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagtag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacaata ccccggtcac ttctggcggc 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 106
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 106
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asp Ile Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Glu Arg Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 107
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 107
caaaacattg acatctat 18

<210> 108
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 108
Gln Asn Ile Asp Ile Tyr
1 5

<210> 109
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 109
gctgcatcc 9

<210> 110
<211> 3
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 110

Ala Ala Ser
1

<210> 111

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 111

caacagagtt acaatacccc gttcact 27

<210> 112

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 112

Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 113

<211> 369

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 113

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccittgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaaact 120
ccaggggaagg gcctggagtg gatctcaggt attagtggga gtagtggtac catagtctat 180
gcagactctg tgaagggccg cttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaatga acagtctgag aggtgaggac acggccttgt atcactgtgc aaaagatggg 300
tataggtgga agtcctactc gtacggtttg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 114

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列



<220>
<223> 合成

<400> 114
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Ser Ser Gly Thr Ile Val Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Leu Tyr His Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Gly Tyr Arg Trp Lys Ser Tyr Ser Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 115
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 115
ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

<210> 116
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 116
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

<210> 117
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 117
attagttgga gtagtggtac cata

24

<210> 118
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 118
Ile Ser Trp Ser Ser Gly Thr Ile
1 5

<210> 119
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 119
gcaaaagatg ggtatagggtg gaagtcctac tcgtacgggtt tggacgtc

48

<210> 120
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 120
Ala Lys Asp Gly Tyr Arg Trp Lys Ser Tyr Ser Tyr Gly Leu Asp Val
1 5 10 15

<210> 121
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 121
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctctctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca ggcccagtc gagtggtatc aataacttag cctggtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccagactcct catcttttgt gcatcctcca gggccactgg tatcccagcc 180
agattcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
gaagattttg cactttatta ctgtcagcag tataataact ggccgctcac ctfcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321



<210> 122
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 122
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Pro Ser Gln Ser Val Ile Asn Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 123
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 123
cagagtgtta tcaataac 18

<210> 124
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 124
Gln Ser Val Ile Asn Asn
1 5

<210> 125
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 125
ggtgcatcc 9

<210> 126
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 126
Gly Ala Ser
1

<210> 127
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 127
cagcagtata ataactggcc gctcacc 27

<210> 128
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 128
Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 129
<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 129
gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggagac ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tccctgtgtag cctctggatt cacccttggat gattatgccca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt gttagttgga gtggtagtagt cgtaggctat 180



gcggactctg tgaagggccg attcaccgtc tccagagaca acgcccagaa atccctgtat 240
ctacaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgt aaaagacgcg 300
tataaatgga actactacta ctacggtttg gacgtctggg gccaaggac caggtcacc 360
gtctctca 369

<210> 130
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 130
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Val Ser Trp Ser Gly Ser Thr Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Gln Lys Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Lys Asp Ala Tyr Lys Trp Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 131
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 131
ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

<210> 132
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 132
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

<210> 133
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 133
gttagttgga gtggtagtac cgta 24

<210> 134
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 134
Val Ser Trp Ser Gly Ser Thr Val
1 5

<210> 135
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 135
gtaaaagacg cgtataaatg gaactactac tactacgggtt tggacgtc 48

<210> 136
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 136
Val Lys Asp Ala Tyr Lys Trp Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
1 5 10 15

<210> 137
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>



<223> 合成

<400> 137
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gactattctc agcaacttag cctggtacct acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tctcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcaacttca ccatcagcag cctgcagtct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 138
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 138
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Leu Ser Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Leu Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 139
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 139
cagactattc tcagcaac 18

<210> 140
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 140

Gln Thr Ile Leu Ser Asn
1 5

<210> 141
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 141
ggtgcatcc

9

<210> 142
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 142
Gly Ala Ser
1

<210> 143
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 143
cagcagtata ataactggcc tctcact

27

<210> 144
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 144
Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 145
<211> 369
<212> DNA



<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 145

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtggag cctctggatt caccittagg gactttgaca tgaattgggt ccgtcaggct 120
ccaggggaggg ggctggagtg ggtctcaggt attggtggta gtggtggtaa cacatattac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccata tccagggaca attccaaaaa cacgctgttt 240
ctgcaaata ga gcagcctgag agccgaggac acggccgttt attactgtgt gaaagatccc 300
tatggtgact ataggaacta ctacgggatg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 146

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 146

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Phe
20 25 30
Asp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Gly Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Lys Asp Pro Tyr Gly Asp Tyr Arg Asn Tyr Tyr Gly Met Asp Val
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 147

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 147

ggattcacct ttagggactt tgac 24

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 148

Gly Phe Thr Phe Arg Asp Phe Asp
1 5

<210> 149

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 149

attggtggta gtggtggtaa caca 24

<210> 150

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 150

Ile Gly Gly Ser Gly Gly Asn Thr
1 5

<210> 151

<211> 48

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 151

gtgaaagatc cctatggta ctataggaac tactacggta tggacgtc 48

<210> 152

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 152

Val Lys Asp Pro Tyr Gly Asp Tyr Arg Asn Tyr Tyr Gly Met Asp Val



15

10

5

1

<210> 153
<211> 333
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 153
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctccta catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacaa ctcctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacagggt caggggcagt ggatcagaca aggactttac actgaaaatc 240
agcagagtgg gggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactatc 300
accttcggcc aagggacacg actggagatt aaa 333

<210> 154
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 154
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 Ser
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
Asp Arg Phe Arg Gly Ser Gly Ser Asp Lys Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Gly Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95
Leu Gln Thr Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 155
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 155
cagagcctcc tacatagtaa tggatacaac tat 33

<210> 156
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 156
Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 157
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 157
ttgggttct

9

<210> 158
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 158
Leu Gly Ser
1

<210> 159
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 159
atgcaagctc tacaaactat cacc

24

<210> 160
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成



<400> 160
Met Gln Ala Leu Gln Thr Ile Thr
1 5

<210> 161
<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 161
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttgggacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtggag cctctggatt catgtttaga aactatgcca tgagttgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact attcttgata gtggtgataa cacatattac 180
gcagactccg tgaagggccg gtccaccatc tccagggaca attccaagaa cacactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgttt attactgtgc gaaagatccc 300
tatggtgact acagggacta ctacggtatg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 162
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 162
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Gly Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Phe Met Phe Arg Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Thr Ile Leu Asp Ser Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Pro Tyr Gly Asp Tyr Arg Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 163
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>		
<223>	合成	
<400>	163	
	ggattcatgt ttagaaacta tgcc	24
<210>	164	
<211>	8	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<400>	164	
	Gly Phe Met Phe Arg Asn Tyr Ala	
	1 5	
<210>	165	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<400>	165	
	attcttgata gtggtgataa caca	24
<210>	166	
<211>	8	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<400>	166	
	Ile Leu Asp Ser Gly Asp Asn Thr	
	1 5	
<210>	167	
<211>	48	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成	
<400>	167	
	gcgaaagatc cctatgggtga ctacaggac tactacggta tggacgtc	48
<210>	168	



<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 168
Ala Lys Asp Pro Tyr Gly Asp Tyr Arg Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 169
<211> 333
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 169
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctccta catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccgcaa ctccctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacagggt caggggcagt ggatcaggca aagacittac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttggactt tattactgca tgcaagctct acaaactatc 300
accttcggcc aaggacacg actggagatt aaa 333

<210> 170
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 170
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 Ser
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
Asp Arg Phe Arg Gly Ser Gly Ser Gly Lys Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95
Leu Gln Thr Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 171
<211> 33

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 171
cagagcctcc tacatagtaa tggatacaac tat 33

<210> 172
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 172
Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 173
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 173
ttgggttct 9

<210> 174
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 174
Leu Gly Ser
1

<210> 175
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 175



atgcaagctc tacaaactat cacc

24

<210> 176
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 176
Met Gln Ala Leu Gln Thr Ile Thr
1 5

<210> 177
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 177
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt ggttactact ggacctggat ccggcagccc 120
ccagggaagg gactggagtg gattggatat atctattaca gtggggccac caactacaac 180
ccctccctca agagtcgagt caccatatca ttagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aaactgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt attgtgcgag agatgggaat 300
tacgatattt tgactggtta ttataactac cactattacg gcatggacgt ctggggccaa 360
gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 178
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 178
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Gly Tyr
20 25 30
Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Leu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Asp Gly Asn Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Asn Tyr His Tyr
100 105 110

Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 179
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 179
ggtggctcca tcagtggtta ctac 24

<210> 180
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 180
Gly Gly Ser Ile Ser Gly Tyr Tyr
1 5

<210> 181
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 181
atctattaca gtggggccac c 21

<210> 182
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 182
Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr
1 5

<210> 183
<211> 66
<212> DNA



<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 183
gcgagagatg ggaattacga tatTTtgact ggTtattata actaccacta ttacggcatg 60
gacgtc 66

<210> 184
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 184
Ala Arg Asp Gly Asn Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Asn Tyr His
1 5 10 15
Tyr Tyr Gly Met Asp Val
20

<210> 185
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 185
gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggacattggt aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctgagtcctt gatctatgct gcatccattt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatactt tcccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 186
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 186
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ile Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Phe Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 187
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 187
caggacattg gtaattat 18

<210> 188
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 188
Gln Asp Ile Gly Asn Tyr
1 5

<210> 189
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 189
gctgcatcc 9

<210> 190
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 190
Ala Ala Ser



1

<210> 191
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 191
caacagtata atactttccc gtggacg 27

<210> 192
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 192
Gln Gln Tyr Asn Thr Phe Pro Trp Thr
1 5

<210> 193
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 193
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgaggctc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gactactaca tgacctggat ccgtcaggct 120
ccagggaggg ggctggagtg ggtttcatac attagtata ctggcagtca cttatactac 180
gcagactctg tgagggggccg attcaccatc tccagggaca acgccaaaaa ctcactgtat 240
ctgcaaatga acaacctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gcgagatcag 300
gatggggaaa tggaactacg tttctttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 194
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 194
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Thr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Asp Thr Gly Ser His Leu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Asp Gly Glu Met Glu Leu Arg Phe Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 195
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 195
ggattcacct tcagtgacta ctac 24

<210> 196
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 196
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 197
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 197
attagtata ctggcagtca ctta 24

<210> 198
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列



<220>
<223> 合成

<400> 198
Ile Ser Asp Thr Gly Ser His Leu
1 5

<210> 199
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 199
gcgcgagatc aggatgggga aatggaacta cgtttctttg actac 45

<210> 200
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 200
Ala Arg Asp Gln Asp Gly Glu Met Glu Leu Arg Phe Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 201
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 201
gaaatagtgt tgacgcagtc tccagccact ctgtctttgt ctccagggga aagaggcacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtattaac aactacttag cctggtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctttgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcaacttca ccatcagcag aatagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtaccaact ggccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 202
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 202

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Gly Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Phe Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ile Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Thr Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 203

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 203

cagagtatta acaactac

18

<210> 204

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 204

Gln Ser Ile Asn Asn Tyr
1 5

<210> 205

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 205

gatgcatcc

9

<210> 206



<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 206
Asp Ala Ser
1

<210> 207
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 207
cagcagcgta ccaactggcc gtcact 27

<210> 208
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 208
Gln Gln Arg Thr Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 209
<211> 381
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 209
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg cticcatcagt aattactact ggagctggat ccggcagccc 120
ccagggaagg gactggagtg gattggatat atctattata gtgggagcac caagtacaac 180
ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aagctgagct ctgtgagcgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag agatgggggt 300
gtagcagcag ctggtcccc ttaccactac cactacggtt tggacgtctg gggccaaggg 360
accacgttca ccgtctcctc a 381

<210> 210
<211> 127

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 210
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Phe Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Ser Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Asp Gly Val Val Ala Ala Ala Gly Pro Pro Tyr His Tyr His Tyr
100 105 110
Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 211
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 211
ggtaggtttca tcagtaatta ctac 24

<210> 212
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 212
Gly Gly Phe Ile Ser Asn Tyr Tyr
1 5

<210> 213
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>



<223> 合成

<400> 213
atctattata gtgggagcac c 21

<210> 214
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 214
Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 215
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 215
gcgagagatg gggttgtagc agcagctggt ccccttacc actaccacta cggtttggac 60
gtc 63

<210> 216
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 216
Ala Arg Asp Gly Val Val Ala Ala Ala Gly Pro Pro Tyr His Tyr His
1 5 10 15
Tyr Gly Leu Asp Val
20

<210> 217
<211> 339
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 217
gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gaatctttta tacacctcca gcaataagaa ctccttagct 120
tggfaccagc agaaaccagg acagcctcct gagctgctca ttactgggc atctaccg 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cattctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtagt 300
ccgtggacgt tcggccaagg gaccaagggtg gaaatcaaa 339

<210> 218
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 218
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Asn Leu Leu Tyr Thr
20 25 30
Ser Ser Asn Lys Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Glu Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 219
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 219
cagaatcttt tatacacctc cagcaataag aactcc 36

<210> 220
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 220
Gln Asn Leu Leu Tyr Thr Ser Ser Asn Lys Asn Ser
1 5 10



<210> 221
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 221
tgggcatct

9

<210> 222
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 222
Trp Ala Ser
1

<210> 223
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 223
cagcaatatt atagtagtcc gtggacg

27

<210> 224
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 224
Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 225
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 225
caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttgggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccctcagt gactactaca tgacctggat ccgccagggt 120
ccagggaagg gactggagtg ggtttcatat atcagtagta ctgggaataa cagatattac 180
ggagactctg tgaagggccg attcgccatc tcaagggaca acgccaagaa cttactgttt 240
ctgcaaatac acagcctgaa agccgaggac acggccgttt attactgtgc aagagagaat 300
aattggaatc cttacttctt ctactatggg atggacgtct ggggccaagg gaccacgggc 360
accgtctcct ca 372

<210> 226
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 226
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Thr Trp Ile Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Ser Thr Gly Asn Asn Arg Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Leu Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Asn Asn Trp Asn Pro Tyr Phe Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 227
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 227
ggattcacct tcagtgacta ctac 24

<210> 228
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列



<220>
<223> 合成

<400> 228
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 229
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 229
atcagtagta ctgggaataa caga 24

<210> 230
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 230
Ile Ser Ser Thr Gly Asn Asn Arg
1 5

<210> 231
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 231
gcaagagaga ataattggaa tccttacttc ttctactatg gtatggacgt c 51

<210> 232
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 232
Ala Arg Glu Asn Asn Trp Asn Pro Tyr Phe Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15
Val

<210> 233
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 233
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggatattag atctggtag cctgggatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctctgct gcgtccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgttgac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 234
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 234
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ile Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Ser Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 235
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 235
cagggtatta gcactctgg



<210> 236
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 236
Gln Gly Ile Ser Ile Trp
1 5

<210> 237
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 237
gctgcggtcc

9

<210> 238
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 238
Ala Ala Ser
1

<210> 239
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 239
caacaggcta acagtttccc gttgacg

27

<210> 240
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 240
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 241
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 241
caggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccctcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatattatg aaggaagtaa tgattactat 180
gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaaaaa cacgctatat 240
ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaaggagc 300
tggaactcct ttgactattg gggccagggc accctgggtca ccgtctcctc a 351

<210> 242
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 242
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Tyr Tyr Glu Gly Ser Asn Asp Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Asp Trp Asn Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 243
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>



<223> 合成	
<400> 243 ggattcacct tcagtagcta tggc	24
<210> 244 <211> 8 <212> PRT <213> 人工序列	
<220> <223> 合成	
<400> 244 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly 1 5	
<210> 245 <211> 24 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成	
<400> 245 atatattatg aaggaagtaa tgat	24
<210> 246 <211> 8 <212> PRT <213> 人工序列	
<220> <223> 合成	
<400> 246 Ile Tyr Tyr Glu Gly Ser Asn Asp 1 5	
<210> 247 <211> 30 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成	
<400> 247 gcgagaaggg actggaactc ctttgactat	30
<210> 248 <211> 10	

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 248
Ala Arg Arg Asp Trp Asn Ser Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 249
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 249
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgtccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtccagica gaacctccta aatagaaatg gattcaacta ttggattgg 120
tatttgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggttgagga tgttgggggt tattattgca tgcaagctat acaaactccg 300
tacacitttg gccaggggac caagctggag atcaaaa 336

<210> 250
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 250
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Leu Leu Asn Arg
20 25 30
Asn Gly Phe 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
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Val Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95
Ile Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 251
<211> 33
<212> DNA



27

<210> 256
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 256
 Met Gln Ala Ile Gln Thr Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 257
 <211> 369
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 257
 gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggagac ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgtag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
 ccagggaagg gcctggagtg ggcttcagggt gttagtggga gtggtagtag cgtaggctat 180
 gcggactctg tgaagggccg attcaccgtc tccagagaca acgcccagaa atccctgtat 240
 ctacaaatga acagctcgag agctgaggac acggccttgt attactgtgt aaaagacgcg 300
 tataaatata actactacta ctacggtttg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
 gtctcctca 369

<210> 258
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 258
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Val Ser Trp Ser Gly Ser Thr Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Gln Lys Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Lys Asp Ala Tyr Lys Tyr Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 259
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 259
ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

<210> 260
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 260
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

<210> 261
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 261
gttagttgga gtggtagtac cgta 24

<210> 262
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 262
Val Ser Trp Ser Gly Ser Thr Val
1 5

<210> 263
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 263
gtaaaagacg cgtataaata caactactac tactacgggtt tggacgtc 48

<210> 264
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 264
Val Lys Asp Ala Tyr Lys Tyr Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
1 5 10 15

<210> 265
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 265
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gactattctc agcaacttag cctgggtacct acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tctcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtc 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggccctctac tticggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 266
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 266
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Leu Ser Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Leu Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80



Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu
85 90
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 267
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 267
cagactattc tcagcaac 18

<210> 268
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 268
Gln Thr Ile Leu Ser Asn
1 5

<210> 269
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 269
ggtgcatcc 9

<210> 270
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 270
Gly Ala Ser
1

<210> 271

<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 271
cagcagtata ataactggcc tctcact 27

<210> 272
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 272
Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 273
<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 273
gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggagac ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggatt caccctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt gttagtggga gtggtagtac cgtaggctat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccgtc tccagagaca acgcccagaa atccctgtat 240
ctacaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgt aaaagacgcg 300
tataaattca actactacta ctacggtttg gacgtctggg gccaaggac cacggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 274
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 274
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Val Ser Trp Ser Gly Ser Thr Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Gln Lys Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Lys Asp Ala Tyr Lys Phe Asn Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 275
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 275
ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

<210> 276
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 276
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

<210> 277
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 277
gttagttgga gtggtagtagtac cgta 24

<210> 278
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 278
Val Ser Trp Ser Gly Ser Thr Val
1 5

<210> 279
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 279
gtaaaagacg cgtataaatt caactactac tactacgggtt tggacgtc 48

<210> 280
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 280
Val Lys Asp Ala Tyr Lys Phe Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
1 5 10 15

<210> 281
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 281
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gactattctc agcaacttag cctgggtacct acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggg gcatccacca gggccactgg tctcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggccctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 282
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 282
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Leu Ser Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Leu Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 283
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 283
cagactattc tcagcaac 18

<210> 284
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 284
Gln Thr Ile Leu Ser Asn
1 5

<210> 285
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 285
ggtgcatcc 9

<210> 286
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 286
Gly Ala Ser
1

<210> 287
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 287
cagcagtata ataactggcc tctcact 27

<210> 288
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 288
Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 289
<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 289
cagggtgcagc tggagcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaggatc 60
tcctglaagg ctcttggcga caccttcacc ggctactata taaactgggt gcgccaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaatacta acagtgggtgg cacatacttt 180
tcacagaaat ttcaggctcag ggtcatcctg accaggggaca cgtccaatcaa cacagcctac 240
atggagttga gcaggctgag atctgacgac acggccgttt attactgtgc gagaatgttt 300
tacgatattt tgactaattc tgatattttt gatatttggg gccaaaggac aatggtcacc 360
gtctcttca 369

<210> 290
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 290

Gln Val Gln Leu Glu Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Asn Ser Gly Gly Thr Tyr Phe Ser Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Val Arg Val Ile Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Met Phe Tyr Asp Ile Leu Thr Asn Ser Asp Ile Phe Asp Ile
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 291
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 291
ggcgacacct tcaccggcta ctat

24

<210> 292
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 292
Gly Asp Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr
1 5

<210> 293
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 293
atcaatacta acagtgggtgg caca

24

<210> 294
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 294
Ile Asn Thr Asn Ser Gly Gly Thr
1 5

<210> 295
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 295
gcgagaatgt tttacgatat tttgactaat tctgatatit ttgatatt 48

<210> 296
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 296
Ala Arg Met Phe Tyr Asp Ile Leu Thr Asn Ser Asp Ile Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 297
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 297
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca ggacataaga aatgatttag gctggatatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtgcct gatctatggt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtgatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtctacaa cataaaaaatt acatgtacac ttttggccag 300
gggaccaagt tggagatcaa a 321

<210> 298

<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 298
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Cys Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Lys Asn Tyr Met Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 299
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 299
caggacataa gaaatgat 18

<210> 300
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 300
Gln Asp Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 301
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 301
ggtgcatcc

9

<210> 302
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 302
Gly Ala Ser
1

<210> 303
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 303
ctacaacata aaaattacat gtacact

27

<210> 304
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 304
Leu Gln His Lys Asn Tyr Met Tyr Thr
1 5

<210> 305
<211> 345
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 305
caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctatggtgg gtccctcagt gattactact ggagctggat ccgccagccc 120
ccaggggaagg ggctggagtg gattggggaa atcaatcata gtggagacac caactacgac 180
ccgtccctca agagtcgact caccatctca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aagctgaact ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt actgtgcgag cctgtatttc 300

aatttttggga tgtgggggtcg aggagccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 306
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 306
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Leu Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Asp Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Leu Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Ser Leu Tyr Phe Asn Phe Trp Met Trp Gly Arg Gly Ala Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 307
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 307
ggtgggtccc tcagtgatta ctac 24

<210> 308
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 308
Gly Gly Ser Leu Ser Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 309
<211> 21

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 309
atcaatcata gtggagacac c 21

<210> 310
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 310
Ile Asn His Ser Gly Asp Thr
1 5

<210> 311
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 311
gcgagcctgt atttcaattt ttggatg 27

<210> 312
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 312
Ala Ser Leu Tyr Phe Asn Phe Trp Met
1 5

<210> 313
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 313

gatatttgtga tgacccagac tccactctcc tcacctgtca ttcttggaca gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca aagcctcgta tacagtgaig gaaacaccta cttagattgg 120
cttcagcaga ggccaggcca gcctccaaga ctccctaattt ataagatttc taaccggttc 180
tctgggggtcc cagacagatt cagtggcagt gggacaggga cagatttcac actgaaaatc 240
agcagggtgg aagctgagga tgtcggaatt tattactgca tgcaaactac acaatttcg 300
ctcactttcg gcggagggaac caaggtggag atcaaa 336

<210> 314
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 314
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro Val Ile Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser
20 25 30
Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
35 40 45
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Thr
85 90 95
Thr Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 315
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 315
caaagcctcg tatacagtga tggaaacacc tac 33

<210> 316
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 316
Gln Ser Leu Val Tyr Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 317
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 317
aagatttct

9

<210> 318
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 318
Lys Ile Ser
1

<210> 319
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 319
atgcaaacta cacaatttcc gctcact

27

<210> 320
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 320
Met Gln Thr Thr Gln Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 321
<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 321
caggtgcagt tggagcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctgggacctc agtgaggatc 60
tcctgcaagg cttctggcga catcttcacc ggctactata tgaactgggt gcgccaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaatacta acagtgggtg cacatacttt 180
tcacagagat ttcagggcag ggtcacccctg accagggaca cgtccatcag aacagcctac 240
atggagttag gcaggctgag atctgacgac acggccgttt attactgtgc gagaatgttt 300
tacgatattt tgactggttc tgatgttttt gatatttggg gccaaaggac aatggtcacc 360
gtctcttca 369

<210> 322
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 322
Gln Val Gln Leu Glu Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15
Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Ile Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Asn Ser Gly Gly Thr Tyr Phe Ser Gln Arg Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Arg Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Met Phe Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Ser Asp Val Phe Asp Ile
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 323
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 323
ggcgacatct tcaccggcta ctat 24

<210> 324
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 324
Gly Asp Ile Phe Thr Gly Tyr Tyr
1 5

<210> 325
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 325
atcaatacta acagtgggtgg caca 24

<210> 326
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 326
Ile Asn Thr Asn Ser Gly Gly Thr
1 5

<210> 327
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 327
gcgagaatgt tttaacgatat tttgactggt tctgatgttt ttgatatt 48

<210> 328
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 328
Ala Arg Met Phe Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Ser Asp Val Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 329
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 329
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc 60
atcactttgcc gggcaagtca ggacataaga aatgatittag gctggtatca ccagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtgcct gatctatggg gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatct 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactcttca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtctacaa cataaaaatt acatgtacac ttttggccag 300
gggaccaagt tggagatcaa a 321

<210> 330
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 330
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Cys Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Lys Asn Tyr Met Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 331
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 331
caggacataa gaaatgat 18

<210> 332
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 332

Gln Asp Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 333

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 333

ggtgcatcc

9

<210> 334

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 334

Gly Ala Ser
1

<210> 335

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 335

ctacaacata aaaattacat gtacact

27

<210> 336

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 336

Leu Gln His Lys Asn Tyr Met Tyr Thr

1 5

<210> 337
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 337
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggttacagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccatcagt aattatgaaa tgaactgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatatc attagtacta gtggtattac catatactac 180
gcagactctg tgcagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcactgtat 240
ctgcaattga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gcggggatat 300
tgtacaaatg gtgtatgcta tccccattac tactactccg atatggacgt ctggggccaa 360
gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 338
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 338
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Thr Ser Gly Ile Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Tyr Pro His Tyr Tyr Tyr
100 105 110
Ser Asp Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 339
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 339
ggattcacca tcagtaatta tgaa 24

<210> 340
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 340
Gly Phe Thr Ile Ser Asn Tyr Glu
1 5

<210> 341
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 341
attagtacta gtggtattac cata 24

<210> 342
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 342
Ile Ser Thr Ser Gly Ile Thr Ile
1 5

<210> 343
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 343
gcgcggggat attgtacaaa tgggtgtatgc tatccccatt actactactc cgatatggac 60
gtc 63

<210> 344
<211> 21
<212> PRT

25

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 344

Ala Arg Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Tyr Pro His Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15
Ser Asp Met Asp Val
20

<210> 345

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 345

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagactcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gaccattagc acctatttaa attggtttca gcagaaagta 120
gggaatgccc ctaaactcct gatctattct acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccagca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta gtcctccgac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 346

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 346

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Leu Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Thr Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Val Gly Asn Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 347

<211> 18

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 347
cagaccatta gcacctat

18

<210> 348
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 348
Gln Thr Ile Ser Thr Tyr
1 5

<210> 349
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 349
tctacatcc

9

<210> 350
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 350
Ser Thr Ser
1

<210> 351
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 351

caacagagtt acagtagtcc tccgacg

27

<210> 352
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 352
Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Pro Thr
1 5

<210> 353
<211> 560
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 353
Met His Arg Pro Arg Arg Arg Gly Thr Arg Pro Pro Pro Leu Ala Leu
1 5 10 15
Leu Ala Ala Leu Leu Leu Ala Ala Arg Gly Ala Asp Ala Asn Ile Thr
20 25 30
Glu Glu Phe Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu
35 40 45
Ser Ala Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu
50 55 60
Ser Asn Ile Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys
65 70 75 80
Leu Ile Asn Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu
85 90 95
Gln Leu Leu Met Gln Ser Thr Thr Ala Ala Asn Asn Arg Ala Arg Arg
100 105 110
Glu Leu Pro Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Thr Lys Lys Thr
115 120 125
Asn Val Thr Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu
130 135 140
Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Ile Ala Val Ser Lys Val
145 150 155 160
Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser
165 170 175
Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr
180 185 190
Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro
195 200 205
Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Arg Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile
210 215 220
Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe
225 230 235 240
Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr

Asn	Ser	Glu	Leu	245	Leu	Ser	Leu	Ile	Asn	250	Asp	Met	Pro	Ile	Thr	255	Asn	Asp
Gln	Lys	Lys	260	Leu	Met	Ser	Asn	Asn	265	Val	Gln	Ile	Val	Arg	270	Gln	Gln	Ser
Tyr	Ser	Ile	275	Met	Ser	Ile	Ile	Lys	280	Glu	Glu	Val	Leu	Ala	285	Tyr	Val	Val
Gln	Leu	Pro	290	Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	295	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	300	Lys	Leu	His
305	Thr	Ser	Pro	Leu	Cys	Thr	Thr	Asn	310	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	315	Asn	Ile	Cys
Leu	Thr	Arg	325	Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	330	Tyr	Cys	Asp	Asn	Ala	335	Gly	Ser	Val
Ser	Phe	Phe	340	Pro	Gln	Ala	Glu	Thr	345	Cys	Lys	Val	Gln	Ser	350	Asn	Arg	Val
Phe	Cys	Asp	355	Thr	Met	Asn	Ser	Leu	360	Thr	Leu	Pro	Ser	Glu	365	Val	Asn	Leu
Cys	Asn	Val	370	Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	375	Lys	Tyr	Asp	Cys	Lys	380	Ile	Met	Thr
385	Ser	Lys	Thr	Asp	Val	Ser	Ser	Ser	390	Val	Ile	Thr	Ser	Leu	395	Gly	Ala	Ile
Val	Ser	Cys	405	Tyr	Gly	Lys	Thr	Lys	410	Cys	Thr	Ala	Ser	Asn	415	Lys	Asn	Arg
Gly	Ile	Ile	420	Lys	Thr	Phe	Ser	Asn	425	Gly	Cys	Asp	Tyr	Val	430	Ser	Asn	Lys
Gly	Val	Asp	435	Thr	Val	Ser	Val	Gly	440	Asn	Thr	Leu	Tyr	Tyr	445	Val	Asn	Lys
Gln	Glu	Gly	450	Lys	Ser	Leu	Tyr	Val	455	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	460	Ile	Asn	Phe
465	Tyr	Asp	Pro	Leu	Val	Phe	Pro	Ser	470	Asp	Glu	Phe	Asp	Ala	475	Ser	Ile	Ser
Gln	Val	Asn	485	Glu	Lys	Ile	Asn	Gln	490	Ser	Leu	Ala	Phe	Ile	495	Arg	Lys	Ser
Asp	Glu	Leu	500	Leu	His	His	Val	Asn	505	Ala	Gly	Lys	Ser	Thr	510	Thr	Asn	Ile
Met	Ile	Thr	515	Thr	Glu	Gln	Lys	Leu	520	Ile	Ser	Glu	Glu	Asp	525	Leu	Gly	Gly
Glu	Gln	Lys	530	Leu	Ile	Ser	Glu	Glu	535	Asp	Leu	His	His	His	540	His	His	His
545						550						555						560

<210> 354

<211> 574

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 354

Met	Glu	Leu	Pro	Ile	Leu	Lys	Ala	Asn	Ala	Ile	Thr	Thr	Ile	Leu	Ala
1				5				10					15		
Ala	Val	Thr	Phe	Cys	Phe	Ala	Ser	Ser	Gln	Asn	Ile	Thr	Glu	Glu	Phe
			20					25					30		
Tyr	Gln	Ser	Thr	Cys	Ser	Ala	Val	Ser	Lys	Gly	Tyr	Leu	Ser	Ala	Leu

Arg	Thr	Gly	Trp	Tyr	Thr	Ser	Val	Ile	Thr	Ile	Glu	Leu	Ser	Asn	Ile
	50					55					60				
Lys	Glu	Asn	Lys	Cys	Asn	Gly	Thr	Asp	Ala	Lys	Val	Lys	Leu	Ile	Asn
65					70					75				80	
Gln	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Lys	Asn	Ala	Val	Thr	Glu	Leu	Gln	Leu	Leu
				85					90					95	
Met	Gln	Ser	Thr	Thr	Ala	Ala	Asn	Asn	Arg	Ala	Arg	Arg	Glu	Leu	Pro
			100					105					110		
Arg	Phe	Met	Asn	Tyr	Thr	Leu	Asn	Asn	Thr	Lys	Lys	Thr	Asn	Val	Thr
		115					120					125			
Leu	Ser	Lys	Lys	Arg	Lys	Arg	Arg	Phe	Leu	Gly	Phe	Leu	Leu	Gly	Val
	130					135					140				
Gly	Ser	Ala	Ile	Ala	Ser	Gly	Ile	Ala	Val	Ser	Lys	Val	Leu	His	Leu
145					150					155				160	
Glu	Gly	Glu	Val	Asn	Lys	Ile	Lys	Ser	Ala	Leu	Leu	Ser	Thr	Asn	Lys
				165					170					175	
Ala	Val	Val	Ser	Leu	Ser	Asn	Gly	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Ser	Lys	Val
			180					185					190		
Leu	Asp	Leu	Lys	Asn	Tyr	Ile	Asp	Lys	Gln	Leu	Leu	Pro	Ile	Val	Asn
	195						200					205			
Lys	Gln	Ser	Cys	Arg	Ile	Ser	Asn	Ile	Glu	Thr	Val	Ile	Glu	Phe	Gln
	210					215					220				
Gln	Lys	Asn	Asn	Arg	Leu	Leu	Glu	Ile	Thr	Arg	Glu	Phe	Ser	Val	Asn
225					230					235				240	
Ala	Gly	Val	Thr	Thr	Pro	Val	Ser	Thr	Tyr	Met	Leu	Thr	Asn	Ser	Glu
				245					250					255	
Leu	Leu	Ser	Leu	Ile	Asn	Asp	Met	Pro	Ile	Thr	Asn	Asp	Gln	Lys	Lys
			260				265						270		
Leu	Met	Ser	Asn	Asn	Val	Gln	Ile	Val	Arg	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Ile
		275					280					285			
Met	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Val	Gln	Leu	Pro
	290					295					300				
Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	Lys	Leu	His	Thr	Ser	Pro
305					310					315				320	
Leu	Cys	Thr	Thr	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	Asn	Ile	Cys	Leu	Thr	Arg
				325					330					335	
Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn	Ala	Gly	Ser	Val	Ser	Phe	Phe
			340					345					350		
Pro	Gln	Ala	Glu	Thr	Cys	Lys	Val	Gln	Ser	Asn	Arg	Val	Phe	Cys	Asp
		355					360					365			
Thr	Met	Asn	Ser	Leu	Thr	Leu	Pro	Ser	Glu	Val	Asn	Leu	Cys	Asn	Val
	370					375					380				
Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	Lys	Tyr	Asp	Cys	Lys	Ile	Met	Thr	Ser	Lys	Thr
385					390					395				400	
Asp	Val	Ser	Ser	Ser	Val	Ile	Thr	Ser	Leu	Gly	Ala	Ile	Val	Ser	Cys
				405					410					415	
Tyr	Gly	Lys	Thr	Lys	Cys	Thr	Ala	Ser	Asn	Lys	Asn	Arg	Gly	Ile	Ile
			420					425					430		
Lys	Thr	Phe	Ser	Asn	Gly	Cys	Asp	Tyr	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Val	Asp
		435					440					445			
Thr	Val	Ser	Val	Gly	Asn	Thr	Leu	Tyr	Tyr	Val	Asn	Lys	Gln	Glu	Gly
	450					455					460				
Lys	Ser	Leu	Tyr	Val	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Ile	Asn	Phe	Tyr	Asp	Pro
465					470					475					480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
Leu His His Val Asn Ala Gly Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525
Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
 530 535 540
Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
545 550 555 560
Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 565 570

<210> 355
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 355
Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu
1 5 10

<210> 356
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 356
Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val
1 5 10 15
Leu

<210> 357
<211> 454
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成
 AM22 HC

<400> 357
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Thr Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Thr Leu Ile Lys Leu

<210> 358
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成
 AM22 LC

<400> 358
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ile Val Ser Arg Asn
 20 25 30
 His Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Val Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Gly Leu Ala
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Ser Ser Asp Ser Ser Ile
 85 90 95
 Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Phe Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160
 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175
 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 359
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成
 莫維珠單抗(Motavizumab) HC

<400> 359
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala

<210> 360
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成
 莫維珠單抗 LC

<400> 360
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 361
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成
 帕利珠單抗(Palivizumab) HC

<400> 361
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser

<210> 362
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成
 帕利珠單抗LC

<400> 362
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 363
 <211> 453
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 363
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

<210> 364
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 364
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Leu Ser Asn
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Leu Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

I659968

發明摘要

※ 申請案號：103108584

※ 申請日：103/03/12

※ I P C 分類：

C07K 16/10 (2006.01)

A61K 39/42 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

針對呼吸道融合病毒 F 蛋白質的人類抗體及其使用方法

HUMAN ANTIBODIES TO RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS F
PROTEIN AND METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本發明提供結合於呼吸道融合病毒F蛋白質之完全人類抗體、包含該抗體之組成物及使用方法。本發明抗體可用於防止病毒與細胞膜之融合及防止病毒於細胞間擴散，從而提供預防感染、或治療罹患感染病患及改善與該病毒感染關聯之一或多種症狀或併發症之方法。該抗體亦可用於RSV感染之診斷。

【英文】

The present invention provides fully human antibodies that bind to respiratory syncytial virus F protein, compositions comprising the antibodies and methods of use. The antibodies of the invention are useful for preventing fusion of the virus with the cell membrane and preventing cell to cell spread of the virus, thereby providing a means of preventing the infection, or treating a patient suffering from the infection and ameliorating one or more symptoms or complications associated with the viral infection. The antibodies may also be useful for diagnosis of an infection by RSV.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

圖式

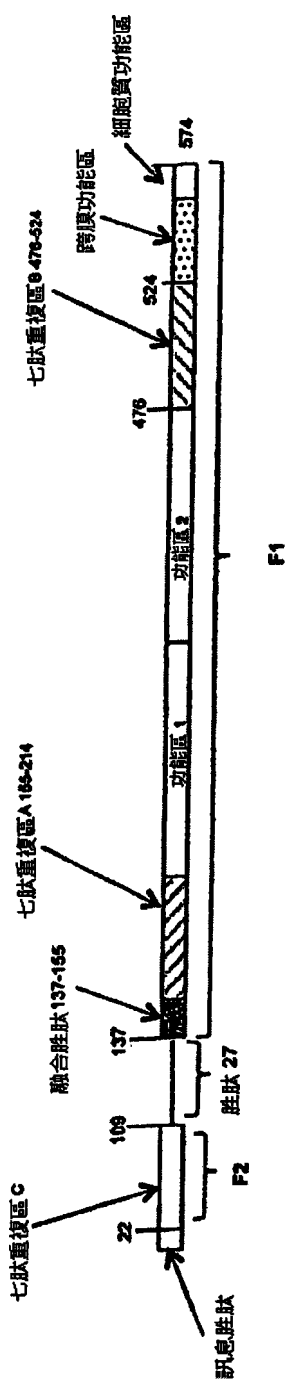
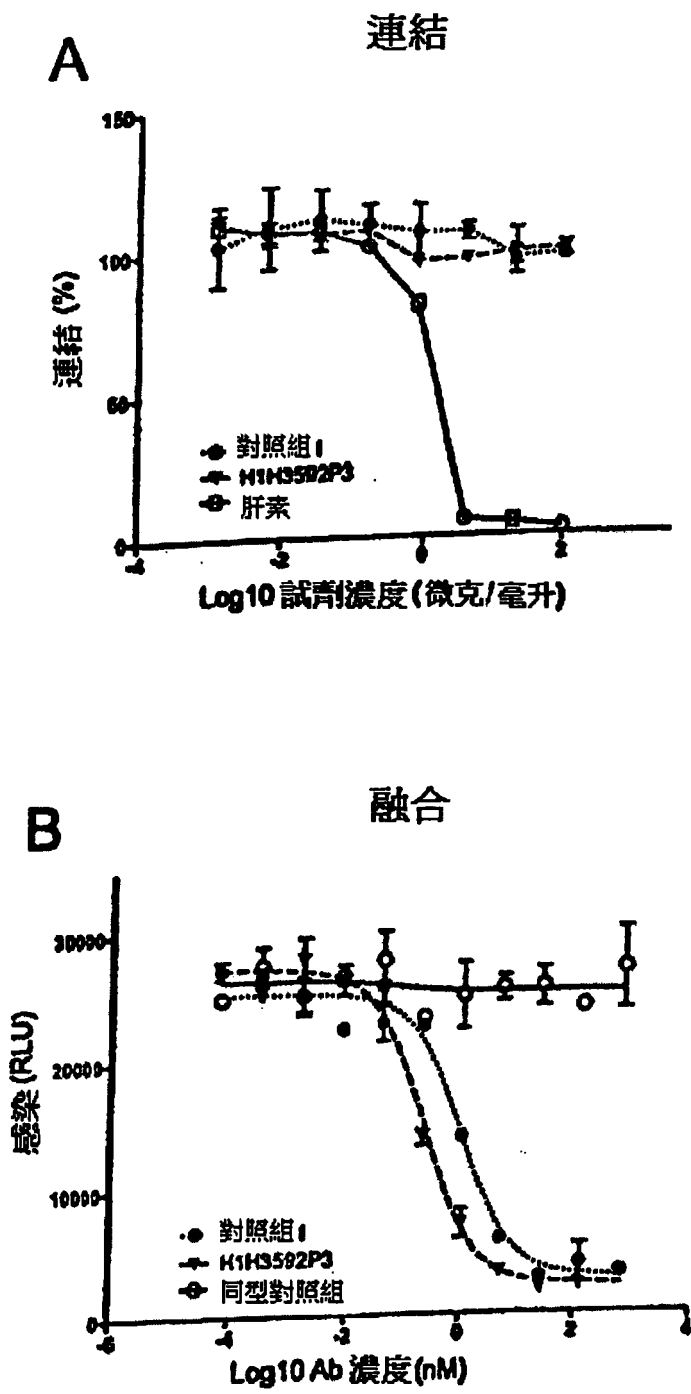


圖 1

圖 2



H1H3598P	162	164	166	168	170	172	174	176
H1H3603P	178	180	182	184	186	188	190	192
H1H3604P	194	196	198	200	202	204	206	208
H1H3605P	210	212	214	216	218	220	222	224
H1H3607P	226	228	230	232	234	236	238	240
H1H3608P2	242	244	246	248	250	252	254	256
H1H3592P2	258	260	262	264	266	268	270	272
H1H3592P3	274	276	278	280	282	284	286	288
H1M3621N	290	292	294	296	298	300	302	304
H1M3622N	306	308	310	312	314	316	318	320
H1M3624N	322	324	326	328	330	332	334	336
H1M3627N	338	340	342	344	346	348	350	352

實例3. 利用表面電漿共振測定人類單株抗RSV-F抗體之抗體結合親和性與動力學常數

【0010】 於25°C，利用表面電漿共振測定人類單株抗RSV-F抗體之結合親和性與動力學常數(表2-3)；使用Biacore 4000或T-200儀器進行測定。將用小鼠Fc (AbPID字首H1M、H2M)或人類IgG1 Fc (AbPID字首H1H)表現之抗體捕捉於抗小鼠或抗人類Fc之感測器表面(單株抗體捕捉格式)，然後於表面注射可溶性單體蛋白質(RSV-F.mmh；SEQ ID NO: 353)。所有Biacore結合研究係於HBST電泳緩衝液(0.01 M HEPES pH 7.4，0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.005% v/v界面活性劑P20)中進行。將於HBST電泳緩衝液中製備之不同濃度RSV-F.mmh以30微升/分鐘(Biacore 4000)或50微升/分鐘(Biacore T-200)之流速注射於已捕捉抗RSV-F單株抗體之表面，分別監測RSV-F.mmh與捕捉單株抗體之結合6分鐘或3分鐘。於25°C，監測HBST電泳緩衝液中RSV-F.mmh自單株抗體之解離8至10分鐘。使用Scrubber 2.0曲線擬合軟體，依照1:1結合模式處理及擬合數據，測定動力學結合(k_a)與解離(k_d)速率常數。以動力學速率常數，依照： $K_D (M) = k_d / k_a$ ；及 $t_{1/2} (min) = (ln2/(60*k_d))$ ，計算結合解離平衡常數(K_D)與解離半衰期。

申請專利範圍

1. 一種單離人類抗體或其抗原結合片段，其特異性結合至呼吸道融合病毒 F 蛋白質(RSV-F)，其中該抗體或其抗原結合片段包含含在SEQ ID NO: 274之胺基酸序列的重鏈變異區(HCVR)內的三個重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2與HCDR3)；以及含在SEQ ID NO: 282之胺基酸序列的輕鏈變異區(LCVR)內的三個輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2與LCDR3)。
2. 如申請專利範圍第1項之單離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段包含分別具有SEQ ID NO: 276-278-280-284-286-288之胺基酸序列的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3域。
3. 如申請專利範圍第1項之單離抗體或其抗原結合片段，其包含具有SEQ ID NO: 274之胺基酸序列的重鏈變異區以及具有SEQ ID NO: 282之胺基酸序列的輕鏈變異區。
4. 如申請專利範圍第1至3項中任一項之單離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合至包含範圍自SEQ ID NO: 354之位置161至位置188之胺基酸殘基的胺基酸序列。
5. 如申請專利範圍第1至3項中任一項之單離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合至於SEQ ID NO: 355與SEQ ID NO:356內的一或多個殘基。
6. 如申請專利範圍第1至3項中任一項之單離抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合至SEQ ID NO: 354之位置173之絲胺酸，或SEQ ID NO: 354之位置174之蘇胺酸，或SEQ ID NO: 354之位置173之絲胺酸以及SEQ ID NO: 354之位置174之蘇胺酸二者。

7. 如申請專利範圍第1至3項中任一項之單離抗體，其為IgG1或IgG4抗體。
8. 一種單離之核酸分子，其編碼如申請專利範圍第1至7項中任一項之抗體或抗原結合片段。
9. 一種表現載體，其包含如申請專利範圍第8項之核酸分子。
10. 一種宿主細胞，其包含如申請專利範圍第9項之表現載體。
11. 一種如申請專利範圍第1至7項中任一項之抗體或抗原結合片段於製造用以在有其需要之病患中預防或治療呼吸道融合病毒(RSV)感染之藥物的用途。
12. 如申請專利範圍第11項之用途，其中該藥物用以在有其需要之病患中治療RSV感染。
13. 如申請專利範圍第11或12項之用途，其中該RSV感染係由亞型A或亞型B呼吸道融合病毒引起。
14. 如申請專利範圍第11或12項之用途，其中：
 - (a) 該有其需要之病患係指瀕臨遭RSV感染高風險之病患，或由於潛在或已存在之醫學症狀而可能遭遇更嚴重形式RSV感染之病患；
 - (b) 該有其需要之病患係指早產嬰兒、足月嬰兒、大於或等於一歲之幼童，機構照護或住院病患，或大於65歲之年長成人；
 - (c) 該有其需要之病患罹患由於受損之肺、心血管、神經肌肉或免疫系統所產生之症狀，其中該症狀係選自以下之群組：呼吸道異常、慢性肺病、囊狀纖維化症、肺支氣管發育不全、慢性心臟病、先天性心臟病、損害呼吸道分泌操縱之神經肌肉性疾病以及免疫抑制、因嚴重合併性免疫缺失或嚴重後天免疫缺失之症狀、因傳染病之症狀、導致免疫抑制之癌症症狀以及因以免疫抑制劑藥物療法或放射線療法治療之症狀；或

- (d) 該有其需要之病患罹患鬱血性心衰竭或慢性阻塞性肺臟疾病。
15. 如申請專利範圍第11或12項之用途，其中該藥物係與第二治療劑組合使用，其中該第二治療劑係選自包括抗病毒劑、RSV特異性疫苗、流感病毒特異性疫苗、或間質肺炎病毒(MPV)特異性疫苗、RSV抗原或間質肺炎病毒(MPV)抗原特異性siRNA、RSV抗原或間質肺炎病毒(MPV)抗原特異性二次抗體、抗IL4R抗體、流感病毒抗原特異性抗體、抗RSV-G抗體與非類固醇抗發炎藥(NSAID)之組群。
16. 一種醫藥組成物，其包含如申請專利範圍第1至7項中任一項之單離抗體或其抗原結合片段，以及醫藥上可接受之載劑。