(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108271372 B
(45)授权公告日 2021.07.09

(21)申请号 201680054135.3
(22)申请日 2016.08.05
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108271372 A
(43)申请公布日 2018.07.10
(30)优先权数据
2015-185254 2015.09.18 JP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2018.03.16
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2016/003616 2016.08.05
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/046994 EN 2017.03.23
(73)专利权人 中外制药株式会社
地址 日本国东京都
(72)发明人 井川智之 前田敦彦 中村元气 村冈优
(74)专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司 11021
代理人 张莹
(51)Int.Cl.
C07K 14/235(2006.01)
C07K 16/00(2006.01)
C07K 16/24(2006.01)
C12P 21/02(2006.01)
C12N 15/62(2006.01)
(56)对比文件
CN 1156460 A,1997.08.06
CN 103975060 A,2014.08.06
CN 102918057 A,2013.02.06
WO 2013081143 A1,2013.06.06
US 6458355 B1,2002.10.01
US 6025158 A,2000.02.15
审查员 蔡锐钿
权利要求书1页 说明书178页
序列表409页 附图29页

(54)发明名称

IL-8-结合抗体及其应用

(57)摘要

一个非排他性的方面提供作为药物优异的新型IL-8抗体。

CN 108271372 B

1.分离的抗-IL-8抗体,所述分离的抗-IL-8抗体包含

(a)HVR-H1,其氨基酸序列为SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列,

(b)HVR-H2,其氨基酸序列为SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列,

(c)HVR-H3,其氨基酸序列为SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列,

(d)HVR-L1,其氨基酸序列为SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列,

(e)HVR-L2,其氨基酸序列为SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列,和

(f)HVR-L3,其氨基酸序列为SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列。

2.分离的抗-IL-8抗体,所述分离的抗-IL-8抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:78所示的氨基酸序列,并且所述轻链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:79所示的氨基酸序列。

3.分离的抗-IL-8抗体,所述分离的抗-IL-8抗体包含重链和轻链,其中所述重链的氨基酸序列为SEQ ID NO:80或SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列,并且所述轻链的氨基酸序列为SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列。

4.分离的核酸,其编码权利要求1至3中任一项所述的抗-IL-8抗体。

5.载体,其包含权利要求4所述的核酸。

6.宿主细胞,其包含权利要求5所述的载体。

7.用于生产抗-IL-8抗体的方法,其包括培养权利要求6所述的宿主细胞。

8.权利要求7所述的方法,其还包括从所述宿主细胞培养物分离所述抗体。

9.药物组合物,其包含权利要求1至3中任一项所述的抗-IL-8抗体和药用载体。

10.权利要求1至3中任一项所述的抗-IL-8抗体在制备药物组合物中的用途,所述药物组合物用于治疗存在过量IL-8的病症。

11.权利要求1至3中任一项所述的抗-IL-8抗体在制备药物组合物中的用途,所述药物组合物用于抑制血管生成。

12.权利要求1至3中任一项所述的抗-IL-8抗体在制备药物组合物中的用途,所述药物组合物用于抑制对中性粒细胞迁移的促进。

IL-8-结合抗体及其应用

技术领域

[0001] 对相关申请的交叉引用

[0002] 本申请涉及和要求2015年9月18日在日本提交的日本优先权专利申请号2015-185254的优先权。该优先权申请的内容通过参考以其整体结合。技术领域

[0003] 在一个非排他性的方面，本公开提供抗-IL-8抗体，含有所述抗体的药物组合物，编码所述抗体的核酸，和含有所述核酸的宿主细胞。还提供IL-8抗体和药物组合物的生产方法和在治疗例如IL-8相关病症中的应用。

背景技术

[0004] 抗体作为药物引人注意，因为它们在血浆中高度稳定并且具有较少的副作用。很多IgG-型治疗性抗体在市面上，并且甚至现在有很多治疗性抗体在开发中(Reichert等人，Nat.Biotechnol.23:1073-1078(2005)(NPL1)；Pavlou等人，Eur.J.Pharm.Biopharm.59(3):389-396(2005)(NPL2))。同时，正在对第二代治疗性抗体开发各种技术；包括用于改善效应子功能，抗原结合能力，药代动力学或稳定性，和降低免疫原性的风险的技术(Kim等人，Mol.Cells.20(1):17-29(2005)(NPL3))。治疗性抗体的剂量通常非常高，并且因此治疗性抗体的开发遇到诸如难以产生皮下制剂和高生产成本的问题。改善治疗性抗体药代动力学、药效学和抗原结合性质的方法提供降低与治疗性抗体相关的剂量和生产成本的方式。

[0005] 恒定区中氨基酸残基的置换(substitution)提供一种用于改善抗体药代动力学的方法(Hinton等人，J.Immunol.176(1):346-356(2006)(NPL4)；Ghetie等人，Nat.Biotechnol.15(7):637-640(1997))(NPL5)。亲和力成熟技术提供用于增强抗体的抗原中和能力的方法(Rajpal等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102(24):8466-8471(2005)(NPL6)；Wu等人，J.Mol.Biol.368:652(2007)(NPL7))，并且可以在抗体可变结构域的CDRs和/或框架区中的一个或多个氨基酸残基中引入一个或多个突变来增加抗原结合活性。改善抗体的抗原结合性质可以改善抗体的体外生物学活性或降低剂量，并且可以进一步改善体内(在身体中的)功效(Wu等人，J.Mol.Biol.368:652-665(2007)(NPL8))。

[0006] 可以由一个抗体分子中和的抗原的量取决于抗体对抗原的亲和力；并且因此，可能通过增加亲和力以小量的抗体中和抗原。抗体对于抗原的亲和力可以使用各种已知方法增加(参见，例如，Rajpal等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102(24):8466-8471(2005)(NPL6))。此外，如果其可以与抗原共价结合从而使得亲和力无穷大，则理论上可能用一个抗体分子中和一个抗原分子(当抗体是二价时2个抗原)。尽管如此，迄今治疗性抗体开发的一个限制是一个抗体分子通常仅结合和中和一个抗原分子(当抗体是二价时，2个抗原)。近期已经报道，使用以pH-依赖性的方式结合抗原的抗体(下文中也称为"pH-依赖性抗体"或"pH-依赖性-结合抗体")使得一个抗体分子结合和中和多个抗原分子(参见，例如，WO2009/125825(PTL1)；Igawa等人，Nat.Biotechnol.28:1203-1207(2010)(NPL9))。pH-依赖性抗体在血浆中的中性pH条件下强烈结合抗原，并且在细胞的内体(endosome)内的酸性pH条件下从抗原解离。从抗原解离后，抗体通过FcRn再循环到血浆并且随后自由结合和中和另一抗

原分子;并且因此一个pH-依赖性抗体可以重复结合和中和多个抗原分子。

[0007] 近来已经报道,抗体再循环性质可以通过集中于血浆和内体之间的钙(Ca)离子浓度的差异,并且使用具有表明钙依赖性的抗原-抗体相互作用的抗体(下文中也称为"钙离子浓度-依赖性抗体")来实现(WO2012/073992(PTL2))。(下文中,pH-依赖性抗体和"钙离子浓度-依赖性抗体"统称为"pH/Ca浓度-依赖性抗体"。)

[0008] 通过结合FcRn,IgG抗体在血浆中具有长时间的保留。IgG抗体和FcRn之间的结合在酸性pH条件下(例如,pH 5.8)强烈,但在中性pH条件下(例如,pH 7.4)几乎没有结合。IgG抗体非特异性地摄入细胞中,并且在内体中酸性pH条件下通过结合内体中的FcRn返回细胞表面。IgG随后在血浆中的中性pH条件下从FcRn解离。

[0009] 据报道,修饰以增加其在中性pH条件下的FcRn结合的pH-依赖性抗体具有重复结合和从血浆去除抗原分子的能力;并且因此使用此种抗体允许从血浆去除抗原(WO2011/122011(PTL3))。根据该报道,与包含天然IgG抗体的Fc区的pH-依赖性抗体相比,修饰以增加其在中性pH条件(例如,pH 7.4)下的FcRn结合的pH-依赖性抗体可以进一步加速抗原的去除(WO2011/122011(PTL3))。

[0010] 同时,当向IgG抗体的Fc区中引入突变以消除其在酸性pH条件下对FcRn的结合时,其可能不再从内体再循环入血浆,这显著削弱了抗体在血浆中的保留。随即,增加在酸性pH条件下的FcRn结合的方法报道为用于改善IgG抗体的血浆保留的方法。向IgG抗体的Fc区中引入氨基酸修饰以增加其在酸性pH条件下的FcRn结合能够增强从内体再循环到血浆的效力,其由此导致血浆保留的改善。例如,已经报道,修饰M252Y/S254T/T256E(YTE;Dall'Acqua等人,J.Biol.Chem.281:23514-235249(2006)(NPL10)),M428L/N434S(LS;Zalevsky等人,Nat.Biotechnol.28:157-159(2010))(NPL11),和N434H(Zheng等人,Clin.Pharm.&Ther.89(2):283-290(2011)(NPL12)),导致相对于天然IgG1增加的抗体半衰期。

[0011] 然而,除了考虑免疫原性或聚集体发生率可能在包含此种Fc区变体(其FcRn结合在中性pH条件或酸性pH条件下增加)的抗体中变差,还进一步报道了增加的对在施用治疗性抗体之前存在于患者中的抗药物抗体(下文中也称为"预先存在的(Pre-existing)ADA")(例如,类风湿因子)的结合(WO2013/046722(PTL4),WO2013/046704(PTL5))。

[0012] WO2013/046704(PTL5)报道了,与未修饰的天然Fc相比,含有特定突变(由根据EU编号的Q438R/S440E的两个残基修饰表示)的Fc区变体增加在酸性pH条件下对FcRn的结合并且还显示对类风湿因子的结合的显著降低。然而,WO2013/046704(PTL5)未具体证明该Fc区变体相对于天然Fc区的抗体具有较好的血浆保留。

[0013] 因此,具有进一步改进的血浆保留的安全和更有利的Fc区变体(其不显示对预先存在的ADA的结合)是需要的。

[0014] 抗体-依赖性细胞毒性(下文示为"ADCC"),补体-依赖性细胞毒性(下文示为"CDC"),抗体-依赖性细胞吞噬作用(ADCP)(其是IgG抗体介导的靶细胞的吞噬作用)报道为IgG抗体的效应子功能。为了IgG抗体介导ADCC活性或ADCP活性,IgG抗体的Fc区必需结合存在于效应细胞如杀伤细胞,天然杀伤细胞或活化的巨噬细胞表面上的抗体受体(在本文所述的公开A的范围内称为"Fcγ受体","FcgR","Fcγ受体"或"FcγR")。在人中,FcγRIa,FcγRIIa,FcγRIIb,FcγRIIIa和FcγRIIIb同种型报道为FcγR家族蛋白,并且也已经报道了它们各自的同种异型(Jefferis等人,Immunol.Lett.82:57-65(2002)(NPL13))。抗体对

于包括FcγRIa,FcγRIIa,FcγRIIIa或FcγRIIIb的激活受体的和包括FcγRIIb的抑制性受体的各自的亲和力的平衡是优化抗体效应子功能的重要要素。

[0015] 迄今已经报道了增加或改善治疗性抗体对抗原的活性的各种技术。例如,抗体结合激活性FcγR(s)的活性在抗体的细胞毒性中发挥重要作用,并且因此,已经开发了靶向膜-型抗原和由于增强的激活性FcγR(s)结合而具有增加的细胞毒性的抗体。参见,例如,WO2000/042072(PTL6);WO2006/019447(PTL7);Lazar等人,Proc.Nat.Acad.Sci.USA.103:4005-4010(2006)(NPL14);Shinkawa等人,J.Biol.Chem.278,3466-3473(2003)(NPL15);Clynes等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U SA 95:652-656(1998)(NPL16);Clynes等人,Nat.Med.6:443-446(2000)(NPL17))。类似地,对抑制性FcγR(人中的FcγRIIb)的结合活性在免疫抑制活性,激动剂活性中发挥重要作用,并且因此已经存在对靶向膜-类型抗原的具有增加的抑制性FcγR-结合活性的抗体的研究(Li等人,Proc.Nat.Acad.Sci.USA.109(27):10966-10971(2012)(NPL18))。此外,结合可溶性抗原的抗体的FcγR结合的影响主要从副作用的角度检查(Scappaticci等人,J.Natl.Cancer Inst.99(16):1232-1239(2007)(NPL19))。例如,当具有增加的FcγRIIb结合的抗体用作药物时,人们可能从抗药物抗体的产生预期降低的风险(Desai等人,J.Immunol.178(10):6217-6226(2007)(NPL20))。

[0016] 近来,已经报道,向IgG抗体的Fc区中引入氨基酸修饰以增加靶向可溶性抗原的抗体结合激活和/或抑制性FcγR的活性可以进一步加速从血清去除抗原(WO2012/115241(PTL8),WO2013/047752(PTL9),WO2013/125667(PTL10),WO2014/030728(PTL11))。此外,已经鉴别了Fc区变体,其几乎不显示其FcγRIIb-结合活性从天然IgG抗体Fc区的改变,但具有降低的对其他激活性FcγRs的活性(WO2014/163101(PTL12))。

[0017] 与具有FcRn-介导的再循环机制的抗体相比,可溶性抗原的血浆保留非常短,并且因此可溶性抗原可以通过结合具有此种再循环机制的抗体(例如,不具有pH/Ca浓度-依赖性抗体的特征的抗体)显示增加的血浆保留和血浆浓度。因此,例如,当血浆中的可溶性抗原具有多种类型的生理功能时,即使一种类型的生理功能由于抗体结合而被阻断,抗原的血浆浓度仍可以使由于抗体结合造成的抗原的增加的血浆保留和/或血浆浓度导致的其他生理功能引起的病理学症状变差。在该情况下,除了对抗体进行上述示例性的修饰以加速抗原去除的方法之外,已经报导了,例如,使用来自多种pH/Ca浓度-依赖性抗体和多种抗原的多价免疫复合物的形成,和增加对FcRn,FcγR(s),补体受体的结合的方法(WO2013/081143(PTL13))。

[0018] 甚至当Fc区未被修饰时,报道了通过修饰一个或多个氨基酸残基从而改变所述可以暴露在抗体可变区表面上的一个或多个氨基酸残基的电荷,以提高或降低抗体的等电点(pI),可以不考虑抗原或抗体的类型,并且在基本上不降低抗体的抗原结合活性的情况下控制抗体在血液中的半衰期(WO2007/114319(PTL14):主要在FR中置换氨基酸的技术;WO2009/041643(PTL15):主要在CDR中置换氨基酸的技术)。这些文件表明,可能通过降低抗体的pI延长抗体的血浆半衰期,并且相反通过提高抗体的pI缩短抗体的血浆半衰期。

[0019] 关于抗体的恒定区中的氨基酸残基的电荷的修饰,已经报道,在细胞中摄取抗原可以通过修饰具体一个或多个氨基酸残基的电荷,特别是在CH3结构域中来促进,从而提高抗体的pI,并且其还描述,该修饰优选不干扰对FcRn的结合(WO2014/145159(PTL16))。还报道了,修饰抗体的恒定区(主要CH1结构域)中的氨基酸残基的电荷以降低pI可以延长抗体

在血浆中的半衰期,并且与增加FcRn结合的氨基酸残基突变结合,可以增强其对FcRn的结合和延长抗体的血浆半衰期(WO2012/016227(PTL17))。

[0020] 同时,当设计用于提高或降低抗体的pI的所述修饰技术与除增加或降低对FcRn或FcγR(s)的结合的修饰技术之外的技术组合时,在促进抗体的血浆保留或抗原从血浆的去除方面是否存在效果是不明确的。

[0021] 胞外基质(ECM)是在体内覆盖细胞的结构,并且主要由糖蛋白如胶原蛋白、蛋白聚糖、纤连蛋白和层粘连蛋白组成。ECM在体内的作用是为细胞生存产生微环境,并且ECM在细胞进行的各种功能中是重要的,如,细胞增殖和细胞粘附。

[0022] 已经报道ECM参与施用于活体的蛋白的体内动力学。VEGF-Trap分子(其是VEGF受体和Fc之间的融合蛋白)的血液浓度,在皮下施用时检测(Holash等人,Proc.Natl.Acad.Sci.,99(17):11393-11398(2002)(NPL21))。皮下施用的具有高pI的VEGF-Trap分子的血浆浓度低,并且因此其生物利用度低。修饰的VEGF-Trap分子(其pI通过氨基酸置换降低)具有更高血浆浓度,并且其生物利用度可能得到改善。此外,生物利用度的改变与结合ECM的强度相关,并且因此变得明显的是,皮下施用时VEGF-Trap分子的生物利用度取决于在皮下位点其结合ECM的强度。

[0023] WO2012/093704(PTL18)报道了,在对ECM的抗体结合和血浆保留之间存在反向相关,并且因此,当与结合ECM的抗体比较时,不结合ECM的抗体分子具有更好的血浆保留。

[0024] 由此,已经报道了为了改善蛋白体内生物利用度和血浆保留而降低胞外基质结合的技术。相反,迄今尚未鉴定增加抗体对ECM的结合的优势。

[0025] 人IL-8(白细胞介素8)是趋化因子家族成员,其长度为72或77个氨基酸残基。术语"趋化因子"是对分子量为8-12kDa并且含有4个形成分子间二硫键的半胱氨酸残基的蛋白家族的统称。趋化因子根据半胱氨酸排列的特征分类为CC趋化因子,CXC趋化因子,C趋化因子,CA3C趋化因子。IL-8分类为CXC趋化因子,并且也称为CXCL8。

[0026] IL-8在溶液中以单体或同源二聚体形式存在。IL-8单体含有反平行β折叠,并且具有其中C-末端α螺旋穿过和覆盖β折叠的结构。IL-8单体,在IL-8的72个氨基酸形式的情况下,包括半胱氨酸7和半胱氨酸34之间以及半胱氨酸9和半胱氨酸50之间的两个二硫键交联。IL-8同源二聚体通过两个单体的β折叠之间的非共价相互作用来稳定,因为在同源二聚体的分子之间没有共价结合。

[0027] 响应于通过炎性细胞因子的刺激,在各种细胞如外周血单核细胞、组织巨噬细胞、NK细胞,成纤维细胞和血管内皮细胞中诱导IL-8表达(Russo等人,Exp.Rev.Clin.Immunol.10(5):593-619(2014)(NPL22))。

[0028] 在正常组织中,趋化因子通常检测不到,或仅可微弱地检测到,但在发炎的位点可强烈检测到,并且通过促进淋巴细胞浸润入发炎组织位点参与诱导炎症。IL-8是促炎性趋化因子,已知其活化中性粒细胞、促进细胞粘附分子的表达,并且增强中性粒细胞粘附于血管内皮细胞。IL-8还具有中性粒细胞趋化能力并且在受损的组织处产生IL-8以促进粘附于血管内皮细胞的中性粒细胞趋化入组织,并且随中性粒细胞浸润诱导炎症。还已知IL-8是内皮细胞的有效血管生成因子并且参与促进肿瘤血管生成。

[0029] 与升高的(例如,过量)IL-8水平相关的炎性疾病包括,皮肤的炎性疾病如炎性角化病(例如,银屑病),特应性皮炎(atopic dermatitis),接触性皮炎(contact

dermatitis)；慢性炎性病症(其是自身免疫疾病)，如类风湿关节炎(rheumatoid arthritis)，系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus)(SLE)，和贝切特氏病(Behcet's disease)；炎性肠病如克罗恩病(Crohn's disease)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)；炎性肝病如乙型肝炎(hepatitis B)，丙型肝炎(hepatitis C)，酒精性肝炎(alcoholic hepatitis)，药物引起的过敏性肝炎；炎性肾病如肾小球性肾炎(glomerulonephritis)；炎性呼吸系统疾病如支气管炎和哮喘；炎性慢性血管疾病如动脉粥样硬化；多发性硬化，口疮，声带炎(chorditis)，和与使用人造器官和/或人工血管相关的炎症。升高的(例如，过量)IL-8水平还与恶性肿瘤如卵巢癌、肺癌、前列腺癌、胃癌、乳腺癌、黑素瘤、头颈癌和肾癌；感染导致的脓毒症；囊性纤维化；和肺纤维化相关。(参见，例如，Russo等人，Exp.Rev.Clin.Immunol.10(5)：593-619(2014)(NPL22)，其通过参考以其整体结合于本文)。

[0030] 对于这些疾病中的多种，已经开发了具有高亲和力的人抗-IL-8抗体作为药物组合物(Desai等人，J.Immunol.178(10)：6217-6226(2007)(NPL23))，然而，它们尚未推出。迄今，可获得仅一种包含IL-8抗体的药物组合物，其是作为外部药物用于银屑病的鼠抗-IL-8抗体。期望有新的治疗疾病的抗-IL-8抗体。

[0031] [引用列表]

[0032] [专利文献]

[0033] [PTL1]WO2009/125825

[0034] [PTL2]WO2012/073992

[0035] [PTL3]WO2011/122011

[0036] [PTL4]WO2013/046722

[0037] [PTL5]WO2013/046704

[0038] [PTL6]WO2000/042072

[0039] [PTL7]WO2006/019447

[0040] [PTL8]WO2012/115241

[0041] [PTL9]WO2013/047752

[0042] [PTL10]WO2013/125667

[0043] [PTL11]WO2014/030728

[0044] [PTL12]WO2014/163101

[0045] [PTL13]WO2013/081143

[0046] [PTL14]WO2007/114319

[0047] [PTL15]WO2009/041643

[0048] [PTL16]WO2014/145159

[0049] [PTL17]WO2012/016227

[0050] [PTL18]WO2012/093704

[0051] [非专利文献]

[0052] [NPL1]Reichert等人，Nat.Biotechnol.23:1073-1078(2005)

[0053] [NPL2]Pavlou等人，Eur.J.Pharm.Biopharm.59(3)：389-396(2005)

[0054] [NPL3]Kim等人，Mol.Cells.20(1)：17-29(2005)

[0055] [NPL4]Hinton等人,J.Immunol.176(1):346-356(2006)

[0056] [NPL5]Ghetie等人,Nat.Biotechnol.15(7):637-640(1997))

[0057] [NPL6]Rajpal等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102(24):8466-8471(2005)

[0058] [NPL7]Wu等人,J.Mol.Biol.368:652(2007)

[0059] [NPL8]Wu等人,J.Mol.Biol.368:652-665(2007)

[0060] [NPL9]Igawa等人,Nat.Biotechnol.28:1203-1207(2010)

[0061] [NPL10]Dall'Acqua等人,J.Biol.Chem.281:23514-235249(2006)

[0062] [NPL11]Zalevsky等人,Nat.Biotechnol.28:157-159(2010))

[0063] [NPL12]Zheng等人,Clin.Pharm.&Ther.89(2):283-290(2011)

[0064] [NPL13]Jefferis等人,Immunol.Lett.82:57-65(2002)

[0065] [NPL14]Lazar等人,Proc.Nat.Acad.Sci.USA.103:4005-4010(2006)

[0066] [NPL15]Shinkawa等人,J.Biol.Chem.278,3466-3473(2003)

[0067] [NPL16]Clynes等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U SA 95:652-656(1998)

[0068] [NPL17]Clynes等人,Nat.Med.6:443-446(2000)

[0069] [NPL18]Li等人,Proc.Nat.Acad.Sci.USA.109(27):10966-10971(2012)

[0070] [NPL19]Scappaticci等人,J.Natl.Cancer Inst.99(16):1232-1239(2007)

[0071] [NPL20]Desai等人,J.Immunol.178(10):6217-6226(2007)

[0072] [NPL21]Holash等人,Proc.Natl.Acad.Sci.,99(17):11393-11398(2002)

[0073] [NPL22]Russo等人,Exp.Rev.Clin.Immunol.10(5):593-619(2014)

[0074] [NPL23]Desai等人,J.Immunol.178(10):6217-6226(2007)

[0075] 发明概述

[0076] 在一个非排他性的方面,公开内容A的实施方案的非限制性目的是提供相对抗体具有改善的药代动力学性质,如改善的抗体半衰期和/或从血浆清除抗原的离子浓度-依赖性抗原结合性质的分子。

[0077] 在一个非排他性的方面,公开内容B的实施方案的非限制性目的是提供具有增加的半衰期和减少的对预先存在的抗药物抗体(ADAs)的结合的安全和更有益Fc区变体。

[0078] 在一个非排他性的方面,公开内容C的实施方案的非限制性目的是提供对IL-8具有pH-依赖性结合亲和力的抗-IL-8抗体。其他实施方案涉及当施用于个体时,与参照抗体相比具有快速去除IL-8的效果的抗-IL-8抗体。在另一个实施方案中,公开内容C涉及当施用于个体时能够稳定保持其IL-8-中和活性的抗-IL-8抗体。在一些实施方案中,抗-IL-8抗体呈现降低的免疫原性。在其他实施方案中,公开内容C涉及产生和使用上述抗-IL-8抗体的方法。公开内容C的另一备选非限制性目的是提供可以包括在药物组合物中的新抗-IL-8抗体。

[0079] 在一个非排他性的方面,在如本文中提供的公开内容A的范围内,本发明人出人意料地发现,离子浓度-依赖性抗体(其是包含离子浓度-依赖性抗原结合结构域("其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变的抗原结合结构域")的抗体)从血浆去除抗原的能力可以通过修饰暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基从而提高其等电点(pI)来促进。在另一非排他性的方面,本发明人发现,具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体可以进一步增加抗体的胞外基质结合。因此,不受限于特定理论,本发明人发现,从血浆去除抗原可以通过增

加抗体对胞外基质的结合增加。

[0080] 在一个非排他性的方面，在如本文中提供的公开内容B的范围内，本发明人进行对不显示对抗药物抗体(预先存在的ADA)的结合并且可以进一步改善血浆保留的安全和更有利Fc区变体的深入研究。结果，本发明人出人意料地发现，包括用Ala(A)置换根据EU编号的位置434氨基酸和两个特定残基突变(根据EU编号，由Q438R/S440E表示)作为氨基酸残基突变的组合的Fc区变体，对于保持对类风湿因子的结合的显著降低，连同实现抗体的血浆保留是优选的。

[0081] 在一个非排他性的方面，在如本文中提供的公开内容C的范围内，本发明人开发了很多pH-依赖性抗-IL-8抗体(以pH-依赖性的方式结合IL-8的抗-IL-8抗体)。从各种验证的结果，本发明人鉴定了当施用于个体时，与参照抗体相比具有快速去除IL-8的效果的pH-依赖性抗-IL-8抗体。在一些实施方案中，公开内容C涉及可以稳定保持其IL-8-中和活性的pH-依赖性抗-IL-8抗体。在其他非限制性实施方案中，pH-依赖性抗-IL-8抗体具有降低的免疫原性和极佳的表达水平。

[0082] 此外，在公开内容C的范围内，本发明人成功获得了包含相对于天然Fc区的FcRn-结合亲和力，在酸性pH其FcRn-结合亲和力增加的Fc区的抗-IL-8抗体。在备选的方面，本发明人成功获得了包括相对于天然Fc区对预先存在的ADA的结合亲和力，其对预先存在的ADA的结合亲和力降低的Fc区的抗-IL-8抗体。在备选的方面，本发明人成功获得了包含其血浆半衰期相对于天然Fc区的血浆半衰期增加的Fc区的抗-IL-8抗体。在备选的方面，本发明人成功获得了包含其对效应受体的结合亲和力相对于天然Fc区对效应受体的结合亲和力降低的Fc区的pH-依赖性抗-IL-8抗体。在不同的方面，本发明人鉴别了编码上述抗-IL-8抗体的核酸。在另一方面，本发明人还获得了包含上述核酸的宿主。在另一方面，本发明人开发了用于产生上述抗-IL-8抗体的方法，其包括培养上述宿主。在另一方面，本发明人开发了相对于参照抗体促进从个体中去除IL-8的方法，其包括向个体施用上述抗-IL-8抗体。

[0083] 在一个实施方案中，公开内容A，涉及但不限于，

[0084] [1]包含其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变的抗原结合结构域的抗体，其中其等电点(pI)通过修饰可能暴露在抗体表面的至少一个氨基酸残基来提高；

[0085] [2][1]所述的抗体，其中所述抗原是可溶性抗原；

[0086] [3][1]或[2]所述的抗体，其中所述抗原结合结构域是其抗原结合活性在高离子浓度条件下比在低离子浓度条件下更高的结构域；

[0087] [4][1]至[3]中任一项所述的抗体，其中所述离子浓度是氢离子浓度(pH)或钙离子浓度；

[0088] [5][4]所述的抗体，其中其在酸性pH范围与在中性pH范围中的KD比，KD(酸性pH范围)/KD(中性pH范围)，对于抗原，是2或更高；

[0089] [6][1]至[5]中任一项所述的抗体，其中在所述抗原结合结构域中，至少一个氨基酸残基用组氨酸置换，或插入至少一个组氨酸；

[0090] [7][1]至[6]中任一项所述的抗体，与修饰前的抗体相比，其能够促进从血浆中去除抗原；

[0091] [8][1]至[7]中任一项所述的抗体，其中与修饰前的抗体相比，其胞外基质结合活性增强；

[0092] [9][1]至[8]中任一项所述的抗体,其中所述氨基酸残基修饰是氨基酸残基置换;

[0093] [10][1]至[9]中任一项所述的抗体,其中所述氨基酸残基修饰选自由以下组成的组:

[0094] (a)用不带电的氨基酸残基置换带负电的氨基酸残基;

[0095] (b)用带正电的氨基酸残基置换带负电的氨基酸残基;和

[0096] (c)用带正电的氨基酸残基置换不带电的氨基酸残基;

[0097] [11][1]至[10]中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含可变区和/或恒定区,并且氨基酸残基修饰是在可变区和/或恒定区中的氨基酸残基修饰;

[0098] [12][11]所述的抗体,其中所述可变区包含一个或多个互补决定区(CDR(s))和/或一个或多个框架区(FR(s));

[0099] [13][12]所述的抗体,其中所述可变区包含重链可变区和/或轻链可变区,并且至少一个氨基酸残基在CDR或FR中选自由以下组成的组的位置修饰:

[0100] 根据Kabat编号

[0101] (a)重链可变区的FR中的位置1,3,5,8,10,12,13,15,16,18,19,23,25,26,39,41,42,43,44,46,68,71,72,73,75,76,77,81,82,82a,82b,83,84,85,86,105,108,110,和112;

[0102] (b)重链可变区的CDR中的位置31,61,62,63,64,65,和97;

[0103] (c)轻链可变区的FR中的位置1,3,7,8,9,11,12,16,17,18,20,22,37,38,39,41,42,43,45,46,49,57,60,63,65,66,68,69,70,74,76,77,79,80,81,85,100,103,105,106,107,和108;以及

[0104] (d)轻链可变区的CDR中的位置24,25,26,27,52,53,54,55,和56;

[0105] [14][13]所述的抗体,其中至少一个氨基酸残基在CDR或FR中选自由以下组成的组的位置中修饰:

[0106] (a)重链可变区的FR中的位置8,10,12,13,15,16,18,23,39,41,43,44,77,82,82a,82b,83,84,85,和105;

[0107] (b)重链可变区的CDR中的位置31,61,62,63,64,65,和97;

[0108] (c)轻链可变区的FR中的位置16,18,37,41,42,45,65,69,74,76,77,79,和107;以及

[0109] (d)轻链可变区的CDR中的位置24,25,26,27,52,53,54,55,和56;

[0110] [15][11]至[14]中任一项所述的抗体,其中至少一个氨基酸残基在恒定区中选自由以下组成的组的位置中修饰:根据EU编号,位置196,253,254,256,258,278,280,281,282,285,286,307,309,311,315,327,330,342,343,345,356,358,359,361,362,373,382,384,385,386,387,389,399,400,401,402,413,415,418,419,421,424,430,433,434,和443;

[0111] [16][15]所述的抗体,其中至少一个氨基酸残基在恒定区中选自由以下组成的组的位置中修饰:位置254,258,281,282,285,309,311,315,327,330,342,343,345,356,358,359,361,362,384,385,386,387,389,399,400,401,402,413,418,419,421,433,434,和443;

[0112] [17][16]所述的抗体,其中至少一个氨基酸残基在恒定区中选自由以下组成的组的位置修饰:位置282,309,311,315,342,343,384,399,401,402,和413,根据EU编号;

[0113] [18][1]至[17]中任一项所述的抗体,其中所述恒定区具有Fcγ受体(FcγR)-结合活性,并且其中与包含天然IgG的恒定区的参照抗体相比,FcγR-结合活性在中性pH条件下增强;

[0114] [19][18]所述的抗体,其中所述FcγR是FcγRIIb;

[0115] [20][1]至[17]中任一项所述的抗体,其中所述恒定区具有针对选自由FcγRIa,FcγRIb,FcγRIc,FcγRIIIa,FcγRIIIb和FcγRIIa组成的组的一种或多种激活性FcγR,和针对FcγRIIb的结合活性,并且与区别仅在于其恒定区是天然IgG的恒定区的参照抗体相比,所述FcγRIIb-结合活性被保持或增强并且对激活性FcγR的结合活性降低;

[0116] [21][1]至[20]中任一项所述的抗体,其中所述恒定区具有FcRn-结合活性,并且与区别仅在于其恒定区是天然IgG的恒定区的参照抗体相比,其中FcRn-结合活性在中性pH条件(例如,pH 7.4)下增强;

[0117] [22][1]至[21]中任一项所述的抗体,其是结合至少两种抗原的多特异性抗体;

[0118] [23][1]至[22]中任一项所述的抗体,其中所述抗体是IgG抗体;

[0119] [24]药物组合物,其包含[1]至[23]中任一项所述的抗体;

[0120] [25][24]所述的药物组合物,其用于促进从血浆去除抗原;

[0121] [26][24]或[25]所述的药物组合物,其用于增强抗体对胞外基质的结合;

[0122] [27]核酸,其编码[1]至[23]中任一项所述的抗体;

[0123] [28]载体,其包含[27]所述的核酸;

[0124] [29]宿主细胞,其包含[28]所述的载体;

[0125] [30]用于生产包含其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变的抗原结合结构域的抗体的方法,其中所述方法包括培养[29]所述的宿主细胞并且从细胞培养物中收集抗体;

[0126] [30A]用于生产包含其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变的抗原结合结构域的抗体的方法,其中所述方法包括修饰可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基从而提高等电点(pI);

[0127] [30B][30A]所述的方法,其中至少一个氨基酸残基在选自以下的位置被修饰

[0128] (I)在CDR或FR中选自由以下组成的组的位置:根据Kabat编号,(a)重链可变区的FR中的位置1,3,5,8,10,12,13,15,16,18,19,23,25,26,39,41,42,43,44,46,68,71,72,73,75,76,77,81,82,82a,82b,83,84,85,86,105,108,110,和112;(b)重链可变区的CDR中的位置31,61,62,63,64,65,和97;(c)轻链可变区的FR中的位置1,3,7,8,9,11,12,16,17,18,20,22,37,38,39,41,42,43,45,46,49,57,60,63,65,66,68,69,70,74,76,77,79,80,81,85,100,103,105,106,107,和108;以及(d)轻链可变区的CDR中的位置24,25,26,27,52,53,54,55,和56;或

[0129] (II)在恒定区中选自由以下组成的组的位置:根据EU编号,位置196,253,254,256,258,278,280,281,282,285,286,307,309,311,315,327,330,342,343,345,356,358,359,361,362,373,382,384,385,386,387,389,399,400,401,402,413,415,418,419,421,424,430,433,434,和443;

[0130] [31][30A]或[30B]所述的方法,其中所述氨基酸残基修饰包括选自由以下组成的组的修饰:

[0131] (a)用不带电的氨基酸残基置换带负电的氨基酸残基；

[0132] (b)用带正电的氨基酸残基置换带负电的氨基酸残基；

[0133] (c)用带正电的氨基酸残基置换不带电的氨基酸残基;以及

[0134] (d)在CDR或FR中用组氨酸置换或插入。

[0135] [32][30],或[30A]至[30C]中任一项所述的方法,其还任选地包括以下中的任意一项或多项：

[0136] 与参照抗体相比，

[0137] (a)选择能够促进从血浆去除抗原的抗体；

[0138] (b)选择对胞外基质具有增强的结合活性的抗体；

[0139] (c)选择在中性pH条件(例如,pH 7.4)下具有增强的FcγR-结合活性的抗体；

[0140] (d)选择在中性pH条件(例如,pH 7.4)下具有增强的FcγRIIb-结合活性的抗体；

[0141] (e)选择对优选选自由FcγRIa,FcγRIb,FcγRIc,FcγRIIIa,FcγRIIIb和FcγRIIa组成的组的一种或多种激活性FcγR具有保持的或增强的FcγRIIb-结合活性和减小的结合活性的抗体；

[0142] (f)选择在中性pH条件(例如,pH 7.4)下具有增强的FcRn-结合活性的抗体；

[0143] (g)选择具有提高的等电点(pI)的抗体；

[0144] (h)确认收集的抗体的等电点(pI),并且随后选择具有提高的等电点(pI)的抗体；和

[0145] (i)选择其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变或增加的抗体。

[0146] 在一个备选实施方案中,公开内容A涉及但不限于：

[0147] [A1]具有恒定区的抗体,其中恒定区中选自与[15]或[16]中限定的组中的修饰位点相同的修饰位点的组的至少一个氨基酸残基被修饰；

[0148] [A2][A1]所述的抗体,其还具有重链可变区和/或轻链可变区,其中所述可变区具有一个或多个CDR和/或一个或多个FR,并且其中CDR和/或FR中选自与[13]或[14]中限定的组中的修饰位点相同的修饰位点的组的至少一个氨基酸残基被修饰；

[0149] [A3]具有恒定区的抗体,其中恒定区中选自与[15]或[16]中限定的组中的修饰位点相同的修饰位点的组中的至少一个氨基酸残基被修饰以提高其pI；

[0150] [A4][A3]所述的抗体,其还具有重链可变区和/或轻链可变区,其中所述可变区具有一个或多个CDR和/或一个或多个FR,并且其中CDR和/或FR中选自与[13]或[14]中限定的组中的修饰位点相同的修饰位点的组的至少一个氨基酸残基被修饰；

[0151] [A5]包含其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变的抗原结合结构域的抗体,其中所述抗体具有恒定区,并且其中恒定区中选自与[15]或[16]中限定的组中的修饰位点相同的修饰位点的组的至少一个氨基酸残基被修饰；

[0152] [A6][A5]所述的抗体,其还具有重链可变区和/或轻链可变区,其中所述可变区具有一个或多个CDR和/或一个或多个FR,并且其中CDR和/或FR中选自与[13]或[14]中限定的组中的修饰位点相同的修饰位点的组的至少一个氨基酸残基被修饰；

[0153] [A7][1]至[23]和[A1]至[A6]中任一项所述的抗体在制备药物中的用途,所述药物用于促进从血浆去除抗原；

[0154] [A8][1]至[23]和[A1]至[A6]中任一项所述的抗体在制备药物中的用途,所述药

物用于增加胞外基质结合；

[0155] [A9][1]至[23]和[A1]至[A6]中任一项所述的抗体用于从血浆去除抗原的用途；和

[0156] [A10][1]至[23]和[A1]至[A6]中任一项所述的抗体用于增加胞外基质结合的用途。

[0157] [A11][30],[30A],[30B],[31],[32]]任一项所述的方法获得的抗体。

[0158] 根据各种实施方案，公开内容A包括上述[1]至[30],[30A],[30B],[31],[32]和[A1]至[A11]中任一项中所述的一个或多个要素的组合(部分或全部)，只要该组合技术上与本领域中的普通技术知识不矛盾即可。例如，在一些实施方案中，公开内容A包括用于生产包含与抗体修饰前相比促进从血浆去除抗原的抗原结合结构域的修饰的抗体的方法，其中所述方法包括：

[0159] (a)修饰可以暴露在抗体的表面上的至少一个氨基酸残基，所述氨基酸残基在以下中的位置处：

[0160] (I)在CDR或FR中选自由以下组成的组的位置：根据Kabat编号，(a)重链可变区的FR中的位置1,3,5,8,10,12,13,15,16,18,19,23,25,26,39,41,42,43,44,46,68,71,72,73,75,76,77,81,82,82a,82b,83,84,85,86,105,108,110,和112；(b)重链可变区的CDR中的位置31,61,62,63,64,65,和97；(c)轻链可变区的FR中的位置1,3,7,8,9,11,12,16,17,18,20,22,37,38,39,41,42,43,45,46,49,57,60,63,65,66,68,69,70,74,76,77,79,80,81,85,100,103,105,106,107,和108；以及(d)轻链可变区的CDR中的位置24,25,26,27,52,53,54,55,和56；或

[0161] (II)在恒定区中选自由以下组成的组的位置：根据EU编号，位置196,253,254,256,258,278,280,281,282,285,286,307,309,311,315,327,330,342,343,345,356,358,359,361,362,373,382,384,385,386,387,389,399,400,401,402,413,415,418,419,421,424,430,433,434,和443；

[0162] (b)以得到的抗原结合活性根据离子浓度条件而改变的方式修饰抗原结合结构域，其中所述(a)和(b)可以同时或顺序进行；

[0163] (c)培养宿主细胞以表达编码修饰的抗体的核酸；和

[0164] (d)从宿主细胞培养物中收集修饰的抗体。

[0165] 在另一个实施方案中，所述方法任选地还包括以下中的一项或多项：

[0166] 与修饰前的抗体相比，

[0167] (e)选择能够促进从血浆去除抗原的抗体；

[0168] (f)选择具有增强的对胞外基质的结合活性的抗体；

[0169] (g)选择在中性pH条件(例如，pH 7.4)下具有增强的FcγR-结合活性的抗体；

[0170] (h)选择在中性pH条件(例如，pH 7.4)下具有增强的FcγRIIb-结合活性的抗体；

[0171] (i)选择具有保持的或增强的FcγRIIb-结合活性和对一种或多种激活性FcγR，优选选自由FcγRIa,FcγRIb,FcγRIc,FcγRIIIa,FcγRIIIb和FcγRIIa组成的组的FcγR减小的结合活性的抗体；

[0172] (j)选择在中性pH条件(例如，pH 7.4)下具有增强的FcRn-结合活性的抗体；

[0173] (k)选择具有提高的等电点(pI)的抗体；

[0174] (l)确认收集的抗体的等电点(pI),并且随后选择具有提高的等电点(pI)的抗体;和

[0175] (m)选择其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变或增加的抗体。

[0176] 公开内容A的另一个实施方案涉及,例如,但不限于:

[0177] [D1]用于产生与抗体修饰前相比其在血浆中的半衰期延长或降低的修饰的抗体的方法,其中所述方法包括:

[0178] (a)修饰编码修饰前的抗体的核酸以改变选自由以下组成的组的位置处的至少一个氨基酸残基的电荷:根据EU编号,位置196,253,254,256,258,278,280,281,282,285,286,307,309,311,315,327,330,342,343,345,356,358,359,361,362,373,382,384,385,386,387,389,399,400,401,402,413,415,418,419,421,424,430,433,434,和443;

[0179] (b)培养宿主细胞以表达核酸;和

[0180] (c)从宿主细胞培养物中收集抗体;或

[0181] [D2]用于延长或降低抗体在血浆中的半衰期的方法,其中所述方法包括在选自由以下组成的组的位置处修饰至少一个氨基酸残基:根据EU编号,位置196,253,254,256,258,278,280,281,282,285,286,307,309,311,315,327,330,342,343,345,356,358,359,361,362,373,382,384,385,386,387,389,399,400,401,402,413,415,418,419,421,424,430,433,434,和443。

[0182] 在一个实施方案中,公开内容B涉及,例如,但不限于:

[0183] [33]包括FcRn-结合结构域的Fc区变体,其中FcRn-结合结构域包括根据EU编号在位置434处的Ala;在位置438处的Glu,Arg,Ser,或Lys;和在位置440处的Glu,Asp,或Gln;

[0184] [34][33]所述的Fc区变体,其中所述FcRn-结合结构域包括根据EU编号在位置434处的Ala;在位置438处的Arg或Lys;和在位置440处的Glu或Asp;

[0185] [35][33]或[34]所述的Fc区变体,其中所述FcRn-结合结构域还包括根据EU编号在位置428处的Ile或Leu;和/或在位置436处的Ile,Leu,Val,Thr,或Phe;

[0186] [36][35]所述的Fc区变体,其中所述FcRn-结合结构域包括根据EU编号在位置428处的Leu;和/或在位置436处的Val或Thr;

[0187] [37][33]至[36]中任一项所述的Fc区变体,其中所述FcRn-结合结构域包括选自由以下组成的组的氨基酸置换的组合:根据EU编号,N434A/Q438R/S440E;N434A/Q438R/S440D;N434A/Q438K/S440E;N434A/Q438K/S440D;N434A/Y436T/Q438R/S440E;N434A/Y436T/Q438R/S440D;N434A/Y436T/Q438K/S440E;N434A/Y436T/Q438K/S440D;N434A/Y436V/Q438R/S440E;N434A/Y436V/Q438R/S440D;N434A/Y436V/Q438K/S440E;N434A/Y436V/Q438K/S440D;N434A/R435H/F436T/Q438R/S440E;N434A/R435H/F436T/Q438R/S440D;N434A/R435H/F436T/Q438K/S440E;N434A/R435H/F436T/Q438K/S440D;N434A/R435H/F436V/Q438R/S440E;N434A/R435H/F436V/Q438R/S440D;N434A/R435H/F436V/Q438K/S440E;N434A/R435H/F436V/Q438K/S440D;M428L/N434A/Q438R/S440E;M428L/N434A/Q438R/S440D;M428L/N434A/Q438K/S440E;M428L/N434A/Q438K/S440D;M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E;M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440D;M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440E;M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440D;M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E;M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440D;M428L/N434A/Y436V/Q438K/S440E;M428L/N434A/

Y436V/Q438K/S440D;L235R/G236R/S239K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E;和L235R/G236R/A327G/A330S/P331S/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E;

[0188] [38][37]所述的Fc区变体,其中所述FcRn-结合结构域包括选自由以下组成的组的氨基酸置换的组合:

[0189] 根据EU编号,N434A/Q438R/S440E;N434A/Y436T/Q438R/S440E;N434A/Y436V/Q438R/S440E;M428L/N434A/Q438R/S440E;M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E;M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E;L235R/G236R/S239K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E;和L235R/G236R/A327G/A330S/P331S/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E;

[0190] [39][33]至[38]中任一项所述的Fc区变体,其中与天然IgG的Fc区相比,其FcRn-结合活性在酸性pH条件(例如,pH 5.8)下增强;

[0191] [40][33]至[39]中任一项所述的Fc区变体,其中与天然IgG的Fc区相比,其与抗药物抗体(ADA)的结合活性在中性pH条件下不显著增强;

[0192] [41][40]所述的Fc区变体,其中所述抗药物抗体(ADA)是类风湿因子(RF);

[0193] [42][33]至[41]中任一项所述的Fc区变体,其中与天然IgG的Fc区相比,其血浆清除率(CL)降低,血浆保留时间增加,或血浆半衰期(t1/2)增加;

[0194] [43][33]至[42]中任一项所述的Fc区变体,其中与包含根据EU编号的氨基酸置换N434Y/Y436V/Q438R/S440E的组合的参照Fc区变体相比,其血浆保留增加;

[0195] [44]抗体,其包含[33]至[43]中任一项所述的Fc区变体;

[0196] [45][44]所述的抗体,其中所述抗体是IgG抗体;

[0197] [46]药物组合物,其包含[44]或[45]所述的抗体;

[0198] [47][46]所述的药物组合物,其用于增加抗体在血浆中的保留;

[0199] [48]核酸,其编码[33]至[43]中任一项所述的Fc区变体或[44]或[45]所述的抗体;

[0200] [49]载体,其包含[48]的核酸;

[0201] [50]宿主细胞,其包含[49]所述的载体;

[0202] [51]用于生产包含FcRn-结合结构域的Fc区变体或包含所述变体的抗体的方法,其包括培养[50]所述的宿主细胞,并且随后从细胞培养物中收集Fc区变体或包含所述变体的抗体;

[0203] [52][51]所述的方法,其还任选地包括选自由以下组成的组的任意一项或多项:

[0204] (a)选择与天然IgG的Fc区相比在酸性pH条件下具有增强的FcRn-结合活性的Fc区变体;

[0205] (b)选择与天然IgG的Fc区相比其与抗药物抗体(ADA)的结合活性在中性pH条件下不显著增强的Fc区变体;

[0206] (c)选择与天然IgG的Fc区相比具有增加的血浆保留的Fc区变体;和

[0207] (d)选择包含与包含天然IgG的Fc区的参照抗体相比能够促进从血浆去除抗原的Fc区变体的抗体;和

[0208] [53]用于生产包含FcRn-结合结构域的Fc区变体或包含所述变体的抗体的方法,其中所述方法包括以这样的方式置换氨基酸:得到的Fc区变体或包含所述变体的抗体包括根据EU编号在位置434处的Ala;在位置438处的Glu,Arg,Ser,或Lys;和在位置440处的Glu,

Asp,或Gln。

[0209] 在一个实施方案中,公开内容B涉及,例如,但不限于:

[0210] [B1][33]至[43]中任一项所述的Fc区变体或[44]或[45]所述的抗体在制备药物中的用途,所述药物用于增加在血浆中的保留;

[0211] [B2][33]至[43]中任一项所述的Fc区变体或[44]或[45]所述的抗体在制备药物中的用途,所述药物用于与天然IgG的Fc区相比在中性pH条件下不显著增加对抗药物抗体(ADA)的结合活性;

[0212] [B3][33]至[43]中任一项所述的Fc区变体或[44]或[45]所述的抗体用于增加在血浆中的保留的用途;

[0213] [B4][33]至[43]中任一项所述的Fc区变体或[44]或[45]所述的抗体用于与天然IgG的Fc区相比在中性pH条件下不显著增加对抗药物抗体(ADA)的结合活性的用途;和

[0214] [B5]Fc区变体或包含所述变体的抗体,其通过[51],[52],和[53]中任一项所述的方法获得。

[0215] 根据各种实施方案,公开内容B包括上述[33]至[53]和[B1]至[B5]中任一项所述的一种或多种要素的组合(部分或整体),只要该组合与本领域中的普通技术知识不矛盾即可。例如,在一些实施方案中,公开内容B包括包含FcRn-结合结构域的Fc区变体,其中所述FcRn-结合结构域可以包括:

[0216] (a)根据EU编号,在位置434处的Ala;在位置438处的Glu,Arg,Ser,或Lys;和在位置440处的Glu,Asp,或Gln;

[0217] (b)根据EU编号,在位置434处的Ala;在位置438处的Arg或Lys;和在位置440处的Glu或Asp;

[0218] (c)根据EU编号,在位置428处的Ile或Leu;在位置434处的Ala;在位置436处的Ile,Leu,Val,Thr,或Phe;在位置438处的Glu,Arg,Ser,或Lys;和在位置440处的Glu,Asp,或Gln;

[0219] (d)根据EU编号,在位置428处的Ile或Leu;在位置434处的Ala;在位置436处的Ile,Leu,Val,Thr,或Phe;在位置438处的Arg或Lys;和在位置440处的Glu或Asp;

[0220] (e)根据EU编号,在位置428处的Leu;在位置434处的Ala;在位置436处的Val或Thr;在位置438处的Glu,Arg,Ser,或Lys;和在位置440处的Glu,Asp,或Gln;或

[0221] (f)根据EU编号,在位置428处的Leu;在位置434处的Ala;在位置436处的Val或Thr;在位置438处的Arg或Lys;和在位置440处的Glu或Asp。

[0222] 在一个实施方案中,公开内容C涉及,例如,但不限于:

[0223] [54]结合人IL-8的分离的抗-IL-8抗体,其以下述(a)至(f)中至少一种包含至少一个氨基酸置换,并且以pH-依赖性的方式结合IL-8:

[0224] (a)HVR-H1,其包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列;

[0225] (b)HVR-H2,其包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列;

[0226] (c)HVR-H3,其包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列;

[0227] (d)HVR-L1,其包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列;

[0228] (e)HVR-L2,其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列;和

[0229] (f)HVR-L3,其包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列;

[0230] [55][54]所述的抗-IL-8抗体，其包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的位置9处的酪氨酸，SEQ ID NO:68的氨基酸序列的位置11处的精氨酸，和SEQ ID NO:69的氨基酸序列的位置3处的酪氨酸的氨基酸置换；

[0231] [56][54]或[55]所述的抗-IL-8抗体，其包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的位置6处的丙氨酸和SEQ ID NO:68的氨基酸序列的位置8处的甘氨酸的氨基酸置换；

[0232] [57][54]至[56]中任一项所述的抗-IL-8抗体，其包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的位置1处的天冬酰胺，SEQ ID NO:71的氨基酸序列的位置5处的亮氨酸，和SEQ ID NO:72的氨基酸序列的位置1处的谷氨酰胺的氨基酸置换；

[0233] [58][54]至[57]任一项中所述的抗-IL-8抗体，其包括(a)包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HVR-H2，和(c)包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的HVR-H3；

[0234] [59][54]至[58]任一项中所述的抗-IL-8抗体，其包括(a)包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1，(b)包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L2，和(c)包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的HVR-L3；

[0235] [60][54]至[59]任一项中所述的抗-IL-8抗体，其包括SEQ ID NO:78的重链可变区和SEQ ID NO:79的轻链可变区；

[0236] [61][54]至[60]任一项中所述的抗-IL-8抗体，其包含选自以下(a)至(f)的性质中的至少一个性质的Fc区：

[0237] (a)在酸性pH相对于天然Fc区对于FcRn的结合亲和力增加的Fc区对FcRn的结合亲和力；

[0238] (b)相对于天然Fc区对于预先存在的ADA的结合亲和力降低的Fc区对于预先存在的ADA的结合亲和力；

[0239] (c)相对于天然Fc区的血浆半衰期增加的Fc区的血浆半衰期；

[0240] (d)相对于天然Fc区的血浆清除降低的Fc区的血浆清除；和

[0241] (e)相对于天然Fc区对于效应受体的结合亲和力降低的Fc区对于效应受体的结合亲和力；和

[0242] (f)增加的对胞外基质的结合。

[0243] [62][61]所述的抗-IL-8抗体，其中Fc区在选自由以下组成的组的一个或多个位置包含一个或多个氨基酸置换：根据EU编号，位置235，236，239，327，330，331，428，434，436，438和440；

[0244] [63][62]所述的抗-IL-8抗体，其包含含有选自由以下组成的组的一个或多个氨基酸置换的Fc区：L235R，G236R，S239K，A327G，A330S，P331S，M428L，N434A，Y436T，Q438R和S440E；

[0245] [64][63]所述的抗-IL-8抗体，其中所述Fc区包含L235R，G236R，S239K，M428L，N434A，Y436T，Q438R和S440E的氨基酸置换；

[0246] [65][63]所述的抗-IL-8抗体，其中所述Fc区包含L235R，G236R，A327G，A330S，P331S，M428L，N434A，Y436T，Q438R和S440E的氨基酸置换；

[0247] [66]抗-IL-8抗体，其包含含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的轻链；

[0248] [67]抗-IL-8抗体,其包含含有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的轻链;

[0249] [68]分离的核酸,其编码[54]至[67]任一项中所述的抗-IL-8抗体;

[0250] [69]载体,其包含[68]所述的核酸;

[0251] [70]宿主细胞,其包含[69]所述的载体;

[0252] [71]用于生产抗-IL-8抗体的方法,其包括培养[70]所述的宿主;

[0253] [72]用于生产[71]所述的抗-IL-8抗体的方法,其包括从培养上清分离所述抗体;

[0254] [73]药物组合物,其包含[54]至[67]任一项中所述的抗-IL-8抗体,和药用载体;

[0255] [74][54]至[67]任一项中所述的抗-IL-8抗体,其用于药物组合物;

[0256] [75][54]至[67]任一项中所述的抗-IL-8抗体,其用于治疗存在过量IL-8的病症;

[0257] [76][54]至[67]任一项中所述的抗-IL-8抗体在制备药物组合物中的用途,所述药物组合物用于存在过量IL-8的病症;

[0258] [77]用于治疗患有存在过量IL-8的病症的患者的方法,其包括向个体施用[54]至[67]任一项中所述的抗-IL-8抗体;

[0259] [78]用于促进从个体中去除IL-8的方法,其包括向个体施用[54]至[67]任一项中所述的抗-IL-8抗体;

[0260] [79]药物组合物,其包括[54]至[67]任一项中所述的抗-IL-8抗体,其中所述抗体结合IL-8和结合胞外基质;以及

[0261] [80]用于生产包含具有pH-依赖性IL-8-结合活性的可变区的抗-IL-8抗体的方法,其中所述方法包括:

[0262] (a)评价抗-IL-8抗体与胞外基质的结合,

[0263] (b)选择与胞外基质具有强烈结合的抗-IL-8抗体,

[0264] (c)培养包含含有编码所述抗体的核酸的载体的宿主,和

[0265] (d)从培养溶液分离抗体。

[0266] 在一个备选实施方案中,公开内容C涉及:

[0267] [C1][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体在制备药物组合物中的用途,所述药物组合物用于抑制具有生物活性的IL-8的积累;

[0268] [C2][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体用于抑制具有生物活性的IL-8的积累的用途;

[0269] [C3][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体在制备药物组合物中的用途,所述药物组合物用于抑制血管生成;

[0270] [C4][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体用于抑制血管生成的用途;

[0271] [C5][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体在制备药物组合物中的用途,所述药物组合物用于抑制中性粒细胞迁移的促进;

[0272] [C6][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体用于抑制中性粒细胞迁移的促进的用途;

[0273] [C7][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体,其用于抑制具有生物活性的IL-8的积累;

[0274] [C8]用于抑制具有生物活性的IL-8的积累的方法,其中所述方法包括向个体施用[54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体;

[0275] [C9]用于抑制具有生物活性的IL-8的积累的药物组合物,其包括[54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体;

[0276] [C10][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体,其用于抑制血管生成;

[0277] [C11例J制个体中血管生成的方法,其中所述方法包括向所述个体施用[54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体;

[0278] [C12]用于抑制血管生成的药物组合物,其包括[54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体;

[0279] [C13][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体,其用于抑制对中性粒细胞迁移的促进;

[0280] [C14]用于抑制个体中对中性粒细胞迁移的促进的方法,其中所述方法包括向所述个体施用[54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体;

[0281] [C15]药物组合物,其用于抑制对中性粒细胞迁移的促进,所述药物组合物包含[54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体;

[0282] [C16][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体,其用于治疗存在过量IL-8的病症;

[0283] [C17][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体在制备药物组合物中的用途,所述药物组合物用于治疗存在过量IL-8的病症;

[0284] [C18][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体用于治疗存在过量IL-8的病症的用途;

[0285] [C19]治疗个体中存在过量IL-8的病症的方法,其中所述方法包括向所述个体施用[54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体;

[0286] [C20]用于治疗存在过量IL-8的病症的药物组合物,其包含[54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体;

[0287] [C21][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体,其用于促进IL-8的去除;

[0288] [C22][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体在制备药物组合物中的用途,所述药物组合物用于促进IL-8的去除;

[0289] [C23][54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体用于促进IL-8的去除的用途;

[0290] [C24]用于促进个体中IL-8的去除的方法,其中所述方法包括向所述个体施用[54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体;和

[0291] [C25]用于促进IL-8的去除的药物组合物,其包含[54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体。

[0292] [C26]抗-IL-8抗体,其包含在选自由以下组成的组的一个或多个位置处包含一个或多个氨基酸置换的Fc区:根据EU编号位置235,236,239,327,330,331,428,434,436,438和440。

[0293] [C27][C26]所述的抗-IL-8抗体，其包含具有选自以下(a)至(f)的性质的至少一种性质的Fc区：

[0294] (a)相对于天然Fc区对于FcRn在酸性pH的结合亲和力，增加的Fc区对于FcRn的结合亲和力；

[0295] (b)相对于天然Fc区对于预先存在的ADA的结合亲和力，降低的Fc区对于预先存在的ADA的结合亲和力；

[0296] (c)相对于天然Fc区的血浆半衰期，增加的Fc区的血浆半衰期；

[0297] (d)相对于天然Fc区的血浆清除，降低的Fc区的血浆清除；

[0298] (e)相对于天然Fc区对于效应受体的结合亲和力，降低的Fc区对于效应受体的结合亲和力；和

[0299] (f)增加的对胞外基质的结合。

[0300] [C28][C26]或[C27]所述的抗-IL-8抗体，其包含含有选自由以下组成的组的一个或多个氨基酸置换的Fc区：根据EU编号，L235R，G236R，S239K，A327G，A330S，P331S，M428L，N434A，Y436T，Q438R和S440E。

[0301] [C29][C28]所述的抗-IL-8抗体，其包含含有选自由以下组成的组的一个或多个氨基酸置换的Fc区：根据EU编号(a)L235R，G236R，S239K，M428L，N434A，Y436T，Q438R和S440E；或(b)L235R，G236R，A327G，A330S，P331S，M428L，N434A，Y436T，Q438R和S440E。

[0302] [C30][C26]所述的抗-IL-8抗体，其包含含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的轻链。

[0303] [C31][C26]所述的抗-IL-8抗体，其包含含有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的轻链。

[0304] [C32]分离的核酸，其编码[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体。

[0305] [C33]载体，其包含[C32]所述的核酸。

[0306] [C34]宿主细胞，其包含[C33]所述的载体。

[0307] [C35]用于生产抗-IL-8抗体的方法，其包括培养[C34]所述的宿主细胞。

[0308] [C36]用于生产[C26]至[C31]中任一项所述的抗-IL-8抗体的方法，其还包括从宿主细胞培养物中分离所述抗体。

[0309] [C37]药物组合物，其包含[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体和药用载体。

[0310] [C38]用于治疗具有存在过量IL-8的病症的患者的方法，所述方法包括向所述个体施用[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体。

[0311] [C39]用于促进从个体中去除IL-8的方法，所述方法包括向所述个体施用[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体。

[0312] [C40]用于抑制IL-8的方法，其中所述方法包括使[54]至[67]和[C26]至[C31]任一项中所述的抗-IL-8抗体与IL-8接触。

[0313] [C41][C40]所述的方法，其中所述方法抑制IL-8的生物活性。

[0314] 根据各种实施方案，公开内容C包括上述[54]至[80]和[C1]至[C41]任一项中所述的一个或多个要素的组合(部分或整体)，只要该组合与本领域的普通技术知识在技术上不矛盾即可。

[0315] 附图简述

[0316] [图1]

[0317] 图1显示用以pH-依赖性的方式结合人IL-6受体并且其恒定区是天然IgG1的恒定区的结合人IL-6受体的抗体(低_pI-IgG1),或已经提高了抗体中的可变区的pI的抗体(高_pI-IgG1)施用的人FcRn转基因小鼠中人IL-6受体的血浆浓度的改变。

[0318] [图2]

[0319] 图2表明用以pH-依赖性的方式结合人IL-6受体并且被赋予在中性pH条件下结合FcRn的结合人IL-6受体的抗体(低_pI-F939),和已经提高了抗体中的可变区的pI的抗体(中_pI-F939,高_pI-F939)分别施用的人FcRn转基因小鼠中人IL-6受体的血浆浓度的改变。

[0320] [图3]

[0321] 图3显示用以pH-依赖性的方式结合人IL-6受体并且其在中性pH条件下的FcγR结合增加的结合人IL-6受体的抗体(低_pI-F1180),和已经提高了抗体中的可变区的pI的抗体(中_pI-F1180,高_pI-F1180)分别施用的人FcRn转基因小鼠中人IL-6受体的血浆浓度的改变。

[0322] [图4]

[0323] 图4显示其血浆中可溶性人IL-6受体浓度保持在稳定状态的,用以pH-依赖性的方式结合人IL-6受体并且其恒定区是天然IgG1的恒定区的结合人IL-6受体的抗体(低_pI-IgG1),包含其中抗体中的Fc区在中性pH条件下具有增加的FcRn结合的Fc区变体的抗体(低_pI-F11),和已经提高了的这些抗体中的可变区的pI的抗体(高_pI-IgG1,高_pI-F11)分别施用的人FcRn转基因小鼠中人IL-6受体的血浆浓度的改变。

[0324] [图5]

[0325] 图5显示三种类型的以pH-依赖性的方式结合人IL-6受体的具有不同pI的抗体(低_pI-IgG1,中_pI-IgG1和高_pI-IgG1)和两种类型的不以pH-依赖性的方式结合人IL-6受体的具有不同pI的抗体(低_pI(NPH)-IgG1和高_pI(NPH)-IgG1)中的每种的胞外基质结合的程度。"NPH"意为在本文所述的公开内容A的范围内pH非依赖性的。

[0326] [图6]

[0327] 图6显示包含其各自pI通过修饰以pH-依赖性的方式结合IgE的Ab1H-P600抗体的恒定区中的一个氨基酸残基而提高的Fc区变体的抗体的可溶性人FcγRIIb结合(通过BIACORE(注册商标)测量)程度的相对值,设定Ab1H-P600的值为1.00。

[0328] [图7]

[0329] 图7显示包含其各自的pI通过修饰Ab1H-P600的恒定区中的一个氨基酸残基而提高的Fc区变体的抗体摄入表达hFcγRIIb的细胞系的细胞的速率的相对值,各自以设置为1.00的Ab1H-P600的值评价。

[0330] [图8]

[0331] 图8显示Fv4-IgG1(其具有天然人IgG1的Fc区)对每个RA患者的血清中类风湿因子的结合程度。

[0332] [图9]

[0333] 图9显示Fv4-YTE(其包含具有增加的FcRn结合的Fc区变体)对每个RA患者的血清

中类风湿因子的结合程度。

[0334] [图10]

[0335] 图10显示Fv4-LS(其包含具有增加的FcRn结合的Fc区变体)对每个RA患者的血清中类风湿因子的结合程度。

[0336] [图11]

[0337] 图11显示Fv4-N434H(其包含具有增加的FcRn结合的Fc区变体)对每个RA患者的血清中类风湿因子的结合程度。

[0338] [图12]

[0339] 图12显示Fv4-F1847m(其包含具有增加的FcRn结合的Fc区变体)对每个RA患者的血清中类风湿因子的结合程度。

[0340] [图13]

[0341] 图13显示Fv4-F1848m(其包含具有增加的FcRn结合的Fc区变体)对每个RA患者的血清中类风湿因子的结合程度。

[0342] [图14]

[0343] 图14显示Fv4-F1886m(其包含具有增加的FcRn结合的Fc区变体)对每个RA患者的血清中类风湿因子的结合程度。

[0344] [图15]

[0345] 图15显示Fv4-F1889m(其包含具有增加的FcRn结合的Fc区变体)对每个RA患者的血清中类风湿因子的结合程度。

[0346] [图16]

[0347] 图16显示Fv4-F1927m(其包含具有增加的FcRn结合的Fc区变体)对每个RA患者的血清中类风湿因子的结合程度。

[0348] [图17]

[0349] 图17显示Fv4-F1168m(其包含具有增加的FcRn结合的Fc区变体)对每个RA患者的血清中类风湿因子的结合程度。

[0350] [图18]

[0351] 图18显示Fv4-IgG1(其具有天然人IgG1的Fc区,并且每种抗体包含其中Fc区具有对每种FcRn具有增加的结合的Fc区变体的新Fc区变体)对RA患者的血清中的类风湿因子的结合的平均值。

[0352] [图19]

[0353] 图19显示用OHB-IgG1(其是抗-人IgE抗体并且具有天然人IgG1的Fc区,并且每个抗体包含新Fc区变体(其中每个Fc区包含具有增加的对FcRn的结合的Fc区变体))(OHB-LS,OHB-N434A,OHB-F1847m,OHB-F1848m,OHB-F1886m,OHB-F1889m和OHB-F1927m)施用时,食蟹猴中每种抗-人IgE抗体的血浆浓度的改变。

[0354] [图20]

[0355] 图20显示当用Fv4-IgG1(其是抗-人IL-6受体抗体并且具有天然人IgG1的Fc区),或Fv4-F1718(其在酸性pH条件具有增加的抗体对FcRn结合)施用时,人FcRn转基因小鼠中抗-人IL-6受体抗体的血浆浓度的改变。

[0356] [图21]

[0357] 图21显示对于在pH 7.4和pH 5.8用Biacore测量的H998/L63和Hr9的IL-8结合获得的传感图。

[0358] [图22]

[0359] 图22显示当H998/L63或H89/L118以2mg/kg(在与人IL-8的混合物中)施用给小鼠时,小鼠血浆中人IL-8浓度的改变。

[0360] [图23]

[0361] 图23显示当H89/L118以2mg/kg或8mg/kg(在与人IL-8的混合物中)施用于小鼠时,小鼠血浆中人IL-8浓度的改变。

[0362] [图24]

[0363] 图24显示当H89/L118或H553/L118以2mg/kg或8mg/kg(在与人IL-8的混合物中)施用于小鼠时,小鼠血浆中人IL-8浓度的改变。

[0364] [图25A]

[0365] 图25A显示在保存在血浆中之前抗体Hr9,H89/L118或H553/L118的抗体浓度-依赖性化学发光的相对值的改变。

[0366] [图25B]

[0367] 图25B显示在血浆中保存一周之后抗体Hr9,H89/L118或H553/L118的抗体浓度-依赖性化学发光的相对值的改变。

[0368] [图25C]

[0369] 图25C显示在血浆中保存两周后抗体Hr9,H89/L118或H553/L118的抗体浓度-依赖性化学发光的相对值的改变。

[0370] [图26]

[0371] 图26显示预测的对于每种抗-IL-8抗体(hWS4,Hr9,H89/L118,H496/L118或H553/L118)ADA出现的频率和预测的对于其他预先存在的治疗性抗体的ADA出现的频率,通过EpiMatrix预测。

[0372] [图27]

[0373] 图27显示预测的对于每种抗-IL-8抗体(H496/L118,H496v1/L118,H496v2/L118,H496v3/L118,H1004/L118或H1004/L395)ADA出现的频率和预测的对于其他预先存在的治疗性抗体ADA出现的频率,通过EpiMatrix预测。

[0374] [图28A]

[0375] 图28A显示在保存在血浆中之前抗体Hr9,H89/L118或H1009/L395-F1886s的抗体浓度-依赖性化学发光的相对值的改变。

[0376] [图28B]

[0377] 图28B显示在血浆中保存一周后抗体Hr9,H89/L118或H1009/L395-F1886s的抗体浓度-依赖性化学发光的相对值的改变。

[0378] [图28C]

[0379] 图28C显示在血浆中保存两周后抗体Hr9,H89/L118或H1009/L395-F1886s的抗体浓度-依赖性化学发光的相对值的改变。

[0380] [图29]

[0381] 图29显示当向小鼠施用H1009/L395,H553/L118和H998/L63中的每种(在与人IL-8

的混合物中)时,小鼠血浆中人IL-8浓度的改变。

[0382] [图30]

[0383] 图30显示当将Hr9,H89/L118或H1009/L395单独加入至胞外基质,和当将它们以与人IL-8的混合物加入时的胞外基质结合程度。

[0384] [图31]

[0385] 图31显示当将具有H1009/L395的可变区和不结合FcRn的Fc区的抗体(F1942m)单独或以与人IL-8的混合物施用于人FcRn转基因小鼠时,小鼠血浆抗体浓度的改变。

[0386] [图32]

[0387] 图32显示预测的对于H1009/L395和H1004/L395 ADA出现的频率和预测的对于其他预先存在的治疗性抗体ADA出现的频率,通过EpiMatrix预测。

[0388] [图33]

[0389] 图33显示当施用以H89/L118-IgG1(其具有H89/L118的可变区和天然人IgG1的Fc区,和每种包含具有增加的对FcRn的结合的Fc区变体的抗体(H89/L118-F1168m,H89/L118-F1847m,H89/L118-F1848m,H89/L118-F1886m,H89/L118-F1889m和H89/L118-F1927m)时,食蟹猴血浆中各个抗-人IL-8抗体的浓度的改变。

[0390] [图34]

[0391] 图34显示具有H1009/L395的可变区并且其Fc区对于每种FcγR是变体(F1886m,F1886s,或F1974m)的抗体的结合。

[0392] [图35]

[0393] 图35显示当抗-IL-8抗体以与人IL-8的混合物施用于人FcRn转基因小鼠时,小鼠血浆中人IL-8浓度的改变。在该情况下,抗-IL-8抗体是包含H1009/L395的可变区和天然人IgG1的Fc区的H1009/L395-IgG1(2mg/kg),或包含H1009/L395的可变区和修饰的Fc区的H1009/L395-F1886s(2,5或10mg/kg)。

[0394] [图36]

[0395] 图36显示当施用以Hr9-IgG1或H89/L118-IgG1(二者都包含天然人IgG1的Fc区),或H1009/L395-F1886s或H1009/L395-F1974m(二者都包含修饰的Fc区)时,食蟹猴血浆中抗体浓度的改变。

[0396] [图37]

[0397] 图37显示就抗体可变区修饰而言,一些抗-IgE抗体在C57BL6J小鼠中的IgE血浆浓度时间曲线。

[0398] [图38A]

[0399] 图38(图38A-38D)显示选择的25个[二十五个]pH-依赖性和/或钙-依赖性抗原结合克隆的Octet传感图。

[0400] [图38B]

[0401] 图38B是图38A的继续。

[0402] [图38C]

[0403] 图38C是图38B的继续。

[0404] [图38D]

[0405] 图38D是图38C的继续。

[0406] [图39]

[0407] 图39显示就抗体可变区修饰而言，一些抗-C5双特异性抗体在C57BL6J小鼠中的C5血浆浓度时间曲线。

[0408] [图40]

[0409] 图40显示就抗体可变区修饰而言，一些抗-IgE抗体在C57BL6J小鼠中的IgE血浆浓度时间曲线。

具体实施方案

[0410] 详细描述

[0411] 公开内容A，B或C的非限制性实施方案在下文中描述。描述下文实施例中所述的所有实施方案，意在于"详述"部分中也正确理解，不受可能在希望本专利申请获得授权的国家中被试图狭义地解释实施例中所述的内容的任何专利实践、条例、指南等限制。

[0412] 公开内容A或公开内容B

[0413] 在一些实施方案中，公开内容A涉及包含其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变的抗原结合结构域的抗体，其中等电点(pI)通过修饰可以暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基而提高(本文中，在公开内容A的范围内的也称为"具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体"；并且抗体的抗原结合结构域也称为"具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗原结合结构域")。本发明部分基于本发明人的出人意料的发现：从血浆去除抗原可以用其等电点(pI)通过修饰可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基而提高的离子浓度-依赖性抗体来促进(例如，当体内施用抗体时)；并且抗体对胞外基质的结合可以随具有增加的(升高的)pI的离子浓度-依赖性抗体而增加。本发明还部分基于本发明人的出人意料的发现：该有益效果通过组合以下两种完全不同理念带来：离子浓度-依赖性抗原结合结构域或离子浓度-依赖性抗体；和其pI通过修饰可能暴露在表面上的至少一个氨基酸残基而提高的抗体(本文中，在公开内容A的范围内的也称为"具有提高的pI的抗体"；并且其pI通过修饰可能暴露在表面上的至少一个氨基酸残基减小(降低的)抗体公开内容A的范围内也称为"具有降低的pI的抗体")。本发明因此归类为一类开拓性研究，其可能在公开内容A属于的领域(例如，医学领域)引领显著的技术革新。

[0414] 通常，例如，包含抗原结合结构域并且其pI通过修饰可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基而提高，其进一步修饰从而抗原结合结构域的抗原结合活性根据离子浓度条件而改变的抗体，也包括在本文所述的公开内容A的范围内(本文中，所述抗体在公开内容A的范围内也称为"具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体")。

[0415] 通常，例如，含有离子浓度-依赖性抗原结合结构域的抗体(其可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基具有与修饰前的抗体(天然抗体(例如，天然Ig抗体，优选天然IgG抗体)，或参考或母体抗体(例如，修饰前的抗体，或文库构建之前或期间的抗体等))中的相应位置的至少一个氨基酸残基不同的电荷，并且其净抗体pI提高)也包括在本文所述的公开内容A中(所述抗体在本文所述的公开内容A的范围内也称为"具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体")。

[0416] 通常，例如，含有离子浓度-依赖性抗原结合结构域的抗体(其pI通过修饰修饰前的抗体(天然抗体(例如，天然Ig抗体，优选天然IgG抗体，或参考或母体抗体(例如，修饰前

的抗体,或文库构建前或期间的抗体等))中可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基而提高)也包括在本文所述的公开内容A中(所述抗体在本文所述的公开内容A的范围内也称为"具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体")。

[0417] 通常,例如,含有离子浓度-依赖性抗原结合结构域的抗体(其中修饰可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基来提高抗体的pI)也包括在本文所述的公开内容A(所述抗体在本文所述的公开内容A的范围内也称为"具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体")。

[0418] 在本文所述的公开内容A和B的范围内,"氨基酸"不仅包括天然氨基酸,而且也包括非天然氨基酸。本文所述的公开内容A和B的范围内,氨基酸或氨基酸残基可以由单字母(例如,A)或三字母编码(例如,Ala),或二者(例如,Ala(A))表示。

[0419] 在公开内容A和B的范围内使用时,"氨基酸的修饰","氨基酸残基的修饰",或相当的术语可以理解为,不限于用分子化学修饰抗体氨基酸序列中一个或多个(例如,1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,或多于10个)特定氨基酸(残基)或在抗体氨基酸序列中添加、缺失、置换或插入一个或多个(例如,1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,或多于10个)氨基酸。可以对编码氨基酸序列的核酸,例如,通过位点导向的诱变(Kunkel等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 82:488-492(1985))或重叠延伸PCR;经由抗体的亲和力成熟,或通过使用抗体重链或轻链的链改组(shuffling);或通过使用噬菌体展示文库的基于抗原淘选的选择(Smith等人,Methods Enzymol.217:228-257(1993))进行氨基酸添加,缺失,置换,或插入;并且这些可以单独进行或以适当的组合进行。所述氨基酸修饰优选,通过用不同氨基酸(分别)置换抗体氨基酸序列中的一个或多个氨基酸残基进行氨基酸添加,缺失,置换,或插入,并且通过人源化或嵌合修饰氨基酸序列可以通过本领域中已知的方法进行。氨基酸(残基)的改变或修饰,如氨基酸添加,缺失,置换,或插入,还可以在要用于制备对于公开内容A或B的抗体的重组抗体的抗体可变区或抗体恒定区上进行。

[0420] 在本文所述的公开内容A和B的范围内的一个实施方案中,氨基酸(残基)的置换是指用不同氨基酸(残基)置换,并且可以设计为修饰,例如,如(a)至(c)中各项的事项:(a)折叠或螺旋构象区域中的多肽骨架结构;(b)靶位点的电荷或疏水性;或(c)侧链的大小。

[0421] 基于结构中侧链的性质将氨基酸残基分类为例如以下组:(1)疏水的:正亮氨酸,Met,Ala,Val,Leu,和Ile;(2)中性的,亲水的:Cys,Ser,Thr,Asn,和Gln;(3)酸性的:Asp和Glu;(4)碱性的:His,Lys,和Arg;(5)影响链取向的残基:Gly和Pro;以及(6)芳族的:Trp,Tyr,和Phe。

[0422] 每个组内氨基酸残基的置换称为保守置换,而不同组之间的氨基酸残基置换称为非保守置换。氨基酸残基的置换可以是保守置换,非保守置换,或其组合。多种已知的适当方法可以用不同于天然氨基酸的那些用于置换氨基酸(Wang等人,Annu.Rev.Biophys.Biomol.Struct.35:225-249(2006);Forster等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 100(11):6353-6357(2003))。可能使用,例如,含有tRNA的无细胞翻译系统,其中非天然氨基酸与UAG密码子(琥珀密码子)(其是终止密码子)互补的琥珀抑制tRNA连接(Clover Direct(Protein Express))。

[0423] 在本文所述的公开内容A和B的范围内,要理解,"抗原"的结构不限于具体结构,只要抗原包括结合抗体的表位即可。抗原可以是无机物质或有机物质。抗原可以是任何配体,包括各种细胞因子,例如,白介素,趋化因子,和细胞生长因子。备选地,通常,例如,以可溶

形式存在或修饰为在生物液体如血浆中为可溶形式的受体也可以用作抗原。所述可溶性受体的非限制性实例包括Mullberg等人,J.Immunol.152(10):4958-4968(1994)中所述的可溶性IL-6受体。此外,抗原可以是单价的(例如,可溶性IL-6受体)或多价的(例如,IgE)。

[0424] 在一个实施方案中,可以由公开内容A和B的抗体结合的抗原优选是存在于受试者的生物液体(例如,WO2013/125667中所述的生物液体,优选血浆,细胞间液,淋巴液,腹水,或胸膜液)(在本文所述的公开内容A和B的范围内,要施用(施加)以抗体的受试者,其可以实际上是任何动物,例如,人、小鼠等)中的可溶性抗原;然而,抗原还可以是膜抗原。

[0425] 在本文所述的公开内容A和B的范围内,"延长靶分子在血浆中的半衰期"或"缩短靶分子在血浆中的半衰期"(所述靶分子可以是抗原或抗体),或其相当的术语还可以使用除了血浆中的半衰期的参数(t1/2)之外的任何其他参数更具体地表示,如在血浆中的平均保留时间,血浆中的清除率(CL),和浓度曲线下面积(AUC)(药代动力学:Enshuniyoru Rikai(通过实践理解)Nanzando)。这些参数可以,例如,通过根据体内动力学分析软件WinNonlin(Pharsight)所附的方案进行非房室模型分析(noncompartmental analysis)进行具体评估。本领域技术人员已知,这些参数通常彼此相关。

[0426] 在本文所述的公开内容A和B的范围内,"表位"是指抗原中的抗原决定簇并且意为抗原上抗体的抗原结合结构域结合的位点。因此,表位可以,例如,基于其结构限定。备选地,表位可以由识别表位的抗体的抗原结合活性限定。当抗原是肽或多肽时,表位可以由构成表位的氨基酸残基具体化。备选地,当表位是糖链时,表位可以基于其具体糖链结构具体化。公开内容A和B的抗原结合结构域可以结合抗原上的单个表位或不同表位。

[0427] 线性表位可以是一级氨基酸序列。所述线性表位典型含有至少三个并且通常含有至少五个,例如,8至10个氨基酸或6至20个氨基酸作为独特序列。

[0428] 在构象表位中,通常构成表位的氨基酸不作为一级序列连续存在。抗体识别肽或蛋白的三维结构中的构象表位。确定表位的构象的方法包括但不限于,X射线晶体学,二维核磁共振,位点特异性旋转标记和电子顺磁共振(Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology(1996),Vol.66,Morris(编辑))。

[0429] 在本文所述的公开内容A和B的范围内,"抗体"不特别限制并且以最广泛的意义使用,只要其可以结合靶抗原即可,抗体的非限制性实例广泛地包括已知常见抗体(例如,天然免疫球蛋白(缩写为"Ig")),以及源自其的分子和变体,例如,Fab,Fab′,$F(ab')_2$,双抗体(diabodies),ScFv(Holliger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448(1993);EP404,097;WO93/11161;Peer等人,Nature Nanotechnology 2:751-760(2007)),低分子量抗体(minibodies)(Orita等人,Blood 105:562-566(2005)),支架蛋白,单臂抗体(包括WO2005/063816中所述的单臂抗体的所有实施方案),多特异性抗体(例如,双特异性抗体:对两个不同表位具有特异性的抗体,包括识别不同抗原的抗体和识别相同抗原上不同表位的抗体)。在本文所述的公开内容A和B的范围内,"双特异性抗体"不限于但可以制备为,例如,具有WO2005/035756中所述的常见L链的抗体分子,或通过WO2008/119353中所述的方法制备,其中具有IgG4-样恒定区的两种一般类型的抗体混合,引起两种类型的所述抗体之间的交换反应(对于本领域技术人员而言称为"Fab-臂交换"方法)。在一个备选实施方案中,它们可以是具有其中重链可变区和轻链可变区连接在一起成为单链(例如,$sc(Fv)_2$)的结构抗体。备选地,它们可以是由将Fc区(缺少CH1结构域的恒定区)与scFv(或$sc(Fv)_2$)(其中

重链可变区(VH)连接于轻链可变区(VL))连接导致的抗体-样分子(例如,scFv-Fc)。由scFv-Fc组成的多特异性抗体具有$(scFv)_2$-Fc结构,其中第一和第二多肽分别是VH1-接头-VL1-Fc和VH2-接头-VL2-Fc。备选地,它们可以是其中单结构域抗体连接于Fc区的抗体-样分子(Marvin等人,Curr.Opin.Drug Discov.Devel.9(2):184-193(2006)),Fc融合蛋白(例如,免疫粘附素)(US2013/0171138),其功能性片段,与其功能相当的物质,和其糖链修饰的变体。本文中,天然IgG(例如天然IgG1)是指含有与天然存在的IgG(例如天然IgG1)相同的氨基酸序列的多肽并且属于基本上由免疫球蛋白γ基因编码的抗体类型。天然IgG可以是其自发突变体等。

[0430] 通常,在抗体具有基本上与天然IgG相同或类似的结构时,四条链(两条重链多肽和两条轻链多肽)的Y-形结构可以是基本结构。通常,重链和轻链可以通过二硫键(SS键)连接并且形成异源二聚体。所述异源二聚体可以通过二硫键连接在一起并且形成Y-形异源四聚体。两条重链或轻链可以彼此相同或不同。

[0431] 例如,IgG抗体可以由木瓜蛋白酶裂解为两个Fab单位(区)和单个Fc单位(区),所述木瓜蛋白酶裂解铰链区(在本文所述的公开内容A和B的范围内也称为"铰链"),其中重链Fab区连接于Fc区。通常,Fab区含有抗原结合结构域。因为吞噬细胞如淋巴细胞和巨噬细胞具有能够结合Fc区的受体(Fc受体),并且可以经由Fc受体识别结合抗原的抗体并且吞噬抗原(调理作用)。同时,Fc区参与免疫反应如ADCC或CDC的介导,并且具有在抗体结合抗原后诱导反应的效应子功能。已知抗体效应子功能根据免疫球蛋白的类型(同种型)改变。IgG类型的Fc区将表明,例如,横跨位置226的半胱氨酸或位置230的脯氨酸(EU编号)到C末端的区域;然而,Fc区不限于此。Fc区可以适当地通过用蛋白酶如胃蛋白酶部分消化单克隆IgG1,IgG2,IgG3,或IgG4抗体等,接着从蛋白A或蛋白G柱洗脱吸附的级分而适当地获得。

[0432] 在本文所述的公开内容A和B的范围内,抗体可变区(一个或多个CDR和/或一个或多个FR)中氨基酸残基的位置根据Kabat显示,而恒定区或Fc区中氨基酸残基的位置基于Kabat的氨基酸位置根据EU编号显示(Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institute of Health,Bethesda,Md.,1987和1991)。

[0433] 在本文所述的公开内容A和B的范围内,"文库"可以指分子(群体)如具有序列变异的多种抗体,其中其各自的序列可以彼此相同或不同;多种含有所述抗体的融合多肽;或编码这些氨基酸序列的核酸或寡核苷酸,如WO2013/125667(例如,第0121-0125段)中详述的。文库可以,例如,含有至少10^4个抗体分子,更优选,至少10^5个抗体分子,甚至更优选,至少10^6个抗体分子,特别优选,至少10^7个抗体分子或更多。文库可以是噬菌体文库。术语"主要由...组成"意为在文库中具有不同序列的很多独立的克隆中占一定部分的可以具有不同抗原结合活性的抗体。在一个实施方案中,基于来自用特定抗原免疫的动物的淋巴细胞,感染的患者,由于免疫在血液中具有升高的抗体低度的人,或含有癌症或自身免疫病的患者的抗体基因构建的免疫文库可以适当地用作随机可变区文库。在一个备选实施方案中,含有未免疫(naive)序列(在组库中没有偏向的抗体序列)的未免疫文库(其从源自健康人的淋巴细胞的抗体基因构建)也可以适当地用作随机化的可变区文库(Gejima等人,人抗体11:121-129(2002));Cardoso等人,Scand.J.Immunol.51:337-344(2000))。含有未免疫序列的氨基酸序列可以指从所述未免疫文库获得的那些。在一个备选实施方案中,其中来自基因组DNA的V基因或重构建的功能性V基因用一组含有编码适当长度的密码子组的序列合

成的寡核苷酸置换的CDR序列的合成文库还可以适当地用作随机的可变区文库。在该情况下,还可能仅置换重链CDR3序列,因为在CDR3基因中观察到序列改变。在抗体可变区中产生氨基酸多样性的标准途径可以是增加可能暴露在抗体表面上的位置处的氨基酸残基的改变。

[0434] 在一个实施方案中,在公开内容A或B的抗体,例如,具有与天然Ig抗体的结构基本上相同或相似的结构的情况下,它们通常具有可变区("V区")[重链可变区("VH区")和轻链可变区("VL区")]以及恒定区("C区")["重链恒定区("CH区")和轻链恒定区("CL区")]。CH区进一步分为三个:CH1至CH3。通常,重链的Fab区含有VH区和CH1,并且通常重链的Fc区含有CH2和CH3。通常,铰链区位于CH1和CH2之间。此外,可变区通常具有互补决定区("CDRs")和框架区("FRs")。通常,VH区和VL区各自具有三个CDRs(CDR1,CDR2,和CDR3)和四个FRs(FR1,FR2,FR3,和FR4)。通常,重链和轻链的可变区中的六个CDR相互作用并且形成抗体的抗原结合结构域。另一方面,在仅存在一个单个CDR的情况下,在已知与存在六个CDR的情况相比抗原结合亲和力更低的同时,其具有识别和结合抗原的能力。

[0435] Ig抗体基于其恒定区的结构差异分类为多种类型(同种型)。在很多哺乳动物中,它们基于恒定区的结构差异分类为五个免疫球蛋白类型:IgG,IgA,IgM,IgD,和IgE。此外,在人的情形中,IgG具有四种类型:IgG1,IgG2,IgG3,和IgG4;并且IgA具有两种亚类:IgA1和IgA2。重链根据恒定区的差异分类为γ链,μ链,α链,δ链,和ε链,并且基于这些差异,存在五种免疫球蛋白类型(同种型):IgG,IgM,IgA,IgD,和IgE。另一方面,存在两种类型的轻链:λ链和κ链,并且所有免疫球蛋白具有这两种之一。

[0436] 在一个实施方案中,公开内容A或B的抗体具有重链,例如,所述重链可以是γ链,μ链,α链,δ链,和ε链中的任一种,或可以源自它们中的任一种,并且其中公开内容A或B的抗体具有轻链,例如,所述轻链可以是κ链或λ链,或可以源自它们中的任一种。此外,在本文所述的公开内容A和B的范围内,所述抗体可以是任一同种型的(例如,IgG,IgM,IgA,IgD,或IgE)和任意亚类的(例如,人IgG1,IgG2,IgG3,IgG4,IgA1,和IgA2;小鼠IgG1,IgG2a,IgG2b,和IgG3),或可以源自它们中的任一种,但不限于其。

[0437] 在本文所述的公开内容A和B的范围内,"抗原结合结构域"可以具有任意结构,只要其结合研究的抗原即可。所述结构域可以包括,例如,抗体重链和轻链的可变区(例如,1至6个CDRs);约35个氨基酸的称为A结构域的模块,其包含在Avimer(体内存在的细胞膜蛋白)中(WO2004/044011和WO2005/040229);结合表达在细胞膜上的糖蛋白纤连蛋白(fibronectin)中的蛋白的含有10Fn3结构域的Adnectin(WO2002/032925);Affibody,其具有支架IgG-结合结构域(构成蛋白A的58个氨基酸的三螺旋束)(WO1995/001937);设计的锚蛋白(Ankyrin)重复蛋白(DARPins),其是暴露在锚蛋白重复(AR)的分子表面上的区域,所述锚蛋白重复具有这样的结构:其中具有含有33个氨基酸残基转角(turn),两个反平行螺旋,和环的亚单位重复堆叠(WO2002/020565);Anticalins等,其是支持分子如中性粒细胞明胶酶-相关脂笼蛋白(NGAL)中高度保守的八条反平行链的中央扭曲的桶结构的一侧的四环区域(WO2003/029462);和通过由可变淋巴细胞受体(VLR)(其不具有免疫球蛋白结构并且用于无颌脊椎动物如七鳃鳗和盲鳗中的获得性免疫的系统)的富亮氨酸重复(LRR)模块的堆叠重复形成的马蹄形结构内部的平行片结构形成的凹形区域(WO2008/016854)。公开内容A或B的优选的抗原结合结构域可以包括具有IgG抗体重链和轻链可变区的那些,并且

更具体地是,ScFv,单链抗体,Fv,$scFv_2$(单链Fv_2),Fab,和$F(ab')_2$。

[0438] 在公开内容A的一个实施方案中,"离子浓度"不特别受限,并且指氢离子浓度(pH)或金属离子浓度。本文中,"金属离子"可以是除氢之外的第I族元素中的离子中的任一种,如碱金属和铜族元素,第II族元素如碱土金属和锌族元素,除硼之外的第III族元素,除碳和硅之外的第IV族元素,第VIII族元素如铁族和铂族元素,属于第V,VI,和VII族的亚族A的元素,和金属元素如锑,铋,和钋。金属原子具有释放价电子成为阳离子的性质。这称为离子化倾向。具有强的离子化倾向的金属认为是有化学活性的。

[0439] 在公开内容A的一个实施方案中,优选的金属离子可以是钙离子,如WO2012/073992和WO2013/125667中详述的。

[0440] 在公开内容A的一个实施方案中,"一个或多个离子浓度条件"可以是集中于离子浓度-依赖性抗体的生物行为在低离子浓度和高离子浓度之间的差异的条件。此外,"抗原结合活性根据离子浓度条件而改变"可能意为,公开内容A或B的离子浓度-依赖性抗原结合结构域或离子浓度-依赖性抗体的抗原结合活性在低离子浓度和高离子浓度之间改变。所述情况包括,例如,在高离子浓度比在低离子浓度具有更高(更强)的或更低(更弱)的抗原结合活性的那些,但不限于其。

[0441] 在公开内容A的一个实施方案中,离子浓度可以是氢离子浓度(pH)或钙离子浓度,在离子浓度是氢离子浓度(pH)的情况下,离子浓度-依赖性抗原结合结构域还可以称为"pH-依赖性抗原结合结构域";并且在离子浓度是钙离子浓度的情况下,其也可以称为"钙离子浓度-依赖性抗原结合结构域"。

[0442] 在公开内容A的情况下的一个实施方案中,离子浓度-依赖性抗原结合结构域,离子浓度-依赖性抗体,具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗原结合结构域,和具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体可以获自主要由序列不同(具有可变性)并且其抗原结合结构域含有至少一个引起抗原结合结构域或抗体的抗原结合活性根据离子浓度条件而改变的氨基酸残基的抗体组成的文库。抗原结合结构域可以优选位于轻链可变区(其可以被修饰)和/或重链可变区(其可以被修饰)内。此外,为了构建文库,所述轻链或重链可变区可以与构建为随机可变区序列文库的重链或轻链可变区组合。在离子浓度是氢或钙离子浓度的情况下,文库的非限制性实例包括,例如,其中构建为随机可变区序列文库的重链可变区与其中种系序列如SEQ ID NO:1(Vk1),SEQ ID NO:2(Vk2),SEQ ID NO:3(Vk3),或SEQ ID NO:4(Vk4)中的一个或多个氨基酸残基用至少一个能够根据离子浓度改变抗原结合活性的氨基酸残基置换的轻链可变区序列组合的文库。此外,在离子浓度是钙离子浓度的情况下,文库包括,例如,其中SEQ ID NO:5(6RL#9-IgG1)或SEQ ID NO:6(6KC4-1#85-IgG1)的重链可变区序列与构建为随机可变区序列文库的轻链可变区或具有种系序列的轻链可变区组合的那些。

[0443] 在一个实施方案中,在离子浓度是钙离子浓度,高钙离子浓度不特别限于具体值;然而,浓度可以在100μM至10mM之间,在200μM至5mM之间,在400μM至3mM之间,在200μM至2mM之间,或在400μM至1mM之间选择。在500μM至2.5mM(其接近钙离子体内血浆(血液)浓度)之间选择的浓度,也可以是优选的。低钙离子浓度不特别限于具体值;然而,浓度可以在0.1μM至30μM之间,在0.2μM至20μM之间,在0.5μM至10μM之间,或在1μM至5μM之间,或在2μM至4μM之间选择。在之间1μM至5μM(其接近在早期内体中的体内钙离子浓度)选择的浓度,也可以

是优选的。

[0444] 抗原结合结构域或含有所述结构域的抗体的抗原结合活性是否根据金属离子浓度(例如,钙离子浓度)条件改变可以容易地通过已知方法确定,例如,通过本文在公开内容A的范围内所述的方法,或WO2012/073992中所述的方法确定。例如,可以在低和高钙离子浓度测量抗原结合结构域或含有所述结构域的抗体的抗原结合活性并比较。在该情况下,除了钙离子浓度以外的条件可以优选相同。此外,在抗原结合活性的确定中除了钙离子浓度以外的条件可以由本领域技术人员适当选择。抗原结合活性可以,例如,在37℃在HEPES缓冲液的条件下,或使用BIACORE(GE Healthcare)等确定。

[0445] 在公开内容A的情况下的一个实施方案中,优选离子浓度-依赖性抗原结合结构域,离子浓度-依赖性抗体,具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗原结合结构域,或具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体的抗原结合活性在高钙离子浓度条件下比在低钙离子浓度条件下更高。在该情况下,在低钙离子浓度条件下的抗原结合活性和在高钙离子浓度条件下的抗原结合活性之间的比率不受限;然而,在低钙离子浓度条件下对于抗原的KD(解离常数)与在高钙离子浓度条件下的KD的比值,即,KD(3μM Ca)/KD(2mM Ca),可以优选是2或更多,更优选10或更多,并且还更优选40或更多。KD(3μM Ca)/KD(2mM Ca)值的上限不受限,并且可以是任意值如400,1000,或10000。

[0446] 在抗原是可溶性抗原的情况下,解离常数(KD)可以用作抗原结合活性的值。同时,在抗原是膜抗原的情况下,可以使用表观解离常数(KD)。解离常数(KD)和表观解离常数(KD)可以通过已知方法,例如,通过BIACORE(GE healthcare),Scatchard曲线,或流式细胞仪确定。

[0447] 备选地,例如,解离速率常数(kd)也可以用作表示结合活性比的另一指标。在使用解离速率常数(kd)替代解离常数(KD)作为表示抗原结合活性比的指标时,低-钙-离子-浓度-条件解离速率常数(kd)与高-钙-离子-浓度-条件解离速率常数(kd)的比值,即,kd(低钙离子浓度条件)/kd(高钙离子浓度条件),可以优选为2或更多,更优选5或更多,还更优选10或更多,并且另外更优选30或更多。kd(低钙离子浓度条件)/kd(高钙离子浓度条件)值的上限不受限,并且可以是任意值如50,100,或200。

[0448] 在抗原是可溶性抗原的情况下,解离速率常数(kd)可以用作抗原结合活性的值。同时,在抗原是膜抗原的情况下,可以使用表观解离速率常数(kd)。解离速率常数(kd)和表观解离速率常数(kd)可以通过已知方法,例如,通过BIACORE(GE healthcare)或流式细胞仪确定。

[0449] 在一个实施方案中,用于产生或筛选其抗原结合活性在高钙离子浓度条件比在低钙离子浓度条件更高的钙离子浓度-依赖性抗原结合结构域或钙离子浓度-依赖性抗体,或其文库的方法不受限。所述方法包括,例如,WO2012/073992(例如,第0200-0213段)中所述的那些。

[0450] 所述方法可以包括,例如:

[0451] (a)确定抗原结合结构域或抗体在低钙离子浓度条件下的抗原结合活性;

[0452] (b)确定抗原结合结构域或抗体在高钙离子浓度条件下的抗原结合活性;和

[0453] (c)选择其抗原结合活性在低钙离子浓度条件低于在高钙离子浓度条件下的抗原结合活性的抗原结合结构域或抗体。

[0454] 备选地，所述方法可以包括，例如：

[0455] (a)在高钙离子浓度条件下将抗原与抗原结合结构域或抗体，或其文库接触；

[0456] (b)在低钙离子浓度条件下孵育步骤(a)中结合于抗原的抗原结合结构域或抗体；和

[0457] (c)分离步骤(b)中解离的抗原结合结构域或抗体。

[0458] 备选地，方法可以包括，例如：

[0459] (a)在低钙离子浓度条件下将抗原与抗原结合结构域或抗体，或其文库接触；

[0460] (b)选择步骤(a)中不结合抗原或具有低抗原结合能力的抗原结合结构域或抗体；

[0461] (c)使步骤(b)中选择的抗原结合结构域或抗体在高钙离子浓度条件下与抗原结合；和

[0462] (d)分离在步骤(c)中与抗原结合的抗原结合结构域或抗体。

[0463] 备选地，所述方法可以包括，例如：

[0464] (a)将抗原结合结构域或抗体，或其文库与固定抗原的柱在高钙离子浓度条件下接触；

[0465] (b)在低钙离子浓度条件下从所述柱洗脱步骤(a)中结合于柱的抗原结合结构域或抗体；和

[0466] (c)分离步骤(b)中洗脱的抗原结合结构域或抗体。

[0467] 备选地，所述方法可以包括，例如：

[0468] (a)在低钙离子浓度条件下使抗原结合结构域或抗体，或其文库通过固定抗原的柱以收集不结合柱而洗脱的抗原结合结构域或抗体；

[0469] (b)使步骤(a)中收集的抗原结合结构域或抗体在高钙离子浓度条件下结合抗原；和

[0470] (c)分离步骤(b)中结合抗原的抗原结合结构域或抗体。

[0471] 备选地，所述方法可以包括，例如：

[0472] (a)在高钙离子浓度条件下将抗原与抗原结合结构域或抗体，或其文库接触；

[0473] (b)获得在步骤(a)中与所述抗原结合的抗原结合结构域或抗体；

[0474] (c)在低钙离子浓度下孵育在步骤(b)中获得的抗原结合结构域或抗体；和

[0475] (d)分离其在步骤(c)中的抗原结合活性弱于步骤(b)中选择的标准的抗原结合结构域或抗体。

[0476] 这些不同筛选方法的每个步骤可以重复数次，或可以将步骤适当组合，获得最合适的分子。对低和高钙离子浓度条件可以适当选择上述条件。所需钙离子浓度-依赖性抗原结合结构域或钙离子浓度-依赖性抗体可以由此获得。

[0477] 在公开内容A的情况下，在一个实施方案中，作为起始材料的抗原结合结构域或抗体可以是，例如，由于修饰至少一个能够暴露在其表面上的氨基酸残基的电荷得到的具有提高的pI的修饰的抗原结合结构域或抗体。在一个备选实施方案中，在将改变离子浓度-依赖性抗原结合结构域的结合活性的氨基酸引入序列的情况下，可以将它们与至少一个可能暴露在抗原结合结构域或抗体的表面的氨基酸残基的电荷修饰一起引入从而提高pI。

[0478] 备选地，在本公开内容A的情况下，例如，可能使用预先存在的抗原结合结构域或抗体，预先存在的文库(噬菌体文库等)；从通过免疫动物获得的杂交瘤或从免疫的动物的B

细胞,或其文库制备抗体;或通过引入能够螯合其中的钙的天然或非天然氨基酸突变获得的抗原结合结构域,抗体,或文库(下文所述)(例如,具有增加的可螯合钙的氨基酸的含量的文库,或在特定位点引入可螯合钙的氨基酸的文库)。

[0479] 在在公开内容A的情况下的一个实施方案中,在离子浓度是钙离子浓度的情况下,对于改变具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗原结合结构域或离子浓度-依赖性抗原结合结构域的结合活性的氨基酸类型没有限制,只要它们能够形成钙-结合基序即可。例如,钙-结合基序是本领域技术人员已知的(例如,Springer等人(Cells 102:275-277(2000));Kawasaki等人(Protein Prof.2:305-490(1995));Moncrief等人(J.Mol.Evol.30:522-562(1990));Chauvaux等人(Biochem.J.265:261-265(1990));Bairoch等人(FEBS Lett.269:454-456(1990));Davis(New Biol.2:410-419(1990));Schaefer等人(Genomics 25:638-643(1995));Economou等人(EMBO J.9:349-354(1990));Wurzburg等人(结构.14(6):1049-1058(2006))。因此,在抗原结合结构域具有任意钙-结合基序如C-型凝集素的钙-结合基序,例如,ASGPR,CD23,MBR,或DC-SIGN的情况下,结构域的抗原结合活性能够根据钙离子浓度条件改变。所述钙-结合基序可以包括(除了上述那些之外)例如,SEQ ID NO:7中所述抗原结合结构域中包括的钙-结合基序(其对应于″Vk5-2″)。

[0480] 在公开内容A的情况下的一个实施方案中,在离子浓度是钙离子浓度的情况下,具有金属螯合活性的氨基酸可以用作改变具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗原结合结构域或离子浓度-依赖性抗原结合结构域的结合活性的氨基酸。例如,任意氨基酸可以适当地用作具有金属螯合活性的氨基酸,只要它们能够形成钙-结合基序即可。具体而言,所述氨基酸包括具有供电子性质的那些。氨基酸优选包括,但不限于,Ser(S),Thr(T),Asn(N),Gln(Q),Asp(D),和Glu(E)。

[0481] 所述具有金属螯合活性的氨基酸在抗原结合结构域中的位置不受限于具体位置。在一个实施方案中,所述氨基酸可以位于可以形成抗原结合结构域的重链可变区和/或轻链可变区中的任意位置。引起抗体的抗原结合活性的钙离子浓度-依赖性改变的至少一个氨基酸残基可以包含在,例如,重链和/或轻链的CDR(CDR1,CDR2和CDR3中的一个或多个)和/或FR(FR1,FR2,FR3,和FR4中的一个或多个)中。一个或多个氨基酸残基可以置于,例如,根据Kabat编号在重链CDR3中的位置95,96,100a,和101中的一个或多个处;根据Kabat编号在轻链CDR1中的位置30,31和32的一个或多个处;根据Kabat编号在轻链CDR2中的位置50处;和/或根据Kabat编号在轻链CDR3中的位置92处。那些氨基酸残基可以单独或组合放置。

[0482] 已知肌钙蛋白C,钙调蛋白,小清蛋白,肌球蛋白轻链等具有多个钙-结合位点并且猜测在分子进化中源自共同来源,并且在一个实施方案中,轻链CDR1,CDR2,和CDR3中的一个或多个可以设计为含有其结合基序。为了上述目的,可以适当使用例如,钙粘蛋白结构域;钙调蛋白中含有的EF手;蛋白激酶C中含有的C2结构域;凝血蛋白因子IX中含有的Gla结构域;脱唾液酸糖蛋白受体或甘露糖-结合受体的C-型凝集素;LDL受体中含有的A结构域;膜联蛋白(Annexin);凝血酶敏感蛋白3型结构域;和EGF-样结构域。

[0483] 在一个实施方案中,在离子浓度是氢离子浓度(pH)的情况下,质子,即,氢原子的核的浓度条件,与氢指数的条件(pH)同义地使用。在水溶液中氢离子活性量用aH^+表示的情况下,pH定义为$-\log 10aH^+$。在水溶液的离子强度低(例如,低于10^{-3})的情况下,aH^+几乎等于氢离子强度。例如,在25℃和1个大气压下水的离子积是$Kw=aH^+*aOH=10^{-14}$;因此,对于纯

水，$aH^+ = aOH = 10^{-7}$。在此情况下，pH＝7是中性的，并且pH小于7的水溶液是酸性的，并且pH大于7的水溶液是碱性的。因此，氢离子浓度条件可以是集中于对于氢离子浓度条件或pH条件，在高氢离子浓度(酸性pH范围)和在低氢离子浓度(中性pH范围)下pH-依赖性抗体的生物行为的差异的条件。例如，在公开内容A的情况下，"在高氢离子浓度(酸性pH范围)条件下的抗原结合活性低于在低氢离子浓度(中性pH范围)条件下的抗原结合活性"可以意为，离子浓度-依赖性抗原结合结构域，离子浓度-依赖性抗体，具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗原结合结构域，或具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体的抗原结合活性在选自pH 4.0至pH 6.5，优选pH 4.5至pH 6.5，更优选pH 5.0至pH 6.5，并且还更优选pH 5.5至pH 6.5的pH，比选自pH 6.7至pH 10.0，优选pH 6.7至pH 9.5，更优选pH 7.0至pH 9.0，并且还更优选pH 7.0至pH 8.0的pH弱。优选地，上述表达可以意为，在早期内体体内pH的抗原结合活性弱于血浆pH体内的抗原结合活性；并且具体意为，抗体，例如，在pH 5.8的抗原结合活性弱于在例如，pH 7.4的抗原结合活性。

[0484] 抗原结合结构域或含有所述结构域的抗体的抗原结合活性是否根据氢离子浓度条件改变可以容易地通过已知方法，例如，通过本文公开内容A的情况下所述的，或WO2009/125825中所述的测定方法评估。例如，抗原结合结构域或含有所述结构域的抗体对研究的抗原的抗原结合活性可以在低和高氢离子浓度测量和比较。在该情况下，优选除了氢离子浓度之外的条件相同。在确定抗原结合活性的情况下，本领域技术人员能够适当地选择除了氢离子浓度之外的条件，并且例如，测量可以在HEPES缓冲液的条件下在37℃，或使用BIACORE(GE Healthcare)等进行。

[0485] 在本文所述的公开内容A的范围内，除非在上下文中具体另外指出，"中性pH范围"(也称为"低氢离子浓度"，"高pH"，"中性pH条件"，或"中性pH")不特别限制于具体值；然而，其可以优选选自pH 6.7至pH 10.0，pH 6.7至pH 9.5，pH 7.0至pH 9.0，或pH 7.0至pH 8.0。中性pH范围可以优选为pH 7.4，其接近血浆(血液)中的体内pH，但为了方便测量，例如，可以使用pH 7.0。

[0486] 在本文所述的公开内容A的范围内，除非上下文另外特别指出，"酸性pH范围"(也称为"高氢离子浓度"，"低pH"，"酸性pH条件"，或"酸性pH")不特别限制为具体值；然而，其可以优选选自pH 4.0至pH 6.5，pH 4.5至pH 6.5，pH 5.0至pH 6.5，或pH 5.5至pH 6.5。酸性pH范围可以优选是pH 5.8，其接近于早期内体的体内氢离子浓度，但为了方便，例如，可以使用pH 6.0。

[0487] 在公开内容A的情况下的一个实施方案中，在离子浓度是氢离子浓度的情况下，优选的是，离子浓度-依赖性抗原结合结构域，离子浓度-依赖性抗体，具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗原结合结构域，或具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体的抗原结合活性在中性pH条件下比在酸性pH条件下更高。在该情况下，在中性pH条件下的抗原结合活性与在酸性pH条件下的抗原结合活性的比率不受限；然而，对于抗原在酸性pH条件下的解离常数(KD)与在中性pH条件下的KD的比值，即，KD(酸性pH范围)/KD(中性pH范围)，(例如，KD(pH 5.8)/KD(pH 7.4))可以是2或更多；10或更多；或40或更多。KD(酸性pH范围)/KD(中性pH范围)值的上限不受限，并且可以是任意值如400，1000，或10000。

[0488] 在一个备选实施方案中，还可能使用，例如，解离速率常数(kd)作为指标来表示上述结合活性比。在使用解离速率常数(kd)替代解离常数(KD)作为指标来表示结合活性比的

情况下,对于抗原在高氢离子浓度条件下与在低氢离子浓度条件下的解离速率常数(kd)的比值,即,kd(酸性pH范围)/kd(中性pH范围)可以是2或更多,5或更多,10或更多,或30或更多。kd(酸性pH范围)/kd(中性pH范围)值的上限不受限,并且可以是任意值如50,100,或200。

[0489] 在抗原是可溶性抗原的情况下,抗原结合活性的值可以由解离速率常数(kd)表示,而在抗原是膜抗原的情况下,所述值可以由表观解离速率常数(表观kd)表示。解离速率常数(kd)和表观解离速率常数(表观kd)可以通过已知方法确定,例如,通过使用BIACORE(GE healthcare)或流式细胞仪确定。

[0490] 在一个实施方案中,用于产生或筛选其抗原结合活性在中性pH条件下比在酸性pH条件下更高的pH-依赖性抗原结合结构域或pH-依赖性抗体,或其文库的方法不受限。所述方法包括,例如,WO2009/125825(例如,第0158-0190段)中所述的那些。

[0491] 所述方法可以包括,例如:

[0492] (a)确定抗原结合结构域或抗体在酸性pH条件下的抗原结合活性;

[0493] (b)确定抗原结合结构域或抗体在中性pH条件下的抗原结合活性;和

[0494] (c)选择其抗原结合活性在酸性pH条件下低于在中性pH条件的抗原结合结构域或抗体。

[0495] 备选地,所述方法可以包括,例如:

[0496] (a)将抗原与抗原结合结构域或抗体,或其文库在中性pH条件下接触;

[0497] (b)在酸性pH条件下孵育步骤(a)中与抗原结合的抗原结合结构域或抗体;和

[0498] (c)分离步骤(b)中解离的抗原结合结构域或抗体。

[0499] 备选地,所述方法可以包括,例如:

[0500] (a)将抗原与抗原结合结构域或抗体,或其文库在酸性pH条件下接触;

[0501] (b)选择步骤(a)中不结合抗原或具有低抗原结合能力的抗原结合结构域或抗体;

[0502] (c)在中性pH条件下使抗原结合步骤(b)中选择的抗原结合结构域或抗体;和

[0503] (d)分离步骤(c)中与抗原结合的抗原结合结构域或抗体。

[0504] 备选地,所述方法可以包括,例如:

[0505] (a)将抗原结合结构域或抗体,或其文库与固定抗原的柱在中性pH条件下接触;

[0506] (b)在酸性pH条件下从柱上洗脱步骤(a)中结合于柱的抗原结合结构域或抗体;和

[0507] (c)分离步骤(b)中洗脱的抗原结合结构域或抗体。

[0508] 备选地,所述方法可以包括,例如:

[0509] (a)使抗原结合结构域或抗体,或其文库在酸性pH条件下通过固定抗原的柱以收集不结合柱的洗脱的抗原结合结构域或抗体;

[0510] (b)使步骤(a)中收集抗原结合结构域或抗体在中性pH条件下结合抗原;和

[0511] (c)分离步骤(b)中结合于抗原的抗原结合结构域或抗体。

[0512] 备选地,所述方法可以包括,例如:

[0513] (a)将抗原与抗原结合结构域或抗体,或其文库在中性pH条件下接触;

[0514] (b)获得步骤(a)中结合于抗原的抗原结合结构域或抗体;

[0515] (c)在酸性pH条件下孵育步骤(b)中获得的抗原结合结构域或抗体;和

[0516] (d)分离其抗原结合活性在步骤(c)中比步骤(b)中选择的标准弱的抗原结合结构

域或抗体。

[0517] 这些不同筛选方法的每个步骤可以重复数次,或可以将步骤组合。对于酸性和中性pH条件,可以适当选择上述条件。可以由此获得所需pH-依赖性抗原结合结构域或pH-依赖性抗体。

[0518] 在公开内容A的情况下,在一个实施方案中,作为起始材料的抗原结合结构域或抗体可以是,例如,由于修饰至少一个能够暴露在其表面上的氨基酸残基的电荷导致具有提高的pI的修饰的抗原结合结构域或抗体。在一个备选实施方案中,在将改变离子浓度-依赖性抗原结合结构域的结合活性的氨基酸引入序列中的情况下,它们可以与至少一个能够暴露在抗原结合结构域或抗体的表面上的氨基酸残基的电荷修饰一起引入从而提高pI。

[0519] 备选地,在本公开内容A的情况下,例如,可能使用预先存在的抗原结合结构域或抗体,预先存在的文库(噬菌体文库等);从通过免疫动物获得的杂交瘤或从免疫的动物的B细胞,或其文库制备的抗体;或通过向其中引入具有4.0-8.0的侧链pKa的天然或非天然氨基酸突变(下文描述)获得的抗原结合结构域,抗体,或文库(例如,具有增加的具有4.0-8.0的侧链pKa的天然或非天然氨基酸突变的文库,或在特定位点引入具有4.0-8.0的侧链pKa的天然或非天然氨基酸突变的文库)。所述优选的抗原结合结构域可以具有,例如,其中至少一个氨基酸残基被具有4.0-8.0的侧链pKa的氨基酸置换和/或其用具有4.0-8.0的侧链的氨基酸插入的氨基酸序列,如WO2009/125825中所述。

[0520] 在公开内容A的情况下的一个实施方案中,引入具有4.0-8.0的侧链pKa的氨基酸突变的位点不受限,并且突变可以引入至任意位点,只要与置换或插入前相比,抗原结合活性在酸性pH范围比在中性pH范围更弱(KD(酸性pH范围)/KD(中性pH范围)值增加或kd(酸性pH范围)/kd(中性pH范围)值增加)。在抗体具有可变区或一个或多个CDR的情况下,所述位点可以在所述可变区或一个或多个CDR内。置换或插入的氨基酸数量可以由本领域技术人员适当确定;并且所述数量可以是一个或多个。此外,可能缺失、添加、插入、和/或置换、或修饰其他氨基酸(除了上述置换或插入之外)。用具有4.0-8.0的侧链pKa的氨基酸置换或插入具有4.0-8.0的侧链pKa的氨基酸可以通过扫描方法以随机方式进行,如组氨酸扫描,其中在本领域技术人员已知的丙氨酸扫描中使用组氨酸替代丙氨酸,和/或与突变前相比其KD(酸性pH范围)/KD(中性pH范围)值或kd(酸性pH范围)/kd(中性pH范围)值增加的抗体可以选自用这些氨基酸的随机置换或随机插入突变这些氨基酸得到的抗原结合结构域或抗体,或其文库。

[0521] 此外,抗原结合结构域或抗体可以优选其抗原结合活性在这些突变之前和之后在中性pH范围下不显著降低,基本上不降低,基本相同,或增加的那些;并且换句话说,其活性可以保持在至少10%或更高,优选50%或更高,还更优选80%或更高,并且另外更优选90%或更高,或甚至更高的那些。在由于用具有4.0-8.0的pKa的氨基酸置换或插入具有4.0-8.0的pKa的氨基酸导致抗原结合结构域或抗体的结合活性减小的情况下,结合活性可以通过例如,在除上述置换或插入位点之外的位点置换,缺失,添加,插入一个或多个氨基酸来恢复或增加。

[0522] 在一个备选实施方案中,侧链pKa为4.0-8.0的氨基酸可以置于可以形成抗原结合结构域的重链和/或轻链可变区内的任意位置。至少一个侧链pKa为4.0-8.0的氨基酸残基可以位于,例如,重链和/或轻链的CDR(CDR1,CDR2和CDR3中的一个或多个)和/或FR(FR1,

FR2,FR3和FR4中的一个或多个)中。所述氨基酸残基包括,但不限于,根据Kabat编号在轻链可变区CDR1中位置24,27,28,31,32和34的一个或多个处的氨基酸残基;根据Kabat编号在轻链可变区CDR2的位置50,51,52,53,54,55和56中的一个或多个处的氨基酸残基;和/或根据Kabat编号在轻链可变区CDR3的位置89,90,91,92,93,94和95A的一个或多个处的氨基酸残基。那些氨基酸残基可以单独或组合包含在其中,只要抗体的抗原结合活性根据氢离子浓度条件改变即可。

[0523] 在公开内容A的范围内的一个实施方案中,任意氨基酸残基可以适当用作抗原结合结构域或抗体的抗原结合活性根据氢离子浓度条件改变的氨基酸残基。具体而言,所述氨基酸残基可以包括侧链pKa为4.0-8.0的那些。所述具有供电子性质的氨基酸可以包括,例如,天然氨基酸如His(H)和Glu(E),以及非天然氨基酸如组氨酸类似物(US2009/0035836),m-NO2-Tyr(pKa 7.45),3,5-Br2-Tyr(pKa 7.21),和3,5-I2-Tyr(pKa 7.38)(Heyl等人,Bioorg.Med.Chem.11(17):3761-3768(2003))。氨基酸残基可以优选包括,例如,侧链pKa为6.0-7.0的氨基酸,特别是His(H)。

[0524] 在本文所述的公开内容A的范围内,除非另有说明并且除非在上下文存在不一致,要理解,等电点(pI)可以是理论或实验确定的等电点,并且其也称为"pI"。

[0525] pI值可以实验确定,例如,通过等电聚焦电泳确定。同时,理论pI值可以使用基因和氨基酸序列分析软件(Genetyx,etc.)计算。

[0526] 在一个实施方案中,与修饰前的抗体(天然抗体(例如,天然Ig抗体,优选天然IgG抗体)或参照抗体(例如,抗体修饰前,或文库构建前或期间的抗体))相比,具有提高的pI的抗体或公开内容A的抗体的pI是否增加可以通过使用血浆(例如,来自小鼠、大鼠、兔、狗、猴、或人)进行(除了或替代上述方法)抗体药代动力学测试,与诸如BIACORE,细胞增殖测定,ELISA,酶免疫测定(EIA),放射免疫测定(RIA),或荧光免疫测定的方法组合进行确定。

[0527] 在本文所述的公开内容A的范围内,"能够暴露在表面上的氨基酸残基"通常可以指位于构成抗体的多肽的表面上的氨基酸残基。"位于多肽的表面上的氨基酸残基"可能指其侧链可能与溶剂分子(其通常可以主要是水分子)接触的氨基酸残基。然而,侧链不必需完全与溶剂分子接触,并且甚至当侧链的一部分与溶剂分子接触时,氨基酸残基定义为"位于表面上的氨基酸"。位于多肽的表面上的氨基酸残基还可以包括临近抗体表面的氨基酸残基并且由此可能具有来自其侧链,甚至部分与溶剂分子接触的其他一个或多个氨基酸残基的共用电荷影响。本领域技术人员能够通过例如使用可商购软件进行同源性建模制备多肽或抗体的同源性模型。备选地,可能使用方法如X-射线晶体学。可能暴露在表面上的氨基酸残基可以例如使用计算机软件如InsightII程序(Accelrys)从抗体的三维模型整合来确定。表面-暴露的位点可以使用技术领域中已知的算法确定(例如,Lee和Richards(J.Mol.Biol.55:379-400(1971));Connolly(J.Appl.Cryst.16:548-558(1983))。可暴露在表面的位点可以使用适于蛋白建模的软件和获自抗体的三维结构信息确定。用于此目的可获得的软件包括,例如,SYBYL Biopolymer Module软件(Tripos Associates)。当算法需要用户输入尺寸参数时,计算中使用的探针的"大小"可以设为半径约1.4埃或更少。此外,用于使用用于个人电脑的软件确定表面-暴露的区域和面积的方法由Pacios(Pacios,Comput.Chem18(4):377-386(1994);J.Mol.Model.1:46-53(1995))描述。基于上述所述信息,可以选择位于构成抗体的多肽表面上的适当氨基酸残基。

[0528] 增加蛋白的pI的方法是，例如，减少在中性pH条件下具有带负电的侧链的氨基酸(例如，天冬氨酸和谷氨酸)和/或增加具有带正电的侧链的氨基酸(例如，精氨酸，赖氨酸和组氨酸)的数量。具有带负电的侧链的氨基酸残基在充分高于其侧链pKa的pH条件下具有表示为-1的负电荷，这是本领域技术人员公知的理论。例如，天冬氨酸的侧链的理论pKa是3.9，并且侧链在中性pH条件(例如，在pH 7.0的溶液中)具有表示为-1的负电荷。相反，具有带正电的侧链的氨基酸残基在充分低于其侧链pKa的pH条件下具有表示为+1的正电荷。例如，精氨酸的侧链的理论pKa是12.5，并且侧链在中性pH条件(例如，在pH 7.0的溶液中)下具有表示为+1的正电荷。已知在中性pH条件(例如，在pH 7.0的溶液中)其侧链不带电荷的氨基酸残基包括15种类型的天然氨基酸，即，丙氨酸，半胱氨酸，苯丙氨酸，甘氨酸，异亮氨酸，亮氨酸，甲硫氨酸，天冬酰胺，脯氨酸，谷氨酰胺，丝氨酸，苏氨酸，缬氨酸，色氨酸，和酪氨酸。通常，要理解用于改变pI的氨基酸可以是非天然氨基酸。

[0529] 综上，作为用于在中性pH条件(例如，在pH 7.0的溶液中)下增加蛋白的pI的方法，例如，对于蛋白氨基酸序列中的天冬氨酸(残基)或谷氨酸(残基)(其侧链具有-1的负电荷)可以通过用不带电侧链置换氨基酸(残基)武予研究的蛋白+1的电荷改变。此外，例如，对于侧链不带电的氨基酸(残基)，可以通过置换精氨酸或赖氨酸(其侧链具有+1的正电荷)赋予蛋白+1的电荷改变。此外，对于天冬氨酸或谷氨酸(其侧链具有-1的负电荷)，可以通过置换精氨酸或赖氨酸(其侧链具有+1的正电荷)每次赋予蛋白+2的电荷改变。备选地，为了增加蛋白的pI，将具有不带电侧链的氨基酸和/或具有带正电的侧链的氨基酸添加或插入到蛋白的氨基酸序列中，或可以缺失存在于蛋白的氨基酸序列中的不带电荷的侧链的氨基酸和/或带负电的侧链的氨基酸。要理解，例如，除了源自其侧链的电荷之外，蛋白的N-末端和C-末端氨基酸残基具有源自主链的电荷(N-末端的氨基的NH^{3+}和C-末端的羧基的COO^{-})。因此，蛋白的pI也可以向源自主链的官能团进行一些添加，缺失，置换，或插入来增加。

[0530] 本领域技术人员会理解，改变蛋白的净电荷或pI(通过修饰氨基酸序列中的一个或多个氨基酸(残基)获得(致力于氨基酸(残基)的电荷的存在或规模))的效果，不仅仅(或基本上)取决于构成抗体的氨基酸序列本身或靶抗原的类型，而且依赖于添加、缺失、置换或插入的氨基酸残基的类型和数量。

[0531] 通过可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基上的修饰来修饰以具有提高的pI的抗体("具有提高的pI的抗体"或"pI-提高的抗体")可以更快速地摄取入细胞或能够促进从血浆去除抗原，如例如，WO2007/114319，WO2009/041643，WO2014/145159，或WO2012/016227中所述或提示的。

[0532] 多种抗体同种型中，例如，IgG抗体具有足够大的分子量，并且其主要代谢通路不是通过肾排泄。已知IgG抗体(其具有Fc区作为分子的一部分)通过经由FcRn的营救通路再循环，并且因此具有长的体内半衰期。认为IgG抗体主要经由内皮细胞中的代谢通路代谢(He等人，J.Immunol.160(2):1029-1035(1998))。具体而言，据信，当非特异性摄入内皮细胞中时，IgG抗体通过结合FcRn再循环，而不能结合的IgG抗体被代谢。当其Fc区被修饰从而其FcRn-结合活性降低时，IgG抗体的血浆半衰期可以缩短。另一方面，已经表明，具有提高的pI的抗体的血浆半衰期以高度相关的方式取决于pI，如例如，WO2007/114319和WO2009/041643中所述。具体而言，上述文献中所述的pI-提高的抗体的血浆半衰期在不修饰构成Fc的氨基酸序列(其可能潜在地导致免疫原性的获得)的情况下降低，并且该结果提示，提高

pI的技术可广泛应用，甚至用于其主要代谢途径是肾排泄的任何类型的抗体分子，如scFv，Fab，或Fc融合蛋白。

[0533] 生物液(例如，血浆)中的pH浓度是中性pH范围。不受特定理论限制，据信，在生物液中，pI-提高的抗体的净正电荷由于pI提高而增加，并且因此与其pI未提高的抗体相比，抗体通过理化Coulomb相互作用更强烈吸附于其净电荷是负的内皮细胞表面；通过非特异性结合，抗体与其结合并且摄入细胞，这导致血浆中抗体半衰期的缩短或从血浆去除抗原的增强。此外，提高抗体的pI增强抗体(或抗原/抗体复合物)摄入细胞和/或细胞内渗透性，这被认为导致降低血浆中的抗体浓度，降低抗体生物利用度，和/或缩短血浆中的抗体半衰期；并且这些现象预期常在体内发生，不论细胞类型、组织类型、器官类型等。此外，在抗体与抗原形成复合物并且摄入细胞的情况下，不仅抗体的pI而且抗原的pI可能对向细胞中摄入的减少或增加有影响。

[0534] 在一个实施方案中，产生或筛选具有提高的pI的抗体的方法可以包括，例如，WO2007/114319(例如，第0060-0087段)，WO2009/041643(例如，第0115-段)，WO2014/145159，和WO2012/016227中描述的那些。所述方法可以包括，例如：

[0535] (a)修饰编码包含可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基的抗体的核酸，从而一个或多个氨基酸残基的电荷被修饰，从而提高抗体的pI；

[0536] (b)培养宿主细胞从而表达核酸；和

[0537] (c)从宿主细胞培养物中收集抗体。

[0538] 备选地，所述方法可以包括，例如：

[0539] (a′)修饰编码包含可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基的抗体的核酸，从而一个或多个氨基酸残基电荷被修饰；

[0540] (b′)培养宿主细胞从而表达核酸；

[0541] (c′)从宿主细胞培养物中收集抗体；和

[0542] (d′)(任选地确认或测量和)选择与修饰前的抗体相比pI增加的抗体。这里，作为起始材料的抗体或修饰前的抗体或参照抗体可以是，例如，离子浓度-依赖性抗体。备选地，当修饰一个或多个氨基酸残基时，改变离子浓度-依赖性抗原结合结构域的结合活性的一个或多个氨基酸也可以包括在序列中。

[0543] 备选地，所述方法可以简单地是包括培养在步骤(b)或(b′)中获得的宿主细胞和从细胞培养物中收集抗体的方法。

[0544] 在一个备选实施方案中，所述方法可以是，例如，产生包含第一多肽和第二多肽，和任选地第三多肽和第四多肽的多特异性抗体的方法，所述方法包括：

[0545] (A)修饰编码第一多肽和/或第二多肽，和任选地第三多肽和/或第四多肽的核酸，其中任意一个或多个包含至少一个可能暴露在多肽表面的氨基酸残基，从而一个或多个氨基酸残基的电荷被修饰，而提高抗体的pI；

[0546] (B)培养宿主细胞从而表达核酸；和

[0547] (C)从宿主细胞培养物中收集多特异性抗体。

[0548] 备选地，所述方法可以包括，例如：

[0549] (A′)修饰编码第一多肽和/或第二多肽，以及任选地第三多肽和/或第四多肽的核酸，其中任意一个或多个包含至少一个可能暴露在多肽表面的氨基酸残基，从而一个或多

个氨基酸残基的电荷得到改变;

[0550] (B′)培养宿主细胞从而表达核酸;

[0551] (C′)从宿主细胞培养物中收集多特异性抗体;和

[0552] (D′)(任选地确认和)选择其pI与修饰前的抗体相比提高的抗体。

[0553] 本文中,作为起始材料的抗体或修饰前的抗体或参照抗体可以是,例如,离子浓度-依赖性抗体。备选地,当修饰一个或多个氨基酸残基时,改变离子浓度-依赖性抗原结合结构域的结合活性的氨基酸也可以包在序列中。

[0554] 备选地,所述方法可以简单地包括培养步骤(B)或(B′)中获得的宿主细胞和从细胞培养物中收集抗体的方法。在该情况下,其核酸被修饰的多肽可以优选是第一多肽的同源多聚物,第二多肽的同源多聚物,或第一和第二多肽的异源多聚物(和任选地,第三多肽的同源多聚物,第四多肽的同源多聚物,或第三和第四多肽的异源多聚物)。

[0555] 在一个备选实施方案中,所述方法可以,例如,是产生在血浆中具有缩短的半衰期的人源化或人抗体的方法,其包括:在包含一个或多个选自由一个或多个人源的CDR,一个或多个源自人之外的动物的CDR,和一个或多个合成的CDR;一个或多个人源的FR;和人恒定区组成的组的CDR的抗体中,(I)将可能暴露在至少一个选自由一个或多个CDR,一个或多个FR,和恒定区组成的组的区域的表面上的至少一个氨基酸残基修饰为与修饰前在相应位置处存在的一个或多个氨基酸残基具有不同电荷的一个或多个氨基酸残基,从而抗体的pI提高。

[0556] 备选地,所述方法可以包括,例如,在包含选自由一个或多个人源的CDR,一个或多个源自人之外的动物的CDR,和一个或多个合成的CDR;一个或多个人源的FR;和人恒定区组成的组的一个或多个CDR的抗体中,

[0557] (I′)将可能暴露在至少一个选自由一个或多个CDR,一个或多个FR,和恒定区组成的组的区域的表面的至少一个氨基酸残基修饰为与修饰前在相应位置处存在的一个或多个氨基酸残基具有不同电荷的一个或多个氨基酸残基;和

[0558] (II′)(任选地确认)选择与修饰前的抗体相比,其pI提高的抗体。

[0559] 这里,作为起始材料的抗体或修饰前的抗体或参照抗体可以是,例如,离子浓度-依赖性抗体。备选地,当修饰一个或多个氨基酸残基时,一个或多个改变离子浓度-依赖性抗原结合结构域的结合活性的氨基酸也可以包括在序列中。

[0560] 备选地,例如,可能使用预先存在的抗原结合结构域或抗体,预先存在的文库(噬菌体文库等);从通过免疫动物获得的杂交瘤或从免疫的动物的B细胞制备的抗体,或其文库;或通过根据例如上述实施方案中的任一个在抗原结合结构域,抗体,或其文库中修饰可能暴露在表面上的至少一个氨基酸残基制备的具有提高的pI的抗原结合结构域或抗体或其文库。

[0561] 在公开内容A的抗体的一个实施方案中,与修饰或改变前的抗体(天然抗体(例如,天然Ig抗体,优选天然IgG抗体),或参考或母体抗体(例如,抗体修饰前的,或文库构建前或构建期间的抗体))相比,pI值可以优选增加,例如,至少0.01,0.03,0.05,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,或更多,或至少0.6,0.7,0.8,0.9,或更多,并且显著缩短在血浆中的抗体半衰期,pI值可以增加,例如,至少1.0,1.1,1.2,1.3,1.4,1.5,或更多,或至少1.6,1.7,1.8,1.9,2.0,2.1,2.2,2.3,2.4,2.5,或更多,或3.0或更多。根据目的,考虑药理作用和毒性,以及例

如,抗体的抗原结合结构域数量或抗原的pI之间的平衡,本领域技术人员可以适当常规确定公开内容A的抗体的最佳pI值。不受特定理论限制,据信,在一个实施方案中,公开内容A的抗体是有益的,因为除了在血浆和细胞内体之间穿梭以及由于离子浓度-依赖性抗原结合结构域的存在以单个抗体分子与多个抗原重复结合的特征,抗体的净正电荷由于pI的增加而增加,并且这使得能够实现抗体的快速细胞摄取。这些特性会缩短在血浆中的抗体半衰期,增加抗体的胞外基质结合活性,或增强从血浆去除抗原。技术人员可以决定最佳pI值以利用这些特性。

[0562] 在公开内容A的情况下的一个实施方案中,当与修饰或改变至少一个氨基酸残基以提高pI的抗体(天然抗体(例如,天然Ig抗体,优选天然IgG抗体),或参考或母体抗体(例如,抗体修饰,或文库构建之前或期间的抗体),其可以是离子浓度-依赖性抗体)相比,公开内容A的具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体可以优选增强从血浆去除抗原,例如,至少1.1-倍,1.25-倍,1.5-倍,1.75-倍,2-倍,2.25-倍,2.5-倍,2.75-倍,3-倍,3.25-倍,3.5-倍,3.75-倍,4-倍,4.25-倍,4.5-倍,4.75-倍,5-倍,5.5-倍,6-倍,6.5-倍,7-倍,7.5-倍,8-倍,8.5-倍,9-倍,9.5-倍,或10-倍或更多(当抗体体内施用时),或其胞外基质结合活性可以优选增加,例如,至少1.1-倍,1.25-倍,1.5-倍,1.75-倍,2-倍,2.25-倍,2.5-倍,2.75-倍,3-倍,3.25-倍,3.5-倍,3.75-倍,4-倍,4.25-倍,4.5-倍,4.75-倍,或5-倍或更多。

[0563] 在公开内容A的情况下的一个实施方案中,当与引入离子浓度-依赖性抗原结合结构域之前的抗体(天然抗体(例如,天然Ig抗体,优选天然IgG抗体),或参考或母体抗体(例如,抗体修饰,或文库构建前或期间的抗体),其可以是具有提高的pI的抗体)相比时,公开内容A的具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体可以优选增强从血浆去除抗原,例如,至少1.1-倍,1.25-倍,1.5-倍,1.75-倍,2-倍,2.25-倍,2.5-倍,2.75-倍,3-倍,3.25-倍,3.5-倍,3.75-倍,4-倍,4.25-倍,4.5-倍,4.75-倍,5-倍,5.5-倍,6-倍,6.5-倍,7-倍,7.5-倍,8-倍,8.5-倍,9-倍,9.5-倍,或10-倍或更多(当抗体体内施用时),或其胞外基质结合活性可以优选增加,例如,至少1.1-倍,1.25-倍,1.5-倍,1.75-倍,2-倍,2.25-倍,2.5-倍,2.75-倍,3-倍,3.25-倍,3.5-倍,3.75-倍,4-倍,4.25-倍,4.5-倍,4.75-倍,或5-倍或更多。

[0564] 在一个实施方案中,用于评估与修饰或改变前的抗体(天然抗体(例如,天然Ig抗体,其可以是天然IgG抗体),或参考或母体抗体(例如,抗体修饰,或文库构建之前或期间的抗体),其可以是具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体或抗体)相比,公开内容A的抗体的胞外基质结合活性是否增加的测定方法不受限制。例如,测定可以使用ELISA系统进行,其检测抗体和胞外基质之间的结合,其中将抗体加入固定有胞外基质的板中,并且将针对该抗体的标记的抗体加入其中。备选地,如本文中实施例1至4和WO2012/093704中所述的,还可能使用电化学发光(ECL),其使得能够高灵敏度检测胞外基质结合能力。该方法可以,例如,使用ECL系统进行,其中将抗体和钌抗体的混合物加入固定有胞外基质的平板中,并且基于钌的电化学发光测量抗体和胞外基质之间的结合。要加入的抗体的浓度可以适当设置;加入的浓度可以高,从而增加检测胞外基质结合的灵敏度。所述胞外基质可以源自动物或植物,只要它们含有糖蛋白如胶原蛋白,蛋白聚糖,纤连蛋白,层粘连蛋白,巢蛋白,纤维蛋白,和基底膜蛋白多糖(perlecan);并且动物源的胞外基质可以是优选的。例如,可能使用源自动物如人,小鼠,大鼠,猴,兔,或狗的胞外基质。例如,人源的天然胞外基质可以用作抗体在人血浆中的药代动力学的指标。评估抗体的胞外基质结合的条件可优选为约pH 7.4

的中性pH范围,其是生理条件;然而,条件不必须是中性范围,并且结合也可以在酸性pH范围(例如,约pH 6.0)评估。备选地,当评估抗体的胞外基质结合时,测定可以在抗体结合的抗原分子的共存下,并且通过评估抗原-抗体复合物对胞外基质的结合活性进行。

[0565] 在一个实施方案中,与修饰或改变至少一个氨基酸残基以提高pI之前的抗体(天然抗体(例如,天然Ig抗体,优选天然IgG抗体)或参照抗体(例如,抗体修饰,或文库构建之前或期间的抗体))相比,公开内容A的抗体(基本上)可以保留抗原结合活性。在该情况下,"以(基本上)保留抗原结合活性"可能意为与修饰或改变前的抗体的结合活性相比,具有至少50%或更多,优选60%或更多,更优选70%或75%或更多,并且还更优选80%,85%,90%,或95%或更多的活性。备选地,公开内容A的抗体仅需要保留结合活性至允许它们在结合抗原时保留其功能的程度;因此,在37℃在生理条件下确定的亲和力可以是,例如,100nM或更少,优选50nM或更少,更优选10nM或更少,并且还更优选1nM或更少。

[0566] 在公开内容A的一个实施方案中,"修饰可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基"的语句或相当的语句可以意为,在可能暴露在抗体表面的至少一个氨基酸残基上进行添加,缺失,置换和插入中的一种或多种。所述修饰可以优选包括置换至少一个氨基酸残基。

[0567] 氨基酸残基的置换可能包括,例如,在目标抗体的氨基酸序列中,将其侧链不带电的氨基酸残基置换为具有带负电的侧链的氨基酸残基,将具有带正电的侧链的氨基酸残基置换为其侧链不带电的氨基酸残基,和将具有带正电的侧链的氨基酸残基置换为具有带负电的侧链的氨基酸残基,其可以单独或以适当的组合进行。氨基酸残基的插入或添加可以包括,例如,在目标抗体的氨基酸序列中,插入或添加其侧链不带电的氨基酸和/或插入或添加具有带正电的侧链的氨基酸,其可以单独或以适当的组合进行。氨基酸残基的缺失可以包括,例如,在目标抗体的氨基酸序列中,缺失其侧链不带电的氨基酸残基和/或缺失具有带负电的侧链的氨基酸残基,其可以单独或以适当的组合进行。

[0568] 本领域技术人员可以适当地组合目标抗体的氨基酸序列中的这些添加,缺失,置换和插入中的一种或多种。引起氨基酸残基的局部电荷的降低的修饰也是可接受的,因为仅公开内容A的抗体净pI必需增加。例如,如果需要,可以将其pI提高(太多)的抗体修饰以降低pI(稍微)。还可以接受的是,为了其他目的(例如,增加抗体稳定性或降低免疫原性)同时或不同时进行至少一个氨基酸残基的修饰而造成的氨基酸残基的局部电荷减少。所述抗体包括来自构建用于特定目的文库的抗体。

[0569] 在一个实施方案中,在用于修饰可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基的氨基酸(残基)中,天然氨基酸如下:具有带负电的侧链的氨基酸可以是Glu(E)或Asp(D);其侧链不带电的氨基酸可以是Ala(A),Asn(N),Cys(C),Gln(Q),Gly(G),His(H),Ile(I),Leu(L),Met(M),Phe(F),Pro(P),Ser(S),Thr(T),Trp(W),Tyr(Y),或Val(V);并且具有带正电的侧链的氨基酸可以是His(H),Lys(K),或Arg(R)。

[0570] 如实施例1至4中详述的,在中性pH(例如,pH 7.0)溶液中,赖氨酸和精氨酸在作为抗体中的残基存在时几乎100%具有正电荷,而组氨酸当作为抗体中的残基存在时,仅约9%具有正电荷,其余的主要部分被认为不具有任何电荷。因此,Lys(K)或Arg(R)优选选择作为具有带正电的侧链的氨基酸。

[0571] 在一个实施方案中,公开内容A的抗体优选具有可变区和/或恒定区。此外,可变区

可以优选具有重链可变区和/或轻链可变区，和/或可以优选具有一个或多个CDR(例如，CDR1，CDR2和CDR3中的一个或多个)和/或一个或多个FR(例如，FR1，FR2，FR3和FR4中的一个或多个)。恒定区可以优选具有重链恒定区和/或轻链恒定区，并且就序列和类型而言，其可以是，例如，IgG-型恒定区(优选，人IgG1，人IgG2，人IgG3，或人IgG4-型恒定区，人κ链恒定区，和人λ链恒定区)。可能使用这些恒定区的修饰的变体。

[0572] 在一个实施方案中，可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基的修饰可以是单个氨基酸的修饰或多个氨基酸的修饰的组合。优选的方法可以是在氨基酸可能暴露在抗体表面的位点引入多个氨基酸置换的组合。此外，不受限制，所述多个氨基酸置换优选引入在三维上彼此接近的位置。当具有带正电的侧链的氨基酸(例如，Lys(K)或Arg(R))置换为可能暴露在抗体分子的表面的氨基酸(其优选，但不限于，具有带负电的侧链的氨基酸(例如，Glu(E)或Asp(D))时；或当使用带正电的预先存在的氨基酸(例如，Lys(K)或Arg(R))时，例如，三维上接近氨基酸的一个或多个氨基酸(其可以包括根据情况嵌入抗体分子内的氨基酸)还可以用带正电的氨基酸置换，从而相应产生在三维临近位置局部正电荷的密集状态。本文中，"三维接近的位置"的定义不特别受限；但其可以意为其中一个或多个氨基酸置换引入，例如，20埃内，优选15埃内，并且更优选10埃内的状态。目的氨基酸置换位点是否暴露在抗体分子的表面或氨基酸置换位点是否接近其他氨基酸置换位点或上述预先存在的氨基酸可以通过已知方法如X-射线晶体学评估。

[0573] 除了上述的那些，在三维上彼此接近的位点给予多个正电荷的方法可以包括使用原始在天然IgG恒定区具有正电荷的氨基酸的那些。所述氨基酸包括，例如：位置255，292，301，344，355，和416处的精氨酸，根据EU编号；和位置121，133，147，205，210，213，214，218，222，246，248，274，288，290，317，320，322，326，334，338，340，360，370，392，409，414，和439处的赖氨酸，根据EU编号。可通过在三维上接近这些带正电的氨基酸的位点用带正电的氨基酸置换在三维上接近的位置给予多个正电荷。

[0574] 在公开内容A的抗体具有可变区(其可以被修饰)的情况下，未被抗原结合遮盖(即，仍然可以暴露在表面上)的氨基酸残基可以被修饰，和/或氨基酸修饰可以不引入在被抗原结合遮盖的位点或可以进行(基本上)不抑制抗原结合的氨基酸修饰。在存在于离子浓度-依赖性结合结构域中的可能暴露在抗体分子的表面的氨基酸残基被修饰的情况下，抗原结合结构域的氨基酸可以以这种方式修饰：修饰(基本上)不降低可能根据离子浓度条件而改变抗体的抗原结合活性的氨基酸残基(例如，钙-结合基序，或组氨酸插入位点和/或组氨酸置换的位点中的那些)的结合活性，或氨基酸残基可以在不同于根据离子浓度条件而改变抗体的抗原结合活性的氨基酸残基的位点修饰。另一方面，当存在于离子浓度-依赖性结合结构域中的可能暴露在抗体分子的表面上的氨基酸残基已经被修饰时，可能根据离子浓度条件而改变抗体的抗原结合活性的氨基酸残基的类型或位置可以这样选择，使得抗体的pI不降低至低于可接受水平。在抗体的pI降低至低于可接受水平的情况下，整个抗体的pI可以通过修饰可能暴露在抗体分子的表面上的至少一个氨基酸残基而提高。

[0575] 不受限制，具有高pI的FR序列可以优选选自人种系FR序列或与其相当的区域的序列，其氨基酸在一些情况下可以被修饰。

[0576] 在公开内容A的抗体具有包含FcγR-结合结构域(其可以是针对下述FcγR同种型和同种异型中的任一种的结合结构域)和/或FcRn-结合结构域的恒定区(其可以被修饰)的

情况下,如果需要,用于修饰可能暴露在恒定区表面的至少一个氨基酸残基的位点可以是除了FcγR-结合结构域中的那些和/或FcRn-结合结构域中的那些之外的氨基酸残基。备选地,在修饰位点选自FcγR-结合结构域和/或FcRn-结合结构域中的氨基酸残基时,其可以优选选择(基本上)不影响对FcγR和/或FcRn的结合活性或结合亲和力的位点,或如果它们会影响,选择生物或药理学上可接受的位点。

[0577] 在一个实施方案中,修饰以产生公开内容A的抗体(其pI通过修饰可能暴露在可变区表面(其可以被修饰)至少一个氨基酸残基而提高)的至少一个氨基酸残基的位点不受限;然而,所述位点可以选自由以下组成的组,根据Kabat编号:(a)重链可变区的FR中的位置1,3,5,8,10,12,13,15,16,18,19,23,25,26,39,41,42,43,44,46,68,71,72,73,75,76,77,81,82,82a,82b,83,84,85,86,105,108,110,和112;(b)重链可变区的CDR中的位置31,61,62,63,64,65,和97;(c)轻链可变区的FR中的位置1,3,7,8,9,11,12,16,17,18,20,22,37,38,39,41,42,43,45,46,49,57,60,63,65,66,68,69,70,74,76,77,79,80,81,85,100,103,105,106,107,和108;和(d)轻链可变区的CDR中的位置24,25,26,27,52,53,54,55,和56,其中每个位置处的氨基酸在修饰后可以就侧链电荷而言选自上述的任意氨基酸,如Lys(K),Arg(R),Gln(Q),Gly(G),Ser(S),或Asn(N),但不限于其。在一些实施方案中,至少2,3,4,5,6,7,8,9,10或多于10个上述氨基酸位置被修饰。在一些实施方案中,1-20,1-15,1-10,或1-5个上述氨基酸位置被修饰。

[0578] 在一个实施方案中,在要修饰的位置中,以下位置可以与它们本身可能对提高抗体的pI具有足够效果的其他位置组合用于辅助公开内容A的抗体的pI增加。所述用于辅助pI增加的位置可以是,例如,对于轻链可变区,选自由位置27,52,56,65,和69(根据Kabat编号)组成的组。

[0579] 此外,在CDR和/或FR中修饰的至少一个氨基酸残基的位点不受限;然而,所述位点可以选自由以下组成的组:(a)重链可变区的FR中的位置8,10,12,13,15,16,18,23,39,41,43,44,77,82,82a,82b,83,84,85,和105;(b)重链可变区的CDR中的位置31,61,62,63,64,65,和97;(c)轻链可变区的FR中的位置16,18,37,41,42,45,65,69,74,76,77,79,和107;和(d)轻链可变区的CDR中的位置24,25,26,27,52,53,54,55,和56。在一些实施方案中,至少2,3,4,5,6,7,8,9,10或多于10个上述氨基酸位置被修饰。在一些实施方案中,1-20,1-15,1-10,或1-5个上述氨基酸位置被修饰。

[0580] 在至少一个氨基酸残基的修饰位点选自,例如,包含上述组的组的情况下,重链可变区中修饰后的氨基酸类型是,例如:

[0581] (a)对于位置8是8K,8R,8Q,8G,8S,或8N;(b)对于位置13是13K,13R,13Q,13G,13S,或13N;(c)对于位置15是15K,15R,15Q,15G,15S,或15N;(d)对于位置16是16K,16R,16Q,16G,16S,或16N;(e)对于位置18是18K,18R,18Q,18G,18S,或18N;(f)对于位置39是39K,39R,39Q,39G,39S,或39N;(g)对于位置41是41K,41R,41Q,41G,41S,或41N;(h)对于位置43是43K,43R,43Q,43G,43S,或43N;(i)对于位置44是44K,44R,44Q,44G,44S,或44N;(j)对于位置63是63K,63R,63Q,63G,63S,或63N;(k)对于位置64是64K,64R,64Q,64G,64S,或64N;(l)对于位置77是77K,77R,77Q,77G,77S,或77N;(m)对于位置82是82K,82R,82Q,82G,82S,或82N;(n)对于位置82a是82aK,82aR,82aQ,82aG,82aS,或82aN;(o)对于位置82b是82bK,82bR,82bQ,82bG,82bS,或82bN;(p)对于位置83是83K,83R,83Q,83G,83S,或83N;(q)对于位

置84是84K,84R,84Q,84G,84S,或84N;(r)对于位置85是85K,85R,85Q,85G,85S,或85N;或(s)对于位置105是105K,105R,105Q,105G,105S,或105N。在一些实施方案中,上述氨基酸位置的任意组合中的至少2,3,4,5,6,7,8,9,10或多于10个被修饰。在一些实施方案中,上述氨基酸位置的任意组合中的1-20,1-15,1-10,或1-5个被修饰。

[0582] 重链可变区中的修饰的氨基酸位置的组合的非限制性实例是,例如:

[0583] 选自由16,43,64,和105组成的组的位置的任意两个或更多个位置;选自由以下组成的组的任意两个或更多个位置(根据Kabat编号):位置77,82a,和82b;位置77和85;位置41和44;位置82a和82b;位置82和82b;位置82b和83;或位置63和64,其中修饰后每个位置的氨基酸就侧链电荷而言可以选自上述任意氨基酸,如Lys(K),Arg(R),Gln(Q),Gly(G),Ser(S),或Asn(N),但不限于其。

[0584] 具体组合可以是,例如,16Q/43R/64K/105Q;77R/82aN/82bR;77R/82aG/82bR;77R/82aS/82bR;77R/85G;41R/44R;82aN/82bR;82aG/82bR;82aS/82bR;82K/82bR;82bR/83R;77R/85R;或63R/64K。

[0585] 同样,轻链可变区中修饰后的氨基酸类型是,例如:(a)对于位置16是16K,16R,16Q,16G,16S,或16N;(b)对于位置18是18K,18R,18Q,18G,18S,或18N;(c)对于位置24是24K,24R,24Q,24G,24S,或24N;(d)对于位置25是25K,25R,25Q,25G,25S,或25N;(e)对于位置26是26K,26R,26Q,26G,26S,或26N;(f)对于位置27是27K,27R,27Q,27G,27S,或27N;(g)对于位置37是37K,37R,37Q,37G,37S,或37N;(h)对于位置41是41K,41R,41Q,41G,41S,或41N;(i)对于位置42是42K,42R,42Q,42G,42S,或42N;(j)对于位置45是45K,45R,45Q,45G,45S,或45N;(k)对于位置52是52K,52R,52Q,52G,52S,或52N;(l)对于位置53是53K,53R,53Q,53G,53S,或53N;(m)对于位置54是54K,54R,54Q,54G,54S,或54N;(n)对于位置55是55K,55R,55Q,55G,55S,或55N;(o)对于位置56是56K,56R,56Q,56G,56S,或56N;(p)对于位置65是65K,65R,65Q,65G,65S,或65N;(q)对于位置69是69K,69R,69Q,69G,69S,或69N;(r)对于位置74是74K,74R,74Q,74G,74S,或74N;(s)对于位置76是76K,76R,76Q,76G,76S,或76N;(t)对于位置77是77K,77R,77Q,77G,77S,或77N;(u)对于位置79是79K,79R,79Q,79G,79S,或79N;和(v)对于位置107是107K,107R,107Q,107G,107S,或107N。在一些实施方案中,上述氨基酸位置的任意组合中的至少2,3,4,5,6,7,8,9,10或多于10个被修饰。在一些实施方案中,上述氨基酸位置的任意组合中1-20,1-15,1-10,或1-5个被修饰。

[0586] 轻链可变区中的修饰的氨基酸位置的组合的非限制性实例是,例如:位置24和27;位置25和26;位置41和42;位置42和76;位置52和56;位置65和79;位置74和77;位置76和79;选自由16,24,和27组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,和37组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由25,26,和37组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由27,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由41,74,和77组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由41,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,41,和42组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,52,和56组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,65,和69组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,74,和77组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由25,26,52,和56组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由25,

26,65,和69组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由25,26,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由27,41,74,和77组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由27,41,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由52,56,74,和77组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由52,56,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由65,69,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由65,69,74,和77组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由18,24,45,79,和107组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由27,52,56,74,和77组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由27,52,56,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由27,65,69,74,和77组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由27,65,69,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由41,52,56,74,和77组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由41,52,56,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由41,65,69,74,和77组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由41,65,69,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,41,42,65,和69组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,52,56,65,和69组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,65,69,74,和77组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,65,69,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,41,42,74,和77组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,52,56,74,和77组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,41,42,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,52,56,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由24,27,74,76,77,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;选自由52,56,65,69,74,和77组成的组的位置处的任意两个或更多个位置;或选自由52,56,65,69,76,和79组成的组的位置处的任意两个或更多个位置(根据Kabat编号),其中每个位置在修饰后的氨基酸就侧链电荷而言可以选自任意上述氨基酸,如Lys(K),Arg(R),Gln(Q),Gly(G),Ser(S),或Asn(N),但不限于其。

[0587] 具体组合可以是,例如,24R/27Q;24R/27R;24K/27K;25R/26R;25K/26K;41R/42K;42K/76R;52R/56R;65R/79K;74K/77R;76R/79K;16K/24R/27R;24R/27R/37R;25R/26R/37R;27R/76R/79K;41R/74K/77R;41R/76R/79K;24R/27R/41R/42K;24R/27R/52R/56R;24R/27R/52K/56K;24R/27R/65R/69R;24R/27R/74K/77R;24R/27R/76R/79K;25R/26R/52R/56R;25R/26R/52K/56K;25R/26R/65R/69R;25R/26R/76R/79K;27R/41R/74K/77R;27R/41R/76R/79K;52R/56R/74K/77R;52R/56R/76R/79K;65R/69R/76R/79K;65R/69R/74K/77R;18R/24R/45K/79Q/107K;27R/52R/56R/74K/77R;27R/52R/56R/76R/79K;27R/65R/69R/74K/77R;27R/65R/69R/76R/79K;41R/52R/56R/74K/77R;41R/52R/56R/76R/79K;41R/65R/69R/74K/77R;41R/65R/69R/76R/79K;24R/27R/41R/42K/65R/69R;24R/27R/52R/56R/65R/69R;24R/27R/65R/69R/74K/77R;24R/27R/65R/69R/76R/79K;24R/27R/41R/42K/74K/77R;24R/27R/52R/56R/74K/77R;24R/27R/41R/42K/76R/79K;24R/27R/52R/56R/76R/79K;24R/27R/74K/76R/77R/79K;52R/56R/65R/69R/74K/77R;或52R/56R/65R/69R/76R/79K。

[0588] 在WO2007/114319或WO2009/041643中,已经基于理论证据、同源性建模或实验技术解释或证明了,通过修饰可变区中的一些氨基酸残基提高pI的效果不是仅仅(或基本上)

依赖于构成抗体的氨基酸序列本身或靶抗原的类型，而是其依赖于置换的氨基酸残基的类型和数量。还证明了，甚至在修饰一些氨基酸之后，对于几种类型的抗原的抗原结合活性(基本上)被保持，或至少本领域技术人员可以预期以高的可能性保持。

[0589] 例如，WO2009/041643特别显示，在如SEQ ID NO:8所示的人源化磷脂酰肌醇蛋白聚糖3(glypican 3)抗体的重链FR中，优选的可能暴露在表面的氨基酸残基的修饰位点根据Kabat编号是位置1,3,5,8,10,12,13,15,16,19,23,25,26,39,42,43,44,46,69,72,73,74,76,77,82,85,87,89,90,107,110,112,和114。其还报道了，根据Kabat编号在位置97的氨基酸残基是优选的，因为其暴露在几乎所有抗体的表面。WO2009/041643还显示，抗体的重链CDR中的位置52,54,62,63,65,和66的氨基酸残基是优选的。其还表明，如SEQ ID NO:9中所示的人源化磷脂酰肌醇蛋白聚糖3抗体的轻链FR中根据Kabat编号在位置1,3,7,8,9,11,12,16,17,18,20,22,43,44,45,46,48,49,50,54,62,65,68,70,71,73,74,75,79,81,82,84,85,86,90,105,108,110,111,和112的氨基酸残基是优选的。其还表明，该抗体的轻链CDR中的位置24,27,33,55,59的氨基酸残基是优选的。此外，WO2009/041643具体表明，SEQ ID NO:10中所示的抗-人IL-6受体抗体的重链CDR中根据Kabat编号位置31,64,和65的氨基酸残基是优选的位点，其允许修饰可能暴露在表面上的氨基酸残基同时保持抗原结合活性。其还表明，如SEQ ID NO:11中所示的抗-人IL-6受体抗体的轻链CDR中根据Kabat编号位置24,27,53,和55的氨基酸残基是优选的。其还具体表明，SEQ ID NO:12中所示的抗-人IL-6受体抗体的重链CDR中根据Kabat编号位置31的氨基酸残基是优选的位点，该位点允许修饰可能暴露在表面上的氨基酸残基，同时保持抗原结合活性。其还表明，SEQ ID NO:13中所示的抗-人IL-6受体抗体的轻链CDR中根据Kabat编号位置24,53,54,和55的氨基酸残基是优选的。WO2009/041643还表明，SEQ ID NO:14所示的抗-人磷脂酰肌醇蛋白聚糖3抗体的重链CDR中根据Kabat编号位置61,62,64,和65的氨基酸残基是优选的位点，其允许修饰可能暴露在表面的氨基酸残基，同时保持抗原结合活性。还表明，SEQ ID NO:15中所示的抗-人磷脂酰肌醇蛋白聚糖3抗体的轻链CDR中根据Kabat编号位置24和27的氨基酸残基是优选的。还表明，SEQ ID NO:16中所示的抗-人IL-31受体抗体的重链CDR中根据Kabat编号位置61,62,64,和65的氨基酸残基是优选的位点，其允许修饰可能暴露在表面的氨基酸残基，同时保持抗原结合活性。WO2009/041643还表明，SEQ ID NO:17中所示的抗-人IL-31受体抗体的轻链CDR中根据Kabat编号位置24和54的氨基酸残基是优选的。类似地，WO2007/114319报道了抗体hA69-PF,hA69-p18,hA69-N97R,hB26-F123e4,hB26-p15,和hB26-PF，它们通过修饰可能暴露在表面上的一个或多个氨基酸残基的电荷产生，显示pI的改变(如通过等电聚焦证明的)，并且具有与修饰或改变前的抗体相比相当的对因子IXa或因子X(其是它们的抗原)的结合活性。其还报道了，当这些抗体施用给小鼠时，每种抗体的pI显示与其在血浆中的清除率(CL)，在血浆中的保留，和在血浆中的半衰期(T1/2)的高度相关性。WO2007/114319还表明，作为用于可能暴露在表面的氨基酸残基的修饰的位点，可变区中位置10,12,23,39,43,97,和105的氨基酸残基是优选的。

[0590] 在备选的或另一个实施方案中，例如，使用已知方法如X-射线晶体学或通过从抗体恒定区(其优选为人恒定区，更优选人Ig-型恒定区，并且还更优选人IgG-型恒定区，但不限于其中)同源建模构建的同源性模型，可以鉴别可能暴露在抗体恒定区表面的氨基酸残基以确定用于产生公开内容A的其pI提高的抗体的至少一个氨基酸残基的修饰位点。可能

暴露在恒定区的表面的至少一个氨基酸残基的修饰位点不受限;然而,位点可能优选选自由以下组成的组:根据EU编号,位置196,253,254,256,257,258,278,280,281,282,285,286,306,307,308,309,311,315,327,330,342,343,345,356,358,359,361,362,373,382,384,385,386,387,388,389,399,400,401,402,413,415,418,419,421,424,430,433,434,和位置443,并且可以优选选自由以下组成的组:位置254,258,281,282,285,309,311,315,327,330,342,343,345,356,358,359,361,362,384,385,386,387,389,399,400,401,402,413,418,419,421,433,434,和443,并且还可以优选选自由以下组成的组:位置282,309,311,315,342,343,384,399,401,402,和413,其每个位置的氨基酸在修饰后就侧链电荷而言可以选自上述氨基酸,如Lys(K),Arg(R),Gln(Q),或Asn(N),但不限于其。当例如从包含上述组的组选择至少一个氨基酸残基的修饰位点时,例如,修饰后在每个位点的氨基酸类型可以如下:

[0591] 位置254的254K,254R,254Q,或254N;位置258的258K,258R,258Q,或258N;

[0592] 位置281的281K,281R,281Q,或281N;位置282的282K,282R,282Q,或282N;

[0593] 位置285的285K,285R,285Q,或285N;位置309的309K,309R,309Q,或309N;

[0594] 位置311的311K,311R,311Q,或311N;位置315的315K,315R,315Q,或315N;

[0595] 位置327的327K,327R,327Q,或327N;位置330的330K,330R,330Q,或330N;

[0596] 位置342的342K,342R,342Q,或342N;位置311的343K,343R,343Q,或343N;

[0597] 位置345的345K,345R,345Q,或345N;位置356的356K,356R,356Q,或356N;

[0598] 位置358的358K,358R,358Q,或358N;位置359的359K,359R,359Q,或359N;

[0599] 位置361的361K,361R,361Q,或361N;位置362的362K,362R,362Q,或362N;

[0600] 位置384的384K,384R,384Q,或384N;位置385的385K,385R,385Q,或385N;

[0601] 位置386的386K,386R,386Q,或386N;位置387的387K,387R,387Q,或387N;

[0602] 位置389的389K,389R,389Q,或389N;位置399的399K,399R,399Q,或399N;

[0603] 位置400的400K,400R,400Q,或400N;位置401的401K,401R,401Q,或401N;

[0604] 位置402的402K,402R,402Q,或402N;位置413的413K,413R,413Q,或413N;

[0605] 位置418的418K,418R,418Q,或418N;位置419的419K,419R,419Q,或419N;

[0606] 位置421的421K,421R,421Q,或421N;位置433的433K,433R,433Q,或433N;

[0607] 位置434的434K,434R,434Q,或434N;和位置443的443K,443R,443Q,或443N。

[0608] 在一个备选实施方案中,修饰后的至少一个氨基酸残基的修饰位点和氨基酸类型可以包括345R或345K,和/或430R,430K,430G,或435T(根据EU编号)。

[0609] 在公开内容A的抗体的一个实施方案中,抗体的净pI可以通过修饰如上文所述的可能暴露在可变区(其可以被修饰)表面的至少一个氨基酸残基和如上文所述的可能暴露在恒定区(其可以被修饰)表面的至少一个氨基酸残基而增加。

[0610] 本文所述的公开内容A和B的范围内,在公开内容A或B的抗体是IgG-型抗体或来源其的分子的情况下,抗体重链恒定区可以含有IgG1型,IgG2型,IgG3型,或IgG4型的恒定区。在公开内容A或B中,重链恒定区可以是人重链恒定区,但不限于其。已知对于人IgG存在多种同种异型。具体而言,据报道,在个体之间的人IgG恒定区的氨基酸序列之间存在一些差异(Methods Mol.Biol.882:635-80(2012);Sequences of proteins of immunological interest,NIH出版No.91-3242)。实例包括人IgG1恒定区(SEQ ID NO:18),人IgG2恒定区

(SEQ ID NO:19)，人IgG3恒定区(SEQ ID NO:20)，和人IgG4恒定区(SEQ ID NO:21)。

[0611] 这些当中，例如，对于人IgG1，称为G1m1，17和G1m3的同种异型是已知的。同种异型在它们的氨基酸序列方面有差异：G1m1，17在位置356具有天冬氨酸并且在位置358具有亮氨酸(根据EU编号)，而G1m3在位置356具有谷氨酸并且在位置358具有甲硫氨酸(根据EU编号)。然而，未见报道提示在报道的同种异型中存在基本抗体功能和性质的显著差异。因此，本领域技术人员能够容易地预测，使用特定同种异型进行各种评估，并且结果不限于用于获得实施例的同种异型并且利用任意同种异型预测具有相同的效果。本文所述的公开内容A和B的范围内，当称为"人IgG1"，"人IgG2，"人IgG3"，或"人IgG4"时，同种异型不限于具体的同种异型并且可以包括所有报道的同种异型(allotype)。

[0612] 在公开内容A或B的备选或另一个实施方案中，抗体的轻链恒定区可以包括κ链(IgK)型或λ链(IgL1，IgL2，IgL3，IgL6，或IgL7)型的任意恒定区。轻链恒定区可以优选是人轻链恒定区，但不限于其。如在Sequences of proteins of immunological interest，NIH出版No.91-3242中，存在关于由于人κ链恒定区和人λ链恒定区的基因多态性造成的多种同种异型序列的报道。所述同种异型包括，例如，人κ链恒定区(SEQ ID NO:22)和人λ链恒定区(SEQ ID NO:23)。然而，未见报道提示在报道的同种异型中基本抗体功能和性质存在显著差异。因此，本领域技术人员可以容易理解，当对本文所述的公开内容A和B范围内的具体同种异型进行参考时，对任意同种异型(下文中也统称为天然(人)IgG(型)恒定区)预期相同的效果。

[0613] 此外，因为天然IgG抗体的Fc区构成天然IgG抗体的恒定区的一部分，当公开内容A或B的抗体是，例如，IgG型抗体或源自其的分子时，抗体可以具有包含在天然IgG(IgG1，IgG2，IgG3，或IgG4型)的恒定区中的Fc区(下文中也统称为天然(人)IgG(型)Fc区)。天然IgG的Fc区可以涉及由与源自天然存在的IgG的Fc区相同的氨基酸序列组成的Fc区。天然人IgG的Fc区的具体实例可以包括上文所述的人IgG1恒定区(SEQ ID NO:18)，人IgG2恒定区(SEQ ID NO:19)，人IgG3恒定区(SEQ ID NO:20)，或人IgG4恒定区(SEQ ID NO:21)中含有的Fc区(IgG型的Fc区可以指，例如，从根据EU编号位置226的半胱氨酸到C末端，或从根据EU编号位置230的脯氨酸至C末端)。

[0614] 在一个实施方案中，公开内容A和B的抗体可以包括其中对天然(优选人)IgG(重链恒定区和/或轻链恒定区)的恒定区或天然(优选人)IgG的Fc区进行选自氨基酸置换，添加，缺失，或插入的一种或多种修饰的变体。

[0615] 在本文所述的公开内容A的范围内，WO2013/081143报道了，例如，由于凭借抗体分子中含有的至少两个或更多个多价恒定区(其可以被修饰)或Fc区(其可以被修饰)的亲合力(多种表位和多个互补位之间的结合强度的总和)，能够与多聚抗原形成多价免疫复合物(多价抗原-抗体复合物)的离子浓度-依赖性抗体和能够通过识别单体抗原上的两个或更多个表位形成多价免疫复合物(多价抗原-抗体复合物)的多特异性离子浓度-依赖性抗体或多互补位(multiparatopic)离子浓度-依赖性抗体能够更强烈地结合FcγR，FcRn，补体受体，并且因此抗体更快摄入细胞。因此，当经由修饰可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基而修饰以具有提高的pI时，上述离子浓度-依赖性抗体(其能够与多聚抗原或单体抗原形成多价免疫复合物)，也可以用作公开内容A的抗体(具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体)。本领域技术人员将理解，与不能形成多价免疫复合物的具有提高的pI的离子浓

度-依赖性抗体相比，能够与多聚抗原或单体抗原形成多价免疫复合物的具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体可以更快速地摄入细胞。本领域技术人员还可以理解，在一个实施方案中，公开内容A的抗体结合FcRn和/或Fc γ R的活性可以在中性pH条件下增加并且在该情况下，能够与多聚抗原或单体抗原形成多价免疫复合物的具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体可以甚至更快速地摄入细胞。

[0616] 在一个实施方案中，公开内容A的抗体可以是单臂抗体(包括WO2005/063816中所述的单臂抗体的所有实施方案)。通常，单臂抗体是缺少普通IgG抗体具有的两个Fab区中的一个的抗体，并且可以(不受限制)例如，通过WO2005/063816中所述的方法产生。不受限制，在具有其结构是例如，VH-CH1-铰链-CH2-CH3的重链的IgG-型抗体中，当Fab区中的一个在相对于铰链更靠N末端的位点(例如，VH或CH1)裂解时，抗体将以含有多余序列的形式表达，并且当Fab区中的一个在相对于铰链更靠近C末端的位点(例如，CH2)裂解时，Fc区将具有不完整的形式。因此，不受限制，从抗体分子稳定性的角度，优选单臂抗体通过在IgG抗体的两个Fab区中的一个的铰链区(铰链)中裂解产生。更优选的是，重链在裂解后通过分子内二硫键连接于未裂解的重链。WO2005/063816报道了，与Fab分子相比，这样的单臂抗体具有增加的稳定性。具有增加的或降低的pI的抗体还可以通过制备这样的单臂抗体产生。此外，当将离子浓度-依赖性抗原结合结构域引入是单臂抗体的具有提高的pI的抗体时，与不具有离子浓度-依赖性抗原结合结构域的pI提高的抗体相比，抗体在血浆中的半衰期可以进一步缩短，抗体的细胞摄取可以进一步增强，抗原从血浆的去除可以进一步增强，或抗体对胞外基质的亲和力可以进一步增加。

[0617] 不受特定理论限制，可以设想在预期单臂抗体的细胞摄取-加速效果的情况下的实施方案是，但不受限这样的情形，其中可溶性抗原的pI低于抗体的。由抗体和抗原组成的复合物的净pI可以通过已知方法，考虑复合物是单个分子来计算。在该情况下，可溶性抗原的pI越低，复合物的净pI越低；并且可溶性抗原的pI越高，复合物的净pI越高。当普通型IgG抗体分子(具有两个Fabs)结合于单个低-pI可溶性抗原与结合于两个低-pI可溶性抗原相比时，在后一情况中的复合物的净pI更低。当这样的普通型抗体转变为单臂抗体时，仅一个抗原可以结合抗体的单个分子；由于结合第二抗原造成的复合物pI的降低可以由此被抑制。换句话说，据信，当可溶性抗原的pI低于抗体的pI时，转变为单臂抗体使得复合物的pI与普通抗体相比增加，并且加速摄入细胞中。

[0618] 此外，不受限制，当普通IgG-型抗体分子(具有两个Fabs)的Fab具有比Fc低的pI时，转变为单臂抗体增加由单臂抗体和抗原组成的复合物的净pI。此外，当进行此种向单臂抗体的转变时，从单臂抗体的稳定性的角度优选Fabs中的一个在位于Fab和Fc之间的连接处的铰链区中裂解。在该情况下，可以预期通过选择会将单臂抗体的pI提高到所需程度的位点有效提高pI。

[0619] 因此，本领域技术人员可以理解，不仅仅(或基本上)取决于抗体氨基酸序列本身和可溶性抗原的类型，抗体的pI可以增加并且附带的抗原的细胞摄取可以通过将抗体转变为单臂抗体，通过计算抗体的理论pI(Fc的理论pI和Fab的理论pI)和可溶性抗原的理论pI以及预测它们的理论pI值的差异上的关系来加速。

[0620] 在一个实施方案中，公开内容A或B的抗体可以是多特异性抗体，所述多特异性抗体可以是，但不受限于双特异性抗体。多特异性抗体可以是含有第一多肽和第二多肽的多

特异性抗体。这里，"含有第一多肽和第二多肽的多特异性抗体"是指结合至少两个或更多个类型的不同抗原或同一抗原中至少两个或更多个类型的表位的抗体。第一多肽和第二多肽优选可以含有重链可变区，并且更优选可变区含有一个或多个CDR和/或一个或多个FR。在另一个实施方案中，第一多肽和第二多肽可以优选各自含有重链恒定区。在另一个实施方案中，多特异性抗体可以含有第三多肽和第四多肽，其各自含有轻链可变区并且优选还有轻链恒定区。在该情况下，第一至第四多肽可以组装在一起形成多特异性抗体。

[0621] 在一个实施方案中，在公开内容A的抗体是多特异性抗体并且多特异性抗体含有重链恒定区的情况下，为了降低其pI，例如，可以使用以下序列：位置137处的IgG2或IgG4序列；位置196处的IgG1，IgG2，或IgG4序列；位置203处的IgG2或IgG4序列；位置214处的IgG2序列；位置217处的IgG1，IgG3，或IgG4序列；位置233处的IgG1，IgG3，或IgG4序列；位置268处的IgG4序列；位置274处的IgG2，IgG3，或IgG4序列；位置276处的IgG1，IgG2，或IgG4序列；位置355处的IgG4序列；位置392处的IgG3序列；位置419处的IgG4序列；或位置435处的IgG1，IgG2，或IgG4序列。同时，为了增加其pI，例如，可以使用以下序列：位置137处的IgG1或IgG3序列；位置196处的IgG3序列；位置203处的IgG1或IgG3序列；位置214处的IgG1，IgG3，或IgG4序列；位置217处的IgG2序列；位置233处的IgG2序列；位置268处的IgG1，IgG2，或IgG3序列；位置274处的IgG1序列；位置276处的IgG3序列；位置355处的IgG1，IgG2，或IgG3序列；位置392处的IgG1，IgG2，或IgG4序列；位置419处的IgG1，IgG2，或IgG3序列；或位置435处的IgG3序列。

[0622] 在一个实施方案中，在公开内容A的抗体具有两个重链恒定区的情况下，两个重链恒定区的pI可以彼此相同或不同。所述重链恒定区可以是最初具有不同pI的IgG1，IgG2，IgG3和IgG4重链恒定区。备选地，可能在两个重链恒定区之间引入pI差异。用于在恒定区中引入这种pI差异的至少一个氨基酸残基的修饰位点可以是上述的一个或多个位置或选自，例如，由以下组成的组的一个或多个位置：WO2009/041643中所述的重链恒定区中的位置137，位置196，位置203，位置214，位置217，位置233，位置268，位置274，位置276，位置297，位置355，位置392，位置419，和位置435(根据EU编号)。备选地，可以修饰作为糖基化位点的位置297的氨基酸残基以去除糖链，因为从重链恒定区去除糖链导致pI差异。

[0623] 在一个实施方案中，公开内容A或B的抗体可以是多克隆抗体或单克隆抗体，并且哺乳动物来源的单克隆抗体是优选的。单克隆抗体包括通过杂交瘤产生的那些或由通过遗传改造技术利用携带抗体基因的表达载体转化的宿主细胞产生的那些。公开内容A或B的抗体可以是，例如，抗体如嵌合抗体，人源化抗体，或通过亲和力成熟产生的抗体，或源自它们的分子。

[0624] 在一个实施方案中，公开内容A或B的抗体可以源自，不限于任何动物物种(例如，人；或非人动物如小鼠、大鼠、仓鼠、兔、猴、食蟹猴、猕猴、阿拉伯狒狒(hamadryas baboon)、黑猩猩、山羊、绵羊、狗、猪或骆驼)，或任意鸟类；并且抗体优选源自人、猴或小鼠。

[0625] 在一个实施方案中，公开内容A或B的抗体可以是Ig-型抗体，并且可以优选为IgG-型抗体。

[0626] 本文所述的公开内容A和B的范围内，Fc受体(也称为"FcR")是指可以结合免疫球蛋白(抗体)或由其衍生的分子的Fc区，或Fc区变体的受体蛋白。例如，在本文所述的公开内容A的范围内，已知对于IgG，IgA，IgE和IgM的Fc受体分别为FcγR，FcαR，FcεR和FcμR。在本

文所述的公开内容A和B的范围内,Fc受体还可以是,例如,FcRn(也称为"新生Fc受体")。

[0627] 在本文所述的公开内容A的范围内,"FcγR"可以指可以结合IgG1,IgG2,IgG3,或IgG4抗体或源自其的分子的Fc区,或Fc区变体的受体蛋白,并且可以包括基本上由FcγR基因编码的蛋白家族的成员中的任意一个或多个或全部。在人中,所述家族包括,但不限于,FcγRI(CD64)(包括同种型FcγRIa,FcγRIb,和FcγRIc);FcγRII(CD32)(包括同种型FcγRIIa((包括同种异型H131(类型H)和R131(类型R))),FcγRIIb(包括FcγRIIb-1和FcγRIIb-2),和FcγRIIc);以及FcγRIII(CD16)(包括同种型FcγRIIIa(包括同种异型V158和F158)和FcγRIIIb(包括同种异型FcγRIIIb-NA1和FcγRIIIb-NA2)),以及所有未鉴定的人FcγRs和FcγR同种型以及同种异型。此外,FcγRIIb1和FcγRIIb2已经报道为人FcγRIIb(hFcγRIIb)的剪接变体。还存在称为FcγRIIb3的剪接变体的报道(Brooks等人,J.Exp.Med,170:1369-1385(1989))。除了上文所述的那些,hFcγRIIb包括所有剪接变体,如NCBI中在NP_001002273.1,NP_001002274.1,NP_001002275.1,NP_001177757.1,和NP_003992.3下记录的那些。hFcγRIIb还包括所有已经报道的遗传多态性,例如,FcγRIIb(Li等人,Arthritis Rheum.48:3242-3252(2003),Kono等人,Hum.Mol.Genet.14:2881-2892(2005);Kyogoku等人,Arthritis Rheum.46(5):1242-1254(2002)),以及未来将报道的所有遗传多态性。

[0628] FcγR可以源自任意生物,并且可以包括源自人,小鼠,大鼠,兔,或猴的那些,但不限于其。小鼠FcγRs包括,但不限于,FcγRI(CD64),FcγRII(CD32),FcγRIII(CD16)和FcγRIII-2(CD16-2),以及所有未鉴定的小鼠FcγRs,和FcγR同种型以及同种异型。所述优选的FcγR包括,例如,人FcγRI(CD64),FcγRIIA(CD32),FcγRIIB(CD32),FcγRIIIA(CD16),或FcγRIIIB(CD16)。因为FcγR以膜形式在体内存在,因此其可以在人工转变为适当的可溶性形式后用于实验系统。

[0629] 例如,如WO2014/163101中所示,FcγRI的寡核苷酸序列和氨基酸序列可以分别是NM_000566.3和NP_000557.1中所示的序列;FcγRIIA的寡核苷酸序列和氨基酸序列可以分别是BC020823.1和AAH20823.1中所示的序列。FcγRIIB的寡核苷酸序列和氨基酸序列可以分别是BC146678.1和AAI46679.1中所示的序列;FcγRIIIA的寡核苷酸序列和氨基酸序列可以分别是BC033678.1和AAH33678.1中所示的序列;FcγRIIIB的寡核苷酸序列和氨基酸序列可以分别是BC128562.1和AAI28563.1中所示的序列(显示RefSeq登录号)。

[0630] FcγRIIa具有两个遗传多态性,其中FcγRIIa的位置131的氨基酸被组氨酸(类型H)或精氨酸(类型R)替代(J.Exp.Med.172:19-25,1990)。

[0631] 在FcγRI(CD64)(其包括FcγRIa,FcγRIb,和FcγRIc),和FcγRIII(CD16)(其包括FcγRIIIa(包括同种异型V158和F158))中,结合IgG的Fc区的α链与共同γ链关联,所述共同γ链具有传递细胞内的激活信号的ITAM。FcγRIIIb(包括同种异型FcγRIIIb-NA1和FcγRIIIb-NA2)是GPI锚蛋白。同时,FcγRII(CD32)(其包括FcγRIIa(包括同种异型H131和R131)以及FcγRIIc同种型)的细胞质结构域含有ITAM。这些受体表达在很多免疫细胞如巨噬细胞,肥大细胞,和抗原呈递细胞上。这些受体结合于IgG的Fc区后转导的激活信号促进巨噬细胞的吞噬能力,炎性细胞因子的产生,肥大细胞的脱粒,和抗原-呈递细胞的增加的功能。具有上述转导激活信号能力的FcγR在本文所述的公开内容A和B的范围内也称为激活性FcγR。

[0632] 同时,FcγRIIb(包括FcγRIIb-1和FcγRIIb-2)的细胞质结构域含有ITIM,其传递抑制性信号。在B细胞中,FcγRIIb和B细胞受体(BCR)之间的交联抑制来自BCR的激活信号,其导致对通过BCR的抗体产生的抑制。在巨噬细胞中,FcγRIII和FcγRIIb的交联抑制吞噬能力和产生炎性细胞因子的能力。在本文所述的公开内容A和B的范围内,具有转导上文所述的抑制性信号的能力的FcγR也称为抑制性Fcγ受体。

[0633] 在本文所述的公开内容A的范围内,与修饰前的抗体或Fc区(变体)相比,抗体或Fc区(变体)对各种FcγR的结合活性增加,还是(基本上)保持,还是降低可以通过本领域技术人员已知的方法评估。所述方法不特别限制并且可以使用本实施例中所述的那些,并且可以使用例如,基于表面等离子共振(SPR)现象的BIACORE(Proc.Natl.Acad.Sci.USA(2006)103(11),4005-4010)。备选地,例如,ELISA和荧光激活的细胞分选(FACS)以及ALPHA筛选(放大的发光邻近均相测定(Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay))。在这些测定中,人FcγR的胞外结构域可以用作可溶性抗原(例如,WO2013/047752)。

[0634] 对于用于测量抗体或Fc区(变体)中含有的FcγR-结合结构域和FcγR之间的结合活性的pH条件,可以适当使用酸性或中性pH条件。对于测量条件中使用的温度,可以例如,在10℃至50℃之间的任意评估FcγR-结合结构域和FcγR之间的结合活性(结合亲和力)。确定人FcγR-结合结构域与FcγR的结合活性(结合亲和力)的优选的温度是,例如,15℃至40℃。更优选,为了确定FcγR-结合结构域与FcγR之间的结合活性(结合亲和力),可以使用20℃至35℃的任意温度,例如,如20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,和35℃中的任一个。所述温度的非限制性实例是25℃。

[0635] 在一个实施方案中,在公开内容A或B的抗体具有恒定区(其可以被修饰)的情况下,恒定区可以具有Fc区或Fc区变体(优选,人Fc区或人Fc区变体),并且优选在公开内容A的范围内具有FcγR-结合结构域和在本文所述的公开内容A和B的范围内的FcRn-结合结构域。

[0636] 在一个实施方案中,在公开内容A的抗体具有FcγR-结合活性的情况下,其可以具有FcγR-结合结构域,优选人FcγR-结合结构域。FcγR-结合结构域不特别限制,只要抗体在酸性pH和/或中性pH对FcγR具有结合活性或亲和力,并且其可以是具有直接或间接结合FcγR的活性的结构域。

[0637] 在一个实施方案中,在公开内容A的抗体具有FcγR-结合活性的情况下,优选的是,与含有天然IgG恒定区的参照抗体相比,抗体的FcγR-结合活性在中性pH条件下增加。从比较二者的FcγR-结合活性的角度,优选的是,不限于,公开内容A的抗体和含有天然IgG恒定区的参照抗体在除了优选,公开内容A的在一个或多个氨基酸残基处修饰的抗体的恒定区之外的区域(例如,可变区)具有相同的氨基酸序列。

[0638] 在一个实施方案中,在公开内容A的抗体在中性pH条件(例如,pH 7.4)下具有FcγR-结合活性或增加的FcγR-结合活性的情况下,不受理论限制,认为抗体具有如下性质的组合:在血浆和细胞内体之间穿梭和通过具有离子浓度-依赖性抗原结合结构域作为单个抗体分子重复结合多个抗原的性质;通过在整体抗体中具有提高的pI和增加的正电荷而快速摄入细胞内的性质;和通过在中性pH条件下具有增加的FcγR-结合活性而快速摄入细胞内的性质。由此,抗体在血浆中的半衰期可以进一步缩短,或抗体对胞外基质的结合活性可以进一步增加,或抗原从血浆的去除可以进一步促进;因此公开内容A的抗体是有益的。本

领域技术人员可以常规确定用于抗体的最佳pI值来利用这些性质。

[0639] 在一个实施方案中，其FcγR-结合活性比其中根据EU编号在位置297处连接的糖链是含岩藻糖糖链的天然人IgG的Fc区或恒定区高的FcγR-结合结构域可以通过修饰天然人IgG的Fc区或恒定区中的氨基酸残基产生(参见WO2013/047752)。此外，与FcγR结合的任何结构的结构域可以用作FcγR-结合结构域。在该情况下，可以在不需要引入氨基酸修饰的情况下产生FcγR-结合结构域，并且备选地，其对FcγR的亲和力可以通过引入额外修饰增加。所述FcγR-结合结构域可以包括Schlapschly等人(Protein Eng.Des.Sel.22(3)：175-188(2009)，Behar等人(Protein Eng.Des.Sel.21(1)：1-10(2008))，和Kipriyanov等人，J Immunol.169(1)：137-144(2002)中描述的结合FcγRIIIa的Fab片段抗体，骆驼源的单结构域抗体，和单链Fv抗体，以及Bonetto等人，FASEB J.23(2)：575-585(2009)中所述的结合FcγRI的环肽。可以使用上文所述的方法适当评估FcγR-结合结构域的FcγR-结合活性是否比在根据EU编号在位置297处连接的糖链是含岩藻糖糖链的天然人IgG的Fc区或恒定区高。

[0640] 在公开内容A的一个实施方案中，起始FcγR-结合结构域优选包括，例如，(人)IgG Fc区或(人)IgG恒定区。只要起始Fc区或起始恒定区的变体能够在中性pH范围结合人FcγR，任意Fc区或恒定区可以用作起始Fc区或起始恒定区。通过进一步修饰其一个或多个氨基酸残基已经从Fc区或恒定区修饰的起始Fc区或起始恒定区进一步获得的Fc区或恒定区还可以适当用作公开内容A的Fc区或恒定区。起始Fc区或起始恒定区可以指多肽本身，含有起始Fc区或起始恒定区的组合物，或编码起始Fc区或起始恒定区的氨基酸序列。起始Fc区或起始恒定区可以包括通过重组技术产生的已知Fc区或已知恒定区。起始Fc区或起始恒定区的来源不受限，并且其可以获自非人动物的任意生物或人。此外，起始FcγR-结合结构域可以获自食蟹猴，狨，猕猴，黑猩猩，或人。起始Fc区或起始恒定区可以优选获自人IgG1；然而，其不限于特定IgG类型。这意为人IgG1，IgG2，IgG3，或IgG4的Fc区可以用作适当的起始FcγR-结合结构域，并且其还意为，在本文所述的公开内容A的范围内，源自任意生物的IgG型或亚类的Fc区或恒定区可以优选用作起始Fc区或起始恒定区。天然IgG变体或修饰的形式的实例在公知文献如Strohl，Curr.Opin.Biotechnol.20(6)：685-691(2009)；Presta，Curr.Opin.Immunol.20(4)：460-470(2008)；Davis等人，Protein Eng.Des.Sel.23(4)：195-202(2010)；WO2009/086320，WO2008/092117；WO2007/041635；和WO2006/105338中描述，但不限于此。

[0641] 在一个实施方案中，起始FcγR-结合结构域，起始Fc区，或起始恒定区的氨基酸残基可以含有，例如，一种或多种突变：例如，用不同于起始Fc区或起始恒定区中的那些的氨基酸残基置换；将一个或多个氨基酸残基插入起始Fc区或起始恒定区中的氨基酸残基中；或从起始Fc区或起始恒定区的那些中缺失一个或多个氨基酸残基。修饰后的Fc区或恒定区的氨基酸序列优选是含有可能不是天然存在的Fc区或恒定区的至少一部分的氨基酸序列。所述变体必需与起始Fc区或起始恒定区具有小于100％的序列同一性或相似性。例如，变体与起始Fc区或起始恒定区的氨基酸序列具有约75％至小于100％，更优选约80％至小于100％，甚至更优选约85％至小于100％，还更优选约90％至小于100％，并且也更优选约95％至小于100％的氨基酸序列同一性或相似性。在非限制性实例中，在公开内容A的修饰的Fc区或恒定区和起始Fc区或起始恒定区之间有至少一个氨基酸不同。

[0642] 在一个实施方案中，在酸性pH范围和/或在中性pH范围具有FcγR-结合活性的Fc区或恒定区(可以包含在公开内容A的抗体中)可以通过任意方法获得。具体而言，在中性pH范围具有FcγR-结合活性的Fc区或恒定区变体可以通过修饰可以用作起始Fc区或起始恒定区的人IgG抗体的氨基酸获得。适于修饰的IgG抗体Fc区或IgG抗体恒定区可以包括，例如，人IgG(IgG1，IgG2，IgG3，或IgG4，或其变体)的Fc区或恒定区，和由其自发产生的突变体。对于人IgG1，人IgG2，人IgG3，或人IgG4抗体的Fc区或恒定区，很多由于遗传多态性导致的同种异型序列在"Sequences of proteins of immunological interest"，NIH出版No.91-3242中描述，并且它们中的任一种可以用于公开内容A。尤其是，对于人IgG1序列，根据EU编号位置356至358的氨基酸序列可以是DEL或EEM。

[0643] 在公开内容A的范围内的另一个实施方案中，其他氨基酸的修饰不受限，只要变体在中性pH范围具有FcγR-结合活性即可。所述修饰的一个或多个氨基酸位置在例如WO2007/024249，WO2007/021841，WO2006/031370，WO2000/042072，WO2004/029207，WO2004/099249，WO2006/105338，WO2007/041635，WO2008/092117，WO2005/070963，WO2006/020114，WO2006/116260，WO2006/023403，WO2013/047752，WO2006/019447，WO2012/115241，WO2013/125667，WO2014/030728，WO2014/163101，WO2013/118858，和WO2014/030750中报道。

[0644] 为了增加在中性pH范围内的FcγR-结合活性在恒定区或Fc区中的氨基酸修饰的位点可以包括，例如，选自由以下组成的组的位置的一个或多个位置：人IgG抗体的Fc区或恒定区中221，222，223，224，225，227，228，230，231，232，233，234，235，236，237，238，239，240，241，243，244，245，246，247，249，250，251，254，255，256，258，260，262，263，264，265，266，267，268，269，270，271，272，273，274，275，276，278，279，280，281，282，283，284，285，286，288，290，291，292，293，294，295，296，297，298，299，300，301，302，303，304，305，311，313，315，317，318，320，322，323，324，325，326，327，328，329，330，331，332，333，334，335，336，337，339，376，377，378，379，380，382，385，392，396，421，427，428，429，434，436，和440(根据EU编号)，如WO2013/047752中所示。所述氨基酸残基的修饰可以增加IgG抗体的Fc区或恒定区在中性pH条件下对FcγR的结合。WO2013/047752描述了，作为IgG-型恒定区或Fc区中的优选的修饰，例如，一个或多个氨基酸残基的修饰选自由以下组成的组：位置221的氨基酸修饰为Lys或Tyr；位置222的氨基酸修饰为Phe，Trp，Glu，和Tyr中的任一个；位置223的氨基酸修饰为Phe，Trp，Glu，和Lys中的任一个；位置224的氨基酸修饰为Phe，Trp，Glu，和Tyr中的任一个；位置225的氨基酸修饰为Glu，Lys，和Trp中的任一个；位置227的氨基酸修饰为Glu，Gly，Lys，和Tyr中的任一个；位置228的氨基酸修饰为Glu，Gly，Lys，和Tyr中的任一个；位置230的氨基酸修饰为Ala，Glu，Gly，和Tyr中的任一个；位置231的氨基酸修饰为Glu，Gly，Lys，Pro，和Tyr中的任一个；位置232的氨基酸修饰为Glu，Gly，Lys，和Tyr中的任一个；位置233的氨基酸修饰为Ala，Asp，Phe，Gly，His，Ile，Lys，Leu，Met，Asn，Gln，Arg，Ser，Thr，Val，Trp，和Tyr中的任一个；位置234的氨基酸修饰为Ala，Asp，Glu，Phe，Gly，His，Ile，Lys，Met，Asn，Pro，Gln，Arg，Ser，Thr，Val，Trp，和Tyr中的任一个；位置235的氨基酸修饰为Ala，Asp，Glu，Phe，Gly，His，Ile，Lys，Met，Asn，Pro，Gln，Arg，Ser，Thr，Val，Trp，和Tyr中的任一个；位置236的氨基酸修饰为Ala，Asp，Glu，Phe，His，Ile，Lys，Leu，Met，Asn，Pro，Gln，Arg，Ser，Thr，Val，Trp，和Tyr中的任一个；位置237的氨基酸修饰为Asp，Glu，Phe，His，Ile，Lys，Leu，Met，Asn，Pro，Gln，Arg，Ser，Thr，Val，Trp，和Tyr中的任一个；位置238的氨基

酸修饰为Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Gln,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置239的氨基酸修饰为Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Pro,Gln,Arg,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置240的氨基酸修饰为Ala,Ile,Met,和Thr中的任一个;位置241的氨基酸修饰为Asp,Glu,Leu,Arg,Trp,和Tyr中的任一个;位置243的氨基酸修饰为Glu,Leu,Gln,Arg,Trp,和Tyr中的任一个;位置244的氨基酸修饰为His;位置245的氨基酸修饰为Ala;位置246的氨基酸修饰为Asp,Glu,His,和Tyr中的任一个;位置247的氨基酸修饰为Ala,Phe,Gly,His,Ile,Leu,Met,Thr,Val,和Tyr中的任一个;位置249的氨基酸修饰为Glu,His,Gln,和Tyr中的任一个;位置250的氨基酸修饰为Glu或Gln;位置251的氨基酸修饰为Phe;位置254的氨基酸修饰为Phe,Met,和Tyr中的任一个;位置255的氨基酸修饰为Glu,Leu,和Tyr中的任一个;位置256的氨基酸修饰为Ala,Met,和Pro中的任一个;位置258的氨基酸修饰为Asp,Glu,His,Ser,和Tyr中的任一个;位置260的氨基酸修饰为Asp,Glu,His,和Tyr中的任一个;位置262的氨基酸修饰为Ala,Glu,Phe,Ile,和Thr中的任一个;位置263的氨基酸修饰为Ala,Ile,Met,和Thr中的任一个;位置264的氨基酸修饰为Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Pro,Gln,Arg,Ser,Thr,Trp,和Tyr中的任一个;位置265的氨基酸修饰为Ala,Leu,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Pro,Gln,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置266的氨基酸修饰为Ala,Ile,Met,和Thr中的任一个;位置267的氨基酸修饰为Asp,Glu,Phe,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Pro,Gln,Arg,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置268的氨基酸修饰为Asp,Glu,Phe,Gly,Ile,Lys,Leu,Met,Pro,Gln,Arg,Thr,Val,和Trp中的任一个;位置269的氨基酸修饰为Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Pro,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置270的氨基酸修饰为Glu,Phe,Gly,His,Ile,Leu,Met,Pro,Gln,Arg,Ser,Thr,Trp,和Tyr中的任一个;位置271的氨基酸修饰为Ala,Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Gln,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置272的氨基酸修饰为Asp,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Pro,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置273的氨基酸修饰为Phe或Ile;位置274的氨基酸修饰为Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Leu,Met,Asn,Pro,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置275的氨基酸修饰为Leu或Trp;位置276的氨基酸修饰为Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Leu,Met,Pro,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置278的氨基酸修饰为Asp,Glu,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Pro,Gln,Arg,Ser,Thr,Val,和Trp中的任一个;位置279的氨基酸修饰为Ala;位置280的氨基酸修饰为Ala,Gly,His,Lys,Leu,Pro,Gln,Trp,和Tyr中的任一个;位置281的氨基酸修饰为Asp,Lys,Pro,和Tyr中的任一个;位置282的氨基酸修饰为Glu,Gly,Lys,Pro,和Tyr中的任一个;位置283的氨基酸修饰为Ala,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Pro,Arg,和Tyr中的任一个;位置284的氨基酸修饰为Asp,Glu,Leu,Asn,Thr,和Tyr中的任一个;位置285的氨基酸修饰为Asp,Glu,Lys,Gln,Trp,和Tyr中的任一个;位置286的氨基酸修饰为Glu,Gly,Pro,和Tyr中的任一个;位置288的氨基酸修饰为Asn,Asp,Glu,和Tyr中的任一个;位置290的氨基酸修饰为Asp,Gly,His,Leu,Asn,Ser,Thr,Trp,和Tyr中的任一个;位置291的氨基酸修饰为Asp,Glu,Gly,His,Ile,Gln,和Thr中的任一个;位置292的氨基酸修饰为Ala,Asp,Glu,Pro,Thr,和Tyr中的任一个;位置293的氨基酸修饰为Phe,Gly,His,Ile,Leu,Met,Asn,Pro,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置294的氨基酸修饰为Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Pro,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的

任一个;位置295的氨基酸修饰为Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Met,Asn,Pro,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置296的氨基酸修饰为Ala,Asp,Glu,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Gln,Arg,Ser,Thr,和Val中的任一个;位置297的氨基酸修饰为Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Pro,Gln,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置298的氨基酸修饰为Ala,Asp,Glu,Phe,His,Ile,Lys,Met,Asn,Gln,Arg,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置299的氨基酸修饰为Ala,Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Pro,Gln,Arg,Ser,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置300的氨基酸修饰为Ala,Asp,Glu,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Pro,Gln,Arg,Ser,Thr,Val,和Trp中的任一个;位置301的氨基酸修饰为Asp,Glu,His,和Tyr中的任一个;位置302的氨基酸修饰为Ile;位置303的氨基酸修饰为Asp,Gly,和Tyr中的任一个;位置304的氨基酸修饰为Asp,His,Leu,Asn,和Thr中的任一个;位置305的氨基酸修饰为Glu,Ile,Thr,和Tyr中的任一个;位置311的氨基酸修饰为Ala,Asp,Asn,Thr,Val,和Tyr中的任一个;位置313的氨基酸修饰为Phe;位置315的氨基酸修饰为Leu;位置317的氨基酸修饰为Glu或Gln;位置318的氨基酸修饰为His,Leu,Asn,Pro,Gln,Arg,Thr,Val,和Tyr中的任一个;位置320的氨基酸修饰为Asp,Phe,Gly,His,Ile,Leu,Asn,Pro,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置322的氨基酸修饰为Ala,Asp,Phe,Gly,His,Ile,Pro,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置323的氨基酸修饰为Ile;位置324的氨基酸修饰为Asp,Phe,Gly,His,Ile,Leu,Met,Pro,Arg,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置325的氨基酸修饰为Ala,Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Pro,Gln,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置326的氨基酸修饰为Ala,Asp,Glu,Gly,Ile,Leu,Met,Asn,Pro,Gln,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置327的氨基酸修饰为Ala,Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Pro,Arg,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置328的氨基酸修饰为Ala,Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Met,Asn,Pro,Gln,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置329的氨基酸修饰为Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Gln,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置330的氨基酸修饰为Cys,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Pro,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置331的氨基酸修饰为Asp,Phe,His,Ile,Leu,Met,Gln,Arg,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置332的氨基酸修饰为Ala,Asp,Glu,Phe,Gly,His,Lys,Leu,Met,Asn,Pro,Gln,Arg,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置333的氨基酸修饰为Ala,Asp,Glu,Phe,Gly,His,Ile,Leu,Met,Pro,Ser,Thr,Val,和Tyr中的任一个;位置334的氨基酸修饰为Ala,Glu,Phe,Ile,Leu,Pro,和Thr中的任一个;位置335的氨基酸修饰为Asp,Phe,Gly,His,Ile,Leu,Met,Asn,Pro,Arg,Ser,Val,Trp,和Tyr中的任一个;位置336的氨基酸修饰为Glu,Lys,和Tyr中的任一个;位置337的氨基酸修饰为Glu,His,和Asn中的任一个;位置339的氨基酸修饰为Asp,Phe,Gly,Ile,Lys,Met,Asn,Gln,Arg,Ser,和Thr中的任一个;位置376的氨基酸修饰为Ala或Val;位置377的氨基酸修饰为Gly或Lys;位置378的氨基酸修饰为Asp;位置379的氨基酸修饰为Asn;位置380的氨基酸修饰为Ala,Asn,和Ser中的任一个;位置382的氨基酸修饰为Ala或Ile;位置385的氨基酸修饰为Glu;位置392的氨基酸修饰为Thr;位置396的氨基酸修饰为Leu;位置421的氨基酸修饰为Lys;位置427的氨基酸修饰为Asn;位置428的氨基酸修饰为Phe或Leu;位置429的氨基酸修饰为Met;位置434的氨基酸修饰为Trp;位置436的氨基酸修饰为Ile;和位置440的氨基酸修饰为Gly,His,Ile,Leu,和Tyr中的任一个(根据EU编号)。要

修饰的氨基酸数量不特别限制，并且可能修饰仅一个位置的氨基酸或两个或更多个位置的氨基酸。在两个或更多个位置处的氨基酸修饰的组合显示在WO2013/047752的表5中。这些氨基酸残基的修饰还可以适当引入公开内容A的抗体中。

[0645] 在一个实施方案中，公开内容A的抗体(的FcγR-结合结构域)对(人)FcγR，如FcγRI，FcγRIIa，FcγRIIb，FcγRIIIa和FcγRIIIb中的任意一个或多个的结合活性，可以比天然IgG或含有起始Fc区或起始恒定区的参照抗体(的Fc区或恒定区)的结合活性高。例如，公开内容A的抗体(的FcγR-结合结构域)的FcγR-结合活性，与参照抗体的FcγR-结合活性相比，可以是55％或更多，60％或更多，65％或更多，70％或更多，75％或更多，80％或更多，85％或更多，90％或更多，95％或更多，100％或更多，105％或更多，优选110％或更多，115％或更多，120％或更多，125％或更多，特别优选130％或更多，135％或更多，140％或更多，145％或更多，150％或更多，155％或更多，160％或更多，165％或更多，170％或更多，175％或更多，180％或更多，185％或更多，190％或更多，或195％或更多，或是参照抗体的FcγR-结合活性的2-倍或更多，2.5-倍或更多，3-倍或更多，3.5-倍或更多，4-倍或更多，4.5-倍或更多，5-倍或更多，7.5-倍或更多，10-倍或更多，20-倍或更多，30-倍或更多，40-倍或更多，50-倍或更多，60-倍或更多，70-倍或更多，80-倍或更多，90-倍或更多，或100-倍或更多。

[0646] 在另一个实施方案中，对抑制性FcγR(FcγRIIb-1和/或FcγRIIb-2)的结合活性的提高水平(在中性pH范围内)可以大于对激活性FcγR(FcγRIa;FcγRIb;FcγRIc;FcγRIIIa(包括同种异型V158);FcγRIIIa(包括同种异型F158);FcγRIIIb(包括同种异型FcγRIIIb-NA1);FcγRIIIb(包括同种异型FcγRIIIb-NA2);FcγRIIa(包括同种异型H131);或FcγRIIa(包括同种异型R131))的结合活性的提高水平。

[0647] 在一个实施方案中，公开内容A的抗体可以具有对FcγRIIb(包括FcγRIIb-1和FcγRIIb-2)的结合活性。

[0648] 在一个实施方案中，公开内容A的优选的FcγR-结合结构域还包括，例如，其对具体FcγR的结合活性大于对其他FcγR的结合活性的FcγR-结合结构域(具有选择性FcγR-结合活性的FcγR-结合结构域)。在使用抗体(或Fc区作为FcγR-结合结构域)的情况下，单个抗体分子可以仅结合单个FcγR分子。因此，结合抑制性FcγR的状态下的单个抗体分子不能结合其他激活性FcγR，并且结合激活性FcγR的状态下的单个抗体分子不能结合其他激活性FcγR或抑制性FcγR。

[0649] 如上文所述的，激活性FcγR优选包括，例如，FcγRI(CD64)如FcγRIa，FcγRIb，或FcγRIc;和FcγRIII(CD16)如FcγRIIIa(如同种异型V158或F158)或FcγRIIIb(如同种异型FcγRIIIb-NA1或FcγRIIIb-NA2)。同时，抑制性FcγR优选包括，例如，FcγRIIb(如FcγRIIb-1或FcγRIIb-2)。

[0650] 在一个实施方案中，对抑制性FcγR比对激活性FcγR具有更高结合活性的FcγR-结合结构域可以用作包含在公开内容A的抗体中的选择性FcγR-结合结构域。所述选择性FcγR-结合结构域可以包括，例如，对FcγRIIb(如FcγRIIb-1和/或FcγRIIb-2)比对选自由以下组成的组的激活性FcγR中的任意一个或多个具有更高结合活性的FcγR-结合结构域:FcγRI(CD64)如如FcγRIa，FcγRIb，或FcγRIc;FcγRIII(CD16)如FcγRIIIa(如同种异型V158或F158)或FcγRIIIb(如FcγRIIIb-NA1或FcγRIIIb-NA2);FcγRII(CD32)如Fc

γRIIa(包括同种异型H131或R131);和FcγRIIc。

[0651] 此外,FcγR-结合结构域是否具有选择性结合活性可以通过比较由上述方法确定的与每个FcγR的结合活性来评估,例如,通过比较通过用对激活性FcγR的KD值除以对抑制性FcγR的KD值获得的值(比),更具体通过比较以下等式1中所示的FcγR选择性指数:

[0652] [等式1]FcγR选择性指数=对激活性FcγR的KD值/对抑制性FcγR的KD值

[0653] 在等式1中,对于激活性FcγR的KD值是指对于以下中的一种或多种的KD值:FcγRIa;FcγRIb;FcγRIc;FcγRIIIa(包括同种异型V158和/或F158);FcγRIIIb(包括FcγRIIIb-NA1和/或FcγRIIIb-NA2);FcγRIIa(包括同种异型H131和/或R131);和FcγRIIc;并且对于抑制性FcγR的KD值是指对于FcγRIIb-1和/或FcγRIIb-2的KD值。用于确定KD值的激活性FcγR和抑制性FcγR可以以任意组合选择。例如,可能使用用对于FcγRIIa(包括同种异型H131)的KD值除以对于FcγRIIb-1和/或FcγRIIb-2的KD值确定的值(比),不限于此。

[0654] FcγR选择性指数可以是,例如:1.2或更高,1.3或更高,1.4或更高,1.5或更高,1.6或更高,1.7或更高,1.8或更高,1.9或更高,2或更高,3或更高,5或更高,6或更高,7或更高,8或更高,9或更高,10或更高,15或更高,20或更高,25或更高,30或更高,35或更高,40或更高,45或更高,50或更高,55或更高,60或更高,65或更高,70或更高,75或更高,80或更高,85或更高,90或更高,95或更高,100或更高,110或更高,120或更高,130或更高,140或更高,150或更高,160或更高,170或更高,180或更高,190或更高,200或更高,210或更高,220或更高,230或更高,240或更高,250或更高,260或更高,270或更高,280或更高,290或更高,300或更高,310或更高,320或更高,330或更高,340或更高,350或更高,360或更高,370或更高,380或更高,390或更高,400或更高,410或更高,420或更高,430或更高,440或更高,450或更高,460或更高,470或更高,480或更高,490或更高,500或更高,520或更高,540或更高,560或更高,580或更高,600或更高,620或更高,640或更高,660或更高,680或更高,700或更高,720或更高,740或更高,760或更高,780或更高,800或更高,820或更高,840或更高,860或更高,880或更高,900或更高,920或更高,940或更高,960或更高,980或更高,1000或更高,1500或更高,2000或更高,2500或更高,3000或更高,3500或更高,4000或更高,4500或更高,5000或更高,5500或更高,6000或更高,6500或更高,7000或更高,7500或更高,8000或更高,8500或更高,9000或更高,9500或更高,10000或更高,或100000或更高;单其不限于此。

[0655] 在一个实施方案中,人IgG(IgG1,IgG2,IgG3,或IgG4)根据EU编号在位置238或328的氨基酸分别是Asp或Glu的Fc区变体或恒定区变体(含有其的抗体),可以优选用作含有Fc区变体或恒定区变体的公开内容A的抗体,因为如在WO2013/125667,WO2012/115241,和WO2013/047752中具体描述的,其对FcγRIIb-1和/或FcγRIIb-2比对FcγRIa,FcγRIb,FcγRIc,FcγRIIIa(包括同种异型V158),FcγRIIIa(包括同种异型F158),FcγRIIIb(包括同种异型FcγRIIIb-NA1),FcγRIIIb(包括同种异型FcγRIIIb-NA2),FcγRIIa(包括同种异型H131),FcγRIIa(包括同种异型R131),和/或FcγRIIc具有更高的结合活性。在该实施方案中,公开内容A的抗体对所有激活性FcγRs(本文中,其选自由以下组成的组:FcγRIa,FcγRIb,FcγRIc,FcγRIIIa,FcγRIIIb,FcγRIIa)和FcγRIIb都具有结合活性,并且与含有天然IgG恒定区或天然IgG Fc区的参照抗体相比,它们的FcγRIIb-结合活性被保持或增加,和/或它们对所有激活性FcγR的结合活性降低。

[0656] 在一个实施方案中,对于含有Fc区变体或恒定区变体的公开内容A的抗体,与具有天然IgG的恒定区或Fc区的参照抗体相比,它们对FcγRIIb的结合活性可以保持或增加,并且它们对FcγRIIa(类型H)和FcγRIIa(类型R)的结合活性可以降低。所述抗体可以具有增加的相对于FcγRIIa的对FcγRIIb的结合选择性。

[0657] 在本文所述的公开内容A的范围内,"对所有激活性FcγR的结合活性降低"的程度可以是,但不限于,99%或更少,98%或更少,97%或更少,96%或更少,95%或更少,94%或更少,93%或更少,92%或更少,91%或更少,90%或更少,88%或更少,86%或更少,84%或更少,82%或更少,80%或更少,78%或更少,76%或更少,74%或更少,72%或更少,70%或更少,68%或更少,66%或更少,64%或更少,62%或更少,60%或更少,58%或更少,56%或更少,54%或更少,52%或更少,50%或更少,45%或更少,40%或更少,35%或更少,30%或更少,25%或更少,20%或更少,15%或更少,10%或更少,5%或更少,4%或更少,3%或更少,2%或更少,1%或更少,0.5%或更少,0.4%或更少,0.3%或更少,0.2%或更少,0.1%或更少,0.05%或更少,0.01%或更少,或0.005%或更少。

[0658] 在本文所述的公开内容A的范围内,"FcγRIIb-结合活性被保持或增加的"程度,"对FcγRIIb的结合活性被保持或增加的"程度,或"对FcγRIIb保持的或增加的结合活性"的程度可以是,但不限于,55%或更高,60%或更高,65%或更高,70%或更高,75%或更高,80%或更高,85%或更高,87%或更高,88%或更高,89%或更高,90%或更高,91%或更高,92%或更高,93%或更高,94%或更高,95%或更高,96%或更高,97%或更高,98%或更高,99%或更高,99.5%或更高,100%或更高,101%或更高,102%或更高,103%或更高,104%或更高,105%或更高,106%或更高,107%或更高,108%或更高,109%或更高,110%或更高,112%或更高,114%或更高,116%或更高,118%或更高,120%或更高,122%或更高,124%或更高,126%或更高,128%或更高,130%或更高,132%或更高,134%或更高,136%或更高,138%或更高,140%或更高,142%或更高,144%或更高,146%或更高,148%或更高,150%或更高,155%或更高,160%或更高,165%或更高,170%或更高,175%或更高,180%或更高,185%或更高,190%或更高,195%或更高,2-倍或更高,3-倍或更高,4-倍或更高,5-倍或更高,6-倍或更高,7-倍或更高,8-倍或更高,9-倍或更高,10-倍或更高,20-倍或更高,30-倍或更高,40-倍或更高,50-倍或更高,60-倍或更高,70-倍或更高,80-倍或更高,90-倍或更高,100-倍或更高,200-倍或更高,300-倍或更高,400-倍或更高,500-倍或更高,600-倍或更高,700-倍或更高,800-倍或更高,900-倍或更高,1000-倍或更高,10000-倍或更高,或100000-倍或更高。

[0659] 在本文所述的公开内容A的范围内,"对FcγRIIa(类型H)和FcγRIIa(类型R)的结合活性降低的"或"对FcγRIIa(类型H)和FcγRIIa(类型R)的结合活性降低的"程度可以是,但不限于,99%或更少,98%或更少,97%或更少,96%或更少,95%或更少,94%或更少,93%或更少,92%或更少,91%或更少,90%或更少,88%或更少,86%或更少,84%或更少,82%或更少,80%或更少,78%或更少,76%或更少,74%或更少,72%或更少,70%或更少,68%或更少,66%或更少,64%或更少,62%或更少,60%或更少,58%或更少,56%或更少,54%或更少,52%或更少,50%或更少,45%或更少,40%或更少,35%或更少,30%或更少,25%或更少,20%或更少,15%或更少,10%或更少,5%或更少,4%或更少,3%或更少,2%或更少,1%或更少,0.5%或更少,0.4%或更少,0.3%或更少,0.2%或更少,0.1%或更

少,0.05%或更少,0.01%或更少,或0.005%或更少。

[0660] 在本文所述的公开内容A的范围内,增加的相对于FcγRIIa(类型R)的对FcγRIIb的结合选择性的修饰可以是优选的,并且增加的相对于FcγRIIa(类型H)的对FcγRIIb的结合选择性的修饰可以是更优选的,并且如在WO2013/047752中报道的,对于此种修饰的优选的氨基酸置换可以包括,例如,根据EU编号:(a)通过在位置237用Trp置换Gly进行的修饰;(b)通过在位置237用Phe置换Gly进行的修饰;(c)通过在位置238用Phe置换Pro进行的修饰;(d)通过在位置325用Met置换Asn进行的修饰;(e)通过在位置267用Ile置换Ser进行的修饰;(f)通过在位置328用Asp置换Leu进行的修饰;(g)通过在位置267用Val置换Ser进行的修饰;(h)通过在位置328用Trp置换Leu进行的修饰;(i)通过在位置267用Gln置换Ser进行的修饰;(j)通过在位置267用Met置换Ser进行的修饰;(k)通过在位置236用Asp置换Gly进行的修饰;(l)通过在位置327用Asn置换Ala进行的修饰;(m)通过在位置325用Ser置换Asn进行的修饰;(n)通过在位置235用Tyr置换Leu进行的修饰;(o)通过在位置266用Met置换Val进行的修饰;(p)通过在位置328用Tyr置换Leu进行的修饰;(q)通过在位置235用Trp置换Leu进行的修饰;(r)通过在位置235用Phe置换Leu进行的修饰;(s)通过在位置239用Gly置换Ser进行的修饰;(t)通过在位置327用Glu置换Ala进行的修饰;(u)通过在位置327用Gly置换Ala进行的修饰;(v)通过在位置238用Leu置换Pro进行的修饰;(w)通过在位置239用Leu置换Ser进行的修饰;(x)通过在位置328用Thr置换Leu进行的修饰;(y)通过在位置328用Ser置换Leu进行的修饰;(z)通过在位置328用Met置换Leu进行的修饰;(aa)通过在位置331用Trp置换Pro进行的修饰;(ab)通过在位置331用Tyr置换Pro进行的修饰;(ac)通过在位置331用Phe置换Pro进行的修饰;(ad)通过在位置327用Asp置换Ala进行的修饰;(ae)通过在位置328用Phe置换Leu进行的修饰;(af)通过在位置271用Leu置换Pro进行的修饰;(ag)通过在位置267用Glu置换Ser进行的修饰;(ah)通过在位置328用Ala置换Leu进行的修饰;(ai)通过在位置328用Ile置换Leu进行的修饰;(aj)通过在位置328用Gln置换Leu进行的修饰;(ak)通过在位置328用Val置换Leu进行的修饰;(al)通过在位置326用Trp置换Lys进行的修饰;(am)通过在位置334用Arg置换Lys进行的修饰;(an)通过在位置268用Gly置换His进行的修饰;(ao)通过在位置268用Asn置换His进行的修饰;(ap)通过在位置324用Val置换Ser进行的修饰;(aq)通过在位置266用Leu置换Val进行的修饰;(ar)通过在位置271用Gly置换Pro进行的修饰;(as)通过在位置332用Phe置换Ile进行的修饰;(at)通过在位置324用Ile置换Ser进行的修饰;(au)通过在位置333用Pro置换Glu进行的修饰;(av)通过在位置300用Asp置换Tyr进行的修饰;(aw)通过在位置337用Asp置换Ser进行的修饰;(ax)通过在位置300用Gln置换Tyr进行的修饰;(ay)通过在位置335用Asp置换Thr进行的修饰;(az)通过在位置239用Asn置换Ser进行的修饰;(ba)通过在位置326用Leu置换Lys进行的修饰;(bb)通过在位置326用Ile置换Lys进行的修饰;(bc)通过在位置239用Glu置换Ser进行的修饰;(bd)通过在位置326用Phe置换Lys进行的修饰;(be)通过在位置326用Val置换Lys进行的修饰;(bf)通过在位置326用Tyr置换Lys进行的修饰;(bg)通过在位置267用Asp置换Ser进行的修饰;(bh)通过在位置326用Pro置换Lys进行的修饰;(bi)通过在位置326用His置换Lys进行的修饰;(bj)通过在位置334用Ala置换Lys进行的修饰;(bk)通过在位置334用Trp置换Lys进行的修饰;(bl)通过在位置268用Gln置换His进行的修饰;(bm)通过在位置326用Gln置换Lys进行的修饰;(bn)通过在位置326用Glu置换Lys进行的修饰;(bo)通

过在位置326用Met置换Lys进行的修饰;(bp)通过在位置266用Ile置换Val进行的修饰;(bq)通过在位置334用Glu置换Lys进行的修饰;(br)通过在位置300用Glu置换Tyr进行的修饰;(bs)通过在位置334用Met置换Lys进行的修饰;(bt)通过在位置334用Val置换Lys进行的修饰;(bu)通过在位置334用Thr置换Lys进行的修饰;(bv)通过在位置334用Ser置换Lys进行的修饰;(bw)通过在位置334用His置换Lys进行的修饰;(bx)通过在位置334用Phe置换Lys进行的修饰;(by)通过在位置334用Gln置换Lys进行的修饰;(bz)通过在位置334用Pro置换Lys进行的修饰;(ca)通过在位置334用Tyr置换Lys进行的修饰;(cb)通过在位置334用Ile置换Lys进行的修饰;(cc)通过在位置295用Leu置换Gln进行的修饰;(cd)通过在位置334用Leu置换Lys进行的修饰;(ce)通过在位置334用Asn置换Lys进行的修饰;(cf)通过在位置268用Ala置换His进行的修饰;(cg)通过在位置239用Asp置换Ser进行的修饰;(ch)通过在位置267用Ala置换Ser进行的修饰;(ci)通过在位置234用Trp置换Leu进行的修饰;(cj)通过在位置234用Tyr置换Leu进行的修饰;(ck)通过在位置237用Ala置换Gly进行的修饰;(cl)通过在位置237用Asp置换Gly进行的修饰;(cm)通过在位置237用Glu置换Gly进行的修饰;(cn)通过在位置237用Leu置换Gly进行的修饰;(co)通过在位置237用Met置换Gly进行的修饰;(cp)通过在位置237用Tyr置换Gly进行的修饰;(cq)通过在位置330用Lys置换Ala进行的修饰;(cr)通过在位置330用Arg置换Ala进行的修饰;(cs)通过在位置233用Asp置换Glu进行的修饰;(ct)通过在位置268用Asp置换His进行的修饰;(cu)通过在位置268用Glu置换His进行的修饰;(cy)通过在位置326用Asp置换Lys进行的修饰;(cw)通过在位置326用Ser置换Lys进行的修饰;(cx)通过在位置326用Thr置换Lys进行的修饰;(cy)通过在位置323用Ile置换Val进行的修饰;(cz)通过在位置323用Leu置换Val进行的修饰;(da)通过在位置323用Met置换Val进行的修饰;(db)通过在位置296用Asp置换Tyr进行的修饰;(dc)通过在位置326用Ala置换Lys进行的修饰;(dd)通过在位置326用Asn置换Lys进行的修饰;和(de)通过在位置330用Met置换Ala进行的修饰。

[0661] 上述修饰可以单独在单个位置或组合在两个或更多个位置。备选地,所述优选的修饰可以包括,例如,WO2013/047752的表14至15,17至24,和26至28中所示的那些,例如,人恒定区或人Fc区的变体,其中在人IgG(IgG1,IgG2,IgG3,或IgG4)中,根据EU编号位置238的氨基酸是Asp并且根据EU编号位置271的氨基酸是Gly;此外,根据EU编号位置233,234,237,264,265,266,267,268,269,272,296,326,327,330,331,332,333,和396处的一个或多个可以被置换。在该情况下,变体可以包括,但不限于,含有以下中的一种或多种的人恒定区或人Fc区的变体:

[0662] 位置233处Asp,位置234处Tyr,位置237处Asp,位置264处Ile,位置265处Glu,位置266处Phe,Met,和Leu中的任一个,位置267处Ala,Glu,Gly,和Gln中的任一个,位置268处Asp或Glu,位置269处Asp,位置272处Asp,Phe,Ile,Met,Asn,和Gln中的任一个,位置296处Asp,位置326处Ala或Asp,位置327处Gly,位置330处Lys或Arg,位置331处Ser,位置332处Thr,位置333处Thr,Lys,和Arg中的任一个,以及位置396处Asp,Glu,Phe,Ile,Lys,Leu,Met,Gln,Arg,和Tyr中的任一个(根据EU编号)。

[0663] 在一个备选实施方案中,含有Fc区变体或恒定区变体的公开内容A的抗体可以具有与含有天然IgG的恒定区或Fc区的参照抗体相比保持的或增加的对FcγRIIb的结合活性和降低的对FcγRIIa(类型H)和FcγRIIa(类型R)的结合活性。此种变体的氨基酸置换的优

选的位点可以是如WO2014/030728中报道的，例如，根据EU编号位置238处的氨基酸和选自由以下组成的组的位置的至少一个氨基酸：位置233，234，235，237，264，265，266，267，268，269，271，272，274，296，326，327，330，331，332，333，334，355，356，358，396，409，和419(根据EU编号)。

[0664] 更优选，所述变体可以根据EU编号在位置238处具有Asp，并且具有选自以下的组的氨基酸中的至少一个氨基酸：位置233处Asp，位置234处Tyr，位置235处Phe，位置237处Asp，位置264处Ile，位置265处Glu，位置266处Phe，Leu，或Met，位置267处Ala，Glu，Gly，或Gln，位置268处Asp，Gln，或Glu，位置269处Asp，位置271处Gly，位置272处Asp，Phe，Ile，Met，Asn，Pro，或Gln，位置274处Gln，位置296处Asp或Phe，位置326处Ala或Asp，位置327处Gly，位置330处Lys，Arg，或Ser，位置331处Ser，位置332处Lys，Arg，Ser，或Thr，位置333处Lys，Arg，Ser，或Thr，位置334处Arg，Ser，或Thr，位置355处Ala或Gln，位置356处Glu，位置358处Met，位置396处Ala，Asp，Glu，Phe，Gly，His，Ile，Lys，Leu，Met，Asn，Gln，Arg，Ser，Thr，Val，Trp，或Tyr，位置409处Arg，和位置419处Glu(根据EU编号)。

[0665] 在一个备选实施方案中，与含有天然IgG的恒定区或Fc区的参照抗体相比，含有Fc区变体或恒定区变体的公开内容A的抗体可以具有保持的对FcγRIIb的结合活性和降低的对所有激活性FcγRs，FcγRIIa(类型R)的结合活性。对于此种变体的氨基酸置换的优选的位点可以是如WO2014/163101中报道的，例如，除了根据EU编号)位置238处的氨基酸之外，选自根据EU编号位置235，237，241，268，295，296，298，323，324，和330的位置的至少一个氨基酸。更优选，所述变体可以根据EU编号在位置238处具有Asp，和选自以下的组的氨基酸中的至少一个氨基酸：位置235处Phe；位置237处Gln或Asp；位置241处Met或Leu；位置268处Pro；位置295处Met或Val；位置296处Glu，His，Asn，或Asp；位置298处Ala或Met；位置323处Ile；位置324处Asn或His；和位置330处His或Tyr(根据EU编号)。

[0666] 在本文所述的公开内容A的范围内，"保持的对FcγRIIb的结合活性"的水平可以是，但不限于，55％或更高，60％或更高，65％或更高，70％或更高，75％或更高，80％或更高，81％或更高，82％或更高，83％或更高，84％或更高，85％或更高，86％或更高，87％或更高，88％或更高，89％或更高，90％或更高，91％或更高，92％或更高，93％或更高，94％或更高，95％或更高，96％或更高，97％或更高，98％或更高，99％或更高，99.5％或更高，100％或更高，101％或更高，102％或更高，103％或更高，104％或更高，105％或更高，106％或更高，107％或更高，108％或更高，109％或更高，110％或更高，120％或更高，130％或更高，140％或更高，150％或更高，175％或更高，或2-倍或更高。

[0667] 在本文所述的公开内容A的范围内，前述"降低的对所有激活性FcγRs，尤其是FcγRIIa(类型R)的结合活性"的水平可以是，但不限于，74％或更少，72％或更少，70％或更少，68％或更少，66％或更少，64％或更少，62％或更少，60％或更少，58％或更少，56％或更少，54％或更少，52％或更少，50％或更少，45％或更少，40％或更少，35％或更少，30％或更少，25％或更少，20％或更少，15％或更少，10％或更少，5％或更少，4％或更少，3％或更少，2％或更少，1％或更少，0.5％或更少，0.4％或更少，0.3％或更少，0.2％或更少，0.1％或更少，0.05％或更少，0.01％或更少，或0.005％或更少。

[0668] WO2014/030750还报道了小鼠恒定区和Fc区的变体。在一个实施方案中，公开内容A或B的抗体可以包含此种变体。

[0669] 本文所述的公开内容A和B范围内，不像属于免疫球蛋白超家族的FcγR，"FcRn"，尤其是人FcRn，与I型主要组织相容性复合物(MHC)的多肽结构上类似，并且呈现与I型MHC分子22％至29％的序列同一性(Ghetie等人，Immunol.Today 18(12)，592-598(1997))。FcRn表达为异源二聚体，其由与跨膜α或重链复合的可溶性β或轻链(β2微球蛋白)组成。如MHC一样，FcRn的α链含有三个胞外结构域(α1，α2，和α3)，并且其短的细胞质结构域将蛋白连接到细胞表面。α1和α2结构域与抗体Fc区的FcRn-结合结构域相互作用(Raghavan等人，Immunity 1:303-315(1994))。

[0670] FcRn在哺乳动物的母体胎盘和卵黄囊中表达，并且参与母亲到胎儿的IgG转移。此外，在新生啮齿类动物表达FcRn的小肠中，FcRn参与成熟IgG从摄取的初乳或乳汁跨刷状缘上皮的转移。FcRn在各种物种的多种其他组织和内皮细胞系统中表达。FcRn还在成人血管内皮、肌肉血管系统、和肝窦状隙毛细管中表达。认为FcRn通过结合IgG并将IgG再循环到血清中而在血浆IgG浓度的保持中发挥作用。通常，FcRn对IgG分子的结合是严格pH依赖性的。在低于7.0的酸性pH范围中观察到最佳结合。

[0671] 人FcRn的寡核苷酸和氨基酸序列可以分别源自，例如，NM_004107.4和NP_004098.1中所示的前体(含有信号序列)，(括号中显示RefSeq登录号)。

[0672] 该前体与与人β2-微球蛋白在体内形成复合物。因此，通过使用已知重组表达技术，可以制备能够与人β2-微球蛋白形成复合物的可溶性人FcRn，以适当用于各种实验系统。所述可溶性人FcRn可以用于评估抗体或Fc区变体的FcRn-结合活性。在公开内容A或B中，FcRn不特别限制，只要其是能够结合FcRn-结合结构域的形式即可；然而，优选的FcRn可以是人FcRn。

[0673] 本文所述的公开内容A和B的范围内，在抗体或Fc区变体具有FcRn-结合活性的情况下，其可以具有"FcRn-结合结构域"，优选人FcRn-结合结构域。FcRn-结合结构域不特别限制，只要抗体在酸性pH和/或在中性pH对FcRn具有结合活性或亲和力即可；或其可以是具有直接或间接结合FcRn的活性的结构域。所述结构域包括，但不限于，IgG-型免疫球蛋白的Fc区，白蛋白，白蛋白结构域3，抗-FcRn抗体，抗-FcRn肽，和抗-FcRn支架分子(其具有直接结合FcRn的活性)，和结合IgG或白蛋白的分子(其具有间接结合FcRn的活性。在公开内容A或B中，还可能使用在酸性pH范围和/或在中性pH范围具有FcRn-结合活性的结构域。如果所述结构域最初在酸性pH范围和/或在中性pH范围具有FcRn-结合活性，则它们可以在不进一步修饰的情况下使用。如果该结构域在酸性pH范围和/或在中性pH范围仅具有弱的或不具有FcRn-结合活性，抗体或Fc区变体的FcRn-结合结构域中的氨基酸残基可以被修饰以在酸性pH范围和/或在中性pH范围具有FcRn-结合活性。备选地，可以修饰最初在酸性pH范围和/或在中性pH范围具有FcRn-结合活性的结构域的氨基酸以进一步增加其FcRn-结合活性。在酸性pH范围和/或在中性pH范围中的FcRn-结合活性可以与氨基酸修饰前和后相比较，以找到对于FcRn-结合结构域而言感兴趣的氨基酸修饰。

[0674] FcRn-结合结构域可以优选是直接结合FcRn的区域。所述优选的FcRn-结合结构域包括，例如，抗体的恒定区和Fc区。然而，能够结合具有FcRn-结合活性的多肽，如白蛋白和IgG的区域，可以经由白蛋白，IgG间接结合FcRn。因此，FcRn-结合区可以是结合对白蛋白或IgG具有结合活性的多肽的区域。不受限制，为了促进从血浆去除抗原，其FcRn-结合活性在中性pH较高的FcRn-结合结构域是优选的，同时为了改善抗体在血浆中的保留，其FcRn-结

合活性在酸性pH较高的FcRn-结合结构域是优选的。例如，可以选择其FcRn-结合活性最初在中性pH或酸性pH较高的FcRn-结合结构域。备选地，可以修饰抗体或Fc区变体的氨基酸以赋予在中性pH或酸性pH下的FcRn-结合活性。备选地，可以增加预先存在的在中性pH或酸性pH下的FcRn-结合活性。

[0675] 在本文所述的公开内容A和B范围内，与修饰前的抗体或Fc区(变体)相比，抗体或Fc区(变体)的FcRn-结合活性增加，(基本上)保持，还是降低可以通过已知方法评估，如本文实施例中所述的那些，并且例如，BIACORE，Scatchard曲线和流式细胞仪(参见WO2013/046722)。在这些测定中人FcRn的胞外结构域可以用作可溶性抗原。在抗体或Fc区(变体)的FcRn-结合活性的测量中，本领域技术人员可以适当地选择条件(除了pH以外)。测定可以，例如，在MES缓冲液和37℃的条件下进行，如WO2009/125825中所述的。可以例如，通过在固定有抗体的芯片上加载FcRn作为分析物，评估抗体或Fc区(变体)的FcRn-结合活性。

[0676] 抗体或Fc区(变体)的FcRn-结合活性可以基于解离常数(KD)，表观解离常数(表观KD)，解离速率(kd)，表观解离(表观kd)评估。

[0677] 对于用于测量FcRn和包含在抗体或Fc区(变体)中的FcRn-结合结构域之间的结合活性的pH条件，可以适当使用酸性pH条件或中性pH条件。对于测量FcRn和FcRn-结合结构域之间的结合活性(结合亲和力)的温度条件，可以使用10℃至50℃之间的任意温度。为了确定FcRn和人FcRn-结合结构域之间的结合活性(结合亲和力)，可以优选使用15℃至40℃之间的温度。更优选，可以使用20℃至35℃之间的任意温度如20，21，22，23，24，25，26，27，28，29，30，31，32，33，34，和35℃中的任一个。该温度的非限制性实例可以是25℃。

[0678] 在一个实施方案中，在公开内容A或B的抗体具有FcRn-结合活性的情况下，它们可以具有FcRn-结合结构域，优选人FcRn-结合结构域。FcRn-结合结构域不特别限制，只要抗体在酸性pH和/或中性pH对FcRn具有结合活性或亲和力，并且其可以是具有直接或间接结合FcRn的活性的结构域。在一个具体实施方案中，可以优选的是，与含有天然IgG的恒定区的参照抗体相比，公开内容A或B的抗体在中性pH条件下具有例如，增加的FcRn-结合活性(参见WO2013/046722)。从比较二者的FcRn-结合活性的角度，可以优选的是，不限于，公开内容A或B的抗体和含有天然IgG的恒定区的参照抗体在除了优选，公开内容A或B的抗体的在一个或多个氨基酸残基处修饰的恒定区以外的区域(例如，可变区)具有相同的氨基酸序列。

[0679] 在一个实施方案中，在本文所述的公开内容A的范围内，在公开内容A的抗体在中性pH条件下具有增加的FcRn-结合活性的情况下，不受特定理论限制，公开内容A的抗体可以具有以下性质中的任意两个或更多个的组合：在血浆和细胞内体之间穿梭并且作为单个抗体分子通过具有离子浓度-依赖性抗原结合结构域而重复结合多个抗原的性质；通过在整个抗体中具有提高的pI和增加的正电荷而被快速摄入细胞的性质；和通过在中性pH条件下具有增加的FcRn-结合活性而被快速摄入细胞的性质。由此，血浆中的抗体半衰期可以进一步缩短，或抗体对胞外基质的结合活性可以进一步增加，或可以进一步促进抗原从血浆的去除。本领域技术人员可以确定公开内容A的抗体的最佳pI值以利用这些性质。

[0680] 本文所述的公开内容A和B的范围内，根据Yeung等人(J.Immunol.182:7663-7671(2009))，天然人IgG1结合人FcRn的活性在酸性pH范围(pH 6.0)内是KD 1.7μM，而在中性pH范围内活性几乎不可检测。因此，为了增加在中性pH范围内的FcRn-结合活性，作为公开内

容A或B的抗体，可以优选使用：其人FcRn-结合活性在酸性pH范围内是KD 20μM或更强并且其人FcRn-结合活性在中性pH范围内与天然人IgG相当或更强的抗体或恒定区变体或Fc区变体；优选其人FcRn-结合活性在酸性pH范围内是KD 2.0μM或更强并且其人FcRn-结合活性在中性pH范围内是KD40μM或更强的抗体或恒定区变体或Fc区变体；并且更优选其人FcRn-结合活性在酸性pH范围内是KD 0.5μM或更强并且其人FcRn-结合活性在中性pH范围内是KD 15μM或更强的抗体或恒定区变体或Fc区变体。KD值通过Yeung等人(J.Immunol.182:7663-7671(2009)中所述的方法确定(通过将抗体固定在芯片上并且加载人FcRn作为分析物))。

[0681] 本文所述的公开内容A和B的范围内，结合FcRn的任意结构的结构域可以用作FcRn-结合结构域。在该情况下，可以产生FcRn-结合结构域而不需要引入氨基酸修饰，或对FcRn的亲和力可以通过引入另外的修饰增加。

[0682] 本文所述的公开内容A和B的范围内，起始FcRn-结合结构域可以包括例如，(人)IgG的Fc区或恒定区。只要起始Fc区或起始恒定区的变体能够在酸性pH范围内和/或在中性pH范围内结合FcRn，则任意Fc区或恒定区可以用作起始Fc区或起始恒定区。或，通过进一步修饰起始Fc区或起始恒定区获得的Fc区或恒定区(其氨基酸残基已经从Fc区或恒定区进行修饰)也可以适当地用作Fc区或恒定区。起始Fc区或起始恒定区可以包括已知通过重组产生的Fc区。起始Fc区或起始恒定区可以指多肽本身，含有起始Fc区或起始恒定区的组合物，或编码起始Fc区或起始恒定区的氨基酸序列，这取决于上下文。起始Fc区或起始恒定区的来源不受限，并且其可以获自非人动物或人的任意生物。此外，起始FcRn-结合结构域可以获自食蟹猴，绒，猕猴，黑猩猩和人。起始Fc区或起始恒定区可以获自人IgG1，但不限于任何特定IgG类型。这意为，人IgG1，IgG2，IgG3，或IgG4的Fc区可以用作适当的起始FcRn-结合结构域，并且源自任意生物的IgG类型或亚类的Fc区或恒定区可以用作起始Fc区或作为起始恒定区。天然IgG变体或修饰的形式的实例在，例如，Strohl，Curr.Opin.Biotechnol.20(6):685-691(2009)；Presta，Curr.Opin.Immunol.20(4):460-470(2008)；Davis等人，Protein Eng.Des.Sel.23(4):195-202(2010)，WO2009/086320，WO2008/092117；WO2007/041635；和WO2006/105338)中描述。

[0683] 本文所述的公开内容A和B的范围内，起始FcRn-结合结构域，起始Fc区，或起始恒定区的氨基酸残基可以含有，例如，一种或多种突变：例如，利用与起始Fc区或起始恒定区中的氨基酸残基不同的氨基酸残基的置换突变；将一个或多个氨基酸残基插入起始Fc区或起始恒定区中的氨基酸残基中；或从起始Fc区或起始恒定区的氨基酸残基中缺失一个或多个氨基酸残基。修饰后Fc区或恒定区的氨基酸序列可以优选是含有不天然存在的Fc区或恒定区的至少一部分的氨基酸序列。所述变体必需与起始Fc区或起始恒定区具有小于100％的序列同一性或相似性。例如，所述变体与起始Fc区或起始恒定区的氨基酸序列具有约75％至小于100％，更优选约80％至小于100％，甚至更优选约85％至小于100％，还更优选约90％至小于100％，并且另外更优选约95％至小于100％的氨基酸序列同一性或相似性。在非限制性实例中，至少一个氨基酸在公开内容A或B的修饰的Fc区或恒定区和起始Fc区或起始恒定区之间不同。

[0684] 本文所述的公开内容A和B的范围内，在酸性pH范围内和/或在中性pH范围内具有FcRn-结合活性的Fc区或恒定区可以通过任意方法获得。具体而言，在酸性pH范围内和/或在中性pH范围内具有FcRn-结合活性的Fc区或恒定区的变体可以通过修饰可以用作起始Fc

区或起始恒定区的人IgG-型抗体的氨基酸获得。适于修饰的IgG-型抗体Fc区或恒定区包括，例如，人IgG(IgG1，IgG2，IgG3，和IgG4，和其变体)的Fc区或恒定区，和自发从其产生的突变体也包括在IgG Fc区或恒定区中。对于人IgG1，人IgG2，人IgG3，和人IgG4抗体的Fc区或恒定区，由于遗传多态性造成的很多同种异型序列在"Sequences of proteins of immunological interest"，NIH出版No.91-3242中描述，并且它们中的任一种可以用于公开内容A或B。尤其是，对于人IgG1序列，根据EU编号位置356至358的氨基酸序列可以是DEL或EEM。

[0685] 在公开内容A或B的一个实施方案中，修饰为其他氨基酸不特别限制，只要得到的变体在酸性pH范围内和/或在中性pH范围内，并且优选在中性pH范围内具有FcRn-结合活性即可。修饰氨基酸以增加在中性pH条件下的FcRn-结合活性的位点，例如，在WO2013/046722中描述。所述修饰位点包括，例如，选自由以下组成的组的一个或多个位置：人IgG抗体的Fc区或恒定区中的位置221至225，227，228，230，232，233至241，243至252，254至260，262至272，274，276，278至289，291至312，315至320，324，325，327至339，341，343，345，360，362，370，375至378，380，382，385至387，389，396，414，416，423，424，426至438，440，和442(根据EU编号)，如WO2013/046722中所述的。WO2013/046722还描述了，作为Fc区或恒定区中的优选的修饰的一部分，例如，选自由以下组成的组的一个或多个氨基酸的修饰：位置256的氨基酸修饰为Pro，位置280的氨基酸修饰为Lys，位置339的氨基酸修饰为Thr，位置385的氨基酸修饰为His，位置428的氨基酸修饰为Leu，和位置434的氨基酸修饰为Trp，Tyr，Phe，Ala，或His(根据EU编号)。要被修饰的氨基酸的数量不特别限制，并且修饰可以在单个位置单独地或在两个或更多个位置进行。这些氨基酸残基的修饰可以增强IgG-型抗体的Fc区或恒定区在中性pH条件下的FcRn结合。这些氨基酸残基的修饰还可以适当地引入公开内容A或B的抗体中。

[0686] 在进一步或备选实施方案中，还可能使用适当的氨基酸修饰位点用于增加在酸性pH条件下的FcRn-结合活性。在这样的修饰位点中，允许FcRn结合的增加的一个或多个修饰位点在中性pH范围内也可适当用于公开内容A或B。所述修饰位点包括，例如，WO2011/122011，WO2013/046722，WO2013/046704，和WO2013/046722中报道的那些。允许人IgG-型抗体的恒定区或Fc区的所述修饰的氨基酸位点和修饰后的氨基酸类型在WO2013/046722的表1中报道。WO2013/046722还描述了，特别优选的，恒定区或Fc区中的修饰位点，例如，选自由以下组成的组的一个或多个氨基酸位置的位点：位置237，238，239，248，250，252，254，255，256，257，258，265，270，286，289，297，298，303，305，307，308，309，311，312，314，315，317，325，332，334，360，376，380，382，384，385，386，387，389，424，428，433，434，和436(根据EU编号)。这些氨基酸残基位置的修饰还可以增强FcRn-结合结构域在中性pH范围内的人FcRn结合。WO2013/046722还描述了，作为IgG-型恒定区或Fc区中的优选的修饰的一部分，例如，选自由以下组成的组的一个或多个氨基酸残基的修饰：(a)位置237处的氨基酸修饰为Met；(b)位置238处的氨基酸修饰为Ala；(c)位置239处的氨基酸修饰为Lys；(d)位置248处的氨基酸修饰为Ile；(e)位置250处的氨基酸修饰为Ala，Phe，Ile，Met，Gln，Ser，Val，Trp，和Tyr中的任一个；(f)位置252处的氨基酸修饰为Phe，Trp，和Tyr中的任一个；(g)位置254处的氨基酸修饰为Thr；(h)位置255处的氨基酸修饰为Glu；(i)位置256处的氨基酸修饰为Asp，Glu，和Gln中的任一个；(j)位置257处的氨基酸修饰为Ala，Gly，Ile，Leu，Met，Asn，Ser，

Thr,和Val中的任一个;(k)位置258处的氨基酸修饰为His;(l)位置265处的氨基酸修饰为Ala;(m)位置270处的氨基酸修饰为Phe;(n)位置286处的氨基酸修饰为Ala或Glu;(o)位置289处的氨基酸修饰为His;(p)位置297处的氨基酸修饰为Ala;(q)位置298处的氨基酸修饰为Gly;(r)位置303处的氨基酸修饰为Ala;(s)位置305处的氨基酸修饰为Ala;(t)位置307处的氨基酸修饰为Ala,Asp,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Met,Asn,Pro,Gln,Arg,Ser,Val,Trp,和Tyr中的任一个;(u)位置308处的氨基酸修饰为Ala,Phe,Ile,Leu,Met,Pro,Gln,和Thr中的任一个;(v)位置309处的氨基酸修饰为Ala,Asp,Glu,Pro,和Arg中的任一个;(w)位置311处的氨基酸修饰为Ala,His,和Ile中的任一个;(x)位置312处的氨基酸修饰为Ala或His;(y)位置314处的氨基酸修饰为Lys或Arg;(z)位置315处的氨基酸修饰为Ala或His;(aa)位置317处的氨基酸修饰为Ala;(ab)位置325处的氨基酸修饰为Gly;(ac)位置332处的氨基酸修饰为Val;(ad)位置334处的氨基酸修饰为Leu;(ae)位置360处的氨基酸修饰为His;(af)位置376处的氨基酸修饰为Ala;(ag)位置380处的氨基酸修饰为Ala;(ah)位置382处的氨基酸修饰为Ala;(ai)位置384处的氨基酸修饰为Ala;(aj)位置385处的氨基酸修饰为Asp或His;(ak)位置386处的氨基酸修饰为Pro;(al)位置387处的氨基酸修饰为Glu;(am)位置389处的氨基酸修饰为Ala或Ser;(an)位置424处的氨基酸修饰为Ala;(ao)位置428处的氨基酸修饰为Ala,Asp,Phe,Gly,His,Ile,Lys,Leu,Asn,Pro,Gln,Ser,Thr,Val,Trp,和Tyr中的任一个;(ap)位置433处的氨基酸修饰为Lys;(aq)位置434处的氨基酸修饰为Ala,Phe,His,Ser,Trp,和Tyr;和(ar)位置436处的氨基酸修饰为His(根据EU编号)。要被修饰的氨基酸数量不特别限制,并且修饰可以在单个位置单独地或在两个或更多个位置进行。在两个或更多个位置的氨基酸修饰的组合包括,例如,WO2013/046722的表2中所示的那些。这些氨基酸残基的修饰还可以适当引入公开内容A和B的抗体中。

[0687] 在一个实施方案中,当与含有天然IgG的Fc区或恒定区的参照抗体或含有起始Fc区或起始恒定区的参照抗体比较时,公开内容A或B的抗体的FcRn-结合结构域的FcRn-结合活性增加。即,公开内容A或B的Fc区变体或恒定区变体,或含有所述变体的抗体的FcRn-结合活性大于参照抗体的结合活性)。这可以意为,当与参照抗体的FcRn-结合活性比较时,公开内容A或B的抗体的FcRn-结合活性可以是,例如:55%或更高,60%或更高,65%或更高,70%或更高,75%或更高,80%或更高,85%或更高,90%或更高,95%或更高,100%或更高,105%或更高,优选110%或更高,115%或更高,120%或更高,125%或更高,更优选130%或更高,135%或更高,140%或更高,145%或更高,150%或更高,155%或更高,160%或更高,165%或更高,170%或更高,175%或更高,180%或更高,185%或更高,190%或更高,195%或更高,2-倍或更高,2.5-倍或更高,3-倍或更高,3.5-倍或更高,4-倍或更高,4.5-倍或更高,或5-倍或更高。

[0688] 在一个实施方案中,公开内容A或B的抗体中要修饰的氨基酸序列可以优选含有人序列(天然人源的抗体中存在的序列),从而当将抗体体内施用(优选,入人体)时不增加抗体的免疫原性。备选地,修饰后,突变可以以这样的方式引入到氨基酸修饰位点之外的位置:FRs(FR1,FR2,FR3,和FR4)中的一个或多个用人序列置换。用人序列置换一个或多个FR的方法在本领域中是已知,并且包括,但不限于Ono等人,Mol.Immunol.36(6):387-395(1999)中报道的那些。人源化方法是本领域中已知的并且包括,但不限于Methods 36(1):43-60(2005)中报道的那些。

[0689] 在一个实施方案中，公开内容A或B的抗体的重链和/或轻链可变区的框架区序列(也称为"FR序列")可以含有人种系框架区序列。当框架区序列完全是人种系序列时，当施用于人(例如，治疗或预防某疾病)时预期抗体引起很少的或不引起免疫原性反应。

[0690] FR序列优选可以包括，例如，完全人FR序列如V-Base(vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/)中所示的那些。这些FR序列可以适当用于公开内容A或B。种系序列可以基于其相似性归类(Tomlinson等人(J.Mol.Biol.227:776-798(1992)；Williams等人(Eur.J.Immunol.23:1456-1461(1993)；和Cox等人(Nat.Genetics 7:162-168(1994))。优选的种系序列可以适当选自：Vκ，其归类为七个业组；Vλ，其归类为十个亚组；和VH，其归类为七个亚组。

[0691] 完全人VH序列可以优选包括，例如，以下的VH序列：亚组VH1(例如，VH1-2，VH1-3，VH1-8，VH1-18，VH1-24，VH1-45，VH1-46，VH1-58，和VH1-69)；亚组VH2(例如，VH2-5，VH2-26，和VH2-70)；亚组VH3(VH3-7，VH3-9，VH3-11，VH3-13，VH3-15，VH3-16，VH3-20，VH3-21，VH3-23，VH3-30，VH3-33，VH3-35，VH3-38，VH3-43，VH3-48，VH3-49，VH3-53，VH3-64，VH3-66，VH3-72，VH3-73，和VH3-74)；亚组VH4(VH4-4，VH4-28，VH4-31，VH4-34，VH4-39，VH4-59，和VH4-61)；亚组VH5(VH5-51)；亚组VH6(VH6-1)；或亚组VH7(VH7-4和VH7-81)。这些还在例如，Matsuda等人(J.Exp.Med.188:1973-1975(1998))中描述，并且本领域技术人员可以适当基于这些序列的信息设计。还可以优选使用其他完全人FR序列或与其相当的区域的序列。

[0692] 完全人Vκ序列可以优选包括，例如：A20，A30，L1，L4，L5，L8，L9，L11，L12，L14，L15，L18，L19，L22，L23，L24，O2，O4，O8，O12，O14，或O18，其归类为亚组Vk1；A1，A2，A3，A5，A7，A17，A18，A19，A23，O1，和O11，其归类为亚组Vk2；A11，A27，L2，L6，L10，L16，L20，和L25，其归类为亚组Vk3；B3，归类为亚组Vk4；B2(也称为"Vk5-2")，归类为亚组Vk5；或A10，A14，和A26，其归类为亚组Vk6(Kawasaki等人(Eur.J.Immunol.31:1017-1028(2001))；(Hoppe Seyler Biol.Chem.374:1001-1022(1993))；Brensing-Kuppers等人(Gene 191:173-181(1997))。

[0693] 完全人Vλ序列可以优选包括，例如：V1-2，V1-3，V1-4，V1-5，V1-7，V1-9，V1-11，V1-13，V1-16，V1-17，V1-18，V1-19，V1-20，和V1-22，其归类为亚组VL1；V2-1，V2-6，V2-7，V2-8，V2-11，V2-13，V2-14，V2-15，V2-17，和V2-19，其归类为亚组VL2；V3-2，V3-3，和V3-4，其归类为亚组VL3；V4-1，V4-2，V4-3，V4-4，和V4-6，其归类为亚组VL4；或V5-1，V5-2，V5-4，和V5-6，其归类为亚组VL5(Kawasaki等人Genome Res.7:250-261(1997))。

[0694] 通常，这些FR序列彼此在一个或多个氨基酸残基处有不同。这些FR序列可以用于修饰抗体氨基酸残基。可以用于修饰的完全人FR序列还包括，例如，KOL，NEWM，REI，EU，TUR，TEI，LAY，和POM(参见，例如，前述Kabat等人(1991)；Wu等人(J.Exp.Med.132:211-250(1970))。

[0695] 在本文所述的公开内容A和B范围内，"柔性残基"可以指显示高的氨基酸多样性的位置(在此处，当与已知和/或天然抗体或抗原结合结构域的氨基酸序列比较时，轻链或重链可变区具有多个不同氨基酸)处存在的氨基酸残基改变。显示高多样性的位置通常位于CDR中。Kabat提供的数据，Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institute of Health Bethesda Md.)(1987和1991)，可以有效确定已知和/或天然抗体中具有高多样性的位置。此外，网络上多个数据库(vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/，bioinf.org.uk/abs/index.html)提供许多人轻链和重链序列和它们的位置的集合。这些

序列和位置信息用于确定柔性残基的位置。不受限制，例如，当特定位置处的氨基酸残基具有，优选，2至20，3至19，4至18，5至17，6至16，7至15，8至14，9至13，或10至12个氨基酸残基的变化性时，可以将该位置判断为显示(高的)多样性。

[0696] 在一个实施方案中，可以理解，如果需要，在公开内容A或B的抗体含有轻链可变区和/或重链可变区的全部或一部分时，抗体可以含有一个或多个适当的柔性残基。例如，选择具有FR序列(其最初含有根据离子浓度(氢离子浓度或钙离子浓度)条件改变抗体的抗原结合活性的氨基酸残基)的重链和/或轻链可变区序列可以设计为含有，除了这些氨基酸残基之外的氨基酸残基。在该情况下，例如，柔性残基的数量和位置还可以在不限于具体实施方案的情况下确定，只要公开内容A或B的抗体的抗原结合活性根据离子浓度条件而改变即可。具体而言，重链和/或轻链的CDR序列和/或FR序列可以含有至少一个柔性残基。例如，在离子浓度是钙离子浓度的情况下，可以引入轻链可变区序列(前述Vk5-2)的柔性残基包括，但不限于，表1或表2中所示的一个或多个氨基酸残基位置。同样，适当的柔性残基可以引入，例如，含有轻链可变区和/或重链可变区的整个或一部分的离子浓度-依赖性抗体或没有离子浓度依赖性的抗体，其中可以暴露在抗体表面的至少一个氨基酸残基被修饰以便提高pI。

[0697] [表1]

[0698]

CDR	Kabat 编号	占总共的 70%的氨基酸				
CDR1	28	S:100%				
	29	I:100%				
	30	E:72%	N:14%	S:14%		
	31	D:100%				
	32	D:100%				
	33	L:100%				
	34	A:70%	N:30%			
CDR2	50	E:100%				
	51	A:100%				
	52	S:100%				
	53	H:5%	N:25%	S:45%	T:25%	
	54	L:100%				
	55	Q:100%				
	56	S:100%				
CDR3	90	Q:100%				
	91	H:25%	S:15%	R:15%	Y:45%	
	92	D:80%	N:10%	S:10%		
	93	D:5%	G:10%	N:25%	S:50%	R:10%
	94	S:50%	Y:50%			
	95	P:100%				
	96	L:50%	Y:50%			

[0699] (位置根据Kabat编号显示。)

[0700] [表2]

[0701]

CDR	Kabat 编号	占总共的 30%的氨基酸				
CDR1	28	S:100%				
	29	I:100%				
	30	E:83%	S:17%			
	31	D:100%				
	32	D:100%				
	33	L:100%				
	34	A:70%	N:30%			
CDR2	50	H:100%				
	51	A:100%				
	52	S:100%				
	53	H:5%	N:25%	S:45%	T:25%	
	54	L:100%				
	55	Q:100%				
	56	S:100%				
CDR3	90	Q:100%				
	91	H:25%	S:15%	R:15%	Y:45%	
	92	D:80%	N:10%	S:10%		
	93	D:5%	G:10%	N:25%	S:50%	R:10%
	94	S:50%	Y:50%			
	95	P:100%				
	96	L:50%	Y:50%			

[0702] (位置根据Kabat编号显示。)

[0703] 在一个实施方案中,在人源化嵌合抗体时,嵌合抗体的pI通过修饰可能暴露在抗体表面的一个或多个氨基酸残基增加,从而产生与缺少此种修饰的嵌合抗体相比、公开内容A或B的具有缩短的血浆半衰期的人源化的抗体。可能暴露在人源化抗体表面的氨基酸残基的修饰可以在人源化抗体之前或同时进行。备选地,通过使用人源化抗体作为起始材料,可以修饰可能暴露在表面上的氨基酸残基以进一步改变人源化抗体的pI。

[0704] Adams等人(Cancer Immunol.Immunother.55(6):717-727(2006))报道了,人源化抗体,曲妥珠单抗(trastuzumab)(抗原:HER2),贝伐单抗(bevacizumab)(抗原:VEGF),和帕妥珠单抗(pertuzumab)(抗原:HER2),它们使用相同的人抗体FR序列人源化,在血浆药代动力学方面几乎相当。具体而言,可以理解,在使用相同FR序列进行人源化时,血浆药代动力学几乎是相当的。根据公开内容A的一个实施方案,除了人源化步骤之外,血浆中的抗原浓度通过修饰可能暴露在抗体表面上的氨基酸残基,提高抗体的pI来降低。在公开内容A或B的备选实施方案中,可以使用人抗体。通过修饰可以暴露在人抗体(从人抗体文库,产生人抗体的小鼠,重组细胞等产生)的表面上的氨基酸残基,并且增加人抗体的pI,最初产生的人抗体从血浆中去除抗原的能力可以增加。

[0705] 在一个实施方案中,公开内容A的抗体可以含有修饰的糖链。具有修饰的糖链的抗

体包括，例如，具有修饰的糖基化的抗体(WO99/54342)，缺乏岩藻糖的抗体(WO00/61739；WO02/31140，WO2006/067847；WO2006/067913)，和具有二等分GlcNAc糖链的抗体(WO02/79255)。

[0706] 在一个实施方案中，公开内容A或B的抗体可以用于，例如，展现增加的针对癌细胞的抗肿瘤活性的技术或促进从血浆中去除对生物有害的抗原的技术。

[0707] 在一个备选实施方案中，公开内容A或B涉及具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗原结合结构域或具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体的文库，如上文所述的。

[0708] 在一个备选实施方案中，公开内容A或B涉及编码上述具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗原结合结构域或具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体的核酸(寡核苷酸)。在一个具体实施方案中，核酸可以使用适当的已知方法获得。对于具体实施方案，可以参考例如，WO2009/125825，WO2012/073992，WO2011/122011，WO2013/046722，WO2013/046704，WO2000/042072，WO2006/019447，WO2012/115241，WO2013/047752，WO2013/125667，WO2014/030728，WO2014/163101，WO2013/081143，WO2007/114319，WO2009/041643，WO2014/145159，WO2012/016227，和WO2012/093704，这些中的每个以其整体通过参考结合于本文。

[0709] 在一个实施方案中，公开内容A或B的核酸可以是分离的或纯化的核酸。编码公开内容A或B的抗体的核酸可以是任何基因，并且可以是DNA或RNA，或其他核酸类似物。

[0710] 在本文所述的公开内容A和B内，在将抗体的氨基酸修饰后，修饰前的抗体的氨基酸序列可以是已知序列或新获得的抗体的氨基酸序列。例如，抗体可以获自抗体文库，或通过从产生单克隆抗体的杂交瘤或B细胞克隆编码抗体的核酸获得。从杂交瘤获得编码抗体的核酸的方法可以使用以下技术：通过常规免疫方法使用研究的抗原或表达研究的抗原的细胞作为致敏抗原进行免疫；将得到的免疫细胞与已知的亲本细胞通过常规细胞融合方法融合；通过常规筛选方法筛选产生单克隆抗体的细胞(杂交瘤)；使用反转录酶从获得的杂交瘤的mRNA合成抗体的可变区(V区)的cDNA；并且将cDNA与编码目标抗体恒定区(C区)的DNA连接。

[0711] 用于获得编码上述重链和轻链的核酸的致敏抗原包括，但不限于，具有免疫原性的完整抗原和不完整抗原(包括不显示免疫原性的半抗原)。例如，可能使用研究的整个蛋白或所述蛋白的部分肽。此外，由多糖、核酸、脂质和其他组合物构成的物质已知是可能的抗原。因此，在一些实施方案中，公开内容A或B的抗体的抗原不特别限制。抗原可以通过例如，基于杆状病毒的方法(参见，例如，WO98/46777)制备。杂交瘤可以，例如，根据G.Kohler和C.Milstein，Methods Enzymol.73:3-46(1981))的方法制备。当抗原的免疫原性低时，免疫可以通过将抗原与具有免疫原性的大分子，如白蛋白连接来进行。备选地，如果需要，可溶性抗原可以通过将抗原与其他分子连接来制备。当跨膜分子如膜抗原(例如，受体)用作抗原时，膜抗原的胞外区的部分可以用作片段，或在其表面表达跨膜分子的细胞可以用作免疫原。

[0712] 在一些实施方案中，产生抗体的细胞可以通过用适当的上述致敏抗原免疫动物获得。备选地，产生抗体的细胞可以通过能够产生抗体的淋巴细胞的体外免疫制备。各种动物可以用于免疫和其他常规抗体产生步骤。常使用的动物包括啮齿类动物、兔类动物和灵长类动物。动物可以包括，例如，啮齿类如小鼠，大鼠和仓鼠；兔类如兔；和灵长类(包括猴如食蟹猴，猕猴，狒狒，和黑猩猩。此外，携带人抗体基因组库(repertoire)的转基因动物也是已

知的，并且这些动物可以用于获得人抗体(参见，例如，WO96/34096；Mendez等人，Nat.Genet.15:146-156(1997)；WO93/12227，WO92/03918，WO94/02602，WO96/34096，和WO96/33735)。替代使用所述转基因动物，还可能通过例如，用所需抗原或表达所需抗原的细胞体外致敏人淋巴细胞并且随后将致敏的淋巴细胞与人骨髓瘤细胞如U266融合，获得具有抗原结合活性的所需人抗体(JP Pat.Publ.No.H01-59878)。

[0713] 动物免疫可以，例如，通过在磷酸盐缓冲盐水(PBS)，生理盐水等中适当稀释和悬浮致敏抗原，和将其与佐剂混合以乳化(如果需要)；并且随后将其腹膜内或皮下注射给动物来进行。然后，与弗氏不完全佐剂混合的致敏抗原可以优选每四到21天施用数次。抗体产生可以，例如，通过测量目标抗体在动物血清中的滴度来确认。

[0714] 获自淋巴细胞或用所需抗原免疫的动物的产生抗体的细胞可以使用常规融合剂(例如，聚乙二醇)与骨髓瘤细胞融合，产生杂交瘤(Goding，Monoclonal Antibodies：Principles and Practice，Academic Press，1986，59-103)。如果需要，培养和扩增杂交瘤，并且由杂交瘤产生的抗体的结合特异性通过例如，免疫沉淀、放射性免疫测定(RIA)或酶联免疫吸附测定(ELISA)评估。然后，如果需要，产生抗体的杂交瘤(其有关特异性、亲和力或活性已经确定)也可以通过如有限稀释的方法亚克隆。

[0715] 编码选择的抗体的核酸可以使用可以特异结合抗体的探针(例如，与编码抗体恒定区的序列互补的寡核苷酸)从杂交瘤或产生抗体的细胞(致敏的淋巴细胞等)克隆。备选地，核酸可以使用RT-PCR从mRNA克隆。用于产生公开内容A或B的抗体的重链和轻链可以源自，例如属于Ig抗体类型和亚类的任一种的抗体，并且IgG可以是优选的。

[0716] 在一个实施方案中，编码构成公开内容A或B的抗体的重链(整体或其部分)和/或轻链(整体或其部分)的氨基酸序列的核酸，例如，通过遗传改造技术修饰。具有人工序列修饰以，例如，降低对人的异源抗原性的重组抗体，如嵌合抗体或人源化抗体，可以适当通过，例如，修饰编码与抗体如小鼠抗体，大鼠抗体，兔抗体，仓鼠抗体，绵羊抗体，或骆驼抗体的成分相关的氨基酸序列的核苷酸残基产生。嵌合抗体可以，例如，通过将编码鼠源抗体可变区的DNA与编码人抗体恒定区的DNA连接并且将连接的DNA编码序列整合入表达载体，然后将得到的重组载体引入宿主以表达所述基因而获得。人源化抗体，也称为重塑人抗体，是其中人抗体的一个或多个FR与分离自非人哺乳动物，如小鼠的抗体的一个或多个CDR框架连接，形成编码序列的抗体。编码所述人源化抗体的DNA序列可以使用多个寡核苷酸作为模板通过重叠延伸PCR合成。重叠延伸PCR的材料和实验方法在WO98/13388等中描述。例如，编码例如，公开内容A或B的抗体可变区的氨基酸序列的DNA可以通过重叠延伸PCR，使用多个设计具有重叠核苷酸序列的寡核苷酸获得。重叠DNA随后与编码恒定区的DNA符合读框地(in frame)连接，形成编码序列。如上文所述连接的DNA可以随后插入表达载体，从而可以表达DNA，并且得到的载体可以引入宿主或宿主细胞。DNA编码的抗体可以通过培养宿主或或培养宿主细胞表达。表达的抗体可以从宿主等的培养基中适当纯化(EP239400；WO96/02576)。此外，可以选择人源化抗体的经由一个或多个CDR连接的一个或多个FR，例如，来允许CDR形成适于抗原的抗原结合位点。如果需要，构成选择的抗体可变区的一个或多个FR的氨基酸残基，例如，可以用适当的置换修饰。

[0717] 在一个实施方案中，为了表达公开内容A或B或其片段的抗体，可以将核酸盒克隆入适当的载体。为此，多种类型的载体，如噬菌粒载体是可用的。通常，噬菌粒载体可以含有

多种元件,包括调节序列如启动子或信号序列,表型选择基因,复制起点和其他必要元件。

[0718] 在本领域中已经建立了用于将所需氨基酸修饰引入抗体的方法。例如,文库可以通过引入可能暴露在公开内容A或B的抗体的表面的至少一个修饰的氨基酸残基和/或可以根据离子浓度条件而改变抗体的抗原结合活性的至少一个氨基酸构建。此外,如果需要,柔性残基可以使用Kunkel等人(Methods Enzymol.154:367-382(1987))的方法添加。

[0719] 在一个备选实施方案中,公开内容A涉及含有编码上述具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗原结合结构域或上述具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体的核酸的载体。在一个具体实施方案中,载体可以通过,例如,WO2009/125825,WO2012/073992,WO2011/122011,WO2013/046722,WO2013/046704,WO2000/042072,WO2006/019447,WO2012/115241,WO2013/047752,WO2013/125667,WO2014/030728,WO2014/163101,WO2013/081143,WO2007/114319,WO2009/041643,WO2014/145159,WO2012/016227,或WO2012/093704中所述的载体获得,其各自通过参考以其整体结合于本文。

[0720] 在一个实施方案中,编码公开内容A或B的实施方案的核酸可以可操作地克隆入(插入)适当的载体并且引入宿主细胞中。例如,当大肠杆菌用作宿主时,载体包括克隆载体,pBluescript载体(Stratagene)或任意各种其他可商购载体。

[0721] 在一个实施方案中,表达载体用作含有公开内容A或B的核酸的载体。表达载体可以用于允许多肽体外,在大肠杆菌中,在培养细胞中,或体内表达。例如,可能使用pBEST载体(Promega)用于体外表达;pET载体(Invitrogen)用于大肠杆菌表达;pME18S-FL3载体(GenBank登录号AB009864)用于培养细胞表达;和pME18S载体(Takebe等人,Mol.Cell Biol.8:466-472(1988))用于体内表达。可以通过常规方法,例如,通过连接酶反应,使用限制性酶位点将DNA插入载体(参见,Current protocols in Molecular Biology edit.Ausubel等人(1987)Publish.John Wiley&Sons.Section 11.4-11.11)。

[0722] 在一个备选实施方案中,公开内容A涉及包含载体的宿主或宿主细胞,所述载体含有编码上述具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗原结合结构域或上述具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体的核酸。在一个具体实施方案中,宿主或宿主细胞可以通过,例如,WO2009/125825,WO2012/073992,WO2011/122011,WO2013/046722,WO2013/046704,WO2000/042072,WO2006/019447,WO2012/115241,WO2013/047752,WO2013/125667,WO2014/030728,WO2014/163101,WO2013/081143,WO2007/114319,WO2009/041643,WO2014/145159,WO2012/016227,或WO2012/093704中所述的方法制备,其各自通过参考以其整体结合于本文。

[0723] 公开内容A或B的宿主细胞的类型不特别限制,并且宿主细胞包括,例如,细菌细胞如大肠杆菌,以及各种动物细胞。宿主细胞可以适当用作生产系统,用于产生和表达抗体。可以使用真核和原核细胞二者。

[0724] 用作宿主细胞的真核细胞包括,例如,动物细胞,植物细胞,和真菌细胞。动物细胞的实例包括哺乳动物细胞,例如,CHO(Puck等人,J.Exp.Med.108:945-956(1995)),COS,HEK293,3T3,骨髓瘤,BHK(幼仓鼠肾),HeLa,和Vero;两栖动物细胞,例如,非洲爪蟾卵母细胞(Valle等人,Nature 291:338-340(1981));和昆虫细胞,例如,Sf9,Sf21,和Tn5。可以例如,使用磷酸钙方法,DEAE-葡聚糖方法,使用阳离子脂质体DOTAP(Boehringer-Mannheim)的方法,电穿孔,和脂转染将重组载体等引入宿主细胞。

[0725] 已知用作蛋白生产系统的植物细胞包括,例如,烟草-衍生的细胞和浮萍(Lemna

minor)-衍生的细胞。可以从这些细胞培养愈伤组织,产生公开内容A或B的抗体。基于真菌细胞的蛋白生产系统包括使用酵母细胞的那些,例如,酵母属的细胞如酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)和栗酒裂殖酵母(Schizosaccharomyces pombe);和丝状真菌的细胞,例如,曲霉属如黑曲霉(Aspergillus niger)。当使用原核细胞时,可以使用基于细菌细胞的生产系统。基于细菌细胞的生产系统包括,例如,使用枯草杆菌(Bacillus subtilis)以及大肠杆菌的那些。

[0726] 为了使用宿主细胞生产公开内容A或B的抗体,将宿主细胞用含有编码公开内容A或B的抗体的核酸的表达载体转化并培养以表达核酸。例如,当动物细胞用作宿主时,培养基可以包括,例如,DMEM,MEM,RPMI1640,和IMDM,其可以适当与血清补充物如FBS或胎牛血清(FCS)组合使用。备选地,细胞可以无血清培养。

[0727] 另一方面,动物或植物可以用于体内生产系统来生产公开内容A或B的抗体,例如,可以将编码公开内容A或B的抗体的一种或多种核酸引入所述动物或植物,体内产生抗体,并且可以随后从动物或植物收集抗体。

[0728] 当动物用作宿主时,使用哺乳动物或昆虫的生产系统是可用的。优选的哺乳动物包括,但不限于,山羊,猪,绵羊,小鼠,和牛(Vicki Glaser,SPECTRUM Biotechnology Applications(1993))。也可以使用转基因动物。

[0729] 在一个实例中,制备编码公开内容A或B的抗体的核酸作为与编码特异包括在乳汁中的多肽,如山羊β-酪蛋白的基因的融合基因。然后,将山羊胚胎用含有融合基因的寡核苷酸片段注射并移植入雌性山羊。目标抗体可以从由转基因山羊(其由接受胚胎的山羊生出)或其后代产生的乳汁获得。可以将激素适当施用给转基因山羊以增加山羊产生的含有抗体的乳汁的量(Ebert等人,Bio/Technology 12:699-702(1994))。

[0730] 用于产生公开内容A或B的抗体的昆虫包括,例如,蚕。当使用蚕时,其病毒基因组中插入有编码目标抗体的寡核苷酸的杆状病毒用于感染蚕。目标抗体可以获自研究的蚕的体液(Susumu等人,Nature 315:592-594(1985))。

[0731] 当植物用于产生公开内容A或B的抗体时,可以使用烟草。当使用烟草时,由于将编码目标抗体的寡核苷酸插入植物表达载体,例如,pMON530得到的重组载体可以引入细菌如根癌土壤杆菌(Agrobacterium tumefaciens)。可以将得到的细菌用于感染烟草,例如,烟草(Nicotiana tabacum)(Ma等人,Eur.J.Immunol.24:131-138(1994))并且从感染的烟草的叶获得所需抗体。所述修饰的细菌也可以用于感染浮萍(Lemna minor),并且从感染的浮萍的克隆的细胞获得所需抗体(Cox等人,Nat.Biotechnol.24(12):1591-1597(2006))。

[0732] 为了将在宿主细胞中表达的抗体分泌到内质网的管腔,到周质空间或到胞外环境,适当的分泌信号可以整合入研究的多肽中。所述信号可以是目标抗体内源的或可以是本领域中已知的外源信号。

[0733] 如上文所述生产的公开内容A或B的抗体可以分离自宿主细胞或宿主的内部或外部(如培养基和乳汁),并且纯化为基本上纯的和匀质的抗体。抗体可以,例如,通过适当选择和组合色谱柱,过滤,超滤,盐析,溶剂沉淀,溶剂萃取,蒸馏,免疫沉淀,SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,等电聚焦,透析,重结晶等适当分离和纯化。色谱包括,例如,亲和色谱,离子交换色谱,疏水色谱,凝胶过滤色谱,反相色谱,和吸附色谱。所述色谱可以例如,通过使用液相色谱如HPLC和FPLC进行。用于亲和色谱的柱可以是蛋白A柱或蛋白G柱。蛋白A柱包括,例如,

Hyper D,POROS,Sepharose F.F.(Pharmacia)。

[0734] 如果需要,可以修饰抗体或肽可以在抗体纯化前或后用适当的蛋白修饰酶处理抗体而部分缺失。对于此种蛋白修饰酶,例如,可以使用胰蛋白酶,胰凝乳蛋白酶,赖氨酰肽链内切酶,蛋白激酶和葡糖苷酶。

[0735] 在一个备选实施方案中,公开内容A涉及产生含有其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变的抗原结合结构域的抗体的方法,所述方法可以包括培养宿主细胞或养育宿主并从这些细胞的培养物,从宿主分泌的物质,或通过本领域已知其他方式收集抗体。

[0736] 在一个实施方案中,公开内容A涉及生产方法,其包括选自由以下组成的组的一个或多个步骤:(a)选择能够促进从血浆去除抗原的抗体;(b)选择具有增强的对胞外基质的结合活性的抗体;(c)选择在中性pH条件下具有增强的FcγR-结合活性的抗体;(d)选择在中性pH条件下具有增强的FcγRIIb-结合活性的抗体;(e)选择具有保持的或增强的FcγRIIb-结合活性和减小的对选自由FcγRIa,FcγRIb,FcγRIc,FcγRIIIa,FcγRIIIb,和FcγRIIa组成的组的一种或多种激活性FcγR的结合活性的抗体;(f)选择在中性pH条件下具有增强的FcRn-结合活性的抗体;(g)选择具有提高的pI的抗体;(h)确认收集的抗体的pI,并且随后选择具有提高的pI的抗体;和(i)选择与参照抗体相比其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变或增加的抗体。

[0737] 本文中,参照抗体包括,但不限于,天然抗体(例如,天然Ig抗体,优选天然IgG抗体)和修饰前的抗体(文库构建前或期间的抗体,例如,增加其pI前的离子浓度-依赖性抗体,或赋予离子浓度-依赖性抗原结合结构域前具有提高的pI的抗体)。

[0738] 产生公开内容A的抗体后,可以通过抗体药代动力学测定,使用如小鼠,大鼠,兔,狗,猴,人的血浆,评估得到的抗体,以选择与参照抗体相比具有增强的从血浆的抗原去除的抗体。

[0739] 备选地,在产生公开内容A的抗体后,可以将得到的抗体与参照抗体就胞外基质结合能力而言,通过电化学发光等进行比较,以选择具有增加的对胞外基质的结合的抗体。

[0740] 备选地,在产生公开内容A的抗体之后,可以将得到的抗体与参照抗体就在中性pH条件下对各种FcγR的结合活性而言,使用BIACORE(注册商标)等进行比较,以选择在中性pH条件下具有增加的对各种FcγR的结合活性的抗体。在该情况下,各种FcγRs可以是一种研究的FcγR,例如,FcγRIIb。类似地,还可能选择其FcγRIIb-结合活性(在中性pH条件下)被保持或增加并且其对选自由FcγRIa,FcγRIb,FcγRIc,FcγRIIIa,FcγRIIIb和FcγRIIa等组成的组的一种或多种激活性FcγR的结合活性降低的抗体。在该情况下,FcγR可以是人FcγR。

[0741] 备选地,在产生公开内容A的抗体之后,可以将得到的抗体与参照抗体就在中性pH条件下的FcRn-结合活性而言,使用BIACORE等已知技术进行比较,以选择在中性pH条件下具有增加的FcRn-结合活性的抗体。在该情况下,FcRn可以是人FcRn。

[0742] 备选地,在产生公开内容A的抗体之后,通过等电聚焦等评价得到的抗体的pI,选择与参照抗体相比具有提高的pI的抗体。在该情况下,可能选择其pI值增加,例如,至少0.01,0.03,0.05,0.1,0.2,0.3,0.4,或0.5或更多,或至少0.6,0.7,0.8,或0.9或更多的抗体;或其pI值增加至少1.0,1.1,1.2,1.3,1.4,或1.5或更多,或至少1.6,1.7,1.8,1.9,2.0,2.1,2.2,2.3,2.4,或2.5或更多,或3.0或更多的抗体。

[0743] 备选地，在产生公开内容A的抗体之后，可以将得到的抗体与参照抗体就对所需抗原在低和高离子浓度条件下的结合活性而言，使用BIACORE等进行比较，以选择其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变或增加的抗体。离子浓度可以是，例如，氢离子浓度或金属离子浓度。当离子浓度是金属离子浓度时，其可以是例如，钙离子浓度。结合活性是否改变或增加可以基于以下的存在评估，例如：(a)改变的或增强的细胞对抗原的摄取；(b)改变或增加的多次结合不同抗原分子的能力；(c)改变的或增强的血浆中抗原浓度的降低；或(d)改变的抗体的血浆保留。备选地，如果需要，这些选择方法中的任意两个或更多个可以适当组合。

[0744] 在一个备选实施方案中，公开内容A涉及用于产生或筛选含有其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变并且其pI通过修饰可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基而提高的抗原结合结构域的抗体(″具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体″)的方法。所述生产方法可以，例如，通过根据需要适当组合，本文中公开内容A的范围内所述的相关实施方案，例如，用于产生或筛选上述具有提高的pI的抗体的方法的实施方案，以及用于产生或筛选上述其抗原结合活性在高钙离子浓度条件下比在低钙离子浓度条件下高的钙离子浓度-依赖性抗原结合结构域或钙离子浓度-依赖性抗体，或其文库的方法的实施方案和/或用于产生或筛选上述其抗原结合活性在中性pH条件下比在酸性pH条件下高的pH-依赖性抗原结合结构域或pH-依赖性抗体，或其文库的方法的实施方案进行。

[0745] 在一个备选实施方案中，公开内容A提供用于产生或筛选含有其胞外基质结合活性增加的抗原结合结构域的抗体的方法，其中其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变并且其pI通过修饰可能暴露在抗体表面上的至少一个氨基酸残基增加(″具有提高的pI的离子浓度-依赖性抗体″)。在该方法中可以考虑离子浓度-依赖性抗体的pI的增加。所述方法可以，例如，通过根据需要适当组合，本文公开内容A的范围内所述的相关实施方案，例如，用于产生或筛选上述具有提高的pI的抗体的方法的实施方案，以及用于产生或筛选上述其抗原结合活性在高钙离子浓度条件下比在低钙离子浓度条件下高的钙离子浓度-依赖性抗原结合结构域或钙离子浓度-依赖性抗体，或其文库的方法的实施方案和/或用于产生或筛选上述其抗原结合活性在中性pH条件下比在酸性pH条件下高的pH-依赖性抗原结合结构域或pH-依赖性抗体，或其文库的方法的实施方案来进行。例如，可以将得到的抗体与参照抗体就胞外基质结合能力方面、通过电化学发光等已知技术进行比较以选择具有增加的胞外基质结合的抗体。

[0746] 本文中，参照抗体可以包括，但不限于，天然抗体(例如，天然Ig抗体，优选天然IgG抗体)和修饰前的抗体(文库构建前或期间的抗体，例如，其pI提高前的离子浓度-依赖性抗体或赋予其离子浓度-依赖性抗原结合结构域前具有提高的pI的抗体)。

[0747] 在一个备选实施方案中，公开内容A涉及产生包含其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变的抗原结合结构域的抗体的方法，其中所述方法包括修饰可能暴露在抗体表面的至少一个氨基酸残基从而提高等电点(pI)。在一些实施方案中，氨基酸残基修饰包含选自由以下组成的组的修饰：(a)用不带电的氨基酸残基置换带负电的氨基酸残基；(b)用带正电的氨基酸残基置换带负电的氨基酸残基；和(c)用带正电的氨基酸残基置换不带电的氨基酸残基。在一些实施方案中，至少一个修饰的氨基酸残基用组氨酸置换。在另一个实施方案中，抗体包含可变区和/或恒定区，并且可变区和/或恒定区中的氨基酸残基被修饰。在

另一个实施方案中，根据所述方法修饰的至少一个氨基酸残基在CDR或FR中选自由以下组成的组的位置：(a)重链可变区的FR中的位置1,3,5,8,10,12,13,15,16,18,19,23,25,26,39,41,42,43,44,46,68,71,72,73,75,76,77,81,82,82a,82b,83,84,85,86,105,108,110,和112；(b)重链可变区的CDR中的位置31,61,62,63,64,65,和97；(c)轻链可变区的FR中的位置1,3,7,8,9,11,12,16,17,18,20,22,37,38,39,41,42,43,45,46,49,57,60,63,65,66,68,69,70,74,76,77,79,80,81,85,100,103,105,106,107,和108；和(d)轻链可变区的CDR中的位置24,25,26,27,52,53,54,55,和56(根据Kabat编号)。在另一个实施方案中，根据所述方法修饰的至少一个氨基酸残基在CDR或FR中选自由以下组成的组的位置：(a)重链可变区的FR中的位置8,10,12,13,15,16,18,23,39,41,43,44,77,82,82a,82b,83,84,85,和105；(b)重链可变区的CDR中的位置31,61,62,63,64,65,和97；(c)轻链可变区的FR中的位置16,18,37,41,42,45,65,69,74,76,77,79,和107；和(d)轻链可变区的CDR中的位置24,25,26,27,52,53,54,55,和56。在一些实施方案中，抗原是可溶性抗原。在一些实施方案中，所述方法还包括比较根据所述方法产生的抗体对于其相应抗原在酸性pH(例如，pH 5.8)和中性pH(例如，pH 7.4)的KD。在另一个实施方案中，所述方法包括选择对抗原具有2或更高的KD(酸性pH范围(例如，pH 5.8))/KD(中性pH范围(例如，pH 7.4))的抗体。在一些实施方案中，所述方法还包括比较根据所述方法产生的抗体在高离子浓度(例如，氢离子或钙离子浓度)和低离子浓度条件下的抗原结合活性。在另一个实施方案中，所述方法还包括选择在高离子浓度下比在低离子浓度下具有更高抗原结合活性(例如，2-倍)的抗体。在一些实施方案中，在离子浓度是钙离子浓度的情况下，高钙离子浓度可以在100μM至10mM之间，在200μM至5mM之间，在400μM至3mM之间，在200μM至2mM之间，或在400μM至1mM之间选择。选择在500μM至2.5mM之间的浓度(其接近体内钙离子的血浆(血液)浓度)，可以是优选的。在一些实施方案中，低钙离子浓度可以在0.1μM至30μM之间，在0.2μM至20μM之间，在0.5μM至10μM之间，或在1μM至5μM之间，或在2μM至4μM之间选择。选择在1μM至5μM之间的浓度(其接近体内早期内体中钙离子的浓度)也可以是优选的。在一些实施方案中，KD(低钙离子浓度条件)/KD(高钙离子浓度条件)(例如，KD(3μM Ca)/KD(2mM Ca))值的下限是2或更多，10或更多，或40或更多，并且其上限是400或更少，1000或更少，或10000或更少。在备选的一些实施方案中，kd(低钙离子浓度条件)/kd(高钙离子浓度条件)(例如，kd(3μM Ca)/kd(2mM Ca))值的下限是2或更多，5或更多，10或更多，或30或更多，并且其上限是50或更少，100或更少，或200或更少。在一些实施方案中，在离子浓度是氢离子浓度的情况下，低氢离子浓度(中性pH范围)可以选自pH 6.7至pH 10.0，pH 6.7至pH 9.5，pH 7.0至pH 9.0，或pH 7.0至pH 8.0。低氢离子浓度可以优选是pH 7.4，其接近于体内血浆(血液)pH，但为了方便测量，可以使用例如，pH 7.0。在一些实施方案中，高氢离子浓度(酸性pH范围)可以选自pH 4.0至pH 6.5，pH 4.5至pH 6.5，pH 5.0至pH 6.5，或pH 5.5至pH 6.5。酸性pH范围可以优选是pH 5.8，其接近于早期内体中体内氢离子浓度，但为了方便测量，例如，可以使用pH 6.0。在一些实施方案中，KD(酸性pH范围)/KD(中性pH范围)(例如，KD(pH 5.8)/KD(pH 7.4))的下限是2或更多，10或更多，或40或更多，并且其上限是400或更少，1000或更少，或10000或更少。在一些实施方案中，所述方法还包括与当施用区别仅在于其不包括根据本方法引入的一个或多个修饰的参照抗体时相比，比较在施用根据所述方法产生的抗体后抗原从血浆的去除。在另一个实施方案中，所述方法还包括选择与不含有根据本方法引入的修饰的抗体相

比，促进从血浆去除抗原(例如，2-倍)的根据所述方法产生的抗体。在一些实施方案中，所述方法还包括与区别仅在于其不包括根据本方法引入的一个或多个修饰的抗体相比，比较根据本方法产生的抗体的胞外基质结合。在另一个实施方案中，所述方法还包括选择与区别仅在于其不包括根据本方法引入的一个或多个修饰的抗体相比，具有增加的胞外基质结合(例如，当结合抗原时2-倍)的根据所述方法产生的抗体。在另一个实施方案中，当与修饰或改变至少一个氨基酸残基以提高pI前的抗体(天然抗体(例如，天然Ig抗体，优选天然IgG抗体)或参照抗体(例如，抗体修饰，或文库构建之前或期间的抗体))相比时，根据本方法产生的抗体(基本上)保留抗原结合活性。在该情况下，"以(基本上)保留抗原结合活性"可以意为与修饰或改变前的抗体的结合活性相比，具有至少50％或更多，优选60％或更多，更优选70％或75％或更多，并且还更优选80％，85％，90％，或95％或更多的活性。

[0748] 在另外的实施方案中，公开内容A涉及用于生产包含其抗原结合活性根据离子浓度条件而改变的抗原结合结构域的抗体的方法，其中所述方法包括修饰可能暴露在抗体的恒定区的表面的至少一个氨基酸残基从而提高等电点(pI)。在一些实施方案中，氨基酸残基修饰包含选自由以下组成的组的修饰：(a)用不带电的氨基酸残基置换带负电的氨基酸残基；(b)用带正电的氨基酸残基置换带负电的氨基酸残基；和(c)用带正电的氨基酸残基置换不带电的氨基酸残基。在一些实施方案中，至少一个修饰的氨基酸残基用组氨酸置换。在另一个实施方案中，抗体包含可变区和/或恒定区，并且可变区和/或恒定区中的氨基酸残基被修饰。在另一个实施方案中，根据本方法修饰的至少一个氨基酸残基在恒定区中选自由以下组成的组的位置处：位置196，253，254，256，258，278，280，281，282，285，286，307，309，311，315，327，330，342，343，345，356，358，359，361，362，373，382，384，385，386，387，389，399，400，401，402，413，415，418，419，421，424，430，433，434，和443(根据EU编号)。在另一个实施方案中，根据本方法修饰的至少一个氨基酸残基在恒定区中选自由以下组成的组的位置处：位置254，258，281，282，285，309，311，315，327，330，342，343，345，356，358，359，361，362，384，385，386，387，389，399，400，401，402，413，418，419，421，433，434，和443(根据EU编号)。在另一个实施方案中，根据本方法修饰的至少一个氨基酸残基在恒定区中选自由以下组成的组的位置处：位置282，309，311，315，342，343，384，399，401，402，和413(根据EU编号)。在一些实施方案中，所述方法还包括比较根据所述方法产生的抗体在高离子浓度(例如，氢离子或钙离子浓度)和低离子浓度条件的抗原结合活性。在另一个实施方案中，所述方法还包括选择在高离子浓度比在低离子浓度具有更高抗原结合活性的抗体。在一些实施方案中，所述方法包括与当施用区别仅在于其不包含根据本发明引入的一个或多个修饰的参照抗体相比，比较在施用根据所述方法产生的抗体后抗原从血浆的去除。在另一个实施方案中，所述方法还包括选择与不含有根据本发明引入的修饰的抗体相比，促进从血浆去除抗原(例如，2-倍)的根据所述方法产生的抗体。在一些实施方案中，所述方法包括与区别仅在于其不包括根据本发明引入的一个或多个修饰的抗体相比，比较根据本方法产生的抗体的胞外基质结合。在另一个实施方案中，所述方法还包括选择与区别仅在于其不包含根据本发明引入的一个或多个修饰的抗体相比，具有增加的胞外基质结合(例如，当结合于抗原时2-倍)的根据所述方法产生的抗体。在一些实施方案中，所述方法包括比较在中性pH(例如，pH 7.4)根据所述方法产生的抗体与包含天然IgG的恒定区的参照抗体的Fcγ受体(FcγR)-结合活性。在另一个实施方案中，所述方法包括选择与包含天然IgG的恒

定区的参照抗体相比在中性pH(例如,pH 7.4)具有增强的FcγR-结合活性的根据所述方法产生的抗体。在一些实施方案中,选择的根据所述方法产生的抗体在中性pH下具有增强的FcγRIIb结合活性。在一些实施方案中,选择的根据所述方法产生的抗体对优选选自由FcγRIa,FcγRIb,FcγRIc,FcγRIIIa,FcγRIIIb和FcγRIIa组成的组的一种或多种激活性FcγR,和对FcγRIIb具有结合活性,并且与区别仅在于其恒定区是天然IgG的恒定区的参照抗体相比,任选地所述FcγRIIb-结合活性被保持或增强,并且对激活性FcγR的结合活性降低。在一些实施方案中,所述方法还包括与区别仅在于其恒定区是天然IgG的恒定区的参照抗体相比,比较根据本方法产生的抗体在中性pH条件下的FcRn-结合活性。在另一个实施方案中,所述方法还包括选择与区别仅在于其恒定区是天然IgG的恒定区的参照抗体相比,在中性pH条件下具有增加的FcRn-结合活性(例如,2-倍)的根据所述方法产生的抗体。在一些实施方案中,当与修饰或改变至少一个氨基酸残基以提高pI前的抗体(天然抗体(例如,天然Ig抗体,优选天然IgG抗体)或参照抗体(例如,抗体修饰,或文库构建之前或期间的抗体))相比时,根据本方法产生的抗体(基本上)保留抗原结合活性。在该情况下,"以(基本上)保留抗原结合活性"可以意为与修饰或改变前的抗体的结合活性相比,具有至少50%或更多,优选60%或更多,更优选70%或75%或更多,并且还更优选80%,85%,90%,或95%或更多的活性。

[0749] 在另外的实施方案中,所述方法包括修饰可能暴露抗体的可变区和恒定区的表面的至少一个氨基酸残基从而提高等电点(pI)。在另一个实施方案中,根据本方法修饰的至少一个氨基酸残基在上文公开的恒定区中的位置中。在另一个实施方案中,根据本方法修饰的至少一个氨基酸残基在上文公开的可变区中的位置中。在另一个实施方案中,根据本方法修饰的至少一个氨基酸残基在上文公开的恒定区中的位置中并且根据本方法修饰的至少一个氨基酸残基在上文公开的可变区中的位置中。在一些实施方案中,抗原是可溶性抗原。在一些实施方案中,所述方法还包括比较根据所述方法产生的抗体对其相应抗原在酸性pH(例如,pH 5.8)和中性pH(例如,pH 7.4)中的KD。在另一个实施方案中,所述方法包括选择对抗原具有2或更高的KD(酸性pH范围)/KD(中性pH范围)的抗体。在一些实施方案中,所述方法还包括比较根据所述方法产生的抗体在高离子浓度(例如,氢离子或钙离子浓度)条件和低离子浓度条件下的抗原结合活性。在另一个实施方案中,所述方法还包括选择在高离子浓度比在低离子浓度具有更高抗原结合活性的抗体。在一些实施方案中,在离子浓度是钙离子浓度的情况下,高钙离子浓度可以在100μM至10mM之间,在200μM至5mM之间,在400μM至3mM之间,在200μM至2mM之间,或在400μM至1mM之间选择。在500μM至2.5mM之间选择的浓度也可以是优选的。在一些实施方案中,低钙离子浓度可以在0.1μM至30μM之间,在0.2μM至20μM之间,在0.5μM至10μM之间,或在1μM至5μM之间或在2μM至4μM之间选择。在1μM至5μM之间选择的浓度也可以是优选的。在一些实施方案中,KD(低钙离子浓度条件)/KD(高钙离子浓度条件)(例如,KD(3μM Ca)/KD(2mM Ca))值的下限是2或更多,10或更多,或40或更多,并且其上限是400或更少,1000或更少,或10000或更少。在备选的一些实施方案中,kd(低钙离子浓度条件)/kd(高钙离子浓度条件)(例如,kd(3μM Ca)/kd(2mM Ca))值的下限是2或更多,5或更多,10或更多,或30或更多,并且其上限是50或更少,100或更少,或200或更少。在一些实施方案中,在离子浓度是氢离子浓度的情况下,低氢离子浓度(中性pH范围)可以选自pH 6.7至pH 10.0,pH 6.7至pH 9.5,pH 7.0至pH 9.0,或pH 7.0至pH 8.0。低氢离子

浓度可以优选是pH 7.4,其接近于体内血浆(血液)中的pH,但为了方便测量,例如,可以使用pH 7.0。在一些实施方案中,高氢离子浓度(酸性pH范围)可以选自pH 4.0至pH 6.5,pH 4.5至pH 6.5,pH 5.0至pH 6.5,或pH 5.5至pH 6.5。例如酸性pH范围可以是pH 5.8或pH 6.0。在一些实施方案中,KD(酸性pH范围)/KD(中性pH范围)(例如,KD(pH 5.8)/KD(pH 7.4))的下限是2或更多,10或更多,或40或更多,并且其上限是400或更少,1000或更少,或10000或更少。

[0750] 在一些实施方案中,所述方法还包括与当施用区别仅在于其不包含根据本发明引入的一个或多个修饰的参照抗体时相比,比较在施用根据所述方法产生的抗体后抗原从血浆的去除。在另一个实施方案中,所述方法还包括选择与不含有根据本发明引入的修饰的抗体相比,促进抗原从血浆的去除(例如,2-倍)的根据所述方法产生的抗体。在一些实施方案中,所述方法还包括与区别仅在于其不包括根据本发明引入的一个或多个修饰的抗体相比,比较根据本方法产生的抗体的胞外基质结合。在另一个实施方案中,所述方法还包括选择与区别仅在于其不包含根据本发明引入的一个或多个修饰的抗体相比,具有增加的胞外基质结合(例如,当与抗原复合时5-倍)的根据所述方法产生的抗体。在一些实施方案中,所述方法还包括比较根据所述方法产生的抗体与包含天然IgG的恒定区的参照抗体在中性pH(例如,pH 7.4)的Fcγ受体(FcγR)-结合活性。在另一个实施方案中,所述方法包括选择与包含天然IgG的恒定区的参照抗体相比,在中性pH(例如,pH 7.4)具有增强的FcγR-结合活性的根据所述方法产生的抗体。在一些实施方案中,选择的根据本方法产生的抗体在中性pH具有增强的FcγRIIb结合活性。在一些实施方案中,选择的根据本方法产生的抗体对优选选自由FcγRIa,FcγRIb,FcγRIc,FcγRIIIa,FcγRIIIb和FcγRIIa组成的组的一种或多种激活性FcγR,和对FcγRIIb具有结合活性,并且与区别仅在于其恒定区是天然IgG的恒定区的参照抗体相比,任选地FcγRIIb-结合活性被保持或增强并且对激活性FcγR的结合活性降低。在一些实施方案中,所述方法还包括与区别仅在于其恒定区是天然IgG的恒定区的参照抗体相比,比较根据本方法产生的抗体在中性pH条件下的FcRn-结合活性。在另一个实施方案中,所述方法还包括选择与区别仅在于其恒定区是天然IgG的恒定区的参照抗体相比,在中性pH条件下具有增加的FcRn-结合活性(例如,2-倍)的根据所述方法产生的抗体。在另一个实施方案中,当与修饰或改变至少一个氨基酸残基以提高pI前的抗体(天然抗体(例如,天然Ig抗体,优选天然IgG抗体)或参照抗体(例如,抗体修饰,或文库构建之前或期间的抗体))相比时,根据本方法产生抗体(基本上)保留抗原结合活性。在该情况下,"以(基本上)保留抗原结合活性"可以意为与修饰或改变前的抗体的结合活性相比,具有至少50%或更多,优选60%或更多,更优选70%或75%或更多,并且还更优选80%,85%,90%,或95%或更多的活性。

[0751] 在一个备选实施方案中,公开内容A涉及通过上述公开内容A的方法获得的抗体,其用于产生或筛选抗体。

[0752] 在一个备选实施方案中,公开内容A涉及包含上述公开内容A的抗体的组合物或药物组合物。在一个实施方案中,公开内容A的药物组合物可以是用于加速抗原从受试者的生物流体(优选,血浆,等)去除和/或用于增加胞外基质结合(当公开内容A的抗体施用于(应用于)受试者(优选,体内))的药物组合物。公开内容A的药物组合物可以任选地含有药用载体。本文中,药物组合物可以通常指用于治疗、预防、诊断或检查疾病的药剂。

[0753] 公开内容A组合物或药物组合物可以适当配置。在一些实施方案中，它们可以肠胃外，例如，以在水或任意其他药用液体中的无菌溶液或混悬液的形式施用。组合物可以通过适当与药用载体或介质组合，以通常可接受的药学实践所需的单位剂量适当配制。所述药用载体或介质包括，但不限于，无菌水，生理盐水，植物油，乳化剂，悬浮剂，表面活性剂，稳定剂，调味剂，赋形剂，媒介物，防腐剂和粘合剂。组合物中活性成分的量可以以落在适当的预先确定的范围内的剂量的方式调节。

[0754] 在一些实施方案中，公开内容A的组合物或药物组合物可以肠胃外施用。组合物或药物组合物可以适当制备为，例如，可注射、经鼻、经肺或经皮组合物。组合物或药物组合物可以全身或局部施用，例如，通过静脉内注射、肌肉内注射、腹膜内注射或皮下注射施用。

[0755] 在一些实施方案中，本公开内容提供其pI通过修饰可能暴露在表面的至少一个氨基酸残基而提高的抗体(具有提高的pI的抗体)；产生这些抗体的方法；或这些抗体增强抗原从血浆的去除(当将抗体体内施用于受试者时)的用途。可以理解，本文所述的公开内容A的范围和本文相应实施例中所述的内容可以适当用于该实施方案。在其他实施方案中，本公开内容提供其pI通过修饰可能暴露在表面的至少一个氨基酸残基减小的抗体(″具有降低的pI的抗体″)；产生这些抗体的方法；或这些抗体改善血浆保留(当将抗体体内施用于受试者时)的用途。本发明人揭示了，抗体的细胞内化可以通过将特定氨基酸突变引入恒定区的氨基酸序列中的特定位点增加其pI而增强。本领域技术人员可以理解，由于通过将具有不同侧链电荷性质的氨基酸引入上述位点导致pI降低从而抑制抗体的细胞内化，抗体血浆保留可以延长。可以理解，本文所述的公开内容A的范围和本文的相应实施例中所述的内容可以适当应用于所述实施方案。

[0756] 在一个实施方案中，本公开内容提供用于产生修饰的抗体(与抗体修饰前相比其在血浆中的半衰期延长或降低)的方法，其中所述方法包括：(a)修饰编码修饰前的抗体的核酸，以改变位于选自由以下组成的组的位置的至少一个氨基酸残基的电荷：位置196，253，254，256，257，258，278，280，281，282，285，286，306，307，308，309，311，315，327，330，342，343，345，356，358，359，361，362，373，382，384，385，386，387，388，389，399，400，401，402，413，415，418，419，421，424，430，433，434，和443(根据EU编号)；(b)培养宿主细胞以表达修饰的核酸并产生抗体；和(c)从宿主细胞培养物中收集产生的抗体。

[0757] 另外的实施方案提供延长或降低抗体在血浆中的半衰期的方法，其中所述方法包括修饰位于选自由以下组成的组的位置的至少一个氨基酸残基：位置196，253，254，256，257，258，278，280，281，282，285，286，306，307，308，309，311，315，327，330，342，343，345，356，358，359，361，362，373，382，384，385，386，387，388，389，399，400，401，402，413，415，418，419，421，424，430，433，434，和443(根据EU编号)。

[0758] 这些方法还可以包含确定与抗体修饰前相比，收集的和/或修饰的抗体在血浆的半衰期延长或降低。

[0759] 电荷的改变可以通过一个或多个氨基酸置换实现。在一些实施方案中，一个或多个置换的氨基酸残基可以选自由以下组(a)和(b)的氨基酸残基组成的组，但不限于其中：(a)Glu(E)和Asp(D)；以及(b)Lys(K)，Arg(R)和His(H)。

[0760] 在一些实施方案中，抗体可以是Ig-型抗体如IgG抗体。在一些实施方案中，抗体可以是嵌合抗体，人源化抗体，或人抗体。在一些实施方案中，抗体可以是多特异性抗体如双

特异性抗体。

[0761] 公开内容B

[0762] 在非限制性实施方案中，公开内容B涉及Fc区变体，其用途和其生产方法。

[0763] 在本文所述的公开内容A和B范围内，"Fc区变体"可以指，例如，通过用另一氨基酸修饰至少一个氨基酸从天然IgG抗体的Fc区修饰的Fc区，或可以指通过用另一氨基酸另外修饰至少一个氨基酸从所述Fc区变体修饰的Fc区。本文中，所述Fc区变体不仅包括引入有氨基酸修饰的Fc区，而且也包括含有与前述Fc区相同的氨基酸序列的Fc区。

[0764] 在一个备选实施方案中，公开内容B涉及含有FcRn-结合结构域的Fc区变体，其在位置434处含有Ala；在位置438处含有Glu，Arg，Ser，和Lys中的任一种；并且在位置440处含有Glu，Asp，和Gln中的任一种(根据EU编号)(在本文所述的公开内容B的范围内，为了描述的目的，所述Fc区变体也称为"新Fc区变体")。

[0765] 在实践中，公开内容B的Fc区变体可以实际上结合在任意抗体(例如，多特异性抗体如双特异性抗体)中，不论靶抗原的类型如何。例如，抗-因子IXa/因子X双特异性抗体可以使用实施例20中所示的Fc区变体产生(例如，F8M-F1847mv[F8M-F1847mv1(SEQ ID NO:323)和F8M-F1847mv2(SEQ ID NO:324)作为重链以及F8ML(SEQ ID NO:325)作为轻链]；F8M-F1868mv[F8M-F1868mv1(SEQ ID NO:326)和F8M-F1868mv2(SEQ ID NO:327)作为重链以及F8ML(SEQ ID NO:325)作为轻链]；和F8M-F1927mv[F8M-F1927mv1(SEQ ID NO:328)和F8M-F1927mv2(SEQ ID NO:329)作为重链以及F8ML(SEQ ID NO:325)作为轻链])。

[0766] 如上文所述的，WO2013/046704报道了，引入有突变以增加其在酸性条件下的FcRn结合(与具体突变的组合(代表性的实例是双-残基突变Q438R/S440E(根据EU编号)))的Fc区变体呈现显著降低的对类风湿因子的结合。然而，WO2013/046704未描述，由于Q438R/S440E修饰其类风湿因子结合降低的Fc区变体与具有天然Fc区的抗体相比在血浆保留方面更优。因此，存在对安全和更有利的允许改善的血浆保留、但不结合预先存在的ADA的Fc区变体的需要。本发明人在本文中公开了允许改善的血浆保留、但不结合抗药物抗体(预先存在的ADA，等)的安全和更有利的Fc区变体。尤其是，本文首先公开了，出人意料地，含有组合的氨基酸残基突变(其是用Ala(A)置换根据EU编号在位置434的氨基酸和具体的双-残基突变(代表性的实例是Q438R/S440E))的Fc区变体，对于延长抗体在血浆中的保留，同时保持显著降低的对类风湿因子的结合是优选的。

[0767] 因此，本文中公开的公开内容B的新Fc区变体相对于WO2013/046704(其通过参考以其整体结合于本文)中所述的Fc区变体提供有利和出人意料的改善。

[0768] 在一个实施方案中，公开内容B提供FcRn-结合结构域的氨基酸置换的新组合，其增加抗体在酸性pH范围内和在中性pH范围内，尤其是，在酸性pH范围内的FcRn-结合活性。

[0769] 在一个实施方案中，公开内容B的Fc区变体含有在位置434处的Ala；在位置438处Glu，Arg，Ser，和Lys中的任一个；和在位置440处Glu，Asp，和Gln中的任一个(根据EU编号)；并且更优选含有在位置434处的Ala；在位置438处的Arg或Lys；和在位置440处的Glu或Asp(根据EU编号)。优选，公开内容B的Fc区变体另外含有在位置428处的Ile或Leu，和/或在位置436处Ile，Leu，Val，Thr，和Phe中的任一个(根据EU编号)。更优选，Fc区变体含有在位置428处的Leu，和/或在位置436处的Val或Thr(根据EU编号)。

[0770] 在一个实施方案中，公开内容B的Fc区变体可以是天然Ig抗体的Fc区变体，并且更

优选是天然IgG(IgG1,IgG2,IgG3,或IgG4型)抗体的Fc区变体。天然Fc区在本文中部分在公开内容A和B的范围内描述。更具体而言,在公开内容B中,天然Fc区可以指未修饰或天然存在的Fc区,并且优选,天然Ig抗体(其Fc区氨基酸残基保持未修饰)的未修饰或天然存在的Fc区。Fc区的抗体来源可以是Ig如IgM或IgG,例如,人IgG1,IgG2,IgG3,或IgG4。在一个实施方案中,其可以是人IgG1。同时,包含天然Fc区的(参照)抗体可以指包含未修饰或天然存在的Fc区的抗体。

[0771] 位置428,434,438,和440对于所有天然人IgG1,IgG2,IgG3,和IgG4抗体的Fc区是共同的。然而,在Fc区的位置436,天然人IgG1,IgG2,和IgG4抗体共有Tyr(Y),而天然人IgG3抗体具有Phe(F)。另一方面,Stapleton等人(Nature Comm.599(2011)报道,含有根据EU编号R435H的氨基酸置换的人IgG3同种异型具有与IgG1相当的在人中的血浆半衰期。因此,本发明人还认为,血浆保留可以通过引入与位置436处的氨基酸置换组合的R435H氨基酸置换而增加在酸性条件下的FcRn结合来改善。

[0772] WO2013/046704还具体报道了双氨基酸残基置换Q438R/S440E,Q438R/S440D,Q438K/S440E,和Q438K/S440D(根据EU编号),当与在酸性条件下可以增加FcRn结合的氨基酸置换组合时导致类风湿因子结合的显著降低。

[0773] 因此,在优选的实施方案中,公开内容B的Fc区变体的FcRn-结合结构域可以含有选自由以下组成的组的置换的氨基酸位置的组合:(a)N434A/Q438R/S440E;(b)N434A/Q438R/S440D;(c)N434A/Q438K/S440E;(d)N434A/Q438K/S440D;(e)N434A/Y436T/Q438K/S440E;(f)N434A/Y436T/Q438R/S440D;(g)N434A/Y436T/Q438K/S440E;(h)N434A/Y436T/Q438K/S440D;(i)N434A/Y436V/Q438R/S440E;(j)N434A/Y436V/Q438R/S440D;(k)N434A/Y436V/Q438K/S440E;(l)N434A/Y436V/Q438K/S440D;(m)N434A/R435H/F436T/Q438R/S440E;(n)N434A/R435H/F436T/Q438R/S440D;(o)N434A/R435H/F436T/Q438K/S440E;(p)N434A/R435H/F436T/Q438K/S440D;(q)N434A/R435H/F436V/Q438R/S440E;(r)N434A/R435H/F436V/Q438R/S440D;(s)N434A/R435H/F436V/Q438K/S440E;(t)N434A/R435H/F436V/Q438K/S440D;(u)M428L/N434A/Q438R/S440E;(v)M428L/N434A/Q438R/S440D;(w)M428L/N434A/Q438K/S440E;(x)M428L/N434A/Q438K/S440D;(y)M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E;(z)M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440D;(aa)M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440E;(ab)M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440D;(ac)M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E;(ad)M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440D;(ae)M428L/N434A/Y436V/Q438K/S440E;(af)M428L/N434A/Y436V/Q438K/S440D;(ag)L235R/G236R/S239K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E;和(ah)L235R/G236R/A327G/A330S/P331S/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E(根据EU编号)。

[0774] 在进一步优选的实施方案中,公开内容B的Fc区变体的FcRn-结合结构域可以含有选自由以下组成的组的置换氨基酸的组合:(a)N434A/Q438R/S440E;(b)N434A/Y436T/Q438R/S440E;(c)N434A/Y436V/Q438R/S440E;(d)M428L/N434A/Q438R/S440E;(e)M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E;(f)M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E;(g)L235R/G236R/S239K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E;和(h)L235R/G236R/A327G/A330S/P331S/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E(根据EU编号)。

[0775] 在一个实施方案中,优选的是与天然IgG的Fc区相比,公开内容B的Fc区变体的

FcRn-结合活性在酸性pH条件下增加。

[0776] 当与天然FcRn-结合结构域的测量的FcRn-结合活性(结合亲和力)比较时,FcRn-结合结构域的FcRn-结合活性(结合亲和力)在pH范围内的增加可以对应于测量的FcRn-结合活性(结合亲和力)的增加。在该情况下,KD(天然Fc区)/KD(公开内容B的Fc区变体)(其代表结合活性(结合亲和力)的差异),可以是至少1.5-倍,2-倍,3-倍,4-倍,5-倍,10-倍,15-倍,20-倍,50-倍,70-倍,80-倍,100-倍,500-倍,或1000-倍。这样的增加可以在酸性pH范围内和/或在中性pH范围内发生;然而,从公开内容B的作用机制的角度,在酸性pH范围内的增加可以是优选的。

[0777] 在一些实施方案中,其FcRn-结合活性在酸性pH范围内增加的公开内容B的Fc区变体的FcRn-结合活性(例如,在pH 6.0和25℃)比天然IgG的Fc区的高,例如,1.5-倍,2-倍,3-倍,4-倍,5-倍,6-倍,7-倍,8-倍,9-倍,10-倍,20-倍,30-倍,50-倍,75-倍,100-倍,200-倍,500-倍,1000-倍或更多。在一些实施方案中,Fc区变体在酸性pH范围内增加的FcRn-结合活性可以比天然IgG的Fc区的FcRn-结合活性高至少5-倍或至少10-倍。

[0778] 通过引入氨基酸置换操作FcRn-结合结构域可以偶尔降低抗体稳定性(WO2007/092772)。具有差的稳定性的蛋白在储存期间倾向于容易聚集,并且药物蛋白的稳定性在药剂的生产中是高度重要的。因此,Fc区中的置换引起的稳定性的降低可以导致难以开发稳定抗体制剂(WO2007/092772)。

[0779] 就单体和高分子量物质而言,药物蛋白的纯度在开发药剂方面也是重要的。在用蛋白A纯化后,野生型IgG1不含有显著量的高分子量物质,而通过引入置换操作FcRn-结合结构域可以产生大量高分子量物质。在该情况下,所述高分子量物质可能必须通过纯化步骤从药物中去除。

[0780] 抗体中的氨基酸置换可以导致消极的结果,如治疗性抗体的免疫原性的增加,其又可以引起细胞因子风暴和/或和抗药物抗体(ADAs)的产生。治疗性抗体的临床实用性和有效性可以受ADAs限制,因为它们影响治疗性抗体的功效和药代动力学并且有时导致严重的副作用。很多因素影响治疗性抗体的免疫原性,并且效应T-细胞表位的存在是因素之一。同样,针对治疗性抗体的预先存在的抗体的存在也可能是有问题的。所述预先存在的抗体的实例是类风湿因子(RF),一种针对抗体(即,IgG)的Fc部分的自身-抗体(针对自体蛋白的抗体)。类风湿因子尤其是在患有系统性红斑狼疮(SLE)或类风湿性关节炎的患者中发现。在关节炎患者中,RF和IgG关联形成免疫复合物,其促进疾病进程。近来,已经报道,具有Asn434His突变的人源化抗-CD4 IgG1抗体诱导显著的类风湿因子结合(Zheng等人,Clin.Pharmacol.Ther.89(2):283-290(2011))。详细的研究确认了,与亲本人IgG1相比,人IgG1的Asn434His突变增加类风湿因子对抗体的Fc区的结合。

[0781] RF是针对人IgG的多克隆自身-抗体。人IgG序列的RF表位在克隆之间变化;然而,RF表位似乎位于CH2/CH3界面区以及CH3结构域中,其可以与FcRn-结合表位重叠。因此,突变以增加在中性pH的FcRn-结合活性可以也可能增加对特定RF克隆的结合活性。

[0782] 在公开内容B的情况下,术语"抗药物抗体"或"ADA"可以指具有针对位于治疗性抗体上的表位的结合活性并且因此能够结合治疗性抗体的内源性抗体。术语"预先存在的抗药物抗体"或"预先存在的ADA"可以指在向患者施用治疗性抗体之前在患者的血液中存在和可检测的抗药物抗体。在一些实施方案中,预先存在的ADA是人抗体。在另一个实施方案

中,预先存在的ADA是类风湿因子。

[0783] 针对预先存在的ADA的抗体Fc区(变体)的结合活性可以,例如,由在酸性pH和/或在中性pH的电化学发光(ECL)反应表示。ECL测定,例如,在Moxness等人(Clin Chem.51:1983-1985(2005))和实施例6中描述。测定可以,例如,在MES缓冲液和37℃的条件下进行。抗体的抗原结合活性可以,通过例如,BIACORE(注册商标)分析确定。

[0784] 对预先存在的ADA的结合活性可以在10℃至50℃的任意温度评估。在一些实施方案中,人Fc区对人预先存在的ADA的结合活性(结合亲和力)在15℃至40℃的温度,例如,如20℃至25℃,或25℃确定。在另一个实施方案中,人预先存在的ADA和人Fc区之间的相互作用在pH 7.4(或pH 7.0)和25℃测量。

[0785] 本文所述的公开内容B的范围内,对(预先存在的)ADA的结合活性显著增加或相当的表述可以意为,与测量的参照Fc区变体或含有参照Fc区变体的参照抗体的(预先存在的)ADA-结合活性(结合亲和力)相比,测量的公开内容B的Fc区变体或含有其的抗体的(预先存在的)ADA-结合活性(结合亲和力)(即,KD)增加,例如,0.55-倍,0.6-倍,0.7-倍,0.8-倍,0.9-倍,1-倍,1.1-倍,1.2-倍,1.3-倍,1.4-倍,1.5-倍,1.6-倍,1.7-倍,1.8-倍,1.9-倍,2-倍,2.1-倍,2.2-倍,或2.3-倍或更多。对预先存在的ADA的结合活性的该增加可以在个体患者或患者组中观察到。

[0786] 在一个实施方案中,如在公开内容B的情况下使用的,术语"多个患者"或"一个患者"不受限,并且可以包括正在用治疗性抗体治疗的患有疾病的所有人。患者可以是患有自身免疫病,如关节炎或系统性红斑狼疮(SLE)的人。关节炎可以包括类风湿性关节炎。

[0787] 在公开内容B的一个实施方案中,对预先存在的ADA的结合活性在个体患者中显著增加可以意为,当与参照抗体对预先存在的ADA的结合活性相比时,在患者中测量的包含Fc区变体的抗体(例如,治疗性抗体)对预先存在的ADA的结合活性增加至少10%,至少20%,至少30%,至少40%,至少50%,或至少60%或更多。备选地,这可以意为,抗体的ECL反应优选高于250,或至少500,或至少1000,或甚至至少2000。优选,该增加可以是相对于其ECL反应小于500或250的参照抗体的增加。具体而言,在参照抗体对预先存在的ADA的结合活性和具有Fc区变体的抗体的该结合活性之间,ECL反应优选范围在从小于250至至少250,小于250至至少500,小于500至500或更多,小于500至1000或更多,或比500至至少2000更少,不限于其中。

[0788] 在一个实施方案中,对预先存在的ADA的结合活性增加可以意为,在患者组中,与对于参照抗体的ECL反应为至少500(优选,至少250或更多)的患者的比例相比,测量的具有对包含(a)在酸性pH具有增加的对FcRn的结合活性和(b)在中性pH具有增加的对预先存在的ADA的结合活性的Fc区变体的抗体的ECL反应为至少500(优选,至少250)的患者比例升高例如,至少10%,至少20%,至少30%,至少40%,至少50%(当与对于参照抗体具有ECL反应的患者的比例相比较时)。

[0789] 在公开内容B的一个实施方案中,对预先存在的ADA的结合活性降低可以意为,与参照抗体相比,测量的包含Fc区变体的抗体的结合活性(即,KD或ECL反应)降低。所述降低可以在个体患者或患者组中观察到。包含Fc区变体的抗体在中性pH对预先存在的ADA的亲和力在每个患者中显著降低可以意为,与参照抗体对预先存在的ADA的在中性pH测量的结合活性相比,在患者中测量的在中性pH测量的对预先存在的ADA的结合活性降低例如,至少

10％，至少20％，至少30％，至少40％，或至少50％。

[0790] 备选地，例如，含有Fc区变体的抗体对预先存在的ADA的结合活性在个体患者中显著降低可以意为，与对参照抗体的ECL反应相比，曾经是500或更多(优选，1000或更多，或2000或更多)的对抗体的ECL反应被测量为小于500，优选小于250。

[0791] 在优选的实施方案中，公开内容B的Fc区变体和包含它们的抗体在中性pH对预先存在的ADA具有低结合活性。具体而言，优选的是，与含有天然IgG的Fc区的参照抗体对预先存在的ADA在中性pH(例如，pH 7.4)的结合活性相比，含有公开内容B的Fc区变体的抗体在中性pH对预先存在的ADA的结合活性更低或未显著增加。对预先存在的ADA的结合活性(结合亲和力)低或亲和力在基线水平可以意为在个体患者中小于500，或小于250的ECL反应，但不限于其。例如，对预先存在的ADA的结合活性在患者组中低可以意为，ECL反应在所述组中的90％，优选95％，并且更优选98％的患者中小于500。

[0792] 可以优选选择公开内容B的Fc区变体或含有它们的抗体，其在中性pH对血浆中的(预先存在的)ADA的结合活性不显著增加，并且其在中性pH和/或在酸性pH的FcRn-结合活性增加。优选在酸性pH(例如，pH 5.8)的FcRn-结合活性增加。在一个实施方案中，与天然IgG的Fc区相比，Fc区变体优选在中性pH条件(例如，pH 7.4)下不具有显著增加的对ADA的结合活性，并且ADA可以是预先存在的ADA，优选类风湿因子(RF)。

[0793] 在一个实施方案中，可以优选的是，与天然IgG的Fc区相比，公开内容B的Fc区变体在酸性pH条件下具有增加的FcRn-结合活性，并且由此，它们呈现降低的在血浆中的清除率(CL)，延长的在血浆中的保留时间，或延长的在血浆中的半衰期(t1/2)。它们的关联在本领域中是已知的。

[0794] 在一个实施方案中，可以优选的是，与天然IgG的Fc区相比，公开内容B的Fc区变体在酸性pH条件下具有增加的FcRn-结合活性，但在中性pH条件下不具有显著增加的ADA-结合活性，并且它们呈现降低的在血浆中的清除率(CL)，延长的在血浆中的保留时间，或延长的在血浆中的半衰期(t1/2)。ADA可以是预先存在的ADA，优选类风湿因子(RF)。

[0795] 在一个实施方案中，公开内容B的Fc区变体是有利的，因为与包含氨基酸置换组合N434Y/Y436V/Q438R/S440E(根据EU编号)的参照Fc区变体相比，它们的血浆保留得到改善。

[0796] 实施例5至7比较两种Fc区变体的血浆保留：WO2013/046704中所述的Fc区变体F1718(在四个位点引入突变的Fc区：N434Y/Y436V/Q438R/S440E)和新的Fc区变体F1848m(在四个位点引入突变：N434A/Y436V/Q438R/S440E)。两个Fc区变体之间氨基酸突变的差异仅在根据EU编号位置434处，其中引入的氨基酸突变对于F1718是Y(酪氨酸)并且对于F1848m是A(丙氨酸)。尽管如此，当与天然IgG1比较时，F1848m呈现改善的血浆保留，而F1718在血浆保留方面不显示此种改善(参见实施例(7-2))。因此，与含有氨基酸置换组合N434Y/Y436V/Q438R/S440E的参照Fc区变体相比，公开内容B的Fc区变体可以优选具有改善的血浆保留。本文的实施例(5-2)和(7-3)中所述的实验结果表明，在多种Fc区变体中，F1847m，F1886m，F1889m，和F1927m比F1848m在血浆保留时间方面进一步改进。因此，本领域技术人员可以理解，与含有置换N434Y/Y436V/Q438R/S440E的参照Fc区变体相比，公开内容B的Fc区变体(包括F1847m，F1886m，F1889m，或F1927m，以及F1848m)具有改善的血浆保留。

[0797] 对FcγR或补体蛋白的结合可以也具有不利影响(例如，不适当的血小板激活)。不结合效应受体如FcγRIIa受体的Fc区变体可以更安全和/或更有利。在一些实施方案中，公

开内容B的Fc区变体仅具有弱的效应受体-结合活性或不结合效应受体。效应受体的实例包括,激活性FcγR,特别是FcγRI,FcγRII,和FcγRIII。FcγRI包括FcγRIa,FcγRIb,和FcγRIc,和其亚型。FcγRII包括FcγRIIa(具有两个同种异型:R131和H131)和FcγRIIb。FcγRIII包括FcγRIIIa(其具有两个同种异型:V158和F158)和FcγRIIIb(其具有两个同种异型:FcγRIIIb-NA1和FcγRIIIb-NA2)。仅具有弱的效应受体-结合活性或不结合所述受体的抗体包括,例如,含有沉默Fc区的抗体和不具有Fc区的抗体(例如,Fab,F(ab)′$_2$,scFv,sc(Fv)$_2$,和双抗体)。

[0798] 仅具有弱的或不具有效应受体-结合活性的Fc区的实例,例如,在Strohl等人(Curr.Op.Biotech.20(6):685-691(2009))中描述,并且具体包括,例如,去糖基化的Fc区(N297A和N297Q),和由操作Fc区以沉默其效应子功能(或抑制免疫性)得到的沉默的Fc区(IgG1-L234A/L235A,IgG1-H268Q/A330S/P331S,IgG1-C226S/C229S,IgG1-C226S/C229S/E233P/L234V/L235A,IgG1-L234F/L235E/P331S,IgG2-V234A/G237A,IgG2-H268Q/V309L/A330S/A331S,IgG4-L235A/G237A/E318A,和IgG4-L236E)。WO2008/092117描述了包含含有置换G236R/L328R,L235G/G236R,N325A/L328R,或N325L/L328R(根据EU编号)的沉默的Fc区的抗体。WO2000/042072描述包含在位置EU233(根据EU编号位置233),EU234,EU235,和EU237的一个或多个处含有置换的沉默的Fc区的抗体。WO2009/011941描述包含缺乏EU231至EU238的残基的沉默的Fc区的抗体。Davis等人(J.Rheum.34(11):2204-2210(2007))描述了具有含有置换C220S/C226S/C229S/P238S的沉默的Fc区的抗体。Shields等人(J.Biol.Chem.276(9):6591-6604(2001))描述了包含含有置换D265A的沉默的Fc区的抗体。这些氨基酸残基的修饰也可以适当引入公开内容B的Fc区变体中。

[0799] 表述"对效应受体弱的结合"可以意为效应受体-结合活性是,天然IgG或含有天然IgG Fc区的抗体的例如,95%或更少,优选90%或更少,85%或更少,80%或更少,75%或更少,更优选70%或更少,65%或更少,60%或更少,55%或更少,50%或更少,45%或更少,40%或更少,35%或更少,30%或更少,25%或更少,20%或更少,15%或更少,10%或更少,9%或更少,8%或更少,7%或更少,6%或更少,5%或更少,4%或更少,3%或更少,2%或更少,或1%或更少。

[0800] "沉默的Fc区"是含有一个或多个氨基酸置换,插入,添加,缺失等的Fc区变体,其与天然Fc区相比降低对效应受体的结合。因为效应受体-结合活性可以显著降低,所述沉默的Fc区可以不再结合效应受体。沉默的Fc区可以包括,例如,在选自由以下组成的组的一个或多个位置处含有氨基酸置换的Fc区:EU234,EU235,EU236,EU237,EU238,EU239,EU265,EU266,EU267,EU269,EU270,EU271,EU295,EU296,EU297,EU298,EU300,EU324,EU325,EU327,EU328,EU329,EU331,和EU332。这些氨基酸位置的修饰也可以适当引入公开内容B的Fc区变体中。

[0801] 在另一个实施方案中,沉默的Fc区在选自由以下组成的组的一个或多个位置具有置换:EU234,EU235,EU236,EU237,EU238,EU239,EU265,EU266,EU267,EU269,EU270,EU271,EU295,EU296,EU297,EU298,EU300,EU324,EU325,EU327,EU328,EU329,EU331,和EU332,并且所述位置优选选自由以下组成的组:EU235,EU237,EU238,EU239,EU270,EU298,EU325,和EU329,其中所述置换利用选自下表的氨基酸残基:

[0802] 位置EU234处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Ala,Arg,Asn,

Asp,Gln,Glu,Gly,His,Lys,Met,Phe,Pro,Ser,和Thr。

[0803] 位置EU235处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Ala,Asn,Asp,Gln,Glu,Gly,His,Ile,Lys,Met,Pro,Ser,Thr,Val,和Arg。

[0804] 位置EU236处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Arg,Asn,Gln,His,Leu,Lys,Met,Phe,Pro,和Tyr。

[0805] 位置EU237处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Ala,Asn,Asp,Gln,Glu,His,Ile,Leu,Lys,Met,Pro,Ser,Thr,Val,Tyr,和Arg。

[0806] 位置EU238处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Ala,Asn,Gln,Glu,Gly,His,Ile,Lys,Thr,Trp,和Arg。

[0807] 位置EU239处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Gln,His,Lys,Phe,Pro,Trp,Tyr,和Arg。

[0808] 位置EU265处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Ala,Arg,Asn,Gln,Gly,His,Ile,Leu,Lys,Met,Phe,Ser,Thr,Trp,Tyr,和Val。

[0809] 位置EU266处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Ala,Arg,Asn,Asp,Gln,Glu,Gly,His,Lys,Phe,Pro,Ser,Thr,Trp,和Tyr。

[0810] 位置EU267处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Arg,His,Lys,Phe,Pro,Trp,和Tyr。

[0811] 位置EU269处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Ala,Arg,Asn,Gln,Gly,His,Ile,Leu,Lys,Met,Phe,Pro,Ser,Thr,Trp,Tyr,和Val。

[0812] 位置EU270处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Ala,Arg,Asn,Gln,Gly,His,Ile,Leu,Lys,Met,Phe,Pro,Ser,Thr,Trp,Tyr,和Val。

[0813] 位置EU271处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Arg,His,Phe,Ser,Thr,Trp,和Tyr。

[0814] 位置EU295处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Arg,Asn,Asp,Gly,His,Phe,Ser,Trp,和Tyr。

[0815] 位置EU296处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Arg,Gly,Lys,和Pro。

[0816] 位置EU297处的氨基酸优选Ala用置换。

[0817] 位置EU298处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Arg,Gly,Lys,Pro,Trp,和Tyr。

[0818] 位置EU300处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Arg,Lys,和Pro。

[0819] 位置EU324处的氨基酸优选用Lys或Pro置换。

[0820] 位置EU325处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Ala,Arg,Gly,His,Ile,Lys,Phe,Pro,Thr,Trp,Tyr,和Val。

[0821] 位置EU327处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Arg,Gln,His,Ile,Leu,Lys,Met,Phe,Pro,Ser,Thr,Trp,Tyr,和Val。

[0822] 位置EU328处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Arg,Asn,Gly,His,Lys,和Pro。

[0823] 位置EU329处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Asn,Asp,Gln,Glu,Gly,His,Ile,Leu,Lys,Met,Phe,Ser,Thr,Trp,Tyr,Val,和Arg。

[0824] 位置EU330处的氨基酸优选用Pro或Ser置换。

[0825] 位置EU331处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Arg,Gly,和Lys。

[0826] 位置EU332处的氨基酸优选用选自由以下组成的组的氨基酸置换:Arg,Lys,和Pro。

[0827] 沉默的Fc区优选可以含有在EU235利用Lys或Arg的置换,在EU237利用Lys或Arg的置换,在EU238利用Lys或Arg的置换,在EU239利用Lys或Arg的置换,在EU270利用Phe的置换,在EU298利用Gly的置换,在EU325利用Gly的置换,或在EU329利用Lys或Arg的置换。更优选,沉默的Fc区可以含有在EU235利用精氨酸的置换或在EU239利用赖氨酸的置换。甚至更优选,沉默的Fc区可以含有L235R/S239K置换。这些氨基酸残基的修饰还可以适当引入公开内容B的Fc区变体中。

[0828] 在一个实施方案中,包含公开内容B的Fc区变体的抗体仅具有弱的补体蛋白-结合活性或不结合补体蛋白。在一些实施方案中,补体蛋白是C1q。在一些实施方案中,弱的补体蛋白-结合活性是指与天然IgG或含有天然IgG Fc区的抗体的补体蛋白-结合活性相比,降低10-倍或更多,50-倍或更多,或100-倍或更多的补体蛋白-结合活性。Fc区的补体蛋白-结合活性可以通过氨基酸修饰如氨基酸置换,插入,添加,或缺失来降低。

[0829] 在一个实施方案中,可以以与如上文所述相同的方式评估公开内容B的Fc区变体或包含Fc区变体的抗体的在中性pH范围内和/或在酸性pH范围内的(人)FcRn-结合活性。

[0830] 在一个实施方案中,修饰抗体恒定区以产生公开内容B的Fc区变体的方法可以基于,例如,评估数种恒定区同种型(IgG1,IgG2,IgG3,和IgG4)以选择在酸性pH范围内具有降低的抗原结合活性和/或在酸性pH范围内具有增加的解离速率的同种型。备选方法可以基于将氨基酸置换引入天然IgG同种型的氨基酸序列以降低在酸性pH范围(例如,pH 5.8)内的抗原结合活性和/或增加在酸性pH范围内的解离速率。抗体恒定区的铰链区序列在同种型(IgG1,IgG2,IgG3,和IgG4)之间变化较大,并且铰链-区氨基酸序列的差异可以对抗原结合活性具有显著影响。因此,可以通过根据抗原或表位的类型选择适当的同种型来选择在酸性pH范围内具有降低的抗原结合活性和/或在酸性pH范围内具有增加的解离速率的同种型。此外,因为铰链区氨基酸序列的差异可以对抗原结合活性具有显著影响,所以天然同种型的氨基酸序列中的氨基酸置换可以位于铰链区中。

[0831] 在一个备选实施方案中,公开内容B提供含有上述公开内容B的Fc区变体的抗体加速将以抗原结合的形式内化入细胞的抗体以游离于抗原的形式释放到细胞外的用途。本文中,"以抗原结合的形式内化入细胞的抗体以游离于抗原的形式释放到细胞外"不一定意味着以抗原结合的形式内化入细胞的抗体以游离于抗原的形式完全释放到细胞外。可接受的是,与修饰其FcRn-结合结构域之前(例如,增加抗体在酸性pH范围内的FcRn-结合活性之前)相比,以游离于抗原的形式释放到细胞外的抗体的比例增加。优选的是,释放到细胞外的抗体保持其抗原结合活性。

[0832] "从血浆去除抗原的能力"或相当的术语可以指当体内施用或分泌抗体时从血浆去除抗原的能力。因此,"抗体从血浆去除抗原的能力增加"可以意为,当施用抗体时,例如,

与修饰其FcRn-结合结构域之前相比，从血浆去除抗原的速率增加。抗体从血浆去除抗原的活性的增加可以，例如，通过体内施用可溶性抗原和抗体，和在施用后测量可溶性抗原在血浆中的浓度来评估。可溶性抗原可以是抗体-结合的或抗体-游离的抗原，并且其浓度可以分别确定为"血浆中抗体-结合的抗原浓度"和"血浆中抗体-游离的抗原浓度"。后者与"血浆中游离抗原的浓度"同义。"血浆中总抗原浓度"可以指抗体-结合的抗原浓度和抗体-游离的抗原浓度的总和。

[0833] 在一个备选实施方案中，公开内容B提供延长含有公开内容B的Fc区变体的抗体的血浆保留时间的方法。天然人IgG能够结合源自非人动物的FcRn。例如，因为与对人FcRn的结合相比，天然人IgG能够更强烈结合小鼠FcRn(Ober等人，Intl.Immunol.13(12):1551-1559(2001))，所以可以将抗体施用于小鼠来评估抗体的性质。备选地，例如，其自身FcRn基因被破坏，作为替代具有和表达人FcRn基因作为转基因的小鼠(Roopenian等人，Meth.Mol.Biol.602:93-104(2010))也适于评估抗体。

[0834] 本文所述的公开内容A和B范围内，可以确定未结合于抗体的游离抗原的血浆浓度或游离抗原浓度与总抗原浓度的比例(例如，Ng等人，Pharm.Res.23(1):95-103(2006))。备选地，当抗原显示特定体内功能时，抗原是否结合于中和抗原功能的抗体(拮抗分子)可以通过测试抗原功能是否被中和来评估。抗原功能是否被中和可以通过测量反映抗原功能的特定体内标志物来评估。抗原是否结合于激活抗原功能的抗体(激动分子)可以通过测量反映抗原功能的特定体内标志物来评估。

[0835] 对于测量(如确定游离抗原在血浆中的浓度，确定游离抗原在血浆中的量和总抗原在血浆中的量的比例，和体内标志物测量)没有特别限制；然而，测量可以优选在抗体施用后某时期后进行。在公开内容B的范围内，"在抗体施用后某时期后"不特别限制，并且所述时期可以由本领域技术人员根据施用的抗体的性质等适当确定，并且包括，例如，抗体施用后一天，三天，七天，14天，或28天。本文中，术语"血浆抗原浓度"可以指"血浆中总抗原浓度"(其是抗体-结合的抗原浓度和抗体-游离的抗原浓度的总和)，或"血浆中游离抗原浓度"(其是抗体-游离抗原浓度)。

[0836] 抗原与抗体的摩尔比可以使用下式：C＝A/B计算，其中值A是每个时间点抗原的摩尔浓度，值B是每个时间点抗体的摩尔浓度，并且值C是每个时间点的抗原摩尔浓度/抗体的摩尔浓度(抗原/抗体的摩尔比)。

[0837] 较小的C值表示每个抗体去除抗原的更高效率，并且较大C值表示每个抗体去除抗原的更低效率。

[0838] 在一些方面，与施用含有天然人IgG Fc区的参照抗体作为人FcRn-结合结构域时相比，当施用公开内容B的抗体时，抗原/抗体的摩尔比降低2-倍，5-倍，10-倍，20-倍，50-倍，100-倍，200-倍，500-倍，或1,000-倍或更多。

[0839] 血浆中总抗原浓度或抗原/抗体摩尔比的降低可以使用本领域中已知的方法评估，如WO2011/122011的实施例6，8和13中所述。更具体而言，当公开内容B中的目标抗体不与小鼠对应抗原交叉反应时，它们可以基于抗原-抗体共注射模型或稳态抗原输注模型，使用人FcRn转基因小鼠品系32或276(Jackson Laboratories，Methods Mol.Biol.602:93-104(2010))评估。当抗体与小鼠对应物交叉反应时，其可以通过简单地将抗体注射入人FcRn转基因小鼠品系32或276(Jackson Laboratories)来评估。在共注射模型中，将抗体和

抗原的混合物施用给小鼠。在稳态抗原输注模型中，将用抗原溶液填充的输注泵植入小鼠以在血浆中实现恒定抗原浓度，并且随后将抗体注射入小鼠。将所有测试抗体以相同剂量施用。血浆中的总抗原浓度，血浆中的游离抗原浓度，和血浆中的抗体浓度可以在适当的时间点测量。

[0840] 为了评估公开内容B的抗体的长期效果，血浆中总的或游离的抗原浓度，或抗原/抗体的摩尔比可以在施用后两天，四天，七天，14天，28天，56天，或84天测量。换句话说，对于评估抗体的性质，长时期血浆中的抗原浓度可以通过在施用抗体后两天，四天，七天，14天，28天，56天，或84天测量血浆中的总的或游离的抗原浓度，或抗原/抗体的摩尔比来确定。血浆中的抗原浓度或抗原/抗体的摩尔比是否随抗体降低可以在如上文所述的一个或多个时间点评估所述降低来确定。

[0841] 为了评估公开内容B的抗体的短期效应，血浆中的总的或游离的抗原浓度，或抗原/抗体的摩尔比可以在施用后15分钟，一小时，两小时，四小时，八小时，12小时，或24小时测量。换句话说，对于评估抗体的性质，短的时期内血浆中抗原浓度可以通过测量血浆中的总的或游离的抗原浓度，或施用后15分钟，一小时，两小时，四小时，八小时，12小时，或24小时抗原/抗体的摩尔比确定。当人中的血浆保留难以确定时，其可以基于在小鼠(例如，正常小鼠，表达人抗原的转基因小鼠，或表达人FcRn的转基因小鼠)或在猴(例如，食蟹猴)中的血浆保留预测。

[0842] 在一个备选实施方案中，公开内容B涉及包含上述公开内容B的Fc区变体的抗体。在不背离本领域的普通技术知识的情况下，可以应用本文所述公开内容A和B的范围内描述的抗体的各种实施方案，除非上下文中有不一致。

[0843] 在一个实施方案中，包含公开内容B的Fc区变体的抗体用作治疗性抗体，用于治疗患有自身免疫病、移植排斥(移植物相对宿主疾病)、其他炎性疾病、或过敏疾病的人患者，如WO2013/046704中所述。

[0844] 在一个实施方案中，包含公开内容B的Fc区变体的抗体可以具有修饰的糖链。具有修饰的糖链的抗体可以包括，例如，具有修饰的糖基化的抗体(WO99/54342)，缺乏岩藻糖的抗体(WO00/61739，WO02/31140，WO2006/067847，WO2006/067913)，和具有GlcNAc分为两部分的糖链的抗体(WO02/79255)。在一个实施方案中，可以将抗体去糖基化。在一些实施方案中，抗体包含，例如，在重链糖基化位点处突变以抑制该位置处的糖基化，如WO2005/03175中所述。所述未糖基化的抗体可以通过修饰重链糖基化位点，即，通过引入N297Q或N297A置换(根据EU编号)，并且在适当的宿主细胞中表达蛋白来制备。

[0845] 在一个备选实施方案中，公开内容B涉及包括含有所述Fc区变体的抗体的组合物或药物组合物。在不背离本领域的普通技术知识的情况下，可以应用本文公开内容A和B的范围内所述的组合物或药物组合物的各种实施方案，除非上下文中有不一致。所述组合物可以用于增强血浆保留(在受试者中，当将公开内容B的抗体施用(应用)于受试者时)。

[0846] 在一个备选实施方案中，公开内容B涉及编码Fc区变体或含有Fc区变体的抗体的核酸。本文所述的公开内容的A和B范围内描述的核酸的各种实施方案可以在不背离本领域的普通技术知识的情况下应用，除非上下文中有不一致。备选地，公开内容B涉及包含所述核酸的载体。本文所述的公开内容A和B的范围内各种实施方案可以在不背离本领域的普通技术知识的情况下应用，除非上下文中有不一致。备选地，公开内容B涉及包含所述载体的

宿主或宿主细胞。本文所述公开内容A和B的范围内的各种实施方案可以在不背离本领域的普通技术知识的情况下应用,除非上下文中有不一致。

[0847] 在一个备选实施方案中,公开内容B涉及用于生产包含FcRn-结合结构域的Fc区变体或包含所述Fc区变体的抗体的方法,其包括培养上述宿主细胞,或培养上述宿主并且从细胞培养物,从宿主分泌的物质收集Fc区变体或包含所述Fc区变体的抗体。在该情况下,公开内容B可以包括任选地还包括以下中的任一项或多项的生产方法:(a)选择与天然IgG的Fc区相比在酸性pH条件下具有增强的FcRn-结合活性的Fc区变体;(b)选择与天然IgG的Fc区相比其对(预先存在的)ADA的结合活性在中性pH条件下不显著增强的Fc区变体;(c)选择与天然IgG的Fc区相比具有增加的血浆保留的Fc区变体;和(d)选择与包含天然IgG的Fc区的参照抗体相比,包含能够促进从血浆去除抗原的Fc区变体的抗体。

[0848] 从评估公开内容B的Fc区变体的血浆保留的角度,不受限制,其可以优选,公开内容B中产生的包含Fc区变体的抗体和"包含天然IgG的Fc区的参照抗体"彼此相同(除了要比较的Fc区以外)。FcRn可以是人FcRn。

[0849] 例如,在产生包含公开内容B的Fc区变体的抗体后,可以将所述抗体与包含天然IgG Fc区的参照抗体就在酸性pH条件(例如,pH 5.8)下的FcRn-结合活性,使用BIACORE(注册商标)或其他已知技术进行比较,以选择其FcRn-结合活性在酸性pH条件下增加的Fc区变体或包含所述Fc区变体的抗体。

[0850] 备选地,例如,在产生包含公开内容B的Fc区变体的抗体后,可以将所述抗体与包含天然IgG Fc区的参照抗体就在中性pH条件下的ADA-结合活性通过电化学发光(ECL)或已知技术进行比较,以选择其ADA-结合活性在中性pH条件下未显著增加的Fc区变体或包含所述Fc区变体的抗体。

[0851] 备选地,例如,在产生包含公开内容B的Fc区变体的抗体后,可以将所述抗体与包含天然IgG Fc区的参照抗体,通过使用血浆(例如,来自小鼠,大鼠,兔,狗,猴,或人)进行抗体药代动力学测试进行比较,以选择被证明在受试者中具有改善的血浆保留的Fc区变体或包含所述Fc区变体的抗体。

[0852] 备选地,例如,在产生包含公开内容B的Fc区变体的抗体后,可以将所述抗体与包含天然IgG Fc区的参照抗体,通过使用血浆(例如,来自小鼠,大鼠,兔,狗,猴,或人)进行抗体药代动力学测试进行比较,以选择具有增强的抗原从血浆去除的Fc区变体或包含所述Fc区变体的抗体。

[0853] 备选地,例如,如果需要,上述选择方法可以适当组合。

[0854] 在一个实施方案中,公开内容B涉及产生包含FcRn-结合结构域的Fc区变体或包含所述变体的抗体的方法,其中所述方法包括以这样的方式进行氨基酸置换,使得得到的Fc区变体或包含所述变体的抗体包含在位置434处的Ala;在位置438处的Glu,Arg,Ser,或Lys;和在位置440处的Glu,Asp,或Gln(根据EU编号)。在另外的实施方案中,所述方法包含以这样的方式置换氨基酸,使得得到的Fc区变体或包含所述变体的抗体还包含,在位置428处的Ile或Leu和/或在位置436处的Ile,Leu,Val,Thr,或Phe(根据EU编号)。在另一个实施方案中,氨基酸以这样的方式置换,使得根据所述方法产生的得到的Fc区变体或包含所述变体的抗体还包括在位置428处的Leu和/或在位置436处的Val或Thr(根据EU编号)。

[0855] 在一个实施方案中,公开内容B涉及用于生产包含FcRn-结合结构域的Fc区变体或

包含所述变体的抗体的方法，其中所述方法包括以这样的方式进行氨基酸置换，使得得到的Fc区变体或包含所述变体的抗体包含在位置434处的Ala；在位置438处的Arg或Lys；和在位置440处的Glu或Asp(根据EU编号)。在另外的实施方案中，所述方法包括以这样的方式置换氨基酸，使得得到的Fc区变体或包含所述变体的抗体还包含，在位置428处的Ile或Leu和/或在位置436处的Ile，Leu，Val，Thr，或Phe(根据EU编号)。在另一个实施方案中，以这样的方式置换氨基酸，使得根据所述方法产生的得到的Fc区变体或包含所述变体的抗体还包括在位置428处的Leu和/或在位置436处的Val或Thr(根据EU编号)。

[0856] 在一个实施方案中，所述方法包括分别在位置434，438，和440用Ala；Glu，Arg，Ser，或Lys；和Glu，Asp，或Gln置换所有氨基酸。在另外的实施方案中，所述方法包括以这样的方式置换氨基酸，使得得到的Fc区变体或包含所述变体的抗体还包含，在位置428处的Ile或Leu和/或在位置436处的Ile，Leu，Val，Thr，或Phe(根据EU编号)。在另一个实施方案中，以这样的方式置换氨基酸，使得根据所述方法产生的得到的Fc区变体或包含所述变体的抗体还包括在位置428处的Leu和/或在位置436处的Val或Thr(根据EU编号)。

[0857] 在一个备选实施方案中，公开内容B涉及通过上述公开内容B的生产方法中的任一种获得的Fc区变体或包含所述Fc区变体的抗体。

[0858] 在一个备选实施方案中，公开内容B提供用于降低包含在酸性pH具有增加的FcRn-结合活性的Fc区变体的抗体的(预先存在的)ADA-结合活性的方法；和用于产生在酸性pH(例如，pH 5.8)具有增加的FcRn-结合活性和降低的预先存在的ADA-结合活性的Fc区变体的方法，所述方法包括：(a)提供包含与参照抗体相比其FcRn-结合活性在酸性pH增加的Fc区(变体)的抗体；和(b)将以下引入Fc区，根据EU编号，(i)在位置434处利用Ala的氨基酸置换；(ii)在位置438处利用Glu，Arg，Ser，和Lys中的任一个的氨基酸置换；和(iii)在位置440处利用Glu，Asp，和Gln中的任一个的氨基酸置换，(iv)任选地，在位置428处利用Ile或Leu的氨基酸置换；和/或(v)任选地，在位置436处利用Ile，Leu，Val，Thr，和Phe中的任一个的氨基酸置换。

[0859] 在一些实施方案中，步骤(a)中的Fc结构域(变体)优选是人IgG Fc结构域(变体)。此外，为了增加在酸性pH的FcRn-结合活性和降低在中性pH范围(例如，pH 7.4)内的(预先存在的)ADA-结合活性，Fc区(变体)含有选自由以下组成的组的氨基酸置换的组合：(a)N434A/Q438R/S440E；(b)N434A/Q438R/S440D；(c)N434A/Q438K/S440E；(d)N434A/Q438K/S440D；(e)N434A/Y436T/Q438R/S440E；(f)N434A/Y436T/Q438R/S440D；(g)N434A/Y436T/Q438K/S440E；(h)N434A/Y436T/Q438K/S440D；(i)N434A/Y436V/Q438R/S440E；(j)N434A/Y436V/Q438R/S440D；(k)N434A/Y436V/Q438K/S440E；(l)N434A/Y436V/Q438K/S440D；(m)N434A/R435H/F436T/Q438R/S440E；(n)N434A/R435H/F436T/Q438R/S440D；(o)N434A/R435H/F436T/Q438K/S440E；(p)N434A/R435H/F436T/Q438K/S440D；(q)N434A/R435H/F436V/Q438R/S440E；(r)N434A/R435H/F436V/Q438R/S440D；(s)N434A/R435H/F436V/Q438K/S440E；(t)N434A/R435H/F436V/Q438K/S440D；(u)M428L/N434A/Q438R/S440E；(v)M428L/N434A/Q438R/S440D；(w)M428L/N434A/Q438K/S440E；(x)M428L/N434A/Q438K/S440D；(y)M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E；(z)M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440D；(aa)M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440E；(ab)M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440D；(ac)M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E；(ad)M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440D；(ae)M428L/N434A/

Y436V/Q438K/S440E;(af)M428L/N434A/Y436V/Q438K/S440D;(ag)L235R/G236R/S239K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E;和(ah)L235R/G236R/A327G/A330S/P331S/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E。

[0860] 所述方法可以任选地进一步包括:(c)评估与参照抗体的结合活性相比,包含产生的Fc区变体的抗体的(预先存在的)ADA-结合活性是否降低。

[0861] 备选地,所述方法可以用作增强以抗原结合的形式内化入细胞的抗体以游离于抗原的形式释放到细胞外,而不显著增加抗体在中性pH下的(预先存在的)ADA-结合活性的方法。

[0862] 公开内容C

[0863] 公开内容C还涉及抗-IL-8抗体,编码所述抗体的核酸,包含所述抗体的药物组合物,产生所述抗体的方法,和所述抗体在治疗IL-8相关疾病中的用途,如下文中所述。在不背离本领域技术人员的普通技术知识以及本领域技术人员已知的实施方案的情况下,下文中给出的术语的意义在本文公开内容C的描述中适用。

[0864] I.公开内容C的范围内的定义

[0865] 在本文所述的公开内容C的范围内,"酸性pH"是指可以选自,例如,pH 4.0至pH 6.5的pH。在一个实施方案中,酸性pH是指,但不限于,pH 4.0,pH 4.1,pH 4.2,pH 4.3,pH 4.4,pH 4.5,pH 4.6,pH 4.7,pH 4.8,pH 4.9,pH 5.0,pH 5.1,pH 5.2,pH 5.3,pH 5.4,pH 5.5,pH 5.6,pH 5.7,pH 5.8,pH 5.9,pH 6.0,pH 6.1,pH 6.2,pH 6.3,pH 6.4,或pH 6.5。在一个具体实施方案中,术语酸性pH是指pH 5.8。

[0866] 在本文所述的公开内容C的范围内,"中性pH"是指可以选自,例如,pH 6.7至pH 10.0的pH。在一个实施方案中,中性pH是指,但不限于,pH 6.7,pH 6.8,pH 6.9,pH 7.0,pH 7.1,pH 7.2,pH 7.3,pH 7.4,pH 7.5,pH 7.6,pH 7.7,pH 7.8,pH 7.9,pH 8.0,pH 8.1,pH 8.2,pH 8.3,pH 8.4,pH 8.5,pH 8.6,pH 8.7,pH 8.8,pH 8.9,pH 9.0,pH 9.5,或pH 10.0。在一个具体实施方案中,术语中性pH是指pH 7.4。

[0867] 术语"IL-8",如公开内容C中使用的,是指源自任意脊椎动物,灵长类(例如,人,食蟹猴,猕猴)和其他哺乳动物(例如,狗和兔)的任意天然IL-8,除非另有说明。术语"IL-8"包括全长IL-8,未加工的IL-8以及由细胞中加工得到的任意形式的IL-8。术语"IL-8"还包括天然IL-8的衍生物,例如,剪接变体或等位基因变体。示例性人IL-8的氨基酸序列在SEQ ID NO:66中显示。

[0868] 术语"抗-IL-8抗体"和"结合IL-8的抗体"是指能够以足够亲和力结合IL-8从而抗体用作靶向IL-8的诊断剂和/或治疗剂的抗体。

[0869] 在一个实施方案中,抗-IL-8抗体对不相关,非-IL-8蛋白的结合程度,例如,小于抗体对IL-8的结合的约10%。

[0870] "亲和力"在本文公开内容C的描述的范围内通常是指分子(例如,抗体)的单个结合位点和其结合伙伴(例如,抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另有说明,如本文公开内容C的描述的范围内使用的,"结合亲和力"是指固有结合亲和力,其反映结合对(例如,抗体和抗原)的成员之间的1:1相互作用。分子X对于其伙伴Y的亲和力可以通常由解离常数(KD)表示。结合亲和力可以使用本领域中已知的方法测量,包括本文公开内容C的描述的范围内所述的那些。

[0871] 在某些实施方案中，结合IL-8的抗体可以具有如下的解离常数(KD)，例如，

[0872] ≤1000nM，≤100nM，≤10nM，≤1nM，≤0.1nM，≤0.01nM或≤0.001nM

[0873] (例如，10^{-8}M或更少，10^{-8}M至10^{-13}M，10^{-9}M至10^{-13}M)。

[0874] 术语"抗体"在本文公开内容C的描述的范围内以最宽泛的意义使用，并且包括，但不限于，单克隆抗体，多克隆抗体，多特异性抗体(例如，双特异性抗体)，和抗体片段，只要它们呈现所需抗原结合活性即可。

[0875] 与参照抗体"结合相同表位的抗体"是指阻断参照抗体对其抗原的结合达例如，50％，60％，70％，或80％或更多的抗体；并且相反，参照抗体阻断抗体对其抗原的结合达例如，50％，60％，70％，或80％或更多。本文中，可以使用示例性竞争测定，但不限于其。

[0876] "嵌合抗体"是指重链和/或轻链的一部分源自特定来源或物种，而其余部分源自不同的来源或物种的抗体。

[0877] "人源化"抗体是指包含来自非人HVR的氨基酸残基和来自人FRs的氨基酸残基的嵌合抗体。在某些实施方案中，人源化抗体可以包含基本上至少一个，并且通常两个可变区，其中(或基本上全部)HVRs(例如，CDRs)对应于非人抗体的那些，并且全部(或基本上全部)的FRs对应于人抗体的那些。人源化抗体任选地可以包含源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。

[0878] 如在本文公开内容C的描述的范围内使用的术语"单克隆抗体"是指获自基本上同质抗体的群体的抗体，即，构成该群体的单个抗体是相同的和/或结合相同表位，除了可能的变体抗体以外，例如，含有天然存在的突变或单克隆抗体制剂的生产期间产生的那些，其通常以小量存在。与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相反，单克隆抗体制剂中的每种单克隆抗体针对抗原上的单个决定簇。因此，修饰语"单克隆"表示抗体的特性为获自基本上同质的抗体群体，并且不要理解为需要通过任何特定方法生产抗体。例如，要根据公开内容C使用的单克隆抗体可以通过各种技术制备，包括但不限于杂交瘤方法，重组DNA方法，噬菌体展示方法，和利用包含人免疫球蛋白基因座的全部或部分的转基因动物的方法，所述方法和制备单克隆抗体的其他示例性方法是本文所述的。

[0879] 在本文所述的公开内容C的范围内，"天然抗体"是指具有各种天然存在的结构的免疫球蛋白分子。在一个实施方案中，天然IgG抗体，例如，是约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白，由二硫键键合的两条相同的轻链和两条相同的重链组成。以N-至C-末端的顺序，每个重链具有可变区(VH)，也称为可变重链结构域或重链可变结构域，接着三个恒定结构域(CH1，CH2，和CH3)。同样，以N-至C-末端的顺序，每个轻链具有可变区(VL)，也称为可变轻链结构域或轻链可变结构域，接着恒定轻链(CL)结构域。抗体轻链可以基于其恒定结构域的氨基酸序列归于两种类型型(称为kappa(κ)和lambda(λ))中的一种。用于公开内容C的所述恒定结构域包括任何报道的同种异型(等位基因)或任何亚类/同种型的那些。重链恒定区包括，但不限于，天然IgG抗体(IgG1，IgG2，IgG3，和IgG4)的恒定区。已知IgG1等位基因包括，例如，IGHG1*01，IGHG1*02，IGHG1*03，IGHG1*04，和IGHG1*05(参见imgt.org)，并且这些中的任一种可以用作天然人IgG1序列。恒定结构域序列可以源自单个等位基因或亚类/同种型，或源自多个等位基因或亚类/同种型。具体而言，所述抗体包括，但不限于，分别是其CH1源自IGHG1*01并且CH2和CH3源自IGHG1*02和IGHG1*01的抗体。

[0880] "效应子功能"在本文公开内容C的描述的范围内是指可归因于抗体的Fc区的生物

活性,其可以随抗体同种型而改变。抗体效应子功能的实例包括:C1q结合补体-依赖性细胞毒性;Fc受体结合;抗体-依赖性细胞-介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如,B细胞受体)的下调;和B细胞激活,但不限于此。

[0881] 术语"Fc区"在本文公开内容C的描述的范围内用于限定含有恒定区的至少一部分的免疫球蛋白重链的C-末端区。该术语包括天然Fc区和变体Fc区。天然Fc区表示天然抗体的Fc区。

[0882] 在一个实施方案中,人IgG重链Fc区从Cys226或Pro230的氨基酸残基延伸到重链的羧基末端。然而,Fc区的C-末端赖氨酸(Lys447)或甘氨酸-赖氨酸(残基446-447)可以存在或可以不存在。除非在本文公开内容C的描述的范围内另外指出,Fc区或恒定区中的氨基酸残基编号根据EU编号系统,也称为EU索引,如Kabat等人,Sequence of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD,1991中所述的。

[0883] "框架区"或"FR"在本文公开内容C的描述的范围内是指除了高变区(HVR)残基之外的可变结构域残基。可变结构域的FR通常由四个FR结构域组成:FR1,FR2,FR3,FR4。因此,HVR和FR序列通常在VH(或VL)中以以下顺序出现:FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

[0884] "人共有框架区"在本文公开内容C的描述的范围内是代表人免疫球蛋白VL或VH框架区序列的选择中最常出现的氨基酸残基的框架区。通常,人免疫球蛋白VL或VH序列的选择来自可变结构域序列的亚组。通常,序列的亚组是根据Kabat等人,Sequence of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991)的亚组。

[0885] 在一个实施方案中,VL的亚组是亚组κI,如前文Kabat等人中的。在一个实施方案中,VH的亚组是亚组III,如前文Kabat等人中的。

[0886] "受体(acceptor)人框架区",为了在本文公开内容C的描述的范围内目的,是包含源自人免疫球蛋白框架区或人共有框架区的VL或VH框架区的氨基酸序列的框架区。"源自"人免疫球蛋白框架区或人共有框架区的受体人框架区可以包含其相同氨基酸序列,或其可以含有现有的氨基酸序列置换。在一些实施方案中,现有的氨基酸置换的数量是10或更少,9或更少,8或更少,7或更少,6或更少,5或更少,4或更少,3或更少,或2或更少。在一个实施方案中,VL受体人框架区与VL人免疫球蛋白框架区序列或人共有框架区序列相同。

[0887] 术语"可变区"或"可变结构域"在本文公开内容C的描述的范围内是指参与抗体对抗原的结合的抗体重链或轻链的结构域。天然抗体的重链和轻链(分别是VH和VL)的可变区通常具有相似的结构,每个结构域包含四个保守的框架区(FRs)和三个高变区(HVRs)。(参见,Kindt等人,Kuby Immunology,第6版,W.H.Freeman&Co.,第91页(2007)。)单个VH或VL结构域足以赋予抗原结合特异性,但不限于其。此外,结合特定抗原的抗体可以分别使用来自结合抗原的抗体的VH或VL结构域以筛选互补VL或VH结构域的文库而分离。参见,例如,Portolano等人,J.Immunol.150:880-887(1993);Clarkson等人,Nature 352:624-628(1991)。

[0888] 如在本文公开内容C的描述的范围内使用的术语"高变区"或"HVR"是指抗体可变结构域在序列中高变("互补决定区"或"CDRs")和/或形成结构限定的环("高变环")和/或

含有抗原-接触残基("抗原接触处")的区域中的每个。通常,抗体包含六个高变区:三个在VH(H1,H2,H3)中,并且三个在VL(L1,L2,L3)中。

[0889] 不限于其中,本文中的示例性HVR包括:(a)高变环,其中氨基酸残基是26-32(L1),50-52(L2),91-96(L3),26-32(H1),53-55(H2),和96-101(H3)(Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987));(b)CDR,其中氨基酸残基是24-34(L1),50-56(L2),89-97(L3),31-35b(H1),50-65(H2),和95-102(H3)(Kabat等人,Sequence of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991));(c)抗原接触处,其中氨基酸残基是27c-36(L1),46-55(L2),89-96(L3),30-35b(H1),47-58(H2),和93-101(H3)(MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996));和(d)(a),(b),和/或(c)的组合,包括HVR氨基酸残基46-56(L2),47-56(L2),48-56(L2),49-56(L2),26-35(H1),26-35b(H1),49-65(H2),93-102(H3),和94-102(H3)。

[0890] 除非另有说明,HVRs和可变区中的其他残基(例如,FR残基)如在前文Kabat等人中编号。

[0891] "个体"在本文公开内容C的描述的范围内是哺乳动物。哺乳动物包括,但不限于,驯养动物(例如,牛,绵羊,猫,狗,和马),灵长类(例如,人和非人灵长类如猴),兔,和啮齿类(例如,小鼠和大鼠)。在某些实施方案中,"个体"是人。

[0892] "分离的"抗体在本文公开内容C的描述的范围内是从其天然环境的成分分离的抗体。在一些实施方案中,将抗体纯化到大于95%或99%纯度,纯度如,例如,通过电泳(例如,SDS-PAGE,等电聚焦电泳(IEF),毛细管电泳)或色谱(例如,离子交换或反相HPLC)确定。对于评估抗体纯度的方法的综述,参见,例如,Flatman等人,J.Chromatogr.B 848:79-87(2007)。

[0893] "分离的"核酸在本文公开内容C的描述的范围内是指从其天然环境的成分分离的核酸分子。分离的核酸包括通常含有核酸分子的细胞中含有的核酸分子,但核酸分子存在于染色体外或存在于不同于其天然染色体位置的染色体位置。

[0894] "编码抗-IL-8抗体的分离的核酸"在本文公开内容C的描述的范围内是指编码抗-IL-8抗体重链和轻链(或其片段)的一种或多种核酸分子,包括在单个载体或分离的载体中的所述一种或多种核酸,在宿主细胞中的一个或多个位置存在的一种或多种核酸。

[0895] 在本文公开内容C的描述的范围内,术语"宿主细胞","宿主细胞系"和"宿主细胞培养物"可交替使用,并且指其中已经引入外源核酸的细胞,包括所述细胞的后代。宿主细胞包括"转化子"和"转化的细胞",其包括原代转化的细胞和源自其的后代,不考虑后代数量。后代与其母体细胞的核酸含量可以不完全相同,而是可以含有突变。在最初转化的细胞中筛选或选择的具有相同功能或生物活性的突变体后代包括在本文中。

[0896] 术语"载体",如在本文公开内容C的描述的范围内使用的,是指能够传播与其连接的另一核酸的核酸分子。该术语包括自我复制的核酸结构的载体以及引入宿主细胞并变为整合于其基因组中的载体。某些载体能够引导它们可操作连接的核酸的表达。所述载体本文中称为"表达载体"。

[0897] 在本文公开内容C的描述的范围内,术语"药品说明书"用于指通常包括在治疗性产品的商用包装中的使用说明,其含有关于适应证、使用、剂量、施用、组合疗法、禁忌和/或关于使用所述治疗产品的警告的信息。

[0898] 在本文公开内容C的描述的范围内，"氨基酸序列同一性百分数(%)"就参照多肽序列而言，定义为为了获得最大序列同一性百分数，通过引入缺口(如果需要)并且不考虑任何保守性置换作为序列同一性的部分，在序列比对后，候选序列中与参照多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分数。为了确定氨基酸序列同一性百分数的比对可以在本领域普通技术人员的能力范围内以各种方式实现，例如，通过使用公众可获得的计算机软件如BLAST，BLAST-2，ALIGN，Megalign(DNASTAR)软件，或GENETYX(注册商标)(Genetyx Co.，Ltd.)。本领域普通技术人员可以确定用于比对序列的适当参数，包括实现与被比较的序列的全长的最大比对所需的任何算法。然而，为了本文的目的，氨基酸序列同一性%的值，例如，使用序列比较计算机程序ALIGN-2产生。ALIGN-2由Genentech，Inc.授权，并且源代码以用户文档资料在美国版权局，Washington D.C.，20559提交，其在美国版权登记号TXU510087下注册。ALIGN-2程序可从Genentech，Inc.，South San Francisco，California公开获得，或可以从源代码编译。应该编译ALIGN-2程序用于在UNIX(注册商标)操作系统上使用，包括数字UNIX(注册商标)V4.0D。所有序列比较参数由ALIGN-2程序设置并且不改变。

[0899] 在ALIGN-2用于氨基酸序列比较的情况下，给定氨基酸序列A与给定氨基酸序列B的氨基酸序列同一性%(其可以备选地表述为具有或包含与给定氨基酸序列B的某一氨基酸序列同一性%的给定氨基酸序列A)如下计算：100乘以分数X/Y，其中X是通过序列比对程序ALIGN-2的A和B的程序比对中得分为相同匹配的氨基酸残基数量，并且其中Y是B中氨基酸残基的总数。将理解，在氨基酸序列A的长度不等于氨基酸序列B的长度时，A与B的氨基酸序列同一性%将不等于B与A的氨基酸序列同一性%。除非另外具体说明，氨基酸序列同一性的所有%值使用本文公开内容C的描述的范围内所表明的ALIGN-2计算机程序获得。

[0900] 在本文所述的公开内容C的范围内，"药物组合物"通常是指治疗、预防、检查或诊断疾病的药剂。"药用载体"是指药物组合物中除活性成分之外的成分，其对于受试者是无毒的。所述药用载体包括，但不限于，缓冲剂、赋形剂、稳定剂和防腐剂。

[0901] 如在本文所述的公开内容C的范围内使用的，"治疗(treatment)"(和其语法上的变化形式如"治疗(treat)"或"治疗(treating)")是指试图改变被治疗的个体的天然过程的临床干预。对于预防或在临床病理过程中可以进行所述临床干预。所需治疗效果包括，但不限于，预防疾病的发生或复发，缓解症状，减少疾病的任何直接或间接病理结果，预防转移，降低疾病进展的速率，缓解或减轻疾病状态和缓和或改善预后。在一个实施方案中，公开内容C的抗体可以用于减缓疾病或病症的进程。

[0902] 在本文所述的公开内容C的范围内，抗体或药物组合物的"有效量"是指当以实现所需治疗或预防结果所需的剂量和时期使用时有效的量。

[0903] II.组合物和方法

[0904] 在一个实施方案中，公开内容C是基于对于IL-8具有pH-依赖性亲和力的抗-IL-8抗体作为药物组合物的可适用性。公开内容C的抗体，例如，在诊断或治疗其中IL-8过量存在的疾病中是有用的。

[0905] A.示例性抗-IL-8抗体

[0906] 在一个实施方案中，公开内容C提供对IL-8具有pH-依赖性亲和力的抗-IL-8抗体。

[0907] 在一个实施方案中，公开内容C提供对IL-8具有pH-依赖性亲和力的抗-IL-8抗体，其包含在以下的氨基酸序列内具有至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个或八个氨

基酸置换的序列：(a)包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2；和(f)包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3。

[0908] 在另一个实施方案中，公开内容C提供对IL-8具有pH-依赖性亲和力的抗-IL-8抗体，其在以下的氨基酸序列中的至少一个中包含至少一个氨基酸置换：(a)包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2；和(f)包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3。

[0909] 除非另有说明，氨基酸可以用任意其他氨基酸置换。在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体包含选自由以下组成的组的位置的一个或多个氨基酸置换：(a)序列SEQ ID NO:67中位置1处的天冬氨酸；(b)序列SEQ ID NO:67中位置2处的酪氨酸；(c)序列SEQ ID NO:67中位置3处的酪氨酸；(d)序列SEQ ID NO:67中位置4处的亮氨酸；(e)序列SEQ ID NO:67中位置5处的丝氨酸；(f)序列SEQ ID NO:68中位置1处的亮氨酸；(g)序列SEQ ID NO:68中位置2处的异亮氨酸；(h)序列SEQ ID NO:68中位置3处的精氨酸；(i)序列SEQ ID NO:68中位置4处的天冬酰胺；(j)序列SEQ ID NO:68中位置5处的赖氨酸；(k)序列SEQ ID NO:68中位置6处的丙氨酸；(l)序列SEQ ID NO:68中位置7处的天冬酰胺；(m)序列SEQ ID NO:68中位置8处的甘氨酸；(n)序列SEQ ID NO:68中位置9处的酪氨酸；(o)序列SEQ ID NO:68中位置10处的苏氨酸；(p)序列SEQ ID NO:68中位置11处的精氨酸；(q)序列SEQ ID NO:68中位置12处的谷氨酸；(r)序列SEQ ID NO:68中位置13处的酪氨酸；(s)SEQ ID NO:68中位置14处的丝氨酸序列；(t)序列SEQ ID NO:68中位置15处的丙氨酸；(u)序列SEQ ID NO:68中位置16处的丝氨酸；(v)序列SEQ ID NO:68中位置17处的缬氨酸；(w)序列SEQ ID NO:68中位置18处的赖氨酸；(x)序列SEQ ID NO:68中位置19处的甘氨酸；(y)序列SEQ ID NO:69中位置1处的谷氨酸；(z)序列SEQ ID NO:69中位置2处的天冬酰胺；(aa)序列SEQ ID NO:69中位置3处的酪氨酸；(ab)序列SEQ ID NO:69中位置4处的精氨酸；(ac)序列SEQ ID NO:69中位置5处的酪氨酸；(ad)序列SEQ ID NO:69中位置6处的天冬氨酸；(ae)序列SEQ ID NO:69中位置7处的缬氨酸；(af)序列SEQ ID NO:69中位置8处的谷氨酸；(ag)序列SEQ ID NO:69中位置9处的亮氨酸；(ah)序列SEQ ID NO:69中位置10处的丙氨酸；(ai)序列SEQ ID NO:69中位置11处的酪氨酸；(aj)序列SEQ ID NO:70中位置1处的精氨酸；(ak)序列SEQ ID NO:70中位置2处的丙氨酸；(al)序列SEQ ID NO:70中位置3处的丝氨酸；(am)序列SEQ ID NO:70中位置4处的谷氨酸；(an)序列SEQ ID NO:70中位置5处的异亮氨酸；(ao)序列SEQ ID NO:70中位置6处的异亮氨酸；(ap)序列SEQ ID NO:70中位置7处的酪氨酸；(aq)序列SEQ ID NO:70中位置8处的丝氨酸；(ar)序列SEQ ID NO:70中位置9处的酪氨酸；(as)序列SEQ ID NO:70中位置10处的亮氨酸；(at)序列SEQ ID NO:70中位置11处的丙氨酸；(au)序列SEQ ID NO:71中位置1处的天冬酰胺；(av)序列SEQ ID NO:71中位置2处的丙氨酸；(aw)序列SEQ ID NO:71中位置3处的赖氨酸；(ax)序列SEQ ID NO:71中位置4处的苏氨酸；(ay)序列SEQ ID NO:71中位置5处的亮氨酸；(az)序列SEQ ID NO:71中位置6处的丙氨酸；(ba)序列SEQ ID NO:71中位置7处的天冬氨酸；(bb)序列SEQ ID NO:72中位置1处的谷氨酰胺；(bc)序列SEQ ID NO:72中位置2处的组氨酸；(bd)序列SEQ ID NO:72中位置3处的组氨酸；(be)序列SEQ

ID NO:72中位置4处的苯丙氨酸;(bf)序列SEQ ID NO:72中位置5处的甘氨酸;(bg)序列SEQ ID NO:72中位置6的苯丙氨酸;(bh)序列SEQ ID NO:72中位置7处的脯氨酸;(bi)序列SEQ ID NO:72中位置8处的精氨酸;和(bj)序列SEQ ID NO:72中位置9处的苏氨酸。

[0910] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含选自由以下组成的组的位置处的一个或多个氨基酸置换:(a)序列SEQ ID NO:68中位置6处的丙氨酸;(b)序列SEQ ID NO:68中位置8处的甘氨酸;(c)序列SEQ ID NO:68中位置9处的酪氨酸;(d)序列SEQ ID NO:68中位置11处的精氨酸;和(e)序列SEQ ID NO:69中位置3处的酪氨酸。

[0911] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含选自由以下组成的组的位置处的氨基酸置换的一种或多种组合:(a)序列SEQ ID NO:68中位置6处的丙氨酸;(b)序列SEQ ID NO:68中位置8处的甘氨酸;(c)序列SEQ ID NO:68中位置9处的酪氨酸;(d)序列SEQ ID NO:68中位置11处的精氨酸;和(e)序列SEQ ID NO:69中位置3处的酪氨酸。

[0912] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含在以下位置处的氨基酸置换:(a)序列SEQ ID NO:68中位置9处的酪氨酸;(b)序列SEQ ID NO:68中位置11处的精氨酸;和(c)序列SEQ ID NO:69中位置3处的酪氨酸。

[0913] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含在以下位置处的氨基酸置换:(a)序列SEQ ID NO:68中位置6处的丙氨酸;(b)序列SEQ ID NO:68中位置8处的甘氨酸;(c)序列SEQ ID NO:68中位置9处的酪氨酸;(d)序列SEQ ID NO:68中位置11处的精氨酸;和(e)序列SEQ ID NO:69中位置3处的酪氨酸。

[0914] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含:(a)在序列SEQ ID NO:68中位置6处用天冬氨酸置换丙氨酸;(b)在序列SEQ ID NO:68中位置11处用脯氨酸置换精氨酸;和(c)在序列SEQ ID NO:69中位置3处用组氨酸置换酪氨酸。

[0915] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含:(a)在序列SEQ ID NO:68中位置8处用酪氨酸置换甘氨酸;和(b)在序列SEQ ID NO:68中位置9处用组氨酸置换酪氨酸。

[0916] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含:(a)在序列SEQ ID NO:68中位置6处用天冬氨酸置换丙氨酸;(b)在序列SEQ ID NO:68中位置8处用酪氨酸置换甘氨酸;(c)在序列SEQ ID NO:68中位置9处用组氨酸置换酪氨酸;(d)在序列SEQ ID NO:68中位置11处用脯氨酸置换精氨酸;和(e)在序列SEQ ID NO:69中位置3处用组氨酸置换酪氨酸。

[0917] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含HVR-H2,其包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列。

[0918] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含HVR-H3,其包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列。

[0919] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HVR-H2,和包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的HVR-H3。

[0920] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含选自由以下组成的组的位置处的一个或多个氨基酸置换:(a)序列SEQ ID NO:70中位置8处的丝氨酸;(b)序列SEQ ID NO:71中位置1处的天冬酰胺;(c)序列SEQ ID NO:71中位置5处的亮氨酸;和(d)序列SEQ ID NO:72中位置1处的谷氨酰胺。在另一个实施方案中,抗-IL-8抗体包含这些置换中的任意2,3,或全部4个的组合。

[0921] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体包含选自由以下组成的组的位置处的氨基酸置换的一种或多种组合：(a)序列SEQ ID NO:70中位置8处的丝氨酸；(b)序列SEQ ID NO:71中位置1处的天冬酰胺；(c)序列SEQ ID NO:71中位置5处的亮氨酸；和(d)序列SEQ ID NO:72中位置1处的谷氨酰胺。在另一个实施方案中，抗-IL-8抗体包含这些置换中的任意2,3,或全部4个的组合。

[0922] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体包含在以下位置处的氨基酸置换：(a)序列SEQ ID NO:71中位置1处的天冬酰胺；(b)序列SEQ ID NO:71中位置5处的亮氨酸；和(c)序列SEQ ID NO:72中位置1处的谷氨酰胺。

[0923] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体包含在以下位置处的氨基酸置换：(a)序列SEQ ID NO:70中位置8处的丝氨酸；(b)序列SEQ ID NO:71中位置1处的天冬酰胺；(c)序列SEQ ID NO:71中位置5处的亮氨酸；和(d)序列SEQ ID NO:72中位置1处的谷氨酰胺。

[0924] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体包含：

[0925] (a)在序列SEQ ID NO:71中位置1处用赖氨酸置换天冬酰胺；(b)在序列SEQ ID NO:71中位置5处的用组氨酸置换亮氨酸；和(c)在序列SEQ ID NO:72中位置1处用赖氨酸置换谷氨酰胺。

[0926] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体包含：(a)在序列SEQ ID NO:70中位置8处用谷氨酸置换丝氨酸；(b)在序列SEQ ID NO:71中位置1处用赖氨酸置换天冬酰胺；(c)在序列SEQ ID NO:71中位置5处用组氨酸置换亮氨酸；和(d)在序列SEQ ID NO:72中位置1处用赖氨酸置换谷氨酰胺。

[0927] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体包含HVR-L2，其包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列。

[0928] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体包含HVR-L3，其包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列。

[0929] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体具有包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1，包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L2，和包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的HVR-L3。

[0930] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体包含在下述位置的氨基酸置换：(a)序列SEQ ID NO:77中位置55处的丙氨酸；(b)序列SEQ ID NO:77中的位置57处的甘氨酸；(c)序列SEQ ID NO:77中位置58处的酪氨酸；(d)序列SEQ ID NO:77中位置60处的精氨酸；(e)序列SEQ ID NO:77中位置84处的谷氨酰胺；(f)序列SEQ ID NO:77中位置87处的丝氨酸；和(g)序列SEQ ID NO:77中位置103处的酪氨酸。

[0931] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体包含：(a)在序列SEQ ID NO:77中用天冬氨酸置换位置55处的丙氨酸；(b)在序列SEQ ID NO:77中位置57处用酪氨酸置换甘氨酸；(c)在序列SEQ ID NO:77中位置58处用组氨酸置换酪氨酸；(d)在序列SEQ ID NO:77中位置60处用脯氨酸置换精氨酸；(e)在序列SEQ ID NO:77中位置84处用苏氨酸置换谷氨酰胺；(f)在序列SEQ ID NO:77中位置87处用天冬氨酸置换丝氨酸；(g)和在序列SEQ ID NO:77中位置103处用组氨酸置换酪氨酸。

[0932] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体包含具有SEQ ID NO:78的氨基酸序

列的重链可变区。

[0933] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的轻链可变区。

[0934] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的轻链可变区。包含具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的轻链可变区的抗-IL-8抗体可以是以pH-依赖性的方式结合IL-8的抗-IL-8抗体。包含具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的轻链可变区的抗-IL-8抗体可以是在体内(例如,在血浆中)稳定保持IL-8-中和活性的抗-IL-8抗体。包含具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的轻链可变区的抗-IL-8抗体可以是具有低免疫原性的抗体。

[0935] 在备选的方面,公开内容C的抗-IL-8抗体还包括对IL-8具有pH-依赖性亲和力并且在以下的至少任意一个氨基酸序列中含有至少一个氨基酸置换的那些:(a)包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列的HVR-L3。

[0936] 在备选的方面,公开内容C的抗-IL-8抗体还包括对IL-8具有pH-依赖性亲和力并且含有以下各氨基酸序列中的至少一个氨基酸置换的那些:(a)包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的HVR-L3。

[0937] 在备选的方面,公开内容C的抗-IL-8抗体还包括对IL-8具有pH-依赖性亲和力并且在以下的至少任意一种氨基酸序列中含有至少一个氨基酸置换的那些:(a)包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的HVR-L3。

[0938] 在备选的方面,公开内容C的抗-IL-8抗体还包括对IL-8具有pH-依赖性亲和力并且在以下的至少任意一种氨基酸序列中含有至少一个氨基酸置换的那些:(a)包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的HVR-L3。

[0939] 在备选的方面,公开内容C的抗-IL-8抗体还包括对IL-8具有pH-依赖性亲和力并且在以下的至少任意一种氨基酸序列中含有至少一个氨基酸置换的那些:(a)包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的

HVR-L3。

[0940] 在备选的方面，公开内容C的抗-IL-8抗体还包括对IL-8具有pH-依赖性亲和力并且在以下的至少任意一种氨基酸序列中含有至少一个氨基酸置换的那些：(a)包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的HVR-L2；和(f)包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的HVR-L3。

[0941] 在备选的方面，公开内容C的抗-IL-8抗体还包括对IL-8具有pH-依赖性亲和力并且在以下的至少任意一种氨基酸序列中含有至少一个氨基酸置换的那些：(a)包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的HVR-L2；和(f)包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列的HVR-L3。

[0942] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体具有IL-8-中和活性。IL-8-中和活性是指抑制IL-8的生物活性的活性，或可以指抑制IL-8的受体结合的活性。

[0943] 在备选的方面中，公开内容C的抗-IL-8抗体是以pH-依赖性的方式结合IL-8的抗-IL-8抗体。在公开内容C的情况下，以pH-依赖性的方式结合IL-8的抗-IL-8抗体是指与在中性pH对IL-8的结合亲和力相比其在酸性pH对IL-8的结合亲和力降低的抗体。例如，pH-依赖性抗-IL-8抗体包括在中性pH比在酸性pH对IL-8具有更高亲和力的抗体。在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体在中性pH具有是在酸性pH的亲和力至少2倍，3倍，5倍，10倍，15倍，20倍，25倍，30倍，35倍，40倍，45倍，50倍，55倍，60倍，65倍，70倍，75倍，80倍，85倍，90倍，95倍，100倍，200倍，400倍，1000倍，10000倍或更多倍高的IL-8亲和力。结合亲和力可以使用，不特别限制，表面等离子共振方法(如BIACORE(注册商标))测量。结合速率常数(kon)和解离速率常数(koff)可以使用BIACORE(注册商标)T200评价软件(GE Healthcare)，基于简单的一对一Langmuir结合模型，通过同时匹配结合和解离传感图计算。平衡解离常数(KD)计算为koff/kon的比率。为了筛选其结合亲和力根据pH改变的抗体，不特别限制，可以使用ELISA，动力学排除测定(KinExA™)，等以及表面等离子共振方法(如BIACORE(注册商标))。pH-依赖性IL-8-结合能力是指以pH-依赖性的方式结合IL-8的性质。同时，抗体是否能够多次结合IL-8可以通过WO2009/125825中所述方法评估。

[0944] 在一个实施方案中，优选的是公开内容C的抗-IL-8抗体在中性pH具有小的对IL-8的解离常数(KD)。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在中性pH对IL-8的解离常数是，例如，0.3nM或更少，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在中性pH对IL-8的解离常数是，例如，0.1nM或更少，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在中性pH对IL-8的解离常数是，例如，0.03nM或更少，但不限于其。

[0945] 在一个实施方案中，优选的是，公开内容C的抗-IL-8抗体在pH 7.4对IL-8具有小的解离常数(KD)。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在pH 7.4对IL-8的解离常数是，例如，0.3nM或更少，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在pH 7.4对IL-8的解离常数是，例如，0.1nM或更少，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在pH 7.4对IL-8的解离常数是，例如，0.03nM或更少，但不限于其。

[0946] 在一个实施方案中，优选的是公开内容C的抗-IL-8抗体在酸性pH对IL-8具有大的解离常数(KD)。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在酸性pH对IL-8的解离常数是，例如，3nM或更多，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在酸性pH对IL-8的解离常数是，例如，10nM或更多，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在酸性pH对IL-8的解离常数是，例如，30nM或更多，但不限于其。

[0947] 在一个实施方案中，优选的是公开内容C的抗-IL-8抗体在pH 5.8对IL-8具有大的解离常数(KD)。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在pH 5.8对IL-8的解离常数是，例如，3nM或更多，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在pH 5.8对IL-8的解离常数是，例如，10nM或更多，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在pH5.8对IL-8的解离常数是，例如，30nM或更多，但不限于其。

[0948] 在一个实施方案中，优选的是，公开内容C的抗-IL-8抗体对IL-8的结合亲和力在中性pH比在酸性pH高。

[0949] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体在酸性pH和中性pH之间的解离常数比，[KD(酸性pH)/KD(中性pH)]，是例如，30或更多，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体在酸性pH和中性pH之间的解离常数比，[KD(酸性pH)/KD(中性pH)]，是例如，100或更多，例如，200，300，400，500，600，700，800，900，1000，1500，2000，2500，3000，3500，4000，4500，5000，5500，6000，6500，7000，7500，8000，8500，9000，或9500，但不限于其。

[0950] 在一个实施方案中，公开内容C的抗-IL-8抗体在pH 5.8和pH 7.4之间的解离常数比，[KD(pH 5.8)/KD(pH 7.4)]，是30或更多，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在pH 5.8和pH 7.4之间的解离常数比，[KD(pH 5.8)/KD(pH 7.4)]，是例如，100或更多，例如，200，300，400，500，600，700，800，900，1000，1500，2000，2500，3000，3500，4000，4500，5000，5500，6000，6500，7000，7500，8000，8500，9000，或9500，但不限于其。

[0951] 在一个实施方案中，优选的是，公开内容C的抗-IL-8抗体在酸性pH具有大的解离速率常数(koff)。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在酸性pH的解离速率常数是，例如，0.003(1/s)或更多，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在酸性pH的解离速率常数是，例如，0.005(1/s)或更多，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在酸性pH的解离速率常数是，例如，0.01(1/s)或更多，但不限于其。

[0952] 在一个实施方案中，优选的是，公开内容C的抗-IL-8抗体在pH 5.8具有大的解离速率常数(koff)。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在pH 5.8的解离速率常数是，例如，0.003(1/s)或更多，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在pH 5.8的解离速率常数是，例如，0.005(1/s)或更多，但不限于其。在一个实施方案中，公开内容C的抗体在pH 5.8的解离速率常数是，例如，0.01(1/s)或更多，但不限于其。

[0953] 在一个实施方案中，优选的是，公开内容C的抗-IL-8抗体在溶液中(例如，在PBS中)稳定地保持IL-8-中和活性。活性是否在溶液中稳定保持可以通过测量加入溶液的公开内容C的抗体的IL-8-中和活性在某温度储存一定时期之前和之后是否改变来评估。在一个实施方案中，储存期是，例如，一、二、三或四周，但不限于其。在一个实施方案中，储存温度是，例如，25℃，30℃，35℃，40℃，或50℃，但不限于其。在一个实施方案中，储存温度是，例如，40℃，但不限于其中；并且储存期是，例如，两周，但不限于其。在一个实施方案中，储存

温度是,例如,50℃,但不限于其中;并且储存期是,例如,一周,但不限于其。

[0954] 在一个实施方案中,优选的是,公开内容C的抗-IL-8抗体在体内(例如,在血浆中)稳定保持IL-8-中和活性。活性在体内是否稳定保持可以通过测量加入动物(例如,小鼠)或人的血浆中的公开内容C的抗体的IL-8-中和活性在某温度储存一定时期之前和之后是否改变来评估。在一个实施方案中,储存期是,例如,一、二、三或四周,但不限于其。在一个实施方案中,储存温度是,例如,25℃,30℃,35℃,或40℃,但不限于其。在一个实施方案中,储存温度是,例如,40℃,但不限于其中;并且储存期是,例如,两周,但不限于其。

[0955] 在一个实施方案中,与单独抗体相比,当抗体与IL-8形成复合物时,细胞摄取公开内容C的抗-IL-8抗体的速率更大。公开内容C的IL-8抗体在其与细胞外(例如,血浆中)的IL-8复合时,比不与IL-8复合时更容易摄入细胞。

[0956] 在一个实施方案中,优选的是,公开内容C的抗-IL-8抗体的预测的免疫原性(其在人宿主中预测)降低。"低免疫原性"可以意为,不限于其中,例如,施用的抗-IL-8抗体在至少一半或更多的施用以足够量的抗体达足够的时期以实现治疗功效的个体中不引起活体的免疫应答。免疫应答的诱导可以包括抗药物抗体的产生。"低抗药物抗体产生"可与"低免疫原性"可交换。人中的免疫原性可以利用T细胞表位预测程序评估。所述T细胞表位预测程序包括Epibase(Lonza),iTope/TCED(Antitope),EpiMatrix(EpiVax)等。EpiMatrix是用于预测研究的蛋白的免疫原性的系统,其中肽片段的序列通过将用于分析其免疫原性的蛋白的氨基酸序列分为每个九个氨基酸来自动设计,从而预测其结合八个主要II型MHC等位基因(DRB1*0101,DRB1*0301,DRB1*0401,DRB1*0701,DRB1*0801,DRB1*1101,DRB1*1301,和DRB1*1501)的能力(De Groot等人,Clin.Immunol.131(2):189-201(2009))。其中抗-IL-8抗体的氨基酸序列的氨基酸被修饰的序列可以使用上述T细胞表位预测程序分析,以设计具有降低的免疫原性的序列。降低公开内容C的抗-IL-8抗体的免疫原性的优选的氨基酸修饰位点包括,但不限于,SEQ ID NO:78所示的抗-IL-8抗体的重链序列中根据Kabat编号在位置81和/或位置82b处的氨基酸。

[0957] 在一个实施方案中,公开内容C提供与使用参照抗体时相比增强从个体中去除IL-8的方法,其包括向个体施用公开内容C的抗-IL-8抗体。在一个实施方案中,公开内容C涉及与使用参照抗体时相比,公开内容C的抗-IL-8抗体在增强从个体中去除IL-8中的用途。在一个实施方案中,公开内容C涉及公开内容C的抗-IL-8抗体,其用于与使用参照抗体时相比增强从个体中去除IL-8。在一个实施方案中,公开内容C涉及公开内容C的抗-IL-8抗体在生产与使用参照抗体时相比增强IL-8的体内去除的药物组合物中的用途。在一个实施方案中,公开内容C涉及药物组合物,其包含与使用参照抗体时相比增强IL-8的去除的公开内容C的抗-IL-8抗体。在一个实施方案中,公开内容C涉及与使用参照抗体时相比增强去除IL-8的方法,其包括向受试者施用公开内容C的抗-IL-8抗体。在公开内容C的实施方案中,参照抗体是指在修饰以获得公开内容C的抗体之前的抗-IL-8抗体,或其IL-8结合亲和力在酸性和中性pHs都强的抗体。参照抗体可以是包含SEQ ID NOs:83和84,或SEQ ID NOs:89和87的氨基酸序列的抗体。

[0958] 在一个实施方案中,公开内容C提供药物组合物,其包含公开内容C的抗-IL-8抗体,特征在于公开内容C的抗-IL-8抗体结合IL-8并且随后结合胞外基质。在一个实施方案中,公开内容C涉及公开内容C的抗-IL-8抗体在生产药物组合物中的用途,特征在于公开内

容C的抗-IL-8抗体结合IL-8并且随后结合胞外基质。

[0959] 在上述任意实施方案中,抗-IL-8抗体可以是人源化抗体。

[0960] 在一个方面,公开内容C的抗体包含上述实施方案中的任一个的重链可变区和上实施方案述中的任一个的轻链可变区。在一个实施方案中,公开内容C的抗体包含SEQ ID NO:78的重链可变区和SEQ ID NO:79的轻链可变区中的每个,并且还可以包含其序列中的翻译后修饰。

[0961] 在进一步的方面,根据上述实施方案中的任一个的抗-IL-8抗体可以单个或组合地结合下述1至7节中所述的特征中的任一个。

[0962] 1.嵌合抗体和人源化抗体

[0963] 在某些实施方案中,公开内容C中提供的抗体可以是嵌合抗体。某些嵌合抗体,例如,在美国专利号4,816,567;和Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-6855(1984)中描述。在一个实例中,嵌合抗体可以包含非人可变区(例如,源自小鼠,大鼠,仓鼠,兔,或非人灵长类如猴的可变区)和人恒定区。

[0964] 在某些实施方案中,嵌合抗体是人源化抗体。通常,将非人抗体人源化以降低在人中的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。通常,人源化抗体包含一个或多个可变区,其中HVRs,例如,CDRs(或其部分)源自非人抗体,并且FRs(或其部分)源自人抗体序列。人源化抗体任选地还将包含人恒定区的至少一部分。在一些实施方案中,人源化抗体中的一些FR残基可以用来自非人抗体(例如,HVR残基源自的抗体)的对应残基置换,例如,来保留或改善抗体特异性或亲和力。

[0965] 人源化抗体和制备它们的方法,例如,在Almagro等人,Front.Biosci.13:1619-1633(2008)中综述,并且在,例如,Riechmann等人,Nature 332:323-329(1988);Queen等人,Proc.Natl Acad.Sci.USA 86:10029-10033(1989);美国专利号5,821,337,7,527,791,6,982,321,和7,087,409;Kashmiri等人,Methods 36:25-34(2005)(描述特异性决定区(SDR)接枝(grafting));Padlan,Mol.Immunol.28:489-498(1991)(描述"表面重建(resurfacing)");Dall'Acqua等人,Methods 36:43-60(2005)(描述"FR改组(shuffling)");和Osboum等人,Methods 36:61-68(2005)和Klimka等人,Br.J.Cancer 83:252-260(2000)(描述"引导的选择"方法来FR改组)进一步描述。

[0966] 可以用于人源化的人框架区包括但不限于使用"最匹配"方法选择的框架区(参见,例如,Sims等人,J.Immunol.151:2296(1993));源自轻链或重链可变区的特定亚组的人抗体共有序列的框架区(参见,例如,Carter等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);和Presta等人,J.Immunol.,151:2623(1993));和源自筛选FR文库的框架区(参见,例如,Baca等人,J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997)和Rosok等人,J.Biol.Chem.271:22611-22618(1996))。

[0967] 2.抗体片段

[0968] 在某些实施方案中,公开内容C中提供的抗体可以是抗体片段。抗体片段包括,但不限于,Fab,Fab′,Fab′-SH,$F(ab')_2$,Fv,和scFv片段,和下文描述的其他片段。对于某些抗体片段的综述,参见Hudson等人,Nat.Med.9:129-134(2003)。对于scFv片段的综述,参见例如,Pluckthun,The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,vol.113,Rosenburg和Moore eds.,(Springer-Verlag,New York),pp.269-315(1994);还参见WO 93/16185;和美

国专利号5,571,894和5,587,458。

[0969] 双抗体(Diabodies)是可以是二价或双特异性的具有两个抗原结合位点的抗体片段。参见,例如,EP 404,097;WO 1993/01161;Hudson等人,Nat.Med.9:129-134(2003);和Hollinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448(1993)。三抗体和四抗体也在Hudson等人,Nat.Med.9:129-134(2003)中描述。

[0970] 单结构域抗体是包含抗体的重链可变结构域的全部或部分或轻链可变结构域的全部或部分的抗体片段。在某些实施方案中,单结构域抗体可以是人单结构域抗体(Domantis,Inc.,Waltham,MA;参见,例如,美国专利号6,248,516 B1)。抗体片段可以通过各种技术制备,包括但不限于蛋白水解消化完整抗体以及通过重组宿主细胞(例如,大肠杆菌或噬菌体)生产,如在本文公开内容C的描述的范围内描述的。

[0971] 3.人抗体

[0972] 在某些实施方案中,公开内容C中提供的抗体可以是人抗体。人抗体可以通过本领域中已知的各种技术制备。人抗体总的来讲在van Dijk和van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.5:368-74(2001)以及Lonberg,Curr.Opin.Immunol.20:450-459(2008)中描述。人抗体可以通过将免疫原施用给已经修饰以响应抗原攻击产生完整人抗体或具有人可变区的完整抗体的转基因动物来制备。所述动物通常含有人免疫球蛋白基因座的全部或部分,其替代动物(非人)的免疫球蛋白基因座,或在染色体外存在或随机整合入动物的染色体。在所述转基因小鼠中,动物(非人)的免疫球蛋白基因座通常被失活。对于从转基因动物获得人抗体的方法的综述,参见Lonberg,Nat.Biotech.23:1117-1125(2005)。对于XENOMOUSE™技术还参见美国专利号6,075,181和6,150,584;对于HUMAB™技术参见美国专利号5,770,429;对于K-M MOUSE™技术参见美国专利号7,041,870,并且对于VELOCIMOUSE™技术参见美国专利申请公开号US 2007/0061900。

[0973] 来自通过所述动物产生的完整抗体的人可变区可以进一步修饰,例如,通过与不同人恒定区组合修饰。人抗体还可以基于杂交瘤的方法制备。用于生产人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人杂骨髓瘤细胞系,例如,在Kozbor,J.Immunol.133:3001(1984);Brodeur等人,Monoclonl Antibody Production Techniques and Applications,pp.51-63(Marcel Dekker,Inc.,New York,1987);和Boerner等人,J.Immunol.147:86(1991)中描述。经由人B-细胞杂交瘤产生的人抗体在Li等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 103:3557-3562(2006)中描述。其他方法包括,例如,美国专利号7,189,826中描述的方法,用于从杂交瘤细胞系生产单克隆人IgM抗体,以及,例如,在Ni,Xiandai Mianyixue,26(4):265-268(2006)中描述的用于人-人杂交瘤的方法。人杂交瘤技术(三源杂交瘤(trioma)技术)还在Vollmers等人,Histol.&Histopath.20(3):927-937(2005)和Vollmers等人,Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology 27(3):185-91(2005)中描述。人抗体还可以通过分离选自人源的噬菌体展示文库的Fv克隆可变结构域序列产生。可以将所述可变结构域序列与所需人恒定结构域组合。从抗体文库选择人抗体的技术在下文描述。

[0974] 4.文库-衍生的抗体

[0975] 公开内容C的抗体可以通过对组合文库筛选具有所需一种活性或多种活性的抗体而分离。例如,多种本领域中已知的方法用于产生噬菌体展示文库和对所述文库筛选具有

所需结合特性的抗体。所述方法在Hoogenboom等人,Meth.Mol.Biol.178:1-37(O'Brien等人,ed.,人Press,Totowa,NJ,2001),以及,例如,在McCafferty等人,Nature 348:552-554(1990);Clackson等人,Nature 352:624-628(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.222:581-597(1992);Marks和Bradbury,在Meth.Mol.Biol.248:161-175(Lo,ed.,Human Press,Totowa,NJ,2003);Sidhu等人,J.Mol.Biol.338(2):299-310(2004);Lee等人,J.Mol.Biol.340(5):1073-1093(2004);Fellouse,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101(34):12467-12472(2004);和Lee等人,J.Immunol.Meth.284(1-2):119-132(2004)中综述。

[0976] 在某些噬菌体展示方法中,VH和VL编码序列的组库(repertoires)可以通过聚合酶链反应(PCR)分开克隆并随机重组在噬菌体文库中。对得到的噬菌体文库筛选结合抗原的噬菌体,如Winter等人,Ann.Rev.Immunol.12:433-455(1994)中所述。噬菌体通常展示抗体片段,其为单链Fv(scFv)片段或为Fab片段。

[0977] 备选地,可以(例如,从人)克隆未免疫(naive)组库以提供不进行任何免疫的针对宽范围的非自身以及自身抗原的抗体的单个来源,如Griffiths等人,EMBO J.12:725-734(1993)所述的。

[0978] 最后,未免疫文库也可以通过从干细胞克隆未重排的V基因片段,并使用含有随机序列的PCR引物来编码高变CDR3区并完成体外重排来经由合成构建(参见下文Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.,227:381-388(1992);描述人抗体噬菌体文库的专利公开包括,例如:美国专利号5,750,373;和美国申请公开号2005/0079574,2005/0119455,2005/0266000,2007/0117126,2007/0160598,2007/0237764,2007/0292936,和2009/0002360。本文中,分离自人抗体文库的抗体或抗体片段被认为是人抗体或人抗体片段。

[0979] 5.多特异性抗体

[0980] 在某些实施方案中,根据公开内容C提供的抗体可以是,例如,多特异性抗体如双特异性抗体。多特异性抗体是对至少两个不同位点具有结合特异性的单克隆抗体。

[0981] 在某些实施方案中,结合特异性之一是针对IL-8,并且另一个是针对任意其他抗原。

[0982] 在某些实施方案中,双特异性抗体可以结合IL-8上的两个不同表位。双特异性抗体还可以用于将细胞毒性剂定位到表达IL-8的细胞。双特异性抗体可以制备为全长抗体或抗体片段。

[0983] 用于制备多特异性抗体的技术包括,但不限于,重组共表达具有不同特异性的两条免疫球蛋白重链-轻链对(参见Milstein和Cuello,Nature 305:537(1983));WO 93/08829;和Traunecker等人,EMBO J.10:3655(1991))和"杵臼结构(knob-in-hole)"方法(参见美国专利号5,731,168)。多特异性抗体可以通过使用静电控制效应制备Fc-异源二聚分子(WO2009/089004A1),通过交联两种或更多种抗体或片段(美国专利号4,676,980;和Brennan等人,Science 229:81(1985)),通过使用亮氨酸拉链产生双特异性抗体(Kostelny等人,J.Immunol.148(5):1547-1553(1992)),通过使用"双抗体"技术来制备双特异性抗体片段(Hollinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448(1993)),通过使用单链Fv(scFv)二聚体(Gruber等人,J.Immunol.152:5368(1994)),或其他方法来制备。三特异性抗体的制备,例如,在Tutt等人,J.Immunol.147:60(1991)中描述。

[0984] 具有三个或更多个功能性抗原结合位点的改造的抗体,包括"章鱼抗体",也包括

在本文中(参见,例如,US 2006/0025576)。

[0985] 在本文公开内容C的描述的范围内,抗体或抗体片段还包括"双重作用FAb"或"DAF",其包含结合IL-8以及另一个不同抗原的抗原结合位点(参见US 2008/0069820,例如)。

[0986] 6.抗体变体

[0987] 抗体的氨基酸序列变体可以通过将适当的修饰引入编码所述抗体的核苷酸序列,或通过肽合成来制备。所述修饰包括,例如,缺失,和/或插入,和/或置换抗体氨基酸序列中的残基。最终构建体可以利用缺失,插入和置换的任意组合实现,只要最终构建体是具有公开内容C的情况下描述的所需性质的抗体即可。

[0988] 在一个实施方案中,公开内容C提供具有一个或多个氨基酸置换的抗体变体。所述置换位点可以抗体中的任意位置。用于保守置换的氨基酸显示在表10中标题"保守型置换"下。导致更实质改变的典型置换的氨基酸显示在表10中标题"典型置换"下,并且进一步参考氨基酸侧链类型描述。

[0989] [表10]

[0990]

最初残基	典型置换	保守性置换
Ala(A)	Val;Leu;Ile	Val
Arg(R)	Lys;Gln;Asn	Lys
Asn(N)	Gln;His;Asp,Lys;Arg	Gln
Asp(D)	Glu;Asn	Glu
Cys(C)	Ser;Ala	Ser
Gln(Q)	Ash;Glu	Asn
Glu(E)	Asp;Gln	Asp
Gly(G)	Ala	Ala
His(H)	Asn;Gln;Lys;Arg	Arg
Ile(I)	Leu;Val;Met;Ala;Phe;正亮氨酸	Leu
Leu(L)	正亮氨酸;Ile;Val;Met;Ala;Phe	Ile
Lys(K)	Arg;Gln;Asn	Arg
Met(M)	Leu;Phe;Ile	Leu
Phe(F)	Trp;Leu;Val;Ile;Ala;Tyr	Tyr
pro(P)	Ala	Ala
Ser(S)	Thr	Thr
Thr(T)	Val;Ser	Ser
Trp(W)	Tyr;Phe	Tyr
Tyr(Y)	Trp;Phe;Thr;Ser	Phe
Val(V)	Ile;Leu;Met;Phe;Ala;正亮氨酸	Leu

[0991] 氨基酸可以根据常见侧链性质分为:(1)疏水的:正亮氨酸,Met,Ala,Val,Leu,Ile;(2)中性亲水的:Cys,Ser,Thr,Asn,Gln;(3)酸性的:Asp,Glu;(4)碱性的:His,Lys,Arg;(5)影响链取向的残基:Gly,Pro;和(6)芳族的:Trp,Tyr,Phe。

[0992] 非保守性置换将需要将这些类型中的一种的成员交换为另一种类型。

[0993] 氨基酸插入包括融合在N末端和/或C末端包括一个、两个、或三个至一百个或更多个残基的多肽，以及将一个或多个氨基酸残基插入序列中。具有这种末端插入的抗体包括，例如，具有N-末端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的其他插入变体包括将抗体N-或C-末端融合于增加抗体的血浆半衰期的酶(例如，ADEPT)或多肽的那些。

[0994] 7.糖基化的变体

[0995] 在一个实施方案中，根据公开内容C提供的抗体可以是糖基化的抗体。可以通过以产生或去除糖基化位点的方式改变氨基酸序列的方式向抗体添加或从抗体缺失糖基化位点。

[0996] 当抗体包含Fc区时，可以改变与其连接的糖链。由动物细胞产生的天然抗体通常含有分枝的，分两支的寡糖，其通过N-连接连接于Fc区的CH2结构域的Asn297(参见Wright等人TIBTECH 15:26-32(1997))。寡糖包括，例如，甘露糖，N-乙酰葡糖胺(GlcNAc)，半乳糖，和唾液酸，以及岩藻糖，其在分两支的寡糖结构的“茎”中连接于GlcNAc。在一个实施方案中，将公开内容C的抗体中的寡糖修饰以产生具有某些改善的性质的抗体变体。

[0997] 8.Fc区变体

[0998] 在一个实施方案中，将一个或多个氨基酸修饰引入根据公开内容C提供的抗体的Fc区中，由此产生Fc区变体。Fc区变体包括在天然人Fc区序列(例如，人IgG1，IgG2，IgG3，或IgG4的Fc区)中具有一个、两个、三个或更多个氨基酸的修饰(例如，置换)的那些。

[0999] 公开内容C的抗-IL-8抗体可以含有具有以下五个性质中的至少一个的Fc区，不限于其中：(a)在酸性pH，相对于天然Fc区对于FcRn的结合亲和力，增加的Fc区对于FcRn的结合亲和力；(b)相对于天然Fc区对于预先存在的ADA的结合亲和力，降低的Fc区对于预先存在的ADA的结合亲和力；(c)相对于天然Fc区的血浆半衰期，增加的Fc区的血浆半衰期；(d)相对于天然Fc区的血浆清除，降低的Fc区的血浆清除；和(e)相对于天然Fc区对于效应受体的结合亲和力，降低的Fc区对于效应受体的结合亲和力。在一些实施方案中，Fc区具有上述性质中的2，3或4个。在一个实施方案中，Fc区变体包括在酸性pH具有增加的FcRn-结合亲和力的那些。具有增加的FcRn-结合亲和力的Fc区变体包括，但不限于，与包含天然IgG Fc区的抗体的FcRn-结合亲和力相比，其FcRn-结合亲和力增加多达2-倍，3-倍，4-倍，5-倍，10-倍，15-倍，20-倍，30-倍，50-倍，或100-倍的Fc区变体。

[1000] 在一个实施方案中，Fc区变体包括不结合预先存在的ADA，并且同时具有改善的血浆保留的安全和有利的Fc区变体。如公开内容C的范围中使用的，术语″ADA″是指对治疗性抗体上的表位具有结合亲和力的内源性抗体。如公开内容C的范围内使用的，术语″预先存在的ADA″是指在向患者施用治疗性抗体前存在于患者的血液中的可检测的抗药物抗体。预先存在的ADA包括类风湿因子。具有低的对预先存在的ADA的结合亲和力的Fc区变体包括，但不限于，与包含天然IgG Fc区的抗体的ADA-结合亲和力相比，其ADA-结合亲和力降低到1/10或更少，1/50或更少，或1/100或更少的Fc区变体。

[1001] 在一个实施方案中，Fc区变体包括其对补体蛋白的结合亲和力低或不结合补体蛋白的Fc区变体。补体蛋白包括C1q。具有低的对补体蛋白的结合亲和力的Fc区变体包括，但不限于，与包含天然IgG Fc区的抗体的补体蛋白-结合亲和力相比，其对补体蛋白的结合亲和力降低至1/10或更少，1/50或更少，或1/100或更少的Fc区变体。

[1002] 在一个实施方案中，Fc区变体包括其对效应受体的结合亲和力低或对效应受体不

具有结合亲和力的Fc区变体。效应受体包括,但不限于,FcγRI,FcγRII,和FcγRIII。FcγRI包括,但不限于,FcγRIa,FcγRIb,和FcγRIc,以及其亚型。FcγRII包括,但不限于,FcγRIIa(其具有两个同种异型:R131和H131)和FcγRIIb。FcγRIII包括,但不限于,FcγRIIIa(其具有两个同种异型:V158和F158)和FcγRIIIb(其具有两个同种异型:FcγRIIIb-NA1和FcγRIIIb-NA2)。对效应受体具有低结合亲和力的Fc区变体包括,但不限于,与包含天然IgG Fc区的抗体的结合亲和力相比,其对效应受体的结合亲和力降低至至少1/10或更少,1/50或更少,或1/100或更少的Fc区变体。

[1003] 在一个实施方案中,与天然Fc区相比,Fc区变体包括包含由以下组成的组的位置处的任一个处的一个或多个氨基酸置换的Fc区:位置235,236,239,327,330,331,428,434,436,438,和440(根据EU编号)。

[1004] 在一个实施方案中,与天然Fc区相比,Fc区变体包括包含根据EU编号在位置235,236,239,428,434,436,438,和440处的氨基酸置换的Fc区。

[1005] 在一个实施方案中,与天然Fc区相比,Fc区变体包括包含根据EU编号在位置235,236,327,330,331,428,434,436,438,和440处的氨基酸置换的Fc区。

[1006] 在一个实施方案中,Fc区变体包括包含选自由以下组成的组的一个或多个氨基酸置换的Fc区:L235R,G236R,S239K,A327G,A330S,P331S,M428L,N434A,Y436T,Q438R,和S440E。

[1007] 在一个实施方案中,Fc区变体包括包含M428L,N434A,Y436T,Q438R,和S440E的氨基酸置换的Fc区。

[1008] 在一个实施方案中,Fc区变体包括包含L235R,G236R,S239K,M428L,N434A,Y436T,Q438R,和S440E的氨基酸置换的Fc区。

[1009] 在一个实施方案中,Fc区变体包括包含L235R,G236R,A327G,A330S,P331S,M428L,N434A,Y436T,Q438R,和S440E的氨基酸置换的Fc区。

[1010] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列。包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以是以pH-依赖性的方式结合IL-8的抗-IL-8抗体。包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以在体内(例如,在血浆)中稳定保持IL-8-中和活性。包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以是具有低免疫原性的抗体。包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以含有其在酸性pH(例如,pH 5.8)的FcRn-结合亲和力与天然Fc区在酸性pH的FcRn-结合亲和力相比增加的Fc区。包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以含有与天然Fc区对预先存在的ADA的结合亲和力相比,其对预先存在的ADA的结合亲和力降低的Fc区。包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以含有与天然Fc区相比其在血浆中半衰期延长的Fc区。包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以含有与天然Fc区相比其对效应受体的结合亲和力降低的Fc区。在另一个实施方案中,抗-IL-8抗体包含上述性质中的任意2,3,4,5,6,或全部7个的组合。

[1011] 在一个实施方案中,公开内容C的抗-IL-8抗体包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列

和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列。包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以是以pH-依赖性的方式结合IL-8的抗-IL-8抗体。包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以在体内(例如,在血浆中)稳定保持IL-8-中和活性。包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以是具有低免疫原性的抗体。包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以含有其在酸性pH的FcRn-结合亲和力与天然Fc区的FcRn-结合亲和力相比增加的Fc区。包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以含有与天然Fc区对预先存在的ADA的结合亲和力相比其对预先存在的ADA的结合亲和力降低的Fc区。包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以含有其在血浆中的半衰期与天然Fc区相比延长的Fc区。包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:82的氨基酸序列的抗-IL-8抗体可以含有与天然Fc区相比其对效应受体的结合亲和力降低的Fc区。在另一个实施方案中,抗-IL-8抗体包含上述性质中的任意2,3,4,5,6,或全部7个的组合。

[1012] 在某些实施方案中,公开内容C包括具有一些但不具有全部效应子功能的抗体变体。抗体变体可以对于其中某些效应子功能(如补体和ADCC)是不必需的或有害的情况是所需候选物。可以常规进行本领域中已知的体外和/或体内细胞毒性测定以确认CDC和/或ADCC活性的降低/完全丧失。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合测定以确认缺少FcγR结合(因此缺少ADCC活性),但保留FcRn结合能力的抗体。

[1013] 介导ADCC和NK细胞的原代培养的细胞仅表达FcγRIII,而单核细胞表达FcγRI,FcγRII和FcγRIII。造血细胞上的FcR表达在Ravetch等人,Annu.Rev.Immunol.9:457-492(1991)的第464页上的表3中总结。评估研究的分子的ADCC活性的体外测定的非限制性实例在美国专利号5,500,362中描述(参见,例如Hellstrom.等人,Proc.Natl Acad.Sci.USA 83:7059-7063(1986),Hellstrom等人,Proc.Natl Acad.Sci.USA 82:1499-1502(1985);美国专利号5,821,337,和Bruggemann等人,J.Exp.Med.166:1351-1361(1987))。备选地,非放射性同位素测定可用于评估效应细胞功能(参见,例如,用于流式细胞术的ACTI(TM)非放射性细胞毒性测定(CellTechnology,Inc.Mountain View,CA;和CytoTox 96™非放射性细胞毒性测定(Promega,Madison,WI))。用于此种测定的效应细胞包括外周血单核细胞(PBMC)和天然杀伤(NK)细胞。

[1014] 备选地或另外,目标抗体变体的ADCC活性可以在例如,Clynes等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 95:652-656(1998)中公开的动物模型体内评估。还可以进行C1q结合测定以确认抗体不能结合C1q并且缺乏CDC活性。参见,例如,WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体激活,可以进行CDC测定(参见,例如,Gazzano-Santoro等人,J.Immunol.Meth.202:163(1996);Cragg等人,Blood 101:1045-1052(2003);和Cragg等人,Blood 103:2738-2743(2004))。FcRn结合和体内清除/半衰期的确定可以使用本领域中已知的方法进行(参见,例如,Petkova等人,Intl.Immunol.18(12):1759-1769(2006))。

[1015] 具有降低的效应子功能的抗体包括在位置238,265,269,270,297,327或329置换一个或多个的Fc区残基的那些(美国专利号6,737,056)。所述Fc区变体包括具有位置265,269,270,297或327处的两个或更多个残基的置换的Fc区变体,包括所谓的"DANA"Fc区变

体,其残基265和297置换为丙氨酸(美国专利号7,332,581)。

[1016] 具有改善的或减小的对FcR组的结合的抗体变体在下文描述。(参见,例如,美国专利号6,737,056;WO 2004/056312,和Shields等人,J.Biol.Chem.9(2):6591-6604(2001)。)

[1017] 具有增加的血液半衰期和改善的在酸性pH的FcRn结合的抗体在US2005/0014934中描述。描述的抗体包含具有改善Fc区对FcRn的结合的一个或多个置换的Fc区。所述Fc区变体包括具有选自Fc区中238,256,265,272,286,303,305,307,311,312,317,340,356,360,362,376,378,380,382,413,424或434的一个或多个位置处的置换的那些,例如,Fc区中位置434的置换(美国专利号7,371,826)。

[1018] 对于Fc区变体的其他实例,还参见Duncan等人,Nature 322:738-40(1988);美国专利号5,648,260;美国专利号5,624,821;和WO 94/29351。

[1019] 9.抗体衍生物

[1020] 在某些实施方案中,可以进一步修饰公开内容C中提供的抗体以含有本领域中已知和容易得到的另外的非蛋白结构部分。适于衍生抗体的结合部分包括,但不限于,水可溶性聚合物。可溶性聚合物的实例包括,但不限于,聚乙二醇(PEG),乙二醇或丙二醇的共聚物,羧甲基纤维素,葡聚糖,聚乙烯醇,聚乙烯吡咯烷酮,聚-1,3-二氧杂环戊烷,聚-1,3,6-三氧杂环己烷,乙烯/马来酸苷共聚物,聚氨基酸(同源聚合物或无规共聚物),聚(n-乙烯吡咯烷酮)聚乙二醇,丙二醇均聚物,脯氨酰环氧丙烷/环氧乙烷共聚物,聚氧乙基化醇(例如,甘油),聚乙烯醇及其混合物。

[1021] 聚乙二醇丙醛在工业上有利,因为其在水中的稳定性。所述聚合物可以是任意分子量,并且可以是分支的或不分支的。与抗体连接的聚合物的数量可以改变,并且如果连接多于一个聚合物,它们可以是相同或不同分子。通常,用于衍生的聚合物的数量和/或类型可以基于以下考虑因素确定,所述考虑因素包括但不限于,当抗体衍生物用于限定的疗法时要改善的抗体的特定性质或功能,等。

[1022] 在另一个实施方案中,可以提供公开内容C的抗-IL-8抗体和可以通过暴露于照射选择性加热的非蛋白结构部分的缀合物。在一个实施方案中,非蛋白结构部分是,例如,碳纳米管(参见,例如,Kam等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102:11600-11605(2005))。照射可以是任意波长的并且包括,不限于,对人无害但可以将非蛋白结构部分加热到温度从而杀死接近抗体-非蛋白结构部分的细胞的波长。

[1023] B.重组方法和组合物

[1024] 公开内容C的抗-IL-8抗体可以使用重组方法和组合物产生,例如,如美国专利号4,816,567中所述的。一个实施方案提供编码作为公开内容C提供的抗-IL-8抗体的一种或多种分离的核酸。所述一种或多种核酸可以编码包含抗体的VL的氨基酸序列和/或包含抗体的VH的氨基酸序列(例如,抗体的轻链和/或重链)。在另一个实施方案中,提供包含所述核酸的一种或多种载体(例如,表达载体)。在一个实施方案中,提供包含所述一种或多种核酸的宿主细胞。在一个此种实施方案中,宿主细胞包含(例如,转化有):(1)编码抗体的VL和抗体的VH的核酸的载体,或(2)包含编码抗体的VL的核酸的第一载体和编码抗体的VH的核酸的第二载体。

[1025] 在一个实施方案中,宿主是真核(例如,中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴细胞(例如,Y0,NS0,SP20细胞))。

[1026] 在一个实施方案中，提供产生公开内容C的抗-IL-8抗体的方法，其中所述方法包括在适于表达抗体的条件下培养包含编码上文提供的抗-IL-8抗体的核酸的宿主细胞，并且任选地回收抗体(例如，从宿主细胞或宿主细胞培养基)。

[1027] 为了重组生产抗-IL-8抗体，分离编码抗体的一种或多种核酸，例如，如上文所述的，并插入一种或多种载体用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。所述一种或多种核酸可以容易地使用常规步骤分离并测序(例如，通过使用特异性结合编码抗体的重链和轻链的核酸的寡核苷酸探针)。

[1028] 用于克隆或表达编码抗体的载体的合适的宿主细胞包括在本文公开内容C的描述的范围内描述的原核或真核细胞。例如，抗体可以在细菌中生产，尤其是当不需要糖基化和Fc效应子功能时。对于抗体片段和多肽在细菌中的表达，参见例如，美国专利号5,648,237，5,789,199，和5,840,523(还参见Charlton，Methods in Molecular Biology，Vol.248(B.K.C.Lo，ed.，Humana Press，Totowa，NJ，2003)，pp.245-254，用于在大肠杆菌中表达抗体片段)。表达后，抗体可以从细菌细胞糊以可溶性级分分离并可以进一步纯化。

[1029] 除了原核生物，真核微生物如丝状真菌或酵母是用于克隆或表达编码抗体的载体的合适宿主，包括其糖基化通路已经"人源化"的真菌和酵母菌株，其能够生产具有部分或完全人糖基化模式的抗体。参见Gemgross，Nat.Biotech.22:1409-1414(2004)，和Li等人，Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[1030] 用于表达糖基化的抗体的合适的宿主细胞还源自多细胞生物(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物和昆虫细胞。不特别限制，杆状病毒与昆虫细胞联合用于转染草地夜蛾(Spodoptera frugiperda)细胞并且已经鉴定了多种杆状病毒株。

[1031] 植物细胞培养物也可以用作宿主。参见美国专利号5,959,177，6,040,498，6,420,548，7,125,978，和6,417,429(描述用于在转基因植物中产生抗体的PLANTIBODIESTM技术)。

[1032] 脊椎动物细胞也可以用作宿主。例如，适于悬浮生长的哺乳动物细胞系是有用的。可用的哺乳动物宿主细胞的其他实例是SV40转化的猴肾CV1细胞系(COS-7)；人胚胎肾细胞系(Graham等人，J.Gen Virol.36:59(1977)中描述的293细胞)；幼仓鼠肾细胞(BHK)；小鼠睾丸支持细胞(Mather，Biol.Reprod.23:243-251(1980)中所述的TM4细胞)；猴肾细胞(CV1)；非洲绿猴肾细胞(VERO-76)；人宫颈癌细胞(HELA)；犬肾细胞(MDCK)；buffalo大鼠肝细胞(BRL 3A)；人肺细胞(W138)；人肝细胞(Hep G2)；小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562)；TRI细胞，如Mather等人，Annals N.Y Acad.Sci.383:44-68(1982)中所述；MRC5细胞；和FS4细胞。

[1033] 其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞，包括DHFR-CHO细胞(Urlaub等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980))；和骨髓瘤细胞系如YO，NSO和Sp20，但不限于此。对于适于抗体生产的其他哺乳动物宿主细胞的综述，参见Yazaki和Wu，Methods in Molecular Biology，Vol.248(B.K.C.Lo，ed.，Humana Press，Totowa，NJ)，pp.255-268(2003)。

[1034] 通过在适于抗体表达的条件下培养如上文所述携带编码所述抗体的核酸的宿主细胞产生的公开内容C的抗体可以从宿主细胞内部或外部(培养基，乳汁，等)分离，并纯化为基本上纯的同质抗体。通常用于纯化多肽的分离/纯化方法可以适当用于分离和纯化所述抗体；然而，方法不限于上述实例。抗体可以例如，通过适当选择和组合柱色谱，滤器，超

滤,盐析,溶剂沉淀,溶剂萃取,蒸馏,免疫沉淀,SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,等电聚焦,透析和重结晶(不限于其中)适当分离和纯化。色谱包括,但不限于,亲和色谱,离子交换色谱,疏水色谱,凝胶过滤色谱,反相色谱,和吸附色谱。所述色谱可以使用液相色谱,例如,HPLC和FPLC进行。用于亲和色谱的柱包括,但不限于,蛋白A柱和蛋白G柱。蛋白A柱包括,但不限于,Hyper D,POROS,Sepharose F.F.(Pharmacia)等。

[1035] 关注于抗-IL-8抗体的特性(如上述复合物的增加的胞外基质结合活性和增强的细胞摄取),公开内容C提供用于选择具有增加的胞外基质结合的抗体和具有增强的细胞摄取的抗体的方法。在一个实施方案中,公开内容C提供用于生产包含其对IL-8的结合活性是以pH-依赖性的方式的可变区的抗-IL-8抗体的方法,其包括以下的步骤:(a)评估抗-IL-8抗体和胞外基质之间的结合;(b)选择强烈结合胞外基质的抗-IL-8抗体;(c)培养包含携带编码抗体的核酸的载体的宿主;和(d)从培养基分离抗体。

[1036] 与胞外基质的结合可以通过任意方法评估,不特别限制,只要它们对于本领域技术人员是已知的。例如,可以使用ELISA系统进行测定,用于检测抗体和胞外基质之间的结合,其中将抗体加入至固定有胞外基质的平板,并且将针对所述抗体的标记的抗体加入其中。备选地,该测定可以例如,使用电化学发光(ECL)方法进行,其中将抗体和钌抗体的混合物加入固定有胞外基质的平板中并且抗体和胞外基质之间的结合基于钌的电化学发光评估。

[1037] 在上述步骤(a)中评估对胞外基质结合的抗-IL-8抗体可以是抗体本身或与IL-8接触。在步骤(b)中"选择强烈结合胞外基质的抗-IL-8抗体"意为,在胞外基质结合的评估中,基于代表胞外基质和抗-IL-8抗体之间的结合的值比代表胞外基质和对照抗体之间的结合的值高的标准选择抗-IL-8抗体,并且可以是,例如,2-倍,3-倍,4-倍,5-倍,6-倍,7-倍,8-倍,9-倍,10-倍,20-倍,50-倍,100-倍,或更多;然而,比率不特别限于上述实例。除了IL-8的存在,条件优选与在评估抗-IL-8抗体和胞外基质之间的结合的步骤中相同。用于比较数种修饰的抗-IL-8抗体的对照抗-IL-8抗体可以是未修饰的抗-IL-8抗体。在该情况下,条件优选相同,除了存在IL-8以外。具体而言,在一个实施方案中,公开内容C包括从多种不与IL-8接触的抗-IL-8抗体中选择具有代表胞外基质结合的更高值的抗体。在另一个实施方案中,公开内容C包括从多种与IL-8接触的抗-IL-8抗体中选择代表胞外基质结合的更高值的抗体。在一个备选实施方案中,在步骤(b)中"选择强烈结合胞外基质的抗-IL-8抗体"意为,当评估胞外基质结合时,可以基于抗体和胞外基质之间的结合根据IL-8的存在而改变的标准来选择抗体。表示与IL-8接触的抗-IL-8抗体的胞外基质结合的值与表示不与IL-8接触的抗-IL-8抗体的胞外基质结合的值的比率可以是,例如,2至1000。此外,值之间的比率可以是2,3,4,5,6,7,8,9,10,20,50,100,200,300,400,500,600,700,800,900,或1000。

[1038] C.测定

[1039] 可以通过本领域中已知的各种方法对在本文所述的公开内容C的范围内提供的抗-IL-8抗体就其物理/化学性质和/或生物活性进行鉴定、筛选或表征。

[1040] 1.结合测定和其他测定

[1041] 在一个方面,可以通过已知方法对公开内容C的抗体评估其抗原结合活性,所述方法例如,ELISA,蛋白质印迹,动力学排除测定(KinExA™),和使用装置如BIACORE(GE Healthcare)的表面等离子共振。

[1042] 在一个实施方案中，结合亲和力可以使用BIACORE T200(GE Healthcare)以下列方式测量。通过胺偶联方法将适量的捕获蛋白(例如，蛋白A/G(PIERCE))固定在传感芯片CM4(GE Healthcare)上，并且允许捕获目标抗体。然后，将稀释的抗原溶液和运行缓冲液(作为参照溶液：例如，0.05％吐温20，20mM ACES，150mM NaCl，pH 7.4)注射以将抗原分子与捕获在传感芯片上的抗体相互作用。使用10mM甘氨酸HCl溶液(pH 1.5)再生传感芯片。在预定的温度(例如，37℃，25℃，或20℃)进行测量。结合速率常数kon(1/Ms)和解离速率常数koff(1/s)(二者都是动力学参数)从通过测量获得的传感图计算。每种抗体对于抗原的KD(M)基于这些常数计算。使用BIACORE T200评价软件(GE Healthcare)计算每个参数。

[1043] 在一个实施方案中，IL-8可以如下文所述定量。将包含小鼠IgG恒定区的抗-人IL-8抗体固定在板上。包含结合于人源化抗-IL-8抗体的IL-8的溶液(其不与上述抗-人IL-8抗体竞争)，等分到固定化平板上。搅拌后，加入生物素化的抗-人Igκ轻链抗体并使其反应一定时期。然后，进一步加入SULFO-Tag-标记的链霉亲和素并使其反应一定时期。然后，加入测定缓冲液并立即用SECTOR Imager 2400(Meso Scale Discovery)进行测量。

[1044] 2.活性测定

[1045] 在一个方面，提供测定以鉴别具有生物活性的抗-IL-8抗体。生物活性包括，例如，IL-8-中和活性和阻断IL-8信号的活性。公开内容C还提供体内和/或体外具有所述生物活性的抗体。

[1046] 在一个实施方案中，确定IL-8中和水平的方法不特别限制并且其还可以通过下文所述方法确定。PathHunter™ CHO-K1 CXCR2β-Arrestin细胞系(DiscoveRx，Cat.#93-0202C2)是人工细胞系，其被产生用于表达已知为人IL-8受体的人CXCR2并且在接收由人IL-8导致的信号时发出化学发光。当将人IL-8加入细胞的培养基中时，化学发光以取决于加入的人IL-8的浓度的方式从细胞发出。当将人IL-8与抗-人IL-8抗体组合加入培养基时，与不加入抗体时相比，细胞的化学发光降低或不可检测，因为抗-人IL-8抗体可以阻断IL-8信号传导。具体而言，抗体的人IL-8-中和活性越强，化学发光水平越弱；并且抗体的人IL-8-中和活性越弱，化学发光水平越高。因此，抗-人IL-8抗体的人IL-8-中和活性可以通过检查上述差异来评估。

[1047] D.药物制剂

[1048] 包含本文公开内容C描述的范围内所述的抗-IL-8抗体的药物制剂可以通过将具有所需纯度的抗-IL-8抗体与一种或多种任选的药用载体混合来以冻干的制剂或水溶液制剂形式制备(参见，例如，Remington′s Pharmaccutical Sciences第16版，Osol，A.Ed.(1980))。

[1049] 药用载体在使用的剂量和浓度通常是无毒的，并且包括但不限于缓冲剂如磷酸盐，柠檬酸盐，组氨酸，和其他有机酸；抗氧化剂，包括抗坏血酸和甲硫氨酸；防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵；氯化六甲鎓；苯扎氯铵；苄索氯铵；苯酚，丁基或苄基醇；对羟基苯甲酸烷基酯如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯；儿茶酚；雷琐酚；环己醇；3-戊醇；和间甲酚)；低分子量(小于约10个残基)的多肽；蛋白如血清白蛋白，明胶，或免疫球蛋白；亲水聚合物如聚乙烯吡咯烷酮；氨基酸如甘氨酸，谷氨酰胺，天冬酰胺，组氨酸，精氨酸，或赖氨酸；单糖类，二糖类，和其他碳水化合物，包括葡萄糖，甘露糖，或糊精；螯合剂如EDTA；糖如蔗糖，甘露醇，海藻糖或山梨醇；形成盐的平衡离子如钠；金属复合物(例如，Zn-蛋白复合

物);和/或非离子性表面活性剂如TWEEN™,PLURONICS™,或聚乙二醇(PEG)。

[1050] 本文中的示例性药用载体还包括间质药物分散剂如可溶性透明质酸酶糖蛋白(sHASEGP),例如,人可溶性PH-20透明质酸酶糖蛋白,如rHuPH20(HYLENEX™,Baxter International,Inc.)。某些示例性sHASEGP和使用方法,包括rHuPH20,在美国申请公开号2005/0260186和2006/0104968中描述。在一个方面,将sHASEGP与一种或多种糖胺聚糖酶(glycosaminoglycanases)如软骨素酶组合。

[1051] 示例性的冻干的抗体制剂在美国专利号6,267,958中描述。水性抗体制剂包括美国专利号6,171,586和WO2006/044908中描述的那些;并且WO2006/044908制剂包括组氨酸-乙酸盐缓冲液。

[1052] 本文中公开内容C的范围内的制剂还可以含有多于一种对于治疗的特定适应证所必需的活性成分,优选彼此没有不利影响的具有互补活性的那些。所述活性成分适当地以对于预期目的有效的量组合存在。

[1053] 活性成分可以在胶体药物递送系统(例如,脂质体,白蛋白微球,微乳液,纳米粒子和纳米胶囊)中或大乳液中,分别装入,例如,通过凝聚技术或通过界面多聚化制备的微胶囊中,例如,羟甲基纤维素或明胶-微胶囊和聚-(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊。所述技术在Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol,A.Ed.(1980)中公开。

[1054] 可以制备持续-释放制剂。持续-释放制剂的适当实例包括含有公开内容C的抗-IL8抗体的固体疏水聚合物的半透性基质,其中基质是成形的物品的形式,例如,膜或微胶囊。

[1055] 用于体内施用的制剂通常是无菌的。无菌性可以容易实现,例如,通过经无菌过滤膜过滤实现。

[1056] E.治疗方法和组合物

[1057] 在一些实施方案中,根据公开内容C提供的抗-IL-8抗体用于治疗方法。

[1058] 在一个方面,提供用作药物组合物的抗-IL-8抗体。在备选的方面,提供用于治疗其中IL-8过量存在的疾病的抗-IL-8抗体。在一个实施方案中,提供用于治疗其中IL-8过量存在的疾病的方法的抗-IL-8抗体。在一个实施方案中,公开内容C提供用于治疗患有其中IL-8过量存在的疾病(例如,由于存在过量IL-8引起的疾病)的个体的方法,其包括向个体施用有效量的抗-IL-8抗体。在另一个实施方案中,公开内容C提供用于所述方法的抗-IL-8抗体。在一个实施方案中,公开内容C涉及包含有效量的抗-IL-8抗体的药物组合物,其用于治疗其中IL-8过量存在的疾病。在一个实施方案中,公开内容C涉及抗-IL-8抗体在制备用于其中IL-8过量存在的疾病的药物组合物中的用途。在一个实施方案中,公开内容C涉及有效量的抗-IL-8抗体在治疗其中IL-8过量存在的疾病中的用途。其中IL-8过量存在的疾病包括,但不限于,炎性皮肤病如炎性角化病(银屑病,等),特应性皮炎(atopic dermatitis),和接触性皮炎;自身免疫病如慢性炎性疾病,包括慢性类风湿性关节炎,系统性红斑狼疮(SLE),和贝赫切特病(Behcet diseas);炎性肠病如克罗恩病(Crohn's disease)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis);炎性肝病如乙型肝炎(hepatitis B),丙型肝炎(hepatitis C),酒精性肝炎(alcoholic hepatitis),和药物引起的过敏性肝炎;炎性肾病如肾小球性肾炎(glomerular nephritis);炎性呼吸道疾病如支气管炎和哮喘;慢性炎性血管疾病如动脉粥样硬化(atherosclerosis);多发性硬化;口疮;声带炎

(chorditis)；人工器官/人工血管引起的炎症；恶性肿瘤如卵巢癌，肺癌，前列腺癌，胃癌，乳腺癌，黑素瘤，头颈癌和肾癌；感染造成的脓毒病；囊性纤维化(cystic fibrosis)；肺纤维化；和急性肺损伤。

[1059] 在一个备选实施方案中，公开内容C提供用于抑制具有生物活性的IL-8的积累的抗-IL-8抗体。"抑制IL-8的积累"可以通过防止体内预先存在的IL-8的量增加或通过降低体内预先存在的IL-8的量来实现。在一个实施方案中，公开内容C提供抑制个体中IL-8的积累从而抑制具有生物活性的IL-8的积累的抗-IL-8抗体。本文中，"体内存在的IL-8"可以指与抗-IL-8抗体复合的IL-8或游离IL-8；备选地，其可以指作为其总和的总IL-8。本文中，"体内存在"可以意为"体内分泌到细胞外"。在一个实施方案中，公开内容C提供用于抑制具有生物活性的IL-8的积累的方法，其包括向个体施用有效量的抗-IL-8抗体的步骤。在一个实施方案中，公开内容C涉及抑制具有生物活性的IL-8的积累的药物组合物，其包括有效量的抗-IL-8抗体。在一个实施方案中，公开内容C涉及抗-IL-8抗体在制备药物组合物中的用途，所述药物组合物用于抑制具有生物活性的IL-8的积累。在一个实施方案中，公开内容C涉及有效量的抗-IL-8抗体在抑制具有生物活性的IL-8的积累中的用途。在一个实施方案中，与不具有pH-依赖性结合活性的抗-IL-8抗体相比，公开内容C的抗-IL-8抗体抑制IL-8的积累。在上述实施方案中，"个体"优选是人。

[1060] 在一个备选实施方案中，公开内容C提供用于抑制血管生成(例如，新血管生成)的抗-IL-8抗体。在一个实施方案中，公开内容C提供用于抑制个体中新血管生成的方法，其包括向所述个体施用有效量的抗-IL-8抗体，并且还提供用于所述方法的抗-IL-8抗体。在一个实施方案中，公开内容C涉及用于抑制新血管生成的药物组合物，其包含有效量的抗-IL-8抗体。在一个实施方案中，公开内容C涉及抗-IL-8抗体在制备药物组合物中的用途，所述药物组合物用于抑制新血管生成。在一个实施方案中，公开内容C涉及有效量的抗-IL-8抗体在抑制新血管生成中的用途。在上述实施方案中，"个体"优选是人。

[1061] 在备选的方面，公开内容C提供抗-IL-8抗体，其用于抑制对中性粒细胞迁移的促进。在一个实施方案中，公开内容C提供用于抑制对个体中中性粒细胞迁移的促进的方法，其包括向个体施用有效量的抗-IL-8抗体；并且还提供用于所述方法的抗-IL-8抗体。在一个实施方案中，公开内容C涉及用于抑制个体中对中性粒细胞迁移的促进的药物组合物，其包含有效量的抗-IL-8抗体。在一个实施方案中，公开内容C涉及抗-IL-8抗体在制备药物组合物中的用途，所述药物组合物用于抑制个体中对中性粒细胞迁移的促进。在一个实施方案中，公开内容C涉及有效量的抗-IL-8抗体在抑制个体中对中性粒细胞迁移的促进的用途。在上述实施方案中，"个体"优选是人。

[1062] 在一个备选实施方案中，公开内容C提供药物组合物，其包含本文中提供的抗-IL-8抗体，例如，用于上述治疗方法中的任一个。在一个实施方案中，药物组合物包含公开内容C中提供的抗-IL-8抗体和药用载体。

[1063] 公开内容C的抗体可以单独或与其他药剂组合用于治疗。例如，公开内容C的抗体可以与至少一种另外的治疗剂共同施用。

[1064] 公开内容C的抗体(和任意另外的治疗剂)可以通过任意适当的方式施用，包括肠胃外，肺内和鼻内，并且如果需要用于局部治疗，病灶内施用。肠胃外输注包括肌肉内，静脉内，动脉内，腹膜内或皮下施用。剂量给药可以是通过任意合适的途径，例如，通过注射如静

脉内或皮下注射，部分取决于施用是短期或长期。各种剂量给药时间表包括，但不限于，在各个时间点单次或多次施用，本文中可以考虑推注施用，和脉冲输注。

[1065] 优选以与良好医学实践相一致的方式配制、剂量给药和施用公开内容C的抗体。在此情况下考虑的因素包括治疗的特定病症，治疗的特定哺乳动物，个体患者的临床状况，病症的原因，递送药物组合物的部位，施用方法，施用时间表，和医疗执业者已知的其他因素。抗体不需要，但任选地与一种或多种目前用于预防或治疗目标病症的药剂一起配制。

[1066] 所述其他药剂的有效量取决于在制剂中存在的抗体的量，病症或疗法的类型，和以上讨论的其他因素。这些通常可以以与在本文公开内容C的描述的范围内描述的相同的剂量和经由相同的施用途径使用，或在本文公开内容C的描述的范围内描述的剂量的1至99％，或以经验/临床上确定为合适的任意剂量和任意途径使用。

[1067] 为了预防或治疗疾病，公开内容C的抗体的适当剂量(当与一种或多种其他另外的治疗剂单独或组合使用时)取决于要治疗的疾病的类型，抗体的类型，疾病的严重度和进程，施用抗体变体是否用于预防性或治疗性目的，之前的治疗，患者的临床史和对抗体的反应，和主治医师的判断。抗体一次或经一系列治疗适当施用给患者。根据疾病的类型和严重度，约1μg/kg至15mg/kg(例如，0.1mg/kg至10mg/kg)的抗体可以是施用给患者的初始候选剂量，例如，通过单次施用或多次分开的施用，或通过连续输注。一个典型的每日剂量范围可以从约1mg/kg至100mg/kg或更多，取决于上述因素。对于经数天或更长的重复施用，取决于病况，治疗通常可以持续，直到观察到疾病症状的所需抑制效果。典型的抗体剂量可以落在，例如，约0.05mg/kg至约10mg/kg的范围内。因此，可以向患者施用例如，约0.5mg/kg，例如，2.0mg/kg，例如，4.0mg/kg，或例如，10mg/kg(或其任意组合)的一个或多个剂量。所述剂量可以间歇性施用，例如，每周或每三周(例如，以患者接收约二至约二十个剂量，或约六个剂量的抗体的方式)。可能施用起始更高的加载剂量，接着一个或多个较低剂量；然而，其他剂量方案可以是有用的。该疗法的进展可以容易通过常规技术和测定监视。

[1068] F.制品

[1069] 在公开内容C的另一方面，本公开内容提供制品，其包含用于治疗，预防和/或诊断上述病症的物质。所述制品包括容器和在容器上或与容器关联的标签或药品说明书(package insert)。合适的容器包括，例如，瓶，小瓶，静脉内溶液袋。容器可以由各种材料如玻璃或塑料形成。所述容器容纳组合物，所述组合物是其本身或与有效治疗、预防和/或诊断所述病症的另一组合物组合，并且可以具有无菌接口(例如，容器可以是具有可由皮下注射针刺破的塞子的静脉内溶液袋或小瓶)。组合物中的至少一种活性成分是公开内容C的抗体。标签或药品说明书表示，组合物用于治疗选择的病症。

[1070] 此外，制品可以包括：(a)第一容器，其包含含有公开内容C的抗体的组合物；和(b)第二容器，其包含含有另外的细胞毒性剂或不同治疗剂的组合物。公开内容C的实施方案中的制品还可以包括药品说明书，其表明组合物可以用于治疗特定病症。备选地或另外，制品还可以包括，例如，第二(或第三)容器，其包含药用缓冲剂如注射用抑菌水(BWFI)，磷酸盐缓冲盐水，Ringer′s溶液和葡萄糖溶液。制品还可以包括从商业角度或用户角度所需的其他材料，包括其他缓冲剂，稀释剂，过滤器，针头和注射器。

[1071] 基于本领域普通技术知识，本领域技术人员可以理解，公开内容C还包括本文所述的整体实施方案中的一个或多个的全部或部分的所有组合，除了存在技术矛盾的情况。

[1072] 公开内容A,B,或C

[1073] 本文中引用的全部技术背景文献通过参考结合于本文中。

[1074] 如本文中使用的,术语"和/或"理解为包括术语"和/或"之前和之后的项目的组合的意思,其包括通过所述术语适当连接的项目的所有组合。

[1075] 在多种要素在本文中利用术语如第一、第二、第三、第四等描述时,要理解,要素不受这些术语限制。这些术语仅用于将要素与其他要素区分,并且要理解,在不偏离公开内容A、B、和C的范围的情况下,例如,第一要素可以称为第二要素,并且类似地,第二要素能够称为第一要素。

[1076] 除非另外明确陈述或除非在上下文存在不一致,本文中以单数形式表示的任何术语意为还包括复数形式,并且本文中以复数形式表示的任何术语意为还包括单数形式。

[1077] 本文中使用的术语仅是为了描述具体实施方案,并且不意在限制本公开内容。除非另外不同定义,本文中使用的所有术语(包括技术和科学术语)解释为具有与公开内容A,B和C涉及的领域的技术人员通常理解的相同的意义,并且将不以理想化的或过于正式的意义解释。

[1078] 如本文中使用的,术语"包含"意在指定描述的项目(成员、步骤、要素、数量等)的存在,除非上下文明确另外指示;并且术语不排除其他项目(成员、步骤、要素、数量等)的存在。

[1079] 本公开内容A,B和C的实施方案参考示意说明描述,为了清楚,可以将其放大。

[1080] 除非上下文中存在不一致,本文中使用的数值要理解为基于本领域技术人员的普通技术知识,表示一定范围的值。例如,表述"1mg"理解为描述为"约1mg",具有一定变化。例如,表述"1至5项"理解为具体描述并且分别为"1项,2项,3项,4项,5项",除非上下文存在不一致。

[1081] 实施例

[1082] 下文中,公开内容A,B和C将通过实施例1至4和21至23,实施例5至7,19和20,以及实施例8至19,分别具体描述,但它们不要被认为限制于其中。要理解,考虑到上述提供的一般描述,可以实践各种其他实施方案。

[1083] 实施例1

[1084] 具有提高的pI的pH-依赖性结合人IL-6受体的人抗体的产生

[1085] WO2009/125825中公开的Fv4-IgG1是以pH-依赖性的方式结合人IL-6受体的抗体,并且包含VH3-IgG1(SEQ ID NO:24)作为重链以及VL3-CK(SEQ ID NO:32)作为轻链。为了增加Fv4-IgG1的pI,向Fv4-IgG1的可变区引入减少带负电的氨基酸(如天冬氨酸和谷氨酸)的数量、同时增加带正电的氨基酸(如精氨酸和赖氨酸)的氨基酸置换。具体而言,通过在重链VH3-IgG1中用谷氨酰胺置换位置16处的谷氨酸,用精氨酸置换位置43处的谷氨酸,用赖氨酸置换位置64处的谷氨酰胺,和用谷氨酰胺置换位置105处的谷氨酸(根据Kabat编号),产生VH3(高_pI)-IgG1(SEQ ID NO:25),其为具有提高的pI的重链。类似地,通过在轻链VL3-CK中用精氨酸置换位置18处的丝氨酸,用精氨酸置换位置24处的谷氨酰胺,用赖氨酸置换位置45处的谷氨酸,用谷氨酰胺置换位置79处的谷氨酸,和用赖氨酸置换位置107处的谷氨酸(根据Kabat编号),产生VL3(高_pI)-CK(SEQ ID NO:33),其为具有提高的pI的轻链。当在VL3-CK的位置79处引入置换时,将涉及在位置80处用脯氨酸置换丙氨酸和在位置83处用异

亮氨酸置换丙氨酸的修饰同时引入,尽管目的不是用于提高pI。

[1086] 通过参照实施例2的方法产生以下抗体:(a)低_pI-IgG1,其包含VH3-IgG1作为重链和VL3-CK作为轻链;(b)中_pI-IgG1,其包含VH3-IgG1作为重链和VL3(高_pI)-CK作为轻链;和(c)高_pI-IgG1,其包含VH3(高_pI)-IgG1作为重链和VL3(高_pI)-CK作为轻链。

[1087] 接着,使用GENETYX-SV/RC Ver 9.1.0(GENETYX CORPORATION),使用本领域中已知的方法计算每种产生的抗体的理论pI(参见,例如,Skoog等人,Trends Analyt.Chem.5(4):82-83(1986))。认为抗体分子中的所有半胱氨酸的侧链形成二硫键,并且半胱氨酸侧链对pKa的贡献从计算中排除。

[1088] 计算的理论pI值在表3中显示。在低_pI-IgG1的理论pI是6.39的同时,中_pI-IgG1和高_pI-IgG1的那些分别是8.70和9.30,表明理论pI值以逐步的方式增加。

[1089] WO2011/122011公开了Fv4-IgG1-F11(下文,称为低_pI-F11)和Fv4-IgG1-F939(下文,称为低_pI-F939),其FcRn-介导的细胞内摄取通过将氨基酸置换引入Fv4-IgG1的Fc区和赋予在中性pH条件下FcRn-结合能力而增强。此外,WO2013/125667公开了Fv4-IgG1-F1180(下文,称为低_pI-F1180),其FcγR-介导的细胞内摄取通过将氨基酸置换引入Fv4-IgG1的Fc区以增加其在中性pH条件的FcγR-结合能力而增强。同时,将用于通过在内体中增加其在酸性pH条件的FcRn结合而增强抗体的血浆保留的氨基酸修饰引入Fv4-IgG1-F1180。通过增加含有这些新Fc区变体的抗体的pI,产生下文所示抗体。

[1090] 具体而言,将WO2011/122011中的VH3-IgG1-F11(SEQ ID NO:30)和VH3-IgG1-F939(SEQ ID NO:26),和WO2013/125667中的VH3-IgG1-F1180(SEQ ID NO:28)各自进行在位置16处用谷氨酰胺对谷氨酸的置换,在位置43处用精氨酸对谷氨酸的置换,在位置64处用赖氨酸对谷氨酰胺的置换,和在位置105处用谷氨酰胺对谷氨酸的置换(根据Kabat编号),以分别产生VH3(高_pI)-F11(SEQ ID NO:31),VH3(高_pI)-F939(SEQ ID NO:27),和VH3(高_pI)-F1180(SEQ ID NO:29),其为具有提高的pI的重链。

[1091] 以下抗体通过参照实施例2的方法,使用这些重链产生:(1)低_pI-F939,其包含VH3-IgG1-F939作为重链和VL3-CK作为轻链;(2)中_pI-F939,其包含VH3(高_pI)-F939作为重链和VL3-CK作为轻链;(3)高_pI-F939,其包含VH3(高_pI)-F939作为重链和VL3(高_pI)-CK作为轻链;(4)低_pI-F1180,其包含VH3-IgG1-F1180作为重链和VL3-CK作为轻链;(5)中_pI-F1180,其包含VH3-IgG1-F1180作为重链和VL3(高_pI)-CK作为轻链;(6)高_pI-F1180,其包含VH3(高_pI)-F1180作为重链和VL3(高_pI)-CK作为轻链;(7)低_pI-F11,其包含VH3-IgG1-F11作为重链和VL3-CK作为轻链;和(8)高_pI-F11,其包含VH3(高_pI)-F11作为重链和VL3(高_pI)-CK作为轻链。

[1092] 接着,对于每种产生的抗体的理论pI,使用GENETYX-SV/RC Ver 9.1.0(GENETYX CORPORATION),通过与在前所述相似的方法计算。计算的理论pI值在表3中显示。在所有新的含有Fc区变体的抗体中,理论pI值以低_pI,中_pI和高_pI的顺序,以逐步的方式增加。

[1093] [表3]

[1094]

抗体名称	理论 PI
低_pI-IgG1	6.39
中_pI-IgG1	8.70
高_pI-IgG1	9.30
低_pI-F939	6.67
中_pI-F939	8.70
高_pI-F939	9.42
低_pI-F1180	6.39
中_pI-F1180	8.70
高_pI-F1180	9.29
低_pI-F11	6.39
高_pI-F11	9.28

[1095] 实施例2

[1096] 显示pH-依赖性结合的具有提高的pI的抗体的抗原去除效果

[1097] (2-1)pI-调节的pH-依赖性的结合人IL-6受体的抗体的体内测定

[1098] 如下文所示,使用实施例1中产生的各种pH-依赖性结合人IL-6受体的抗体进行体内测定:低_pI-IgG1,高_pI-IgG1,低_pI-F939,中_pI-F939,高_pI-F939,低_pI-F1180,中_pI-F1180,和高_pI-F1180。

[1099] 将通过参照实施例3的方法制备的可溶性人IL-6受体(也称为"hsIL-6R"),抗-人IL-6受体抗体,和人免疫球蛋白制备物Sanglopor同时施用于人FcRn转基因小鼠(B6.mFcRn-/-.hFcRn Tg品系32+/+小鼠,Jackson Laboratories;Methods Mol.Biol.602:93-104(2010)),并且评估随后的可溶性人IL-6受体的体内动力学。含有可溶性人IL-6受体,抗-人IL-6受体抗体和Sanglopor(浓度分别为5μg/mL,0.1mg/mL,和100mg/mL)的混合溶液通过尾静脉以10mL/kg施用一次。因为抗-人IL-6受体抗体充分超过可溶性人IL-6受体存在,所以认为几乎所有可溶性人IL-6受体被抗体结合。施用后15分钟,七小时,一天,两天,三天和七天,收集血液。将收集的血液立即在4℃和15,000rpm进行离心15分钟以获得血浆。将分离的血浆储存在设为-20℃或以下的冰箱中,直到进行测量。

[1100] (2-2)通过电化学发光方法测量血浆中的可溶性人IL-6受体浓度

[1101] 小鼠血浆中的可溶性人IL-6受体浓度通过电化学发光方法测量。分别制备调节至250,125,62.5,31.25,15.61,7.81,或3.90pg/mL的浓度用于校准曲线的可溶性人IL-6受体样品,和稀释50-倍或更多的小鼠血浆测定样品。将样品与用SULFO-TAG NHS酯(Meso Scale Discovery)钌标记的单克隆抗-人IL-6R抗体(R&D),生物素化的抗-人IL-6R抗体(R&D),和托珠单抗(Tocilizumab)(CAS编号:375823-41-9)(其是结合人IL-6受体的抗体)混合,并且随后将它们在37℃反应过夜。将托珠单抗的终浓度调节至333μg/mL。然后,将反应溶液分散到链霉亲和素Gold Multi-ARRAY平板(Meso Scale Discovery)中。在室温另外一小时的反应后,洗涤反应溶液。然后,在将Read Buffer T(x4)(Meso Scale Discovery)分散入平板后,立即使用SECTOR Imager 2400(Meso Scale Discovery)进行测量。使用分析软件,SOFTmax PRO(Molecular Devices),基于在校准曲线中的响应计算可溶性人IL-6受体的浓度。

[1102] 静脉内施用后,观察到的人FcRn转基因小鼠的血浆中可溶性人IL-6受体的浓度的

改变在图1,2和3中显示。图1显示增强抗原去除的效果,其中可变区的pI在天然IgG1恒定区的情况下增加。图2显示增强抗原去除的效果,其中可变区的pI在被赋予在中性pH条件下结合FcRn的能力的抗体(F939)中增加。图3显示增强抗原去除的效果,其中可变区的pI在其Fcγ R-结合能力在中性pH条件下增强的抗体(F1180)中增加。

[1103] 在所有情形中表明,通过提高抗体的pI,通过pH-依赖性结合的抗体来去除抗原的速率可以加速。也已经表明,通过进一步赋予在中性pH条件下对FcRn或Fcγ R的结合能力的增加,与当在pH-依赖性结合抗体中仅pI提高时相比,抗原去除速率可以进一步加速(比较图1和图2以及3)。

[1104] (2-3)pI-调节的pH-依赖性结合人IL-6受体的抗体的体内输注测定

[1105] 下文使用实施例1中产生的各种pH-依赖性结合人IL-6受体的抗体:低_pI-IgG1,高_pI-IgG1,低_pI-F11,和高_pI-F11,进行体内测定。

[1106] 将含有可溶性人IL-6受体的输注泵(MINI-OSMOTIC泵模型2004;alzet)皮下移植在人FcRn转基因小鼠(B6.mFcRn-/-.hFcRn Tg品系32+/+小鼠,Jackson Laboratories;Methods Mol.Biol.602:93-104(2010))的背部,以产生其可溶性人IL-6受体的血浆浓度保持恒定的模型动物。将抗-人IL-6受体抗体施用给模型动物,并且评估施用后抗体的体内动力学。

[1107] 具体而言,将通过本领域中已知的方法获得的单克隆抗-小鼠CD4抗体以20mg/kg施用于尾静脉中一次,以抑制小鼠自身可能产生的针对可溶性人IL-6受体的中和抗体的产生。然后,将含有92.8μg/ml的可溶性人IL-6受体的输注泵皮下移植在小鼠背部。移植输注泵后三天,将抗-人IL-6受体抗体以1mg/kg施用入尾静脉一次。施用抗-人IL-6受体抗体后15分钟,七小时,一天,两天,三或四天,六或七天,13或14天,20或21天,和27或28天,从小鼠收集血液。收集的血液立即在15,000rpm和4℃离心15分钟,获得血浆。将分离的血浆储存在-20℃或以下的冰箱中,直到进行测量。

[1108] (2-4)通过电化学发光方法测量血浆hsIL-6R浓度

[1109] 通过电化学发光方法测量小鼠血浆中的hsIL-6R浓度。将调节至250,125,62.5,31.25,15.61,7.81,或3.90pg/mL的用于校准曲线的hsIL-6R样品和稀释50-倍或更多的小鼠血浆测定样品与用SULFO-TAG NHS酯(Meso Scale Discovery)钌标记的单克隆抗-人IL-6R抗体(R&D),生物素化的抗-人IL-6R抗体(R&D),和托珠单抗混合,并且将它们在37℃反应过夜。将托珠单抗的终浓度调节至333μg/mL。然后,将反应溶液分散到链霉亲和素Gold Multi-ARRAY平板(Meso Scale Discovery)中。在室温反应另外一小时后,洗涤反应溶液。然后,在将Read Buffer T(x4)(Meso Scale Discovery)分散到平板中后,立即使用SECTOR Imager 2400(Meso Scale Discovery)进行测量。使用分析软件SOFT max PRO(Molecular Devices),基于在校准曲线中的响应计算hsIL-6R浓度。

[1110] 测量的人IL-6受体浓度的改变在图4中显示。对于其Fc区是天然IgG1的Fc区的抗体(高_pI-IgG1)和含有在中性pH条件下具有增强的对FcRn的结合的新Fc区变体的抗体(高_pI-F11),可溶性人IL-6受体的血浆浓度在施用高-pI抗体(也称为"高_pI")的情况下减少(与施用低-pI抗体(也称为"低_pI")相比)。

[1111] 不受特定理论限制,获自这些实验的结果还可以如下解释:当施用的抗体的Fc区是天然IgG抗体的Fc区时,认为摄入细胞主要通过非特异性摄取(胞饮)发生。本文中,因为

细胞膜带负电，所以施用的抗体-抗原复合物的pI越高(即，分子的电荷作为整体倾向于正电荷)，复合物可以越容易接近细胞膜，并且非特异性摄取可以越容易发生。当具有提高的pI的抗体与抗原形成复合物时，该复合物作为整体也具有提高的pI(与在原始抗体和抗原之间形成的复合物相比)；因此，可以增加细胞内摄入。因此，通过增加显示pH-依赖性抗原结合的抗体的pI，从血浆去除抗原的速度或速率可以进一步加速，并且血浆中的抗原浓度可以保持在较低水平。

[1112] 在这些实施例中，通过引入降低带负电的氨基酸的数量和/或增加带正电的氨基酸的数量的氨基酸置换(其可能暴露在抗体分子的表面(在抗体可变区中))完成抗体pI的提高。本领域技术人员将理解，通过所述pI提高获得的效应主要(或基本上)不取决于靶抗原的类型或构成抗体的氨基酸序列，但可以预期取决于pI。例如，WO2007/114319和WO2009/041643以通用术语描述以下事项。

[1113] 因为IgG抗体的分子量足够大，其主要代谢通路不涉及肾分泌。已知具有Fc的IgG抗体具有长的半衰期，因为它们通过细胞(包括血管的内皮细胞)中表达的FcRn的补救途径而再循环，并且认为IgG主要在内皮细胞中代谢。更具体而言，认为非特异摄入内皮细胞的IgG通过结合FcRn而再循环，并且不能结合FcRn的分子被代谢。其FcRn-结合能力降低的IgG具有较短的血液半衰期，并且相反，血液半衰期可以通过增加其对FcRn的结合能力而延长。这种方式，之前的用于控制IgG在血液中的动力学的方法涉及修饰Fc以改变对FcRn的结合能力；然而，WO2007/114319(主要是在FR区中置换氨基酸的技术)和WO2009/041643(主要是在CDR区中置换氨基酸的技术)的工作实施例表明，不论靶抗原类型如何，通过修饰抗体的可变区的pI，可以在不修饰Fc的情况下控制其血液半衰期。认为IgG抗体非特异性摄入内皮细胞的速率取决于带负电的细胞表面和IgG抗体的物理化学库仑相互作用。因此，认为降低(增加)IgG抗体的pI和因此降低(增加)库仑相互作用，降低(增加)其非特异的内皮细胞的摄入，并且因此，降低(增加)其在内皮细胞中的代谢，由此使得能够控制血浆药代动力学。因为内皮细胞和细胞表面的负电荷之间的库仑相互作用是物理化学相互作用，所以认为该相互作用不主要取决于构成抗体的氨基酸序列本身。因此，本文中提供的控制血浆药代动力学的方法不仅适用于特定抗体，而且它们可以广泛用于任何含有抗体可变区的多肽。本文中，库仑相互作用的降低(增加)意为表示为吸引力的库仑力的降低(增加)和/或表示为排斥力的库仑力的增加(降低)。

[1114] 用于完成上述的氨基酸置换可以是单个氨基酸置换或多个氨基酸置换的组合。在一些实施方案中，提供用于将单个氨基酸置换或多个氨基酸置换的组合引入暴露在抗体分子表面的一个或多个位置。备选地，引入的多个氨基酸置换可以在构象上彼此接近安置。本发明人产生这样的想法，例如，当用带正电的氨基酸(优选精氨酸或赖氨酸)置换可以暴露在抗体分子表面的氨基酸时或当使用预先存在的带正电的氨基酸(优选精氨酸或赖氨酸)时，可以优选进一步用带正电的氨基酸置换一个或多个构象上与那些氨基酸接近的氨基酸(在某些情况下，甚至埋在抗体分子内的一个或多个氨基酸)，由此产生在构象上接近的位置局部聚簇的正电荷。本文中，"构象上接近的一个或多个位置"的定义不特别限制，但例如，其可以意为在彼此的20埃内，优选15埃内，或更优选10埃内引入单个氨基酸置换或多个氨基酸置换的状态。目的氨基酸置换是否在暴露在抗体分子表面的位置，或氨基酸置换是否在位置上接近可以通过已知方法如X-射线晶体学确定。

[1115] 这样，通过注意到pI是表示分子的总体电荷的一个指标，并且埋在抗体分子内的电荷和抗体分子表面上的电荷在没有任何区别的情况下处理，本发明人还认为，通过广泛和深入考虑来自电荷的影响产生抗体分子，其包括不仅pI而且抗体分子上的表面电荷和电荷的局部聚簇，抗原从血浆的去除速率可以进一步加速并且血浆中的抗原浓度可以保持在甚至较低水平。

[1116] 受体如FcRn或Fcγ R在细胞膜上表达，并且认为在中性pH条件对FcRn或Fcγ R具有增强的亲和力的抗体主要通过这些Fc受体而被摄入细胞。因为细胞膜带负电，所以当其pI高(分子作为整体的电荷向正电荷改变)时，施用的抗体-抗原复合物更容易接近细胞膜，并且通过Fc受体的摄取可以更容易发生。因此，当它们与抗原形成复合物时，在中性pH条件下对FcRn或Fcγ R具有增强的亲和力的抗体以及提高的pI还显示增加的通过Fc受体的细胞内摄取。因此，通过以pH-依赖性的方式结合抗原并且在中性pH条件下对FcRn或Fcγ R具有增强的亲和力的抗体从血浆去除抗原的速度可以通过增加其pI来加速，并且血浆抗原浓度可以保持在较低水平。

[1117] 实施例3

[1118] 具有提高的pI的pH-依赖性结合抗体的胞外基质结合的评价。

[1119] (3-1)胞外基质结合能力的评价

[1120] 进行以下实验以评价赋予抗体以pH-依赖性抗原结合性质和进一步修饰pI对于其胞外基质结合能力的影响。

[1121] 以与实施例1的方法类似的方式，产生具有不同pI的三种类型的抗体，其为显示对IL-6受体的pH-依赖性结合的抗体：低_pI-IgG1，中_pI-IgG1，和高_pI-IgG1。作为不显示对IL-6受体的pH-依赖性结合的普通抗体，通过参照实施例2的方法分别产生WO2009125825中所述的包含H54(SEQ ID NO:34)和L28(SEQ ID NO:35)的低_pI(NPH)-IgG1以及包含H(WT)(SEQ ID NO:36)和L(WT)(SEQ ID NO:37)的高_pI(NPH)-IgG1。

[1122] 以与实施例1的方法类似的方式，对这些抗体计算理论pI并显示在表4中。对IL-6受体不显示pH-依赖性结合的抗体还显示具有与显示pH-依赖性结合的抗体类似的增加的pI。

[1123] [表4]

[1124]

抗体名称	理论 pI
低_pI-IgG1	6.39
中_pI-IgG1	8.70
高_pI-IgG1	9.30
低_pI(NPH)-IgG1	6.10
高_pI(NPH)-IgG1	9.35

[1125] (3-2)通过电化学发光(ECL)方法评价抗体对胞外基质的结合

[1126] 使用TBS(Takara)将胞外基质(BD Matrigel Basement Membrane Matrix;由BD制造)稀释至2mg/mL。以5μL/孔将稀释的胞外基质分散在MULTI-ARRAY 96孔板，高结合(High bind)，Bare(由Meso Scale Discovery:MSD制造)中，并在4℃固定过夜。然后，将pH 7.4的含有150mM NaCl，0.05％吐温20，0.5％BSA，和0.01％NaN_3的20mM ACES缓冲液分散在板中用于封闭。使用20mM pH 7.4的ACES缓冲液(ACES-T缓冲液)(含有150mM NaCl，0.05％吐温

20，和0.01％NaN_3)将要评估的抗体稀释至30，10，和3μg/mL，并且随后使用含有150mM NaCl，0.01％吐温20，0.1％BSA，和0.01％NaN_3的20mM pH 7.4的ACES缓冲液(Dilution缓冲液)进一步稀释，分别产生10，3.3，和1μg/mL的终浓度。将稀释的抗体溶液加入去除封闭溶液的板中，并且将其在室温振荡一小时。去除抗体溶液，加入含有0.25％戊二醛(glutaraldehyde)的ACES-T缓冲液，并且之后使其静置10分钟，将板用含有0.05％吐温20的DPBS(由Wako Pure Chemical Industries制造)洗涤。使用Sulfo-标签NHS酯(由MSD制造)通过sulfo-标记的山羊抗-人IgG(γ)(由Zymed Laboratories制造)制备用于ECL检测的抗体。将用于检测的抗体在稀释缓冲液中稀释到1μg/mL，加入板中，并且随后在暗处在室温振荡一小时。去除用于检测的抗体，并且加入通过用超纯水稀释MSD Read缓冲液T(4x)(由MSD制造)制备的2-倍稀释的溶液；并且随后在SECTOR成像仪2400(由MSD制造)上测量发光量。

[1127] 结果显示在图5中。显示pH-依赖性结合的抗体以及不显示pH-依赖性结合的抗体都显示通过增加其pI而增加对胞外基质的结合。此外，出人意料地，通过提高pI改善胞外基质结合的效果在具有pH-依赖性抗原结合的抗体中显著。换句话说，发现以pH-依赖性的方式结合抗原并且具有高pI的抗体(高_pI-IgG1)具有最强的对胞外基质的亲和力。

[1128] 不限于特定理论，获自这些实验的结果还可以如下解释。已知将组氨酸修饰引入抗体可变区是向抗体赋予pH-依赖性抗原结合性质的一种方法(参见例如，WO2009/125825)。组氨酸在其侧链上具有咪唑基团，并且在中性pH至碱性pH条件下不带电，但已知在酸性pH条件下带正电。使用组氨酸的该性质，通过将组氨酸引入抗体可变区，特别是在与抗原相互作用的位点相邻位置的一个或多个CDR中，技术人员可以在中性和酸性pH条件之间改变与抗原相互作用的位点处的电荷环境和构象环境。可以预期所述抗体具有以pH-依赖性的方式改变的抗原亲和力。本领域技术人员将理解，通过所述组氨酸引入获得的效果主要(基本上)不依赖于靶抗原的类型或构成抗体的氨基酸序列，而是依赖于组氨酸引入的位点或引入的组氨酸残基的数量。

[1129] WO2009/041643整体描述如下：蛋白-蛋白相互作用由疏水相互作用，静电相互作用，和氢键组成，并且所述结合的强度通常可以使用结合常数(亲和力)或表观结合常数(亲合力)表示。pH-依赖性结合(其中结合强度在中性pH条件(例如，pH 7.4)和酸性pH条件(例如，pH 5.5至pH 6.0)之间改变)，取决于天然存在的蛋白-蛋白相互作用。例如，前述IgG分子和FcRn(已知其是IgG分子的拯救受体)之间的结合，在酸性pH条件下显示强烈结合并且在中性pH条件下显示非常弱的结合。组氨酸残基参与到很多以pH-依赖性的方式改变的蛋白-蛋白相互作用中。因为组氨酸残基的pKa接近6.0至6.5，所以组氨酸残基中质子解离的状态在中性和酸性pH条件之间改变。更具体而言，组氨酸残基在中性pH条件下不带电并且是中性的，并且作为氢原子受体行使功能；而在酸性pH条件下，其带正电并且作为氢原子供体行使功能。此外在上述IgG分子-FcRn相互作用中，报道了存在于IgG分子上的组氨酸残基参与pH-依赖性结合中(Martin等人，Mol.Cell.7(4)：867-877(2001))。

[1130] 因此，参与蛋白-蛋白相互作用的氨基酸残基置换为组氨酸残基，或在相互作用位点引入组氨酸可以对蛋白-蛋白相互作用赋予pH依赖性。对抗体和抗原之间的蛋白-蛋白相互作用进行类似处理；并且通过将组氨酸引入抗-蛋清溶菌酶抗体的CDR序列，成功获得了在酸性pH条件下具有减小的抗原亲和力的抗体突变体(Ito等人，FEBS Lett.309(1)：85-88

(1992))。此外,已经报道了由于在CDR序列中引入组氨酸而在癌组织的低pH下特异性结合抗原并且在中性pH条件下弱结合相应抗原的抗体(WO2003/105757)。

[1131] 同时,引入以提高pI的氨基酸残基优选是具有带正电的侧链的赖氨酸,精氨酸,或组氨酸。这些氨基酸侧链的标准pKa对于赖氨酸是10.5,对于精氨酸是12.5,并且对于组氨酸是6.0(Skoog等人,Trends Anal.Chem.5(4):82-83(1986))。基于本领域中已知的酸碱平衡理论,这些pKa值意为,在pH 10.5的溶液中,50%的赖氨酸侧链带正电并且其余50%不带电。随着溶液的pH增加,赖氨酸侧链的带正电比例降低,并且在比赖氨酸的pKa高1个pH值的pH 11.5的溶液中,带正电的比例变为大约9%。另一方面,随着溶液的pH降低,带正电的比例增加,并且在比赖氨酸的pKa低1个pH值的pH 9.5的溶液中,带正电的比例变为约91%。该理论对于精氨酸和组氨酸以类似的方式适用。更具体而言,在中性pH(例如,pH 7.0)溶液中接近100%的赖氨酸或精氨酸带正电,而大约9%的组氨酸带正电。因此,在组氨酸在中性pH条件带正电的情况下,因为与赖氨酸或精氨酸相比,该水平低,所以认为赖氨酸和精氨酸是引入用于提高pI的更有利的氨基酸。此外,根据Holash等人(Proc.Natl.Acad.Sci.99(17):11393-11398(2002),在认为提高pI的修饰的引入作为增加胞外基质结合的修饰是有效的同时,已经认为由于上述原因,与引入组氨酸的置换相比,引入赖氨酸或精氨酸的置换是更有利的氨基酸修饰。

[1132] 如本文中首先公开的,通过组合组氨酸的引入(以赋予pH-依赖性抗原结合性质)连同抗体的提高pI的修饰,抗体对胞外基质的亲和力的出人意料的协同增加是可能的。实际上,在高_pI-IgG1的pI是9.30的同时,高_pI(NPH)-IgG1的pI是9.35,并且因此高_pI-IgG1的值稍低。尽管如此,对于高_pI-IgG1而言,对胞外基质的实际亲和力明显更强。这表明,对胞外基质的亲和力不能仅由pI水平解释,并且可以说引入提高pI的修饰和组氨酸修饰的组合显示协同效果。该结果是出人意料的和未预料到的现象。

[1133] 然而,技术人员必须注意,因为蛋白中氨基酸侧链的pKa极大地受周围环境影响,所以它们将并不总是匹配上述理论pKa值。更具体而言,以上描述在本文中基于一般科学理论提供;然而,技术人员可以容易猜测,在实际蛋白中可以存在很多例外。例如,在Hayes等人,J.Biol.Chem.250(18):7461-7472(1975)中,在实验确定肌球蛋白中含有的组氨酸的pKa时,尽管值以约6.0为中心,还报道它们在5.37至8.05之间变化。天然地,具有高pKa的组氨酸在中性pH条件下主要带正电。因此,上述理论不否认在蛋白的实际三维结构中引入组氨酸的提高pI的效果。充分可能的是,引入组氨酸的氨基酸修饰,如在利用赖氨酸或精氨酸的情况下观察到的,也可以发挥pI提高的效果。

[1134] 实施例4

[1135] 通过在恒定区中的一个氨基酸置换提高pI

[1136] 已经描述了用于通过将氨基酸置换引入抗体可变区增加以pH-依赖性的方式结合抗原的抗体的pI的方法。此外,用于提高抗体的pI的方法可以通过在抗体恒定区中进行少至一个氨基酸置换来进行。

[1137] 将一个氨基酸置换加入至抗体恒定区以提高pI的方法不特别限制,但例如,其可以通过WO2014/145159中所述的方法进行。如在可变区的情况下的,引入恒定区的氨基酸置换优选是降低带负电的氨基酸(如,天冬氨酸或谷氨酸)的数量同时增加带正电的氨基酸(如精氨酸或赖氨酸)的那些。

[1138] 不受限制，恒定区中引入氨基酸置换的位置优选是其中氨基酸侧链可以暴露在抗体分子表面的位置。优选的实施例包括在这种可以暴露在抗体分子表面的位置引入多个氨基酸置换的组合的方法。备选地，引入的多个氨基酸置换优选是这样的位置，它们在构象上彼此接近。此外，不受限制地，引入的多个氨基酸置换优选置换为带正电的氨基酸，从而在某些情况下，它们导致多个正电荷存在于构象上接近的位置的状态。"构象上接近的位置"的定义不特别限制，但例如，其可以意为单个氨基酸置换或多个氨基酸置换引入彼此的20埃内，优选15埃内，或更优选10埃内的状态。目的氨基酸置换是否在暴露在抗体分子表面的位置，或氨基酸置换的多个位置是否在相邻位置，可以通过已知方法如X-射线晶体学确定。

[1139] 此外，除了上述方法，在构象上接近的位置赋予多个正电荷的方法包括，使用IgG恒定区中最初带正电的氨基酸的方法。所述带正电的氨基酸位置的实例包括(a)根据EU编号位置255，292，301，344，355，或416的精氨酸；和(b)根据EU编号位置121，133，147，205，210，213，214，218，222，246，248，274，288，290，317，320，322，326，334，338，340，360，370，392，409，414，或439的赖氨酸。通过在构象上临近这些带正电的氨基酸的位置处用带正电的氨基酸进行置换，可能在构象上临近的位置赋予多个正电荷。

[1140] (4-1)pH-依赖性抗-IgE结合抗体的生产

[1141] 通过参照实施例2的方法产生以下三种抗体，其为pH-依赖性抗-人IgE抗体：(1)Ab1，其是常规抗体，包含Ab1H(SEQ ID NO:38)作为重链和Ab1L(SEQ ID NO:39)作为轻链；(2)Ab2，其是常规抗体，包含Ab2H(SEQ ID NO:40)作为重链和Ab2L(SEQ ID NO:41)作为轻链；以及(3)Ab3，其是常规抗体，包含Ab3H(SEQ ID NO:42)作为重链和Ab3L(SEQ ID NO:43)作为轻链。

[1142] (4-2)评价人IgE结合的pH依赖性

[1143] 如下评价Ab1在pH 7.4和pH 5.8对人IgE的亲合力。使用BIACORE T100(GE Healthcare)进行人IgE和Ab1的动力学分析。使用以下两种缓冲液作为运行缓冲液进行测量：(1)1.2mM $CaCl_2$/0.05％吐温20，20mM ACES，150mM NaCl，pH 7.4；和(2)1.2mM $CaCl_2$/0.05％吐温20，20mM ACES，150mM NaCl，pH 5.8。

[1144] 通过酰胺偶联方法将适量的蛋白A/G(ACTIGEN)固定在传感芯片CM4(GE Healthcare)上以捕获目标抗体。接着，通过注射稀释的IgE溶液和运行缓冲液(用作参照溶液)将人IgE与捕获在传感芯片上的抗体进行相互作用。对于运行缓冲液，使用上述缓冲液(1)和(2)中的任一种，并且使用各个缓冲液稀释人IgE。为了再生传感芯片，使用10mM pH 1.5的甘氨酸-HCl。所有测量在25℃进行。基于结合速率常数ka(1/Ms)和解离速率常数kd(1/s)(其是从通过测量获得的传感图计算的动力学参数)对于每个抗体计算人IgE的KD(M)。使用BIACORE T100评价软件(GE Healthcare)计算每个参数。

[1145] 如下计算Ab2和Ab3对人IgE在pH 7.4和pH 5.8的亲和力。使用BIACORE T200(GE Healthcare)评价抗-hIgE抗体对hIgE的结合活性(解离常数KD(M))。使用以下两种缓冲液作为运行缓冲液进行测量：(1)1.2mM $CaCl_2$/0.05％吐温20，20mM ACES，150mM NaCl，pH 7.4；和(2)1.2mM $CaCl_2$/0.05％吐温20，20mM ACES，150mM NaCl，pH 5.8。

[1146] 通过利用链霉亲和素和生物素之间的亲和力，将适量的通过将生物素添加至存在于化学合成的人磷脂酰肌醇蛋白聚糖3(又名，GPC3)蛋白-衍生的肽(具有(VDDAPGNSQQATPKDNEISTFHNLGNVHSPLK(SEQ ID NO:44)的氨基酸序列)("生物素化的GPC3肽")的C末端Lys

产生的肽加入至传感芯片SA(GE Healthcare)并且固定在芯片上。注射适当浓度的hIgE并且通过捕获生物素化的GPC3肽固定在芯片上。注射适当浓度的抗-hIgE抗体作为分析物，并且使其与传感芯片上的hIgE相互作用。然后，为了再生传感芯片，注射10mM pH 1.5的甘氨酸-HCl。所有测量在37℃进行。通过分析测量结果，通过使用BIACORE T200评价软件(GE Healthcare)曲线拟合计算结合速率常数ka(1/Ms)和解离速率常数kd(1/s)，并且基于那些值计算解离常数KD(M)。

[1147] 结果在表5中提供。所有抗体，Ab1，Ab2和Ab3，显示对人IgE的pH-依赖性结合，并且显示当与它们在中性pH条件(pH 7.4)的亲和力比较时，它们在酸性pH条件(pH 5.8)的亲和力显著弱化。因此，预期向活体动物施用这些抗体显示加速人IgE(其是抗原)的去除的效果。

[1148] [表5]

[1149]

抗体名称	缓冲液 pH 条件	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
Ab1	pH7.4	2.7E+06	6.0E-03	2.3E-09
	pH5.8	1.6E+04	3.9E-02	2.4E-06
Ab2	pH7.4	2.9E+06	4.5E-03	1.5E-09
	pH5.8	5.5E+05	5.3E-02	9.7E-08
Ab3	pH7.4	1.6E+06	7.9E-03	4.9E-09
	pH5.8	1.4E+05	3.3E-02	2.3E-07

[1150] 在表6中显示以与实施例1的方法类似的方式计算的对于Ab1-Ab3的理论pI值(pIs)。

[1151] [表6]

[1152]

抗体名称	理论pI
Ab1	6.77
Ab2	6.48
Ab3	6.48

[1153] (4-3)通过恒定区中的单个氨基酸修饰产生具有增加的-pI的抗体

[1154] 实施例(4-1)中产生的Ab1是具有天然人IgG1作为恒定区的抗体。通过修饰Ab1H(其是Ab1的重链)的Fc区，通过用天冬氨酸置换根据EU编号位置238处的脯氨酸和用丙氨酸置换根据EU编号位置298处丝氨酸，产生Ab1H-P600。此外，通过参照实施例2的方法，通过分别将表7-1和7-2中指出的各种单个氨基酸置换引入Ab1H-P600的Fc区，产生各种Fc变体。对于所有Fc变体，将Ab1L(SEQ ID NO:39)用作轻链。这些抗体对hFcγRII2b的亲和力与P600变体相当(数据未显示)。

[1155] [表7-1]

[1156]

变体名称	添加于P600的氨基酸突变	Biaeore	成像
P600	None	1.00	1.00
P828	Q196K	1.27	0.98
P829	S337R	0.17	0.89
P830	L358K	1.24	2.35

P831	P387R	3.85	1.30
P836	E345Q	1.85	无数据
P837	E345R	1.88	无数据
P838	D356Q	1.87	无数据
P839	D356N	2.17	无数据
P840	T359K	2.25	无数据
P841	N361R	1.86	无数据
P842	Q362K	2.37	无数据
P843	E380R	-0.04	无数据
P844	E382Q	1.24	无数据
P845	E382K	1.38	无数据
P846	Q386K	1.71	无数据
P847	N389K	1.57	无数据
P848	S415R	1.38	无数据
P849	Q418R	2.21	无数据
P850	Q419K	2.22	无数据
P851	N421R	1.43	1.56
P852	S424K	1.40	无数据
P854	L443R	1.93	无数据
P905	N384R	1.34	2.36
P906	G385R	1.74	1.12
P907	H433R	0.09	3.55
P908	N434R	0.42	1.88
P909	H435R	0.73	0.77
P910	L309R	1.73	1.80
P912	T307R	0.24	1.30
P914	D399R	1.72	3.78
P915	S400R	0.85	2.01
P917	A327R	-0.05	2.49
P918	L328R	-0.06	0.00
P919	P329R	-0.06	0.00

[1157] [表7-2]

[1158]

P920	A330R	0.01	1.67
P921	P331R	-0.07	0.02
P923	Q311R	1.63	2.88
P924	N315R	2.08	2.66
P925	Y296R	-0.05	0.34
P926	Q295R	-0.06	0.04
P927	E294R	0.25	0.29

P928	E293R	0.20	0.04
P929	P291R	0.47	0.53
P930	A287R	-0.07	0.00
P931	N286R	0.68	1.27
P932	H285R	1.38	1.96
P934	V282R	1.54	1.67
P935	G281R	-0.06	2.14
P937	E272R	0.21	0.56
P938	P271R	-0.06	0.04
P939	D270R	-0.07	0.01
P940	E269R	-0.05	0.01
P941	H268R	0.47	0.44
P942	E258R	无数据	3.07
P944	T256R	无数据	1.49
P945	S254R	无数据	5.70
P946	I253R	无数据	1.05
P947	M252R	无数据	0.94
P948	L251R	无数据	0.13

[1159] (4-4)使用新的含有Fc区变体的抗体通过BIACORE的人FcγRIIb-结合测定

[1160] 使用BIACORE(注册商标)T200(GE Healthcare)进行可溶性人FcγRIIb(又名"hFcγRIIb")和抗原-抗体复合物之间的含有Fc区变体的抗体结合测定。以His-标签标记的分子的形式,使用本领域中已知的方法产生可溶性hFcγRIIb。通过胺偶联方法,使用His捕获试剂盒(GE Healthcare)将适量的抗-His抗体固定在传感芯片CM5(GE Healthcare)上以捕获hFcγRIIb。接着,注射抗体-抗原复合物和运行缓冲液(作为参照溶液),并且允许与捕获在传感芯片上的hFcγRIIb的相互作用发生。将20mM pH 7.4的N-(2-乙酰胺基)-2-氨基乙磺酸,150mM NaCl,1.2mM $CaCl_2$,和0.05%(w/v)吐温20用作运行缓冲液,并且各个缓冲液还用于稀释可溶性hFcγRIIb。为了再生传感芯片,使用10mM pH 1.5的甘氨酸-HCl。所有测量在25℃进行。基于从通过测量获得的传感图计算的结合(RU)进行分析,并且在P600的结合量定义为1.00时,显示相对值。为了计算参数,使用BIACORE(注册商标)T100评价软件(GE Healthcare)。结果显示在表7-1和7-2(参见表中"BIACORE"栏)和在图6中显示。显示多个Fc变体具有增强的对固定在BIACORE(注册商标)传感芯片上的hFcγRIIb的亲和力。

[1161] 不受限于特定理论,该结果可以解释如下。已知BIACORE(注册商标)传感芯片带负电,并且该带电状态可以认为是类似细胞膜表面。更具体而言,推测抗原-抗体复合物对固定在带负电的BIACORE传感芯片上的hFcγRIIb的结合类似于抗原-抗体复合物结合存在于带负电的细胞膜表面上的hFcγRIIb的方式。

[1162] 通过将提高pI的修饰引入Fc区产生的抗体是在与引入修饰前的那些比较时,其中Fc区(恒定区)的电荷带更多正电的抗体。因此,可以认为Fc区(正电荷)和传感芯片表面(负电荷)之间的库仑相互作用通过提高pI的氨基酸修饰而增强。此外,预期所述效果类似地在带负电的细胞膜表面发生;因此,还预期它们显示加速体内摄入细胞的速度或速率的效果。

[1163] 从上述结果，当与Ab1H-P600对hFcγRIIb的结合相比时，对于变体对hFcγRIIb的结合超过约1.2倍或更多的比率被认为对抗体对传感芯片上的hFcγRIIb的结合具有强烈的电荷效应。因此，预期得到电荷效应的修饰包括，例如，根据EU编号位置196，282，285，309，311，315，345，356，358，359，361，362，382，384，385，386，387，389，399，415，418，419，421，424，或443的修饰。优选所述修饰在位置282，309，311，315，345，356，359，361，362，385，386，387，389，399，418，419，或443处。在所述位置引入的氨基酸置换优选是精氨酸或赖氨酸。其中可以预期所述电荷效应的氨基酸突变位置的另一实例包括根据EU编号位置430处的谷氨酸。要引入在位置430处的优选的氨基酸置换是带正电的精氨酸或赖氨酸，或在不带电残基中，置换为甘氨酸或苏氨酸是优选的。

[1164] (4-5)由表达hFcγRIIb的细胞对含有Fc区变体的抗体的摄取

[1165] 为了使用产生的新的含有Fc区变体的抗体评价细胞内被摄入表达hFcγRIIb的细胞系的速率，进行以下测定。

[1166] 使用已知方法产生组成型表达hFcγRIIb的MDCK(Madin-Darby犬肾)细胞系。使用这些细胞，评价抗原-抗体复合物的细胞内摄取。具体而言，根据建立的方案将pHrodoRed(Life Technologies)用于标记人IgE(抗原)，并且在培养溶液中形成抗原-抗体复合物，其中抗体浓度是10.8mg/mL并且抗原浓度是12.5mg/mL。将含有抗原-抗体复合物的培养溶液加入至上述组成型表达hFcγRIIb的MDCK细胞的培养板中并孵育一小时，并且随后使用InCell Analyzer 6000(GE healthcare)定量摄入细胞的抗原的荧光强度。摄入的抗原量表示为与采用为1.00的P600值的相对值。

[1167] 表7-1和7-2(参见表中"成像"栏)和图7显示结果。在多个Fc变体中观察到源自细胞中抗原的强荧光。

[1168] 尽管不限于特定理论，该结果可以如下解释：加入细胞培养溶液的抗原和抗体在培养溶液中形成抗原-抗体复合物。抗原-抗体复合物经由抗体Fc区结合表达在细胞膜上的hFcγRIIb，并且以受体-依赖性的方式摄入细胞中。用于此实验的Ab1是以pH-依赖性的方式结合抗原的抗体；因此，抗体可以从抗原解离。因为解离的抗原如之前描述用pHrodoRed标记，其在内体中发荧光。因此，与对照相比在细胞内更强的荧光强度被认为表明，抗原-抗体复合物摄入细胞更快或以更高频率发生。

[1169] 本文中，与Ab1H-P600的荧光强度相比，变体的摄入细胞中的抗原的荧光强度的高于约1.05倍或更多的比率被认为对摄入细胞的抗原具有电荷效应。与Ab1H-P600的荧光强度相比，摄入变体的细胞的抗原的荧光强度的高于约1.5倍或更多的比率被认为对摄入细胞的抗原具有强的电荷效应。因此，上述结果表明，通过将提高pI的修饰引入Fc区的适当的位置，与引入修饰前相比，可以加速摄入细胞内。显示所述效果的氨基酸位置修饰是，例如，根据EU编号位置253，254，256，258，281，282，285，286，307，309，311，315，327，330，358，384，385，387，399，400，421，433，或434。优选地，修饰是在根据EU编号的位置254，258，281，282，285，309，311，315，327，330，358，384，399，400，421，433，或434处。引入在所述位置的氨基酸置换优选是精氨酸或赖氨酸。不受限制，为了提高抗体的pI将氨基酸置换引入恒定区中的位置可以是，例如，根据EU编号在位置285处的氨基酸残基。备选地，其他实例可以包括根据EU编号在位置399处氨基酸残基的氨基酸置换。

[1170] 实施例5

[1171] 在酸性pH条件下具有增强的FcRn结合的Fc变体的产生，用于改善在血浆中的保留

[1172] 在内体中的酸性pH条件下，已知摄入细胞的IgG抗体通过结合FcRn返回血浆。因此，与不结合FcRn的蛋白相比，IgG抗体通常具有长的血浆半衰期。已知利用该性质通过增加其在酸性pH条件下的FcRn亲和力(通过在抗体Fc区引入氨基酸修饰)来增强抗体的血浆保留的方法。具体而言，已知通过增加其在酸性pH条件下对FcRn的亲和力(通过氨基酸修饰，如M252Y/S254T/T256E(YTE)修饰)来改善抗体的血浆保留的方法(Dall′Acqua等人，J.Biol.Chem.281:23514-23524(2006))，M428L/N434S(LS)修饰(Zalevsky等人，Nat.Biotechnol.28:157-159(2010))，和N434H修饰(Zheng等人，Clinical Pharmacology& Therapeutics 89(2):283-290(2011))。

[1173] 另一方面，如上文所述的，还已知在酸性pH条件下具有增加的FcRn亲和力的Fc变体显示不希望有的对类风湿因子(RF)的亲和力(WO2013/046704)。因此，为了产生可以改善血浆保留(具有降低的对类风湿因子的结合或基本上不结合对类风湿因子)的Fc变体而进行以下研究。

[1174] (5-1)新的含有Fc区变体的抗体的生产

[1175] 如下文所示，产生在酸性pH条件下具有增加的FcRn亲和力的Fc变体，如包括已知修饰，YTE，LS，或N434H的那些，以及多个新的Fc变体(F1847m，F1848m，F1886m，F1889m，F1927m，和F1168m)。

[1176] 通过参照实施例1的方法产生编码重链的序列(其中氨基酸修饰引入Fv4-IgG1(其是抗-人IL-6受体抗体)的重链(VH3-IgG1m)的Fc区)。这些重链用于通过参照实施例2的方法产生以下抗体：(a)Fv4-IgG1，其包含VH3-IgG1m(SEQ ID NO:46)作为重链和VL3-CK作为轻链；(b)Fv4-YTE，其包含VH3-YTE(SEQ ID NO:47)作为重链和VL3-CK作为轻链；(c)Fv4-LS，其包含VH3-LS(SEQ ID NO:48)作为重链和VL3-CK作为轻链；(d)Fv4-N434H，其包含VH3-N434H(SEQ ID NO:49)作为重链和VL3-CK作为轻链；(e)Fv4-F1847m，其包含VH3-F1847m(SEQ ID NO:50)作为重链和VL3-CK作为轻链；(f)Fv4-F1848m，其包含VH3-F1848m(SEQ ID NO:51)作为重链和VL3-CK作为轻链；(g)Fv4-F1886m，其包含VH3-F1886m(SEQ ID NO:52)作为重链和VL3-CK作为轻链；(h)Fv4-F1889m，其包含VH3-F1889m(SEQ ID NO:53)作为重链和VL3-CK作为轻链；(i)Fv4-F1927m，其包含VH3-F1927m(SEQ ID NO:54)作为重链和VL3-CK作为轻链；和(j)Fv4-F1168m，其包含VH3-F1168m(SEQ ID NO:55)作为重链和VL3-CK作为轻链。

[1177] (5-2)对人FcRn的结合动力学分析

[1178] 通过参照实施例2的方法产生含有VH3-IgG1m或上述变体作为重链和L(WT)(SEQ ID NO:37)作为轻链的抗体，并且如下评价对人FcRn的结合活性。

[1179] 使用BIACORE T100(GE Healthcare)进行人FcRn和每种所述抗体的动力学分析。通过胺偶联方法将适量的蛋白L(ACTIGEN)固定在传感芯片CM4(GE Healthcare)上以捕获目标抗体。接着，通过注射稀释的FcRn溶液和运行缓冲液(用作参照溶液)将人FcRn与捕获在传感芯片上的抗体进行相互作用。对于运行缓冲液，使用50mM磷酸钠，150mM NaCl，和0，05％(w/v)吐温20(pH 6.0)，并且各个缓冲液还用于稀释FcRn。为了再生传感芯片，使用10mM pH 1.5的甘氨酸-HCl。所有测量在25℃进行。基于结合速率常数ka(1/Ms)和解离速率常数kd(1/s)(其是从通过测量获得的传感图计算的动力学参数)对每个抗体计算对于人

FcRn的KD(M)。BIACORE T100评价软件(GE Healthcare)用于计算每个参数。

[1180] 结果在表8中显示。

[1181] [表8]

[1182]

变体名称	氨基酸突变	在pH 6.0对hFcRn的KD值(nM)
IgG1		1382
LS	M428L/N434S	116
YTE	M252Y/S254T/T256E	148
F1847m	N434A/Y436T/Q438R/S440E	367
F1848m	N434A/Y436V/Q438R/S440E	295
F1886m	M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E	108
F1889m	M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E	103
F1927m	M428L/N434A/Q438R/S440E	125
F1168m	N434A/Q438R/S440E	410

[1183] 实施例6

[1184] 具有增强的FcRn结合的含有Fc区变体的抗体在酸性pH条件下对类风湿因子的亲和力的评价

[1185] 抗药物抗体(ADAs)影响治疗性抗体的功效和药代动力学,并且有时导致严重的副作用;因此,治疗性抗体的临床应用和功效可以受ADA的产生的限制。很多因素影响治疗性抗体的免疫原性,并且效应T细胞表位的存在是一个因素。此外,在施用治疗性抗体前在患者中存在ADA(也称为"预先存在的ADA")可能具有类似的问题。具体而言,在患有自身疾病如类风湿性关节炎(RA)的患者的治疗性抗体的情况下,类风湿因子(RF)(其是针对人IgG的自身抗体)可以引起"预先存在的ADA"问题。近来,报道了,具有N434H(Asn434His)突变的人源化抗-CD4IgG1抗体引起显著的类风湿因子结合(Zheng等人,Clinical Pharmacology& Therapeutics 89(2):283-290(2011))。详细研究确认,与母体人IgG1相比,人IgG1中的N434H突变增加类风湿因子对抗体的Fc区的结合。

[1186] 类风湿因子是针对人IgG的多克隆自身抗体,并且其在人IgG中的表位根据克隆而不同,并且似乎位于CH2/CH3交界区,并且在可以与FcRn-结合表位重叠的CH3结构域。因此,增加对FcRn的结合活性(结合亲和力)的突变可以增加类风湿因子对特定克隆的结合活性(结合亲和力)。

[1187] 实际上,关于在酸性pH或中性pH对FcRn具有增加的亲和力的Fc,还已知不仅N434H修饰而且很多其他氨基酸修饰类似地增加Fc对类风湿因子的结合(WO2013/046704)。

[1188] 另一方面,在WO2013/046704中作为实例提供选择性抑制对类风湿因子的亲和力而不影响对FcRn的亲和力的多种氨基酸修饰,并且它们当中,已经指出两个氨基酸突变的组合,即Q438R/S440E,Q438R/S440D,Q438K/S440E,和Q438K/S440D。因此,将Q438R/S440E引入首先在本文中公开的在酸性pH条件下具有新的增加的亲和力的Fc以研究是否可以降低对类风湿因子的结合。

[1189] (6-1)含有Fc区变体的抗体的类风湿因子结合测定

[1190] 通过利用电化学发光(ECL)在pH 7.4使用来自30个RA患者的个体血清(Proteogenex)进行对类风湿因子的结合测定。将50-倍稀释的血清样品,生物素化的测试抗体(1μg/mL),和SULFO-TAG NHS酯(Meso Scale Discovery)-标记的测试抗体(1μg/mL)各

自混合并在室温孵育三小时。之后，将混合物加入至链霉亲和素-包被的MULTI-ARRAY 96-孔板(Meso Scale Discovery)中，并且将板在室温孵育两小时并且随后洗涤。在向每孔加入读取缓冲液T(x4)(Meso Scale Discovery)之后，立即将板放在SECTOR成像仪2400读数器(Meso Scale Discovery)上，并且测量化学发光。

[1191] 该测定的结果在图8至17中显示。具有天然人IgG1的Fv4-IgG1(图8)仅显示弱的对类风湿因子的结合，而现有的具有增加的FcRn结合的Fc变体，Fv4-YTE(图9)，Fv4-LS(图10)，和Fv4-N434H(图11)，在很多供体中全部显示显著增加的类风湿因子结合。另一方面，所有具有增加的FcRn结合的新的Fc区变体，Fv4-F1847m(图12)，Fv4-F1848m(图13)，Fv4-F1886m(图14)，Fv4-F1889m(图15)，Fv4-F1927m(图16)，和Fv4-F1168m(图17)，仅显示弱的类风湿因子结合，并且这表明，作为增加FcRn结合的修饰的结果，对类风湿因子的结合被显著抑制。

[1192] 图18显示30个RA患者的血清中对于每种变体的类风湿因子-结合亲和力的平均值。所有六种新的变体显示比三种预先存在的变体(YTE，LS和N434H)低的亲和力，并且与天然人IgG1相比，它们还显示较低的对类风湿因子的亲和力。由此，当考虑临床开发具有改善的对FcRn的亲和力的治疗性抗体用于自身免疫疾病如类风湿关节炎等时，与类风湿因子相关的风险(其是现有的Fc变体的问题)在本文中首先公开的Fc变体中得到遏制，并且因此它们可以比现有已知的Fc变体更安全地使用。

[1193] 实施例7

[1194] 在酸性pH条件下具有增加的FcRn结合的Fc变体在食蟹猴中的PK评价

[1195] 在实施例7中，通过以下方法，使用本文中提供的新的含有Fc区变体的抗体(其对类风湿因子的结合被确认为被抑制)评价改善食蟹猴中血浆保留的效果。

[1196] (7-1)新的含有Fc区变体的抗体的产生

[1197] 产生以下抗-人IgE抗体：(a)OHB-IgG1，其包含OHBH-IgG1(SEQ ID NO:56)作为重链和OHBL-CK(SEQ ID NO:57)作为轻链；(b)OHB-LS，其包含OHBH-LS(SEQ ID NO:58)作为重链和OHBL-CK作为轻链；(c)OHB-N434A，其包含OHBH-N434A(SEQ ID NO:59)作为重链和OHBL-CK作为轻链；

[1198] (d)OHB-F1847m，其包含OHBH-F1847m(SEQ ID NO:60)作为重链和OHBL-CK作为轻链；(e)OHB-F1848m，其包含OHBH-F1848m(SEQ ID NO:61)作为重链和OHBL-CK作为轻链；(f)OHB-F1886m，其包含OHBH-F1886m(SEQ ID NO:62)作为重链和OHBL-CK作为轻链；(g)OHB-F1889m，其包含OHBH-F1889m(SEQ ID NO:63)作为重链和OHBL-CK作为轻链；和(h)OHB-F1927m，其包含OHBH-F1927m(SEQ ID NO:64)作为重链和OHBL-CK作为轻链。

[1199] (7-2)对新的含有Fc区变体的抗体的猴PK测定

[1200] 评价向食蟹猴施用抗-人IgE抗体后抗-人IgE抗体在血浆中的体内动力学。将抗-人IgE抗体溶液以2mg/kg静脉内施用一次。施用后五分钟，(两小时)，七小时，一天，两天，三天，(四天)，七天，14天，21天，28天，35天，42天，49天，和56天进行血液收集。将收集的血液立即在4℃和15,000rpm进行离心5分钟，获得血浆。将分离的血浆储存在设置为-80℃或更低的冰箱中，直到进行测量。使用八种类型的抗-人IgE抗体，即OHB-IgG1，OHB-LS，OHB-N434A，OHB-F1847m，OHB-F1848m，OHB-F1886m，OHB-F1889m，和OHB-F1927m。

[1201] (7-3)通过ELISA测量抗-人IgE抗体在血浆中的浓度

[1202] 通过ELISA测量抗-人IgE抗体在食蟹猴的血浆中的浓度。首先，将抗-人IgGκ链抗体(抗体溶液)分散在Nunc-Immuno平板，MaxiSorp(Nalge Nunc International)中并让其在4℃静置过夜，产生抗-人IgGκ链抗体-固定的板。制备血浆浓度为640，320，160，80，40，20或10ng/mL的校准曲线样品，和稀释100-倍或更多的食蟹猴血浆测量样品。这些校准曲线样品和血浆测量样品这样产生，使得食蟹猴IgE(公司内制备的产物)以1μg/mL的浓度加入。随后，将样品分散在抗-人IgGκ链抗体-固定的板中，并让其在室温静置两小时。然后，分散HRP-抗人IgGγ链抗体(Southern Biotech)，并且让其在室温静置一小时。随后，使用TMB铬精(Chromogen)溶液(Life Technologies)作为底物进行生色反应，并且在通过加入1N硫酸(Wako)终止反应后，通过微孔板读数器测量450nm的吸光度。使用分析软件SOFTmax PRO(Molecular Devices)从校准曲线的吸光度计算猴血浆中抗-人IgE抗体的浓度。测量的猴血浆中抗-人IgE抗体的浓度的改变在图19中显示。从测量的猴血浆中抗-人IgE抗体的浓度的改变，使用Phoenix WinNonlin Ver.6.2(Pharsight Corporation)的瞬时分析计算去除清除。计算的药代动力学参数在表9中显示。将来自血浆中对于施用的样品抗体阳性的个体的样品从猴血浆中抗-人IgE抗体浓度和清除的改变的计算中排除。

[1203] [表9]

[1204] 抗人IgE抗体施用后施用的样品的去除清除

[1205]

样品名称	去除清除 (mL/天/kg)
OHB-IgG1	9.33
OHB-F1847m	2.83
OHB-F1848m	4.02
OHB-F1886m	1.92
OHB-F1889m	2.39
OHB-F1927m	1.51
OHB-LS	1.80
OHB-N434A	4.36

[1206] (7-4)通过电化学发光方法测量血浆中针对施用的样品的抗体

[1207] 通过电化学发光方法测量猴血浆中针对施用的样品的抗体。使用SULFO-TAG NHS酯(Meso Scale Discovery)钌-标记的施用的样品，使用EZ-Link Micro Sulfo-NHS-生物素化试剂盒(Pierce)生物素化的施用的样品，和食蟹猴血浆测量样品等量混合，并且让其在4℃静置过夜。将样品加入至MULTI-ARRAY 96-孔链霉亲和素Gold Plate(Meso Scale Discovery)，然后使其在室温反应两小时，并洗涤。然后，将读取缓冲液T(x4)(Meso Scale Discovery)分散入板中后，立即使用SECTOR成像仪2400(Meso Scale Discovery)进行测量。

[1208] 结果，确认与天然IgG1的Fc区相比，所有新的Fc变体显示极大改善的血浆保留。

[1209] (7-5)对于Fc变体的小鼠PK测定

[1210] 进行以下实验以比较F1718(其是WO2013/046704中所述的Fc变体)，和F1848m(其是这次新发现的Fc变体)，其为增加在酸性pH下FcRn结合的Fc变体。

[1211] 通过参照实施例1的方法产生编码其中将氨基酸修饰引入Fv4-IgG1(抗-人IL-6受体抗体)的重链(VH3-IgG1)的Fc区的重链的序列。使用这些重链，参照实施例2的方法产生以下抗体：(a)包含VH3-IgG1作为重链和VL3-CK作为轻链的Fv4-IgG1；和(b)包含VH3-F1718

(SEQ ID NO:65)作为重链和VL3-CK作为轻链的Fv4-F1718。

[1212] 将上述抗-人IL-6受体抗体以1mg/kg施用到人FcRn转基因小鼠(B6.mFcRn-/-.hFcRn Tg品系32+/+小鼠;Jackson Laboratories,Methods Mol.Biol.602:93-104(2010)的尾静脉一次。施用抗-人IL-6受体抗体后15分钟,七小时,一天,两天,三天,七天,14天,21天,和28天,收集血液。将收集的血液立即在15,000rpm和4℃离心15分钟,获得血浆。将分离的血浆储存在-20℃或以下的冰箱中,直到进行测量。

[1213] (7-6)通过ELISA测量血浆中抗-人IL-6受体抗体的浓度

[1214] 小鼠血浆中抗-人IL-6受体抗体的浓度通过ELISA测量。首先,将抗体的抗-人IgG(γ-链特异性)F(ab′)$_2$片段(SIGMA)分散在Nunc-Immuno平板,MaxiSorp(Nalge nunc International)中并使其在4℃静置过夜,产生固定有抗-人IgG的平板。分别制备含有血浆浓度为0.8,0.4,0.2,0.1,0.05,0.025,或0.0125μg/mL的抗-人IL-6受体抗体的校准曲线样品和稀释100-倍或更多的小鼠血浆测量样品。将200μL的20ng/mL可溶性人IL-6受体加入至100μL的校准曲线样品或血浆测量样品,并且随后让混合的溶液在室温静置一小时。随后,将混合的溶液分散在固定抗-人IgG的板的每个孔中,并且将板在室温静置一小时。然后,加入生物素化的抗-人IL-6R抗体(R&D),在室温反应一小时。随后,加入链霉亲和素-PolyHRP80(Stereospecific Detection Technologies),在室温反应一小时,并且该反应溶液的显色反应使用TMB单成分HRP微孔底物(TMB One Component HRP Microwell Substrate)(BioFX Laboratories)作为底物进行。在通过加入1N硫酸(Showa Chemical)终止反应后,在微孔板读数器上测量每孔中反应溶液在450nm的吸光度。小鼠血浆中的抗体浓度使用分析软件SOFTmax PRO(Molecular Devices)从校准曲线的吸光度计算。

[1215] 结果在图20中显示。F1718(其是WO2013/046704中所述的在酸性pH增加FcRn结合的Fc变体)不显示任何延长抗体PK的效果,但显示与天然IgG1相当的血浆保留。

[1216] F1718具有引入Fc区的四个突变,即N434Y/Y436V/Q438R/S440E。相反,本文中首次公开的F1848m引入有四个突变,即N434A/Y436V/Q438R/S440E。引入这两种类型的Fc的氨基酸突变的仅有的差异是在根据EU编号位置434引入的氨基酸突变在F1718中是Y(酪氨酸)并且在F1848m中是A(丙氨酸)。在实施例(7-2)中,与天然IgG1相比,F1848m显示改善的血浆保留,而F1718在血浆保留方面不显示任何改善。因此,不受限制,这提示A(丙氨酸)优选作为要在位置434引入的氨基酸突变,用于改善血浆保留。

[1217] (7-7)预测的Fc变体的免疫原性评分

[1218] 抗药物抗体(ADA)的产生影响治疗性抗体的功效和药代动力学,并且有些情况下带来严重的副作用;并且因此,治疗性抗体的临床利用和药效可以受ADA的产生的限制。已知治疗性抗体的免疫原性受很多因素影响,并且尤其是,尤其是治疗性抗体携带的效应T细胞表位的重要性已经报道很多次。

[1219] 已经开发了用于预测T细胞表位的计算机工具如Epibase(Lonza),iTope/TCED(Antitope),和EpiMatrix(EpiVax)。使用这些计算机工具,可以预测每个氨基酸序列中的T细胞表位(Walle等人,Expert Opin.Biol.Ther.7(3):405-418(2007)),并且可以评价治疗性抗体的可能的免疫原性。

[1220] EpiMatrix用于计算评价的Fc变体的免疫原性。EpiMatrix是用于通过将要预测其免疫原性的蛋白的氨基酸序列以九个氨基酸分段自动设计肽片段的序列,并且随后计算其

结合八种II型主要MHC等位基因(DRB1*0101,DRB1*0301,DRB1*0401,DRB1*0701,DRB1*0801,DRB1*1101,DRB1*1301,和DRB1*1501)的能力,预测研究的蛋白的免疫原性的系统(Clin.Immunol.131(2):189-201(2009))。

[1221] WO2013/046704中描述的F1718和F1756(N434Y/Y436T/Q438R/S440E)含有N434Y突变。相反,新公开的F1848m和F1847m含有N434A突变。

[1222] 这四种变体,即F1718,F1848m,F1756和F1847m的免疫原性得分,如上文所述计算的,在表31的"EpiMatrix得分"栏显示。此外,关于EpiMatrix得分,对于Tregitope含量校准的免疫原性得分在"tReg调节的Epx得分"栏显示。Tregitope是主要在天然存在的抗体序列中大量存在的肽片段序列,并且是认为通过激活调节性T细胞(Treg)抑制免疫原性的序列。

[1223] [表31]

[1224]

蛋白序列	突变	EpiMatrix 得分	tReg 调节的 Epx 得分
F1718	N434Y/Y436V/Q438R/S440E	-10.97	-32.64
F1848m	N434A/Y436V/Q438R/S440E	-15.38	-37.06
F1756	N434Y/Y436T/Q438R/S440E	-14.05	-35.73
F1847m	N434A/Y436T/Q438R/S440E	-18.4	-40.08

[1225] 根据这些结果,"EpiMatrix得分"和"tReg调节的Epx得分"二者都显示,与N434Y变体相比,N434A变体F1848m和F1847m的免疫原性得分减少。这提示,A(丙氨酸)优选作为要在位置434引入的氨基酸突变用于较低的免疫原性得分。

[1226] 实施例8

[1227] 人源化抗-人IL-8抗体的产生

[1228] (8-1)人源化抗-人IL-8抗体hWS-4的产生

[1229] 美国专利号6,245,894中公开的人源化抗IL-8抗体结合人IL-8(hIL-8)并且阻断其生理功能。修饰的人源化抗-IL-8抗体可以通过将美国专利号6,245,894中公开的重链和轻链可变区序列与实际上各种已知人抗体恒定区序列中的任一种组合而产生。因此,这些修饰的抗体的人抗体恒定区序列不特别限制,但天然人IgG1序列或天然人IgG4序列可以用作重链恒定区,并且天然人κ序列可以用作轻链恒定区序列。

[1230] 从美国专利号6,245,894中公开的人源化IL-8抗体中,与重链可变区RVHg和用于重链恒定区的天然人抗-IgG1序列组合的hWS4H-IgG1的编码序列(SEQ ID NO:83)通过参照实施例1的方法产生。此外,hWS4L-kOMT的编码序列(SEQ ID NO:84)(其组合轻链可变区RVLa和用于轻链恒定区的天然人κ序列)通过参照实施例1的方法产生。产生组合上述重链和轻链的抗体,并且命名为人源化WS-4抗体(下文,hWS-4)。

[1231] (8-2)人源化抗-人IL-8抗体Hr9的生产

[1232] 使用不同于hWS-4中使用的FR的人共有框架区序列产生新的人源化抗体。

[1233] 具体而言,VH3-23和VH3-64的杂交序列用作重链FR1,VH3-15和VH3-49中看到的序列用作FR2,VH3-72中看到的序列用作FR3(条件是不包括根据Kabat编号的82a),并且JH1中看到的序列用作FR4。这些序列与hWS-4重链的CDR序列连接,产生Hr9-IgG1(SEQ ID NO:85),一种新的人源化抗体重链。

[1234] 接着,产生两种类型的抗体,即,具有hWS4H-IgG1作为重链和hWS4L-kOMT作为轻链的hWS-4,和具有Hr9-IgG1作为重链和hWS4L-kOMT作为轻链的Hr9。在本文所述的公开内容C

的范围内，尤其是涉及轻链时，Hr9写为Hr9/hWS4L。根据附于产品的方案使用FreeStyle 293F细胞(Invitrogen)表达抗体。通过参照实施例2的方法从培养上清纯化抗体。结果，以表11中所示的量获得抗体。出入意料地，Hr9的表达水平是hWS-4的表达水平的大约8倍。

[1235] [表11]

[1236]

	抗体产率/1mL培养基(μg)
hWS-4	6.4
Hr9	50

[1237] (8-3)hWS-4和Hr9的人IL-8-结合活性

[1238] 使用BIACORE T200(GE Healthcare)如下确定hWS-4和Hr9对人IL-8的结合亲和力。

[1239] 使用具有0.05％吐温20，20mM ACES，和150mM NaCl(pH 7.4)的组成的运行缓冲液。通过胺偶联方法将适量的蛋白A/G(PIERCE)固定在传感芯片CM4(GE Healthcare)上并且捕获目标抗体。接着，通过注射稀释的人IL-8溶液和运行缓冲液(用作参照溶液)使人IL-8与捕获在传感芯片上的抗体相互作用。对于运行缓冲液，使用具有上述组成的溶液，并且该缓冲液还用于稀释人IL-8。为了再生传感芯片，使用10mM pH 1.5的甘氨酸-HCl。所有测量在37℃进行。基于结合速率常数kon(1/Ms)和解离速率常数koff(1/s)(其是从通过测量获得的传感图计算的动力学参数)计算每个抗体对于人IL-8的KD(M)。BIACORE T200评价软件(GE Healthcare)用于计算每个参数。

[1240] 结果显示在表12中。确认hWS-4和Hr9具有相当的对人IL-8的结合亲和力。

[1241] [表12]

[1242]

抗体名称	kon(1/Ms)	koff(1/s)	KD(M)
hWS-4	9.74E+05	2.03E-04	2.09E-10
Hr9	1.11E+06	2.17E-04	1.95E-10

[1243] 对于开发抗体药物，抗体分子的生产水平是重要因素，并且通常，希望的是高生产水平。从上述检测特别值得注意的是，选择更适当的人共有框架区-衍生的序列用于与hWS-4的HVR序列组合，并且得到Hr9，其具有改善的生产水平，同时保持对人IL-8的结合亲和力。

[1244] 实施例9

[1245] 具有pH-依赖性IL-8亲和力的抗体的产生

[1246] (9-1)赋予pH依赖性的Hr9-修饰的抗体的生产

[1247] 为了向实施例8中获得Hr9抗体赋予pH-依赖性IL-8亲和力，进行研究。

[1248] 在不受特定理论限制的同时，对IL-8具有pH-依赖性亲和力的抗体可以显示以下体内行为。施用于活体生物的抗体可以在保持中性pH环境中(例如，在血浆中)强烈结合IL-8，并且阻断其功能。一部分所述IL-8/抗体复合物通过与细胞膜的非特异性相互作用(胞饮)(下文，称为非特异的摄取)摄入细胞中。在内体的酸性pH条件下，前述抗体对IL-8的结合亲和力变弱，并且因此抗体与IL-8解离。然后，从IL-8解离的抗体可以经由FcRn返回细胞外。以此方式返回细胞外(进入血浆中)的前述抗体可以再次结合另一个IL-8并阻断其功能。认为对IL-8具有pH-依赖性亲和力的抗体能够通过上述机制多次结合IL-8。

[1249] 相反，在不具有前述抗体所具有的性质的抗体的情况下，抗体分子仅能够中和抗原一次，但不能多次中和抗原。通常，因为IgG抗体具有两个Fabs，单个抗体分子可以中和两

分子的IL-8。另一方面，能够多次结合IL-8的抗体能够任意次数地结合IL-8，只要它们保持在活体内。例如，因为被施用直到被去除，摄入细胞十次的pH-依赖性IL-8-结合抗体的单个分子，可以中和最多20个分子的IL-8。因此，可以多次结合IL-8的抗体具有能够甚至以小量的抗体中和多个IL-8分子的优势。从另外一个角度，可以多次结合IL-8的抗体具有能够保持能够比当施用相同量的不具有所拥有的性质的抗体时更长时期中和IL-8的状态的优势。从另一角度，可以多次结合IL-8的抗体具有能够比当施用相同量的不具有所拥有的性质的抗体时更强烈地阻断IL-8的生物活性的优势。

[1250] 为了实现这些优势，将氨基酸修饰(主要是组氨酸)引入Hr9-IgG1和WS4L-kOMT的可变区，目的是产生能够多次结合IL-8的抗体。具体而言，通过参照实施例1和2的方法产生表13中所示的变体。

[1251] 表13中所示的标记如"Y97H"显示引入突变的位置，由Kabat编号定义，引入突变前的氨基酸，和引入突变后的氨基酸。具体而言，当表示为"Y97H"时，其表示根据Kabat编号位置97的氨基酸残基从Y(酪氨酸)置换为H(组氨酸)。此外，当引入多个氨基酸置换的组合时，以如"N50H/L54H"的方式描述。

[1252] [表13]

[1253]

抗体名称	引入重链的突变	引入轻链的突变
Hr9/WS4L	无	无
Hr9/L16	无	L54H
H89/WS4L	Y97H	无
H89/L12	Y97H	N50H
H89/L16	Y97H	L54H

[1254] (9-2)pH-依赖性IL-8亲和力

[1255] 如下文所述，使用BIACORE T200(GE Healthcare)确定实施例9-1中产生的抗体的人IL-8-结合亲和力。使用以下两种运行缓冲液：(1)0.05％吐温20，20mM ACES，150mM NaCl，pH 7.4；和(2)0.05％吐温20，20mM ACES，150mM NaCl，pH 5.8。

[1256] 通过胺偶联方法将适量的蛋白A/G(PIERCE)固定在传感芯片CM4(GE Healthcare)上并且捕获目标抗体。接着，通过注射稀释的人IL-8溶液和运行缓冲液(用作参照溶液)将人IL-8与传感芯片上捕获的抗体相互作用。对于运行缓冲液，使用上述溶液中的任一种，并且各个缓冲液还用于稀释人IL-8。为了再生传感芯片，使用10mM pH 1.5的甘氨酸-HCl。所有测量在37℃进行。基于结合速率常数kon(1/Ms)和解离速率常数koff(1/s)(其是从通过测量获得的传感图计算的动力学参数)计算每个抗体对人IL-8的KD(M)。BIACORE T200评价软件(GE Healthcare)用于计算每个参数。

[1257] 结果显示在表14-1中。首先，与Hr9比较，在轻链中含有L54H修饰的Hr9/L16在中性pH(pH 7.4)具有稍微增强的人IL-8-结合亲和力，但在酸性pH(pH 5.8)具有降低的人IL-8-结合亲和力。另一方面，通过将各种轻链与在重链中含有Y97H修饰的H89组合产生的抗-IL-8抗体(H89/WS4L，H89/L12，和H89/L16)全部显示在酸性pH降低的人IL-8-结合亲和力以及在中性pH降低的人IL-8-结合亲和力。

[1258] [表14-1]

[1259]

抗体名称	pH	kon (1/Ms)	koff (1/s)	KD (M)	kon比率 (pH7.4/pH5.8)	Koff 比率 (pH5.8/pH7.4)	KD比率 (pH5.8/pH7.4)
Hr9	pH 7.4	8.59E+05	2.11E-04	2.46E-10			
(Hr9/WS4L)	pH 5.8	3.23E+05	4.69E-04	1.45E-09	2.7	2.2	5.9
Hr9/L16	pH 7.4	8.90E+05	9.57E-05	1.08E-10			
	pH 5.8	3.91E+04	1.97E-04	5.04E-09	22.8	2.1	46.8
H89/WS4L	pH 7.4	8.51E+05	7.65E-04	8.99E-10			
	pH 5.8	1.62E+05	7.27E-03	4.48E-08	5.2	9.5	49.8
H89/L12	pH 7.4	5.95E+05	2.48E-04	4.17E-10			
	pH 5.8	1.19E+05	3.52E-03	2.96E-08	5.0	14.2	71.0
H89/L16	pH 7.4	6.02E+05	4.21E-04	6.99E-10			
	pH 5.8	1.20E+05	4.22E-03	3.51E-08	5.0	10.0	50.3
H89/L63	pH 7.4	5.37E+05	1.13E-04	2.10E-10			
	pH 5.8	2.62E+05	2.10E-03	8.04E-09	2.1	18.7	38.3
H89/L118	pH 7.4	5.80E+05	2.13E-05	3.67E-11			
	pH 5.8	1.79E+05	3.84E-03	2.15E-08	3.2	180.3	585.0

[1260] (9-3)用于赋予pH依赖性的修饰的抗体的生产和评价

[1261] 评价9-2中发现的有希望的修饰和新的氨基酸突变的组合,并且作为结果发现以下组合。

[1262] [表14-2]

[1263]

抗体名称	引入重链的一个或多个突变	引入轻链的一个或多个突变
H89/L63	Y97H	N50H/L54H
H89/L118	Y97H	N50H/L54H/Q89K

[1264] 通过参照实施例1和2的方法产生变体,并且通过与实施例9-2类似的方法评价对人IL-8的结合亲和力。

[1265] 结果也在表14中显示。具有H89-IgG1(SEQ ID NO:86)作为重链和L63-kOMT(SEQ ID NO:87)作为轻链的H89/L63在中性pH(pH 7.4)显示与Hr9相当的人IL-8-结合亲和力,并且在酸性pH(pH 5.8)显示降低的人IL-8-结合亲和力。具体而言,H89/L63在pH5.8的koff(解离速率常数)和KD(解离常数)都比Hr9的那些高。这意为在内体中的酸性pH条件下,H89/L63具有容易释放人IL-8的性质。

[1266] 出人意料地发现,H89/L118(其具有H89-IgG1作为重链和L118-kOMT(SEQ ID NO:88)作为轻链)与Hr9相比在中性pH条件具有增强的人IL-8-结合亲和力(KD),但和与Hr9相比在酸性pH条件下具有减弱的人IL-8-结合亲和力(KD)。不特别限制,通常,当可以多次结合抗原的抗体用作药物产品时,pH-依赖性抗原结合抗体优选具有强的结合亲和力(小的KD),从而它们在中性pH条件下(如在血浆中)可以强烈地中和抗原。另一方面,抗体优选具有大的解离速率常数(koff)和/或弱的结合亲和力(大的KD),从而它们可以在酸性pH条件(如在内体中)快速释放抗原。与Hr9相比,H89/L118在这些中性pH和酸性pH条件两者下都具有可获得的有利性质。

[1267] 因此,对于Hr9鉴定了有用的氨基酸修饰,如对于其重链的Y97H和对于其轻链的N50H/L54H/Q89K。不限于其中,已经表明,作为药物较好的pH-依赖性IL-8-结合抗体能够通过选自这些修饰的单个或多个氨基酸修饰的组合产生。

[1268] 不受特定理论限制,考虑的是,当使用pH-依赖性抗原结合抗体作为药物时的重要因素是施用于身体的抗体是否可以在内体中释放抗原。在这一点上,在酸性pH条件下足够弱的结合(大的解离常数(KD))或足够快的解离速率(大的解离速率常数(koff))被认为是

重要的。因此，在以下实验中研究通过BIACORE获得的H89/L118的KD或koff是否足以在体内内体中解离抗原。

[1269] 实施例10

[1270] 产生用于小鼠PK测定的高-亲和力抗体

[1271] 用于确认抗体对在小鼠中去除人IL-8的速率的效果的方法不特别限制。在一个情况中，方法包括将抗体在与人IL-8混合的条件下施用于小鼠，并且随后比较从小鼠血浆去除人IL-8的速率。

[1272] 本文中，希望的是，要用于小鼠PK测定的参照抗体在中性pH和酸性pH条件都具有足够强的结合亲和力。然后，对赋予Hr9高-亲和力的修饰进行检索，并且由此，产生具有H998-IgG1(SEQ ID NO:89)作为重链和L63-kOMT作为轻链的H998/L63。

[1273] 通过实施例9-2相似的方法将H998/L63用于评价人IL-8-结合亲和力。得到的传感图显示在图21中。

[1274] H998/L63在中性pH和酸性pH条件中都显示出人意料地缓慢解离速率，并且显示其具有比Hr9更强的IL-8-结合亲和力。然而，已知，由于BIACORE的机械限制，分析值如解离速率常数(koff)和解离常数(KD)在蛋白-蛋白相互作用具有低解离速率的情况下不能准确计算。对于H998/L63不能获得准确的分析值，其分析值在本文中显示。然而，从实验结果确认，H998/L63在中性pH和酸性pH都具有非常强的结合亲和力，并且适合作为要用于小鼠PK测定的比较的抗体。

[1275] 实施例11

[1276] 使用pH-依赖性IL-8-结合抗体H89/L118的小鼠PK测定

[1277] (11-1)使用H89/L118的小鼠PK测定

[1278] 使用实施例9中产生的H89/L118和实施例10中产生的H998/L63评价人IL-8的体内去除速率。

[1279] 向小鼠(C57BL/6J，Charles river)中同时施用人IL-8和抗-人IL-8抗体后，评价人IL-8的药代动力学。将人IL-8和抗-人IL-8抗体(分别是10μg/mL和200μg/mL)的混合溶液以10mL/kg的单个剂量施用于尾静脉。此时，因为就人IL-8而言存在足够过量的抗-人IL-8抗体，所以认为几乎所有人IL-8结合于抗体。施用后五分钟，两小时，四小时，七小时，一天，两天，三天，七天，14天，21天，和28天，收集血液。将收集的血液立即在15,000rpm和4℃离心15分钟，获得血浆。将分离的血浆储存在设为-20℃或以下的冰箱中，直到进行测量。

[1280] (11-2)血浆中人IL-8浓度的测量

[1281] 通过电化学发光方法确定小鼠血浆中的人IL-8浓度。首先，将包含小鼠IgG恒定区的抗-人IL-8抗体(内部制备)分散到MULTI-ARRAY 96-孔板(Meso Scale Discovery)中，并且使其在室温静置一小时。然后将含有5％BSA(w/v)的PBS-Tween溶液用于在室温封闭两小时以制备固定有抗-人IL-8抗体的平板。制备以275，91.7，30.6，10.2，3.40，1.13，或0.377ng/mL的血浆浓度含有人IL-8的校准曲线样品和稀释25-倍或更多的小鼠血浆测量样品。将样品与hWS-4混合并让其在37℃反应过夜。随后，将50μL的混合溶液分散在固定有抗-人IL-8抗体的平板的每个孔中，并且将溶液在室温搅拌一小时。将hWS-4的终浓度调节至25μg/mL。然后，在与生物素小鼠抗-人Igκ轻链(BD Pharmingen)在室温反应一小时，并且随后与SULFO-TAG标记的链霉亲和素(Meso Scale Discovery)在室温反应一小时后，分散读取

缓冲液T(x1)(Meso Scale Discovery),立即利用SECTOR成像仪2400(Meso Scale Discovery)进行测量。使用分析软件,SOFT Max PRO(Molecular Devices),基于校准曲线的响应计算人IL-8浓度。

[1282] 得到的人IL-8在血浆中的浓度的数据显示在图22中,并且人IL-8从小鼠血浆的清除率(CL)的值在表15中显示。

[1283] [表15]

[1284]

抗体名称	人IL-8 CL (mL/d/kg)	
	H998/L63	H89/L118
#1	21.4	472.2
#2	27.5	447.2
#3	24.7	476.0
平均值 (N=3)	**24.5**	**465.1**
标准差	3.0	15.6

[1285] 从图22看出,与和H998/L63同时施用人IL-8比较,与H89/L118同时施用的人IL-8显示出人意料地快速从小鼠血浆去除。此外,定量表示人IL-8从小鼠血浆的去除速率的CL值表明,与H998/L63相比,人IL-8的去除速率对于H89/L118增加约19-倍。

[1286] 不受特定理论限制,从获得的数据可以猜测以下内容。大多数与抗体同时施用的人IL-8结合血浆中的抗体并且以复合形式存在。由于抗体的强亲和力,结合于H998/L63的人IL-8可以以抗体结合的状态存在,甚至在内体中的酸性pH条件下。之后,H998/L63可以经由FcRn返回血浆,同时仍然以人IL-8-复合的形式;因此,当这发生时,人IL-8同时也返回血浆中。因此,大多数摄入细胞的人IL-8可以再次返回血浆。即,当同时施用H998/L63时,人IL-8从血浆去除的速率显著降低。另一方面,如之前描述的,以与H89/L118(pH-依赖性IL-8-结合抗体)复合的形式摄入细胞的人IL-8,可以在内体中的酸性pH条件下与抗体解离。从抗体解离的人IL-8在转移到溶酶体后会降解。因此,与在酸性pH和中性pH都具有强的结合亲和力的IL-8-结合抗体如H998/L63相比,pH-依赖性IL-8-结合抗体可以显著加速人IL-8的去除。

[1287] (11-3)利用增加的剂量的H89/L118的小鼠PK测定

[1288] 接着,如下进行验证改变H89/L118的剂量的效果的实验。同时向小鼠(C57BL/6J,Charles river)施用人IL-8和H89/L118(2mg/kg或8mg/kg)后,评价人IL-8的药代动力学。以10mL/kg的单个剂量将人IL-8(2.5μg/mL)和抗-人IL-8抗体(200μg/mL或800μg/mL)的混合溶液施用于尾静脉。此时,因为与人IL-8相比存在足够过量的抗-人IL-8抗体,所以认为几乎所有人IL-8结合于抗体。施用后五分钟,七小时,一天,两天,三天,七天,14天,21天,和28天,收集血液。将收集的血液立即在15,000rpm和4℃离心15分钟,获得血浆。将分离的血浆储存在设为-20℃或以下的冰箱中,直到进行测量。

[1289] 小鼠血浆中的人IL-8浓度的测量通过实施例11-2类似的方法进行。得到的关于血浆中人IL-8浓度的数据显示在图23中,并且人IL-8从小鼠血浆的清除率(CL)的值显示在表16中。

[1290] [表16]

[1291]

	人IL-8 CL (mL/d/kg)	
抗体名称	H89/L118	H89/L118
抗体剂量	2 mg/kg	8 mg/kg
#1	181.2	93.0
#2	237	101.6
#3	247	114.5
平均值 (N = 3)	**221.8**	**103.0**
标准差	35.6	10.8

[1292] 由此，确认与施用以2mg/kg的H89/L118的组相比，施用以8mg/kg抗体的组具有大约2-倍慢的人IL-8去除速率。

[1293] 下文中，本发明人描述基于科学背景概述为带来前述结果的可能因素之一的内容，但公开内容C的内容不限于以下讨论的内容。

[1294] 在经由FcRn从内体内部返回血浆中的抗体中，优选的是结合人IL-8的抗体的比例低。关于内体中存在的人IL-8，希望其具有高比例的不被抗体结合的游离形式。当人IL-8与不具有pH-依赖性IL-8-亲和力的抗体一起施用时，认为内体中的大多数(接近100％)人IL-8以与抗体复合的形式存在，并且小量(接近0％)被认为是游离。另一方面，当与pH-依赖性IL-8-结合抗体(例如H89/L118)一起施用时，特定部分的人IL-8应该以游离形式存在于内体中。假想地，在此情况下游离形式的比例可以如下理解：[内体中游离人IL-8的比例(％)]＝[内体中游离人IL-8浓度]/[内体中总人IL-8浓度]x100。

[1295] 理想的是，通过上述等式理解的内体中游离人IL-8的比例更高，并且例如，20％比0％更优选，40％比20％更优选，60％比40％更优选，80％比60％更优选，和100％比80％更优选。

[1296] 因此，在上述内体中游离人IL-8的比例和在酸性pH对人IL-8的结合亲和力(KD)和/或解离速率常数(koff)之间有关联。即，在酸性pH对人IL-8的结合亲和力越弱和/或解离速率越强，则内体中游离人IL-8的比例越高。然而，在可以使游离人IL-8的比例在内体中接近100％的pH-依赖性IL-8-结合抗体的情况下，进一步在酸性pH弱化结合亲和力和/或增加解离速率不一定导致游离人IL-8的比例的有效增加。技术人员可以容易理解，例如，即使游离人IL-8的比例从99.9％改善到99.99％，这种改善程度可能是不显著的。

[1297] 此外，根据一般化学平衡理论，当抗-IL-8抗体和人IL-8共存并且其结合反应和解离反应达到平衡时，游离人IL-8的比例明确通过三个参数确定：抗体浓度，抗原浓度，和解离常数(KD)。本文中，当抗体浓度高时，当抗原浓度高时，或当解离常数(KD)小时，复合物容易形成并且游离人IL-8的比例降低。另一方面，当抗体浓度低时，当抗原浓度低时，或当解离常数(KD)大时，复合物形成变得困难，并且游离人IL-8的比例增加。

[1298] 同时，在该实验中，当以8mg/kg施用H89/L118时去除人IL-8的速率低于当以2mg/kg施用抗体时的速率。这因此提示，在内体中，与当以2mg/kg施用抗体时相比，当以8mg/kg施用抗体时，游离人IL-8的比例减少。该降低的原因可能是增加抗体剂量四倍增加内体中的抗体浓度，并且由此促进内体中IL-8-抗体复合物的形成。即，在施用以增加的剂量的抗体的组中，游离人IL-8在内体中的比例降低，并且因此去除人IL-8的速率降低。这还提示，当以8mg/kg施用抗体时，H89/L118在酸性pH条件下的解离常数(KD)的程度不足以将游离人IL-8变为接近100％。更具体而言，如果其是在酸性pH条件下具有较大解离常数(KD)(较弱

结合)的抗体,甚至当以8mg/kg施用抗体时,其可以实现接近100％游离IL-8的状态,并且人IL-8去除的速率等于当以2mg/kg施用抗体时的速率。

[1299] 基于上述内容,为了确认研究的pH-依赖性IL-8-结合抗体是否可以实现在内体内接近100％游离人IL-8的比例,不特别限制,技术人员可以验证是否存在增加体内抗原-去除效果的程度的空间。例如,一种方法比较当使用新的pH-依赖性IL-8-结合抗体时与当时用H89/L118时人IL-8去除的速率,在此情况下,与H89/L118相比,新的抗体在酸性pH具有更弱的结合亲和力和/或在酸性pH具有增加的解离速率。在前述新的pH-依赖性IL-8-结合抗体显示与H89/L118相当的人IL-8去除速率的情况下,这提示,H89/L118在酸性pH的结合亲和力和/或解离速率已经处于足以实现游离人IL-8在内体的比例接近100％的水平。另一方面,在前述新pH-依赖性IL-8-结合抗体显示更高的人IL-8去除速率的情况下,这提示H89/L118在酸性pH的结合亲和力和/或解离速率具有改善空间。

[1300] 实施例12

[1301] pH-依赖性IL-8-结合抗体H553/L118的产生和评价

[1302] (12-1)具有pH-依赖性IL-8结合能力的抗体H553/L118的生产

[1303] 本文中,本发明人旨在产生与H89/L118相比,在酸性pH条件下具有甚至更弱的人IL-8-结合亲和力和/或更高的解离速率的抗体。

[1304] 使用H89/L118作为基础引入氨基酸修饰(主要涉及组氨酸),通过与实施例9类似的方法产生表17中所示的修饰的抗体。此外,通过与实施例9-2类似的方法确定这些抗体的人IL-8-结合亲和力。

[1305] 部分结果显示在表17中。显示包含H553-IgG1(SEQ ID NO:90)作为重链和L118-k0MT作为轻链的抗体H553/L118,和包含H496-IgG1(SEQ ID NO:101)作为重链和L118-k0MT作为轻链的抗体H496/L118具有比H89/L118进一步增加的pH依赖性。

[1306] [表17]

[1307]

抗体名称	pH	kon (1/Ms)	koff (1/s)	KD (M)	kon 比率 (pH7.4/pH5.8)	koff 比率 (pH5.8/pH7.4)	KD 比率 (pH5.8/pH7.4)
H89/L118	pH 7.4	9.45E+05	1.14E-04	1.21E-10			
	pH 5.8	1.23E+05	3.90E-03	3.18E-08	7.7	34.2	263.0
H496/L118	pH 7.4	1.29E+06	5.03E-05	3.91E-11			
	pH 5.8	1.78E+05	5.47E-03	3.07E-08	7.2	108.6	785.0
H553/L118	pH 7.4	1.15E+06	1.13E-04	9.76E-11			
	pH 5.8	6.14E+05	3.05E-02	4.97E-08	1.9	270.7	509.3

[1308] 在获得的H553/L118中,将两种氨基酸修饰,Y55H和R57P,引入H89/L118的重链中。另一方面,H496/L118,其中仅将R57P引入H89/L118的重链中,与H89/L118相比,在中性pH具有增强的对人IL-8的结合亲和力,但在酸性pH具有几乎不改变的人IL-8-结合亲和力。更具体而言,引入H89/L118的R57P修饰是仅增强在中性pH的人IL-8-结合亲和力但不改变在酸性pH的结合亲和力的修饰。此外,与H89/L118相比,通过将Y55H修饰引入H496/L118的重链产生的H553/L118在中性pH具有保持的或稍微增强的结合亲和力,但另一方面,在酸性pH具有减小的结合亲和力。即,将两个氨基酸修饰(Y55H和R57P)的组合引入H89/L118使得进一步增强在酸性pH降低结合亲和力,同时在中性pH保持或稍微增强结合亲和力的性质。

[1309] (12-2)使用H553/L118的小鼠PK测定

[1310] 使用H553/L118评价小鼠中人IL-8去除速率,通过与实施例11-2类似的方法进行。

将得到的关于血浆中人IL-8浓度的数据在图24中显示，并且人IL-8从小鼠血浆的清除率(CL)的值在表18中显示。

[1311] [表18]

[1312]

	人 IL-8 (mL/d/kg)			
抗体名称	H89/L118	H89/L118	H553/L118	H553/L118
抗体剂量	2 mg/kg	8 mg/kg	2 mg/kg	8 mg/kg
#1	181.2	93.0	250	256.6
#2	237	101.6	245	248.4
#3	247	114.5	249	244.1
平均值 (N = 3)	221.8	103.0	248	249.7
标准差	35.6	10.8	3	6.4

[1313] 由此，当比较施用以2mg/kg抗体的小鼠的数据时，在H553/L118和H89/L118之间未观察到大的差异；然而，确认的是，当比较施用以8mg/kg抗体的小鼠的数据时，与H89/L118相比，H553/L118以2.5倍作用加速人IL-8的去除。从另外一个角度，在2mg/kg和8mg/kg之间，H553/L118不显示人IL-8去除速率的差异，并且关于H89/L118未观察到由于增加抗体剂量造成的抗原去除速率的降低。

[1314] 没有特别限制，获得该结果的一个原因可以如下讨论。当以2mg/kg和以8mg/kg施用抗体时，H533/L118显示相当的人IL-8去除速率。这可以表明，内体中游离IL-8的比例可以达到接近100％的水平，因为H553/L118在酸性pH对IL-8的结合足够弱，甚至在8mg/kg-施用的条件下。换句话说，这提示，尽管H89/L118可以以2mg/kg的剂量实现最大的人IL-8去除效果，但其效果在约8mg/kg的高剂量下可能弱化。另一方面，H553/L118可以甚至在8mg/kg的高剂量下实现最大的去除人IL-8的效果。

[1315] (12-3)使用H553/L118的稳定性评价

[1316] 显示H553/L118是可以比H89/L118更显著地加速在小鼠中人IL-8的去除的抗体。然而，为了该抗体在体内长期持续该对人IL-8的抑制性效果，同样重要的是，在施用的抗体存在于体内(例如，血浆中)的期间，稳定保持IL-8-中和活性(该抗体的IL-8-中和活性的稳定性)。因此，通过以下方法评价这些抗体在小鼠血浆中的稳定性。

[1317] 通过本领域中已知的方法从C57BL/6J(Charles River)的血液收集小鼠血浆。将200μL的200mM PBS(Sigma，P4417)加入至800μL的小鼠血浆中，得到1mL。此外，将叠氮化钠以0.1％的终浓度作为防腐剂加入。然后，将每种抗体(Hr9，H89/L118和H553/L118)加入至上述小鼠血浆中得到0.2mg/mL的终浓度。此刻，收集一部分样品作为初始样品。剩余样品储存在40℃。储存后一周和二周，收集每种样品的一部分，并且将它们用作储存一周的样品和储存两周的样品。所有样品在-80℃冷冻并储存，直到进行每个分析。

[1318] 接着，如下对小鼠血浆中含有的抗-IL-8抗体评价其人IL-8-中和活性：CXCR1和CXCR2是人IL-8的已知受体。PathHunter(注册商标)CHO-K1CXCR2β-阻抑蛋白细胞系(DiscoveRx Co.，Cat.#93-0202C2)表达人CXCR2，并且是人工产生的细胞系，从而当传递人IL-8-介导的信号时发出化学发光。其不特别限制，抗-人IL-8抗体具有的人IL-8-中和活性可以使用该细胞评价。当将人IL-8加入细胞的培养溶液时，特定量的化学发光以依赖于添加的人IL-8的浓度的方式呈现。当将人IL-8和抗-人IL-8抗体一起加入培养溶液中时，在抗-人IL-8抗体结合人IL-8之后，人IL-8信号转导可以被阻断。由此，通过添加人IL-8引起的化学发光将被抗-人IL-8抗体抑制，并且化学发光将比不加抗体时弱，或根本不存在化学

发光。因此,随着抗体具有的人IL-8中和活性变得更强,化学发光的程度变得更弱;并且随着抗体具有的人IL-8中和活性变得更弱,化学发光的程度变得更强。

[1319] 这对于已经加入小鼠血浆并储存一定时期的抗体也是一样。如果抗体的中和活性不由于在小鼠血浆中的储存改变,储存前和后上述化学发光的程度应该不改变。另一方面,在其中和活性由于在小鼠血浆中的储存而降低的抗体的情形中,与储存前相比,通过使用储存的抗体的化学发光程度将增加。

[1320] 随后,上述细胞系用于检查小鼠血浆中储存的抗体的中和活性是否得到保持。首先,将细胞系悬浮在AssayComplete(tm)Cell Plating 0试剂中,并且随后以5000个细胞/孔接种在384-孔板中。开始细胞培养后一天,进行以下实验以确定要加入的人IL-8的浓度。将系列稀释的人IL-8溶液(其含有45nM(400ng/mL)至0.098nM(0.1ng/mL)的人IL-8终浓度)加入到细胞培养溶液中。接着,根据产品的方案添加检测试剂,并且使用化学发光检测器检测相对化学发光水平。从该结果,确认细胞对人IL-8的反应性,并且确定适于确认抗-人IL-8抗体的中和活性的人IL-8浓度。本文中,人IL-8浓度设为2nM。

[1321] 接着,前述添加抗-人IL-8抗体的小鼠血浆用于评价其中含有的抗体的中和活性。将上文确定的浓度的人IL-8和前述含有抗-人IL-8抗体的小鼠血浆加入细胞培养物中。确定要加入的小鼠血浆的量,从而含有范围从2μg/mL(13.3nM)至0.016μg/mL(0.1nM)的抗-人IL-8抗体的阶梯浓度。接着,根据产品方案添加检测试剂,并且使用化学发光检测器检测相对化学发光水平。

[1322] 本文中,在每个抗体浓度的相对化学发光水平的相对值通过将不添加人IL-8和抗体的孔中的平均相对化学发光水平定义为0%,和将仅添加人IL-8但不添加抗体的孔中的平均相对化学发光水平定义为100%来计算。

[1323] 使用表达人CXCR2的细胞的人IL-8抑制测定的结果显示在图25A(其显示来自最初样品(在小鼠血浆中没有防腐剂处理)的结果),图25B(其显示在40℃储存一周的样品的结果),和图25C(其显示在40℃储存两周的样品的结果)中。

[1324] 由此,对于Hr9和H89/L118未观察到储存在小鼠血浆中之前和之后人IL-8-中和活性的差异。另一方面,H553/L118显示在两周的储存后人IL-8-中和活性降低。因此,与Hr9和H89/L118相比,H553/L118的人IL-8-中和活性在小鼠血浆中容易降低,并且显示H553/L118是关于IL-8中和活性具有不稳定性质的抗体。

[1325] 实施例13

[1326] 使用计算机系统具有降低的预测的免疫原性得分的抗体的产生

[1327] (13-1)各种IL-8-结合抗体的预测的免疫原性得分

[1328] 抗药物抗体(ADA)的产生影响治疗性抗体的功效和药代动力学,并且有些情况下带来多种副作用;因此,治疗性抗体的临床利用和药物功效可能受ADA产生限制。已知治疗性抗体的免疫原性受很多因素影响,并且,存在很多描述效应T细胞表位在治疗性抗体中的重要性的报道。

[1329] 已经开发了用于预测T细胞表位的计算机工具如Epibase(Lonza),iTope/TCED(Antitope),和EpiMatrix(EpiVax)。使用这些计算机工具,可以预测每个氨基酸序列中的T细胞表位(Walle等人,Expert Opin.Biol.Ther.7(3):405-418(2007)),并且可以评价治疗性抗体的可能的免疫原性。

[1330] 本文中,EpiMatrix用于计算每种抗-IL-8抗体的免疫原性得分。EpiMatrix是用于通过将要预测其免疫原性的蛋白的氨基酸序列以九个氨基酸分段自动设计肽片段的序列,并且随后计算其结合八种II型主要MHC等位基因(DRB1*0101,DRB1*0301,DRB1*0401,DRB1*0701,DRB1*0801,DRB1*1101,DRB1*1301,和DRB1*1501)的能力,预测研究的蛋白的免疫原性的系统(Clin.Immunol.131(2):189-201(2009))。

[1331] 每个抗-IL-8抗体的重链和轻链的免疫原性得分(如上文所述计算)在表19的"EpiMatrix得分"栏中显示。此外,关于EpiMatrix得分,对于Tregitope含量校准的免疫原性得分在"tReg调节的Epx得分"栏显示。Tregitope是主要在天然的抗体序列中大量存在的肽片段序列,并且是认为通过激活调节性T细胞(Treg)抑制免疫原性的序列。

[1332] 此外,关于这些得分,对于重链和轻链的得分的总和在"总共"栏中显示。

[1333] [表19]

[1334]

	重链		轻链		总共	
抗体名称	EpiMatrix 得分	tReg 调节的 Epx 得分	EpiMatrix 得分	tReg 调节的 Epx 得分	EpiMatrix 得分	tReg Adjusted Epx 得分
hWS-4	62.44	12.18	22.64	-23.89	85.08	-11.71
Hr9	56.52	6.27	22.64	-23.89	79.16	-17.62
H89/L118	57.99	7.74	7.16	-39.36	65.15	-31.62
H496/L118	54.13	3.87	7.16	-39.36	61.29	-35.49
H553/L118	47.88	-2.37	7.16	-39.36	55.04	-41.73

[1335] 根据这些结果,"EpiMatrix得分"和"tReg调节的Epx得分"都显示与hWS-4(其是已知人源化抗-人IL-8抗体)相比,H89/L118,H496/L118和H553/L118的免疫原性得分降低。

[1336] 此外,利用EpiMatrix,可行的是比较通过考虑重链和轻链得分对于作为整体的抗体分子预测的ADA产生频率与由各种可商购抗体引起的实际ADA产生频率。进行所述分析的结果显示在图26中。由于系统限制,图26中使用的符号对于hWS-4是"WS4",对于Hr9是"HR9",对于H89/L118是"H89L118",对于H496/L118是"H496L118",并且对于H553/L118是"H553L118"。

[1337] 如图26中所示的,由各种可商购抗体引起的人中ADA产生的频率已知对于Campath(阿仑单抗(Alemtuzumab))是45%,对于Rituxan(利妥昔单抗(Rituximab))是27%,对于Zenapax(达克珠单抗(Daclizumab))是14%。另一方面,在从氨基酸序列预测的ADA产生频率对于hWS-4(其是已知人源化抗-人IL-8抗体)是10.42%的同时,与hWS-4相比,本文中新鉴定的H89/L118(5.52%),H496/L118(4.67%),或H553/L118(3.45%)的频率显著较低。

[1338] (13-2)具有降低的预测的免疫原性得分的修饰的抗体的生产

[1339] 如上文所述的,与hWS-4相比,H89/L118,H496/L118,和H553/L118的免疫原性得分较低;然而,如从表19显而易见的,对于重链的免疫原性得分高于对于轻链的免疫原性得分,这提示对于重链的氨基酸序列的改善仍存在空间(尤其是从免疫原性的角度)。然后,在H496的重链可变区中进行可以降低免疫原性得分的氨基酸修饰的搜索。作为仔细搜索的结果,发现三个变体,H496v1(其中根据Kabat编号位置52c处的丙氨酸用天冬氨酸置换),H496v2(其中位置81处的谷氨酰胺用苏氨酸置换),和H496v3(其中位置82b处的丝氨酸用天冬氨酸置换)。此外,产生含有所有这三种修饰的H1004s。

[1340] 通过与实施例13-1类似的方法计算的免疫原性得分的结果显示在表20中。

[1341] [表20]

[1342]

	重链		轻链		总共	
抗体名称	EpiMatrix 得分	tReg 调节的 Epx 得分	EpiMatrix 得分	tReg 调节的 Epx 得分	EpiMatrix 得分	tReg 调节的 Epx 得分
H496/L118	54.13	3.87	7.16	-39.36	61.29	-35.49
H496v1/L118	32.17	-18.08	7.16	-39.36	39.33	-57.44
H496v2/L118	45.26	-5.00	7.16	-39.36	52.42	-44.36
H496v3/L118	38.27	-11.98	7.16	-39.36	45.43	-51.34
H1004/L118	10.79	-39.47	7.16	-39.36	17.95	-78.83
H1004/L395	10.79	-39.47	7.79	-38.74	18.58	-78.21

[1343] 与H496相比，三条重链，H496v1，H496v2，和H496v3(其全部含有单个修饰)，显示减小的免疫原性得分。此外，H1004(含有三个修饰的组合)实现显著的免疫原性得分改善。

[1344] 本文中，除了L118之外，鉴定L395作为适于与H1004组合的轻链。因此，在免疫原性得分的计算中，使用L118组合和L395组合。如表20中所示，H1004/L118和H1004/L395(其是重链和轻链的组合)也显示非常低的免疫原性得分。

[1345] 接着，以与实施例13-1类似的方式对这些组合预测ADA产生的频率。结果在图27中显示。图27中使用的符号对于H496v1/L118是"V1"，对于H496v2/L118是"V2"，对于H496v3/L118是"V3"，对于H1004/L118是"H1004L118"，并且对于H1004/L395是"H1004L395"。

[1346] 出人意料地，H1004/L118和H1004/L395(其具有显著降低的免疫原性得分)也显示对ADA产生频率预测的值的改善，并且显示预测的值为0％。

[1347] (13-3)H1004/L395的IL-8-结合亲和力的测量

[1348] 产生H1004/L395，其是包含H1004-IgG1m(SEQ ID NO:91)作为重链和L395-kOMT(SEQ ID NO:82)作为轻链的抗体。如下文描述使用BIACORE T200(GE Healthcare)测量H1004/L395对人IL-8的结合亲和力。

[1349] 使用以下两种运行缓冲液，并且在各个温度进行测量：(1)0.05％吐温20，40mM ACES，150mM NaCl，pH 7.4，40℃；和(2)0.05％吐温20，40mM ACES，150mM NaCl，pH 5.8，37℃。

[1350] 通过胺偶联方法将适量的蛋白A/G(PIERCE)固定在传感芯片CM4(GE Healthcare)上并且捕获目标抗体。接着，注射稀释的人IL-8溶液或运行缓冲液(用作参照溶液)以允许捕获在传感芯片上的抗体与人IL-8的相互作用。对于运行缓冲液，使用上述溶液中的任一种，并且各个缓冲液还用于稀释人IL-8。为了再生传感芯片，使用25mM NaOH和10mM甘氨酸-HCl(pH 1.5)。基于结合速率常数kon(1/Ms)和解离速率常数koff(1/s)(其是从通过测量获得的传感图计算的动力学参数)计算每个抗体对于人IL-8的KD(M)。BIACORE T200评价软件(GE Healthcare)用于计算每个参数。

[1351] 测量结果显示在表21中。与H89/L118相比，H1004/L395(具有降低的免疫原性得分)在中性pH具有相当的对于人IL-8的KD，但在酸性pH具有增加的KD和koff；并且显示其具有在内体中容易从IL-8解离的性质。

[1352] [表21-1]

[1353]

抗体名称	pH	kon (1/Ms)	koff (1/s)	KD (M)	kon 比率 (pH7.4/pH5.8)	koff 比率 (pH5.8/pH7.4)	KD比率 (pH5.8/pH7.4)
H89/L118	pH 7.4 pH 5.8	7.51E+05 1.29E+05	1.29E-04 6.28E-03	1.72E-10 4.88E-08	5.8	48.7	283.7
H1004/L395	pH 7.4 pH 5.8	1.02E+06 3.06E+05	1.55E-04 3.38E-02	1.51E-10 1.10E-07	3.3	218.1	728.5

[1354] 实施例14

[1355] pH-依赖性IL-8-结合抗体H1009/L395的产生和评价

[1356] (14-1)各种pH-依赖性IL-8-结合抗体的生产

[1357] 通过实施例13中的评价获得H1004/L395(其具有pH-依赖性IL-8结合能力和降低的免疫原性得分)。随后,进行深入研究,产生在小鼠血浆中具有这些有利性质以及稳定性的变体。

[1358] 基于H1004/L395通过引入各种修饰产生以下修饰的抗体。

[1359] [表21-2]

[1360] 重链

[1361]

H1004	A52cD/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H0932	A52cD/G54H/Y55H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1000	D31E/A52cD/G54H/Y55H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1009	A52cD/G54Y/Y55H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1022	A52cD/G54H/Y55H/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1023	A52cD/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1028	A52cD/G54Y/Y55H/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1029	S30D/D31K/A52cD/G54H/Y55H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1031	S30D/D31K/A52cD/G54H/Y55H/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1032	S30D/D31K/A52cD/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1037	S30D/D31K/A52cD/G54Y/Y55H/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1040	D31E/A52cD/G54H/Y55H/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1041	D31E/A52cD/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1046	D31E/A52cD/G54Y/Y55H/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1047	S30D/D31K/A52cD/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1048	D31E/A52cD/R57P/Q81T/882bD/Y97H
H1049	S30D/D31K/A52cD/G54Y/Y55H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1050	D31E/A52cD/G54Y/Y55H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H

[1362] [表21-3]

[1363]

L395	N50K/L54H/Q89K
L442	S31E/N50K/L54H/Q89K

[1364] 通过组合上述18种类型的重链和两种类型的轻链产生总共36种类型的抗体。如下文所述对这些抗体进行各种评价。

[1365] 以与实施例13-3的方法类似的方式测量在中性和酸性pH条件下的人IL-8-结合亲和力。在获得的结果中,在pH 7.4的KD,以及在pH 5.8的KD和koff显示在表22中。

[1366] 接着,通过下述方法评价在PBS中储存抗体后关于IL-8结合的稳定性。

[1367] 将各个抗体用DPBS(Sigma-Aldrich)透析过夜,并且随后将每种抗体的浓度调节至0.1mg/mL。此刻,收集一些抗体样品作为起始样品。剩余样品在50℃储藏一周,并且随后收集作为用于热加速测试的样品。

[1368] 接着,使用最初样品和用于热加速测试的样品如下进行IL-8-结合亲和力的BIACORE测量。

[1369] 使用BIACORE T200(GE Healthcare)分析人IL-8对修饰的抗体的结合水平。通过使用0.05%吐温20,40mM ACES,和150mM NaCl(pH 7.4)作为运行缓冲液在40℃进行测量。

[1370] 通过胺偶联方法将适量的蛋白A/G(PIERCE)固定在传感芯片CM4(GE Healthcare)上并且捕获目标抗体。接着,注射稀释的人IL-8溶液或运行缓冲液(用作参照溶液)以使捕获在传感芯片上的抗体与人IL-8相互作用。运行缓冲液还用于稀释人IL-8。为了再生传感芯片,使用25mM NaOH和10mM甘氨酸-HCl(pH 1.5)。测量的人IL-8结合水平和在该结合水平捕获的抗体的量使用BIACORE T200评价软件(GE Healthcare)提取。

[1371] 对于初始样品和用于热加速测试的样品计算每1000RU量的捕获的抗体的人IL-8-结合的量。此外,计算对于初始样品与用于热加速测试的样品的人IL-8-结合水平的比率。

[1372] 得到的初始样品与用于热加速测试的样品的IL-8-结合水平的比率也显示在表22中。

[1373] [表22]

[1374]

抗体	pH7.4 KD	pH5.8 KD	pH5.8 koff	IL-8 结合量的比率 (热加速/初始)
H0089/L0118	1.7E-10	4.9E-08	6.3E-03	0.61
H0932/L0395	1.6E-10	1.1E-07	5.7E-02	0.56
H0932/L0442	2.1E-10	7.9E-08	2.2E-02	0.56
H1000/L0395	1.4E-10	8.9E-08	2.0E-02	0.57
H1000/L0442	2.0E-10	7.1E-08	1.7E-02	0.57
H1004/L0395	1.5E-10	1.1E-07	3.4E-02	0.58
H1004/L0442	2.2E-10	7.7E-08	2.0E-02	0.59
H1009/L0395	7.1E-11	8.7E-08	1.0E-02	0.64
H1009/L0442	1.1E-10	6.3E-08	6.0E-03	0.64
H1022/L0395	2.7E-10	2.9E-07	1.2E+01	0.47
H1022/L0442	3.6E-10	1.8E-07	2.0E-02	0.46
H1023/L0395	7.6E-11	9.2E-08	1.8E-02	0.54
H1023/L0442	1.2E-10	7.1E-08	1.7E-02	0.55
H1028/L0395	1.8E-10	2.1E-07	1.0E+01	0.55
H1028/L0442	2.4E-10	1.4E-07	1.3E-01	0.56
H1029/L0395	8.6E-11	5.5E-08	8.0E-03	0.59
H1029/L0442	1.4E-10	4.8E-08	8.5E-03	0.58
H1031/L0395	1.5E-10	9.9E-08	4.6E-02	0.48
H1031/L0442	2.1E-10	8.9E-08	3.9E-02	0.47
H1032/L0395	4.2E-11	5.0E-08	4.1E-03	0.61
H1032/L0442	7.8E-11	4.3E-08	5.9E-03	0.61
H1037/L0395	9.4E-11	7.0E-08	1.5E-02	0.55
H1037/L0442	1.3E-10	6.1E-08	1.5E-02	0.57
H1040/L0395	2.6E-10	2.4E-07	4.6E-02	0.44
H1040/L0442	3.4E-10	1.4E-07	2.1E+01	0.49
H1041/L0395	8.0E-11	7.1E-08	1.3E-02	0.55
H1041/L0442	1.2E-10	6.1E-08	1.5E-02	0.56
H1046/L0395	1.8E-10	1.6E-07	1.2E-02	0.56
H1046/L0442	2.3E-10	1.1E-07	1.2E-02	0.55
H1047/L0395	9.5E-11	4.7E-08	6.0E-03	0.65
H1047/L0442	1.5E-10	4.7E-08	4.6E-03	0.64
H1048/L0395	1.5E-10	9.0E-08	6.4E-03	0.59
H1048/L0442	2.1E-10	6.7E-08	1.5E-02	0.59
H1049/L0395	2.5E-11	3.8E-08	4.0E-03	0.65
H1049/L0442	5.3E-11	3.3E-08	4.5E-03	0.65
H1050/L0395	6.6E-11	7.7E-08	5.0E-03	0.64
H1050/L0442	9.9E-11	5.4E-08	7.6E-03	0.64

[1375] 通过上述研究，获得H1009/L395，其是包含H1009-IgG1m(SEQ ID NO:92)作为重链和L395-k0MT作为轻链的抗体。

[1376] 如表22中所示，与H89/L118相比，H1009/L395在中性pH具有稍微增强的人IL-8-结合亲和力，但另一方面，在酸性pH具有减小的结合亲和力，即，pH-依赖性进一步加强。此外，当暴露于严格条件如在50℃在PBS中，与H89/L118相比，H1009/L395具有稍微增强的IL-8结合稳定性。

[1377] 因此，选择H1009/L395作为其在小鼠血浆中的中和活性可以稳定保持，同时保持其pH-依赖性IL-8结合能力的抗体。

[1378] (14-2)H1009/L395的稳定性评价

[1379] 接着，以与实施例12-3的方法类似的方式，评价H1009/L395的IL-8中和活性在小

鼠血浆中是否稳定保持。本文中，使用H1009/L395-F1886s，其将在之后实施例19中详细描述。该抗体具有与H1009/L395相同的可变区，和与天然人IgG1相比具有在酸性pH条件下增强FcRn结合的修饰和用于降低其对Fcγ R(s)的结合的修饰的恒定区。H1009/L395的可变区，尤其是HVR周围的区域，负责该抗体的人IL-8-结合和IL-8-中和活性，并且引入恒定区的修饰被认为不影响这些性质。

[1380] 如下进行小鼠血浆的稳定性评价。将150μL的200mM磷酸盐缓冲液(pH 6.7)加入到585μL的小鼠血浆中。然后，叠氮化钠作为防腐剂以0.1％的终浓度加入。将每种抗体(Hr9，H89/L118，或H1009/L395-F1886s)以0.4mg/mL的终浓度加入上述小鼠血浆中。此刻，收集样品的一部分作为初始样品。剩余样品储存在40℃。开始储存后一周和二周，收集每种样品的一部分，并且将它们用作储存一周的样品和储存两周的样品。所有样品在-80℃冷冻并储存，直到进行分析。

[1381] 人IL-8-中和活性的测量使用表达人CXCR2的细胞，通过与实施例12-3相似的方法进行。然而，这次用于确认抗-人IL-8抗体的中和活性的人IL-8的浓度是1.2nM。

[1382] 使用上述抗体与表达人CXCR2的细胞获得的人IL-8抑制测定的结果在图28A(其显示对于最初样品(没有在小鼠血浆中的储存处理)的结果，图28B(其显示对于在40℃储存一周的样品的结果)，和图28C(其显示在40℃储存两周的样品的结果)中显示。

[1383] 由此，出人意料地，甚至在将其在小鼠血浆中在40℃储存两周后，人IL-8-中和活性在H1009/L395-F1886s中保持，并且IL-8-中和活性比在H553/L118的情形中更稳定保持。

[1384] (14-3)使用H1009/L395的小鼠PK测定

[1385] 通过以下方法评价由H1009/H395在小鼠中去除人IL-8的速率。H1009/L395，H553/L118，和H998/L63用作抗体。通过实施例11中所示方法进行向小鼠的施用和血液收集，以及小鼠血浆中人IL-8浓度的测量。

[1386] 得到的人IL-8在血浆中的浓度的数据在图29中显示，并且人IL-8从小鼠血浆的清除率(CL)的值在表23中显示。

[1387] [表23]

[1388]

	人 IL-8 CL (mL/d/kg)		
抗体名称	H998/L63	H553/L118	H1009/L395
#1	21.4	773.2	705.0
#2	27.5	497.6	777.3
#3	24.7	879.8	737.7
平均值 (N = 3)	**24.5**	**716.9**	**740.0**
标准差	3.0	197.2	36.2

[1389] 由此，当将H1009/L395以2mg/kg施用时，在小鼠中人IL-8去除的速率与H553/L118的相当，并且表明，H1009/L395实现内体中接近100％的游离IL-8。显示定量表示从小鼠血浆去除人IL-8的速率的清除率(CL)值是H998/L63的大约30-倍高。

[1390] 没有特别限制，增加人IL-8去除速率的效果可以如下理解。通常，在以几乎恒定浓度保持抗原的活体中，抗原的产生速率和去除速率也将保持在几乎恒定值。当抗体在该条件施用时，甚至在抗原生产速率不受影响的情况下，抗原去除的速率可以由于抗原与抗体的复合物的形成而改变。通常，因为抗原-去除速率大于抗体-去除速率，在此种情况下，已经与抗体形成复合物的抗原的去除速率降低。当抗原去除速率降低时，血浆中的抗原浓度

增加,但在此情况下增加程度也可以由当抗原单独存在时的去除速率与当抗原形成复合物时的去除速率的比率定义。即,与抗原单独存在时的去除速率相比,如果形成复合物时的去除速率减少至十分之一,则施用抗体的生物的血浆中的抗原浓度可以比抗体施用前增加到大约十倍。本文中,清除率(CL)可以用作去除速率。更具体而言,向生物施用抗体后发生的抗原浓度的增加(抗原积累)可以由抗体施用前和抗体施用后每种条件下的抗原CL来定义。

[1391] 本文中,施用H998/L63和H1009/L395时人IL-8的CL大约30-倍的差异的存在提示,将这些抗体施用给人时血浆中人IL-8浓度的提高水平之间可以存在大约30-倍的差异。此外,血浆中人IL-8浓度的30-倍的差异的产生表明,在各个条件下完全阻断人IL-8的生物活性所需的抗体的量将存在大约30-倍的差异。即,与H998/L63相比,H1009/L395可以以大约1/30的量阻断血浆中IL-8的生物活性,这是非常小的抗体量。此外,当将H1009/L395和H998/L63以相同剂量单独地施用于人时,H1009/L395将能够长时期以较高强度阻断IL-8的生物活性。为了长时期阻断IL-8的生物活性,需要稳定保持IL-8-中和活性。如实施例14中所示,使用小鼠血浆的实验阐明,H1009/L395可以长时期保持其人IL-8-中和活性。还表明具有这些显著性质的H1009/L39,从体内中和IL-8的功效的角度是具有较好效果的抗体。

[1392] 实施例15

[1393] 使用pH-依赖性IL-8-结合抗体H1009/L395评价胞外基质结合

[1394] 如实施例14中所示的H1009/L395在消除人IL-8方面出色的30-倍好的效果是出人意料的效果。已知,当施用pH-依赖性抗原结合抗体时的抗原去除速率取决于抗体-抗原复合物摄入细胞的速率。即,如果当抗原-抗体复合物形成时(与不形成复合物时相比)pH-依赖性抗原结合抗体摄入细胞的速率增加,则pH-依赖性抗体的抗原-去除效果可以增加。用于增加抗体摄入细胞的速率的已知方法包括赋予抗体在中性pH条件下结合FcRn的能力的方法(WO 2011/122011),用于增强抗体对FcγR(s)的结合能力的方法(WO 2013/047752),和使用促进含有多价抗体和多价抗原的复合物的形成的方法(WO 2013/081143)。

[1395] 然而,上述技术不用在H1009/L395的恒定区。此外,已知IL-8形成同源二聚体的同时,发现由H1009/L395结合的人IL-8以单体的形式存在,因为H1009/L395识别人IL-8的形成同源二聚体的表面。因此,该抗体将不形成多价复合物。

[1396] 更具体而言,当上述技术不用于H1009/L395时,H1009/L395显示30-倍高的人IL-8-去除效果。

[1397] 然后,本发明人进行关于可以带来以H1009/L395为代表的pH-依赖性IL-8-结合抗体的上述性质的可能因素的以下讨论。然而,以下仅是本发明人基于技术背景推测的一种可能性,并且公开内容C的内容不限于以下讨论的内容。

[1398] 人IL-8是具有高等电点(pI)的蛋白,并且通过已知方法计算的理论等电点是大约10。即,在中性pH条件下,人IL-8是其电荷向正面转变的蛋白。由H1009/L395代表的pH-依赖性IL-8-结合抗体也是电荷朝正面转变的蛋白,并且H1009/L395的理论等电点是大约9。即,通过H1009/L395(具有高等电点并且最初富含正电荷的蛋白)结合具有高等电点的人IL-8产生的复合物的等电点将比单独H1009/L395更高。

[1399] 如实施例3中所示,增加抗体的等电点(其包括增加抗体上的正电荷数和/或减少抗体的负电荷数),可以被认为增加抗体-抗原复合物向细胞中的非特异的摄取。与单独抗-IL-8抗体相比,抗-IL-8抗体和具有高等电点的人IL-8之间形成的复合物的等电点更高,并

且复合物可以更容易摄入细胞中。

[1400] 如之前描述的,对于胞外基质的亲和力也是可能影响向细胞内摄取的因素。然后,检查单独抗体和具有人IL-8-抗体的复合物之间在胞外基质结合方面是否存在差异。

[1401] 通过ECL(电化学发光)方法评价结合于胞外基质的抗体的量

[1402] 使用TBS(Takara,T903)将胞外基质(BD Matrigel基底膜基质/由BD制造)稀释至2mg/mL。将稀释的胞外基质以5μL/孔分散在MULTI-ARRAY 96孔板,高结合,Bare(由Meso Scale Discovery:MSD制造)中,并且在4℃固定过夜。然后,使用含有150mM NaCl,0.05%吐温20,0.5%BSA,和0.01%NaN_3的20mM ACES缓冲液(pH 7.4)进行封闭。

[1403] 如下制备要评价的抗体。要单独添加的抗体样品通过使用缓冲液1(含有150mM NaCl,0.05%吐温20,和0.01%NaN_3的20mM ACES缓冲液,pH 7.4)将每个抗体稀释到9μg/mL,并且随后使用缓冲液2(含有150mM NaCl,0.05%吐温20,0.1%BSA,和0.01%NaN_3的20mM ACES缓冲液,pH 7.4)进一步稀释到3μg/mL的终浓度来制备。

[1404] 另一方面,作为与人IL-8的复合物添加的抗体样品如下制备:以十倍于抗体的摩尔浓度将人IL-8添加至抗体样品,然后使用缓冲液-1稀释每种抗体从而使抗体浓度分别变为9μg/mL,并且随后使用缓冲液-2将它们中的每个进一步稀释到3μg/mL的抗体终浓度。此时,人IL-8浓度是大约0.6μg/mL。将其在室温震荡一小时用于复合物形成。

[1405] 接着,从平板移除封闭溶液,将单独抗体或作为复合物的抗体的溶液加入所述平板,并且将此在室温震荡一小时。然后,在去除单独抗体溶液或复合物溶液后,加入含有0.25%戊二醛的缓冲液-1。然后,将平板静置10分钟后,将其用含有0.05%吐温20的DPBS(由Wako Pure Chemical Industries制造)洗涤。用于ECL检测的抗体通过使用Sulfo-标签NHS酯(由MSD制造)sulfo-标记山羊抗-人IgG(γ)(由Zymed Laboratories制造)制备。将用于ECL检测的抗体用缓冲液-2稀释至1μg/mL,加入平板中,并且随后在暗处在室温震荡一小时。去除用于ECL检测的抗体,加入通过使用超纯水2-倍稀释MSD读取缓冲液T(4x)(由MSD制造)产生的溶液,并且随后由SECTOR成像仪2400(由MSD制造)测量发光量。

[1406] 结果显示在图30中。有趣的是,所有抗-IL-8抗体如H1009/L395几乎不显示像单独抗体一样的对胞外基质的任何结合(-IL8),但在与人IL-8形成复合物后与胞外基质结合(+hIL8)。

[1407] 如上文所述的,抗-IL-8抗体通过结合人IL-8获得对胞外基质的亲和力的性质尚未被阐述。此外,不受限制,将该性质与pH-依赖性IL-8-结合抗体结合可以更有效增加IL-8去除的速率。

[1408] 实施例16

[1409] 使用非-FcRn-结合抗体的小鼠PK测定

[1410] 使用以下方法确认人IL-8和pH-依赖性IL-8-结合抗体之间的复合物是否形成以及在小鼠中复合物摄入细胞是否增加。

[1411] 首先,产生包含H1009/L395的可变区和缺乏对各种Fc受体的结合亲和力的Fc区的抗体变体。具体而言,作为在酸性pH条件下用于缺失对人FcRn的结合能力的修饰,将重链H1009-IgG1在位置253将丙氨酸置换为异亮氨酸和在位置254将天冬氨酸置换为丝氨酸(根据EU编号)。此外,作为用于缺失对小鼠FcγR(s)的结合的修饰,将位置235处的亮氨酸用精氨酸置换,将在位置236处的甘氨酸用精氨酸置换,和将在位置239处的丝氨酸用赖氨酸置

换。产生H1009-F1942m(SEQ ID NO:93)作为含有这些修饰中的四种的重链。此外,产生包含H1009-F1942m作为重链和L395-k0MT作为轻链的H1009/L395-F1942m。

[1412] 因为具有该Fc区的抗体在酸性pH条件下缺乏FcRn结合亲和力,所以其不从内体转移到血浆。因此,与包含天然Fc区的抗体相比,所述抗体在活体中从血浆快速去除。在该情况下,在将包含天然Fc区的抗体摄入细胞后,仅它们中不被FcRn营救的一部分在转移到溶酶体后被降解,但在包含不具有FcRn-结合亲和力的Fc区的抗体的情况下,摄入细胞的所有抗体都在溶酶体中降解。更具体而言,在包含所述修饰的Fc区的抗体的情况下,施用的抗体从血浆去除的速率可以与结合入细胞的速率相当。即,细胞内摄取其FcRn-结合亲和力被缺失的抗体的速率也可以通过测量这些抗体从血浆去除的速率来确认。

[1413] 然后,测试与单独H1009/L395-F1942m的摄取相比,H1009/L395-F1942m和人IL-8之间形成的复合物的细胞内摄取是否增加。具体而言,测试当单独施用抗体时和当与人IL-8形成复合物后施用抗体时抗体从血浆去除的速率是否将改变。

[1414] 评价在将抗-人IL-8抗体单独施用给人FcRn转基因小鼠(B6.mFcRn-/-.hFcRn Tg品系32+/+小鼠;Jackson Laboratories;Methods Mol.Biol.602:93-104(2010))和将人IL-8和抗-人IL-8抗体同时施用给人FcRn转基因小鼠时,抗-人IL-8抗体各自的生物动力学(biokinetics)。抗-人IL-8抗体溶液(200μg/mL),和人IL-8(10μg/mL)和抗-人IL-8抗体(200μg/mL)的混合溶液分别以10mL/kg施用于尾静脉一次。在该情况下,因为抗-人IL-8抗体以足够超过人IL-8的量存在,所以认为几乎所有人IL-8结合抗体。施用后五分钟,两小时,七小时,一天,和两天收集血液。将收集的血液立即在4℃和15,000rpm离心15分钟,获得血浆。将分离的血浆在设为-20℃或以下的冰箱中储存,直到进行测量。

[1415] 通过电化学发光方法测量小鼠血浆中的抗-人IL-8抗体浓度。首先,向使用含有5%BSA(w/v)的PBS-吐温溶液在室温封闭过夜的链霉亲和素Gold Multi-ARRAY板(Meso Scale Discovery),将抗-人κ轻链山羊IgG Biotin(IBL)在室温反应一小时,产生固定有抗-人抗体的平板。制备含有在血浆中浓度为3.20,1.60,0.800,0.400,0.200,0.100,和0.0500μg/mL的抗-人IL-8抗体的用于校准曲线的样品和稀释100-倍或更高的用于小鼠血浆测量的样品。将每种样品与人IL-8混合,并且随后以50μL/孔分散在固定有抗-人抗体的板中,并且随后在室温搅拌一小时。将人IL-8调节至333ng/mL的终浓度。

[1416] 然后,将包含小鼠IgG恒定区的抗-人IL-8抗体(内部制备)加入板中,并让其在室温反应一小时。此外,将用SULFO-TAG NHS酯(Meso Scale Discovery)钌-标记的抗-小鼠IgG(BECKMAN COULTER)加入板中,并且让其反应一小时。然后,在将读取缓冲液T(x1)(Meso Scale Discovery)分散到板中后,立即使用SECTOR成像仪2400(Meso Scale Discovery)进行测量。使用分析软件,SOFTmax PRO(Molecular Devices),基于校准曲线的响应计算抗-人IL-8抗体浓度。

[1417] 由此获得的小鼠血浆中抗体浓度显示在图31中,并且在各个条件下的抗体清除率显示在表24中。

[1418] [表24]

[1419]

抗体名称	IL8	CL
	μg/kg	mL/d/kg
H1009/L395-F1942m	-	134
H1009/L395-F1942m	100	291

[1420] 显示与H1009/L395-F1942m的摄取速率相比，细胞内摄取H1009/L395-F1942m和人IL-8的复合物的速率增加至少2.2倍。本文中，因为作为可以实际上是5-倍，10-倍，或30-倍的值的一种可能性包括在内的以下原因而标注为″至少2.2-倍″。因为与去除H1009/L395-F1942m的速率相比，从小鼠血浆去除人IL-8的速率非常快，所以施用后血浆中人IL-8结合的H1009/L395-F1942m的比例快速降低。更具体而言，甚至当与人IL-8同时施用时，不是存在于血浆中的所有H1009/L395-F1942m都是人IL-8-结合的形式，并且实际上，施用后大约七小时，它们中的大多数已经以游离形式存在。因为在这种条件下评价摄取速率，所以即使与H1009/L395-F1942m的摄取速率相比，H1009/L395-F1942m和人IL-8的复合物的细胞内摄取速率实际增加五-倍，十-倍，或30-倍，也仅部分反映该实验系统的结果；因此，效果可以可能表示为大约2.2-倍的增加。因此，从这些获得的结果，尽管与体内H1009/L395的实际细胞内摄取速率比较，显示H1009/L395和IL-8的复合物的细胞内摄取速率增加，但是该效果不限于获得的2.2-倍增加的值。

[1421] 不特别限制，可以从目前获得的研究结果进行以下解释。当H1009/L395(其是pH-依赖性IL-8-结合抗体)与人IL-8形成复合物时，该复合物具有更高的等电点并且比抗体单独存在时更多向正电荷转换。同时，与抗体单独的亲和力相比，复合物对胞外基质的亲和力增加。性质如等电点的升高和胞外基质结合的增强可以被认为是促进体内抗体摄入细胞的因素。此外，根据小鼠实验，显示与H1009/L395的摄取速率相比，H1009/L395和人IL-8的复合物的细胞内摄取速率增加2.2-倍或更高。由此，理论解释以及体外性质和体内现象一致地支持以下假说：H1009/L395和人IL-8形成复合物，促进复合物摄入细胞，并且导致人IL-8的去除的显著增加。

[1422] 迄今已经报道了多种针对IL-8的抗体，但迄今没有关于与IL-8形成复合物时对胞外基质的结合亲和力增加和复合物摄入细胞的增加的报道。

[1423] 此外，基于当抗体与IL-8形成复合物时观察到抗-IL-8抗体的细胞内摄取的增加的研究结果，技术人员可以考虑，在血浆中与IL-8形成复合物的抗-IL-8抗体快速摄入细胞，同时未与IL-8形成复合物的游离抗体倾向于保留在血浆中而不被摄入细胞。在该情况下，当抗-IL-8抗体是pH-依赖性的时，摄入细胞的抗-IL-8抗体在细胞中释放IL-8分子并且随后返回细胞外部，并且随后其能够结合另一IL-8分子；并且因此，复合物形成时细胞内摄取的增加可以具有更强烈去除IL-8的进一步效果。即，选择对胞外基质具有增加的结合的抗-IL-8抗体或具有增加的细胞内摄入的抗-IL-8抗体也可以是公开内容C的另一个实施方案。

[1424] 实施例17

[1425] 使用计算机系统免疫原性预测pH-依赖性IL-8-结合抗体H1009/L395

[1426] 接着，通过与实施例13-1相似的方法对于H1009/L395预测免疫原性得分和ADA产生频率。结果显示在表25和图32中。在图32中，H1009/L395称为″H1009L395″。

[1427] [表25]

[1428]

	重链		轻链		总共	
抗体名称	EpiMatrix 得分	tReg 调节的 Epx 得分	EpiMatrix 得分	tReg 调节的 Epx 得分	EpiMatrix 得分	tReg 调节的 Epx 得分
hWS-4	62.44	12.18	22.64	-23.89	85.08	-11.71
H1004/L395	10.79	-39.47	7.79	-38.74	18.58	-78.21
H1009/L395	9.62	-40.64	7.79	-38.74	17.41	-79.38

[1429] 表25中的结果表明,H1009/L395具有与H1004/L395相同的低免疫原性得分水平。此外,根据图32中的结果,对于H1009/L395的预测的ADA产生频率为0%,并且这也与H1004/L395的相似。

[1430] 因此,与已知抗-人IL-8抗体hWS-4相比,对于H1009/L395预测的免疫原性大大减少。因此,认为H1009/L395在人中具有非常低的免疫原性,并且能够长期稳定保持抗-IL-8-中和活性。

[1431] 实施例18

[1432] 在酸性pH条件下使用具有增强的FcRn-结合能力的H89/L118变体的食蟹猴PK测定

[1433] 如上述实施例中所述,在抗体具有天然IgG1作为其恒定区的情况中,pH-依赖性IL-8-结合抗体H1009/L395是具有较好性质的抗体。然而,所述抗体还可以用作在恒定区中含有氨基酸置换的抗体,例如,含有在酸性pH具有增强的FcRn结合的Fc区的那些,如实施例5中举例说明的。因此,H89/L118用于确认在酸性pH具有增强的FcRn结合的Fc区也可以在pH-依赖性IL-8-结合抗体中行使功能。

[1434] (18-1)在酸性pH具有增强的FcRn结合的H89/L118 Fc区-修饰的抗体的生产

[1435] 将实施例5-1中所述用于增强FcRn结合的各种修饰引入H89/L118的Fc区。具体而言,以下变体通过将用于F1847m,F1848m,F1886m,F1889m,F1927m,和F1168m的修饰引入H89-IgG1的Fc区产生:(a)H89/L118-IgG1,其包含H89-IgG1m(SEQ ID NO:94)作为重链和L118-KOMT作为轻链;(b)H89/L118-F1168m,其包含H89-F1168m(SEQ ID NO:95)作为重链和L118-KOMT作为轻链;(c)H89/L118-F1847m,其包含H89-F1847m(SEQ ID NO:96)作为重链和L118-KOMT作为轻链;(d)H89/L118-F1848m,其包含H89-F1848m(SEQ ID NO:97)作为重链和L118-KOMT作为轻链;(e)H89/L118-F1886m,其包含H89-F1886m(SEQ ID NO:98)作为重链和L118-KOMT作为轻链;(f)H89/L118-F1889m,其包含H89-F1889m(SEQ ID NO:99)作为重链和L118-KOMT作为轻链;和(g)H89/L118-F1927m,其包含H89-F1927m(SEQ ID NO:100)作为重链和L118-KOMT作为轻链。使用这些抗体通过下述方法进行食蟹猴PK测定。

[1436] (18-2)含有新Fc区变体的抗体的食蟹猴PK测定

[1437] 将抗-人IL-8抗体施用于食蟹猴后,评价抗-人IL-8抗体的生物动力学。将抗-人IL-8抗体溶液以2mg/kg静脉内施用。施用后五分钟,四小时,一天,两天,三天,七天,十天,14天,21天,28天,35天,42天,49天,和56天收集血液。将收集的血液立即在4℃和15,000rpm离心十分钟,获得血浆。将分离的血浆在设为-60℃或以下的冰箱中储存,直到进行测量。

[1438] 食蟹猴血浆中的抗-人IL-8抗体浓度通过电化学发光方法测量。首先,将抗-hκ捕获Ab(抗体溶液)分散在MULTI-ARRAY 96-孔板(Meso Scale Discovery)中,并且在室温搅拌一小时。然后,含有5%BSA(w/v)的PBS-吐温溶液用于在室温封闭两小时,制备固定有抗-人抗体的平板。制备含有在血浆中浓度为40.0,13.3,4.44,1.48,0.494,0.165,和0.0549μg/mL的抗-人IL-8抗体的用于校准曲线的样品和稀释500-倍或更高的用于食蟹猴血浆测量

的样品，将50μL的溶液分散在固定抗-人抗体的板的每个孔中，并将溶液在室温搅拌一小时。然后，向前述板中加入抗-hκ报告Ab，生物素缀合物(抗体溶液)，并且使其在室温反应一小时。在进一步加入SULFO-TAG标记的链霉亲和素(Meso Scale Discovery)并使其在室温反应一小时后，将读取缓冲液T(x1)(Meso Scale Discovery)分散在板中，并且立即使用ECTOR成像仪2400(Meso Scale Discovery)进行测量。使用分析软件，SOFTmax PRO(Molecular Devices)，基于校准曲线的响应计算抗-人IL-8抗体浓度。

[1439] 对于每种抗体的半衰期(t1/2)和清除率(CL)获得的结果显示在表26中，并且食蟹猴血浆中抗体浓度的改变显示在图33中。

[1440] [表26]

[1441]

抗体名称	t1/2 日	CL mL/d/kg
H89/L118-IgG1	11.9	2.95
H89/L118-F1168m	24.1	3.21
H89/L118-F1847m	27.9	2.09
H89/L118-F1848m	25.3	1.74
H89/L118-F1886m	45.1	1.34
H89/L118-F1889m	39.5	1.75
H89/L118-F1927m	30.3	2.13

[1442] 上述结果确认，与具有天然IgG1 Fc区的抗体相比，所有Fc区变体显示延长的血浆中保留。尤其是，H89/L118-F1886m显示最理想的血液动力学。

[1443] 实施例19

[1444] 具有降低的对FcγR的结合能力的Fc区

[1445] 已知天然人IgG1的Fc区结合免疫系统的各种细胞的一种或多种Fcγ受体(下文，称为FcγR(s))，并且呈现效应子功能如对靶细胞的ADCC和ADCP。

[1446] 另一方面，IL-8是可溶性细胞因子，并且主要预期用作药物的抗-IL-8抗体通过在IL-8过量存在的位点处中和IL-8的功能而显示药学作用。所述IL-8过量存在的位点不特别限制，并且例如，可以是发炎的位点。通常已知在此种发炎的位点，各种免疫细胞聚集并被激活。经由Fc受体向这些细胞传递不想要的激活信号和在不想要的细胞中诱导活性如ADCC和ADCP通常是不希望的。因此，不特别限制，从安全的角度，可以优选体内施用的抗-IL-8抗体对FcγR(s)具有低亲和力。

[1447] (19-1)具有降低的对FcγR的结合的修饰的抗体的生产

[1448] 将氨基酸修饰进一步引入H1009/L395-F1886m的Fc区，目的是降低对各种人和食蟹猴FcγR的结合能力。具体而言，H1009-F1886s(SEQ ID NO:81)通过将H1009-F1886m重链进行以下置换中的每一种产生：位置235处R替换为L，位置236处R替换为G，和位置239处K替换为S(根据EU编号)。类似地，H1009-F1974m(SEQ ID NO:80)通过将H1009-F1886m在位置235处将R置换为L和在位置236处将R置换为G(根据EU编号)，和将根据EU编号位置327至位置331的区域用天然人IgG4序列的该区域置换来产生。产生H1009/L395-F1886s和H1009/L395-F1974m，作为具有这些重链以及L395-kOMT作为轻链的抗体。

[1449] (19-2)对各种人FcγR的亲和力的确认

[1450] 接着，H1009/L395-F1886s或H1009/L395-F1974m对人或食蟹猴中可溶形式的Fcγ

RIa或FcγRIIIa的亲和力通过以下方法确认。

[1451] 对H1009/L395-F1886s或H1009/L395-F1974m对人或食蟹猴中可溶性形式的FcγRIa或FcγRIIIa的结合，使用BIACORE T200(GE Healthcare)进行测定。人和食蟹猴中可溶性FcγRIa和FcγRIIIa由本领域技术人员已知的方法以His-标签标记的分子的形式产生。通过胺偶联方法将适量的rProtein L(BioVision)固定在传感芯片CM4(GE Healthcare)上并且捕获目标抗体。接着，将可溶性FcγRIa或FcγRIIIa与运行缓冲液(用作参照溶液)注射，并且使得与捕获在传感芯片上的抗体相互作用。HBS-EP+(GE Healthcare)用作运行缓冲液，并且HBS-EP+还用于稀释可溶性FcγRIa或FcγRIIIa。为了再生传感芯片，使用10mM pH 1.5的甘氨酸-HCl。所有测量在20℃进行。

[1452] 结果显示在图34中。本文中，用于人FcγRIa，人FcγRIIIa，食蟹猴FcγRIa，和食蟹猴FcγRIIIa的标识以相同顺序分别是：hFcγRIa，hFcγRIIIa，cynoFcγRIa，和cynoFcγRIIIa。显示H1009/L395-F1886m结合所有FcγRs，而另一方面，确认H1009/L395-F1886s和H1009/L395-F1974m不结合FcγRs中的任一种。

[1453] (19-3)Fc变体的小鼠IL-8去除测定

[1454] 接着，对于H1009/L395-F1886s和H1009/L395-F1974m，通过以下实验确认人IL-8去除速率和抗体在小鼠血浆中的保留。本文中，三个剂量的H1009/L395-F1886s，2mg/kg，5mg/kg，和10mg/kg，用于评价，从而也可以对于H1009/L395-F1886s评价增加抗体剂量的效果。

[1455] 向人FcRn转基因小鼠(B6.mFcRn-/-.hFcRn Tg品系32 +/+小鼠；Jackson Laboratories;Methods Mol.Biol.602:93-104(2010))同时施用人IL-8和抗-人IL-8抗体后，评价人IL-8的生物动力学。将人IL-8(10μg/mL)和抗-人IL-8抗体(200μg/mL，500μg/mL，或1000μg/mL)的混合溶液以10mL/kg通过尾静脉施用一次。在该情况下，因为抗-人IL-8抗体以充分超过人IL-8的量存在，所以几乎所有人IL-8被认为结合抗体。施用后五分钟，两小时，四小时，七小时，一天，两天，三天，七天，14天，21天，和28天收集血液。将收集的血液立即在4℃和15,000rpm离心15分钟，获得血浆。将分离的血浆在设为-20℃或以下的冰箱中储存，直到进行测量。

[1456] 通过与实施例11相似的方法测量小鼠血浆中的人IL-8浓度。得到的关于血浆中人IL-8浓度的数据在图35中显示，并且人IL-8从小鼠血浆的清除率(CL)的值显示在表27中。

[1457] 首先，显示包含天然IgG1的Fc区的H1009/L395和包含修饰的Fc区的H1009/L395-F1886s当与2mg/kg-施用组比较时具有相当的人IL-8-去除效果。

[1458] 接着，当改变H1009/L395-F1886s抗体的剂量时，在2mg/kg和10mg/kg剂量之间未观察到人IL-8清除率值的显著差异，而在施用后一天存在血浆IL-8浓度的微小差异。这强烈提示，甚至当以高剂量施用抗体时，包含H1009/L395的可变区的抗体也显示充足的IL-8-去除效果。

[1459] [表27]

[1460]

抗体名称	剂量	人IL-8 CL(mL/d/kg)
H1009/L395	2mg/kg	740
H1009/L395-F1886s	2mg/kg	628
H1009/L395-F1886s	5mg/kg	458

H1009/L395-F1886s	10mg/kg	560

[1461] (19-4)Fc变体的食蟹猴PK测定

[1462] 接着，抗体在食蟹猴中的血浆保留通过以下方法，使用H1009/L395-F1886s或H1009/L395-F1974m验证。

[1463] 在向食蟹猴单独施用抗-人IL-8抗体的情况下或在向食蟹猴同时施用人IL-8和抗-人IL-8抗体的情况下，评价抗-人IL-8抗体的生物动力学。将抗-人IL-8抗体溶液(2mg/mL)，或人IL-8(100μg/kg)和抗-人IL-8抗体(2mg/kg)的混合溶液，以1mL/kg静脉内施用一次。施用后五分钟，四小时，一天，两天，三天，七天，十天，14天，21天，28天，35天，42天，49天，和56天收集血液。将收集的血液立即在4℃和15,000rpm离心分钟，获得血浆。将分离的血浆在设在-60℃或以下的冰箱中储存，直到进行测量。

[1464] 通过实施例18的方法测量食蟹猴血浆中的抗-人IL-8抗体浓度。得到的血浆中抗-人IL-8抗体浓度的数据显示在图36中，并且抗-人IL-8抗体从食蟹猴血浆中的半衰期(t1/2)和清除率(CL)的值显示在表28中。

[1465] 首先，与具有天然人IgG1的Fc区的Hr9和H89/L118相比，具有有改善的功能的Fc区的H1009/L395-F1886s显示具有显著延长的血浆保留。

[1466] 此外，当H1009/L395-F1886s与人IL-8同时施用时，血浆浓度的改变与抗体单独施用时相当。不特别限制，根据该研究结果，以下讨论是可能的。如上文所述的，显示与单独H1009/L395的摄取相比，H1009/L395和人IL-8的复合物的细胞内摄取增加。通常，认为高分子量蛋白非特异性或以受体-依赖性的方式结合入细胞，然后转移到溶酶体，并且由溶酶体中存在的各种降解酶降解。因此，如果蛋白摄入细胞的速率增加，则该蛋白的血浆保留也可能变差。然而，在抗体的情形中，其具有在内体中通过FcRn返回血浆的性质；并且因此，只要通过FcRn功能充分营救，血浆保留可以不受影响，即使细胞内摄取速率加速。本文中，甚至当将H1009/L395-F1886s与人IL-8同时施用给食蟹猴时，血浆保留不受影响。这表明以下可能性：在对于H1009/L395-F1886s抗体摄入细胞的速率增加的同时，抗体被充分地由FcRn营救从而其可以返回血浆。

[1467] 此外，另一种Fc变体H1009/L395-F1974m也显示与H1009/L395-F1886s相当的血浆保留。在这些Fc变体引入有如上文所述具有降低对各种FcγR的结合能力的不同修饰的同时，显示其不影响抗体本身的血浆保留。由此，显示与具有天然IgG1 Fc区的抗体相比，H1009/L395-F1886s和H1009/L395-F1974m在食蟹猴中的血浆保留显著延长并且非常令人满意。

[1468] [表28]

[1469]

	t1/2	CL
	日	mL/d/kg
Hr9	20.26	3.72
H89/L118	11.88	2.95
H1009/L395-F1886s	35.75	1.64
H1009/L395-F1886s +hIL-8	72.24	1.11
H1009/L395-F1974m +hIL-8	43.78	1.60

[1470] 如上述实施例表明的，通过包含pH-依赖性IL-8结合能力(具有作为与IL-8的复合

物快速摄入细胞的特点),作为显著增加人IL-8的体内去除速率的抗体,首次获得H1009/L395。此外,与已知的hWS-4抗体相比,该抗体在中性pH条件下的IL-8-结合亲和力也增加,并且该抗体在中性pH条件如在血浆中可以更强烈地中和人IL-8。此外,其是在血浆条件下具有出色的稳定性并且其IL-8中和活性在体内施用后不降低的抗体。此外,H1009/L395(其基于与hWS-4相比具有极大改善的生产水平的Hr9构建)是从生产水平的角度适于制造的抗体。此外,在计算机免疫原性预测中,该抗体对于其免疫原性显示非常低的得分,并且该得分显著低于已知的hWS-4抗体和一些其他已知可商购抗体的得分。即,预期H1009/L395几乎不会在人中产生ADA,并且将能够安全长期使用。因此,与已知的抗-人IL-8抗体相比,H1009/L395显示各方面的改善,并且作为药物非常有用。

[1471] 如上文所述的具有天然IgG Fc区的H1009/L395足够有用;然而,包含功能-改善的Fc区的H1009/L395的变体也可以适当用作具有增强的实用性的抗体。具体而言,可能在酸性pH条件下增加FcRn结合以延长血浆保留和长期保持效果。此外,包含引入有降低对Fcγ R(s)的结合能力的一种或多种修饰的Fc区的变体可以用作高安全性治疗性抗体,以避免在施用的生物中不希望有的免疫细胞激活和细胞毒性活性的产生。作为此种Fc变体,本文中开发的F1886s或F1974m的使用是特别有利的,但其不限于这些Fc变体;并且只要Fc变体具有类似的功能,则包含其他修饰的Fc区的治疗性抗体用作公开内容C的实施方案。

[1472] 由此,本发明人通过深入研究产生的公开内容C的抗体(包括H1009/L395-F1886s和H1009/L395-F1974m)可以保持人IL-8的生物活性被安全和长期抑制的情形。本文中,已经实现了由已知的抗-IL-8抗体不能实现的水平,并且预期公开内容C的这些抗体用作高质量精制的抗-IL-8抗体药物。

[1473] 实施例20

[1474] 抗-因子IXa/因子X双特异性抗体

[1475] WO2012/067176中公开的人源化抗-因子IXa/因子X双特异性抗体结合人因子Ixa和因子X并且诱导血液的共聚集活性。WO2012/067176中描述的人源化抗-因子IXa/因子X双特异性抗体F8M(Q499-z121/J327-z119/L404-k:H链(SEQ ID NO:330)/H链(SEQ ID NO:331)/共有L链(SEQ ID NO:332))用在本实施例中并且F8M包含两个不同H链和两个相同共有L链。通过WO2012/067176的实施例中所述的方法产生F8M。

[1476] (20-1)抗-因子IXa/因子X双特异性抗体的生产

[1477] 通过参照实施例2的方法产生以下三种抗体,作为基于F8M的抗-因子IXa/因子X双特异性抗体:(a)F8M-F1847mv,其是包含F8M-F1847mv1(SEQ ID NO:323)和F8M-F1847mv2(SEQ ID NO:324)作为重链以及F8ML(SEQ ID NO:325)作为轻链的常规抗体;(b)F8M-F1868mv,其是包含F8M-F1868mv1(SEQ ID NO:326)和F8M-F1868mv2(SEQ ID NO:327)作为重链以及F8ML(SEQ ID NO:325)作为轻链的常规抗体;和(c)F8M-F1927mv,其是包含F8M-F1927mv1(SEQ ID NO:328)和F8M-F1927mv2(SEQ ID NO:329)作为重链以及F8ML(SEQ ID NO:325)作为轻链的常规抗体。

[1478] 重链序列包括如下实施例5提到的关于增强FcRn结合和降低类风湿因子结合相同的Fc变体序列:

[1479] [表29]

[1480]

序列名称	实施例5中的名称

F8M-F1847mv1(SEQ ID NO:323)	F1847m
F8M-F1847mv2(SEQ ID NO:324)	F1847m
F8M-F1868mv1(SEQ ID NO:326)	F1868m
F8M-F1868mv2(SEQ ID NO:327)	F1868m
F8M-F1927mv1(SEQ ID NO:328)	F1927m
F8M-F1927mv2(SEQ ID NO:329)	F1927m

[1481] (20-2)单克隆抗体,F8M-F1847mv,F8M-F1868mv,和F8M-F1927mv在食蟹猴中的药代动力学研究

[1482] 在以0.6mg/kg的剂量向雄性食蟹猴单次静脉内推注施用后,分别评价单克隆抗体,F8M-F1847mv,F8M-F1868mv,和F8M-F1927mv的药代动力学。通过夹心ELISA确定F8M-F1847mv,F8M-F1868mv,和F8M-F1927mv的血浆浓度。使用WinNonlin ver 6.4软件计算药代动力学参数。如表30中所示,F8M-F1847mv,F8M-F1868mv,和F8M-F1927mv的半衰期是分别29.3天,54.5天和35.0天。使用食蟹猴的F8M PK研究在不同天以6mg/kg的剂量进行,并且揭示半衰期是19.4天。明确的是,F8M-F1847mv,F8M-F1868mv,和F8M-F1927mv的半衰期比F8M长。这提示,抗-因子IXa/X双特异性抗体的半衰期能够通过上述实施例5中提及的关于Fc区序列的相同修饰来延长。

[1483] [表30]

[1484] 向雄性食蟹猴静脉内施用后,F8M-F1847mv,F8M-F1868mv,和F8M-F1927mv以及F8M的半衰期

[1485]

	F8M-F1847mv	F8M-F1868mv	F8M-F1927mv	F8M
半衰期(天)	29.3	54.5	35.0	19.4

[1486] 实施例21

[1487] 使用pI-提高的Fab变体从血浆清除IgE的评价

[1488] 为了增强人IgE的清除,在该实施例中使用pH-依赖性抗原结合抗体评价抗体的Fab中提高pI的置换。向抗体可变区添加氨基酸置换以提高pI的方法不特别限制,但例如,其可以通过WO2007/114319或WO2009/041643中所述的方法进行。引入可变区的氨基酸置换优选是减少带负电的氨基酸(如天冬氨酸和谷氨酸)的数量同时增加带正电的氨基酸(如精氨酸和赖氨酸)的那些。此外,氨基酸置换可以引入在抗体可变区中的任意位置。没有特别限制,引入氨基酸置换的位点优选在氨基酸侧链可以暴露在抗体分子表面的位置。

[1489] (21-1)通过修饰可变区中的氨基酸具有提高的pI的抗体的生产

[1490] 测试的抗体在表32和表33中总结。

[1491] 通过在Ab1H(SEQ ID NO:38)中引入提高pI的置换H32R来制备重链,Ab1H003(也称为H003,SEQ ID NO:144)。其他重链变体也根据参照实施例1中所示的方法通过在Ab1H中引入表32中所示的各个置换来制备。所有重链变体与作为轻链的Ab1L(SEQ ID NO:39)一起表达。该抗体的pH-依赖性结合性质总结在表5(Ab1)中。

[1492] 类似地,我们还评价了轻链中提高pI的置换。

[1493] 通过将提高pI的置换G16K引入Ab1L来制备轻链,Ab1L001T(也称为L001,SEQ ID NO:164)。其他轻链变体也根据参照实施例1中所示的方法通过将表33中所示的各个置换引入Ab1L来制备。所有轻链变体与作为重链的Ab1H一起表达。

[1494] [表32]

[1495] 该实施例中评价的Ab1H的重链变体

[1496]

样品名称（H链/L链）	变体		成像 倍数	BIACORE 倍数
Ab1H/Ab1L	最初 Ab1		1.00	1.00
Ab1H003/Ab1L	H003	H32R	无数据	无数据
Ab1H005m/Ab1L	H005	P41R/G44R	1.73	0.92
Ab1H010/Ab1L	H010	T77R	1.68	1.05
Ab1H012/Ab1L	H012	D82aN/S82bR	2.71	0.96
Ab1H013/Ab1L	H013	D82aG/S82bR	2.95	1.02
Ab1H014/Ab1L	H014	D82aS/S82bR	2.36	0.91
Ab1H016/Ab1L	H016	E85G	1.51	1.04
Ab1H018/Ab1L	H018	A93K	0.00	-0.01
Ab1H026m/Ab1L	H026	P41R/G44R/T77R	0.76	无数据
Ab1H027/Ab1L	H027	T77R/D82aN/S82bR	2.78	1.21
Ab1H028/Ab1L	H028	T77R/D82aG/S82bR	3.04	1.37
Ab1H029/Ab1L	H029	T77R/D82aS/S82bR	1.80	1.33
Ab1H030/Ab1L	H030	T77R/E85G	1.50	1.27
Ab1H031m/Ab1L	H031	T77R/A93K	0.03	0.06
Ab1H032/Ab1L	H032	D82aG/S82bR/E85G	0.52	无数据
Ab1H034/Ab1L	H034	Q13K	1.12	1.21
Ab1H035/Ab1L	H035	G15R	0.06	1.28
Ab1H039/Ab1L	H039	S64K	0.77	1.57
Ab1H041m/Ab1L	H041	Q105R	1.03	1.52
Ab1H045/Ab1L	H045	S82bR	2.00	0.76

[1497] [表33]

[1498] 该实施例中评价的Ab1L的轻链变体

[1499]

样品名称（H链/L链）	变体		成像倍数	BIACORE倍数
Ab1H/Ab1L	最初 Ab1		1.00	1.00
Ab1H/Ab1L001	L001	G16K	2.11	1.03
Ab1H/Ab1L002	L002	Q24R/E27Q	1.43	1.03
Ab1H/Ab1L003	L003	Q24R/E27R	3.14	1.09
Ab1H/Ab1L004	L004	Q24K/E27K	1.42	1.01
Ab1H/Ab1L005	L005	A25K/S26K	1.82	0.84
Ab1H/Ab1L006	L006	A25R/S26R	6.82	1.18
Ab1H/Ab1L007	L007	Q37R	1.82	1.06
Ab1H/Ab1L008	L008	G41R/Q42K	1.70	1.07
Ab1H/Ab1L009	L009	L46R/Y49K	0.02	-0.02
Ab1H/Ab1L010	L010	S52R/S56R	2.72	0.98
Ab1H/Ab1L011	L011	S52K/S56K	1.21	1.02
Ab1H/Ab1L012	L012	S65R/T69R	1.28	0.97
Ab1H/Ab1L013	L013	T74K/S77R	3.31	1.70
Ab1H/Ab1L014	L014	S76R/Q79K	4.47	1.08
Ab1H/Ab1L015	L015	G16K/Q24R/E27R	2.11	1.25
Ab1H/Ab1L016	L016	Q24R/E27R/Q37R	3.33	1.36
Ab1H/Ab1L017	L017	Q24R/E27R/G41R/Q42K	2.90	1.27
Ab1H/Ab1L018	L018	Q24R/E27R/L46R/Y49K	0.01	0.07
Ab1H/Ab1L019	L019	Q24R/E27R/S52R/S56R	3.88	1.17
Ab1H/Ab1L020	L020	Q24R/E27R/S52K/S56K	4.61	1.22
Ab1H/Ab1L021	L021	Q24R/E27R/S65R/T69R	11.43	1.36
Ab1H/Ab1L022	L022	Q24R/E27R/T74K/S77R	19.05	1.45
Ab1H/Ab1L023	L023	Q24R/E27R/S76R/Q79K	13.15	1.39
Ab1H/Ab1L024	L024	G16K/A25R/S26R	0.73	无数据
Ab1H/Ab1L025	L025	A25R/S26R/Q37R	2.03	1.39
Ab1H/Ab1L026	L026	A25R/S26R/G41R/Q42K	1.28	无数据
Ab1H/Ab1L028	L028	A25R/S26R/S52R/S56R	6.33	1.46
Ab1H/Ab1L029	L029	A25R/S26R/S52K/S56K	9.84	1.23
Ab1H/Ab1L030	L030	A25R/S26R/S65R/T69R	7.19	1.16
Ab1H/Ab1L032	L032	A25R/S26R/S76R/Q79K	2.67	无数据
Ab1H/Ab1L033	L033	Q24R/E27R/G41R/Q42K/S65R/T69R	6.68	1.26
Ab1H/Ab1L034	L034	Q24R/E27R/S52R/S56R/S65R/T69R	9.81	1.71
Ab1H/Ab1L035	L035	Q24R/E27R/S65R/T69R/T74K/S77R	19.56	1.49
Ab1H/Ab1L036	L036	Q24R/E27R/S65R/T69R/S76R/Q79K	17.04	1.48
Ab1H/Ab1L037	L037	Q24R/E27R/G41R/Q42K/T74K/S77R	8.62	1.38
Ab1H/Ab1L038	L038	Q24R/E27R/S52R/S56R/T74K/S77R	15.13	1.47
Ab1H/Ab1L039	L039	Q24R/E27R/T74K/S76R/S77R/Q79K	26.95	0.99
Ab1H/Ab1L040	L040	Q24R/E27R/G41R/Q42K/S76R/Q79K	5.29	1.23
Ab1H/Ab1L041	L041	Q24R/E27R/S52R/S56R/S76R/Q79K	11.86	1.35
Ab1H/Ab1L061	L061	Q42K/S76R	4.86	1.02
Ab1H/Ab1L062	L062	S65R/Q79K	2.93	0.98

[1500] (21-2)使用pI-提高的变体通过BIACORE的人Fcγ RIIb-结合测定

[1501] 关于产生的含有Fc区变体的抗体，使用BIACORE T200(GE Healthcare)进行可溶性人Fcγ RIIb和抗原-抗体复合物之间的结合测定。通过本领域中已知的方法以His-标签标记的分子的形式产生可溶性人Fcγ RIIb(NCBI登记号NM_004001.3)。通过胺偶联方法使用His捕获试剂盒(GE Healthcare)将适量的抗-His抗体固定在传感芯片CM5(GE Healthcare)以捕获人Fcγ RIIb。接着，注射抗体-抗原复合物和运行缓冲液(作为参照溶液)，并且使得与捕获在传感芯片上的人Fcγ RIIb发生相互作用。20mM N-(2-乙酰胺基)-2-

氨基乙磺酸,150mM NaCl,1.2mM $CaCl_2$,和0.05％(w/v)吐温20(pH 7.4)用作运行缓冲液,并且各个缓冲液也用于稀释可溶性人Fcγ RIIb。为了再生传感芯片,使用10mM pH 1.5甘氨酸-HCl。所有测量在25℃进行。基于通过测量获得的传感图计算的结合(RU)进行分析,并且显示当Ab1H/Ab1L(最初Ab1)的结合量定义为1.00时的相对值。为了计算参数,使用BIACORE T100评价软件(GE Healthcare)。

[1502] SPR分析结果总结在表32和33中。显示一些变体具有增强的对固定在BIACORE传感芯片上的人Fcγ RIIb的结合。

[1503] 通过将一个或多个提高pI的修饰引入可变区产生的抗体是与引入修饰前的那些相比可变区的电荷带更多正电的抗体。因此,可以认为可变区(正电荷)和传感芯片表面(负电荷)之间的库仑相互作用通过提高pI的氨基酸修饰而加强。此外,预期该效果在相同的带负电的细胞膜表面类似地发生;因此,还预期它们显示加速体内摄入细胞的速度的效果。

[1504] 本文中,认为与最初Ab1对hFcγ RIIb的结合相比,变体约1.2倍或更多的对hFcγ RIIb的结合是关于抗体对传感芯片上的hFcγ RIIb的结合具有强的电荷效应。

[1505] 在pI-提高的重链变体中,单独或组合具有Q13K,G15R,S64K,T77R,D82aN,D82aG,D82aS,S82bR,E85G或Q105R置换(根据Kabat编号)的抗体,显示更高的对hFcγ RIIb的结合。推测重链中单个氨基酸置换或这些置换的组合关于对传感芯片上hFcγ RIIb的结合具有强的电荷效应。因此,通过将提高pI的修饰引入抗体的重链可变区而预期显示加速体内摄入细胞的速度或速率的效果的一个或多个位置可以包括,例如,根据Kabat编号位置13,15,64,77,82a,82b,85和105。引入所述位置的氨基酸置换可以是天冬酰胺,甘氨酸,丝氨酸,精氨酸或赖氨酸,并且优选精氨酸或赖氨酸。

[1506] 在pI-提高的轻链变体中,单独或组合具有G16K,Q24R,A25R,S26R,E27R,Q37R,G41R,Q42K,S52K,S52R,S56K,S56R,S65R,T69R,T74K,S76R,S77R,Q79K置换(根据Kabat编号)的抗体显示更高的对人Fcγ RIIb的结合。推测轻链中这些置换中的单个氨基酸置换或组合对传感芯片上人Fcγ RIIb的结合具有强的电荷效应。因此,通过将提高pI的修饰引入抗体的轻链可变区而预期显示加速体内摄入细胞的速度或速率的效果的一个或多个位置可以包括,例如,根据Kabat编号位置16,24,25,26,27,37,41,42,52,56,65,69,74,76,77,和79。引入所述位置的氨基酸置换可以是精氨酸或赖氨酸。

[1507] (21-3)含有pI-提高的Fab区变体的抗体的细胞摄取

[1508] 为了使用产生的含有Fab区变体的抗体评价细胞内摄入表达hFcγ RIIb的细胞系的速率,进行与上述(4-5)类似的测定,条件是摄入的抗原量以取为1.00的Ab1H/Ab1L(最初Ab1)值的相对值提供。

[1509] 细胞摄取的定量结果总结在表32和33中。在多种Fc变体中观察到源自细胞中的抗原的强的荧光。本文中,与最初Ab1的荧光强度相比,摄入变体的细胞的抗原的约1.5倍或更多的荧光强度被认为对摄入细胞中的抗原有强的电荷效应。

[1510] 在pI-提高的重链变体中,单独或组合具有P41R,G44R,T77R,D82aN,D82aG,D82aS,S82bR或E85G置换(根据Kabat编号)的抗体显示更强的细胞内抗原摄取。推测重链中这些置换的单个氨基酸置换或组合对细胞内抗原抗体复合物摄入具有强的电荷效应。因此,通过将提高pI的修饰引入抗体的重链可变区而预期引起抗原-抗体复合物更快速或更高频率地摄入细胞的一个或多个位置可以包括,例如,根据Kabat编号位置41,44,77,82a,82b或85。

引入所述位置的氨基酸置换可以是天冬酰胺,甘氨酸,丝氨酸,精氨酸或赖氨酸,并且优选精氨酸或赖氨酸。

[1511] 在pI-提高的轻链变体中,单独或组合具有G16K,Q24R,A25R,A25K,S26R,S26K,E27R,E27Q,E27K,Q37R,G41R,Q42K,S52K,S52R,S56R,S65R,T69R,T74K,S76R,S77R或Q79K置换(根据Kabat编号)的抗体显示更强的细胞内抗原摄取。推测轻链中这些置换的单个氨基酸置换或组合对细胞内抗原抗体复合物摄入具有强的电荷效应。具有四个或更多个氨基酸置换的变体倾向于比具有更少氨基酸置换的那些变体显示更强的电荷效应。通过将提高pI的修饰引入抗体的轻链可变区而预期引起抗原-抗体复合物更快速或更高频率地摄入细胞的一个或多个位置可以包括,例如,根据Kabat编号位置16,24,25,26,27,37,41,42,52,56,65,69,74,76,77或79。引入所述位置的氨基酸置换可以是谷氨酰胺,精氨酸或赖氨酸,并且优选精氨酸或赖氨酸。

[1512] 不限于特定理论,该结果可以解释如下:加入细胞培养溶液的抗原和抗体在培养溶液中形成抗原-抗体复合物。抗原-抗体复合物经由抗体Fc区结合表达在细胞膜上的人FcγRIIb,并且以受体-依赖性的方式摄入细胞中。用于该实验的抗体以pH-依赖性的方式结合抗原;因此,抗体可以在细胞内的内体(酸性pH条件)中与抗原解离。因为解离的抗原被转运到溶酶体并积累,其在细胞内发荧光。因此,认为细胞内强的荧光强度表示抗原-抗体复合物摄入细胞更快或更高频率地发生。

[1513] (21-4)在小鼠共注射模型中评价人IgE的清除

[1514] 在小鼠共注射模型中测试一些具有pH-依赖性抗原结合的抗-IgE抗体(最初Ab1,Ab1H/Ab1L013,Ab1H/Ab1L014,Ab1H/Ab1L007)以评价它们加速从血浆清除IgE的能力。在共注射模型中,C57BL6J小鼠(Jackson Laboratories)通过用与抗-IgE抗体预混和的IgE单次静脉内注射分别施用。所有组接受0.2mg/kg IgE连同1.0mg/kg的抗-IgE抗体。通过抗-IgE ELISA确定总IgE血浆浓度。首先,将抗-人IgE(克隆107,MABTECH)分散在微孔板(Nalge nunc International)中,并且在室温静置两小时或在4℃过夜,以制备固定有抗-人IgE抗体的平板。将标准曲线样品和样品与过量的抗-IgE抗体(内部制备)混合,形成免疫复合物的均匀结构。将这些样品加入固定有抗-人IgE抗体的平板中,并且在4℃放置过夜。然后,将这些样品与人GPC3核蛋白(内部制备),生物素化抗-GPC3抗体(内部制备),链霉亲和素Poly HRP80缀合物(Stereospecific Detection Technologies)按顺序反应一小时。之后,加入SuperSignal(注册商标)ELISA Pico化学发光底物(Thermo Fisher Scientific)。用SpectraMax M2(Molecular Devices)读取化学发光。使用SOFTmax PRO(Molecular Devices)计算人IgE的浓度。图37描述IgE在C57BL6J小鼠中的血浆浓度时间曲线。

[1515] 在施用具有pH-依赖性抗原结合的pI-提高的Fab变体后,血浆总IgE浓度低于最初Ab1的那个。这些结果表明,具有pH-依赖性抗原结合的高pI变体的抗原-抗体免疫复合物能够更强地结合胞质膜受体如FcγRs,其增加抗原-抗体免疫复合物的细胞摄取。摄入细胞的抗原能够有效从内体内的抗体释放,造成IgE去除加速。用Ab1H/Ab1L007(其在体外研究中显示弱的功效)处理的小鼠的IgE浓度比其他含有pI-提高的Fab变体的抗体更高。这些结果还提示,为了推测体内抗原从血浆清除的评价,使用通过上述InCell Analyzer 6000的荧光强度的体外系统的灵敏度可以比上述体外BIACORE系统更高。

[1516] 实施例22

[1517] 使用pI-提高的Fab变体从血浆清除C5的评价

[1518] 为了增强人IgE的清除，在该实施例中使用pH-依赖性抗原结合抗体评价抗体的Fab部分中提高pI的置换。

[1519] (22-1)C5的制备[重组人C5的表达和纯化]

[1520] 使用FreeStyle293-F细胞系(Thermo Fisher,Carlsbad,CA,USA)瞬时表达重组人C5(NCBI GenBank登记号:NP_001726.2,SEQ ID NO:207)。将表达人C5的条件培养基用等体积的milliQ水稀释，然后施加于Q-琼脂糖凝胶FF或Q-琼脂糖凝胶HP阴离子交换柱(GE healthcare,Uppsala,Sweden)上，接着用NaCl梯度洗脱。汇集含有人C5的级分，然后将盐浓度和pH分别调节至80mM NaCl和pH6.4。将得到的样品施加于SP-琼脂糖凝胶HP阳离子交换柱(GE healthcare,Uppsala,Sweden)并且用NaCl梯度洗脱。汇集含有人C5的级分并且进行CHT陶瓷羟基磷灰石柱(Bio-Rad Laboratories,Hercules,CA,USA)。然后将人C5洗脱物施加于Superdex 200凝胶过滤柱(GE healthcare,Uppsala,Sweden)。汇集含有人C5的级分并储存在-150℃。将内部制备的重组人C5或血浆来源的人C5(CALBIOCHEM,Cat#204888)用于研究。

[1521] 重组食蟹猴C5(NCBI GenBank登记号:XP_005580972,SEQ ID NO:208)的表达和纯化以与人对等物完全相同的方式进行。

[1522] (22-2)合成的钙文库的制备

[1523] 用作合成的人重链文库的抗体重链可变区的基因文库由10个重链文库组成。基于人B-细胞组库(repertoires)中的种系频率和V-基因家族的生物物理性质，为该文库选择种系框架区VH1-2,VH1-69,VH3-23,VH3-66,VH3-72,VH4-59,VH4-61,VH4-b,VH5-51,和VH6-1。模拟人B细胞抗体组库，合成的人重链文库在抗体-结合位点多样化。

[1524] 抗体轻链可变区的基因文库设计为具有钙结合基序并且参考人B细胞抗体组库，在会促进抗原识别的位置多样化。对抗原的钙-依赖性结合产生特性的抗体轻链可变区的基因文库的设计在WO 2012/073992中描述。

[1525] 将重链可变区文库和轻链可变区文库的组合插入噬菌粒载体，并且参考(de Heard等人,Meth.Mol.Biol.178:87-100(2002))构建噬菌体文库。在Fab和pIII蛋白之间的接头区将胰蛋白酶-切割位点引入噬菌粒载体。在基因III的N2和CT结构域之间具有胰蛋白酶切割位点的改进的M13KO7辅助噬菌体用于Fab展示的噬菌体制备。

[1526] (22-3)钙依赖性抗-C5抗体的分离

[1527] 将噬菌体展示文库用补充有终浓度分别为4％和1.2mM的BSA和$CaCl_2$的TBS稀释。作为淘选方法，参考一般方案(Junutula等人,J.Immunol.Methods 332(1-2):41-52(2008),D'Mello等人,J.Immunol.Methods 247(1-2):191-203(2001),Yeung等人,Biotechnol.Prog.18(2):212-220(2002),Jensen等人,Mol.Cell Proteomics 2(2):61-69(2003)，应用常规磁珠选择。作为磁珠，应用NeutrAvidin包被的珠子(Sera-Mag SpeedBeads NeutrAvidin-包被)或链霉亲和素包被的珠子(Dynabeads M-280链霉亲和素)。人C5(CALBIOCHEM,Cat#204888)用EZ-Link NHS-PEG4-Biotin(PIERCE,Cat No.21329)标记。

[1528] 初轮的噬菌体选择，将噬菌体展示文库与生物素化的人C5(312.5nM)在室温孵育60分钟。然后使用磁珠捕获展示结合Fab变体的噬菌体。

[1529] 与珠子在室温孵育15分钟后，将珠子用1mL含有1.2mM $CaCl_2$和0.1％吐温20的TBS洗涤三次，并且将珠子用1mL含有1.2mM $CaCl_2$的TBS洗涤两次。通过用含有1mg/mL胰蛋白酶的TBS重悬珠子15分钟，洗脱噬菌体。将洗脱的噬菌体用ER2738感染并且通过辅助噬菌体拯救。将拯救的噬菌体用聚乙二醇沉淀，用补充有终浓度分别为4％和1.2mM的BSA和$CaCl_2$的TBS重悬，并且用于下一轮淘选。

[1530] 在第一轮筛选后，针对其钙依赖性选择噬菌体，其中在钙离子的存在下抗体更强地结合C5。在第二和第三轮，以与第一轮相同的方式进行淘选，不同之处在于使用50nM(第二轮)或12.5nM(第三轮)的生物素化的抗原并且最终用0.1mL的洗脱缓冲液(50mM MES，2mM EDTA，150mM NaCl，pH5.5)洗脱并且与1μL的100mg/mL胰蛋白酶接触，以针对其钙依赖性进行选择。选择后，将选择的噬菌体克隆转变为IgG形式。

[1531] 在30℃使用Octet RED384系统(Pall Life Sciences)，在两个不同条件下评估转变的IgG抗体对人C5的结合能力：在1.2mM $CaCl_2$-pH 7.4(20mM MES，150mM NaCl，1.2mM $CaCl_2$)的结合和解离以及在1.2mM $CaCl_2$-pH 7.4(20mM MES，150mM NaCl，1.2mM $CaCl_2$)的结合和在3μM $CaCl_2$-pH 5.8(20mM MES，150mM NaCl，3μM $CaCl_2$)的解离。分离pH-钙依赖性抗原结合的克隆中的25个克隆。这些抗体的传感图在图38中显示。

[1532] (22-4)抗-C5双特异性抗体的鉴定

[1533] 从实施例B-3中分离的克隆中，选择九个pH或钙依赖性抗-C5抗体克隆用于进一步分析(CFP0008，0011，0015，0016，0017，0018，0019，0020，0021)。通过本领域普通技术人员通常已知的方法将一些氨基酸置换引入CFP0016重链可变区以改善抗体的性质如物理化学性质。该CFP0016变体，CFP0016H019，替代CFP0016用于进一步分析。这九个抗体的VH和VL区的氨基酸序列在表34中描述。在该表中，括号中描述的名称表示缩写的名称。

[1534] [表34]

[1535] 选择的抗体的克隆名称和氨基酸序列

[1536]

克隆名称	VH 名称	VH SEQ ID	VL 名称	VL SEQ ID
CFP0008 (08)	CFP0008H (08H)	NO: 209	CFP0008L (08L)	NO: 210
CFP0011 (11)	CFP0011H (11H)	NO: 211	CFP0011L (11L)	NO: 212
CFP0015 (15)	CFP0015H (15H)	NO: 213	CFP0015L (15L)	NO: 214
CFP0016H019 (16H019)	CFP0016H019 (16H019)	NO: 215	CFP0016L (16L)	NO: 216
CFP0017 (17)	CFP0017H (17H)	NO: 217	CFP0017L (17L)	NO: 218
CFP0018 (18)	CFP0018H (18H)	NO: 219	CFP0018L (18L)	NO: 220
CFP0019 (19)	CFP0019H (19H)	NO: 221	CFP0019L (19L)	NO: 222
CFP0020 (20)	CFP0020H (20H)	NO: 223	CFP0020L (20L)	NO: 224
CFP0021 (21)	CFP0021H (21H)	NO: 225	CFP0021L (21L)	NO: 226

[1537] 通过本领域普通技术人员通常已知的方法合成和制备具有编码抗体重链和轻链的核苷酸序列的全长基因。通过将获得的质粒片段插入用于在哺乳动物细胞中表达的载体来制备重链和轻链表达载体。通过本领域普通技术人员通常已知的方法将获得的表达载体测序。为了表达抗体，将制备的质粒瞬时转染入FreeStyle293-F细胞系(Thermo Fisher Scientific)。通过本领域普通技术人员通常已知的方法，使用rProtein A琼脂糖凝胶Fast Flow(GE Healthcare)，进行从表达抗体的条件培养基的纯化。

[1538] (22-5)pH依赖性抗-C5双特异性抗体的产生和表征

[1539] 通过组合CFP0020和CFP0018产生双特异性抗体(其识别C5的两个不同表位)。以IgG形式制备双特异性抗体(其在抗体的每个结合位点中具有两个不同Fab克隆)并且使用本领域普通技术人员通常已知的方法制备。在该双特异性IgG抗体中,两条重链包含彼此不同的重链恒定区(G1dP1,SEQ ID NO:227和G1dN1,SEQ ID NO:228),从而有效形成两条重链的异源二聚体。包含抗-C5 MAb"X"和抗-C5 MAb"Y"的结合位点的抗-C5双特异性抗体表示为"X//Y"。

[1540] 通过本领域技术普通人员通常已知的方法将一些氨基酸置换引入重链和轻链CDR,我们获得20//18的轻链共有变体,其命名为'优化的20//18'(由两条重链:CFP0020H0261-G1dP1,SEQ ID NO:229和CFP0018H0012-G1dN1,SEQ ID NO:230和共有轻链:CFP0020L233-k0,SEQ ID NO:231组成)。

[1541] 在两个不同条件(例如(A)在pH 7.4结合和解离以及(B)在pH 7.4结合和在pH 5.8解离),在37℃使用BIACORE T200仪器(GE Healthcare)评估优化的20//18对重组人C5的动力学参数。通过胺偶联方法将蛋白A/G(Pierce,目录号#21186)或抗-人IgG(Fc)抗体(人抗体捕获试剂盒内;GE Healthcare,Cat No.BR-1008-39)固定在系列S CM4(GE Healthcare,Cat No.BR-1005-34)上。将抗-C5抗体捕获在固定化的分子上,并且随后注射人C5。使用的运行缓冲液是ACES pH 7.4和pH 5.8(20mM ACES,150mM NaCl,1.2mM $CaCl_2$,0.05%吐温20)。通过使用BIACORE T200评价软件,2.0版(GE Healthcare),将传感图与1:1结合-RI(没有体效应(bulk effect)调整)模型匹配来确定在两个pH条件下的动力学参数。通过仅计算在每个pH条件下的解离相确定的在pH 7.4下的动力学参数,结合速率(ka),解离速率(kd),和结合亲和力(KD),以及解离速率(kd)在表35中描述。优化的20//18显示与在pH 7.4的解离速率相比在pH 5.8的针对人C5的更快的解离。

[1542] [表35]

[1543] 在两个不同条件下20//18变体针对人C5的动力学参数

[1544]

	pH 7.4			pH 7.4	pH 5.8
	ka	kd	KD	kd(仅解离)	
优化的 20//18	3.17E+05	1.87E-04	5.89E-10	1.36E-04	4.84E-02

[1545] (22-6)通过修饰可变区中的氨基酸产生具有提高的pI的抗体

[1546] 测试的抗体在表36和37中总结。

[1547] 通过将提高pI的置换P41R/G44R引入CFP0020H0261-G1dP1(SEQ ID NO:229)制备重链,CFP0020H0261-001-G1dP1(也称为20H001,SEQ ID NO:232)。类似地,通过将提高pI的置换T77R/E85R引入CFP0018H0012-G1dN1(SEQ ID NO:230)制备重链,CFP0018H0012-002-G1dN1(也称为18H002,SEQ ID NO:251)。也根据参照实施例1中所示的方法将表36中所示的各个置换分别引入CFP0020H0261-G1dP1和CFP0018H0012-G1dN1,制备其他重链变体。CFP0020H0261-G1dP1变体和CFP0018H0012-G1dN1变体两者的重链变体与作为轻链的CFP0020L233-k0(SEQ ID NO:231)一起表达,获得双特异性抗体。

[1548] 类似地,我们还评价轻链中提高pI的置换。将提高pI的置换G16K引入CFP0020L233-k0来制备轻链,CFP0020L233-001-k0(也称为20L233-001,SEQ ID NO:271)。还根据参照实施例1中所示的方法将表37中表示的各个置换引入CFP0020L233-k0,制备其他轻链变体。将所有轻链变体与作为重链的CFP0020H0261-G1dP1和CFP0018H0012-G1dN1一

起表达,获得双特异性抗体。

[1549] [表36]

[1550] 该实施例中评价的CFP0020H0261-001-G1dP1和CFP0018H0012-001-G1dN1的重链变体

[1551]

样品名称（重链 1/重链 2/轻链）	变体	突变（重链 1）	突变（重链 2）	成像倍数	BIACORE 倍数
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-k0	初始 Ab2			1.00	1.00
CFP0020H0261-001-G1dP1 /CFP0018H0012-002-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H001/ 18H002	P41R/G44R	T77R/E85G	2.27	0.91
CFP0020H0261-002-G1dP1 /CFP0018H0012-002-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H002/ 18H002	Q77R/A85R	T77R/E85G	2.46	1.09
CFP0020H0261-003-G1dP1 /CFP0018H0012-003-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H003/ 18H003	L18R	G8R	1.69	0.97
CFP0020H0261-005-G1dP1 /CFP0018H0012-005-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H005/ 18H005	S15R	G15R	1.36	0.96
CFP0020H0261-008-G1dP1 /CFP0018H0012-008-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H008/ 18H008	G32R	Y32R	0.00	0.20
CFP0020H0261-009-G1dP1 /CFP0018H0012-009-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H009/ 18H009	Q39K	Q39K	1.45	1.01
CFP0020H0261-013-G1dP1 /CFP0018H0012-013-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H013/ 18H013	L63R	F63R	2.64	1.52
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-014-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H/ 18H014	-	Q64K	0.86	0.80
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-016-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H/ 18H016	-	F63R/Q64K	1.90	1.08
CFP0020H0261-018-G1dP1 /CFP0018H0012-018-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H018/ 18H018	Q77R	T77R	2.80	0.96

[1552]

CFP0020H0261-019-G1dP1 /CFP0018H0012-019-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H019/ 18H019	L82K	L82K	2.47	1.61
CFP0020H0261-020-G1dP1 /CFP0018H0012-020-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H020/ 18H020	S82aN/S82bR	S82aN/S82bR	1.45	0.93
CFP0020H0261-021-G1dP1 /CFP0018H0012-021-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H021/ 18H021	S82aG/S82bR	S82aG/S82bR	0.74	0.85
CFP0020H0261-022-G1dP1 /CFP0018H0012-022-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H022/ 18H022	S82bR	S82bR	1.25	0.86
CFP0020H0261-023-G1dP1 /CFP0018H0012-023-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H023/ 18H023	V82cR	L82cR	0.58	0.52
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-024-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H/ 18H024	-	E85G	0.99	0.72
CFP0020H0261-025-G1dP1 /CFP0018H0012-025-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H025/ 18H025	D86G	D86G	0.68	0.76
CFP0020H0261-026-G1dP1 /CFP0018H0012-026-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H026/ 18H026	A93K	A93K	0.01	0.23
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-027-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H/ 18H027	-	Q105R	1.22	0.79
CFP0020H0261-032-G1dP1 /CFP0018H0012-032-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H032/ 18H032	L82K/S82bR	L82K/S82bR	1.47	2.25
CFP0020H0261-035-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H035/ 18H	S82bR/T83R	-	1.03	1.15
CFP0020H0261-036-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H036/ 18H	T83R	-	2.02	1.05
CFP0020H0261-037-G1dP1 /CFP0018H0012-037-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H037/ 18H037	V71R/A85G	A71R/E85G	0.34	0.49

[1553] [表37]

[1554] 该实施例中评价的CFP0020L233的轻链变体

[1555]

样品名称	变体	突变	成像倍数	BIACORE 倍数
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-k0	初始 Ab2		1.00	1.00
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-001-k0	20L233-001	G16K	2.20	1.59
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1	20L233-002	Q27R	1.08	0.92

[1556]

/CFP0020L233-002-k0				
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-003-k0	20L233-003	A25R/S26R	0.38	0.32
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-004-k0	20L233-004	S52K/S56K	1.24	0.75
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-005-k0	20L233-005	T74K/S77R	3.32	1.83
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-006-k0	20L233-006	S76R/Q79K	4.85	1.89
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-007-k0	20L233-007	Q27K	1.18	0.95
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-008-k0	20L233-008	A25K/S26K	0.29	0.29
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-009-k0	20L233-009	Q37R	0.99	0.78
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-010-k0	20L233-010	G41R	1.77	1.01
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-011-k0	20L233-011	L46R/Y49K	0.00	0.14
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-012-k0	20L233-012	S52R/S56R	1.02	0.68
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-013-k0	20L233-013	S65R/T69R	1.24	无数据
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-016-k0	20L233-016	G41R/T74K/S77R	6.58	1.96
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-017-k0	20L233-017	L46R/Y49K/T74K/S77R	0.00	0.18
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-018-k0	20L233-018	S52R/S56R/T74K/S77R	46.97	1.43
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-019-k0	20L233-019	S65R/T69R/T74K/S77R	53.25	7.72
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-021-k0	20L233-021	Q27R/S76R/Q79K	20.90	1.77
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-022-k0	20L233-022	G41R/S76R/Q79K	27.3	2.04

[1557]

CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-023-k0	20L233-023	L46R/Y49K/S76R/Q79K	0.2	0.18
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-024-k0	20L233-024	S52R/S56R/S76R/Q79K	114.7	2.16
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-025-k0	20L233-025	S65R/T69R/S76R/Q79K	75.6	3.18
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-027-k0	20L233-027	Q27R/G41R/T74K/S77R	4.1	2.24
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-028-k0	20L233-028	G41R/S52R/S56R/T74K/S77R	18.1	1.94
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-029-k0	20L233-029	G41R/S65R/T69R/T74K/S77R	28.8	9.63
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-031-k0	20L233-031	Q27R/S52R/S56R/T74K/S77R	21.0	1.78
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-032-k0	20L233-032	S52R/S56R/S65R/T69R/T74K/S77R	64.1	11.09
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-034-k0	20L233-034	Q27R/S65R/T69R/T74K/S77R	30.5	8.61
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-036-k0	20L233-036	Q27R/G41R/S76R/Q79K	14.5	2.45
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-037-k0	20L233-037	G41R/S52R/S56R/S76R/Q79K	53.0	2.43
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-038-k0	20L233-038	G41R/S65R/T69R/S76R/Q79K	45.9	4.24
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-040-k0	20L233-040	Q27R/S52R/S56R/S76R/Q79K	61.6	2.32
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-041-k0	20L233-041	S52R/S56R/S65R/T69R/S76R/Q79K	96.2	5.28
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-043-k0	20L233-043	Q27R/S65R/T69R/S76R/Q79K	49.3	3.51
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-044-k0	20L233-044	S76R	1.61	1.25
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-045-k0	20L233-045	S65R/Q79K	3.66	1.46

[1558] (22-7)使用pI-提高的变体通过BIACORE测定人Fcγ RIIb-结合

[1559] 关于产生的含有Fc区变体的抗体,使用BIACORE T200(GE Healthcare)进行可溶性hFcγ RIIb和抗原-抗体复合物之间的结合测定。通过本领域中已知的方法以His-标签标记的分子的形式产生可溶性hFcγ RIIb。使用His捕获试剂盒(GE Healthcare),通过胺偶联方法将适量的抗-His抗体固定在传感芯片CM5(GE Healthcare)以捕获hFcγ RIIb。接着,注射抗体-抗原复合物和运行缓冲液(作为参照溶液),并且与捕获在传感芯片上的hFcγ RIIb

发生相互作用。将20mM N-(2-乙酰胺基)-2-氨基乙磺酸,150mM NaCl,1.2mM $CaCl_2$,和0.05%(w/v)吐温20(pH 7.4)用作运行缓冲液,并且各个缓冲液还用于稀释可溶性hFcγRIIb。为了再生传感芯片,使用10mM pH 1.5甘氨酸-HCl。所有测量在25℃进行。基于通过测量获得的传感图计算的结合(RU)进行分析,并且显示当CFP0020H0261-G1dP1/CFP0018H0012-G1dN1/CFP0020L233-k0(初始Ab2)的结合量定义为1.00时的相对值。为了计算参数,使用BIACORE T100评价软件(GE Healthcare)。

[1560] SPR分析结果在表36和37中总结。显示一些变体对固定在BIACORE传感芯片上的hFcγRIIb具有增强的结合。本文中,与初始Ab2对hFcγRIIb的结合相比,变体对hFcγRIIb的约1.2倍或更多倍的结合被认为对抗体对传感芯片上hFcγRIIb的结合具有强的电荷效应。

[1561] 在pI-提高的重链变体中,具有L63R,F63R,L82K或S82bR置换(根据Kabat编号)的抗体显示更高对hFcγRIIb的结合。推测重链中单个氨基酸置换或这些置换的组合对于传感芯片上hFcγRIIb的结合具有强的电荷效应。因此,预期通过将提高pI的修饰引入抗体的重链可变区而显示加速体内摄入细胞的速度或速率的效果的位置的一个或多个可以包括,例如,根据Kabat编号位置63,82或82b。引入该一个或多个位置的氨基酸置换可以是精氨酸或赖氨酸。

[1562] 在pI-提高的轻链变体中,具有G16K,Q27R,G41R,S52R,S56R,S65R,T69R,T74K,S76R,S77R或Q79K置换(根据Kabat编号)的抗体显示更高的对hFcγRIIb的结合。推测轻链中单个氨基酸置换或这些置换的组合对传感芯片上人FcγRIIb的结合具有强的电荷效应。因此,预期通过将提高pI的修饰引入抗体的轻链可变区而显示加速体内摄入细胞的速度或速率的效果的位置的一个或多个可以包括,例如,根据Kabat编号位置16,27,41,52,56,65,69,74,76,77或79。引入该一个或多个位置的氨基酸置换可以是精氨酸或赖氨酸。具有四个或更多个氨基酸置换的变体倾向于比具有较少氨基酸置换的那些变体显示更强的电荷效应。

[1563] (22-8)含有pI-提高的Fab区变体的抗体的细胞摄取

[1564] 为了使用产生的含有Fab区变体的抗体评价细胞内摄入表达hFcγRIIb的细胞系的速率,进行以下测定。

[1565] 通过已知方法产生组成型表达hFcγRIIb的MDCK(Madin-Darby犬肾)细胞系。使用这些细胞,评价抗原-抗体复合物的细胞内摄取。具体而言,根据已建立的方案将Alexa555(Life Technlogies)用于标记人C5,并且在抗体浓度为10mg/mL并且抗原浓度为10mg/mL的培养溶液中形成抗原-抗体复合物。将含有抗原-抗体复合物的培养溶液加入至上述组成型表达hFcγRIIb的MDCK细胞的培养板中并孵育一小时,并且随后使用InCell Analyzer 6000(GE healthcare)定量摄入细胞中的抗原的荧光强度。以与取为1.00的初始Ab2值的相对值提供摄入抗原的量。

[1566] 细胞摄取的定量结果在表36和37中总结。在数个重链和轻链变体中观察到源自细胞中的抗原的强荧光。本文中,与初始Ab2的荧光强度相比,变体的细胞中摄入的抗原的约1.5倍或更多倍的荧光强度被认为对细胞中摄入的抗原具有强烈的电荷效应。

[1567] 在pI-提高的重链变体中,具有G8R,L18R,Q39K,P41R,G44R,L63R,F63R,Q64K,Q77R,T77R,L82K,S82aN,S82bR,T83R,A85R或E85G置换(根据Kabat编号)的抗体显示更强的

细胞内抗原摄取。推测重链中的单个氨基酸置换或这些置换的组合对细胞内抗原抗体复合物摄取具有强的电荷效应。因此，预期通过将提高pI的修饰引入抗体的重链可变区从而更快速或更高频率地引起抗原-抗体复合物摄入细胞中的一个或多个位置可以包括，例如，根据Kabat编号位置8,18,39,41,44,63,64,77,82,82a,82b,83,或85。引入所述一个或多个位置的氨基酸置换可以是天冬酰胺，甘氨酸，丝氨酸，精氨酸或赖氨酸，并且优选精氨酸或赖氨酸。

[1568] 在pI-提高的轻链变体中，具有G16K,Q27R,S27R,G41R,S52R,S56R,S65R,T69R,T74K,S76R,S77R或Q79K置换(根据Kabat编号)的抗体显示更强的细胞内抗原摄取。推测轻链中单个氨基酸置换或这些置换的组合对细胞内抗原抗体复合物摄取具有强的电荷效应。具有四个或更多个氨基酸置换的变体倾向于显示比具有更少氨基酸置换的那些变体更强的电荷效应。如实施例21，(21-3)中所示，42K和76R置换的组合在IgE抗体中有效。然而，在C5抗体的情形中，Kabat编号42的氨基酸已经是赖氨酸，因此我们可以通过简单置换76R来观察42K/76R的电荷效应。具有76R置换的变体在C5抗体中也显示强的电荷效应的事实显示42K/76R的组合具有强的电荷效应，而与抗原无关。因此，预期通过将提高pI的修饰引入抗体的轻链可变区从而更快速或更高频率地引起抗原-抗体复合物摄入细胞中的一个或多个位置可以包括，例如，根据Kabat编号位置16,27,41,52,56,65,69,74,76,77或79。引入所述一个或多个位置的氨基酸置换可以是精氨酸或赖氨酸。

[1569] (22-9)小鼠共注射模型中清除C5的评价

[1570] 在小鼠共注射模型中测试一些抗-C5双特异性抗体(初始Ab2，20L233-005，20L233-006和20L233-009)以评价它们加速从血浆中清除C5的能力。在共注射模型中，分别通过单次静脉内注射与抗-C5双特异性抗体预混合的C5，施用给C57BL6J小鼠(Jackson Laboratories)。所有组接受0.1mg/kg C5连同1.0mg/kg的抗-C5双特异性抗体。总C5血浆浓度通过抗-C5 ECLIA确定。首先，将抗-人C5小鼠IgG分散到ECL板中，并在5℃放置过夜以制备固定有抗-人C5小鼠IgG的板。将用于标准曲线的样品和样品与抗-人C5兔IgG混合。将这些样品加入到固定有抗-人C5小鼠IgG的板中，并且在室温放置一小时。然后，将这些样品与HRP-缀合的抗-兔IgG(Jackson Immuno Research)反应。将板在室温孵育一小时后，加入sulfo-标签缀合的抗-HR抗体。用Sector成像仪2400(Meso Scale discovery)读取ECL信号。从ECL信号，在标准曲线中，使用SOFTmax PRO(Molecular Devices)计算人C5的浓度。图39描述C57BL6J小鼠中的C5血浆浓度时间曲线。

[1571] 与初始Ab2相比，本研究中测试的所有具有一个或多个提高pI的置换的双特异性抗体表明从血浆中快速清除C5。因此，提示轻链中T74K/S77R,S76R/Q79K和Q37R的氨基酸置换加速体内C5-抗体免疫复合物的去除。此外，20L233-005和20L233-006的C5去除比20L233-009快，这与体外成像和BIACORE分析一致。这些结果提示，甚至似乎不可能促进体内抗原从血浆清除的一个或多个位置(在通过上述InCell Analyzer 6000使用荧光强度的体外系统或体外BIACORE系统下检查)，通过使用更灵敏的体内系统可以发现对其有促进。这些结果还提示，对于推测体内从血浆清除抗原的评价，通过上述InCell Analyzer 6000使用荧光强度的体外系统的灵敏度可以比上述体外BIACORE系统更高。

[1572] 实施例23

[1573] 使用pI-提高的Fc变体评价从血浆中清除IgE

[1574] 为了增强人IgE或人C5的清除，使用pH依赖性抗体评价抗体的Fc部分中的提高pI的置换。不特别限制向抗体恒定区添加氨基酸置换以提高pI的方法，但例如，其可以通过WO2014/145159中所述的方法进行。

[1575] (23-1)通过恒定区中的单个氨基酸修饰产生具有提高的pI的抗体

[1576] 测试的抗体在表38中概述。通过将提高pI的置换Q311K引入Ab1H来制备重链，Ab1H-P1394m(SEQ ID NO:307)。其他重链变体也通过根据参照实施例1中所示的方法将表38中所示的各个置换引入Ab1H来制备。所有重链变体与作为轻链的Ab1L一起表达。

[1577] [表38]

[1578]

			成像	BIACORE
样品名称（重链/轻链）	变体	突变	倍数	倍数
Ab1H/Ab1L	初始 IAb1	—	1.00	1.00
Ab1H-P1394m/Ab1L	P1394m	Q311K	1.31	1.18
Ab1H-P1398m/Ab1L	P1398m	D413K	3.45	1.23
Ab1H-P1466m/Ab1L	P1466m	Q311R	1.90	1.22
Ab1H-P1468m/Ab1L	P1468m	N315R	1.42	1.13
Ab1H-P1469m/Ab1L	P1469m	N315K	1.93	1.13
Ab1H-P1470m/Ab1L	P1470m	N384R	1.50	1.19
Ab1H-P1471m/Ab1L	P1471m	N384K	0.71	1.19
Ab1H-P1480m/Ab1L	P1480m	Q342R	1.08	1.03
Ab1H-P1481m/Ab1L	P1481m	Q342K	1.83	1.08
Ab1H-P1482m/Ab1L	P1482m	P343R	4.90	1.46
Ab1H-P1483m/Ab1L	P1483m	P343K	1.99	1.02
Ab1H-P1512m/Ab1L	P1512m	D401R	2.98	1.24
Ab1H-P1513m/Ab1L	P1513m	D401K	2.57	1.21
Ab1H-P1514m/Ab1L	P1514m	G402R	1.22	1.20
Ab1H-P1515m/Ab1L	P1515m	G402K	0.93	1.19
Ab1H-P1653m/Ab1L	P1653m	D413R	3.96	0.79

[1579] (23-2)通过BIACORE使用含有pI-提高的Fc区变体的抗体测定人FcγRIIb-结合

[1580] 为了评价对由使用表38中所述的抗体形成的抗原-抗体复合物的FcRγRIIb-结合的电荷效应，利用与实施例21，(21-2)中所述类似的方式进行FcRγRIIb-结合测定。测定结果显示在表38中。本文中，与初始Ab1对hFcγRIIb的结合相比约1.2倍或更多倍的变体对hFcγRIIb的结合被认为对抗体与传感芯片上的hFcγRIIb的结合具有强的电荷效应。

[1581] 在与初始Ab1相比具有单个氨基酸置换的pI-提高的变体中，由数个变体如P1398m，P1466m，P1482m，P1512m，P1513m，和P1514m产生的抗原-抗体复合物显示对hFcγRIIb的最高结合。推测关于D413K，Q311R，P343R，D401R，D401K，G402R，Q311K，N384R，N384K，或G402K的单个氨基酸置换对传感芯片上hFcγRIIb的结合具有强的电荷效应。因此，预期通过将提高pI的修饰引入抗体的恒定或Fc区而显示加速体内细胞内摄入的速度或速率的效果的单个位置可以包括，例如，根据EU编号位置311，343，384，401，402，或413。引入所述位置的氨基酸置换可以是精氨酸或赖氨酸。

[1582] (23-3)含有pI-提高的Fc区变体的抗体的细胞摄取

[1583] 为了评价由表38中所述的抗体形成的抗原-抗体复合物的细胞内摄取，以与实施例21，(21-3)中所述的类似的方式进行细胞成像测定。测定结果显示在表38中。本文中，与

初始Ab1的荧光强度相比约1.5倍或更多倍的变体的细胞中摄取的抗原的荧光强度被认为对细胞内摄入的抗原具有强的电荷效应。

[1584] 在与初始Ab1相比具有单个氨基酸置换的pI-提高的变体中，由数个变体如P1398m,P1466m,P1469m,P1470m,P1481m,P1482m,P1483m,P1512m,P1513m和P1653m产生的抗原-抗体复合物显示更强的细胞内抗原摄取。猜测关于D413K,Q311R,N315K,N384R,Q342K,P343R,P343K,D401R,D401K或D413R的单个氨基酸置换对细胞内的抗原抗体复合物摄取具有强的电荷效应。因此，预期通过将提高pI的修饰引入抗体的恒定或Fc区而引起抗原-抗体复合物更快或更高频率地摄入细胞的单个位置可以包括，例如，根据EU编号位置311,315,342,343,384,401,或413。在该位置引入的氨基酸置换可以是精氨酸或赖氨酸。

[1585] (23-4)评价小鼠共注射模型中人IgE的清除

[1586] 在小鼠共注射模型中测试一些具有pH-依赖性抗原结合的抗-IgE抗体(初始Ab1,P1466m,P1469m,P1470m,P1480m,P1482m,P1512m,P1653m)以评价它们加速从血浆中清除IgE的能力。测定以与实施例21,(21-4)相似的方式进行。图40描述C57BL6J小鼠中的血浆浓度时间曲线。

[1587] 在施用具有pH-依赖性抗原结合的高pI变体(仅单个氨基酸置换)后，血浆总IgE浓度低于初始Ab1的那个，除了P1480m以外。P1480m(显示在体外研究中弱的功效)不加速IgE的去除。此外，用没有pH-依赖性抗原结合的高pI变体处理的小鼠中的血浆总IgE浓度显著高于具有pH-依赖性抗原结合的高pI变体的那个(数据未显示)。这些结果表明，通过引入提高pI的修饰而增加抗原-抗体免疫复合物的细胞摄取。摄入细胞中与pH-依赖性抗原结合抗体复合的抗原在内体内部能够有效从抗体释放，导致IgE去除的加速。这些结果提示，甚至似乎不可能促进体内从血浆中清除抗原的置换的位置(在上述体外BIACORE系统下检查)，通过使用更灵敏的体内系统可以发现对其有促进。这些结果还提示，对于推测体内抗原从血浆的清除的评价，通过上述InCell Analyzer 6000使用荧光强度的体外系统的灵敏度可以高于上述体外BIACORE系统的灵敏度。

[1588] 参照实施例1

[1589] 氨基酸-置换的IgG抗体的表达载体的构建

[1590] 使用快速改变位点-定向诱变试剂盒(QuickChange Site-Directed Mutagenesis)(Stratagene)，通过所附说明书手册中描述的方法制备突变体。将含有突变体的质粒片段插入动物细胞表达载体中，构建所需H-链和L-链表达载体。通过本领域中已知的方法确定获得的表达载体的核苷酸序列。

[1591] 参照实施例2

[1592] IgG抗体的表达和纯化

[1593] 使用以下方法表达抗体。将人胚肾癌细胞-来源的HEK293H细胞系(Invitrogen)悬浮在补充有10％胎牛血清(Invitrogen)的DMEM培养基(Invitrogen)中。以5至6x10^5个细胞/mL的细胞密度将细胞以10mL/盘铺板在盘中用于粘附细胞(10em直径;CORNING)并在CO_2温箱(37℃,5％CO_2)中培养一天。然后，通过吸取去除培养基，并且加入6.9mL的CHO-S-SFM-II培养基(Invitrogen)。将制备的质粒通过脂转染方法引入细胞。收集得到的培养上清，离心(大约2,000g,5分钟，室温)去除细胞，并且通过经0.22-μm滤器MILLEX(注册商标)-GV(Millipore)过滤除菌，获得上清。通过本领域中已知的方法，使用rProtein A琼脂糖凝胶™

Fast Flow(Amersham Biosciences)从获得的培养上清中纯化抗体。为了确定纯化的抗体的浓度,使用分光光度计在280nm测量吸光度。从使用通过Pace等人,Protein Science 4:2411-2423(1995)中所述的方法计算的消光系数确定的值,计算抗体浓度。

[1594] 参照实施例3

[1595] 可溶性人IL-6受体的制备

[1596] 以下述方式制备重组可溶性人IL-6受体(其是抗原)。使用本领域中已知的方法构建如Mullberg等人,J.Immunol.152:4958-4968(1994)中所报道的组成型表达由N末端第1至357个氨基酸的氨基酸序列组成的可溶性人IL-6受体的CHO细胞系。通过培养该CHO系表达可溶性人IL-6受体。可溶性人IL-6受体从在以下两个步骤中获得的CHO系的培养上清中纯化:Blue Sepharose 6 FF柱色谱和凝胶过滤柱色谱。在最后的步骤中作为主峰洗脱的级分用作最终纯化的产物。

序列表

<110> 中外制药株式会社

<120> IL-8-结合抗体及其应用

<130> C1-A1502Y1P2

<150> JP 2015-185254
<151> 2015-09-18

<160> 332

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Vk1

<400> 1

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

[0001]

Leu Asn 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 Ser Tyr Ser Thr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 2
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Vk2

<400> 2

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 Asp 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 Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Val
85 90 95

Leu Arg Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Gln
100 105 110

<210> 3
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Vk3

[0002] <400> 3

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 Ala Ser Gln Ser Val Ser 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 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 Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 4
<211> 112
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> Vk4

<400> 4

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Glu Ser Leu Val Leu Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gly Thr Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Trp Ala Ser Ile Arg Asp Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Ala Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Asp Leu Gln Ala Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Arg Ala Pro Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile Lys
100 105 110

[0003]

<210> 5
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 6RL#9-IgG1

<400> 5

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val 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 Asp Pro Gly Gly Gly Glu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 6
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 6KC4-1#85-IgG1

<400> 6

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

[0004]

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Ala Pro Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Thr Asp Ala
100 105 110

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 7
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 钙结合结构域

<400> 7

Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Ala Phe Met Ser Ala Thr Pro Gly
1 5 10 15

Asp Lys Val Asn Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Asp
20 25 30

Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Glu Ala Ala Ile Phe Ile Ile
35 40 45

Gln Glu Ala Thr Thr Leu Val Pro Gly Ile Ser Pro Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Ile Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Tyr Tyr Phe Cys Leu Gln His Asp Asn Phe Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 8
<211> 115
<212> PRT
<213> 智人(Homo Sapian)

<400> 8

[0005]

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Leu Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 9
<211> 112

<212> PRT
<213> 智人

<400> 9

Asp Val 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 Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

[0006]

<210> 10
<211> 449
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Val Leu Ala Arg Ile Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

```
Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240
```

[0007]

```
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365
```

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 11
<211> 214
<212> PRT
<213> 智人

<400> 11

[0008]
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 Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly Asn Arg Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 12
<211> 433
<212> PRT
<213> 智人

<400> 12

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

[0009] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
115 120 125

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
130 135 140

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
145 150 155 160

```
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
                165                 170                 175

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
            180                 185                 190

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
        195                 200                 205

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
    210                 215                 220

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
225                 230                 235                 240

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
                245                 250                 255

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
            260                 265                 270

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
        275                 280                 285
```

[0010]

```
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
    290                 295                 300

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
305                 310                 315                 320

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
                325                 330                 335

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
            340                 345                 350

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
        355                 360                 365

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
    370                 375                 380

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
385                 390                 395                 400

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
                405                 410                 415
```

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
420 425 430

Lys

<210> 13
<211> 214
<212> PRT
<213> 智人

<400> 13

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 Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0011] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 14
<211> 445
<212> PRT
<213> 智人

<400> 14

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asn Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

[0012] Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

```
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225                 230                 235                 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
                245                 250                 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
            260                 265                 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
        275                 280                 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
    290                 295                 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305                 310                 315                 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
                325                 330                 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
            340                 345                 350
```

[0013]

```
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
        355                 360                 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
    370                 375                 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385                 390                 395                 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
                405                 410                 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
            420                 425                 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        435                 440                 445
```

<210> 15
<211> 219
<212> PRT
<213> 智人

<400> 15

```
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
```

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Arg Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

[0014]

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 16
<211> 447
<212> PRT
<213> 智人

<400> 16

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Ile Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Asp Gly Pro Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

[0015] Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys
210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

```
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
    290                 295                 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
            340                 345                 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
                405                 410                 415
```

[0016]

```
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        435                 440                 445
```

<210> 17
<211> 214
<212> PRT
<213> 智人

<400> 17

```
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 Glu Asn Ile Tyr Ser Phe
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Lys 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 His His Tyr Glu Ser 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

[0017] Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 18
<211> 330
<212> PRT
<213> 智人

<400> 18

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

[0018] Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 19
<211> 326

<212> PRT
<213> 智人

<400> 19

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110
```

[0019]

```
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
        195                 200                 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
```

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 20
<211> 377
<212> PRT
<213> 智人

<400> 20

[0020]

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro
100 105 110

Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg
115 120 125

Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys
130 135 140

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
145 150 155 160

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
165 170 175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
180 185 190

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
195 200 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
210 215 220

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225 230 235 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
245 250 255

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
260 265 270

[0021] Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 21
<211> 327
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
        115                 120                 125
```

[0022]

```
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
    130                 135                 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
                165                 170                 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
            180                 185                 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
        195                 200                 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
    210                 215                 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225                 230                 235                 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
```

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 22
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 22

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

[0023]

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 23
<211> 105
<212> PRT
<213> 智人

<400> 23

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe

20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
50 55 60

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65 70 75 80

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 24
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-IgG1

<400> 24

[0024]

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

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

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

[0025] Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 25
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3(高_pI)-IgG1

<400> 25

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

[0026]

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

[0027] Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 26
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-IgG1-F939

<400> 26

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

[0028]

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

[0029]

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Tyr His Val Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 27
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3(高_pI)-F939

<400> 27

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

[0030]

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

[0031]

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Tyr His Val Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 28
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-IgG1-F1180

<400> 28

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

[0032] Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Tyr Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

[0033]

Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 29
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3(高_pI)-F1180

<400> 29

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

[0034] Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Tyr Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

[0035]

<210> 30
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-IgG1-F11

<400> 30

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

[0036] Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Tyr His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 31
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3(高_pI)-F11

<400> 31

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

[0037]

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

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

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
[0038] 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Tyr His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 32
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VL3-CK

<400> 32

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Thr Asp Ile Ser Ser His
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Gly Ser His Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0039]

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly Asn Arg Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 33
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VL3(高_pI)-CK

<400> 33

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Thr Asp Ile Ser Ser His
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Gly Ser His Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0040]

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly Asn Arg Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 34
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H54

<400> 34

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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Asp Asp
20 25 30

Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

[0041]

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

[0042] Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 35

<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L28

<400> 35

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Gly Ser Glu Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Tyr
85 90 95

[0043]

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 36

<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H(WT)

<400> 36

```
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1               5                  10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
            20                  25                  30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

[0044]

```
Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
```

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

[0045]

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 37
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L(WT)

<400> 37

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 Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

[0046]

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 38
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H

<400> 38

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

[0047]

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

[0048]

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 39
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1L

<400> 39

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 Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

```
Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
                85                  90                  95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
            100                 105                 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
        115                 120                 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
    130                 135                 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
                165                 170                 175
```

[0049]

```
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
            180                 185                 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
        195                 200                 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

<210> 40
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab2H

<400> 40

```
Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
1               5                   10                  15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe Asn
            20                  25                  30

Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile Gly
        35                  40                  45
```

```
Ala Val Ser Thr Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ala Lys Gly
 50                  55                  60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Ala Val Asp Leu Lys Ile Thr
65                  70                  75                  80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Val Asp
                85                  90                  95

Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
        115                 120                 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
    130                 135                 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
                165                 170                 175
```

[0050]

```
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                 230                 235                 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
    290                 295                 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
```

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

[0051]

<210> 41
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab2L

<400> 41

Ala Ile Glu Met Thr Gln Thr Pro Phe Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Tyr Phe Ile Ser Ser

85 90 95

Thr Asp Phe Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

[0052]

<210> 42
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab3H

<400> 42

Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser
1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Thr Ser Val Phe Asp Leu Ser Ser Tyr Tyr
20 25 30

Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Ala Cys Val Tyr Ala Thr Ser Gly Ser Thr Asp Tyr Ala Thr Trp Ala
50 55 60

Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Lys Ala Ser Ser Thr Thr Val Thr Leu
65 70 75 80

Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Gly Ile Tyr Gly Gly Asp Gly Phe Asn Leu Trp Gly Pro Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

[0053]
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 43
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab3L

[0054]

<400> 43

Ala Phe Glu Leu Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Ser Asn Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Pro Ser Ile Ile
85 90 95

Asp Gly Phe Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 44
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 来源于hGPC3的肽

[0055]

<400> 44

Val Asp Asp Ala Pro Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro Lys Asp Asn
1 5 10 15

Glu Ile Ser Thr Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser Pro Leu Lys
20 25 30

<210> 45

<400> 45
000

<210> 46
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-IgG1m

<400> 46

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

[0056] Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

[0057]

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 47
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-YTE

<400> 47

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205
```

[0058]

```
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr
                245                 250                 255

Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335
```

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

[0059]

<210> 48
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-LS

<400> 48

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

[0060] Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 49
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-N434H

<400> 49

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

[0061]

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

```
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285
```

[0062]

```
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415
```

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His His His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 50
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-F1847m

<400> 50

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

[0063]

Gln Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

[0064] Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 51
<211> 447

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-F1848m

<400> 51

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val 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

[0065] Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

[0066]

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Val Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 52
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-F1886m

<400> 52

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
            20                  25                  30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140
```

[0067]

```
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270
```

```
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400
```

[0068]

```
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 53
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-F1889m

<400> 53

```
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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
            20                  25                  30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45
```

```
Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175
```

[0069]

```
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320
```

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Val Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

[0070]

<210> 54
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-F1927m

<400> 54

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
                100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220
```

[0071]

```
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350
```

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 55
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-F1168m

[0072]

<400> 55

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val 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 Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

[0073] Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 56
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OHBH-IgG1

<400> 56

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

[0074]

Gly Ala Val Ser Thr Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu
65 70 75 80

Thr Ile Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

Arg Val Asp Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

```
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300
```

[0075]

```
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430
```

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 57
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OHBL-CK

<400> 57

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 Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Asn Leu Ala 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

[0076]

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Tyr Phe Ile Ser Ser
85 90 95

Thr Asp Phe Asn Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 58
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OHBH-LS

<400> 58

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Val Ser Thr Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu
65 70 75 80

[0077]

Thr Ile Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

Arg Val Asp Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

[0078] Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 59
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> OHBH-N434A

<400> 59

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Val Ser Thr Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu
65 70 75 80

Thr Ile Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

Arg Val Asp Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

[0079] Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

```
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380
```

[0080]

```
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Ala His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 60
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OHBH-F1847m

<400> 60

```
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Thr Glu
1               5                   10                  15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe
            20                  25                  30
```

```
Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Ala Val Ser Thr Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ala Lys
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu
65                  70                  75                  80

Thr Ile Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Val Asp Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160
```

[0081]

```
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285
```

```
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415
```

[0082]

```
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 61
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OHBH-F1848m

<400> 61

```
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Thr Glu
1               5                   10                  15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe
            20                  25                  30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Ala Val Ser Thr Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ala Lys
    50                  55                  60
```

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu
65 70 75 80

Thr Ile Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

Arg Val Asp Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

[0083] Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Val Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

[0084]

<210> 62
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OHBH-F1886m

<400> 62

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Val Ser Thr Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu
65 70 75 80

Thr Ile Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

Arg Val Asp Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

```
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240
```

[0085]

```
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365
```

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 63
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OHBH-F1889m

<400> 63

[0086]

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Val Ser Thr Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu
65 70 75 80

Thr Ile Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

Arg Val Asp Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

[0087] Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Val Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 64
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OHBH-F1927m

<400> 64

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Val Ser Thr Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ala Lys
[0088] 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu
65 70 75 80

Thr Ile Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

Arg Val Asp Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

```
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320
```

[0089]

```
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 65
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH3-F1718

<400> 65

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 Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val 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

[0090]

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

[0091] Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Tyr His Val Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 66
<211> 77
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL8分子

<400> 66

Ala Val Leu Pro Arg Ser Ala Lys Glu Leu Arg Cys Gln Cys Ile Lys
1 5 10 15

Thr Tyr Ser Lys Pro Phe His Pro Lys Phe Ile Lys Glu Leu Arg Val
20 25 30

Ile Glu Ser Gly Pro His Cys Ala Asn Thr Glu Ile Ile Val Lys Leu
35 40 45

Ser Asp Gly Arg Glu Leu Cys Leu Asp Pro Lys Glu Asn Trp Val Gln
50 55 60

Arg Val Val Glu Lys Phe Leu Lys Arg Ala Glu Asn Ser
65 70 75

<210> 67
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> WS4的HVR-H1

<400> 67

Asp Tyr Tyr Leu Ser
1 5

[0092]

<210> 68
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> WS4的HVR-H2

<400> 68

Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 69
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> WS4的HVR-H3

<400> 69

Glu Asn Tyr Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr
1 5 10

<210> 70
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> WS4的HVR-L1

<400> 70

Arg Ala Ser Glu Ile Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 71
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> WS4的HVR-L2

<400> 71

Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp
1 5

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0093]

<220>
<223> WS4的HVR-L3

<400> 72

Gln His His Phe Gly Phe Pro Arg Thr
1 5

<210> 73
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H1009的HVR-H2

<400> 73

Leu Ile Arg Asn Lys Asp Asn Tyr His Thr Pro Glu Tyr Ser Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 74
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> H1009的HVR-H3

<400> 74

Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr
1 5 10

<210> 75
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L395的HVR-L2

<400> 75

Lys Ala Lys Thr His Ala Asp
1 5

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L395的HVR-L3

<400> 76

[0094]

Lys His His Phe Gly Phe Pro Arg Thr
1 5

<210> 77
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hr9的重链可变区

<400> 77

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn Tyr Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 78
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H1009的重链可变区

<400> 78

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

[0095]

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Asp Asn Tyr His Thr Pro Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Thr Met Ser Asp Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 79
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L395的轻链可变区

<400> 79

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 Glu Ile Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Lys Thr His Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Lys His His Phe Gly Phe Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 80
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H1009-F1974m

[0096]

<400> 80

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Asp Asn Tyr His Thr Pro Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Thr Met Ser Asp Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

```
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Arg
225                 230                 235                 240

Arg Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255
```

[0097]

```
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380
```

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 81
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H1009-F1886s

<400> 81

[0098]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Asp Asn Tyr His Thr Pro Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Thr Met Ser Asp Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

```
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Arg
225                 230                 235                 240

Arg Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270
```

[0099]

```
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415
```

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 82
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L395-k0MT

<400> 82

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 Glu Ile Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

[0100]

Tyr Lys Ala Lys Thr His Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Lys His His Phe Gly Phe Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 83
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hWS4H-IgG1

<400> 83

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

[0101]

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Leu Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn Tyr Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

```
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
                180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300
```

[0102]

```
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430
```

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 84
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hWS4L-kOMT

<400> 84

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 Glu Ile Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0103]

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Phe Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 85
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hr9-IgG1

<400> 85

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

[0104]

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn Tyr Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

[0105] Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 86
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H89-IgG1

<400> 86

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

[0106]

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

```
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350
```

[0107]

```
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro
    450
```

<210> 87
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L63-kOMT

<400> 87

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 Glu Ile Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr His Ala Lys Thr His Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Phe Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

[0108]

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 88
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L118-kOMT

<400> 88

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ile Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr His Ala Lys Thr His Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Lys His His Phe Gly Phe Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

[0109]

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 89
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H998-IgG1

<400> 89

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Leu Arg Glu Tyr Ser Ala
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Thr Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn Tyr Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
            100                 105                 110
```

[0110]

```
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240
```

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

[0111] Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 90
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H553-IgG1

<400> 90

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly His Thr Pro Glu Tyr Ser Ala
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125
```

[0112]

```
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270
```

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

[0113]

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 91
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H1004-IgG1m

<400> 91

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

```
Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Asp Asn Gly Tyr Thr Pro Glu Tyr Ser Ala
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Thr Met Ser Asp Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160
```

[0114]

```
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285
```

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

[0115]

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 92
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H1009-IgG1m

<400> 92

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Asp Asn Tyr His Thr Pro Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Thr Met Ser Asp Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

[0116] Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

[0117]

Ser Pro
450

<210> 93
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 1009-F1942m

<400> 93

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Asp Asn Tyr His Thr Pro Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

```
Leu Tyr Leu Thr Met Ser Asp Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205
```

[0118]

```
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Arg
225                 230                 235                 240

Arg Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ala Asp Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335
```

```
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro
    450
```

[0119]

<210> 94
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H89-IgG1m

<400> 94

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95
```

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

[0120]

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 95
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H89-F1168m

[0121]

<400> 95

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

```
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255
```

[0122]

```
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380
```

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 96
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H89-F1847m

<400> 96

[0123]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

[0124] His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 97
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H89-F1848m

<400> 97

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

[0125]

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

```
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300
```

[0126]

```
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430
```

Met His Glu Ala Leu His Ala His Val Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 98
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H89-F1886m

<400> 98

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

[0127]

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

[0128] Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 99
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H89-F1889m

<400> 99

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

[0129]

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

```
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350
```

[0130]

```
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Leu His Glu Ala Leu His Ala His Val Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro
    450
```

<210> 100
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H89-F1927m

<400> 100

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
            100                 105                 110
```

[0131]

```
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240
```

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

[0132] Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 101
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H496-IgG1

<400> 101

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Pro Glu Tyr Ser Ala
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125
```

[0133]

```
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270
```

```
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400
```

[0134]

```
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro
    450
```

<210> 102
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H1

<400> 102

```
Ser Tyr Gly Met Leu
1               5
```

<210> 103
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H2

<400> 103

Asp Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 104
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H3

<400> 104

Asp Arg Ile Ala Val Ala Asp Tyr
1 5

<210> 105
<211> 12
[0135] <212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L1

<400> 105

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 106
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L2

<400> 106

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 107
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L3

<400> 107

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Phe Thr
1 5

<210> 108
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H1

<400> 108

Asn Tyr Gly Met His
1 5

<210> 109
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H2

<400> 109

Val Ile Tyr Phe Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Asn Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

[0136]

Gly

<210> 110
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H3

<400> 110

Ser Pro Tyr Gly Asp Tyr Leu Asp Tyr
1 5

<210> 111
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L1

<400> 111

Arg Ala Ser Gln Thr Ile Asp Tyr Asn Tyr Leu His
1 5 10

<210> 112
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L2

<400> 112

Gly Thr Phe Ile Arg Ala Thr
1 5

<210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L3

<400> 113

Gln Gln Phe Gly Arg Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 114
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

[0137]

<220>
<223> HVR-H1

<400> 114

Ser Tyr Gly Met Leu
1 5

<210> 115
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H2

<400> 115

Asp Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

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

<220>

<223> HVR-H3

<400> 116

Asp Arg Ile Ala Val Ala Asp Tyr
1 5

<210> 117
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L1

<400> 117

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe Leu Ala
1 5 10

<210> 118
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L2

<400> 118

[0138] Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 119
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L3

<400> 119

Gln Gln Tyr Asp Ser Ser Phe Thr
1 5

<210> 120
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H1

<400> 120

Gly Tyr Tyr Trp Thr
1 5

<210> 121
<211> 16

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H2

<400> 121

Glu Val Ile His His Gly Ser Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 122
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H3

<400> 122

Gly Gly Ala Ala Ala Ala Leu Asp Ser
1 5

<210> 123
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0139] <223> HVR-L1

<400> 123

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Phe Ser Ser Asn Asn Arg Lys Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 124
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L2

<400> 124

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

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

<220>
<223> HVR-L3

<400> 125

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 126
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H1

<400> 126

Ser Tyr Trp Met His
1 5

<210> 127
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H2

<400> 127

Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Asn Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

[0140]

Gly

<210> 128
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H3

<400> 128

Glu Leu Leu His Ala Val Tyr
1 5

<210> 129
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L1

<400> 129

Thr Ala Ser Gln Asp Ile His Lys Tyr Ile Ser
1 5 10

<210> 130
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L2

<400> 130

Thr Ser Thr Leu Gln Pro
1 5

<210> 131
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L3

<400> 131

Leu Gln Tyr Asp Asn Leu Trp Thr
1 5

<210> 132
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

[0141]

<220>
<223> HVR-H1

<400> 132

Asn Tyr Trp Ile Val
1 5

<210> 133
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H2

<400> 133

Asp Leu Tyr Ser Gly Gly Gly Tyr Thr Phe Tyr Ser Glu Asn Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 134
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> HVR-H3

<400> 134

Ser Gly Tyr Asp Arg Thr Trp Phe Ala His
1 5 10

<210> 135
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L1

<400> 135

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Glu Ser Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 136
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L2

<400> 136

[0142] Tyr Ala Thr Arg Leu Ala Asp
1 5

<210> 137
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L3

<400> 137

Leu Gln His Gly Glu Ser Pro Pro Thr
1 5

<210> 138
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H1

<400> 138

His Tyr Gly Met Tyr
1 5

<210> 139
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H2

<400> 139

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Tyr Glu Tyr Asn Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 140
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-H3

<400> 140

Asp Arg Val Gly Leu Phe Asp Tyr
1 5

<210> 141
<211> 12
[0143] <212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L1

<400> 141

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 142
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L2

<400> 142

Gly Pro Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 143
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HVR-L3

<400> 143

Gln Gln Tyr Ala Gly Ser Leu Thr
1 5

<210> 144
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H003

<400> 144

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn Arg
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

[0144] Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

[0145]

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 145
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H005

<400> 145

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
            20                  25                  30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Lys Arg Leu Glu Tyr Val
        35                  40                  45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110
```

[0146]

```
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240
```

```
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365
```

[0147]

```
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

<210>  146
<211>  447
<212>  PRT
<213>  人工序列

<220>
<223>  H010

<400>  146

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15
```

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

[0148] Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

```
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415
```

[0149]

```
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 147
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H012

<400> 147

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
            20                  25                  30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
        35                  40                  45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
    50                  55                  60
```

```
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asn Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190
```

[0150]

```
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320
```

```
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

[0151]

<210> 148
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H013

<400> 148

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
            20                  25                  30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
        35                  40                  45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Gly Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95
```

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

[0152] Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 149
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H014

<400> 149

[0153]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Ser Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

```
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270
```

[0154]

```
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400
```

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 150
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H016

<400> 150

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

[0155]

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

[0156] Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 151
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H018

<400> 151

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Lys
85 90 95

[0157]

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

```
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350
```

[0158]

```
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 152
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H026

<400> 152

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Lys Arg Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

[0159]

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

```
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380
```

[0160]

```
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

<210>  153
<211>  447
<212>  PRT
<213>  人工序列

<220>
<223>  H027

<400>  153

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
            20                  25                  30
```

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

[0161] Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

[0162]

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 154
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H028

<400> 154

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu
65 70 75 80

```
Gln Ile Gly Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205
```

[0163]

```
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335
```

```
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

[0164]

```
<210>  155
<211>  447
<212>  PRT
<213>  人工序列

<220>
<223>  H029

<400>  155

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
            20                  25                  30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
        35                  40                  45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Ser Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110
```

```
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240
```

[0165]

```
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380
```

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 156
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H030

<400> 156

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

[0166]

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

```
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285
```

[0167]

```
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415
```

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 157
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H031

<400> 157

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

[0168]

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Lys
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

[0169] Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 158
<211> 447

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H032

<400> 158

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Gly Arg Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

[0170] Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

[0171]

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 159
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H034

<400> 159

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 Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

[0172]

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

```
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400
```

[0173]

```
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

<210>  160
<211>  447
<212>  PRT
<213>  人工序列

<220>
<223>  H035

<400>  160

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Arg Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
            20                  25                  30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
        35                  40                  45
```

```
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175
```

[0174]

```
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320
```

```
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

[0175]

```
<210>  161
<211>  447
<212>  PRT
<213>  人工序列

<220>
<223>  H039

<400>  161

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
            20                  25                  30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
        35                  40                  45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95
```

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

[0176]

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 162
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H041

[0177]

<400> 162

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

```
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255
```

[0178]

```
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400
```

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 163
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> H045

<400> 163

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

[0179]

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

```
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300
```

[0180]

```
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430
```

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 164
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L001

<400> 164

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Lys
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0181]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 165
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L002

<400> 165

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 Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0182]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 166
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L003

<400> 166

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0183]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 167
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L004

<400> 167

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 Lys Ala Ser Lys Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0184]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 168
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L005

<400> 168

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 Gln Lys Lys Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0185]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 169
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L006

<400> 169

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 Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0186]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 170
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L007

<400> 170

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 Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0187]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 171
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L008

<400> 171

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 Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0188]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 172
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L009

<400> 172

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 Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Lys Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0189]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 173
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L010

<400> 173

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 Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Arg Thr Leu Ala Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0190]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 174
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L011

<400> 174

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 Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Lys Thr Leu Ala Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0191]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 175
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L012

<400> 175

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 Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0192]

Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 176
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L013

<400> 176

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 Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0193]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 177
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L014

<400> 177

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 Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0194]

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 178
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L015

<400> 178

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Lys
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0195]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 179
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L016

<400> 179

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0196]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 180
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L017

<400> 180

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0197]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 181
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L018

<400> 181

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Lys Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0198]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 182
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L019

<400> 182

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Arg Thr Leu Ala Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0199]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 183
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L020

<400> 183

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Lys Thr Leu Ala Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0200]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 184
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L021

<400> 184

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0201]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 185
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L022

<400> 185

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0202]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 186
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L023

<400> 186

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

[0203]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 187
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L024

<400> 187

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Lys
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0204]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 188
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L025

<400> 188

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 Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0205]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 189
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L026

<400> 189

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 Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0206]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 190
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L028

<400> 190

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 Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Arg Thr Leu Ala Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0207]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 191
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L029

<400> 191

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 Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Lys Thr Leu Ala Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0208]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 192
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L030

<400> 192

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 Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0209]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 193
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L032

<400> 193

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 Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

[0210]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 194
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L033

<400> 194

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0211]

Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 195
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L034

<400> 195

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Arg Thr Leu Ala Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0212]

Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 196
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L035

<400> 196

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0213]

Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 197
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L036

<400> 197

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

[0214]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 198
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L037

<400> 198

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0215]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 199
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L038

<400> 199

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Arg Thr Leu Ala Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0216]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 200
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L039

<400> 200

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Lys Ile Arg Arg Leu Lys Pro
65 70 75 80

[0217]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 201
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L040

<400> 201

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

[0218]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 202
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L041

<400> 202

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 Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Arg Thr Leu Ala Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

[0219]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 203
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L061

<400> 203

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 Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0220]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 204
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L062

<400> 204

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 Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

[0221]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 205

<400> 205
000

<210> 206

<400> 206
000

<210> 207
<211> 1676
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重组人C5

<400> 207

Met Gly Leu Leu Gly Ile Leu Cys Phe Leu Ile Phe Leu Gly Lys Thr
1 5 10 15

Trp Gly Gln Glu Gln Thr Tyr Val Ile Ser Ala Pro Lys Ile Phe Arg
20 25 30

[0222] Val Gly Ala Ser Glu Asn Ile Val Ile Gln Val Tyr Gly Tyr Thr Glu
35 40 45

Ala Phe Asp Ala Thr Ile Ser Ile Lys Ser Tyr Pro Asp Lys Lys Phe
50 55 60

Ser Tyr Ser Ser Gly His Val His Leu Ser Ser Glu Asn Lys Phe Gln
65 70 75 80

Asn Ser Ala Ile Leu Thr Ile Gln Pro Lys Gln Leu Pro Gly Gly Gln
85 90 95

Asn Pro Val Ser Tyr Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser
100 105 110

Lys Ser Lys Arg Met Pro Ile Thr Tyr Asp Asn Gly Phe Leu Phe Ile
115 120 125

His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser Val Lys Val Arg
130 135 140

Val Tyr Ser Leu Asn Asp Asp Leu Lys Pro Ala Lys Arg Glu Thr Val
145 150 155 160

Leu Thr Phe Ile Asp Pro Glu Gly Ser Glu Val Asp Met Val Glu Glu
165 170 175

Ile Asp His Ile Gly Ile Ile Ser Phe Pro Asp Phe Lys Ile Pro Ser
180 185 190

Asn Pro Arg Tyr Gly Met Trp Thr Ile Lys Ala Lys Tyr Lys Glu Asp
195 200 205

Phe Ser Thr Thr Gly Thr Ala Tyr Phe Glu Val Lys Glu Tyr Val Leu
210 215 220

Pro His Phe Ser Val Ser Ile Glu Pro Glu Tyr Asn Phe Ile Gly Tyr
225 230 235 240

Lys Asn Phe Lys Asn Phe Glu Ile Thr Ile Lys Ala Arg Tyr Phe Tyr
245 250 255

Asn Lys Val Val Thr Glu Ala Asp Val Tyr Ile Thr Phe Gly Ile Arg
260 265 270

Glu Asp Leu Lys Asp Asp Gln Lys Glu Met Met Gln Thr Ala Met Gln
275 280 285

Asn Thr Met Leu Ile Asn Gly Ile Ala Gln Val Thr Phe Asp Ser Glu
290 295 300

[0223]

Thr Ala Val Lys Glu Leu Ser Tyr Tyr Ser Leu Glu Asp Leu Asn Asn
305 310 315 320

Lys Tyr Leu Tyr Ile Ala Val Thr Val Ile Glu Ser Thr Gly Gly Phe
325 330 335

Ser Glu Glu Ala Glu Ile Pro Gly Ile Lys Tyr Val Leu Ser Pro Tyr
340 345 350

Lys Leu Asn Leu Val Ala Thr Pro Leu Phe Leu Lys Pro Gly Ile Pro
355 360 365

Tyr Pro Ile Lys Val Gln Val Lys Asp Ser Leu Asp Gln Leu Val Gly
370 375 380

Gly Val Pro Val Thr Leu Asn Ala Gln Thr Ile Asp Val Asn Gln Glu
385 390 395 400

Thr Ser Asp Leu Asp Pro Ser Lys Ser Val Thr Arg Val Asp Asp Gly
405 410 415

Val Ala Ser Phe Val Leu Asn Leu Pro Ser Gly Val Thr Val Leu Glu
420 425 430

Phe Asn Val Lys Thr Asp Ala Pro Asp Leu Pro Glu Glu Asn Gln Ala
435 440 445

Arg Glu Gly Tyr Arg Ala Ile Ala Tyr Ser Ser Leu Ser Gln Ser Tyr
450 455 460

Leu Tyr Ile Asp Trp Thr Asp Asn His Lys Ala Leu Leu Val Gly Glu
465 470 475 480

His Leu Asn Ile Ile Val Thr Pro Lys Ser Pro Tyr Ile Asp Lys Ile
485 490 495

Thr His Tyr Asn Tyr Leu Ile Leu Ser Lys Gly Lys Ile Ile His Phe
500 505 510

Gly Thr Arg Glu Lys Phe Ser Asp Ala Ser Tyr Gln Ser Ile Asn Ile
515 520 525

Pro Val Thr Gln Asn Met Val Pro Ser Ser Arg Leu Leu Val Tyr Tyr
530 535 540

Ile Val Thr Gly Glu Gln Thr Ala Glu Leu Val Ser Asp Ser Val Trp
545 550 555 560

[0224] Leu Asn Ile Glu Glu Lys Cys Gly Asn Gln Leu Gln Val His Leu Ser
565 570 575

Pro Asp Ala Asp Ala Tyr Ser Pro Gly Gln Thr Val Ser Leu Asn Met
580 585 590

Ala Thr Gly Met Asp Ser Trp Val Ala Leu Ala Ala Val Asp Ser Ala
595 600 605

Val Tyr Gly Val Gln Arg Gly Ala Lys Lys Pro Leu Glu Arg Val Phe
610 615 620

Gln Phe Leu Glu Lys Ser Asp Leu Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Leu
625 630 635 640

Asn Asn Ala Asn Val Phe His Leu Ala Gly Leu Thr Phe Leu Thr Asn
645 650 655

Ala Asn Ala Asp Asp Ser Gln Glu Asn Asp Glu Pro Cys Lys Glu Ile
660 665 670

Leu Arg Pro Arg Arg Thr Leu Gln Lys Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala
675 680 685

Lys Tyr Lys His Ser Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Ala Cys
690 695 700

```
Val Asn Asn Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Leu
705                 710                 715                 720

Gly Pro Arg Cys Ile Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser
                725                 730                 735

Gln Leu Arg Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg Leu
            740                 745                 750

His Met Lys Thr Leu Leu Pro Val Ser Lys Pro Glu Ile Arg Ser Tyr
        755                 760                 765

Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Glu Val His Leu Val Pro Arg Arg Lys
    770                 775                 780

Gln Leu Gln Phe Ala Leu Pro Asp Ser Leu Thr Thr Trp Glu Ile Gln
785                 790                 795                 800

Gly Val Gly Ile Ser Asn Thr Gly Ile Cys Val Ala Asp Thr Val Lys
                805                 810                 815

Ala Lys Val Phe Lys Asp Val Phe Leu Glu Met Asn Ile Pro Tyr Ser
            820                 825                 830
```

[0225]

```
Val Val Arg Gly Glu Gln Ile Gln Leu Lys Gly Thr Val Tyr Asn Tyr
        835                 840                 845

Arg Thr Ser Gly Met Gln Phe Cys Val Lys Met Ser Ala Val Glu Gly
    850                 855                 860

Ile Cys Thr Ser Glu Ser Pro Val Ile Asp His Gln Gly Thr Lys Ser
865                 870                 875                 880

Ser Lys Cys Val Arg Gln Lys Val Glu Gly Ser Ser Ser His Leu Val
                885                 890                 895

Thr Phe Thr Val Leu Pro Leu Glu Ile Gly Leu His Asn Ile Asn Phe
            900                 905                 910

Ser Leu Glu Thr Trp Phe Gly Lys Glu Ile Leu Val Lys Thr Leu Arg
        915                 920                 925

Val Val Pro Glu Gly Val Lys Arg Glu Ser Tyr Ser Gly Val Thr Leu
    930                 935                 940

Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Ile Ser Arg Arg Lys Glu Phe Pro
945                 950                 955                 960
```

```
Tyr Arg Ile Pro Leu Asp Leu Val Pro Lys Thr Glu Ile Lys Arg Ile
                965                 970                 975

Leu Ser Val Lys Gly Leu Leu Val Gly Glu Ile Leu Ser Ala Val Leu
            980                 985                 990

Ser Gln Glu Gly Ile Asn Ile Leu  Thr His Leu Pro Lys  Gly Ser Ala
        995                 1000                1005

Glu Ala  Glu Leu Met Ser Val  Val Pro Val Phe Tyr  Val Phe His
    1010                1015                1020

Tyr Leu  Glu Thr Gly Asn His  Trp Asn Ile Phe His  Ser Asp Pro
    1025                1030                1035

Leu Ile  Glu Lys Gln Lys Leu  Lys Lys Lys Leu Lys  Glu Gly Met
    1040                1045                1050

Leu Ser  Ile Met Ser Tyr Arg  Asn Ala Asp Tyr Ser  Tyr Ser Val
    1055                1060                1065

Trp Lys  Gly Gly Ser Ala Ser  Thr Trp Leu Thr Ala  Phe Ala Leu
    1070                1075                1080
```

[0226]

```
Arg Val  Leu Gly Gln Val Asn  Lys Tyr Val Glu Gln  Asn Gln Asn
    1085                1090                1095

Ser Ile  Cys Asn Ser Leu Leu  Trp Leu Val Glu Asn  Tyr Gln Leu
    1100                1105                1110

Asp Asn  Gly Ser Phe Lys Glu  Asn Ser Gln Tyr Gln  Pro Ile Lys
    1115                1120                1125

Leu Gln  Gly Thr Leu Pro Val  Glu Ala Arg Glu Asn  Ser Leu Tyr
    1130                1135                1140

Leu Thr  Ala Phe Thr Val Ile  Gly Ile Arg Lys Ala  Phe Asp Ile
    1145                1150                1155

Cys Pro  Leu Val Lys Ile Asp  Thr Ala Leu Ile Lys  Ala Asp Asn
    1160                1165                1170

Phe Leu  Leu Glu Asn Thr Leu  Pro Ala Gln Ser Thr  Phe Thr Leu
    1175                1180                1185

Ala Ile  Ser Ala Tyr Ala Leu  Ser Leu Gly Asp Lys  Thr His Pro
    1190                1195                1200

Gln Phe  Arg Ser Ile Val Ser  Ala Leu Lys Arg Glu  Ala Leu Val
    1205                1210                1215
```

```
Lys Gly  Asn Pro Pro Ile Tyr  Arg Phe Trp Lys Asp  Asn Leu Gln
     1220                1225                1230

His Lys  Asp Ser Ser Val Pro  Asn Thr Gly Thr Ala  Arg Met Val
     1235                1240                1245

Glu Thr  Thr Ala Tyr Ala Leu  Leu Thr Ser Leu Asn  Leu Lys Asp
     1250                1255                1260

Ile Asn  Tyr Val Asn Pro Val  Ile Lys Trp Leu Ser  Glu Glu Gln
     1265                1270                1275

Arg Tyr  Gly Gly Gly Phe Tyr  Ser Thr Gln Asp Thr  Ile Asn Ala
     1280                1285                1290

Ile Glu  Gly Leu Thr Glu Tyr  Ser Leu Leu Val Lys  Gln Leu Arg
     1295                1300                1305

Leu Ser  Met Asp Ile Asp Val  Ser Tyr Lys His Lys  Gly Ala Leu
     1310                1315                1320

His Asn  Tyr Lys Met Thr Asp  Lys Asn Phe Leu Gly  Arg Pro Val
     1325                1330                1335
```

[0227]

```
Glu Val  Leu Leu Asn Asp Asp  Leu Ile Val Ser Thr  Gly Phe Gly
     1340                1345                1350

Ser Gly  Leu Ala Thr Val His  Val Thr Thr Val Val  His Lys Thr
     1355                1360                1365

Ser Thr  Ser Glu Glu Val Cys  Ser Phe Tyr Leu Lys  Ile Asp Thr
     1370                1375                1380

Gln Asp  Ile Glu Ala Ser His  Tyr Arg Gly Tyr Gly  Asn Ser Asp
     1385                1390                1395

Tyr Lys  Arg Ile Val Ala Cys  Ala Ser Tyr Lys Pro  Ser Arg Glu
     1400                1405                1410

Glu Ser  Ser Ser Gly Ser Ser  His Ala Val Met Asp  Ile Ser Leu
     1415                1420                1425

Pro Thr  Gly Ile Ser Ala Asn  Glu Glu Asp Leu Lys  Ala Leu Val
     1430                1435                1440

Glu Gly  Val Asp Gln Leu Phe  Thr Asp Tyr Gln Ile  Lys Asp Gly
     1445                1450                1455
```

His Val Ile Leu Gln Leu Asn Ser Ile Pro Ser Ser Asp Phe Leu
1460 1465 1470

Cys Val Arg Phe Arg Ile Phe Glu Leu Phe Glu Val Gly Phe Leu
1475 1480 1485

Ser Pro Ala Thr Phe Thr Val Tyr Glu Tyr His Arg Pro Asp Lys
1490 1495 1500

Gln Cys Thr Met Phe Tyr Ser Thr Ser Asn Ile Lys Ile Gln Lys
1505 1510 1515

Val Cys Glu Gly Ala Ala Cys Lys Cys Val Glu Ala Asp Cys Gly
1520 1525 1530

Gln Met Gln Glu Glu Leu Asp Leu Thr Ile Ser Ala Glu Thr Arg
1535 1540 1545

Lys Gln Thr Ala Cys Lys Pro Glu Ile Ala Tyr Ala Tyr Lys Val
1550 1555 1560

Ser Ile Thr Ser Ile Thr Val Glu Asn Val Phe Val Lys Tyr Lys
1565 1570 1575

[0228] Ala Thr Leu Leu Asp Ile Tyr Lys Thr Gly Glu Ala Val Ala Glu
1580 1585 1590

Lys Asp Ser Glu Ile Thr Phe Ile Lys Lys Val Thr Cys Thr Asn
1595 1600 1605

Ala Glu Leu Val Lys Gly Arg Gln Tyr Leu Ile Met Gly Lys Glu
1610 1615 1620

Ala Leu Gln Ile Lys Tyr Asn Phe Ser Phe Arg Tyr Ile Tyr Pro
1625 1630 1635

Leu Asp Ser Leu Thr Trp Ile Glu Tyr Trp Pro Arg Asp Thr Thr
1640 1645 1650

Cys Ser Ser Cys Gln Ala Phe Leu Ala Asn Leu Asp Glu Phe Ala
1655 1660 1665

Glu Asp Ile Phe Leu Asn Gly Cys
1670 1675

<210> 208
<211> 1676
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 食蟹猴C5

<400> 208

```
Met Gly Leu Leu Gly Ile Leu Cys Phe Leu Ile Phe Leu Gly Lys Thr
1               5                  10                  15

Trp Gly Gln Glu Gln Thr Tyr Val Ile Ser Ala Pro Lys Ile Phe Arg
            20                  25                  30

Val Gly Ala Ser Glu Asn Ile Val Ile Gln Val Tyr Gly Tyr Thr Glu
        35                  40                  45

Ala Phe Asp Ala Thr Ile Ser Ile Lys Ser Tyr Pro Asp Lys Lys Phe
    50                  55                  60

Ser Tyr Ser Ser Gly His Val His Leu Ser Ser Glu Asn Lys Phe Gln
65                  70                  75                  80

Asn Ser Ala Val Leu Thr Ile Gln Pro Lys Gln Leu Pro Gly Gly Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Ser Tyr Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser
            100                 105                 110

Lys Ser Lys Lys Ile Pro Ile Thr Tyr Asp Asn Gly Phe Leu Phe Ile
        115                 120                 125

His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser Val Lys Val Arg
    130                 135                 140

Val Tyr Ser Leu Asn Asp Asp Leu Lys Pro Ala Lys Arg Glu Thr Val
145                 150                 155                 160

Leu Thr Phe Ile Asp Pro Glu Gly Ser Glu Ile Asp Met Val Glu Glu
                165                 170                 175

Ile Asp His Ile Gly Ile Ile Ser Phe Pro Asp Phe Lys Ile Pro Ser
            180                 185                 190

Asn Pro Arg Tyr Gly Met Trp Thr Ile Gln Ala Lys Tyr Lys Glu Asp
        195                 200                 205

Phe Ser Thr Thr Gly Thr Ala Phe Phe Glu Val Lys Glu Tyr Val Leu
    210                 215                 220

Pro His Phe Ser Val Ser Val Glu Pro Glu Ser Asn Phe Ile Gly Tyr
225                 230                 235                 240

Lys Asn Phe Lys Asn Phe Glu Ile Thr Ile Lys Ala Arg Tyr Phe Tyr
                245                 250                 255
```

[0229]

Asn Lys Val Val Thr Glu Ala Asp Val Tyr Ile Thr Phe Gly Ile Arg
260 265 270

Glu Asp Leu Lys Asp Asp Gln Lys Glu Met Met Gln Thr Ala Met Gln
275 280 285

Asn Thr Met Leu Ile Asn Gly Ile Ala Glu Val Thr Phe Asp Ser Glu
290 295 300

Thr Ala Val Lys Glu Leu Ser Tyr Tyr Ser Leu Glu Asp Leu Asn Asn
305 310 315 320

Lys Tyr Leu Tyr Ile Ala Val Thr Val Ile Glu Ser Thr Gly Gly Phe
325 330 335

Ser Glu Glu Ala Glu Ile Pro Gly Ile Lys Tyr Val Leu Ser Pro Tyr
340 345 350

Lys Leu Asn Leu Val Ala Thr Pro Leu Phe Leu Lys Pro Gly Ile Pro
355 360 365

Tyr Ser Ile Lys Val Gln Val Lys Asp Ala Leu Asp Gln Leu Val Gly
370 375 380

[0230]

Gly Val Pro Val Thr Leu Asn Ala Gln Thr Ile Asp Val Asn Gln Glu
385 390 395 400

Thr Ser Asp Leu Glu Pro Arg Lys Ser Val Thr Arg Val Asp Asp Gly
405 410 415

Val Ala Ser Phe Val Val Asn Leu Pro Ser Gly Val Thr Val Leu Glu
420 425 430

Phe Asn Val Lys Thr Asp Ala Pro Asp Leu Pro Asp Glu Asn Gln Ala
435 440 445

Arg Glu Gly Tyr Arg Ala Ile Ala Tyr Ser Ser Leu Ser Gln Ser Tyr
450 455 460

Leu Tyr Ile Asp Trp Thr Asp Asn His Lys Ala Leu Leu Val Gly Glu
465 470 475 480

Tyr Leu Asn Ile Ile Val Thr Pro Lys Ser Pro Tyr Ile Asp Lys Ile
485 490 495

Thr His Tyr Asn Tyr Leu Ile Leu Ser Lys Gly Lys Ile Ile His Phe
500 505 510

Gly Thr Arg Glu Lys Leu Ser Asp Ala Ser Tyr Gln Ser Ile Asn Ile
515 520 525

Pro Val Thr Gln Asn Met Val Pro Ser Ser Arg Leu Leu Val Tyr Tyr
530 535 540

Ile Val Thr Gly Glu Gln Thr Ala Glu Leu Val Ser Asp Ser Val Trp
545 550 555 560

Leu Asn Ile Glu Glu Lys Cys Gly Asn Gln Leu Gln Val His Leu Ser
565 570 575

Pro Asp Ala Asp Thr Tyr Ser Pro Gly Gln Thr Val Ser Leu Asn Met
580 585 590

Val Thr Gly Met Asp Ser Trp Val Ala Leu Thr Ala Val Asp Ser Ala
595 600 605

Val Tyr Gly Val Gln Arg Arg Ala Lys Lys Pro Leu Glu Arg Val Phe
610 615 620

Gln Phe Leu Glu Lys Ser Asp Leu Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Leu
625 630 635 640

[0231] Asn Asn Ala Asn Val Phe His Leu Ala Gly Leu Thr Phe Leu Thr Asn
645 650 655

Ala Asn Ala Asp Asp Ser Gln Glu Asn Asp Glu Pro Cys Lys Glu Ile
660 665 670

Ile Arg Pro Arg Arg Met Leu Gln Glu Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala
675 680 685

Lys Tyr Lys His Leu Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Val Arg
690 695 700

Ile Asn His Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Val
705 710 715 720

Gly Pro Arg Cys Val Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser
725 730 735

Gln Leu Arg Ala Asn Asn Ser His Lys Asp Leu Gln Leu Gly Arg Leu
740 745 750

His Met Lys Thr Leu Leu Pro Val Ser Lys Pro Glu Ile Arg Ser Tyr
755 760 765

Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Glu Val His Leu Val Pro Arg Arg Lys
770 775 780

```
Gln Leu Gln Phe Ala Leu Pro Asp Ser Val Thr Thr Trp Glu Ile Gln
785                 790                 795                 800

Gly Val Gly Ile Ser Asn Ser Gly Ile Cys Val Ala Asp Thr Ile Lys
                805                 810                 815

Ala Lys Val Phe Lys Asp Val Phe Leu Glu Met Asn Ile Pro Tyr Ser
            820                 825                 830

Val Val Arg Gly Glu Gln Val Gln Leu Lys Gly Thr Val Tyr Asn Tyr
        835                 840                 845

Arg Thr Ser Gly Met Gln Phe Cys Val Lys Met Ser Ala Val Glu Gly
    850                 855                 860

Ile Cys Thr Ser Glu Ser Pro Val Ile Asp His Gln Gly Thr Lys Ser
865                 870                 875                 880

Ser Lys Cys Val Arg Gln Lys Val Glu Gly Ser Ser Asn His Leu Val
                885                 890                 895

Thr Phe Thr Val Leu Pro Leu Glu Ile Gly Leu Gln Asn Ile Asn Phe
            900                 905                 910
```

[0232]

```
Ser Leu Glu Thr Ser Phe Gly Lys Glu Ile Leu Val Lys Ser Leu Arg
        915                 920                 925

Val Val Pro Glu Gly Val Lys Arg Glu Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Leu
    930                 935                 940

Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Ile Ser Arg Arg Lys Glu Phe Pro
945                 950                 955                 960

Tyr Arg Ile Pro Leu Asp Leu Val Pro Lys Thr Glu Ile Lys Arg Ile
                965                 970                 975

Leu Ser Val Lys Gly Leu Leu Val Gly Glu Ile Leu Ser Ala Val Leu
            980                 985                 990

Ser Arg Glu Gly Ile Asn Ile Leu  Thr His Leu Pro Lys  Gly Ser Ala
        995                 1000                1005

Glu Ala  Glu Leu Met Ser Val  Val Pro Val Phe Tyr  Val Phe His
    1010                1015                1020

Tyr Leu  Glu Thr Gly Asn His  Trp Asn Ile Phe His  Ser Asp Pro
    1025                1030                1035
```

Leu Ile Glu Lys Arg Asn Leu Glu Lys Lys Leu Lys Glu Gly Met
1040 1045 1050

Val Ser Ile Met Ser Tyr Arg Asn Ala Asp Tyr Ser Tyr Ser Val
1055 1060 1065

Trp Lys Gly Gly Ser Ala Ser Thr Trp Leu Thr Ala Phe Ala Leu
1070 1075 1080

Arg Val Leu Gly Gln Val His Lys Tyr Val Glu Gln Asn Gln Asn
1085 1090 1095

Ser Ile Cys Asn Ser Leu Leu Trp Leu Val Glu Asn Tyr Gln Leu
1100 1105 1110

Asp Asn Gly Ser Phe Lys Glu Asn Ser Gln Tyr Gln Pro Ile Lys
1115 1120 1125

Leu Gln Gly Thr Leu Pro Val Glu Ala Arg Glu Asn Ser Leu Tyr
1130 1135 1140

Leu Thr Ala Phe Thr Val Ile Gly Ile Arg Lys Ala Phe Asp Ile
1145 1150 1155

[0233] Cys Pro Leu Val Lys Ile Asn Thr Ala Leu Ile Lys Ala Asp Thr
1160 1165 1170

Phe Leu Leu Glu Asn Thr Leu Pro Ala Gln Ser Thr Phe Thr Leu
1175 1180 1185

Ala Ile Ser Ala Tyr Ala Leu Ser Leu Gly Asp Lys Thr His Pro
1190 1195 1200

Gln Phe Arg Ser Ile Val Ser Ala Leu Lys Arg Glu Ala Leu Val
1205 1210 1215

Lys Gly Asn Pro Pro Ile Tyr Arg Phe Trp Lys Asp Ser Leu Gln
1220 1225 1230

His Lys Asp Ser Ser Val Pro Asn Thr Gly Thr Ala Arg Met Val
1235 1240 1245

Glu Thr Thr Ala Tyr Ala Leu Leu Thr Ser Leu Asn Leu Lys Asp
1250 1255 1260

Ile Asn Tyr Val Asn Pro Ile Ile Lys Trp Leu Ser Glu Glu Gln
1265 1270 1275

Arg Tyr Gly Gly Gly Phe Tyr Ser Thr Gln Asp Thr Ile Asn Ala
1280 1285 1290

Ile Glu Gly Leu Thr Glu Tyr Ser Leu Leu Val Lys Gln Leu Arg
1295 1300 1305

Leu Asn Met Asp Ile Asp Val Ala Tyr Lys His Lys Gly Pro Leu
1310 1315 1320

His Asn Tyr Lys Met Thr Asp Lys Asn Phe Leu Gly Arg Pro Val
1325 1330 1335

Glu Val Leu Leu Asn Asp Asp Leu Val Val Ser Thr Gly Phe Gly
1340 1345 1350

Ser Gly Leu Ala Thr Val His Val Thr Thr Val Val His Lys Thr
1355 1360 1365

Ser Thr Ser Glu Glu Val Cys Ser Phe Tyr Leu Lys Ile Asp Thr
1370 1375 1380

Gln Asp Ile Glu Ala Ser His Tyr Arg Gly Tyr Gly Asn Ser Asp
1385 1390 1395

Tyr Lys Arg Ile Val Ala Cys Ala Ser Tyr Lys Pro Ser Lys Glu
1400 1405 1410

[0234]

Glu Ser Ser Ser Gly Ser Ser His Ala Val Met Asp Ile Ser Leu
1415 1420 1425

Pro Thr Gly Ile Asn Ala Asn Glu Glu Asp Leu Lys Ala Leu Val
1430 1435 1440

Glu Gly Val Asp Gln Leu Phe Thr Asp Tyr Gln Ile Lys Asp Gly
1445 1450 1455

His Val Ile Leu Gln Leu Asn Ser Ile Pro Ser Ser Asp Phe Leu
1460 1465 1470

Cys Val Arg Phe Arg Ile Phe Glu Leu Phe Glu Val Gly Phe Leu
1475 1480 1485

Ser Pro Ala Thr Phe Thr Val Tyr Glu Tyr His Arg Pro Asp Lys
1490 1495 1500

Gln Cys Thr Met Phe Tyr Ser Thr Ser Asn Ile Lys Ile Gln Lys
1505 1510 1515

Val Cys Glu Gly Ala Thr Cys Lys Cys Ile Glu Ala Asp Cys Gly
1520 1525 1530

```
Gln Met  Gln Lys Glu Leu Asp  Leu Thr Ile Ser Ala  Glu Thr Arg
    1535                 1540                 1545

Lys Gln  Thr Ala Cys Asn Pro  Glu Ile Ala Tyr Ala  Tyr Lys Val
    1550                 1555                 1560

Ile Ile  Thr Ser Ile Thr Thr  Glu Asn Val Phe Val  Lys Tyr Lys
    1565                 1570                 1575

Ala Thr  Leu Leu Asp Ile Tyr  Lys Thr Gly Glu Ala  Val Ala Glu
    1580                 1585                 1590

Lys Asp  Ser Glu Ile Thr Phe  Ile Lys Lys Val Thr  Cys Thr Asn
    1595                 1600                 1605

Ala Glu  Leu Val Lys Gly Arg  Gln Tyr Leu Ile Met  Gly Lys Glu
    1610                 1615                 1620

Ala Leu  Gln Ile Lys Tyr Asn  Phe Thr Phe Arg Tyr  Ile Tyr Pro
    1625                 1630                 1635

Leu Asp  Ser Leu Thr Trp Ile  Glu Tyr Trp Pro Arg  Asp Thr Thr
    1640                 1645                 1650
```

[0235]

```
Cys Ser  Ser Cys Gln Ala Phe  Leu Ala Asn Leu Asp  Glu Phe Ala
    1655                 1660                 1665

Glu Asp  Ile Phe Leu Asn Gly  Cys
    1670                 1675
```

<210> 209
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0008H

<400> 209

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1               5                  10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60
```

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp 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 Gly Val His Ile Lys Tyr Met Ile Gln Tyr Tyr Tyr Gly Ala
100 105 110

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

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

<220>
<223> CFP0008L

<400> 210

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp
20 25 30

[0236]

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu 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 His Asp Gly Ser Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 211
<211> 127
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0011H

<400> 211

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp 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 Met Ser Glu Phe Leu Gly Trp Ser Asn Tyr Tyr Ser Tyr
100 105 110

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

[0237]

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

<220>
<223> CFP0011L

<400> 212

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr His 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 Asp Asn Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

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

<220>
<223> CFP0015H

<400> 213

Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

[0238] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Gln Ile Trp Tyr Asp Gln Trp Tyr Tyr Phe Asp Met
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 214
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0015L

<400> 214

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Ser Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 215
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0016H019

<400> 215

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

[0239]

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Pro Tyr Tyr Ser Tyr Pro Trp Ser Thr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 216
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0016L

<400> 216

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu 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 Ser Asn Asn Leu Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

[0240]

<210> 217
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0017H

<400> 217

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp 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 Gly Gly Trp Trp Gly Gly Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 218
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0017L

<400> 218

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr His Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0241] 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 Asp Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 219
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H

<400> 219

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp 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 Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 220
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018L

<400> 220

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

[0242]

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 221
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0019H

<400> 221

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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Val Trp Leu Gly Gly Pro Thr Tyr Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

[0243]

<210> 222
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0019L

<400> 222

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr His 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 Ser Asp Gly Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 223
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H

<400> 223

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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

[0244] Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr Ser Thr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 224
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L

<400> 224

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 225
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0021H

<400> 225

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

[0245]

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His
20 25 30

Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Met Met Tyr Trp Gly Ile Phe Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 226
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0021L

<400> 226

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr His 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 His Asp Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

[0246]

<210> 227
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> G1dP1

<400> 227

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

```
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
                100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220
```

[0247]

```
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu
225                 230                 235                 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 228
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> G1dN1

<400> 228

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

[0248]

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 229
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-G1dP1_优化的20重链

[0249]

<400> 229

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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

[0250] Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 230
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-G1dN1_优化的18重链

<400> 230

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

[0251]

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

```
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285
```

[0252]

```
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415
```

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 231
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-k0_优化的20//18轻链

<400> 231

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0253]

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 His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 232
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-001-G1dP1

<400> 232

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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Arg Gly Lys Arg Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
[0254] 50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

[0255] Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 233
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-002-G1dP1

<400> 233

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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Arg Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Arg Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

[0256]

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

```
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350
```

[0257]

```
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro
    450
```

<210> 234
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-003-G1dP1

<400> 234

```
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1               5                  10                  15

Thr Arg Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
            20                  25                  30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110
```

[0258]

```
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240
```

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

[0259] Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 235
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-005-G1dP1

<400> 235

```
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Arg Glu
1               5                  10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
            20                  25                  30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125
```

[0260]

```
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270
```

```
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400
```

[0261]

```
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro
    450
```

<210> 236
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-008-G1dP1

<400> 236

```
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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Arg
            20                  25                  30
```

```
Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160
```

[0262]

```
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285
```

```
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415
```

[0263]

```
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro
    450
```

<210> 237
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-009-G1dP1

<400> 237

```
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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
            20                  25                  30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45
```

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

[0264] Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

```
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445
```

[0265]

```
Ser Pro
    450
```

<210> 238
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-013-G1dP1

<400> 238

```
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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
            20                  25                  30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Arg
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80
```

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

[0266]

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

```
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro
    450
```

[0267]

<210> 239
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-018-G1dP1

<400> 239

```
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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
            20                  25                  30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Arg Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
                100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220
```

[0268]

```
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365
```

```
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro
    450
```

<210> 240
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-019-G1dP1

[0269]

<400> 240

```
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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
            20                  25                  30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Lys Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125
```

```
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255
```

[0270]

```
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380
```

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 241
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-020-G1dP1

<400> 241

[0271]

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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Asn Arg Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

[0272] His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 242
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-021-G1dP1

<400> 242

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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

[0273]

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Gly Arg Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

```
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300
```

[0274]

```
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430
```

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 243
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-022-G1dP1

<400> 243

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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60

[0275]

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Arg Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

[0276] Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 244
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-023-G1dP1

<400> 244

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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Arg Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0277] 85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

```
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350
```

[0278]

```
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro
    450
```

<210> 245
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-025-G1dP1

<400> 245

```
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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
            20                  25                  30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Gly Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110
```

[0279]

```
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240
```

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

[0280] Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 246
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-026-G1dP1

<400> 246

```
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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
            20                  25                  30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Lys Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125
```

[0281]

```
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270
```

```
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400
```

[0282]

```
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro
    450
```

<210> 247
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-032-G1dP1

<400> 247

```
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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
            20                  25                  30
```

```
Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Lys Ser Arg Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160
```

[0283]

```
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285
```

```
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415
```

[0284]

```
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro
    450
```

<210> 248
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-035-G1dP1

<400> 248

```
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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
            20                  25                  30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45
```

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Arg Val Arg Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

[0285] Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

```
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445
```

[0286]

```
Ser Pro
    450
```

<210> 249
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-036-G1dP1

<400> 249

```
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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
            20                  25                  30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80
```

Leu Lys Leu Ser Ser Val Arg Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

[0287]

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

```
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro
    450
```

[0288]

<210> 250
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020H0261-037-G1dP1

<400> 250

```
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 Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
            20                  25                  30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65                  70                  75                  80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
                100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220
```

[0289]

```
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365
```

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 251
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-002-G1dN1

[0290]

<400> 251

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Arg Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

```
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255
```

[0291]

```
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380
```

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 252
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-003-G1dN1

<400> 252

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Arg Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

[0292]

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

[0293] Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 253
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-005-G1dN1

<400> 253

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Arg Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

[0294]

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

[0295]

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 254
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-008-G1dN1

<400> 254

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Arg
            20                  25                  30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110
```

[0296]

```
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240
```

```
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365
```

[0297]

```
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 255
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-009-G1dN1

<400> 255

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1               5                   10                  15
```

```
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Lys Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp 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 Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140
```

[0298]

```
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285
```

```
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415
```

[0299]

```
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 256
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-013-G1dN1

<400> 256

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Arg
    50                  55                  60
```

```
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190
```

[0300]

```
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320
```

```
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

[0301]

<210> 257
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-014-G1dN1

<400> 257

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

[0302] Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 258
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-016-G1dN1

<400> 258

[0303]

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Arg
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

```
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270
```

[0304]

```
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400
```

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 259
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-018-G1dN1

<400> 259

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

[0305]

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Arg 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 Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

[0306] Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 260
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-019-G1dN1

<400> 260

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Lys Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

[0307]

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

```
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350
```

[0308]

```
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 261
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-020-G1dN1

<400> 261

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

[0309]

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

```
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380
```

[0310]

```
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

<210>  262
<211>  447
<212>  PRT
<213>  人工序列

<220>
<223>  CFP0018H0012-021-G1dN1

<400>  262

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Gly Arg Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

[0311] Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

[0312]

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 263
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-022-G1dN1

<400> 263

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

```
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205
```

[0313]

```
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335
```

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

[0314]

<210> 264
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-023-G1dN1

<400> 264

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Arg Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

[0315] Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 265
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-024-G1dN1

<400> 265

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

[0316]

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

```
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285
```

[0317]

```
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415
```

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 266
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-025-G1dN1

<400> 266

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

[0318]

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Gly Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

[0319] Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 267
<211> 447

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-026-G1dN1

<400> 267

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

[0320] Lys Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

[0321]

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 268
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-027-G1dN1

<400> 268

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

```
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Arg Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140
```

[0322]

```
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270
```

```
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400
```

[0323]

```
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 269
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-032-G1dN1

<400> 269

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Lys Ser Arg Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

[0324]

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

```
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

[0325]

<210> 270
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0018H0012-037-G1dN1

<400> 270

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser 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 Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
                100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220
```

[0326]

```
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350
```

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 271
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-001-k0

[0327]

<400> 271

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Lys
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu 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 His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 272
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-002-k0

[0328]

<400> 272

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 Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu 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 His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 273
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-003-k0

[0329]

<400> 273

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 Arg Arg Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu 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 His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 274
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-004-k0

[0330]

<400> 274

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Lys Glu Leu Gln Lys 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 His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 275
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-005-k0

[0331]

<400> 275

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 276
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-006-k0

[0332]

<400> 276

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu 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 Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 277
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-007-k0

[0333]

<400> 277

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 Lys Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu 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 His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

```
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 278
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-008-k0

[0334]

<400> 278

```
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 Lys Lys Gln Ser Ile His Asn Asp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Glu Ala Ser Glu 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 His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
```

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 279
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-009-k0

[0335]

<400> 279

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu 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 His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 280
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-010-k0

[0336]

<400> 280

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu 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 His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 281
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-011-k0

[0337]

<400> 281

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Lys Glu Ala Ser Glu 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 His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 282
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-012-k0

[0338]

<400> 282

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg 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 His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 283
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-013-k0

[0339]

<400> 283

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

```
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 284
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-016-k0

[0340]

<400> 284

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
```

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 285
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-017-k0

[0341]

<400> 285

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Lys Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 286
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-018-k0

[0342]

<400> 286

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 287
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-019-k0

[0343]

<400> 287

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 288
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-021-k0

[0344]

<400> 288

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 Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu 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 Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 289
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-022-k0

[0345]

<400> 289

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu 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 Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 290
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-023-k0

[0346]

<400> 290

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Lys Glu Ala Ser Glu 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 Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 291
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-024-k0

[0347]

<400> 291

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 292
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-025-k0

[0348]

<400> 292

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 293
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-027-k0

[0349]

<400> 293

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 Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 294
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-028-k0

[0350]

<400> 294

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 295
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-029-k0

[0351]

<400> 295

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 296
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-031-k0

[0352]

<400> 296

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 Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 297
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-032-k0

[0353]

<400> 297

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

```
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 298
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-034-k0

[0354]

<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 Arg Ser Ile His Asn Asp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
```

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 299
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-036-k0

[0355]

<400> 299

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 Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu 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 Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 300
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-037-k0

[0356]

<400> 300

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 301
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-038-k0

[0357]

<400> 301

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 302
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-040-k0

[0358]

<400> 302

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 Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 303
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-041-k0

[0359]

<400> 303

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 304
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-043-k0

[0360]

<400> 304

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 Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 305
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-044-k0

[0361]

<400> 305

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu 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 Arg Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 306
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CFP0020L233-045-k0

[0362]

<400> 306

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 307
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1394m

[0363]

<400> 307

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

```
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255
```

[0364]

```
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Lys Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400
```

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 308
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1398m

<400> 308

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

[0365]

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

[0366]

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 309
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1466m

<400> 309

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

[0367]

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

[0368] Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 310
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> Ab1H-P1468m

<400> 310

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

[0369] Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

[0370]

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 311
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1469m

<400> 311

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

```
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
        35                  40                  45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160
```

[0371]

```
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285
```

```
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Lys Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415
```

[0372]

```
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 312
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1470m

<400> 312

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
            20                  25                  30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
        35                  40                  45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
    50                  55                  60
```

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

[0373] Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Arg Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

[0374]

<210> 313
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1471m

<400> 313

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

```
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240
```

[0375]

```
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365
```

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Lys Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 314
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1480m

<400> 314

[0376]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

[0377] Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Arg Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 315
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1481m

<400> 315

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

[0378]

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

[0379]

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Lys Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 316
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1482m

<400> 316

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
[0380] 85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

[0381] Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 317
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1483m

<400> 317

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
            20                  25                  30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
        35                  40                  45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125
```

[0382]

```
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270
```

```
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Lys Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400
```

[0383]

```
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 318
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1512m

<400> 318

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
            20                  25                  30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
        35                  40                  45
```

```
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175
```

[0384]

```
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300
```

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Arg Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

[0385]

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 319
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1513m

<400> 319

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

[0386] Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Lys Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 320
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1514m

[0387]

<400> 320

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

```
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255
```

[0388]

```
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380
```

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Arg Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 321
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1515m

<400> 321

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

[0389]

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

[0390] Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Lys Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 322
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ab1H-P1653m

<400> 322

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

[0391]

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

```
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335
```

[0392]

```
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Arg Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 323
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> F8M-F1847mv1

<400> 323

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
            20                  25                  30

Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
            100                 105                 110
```

[0393]

```
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
    210                 215                 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Arg Gly
225                 230                 235                 240
```

```
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365
```

[0394]

```
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

<210>  324
<211>  444
<212>  PRT
<213>  人工序列

<220>
<223>  F8M-F1847mv2

<400>  324

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15
```

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

[0395]

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

```
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
    290                 295                 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305                 310                 315                 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
                325                 330                 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
            340                 345                 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
        355                 360                 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
    370                 375                 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385                 390                 395                 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
                405                 410                 415
```

[0396]

```
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
            420                 425                 430

Ala His Thr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440
```

<210> 325
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> F8ML

<400> 325

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Gln
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
```

Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Asp Pro 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

[0397]

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 326
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> F8M-F1868mv1

<400> 326

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190
```

[0398]

```
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
    210                 215                 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Arg Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320
```

```
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

[0399]

<210> 327
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> F8M-F1868mv1

<400> 327

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
            20                  25                  30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
    50                  55                  60

Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
                85                  90                  95
```

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

[0400] Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
420 425 430

Ala His Thr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 328
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> F8M-F1927mv1

<400> 328

[0401]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

```
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
    210                 215                 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Arg Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
            260                 265                 270
```

[0402]

```
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400
```

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His
420 425 430

Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 329
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> F8M-F1927mv2

<400> 329

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

[0403]

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

[0404]

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
420 425 430

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 330
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Q499-z121

<400> 330

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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

[0405]

Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

```
Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350
```

[0406]

```
Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
```

<210> 331
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> J327-z119

<400> 331

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

[0407]

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

[0408]

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 332
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> L404-k

<400> 332

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Gln
20 25 30

```
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Asp Pro 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
```

[0409]

```
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
```

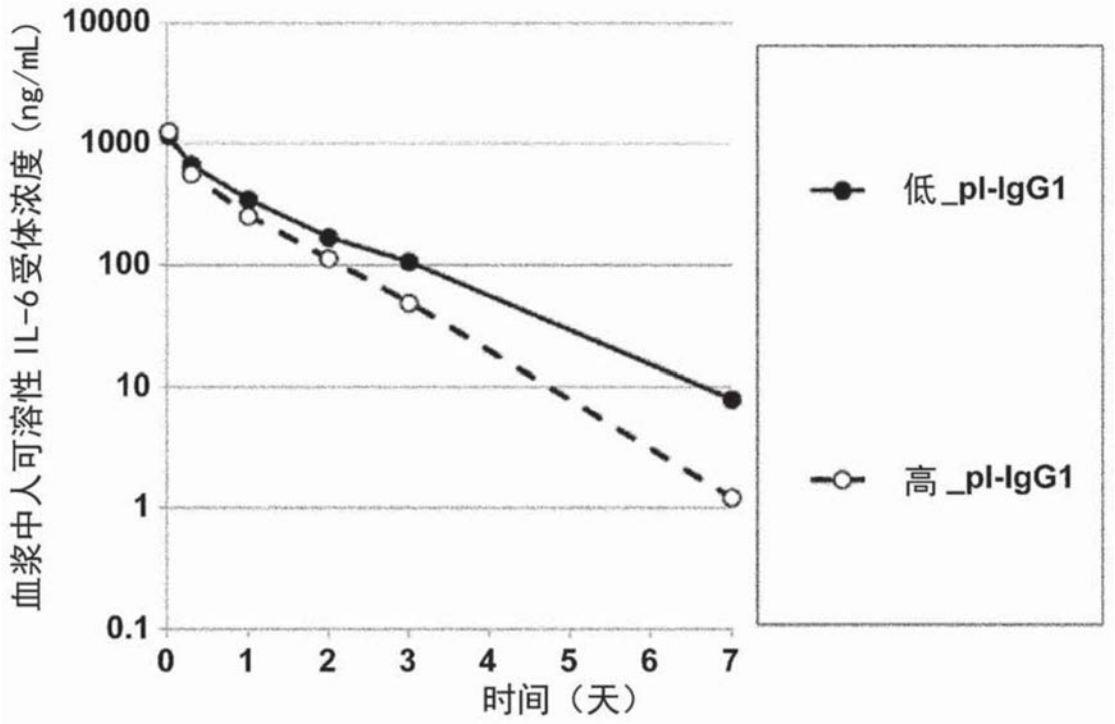

血浆中人可溶性 IL-6受体浓度（ng/mL）
10000
1000
100
10
1
0.1
0
1
2
3
4
5
6
7
时间（天）
低 _pI-IgG1
高 _pI-IgG1

图1

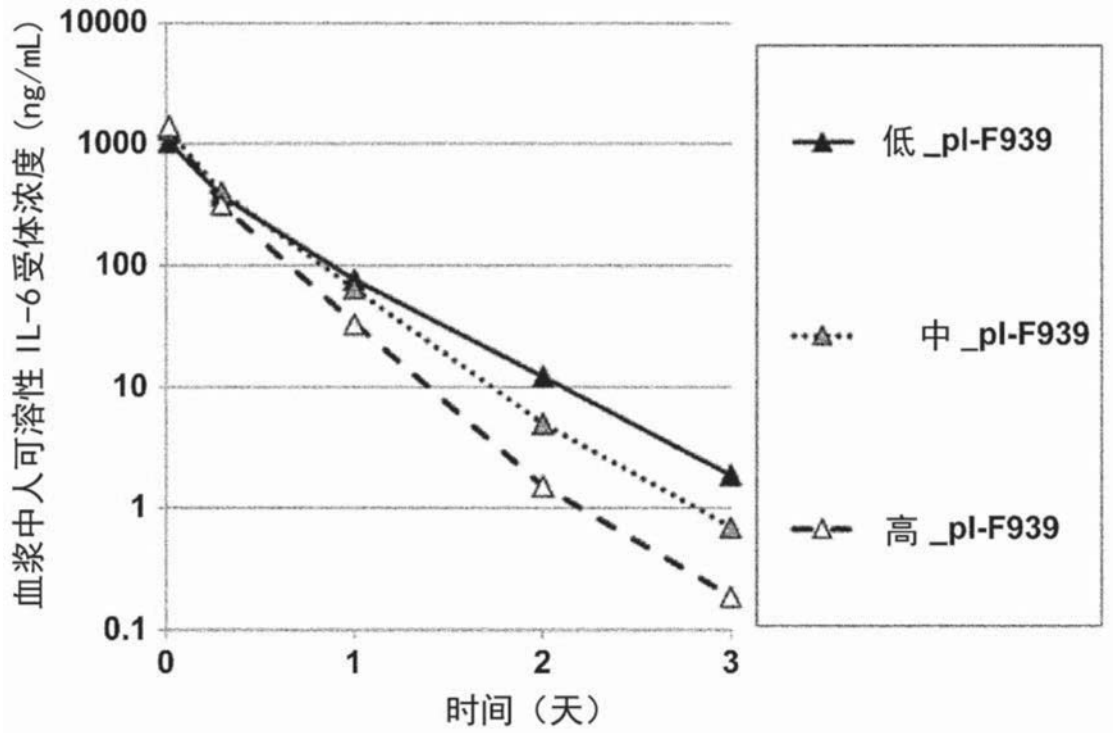

血浆中人可溶性 IL-6受体浓度（ng/mL）
10000
1000
100
10
1
0.1
0
1
2
3
时间（天）
低 _pI-F939
中 _pI-F939
高 _pI-F939

图2

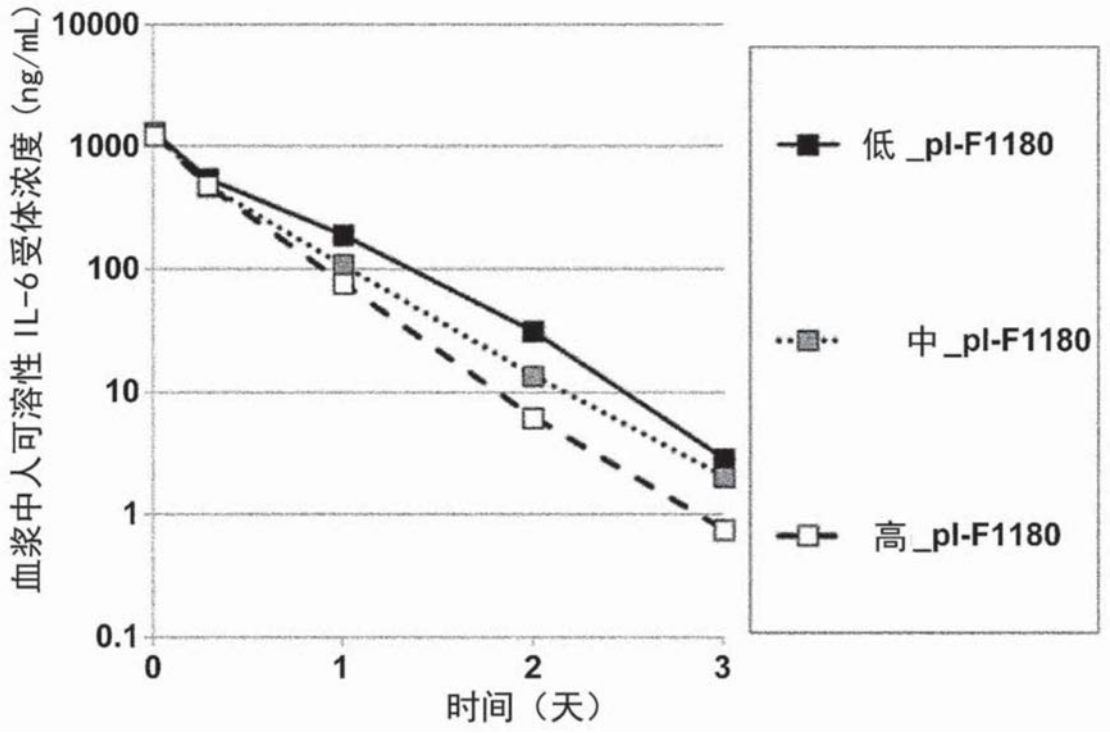

血浆中人可溶性 IL-6受体浓度（ng/mL）
10000
1000
100
10
1
0.1
0
1
2
3
时间（天）
低 _pI-F1180
中 _pI-F1180
高 _pI-F1180

图3

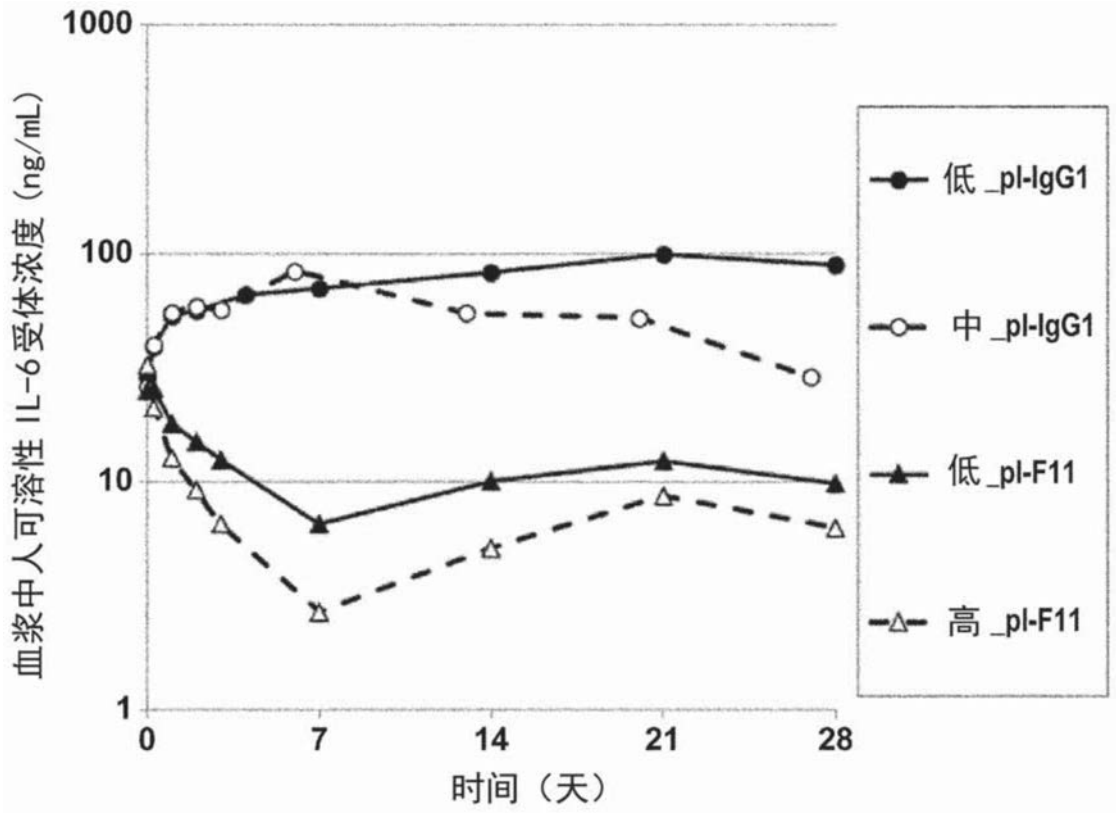

血浆中人可溶性 IL-6受体浓度（ng/mL）
1000
100
10
1
0
7
14
21
28
时间（天）
低 _pI-IgG1
中 _pI-IgG1
低 _pI-F11
高 _pI-F11

图4

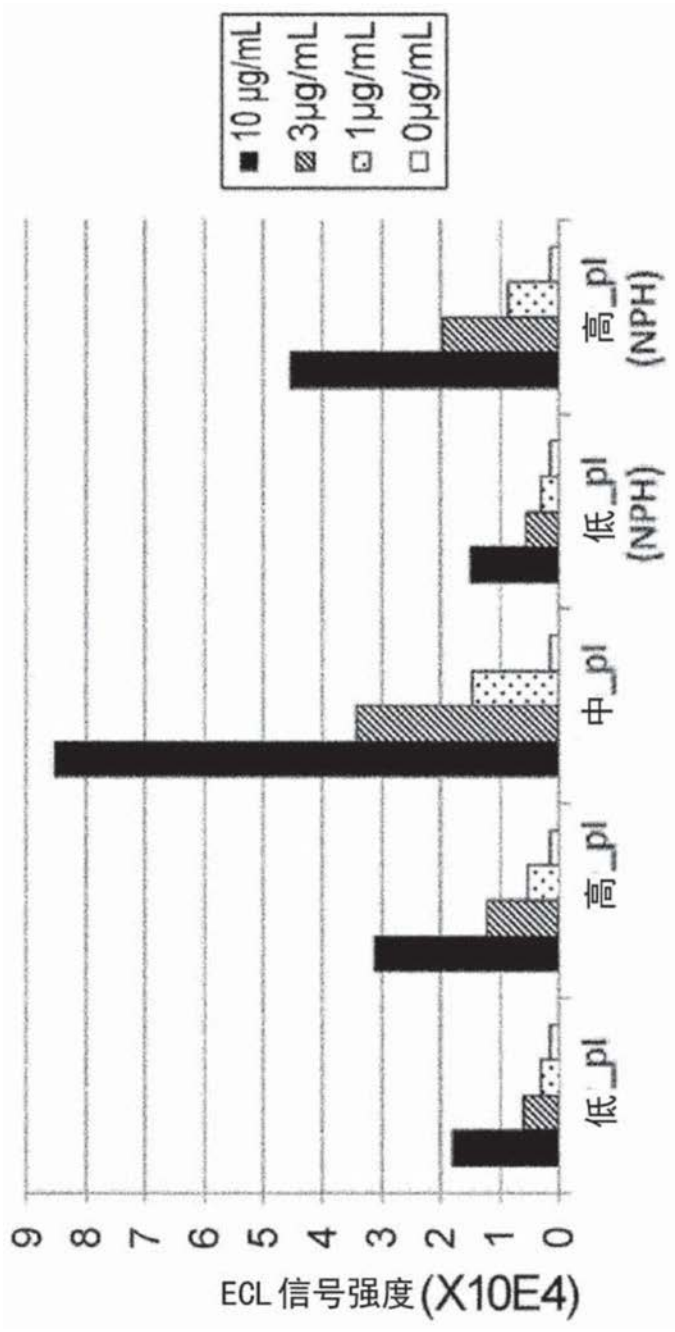

10 μg/mL
3μg/mL
1μg/mL
0μg/mL
高_pI (NPH)
低_pI (NPH)
中_pI
高_pI
低_pI
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
ECL 信号强度(X10E4)

图5

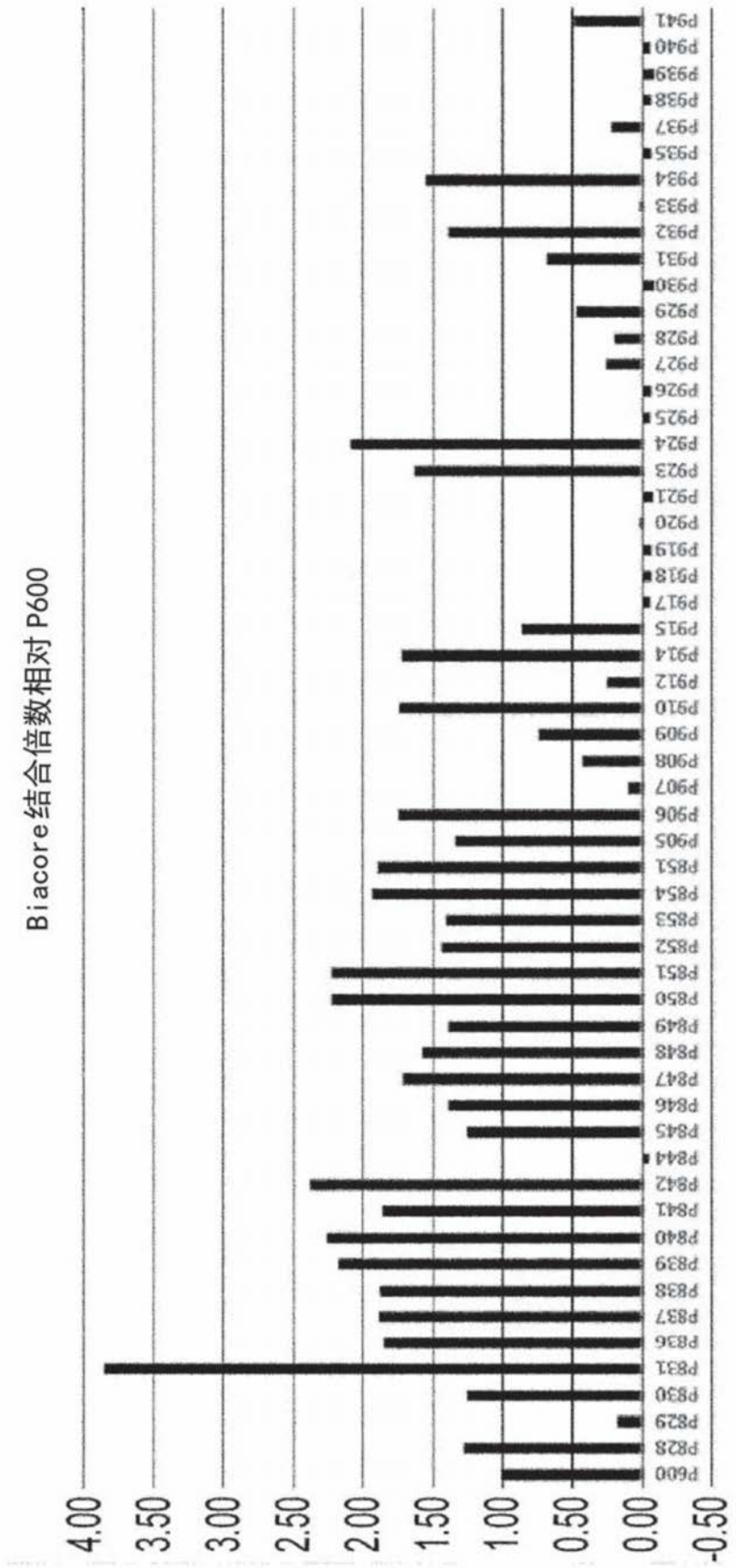

Biacore结合倍数相对 P600
4.00
3.50
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
-0.50
P941
P940
P939
P938
P937
P935
P934
P933
P932
P931
P930
P929
P928
P927
P926
P925
P924
P923
P921
P920
P919
P918
P917
P915
P914
P912
P910
P909
P908
P907
P906
P905
P851
P854
P853
P852
P851
P850
P849
P848
P847
P846
P845
P844
P842
P841
P840
P839
P838
P837
P836
P831
P830
P829
P828
P600

图6

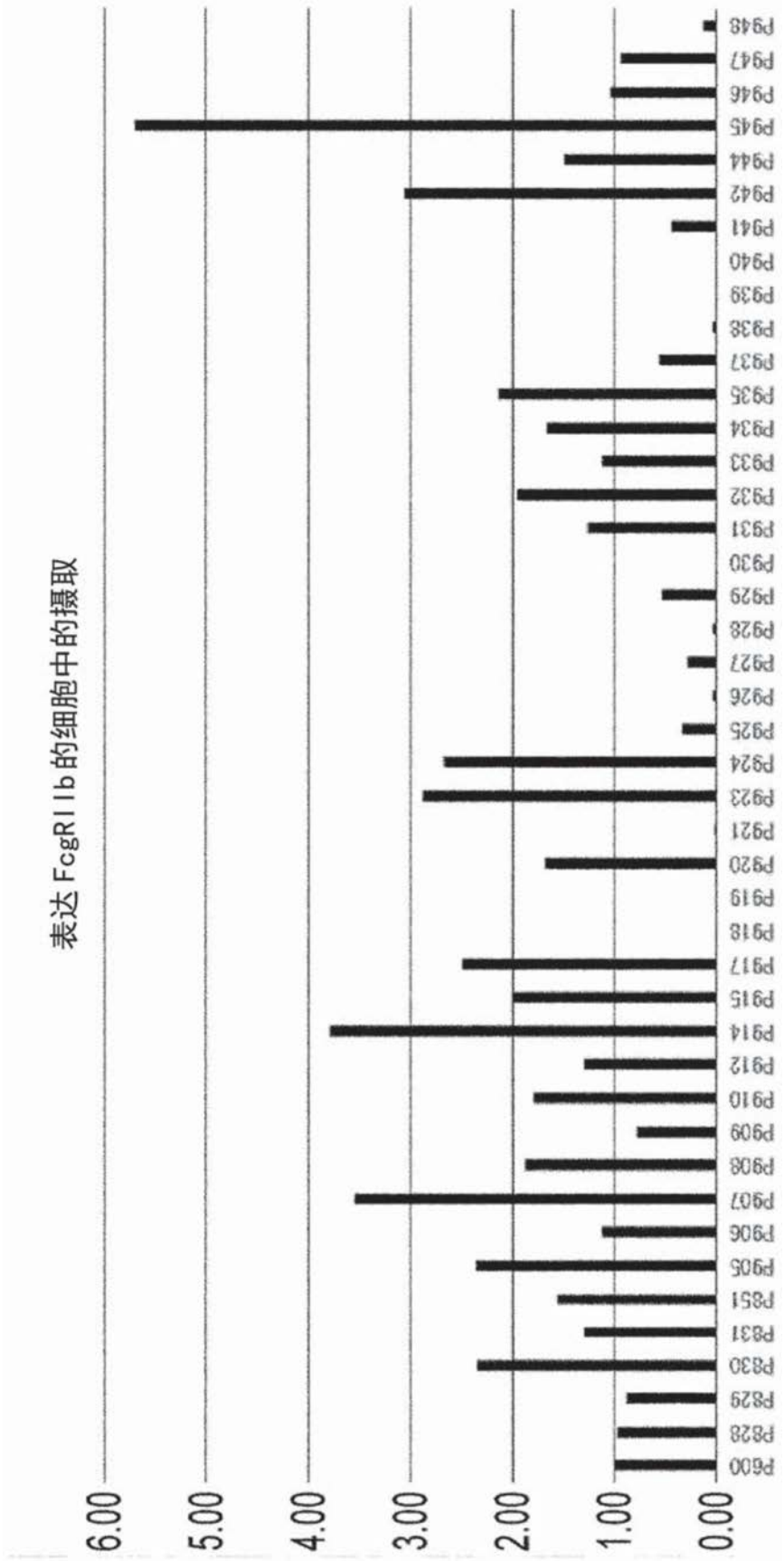

表达 FcgRIIb的细胞中的摄取
6.00
5.00
4.00
3.00
2.00
1.00
0.00
P948
P947
P946
P945
P944
P942
P941
P940
P939
P938
P937
P935
P934
P933
P932
P931
P930
P929
P928
P927
P926
P925
P924
P923
P921
P920
P919
P918
P917
P915
P914
P912
P910
P909
P908
P907
P906
P905
P851
P831
P830
P829
P828
P600

图7

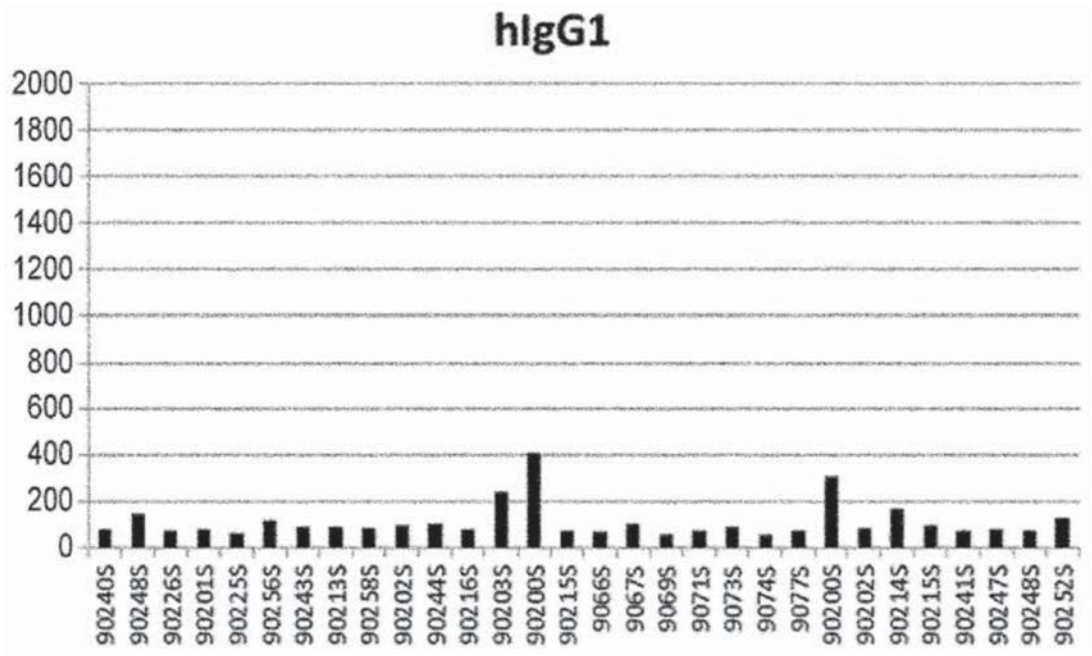

hIgG1
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
90240S
90248S
90226S
90201S
90225S
90256S
90243S
90213S
90258S
90202S
90244S
90216S
90203S
90200S
90215S
90666S
90675
90695
90715
90735
90745
90775
90200S
90202S
90214S
90215S
90241S
90247S
90248S
90252S

图8

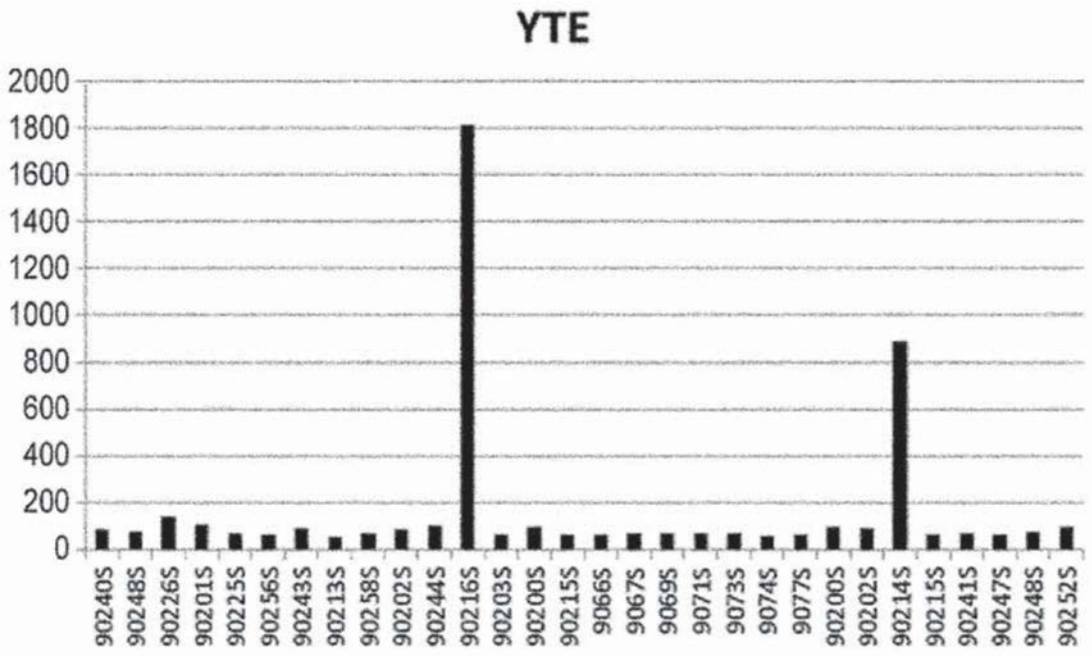

YTE
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
90240S
90248S
90226S
90201S
90225S
90256S
90243S
90213S
90258S
90202S
90244S
90216S
90203S
90200S
90215S
90666S
90675
90695
90715
90735
90745
90775
90200S
90202S
90214S
90215S
90241S
90247S
90248S
90252S

图9

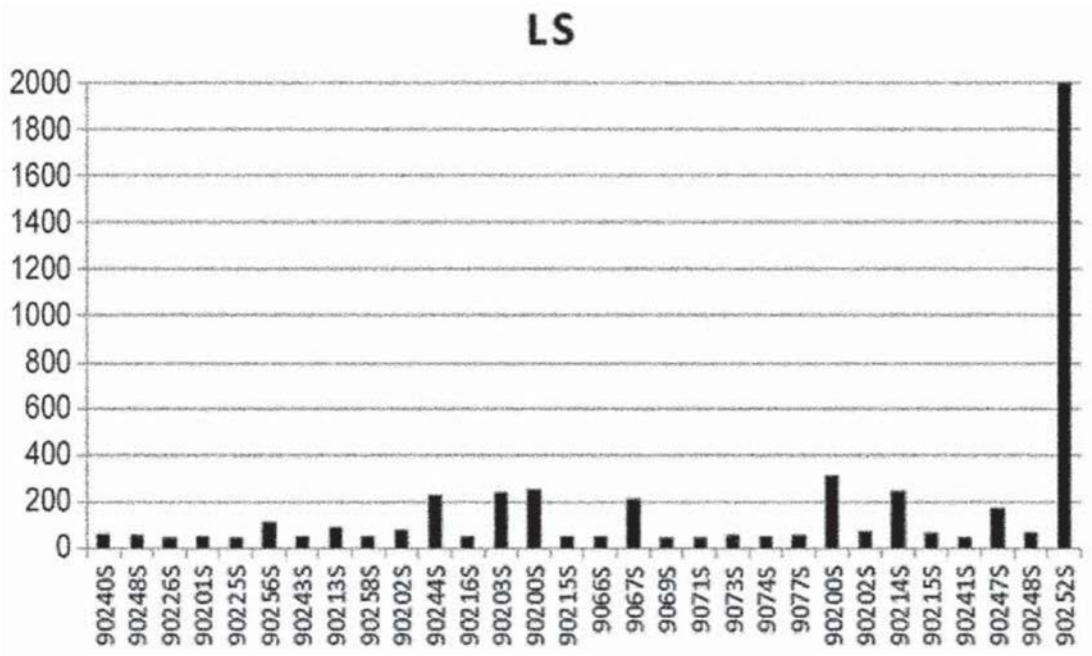

LS
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
90240S
90248S
90226S
90201S
90225S
90256S
90243S
90213S
90258S
90202S
90244S
90216S
90203S
90200S
90215S
90066S
90675
90695
90715
90735
90745
90775
90200S
90202S
90214S
90215S
90241S
90247S
90248S
90252S

图10

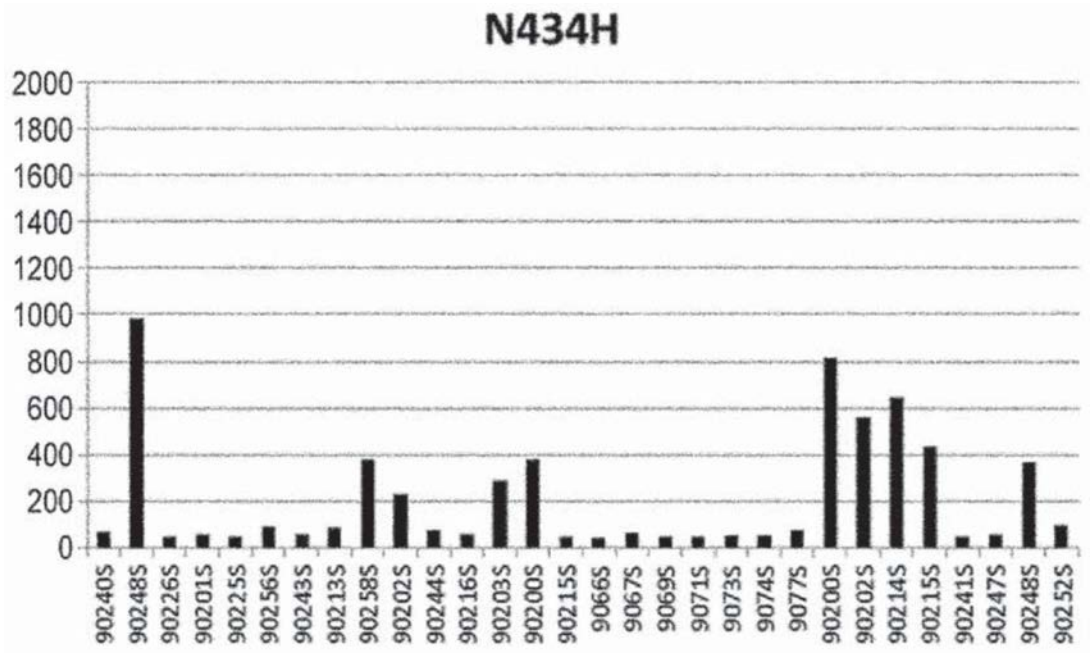

N434H
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
90240S
90248S
90226S
90201S
90225S
90256S
90243S
90213S
90258S
90202S
90244S
90216S
90203S
90200S
90215S
90066S
90675
90695
90715
90735
90745
90775
90200S
90202S
90214S
90215S
90241S
90247S
90248S
90252S

图11

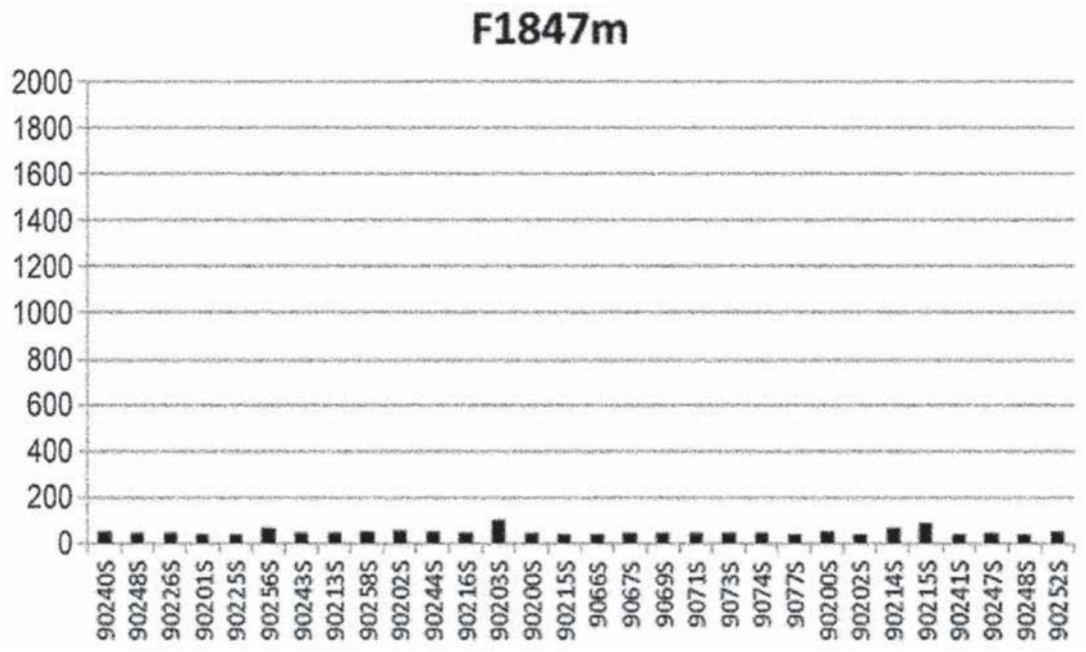

F1847m
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
90240S
90248S
90226S
90201S
90225S
90256S
90243S
90213S
90258S
90202S
90244S
90216S
90203S
90200S
90215S
90066S
90675
90695
90715
90735
90745
90775
90200S
90202S
90214S
90215S
90241S
90247S
90248S
90252S

图12

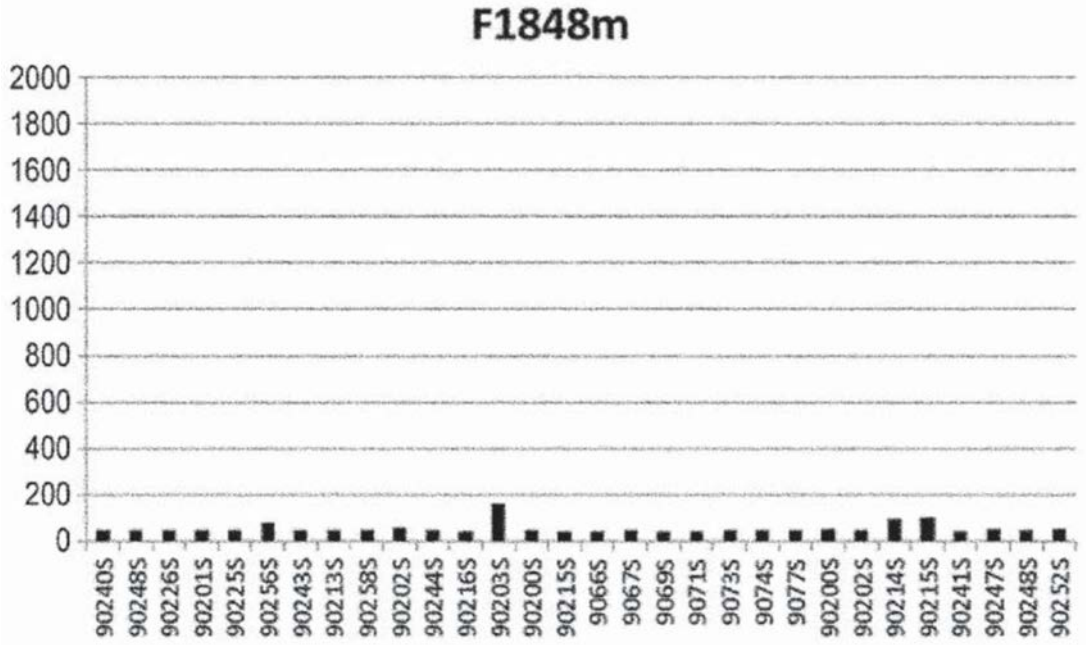

F1848m
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
90240S
90248S
90226S
90201S
90225S
90256S
90243S
90213S
90258S
90202S
90244S
90216S
90203S
90200S
90215S
90066S
90675
90695
90715
90735
90745
90775
90200S
90202S
90214S
90215S
90241S
90247S
90248S
90252S

图13

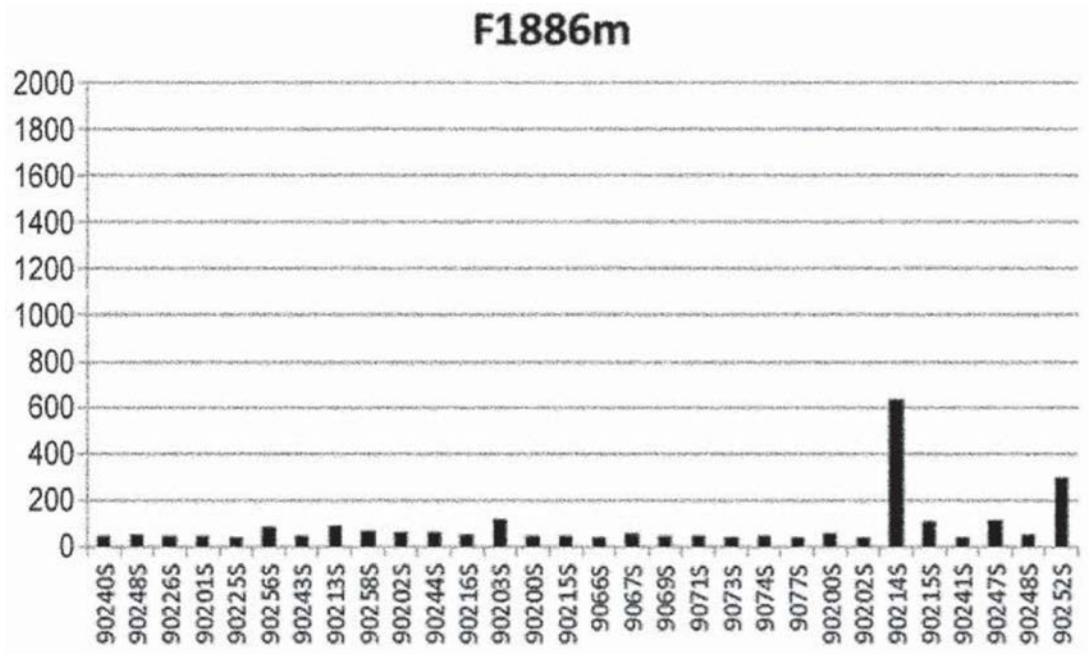

F1886m
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
90240S
90248S
90226S
90201S
90225S
90256S
90243S
90213S
90258S
90202S
90244S
90216S
90203S
90200S
90215S
9066S
9067S
9069S
9071S
9073S
9074S
9077S
90200S
90202S
90214S
90215S
90241S
90247S
90248S
90252S

图14

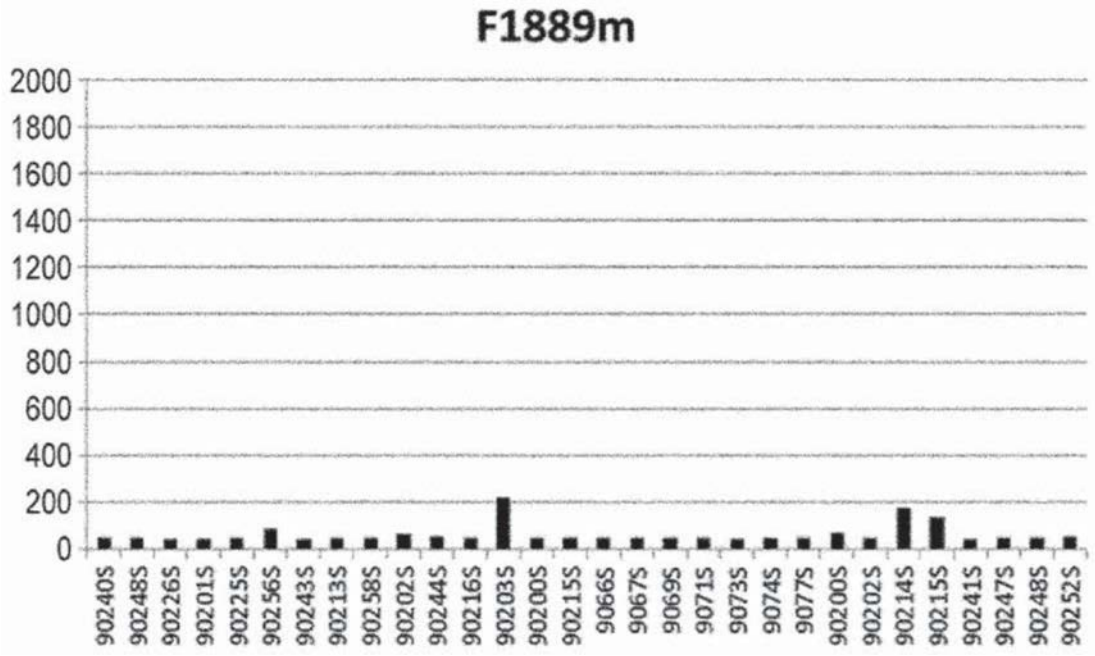

F1889m
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
90240S
90248S
90226S
90201S
90225S
90256S
90243S
90213S
90258S
90202S
90244S
90216S
90203S
90200S
90215S
9066S
9067S
9069S
9071S
9073S
9074S
9077S
90200S
90202S
90214S
90215S
90241S
90247S
90248S
90252S

图15

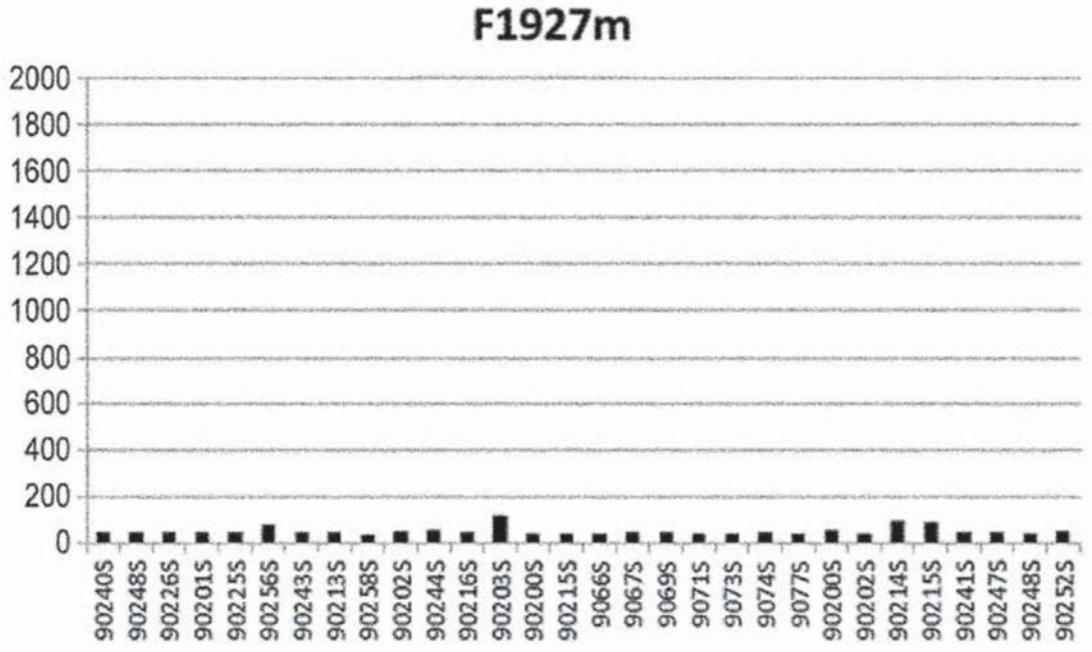

F1927m
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
90240S
90248S
90226S
90201S
90225S
90256S
90243S
90213S
90258S
90202S
90244S
90216S
90203S
90200S
90215S
90066S
90067S
90069S
90071S
90073S
90074S
90077S
90200S
90202S
90214S
90215S
90241S
90247S
90248S
90252S

图16

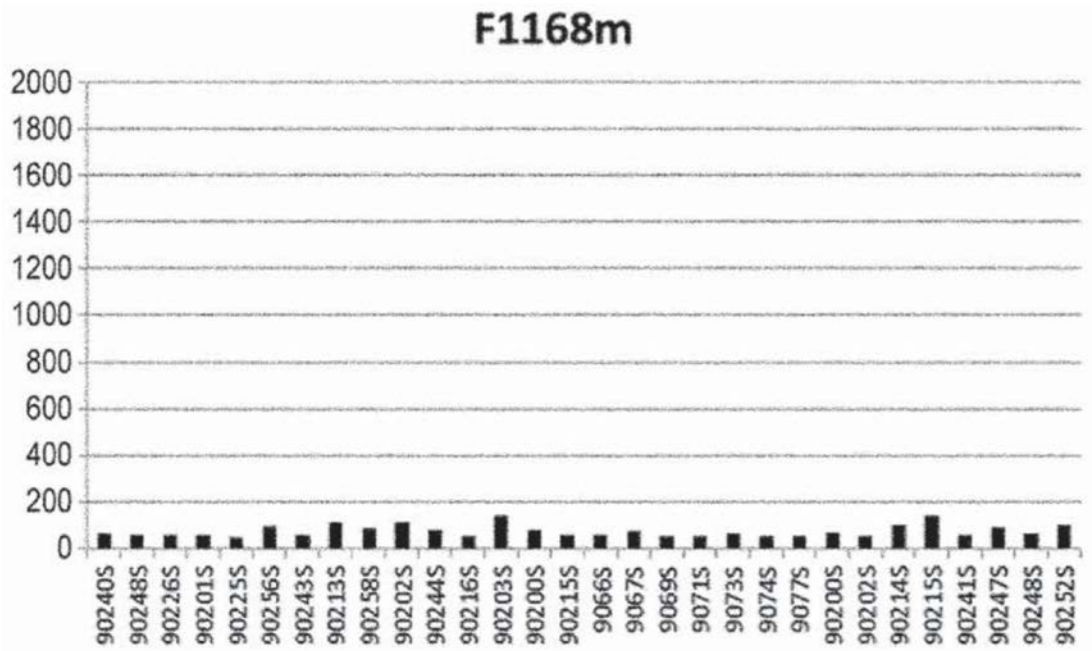

F1168m
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
90240S
90248S
90226S
90201S
90225S
90256S
90243S
90213S
90258S
90202S
90244S
90216S
90203S
90200S
90215S
90066S
90067S
90069S
90071S
90073S
90074S
90077S
90200S
90202S
90214S
90215S
90241S
90247S
90248S
90252S

图17

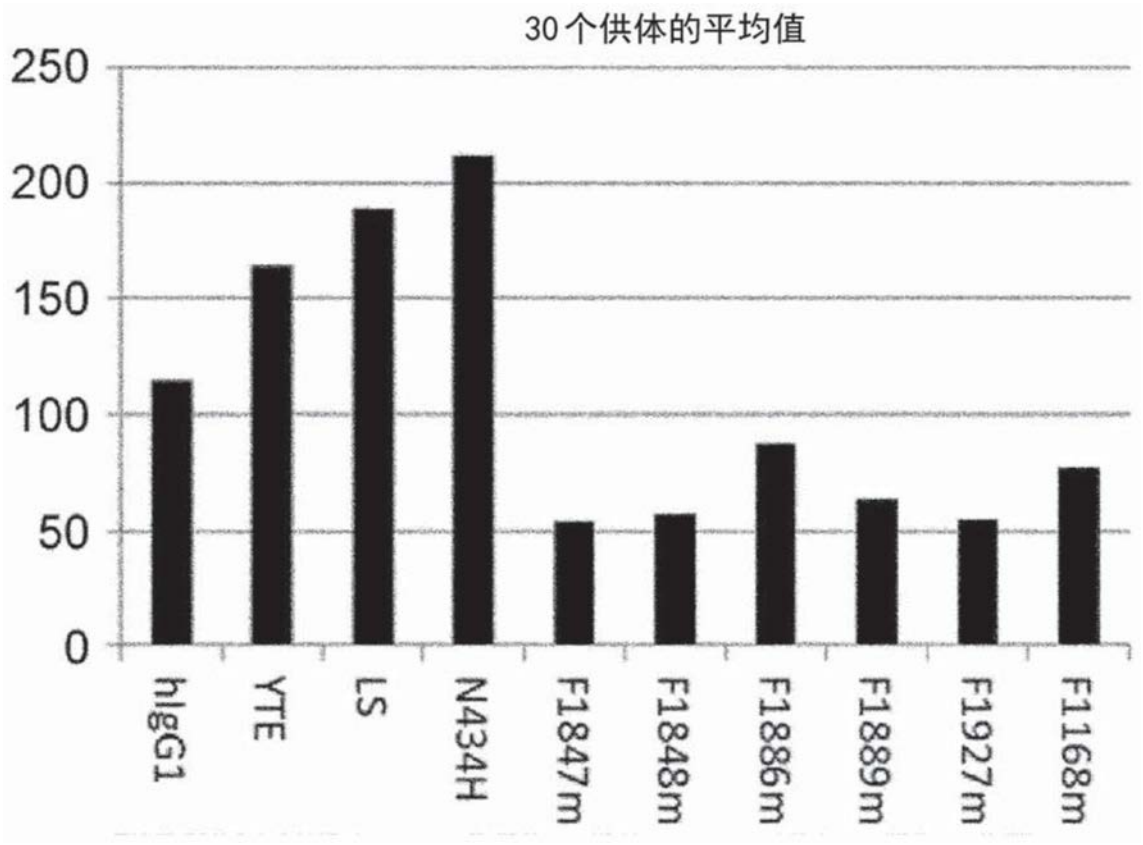

30个供体的平均值
250
200
150
100
50
0
hIgG1
YTE
LS
N434H
F1847m
F1848m
F1886m
F1889m
F1927m
F1168m

图18

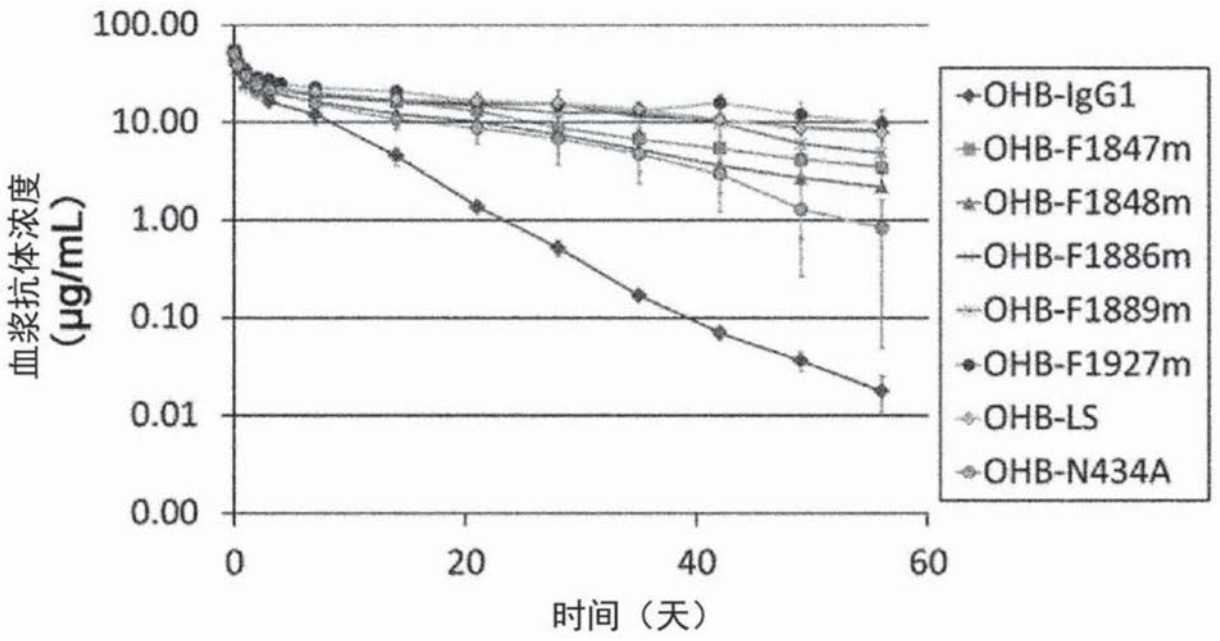

100.00
10.00
1.00
0.10
0.01
0.00
血浆抗体浓度 (μg/mL)
0
20
40
60
时间（天）
OHB-IgG1
OHB-F1847m
OHB-F1848m
OHB-F1886m
OHB-F1889m
OHB-F1927m
OHB-LS
OHB-N434A

图19

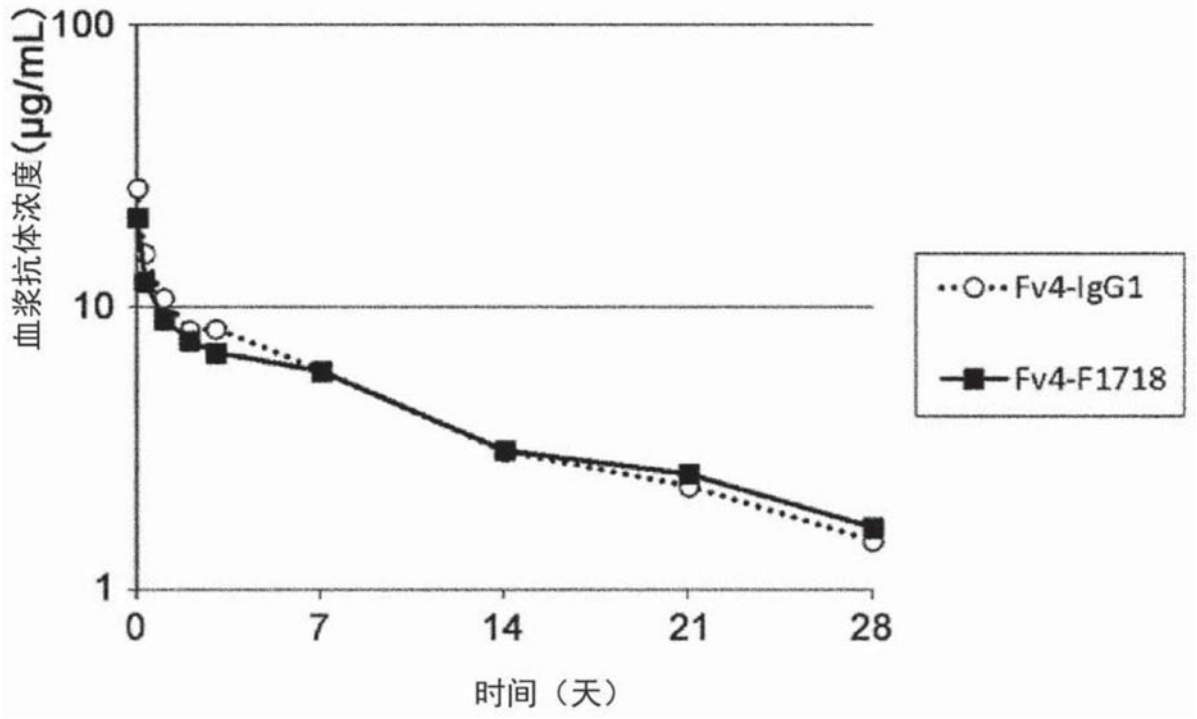


图20

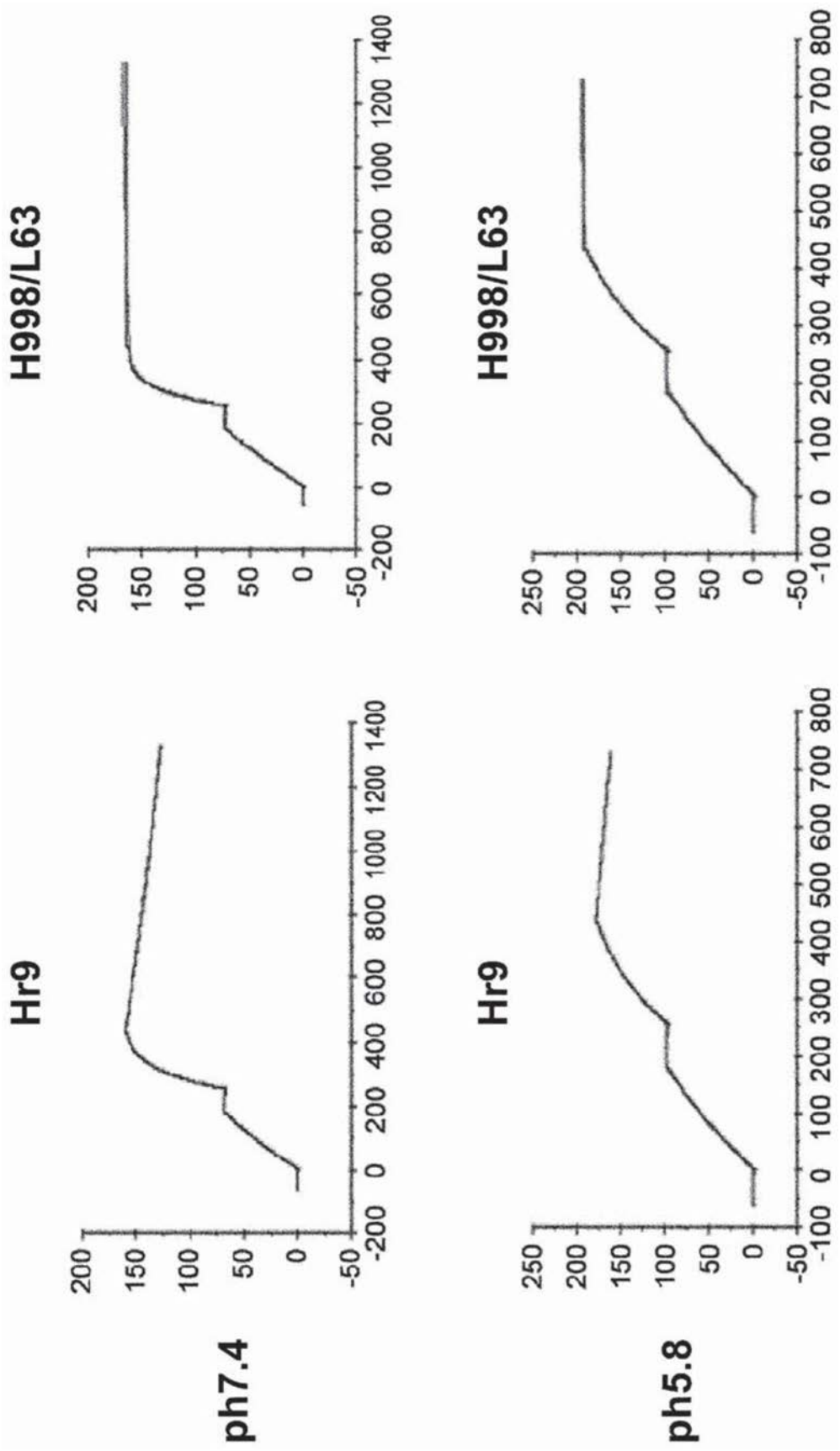


图21

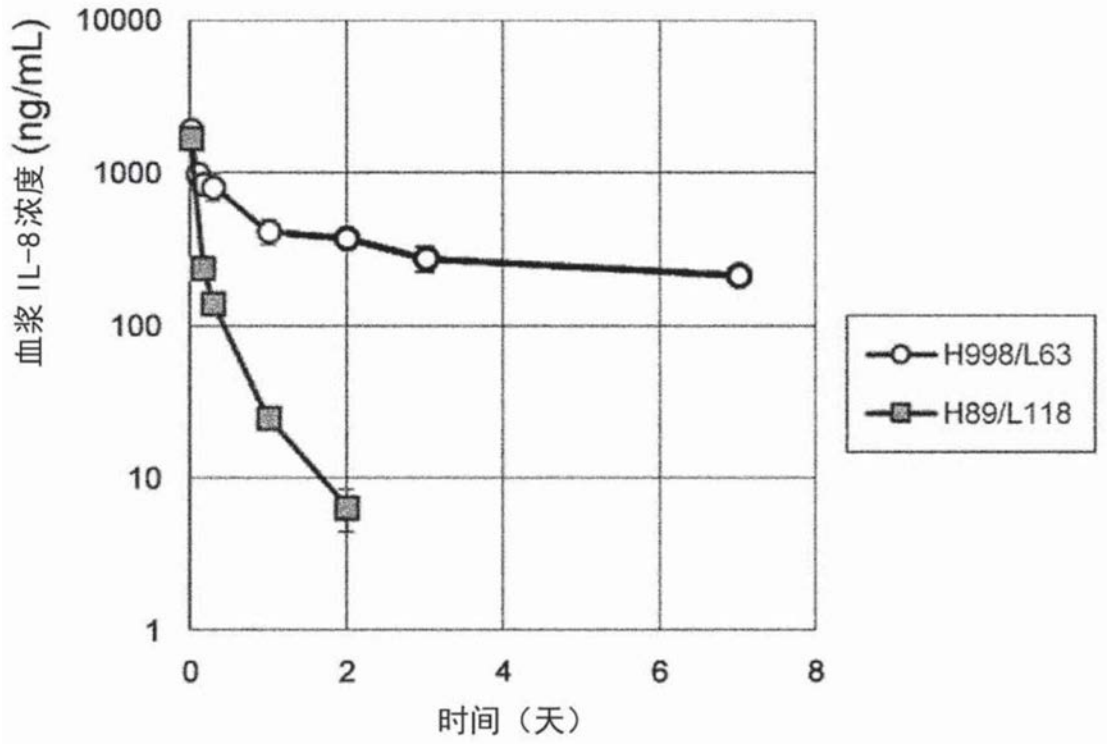

血浆 IL-8浓度 (ng/mL)
10000
1000
100
10
1
0
2
4
6
8
时间（天）
H998/L63
H89/L118

图22

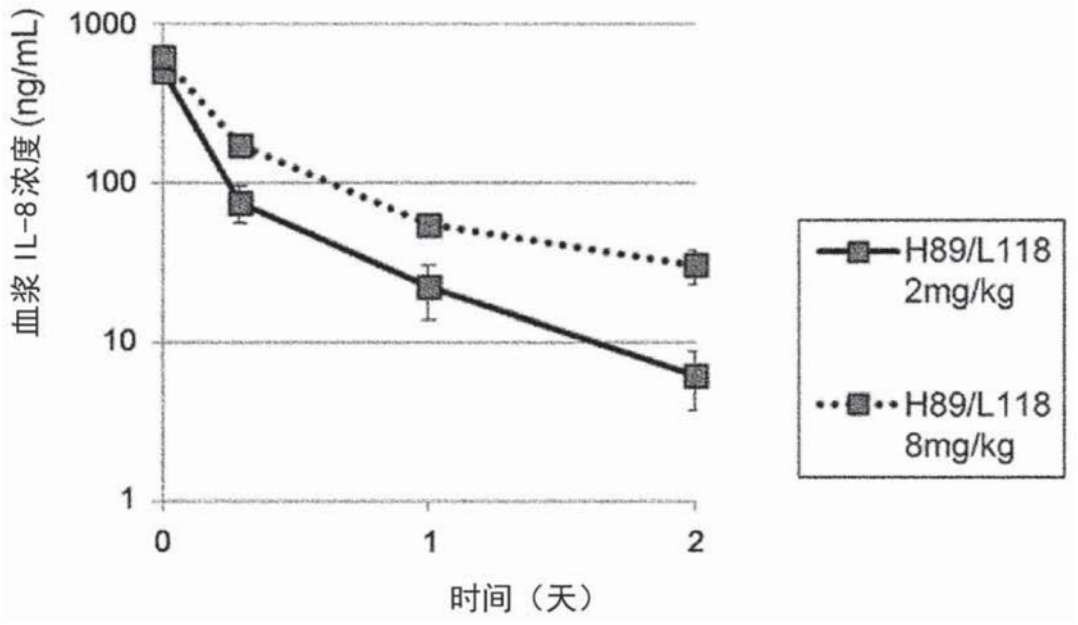

血浆 IL-8浓度 (ng/mL)
1000
100
10
1
0
1
2
时间（天）
H89/L118
2mg/kg
H89/L118
8mg/kg

图23

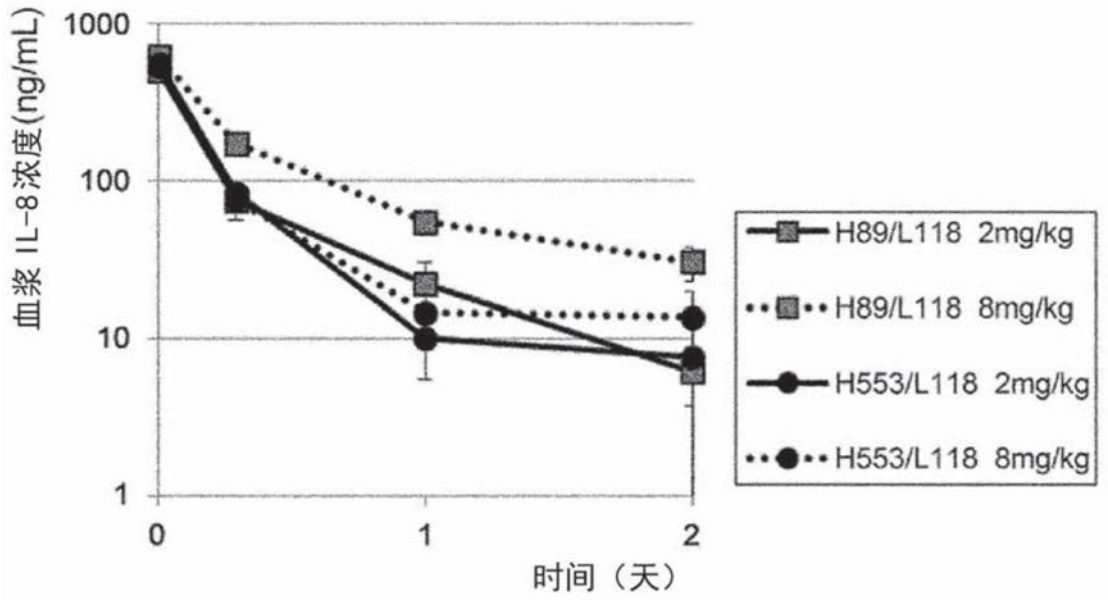

血浆 IL-8浓度(ng/mL)
1000
100
10
1
0
1
2
时间（天）
H89/L118 2mg/kg
H89/L118 8mg/kg
H553/L118 2mg/kg
H553/L118 8mg/kg

图24

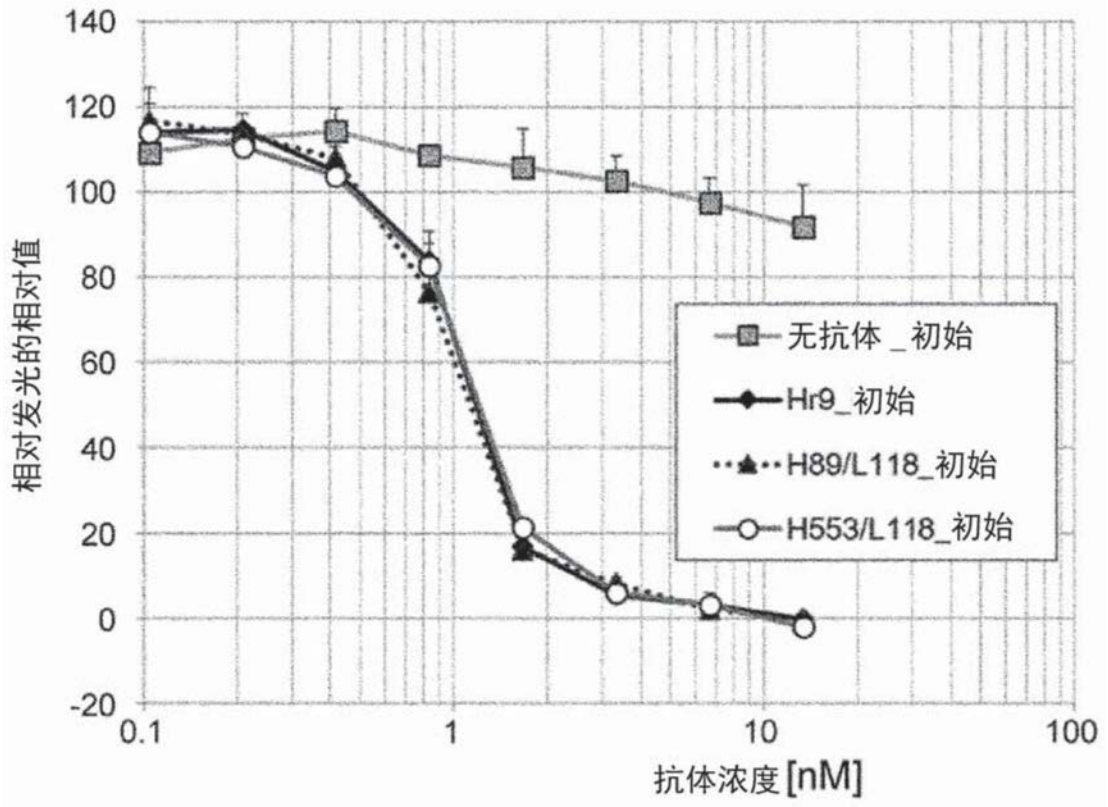

相对发光的相对值
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0.1
1
10
100
抗体浓度[nM]
无抗体 _初始
Hr9_初始
H89/L118_初始
H553/L118_初始

图25A

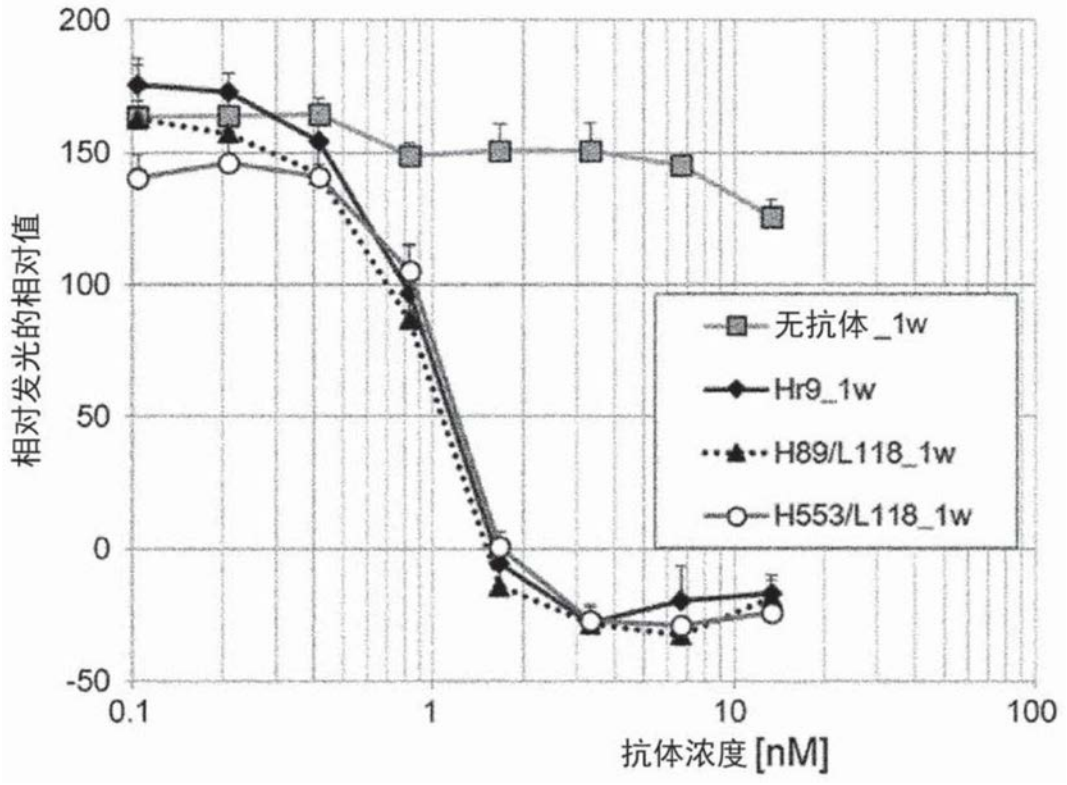

200
150
100
50
0
-50
0.1
1
10
100
相对发光的相对值
抗体浓度 [nM]
无抗体_1w
Hr9_1w
H89/L118_1w
H553/L118_1w

图25B

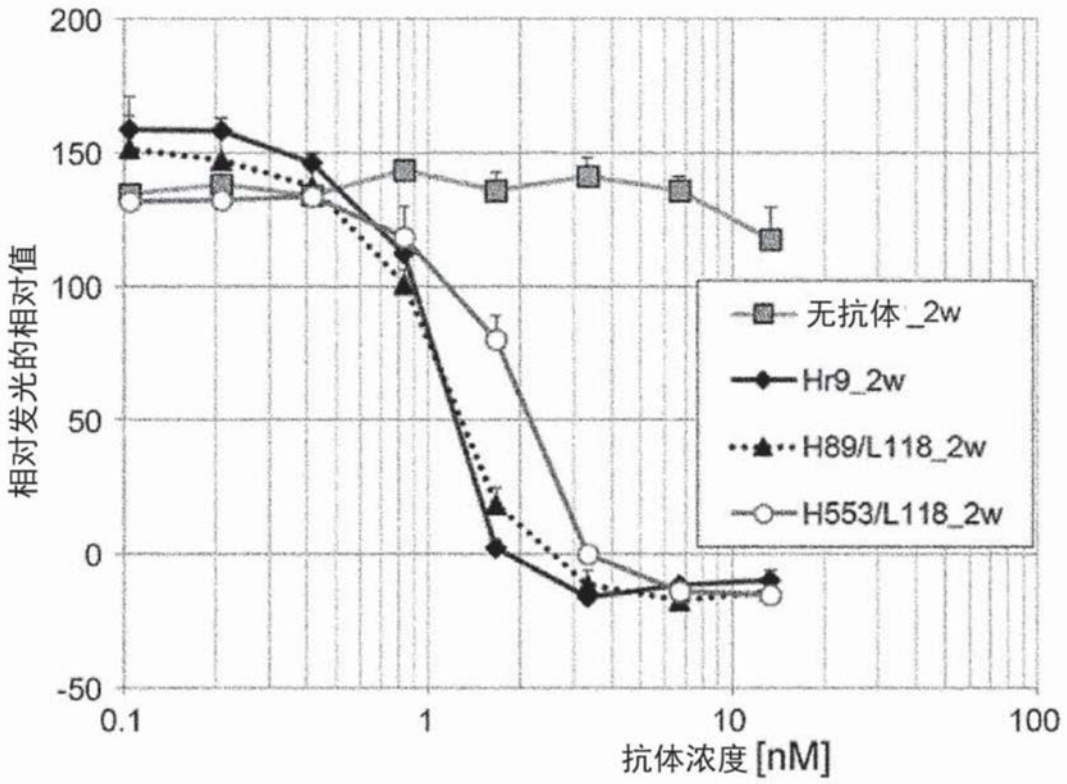

200
150
100
50
0
-50
0.1
1
10
100
相对发光的相对值
抗体浓度 [nM]
无抗体_2w
Hr9_2w
H89/L118_2w
H553/L118_2w

图25C

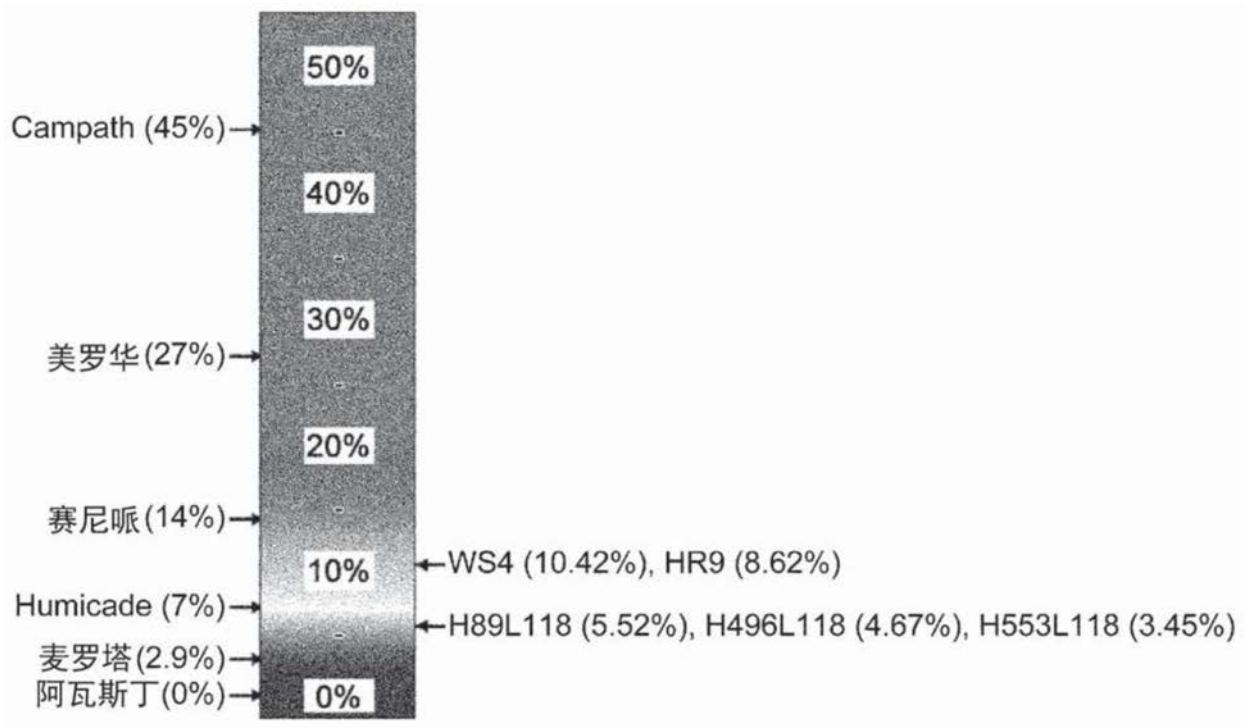

50%
Campath (45%)
40%
30%
美罗华(27%)
20%
赛尼哌(14%)
10%
WS4 (10.42%), HR9 (8.62%)
Humicade (7%)
H89L118 (5.52%), H496L118 (4.67%), H553L118 (3.45%)
麦罗塔(2.9%)
阿瓦斯丁(0%)
0%

图26

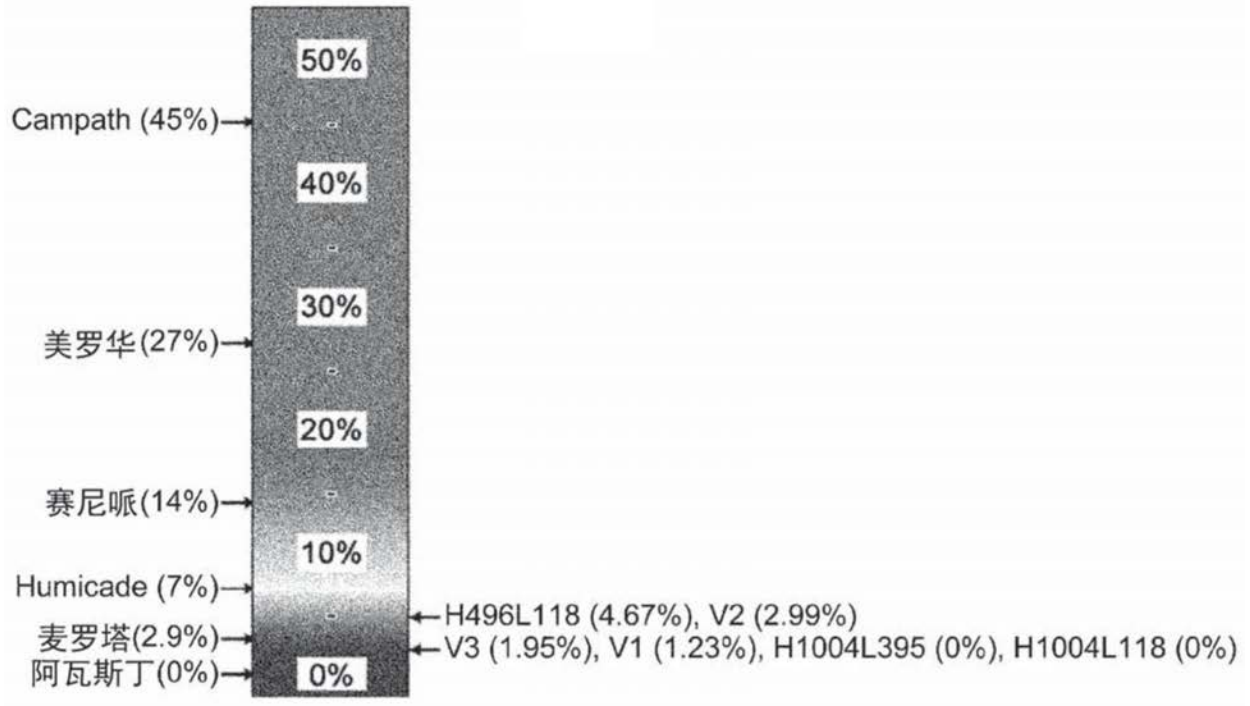

50%
Campath (45%)
40%
30%
美罗华(27%)
20%
赛尼哌(14%)
10%
Humicade (7%)
H496L118 (4.67%), V2 (2.99%)
麦罗塔(2.9%)
V3 (1.95%), V1 (1.23%), H1004L395 (0%), H1004L118 (0%)
阿瓦斯丁(0%)
0%

图27

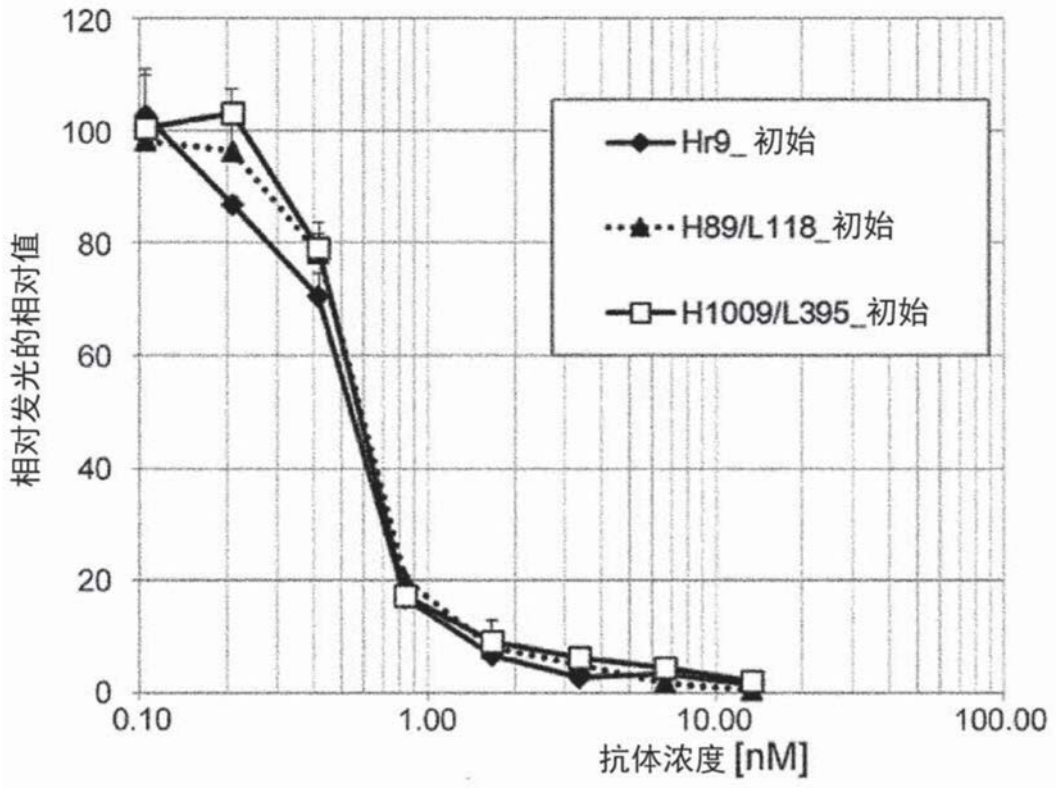

120
100
80
60
40
20
0
相对发光的相对值
0.10
1.00
10.00
100.00
抗体浓度 [nM]
Hr9_ 初始
H89/L118_初始
H1009/L395_初始

图28A

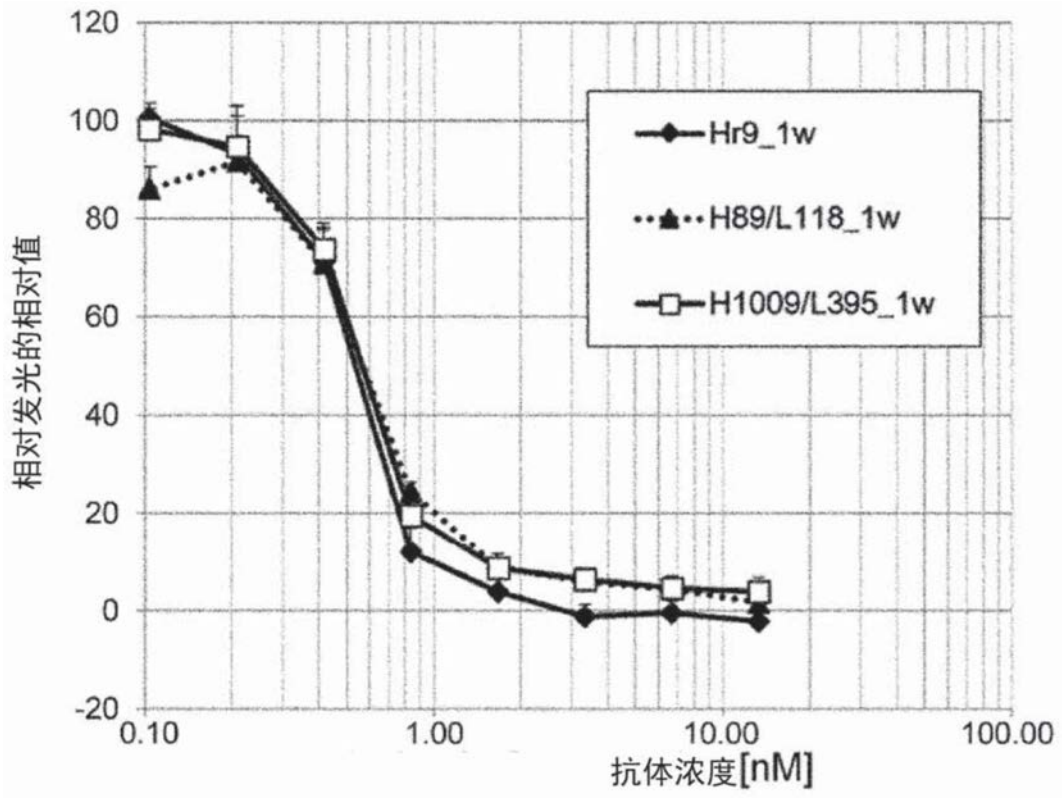

120
100
80
60
40
20
0
-20
相对发光的相对值
0.10
1.00
10.00
100.00
抗体浓度[nM]
Hr9_1w
H89/L118_1w
H1009/L395_1w

图28B

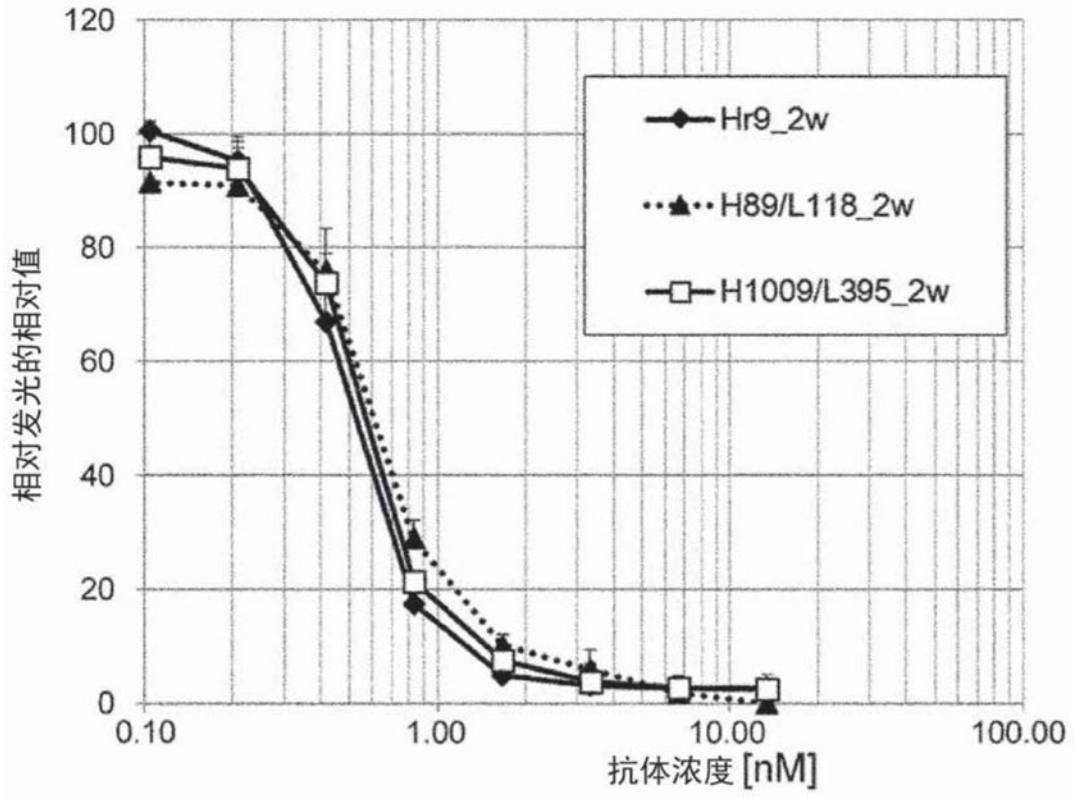

120
100
80
60
40
20
0
0.10
1.00
10.00
100.00
相对发光的相对值
抗体浓度 [nM]
Hr9_2w
H89/L118_2w
H1009/L395_2w

图28C

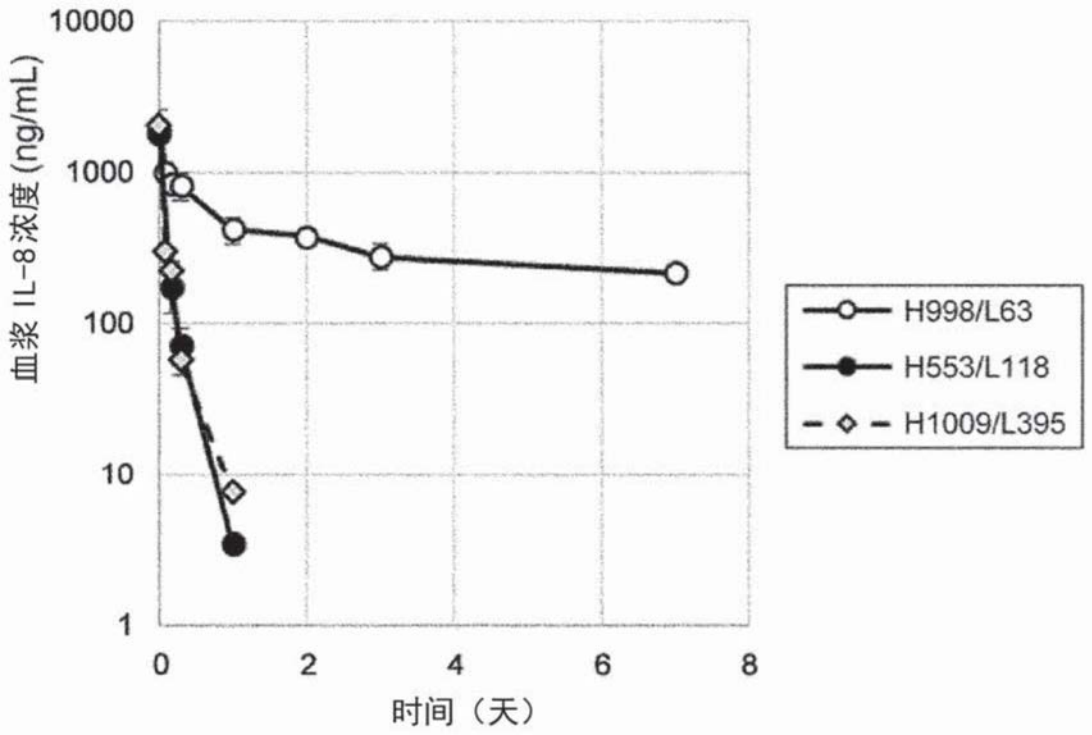

10000
1000
100
10
1
0
2
4
6
8
血浆 IL-8浓度 (ng/mL)
时间（天）
H998/L63
H553/L118
H1009/L395

图29

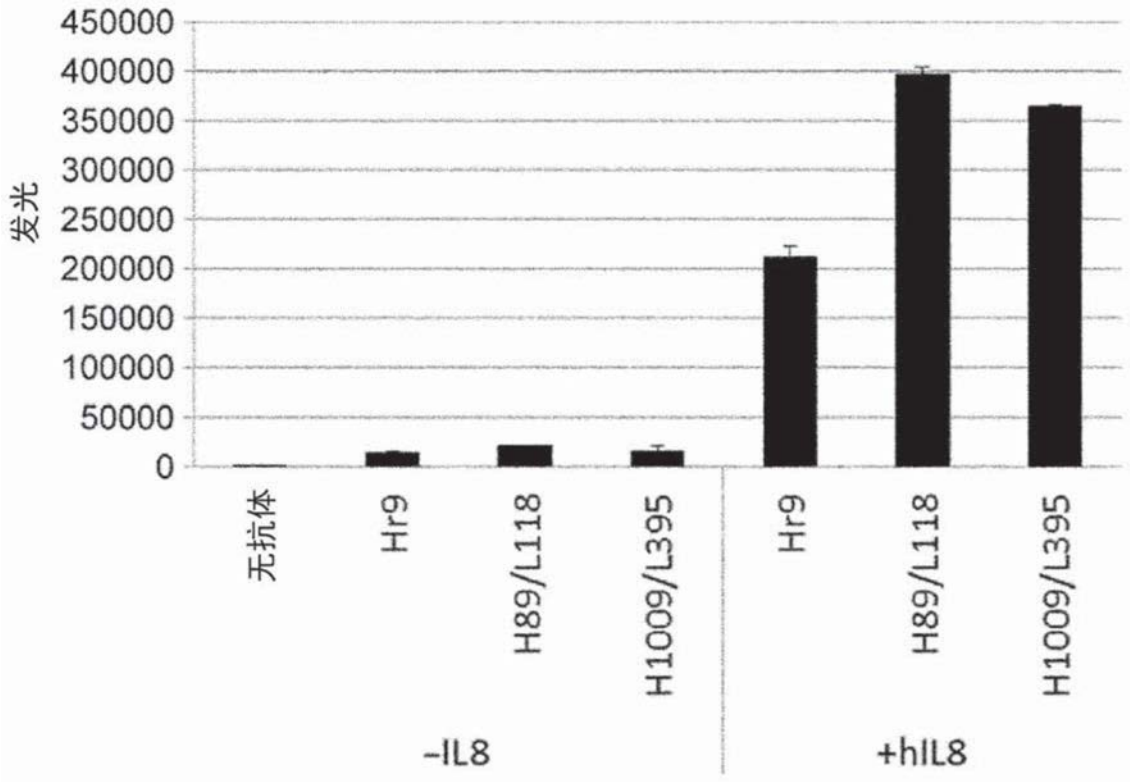

450000
400000
350000
300000
250000
200000
150000
100000
50000
0
发光
无抗体
Hr9
H89/L118
H1009/L395
Hr9
H89/L118
H1009/L395
-IL8
+hIL8

图30

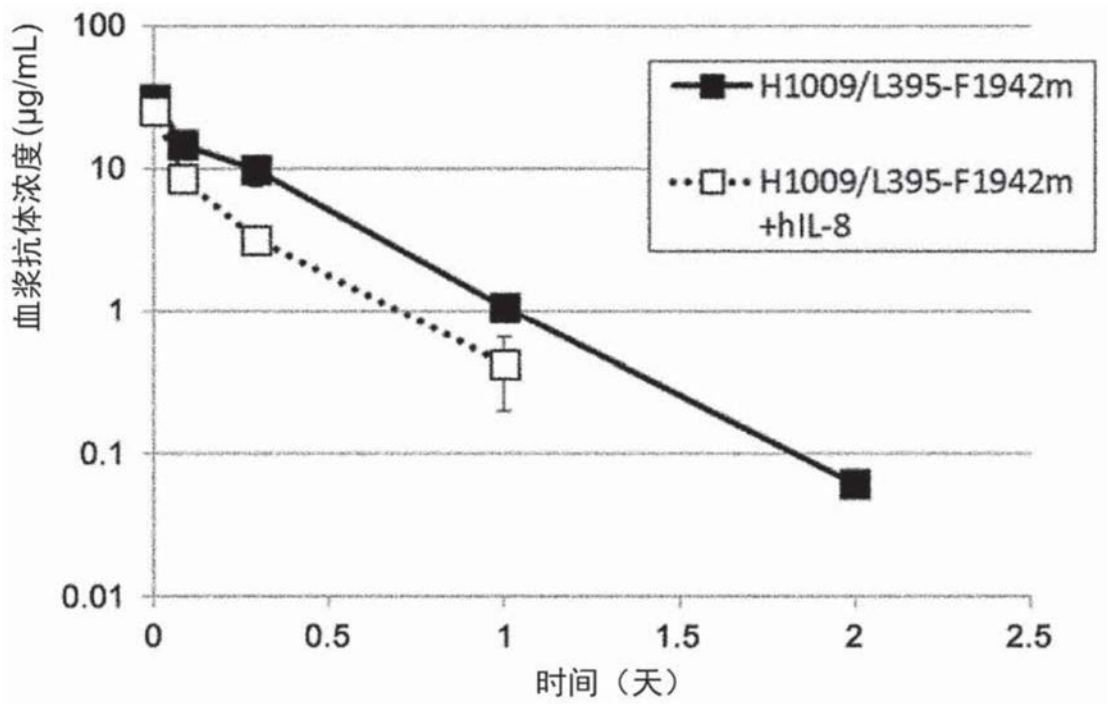

100
10
1
0.1
0.01
血浆抗体浓度(μg/mL)
0
0.5
1
1.5
2
2.5
时间（天）
H1009/L395-F1942m
H1009/L395-F1942m
+hIL-8

图31

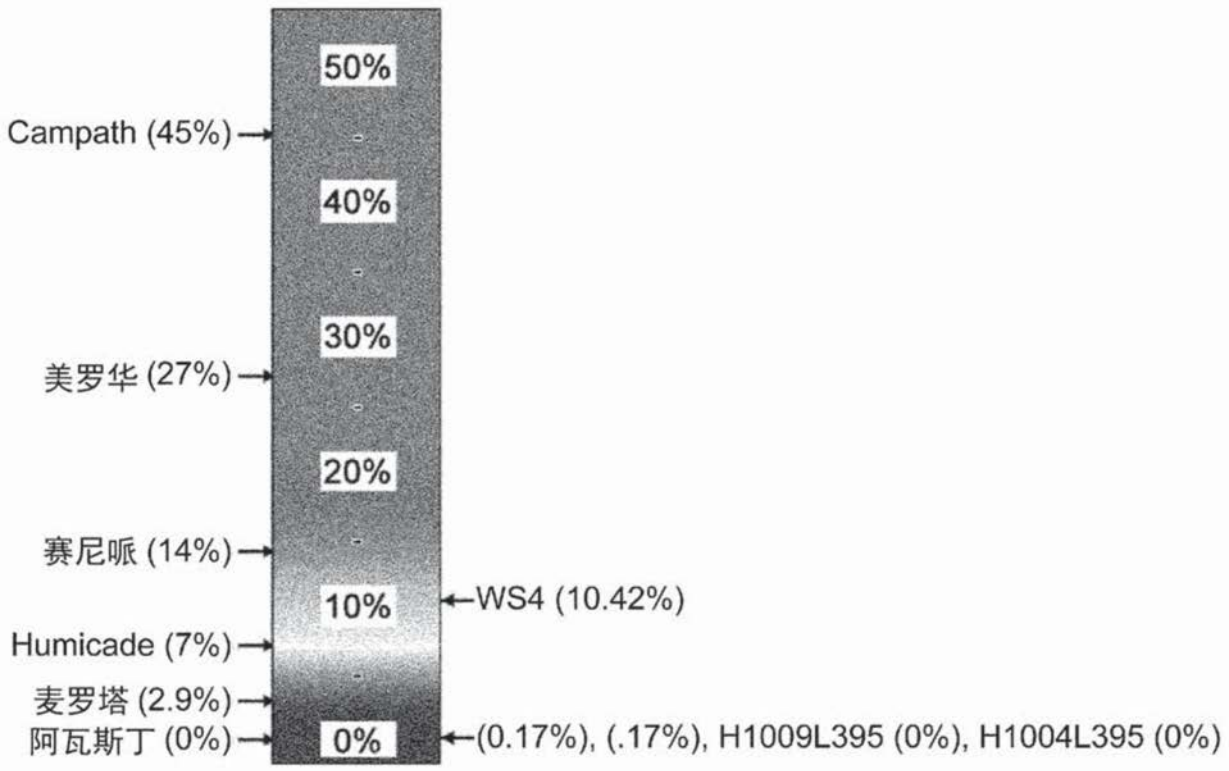

50%
40%
30%
20%
10%
0%
Campath (45%)
美罗华 (27%)
赛尼哌 (14%)
Humicade (7%)
麦罗塔 (2.9%)
阿瓦斯丁 (0%)
WS4 (10.42%)
(0.17%), (.17%), H1009L395 (0%), H1004L395 (0%)

图32

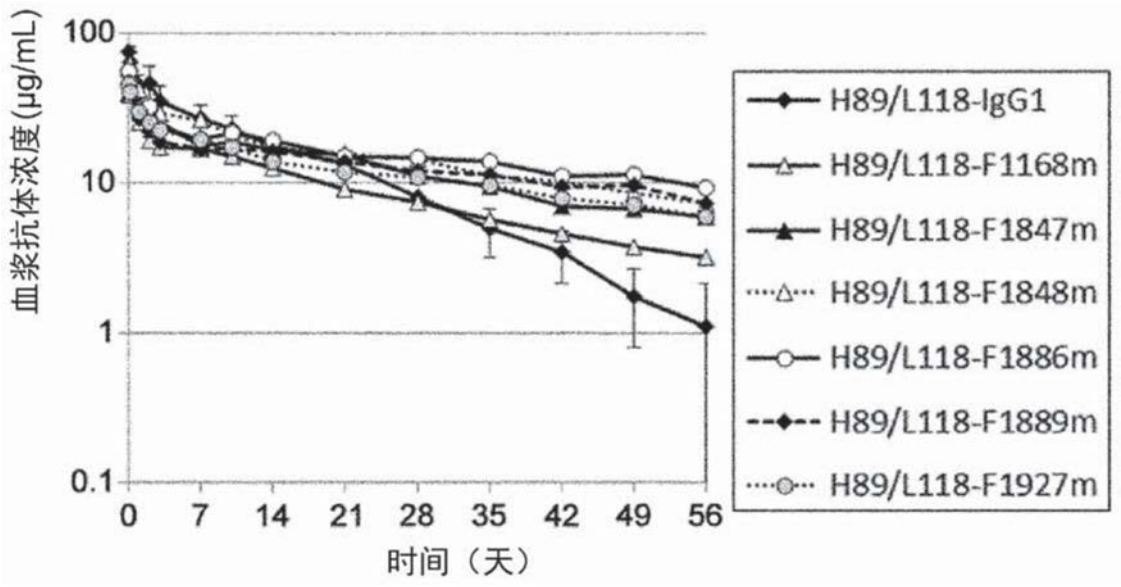

血浆抗体浓度(μg/mL)
100
10
1
0.1
0
7
14
21
28
35
42
49
56
时间（天）
H89/L118-IgG1
H89/L118-F1168m
H89/L118-F1847m
H89/L118-F1848m
H89/L118-F1886m
H89/L118-F1889m
H89/L118-F1927m

图33

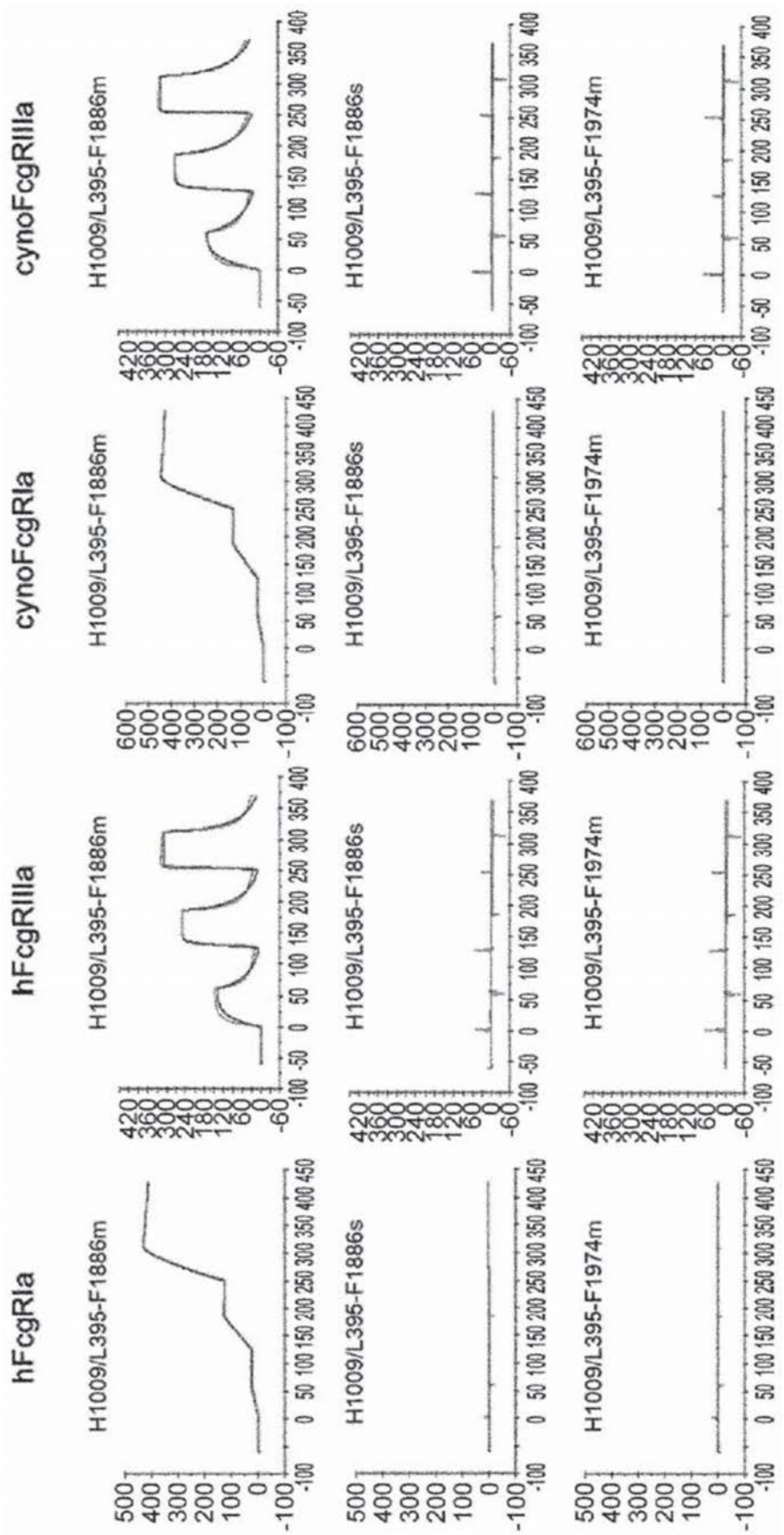

hFcgRIa
hFcgRIIIa
cynoFcgRIa
cynoFcgRIIIa
H1009/L395-F1886m
H1009/L395-F1886s
H1009/L395-F1974m

图34

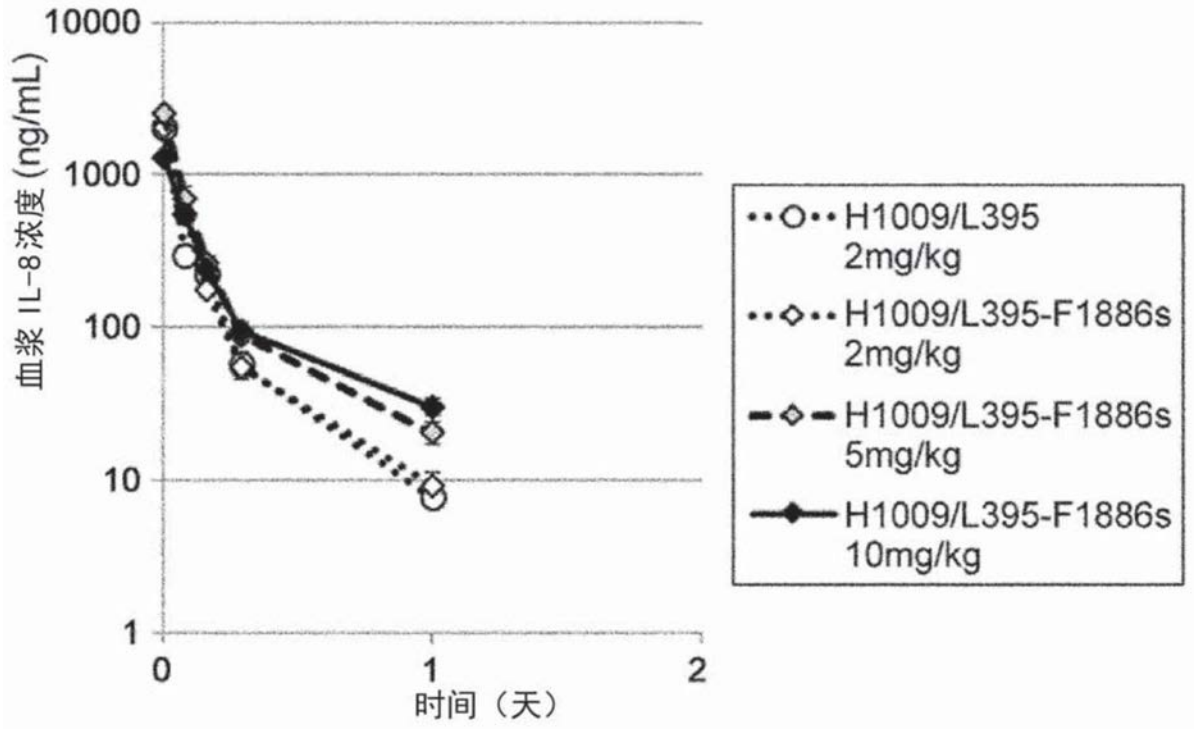

血浆 IL-8浓度 (ng/mL)
10000
1000
100
10
1
0
1
2
时间（天）
H1009/L395 2mg/kg
H1009/L395-F1886s 2mg/kg
H1009/L395-F1886s 5mg/kg
H1009/L395-F1886s 10mg/kg

图35

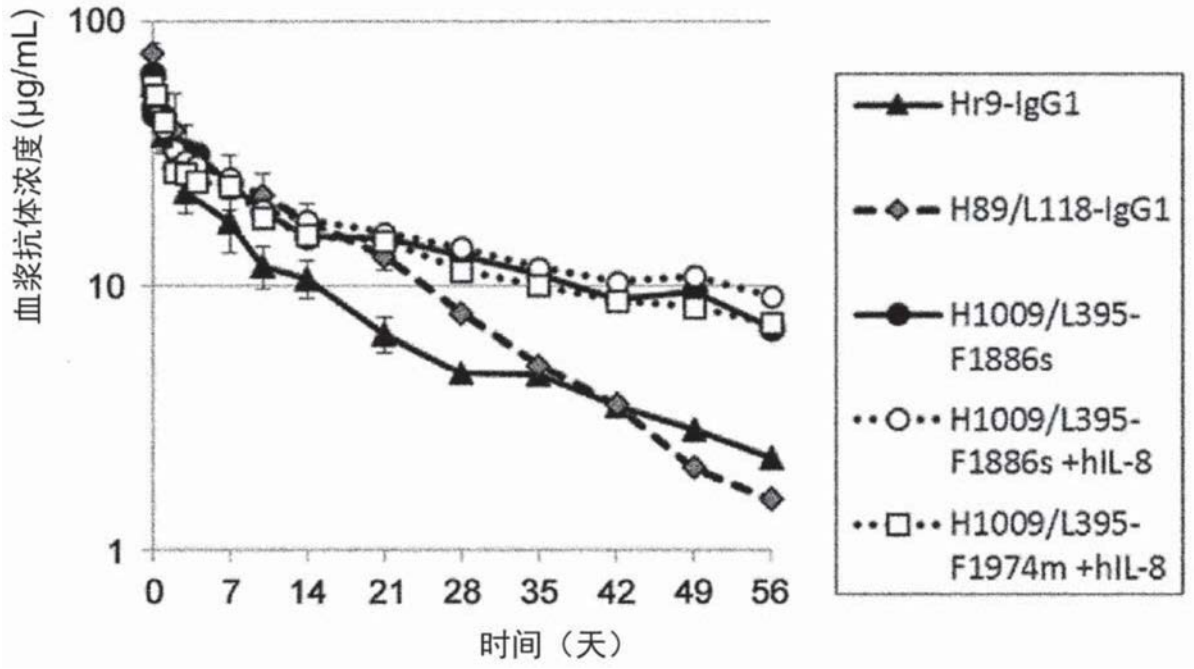

血浆抗体浓度(μg/mL)
100
10
1
0
7
14
21
28
35
42
49
56
时间（天）
Hr9-IgG1
H89/L118-IgG1
H1009/L395-F1886s
H1009/L395-F1886s +hIL-8
H1009/L395-F1974m +hIL-8

图36

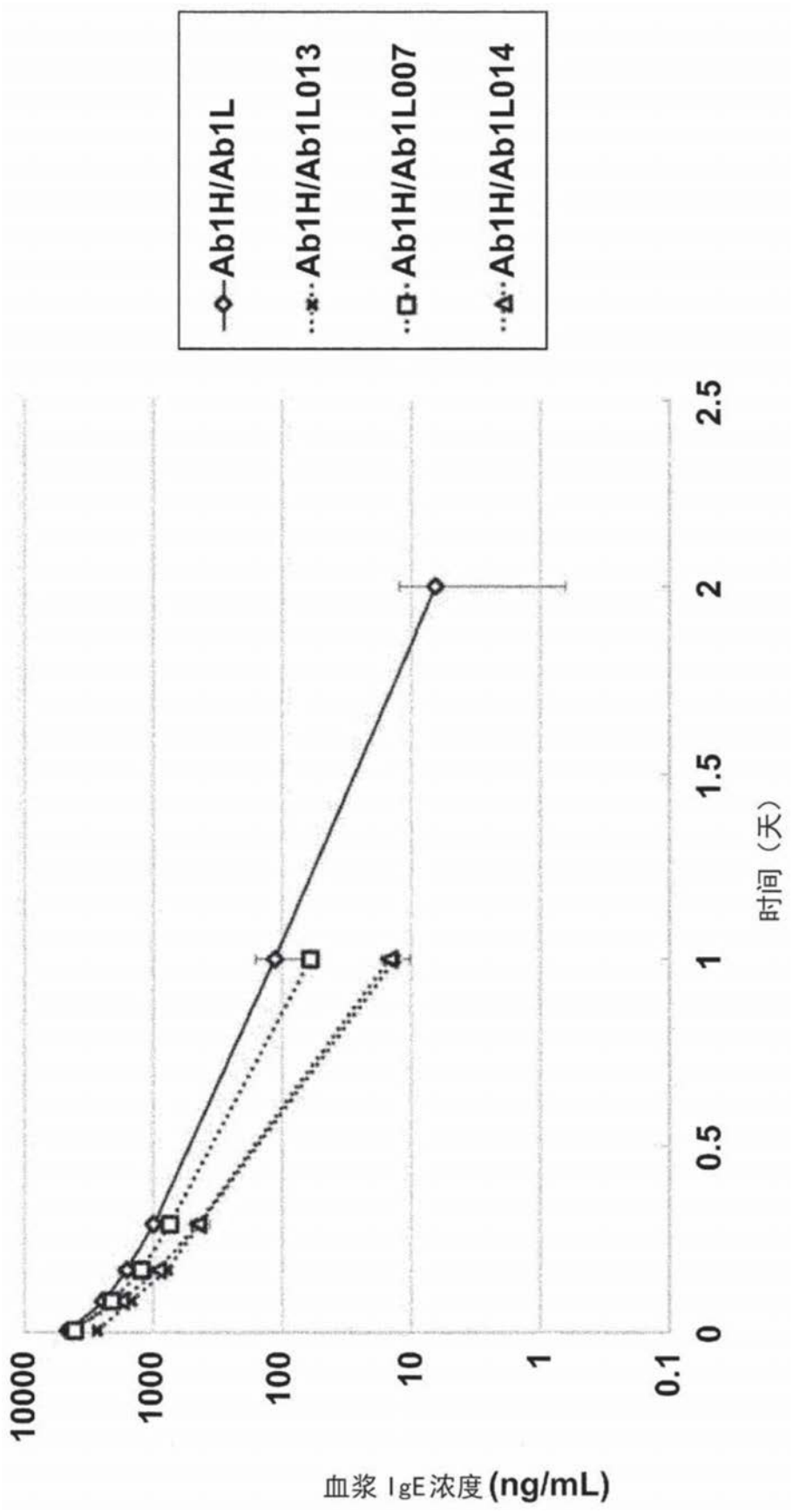

Ab1H/Ab1L
Ab1H/Ab1L013
Ab1H/Ab1L007
Ab1H/Ab1L014
10000
1000
100
10
1
0.1
0
0.5
1
1.5
2
2.5
时间（天）
血浆 IgE浓度 (ng/mL)

图37

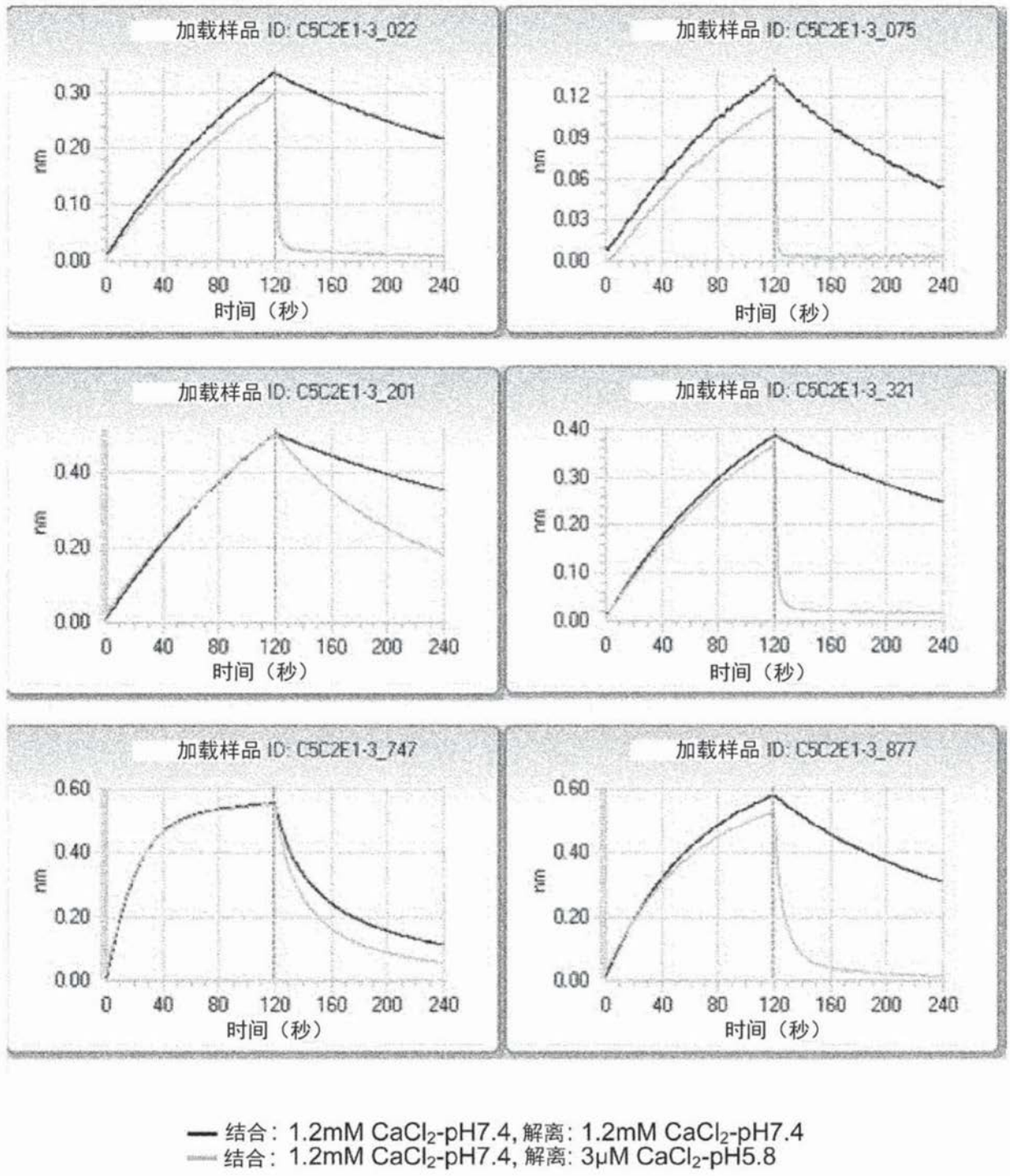

加载样品 ID: C5C2E1-3_022
加载样品 ID: C5C2E1-3_075
加载样品 ID: C5C2E1-3_201
加载样品 ID: C5C2E1-3_321
加载样品 ID: C5C2E1-3_747
加载样品 ID: C5C2E1-3_877
nm
时间（秒）
结合：1.2mM CaCl2-pH7.4, 解离：1.2mM CaCl2-pH7.4
结合：1.2mM CaCl2-pH7.4, 解离：3μM CaCl2-pH5.8

图38A

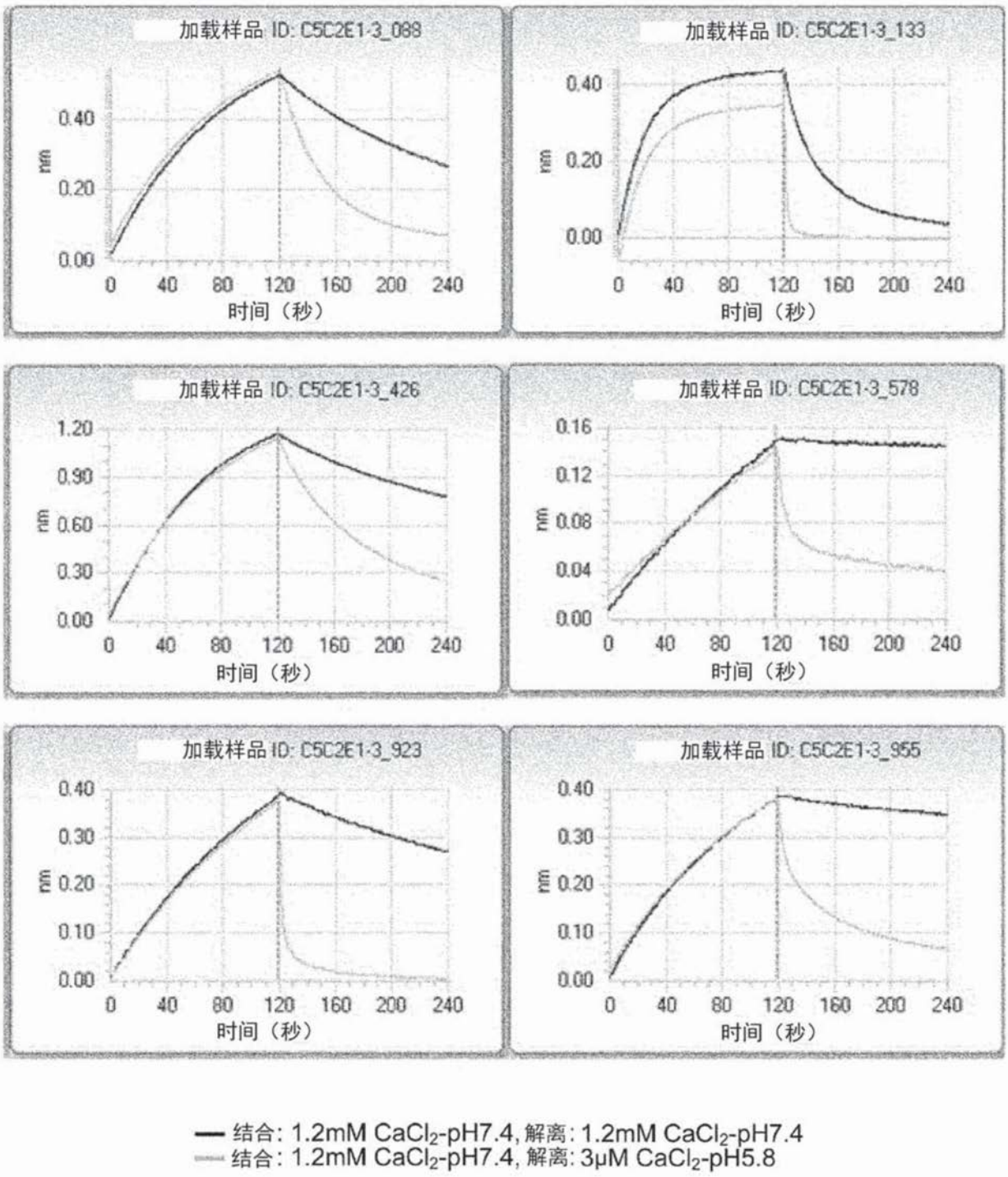

加载样品 ID: C5C2E1-3_088
加载样品 ID: C5C2E1-3_133
加载样品 ID: C5C2E1-3_426
加载样品 ID: C5C2E1-3_578
加载样品 ID: C5C2E1-3_923
加载样品 ID: C5C2E1-3_955
nm
时间（秒）
0 40 80 120 160 200 240
— 结合: 1.2mM $CaCl_2$-pH7.4, 解离: 1.2mM $CaCl_2$-pH7.4
— 结合: 1.2mM $CaCl_2$-pH7.4, 解离: 3μM $CaCl_2$-pH5.8

图38B

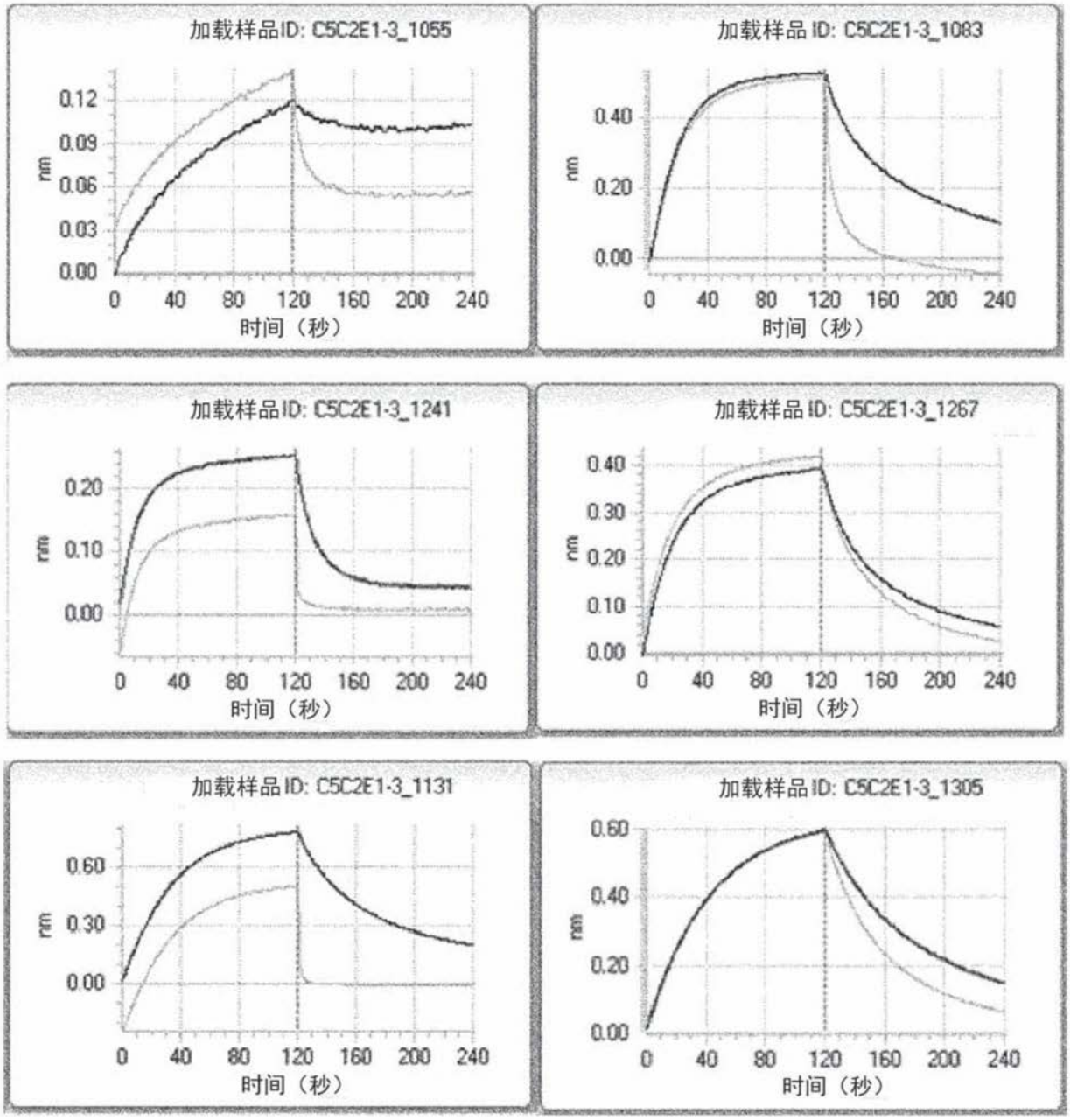

加载样品ID: C5C2E1-3_1055
加载样品ID: C5C2E1-3_1083
加载样品ID: C5C2E1-3_1241
加载样品ID: C5C2E1-3_1267
加载样品ID: C5C2E1-3_1131
加载样品ID: C5C2E1-3_1305
nm
时间（秒）
结合: 1.2mM CaCl2-pH7.4,解离: 1.2mM CaCl2-pH7.4
结合: 1.2mM CaCl2-pH7.4,解离: 3μM CaCl2-pH5.8

图38C

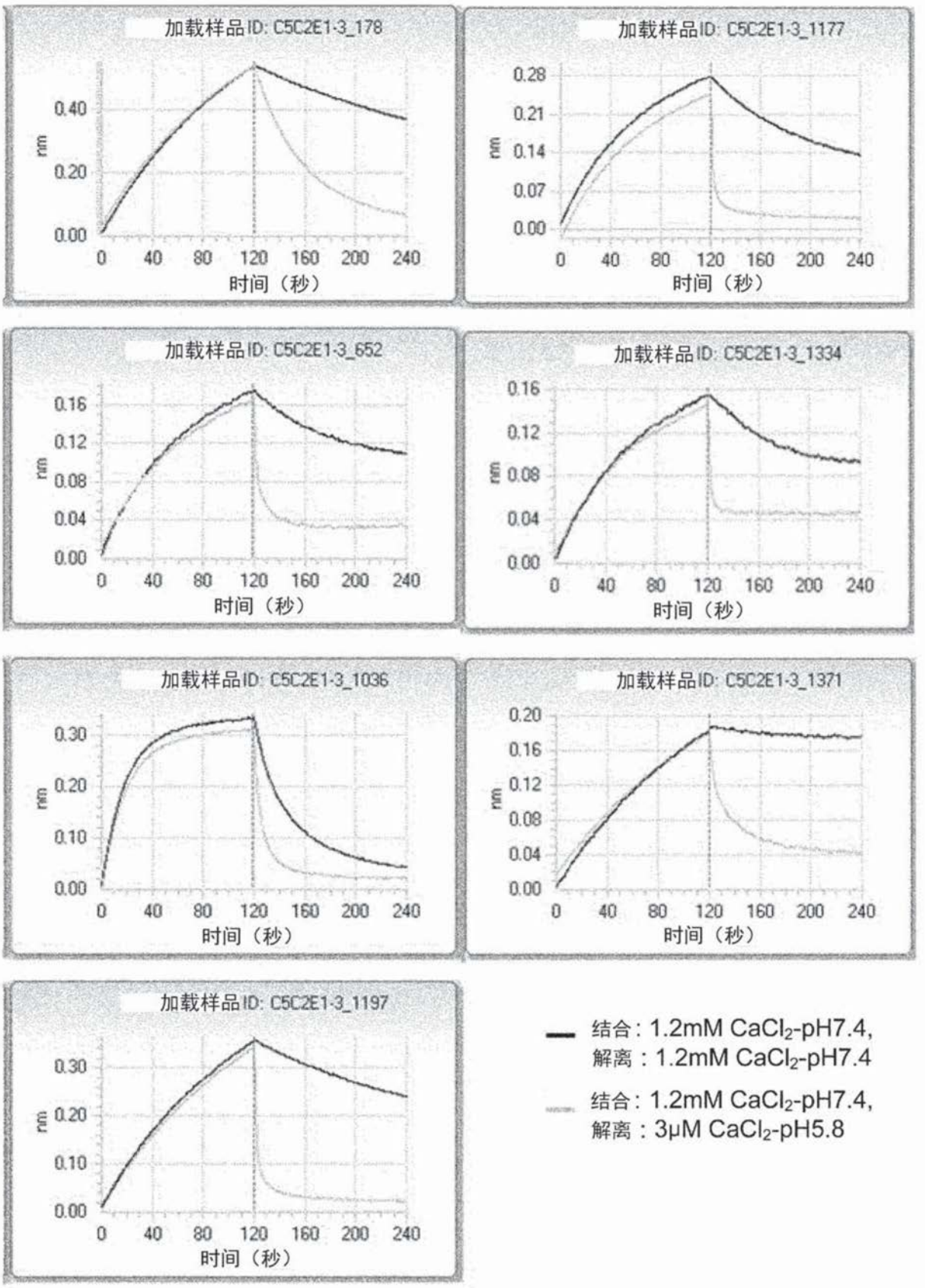

加载样品ID: C5C2E1-3_178
加载样品ID: C5C2E1-3_1177
加载样品ID: C5C2E1-3_652
加载样品ID: C5C2E1-3_1334
加载样品ID: C5C2E1-3_1036
加载样品ID: C5C2E1-3_1371
加载样品ID: C5C2E1-3_1197
nm
时间（秒）
结合：1.2mM CaCl2-pH7.4,
解离：1.2mM CaCl2-pH7.4
结合：1.2mM CaCl2-pH7.4,
解离：3μM CaCl2-pH5.8

图38D

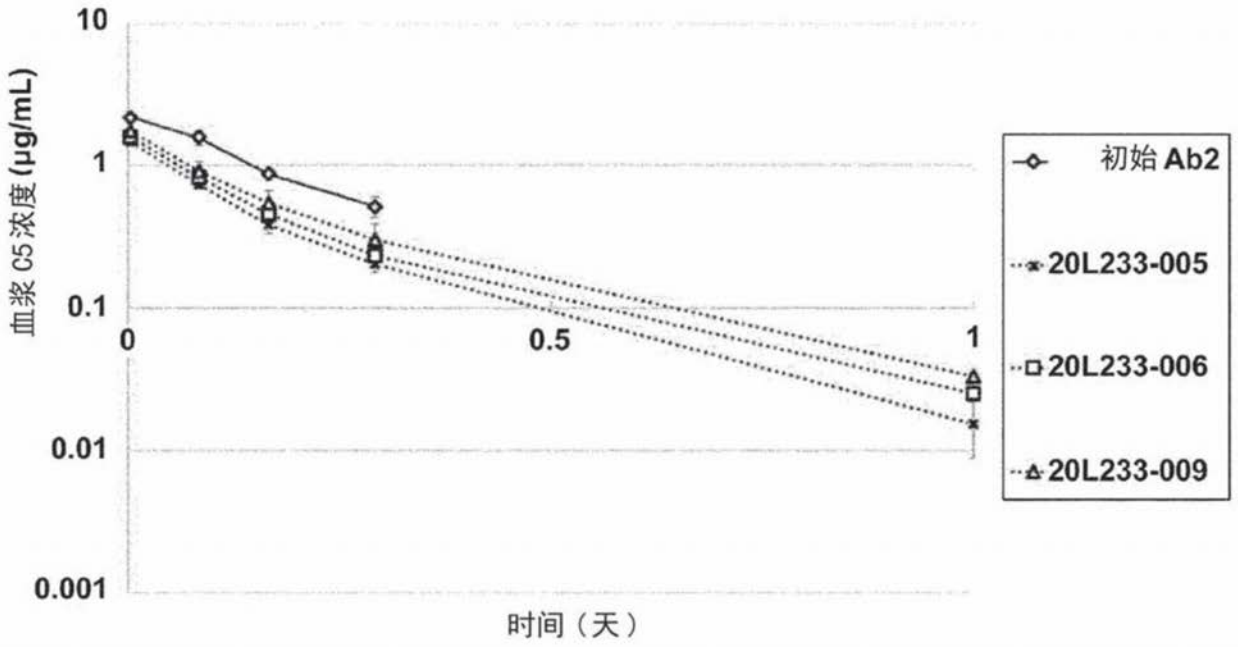

血浆 C5 浓度 (μg/mL)
10
1
0.1
0.01
0.001
0
0.5
1
时间（天）
初始 Ab2
20L233-005
20L233-006
20L233-009

图39

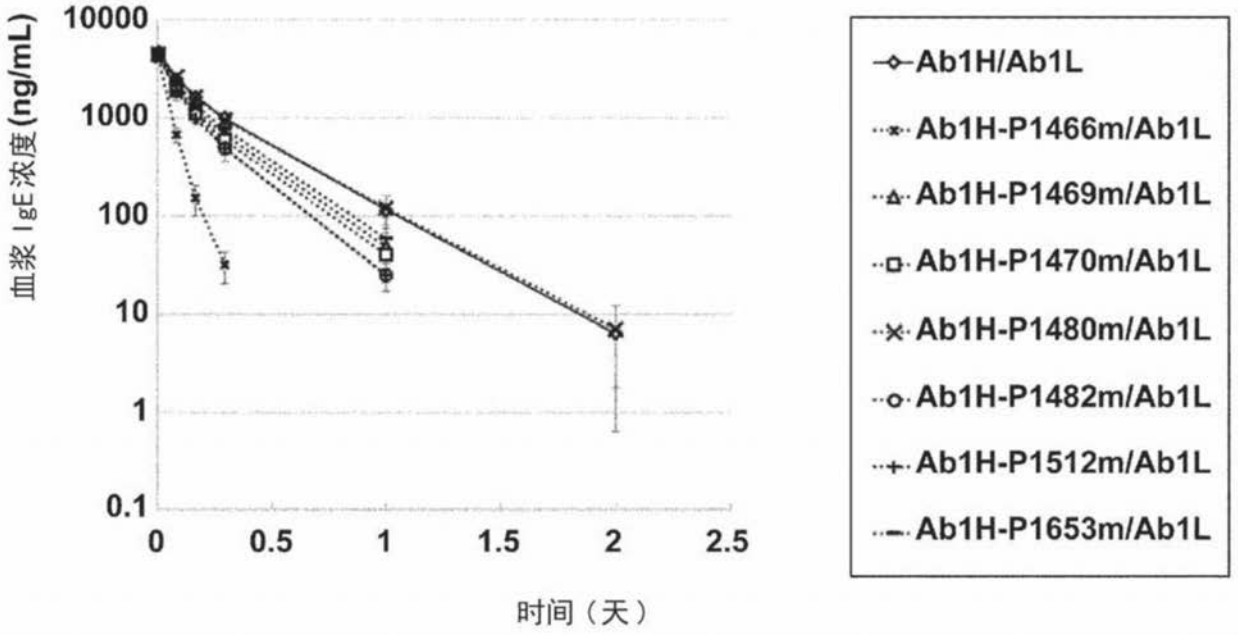

血浆 IgE 浓度 (ng/mL)
10000
1000
100
10
1
0.1
0
0.5
1
1.5
2
2.5
时间（天）
Ab1H/Ab1L
Ab1H-P1466m/Ab1L
Ab1H-P1469m/Ab1L
Ab1H-P1470m/Ab1L
Ab1H-P1480m/Ab1L
Ab1H-P1482m/Ab1L
Ab1H-P1512m/Ab1L
Ab1H-P1653m/Ab1L

图40