



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102257009 A

(43) 申请公布日 2011. 11. 23

(21) 申请号 200980152959. 4

(22) 申请日 2009. 10. 19

(30) 优先权数据

61/107085 2008. 10. 21 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 06. 21

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2009/063655 2009. 10. 19

(87) PCT申请的公布数据

W02010/046337 EN 2010. 04. 29

(71) 申请人 杜门蒂斯有限公司

地址 英国米德尔塞克斯

(72) 发明人 R·M·德 维尔德特

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 刘辛 郭文洁

(51) Int. Cl.

C07K 16/28(2006. 01)

权利要求书 7 页 说明书 20 页

序列表 27 页 附图 17 页

(54) 发明名称

具有针对 DC-SIGN 的结合特异性的配体

(57) 摘要

本发明提供了抗-树突状细胞特异性 ICAM-3 结合性非整合素 (DC-SIGN ;CD209) 免疫球蛋白单可变域。还描述了包含此类抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域的多肽、配体和组合物,以及编码此类免疫球蛋白的核酸和用于表达的载体和宿主细胞。本发明还涉及此类 DC-SIGN 结合剂的用途和包含此类 DC-SIGN 结合剂的制剂、组合物和装置。

1. 抗-树突状细胞特异性 ICAM-3 结合性非整合素 (DC-SIGN ;CD209) 免疫球蛋白单可变域。

2. 根据权利要求 1 的抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其中所述免疫球蛋白单可变域与人 DC-SIGN 结合,其解离常数 (K_d) 为 1-50 μ M,如通过表面等离子共振所测定。

3. 分离的多肽,其包含与选自 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 和 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的至少一个氨基酸序列至少 70% 相同的氨基酸序列,并且其与人 DC-SIGN 结合。

4. 分离的多肽,其包含选自 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 和 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的氨基酸序列。

5. 分离的多肽,其由与选自 SEQ ID NO:1(LIP1-12)、SEQ ID NO:2(LIP1-13)、SEQ ID NO:3(LIP1-15)、SEQ ID NO:4(LIP1-17)、SEQ ID NO:5(LIP1-19)、SEQ ID NO:6(LIP1-21)、SEQ ID NO:7(LIP1-22)、SEQ ID NO:8(LIP1-23)、SEQ ID NO:9(LIP1-26)、SEQ ID NO:10(LIP1-28)、SEQ ID NO:11(LIP1-30)、SEQ ID NO:12(LIP1-32)、SEQ ID NO:13(LIP1-24)、SEQ ID NO:14(LIP1-25)、SEQ ID NO:15(LIP1-27)、SEQ ID NO:16(LIP1-29)、SEQ ID NO:17(LIP1-31) 和 SEQ ID NO:18(LIP1-33) 的核苷酸序列至少 60% 相同的核苷酸序列编码,并且所述多肽与人 DC-SIGN 结合。

6. 抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含与选自 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 和 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一氨基酸序列至少 90% 相同的氨基酸序列,并且其与人 DC-SIGN 结合。

7. 抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含与 SEQ ID NO:32(LIP1-29)、SEQ ID NO:33(LIP1-30) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的氨基酸序列相同的氨基酸序列。

8. 抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含选自 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID

NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 和 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的氨基酸序列。

9. 抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域, 其包含 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 所示的任一项氨基酸序列在不超过 25 个氨基酸位置处修饰的氨基酸序列, 并且包含与 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR1 序列至少 50% 相同的 CDR1 序列。

10. 抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域, 其包含 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 所示的任一项氨基酸序列在不超过 25 个氨基酸位置处修饰的氨基酸序列, 并且包含与 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR2 序列至少 50% 相同的 CDR2 序列。

11. 抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域, 其包含 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 所示的任一项氨基酸序列在不超过 25 个氨基酸位置处

修饰的氨基酸序列,并且包含与 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR3 序列至少 50% 相同的 CDR3 序列。

12. 抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 所示的任一项氨基酸序列在不超过 25 个氨基酸位置处修饰的氨基酸序列,并且包含与 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR1 序列至少 50% 相同的 CDR1 序列,并且包含与 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR2 序列至少 50% 相同的 CDR2 序列。

13. 抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 所示的任一项氨基酸序列在不超过 25 个氨基酸位置处修饰的氨基酸序列,并且包含与 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、

SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR1 序列至少 50 % 相同的 CDR1 序列, 并且包含与 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR3 序列至少 50% 相同的 CDR3 序列。

14. 抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域, 其包含 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 所示的任一项氨基酸序列在不超过 25 个氨基酸位置处修饰的氨基酸序列, 并且包含与 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR2 序列至少 50 % 相同的 CDR2 序列, 并且包含与 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR3 序列至少 50% 相同的 CDR3 序列。

15. 抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域, 其包含 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 所示的任一项氨基酸序列在不超过 25 个氨基酸位置处修饰的氨基酸序列, 并且包含与 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、

SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR1 序列至少 50 % 相同的 CDR1 序列, 并且包含与 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR2 序列至少 50 % 相同的 CDR2 序列, 并且包含与 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR3 序列至少 50 % 相同的 CDR3 序列。

16. 抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域, 其包含与选自下列的 CDR3 序列至少 50 % 相同的 CDR3 序列: SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 和 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR3 序列。

17. 抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域, 其包含选自下列的 CDR3 序列: SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID NO:30(LIP1-32)、SEQ ID NO:31(LIP1-24)、SEQ ID NO:32(LIP1-25)、SEQ ID NO:33(LIP1-27)、SEQ ID NO:34(LIP1-29)、SEQ ID NO:35(LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36(LIP1-33) 的任一项中的 CDR3 序列。

18. 抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域, 其包含选自 CDR1、CDR2 和 CDR3 的至少一个 CDR, 其中所述 CDR1、CDR2 或 CDR3 与 SEQ ID NO:19(LIP1-12)、SEQ ID NO:20(LIP1-13)、SEQ ID NO:21(LIP1-15)、SEQ ID NO:22(LIP1-17)、SEQ ID NO:23(LIP1-19)、SEQ ID NO:24(LIP1-21)、SEQ ID NO:25(LIP1-22)、SEQ ID NO:26(LIP1-23)、SEQ ID NO:27(LIP1-26)、SEQ ID NO:28(LIP1-28)、SEQ ID NO:29(LIP1-30)、SEQ ID

NO:30 (LIP1-32)、SEQ ID NO:31 (LIP1-24)、SEQ ID NO:32 (LIP1-25)、SEQ ID NO:33 (LIP1-27)、SEQ ID NO:34 (LIP1-29)、SEQ ID NO:35 (LIP1-31) 或 SEQ ID NO:36 (LIP1-33) 的任一项中的 CDR1、CDR2 或 CDR3 序列相同。

19. 前述权利要求中任一项的抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域, 其以低亲和力与 DC-SIGN 结合。

20. 具有针对 DC-SIGN 的结合特异性并抑制抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域的结合的配体, 所述抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域包含选自 SEQ ID NO:19 (LIP1-12)、SEQ ID NO:20 (LIP1-13)、SEQ ID NO:21 (LIP1-15)、SEQ ID NO:22 (LIP1-17)、SEQ ID NO:23 (LIP1-19)、SEQ ID NO:24 (LIP1-21)、SEQ ID NO:25 (LIP1-22)、SEQ ID NO:26 (LIP1-23)、SEQ ID NO:27 (LIP1-26)、SEQ ID NO:28 (LIP1-28)、SEQ ID NO:29 (LIP1-30)、SEQ ID NO:30 (LIP1-32)、SEQ ID NO:31 (LIP1-24)、SEQ ID NO:32 (LIP1-25)、SEQ ID NO:33 (LIP1-27)、SEQ ID NO:34 (LIP1-29)、SEQ ID NO:35 (LIP1-31) 和 SEQ ID NO:36 (LIP1-33) 的氨基酸序列。

21. 分离的多肽, 其由与选自 SEQ ID NO:1 (LIP1-12), SEQ ID NO:2 (LIP1-13)、SEQ ID NO:3 (LIP1-15)、SEQ ID NO:4 (LIP1-17)、SEQ ID NO:5 (LIP1-19)、SEQ ID NO:6 (LIP1-21)、SEQ ID NO:7 (LIP1-22)、SEQ ID NO:8 (LIP1-23)、SEQ ID NO:9 (LIP1-26)、SEQ ID NO:10 (LIP1-28)、SEQ ID NO:11 (LIP1-30)、SEQ ID NO:12 (LIP1-32)、SEQ ID NO:13 (LIP1-24)、SEQ ID NO:14 (LIP1-25)、SEQ ID NO:15 (LIP1-27)、SEQ ID NO:16 (LIP1-29)、SEQ ID NO:17 (LIP1-31) 和 SEQ ID NO:18 (LIP1-33) 的核苷酸序列至少 80% 相同的核苷酸序列编码, 并且其中所述多肽包含与选自 SEQ ID NO:19 (LIP1-12)、SEQ ID NO:20 (LIP1-13)、SEQ ID NO:21 (LIP1-15)、SEQ ID NO:22 (LIP1-17)、SEQ ID NO:23 (LIP1-19)、SEQ ID NO:24 (LIP1-21)、SEQ ID NO:25 (LIP1-22)、SEQ ID NO:26 (LIP1-23)、SEQ ID NO:27 (LIP1-26)、SEQ ID NO:28 (LIP1-28)、SEQ ID NO:29 (LIP1-30)、SEQ ID NO:30 (LIP1-32)、SEQ ID NO:31 (LIP1-24)、SEQ ID NO:32 (LIP1-25)、SEQ ID NO:33 (LIP1-27)、SEQ ID NO:34 (LIP1-29)、SEQ ID NO:35 (LIP1-31) 和 SEQ ID NO:36 (LIP1-33) 的氨基酸序列至少 90% 相同的氨基酸序列。

22. 前述权利要求中任一项的抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域或肽, 其与 DC-SIGN 特异性结合但不与 DC-SIGNR 结合。

23. 分离的或重组的核酸, 其编码包含任意前述权利要求的抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域的多肽。

24. 载体, 其包含权利要求 23 的核酸。

25. 宿主细胞, 其包含权利要求 23 的核酸或权利要求 24 的载体。

26. 产生包含抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域的多肽的方法, 所述方法包括将权利要求 25 的宿主细胞维持在适合于所述核酸或载体表达的条件下, 从而产生包含免疫球蛋白单可变域的多肽。

27. 抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域, 所述免疫球蛋白单可变域具有针对 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项的结合特异性。

28. 权利要求 1-2、6-19 或 22 中任一项的抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其中氨基酸序列在 N- 末端还包含氨基酸 ST。

29. 权利要求 1-2、6-19 或 22 中任一项的抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其中氨基酸序列在 C- 末端还包含 His- 标签。

具有针对 DC-SIGN 的结合特异性的配体

[0001] 本发明涉及与 DC-SIGN 结合的试剂。具体而言,本发明涉及与 DC-SIGN 结合的免疫球蛋白单可变域。本发明还涉及此类 DC-SIGN 结合剂的用途,包含此类 DC-SIGN 结合剂的制剂、组合物和装置。

背景技术

[0002] 树突状细胞特异性 ICAM-3 结合性非整合素 (DC-SIGN 或 CD209) 是 II 型膜蛋白,其是甘露糖特异性的钙依赖性 (C- 型) 凝集素。DC-SIGN 介导树突状细胞 (DC) 与 T 细胞之间的相互作用,并且与相关的分子 DC-SIGNR 具有 77% 的同源性。已经表明 DC-SIGN 和 DC-SIGNR 都与 HIV、丙肝糖蛋白、埃博拉病毒糖蛋白和细胞黏附蛋白 ICAM-3 结合。DC-SIGN 仅在树突状细胞中表达,而 DC-SIGNR 被发现存在于肝脏中的内皮细胞、淋巴结窦和胎盘中的内皮细胞中。

[0003] 树突状细胞 (DC) 是专门的抗原呈递细胞,其能够激活初始和记忆 T- 淋巴细胞。对其特性加以利用已经成为针对包括癌症的疾病的免疫治疗策略的焦点。

[0004] 已经产生了与 DC-SIGN 结合的抗体,但是需要改进的结合剂。

发明内容

[0005] 在一个方面,本发明提供了抗 - 树突状细胞特异性 ICAM-3 结合性非整合素 (DC-SIGN ;CD209) 免疫球蛋白单可变域。

[0006] 在一个实施方式中,所述免疫球蛋白单可变域与人 DC-SIGN 结合,其解离常数 (K_d) 为 1-50 μ M,如通过表面等离子共振所测定。

[0007] 在一个方面,本发明提供了多肽,其包含与图 4 所示和 SEQ ID NO :19-36 所示的 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85% 或 90% 相同的氨基酸序列。在一个实施方式中,所述同一性百分率是至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99%。在一个实施方式中,所述多肽是 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项。本发明还提供了 (基本上) 纯的 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 单体的任一项。在一个实施方式中,LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项是至少 98%、99%、99.5% 纯或 100% 纯的单体。适宜地,所述多肽与 DC-SIGN 结合。

[0008] 在一个方面,本发明提供了由核苷酸序列编码的多肽,所述核苷酸序列与图 3 所示和 SEQ ID NO :1-18 所示的 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、

LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项的核苷酸序列至少 60%、65%、70%、75% 或 80% 相同。在一个实施方式中,所述同一性百分率是至少 70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99%。适宜地,由所述核苷酸序列编码的多肽与 DC-SIGN 结合。

[0009] 在一个方面,本发明提供了抗-树突状细胞特异性 ICAM-3 结合性非整合素 (DC-SIGN ;CD209) 免疫球蛋白单可变域,其包含与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85% 或 90% 相同的氨基酸序列。在一个实施方式中,所述同一性百分率是至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99%。

[0010] 在一个方面,本发明提供了抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含与图 4 所示和 SEQ ID NO :19-36 所示的 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项的氨基酸序列相同的氨基酸序列。

[0011] 在一个方面,本发明提供了抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含与 LIP1-29 的氨基酸序列相同的氨基酸序列。在另一个方面,本发明提供了抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含与 LIP1-30 的氨基酸序列相同的氨基酸序列。

[0012] 在一个方面,本发明提供了抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含这样的氨基酸序列:所述氨基酸序列与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项的氨基酸序列相同;或与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项的氨基酸序列的差异不超过 25 个氨基酸位置并且具有与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项的 CDR1 序列至少 50% 相同的 CDR1 序列。在一个实施方式中,所述差异不超过 24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸位置。在一个实施方式中,所述 CDR 的序列同一性是至少 55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99%。

[0013] 在一个方面,本发明提供了抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含这样的氨基酸序列:所述氨基酸序列与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的氨基酸序列相同;或与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项的氨基酸序列的差异不超过 25 个氨基酸位置并且具有与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的 CDR2 序列至少 50% 相同的 CDR2 序列。在一个实施

方式中,所述差异不超过 24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸位置。在一个实施方式中,所述 CDR 的序列同一性是至少 55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99%。

[0014] 在一个方面,本发明提供了抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含这样的氨基酸序列:所述氨基酸序列与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的氨基酸序列相同;或与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的氨基酸序列的差异不超过 25 个氨基酸位置并且具有与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项中的 CDR3 序列至少 50% 相同的 CDR3 序列。在一个实施方式中,所述差异不超过 24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸位置。在一个实施方式中,所述 CDR 的序列同一性是至少 55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99%。

[0015] 在一个方面,本发明提供了抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含这样的氨基酸序列:所述氨基酸序列与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的氨基酸序列相同;或与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的氨基酸序列的差异不超过 25 个氨基酸位置,并且具有与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的 CDR1 序列至少 50% 相同的 CDR1 序列,以及具有与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的 CDR2 序列至少 50% 相同的 CDR2 序列。在一个实施方式中,所述差异不超过 24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸位置。在一个实施方式中,所述 CDR 的序列同一性是至少 55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99%。

[0016] 在一个方面,本发明提供了抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含这样的氨基酸序列:所述氨基酸序列与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的氨基酸序列相同;或与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的氨基酸序列的差异不超过 25 个氨基酸位置,并且具有与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的 CDR1 序列至少 50% 相同的 CDR1 序列,以及具有

与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项中的 CDR3 序列至少 50% 相同的 CDR3 序列。在一个实施方式中,所述差异不超过 24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸位置。在一个实施方式中,所述 CDR 的序列同一性是至少 55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99%。

[0017] 在一个方面,本发明提供了抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含这样的氨基酸序列:所述氨基酸序列与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的氨基酸序列相同;或与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的氨基酸序列的差异不超过 25 个氨基酸位置,并且具有与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的 CDR2 序列至少 50% 相同的 CDR2 序列,以及具有与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项中的 CDR3 序列至少 50% 相同的 CDR3 序列。在一个实施方式中,所述差异不超过 24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸位置。在一个实施方式中,所述 CDR 的序列同一性是至少 55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99%。

[0018] 在一个方面,本发明提供了抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含这样的氨基酸序列:所述氨基酸序列与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的氨基酸序列相同;或与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的氨基酸序列的差异不超过 25 个氨基酸位置,并且具有与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的 CDR1 序列至少 50% 相同的 CDR1 序列,以及具有与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的 CDR2 序列至少 50% 相同的 CDR2 序列,以及具有与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项中的 CDR3 序列至少 50% 相同的 CDR3 序列。在一个实施方式中,所述差异不超过 24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸位置。在一个实施方式中,所述 CDR 的序列同一性是至少 55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99%。

[0019] 在一个方面,本发明提供了抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含来自 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项的 CDR3 序列,或与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的 CDR3 序列至少 50% 相同的 CDR3 序列。在一个实施方式中,差异不超过 14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸位置。在一个实施方式中,所述 CDR 的序列同一性是至少 55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99%。在一个实施方式中,抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域包含来自 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项的 CDR3 序列。

[0020] 在另一个方面,本发明提供了抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,其包含 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32、LIP1-33 的任一项的 CDR1、CDR2 和 / 或 CDR3 序列 (例如 CDR1, CDR2, CDR3, CDR1 和 CDR2, CDR1 和 CDR3, CDR2 和 CDR3, 或 CDR1、CDR2 和 CDR3)。

[0021] 在一个实施方式中,根据本发明的任意抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域的 CDR1、CDR2 或 CDR3 序列显示于图 5、6 或 8。在本发明的任意方面的一个实施方式中,所述抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域与 DC-SIGN 结合。

[0022] 在一个实施方式中,根据本发明的任意方面的抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域与 DC-SIGN 特异性结合但是不与 DC-SIGNR 结合。

[0023] 在一个实施方式中,根据本发明的任意方面的抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域以低亲和性与 DC-SIGN 结合。在一个实施方式中,根据本发明的抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域针对 DC-SIGN 的亲和力是 1 μ M 或更高。

[0024] 在另一个方面,本发明提供了具有对 DC-SIGN 的结合特异性的配体,并且所述配体抑制具有 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项的氨基酸序列的抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域与 DC-SIGN 的结合。

[0025] 在本发明的另一个方面,提供了抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域,所述免疫球蛋白单可变域具有针对 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 的任一项即 SEQ ID NO: 19-36 的任意项的结合特异性。

[0026] 在一个实施方式中,根据本发明的多肽或抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域的氨基酸序列可以在 N 或 C 末端包含另外的氨基酸以促进所述多肽或单可变域的表达和 / 或使用。在一个实施方式中,所述多肽或抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域可以在 SEQ ID NO: 19-36 任意项所示的氨基酸序列的 N 末端包含氨基酸 ST。在另一个实施方式中,所述多肽或抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域可以包含标签序列,例如多组氨酸标签 (His- 标签)。在一个实施方式中,所述多肽或抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域可以在 C- 末端包含 His- 标

签。

[0027] 在一个方面,本发明提供了由核苷酸序列编码的多肽,所述核苷酸序列与图 3 所示和 SEQ ID NO:1-18 所示的 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 任意项的核苷酸序列至少 80% 相同,并且其中所述多肽包含与 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 任意项的氨基酸序列至少 90% 相同的氨基酸序列。在一个实施方式中,所述核苷酸序列的同源性百分率是至少 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99%。在一个实施方式中,所述氨基酸序列的同源性百分率是至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100%。例如,所述核苷酸序列可以是 LIP1-12、LIP1-13、LIP1-15、LIP1-17、LIP1-19、LIP1-21、LIP1-22、LIP1-23、LIP1-24、LIP1-25、LIP1-26、LIP1-27、LIP1-28、LIP1-29、LIP1-30、LIP1-31、LIP1-32 或 LIP1-33 任意项的核苷酸序列的密码子优化的形式。序列的密码子优化是本领域已知的。在一个实施方式中,将所述核苷酸序列针对在细菌(例如大肠杆菌(*E. coli*)或假单胞菌属(*Pseudomonas*),例如荧光假单胞菌(*P. Fluorescens*))、哺乳动物(例如 CHO)或酵母宿主细胞(例如毕赤酵母属(*Picchia*)或酵母属(*Saccharomyces*),例如巴斯德毕赤酵母(*P. pastoris*)或酿酒酵母(*S. cerevisiae*))中的表达进行优化。

[0028] 在一个方面,本发明提供了包含本发明的多肽的融合蛋白。

[0029] 在一个方面,本发明提供了分离的或重组的核酸,其编码包含根据本发明的任意方面的免疫球蛋白单可变域的多肽。在一个方面,本发明提供了包含所述核酸的载体。在一个实施方式中,所述载体是表达载体,其包含引导序列,例如 GAS 引导序列(如在例如 WO 2005/093074 中所描述),以确保在细胞上清液中的表达。在一个方面,本发明提供了宿主细胞,其包含所述核酸或载体。在一个实施方式中,所述宿主细胞是大肠杆菌。大肠杆菌的适宜的菌株是本领域技术人员熟悉的,并且包括例如 HB2151 细胞或 BL21 细胞。在一个方面,本发明提供了产生包含免疫球蛋白单可变域的多肽的方法,所述方法包括将宿主细胞维持在适合于表达所述核酸或载体的条件下,从而产生包含免疫球蛋白单可变域的多肽。所述方法还可以包括纯化所述多肽。所述方法还可以包括分离所述多肽、可变域或结合剂,并且任选产生变体,例如突变的变体,其相对于分离的多肽、可变域或结合剂具有改进的亲合力和/或 ND50(50%中和剂量)。用于改善免疫球蛋白单可变域的结合亲和力的技术是本领域已知的,例如用于亲和成熟的技术。

[0030] 在一个方面,本发明提供了药物组合物,其包含根据本发明任意方面的免疫球蛋白单可变域、多肽或结合剂,以及药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂。

[0031] 在一个实施方式中,根据本发明的免疫球蛋白单可变域包含抗体恒定域,例如抗体 Fc,任选地其中所述 Fc 的 N-末端连接(任选直接连接)至所述可变域的 C-末端。

[0032] 本发明的多肽或可变域可以是分离的和/或重组的。

[0033] 在一个方面,提供了包含根据本发明任意方面的多肽或可变域的 DC-SIGN 结合剂。适宜地,“DC-SIGN 结合剂”是与 DC-SIGN 结合的试剂并且其包含根据本发明的抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域。在一个实施方式中,所述结合剂是载体中的抗-DC-SIGN

免疫球蛋白单可变域。适宜地,所述载体可以是基于脂质的载体,例如膜囊泡或脂质体。在一个实施方式中,所述抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域由载体携带或者在载体上。

[0034] 在一个实施方式中,包含处于载体中的抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域的组合物赋予抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域延长的半衰期。

[0035] 在另一个方面,可以通过与另一个部分融合来赋予抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域延长的半衰期。

[0036] 本文还描述了用于测定样品中是否存在 DC-SIGN 或者样品中存在多少 DC-SIGN 的诊断试剂盒,其包含本发明的多肽、免疫球蛋白可变域 (dAb) 或结合剂和使用说明书 (例如,用于测定样品中是否存在 DC-SIGN 和 / 或 DC-SIGN 的量)。在一些实施方式中,该试剂盒还包含一种或多种辅助试剂,例如合适的缓冲液或合适的检测试剂 (例如,与本发明的多肽或 dAb 或与其结合或缀合的部分结合的可检测地标记的抗体或其抗原结合片段)。

[0037] 本发明还涉及包含固体表面的装置,在所述表面上固定了本发明的多肽、拮抗剂或 dAb,从而该固定的多肽或 dAb 与 DC-SIGN 结合。可以使用其上可以固定抗体或其抗原结合片段的任意合适的固体表面,例如,玻璃、塑料、碳水化合物 (例如琼脂糖珠子)。如果需要,所述支持物可以包含需要的官能团或经修饰以包含需要的官能团,以促进固定。所述装置和 / 或支持物可以具有任意合适的性状,例如,片、棒、带、板、载玻片、珠子、小球、圆盘、凝胶、管、球体、芯片、板或皿等等。在一些实施方式中,所述装置是油尺。在一个实施方式中,此类装置可用于纯化或分离树突状细胞。

[0038] 在另一个方面,提供了包含根据本发明的抗-DC-SIGN 单可变域的组合物,其用作药物。在一个实施方式中,所述抗-DC-SIGN 单可变域可用于通过其与 DC-SIGN 的特异性结合而将化合物递送至树突状细胞。此类递送的一种适宜的用途可用于产生免疫应答。特别地,可以产生抗肿瘤应答。因此,本发明提供了用于治疗癌症例如黑素瘤的组合物。在另一方面,本发明提供了用于治疗感染的组合物,其中感染性试剂通过与 DC-SIGN 的结合而进入细胞。此类感染的实例包括病毒感染,例如 HIV、丙肝和埃博拉病毒感染。因此,本发明还提供了包含根据本发明的抗-DC-SIGN 单可变域的组合物,其用于治疗 HIV、丙肝或埃博拉病毒感染。本发明还提供了包含根据本发明的抗-DC-SIGN 单可变域的组合物在制备用于治疗感染的药物中的用途。本发明还提供了治疗癌症或感染的方法,包括给予包含根据本发明的抗-DC-SIGN 单可变域的组合物。

附图说明

[0039] 图 1 显示了 LIP1 噬菌体颗粒与 DC-SIGN 包被的平板的结合。

[0040] 制备来自单一 LIP1 克隆的噬菌体颗粒,通过 ELISA 测定噬菌体颗粒的系列稀释物。在 4°C 以 DC SIGN (1-10 μ g/ml, 在 PBS 或 0.1M NaHCO₃ 缓冲液中, pH 9.6) 包被 ELISA 孔过夜。以含有 2% 脱脂奶粉的 PBS (PBSM) 封闭孔之后,将噬菌体在 PBSM 中温育 1 小时。以 PBS 洗涤之后,使用辣根过氧化物酶与抗-M13 单克隆抗体 (Amersham) 的缀合物,使用 3, 3', 5, 5' - 四甲基联苯胺作为底物,检测结合的噬菌体。HEL4 (Jespers 等人, J. Mol. Biol. (2004) 337, 893-903) 和 VKdummy 作为非结合阴性对照。

[0041] 图 2 显示了 LIP1-33 噬菌体与 DC-SIGN 肽和 DC SIGN 的结合。

[0042] 制备了来自 LIP1-33 的噬菌体颗粒,通过 ELISA 测定噬菌体颗粒的系列稀释物。在

4℃以 DC SIGNR、中性亲和素、DC SIGN 或 DC SIGN 肽 (1-10 μg/ml, 在 PBS 或 0.1M NaHCO₃ 缓冲液中, pH 9.6) 包被 ELISA 孔过夜。以含有 2% 脱脂奶粉的 PBS (PBSM) 封闭孔之后, 将噬菌体在 PBSM 中温育 1 小时。以 PBS 洗涤之后, 使用辣根过氧化物酶与抗-M13 单克隆抗体 (Amersham) 的缀合物, 使用 3,3',5,5'-四甲基联苯胺作为底物, 检测结合的噬菌体。HEL4 和 VKdummy 作为非结合阴性对照。

[0043] 图 3 显示了来自 LIP1VH 和 VK dAb 的核苷酸序列。“~”表示在图 3 显示的序列中引入的空格, 以允许 dAb 序列的序列比对。

[0044] 图 4 显示了来自 LIP1VH 和 VK dAb 的氨基酸序列。“~”表示在图 4 显示的序列中引入的空格, 以允许 dAb 序列的序列比对。

[0045] 图 5 显示了来自 LIP1 VK dAb 的序列的氨基酸比对。氨基酸编号是根据 Kabat。在比对标示出点 (“.”) 的地方, dAb 序列与第一个列出的参照 dAb 是相同的。通过单字母氨基酸符号表示变体氨基酸。本文所示的序列也完整呈现在图 4 中。以粗体和下划线着重标出的序列依次表示 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列。“-”表示在图 5 所示的序列中引入的空格, 以允许进行所有 dAb 序列的序列比对。

[0046] 图 6 显示了来自 LIP1 VH dAb 的序列的氨基酸比对。氨基酸编号是根据 Kabat。在比对标示出点 (“.”) 的地方, dAb 序列与第一个列出的参照 dAb 是相同的。通过单字母氨基酸符号表示变体氨基酸。本文所示的序列也完整呈现在图 4 中。以粗体和下划线着重标出的序列依次表示 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列。“-”表示在图 5 所示的序列中引入的空格, 以允许进行所有 dAb 序列的序列比对。

[0047] 图 7 显示了人 DC-SIGN 与 DC-SIGNR 的比对。标出了相同的氨基酸以及保守性替换。对于全长蛋白 (A) 而言, 同一性是 69%; 对于碳水化合物识别结构域 (CRD) (B) 而言, 同一性是 71%。显示了 DC-SIGN (SEQ ID NO:41) 和 DC-SIGNR (SEQ ID NO:42) 的氨基酸序列, 以及 DC-SIGN (SEQ ID NO:39) 和 DC-SIGNR (SEQ ID NO:40) 的碳水化合物识别结构域 (CRD)。

[0048] 图 8 显示了 LIP1VK 和 VH dAb 的 CDR1、CDR2 和 CDR3 的序列。

[0049] 发明详述

[0050] 在本说明书中, 通过参考实施方式, 以能够清楚和简明地书写说明书的方式描述了本发明。意在并且应该认识到的是, 可以不脱离本发明而对实施方式进行不同的组合或分离。

[0051] 除非另有指明, 否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本领域 (例如, 细胞培养、分子遗传学、核酸化学、杂交技术和生物化学) 普通技术人员通常理解相同含义。使用标准技术进行分子、遗传和生物化学方法 (一般可参见, Sambrook 等人, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第二版 (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. 和 Ausubel 等人, Short Protocols in Molecular Biology (1999) 第四版, John Wiley & Sons, Inc. 通过引用并入本文) 和化学方法。

[0052] 如本文使用的“肽”是指通过肽键连接在一起的大约 2 至大约 50 个氨基酸。

[0053] 如本文使用的“多肽”是指通过肽键连接在一起的至少大约 50 个氨基酸。多肽一般包含三级结构并折叠形成功能结构域。

[0054] “分离的”或“纯化的”多肽、抗体或其生物活性部分基本上不合来自该多肽、抗体

或其生物活性部分所源自的细胞或组织来源的细胞材料或其它污染蛋白,或者,如果是化学合成的,则基本上不含化学前体或其它化学品。词语“基本上不含细胞材料”包括这样的多肽、抗体或其生物活性部分的制备物:其中蛋白与其所分离自的或重组产生自的细胞的细胞成分分离。在一个实施方式中,词语“基本上不含细胞材料”包括这样的多肽、抗体或其生物活性部分的制备物:其具有大约 30%以下(干重)的非抗体(本文中也可称作“污染蛋白”),在一种情况下,大约 20%以下的非抗体蛋白,在另一情况下,大约 10%以下的非抗体蛋白,在另一情况下,大约 5%以下的非抗体蛋白。当多肽、抗体或其生物活性部分纯化自重组来源时,其也基本上不含培养基,即,培养基占蛋白制备物体积的大约 20%以下,在一种情况下大约 10%以下,在另一种情况下大约 5%以下。

[0055] 树突状细胞特异性 ICAM-3 结合性非整合素(DC-SIGN 或 CD209)是 II 型膜蛋白,其是甘露糖特异性的钙依赖性(C-型)凝集素。DC-SIGN 介导树突状细胞(DC)与 T 细胞之间的相互作用,其描述见例如 Geijtenbeek 等人 Cell(2000);100,565-585, Soilleux, Clinical Science(2003),104,437-446,在 NM_021155(mRNA)和 NP_066978(蛋白)中给出了序列数据。人 DC-SIGN 的氨基酸序列也显示于图 7(SEQ ID NO:41)。

[0056] 适宜地,本发明的抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域可以是任何抗体形式。

[0057] 如本文使用的抗体是指 IgG、IgM、IgA、IgD 或 IgE 或片段(例如 Fab、F(ab')₂、Fv、二硫键连接的 Fv、scFv、闭合构象多特异性抗体、二硫键连接的 scFv、双抗体),可以衍生自天然产生抗体的任意物种,或通过重组 DNA 技术产生;可以分离自血清、B 细胞、杂交瘤、转染瘤、酵母或细菌。

[0058] 如本文使用的“抗体形式”是指任意合适的多肽结构,其中可以掺入一个或多个抗-DC SIGN 抗体单可变域,以赋予该结构针对抗原的结合特异性。本领域已知多种适宜的抗体形式,例如嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、单链抗体、双特异性抗体、抗体重链、抗体轻链、抗体重链和/或轻链的同二聚体和异二聚体、前述任意项的抗原结合片段(例如 Fv 片段(例如,单链 Fv(scFv)、通过二硫键结合的 Fv)、Fab 片段、Fab' 片段、F(ab')₂ 片段)、单抗体可变域(例如, dAb、V_H、V_H_{III}、V_K、V_L),以及前述任意项的修饰的形式(例如,通过共价连接聚乙二醇或其它适宜的聚合物而修饰,或人源化的 V_H_{III})。

[0059] 根据本发明的可变域可以组合进入非免疫球蛋白多配体结构中以形成多价复合物,其与具有相同抗原的靶分子结合,从而提供优良的亲和力,同时至少一个可变域与抗原结合,以延长该多聚体的半衰期。例如,天然细菌受体例如 SpA 已经被用作移植 CDR 的支架,以产生与一个或多个表位特异性结合的配体。该方法的详细内容描述于 US 5,831,012。其它适宜的支架包括那些基于纤连蛋白和 Affibodies™ 的支架。适宜的方法的详细内容描述于 WO 98/58965。其它合适的支架包括脂质运载蛋白(lipocalin)和 CTLA4,如 van den Beuken 等人, J. Mol. Biol. (2001) 310, 591-601 中所描述,以及如 W000/69907 (Medical Research Council) 中描述的支架,其基于例如细菌 GroEL 或其它伴侣多肽的环结构。

[0060] 短语“免疫球蛋白单可变域”是指,不依赖于其它可变区或可变域的与抗原或表位特异性结合的抗体可变域(V_H、V_H_{III}、V_K、V_L)。本发明的免疫球蛋白单可变域在本文中也描述为配体,只要它们是针对 DC-SIGN 的结合配体。“抗-DC-SIGN”免疫球蛋白单可变域是识别 DC-SIGN 或特异性结合 DC-SIGN 的免疫球蛋白单可变域。在一个实施方式中,DC-SIGN 是人 DC-SIGN。免疫球蛋白单可变域可以以具有其它可变区或可变域的形式(例如,同多聚

体或异多聚体)存在,其中所述其它区或域不是所述免疫球蛋白单可变域结合抗原所必需的(即,所述免疫球蛋白单可变域与抗原的结合不依赖于另外的可变域)。在本文中,“域抗体”或“dAb”与“免疫球蛋白单可变域”用作相同的术语。在本文中,“单免疫球蛋白可变域”与“免疫球蛋白单可变域”用作相同的术语。在本文中,“单抗体可变域”或“抗体单可变域”与“免疫球蛋白单可变域”用作相同的术语。在一个实施方式中,免疫球蛋白单可变域是人抗体可变域,但是也包括来自其它种类例如啮齿类(例如,公开于 WO 00/29004,其内容通过引用方式全部并入本文)、护士鲨的单抗体可变域和 Camelid V_H dAb。Camelid V_H 是源自包括骆驼、美洲驼、羊驼、单峰骆驼和原驼(guanaco)的物种的免疫球蛋白单可变域多肽,其产生天然缺失轻链的重链抗体。V_H 可以是人源化的。

[0061] 可以产生具有优良的生物物理特性的单域抗体(单可变域多肽, dAb),并且提供相对于单克隆抗体的多个优点。例如,可以产生抗聚集、抗蛋白水解和抗变性的 dAb,使其更适于临床环境。此外,它们的形式使其更具灵活性。单克隆抗体还可能具有显著的形式和制备上的问题(单克隆抗体是从哺乳动物表达细胞产生的),而 dAb 的产生更加容易。

[0062] “结构域”是折叠的蛋白结构,其具有不依赖于蛋白的剩余部分的三级结构。一般而言,结构域负责蛋白的分离的功能特性,在很多情况下可以被添加、去除或转移至其它蛋白而不丧失该蛋白的其余部分和/或该结构域的功能。“单抗体可变域”是折叠的多肽结构域,其包含抗体可变域的特征性序列。因此,其包括完整的抗体可变域和修饰的可变域,例如,其中一个或多个环被替换为不是抗体可变域的特征性序列的序列,或者被截短或包含 N- 或 C- 末端延伸的抗体可变域,以及可变域的折叠片段,其至少保持全长结构域的结合活性和特异性。

[0063] 可以通过测定解离常数(Kd)来确定结合剂例如抗体或免疫球蛋白单可变域的结合、特异性结合和结合亲和力。用于测定 Kd 的适宜方法包括表面等离子共振。一种此类方法包括 Biacore 设备,其可以从 GE 获得。其它适宜的方法包括 ELISA。关于如何进行竞争性 ELISA 和竞争性 BiaCore 实验以确定结合亲和力的详细内容,参见 W02006038027。

[0064] 在一个实施例中,使用单克隆噬菌体 ELISA 测定结合。可以根据任何适宜方法进行噬菌体 ELISA。通常而言,可以通过 ELISA 与所选抗原或表位的结合来筛选在选择表达结合剂的噬菌体的每一轮所产生的噬菌体群体,以鉴定“多克隆”噬菌体抗体。然后通过 ELISA 筛选来自这些群体的单一感染细菌集落的噬菌体,以鉴定“单克隆”噬菌体抗体。也需要筛选与抗原或表位结合的可溶性抗体片段,并且这可以使用例如针对 C- 或 N- 末端标签的试剂通过 ELISA 来进行(参见,例如 Winter 等人(1994) Ann. Rev. Immunology 12, 433-55, 以及其中引用的参考文献)。在一个实施方式中,可以在存在蛋白 L 或蛋白 A 的情况下进行噬菌体 ELISA。

[0065] 在某些实施方式中,多肽、抗体、免疫球蛋白单可变域或 dAb 特异性结合 DC-SIGN, 例如人 DC-SIGN, 并且与人 DC-SIGN 解离的解离常数(Kd)为 300nM 至 1pM, 或 300nM 至 5pM, 或 50nM 至 1pM, 或 50nM 至 5pM, 或 50nM 至 20pM, 或大约 10pM, 或大约 15pM, 或大约 20pM, 如通过表面等离子共振所测定。在其它实施方式中,多肽、抗体、免疫球蛋白单可变域或 dAb 特异性结合 DC-SIGN, 例如人 DC-SIGN, 并且与人 DC-SIGN 解离的解离常数(Kd)为 400nM 至 1 μ M, 或 500nM 至 1 μ M, 或 600nM 至 1 μ M, 或 700nM 至 1 μ M, 或 800nM 至 1 μ M, 或 900nM 至 1 μ M。在其它实施方式中,多肽、抗体、免疫球蛋白单可变域或 dAb 特异性结合 DC-SIGN, 例

如人 DC-SIGN, 并且与人 DC-SIGN 解离的解离常数 (K_d) 为 1 至 2 μM , 或 1 μM 至 5 μM , 或 1 μM 至 10 μM , 或 5 μM 至 10 μM , 或 10 μM 至 20 μM 、30 μM 、40 μM 或 50 μM 。在某些实施方式中, 多肽、抗体、免疫球蛋白单可变域或 dAb 特异性结合 DC-SIGN, 例如人 DC-SIGN, 并且与人 DC-SIGN 解离的 K_{off} 速率常数为 $5 \times 10^{-1} \text{s}^{-1}$ 至 $1 \times 10^{-7} \text{s}^{-1}$, 或 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 至 $1 \times 10^{-7} \text{s}^{-1}$, 或 $1 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ 至 $1 \times 10^{-7} \text{s}^{-1}$, 或 $1 \times 10^{-5} \text{s}^{-1}$ 至 $1 \times 10^{-7} \text{s}^{-1}$, 或 $1 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$, 或 $1 \times 10^{-5} \text{s}^{-1}$, 如通过表面等离子共振所测定。在某些实施方式中, 多肽、抗体、免疫球蛋白单可变域或 dAb 特异性结合 DC-SIGN, 例如人 DC-SIGN, 并且 K_{on} 为 $1 \times 10^{-3} \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 至 $1 \times 10^{-7} \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$, 或 $1 \times 10^{-3} \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 至 $1 \times 10^{-6} \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$, 或大约 $1 \times 10^{-4} \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$, 或大约 $1 \times 10^{-5} \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 。在一个实施方式中, 多肽、抗体、免疫球蛋白单可变域或 dAb 特异性结合 DC-SIGN, 例如人 DC-SIGN, 并且与人 DC-SIGN 解离的解离常数 (K_d) 和 K_{off} 如本段所定义。在一个实施方式中, 多肽、抗体、免疫球蛋白单可变域或 dAb 特异性结合 DC-SIGN, 例如人 DC-SIGN, 并且与人 DC-SIGN 解离的解离常数 (K_d) 和 K_{on} 如本段所定义。在一些实施方式中, 多肽、抗体、免疫球蛋白单可变域或 dAb 特异性结合 DC-SIGN (例如人 DC-SIGN), 其 K_d 和 / 或 K_{off} 和 / 或 K_{on} 如本段所记载, 并且包含与 LIP1-29 的氨基酸序列至少或至少大约 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的氨基酸序列。在一个实施方式中, “高亲和力” 结合剂是, 当是单体形式时, 与细胞表面表达的 DC-SIGN 分子结合, 从而能够与细胞例如树突状细胞结合的结合剂。

[0066] 通常而言, 根据本发明的“高亲和力”结合剂例如多肽、抗体、免疫球蛋白单可变域或 dAb 是与靶分子、抗原或表位结合的结合剂, 其结合亲和力 (K_d) 值为不超过大约 300nM 至 1pM, 或 300nM 至 5pM, 或 50nM 至 1pM, 或 50nM 至 5pM, 或 50nM 至 20pM, 或大约 10pM, 或大约 15pM, 或大约 20pM。适宜地, 根据本发明的“低亲和力”结合剂是与靶分子或抗原结合的结合剂, 并且其 K_d 值是 400nM 至 1 μM , 或 500nM 至 1 μM , 或 600nM 至 1 μM , 或 700nM 至 1 μM , 或 800nM 至 1 μM , 或 900nM 至 1 μM 。在其它实施方式中, 根据本发明的“低亲和力”结合剂特异性结合 DC-SIGN, 例如人 DC-SIGN, 并且与人 DC-SIGN 解离的解离常数 (K_d) 是 1 至 2 μM , 或 1 μM 至 5 μM , 或 1 μM 至 10 μM , 或 5 μM 至 10 μM , 或 10 至 20、30、40 或 50 μM 。

[0067] 在一个实施方式中, 当本发明的免疫球蛋白单可变域存在于多价噬菌体或与蛋白 L 交联时可以测定亲和力。

[0068] 如本文所描述和例示, 本发明的 dAb 可以以低亲和力结合其靶 DC-SIGN。使用具有低亲和力的免疫球蛋白单可变域可以是有利的。

[0069] 特别地, 可以将很多个或多个低亲和力免疫球蛋白单可变域分子组合在一个载体试剂中, 从而在所述单可变域分子与其关连结合分子之间发生很多个相互作用。通过这种方式, 所述单可变域分子可用于靶向携带很多个或多种关连结合分子的细胞。例如, 当低亲和力结合剂例如本发明的免疫球蛋白单可变域分子以多种显示形式被掺入到载体分子中时, 多个结合剂应该与多个 DC-SIGN 分子结合, 以便使载体试剂与细胞结合或与细胞产生关联。此类载体试剂将有利地结合那些具有高 DC-SIGN 表达的细胞, 而非那些具有低 DC-SIGN 表达的细胞。通过这种方式, 本发明的低亲和力结合剂可用于靶向特定细胞, 并且同时, 提供总体高亲和力的结合。此外, 包含多个低亲和力免疫球蛋白单可变域的载体对于具有高拷贝数的 DC-SIGN 的细胞例如树突状细胞具有高亲和力, 而对于具有低拷贝数的 DC-SIGN 的细胞仅具有弱亲和力。因此, 此类载体将对于表达较高水平的 DC-SIGN 的细胞具有选择性。

[0070] 合适的载体描述于例如 WO 2007/072022。在一个实施方式中,载体具有多个根据本发明的结合剂。例如,载体可以具有 100 个以上至 1000 个以上的免疫球蛋白单可变域分子。

[0071] 因此,在本发明的一个方面,提供了包含多种显示形式的低亲和力 dAb 的组合物。多种显示形式可以包括根据本发明的免疫球蛋白单可变域分子的多聚体以及包含多个如上文描述的免疫球蛋白单可变域分子的载体。

[0072] 在另一个方面,提供了 DC-SIGN 受体结合剂,其包含根据本发明的抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域。适宜地,所述结合剂可以是包含在其表面显示一个或多个抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域的结构。

[0073] 使用多种显示形式的低亲和力免疫球蛋白单可变域分子提供了方便的制剂,其中无需除掉那些未被掺入到来自用于给药的组合物制剂的载体中的未结合的免疫球蛋白单可变域分子。游离的免疫球蛋白单可变域分子在体内迅速被清除。当这些免疫球蛋白单可变域分子具有针对其关连结合分子的低亲和力时,它们不可能与受体结合,因此可能在循环中保持游离并且将被清除。

[0074] 按照如下方式计算两个序列之间的“同源性”、“同一性”或“相似性”(这些术语在本文中相互替换地使用)。为了优化比较的目的将序列进行比对(例如,可以在第一和第二氨基酸或核酸序列中的一个或二者中引入空隙,以进行最佳比对,为了比较的目的可以忽视非同源序列)。在一个实施方式中,为了比较目的而比对的参考序列的长度可以是参考序列长度的至少 30%,或至少 40%,或至少 50%,或至少 60%,或至少 70%、80%、90%、100%。然后比较相应氨基酸位置或核苷酸位置处的氨基酸残基或核苷酸。当第一序列中的某位置上的氨基酸残基或核苷酸与第二序列中相应位置处的氨基酸残基或核苷酸相同时,分子在该位置是相同的(如本文使用的氨基酸或核酸“同源性”等同于氨基酸或核酸“同一性”)。两个序列之间的同一性百分率是序列共有的相同位置数的函数,其中考虑空隙数、每个空隙的长度,所述空隙是为了两个序列的最佳比对而需要导入的。可以使用默认参数,使用算法 BLAST 2 Sequences(Tatusova, T. A. 等人, FEMS Microbiol Lett, 174: 187-188(1999)) 来进行并确定氨基酸和核苷酸序列比对和同源性、相似性或同一性。

[0075] 互补决定区(CDR)和框架区是免疫球蛋白单可变域的区域。具体而言,具有单抗体可变域的序列的区域,其显示特定可变性,即,CDR(互补决定区)序列。CDR 位于抗体可变域的序列内的确定位置处。用于确定序列的 CDR 区的多种系统是本领域技术人员熟悉的。在一个实施方式中,本发明的 CDR 序列如免疫学上感兴趣的蛋白的序列的 Kabat 数据库(Kabat E. A., Wu, T. T., Perry, H., Gottesman, K. and Foeller, C. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, NIH 公开号 91-3242)所定义,其给出了标准编号方案,用于以恒定方式对抗体中的残基进行编号。如本文描述的免疫球蛋白单可变域(dAb)含有互补决定区(CDR1、CDR2 和 CDR3)。在一个实施方式中,根据本发明的抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域的 CDR 序列是图 8 所示的 CDR1、CDR2 和 CDR3。

[0076] 基于熟知的 Kabat 氨基酸编号系统和 CDR 的定义,如本文公开的 V_H (CDRH1 等)和 V_L (CDRL1 等)(V_K)dAb 的 CDR(CDR1、CDR2 和 CDR3)的氨基酸序列对于本领域技术人员是显而易见的。根据 Kabat 编号系统,其为最常用的基于序列可变性的方法,重链 CDR-H3 具有可变的长度,将残基 H100 和 H101 之间的插入物编号为直至 K 的字母(即 H100、

H100A...H100K、H101)。或者,可以使用 Chothia 的系统(基于结构性环区的位置)(Chothia 等人,(1989)Conformations of immunoglobulin hypervariable regions;Nature 342(6252),p877-883)、根据 AbM(Kabat 和 Chothia 之间的折衷)或根据 Contact 方法(基于晶体结构和与抗原接触的残基的预测)来确定 CDR,如下所述。关于合适的用于确定 CDR 的方法,见 <http://www.bioinf.org.uk/abs/>。

[0077] 一旦对每个残基进行编号之后,可以应用如下的 CDR 定义:

[0078] Kabat:

[0079] CDR H1:31-35/35A/35B

[0080] CDR H2:50-65

[0081] CDR H3:95-102

[0082] CDR L1:24-34

[0083] CDR L2:50-56

[0084] CDR L3:89-97

[0085] Chothia:

[0086] CDR H1:26-32

[0087] CDR H2:52-56

[0088] CDR H3:95-102

[0089] CDR L1:24-34

[0090] CDR L2:50-56

[0091] CDR L3:89-97

[0092] AbM:

[0093]

(使用 Kabat 编号):

CDR H1: 26-35/35A/35B

CDR H2: 50-58

CDR H3: 95-102

CDR L1: 24-34

CDR L2: 50-56

CDR L3: 89-97

(使用 Chothia 编号):

26-35

-

-

-

-

-

[0094] Contact

[0095]

(使用 Kabat 编号):	(使用 Chothia 编号):
CDR H1: 30-35/35A/35B	30-35
CDR H2: 47-58	-
CDR H3: 93-101	-
CDR L1: 30-36	-
CDR L2: 46-55	-
CDR L3: 89-96	-

[0096] (“-”意思是与 Kabat 的编号相同)

[0097] 本发明涉及编码如本文描述的肽或多肽的分离的和 / 或重组的核酸。

[0098] 在本文中被称作“分离的”核酸是这样的核酸：其已经与其原始环境（例如细胞中或核酸的混合物例如文库中）中的其它材料（例如，其它核酸，例如基因组 DNA、cDNA 和 / 或 RNA）分离开。分离的核酸可以作为载体（例如质粒）的一部分被分离。

[0099] 在本文中被称作“重组的”核酸是指通过重组 DNA 技术产生的核酸，包括依赖于人工重组的方法，例如使用例如限制性酶、同源重组、病毒等克隆进入载体或染色体，以及使用聚合酶链式反应 (PCR) 制备的核酸。

[0100] 本发明还涉及重组宿主细胞，其包含（一个或多个）重组核酸或表达构建体，所述重组核酸或表达构建体包含编码如本文描述的肽或多肽的核酸。还提供了制备肽或多肽的方法，包括将本发明的重组宿主细胞在适合表达肽或多肽的条件下维持。如果需要，该方法还可以包括分离或回收所述肽或多肽的步骤。

[0101] 例如，可以使用适合于所选择的宿主细胞的任意方法（例如转化、转染、电穿孔、感染）将编码肽或多肽的核酸分子（即一个或多个核酸分子）或包含此类核酸分子的表达构建体（即一个或多个构建体）导入合适的宿主细胞中，以产生重组宿主细胞，从而所述核酸分子与一个或多个表达控制元件可操作地连接（例如，在载体中，在通过细胞中的过程产生的构建体中，整合进入宿主细胞基因组）。可以将得到的重组宿主细胞维持在适合于表达的条件下（例如，存在诱导剂，在合适的动物中，在补充了合适的盐、生长因子、抗生素、营养补充物等的合适的培养基中），从而产生所编码的肽或多肽。如果需要，可以分离或回收（例如，从动物、宿主细胞、培养基、乳液）所编码的肽或多肽。该过程包括在转基因动物的宿主细胞中的表达（参见，例如，WO 92/03918, GenPharm International）。

[0102] 适宜地，还可以在适宜的体外表达系统中产生如本文描述的肽或多肽，通过化学合成或通过任意其它合适的方法产生。可以在大肠杆菌或毕赤酵母种属（例如，巴斯德毕赤酵母）中表达多肽、dAb 或拮抗剂。在一个实施方式中，当在大肠杆菌或毕赤酵母种属（例如，巴斯德毕赤酵母）中表达时，配体或 dAb 单体以至少大约 0.5mg/L 的量被分泌。在一个实施方式中，可以将表达载体选择为增加向宿主细胞上清液中的表达。在一个实施方式中，表达载体中掺入如本文描述的 GAS 引导序列。虽然，当在大肠杆菌或毕赤酵母种属（例如，巴斯德毕赤酵母）中表达时，如本文描述的配体和 dAb 单体可以被分泌，但是，也可以使用不利用大肠杆菌或毕赤酵母种属的任何适宜方法例如化学合成法或生物生产方法来生产它们。

[0103] 术语“半衰期”是指,在体内,配体(例如 dAb、多肽或拮抗剂)的血清浓度降低 50%所需的时间,例如由于配体的降解和/或通过天然机制发生的配体清除或螯合而降低。可以通过与抗降解和/或清除或螯合的分子结合而使本发明的配体在体内稳定并延长其半衰期。通常而言,此类分子是天然存在的蛋白,它们本身在体内具有长的半衰期。如果配体的功能活性在体内持续的时间长于那些不是半衰期延长性分子特异性的类似配体,则配体的半衰期延长。例如,对人血清白蛋白(HSA)和靶分子特异性的配体与相同的但不存在对 HSA 特异性的配体(即不结合 HSA 而是结合另一种分子)进行比较。例如,其可能结合细胞上的第三靶标。通常而言,半衰期增加 10%、20%、30%、40%、50%或更多。增加值可能在半衰期的 2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、10 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍或更高的范围。或者,或另外,增加值可能在半衰期的多达 30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍、100 倍、150 倍的范围。

[0104] 用于药代动力学分析和测定配体半衰期的方法是本领域技术人员熟悉的。详细内容可见 Kenneth, A 等人:Chemical Stability of Pharmaceuticals:A Handbook for Pharmacists 以及 Peters 等人,Pharmacokinetic analysis:A Practical Approach(1996)。另参考“Pharmacokinetics”,M Gibaldi & D Perron,Marcel Dekker 出版,原版的第 2 次修订(1982),其描述了药代动力学参数例如 t_{α} 和 t_{β} 半衰期和曲线下面积(AUC)。

[0105] 可以从配体的血清浓度针对时间的曲线来测定半衰期($t_{1/2\alpha}$ 和 $t_{1/2\beta}$)和 AUC。可以使用例如 WinNonlin 分析包(可以从 Pharsight Corp., Mountain View, CA94040, USA 获得)来模拟该曲线。在第一相(α 相),配体主要经历在患者中的分布和一些消除。第二相(β 相)是末相:此时配体已经分布并且血清浓度随着配体从患者中消除而降低。 t_{α} 半衰期是第一相的半衰期, t_{β} 半衰期是第二相的半衰期。因此,有利地,本发明提供了配体或包含根据本发明的配体的组合物,其具有 15 分钟或更长的范围内的 t_{α} 半衰期。在一个实施方式中,该范围的下限是 30 分钟、45 分钟、1 小时、2 小时、3 小时、4 小时、5 小时、6 小时、7 小时、10 小时、11 小时或 12 小时。此外,或可替代地,根据本发明的配体或组合物将具有长达并包括 12 小时的范围的 t_{α} 半衰期。在一个实施方式中,该范围的上限是 11、10、9、8、7、6 或 5 小时。合适的范围的实例是 1 至 6 小时,2 至 5 小时,或 3 至 4 小时。

[0106] 有利地,本发明提供了配体或包含根据本发明的配体的组合物,其具有 2.5 小时或更长的范围的 t_{β} 半衰期。在一个实施方式中,该范围的下限是 3 小时、4 小时、5 小时、6 小时、7 小时、10 小时、11 小时或 12 小时。此外,或可替代地,根据本发明的配体或组合物将具有长达并包括 21 天的范围的 t_{β} 半衰期。在一个实施方式中,该范围的上限是 12 小时、24 小时、2 天、3 天、5 天、10 天、15 天或 20 天。有利地,根据本发明的配体或组合物将具有 12 至 60 小时范围内的 t_{β} 半衰期。在另一个实施方式中,其在 12 至 48 小时的范围内。在另一个实施方式中,其在 12 至 26 小时的范围内。

[0107] 除了上述标准之外或可替代地,本发明提供了配体或包含根据本发明的配体的组合物,其具有 1mg/分钟/ml 或更高的范围的 AUC 值(曲线下面积)。在一个实施方式中,该范围的下限是 5、10、15、20、30、100、200 或 300mg/分钟/ml。此外,或可替代地,根据本发明的配体或组合物具有高达 600mg/分钟/ml 的范围的 AUC。在一个实施方式中,该范围的上限是 500、400、300、200、150、100、75 或 50mg/分钟/ml。有利地,根据本发明的配体具

有选自下列的范围的 AUC, 优选但不限于: 15 至 150mg/ 分钟 /ml、15 至 100mg/ 分钟 /ml、15 至 75mg/ 分钟 /ml 和 15 至 50mg/ 分钟 /ml。

[0108] 在一个实施方式中, 一个或多个半衰期延长部分 (例如白蛋白、转铁蛋白及其片段和类似物) 与本发明的抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域或 dAb 缀合或结合。以抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域结合形式使用的适宜的白蛋白、白蛋白片段或白蛋白变体的实例描述于 WO 2005077042, 其公开内容通过引用并入本文并构成本文本的公开内容的一部分。

[0109] 以抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域结合形式使用的适宜的白蛋白、片段和类似物的其它实例描述于 WO 03076567, 其公开内容通过引用并入本文并构成本文本的公开内容的一部分。

[0110] 当一个或多个半衰期延长部分 (例如白蛋白、转铁蛋白及其片段和类似物) 或其它融合蛋白用于形成本发明的 DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域多肽和 dAb 的形式时, 可以使用任意合适的方法将其缀合, 例如, 通过直接与抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域 (例如 dAb) 融合, 例如通过使用编码融合蛋白的单一核苷酸构建体, 其中所述融合蛋白以具有位于抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域的 N- 或 C- 末端的半衰期延长部分的单多肽链的形式编码。或者, 可以使用部分之间的肽连接子实现缀合, 例如, 如 WO 03076567 或 WO 2004003019 中描述的肽连接子 (这些关于连接子的公开内容通过引用并入本公开物, 以提供用于本发明的实例)。通常而言, 增强体内血清半衰期的多肽是在体内天然存在并且对于通过内源性机制 (其从生物 (例如人) 中去除不需要的物质) 抵制降解或消除的多肽。例如, 增强体内血清半衰期的多肽可以选自: 来自细胞外基质的蛋白、存在于血液中的蛋白、存在于血脑屏障或神经组织中的蛋白、定位于肾、肝、肺、心脏、皮肤或骨的蛋白、应激蛋白、疾病特异性蛋白或参与 Fc 转运的蛋白。

[0111] 在本公开物通篇描述的本发明的实施方式中, 除了使用本发明的抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域“dAb”之外, 预期技术人员可以使用与 DC-SIGN 结合的包含本发明的 dAb 的一个或多个或全部三个 CDR 的多肽或结构域 (例如, 移植到合适的蛋白支架或骨架上的 CDR, 例如 affibody、SpA 支架、LDL 受体 A 类结构域或 EGF 结构域)。因此, 作为一个整体, 本公开物应该解释为提供了使用此类结构域而非 dAb 的抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域多肽的公开内容。就此方面, 参见 WO2008/096158。

[0112] 一般而言, 将以纯化的形式联合药学上可接受的载体来使用本发明的抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域、多肽、配体或结合剂。通常而言, 这些载体包括水性或醇 / 水溶液、乳液或悬浮液, 包括任意盐水和 / 或缓冲介质。肠胃外介质包括氯化钠溶液、林格氏葡萄糖、葡萄糖和氯化钠和乳酸林格氏溶液。如果保持悬浮液中的多肽复合物, 适合的生理上可接受的佐剂可以选自: 增稠剂, 例如羧甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、明胶和藻酸盐。在一个实施方式中, 本发明的抗 -DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域可以排列在囊泡例如胶束或脂质体上。

[0113] 静脉内介质包括流体和营养补充物和电解质补充物, 例如基于林格氏葡萄糖的那些。也可以存在防腐剂和其添加剂, 例如抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂和惰性气体 (Mack(1982)Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 16 版)。可以使用多种合适的制剂, 包括延释制剂。

[0114] 本发明的抗-DC-SIGN 免疫球蛋白单可变域、多肽、配体或结合剂可用作单独给药的组合物,或与其它试剂联合。药物组合物可以包括多种细胞毒性或其它试剂与本发明的配体的“混合物”,或甚至具有不同特异性的根据本发明的配体的组合,例如使用不同的靶抗原或表位选择的配体,无论在给药前是否将它们汇集。

[0115] 根据本发明的药物组合物的给药途径可以是本领域普通技术人员通常已知的任意途径。对于治疗,包括但不限于免疫治疗,可以根据标准技术向任意患者给予所选择的本发明的免疫球蛋白单可变域。

[0116] 可以通过任意合适的模式给药,包括肠胃外、静脉内、肌肉内、腹膜内、经皮肤、通过肺途径,或也可以适宜地,通过导管直接输注。给药的剂量和频率将取决于患者的年龄、性别和状况、其它药物的一并给药、禁忌症和临床医生要考虑在内的其它因素。如所指明的,可以局部给药(例如通过肺部给药局部输送到肺,例如鼻内给药)或全身给药。

[0117] 本发明的免疫球蛋白单可变域、多肽、配体或结合剂可以冻干以储存,并且在使用前在合适的载体中复原。已经证明该技术对于常规免疫球蛋白是有效的,可以使用本领域已知的冻干和复原技术。本领域技术人员将认识到,冻干和复原可能导致不同程度的抗体活性损失(例如,对于常规的免疫球蛋白,IgM 抗体倾向于比 IgG 抗体具有更大的活性损失),可能需要调整使用水平以进行补偿。

[0118] 可以给予包含本发明的免疫球蛋白单可变域、多肽、配体或结合剂或其混合物的组合物以用于预防性和/或治疗性处理。在某些治疗性应用中,足以实现所选择的细胞群体的至少部分抑制、阻抑、调节、杀灭或一些其它可测参数的量定义为“治疗上有效的剂量”。实现该剂量所需的量将取决于疾病的严重性和患者的自身免疫系统的一般状态,但是一般介于每千克体重 0.005 至 5.0mg 免疫球蛋白单可变域,例如 dAb 或拮抗剂,0.05 至 2.0mg/kg/剂是更经常使用的剂量。对于预防性应用,也可以以相似的或稍低的剂量给予包含本发明的免疫球蛋白单可变域或其混合物的组合物,以预防、抑制或延迟疾病的发作(例如,用以维持缓解或静止,或用以防止急性期)。有经验的临床医生将能够确定用于治疗、抑制或预防疾病的合适给药间隔。

[0119] 如果相对于治疗前存在的此类症状,或相对于未以此类组合物处理的个体(人或模型动物)或其它合适的对照,一个或多个症状减少(例如,减少至少 10%,或减少临床评估级别上的至少一个点),则使用本文描述的组合物进行的处理或治疗被认为是“有效的”。症状显然会根据所靶向的疾病或病症而变化,但是普通临床人员或技术人员可以测定。可以通过例如监视疾病或病症的一个或多个生化指标的水平(例如,与该疾病相关的酶或代谢物的水平,受影响的细胞数目等),通过监视身体表现(例如炎症、肿瘤大小等),或通过接受的临床评估级别来测定此类症状。疾病或病症的症状的持续(例如,一天或多天,或更长)减少至少 10%或减少给定临床级别上的一个或多个点是“有效的”治疗的指征。类似地,如果相对于未以组合物处理的类似个体(人或动物模型)中的此类症状,一个或多个症状的发作或严重性延迟、降低或消除,则使用本文描述的组合物进行的预防是“有效的”。

[0120] 包含根据本发明的免疫球蛋白单可变域、多肽、配体或结合剂或其混合物的组合物可用于预防性和治疗性环境,以辅助改变、灭活、杀灭或除掉哺乳动物中的选择的靶细胞群体。该组合物还可以通过阻断通常介导感染性试剂例如 HIV、丙肝病毒或埃博拉病毒的进入的受体而阻断感染。此外,本文描述的多肽的选择的库可用于在身体外或在体外从细胞

的异质集合中选择性杀灭、消除或有效除掉靶细胞群体或感染性试剂。可以将来自哺乳动物的血液在身体外与配体混合,从而杀灭或从血液中除掉不想要的细胞或感染性试剂,以根据标准技术将其输回至该哺乳动物中。

[0121] 包含根据本发明的配体(例如拮抗剂)的组合物可用于预防性和治疗性环境,以辅助改变、灭活、杀灭或除掉哺乳动物中的选择的靶细胞群体。

[0122] 免疫球蛋白单可变域、多肽、配体或结合剂可以与一种或多种另外的治疗剂或活性剂一起给药和/或与其一起配制。当免疫球蛋白单可变域(例如 dAb)与另外的治疗剂一起给药时,可以在给予所述另外的试剂之前、与之同时或之后给予所述配体。一般而言,以提供重叠的治疗效应的方式给予所述配体和另外的试剂。

[0123] 如本文使用的术语“剂量”是指一次全部向受试者给予的配体的量(单位剂量),或在确定的时间间隔内通过两次或更多次给药向受试者给予的配体的量。例如,剂量可以指在 1 天(24 小时)(日剂量)、2 天、1 周、2 周、3 周或 1 个或多个月的时间内向受试者给予(例如,通过单次给药,或通过两次或更多次给药)的配体(例如包含与靶抗原结合的免疫球蛋白单可变域的配体)的量。给药之间的间隔可以是任何需要的时间量。

[0124] 仅为了解释目的,在以下实施例中进一步描述本发明。

实施例

[0125] 实施例 1. 针对 DC-SIGN 的域抗体的先导选择和表征

[0126] 所产生的域抗体衍生自 4G 和 6G 噬菌体文库。4G 文库是基于 VH(V3-23[基因座]DP47[V Base Entry]和 JH4b)和 VL(012/02[基因座]DPκ9[V Base Entry]和 Jκ1)的单一人类框架,并在与已知分子结构中的抗原接触的抗原结合位点中的位置处引入侧链多样性(见 W02005093074)。重要的是,这些位置在成熟的库中也是高度多样化的。由这些框架编码的标准结构(VH:1-3,Vκ:2-1-1)是目前为止人类抗体库中最常见的。将重链的 CDR3 设计为尽可能短,但仍能够形成抗原结合表面。可以在不知道所选择的克隆的序列的情况下选择文库并进行亲和成熟。

[0127] 6G 文库是基于 VH(V3-23[基因座]DP47[V Base Entry]和 JH4b)和 VL(012/02[基因座]DPκ9[V Base Entry]和 Jκ1)的单一人类框架,其在与已知分子结构中的抗原接触的抗原结合位点中的位置处引入侧链多样性(见 W004101790)。

[0128] 6G dAb 文库中引入了另外的多样化以改善 4G 文库的折叠效率。在 VH 和 Vκ 序列中,仅有少数几个氨基酸对于折叠效率是关键性的。这些氨基酸位于 VH DP-47 的 H1 环以及位于 Vκ DPκ9 中的框架 2/CDR2 的边界。在 6G 文库中,多样化靶向这些区域以改善选择具有改善的折叠的 dAb 的可能性。位置 32 和 49 处的酪氨酸分别在 VH 和 Vκ 支架中多样化。在 Vκ 支架中,残基 27 和 89 也被多样化,以产生连续的和较大的多样化表面。通过在蛋白-A 或蛋白-L 上进行清理之前对初级噬菌体文库进行热处理来选择改善的折叠。然后将衍生自初级文库的汇集的 CDR1+2 文库片段与汇集的 CDR3 片段的文库重新组合来产生文库。

[0129] 为了进行选择,将对应于 DC-SIGN 的 9xHIS 标签、连接子和 C-末端的人 DC-SIGN 或 DC-SIGN 肽(氨基酸序列:HHHHHHHHH-SGSG-KKSAASCSRDEEQFLSPAPATPNPPPA(SEQ ID NO: 37))包被至 Maxisorp 免疫管(Nunc)(5-50 μg/ml,在 PBS 或 0.1M NaHCO₃ 缓冲液中, pH

9.6)。在以 1ml PBSM 中的 10^{12} TU 噬菌体进行的第一轮选择中,通常使用 50 μ g/ml 抗原。在后续轮次中,在每一轮减少抗原的量。将噬菌体 / 抗原混合物温育 1 小时。以 PBST 将免疫管珠子洗涤 8 次,以 PBS 洗涤 8 次。将结合的噬菌体在 PBS 中的 0.5ml 100 μ g/ml 胰蛋白酶中洗脱 10 分钟,然后用于在 30 分钟内在 37°C 感染 2ml 对数期的大肠杆菌 TG1 细胞。在 2xTY-Tet 琼脂平板上进行连续稀释(以测定噬菌体效价)和文库铺板。对于下一轮选择,将细胞从平板上刮下来并用于在 37°C 接种 200ml 2xTY-Tet,以进行噬菌体扩增。上清液用于制备噬菌体,细菌细胞沉淀物用于分离噬菌体 dsDNA,以将汇集的 dAb 基因亚克隆进入细菌表达载体 pDOM5(见下文)。

[0130] 对于噬菌体 ELISA,使用 DC SIGN 或 DC SIGNR(R&D Cat nr 162-D2) 以 (1-10 μ g/ml, 在 PBS 或 0.1M NaHCO_3 缓冲液中, pH 9.6) 在 4°C 包被 ELISA 孔过夜。以含有 2% 脱脂奶粉的 PBS (PBSM) 封闭该孔之后,将噬菌体在 PBSM 中温育 1 小时。以 PBS 洗涤之后,使用辣根过氧化物酶与抗 -M13 单克隆抗体 (Amersham) 的缀合物,使用 3,3',5,5'-四甲基联苯胺作为底物,检测结合的噬菌体。

[0131] 在两轮和三轮选择后,获得识别 DC SIGN 但不识别 DC SIGNR 的特异性噬菌体阳性物。将选择的 dAb 基因从 pDOM4 噬菌体载体亚克隆进入 pDOM5(pDOM4, 如 WO 2007/085815 中所描述,是 Fd 噬菌体载体的衍生物,其中基因 III 信号肽序列被替换为酵母糖脂锚定表面蛋白 (GAS) 信号肽 (WO 2005/093074)。其在引导序列与基因 III 之间还包含 c-myc 标签,其将基因 III 放置回阅读框中)。

[0132] pDOM5 是基于 pUC119 的表达载体,其处于 LacZ 启动子控制下。通过在 N-末端与普遍性 GAS 引导信号肽融合而确保 dAb 表达进入上清液中(描述于例如 WO 2005/093074)。dAb 前面是 Ser-Thr 残基,其存在于多聚连接子中以容纳 SalI 克隆位点。此外, c-myc- 标签悬于 dAb 的 C-末端。转化大肠杆菌 HB2151 细胞之后,集落用于接种补充了卡比西林 (100 μ g/mL) 的 50 至 500mL Terrific Broth 培养基。根据生产商的说明书,使用 OVERNIGHT EXPRESS™ System 1(高水平蛋白表达系统, Novagen) 进行诱导。将培养物在 30°C 温育 24-48 小时,并以 250rpm 摇动。通过离心 (4,000rpm, 20 分钟) 使细胞沉淀之后,使用 0.45 μ m 的滤纸过滤上清液,对于 V_H dAb, 在 4°C 与 Streamline- 蛋白 A 珠子 (Amersham Biosciences, 结合能力: 5mg dAb/mL 珠子) 温育过夜,对于 V_L dAb, 在 4°C 与蛋白 L- 琼脂糖珠子 (Affitech, 结合能力: 2mg of dAb/mL beads) 温育过夜。然后将这些珠子装载进入滴柱,以 10 倍柱体积的 PBS 清洗,在 0.1M 甘氨酸-HCl(对于 V_H 和 V_L dAb, pH 分别是 2.0 或 3.0) 洗脱结合的 dAb。以 pH 8.0 的 1M Tris-HCl 中和后,将蛋白样品在 PBS 中透析,并在 Vivaspin 5-kDa 浓缩器 (Vivascience) 中浓缩,然后储存于 4°C。在 12% 的丙烯酰胺 Tris- 甘氨酸凝胶 (Invitrogen) 上进行 SDS-PAGE 之后,通过目测分析估计蛋白纯度。使用从氨基酸组成计算的消光系数,在 280nm 处测定蛋白浓度和产率(以 mg/L 细菌培养物表示)。

[0133] 为了以可溶性 dAb 进行 ELISA 测定,按照噬菌体 ELISA 方法中的描述包被抗原。以含有 2% Tween 的 PBS (PBST) 封闭孔,将 dAb 在 PBST 中温育 1 小时。以 PBS 清洗之后,以 mAb 9E10 (Sigma, 1/2000 稀释), 然后以辣根过氧化物酶缀合的兔抗小鼠抗体 (Sigma, 1/2000 稀释) 来检测结合的 dAb。也在存在蛋白 L (1 μ g/ml) 时温育 dAb 的情况下进行该 ELISA。

[0134] 当以可溶性 dAb 进行测定时, dAb 未产生任何阳性 ELISA 信号。很可能是, 单体形式的 dAb 的亲合力太低。

[0135] 在蛋白 L 交联的情况下, 鉴定了 129 个结合克隆。将这些克隆测序并在 ELISA 中重新测定针对 DC-SIGN 和 DC-SIGNR 的结合。鉴定了 40 个独特的克隆。在存在蛋白 L 的情况下, 一些克隆特异性结合 DC-SIGN(而不结合 DC-SIGNR)。

[0136] 作为噬菌体, 鉴定了数个特异性结合 DC SIGN(但不结合 DC SIGNR) 的克隆, 但是, 作为可溶性 dAb 时, 产生不可检出的结合。这产生了数个 VH 克隆(见图 1)。

[0137] 进行了数种选择方法以鉴定仅结合 DC-SIGN 和 DC-SIGN 肽(DC-SIGN 的独特 C- 末端) 的克隆。

[0138] 选择方法:

[0139] 1. 以 DC-SIGN 蛋白进行第 1 轮、第 2 轮和第 3 轮。

[0140] 2. 以 DC-SIGN 蛋白进行第 1 轮和第 2 轮, 在 DC-SIGN 肽上进行第 3 轮。

[0141] 3. 以 DC-SIGN 蛋白进行第 1 轮和第 3 轮, 在 DC-SIGN 肽上进行第 2 轮。

[0142] 在噬菌体 ELISA 中, 从这三种方法总共筛选了 2200 个克隆。以 DC-SIGN 肽从该选择中筛选 1000 个克隆(以 DC-SIGN 蛋白进行第 1 轮和第 3 轮, 在肽上进行第 2 轮)。所选择的克隆的核苷酸和氨基酸序列显示于图 3 和 4。在来自初级筛选的 7 个噬菌体阳性物中, 发现仅有 1 个克隆(LIP1-33) 特异性结合 DC-SIGN 和 DC-SIGN 肽。还发现 LIP1-33 与 DC-SIGN 肽的结合可以被 DC-SIGN 抑制, 并且被 HIS 标签化的和生物素化的 DC-SIGN 肽抑制, 但是不被对照蛋白抑制(数据未显示)。

[0143] 将 LIP1-33 和其它的来自 DC SIGN 选择的 DC-SIGN 特异性噬菌体 VH 克隆重新克隆进入 pDOM5, 其中 GHGHGHGHGHGHGHGH 标签(SEQ ID NO :38) 悬于 C- 末端。表达并纯化可溶性 dAb。VH dAb HEL4(Jespers 等人, J. Mol. Biol. (2004) 337, 893-903) 用作阴性对照。

[0144] 表 1 : 具有 GHGHGHGHGHGHGHGH 标签(10xHIS) (SEQ ID NO :38) 的 dAb

[0145]

				表达
名称				mg/L
dAb 类型				
pI				
LIP1-25	VH	6.60		0.5
LIP1-27	VH	7.34		0.6
[0146] LIP1-28	VH	7.34		0.4
LIP1-29	VH	8.04		1.4
LIP1-30	VH	7.33		0.5
LIP1-31	VH	6.66		0.2
LIP1-33	VH	8.04		1.5
HEL4	VH	6.36		0.7

[0147] 虽然已经通过参考其实施方式具体显示并描述了本发明, 但是本领域技术人员将理解, 可以不脱离随附的权利要求所包括的本发明的范围而作出多种形式和细节上的变化。

[0001]

序列表

<110> 杜门蒂斯有限公司
de Wildt, Rudolf Maria

<120> 具有针对DC-SIGN 的结合特异性的配体

<130> DB00060 WO

<150> 61/107085

<151> 2008-10-21

<160> 96

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 325

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> LIP1-12

<400> 1

```
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga ccgtgtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtag gccgattggg actaatttat attggtacca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatcgttggg ggttcctttt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg ctacgtacta ctgtggtcag cgggcgcggt atccttgtac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa acggg                                     325
```

<210> 2

<211> 325

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> LIP1-13

<400> 2

```
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga ccgtgtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtag ggtatttgg caggagttaa agtggtacca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaggtcct gatctatagg ggtccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg ctacgtacta ctgtcaacag tcgttttata cgccttatac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa acggg                                     325
```

<210> 3

<211> 325

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> LIP1-15

[0002]

<400> 3

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga ccgtgtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtcg ggcgattggg acgtatttag cttggtacca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatcttgttg ggggccgtgt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg ctacgtacta ctgtgctcag ttggcgcagc gtccttcgac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa acggg                                     325

```

<210> 4

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> LIP1-17

<400> 4

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga ccgtgtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gaggattggg cataagttac attggtacca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatctt ggggcccggt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg ctacgtacta ctgtcaacag aatgcttcta ggccttatac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa acggg                                     324

```

<210> 5

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> LIP1-19

<400> 5

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga ccgtgtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gaggattggg cgtgatttag agtggtagca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatttg gggccattt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg ctacgtacta ctgtcaacag actatgcgtt atccttttac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa acggg                                     324

```

<210> 6

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> LIP1-21

<400> 6

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga ccgtgtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca ggggtatttg caggcggtac gttggtacca gcagaaacca 120
gggagagccc ctaagctcct gatctataat gggccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg ctacgtacta ctgtcaacag cgtttttatc ctccttatac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa acggg                                     324

```

[0003]

<210> 7
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-22

<400> 7
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga ccgtgtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gaatattatg acgcatttag cttggtatca gcagaaacca 120
 gggaaggccc ctaagctcct gatctatagt cattcctatt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg ctacgtacta ctgtcaacag aagtattggc ctccttttac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaatcaa acgg 324

<210> 8
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-23

<400> 8
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga ccgtgtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca ggatatttgg cgtgagttaa ggtggtatca gcagaaacca 120
 gggaaggccc ctaagctcct gatctatcgt gcttccaatt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 cgtctcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg ctacgtacta ctgtcaacag acgttttata ctccttatac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaatcaa acgg 324

<210> 9
 <211> 361
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-26

<400> 9
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgcgtctc 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttcg cattatacga tgagttgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg gtctggagtg ggtctcaagt atttctcta ctggttttaa gacatactac 180
 gcagactccg tgaagggcg gttcaccatc tcccgagaca attccaagaa cacgtgtgat 240
 ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggat accgcggtat attactgtgc gaaatggaat 300
 cctcataggt cgacgtatct tgactactgg ggtcagggaa ccctggtcac cgtctcgagc 360
 g 361

<210> 10
 <211> 361
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-28

[0004]

<400> 10
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgcgtctc 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccctttgtt gctactccta tgcattgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg gtctagagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggac accgcggtat attactgtgc gaaagggtag 300
 gatccttctt tggagcgggt tgactactgg ggtcaggga ccttggtcac cgtctcgagc 360
 g 361

<210> 11
 <211> 358
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-30

<400> 11
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgcgtctc 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccctttagt gggatatagta tggcgtgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg gtctggagtg ggtctcacag attgggcgcg ttggtgttaa gacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggac accgcggtat attactgtgc gaaactgacg 300
 tcggatgctc atgattttga ctactgggggt cagggaaccc tggtcaccgt ctcgagcg 358

<210> 12
 <211> 364
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-32

<400> 12
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgcgtctc 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccctttgtt atgtatccga tgggttgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg gtctagagtg ggtctcaaag attgggcctc atggtcggtt gacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggac accgcggtat attactgtgc gaaagggagt 300
 ctgtgggaga tgagtcgtag gtttgactac tggggtcagg gaaccctggt caccgtctcg 360
 agcg 364

<210> 13
 <211> 358
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-24

<400> 13
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgcgtctc 60
 tcctgcgcag cctccggatt caccctttagt agtactggta tgcattgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg gtctagagtg ggtctcatcg attgcggctg atggtcatalac tacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggac accgcggtat attactgtgc gaaatctccg 300
 tgggtgctgg ataggtttga ctactgggggt cagggaacnc tggtcaccgt ctcgagcg 358

[0005]

<210> 14
 <211> 352
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-25

<400> 14
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgcgtctc 60
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttccg gatgcggata tgggtgtgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg gtctagagtg ggtctcatct atttctgata atggttttta tacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggat accgcggtat attactgtgc gaaatctcct 300
 ttggcgacgt ttgactactg gggtcaggga acccttggtca ccgtctcgag cg 352

<210> 15
 <211> 364
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-27

<400> 15
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgcgtctc 60
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttgag cagactgata tgcattgggc ccgccaggct 120
 ccagggaagg gtccagagtg ggtctcatct atttgcctt tgggtgcttt tacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggat accgcggtat attactgtgc gaaaagtccg 300
 ctggttcgta ataattggtca gtttgactac tggggtcagg gaaccctggt caccgtctcg 360
 agcg 364

<210> 16
 <211> 358
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-29

<400> 16
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgcgtctc 60
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttgat cgtcgtgcta tggggtgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg gtctagagtg ggtctcatct attgagtcgg atggtactag gacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggat accgcggtat attactgtgc gaaacatcct 300
 ggtagttctt atgtttttga ctactggggt cagggaaccc tggtcaccgt ctcgagcg 358

<210> 17
 <211> 367
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-31

[0006]

<400> 17
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgcgtctc 60
 tcctgtgcag cctccggatt cacccttgag atgtatggta tggcttgggt cgcgcaggct 120
 ccagggaagg gtctagagtg ggtctcatct attagtcctt cgggtcgtca tacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaata gaacagcctgcg tgccgaggat accgcggtat attactgtgc gaaacatcct 300
 ctgatcttgg gggagtcctgg tgagtttgac tactgggggc aggggaaccct ggtcaccgtc 360
 tcgagcgc

<210> 18
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-33

<400> 18
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgcgtctc 60
 tcctgtgcag cctccggatt cacccttccg tcgggtacga tgggggtgggt cgcgcaggct 120
 ccagggaagg gtctagagtg ggtctcatat attgatecga gtggttttat gacttactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaata gaacagcctgcg tgccgaggac accgcggtat attactgtgc gaaaagtatt 300
 gtgccgcgtt cgggtacttt tgactactgg ggtcagggaa ccctggtcac cgtctcgagc 360

<210> 19
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-12

<400> 19
 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 Pro Ile Gly Thr Asn
 20 25 30
 Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Val Gly Gly Ser Phe 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 Gly Gln Arg Ala Arg Tyr Pro Gly
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 20
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0007]

<220>

<223> LIP1-13

<400> 20

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

<210> 21

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LIP1-15

<400> 21

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	Ala	Ile	Gly	Thr	Tyr
		20						25				30			
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Leu	Trp	Gly	Ser	Val	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	Ala	Gln	Leu	Ala	Gln	Arg	Pro	Ser
				85				90					95		
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg				
			100					105							

<210> 22

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LIP1-17

<400> 22

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	Arg	Ile	Gly	His	Lys

[0008]

36

<211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-26

<400> 27
 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 His Tyr
 20 25 30
 Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Ser Thr Gly Phe Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Trp Asn Pro His Arg Ser Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 28
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-28

<400> 28
 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 Val Ala Thr
 20 25 30
 Pro Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Trp Asp Pro Ser Leu Glu Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 29
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0011]

<400> 31

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

<210> 32

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LIP1-25

<400> 32

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

<210> 33

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LIP1-27

<400> 33

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[0013]

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

<210> 34
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-29

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

<210> 35
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-31

<400> 35
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 Glu Met Tyr
20 25 30

[0014]

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

<210> 36
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> LIP1-33

<400> 36
 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 Pro Ser Gly
 20 25 30
 Thr Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Asp Pro Ser Gly Phe Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Ser Ile Val Pro Arg Ser Gly Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 37
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人DC-SIGN的C末端肽

<400> 37
 His His His His His His His His His Ser Gly Ser Gly Lys Lys Ser
 1 5 10 15
 Ala Ala Ser Cys Ser Arg Asp Glu Glu Gln Phe Leu Ser Pro Ala Pro
 20 25 30
 Ala Thr Pro Asn Pro Pro Pro Ala
 35 40

[0015]

<210> 38
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 多聚His标签

<400> 38
 Gly His His Gly His His Gly His His Gly His His Gly His His
 1 5 10 15

<210> 39
 <211> 152
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 39
 Cys His Pro Cys Pro Trp Glu Trp Thr Phe Phe Gln Gly Asn Cys Tyr
 1 5 10 15
 Phe Met Ser Asn Ser Gln Arg Asn Trp His Asp Ser Ile Thr Ala Cys
 20 25 30
 Lys Glu Val Gly Ala Gln Leu Val Val Ile Lys Ser Ala Glu Glu Gln
 35 40 45
 Asn Phe Leu Gln Leu Gln Ser Ser Arg Ser Asn Arg Phe Thr Trp Met
 50 55 60
 Gly Leu Ser Asp Leu Asn Gln Glu Gly Thr Trp Gln Trp Val Asp Gly
 65 70 75 80
 Ser Pro Leu Leu Pro Ser Phe Lys Gln Tyr Trp Asn Arg Gly Glu Pro
 85 90 95
 Asn Asn Val Gly Glu Glu Asp Cys Ala Glu Phe Ser Gly Asn Gly Trp
 100 105 110
 Asn Asp Asp Lys Cys Asn Leu Ala Lys Phe Trp Ile Cys Lys Lys Ser
 115 120 125
 Ala Ala Ser Cys Ser Arg Asp Glu Glu Gln Phe Leu Ser Pro Ala Pro
 130 135 140
 Ala Thr Pro Asn Pro Pro Pro Ala
 145 150

<210> 40
 <211> 135
 <212> PRT
 <213> 智人

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

[0016]

65					70					75				80
Ser	Pro	Leu	Ser	Pro	Ser	Phe	Gln	Arg	Tyr	Trp	Asn	Ser	Gly	Glu
				85					90					95
Asn	Asn	Ser	Gly	Asn	Glu	Asp	Cys	Ala	Glu	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly
			100					105					110	Trp
Asn	Asp	Asn	Arg	Cys	Asp	Val	Asp	Asn	Tyr	Trp	Ile	Cys	Lys	Lys
		115					120					125		Pro
Ala	Ala	Cys	Phe	Arg	Asp	Glu								
	130					135								

<210> 41
 <211> 404
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 41

Met	Ser	Asp	Ser	Lys	Glu	Pro	Arg	Leu	Gln	Gln	Leu	Gly	Leu	Leu	Glu
1				5					10					15	
Glu	Glu	Gln	Leu	Arg	Gly	Leu	Gly	Phe	Arg	Gln	Thr	Arg	Gly	Tyr	Lys
			20					25					30		
Ser	Leu	Ala	Gly	Cys	Leu	Gly	His	Gly	Pro	Leu	Val	Leu	Gln	Leu	Leu
		35					40					45			
Ser	Phe	Thr	Leu	Leu	Ala	Gly	Leu	Leu	Val	Gln	Val	Ser	Lys	Val	Pro
	50					55					60				
Ser	Ser	Ile	Ser	Gln	Glu	Gln	Ser	Arg	Gln	Asp	Ala	Ile	Tyr	Gln	Asn
65					70				75					80	
Leu	Thr	Gln	Leu	Lys	Ala	Ala	Val	Gly	Glu	Leu	Ser	Glu	Lys	Ser	Lys
				85					90					95	
Leu	Gln	Glu	Ile	Tyr	Gln	Glu	Leu	Thr	Gln	Leu	Lys	Ala	Ala	Val	Gly
			100					105						110	
Glu	Leu	Pro	Glu	Lys	Ser	Lys	Leu	Gln	Glu	Ile	Tyr	Gln	Glu	Leu	Thr
		115					120					125			
Arg	Leu	Lys	Ala	Ala	Val	Gly	Glu	Leu	Pro	Glu	Lys	Ser	Lys	Leu	Gln
	130					135						140			
Glu	Ile	Tyr	Gln	Glu	Leu	Thr	Trp	Leu	Lys	Ala	Ala	Val	Gly	Glu	Leu
145					150				155					160	
Pro	Glu	Lys	Ser	Lys	Met	Gln	Glu	Ile	Tyr	Gln	Glu	Leu	Thr	Arg	Leu
			165					170						175	
Lys	Ala	Ala	Val	Gly	Glu	Leu	Pro	Glu	Lys	Ser	Lys	Gln	Gln	Glu	Ile
			180					185						190	
Tyr	Gln	Glu	Leu	Thr	Arg	Leu	Lys	Ala	Ala	Val	Gly	Glu	Leu	Pro	Glu
		195					200					205			
Lys	Ser	Lys	Gln	Gln	Glu	Ile	Tyr	Gln	Glu	Leu	Thr	Arg	Leu	Lys	Ala
	210					215					220				
Ala	Val	Gly	Glu	Leu	Pro	Glu	Lys	Ser	Lys	Gln	Gln	Glu	Ile	Tyr	Gln
225					230					235				240	
Glu	Leu	Thr	Gln	Leu	Lys	Ala	Ala	Val	Glu	Arg	Leu	Cys	His	Pro	Cys
			245						250					255	
Pro	Trp	Glu	Trp	Thr	Phe	Phe	Gln	Gly	Asn	Cys	Tyr	Phe	Met	Ser	Asn
			260					265					270		
Ser	Gln	Arg	Asn	Trp	His	Asp	Ser	Ile	Thr	Ala	Cys	Lys	Glu	Val	Gly
		275					280					285			
Ala	Gln	Leu	Val	Val	Ile	Lys	Ser	Ala	Glu	Glu	Gln	Asn	Phe	Leu	Gln
	290					295					300				
Leu	Gln	Ser	Ser	Arg	Ser	Asn	Arg	Phe	Thr	Trp	Met	Gly	Leu	Ser	Asp
305					310					315					320

[0017]

Leu Asn Gln Glu Gly Thr Trp Gln Trp Val Asp Gly Ser Pro Leu Leu
 325 330 335
 Pro Ser Phe Lys Gln Tyr Trp Asn Arg Gly Glu Pro Asn Asn Val Gly
 340 345 350
 Glu Glu Asp Cys Ala Glu Phe Ser Gly Asn Gly Trp Asn Asp Asp Lys
 355 360 365
 Cys Asn Leu Ala Lys Phe Trp Ile Cys Lys Lys Ser Ala Ala Ser Cys
 370 375 380
 Ser Arg Asp Glu Glu Gln Phe Leu Ser Pro Ala Pro Ala Thr Pro Asn
 385 390 395 400
 Pro Pro Pro Ala

<210> 42
 <211> 353
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 42

Met Ser Asp Ser Lys Glu Pro Arg Val Gln Gln Leu Gly Leu Leu Glu
 1 5 10 15
 Glu Asp Pro Thr Ser Gly Ile Arg Leu Phe Pro Arg Asp Phe Gln
 20 25 30
 Phe Gln Gln Ile His Gly His Lys Ser Ser Thr Gly Cys Leu Gly His
 35 40 45
 Gly Ala Leu Val Leu Gln Leu Leu Ser Phe Met Leu Leu Ala Gly Val
 50 55 60
 Leu Val Ala Ile Leu Val Gln Val Ser Lys Val Pro Ser Ser Leu Ser
 65 70 75 80
 Gln Glu Gln Ser Glu Gln Asp Ala Ile Tyr Gln Asn Leu Thr Gln Leu
 85 90 95
 Lys Ala Ala Val Gly Glu Leu Ser Glu Lys Ser Lys Leu Gln Glu Ile
 100 105 110
 Tyr Gln Glu Leu Thr Gln Leu Lys Ala Ala Val Gly Glu Leu Pro Glu
 115 120 125
 Lys Ser Lys Leu Gln Glu Ile Tyr Gln Glu Leu Thr Arg Leu Lys Ala
 130 135 140
 Ala Val Gly Glu Leu Pro Glu Lys Ser Lys Leu Gln Glu Ile Tyr Gln
 145 150 155 160
 Glu Leu Thr Arg Leu Lys Ala Ala Val Gly Glu Leu Pro Glu Lys Ser
 165 170 175
 Lys Leu Gln Glu Ile Tyr Gln Glu Leu Thr Gln Leu Lys Ala Ala Val
 180 185 190
 Gly Glu Leu Pro Asp Gln Ser Lys Gln Gln Gln Ile Tyr Gln Glu Leu
 195 200 205
 Thr Asp Leu Lys Thr Ala Phe Glu Arg Leu Cys Arg His Cys Pro Lys
 210 215 220
 Asp Trp Thr Phe Phe Gln Gly Asn Cys Tyr Phe Met Ser Asn Ser Gln
 225 230 235 240
 Arg Asn Trp His Asn Ser Val Thr Ala Cys Gln Glu Val Arg Ala Gln
 245 250 255
 Leu Val Val Ile Lys Thr Ala Glu Glu Gln Asn Phe Leu Gln Leu Gln
 260 265 270
 Thr Ser Arg Ser Asn Arg Phe Ser Trp Met Gly Leu Ser Asp Leu Asn
 275 280 285
 Gln Glu Gly Thr Trp Gln Trp Val Asp Gly Ser Pro Leu Ser Pro Ser

[0018]

	290				295					300									
Phe	Gln	Arg	Tyr	Trp	Asn	Ser	Gly	Glu	Pro	Asn	Asn	Ser	Gly	Asn	Glu				
305					310					315					320				
Asp	Cys	Ala	Glu	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Trp	Asn	Asp	Asn	Arg	Cys	Asp				
				325					330					335					
Val	Asp	Asn	Tyr	Trp	Ile	Cys	Lys	Lys	Pro	Ala	Ala	Cys	Phe	Arg	Asp				
			340					345					350						
Glu																			

<210> 43
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<400> 43
 Arg Ala Ser Arg Pro Ile Gly Thr Asn Leu Tyr
 1 5 10

<210> 44
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<400> 44
 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Trp Gln Glu Leu Lys
 1 5 10

<210> 45
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<400> 45
 Arg Ala Ser Arg Ala Ile Gly Thr Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 46
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<400> 46
 Arg Ala Ser Gln Arg Ile Gly His Lys Leu His
 1 5 10

<210> 47
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<400> 47

[0019]

Arg Ala Ser Gln Arg Ile Gly Arg Asp Leu Glu
1 5 10

<210> 48
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 48
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Trp Gln Ala Leu Arg
1 5 10

<210> 49
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 49
Arg Ala Ser Gln Asn Ile Met Thr His Leu Ala
1 5 10

<210> 50
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 50
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Trp Arg Glu Leu Arg
1 5 10

<210> 51
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 51
Ser Thr Gly Met His
1 5

<210> 52
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 52
Asp Ala Asp Met Val
1 5

<210> 53
<211> 5
<212> PRT

[0020]

<213> 人工序列

<400> 53

His Tyr Thr Met Ser
1 5

<210> 54

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 54

Gln Thr Asp Met His
1 5

<210> 55

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 55

Ala Thr Pro Met His
1 5

<210> 56

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 56

Arg Arg Ala Met Gly
1 5

<210> 57

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 57

Gly Tyr Ser Met Ala
1 5

<210> 58

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 58

Met Tyr Gly Met Ala
1 5

[0021]

<210> 59
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 59
Met Tyr Pro Met Gly
1 5

<210> 60
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 60
Ser Gly Thr Met Gly
1 5

<210> 61
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 61
Gly Gly Ser Phe Leu Gln Ser
1 5

<210> 62
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 62
Arg Gly Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 63
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 63
Trp Gly Ser Val Leu Gln Ser
1 5

<210> 64
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 64
Leu Gly Ser Arg Leu Gln Ser

[0022]

1 5

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 65

Trp Gly Ser Ile Leu Gln Ser

1

5

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 66

Asn Gly Ser Thr Leu Gln Ser

1

5

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 67

Ser His Ser Tyr Leu Gln Ser

1

5

<210> 68

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 68

Arg Ala Ser Asn Leu Gln Ser

1

5

<210> 69

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 69

Ser Ile Ala Ala Asp Gly His Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 70

<211> 17

[0023]

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 70

Ser	Ile	Ser	Asp	His	Gly	Phe	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 71

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 71

Ser	Ile	Ser	Ser	Thr	Gly	Phe	Lys	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 72

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 72

Ser	Ile	Ser	Pro	Leu	Gly	Ala	Phe	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 73

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 73

Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 74

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 74

Ser	Ile	Glu	Ser	Asp	Gly	Thr	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

[0024]

<210> 75
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 75
Gln Ile Gly Pro Leu Gly Val Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 76
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 76
Ser Ile Ser Pro Ser Gly Arg His Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 77
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 77
Lys Ile Gly Pro His Gly Arg Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 78
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 78
Tyr Ile Asp Pro Ser Gly Phe Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 79
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 79
Gly Gln Arg Ala Arg Tyr Pro Gly Thr
1 5

[0025]

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 80
Gln Gln Ser Phe Tyr Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 81
Ala Gln Leu Phe Gln Arg Pro Ser Thr
1 5

<210> 82
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 82
Gln Gln Asn Ala Ser Arg Pro Tyr Thr
1 5

<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 83
Gln Gln Thr Met Ser Arg Pro Phe Thr
1 5

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 84
Gln Gln Arg Phe Tyr Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 85
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0026]

<400> 85

Gln Gln Lys Tyr Trp Pro Pro Phe Thr
1 5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 86

Gln Gln Thr Phe Tyr Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 87

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 87

Ser Pro Trp Val Leu Asp Arg Phe Asp Tyr Trp
1 5 10

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 88

Ser Pro Leu Ala Thr Phe Asp Tyr Trp
1 5

<210> 89

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 89

Trp Asn Pro His Arg Ser Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp
1 5 10

<210> 90

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<400> 90

Ser Pro Leu Val Arg Asn Asn Gly Gln Phe Asp Tyr Trp
1 5 10

<210> 91

<211> 12

[0027]

<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 91
Gly Trp Asp Pro Ser Leu Glu Arg Phe Asp Tyr Trp
1 5 10

<210> 92
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 92
His Pro Gly Ser Ser Tyr Val Phe Asp Tyr Trp
1 5 10

<210> 93
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 93
Leu Thr Ser Asp Ala His Asp Phe Asp Tyr Trp
1 5 10

<210> 94
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 94
His Pro Leu Asp Leu Gly Glu Ser Gly Glu Phe Asp Tyr Trp
1 5 10

<210> 95
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 95
Gly Asn Leu Trp Glu Met Ser Arg Arg Phe Asp Tyr Trp
1 5 10

<210> 96
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<400> 96
Ser Ile Val Pro Arg Ser Gly Thr Phe Asp Tyr Trp
1 5 10

作为噬菌体的抗DC-SIGN dAb的结合

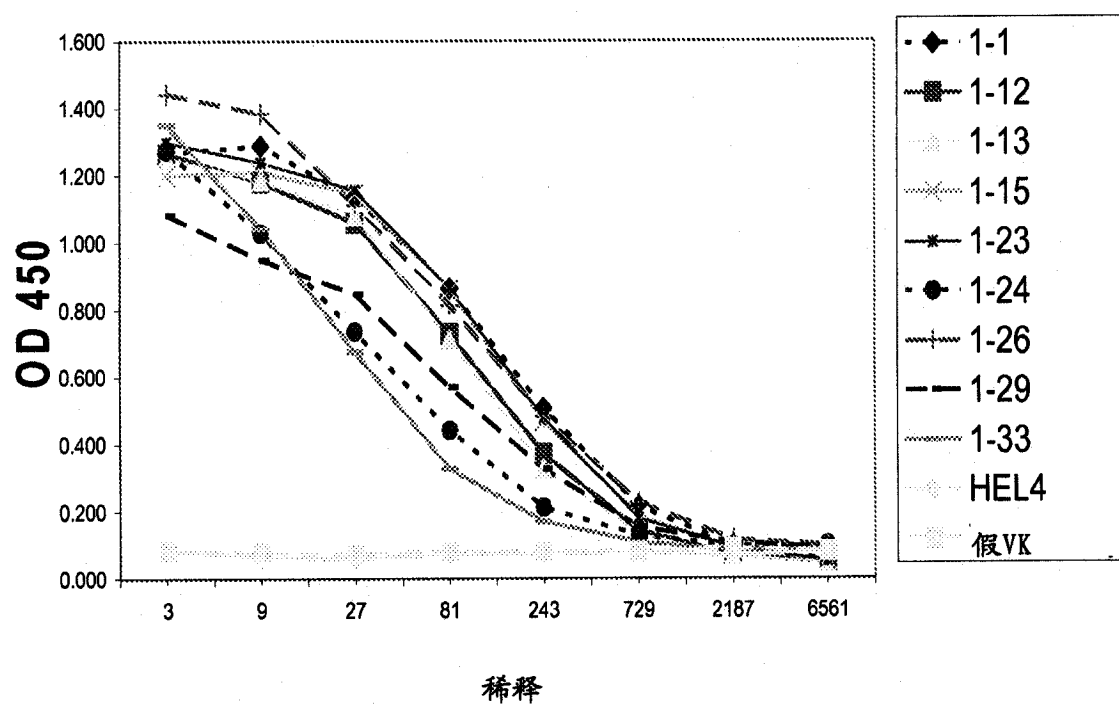


图 1

LIP1-33

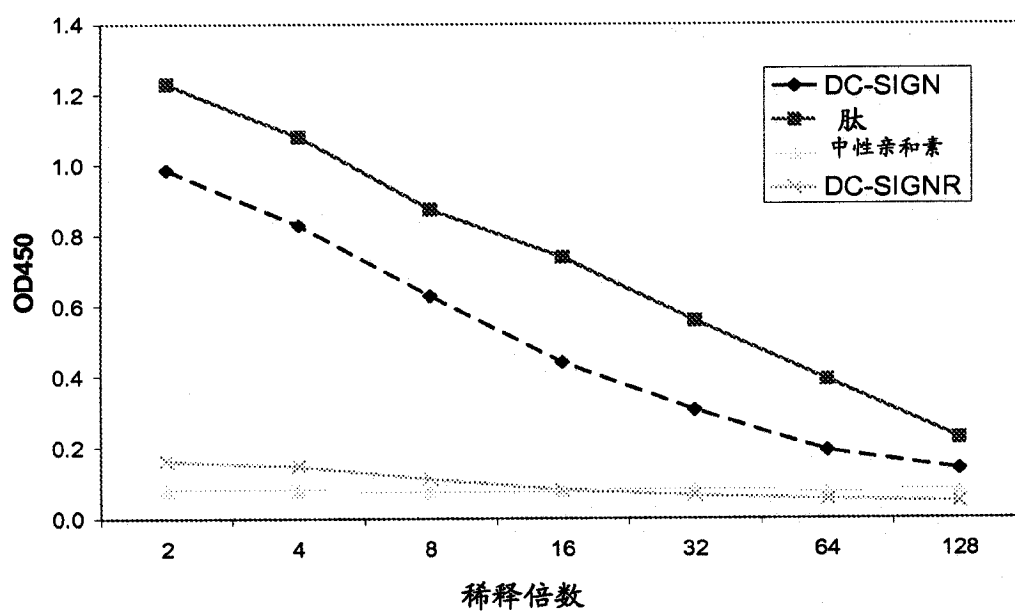


图 2

LIP1-12 6G-K A0124 (SEQ ID NO: 1)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCG
TGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTAGGCCGATTGGGACTAATTTATATTGGT
ACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCGTTGGGGGTTTCCTT
TTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAT
TTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTG
TGGTCAGCGGGCGCGGTATCCTGGTACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
ATCAAACGGG

LIP1-13 4G-K1 A0124 (SEQ ID NO: 2)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCG
TGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGTATTTGGCAGGAGTTAAAGTGG
TACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAGGCTCCTGATCTATAGGGGGTCCA
GTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGA
TTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACT
GTCAACAGTCGTTTTATCCGCCTTATACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGA
AATCAAACGGG

LIP1-15 6G-K A0124 (SEQ ID NO: 3)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCG
TGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCGGGCGATTGGTACGTATTTAGCTTGGT
ACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTTGTGGGGGTCCGT
GTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAT
TTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTG
TGCTCAGTTGGCGCAGCGTCCTTCGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
ATCAAACGGG

LIP1-17 4G-K1 A0124 (SEQ ID NO: 4)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCG
TGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGGATTGGTCATAAGTTACATTGGT
ACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATCTTGGGTCCCG
GTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAT
TTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTG
TCAACAGAATGCTTCTAGGCCTTATACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
ATCAAACGG

图 3 LIP1 和 VK dAb 的核苷酸序列

LIP1-19 4G-K1 A0124 (SEQ ID NO: 5)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCG
TGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGGATTGGGCGTGATTTAGAGTGG
TACCAGCAGAAACCAGGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATTGGGGGTCCA
TTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGA
TTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACT
GTCAACAGACTATGCGTTATCCTTTTACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGA
AATCAAACGG

LIP1-21 4G-K1 A0124 (SEQ ID NO: 6)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCG
TGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGTATTTGGCAGGCGTTACGTTGGT
ACCAGCAGAAACCAGGGAGAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATAATGGGTCCAC
TTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAT
TTCCTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTG
TCAACAGCGTTTTTATCCTCCTTATACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAA
TCAAACGG

LIP1-22 4G-K1 A0124 (SEQ ID NO: 7)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCG
TGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAATATTATGACGCATTTAGCTTGGT
ATCAGCAGAAACCAGGGGAAGGCCCTAAGCTCCTGATCTATAGTCATTCCTA
TTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAT
TTCCTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACTG
TCAACAGAAGTATTGGCCTCCTTTTACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
ATCAAACGG

LIP1-23 4G-K1 A0124 (SEQ ID NO: 8)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACCG
TGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGATATTTGGCGTGAGTTAAGGTGG
TATCAGCAGAAACCAGGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATCGTGCTTCCA
ATTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTCTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGA
TTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCTACGTACTACT
GTCAACAGACGTTTTATCCTCCTTATACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGA
AATCAAACGG

LIP1-26 4G-H11 A0124 (SEQ ID NO: 9)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGCGTCTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTTCGCATTATACGATGAGTT
GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGTCTGGAGTGGGTCTCAAGTATTTTCGTC
TACTGGTTTTTAAGACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCT
CCCGCGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGC
CGAGGATACCGCGGTATATTACTGTGCGAAATGGAATCCTCATAGGTCGACG
TAT~~~~TTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGCG

LIP1-28 6G-H10 A0124 (SEQ ID NO: 10)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGCGTCTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTGTTGCTACTCCTATGCATT
GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG
TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATC
TCCCGCGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTG
CCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGCGAAAGGGTGGGATCCTTCTTTGGA
GCGG~~~~TTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGCG

LIP1-30 4G-H11 A0124 (SEQ ID NO: 11)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGCGTCTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTAGTGGGTATAGTATGGCG
TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGTCTGGAGTGGGTCTCACAGATTGGGC
CGCTTGGTGTAAAGACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCAT
CTCCCGCGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGT
GCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGCGAAACTGACGTCGGATGCTCATG
AT~~~~TTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGCG

LIP1-32 4G-H11 A0124 (SEQ ID NO: 12)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGCGTCTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTGTTATGTATCCGATGGGTT
GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCAAAGATTGGGCC
TCATGGTCGGCTGACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATC
TCCCGCGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTG
CCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGCGAAAGGGAATCTGTGGGAGATGAG
TCGTAGG~~~~TTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGCG

LIP1-24 4G-H11 A0124 (SEQ ID NO: 13)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGGCTCTCTCCTGCGCAGCCTCCGGATTCACCTTTAGTAGTACTGGTATGCAT
TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCATCGATTGCGG
CTGATGGTCATACTACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCAT
CTCCCGCGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGT
GCCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGCGAAATCTCCGTGGGTGCTGGATA
GG~~~~~TTTGACTACTGGGGTCAGGGAACNCTGGTCACCGTCTCGAGCG

LIP1-25 6G-H10 A0124 (SEQ ID NO: 14)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGGCTCTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTCCGGATGCGGATATGGTG
TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCATCTATTTCTG
ATCATGGTTTTAATACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATC
TCCCGCGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTG
CCGAGGATACCGCGGTATATTACTGTGCGAAATCTCCTTTGGCGACG~~~~~
~~~~~TTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGCG

## LIP1-27 6G-H10 A0124 (SEQ ID NO: 15)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC  
TGGCTCTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTGAGCAGACTGATATGCAT  
TGGGCCCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGTCCAGAGTGGGTCTCATCTATTTTCGC  
CTTTGGGTGCTTTTACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATC  
TCCCGCGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTG  
CCGAGGATACCGCGGTATATTACTGTGCGAAAAGTCCGCTGGTTCGTAATAA  
TGGTCAG~~~TTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGCG

## LIP1-29 6G-H10 A0124 (SEQ ID NO: 16)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC  
TGGCTCTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTGATCGTCGTGCTATGGGG  
TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCATCTATTGAGT  
CGGATGGTACTAGGACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCAT  
CTCCCGCGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGT  
GCCGAGGATACCGCGGTATATTACTGTGCGAAACATCCTGGTAGTTCTTATGT  
T~~~~~TTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGCG

## LIP1-31 4G-H11 A0124 (SEQ ID NO: 17)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC  
TGCGTCTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTGAGATGTATGGTATGGCT  
TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCATCTATTAGTC  
CTTCGGGTCTGCATACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCAT  
CTCCCGCGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGT  
GCCGAGGATACCGCGGTATATTACTGTGCGAAACATCCTCTTGATCTGGGGG  
AGTCTGGTGAGTTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAG  
CG

## LIP1-33 4G-H17 A166 (SEQ ID NO: 18)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC  
TGCGTCTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTCCGTCGGGTACGATGGGG  
TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGGTCTCATATATTGATC  
CGAGTGGTTTTATGACTTACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATC  
TCCCGCGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTG  
CCGAGGACACCGCGGTATATTACTGTGCGAAAAGTATTGTGCCGCGTTCGGG  
TACT~~~~~TTTGACTACTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGC

LIP1-12 6G-K A0124 (SEQ ID NO: 19)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRPIGTNLYWYQQKPGKAPKLLIVGGSFLQS  
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCGQRARYPGTFGQGTKVEIKR

LIP1-13 4G-K1 A0124 (SEQ ID NO: 20)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIWQELKWYQQKPGKAPRLLIYRGSSLQ  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSFYPPYTFGQGTKVEIKR

LIP1-15 6G-K A0124 (SEQ ID NO: 21)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRAIGTYLAWYQQKPGKAPKLLILWGSVLQ  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCAQLAQRPSFTFGQGTKVEIKR

LIP1-17 4G-K1 A0124 (SEQ ID NO: 22)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQRIGHKLHWYQQKPGKAPKLLIYLGSRLLQ  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQNASRPPYTFGQGTKVEIKR

LIP1-19 4G-K1 A0124 (SEQ ID NO: 23)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQRIGRDLEWYQQKPGKAPKLLIYWGSILQ  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQTMRYPFTFGQGTKVEIKR

LIP1-21 4G-K1 A0124 (SEQ ID NO: 24)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIWQALRWYQQKPGRAPKLLIYNGSTLQ  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQRFPYPPYTFGQGTKVEIKR

LIP1-22 4G-K1 A0124 (SEQ ID NO: 25)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNIMTHLAWYQQKPGKAPKLLIYSHSYLQ  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQKYWPPFTFGQGTKVEIKR

LIP1-23 4G-K1 A0124 (SEQ ID NO: 26)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIWRELWYQQKPGKAPKLLIYRASNLQ  
SGVPSRLSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQTFFPPYTFGQGTKVEIKR

图 4 LIP1 和 VK dAb 的氨基酸序列

LIP1-26 4G-H11 A0124 (SEQ ID NO: 27)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTMSWVRQAPGKGLEWVSSISST  
GFKTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWNPHRSTY~  
~FDYWGQGTLVTVSS

LIP1-28 6G-H10 A0124 (SEQ ID NO: 28)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVATPMHWVRQAPGKGLEWVSAISGS  
GGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWDPSLER~~  
FDYWGQGTLVTVSS

LIP1-30 4G-H11 A0124 (SEQ ID NO: 29)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGY SMAWVRQAPGKGLEWVSQIGPL  
GVKTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLTSDAHD~~~  
FDYWGQGTLVTVSS

LIP1-32 4G-H11 A0124 (SEQ ID NO: 30)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVMYPMGWVRQAPGKGLEWVSKIGP  
HGRLTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGNLWEMSR  
R~FDYWGQGTLVTVSS

LIP1-24 4G-H11 A0124 (SEQ ID NO: 31)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSTGMHWVRQAPGKGLEWVSSIAAD  
GHTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSPWVLDR~~~  
FDYWGQGXLT VTVSS

LIP1-25 6G-H10 A0124 (SEQ ID NO: 32)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFPDADMVWVRQAPGKGLEWVSSISDH  
GFNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSPLAT~~~~~F  
DYWGQGTLVTVSS

LIP1-27 6G-H10 A0124 (SEQ ID NO: 33)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEQ TDMHVARQAPGKGPEWVSSISPL  
GAFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSPLVRNNGQ~  
FDYWGQGTLVTVSS

LIP1-29 6G-H10 A0124 (SEQ ID NO: 34)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDRRAMGWVRQAPGKGLEWVSSIESD  
GTRTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHPGSSYV~~~  
FDYWGQGTLVTVSS

LIP1-31 4G-H11 A0124 (SEQ ID NO: 35)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEMYGMAWVRQAPGKGLEWVSSISPS  
GRHTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHPLDLGESG  
EFDYWGQGTLVTVSS

LIP1-33 4G-H17 A166 (SEQ ID NO: 36)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFPSGTMGWVRQAPGKGLEWVSYIDPS  
GFMTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSIVPRSGT~~~F  
DYWGQGTLVTVSS

图5 LIP1 和 VK dAb 的氨基酸序列的比对。根据 Kabat 进行氨基酸编号

[illegible]

图6 LIP1 和 VK dAb 的氨基酸序列的比对。根据 Kabat 进行氨基酸编号

59 Y - - - - -  
 - Y - - - - -  
 - E - - - - -  
 - E N K E S I R K K H I M I  
 - H E E A G I F V R K R E  
 54 G - - - - -  
 - D I H E I H I S I - H I S I H I S I  
 - A I D I S I A I G I S I P I P I A I  
 - A I S I S I S I S I E I G I S I G I D I  
 - I - - - - -  
 50 S - - - - - A - Q - K - Y  
 - S - - - - -  
 - V - - - - -  
 - W - - - - -  
 - E - - - - -  
 45 L - - - - - P - - - - -  
 - G - - - - -  
 - K - - - - -  
 - G - - - - -  
 - P - - - - -

Kabat 残基  
 LIP1-24  
 LIP1-25  
 LIP1-26  
 LIP1-27  
 LIP1-28  
 LIP1-29  
 LIP1-30  
 LIP1-31  
 LIP1-32  
 LIP1-33

79 Y - - - - -  
 - L - - - - -  
 - T - - - - -  
 - N - - - - -  
 - K - - - - -  
 74 S - - - - -  
 - N - - - - -  
 - D - - - - -  
 - R - - - - -  
 - S - - - - -  
 69 I - - - - -  
 - T - - - - -  
 - F - - - - -  
 - R - - - - -  
 - G - - - - -  
 64 K - - - - -  
 - V - - - - -  
 - S - - - - -  
 - D - - - - -  
 - A - - - - -

Kabat 残基  
 LIP1-24  
 LIP1-25  
 LIP1-26  
 LIP1-27  
 LIP1-28  
 LIP1-29  
 LIP1-30  
 LIP1-31  
 LIP1-32  
 LIP1-33

|                                                                                                                        |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--|
| Kabat 残基<br>LIP1-24<br>LIP1-25<br>LIP1-26<br>LIP1-27<br>LIP1-28<br>LIP1-29<br>LIP1-30<br>LIP1-31<br>LIP1-32<br>LIP1-33 | 96   | P | I | · | N | I | · | W | I | · | E | I | · | N | I | I |  |
|                                                                                                                        |      | ' | S | I | · | W | I | · | G | I | I | I | I | I | I | I |  |
|                                                                                                                        |      | ' | K |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        |      | ' | A |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        |      | ' | C |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | 91   | Y |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        |      | Y |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        |      | V |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        |      | A |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        |      | T |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
| 86                                                                                                                     | D    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | E    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | A    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | R    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | L    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | 82b  | S |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | N    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | M    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | Q    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | L    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
| Kabat 残基<br>LIP1-24<br>LIP1-25<br>LIP1-26<br>LIP1-27<br>LIP1-28<br>LIP1-29<br>LIP1-30<br>LIP1-31<br>LIP1-32<br>LIP1-33 | 100  | V |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | 110  | T |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        |      | V |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        |      | L |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        |      | T |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        |      | G |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | 105  | Q |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        |      | G |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        |      | W |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | 100o | Y |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
| 100a                                                                                                                   | D    | I | I |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | I    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | I    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | I    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | E    | I | Q | E |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | E    | I | X | G | R |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | R    | I | E | N | E | I | V | I | D | E | I | S | I | G |   |   |  |
|                                                                                                                        | D    | E | I | S | N | I | I | X | I | G | I | M | I | S |   |   |  |
|                                                                                                                        | L    | I | E | R | R | I | S | S | I | A |   |   |   |   |   |   |  |
|                                                                                                                        | V    | I | A | I |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
| 100a                                                                                                                   | W    | I | I | E | I | I | D | I | G | S | I | I | I | V |   |   |  |



|              |       |                                                               |                 |
|--------------|-------|---------------------------------------------------------------|-----------------|
| <b>A</b>     |       | 1                                                             | 60              |
| dc-sign      | (1)   | MSPSKKPRQQLGLLEFQ-----LGLGFRQTRKSLAGCLGHGPIVLQQLSFTL          |                 |
| dc-signr     | (1)   | MSPSKKPRQQLGLLEFPTTSGIRLFPPDFQQIHEKSTGCLGHGALVLQQLSFTL        | 120             |
|              |       | 61                                                            | 120             |
| dc-sign      | (53)  | LAG---ILVQVSKVPSSSTEQEQDAIYQNLQKAAVGEISFKSKLQEIYQELTQIK       |                 |
| dc-signr     | (61)  | LAGVLVA-ILVQVSKVPSSSTEQEQDAIYQNLQKAAVGEISFKSKLQEIYQELTQIK     | 180             |
|              |       | 121                                                           | 180             |
| dc-sign      | (109) | AAVGEISFKSKLQEIYQELTRIKAAVIELPEKSKLQEIYQELTWIKAAVGEISFKSKLQEI |                 |
| dc-signr     | (121) | AAVGEISFKSKLQEIYQELIPLKAAVGEISFKSKLQEIYQELTRIKAAVGEISFKSKLQEI | 240             |
|              |       | 181                                                           | 240             |
| dc-sign      | (169) | IYQELTRIKAAVGEISFKSKQEIYQELTRIKAAVGEISFKSKQEIYQELTRIKAAVGE    |                 |
| dc-signr     | (181) | IYQELIQLKAAVGEISFKSKQEIYQELTRIKAAVGEISFKSKQEIYQELTRIKAAVGE    | 300             |
|              |       | 241                                                           | 300             |
| dc-sign      | (229) | LPEKSKQEIYQELTQKAAVERLCHPCPWWTFFQGNQCYMSNQANWHDSTACKEVG       |                 |
| dc-signr     | (203) | -----QIYQELTDLKTAFFRLCRHCPKWTFFQGNQCYMSNQANWHDSTACQEV         | 360             |
|              |       | 301                                                           | 360             |
| dc-sign      | (289) | AQLVVIKAAEQNFLQLQSRNRFTWGLSDLNQEGTWQVVDGSEPLSEFKQYNNRGE       |                 |
| dc-signr     | (255) | AQLVVIKAAEQNFLQLQSRNRFTWGLSDLNQEGTWQVVDGSEPLSEFKQYNNRGE       | 416             |
|              |       | 361                                                           | 416             |
| dc-sign      | (349) | NNVGEEDCAEFSGNGWNNDCNNAKWKCKKSAASCSRDEEQFLSPAPATPNPPPA        |                 |
| dc-signr     | (315) | MNSINEDCAEFSGNGWNNDCNNAKWKCKKSAASCSRDEEQFLSPAPATPNPPPA        |                 |
| <b>B</b>     |       | 1                                                             | 60              |
| dc-sign crd  | (1)   | CHPCPWWTFFQGNQCYMSNQANWHDSTACKEVG                             |                 |
| dc-signr crd | (1)   | CRHCPKWTFFQGNQCYMSNQANWHDSTACQEVRAQLVVIKAAEQNFLQLQSRNR        | 120             |
|              |       | 61                                                            | 120             |
| dc-sign crd  | (61)  | FWGLSDLNQEGTWQVVDGSEPLSEFKQYNNRGE                             |                 |
| dc-signr crd | (61)  | FWGLSDLNQEGTWQVVDGSEPLSEFKQYNNRGE                             | 152             |
|              |       | 121                                                           | 152             |
| dc-sign crd  | (121) | KNNCKKSAASCSRDEEQFLSPAPATPNPPPA                               | (SEQ ID NO: 39) |
| dc-signr crd | (121) | NKNNCKKSAASCSRDEEQFLSPAPATPNPPPA                              | (SEQ ID NO: 40) |

图7人DC-SIGN与DC-SIGNR的比对。全长蛋白(A)的同源性是69%，碳水化合物识别结构域(B)的同源性是71%

|         | CDR1        | CDR2              | CDR3           |
|---------|-------------|-------------------|----------------|
| LIP1-12 | RASRPIGTNLY | GGSFLLQS          | GQRARYPGT      |
| LIP1-13 | RASQGIWQELK | RGSSLQS           | QQSFYPPYT      |
| LIP1-15 | RASRAIGTYLA | WGSVLQS           | AQLFQRPST      |
| LIP1-17 | RASQRIGHKLH | LGSRLQS           | QQNASRPYT      |
| LIP1-19 | RASQRIGRDLE | WGSILQS           | QQTMSRPFT      |
| LIP1-21 | RASQGIWQALR | NGSTLQS           | QQRFYPPYT      |
| LIP1-22 | RASQNIMTHLA | SHSYLQS           | QQKYWPPFT      |
| LIP1-23 | RASQDIWRELK | RASNLQS           | QQTIFYPPYT     |
| LIP1-24 | STGMH       | SIAADGHITTYADSVKG | SPWVLDRFDYW    |
| LIP1-25 | DADMV       | SISDHGFNTTYADSVKG | SPLATFDYW      |
| LIP1-26 | HYTMS       | SISSTGFKTTYADSVKG | WNPHRSTYFDYW   |
| LIP1-27 | QTDHMH      | SISPLGAFTTYADSVKG | SPLVRNNGQFDYW  |
| LIP1-28 | ATPMH       | AISGSGGSTTYADSVKG | GWDPSLERFDYW   |
| LIP1-29 | RRAMG       | SIESDGTRTTYADSVKG | HPGSSYVFDYW    |
| LIP1-30 | GYSMA       | QIGPLGVKTTYADSVKG | LTSDAHDYFDYW   |
| LIP1-31 | MYGMA       | SISPSGRHTTYADSVKG | HPLDLGESGEFDYW |
| LIP1-32 | MYPMG       | KIGPHGRLTTYADSVKG | GNLWEMSRRFDYW  |
| LIP1-33 | SGTMG       | YIDPSGFMTTYADSVKG | SIVPRSGTFDYW   |

图 8