



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114302733 B

(45) 授权公告日 2025. 04. 25

(21) 申请号 202080061474.0

J·克什纳 D·麦克唐纳

(22) 申请日 2020.07.02

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114302733 A

专利代理师 陈文平 黄海波

(43) 申请公布日 2022.04.08

(51) Int.Cl.

(30) 优先权数据

A61K 38/00 (2006.01)

62/870,232 2019.07.03 US

A61K 39/00 (2006.01)

63/020,177 2020.05.05 US

A61K 39/395 (2006.01)

63/021,826 2020.05.08 US

C07K 7/06 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2022.03.01

C12N 15/13 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

(56) 对比文件

PCT/US2020/040642 2020.07.02

CN 115023500 A, 2022.09.06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/003357 EN 2021.01.07

CN 115485303 A, 2022.12.16

WO 2010106431 A2, 2010.09.23

WO 2016210365 A2, 2016.12.29

WO 2018132739 A2, 2018.07.19

WO 2005113595 A2, 2005.12.01

(73) 专利权人 里珍纳龙药品有限公司
地址 美国纽约州

审查员 李佳栋

(72) 发明人 K·A·布雷 F·德尔菲诺
D·迪利洛 M·C·富兰克林

权利要求书2页 说明书55页

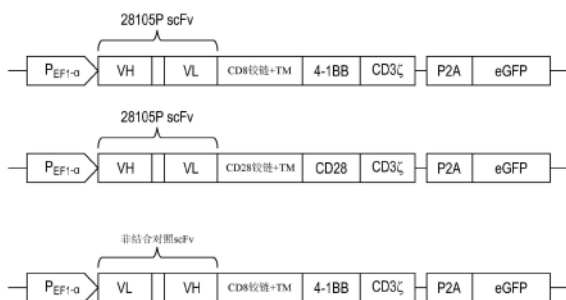
序列表201页 附图3页

(54) 发明名称

抗纽约食管鳞状细胞癌1(NY-ESO-1)抗原结合蛋白及其使用方法

(57) 摘要

本公开提供了与HLA展示的纽约食管鳞状细胞癌1(NY-ESO-1)肽特异性结合的抗原结合蛋白,以及使用这些结合蛋白的治疗和诊断方法。本公开的抗原结合蛋白以高度的特异性与HLA展示的NY-ESO-1结合,但不与相差2、3、4、5个或更多个氨基酸的HLA展示的肽结合。



1. 一种人单克隆抗体或其抗原结合片段,其与HLA-A2呈递的NY-ESO-1肽复合物的构象表位特异性结合,

其中所述人单克隆抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链互补决定区1、SEQ ID NO:6的重链互补决定区2、SEQ ID NO:8的重链互补决定区3,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:12的轻链互补决定区1、SEQ ID NO:14的轻链互补决定区2和SEQ ID NO:16的轻链互补决定区3。

2. 根据权利要求1所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述重链可变区/所述轻链可变区包含SEQ ID NO:2/10。

3. 根据权利要求1或2所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述人单克隆抗体或其抗原结合片段与所述NY-ESO-1 157-165肽的氨基酸M160、W161和Q164相互作用,所述相互作用是通过分辨率为4.0 Å或更高的X射线晶体学方法所确定的。

4. 根据权利要求3所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述分辨率为3.5 Å或更高。

5. 根据权利要求4所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述分辨率为3.3 Å或更高。

6. 根据权利要求1或2所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其与HLA-A2呈递的NY-ESO-1 157-165肽复合物特异性结合,但不与一种或多种选自下组的脱靶肽特异性结合: SEQ ID NO:273、SEQ ID NO:274、SEQ ID NO:276、SEQ ID NO:277和SEQ ID NO:280,其中i) 与经所述一种或多种脱靶肽脉冲的细胞结合的所述人单克隆抗体或其抗原结合片段与ii) 未脉冲细胞的比率小于9。

7. 根据权利要求6所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述比率小于8。

8. 根据权利要求7所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述比率小于7。

9. 根据权利要求8所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述比率小于6。

10. 根据权利要求9所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述比率小于5。

11. 根据权利要求10所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述比率小于4。

12. 根据权利要求11所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述比率小于3。

13. 根据权利要求12所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述比率小于2。

14. 根据权利要求1或2所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述人单克隆抗体或其抗原结合片段与单体HLA-A2呈递的NY-ESO-1 157-165肽复合物以小于1nM的结合解离平衡常数(K_D)结合,所述结合解离平衡常数(K_D)是在25°C下的表面等离子体共振测定中测量的。

15. 根据权利要求1或2所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述NY-ESO-1肽包含SLLMWITQC (SEQ ID NO:269) 或SLLMWITQV (SEQ ID NO:291) 的氨基酸序列。

16. 根据权利要求1或2所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其是全长抗体、Fab、Fab'、(Fab')₂、Fv、单链Fv或T体构建体。

17. 根据权利要求16所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述人单克隆抗体或其抗原结合片段是单链Fv。

18. 一种嵌合抗原受体,其包含根据权利要求1至17中任一项所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段。

19. 根据权利要求18所述的嵌合抗原受体,其中所述嵌合抗原受体包含重链可变区、轻链可变区、铰链区、跨膜结构域、共刺激结构域和信号传导结构域。

20. 根据权利要求19所述的嵌合抗原受体,其中所述共刺激结构域是4-1BB共刺激结构域。

21. 根据权利要求19所述的嵌合抗原受体,其中所述共刺激结构域是CD28共刺激结构域。

22. 根据权利要求18所述的嵌合抗原受体,其中所述人单克隆抗体或其抗原结合片段是单链Fv。

23. 根据权利要求1或2所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含可检测部分。

24. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1和3至17中任一项所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段或根据权利要求18-22中任一项所述的嵌合抗原受体和药学上可接受的载体或稀释剂。

25. 一种分离的多核苷酸分子,其包含编码根据权利要求1和3至17中任一项所述的重链可变区和/或轻链可变区的多核苷酸序列。

26. 一种载体,其包含权利要求25所述的多核苷酸分子。

27. 一种细胞,其表达根据权利要求25所述的多核苷酸分子或根据权利要求26所述的载体。

28. 根据权利要求1和3至17中任一项所述的人单克隆抗体或其抗原结合片段,或根据权利要求18-22中任一项所述的嵌合抗原受体,或根据权利要求24所述的药物组合物,或根据权利要求27所述的细胞在制备用于治疗受试者中的黑色素瘤的药物中的用途。

29. 根据权利要求28所述的用途,其中所述人单克隆抗体或其抗原结合片段、或所述嵌合抗原受体、或所述药物组合物、或所述细胞与第二治疗剂组合使用。

30. 根据权利要求29所述的用途,其中所述第二治疗剂选自下组:PD-1抑制剂、CTLA-4抑制剂、针对肿瘤特异性抗原的抗体、针对病毒感染细胞抗原的抗体、PD-L1抑制剂、CD20抑制剂、针对CD20和CD3的双特异性抗体、膳食补充剂、VEGF拮抗剂、化学治疗剂、细胞毒剂、NSAID、和皮质类固醇。

31. 根据权利要求28所述的用途,其中所述人单克隆抗体或其抗原结合片段、或所述嵌合抗原受体、或所述药物组合物、或所述细胞与手术、放疗和任何其他可用于改善至少一种与所述黑色素瘤相关的症状的疗法组合使用。

32. 根据权利要求30所述的用途,其中所述膳食补充剂为抗氧化剂。

33. 根据权利要求28至31中任一项所述的用途,其中所述人单克隆抗体或其抗原结合片段、或所述嵌合抗原受体、或所述药物组合物、或所述细胞用于皮下、静脉内、皮内、腹膜内、口服、肌内或颅内施用。

34. 根据权利要求28至31中任一项所述的用途,其中所述人单克隆抗体或其抗原结合片段、或所述嵌合抗原受体、或所述药物组合物、或所述细胞用于以0.1mg/kg所述受试者体重至100mg/kg所述受试者体重的剂量施用。

35. 根据权利要求25所述的分离的多核苷酸分子,其中所述人单克隆抗体或其抗原结合片段是单链Fv。

抗纽约食管鳞状细胞癌1 (NY-ESO-1) 抗原结合蛋白及其使用方法

[0001] 相关应用

[0002] 本申请要求于2019年7月3日提交的美国临时专利申请第62/870,232号、2020年5月5日提交的美国临时专利申请第63/020,177号和2020年5月8日提交的美国临时专利申请第63/021,826号的优先权。上述每一个专利申请的全部内容通过引用并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含序列表,该序列表已以ASCII格式以电子方式提交,并在此通过引用整体并入。所述ASCII副本创建于2020年7月2日,命名为118003_10520_SL.txt,大小为245,227字节。

技术领域

[0005] 本公开涉及与HLA展示的纽约食管鳞状细胞癌1 (NY-ESO-1) 肽特异性结合的抗原结合蛋白以及使用那些结合蛋白的治疗和诊断方法。

背景技术

[0006] 纽约食管鳞状细胞癌1 (NY-ESO-1) 是一种癌睾丸抗原 (CTA),也称为CTAG1B。由CTAG1B基因编码的NY-ESO-1的表达仅限于生殖细胞。然而,NY-ESO-1经常重新由不同的肿瘤类型异常表达。CTAG1B基因的主要蛋白质产物是一个180个氨基酸长的18KDa蛋白质,具有富含甘氨酸的N末端区域和极其疏水的C末端区域。然而,NY-ESO-1的功能仍不明确。

[0007] 已经观察并分析了癌症患者对NY-ESO-1的自发CD8⁺和CD4⁺T细胞反应,Jager,E.等人(1998)《实验医学杂志(J EXP Med)》187:265-270;Jager E.等人(2000)《实验医学杂志》191:628-630)。特别地,发现NY-ESO-1肽157-165、157-167和155-163在肿瘤反应性CD8⁺T细胞系中受HLA-A2的限制,而肽56-62由HLA-A31 CD8⁺T细胞识别(Jager等人(1998)《实验医学杂志》187:265-270;Wang,R.F.等人(1998)《免疫学期刊(J.Immunol)》161:3598-3606)。在CD4⁺T细胞反应中受HLA-DR4限制的几种表位也已得到证实,并且对肽157-170的反应受到HLA-DP4的限制,HLA-DP4是一种在大多数白种人中发现的等位基因(Jager等人(2000)《实验医学杂志》191:625-630;Zang等人(2001)《美国科学院院报(Proc Natl Acad Sci USA)》98:3964-3969)。

[0008] NY-ESO-1引发自发体液和细胞免疫反应的能力,连同其受限的表达谱,使其成为癌症治疗的良好候选靶点。尽管NY-ESO-1抗原已被评估为癌症候选疫苗,但几乎没有获得完整的体液和细胞免疫反应。事实上,使用NY-ESO-1作为治疗靶点具有很大挑战性,因为难以设计靶向HLA呈递的抗原的抗原结合蛋白以及需要避免脱靶结合,以防止可能导致治疗功效降低和/或副作用(例如,降低肿瘤细胞杀伤活性和/或在受试者中引起副作用的非特异性细胞毒性)增加的非特异性结合。

[0009] 因此,本领域对以高特异性靶向NY-ESO-1并治疗NY-ESO-1相关癌症的新治疗策略的需求未能得到满足。

发明内容

[0010] 本公开提供了与HLA展示的纽约食管鳞状细胞癌1 (NY-ESO-1) 肽的构象表位特异性结合的抗原结合蛋白。本公开的抗原结合蛋白以高度的特异性与HLA展示的NY-ESO-1结合,但不与相差2、3、4、5个或更多个氨基酸的HLA展示的肽结合。本公开的抗原结合蛋白允许NY-ESO-1肽呈递细胞(即,在其表面呈递与MHC分子(例如HLA-A2)结合的NY-ESO-1肽的细胞),诸如表达NY-ESO-1并且在一些实施例中刺激T细胞活化的癌细胞,的特异性靶向,以例如刺激T细胞介导的对此类细胞的杀伤。此外,当与可检测部分融合时,本公开的抗原结合蛋白实现了对NY-ESO-1肽呈递细胞的数量和分布的变化具有高度敏感性的NY-ESO-1阳性疾病或病症的诊断和预后,这是一种比循环NY-ESO-1水平更为相关的疾病进展量度。

[0011] 本公开的抗原结合蛋白可以是抗体,诸如全长(例如,IgG1或IgG4抗体)抗体,或可以仅包含抗体的抗原结合部分(例如,Fab、F(ab')₂或scFv片段),并且可以被修改以影响功能性,例如,消除残余效应功能(Reddy等人(2000)《免疫学期刊(J. Immunol)》164:1925-1933)。在一些实施例中,本公开的抗原结合蛋白可以是抗体或其抗原结合片段。在某些实施例中,抗原结合蛋白可以是双特异性的。

[0012] 在第一方面,本公开提供了与HLA展示的纽约食管鳞状细胞癌1 (NY-ESO-1) 肽(诸如包含NY-ESO-1的氨基酸残基157-165的HLA展示的肽)的构象表位特异性结合的重组抗原结合蛋白。在某些实施例中,抗原结合蛋白是抗体。在一些实施例中,抗体是全人源抗体。

[0013] 本公开的示例性抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白列于本文的表1和2中。表1列出了示例性抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体的重链可变区(HCVR)、轻链可变区(LCVR)、重链互补决定区(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和LCDR3)的氨基酸序列标识符。表2列出了示例性抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体的HCVR、LCVR、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的核酸序列标识符。

[0014] 本公开提供了包含HCVR的抗原结合蛋白,所述HCVR包含选自表1中列出的HCVR氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列与所述氨基酸序列具有至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、至少99.5%、至少99.9%或100%的序列同一性。在一些实施例中,序列同一性小于100%的抗原结合蛋白包含选自表1中的HCVR的CDR序列。例如,这种抗原结合蛋白可以包含这些CDR序列,但与表1的HCVR相比在框架区中具有差异。

[0015] 本公开提供了包含LCVR的抗原结合蛋白,所述LCVR包含选自表1中列出的LCVR氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列,或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列与所述氨基酸序列具有至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、至少99.5%、至少99.9%或100%的序列同一性。在一些实施例中,序列同一性小于100%的抗原结合蛋白包含选自表1中的LCVR的CDR序列。例如,这种抗原结合蛋白可以包含这些CDR序列,但与表1的LCVR相比在框架区中具有差异。

[0016] 本公开还提供了包含HCVR和LCVR氨基酸序列对(HCVR/LCVR)的抗原结合蛋白,所

述HCVR和LCVR氨基酸序列对包含表1中所列的任何HCVR氨基酸序列与表1中所列的任何LCVR氨基酸序列的配对。根据某些实施例,本公开提供了包含HCVR/LCVR氨基酸序列对的抗原结合蛋白,所述HCVR/LCVR氨基酸序列对包含在表1中所列的任何示例性抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白中。在某些实施例中,HCVR/LCVR氨基酸序列对选自下组:SEQ ID NO:2/10、22/30、42/50、62/70、82/90、102/110、122/130、142/150、162/170、180/186、196/203、211/219和230/238。在某些实施例中,HCVR/LCVR氨基酸序列对选自下组中的一个:SEQ ID NO:2/10(例如,mAb24955N)、22/30(例如,mAb24956N)、42/50(例如,mAb24958N)和62/70(例如,mAb24959N)。

[0017] 在某些实施例中,本公开提供了包含HCVR和LCVR的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,所述HCVR包含具有不超过五个氨基酸取代的表1中所列的氨基酸序列,并且所述LCVR包含具有不超过五个氨基酸取代的表1中所列的氨基酸序列。例如,本公开提供了包含HCVR和LCVR的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,所述HCVR包含具有不超过五个氨基酸取代的SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列,并且所述LCVR包含具有不超过五个氨基酸取代的SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列。在另一个示例性实施例中,本公开提供了包含HCVR和LCVR的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,所述HCVR包含具有至少一个氨基酸取代的SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列,并且所述LCVR包含具有至少一个氨基酸取代的SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列。

[0018] 本公开还提供了包含重链CDR1(HCDR1)的抗原结合蛋白,所述重链CDR1包含选自表1中列出的任何HCDR1的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0019] 本公开还提供了包含重链CDR2(HCDR2)的抗原结合蛋白,所述重链CDR2包含选自表1中列出的任何HCDR2的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0020] 本公开还提供了包含重链CDR3(HCDR3)的抗原结合蛋白,所述重链CDR3包含选自表1中列出的任何HCDR3的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0021] 本公开还提供了包含轻链CDR1(LCDR1)的抗原结合蛋白,所述轻链CDR1包含选自表1中列出的任何LCDR1的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0022] 本公开还提供了包含轻链CDR2(LCDR2)的抗原结合蛋白,所述轻链CDR2包含选自表1中列出的任何LCDR2的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述

氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0023] 本公开还提供了包含轻链CDR3 (LCDR3) 的抗原结合蛋白,所述轻链CDR3包含选自表1中列出的任何LCDR3的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0024] 本公开还提供了包含HCDR3和LCDR3氨基酸序列对 (HCDR3/LCDR3) 的抗原结合蛋白,所述HCDR3和LCDR3氨基酸序列对包含表1中所列的任何HCDR3氨基酸序列与表1中所列的任何LCDR3氨基酸序列的配对。根据某些实施例,本公开提供了包含HCDR3/LCDR3氨基酸序列对的抗原结合蛋白,所述HCDR3/LCDR3氨基酸序列对包含在表1中所列的任何示例性抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白中。在某些实施例中,HCDR3/LCDR3氨基酸序列对选自下组:SEQ ID NO:8/16 (例如,mAb24955N)、28/36 (例如,mAb24956N)、48/56 (例如,mAb25958N) 和68/76 (例如,mAb24959N)。

[0025] 本公开还提供了包含HCVR和LCVR的抗原结合蛋白,所述包含HCDR1的HCVR包含与表1中列出的氨基酸序列相差1个氨基酸的氨基酸序列,HCDR2包含与表1中列出的氨基酸序列相差1个氨基酸的氨基酸序列,并且HCDR3包含与表1中列出的氨基酸序列相差1个氨基酸的氨基酸序列。在某些实施例中,本公开提供了包含HCVR和LCVR的抗原结合蛋白,所述包含LCDR1的LCVR包含与表1中列出的氨基酸序列相差1个氨基酸的氨基酸序列,LCDR2包含与表1中列出的氨基酸序列相差1个氨基酸的氨基酸序列,并且LCDR3包含与表1中列出的氨基酸序列相差1个氨基酸的氨基酸序列。例如,本公开提供了包含HCVR和LCVR的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,所述HCVR包含:HCDR1,其包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:4相差1个氨基酸的氨基酸序列;HCDR2,其包含SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:6相差1个氨基酸的氨基酸序列;和HCDR3,其包含SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:8相差1个氨基酸的氨基酸序列。在另一个示例性实施例中,本公开提供了包含HCVR和LCVR的抗原结合蛋白,所述HCVR包含:LCDR1,其包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:12相差1个氨基酸的氨基酸序列;LCDR2,其包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:14相差1个氨基酸的氨基酸序列;和LCDR3,其包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:16相差1个氨基酸的氨基酸序列。

[0026] 本公开还提供了抗原结合蛋白,其包含表1中列出的任何示例性抗原结合蛋白中的一组六个CDR (即,HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)。在某些实施例中,HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组选自下组:SEQ ID NO:4-6-8-12-14-16 (例如,mAb24955N)、24-26-28-32-34-36 (例如,mAb24956N)、44-46-48-52-54-56 (例如,mAb24958N) 和64-66-68-72-74-76 (例如,mAb24959N)。

[0027] 在相关的实施例中,本公开提供了抗原结合蛋白,其包含表1中列出的任何示例性抗原结合蛋白所定义的HCVR/LCVR氨基酸序列对中的一组六个CDR (即,HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)。例如,本公开包括包含HCVR/LCVR氨基酸序列对中的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组的抗原结合蛋白,所述HCVR/LCVR氨基酸序

列对选自下组:SEQ ID NO:2/10(例如,mAb24955N)、22/30(例如,mAb24956N)、42/50(例如,mAb24958N)和62/70(例如,mAb24959N)。

[0028] 用于鉴别HCVR和LCVR氨基酸序列内的CDR的方法和技术是所属领域中众所周知的并且可以用于鉴别本文中所公开的指定HCVR和/或LCVR氨基酸序列内的CDR。可以用于鉴别CDR的边界的示例性惯例包括例如Kabat定义、Chothia定义和AbM定义。一般来说,Kabat定义是基于序列可变性,Chothia定义是基于结构环区域的位置,并且AbM定义是Kabat与Chothia方法之间的折中。参见例如,Kabat,“免疫学蛋白质序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)”,国立卫生研究院(National Institutes of Health),贝塞斯达,马里兰州,(1991);Al-Lazikani等人,《分子生物学期刊(J.Mol.Biol.)》273:927-948(1997);和Martin等人,《美国科学院院报》86:9268-9272(1989)。公共数据库也可用于识别抗原结合蛋白内的CDR序列。

[0029] 本公开包括具有修饰的糖基化图谱的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白。在一些实施例中,去除不需要的糖基化位点的修饰,或者在寡糖链上存在缺失岩藻糖部分的抗体,可能有利于例如增加抗体依赖性细胞毒性(ADCC)功能,(参见Shield等人(2002)《生物化学杂志(JBC)》277:26733)。在其它应用中,可以进行半乳糖基化的修饰,以修饰补体依赖性细胞毒性(CDC)。

[0030] 在某些实施例中,本公开的抗原结合蛋白是包含HCVR和LCVR氨基酸序列对(HCVR/LCVR)的单克隆抗体,所述HCVR和LCVR氨基酸序列对包含表1中所列的任何HCVR氨基酸序列与表1中所列的任何LCVR氨基酸序列的配对。在某些实施例中,单克隆抗体包含选自下组的同种型的Fc结构域:IgA、IgD、IgE、IgG、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM及其变体。

[0031] 本公开提供了包含重链的抗原结合蛋白或其抗原结合片段,所述重链包含选自表3中所列的HC氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。在一些实施例中,序列同一性小于100%的抗原结合蛋白包含表3中的HC的CDR序列。例如,这种抗原结合蛋白可以包含这些CDR序列,但与表3的HC相比在框架区中具有差异。

[0032] 本公开提供了包含轻链的抗原结合蛋白或其抗原结合片段,所述轻链包含选自表3中所列的LC氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性的序列。在一些实施例中,序列同一性小于100%的抗原结合蛋白包含表3中的LC的CDR序列。例如,这种抗原结合蛋白可以包含这些CDR序列,但与表3的LC相比在框架区中具有差异。

[0033] 本公开还提供了包含HC和LC氨基酸序列对(HC/LC)的抗原结合蛋白或其抗原结合片段,所述HC和LC氨基酸序列对包含表3中所列的任何HC氨基酸序列与表3中所列的任何LC氨基酸序列的配对。根据某些实施例,本公开提供了包含HC/LC氨基酸序列对的抗体或其抗

原结合片段,所述HC/LC氨基酸序列对包含在表3所列的任何示例性抗NY-ESO-1抗体中。在某些实施例中,HC/LC氨基酸序列对选自下组:SEQ ID NO:18/20、38/40、58/60和78/80。在某些实施例中,HC/LC氨基酸序列对选自下组:SEQ ID NO:18/20、38/40、58/60和78/80。

[0034] 一方面,本公开提供了与HLA-肽复合物相结合的抗原结合蛋白或其抗原结合片段,其中抗原结合蛋白或其抗原结合片段与包含在HLA-肽复合物中的肽的氨基酸残基的至少60%、至少70%、至少80%或至少90%相接触。在某些实施例中,抗原结合蛋白或其抗原结合片段“覆盖”或接触包含在HLA-肽复合物中的肽的所有氨基酸残基。在某些实施例中,抗原结合蛋白或其抗原结合片段以高亲和力和特异性与HLA-肽复合物相结合,其中抗原结合蛋白或其抗原结合片段接触展示肽的全长。如本文所用,“接触”包括直接或水介导的氢键、电荷-电荷相互作用或疏水/范德华(van der Waals)相互作用。在一个实施例中,抗原结合蛋白或其抗原结合片段与HLA-A2-NY-ESO-1 157-165肽复合物结合,其中抗原结合蛋白与肽157-165(SEQ ID NO:269)的9个氨基酸残基中的至少3个以及HLA-A2结合,使得抗原结合蛋白大致集中在HLA-A2肽结合小沟中的肽上,从而“覆盖”(物理阻断)HLA-A2-肽复合物。在另一个实施例中,抗原结合蛋白或其抗原结合片段与HLA-A2-NY-ESO-1 157-165肽复合物结合,其中抗原结合蛋白与肽157-165(SEQ ID NO:270或291)的9个氨基酸残基中的至少3个以及HLA-A2结合,使得抗原结合蛋白大致集中在HLA-A2肽结合小沟中的肽上,从而“覆盖”(物理阻断)HLA-A2-肽复合物。在某些实施例中,抗原结合蛋白或其抗原结合片段包含HCVR的CDR和LCVR的CDR,其中HCVR和LCVR各自具有选自表1中列出的HCVR和LCVR序列的氨基酸序列。在一个实施例中,抗原结合蛋白是全人源蛋白。在某些实施例中,全人源抗原结合蛋白不是使用噬菌体展示方法和技术获得的。在一些实施例中,抗原结合蛋白包含IGKV1-39亚型的轻链可变区。在一些实施例中,抗原结合蛋白包含IGKJ1亚型的轻链可变区。

[0035] 在某些实施例中,本公开提供了与HLA-A2:NY-ESO-1 157-165肽复合物结合的抗原结合蛋白或其抗原结合片段,其中抗原结合蛋白与SEQ ID NO:269所示的一个或多个氨基酸结合。在一个实施例中,抗原结合蛋白与SEQ ID NO:269所示的至少3个氨基酸结合。

[0036] 在某些实施例中,本公开提供了与HLA-A2:NY-ESO-1 157-165肽复合物结合的抗原结合蛋白或其抗原结合片段,其中抗原结合蛋白与SEQ ID NO:270或291所示的一个或多个氨基酸结合。在一个实施例中,抗原结合蛋白与SEQ ID NO:270或291所示的至少3个氨基酸结合。在一个实施例中,抗原结合蛋白与选自下组的一个或多个氨基酸结合:SEQ ID NO:270所示的M160、W161和Q164。

[0037] 在某些实施例中,本公开提供了与HLA展示的纽约食管鳞状细胞癌1(NY-ESO-1)肽的构象表位特异性结合的抗原结合蛋白,其中构象表位包含SEQ ID NO:269所示的一个或多个氨基酸。

[0038] 在某些实施例中,本公开提供了与HLA展示的纽约食管鳞状细胞癌1(NY-ESO-1)肽的构象表位特异性结合的抗原结合蛋白,其中构象表位包含SEQ ID NO:270或291所示的一个或多个氨基酸。在某些实施例中,构象表位包含选自下组的一个或多个氨基酸:SEQ ID NO:270或291所示的M160、W161和Q164。

[0039] 本公开还提供了抗原结合蛋白,其与包含HCVR的CDR和LCVR的CDR的抗原结合蛋白竞争与HLA-A2:NY-ESO-1的特异性结合,其中HCVR和LCVR各自具有选自表1中列出的HCVR和

LCVR序列的氨基酸序列。

[0040] 本公开还提供了与包含HCVR的CDR和LCVR的CDR的参考抗原结合蛋白交叉竞争与HLA-A2:NY-ESO-1的结合的抗原结合蛋白,其中HCVR和LCVR各自具有选自表1中列出的HCVR和LCVR序列的氨基酸序列。

[0041] 本公开还提供了与包含HCVR的CDR和LCVR的CDR的参考抗原结合蛋白结合于同一表位的抗原结合蛋白,其中HCVR和LCVR各自具有选自表1中列出的HCVR和LCVR序列的氨基酸序列。在某些实施例中,本公开提供了与包含HCVR的CDR和LCVR的CDR的参考抗原结合蛋白结合于同一表位的抗原结合蛋白,其中HCVR选自下组:SEQ ID NO:2、22、42和62,并且LCVR选自下组:SEQ ID NO:10、30、50和70。

[0042] 在一个实施例中,本公开提供了一种重组抗原结合蛋白,所述蛋白与HLA-A2呈递的纽约食管鳞状细胞癌1(NY-ESO-1)肽的构象表位特异性结合,其中抗原结合蛋白具有选自下组的以下特性:(a)以如在25°C下的表面等离子体共振测定中所测量的小于约1nM的结合解离平衡常数(K_D)与单体HLA-A2:NY-ESO-1 157-165肽复合物(C165或V165)结合;(b)以如流式细胞术测定中所测的小于约10nM的 EC_{50} 与表达HLA-A2:NY-ESO-1 157-165肽复合物的细胞结合,但不与表达预测的脱靶肽的细胞结合;以及(c)表位包含一个或多个SEQ ID NO:269、270或291所示的氨基酸。如本文别处所公开的,“脱靶肽”是指与靶肽(例如,NY-ESO-1 157-165肽(SEQ ID NO:269和/或SEQ ID NO:270或291))相差2、3、4、5个或更多个氨基酸的肽。

[0043] 在第二方面,本公开提供了编码抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白的核酸分子。例如,本公开提供了编码表1中列出的任何HCVR氨基酸序列的核酸分子;在某些实施例中,核酸分子包含选自表2中所列的任何HCVR核酸序列的多核苷酸序列或其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述多核苷酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0044] 本公开还提供了编码表1中所列的任何LCVR氨基酸序列的核酸分子;在某些实施例中,核酸分子包含选自表2中所列的任何LCVR核酸序列的多核苷酸序列或其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述多核苷酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0045] 本公开还提供了编码表1中所列的任何HCDR1氨基酸序列的核酸分子;在某些实施例中,核酸分子包含选自表2中所列的任何HCDR1核酸序列的多核苷酸序列或其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述多核苷酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0046] 本公开还提供了编码表1中所列的任何HCDR2氨基酸序列的核酸分子;在某些实施例中,核酸分子包含选自表2中所列的任何HCDR2核酸序列的多核苷酸序列或其基本相似的

序列,所述基本相似的序列和所述多核苷酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0047] 本公开还提供了编码表1中所列的任何HCDR3氨基酸序列的核酸分子;在某些实施例中,核酸分子包含选自表2中所列的任何HCDR3核酸序列的多核苷酸序列或其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述多核苷酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0048] 本公开还提供了编码表1中所列的任何LCDR1氨基酸序列的核酸分子;在某些实施例中,核酸分子包含选自表2中所列的任何LCDR1核酸序列的多核苷酸序列或其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述多核苷酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0049] 本公开还提供了编码表1中所列的任何LCDR2氨基酸序列的核酸分子;在某些实施例中,核酸分子包含选自表2中所列的任何LCDR2核酸序列的多核苷酸序列或其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述多核苷酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0050] 本公开还提供了编码表1中所列的任何LCDR3氨基酸序列的核酸分子;在某些实施例中,核酸分子包含选自表2中所列的任何LCDR3核酸序列的多核苷酸序列或其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述多核苷酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。

[0051] 本公开还提供了编码HCVR的核酸分子,其中HCVR包含一组三个CDR(即,HCDR1-HCDR2-HCDR3),其中HCDR1-HCDR2-HCDR3氨基酸序列组如表1中所列的任何示例性抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白所定义。

[0052] 本公开还提供了编码LCVR的核酸分子,其中LCVR包含一组三个CDR(即,LCDR1-LCDR2-LCDR3),其中LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组如表1中所列的任何示例性抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白所定义。

[0053] 本公开还提供了编码HCVR和LCVR两者的核酸分子,其中HCVR包含表1中列出的HCVR氨基酸序列中任一项的氨基酸序列,并且其中LCVR包含表1中所列的LCVR氨基酸序列中任一项的氨基酸序列。在某些实施例中,核酸分子包含选自表2中所列的任何HCVR核酸序列的多核苷酸序列或其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述多核苷酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少

88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性；以及选自表2中所列的任何LCVR核酸序列的多核苷酸序列或其基本相似的序列，所述基本相似的序列和所述多核苷酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性。在根据本公开的该方面的某些实施例中，核酸分子编码HCVR和LCVR，其中HCVR和LCVR均衍生自表1中所列的同一抗-HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白。

[0054] 本公开提供了编码表3中所列的任何重链氨基酸序列的核酸分子。本公开还提供了编码表3中所列的任何轻链氨基酸序列的核酸分子。

[0055] 本公开还提供了编码重链(HC)和轻链(LC)两者的核酸分子，其中HC包含表3中列出的HC氨基酸序列中任一项的氨基酸序列，并且其中LC包含表3中所列的LC氨基酸序列中任一项的氨基酸序列。

[0056] 在相关方面，本公开提供了能够表达包含抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白的重链和/或轻链可变区的多肽的重组表达载体。例如，本公开包括重组表达载体，其包含上述提及的任何核酸分子，即编码如表1中所列的任何HCVR、LCVR和/或CDR序列的核酸分子。本公开还提供了能够表达包含抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白的重链和/或轻链的多肽的重组表达载体。例如，本公开包括重组表达载体，其包含上述提及的任何核酸分子，即编码如表2中所列的任何重链或轻链序列的核酸分子。本公开的范围还包括已引入此类载体的宿主细胞，以及通过在允许产生抗原结合蛋白的条件下培养宿主细胞并回收所产生的抗原结合蛋白来产生抗原结合蛋白的方法。

[0057] 在第三方面，本公开提供了包含治疗有效量的重组抗原结合蛋白的药物组合物，以及药学上可接受的载体，所述重组抗原结合蛋白与HLA-A2呈递的NY-ESO-1肽（例如，包含NY-ESO-1的氨基酸残基157-165的肽）的构象表位特异性结合。在相关方面，本公开的特征在于一种组合物，该组合物是抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白和第二治疗剂的组合。在一个实施例中，第二治疗剂是有效地与抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白组合的任何药剂。可以有效地与抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白组合的示例性药剂包括但不限于调节免疫细胞活化的其他药剂。可与本公开的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白组合地使用的另外的疗法在本文别处公开。

[0058] 在第四方面，本公开提供了治疗患有NY-ESO-1相关疾病或病症，诸如NY-ESO-1阳性癌症的受试者的方法。该方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本公开的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白或本公开的药物组合物。所治疗的病症是通过本文提供的抗原结合蛋白和组合物改善、改进、抑制或预防的任何疾病或病症。在某些实施例中，将本公开的抗原结合蛋白（或药物组合物）与第二治疗剂组合施用于有需要的受试者。第二治疗剂可以选自下组：T细胞共抑制剂的抗体、针对肿瘤细胞抗原的抗体、针对T细胞受体的抗体、细胞毒剂、抗癌药、抗炎药（例如皮质类固醇）、化学治疗剂、手术、放射疗法、免疫抑制剂和本领域已知的任何其他药物或疗法。在某些实施例中，第二治疗剂可以是有助于抵消或减少与本公开的抗原结合蛋白相关的任何可能的副作用的药剂，如果此类副作用发生的话。

[0059] 在某些实施例中，本公开提供了用于抑制NY-ESO-1相关癌症生长的方法。例如，本

公开提供了抑制由于受试者中的原发性肿瘤或转移性肿瘤而导致的肿瘤生长的方法。在某些实施例中,本公开提供了提高患有NY-ESO-1相关癌症的受试者的存活率(例如,无进展存活率或总体存活率)的方法。癌症的实例包括但不限于:脂肪肉瘤、神经母细胞瘤、骨髓瘤、转移性黑色素瘤、滑膜肉瘤、膀胱癌、食管癌、肝细胞癌、头颈癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、前列腺癌、乳腺癌、星形细胞肿瘤、多形性胶质母细胞瘤、间变性星形细胞瘤、脑肿瘤、输卵管癌、卵巢上皮癌、原发性腹膜腔癌、晚期实体瘤、软组织肉瘤、黑色素瘤、恶性毒瘤、骨髓增生异常综合征、急性髓性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金病、多发性骨髓瘤、滑膜肉瘤、转移性实体瘤、食管癌、横纹肌肉瘤、晚期粘液样、圆形细胞脂肪肉瘤、转移性黑色素瘤或复发性非小细胞肺癌。

[0060] 在某些实施例中,本公开提供了用于阻止或抑制已形成肿瘤生长的方法。该方法包含向有需要的受试者施用包含治疗有效量的本公开的抗原结合蛋白的药物组合物。在某些实施例中,抗原结合蛋白与第二治疗剂组合施用。

[0061] 抗原结合蛋白(例如抗体)或其抗原结合片段,可以皮下、静脉内、皮内、腹膜内、口服、肌肉内或颅内施用。抗原结合蛋白(例如抗体)或其抗原结合片段,可以以约0.1mg/kg受试者体重至约100mg/kg受试者体重的剂量施用。

[0062] 在第五方面,本公开提供了编码嵌合抗原受体(CAR)的分离的核酸分子,或表达这种CAR的细胞(例如,在其表面表达CAR的细胞)。CAR可以包括与HLA展示的纽约食管鳞状细胞癌1(NY-ESO-1)肽的构象表位(例如NY-ESO-1的氨基酸残基157-165)特异性结合的细胞外结合结构域、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,细胞外结合结构域是抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白或其抗原结合片段。本公开的示例性抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白是本文所述的任意抗原结合蛋白。

[0063] 例如,在某些实施例中,适用于本公开的CAR的抗原结合蛋白包含:表1中所列的任何一个重链可变区(HCVR)序列中的三个重链互补决定区CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3);和表1中所列的任何一个轻链可变区(LCVR)序列中三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0064] 在其他实施例中,适用于本公开的CAR的抗原结合蛋白包含:HCVR,具有选自表1中所列的HCVR序列的氨基酸序列;和/或HCVR,具有选自表1中所列的LCVR序列的氨基酸序列。

[0065] 在一些实施例中,适用于本公开的CAR的抗原结合蛋白包含:(a)HCVR,具有选自表1中所列的HCVR序列的氨基酸序列;和(b)LCVR,具有选自表1中所列的LCVR序列的氨基酸序列。

[0066] 在一个实施例中,适用于本公开的CAR的抗原结合蛋白包含:(a)HCDR1结构域,具有选自下组所示的氨基酸序列:SEQ ID NO:4、24、44、64、84、104、124、144、164、213和232;(b)HCDR2结构域,具有选自下组所示的氨基酸序列:SEQ ID NO:6、26、46、66、86、106、126、146、166、182、199、215和234;(c)HCDR3结构域,具有选自下组所示的氨基酸序列:SEQ ID NO:8、28、48、68、88、108、128、148、168、184、201、217和236;(d)LCDR1结构域,具有选自下组所示的氨基酸序列:SEQ ID NO:12、32、52、72、92、112、132、152、172、188、221和240;(e)LCDR2结构域,具有选自下组所示的氨基酸序列:SEQ ID NO:14、34、54、74、94、114、134、154、174和242;和(f)LCDR3结构域,具有选自下组所示的氨基酸序列:SEQ ID NO:16、36、56、76、96、116、136、156、190、205、224和244。

[0067] 在进一步的实施例中,适用于本公开的CAR的抗原结合蛋白包含选自下组所示的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO:2/10、22/30、42/50、62/70、82/90、102/110、122/130、142/150、162/170、180/186、196/203、211/219和230/238。

[0068] 在一些实施例中,用于本公开的CAR中的抗原结合蛋白是scFv。

[0069] 在其他方面,本公开提供了包含分离的CAR核酸分子的载体;和包含此类载体的免疫效应细胞。

[0070] 在本公开的其他方面,提供了用于治疗患有NY-ESO-1相关疾病或病症,诸如NY-ESO-1阳性癌症的受试者的方法,NY-ESO-1相关疾病或病症例如为:脂肪肉瘤、神经母细胞瘤、骨髓瘤、转移性黑色素瘤、滑膜肉瘤、膀胱癌、食管癌、肝细胞癌、头颈癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、前列腺癌、乳腺癌、星形细胞肿瘤、多形性胶质母细胞瘤、间变性星形细胞瘤、脑肿瘤、输卵管癌、卵巢上皮癌、原发性腹膜腔癌、晚期实体瘤、软组织肉瘤、黑色素瘤、恶性毒瘤、骨髓增生异常综合征、急性髓性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金病、多发性骨髓瘤、滑膜肉瘤、转移性实体瘤、食管癌、横纹肌肉瘤、晚期粘液样、圆形细胞脂肪肉瘤、转移性黑色素瘤或复发性非小细胞肺癌。该方法包括向受试者施用包含本公开的CAR的免疫效应细胞群。

[0071] 在一些方面,本公开提供了用于检测例如受试者中或从受试者获得的样品中的NY-ESO-1阳性细胞的方法。该方法包括:使细胞(诸如从受试者获得的细胞样品)与包含可检测部分的本公开的抗原结合蛋白接触或向受试者施用所述包含可检测部分的本公开的抗原结合蛋白,并检测可检测部分是否存在。

[0072] 通过阅读随后的详细描述,其它实施例将变得显而易见。

附图说明

[0073] 图1A描绘了三种不同的CAR构建体的图示,包括启动子和载体元素。

[0074] 图1B描绘了用表达非结合对照BB/z CAR(对照CAR T)、抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅BB/z CAR或抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR中的任一者的T细胞处理的小鼠在0至21天的肿瘤体积,其中,左图:平均肿瘤体积;右图:单个小鼠的肿瘤体积。

[0075] 图1C描绘了用表达非结合对照BB/z CAR(对照CAR T)、抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅BB/z CAR或抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR中的任一者的T细胞处理的小鼠在0至38天的肿瘤体积,其中,左图:平均肿瘤体积;右图:单个小鼠的肿瘤体积。

具体实施方式

[0076] 在描述本方法之前,应当理解,本公开不限于所描述的特定方法和实验条件,因为这些方法和条件是可以变化的。还应当理解,本文所使用的术语仅仅是出于描述具体实施例的目的,并且不旨在是限制性的,因为本公开的范围将仅受所附权利要求的限制。

[0077] 除非另外定义,否则本文中所使用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域中的普通技术人员通常所理解相同的含义。现描述优选的方法和材料,但在本公开的实践或测试中还可以使用与本文所描述的方法和材料类似或等效的任何方法和材料。本文中提及的所有公开案都以全文引用的方式并入本文中。

[0078] 术语“NY-ESO-1”、“NY-ESO-1”、“纽约食管鳞状细胞癌1”和“CTAG1B”是指众所周知

的癌症睾丸抗原 (CTA),它在多种癌症类型中被重新表达并由CTAG1B基因编码。

[0079] 全长NY-ESO-1的氨基酸序列以登录号NP_001318.1 (SEQ ID NO:271) 在GenBank中提供。术语“NY-ESO-1”包含重组NY-ESO-1或其片段。该术语还包括与例如组氨酸标签、小鼠或人Fc或信号序列 (诸如ROR1) 偶联的NY-ESO-1或其片段。在某些实施例中,该术语包含HLA-A2的背景下的、与HLA-A2连接或如HLA-A2展示的NY-ESO-1或其片段。

[0080] 在某些实施例中,NY-ESO-1肽包括SEQ ID NO:271所示的氨基酸157-165 (SLLMWITQC (SEQ ID NO:269)) 并且在本文中称为“NY-ESO-1_{157-165C}肽”或“NY-ESO-1 (157-165) 肽” (其中“NY-ESO-1 (157-165) 肽”被进一步阐明为在第165位具有C或V的情况除外)。在其他实施例中,NY-ESO-1肽包括SEQ ID NO:271所示的其中残基165处的半胱氨酸已被缬氨酸取代的氨基酸残基157-165 (SLMMWITQV (SEQ ID NO:270)), 并且在本文中被称为“NY-ESO-1_{157-165V}肽”或“NY-ESO-1 (157-165V) 肽”,或以其他方式表示为“C165V”或“V165”。为简单起见,应理解,除非另有说明,术语“NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅肽”、“NY-ESO-1 (157-165)”和“NY-ESO-1的包含氨基酸残基157-165的肽”包含NY-ESO-1_{157-165C}肽和NY-ESO-1_{157-165V}肽。

[0081] 术语“HLA”是指人白细胞抗原 (HLA) 系统或复合物,所述HLA系统或复合物是编码人的主要组织相容性复合物 (MHC) 蛋白的基因复合物。这些细胞表面蛋白负责调节人的免疫系统。对应于I类MHC (A、B和C) 的HLA从细胞内部呈递肽。

[0082] 术语“HLA-A”是指由HLA-A基因座编码的人白细胞抗原 (HLA) 的组。HLA-A是人MHC I类细胞表面受体的三种主要类型之一。受体是异二聚体,并且由重 α 链和较小 β 链构成。 α 链由变体HLA-A基因编码,并且 β 链 (β 2-微球蛋白) 是不变的 β 2微球蛋白分子。

[0083] 术语“HLA-A2”是位于HLA-A基因座的一个特定的I类主要组织相容性复合体 (MHC) 等位基因组; α 链由HLA-A*02基因编码, β 链由 β 2-微球蛋白或B2M基因座编码。

[0084] 如本文所用,术语“抗原结合蛋白”、“结合蛋白”或“结合分子”包括含有至少一个抗原结合位点的分子,该位点与目标分子特异性地结合,所述目标分子诸如为HLA-A2呈递的纽约食管鳞状细胞癌1肽 (NY-ESO-1肽) (例如包含氨基酸残基157-165的HLA-A2展示的肽) 的构象表位。结合蛋白可以是抗体,例如全长抗体,或抗体的抗原结合片段,或嵌合抗原受体 (CAR),或任何其他多肽,例如受体-抗体 (Rab) 蛋白。

[0085] 术语“HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白”或“HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白”等是指抗原结合蛋白 (诸如抗体) 或其抗原结合部分,其通过由HLA-A2呈递NY-ESO-1的肽片段 (例如氨基酸残基157-165) 与构象表位特异性结合。在某些实施例中,构象表位由HLA-A2呈递的NY-ESO-1肽在细胞表面产生。如本文所用,术语“HLA-A2:NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅肽复合物”等是指HLA-A2和NY-ESO-1多肽之间的复合物,其中HLA-A2呈递NY-ESO-1的氨基酸残基157-165。在这种情况下,NY-ESO-1可以是全长NY-ESO-1多肽或截短形式,只要氨基酸157-165 (参考SEQ ID NO:271) 存在于NY-ESO-1多肽中并由HLA-A2呈递即可。为免生疑问,术语“NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅肽”涵盖范围短至NY-ESO-1的157-165 (相对于SEQ ID NO:271) 或更长的肽,直至并包括全长NY-ESO-1蛋白 (例如SEQ ID NO:271所示的序列) 为止。

[0086] 术语“表位”是指与称为互补位的抗原结合蛋白的可变区中的特定抗原结合位点相互作用的抗原决定簇。单个抗原可以具有多于一个表位。因此,不同的抗原结合蛋白可能与抗原上的不同区域结合,并可能具有不同的生物学效应。术语“表位”还指对B细胞和/或T

细胞起反应的抗原上的位点。它还指与抗原结合蛋白结合的抗原区域。表位可以定义为结构性或功能性的。功能性表位通常是结构性表位的子集并且具有直接有助于相互作用亲和力的残基。表位也可以是“构象的”，即由非线性氨基酸组成。在某些实施例中，表位可以包括决定簇，所述决定簇是诸如氨基酸、糖侧链、磷酸基或磺酰基等分子的化学活性表面基团并且在某些实施例中可以具有特定的三维结构特性和/或特定的电荷特性。在一些实施例中，本公开的抗原结合蛋白与HLA-A2:NY-ESO-1肽复合物的构象表位相互作用。在一些实施例中，该构象表位包含对应于SEQ ID NO:271所示的M160、W161和Q164的一个或多个氨基酸（例如，一个、两个或三个氨基酸）。为了确定对应于M160、W161或Q164中的一个或多个的氨基酸，可以如本文所述进行序列比对。在一些实施例中，本公开的抗原结合蛋白与包含对应于SEQ ID NO:271所示的氨基酸157-165的氨基酸的HLA-A2:NY-ESO-1肽复合物特异性结合，如通过分辨率为4.0 Å或更高的X射线晶体学方法所确定的。为免生疑问，4.0 Å或更高的分辨率包括3.9 Å或更高、3.8 Å或更高、3.7 Å或更高、3.6 Å或更高、3.5 Å或更高、3.4 Å或更高、3.3 Å或更高、3.2 Å或更高、3.1 Å或更高、3.0 Å或更高、2.9 Å或更高、2.8 Å或更高、2.7 Å或更高、2.6 Å或更高、2.5 Å或更高、2.4 Å或更高、2.3 Å或更高、2.2 Å或更高、2.1 Å或更高、2.0 Å或更高、1.9 Å或更高、1.8 Å或更高、1.7 Å或更高、1.6 Å或更高、1.5 Å或更高、1.4 Å或更高、1.3 Å或更高、1.2 Å或更高、1.1 Å或更高、1.0 Å或更高、0.9 Å或更高、0.8 Å或更高、0.7 Å或更高、0.6 Å或更高、或0.5 Å或更高的分辨率。

[0087] 在一些实施例中，结合蛋白是抗体或其抗原结合片段，诸如全长抗体或其抗原结合片段。

[0088] 如本文所用，术语“抗体”旨在意指由通过二硫键互连的四个多肽链、两条重(H)链和两条轻(L)链组成的免疫球蛋白分子(即，“全抗体分子”)，及其多聚体(例如IgM)或其抗原结合片段。每条重链由重链可变区(“HCVR”或“V_H”)和重链恒定区(由结构域C_H1、C_H2和C_H3组成)组成。每条轻链由轻链可变区(“LCVR”或“V_L”)和轻链恒定区(C_L)组成。V_H和V_L区可进一步细分为高变区，称为互补决定区(CDR)，其散布有更为保守的区，称为框架区(FR)。每个V_H和V_L由按以下顺序从氨基端到羧基端布置的三个CDR和四个FR组成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在某些实施例中，抗体(或其抗原结合片段)的FR可以与人种系序列相同，或者可以是天然或人工修饰的。可以基于对两个或更多个CDR的并列分析来定义氨基酸共有序列。

[0089] 取代一个或多个CDR残基或省略一个或多个CDR也是可能的。科学文献中已经对抗原结合蛋白，诸如抗体进行了描述，其中可以分配一个或两个CDR用于结合目的。Padlan等人(1995《美国实验生物学学会联合会杂志(FASEB J.)》9:133-139)基于公开的晶体结构分析了抗体与其抗原之间的接触区域，并得出结论：即只有大约五分之一到三分之一的CDR残基实际上与抗原接触。帕德兰还发现了许多其中一个或两个CDR的氨基酸没有与抗原接触的抗体(同样参见Vajdos等人，2002《分子生物学杂志(J Mol Biol)》320:415-428)。

[0090] 不接触抗原的CDR残基可以基于先前对位于Chothia CDR之外的Kabat CDR区域的研究(例如CDRH2中通常不被需要的残基H60-H65)，通过分子建模和/或经验来鉴定。如果CDR或其残基被省略，则它通常被在另一个人源抗体序列或此类序列的共有序列中占据相应位置的氨基酸取代。CDR内取代的位置和供取代的氨基酸也可以凭经验选择。凭经验取代

可以是保守的或非保守的取代。

[0091] 本文公开的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,例如全人抗HLA-A2:NY-ESO-1单克隆抗体,或其抗原结合片段,或CAR,与相应的种系序列相比,可以在重链和轻链可变结构域的框架和/或CDR结构域中包含一个或多个氨基酸取代、插入和/或缺失。通过将本文所公开的氨基酸序列与可从例如公共抗体序列数据库中获得的种系序列进行比较,可以容易地确定此类突变。本公开包括衍生自本文公开的任何氨基酸序列的抗原结合蛋白(例如抗体),或其抗原结合片段或CAR,其中一个或多个框架和/或CDR域内的一个或多个氨基酸突变为衍生有抗原结合蛋白的种系序列的相应残基,或突变为另一种人种系序列的相应残基,或突变为相应种系残基的保守氨基酸取代(此类序列变化在本文中统称为“种系突变”)。本领域普通技术人员从本文公开的重链和轻链可变区序列开始,可以很容易地生产包含一个或多个个体种系突变或其组合的多种抗原结合蛋白(例如抗体)或其抗原结合片段或CAR。在某些实施例中, V_H 和/或 V_L 结构域内的所有框架和/或CDR残基都突变回原始种系序列中发现的残基,抗原结合蛋白(例如抗体)衍生自该种系序列。在其他实施例中,仅某些残基突变回原始种系序列,例如仅在FR1的前8个氨基酸内或在FR4的后8个氨基酸内发现的突变残基,或仅在CDR1、CDR2或CDR3内发现的突变残基。在其他实施例中,一个或多个框架和/或CDR残基突变为不同种系序列(即,与最初衍生抗体的种系序列不同的种系序列)的相应残基。此外,本公开的抗原结合蛋白(例如抗体),或其抗原结合片段,或CAR,可以在框架和/或CDR域内包含两个或更多个种系突变的任意组合,例如,其中某些单独的残基突变为特定种系序列的相应残基,而与原始种系序列不同的某些其他残基保留或突变为不同种系序列的相应残基。一旦获得,就可以很容易地测试包含一种或多种种系突变的抗原结合蛋白(例如抗体)和抗原结合片段的一种或多种所需特性,诸如改进的结合特异性、增加的结合亲和力、改进或增强的拮抗或激动生物学特性(视情况而定)、降低的免疫原性等。以这种一般方式获得的抗原结合蛋白(例如抗体),或其抗原结合片段,或CAR包含在本公开内。

[0092] 本公开还包括抗原结合蛋白,例如全人抗HLA-A2:NY-ESO-1单克隆抗体,或其抗原结合片段,或CAR,其包含本文公开的具有一个或多个保守取代的任何HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的变体。例如,本公开包括抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,其具有HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列,所述HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列相对于本文公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中的任意一者具有10个或更少、8个或更少、6个或更少、4个或更少等的保守氨基酸取代。

[0093] 如本文所用,术语“人源抗体”旨在包括具有衍生自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。本公开的人单克隆抗体(mAb)可以包括例如在CDR中,特别是在CDR3中,不是由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,由体外随机或位点特异性诱变或体内体细胞突变引入的突变)。然而,如本文所用,术语“人源抗体”并不意图包括mAb,在mAb中,衍生自另一哺乳动物物种(例如,小鼠)的种系的CDR序列已移植到人FR序列上的。该术语包括在非人类哺乳动物或非人类哺乳动物的细胞中重组产生的抗体。该术语并不意图包括从人类受试者分离或在人类受试者体内生成的抗体。

[0094] 如本文所用,术语“重组”是指通过本领域已知的作为重组DNA技术的技術或方法(包括,例如DNA剪接和转基因表达)产生、表达、分离或获得的本公开的抗原结合蛋白(例如抗体)或其抗原结合片段。该术语指例如在非人哺乳动物(包括转基因非人类哺乳动物,例

如转基因小鼠)中或细胞(例如,CHO细胞)表达系统中表达的或从重组组合人源抗体库中分离的抗原结合蛋白(例如,抗体)。

[0095] 如本文所用,术语“嵌合抗原受体”或“CAR”在本文中可互换使用,均是指包含能够与抗原(例如,HLA-A2展示的NY-ESO-1肽的构象表位,例如包含NY-ESO-1的氨基酸残基157-165的肽)结合的细胞外结构域、跨膜结构域和至少一个细胞内信号传导结构域的重组融合蛋白。

[0096] 如本文所用,“免疫效应细胞”是指具有一种或多种效应功能(例如,细胞毒性细胞杀伤活性、细胞因子分泌、ADCC和/或CDC的诱导)的免疫系统的任何细胞。在一个实施例中,与本文所述的CAR一起使用的免疫效应细胞是T淋巴细胞,特别是细胞毒性T细胞(CTL;CD8+T细胞)和辅助T细胞(HTL;CD4+T细胞)。其他T细胞群也可用于本文,例如原初T细胞和记忆T细胞。如技术人员将理解的,其它细胞也可以用作具有如本文所述的CAR的免疫效应细胞。具体来说,免疫效应细胞还包括NK细胞、NKT细胞、嗜中性白细胞和巨噬细胞。免疫效应细胞还包括效应细胞的祖细胞,其中所述祖细胞可以在体内或体外经诱导以分化成免疫效应细胞。因此,就这一点而言,免疫效应细胞包括免疫效应细胞的祖细胞,诸如包含在衍生自脐带血、骨髓或动员外周血的CD34+细胞群中的造血干细胞(HSC),其在受试者中施用后分化为成熟的免疫效应细胞,或可在体外被诱导分化为成熟的免疫效应细胞。

[0097] 如本文所公开,术语“脱靶肽”是指与靶肽(例如,NY-ESO-1_157-165肽)相差2、3、4、5或更多个氨基酸的肽。在某些实施例中,该术语包括与靶肽相差小于或等于3个氨基酸的肽。例如,对于9聚体肽而言,如果2、3或4个氨基酸与靶肽不一致,则将其视为“脱靶”肽。在某些实施例中,氨基酸同一性以“相似性程度”(DoS)表达。如果9聚体肽中的6个氨基酸相同,则DoS为6。在某些实施例中,DoS \leq 6的肽被认为是“脱靶”肽。术语“脱靶”肽还指基于序列同源性与靶肽类似,预测与HLA-A2结合并且包含在必需的正常组织中表达的蛋白质中的肽。

[0098] 术语“特异性结合”或“与……特异性结合”等意指抗原结合蛋白(例如抗体),或其抗原结合片段,或CAR,与在生理条件下相对稳定的抗原形成复合物。特异性结合的特征在于平衡解离常数至少约为 1×10^{-8} M或更小(例如,较小的 K_D 表示结合更紧密)。用于确定两个分子是否特异性结合的方法是本领域众所周知的,并且包括例如平衡透析、表面等离子体共振等。如本文所述,抗原结合蛋白,例如抗体,已通过表面等离子共振(例如,BIACORE™)鉴定,其与HLA-A2呈递的纽约食管鳞状细胞癌1(NY-ESO-1)肽(例如包含NY-ESO-1的氨基酸残基157-165的肽)的构象表位特异性结合。

[0099] 术语“高亲和力”抗原结合蛋白,例如抗体,是指对HLA-A2呈递的NY-ESO-1肽(例如包含NY-ESO-1的氨基酸残基157-165的肽)的构象表位具有结合亲和力的那些抗原结合蛋白(例如,mAb),以 K_D 表示,如通过表面等离子共振(例如BIACORE™或溶液亲和ELISA)所测量的至少为 10^{-8} M;优选为 10^{-9} M;更优选为 10^{-10} M,甚至更优选为 10^{-11} M,甚至更优选为 10^{-12} M。

[0100] 术语“慢解离速率”、“Koff”或“kd”是指以如通过表面等离子共振(例如BIACORE™)所测量的 1×10^{-3} s $^{-1}$ 或更小,优选 1×10^{-4} s $^{-1}$ 或更小的速率常数从HLA-A2:NY-ESO-1中解离抗原结合蛋白。

[0101] 如本文所用,术语抗原结合蛋白(例如抗体)的“抗原结合部分”、抗原结合蛋白(例如抗体)的“抗原结合片段”等包括与抗原特异性结合以形成复合物的任何天然存在的、酶

促可获得的、合成的或基因工程改造的多肽或糖蛋白。如本文所用,术语抗体的“抗原结合片段”或“抗体片段”是指保留与HLA-A2呈递的NY-ESO-1肽(例如,包含与HLA-A2偶联的NY-ESO-1的氨基酸残基157-165的肽)的构象表位结合的能力的抗体的一个或多个片段。

[0102] 在具体实施例中,本公开的抗原结合蛋白,例如抗体或抗体片段,或CAR,可以缀和到一个部分,诸如配体、可检测部分或治疗部分(“免疫缀合物”),诸如细胞毒素、第二抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白、针对肿瘤特异性抗原的抗体、抗癌药物或任何其他可用于治疗包括NY-ESO-1相关疾病或病况(例如NY-ESO-1阳性癌症)在内的疾病或病况的任何其他治疗部分。

[0103] 如本文所用,“分离的抗原结合蛋白”,例如分离的抗体,旨在意指一种抗原结合蛋白(例如抗体),其基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗原结合蛋白,例如抗体(Abs)(例如,与HLA-A2:NY-ESO-1特异性结合的分离抗体,或其片段);且基本上不含与除HLA-A2呈递的NY-ESO-1肽的构象表位之外的抗原特异性结合的抗原结合蛋白,例如抗体。

[0104] 如本文所用,术语“表面等离子体共振”是指允许通过检测生物传感器基质内蛋白质浓度的变化例如使用BIAcore™系统(Pharmacia生物传感器AB,瑞典乌普萨拉和新泽西州皮斯卡塔韦)来分析实时生物分子相互作用的光学现象。

[0105] 如本文所用,术语“ K_D ”旨在意指特定抗原结合蛋白-抗原相互作用的平衡解离常数。

[0106] 如本文所用,术语“交叉竞争”是指抗原结合蛋白(例如抗体)或其抗原结合片段,与抗原结合并抑制或阻断另一种抗原结合蛋白(例如抗体)或其抗原结合片段的结合。该术语还包括两个方向上的两种抗原结合蛋白(例如抗体)之间的竞争,即第一抗原结合蛋白(例如抗体)与第二抗原结合蛋白(例如抗体)结合以及阻断它们之间的结合,反之亦然。在某些实施例中,第一抗原结合蛋白(例如,抗体)和第二抗原结合蛋白(例如,抗体)可以与同一表位结合。或者,第一和第二抗原结合蛋白(例如抗体)可以与不同但重叠的表位结合,使得一个抗原结合蛋白的结合,例如经由空间位阻,抑制或阻断第二个抗原结合蛋白的结合。抗原结合蛋白(例如,抗体)之间的交叉竞争可以通过本领域已知的方法,例如通过实时、无标记生物层干涉测定法测量。两种抗原结合蛋白(例如,抗体)之间的交叉竞争可以表示为第二抗原结合蛋白(例如,抗体)的结合,由于自身结合而小于背景信号(其中第一和第二抗原结合蛋白(例如,抗体)是相同的抗原结合蛋白(例如,抗体))。两种抗原结合蛋白(例如,抗体)之间的交叉竞争可以表示为第二抗原结合蛋白(例如,抗体)的结合%,其小于基线自身背景结合(其中第一和第二抗原结合蛋白(例如,抗体)是相同的抗原结合蛋白(例如,抗体))。

[0107] 术语“基本同一性”或“基本相同”在提及核酸或其片段时表示为:当与另一核酸(或其互补链)的适当核苷酸插入或缺失最佳比对时,如通过任何熟知的序列同一性算法所测的,在至少约90%,更优选至少约95%、96%、97%、98%或99%的核苷酸碱基中存在核苷酸序列同一性,这将在下面讨论。在某些情况下,与参考研酸分子具有基本同一性的核酸分子可以对具有与由参考研酸分子编码的多肽相同或基本上类似的氨基酸序列的多肽进行编码。

[0108] 可以使用算法来计算序列同一性,例如用于全局比对的Needleman Wunsch算法(Needleman和Wunsch 1970《分子生物学杂志》48:443-453)或用于局部比对的Smith

Waterman算法 (Smith和Waterman 1981《分子生物学杂志》147:195-197)。Dufresn等人在2002年的《自然生物技术 (Nature Biotechnology)》(第20卷,第1269-71页)中描述了另一种优选算法,并在软件GenePAST(GQ生命科学公司(GQ Life Sciences, Inc.),波士顿,马萨诸塞州)中使用。

[0109] 当应用于多肽时,术语“基本相似性”或“基本相似”是指两个肽序列在最佳比对时,例如通过使用默认间隙权重的程序GAP或BESTFIT,共享至少90%的序列同一性,甚至更优选地共享至少95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性。优选地,不相同的残基位置因保守氨基酸取代而不同。“保守氨基酸取代”是其中一个氨基酸残基被具有相似化学特性(例如,电荷或疏水性)的侧链(R基团)的另一个氨基酸残基取代的氨基酸取代。通常,保守氨基酸取代基本上不会改变蛋白质的功能特性。在两个或更多个氨基酸序列因保守取代而彼此不同的情况下,类似百分比或相似性程度可以向上调整以校正取代的保守性质。进行这种调整的手段是本领域技术人员公知的。参见,例如,Pearson(1994)《分子生物学方法 (Methods Mol. Biol.)》24:307-331,其通过引用并入本文。具有类似化学性质的侧链的氨基酸组的实例包括:1) 脂肪族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;2) 脂肪羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;3) 含酰胺侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;4) 芳香侧链:苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸;5) 碱性侧链:赖氨酸、精氨酸、组氨酸;6) 酸性侧链:天冬氨酸和谷氨酸;和7) 含硫侧链:半胱氨酸和蛋氨酸。优选的保守氨基酸取代基团是:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸、谷氨酸-天冬氨酸和天冬酰胺-谷氨酰胺。或者,保守取代是在Gonnet等人(1992)《科学 (Science)》256:1443-45中公开的PAM250对数似然矩阵中具有正值的任何变化,该文献通过引用并入本文。“适度保守”取代是在PAM250对数似然矩阵中具有非负值的任何变化。

[0110] 通常使用序列分析软件来测量多肽的序列相似性。蛋白质分析软件利用分配给包含保守氨基酸取代在内的各种取代、缺失和其它修饰的相似性度量来匹配相似序列。例如,GCG软件含有GAP和BESTFIT等程序,所述程序可以在默认参数下使用以测定紧密相关的多肽(诸如来自不同生物体物种的同源多肽)之间或野生型蛋白质与其突变体之间的序列同源性或序列同一性。参见例如GCG第6.1版本。多肽序列也可以使用FASTA与默认或推荐参数进行比较,参见GCG 6.1版本中的程序。FASTA(例如,FASTA2和FASTA3)提供了查询和搜索序列之间最佳重叠区域的比对和序列同一性百分比(皮尔森(2000)同上)。序列也可以使用Smith-Waterman同源性搜索算法进行比较,在该算法中,使用仿射间隙搜索,其中空位开放处罚为12,空位延伸处罚为2,BLOSUM矩阵为62。当将本公开的序列与包含来自不同生物的大量序列的数据库进行比较时,另一个优选算法是使用默认参数的计算机程序BLAST,尤其是BLASTP或TBLASTN。参见,例如Altschul等人(1990)《分子生物学杂志 (J. Mol. Biol.)》215:403-410和(1997)《核酸研究 (Nucleic Acids Res.)》25:3389-3402,其均通过引用并入本文。

[0111] 短语“治疗有效量”意指施用以产生期望效果的量。精确量将取决于治疗的目的,并且将由本领域的技术人员使用已知的技术确定(参见,例如,Lloyd(1999)《药物复合的艺术、科学和技术 (The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding)》)。

[0112] 如本文所用,术语“受试者”是指需要改善、预防和/或治疗疾病或病症,例如NY-ESO-1相关疾病或病症,诸如NY-ESO-1相关癌症(例如,NY-ESO-1阳性癌症)的动物,优选哺

乳动物。该术语包括患有或有风险患有NY-ESO-1相关疾病或病症(诸如NY-ESO-1相关癌症或转移性NY-ESO-1相关癌症)的人类受试者。

[0113] 如本文所用,“抗癌药”是指可用于治疗或改善或抑制癌症的任何药剂,包括但不限于细胞毒素和药剂,诸如抗代谢物、烷化剂、蒽环类药物、抗生素、抗有丝分裂剂、丙卡巴肼、羟基脲、天冬酰胺酶、皮质类固醇、环磷酰胺、米托坦(O,P'-DDD)、生物制剂(例如抗体和干扰素)和放射性药物。如本文所使用的,“细胞毒素或细胞毒性剂”也指化学治疗剂,并且意指对细胞有害的任何药剂。实例包括:Taxol®(紫杉醇)、替莫唑胺、细胞松弛素B、短杆菌肽D、溴化乙锭、依米汀、顺铂、丝裂霉素、依托泊苷、替诺泊苷、长春新碱、长春花碱、秋水仙碱、多柔比星、柔红霉素、二羟基蒽二酮、米托恩醌、光神霉素、放线菌素D、1-脱氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因、丁卡因、利多卡因、普萘洛尔和嘌呤霉素及其类似物或同系物。

[0114] 如本文所用,术语“抗病毒药物”是指用于治疗、预防或改善宿主受试者中病毒感染的任何药物或疗法。术语“抗病毒药物”包括但不限于齐多夫定、拉米夫定、阿巴卡韦、利巴韦林、洛匹那韦、依法韦仑、考比司他、替诺福韦、利匹韦林、镇痛药和皮质类固醇。

[0115] 包含以下任一项的免疫原可用于产生针对HLA-A2呈递的NY-ESO-1肽(例如,包含与HLA-A2连接的NY-ESO-1的氨基酸残基157-165的肽)的构象表位的抗原结合蛋白,例如抗体。在某些实施例中,本公开的抗原结合蛋白,例如抗体,可以从小鼠中获得,所述小鼠用下列各项进行免疫接种:全长原初NY-ESO-1蛋白(参见,GenBank登录号NP_001318.1)(SEQ ID NO:271);或Genbank登录号为NP_001318.1的重组NY-ESO-1肽(SEQ ID NO:271)(例如,包含氨基酸残基157-165的肽(SLLMWITQC;SEQ ID NO:269));或具有GenBank登录的C165V取代的序列且与HLA蛋白(诸如HLA-A2)结合的重组NY-ESO-1肽(SLMMWITQV;SEQ ID NO:270)。

[0116] 或者,NY-ESO-1或其片段可使用标准生化技术生产并在HLA-A2的背景下修饰并用作免疫原。

[0117] 在一些实施例中,免疫原可以是在大肠杆菌或任何其他真核或哺乳动物细胞(诸如,中国仓鼠卵巢(CHO)细胞)中表达的重组NY-ESO-1肽(可能是由HLA呈递的重组NY-ESO-1肽)。

[0118] 在某些实施例中,可以使用上述多肽或其片段制备与HLA-A2呈递的NY-ESO-1肽的构象表位特异性结合的抗原结合蛋白。在一些实施例中,HLA-A2呈递的NY-ESO-1肽可从本文所述区域的N或C末端之一或两者延伸超出指定区域约5至约20个氨基酸残基。在某些实施例中,上述区域或其片段的任何组合可用于制备HLA-A2:NY-ESO-1特异性抗原结合蛋白,例如抗体。

[0119] 肽可以经过修饰以包括添加或取代某些残基,从而用于进行标记或达到与载体分子诸如KLH缀合的目的。例如,可以在肽的N末端或C末端添加半胱氨酸,或可以添加连接子序列,以制备与例如KLH缀合的肽以进行免疫。

[0120] 用于测量结合活性的非限制性示例性体外测定在本文的实例中说明。在实例3中,人抗HLA-A2:NY-ESO-1特异性抗原结合蛋白(例如抗体)的结合亲和力和动力学常数通过表面等离子共振确定,并在Biacore 4000或T200仪器上进行测量。实例4描述了抗体与过表达NY-ESO-1片段的细胞的结合。

[0121] 例如针对HLA-A2:NY-ESO-1的抗原结合蛋白(例如,抗体)可以不包含额外的标记或部分,或者它们可以包含N末端或C末端标记或部分。在一个实施例中,所述标记或部分

生物素。在结合分析中,标记(如果有的话)的位置可以确定肽相对于肽所结合的表面的取向。举例来说,如果表面涂覆有抗生物素蛋白,则含有N末端生物素的肽将被定向,使得肽的C末端部分将在表面远侧。在一个实施例中,标记可以是放射性核素、荧光染料或MRI可检测的标记。在某些实施例中,此类标记的抗原结合蛋白可用于诊断分析,包括成像分析。

[0122] 抗原结合蛋白

[0123] 本公开提供了抗原结合蛋白,其包括抗体或其抗原结合片段和CAR(例如,编码本公开的CAR的核酸分子)(如下所述)。除非另外具体指示,否则如本文所使用,术语“抗体”应理解为涵盖包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链的抗体分子(即“完全抗体分子”),以及其抗原结合片段。如本文所用,术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括任何天然存在的、可酶促获得的、合成的或基因工程改造的与抗原特异性结合形成复合物的多肽或糖蛋白。如本文所用,术语抗体的“抗原结合片段”或“抗体片段”是指保留与HLA-A2呈递的NY-ESO-1肽的构象表位特异性结合的能力的抗体的一个或多个片段。抗原结合蛋白(诸如,抗体片段)可以包括Fab片段、F(ab')₂片段、Fv片段、dAb片段、含有CDR的片段或分离的CDR。抗原结合蛋白(诸如,抗体的抗原结合片段)可以使用任何合适标准技术,诸如涉及操纵和表达编码抗体可变结构域和(任选地)恒定结构域的DNA的蛋白水解消化或重组基因工程技术从全抗体分子中获得。这类DNA是已知的和/或易于从例如商业来源、DNA库(包括例如噬菌体-抗体库)获得的,或是可以合成的。可以以化学方式或通过使用分子生物学技术对DNA进行测序和操纵,例如,以将一个或多个可变结构域和/或恒定结构域布置成合适的构型或引入密码子、产生半胱氨酸残基、修饰、添加或缺失氨基酸等。

[0124] 抗体的抗原结合片段的非限制性实例包括:(i) Fab片段;(ii) F(ab')₂片段;(iii) Fd片段;(iv) Fv片段;(v) 单链Fv(scFv)分子;(vi) dAb片段;和(vii) 由模拟抗体高变区(例如,分离的互补决定区(CDR),诸如CDR3肽)的氨基酸残基或受限FR3-CDR3-FR4肽组成的最小识别单元。其他工程分子,诸如域特异性抗体、单域抗体、域缺失抗体、嵌合抗体、CDR移植抗体、双抗体、三抗体、四抗体、微型抗体、纳米抗体(例如单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小型模块化免疫药物(SMIP)和鲨鱼可变IgNAR结构域也包含在如本文所用的表述“抗原结合片段”内。

[0125] 抗原结合蛋白(例如抗体)的抗原结合片段通常包含至少一个可变结构域。可变结构域可以具有任何大小或氨基酸组成并且通常包含与一个或多个框架序列相邻或同框的至少一个CDR。在具有与V_L结构域相关联的V_H结构域的抗原结合蛋白中,V_H和V_L结构域可以以任何合适的排列相对于彼此定位。例如,可变区可以是二聚体并且包含V_H-V_H、V_H-V_L或V_L-V_L二聚体。可替代地,抗体的抗原结合片段可以含有单体V_H或V_L结构域。

[0126] 在某些实施例中,抗体的抗原结合片段可含有至少一个与至少一个恒定结构域共价连接的可变结构域。可以在本公开的抗原结合蛋白的抗原结合片段内发现的可变结构域和恒定结构域的非限制性示例性配置包括:(i) V_H-C_H1;(ii) V_H-C_H2;(iii) V_H-C_H3;(iv) V_H-C_H1-C_H2;(v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3;(vi) V_H-C_H2-C_H3;(vii) V_H-C_L;(viii) V_L-C_H1;(ix) V_L-C_H2;(x) V_L-C_H3;(xi) V_L-C_H1-C_H2;(xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3;(xiii) V_L-C_H2-C_H3;和(xiv) V_L-C_L。在可变结构域和恒定结构域的任何构型(包括上文所列出的示例性构型中的任何示例性构型)中,可变结构域和恒定结构域可以彼此直接连接或可以通过完整或部分铰链或连接子区连接。铰链区可以由至少2个(例如,5、10、15、20、40、60或更多个)氨基酸组成,这引起在单一多肽分子中

的相邻可变和/或恒定结构域之间的柔性或半柔性连接。此外,本公开的抗体的抗原结合片段可以包含彼此非共价缔合和/或与一个或多个单体 V_H 或 V_L 域非共价缔合(例如通过二硫键)的以上所列的可变和恒定结构域构型中的任一个的同二聚体或异二聚体(或其它多聚体)。

[0127] 与全抗体分子一样,抗原结合蛋白(例如抗体的抗原结合片段)可以是单特异性或多特异性的(例如,双特异性的)。抗体的多特异性抗原结合片段将通常包含至少两个不同的可变结构域,其中每个可变结构域能够与单独的抗原或同一抗原上的不同表位特异性结合。任何多特异性抗体形式,包括本文公开的示例性双特异性抗体形式,都可以适用于使用本领域可用的常规技术在本公开的抗体的抗原结合片段的上下文中使用。

[0128] 抗原结合蛋白的制备

[0129] 在转基因小鼠中产生抗原结合蛋白例诸如人源抗体的方法是本领域已知的。在本公开的上下文中,可以使用任何此类已知方法来制备与HLA-A2呈递的纽约食管鳞状细胞癌1肽(NY-ESO-1肽)的构象表位特异性结合的人源抗体。

[0130] 通过使用 VELOCIMMUNE® 技术(参见,例如,US 6,596,541,再生元制药(Regeneron Pharmaceuticals), VELOCIMMUNE®)或任何其他已知用于产生抗原结合蛋白,例如单克隆抗体的方法,对HLA-A2呈递的NY-ESO-1肽的构象表位具有高亲和力的抗原结合蛋白,例如嵌合抗体,最初是分离的,具有人可变区和小鼠恒定区。VELOCIMMUNE® 技术涉及产生具有基因组的转基因小鼠,该基因组包含与内源性小鼠恒定区基因座可操作地连接的人重链和轻链可变区,使得小鼠响应抗原刺激产生包含人可变区和小鼠恒定区的抗原结合蛋白,例如抗体。分离编码抗体的重链和轻链可变区的DNA并且将其可操作地连接至编码人重链和轻链恒定区的DNA。所述DNA随后在能够表达完全人类抗体的细胞中表达。

[0131] 通常, VELOCIMMUNE® 小鼠用目标的抗原进行攻击,并从表达抗原结合蛋白(例如抗体)的小鼠中回收淋巴细胞(诸如B细胞)。淋巴细胞可以与骨髓瘤细胞系融合以制备无限增殖杂交瘤细胞系,并且对这类杂交瘤细胞系进行筛选和选择以鉴别产生对相关抗原具有特异性的抗体的杂交瘤细胞系。可以将编码重链和轻链可变区的DNA分离且连接至合乎需要的同型的重链和轻链恒定区。这种抗原结合蛋白可以在诸如CHO细胞的细胞中产生。或者,编码抗原特异性抗原结合蛋白(例如,嵌合抗体)的DNA,或轻链和重链的可变结构域可以直接从抗原特异性淋巴细胞中分离。

[0132] 最初,分离具有人可变区和小鼠恒定区的高亲和力抗原结合蛋白,例如嵌合抗体。正如在下面的实验部分中,抗原结合蛋白被表征和选择所需的特性,包括亲和力、选择性、表位等。小鼠恒定区被所需的人恒定区替换以产生本公开的例如全人源抗体的抗原结合蛋白,例如野生型或修饰的IgG1或IgG4。虽然选择的恒定区可根据具体用途而变化,但高亲和力抗原结合和靶标特异性特征存在于可变区中。

[0133] 生物等效性

[0134] 本公开的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白包括具有与所述抗原结合蛋白(例如抗体)的那些氨基酸序列不同的氨基酸序列但保留与HLA-A2呈递的NY-ESO-1肽的构象表位结合的能力的蛋白质。当与亲本序列相比时,此类变体抗原结合蛋白包含一个或多个氨基酸的添加、缺失或取代,但表现出与所述抗原结合蛋白的生物学活性基本等同的生物学活

性。同样地,本公开的编码抗原结合蛋白的DNA序列包含与公开的序列相比包含一个或多个核苷酸的添加、缺失或取代但编码抗原结合蛋白的序列,所述抗原结合蛋白与本公开的抗原结合蛋白基本上是生物等效的。

[0135] 如果例如两种抗原结合蛋白质或抗体是在以相同摩尔剂量在类似实验条件(单次剂量或多次剂量)下施用吸收速率和程度不显示显著差异的药物等效物或药物替代物,那么所述抗原结合蛋白质或抗体被视为生物等效物。如果某些抗原结合蛋白或抗体的吸收程度相同,但吸收速率不同,则它们将被视为等效物或药物替代品,但仍可能被视为生物等效物,这是因为吸收速率的这种差异是有意的并反映在标签中,对于达到有效体内药物浓度(例如长期使用)并不是必需的,并且被认为对于所研究的特定药物产品在医学上是无关紧要的。

[0136] 在一个实施例中,如果两种抗原结合蛋白(或抗体)在其安全性、纯度或效力方面没有临床意义的差异,则它们是生物等效的。

[0137] 在一个实施例中,如果患者可以在参考产品和生物产品之间转换一次或多次而不会增加预期的不良反应风险,包括免疫原性的临床显著变化或有效性降低,则与没有这种转换的继续治疗相比,两种抗原结合蛋白(或抗体)是生物等效的。

[0138] 在一个实施例中,如果两种抗原结合蛋白(或抗体)都通过一种或多种共同作用机制作用于一种或多种使用条件,则它们是生物等效的,只要这种机制是已知的。

[0139] 生物等效性可通过活体内和/或活体外方法来证实。生物等效性测量包括,例如:(a)在人或其它哺乳动物中的体内试验,其中在血液、血浆、血清或其它生物流体中测量抗体或其代谢物的浓度随时间的变化;(b)与人体内生物利用度数据相关并且可合理预测的体外试验;(c)在人或其它哺乳动物中的体内试验,其中测量抗体(或其靶标)的适当急性药理作用随时间的变化;以及(d)在建立抗原结合蛋白的安全性、疗效或生物利用度或生物等效性的对照的临床试验中。

[0140] 本公开的抗原结合蛋白(或抗体)的生物等效变体可通过例如对残基或序列进行各种取代或删除生物活性所必需的末端或内部残基或序列来构建。例如,可以缺失非生物活性所必需的半胱氨酸残基或用其它氨基酸替代,以防止在复性时形成不必要的或不正确的分子内二硫桥。在其他情况下,生物等效的抗原结合蛋白可以包括包含氨基酸变化的抗原结合蛋白变体,其修饰抗原结合蛋白的糖基化特征,例如消除或去除糖基化的突变。

[0141] 包含Fc变体的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白

[0142] 根据本公开的某些实施例,提供了包含具有一个或多个突变的Fc结构域的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,例如抗体,与中性pH相比,所述突变增强或减少了例如在酸性pH下抗原结合蛋白与FcRn受体的结合。例如,本公开包括抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,其包含在Fc结构域的C_H2或C_H3区中的突变,其中所述突变增加了在酸性环境中(例如,在pH范围从约5.5至约6.0的核内体中)Fc结构域对FcRn的亲合力。当施用于动物时,此类突变可导致抗原结合蛋白的血清半衰期增加。此类Fc修饰的非限制性实例包括:例如,位置250(例如,E或Q)处的修饰;位置250和428(例如,L或F)的修饰;位置252(例如,L/Y/F/W或T)、位置254(例如,S或T)和位置256(例如,S/R/Q/E/D或T)处的修饰;或位置428和/或位置433(例如,H/L/R/S/P/Q或K)和/或位置434(例如,A、W、H、F或Y[N434A、N434W、N434H、N434F或N434Y])处的修饰;或位置250和/或位置428处的修饰;或位置307或位置308(例如,308F、

V308F) 和位置434处的修饰。在一个实施例中,所述修饰包含428L (例如,M428L) 和434S (例如,N434S) 修饰;428L、259I (例如,V259I) 和308F (例如,V308F) 修饰;433K (例如,H433K) 和434 (例如,434Y) 修饰;252、254和256 (例如252Y、254T和256E) 修饰;250Q和428L (例如,T250Q和M428L) 修饰;以及307和/或308 (例如,308F或308P) 修饰。在又一个实施例中,所述修饰包括265A (例如,D265A) 和/或297A (例如,N297A) 修饰。

[0143] 例如,本公开包括抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,其包含具有一对或多对或多组突变的Fc结构域,所述突变选自下组:250Q和248L (例如,T250Q和M248L);252Y、254T和256E (例如M252Y、S254T和T256E);428L和434S (例如M428L和N434S);257I和311I (例如P257I和Q311I);257I和434H (例如P257I和N434H);376V和434H (例如D376V和N434H);307A、380A和434A (例如T307A、E380A和N434A);和433K和434F (例如H433K和N434F)。在一个实施例中,本公开包括抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,其包含在IgG4的铰链区中具有S108P突变以促进二聚体稳定的Fc结构域。前述Fc结构域突变和本文公开的抗原结合蛋白可变结构域内的其他突变的所有可能组合都预期在本公开的范围。

[0144] 本公开还包括包含嵌合重链恒定(C_H)区的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,其中所述嵌合C_H区包含衍生自一种以上免疫球蛋白同种型的C_H区的区段。例如,本公开的抗原结合蛋白可以包含嵌合C_H区,该嵌合C_H区包含衍生自人IgG1、人IgG2或人IgG4分子的部分或全部C_H2结构域,其与衍生自人IgG1、人IgG2或人IgG4分子的部分或全部C_H3结构域组合。根据某些实施例,本公开的抗原结合蛋白包含具有嵌合铰链区的嵌合C_H区。举例来说,嵌合铰链可以包含衍生自人IgG1、人IgG2或人IgG4铰链区的“上铰链”氨基酸序列(根据EU编号,位置216到227的氨基酸残基),其与衍生自人IgG1、人IgG2或人IgG4铰链区的“下铰链”序列(根据EU编号,位置228到236的氨基酸残基)组合。根据某些实施例,嵌合铰链区包含衍生自人IgG1或人IgG4上铰链的氨基酸残基和衍生自人IgG2下铰链的氨基酸残基。在某些实施例中,包含如本文所述的嵌合C_H区的抗原结合蛋白可以表现出修饰的Fc效应功能,而不会不利地影响抗原结合蛋白的治疗或药代动力学特性(参见,例如,美国专利公开第20140243504号,其公开的全部内容通过引用并入本文)。

[0145] 抗原结合蛋白的生物学特性

[0146] 一般而言,本公开的抗原结合蛋白通过与HLA-A2呈递的纽约食管鳞状细胞癌1(NY-ESO-1)肽的构象表位结合而发挥作用。

[0147] 本公开包括抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,其在HLA-A2的背景下与NY-ESO-1肽高特异性地结合。在没有HLA-A2的情况下,抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白不与NY-ESO-1肽结合。此外,抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白在HLA-A2的背景下不与脱靶肽结合。

[0148] 本公开包括与单体HLA-A2:NY-ESO-1(157-165)肽(其中NY-ESO-1 157-165肽可以包含C165或V165;即,本公开的抗原结合蛋白可以对任何一种形式是特异性的,或者对于哪种形式是非特异性的)高亲和力结合的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白。例如,本公开包括以如使用如本文实例3中定义的测定形式通过表面等离子共振所测量的小于约1nM的K_D与单体HLA-A2:157-165肽(任选具有C165V取代)(例如,在25°C或在37°C下)结合的抗原结合蛋白。在某些实施例中,抗原结合蛋白以如使用如本文实例3中定义的测定形式或基本上类似的测定法通过表面等离子共振所测量的小于约1nM、小于约0.5nM、小于约0.1nM、小于约0.05nM或小于约0.04nM的K_D与单体HLA-A2:NY-ESO-1_157-165肽结合。

[0149] 本公开内容还包括以例如通过如本文实例4和5中所定义的流式细胞术测定法或基本上类似的测定法所确定的小于约10nM的 EC_{50} 与表达HLA-A2:NY-ES0-1:157-165肽复合物(其中NY-ES0-1 157-165肽可包含C165或V165;即,本公开的抗原结合蛋白可以对任何一种形式是特异性的,或者对于哪种形式是非特异性的)的细胞结合但不与表达预测的脱靶肽的细胞结合的抗原结合蛋白。在某些实施例中,抗原结合蛋白以例如使用如本文实例4和5中的测定形式或基本上类似的测定法通过如本文实例4和5中所定义的流式细胞术测定法或基本上类似的测定法所确定的小于约10nM、小于约5nM、小于约2nM、小于约1nM或小于约0.5nM的 EC_{50} 与表达HLA-A2:NY-ES0-1_157-165肽的细胞结合,但不与表达预测的脱靶肽的细胞结合。

[0150] 在某些实施例中,本公开的抗原结合蛋白在向有需要的受试者预防性施用时可用于抑制肿瘤的生长或延缓癌症的进展并且可以增加受试者的存活率。例如,本公开的抗原结合蛋白的施用可以导致原发性肿瘤缩小并且可以防止继发性肿瘤的转移或发展。在某些实施例中,本公开的抗原结合蛋白在治疗性地施用于有需要的受试者时可用于抑制肿瘤的生长并且可以增加受试者的存活率。例如,向受试者施用治疗有效量的本公开的抗原结合蛋白可导致受试者中已成形的肿瘤缩小和消失。

[0151] 在一个实施例中,本公开提供了一种分离的重组抗原结合蛋白,其与HLA-A2呈递的NY-ES0-1肽的构象表位结合,其中抗原结合蛋白表现出一种或多种以下特征:(i)包含HCVR,具有选自SEQ ID NO:2、22、42、62、82、102、122、142、162、180、196、211和230所示的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性;(ii)包含LCVR,具有选自SEQ ID NO:10、30、50、70、90、110、130、150、170、186、203、219和238所示的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性;(iii)包含HCDR3结构域,具有选自SEQ ID NO:8、28、48、68、88、108、128、148、168、184、201、217和236所示的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性;和LCDR3结构域,具有选自SEQ ID NO:16、36、56、76、96、116、136、156、190、205、224和244所示的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性;(iv)包含HCDR1结构域,具有选自SEQ ID NO:4、24、44、64、84、104、124、144、164、213和232所示的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少

96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性;HCDR2结构域,具有选自SEQ ID NO:6、26、46、66、86、106、126、146、166、215和234所示的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性;LCDR1结构域,具有选自SEQ ID NO:12、32、52、72、92、112、132、152、172、188、221和240所示的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性;和LCDR2结构域,具有选自SEQ ID NO:14、34、54、74、94、114、134、154、174和242所示的氨基酸序列或与其基本相似的序列,所述基本相似的序列和所述氨基酸序列具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列同一性;(v)以如表面等离子共振测定中在25℃下所测量的小于约1nM的结合解离平衡常数(KD)与单体HLA-A2:NY-ES0-1 157-165(C165或V165)肽复合物结合;(vi)以如表面等离子共振测定中在25℃下所测量的小于约1nM的KD与单体HLA-A2:NY-ES0-1 157-165(C165或V165)肽复合物结合;(vii)以小于约10nM的 EC_{50} 与表达HLA-A2:NY-ES0-1 157-165(C165或V165)肽复合物的细胞结合;和(viii)不与HLA-A2展示的脱靶肽结合,其中该肽与SEQ ID NO:271相差2、3、4、5个或更多个氨基酸。

[0152] 本公开的抗原结合蛋白可以具有一种或多种上述生物学特征,或其任何组合。通过阅读本公开,包含本文的工作实例,本发明的抗原结合蛋白的其它生物学特性对于本领域普通技术人员而言将是显而易见的。

[0153] 表位作图和相关技术

[0154] 本公开包括抗HLA-A2:NY-ES0-1抗原结合蛋白,其与在HLA-A2展示的NY-ES0-1肽的一个或多个结构域内发现的一个或多个氨基酸相互作用。表位可由位于NY-ES0-1分子(例如构象表位)的上述结构域之一或两者内的多个非连续氨基酸(或氨基酸序列)组成。

[0155] 本领域普通技术人员已知的各种技术可用于确定抗原结合蛋白是否“与多肽或蛋白质内的一个或多个氨基酸相互作用”。示例性技术包括例如常规交叉阻断分析,诸如《抗体(Antibodies)》,Harlow和Lane(美国冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Press),纽约州冷泉港(Cold Spring Harbor,NY))中所描述的分析。其他方法包括丙氨酸扫描突变分析、肽印迹分析(Reineke(2004)《分子生物学方法(Methods Mol.Biol.)》248:443-63)、肽裂解分析晶体学研究和NMR分析。此外,可以采用诸如表位切除、表位提取和抗原化学修饰等方法(Tomer(2000)《科学进展(Prot.Sci.)》9:487-496)。可用于鉴定多肽中与抗原结合蛋白相互作用的氨基酸的另一种方法是通过质谱法检测氢/氘交换。一般而言,氢/氘交换法包括氘标记目标蛋白质,然后将抗原结合蛋白与氘标记的蛋白质结合。接下来,蛋白质/抗原结合蛋白复合物被转移到水中,并且受抗原结合蛋白复合物保护的氨基酸内的可交换质子以比不属于该界面的氨基酸内的可交换质子更慢的速率进行氘-氢反向交换。结果,形成蛋白质/抗原结合蛋白界面的一部分的氨基酸可以保留氘,因此与不包括在

该界面中的氨基酸相比,具有相对较高的质量。抗原结合蛋白解离后,对目标蛋白进行蛋白酶切割和质谱分析,从而揭示与抗原结合蛋白相互作用的特定氨基酸对应的氘标记残基。参见,例如,Ehring (1999)《分析生物化学 (Analytical Biochemistry)》267:252-259; Engen和Smith (2001)《分析化学 (Anal. Chem.)》73:256A-265A。

[0156] 术语“表位”是指B细胞和/或T细胞起反应的抗原上的位点。B细胞表位可由连续氨基酸或通过蛋白质的三级折叠并置的非连续氨基酸形成。由连续氨基酸形成的表位通常在暴露于变性溶剂时保留,而由三级折叠形成的表位通常在用变性溶剂处理时丢失。呈独特空间构象的表位通常包括至少3个并且更通常至少5个或8到10个氨基酸。

[0157] 修饰辅助分析 (MAP),也称为基于抗原结构的抗体分析 (ASAP),是一种根据每种抗体与化学或酶修饰抗原表面的结合特征的相似性,对针对同一抗原的大量单克隆抗原结合蛋白(例如抗体 (mAb))进行分类的方法(参见US 2004/0101920,通过引用将其整体并入本文)。每个类别可反映与另一个类别所代表的表位明显不同或部分重叠的独特表位。该技术允许快速过滤基因相同的抗原结合蛋白,从而可以将表征集中在基因不同的抗原结合蛋白上。当应用于杂交瘤筛选时,MAP可能有助于鉴定产生具有所需特征的抗原结合蛋白的稀有杂交瘤克隆。MAP可用于将本公开的抗原结合蛋白分类成结合不同表位的抗原结合蛋白组。

[0158] 本公开包括与同一表位或表位的一部分结合的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,如本文表1中描述的任何特定示例性抗原结合蛋白,或具有表1中描述的任何示例性抗原结合蛋白的CDR序列的抗原结合蛋白。同样,本公开还包括与本文表1中描述的任何特定示例性抗原结合蛋白,或具有表1中描述的任何示例性抗原结合蛋白的CDR序列的抗原结合蛋白竞争与HLA-A2:NY-ESO-1或其片段结合的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白。

[0159] 通过使用本领域已知的常规方法,可以很容易地确定抗原结合蛋白是否和参考抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白与同一表位结合或竞争结合。例如,为了确定测试抗原结合蛋白是否与本公开的参考抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白结合于同一表位,允许参考抗原结合蛋白在饱和条件下与HLA-A2:NY-ESO-1蛋白或肽结合。接下来,对测试抗原结合蛋白与HLA-A2:NY-ESO-1分子结合的能力进行评估。如果测试抗原结合蛋白在与参考抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白饱和结合后能够与HLA-A2:NY-ESO-1结合,则可以得出结论:该测试抗原结合蛋白与参考抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白与不同表位结合。另一方面,如果测试抗原结合蛋白在与参考抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白饱和结合后不能与HLA-A2:NY-ESO-1蛋白结合,则测试抗原结合蛋白可以与本公开的参考抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白结合的表位相同的表位结合。

[0160] 为了确定抗原结合蛋白是否和参考抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白竞争结合,上述结合方法以两个方向进行:在第一方向中,允许参考抗原结合蛋白在饱和条件下与HLA-A2:NY-ESO-1蛋白结合,然后对测试抗原结合蛋白与HLA-A2:NY-ESO-1分子的结合进行评估。在第二个方向中,使测试抗原结合蛋白在饱和条件下与HLA-A2:NY-ESO-1分子结合,然后对参考抗原结合蛋白与HLA-A2:NY-ESO-1分子的结合进行评估。如果在两个方向上,只有第一个(饱和)抗原结合蛋白能够与HLA-A2:NY-ESO-1分子结合,那么可以得出结论:测试抗原结合蛋白与参考抗原结合蛋白竞争与HLA-A2:NY-ESO-1的结合。如本领域普通技术人员将理解的,与参考抗原结合蛋白竞争结合的抗原结合蛋白可能不一定与参考抗原结合蛋白结合相同的表位,但是可以通过与重叠或相邻表位结合而在空间上阻断参考抗原结合蛋

白的结合。

[0161] 如果两个抗原结合蛋白竞争性地抑制(阻断)另一个与抗原的结合,则两个抗原结合蛋白与同一表位或重叠表位结合。即,如在竞争性结合测定中所测量的,一种1倍、5倍、10倍、20倍或100倍过量的抗原结合蛋白抑制另一种抗原结合蛋白至少50%,但优选75%、90%或甚至99%的结合(参见,例如,Junghans等人,《癌症研究(Cancer Res.)》1990 50:1495-1502)。或者,如果抗原中基本上所有减少或消除一种抗原结合蛋白的结合的氨基酸突变都将减少或消除另一种抗原结合蛋白的结合,则两种抗原结合蛋白具有相同的表位。或者,如果一些减少或消除一种抗原结合蛋白的结合的氨基酸突变将减少或消除另一种抗原结合蛋白的结合,则两种抗原结合蛋白具有重叠表位。

[0162] 然后可以进行额外的常规实验(例如,肽突变和结合分析)以确认观察到的测试抗原结合蛋白的结合缺失是否实际上是由于与参考抗原结合蛋白结合相同的表位,或者是否空间位阻(或其他现象)是所观察到的结合缺失的原因。可以使用ELISA、RIA、表面等离子共振、流式细胞术或本领域可用的任何其他定量或定性抗原结合蛋白结合测定来进行此类实验。

[0163] 免疫缀合物

[0164] 本公开包括抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,其与治疗部分(“免疫缀合物”)诸如细胞毒素或化疗剂缀和以治疗癌症。如本文所用,术语“免疫缀合物”是指与细胞毒素、放射性试剂、细胞因子、干扰素、靶标或报告部分(诸如可检测部分)、酶、毒素、肽或蛋白质或治疗剂化学或生物学连接的抗原结合蛋白。所述抗原结合蛋白可以在沿分子的任何位置与细胞毒素、放射性试剂、细胞因子、干扰素、靶标或报告部分、酶、毒素、肽或治疗剂连接,只要抗原结合蛋白能够与其靶标结合即可。免疫缀合物的实例包括抗原结合蛋白-药物缀合物和抗原结合蛋白-毒素融合蛋白。在一个实施例中,试剂可以是针对NY-ESO-1或HLA-A2:NY-ESO-1的第二种不同抗体。在某些实施例中,抗原结合蛋白可以缀合至对肿瘤细胞具有特异性的试剂。可与抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白缀合的治疗部分的类型将考虑待治疗的病状和要实现的所需治疗效果。用于形成免疫缀合物的合适试剂的实例是本领域已知的;例如,参见PCT公开号WO 05/103081。

[0165] 嵌合抗原受体(CAR)

[0166] 嵌合抗原受体(CAR)将T细胞特异性重定向到在癌细胞表面表达的抗体识别抗原,而T细胞受体(TCR)将靶标范围扩大到包括细胞内肿瘤抗原。对B细胞分化抗原CD19具有特异性的CAR重定向T细胞在治疗B细胞恶性肿瘤中显示出显著疗效,而TCR重定向T细胞在患有实体癌的患者中显示出益处。Stauss等人描述了修饰治疗性CAR和TCR的策略,用于癌症治疗中,以例如增强抗原特异性效应功能和限制工程T细胞的毒性(《当代药理学观点(Current Opinion in Pharmacology)》2015,24:113-118)。

[0167] 本公开的一个方面包括嵌合抗原受体(CAR),其对通过HLA-A2展示在肿瘤细胞表面上的NY-ESO-1肽,诸如包含NY-ESO-1的氨基酸残基157-165的肽,具有特异性。在本公开的一个实施例中,如本文所述的CAR包含:细胞外靶特异性结合结构域、跨膜结构域、细胞内信号传导结构域(例如衍生自CD3 ζ 或Fc γ 的信号传导结构域)和/或衍生自共刺激分子诸如但不限于CD28、CD137、CD134或CD278的共刺激信号传导结构域。在一个实施例中,CAR包括细胞外结合结构域和跨膜结构域之间的铰链或间隔区,例如CD8 α 铰链或CD28铰链。在本公

开的另一个实施例中,如本文所述的CAR包含细胞外靶特异性结合结构域和T细胞受体恒定结构域(“T体构建体”)。在一些实施例中,铰链/跨膜结构域包含SEQ ID NO:296所示的氨基酸序列。在一些实施例中,铰链区包含SEQ ID NO:305所示的CD28序列。在一些实施例中,跨膜结构域包含SEQ ID NO:304所示的CD28序列。在一些实施例中,4-1BB共刺激结构域包含SEQ ID NO:297所示的氨基酸序列。在一些实施例中,CD28共刺激结构域包含SEQ ID NO:299所示的氨基酸序列。在一些实施例中,CD3 ζ 信号传导结构域包含SEQ ID NO:298所示的氨基酸序列。

[0168] 应当理解,对于用于本文所述的任何CAR而言,细胞外靶特异性结合结构域均可包含本公开的抗原结合蛋白的Fab、Fab'、(Fab')₂、Fv或单链Fv(scFv)。

[0169] 如本文所用,CAR的结合结构域或细胞外结构域为CAR提供了与目标靶抗原结合的能力。结合结构域可以是具有特异性识别和结合生物分子(例如,细胞表面受体或肿瘤蛋白或其组分)的能力的任何蛋白质、多肽、寡肽或肽。结合结构域包括目标生物分子的任何天然存在的、合成的、半合成的或以重组方式产生的结合搭配物。例如,如本文进一步描述的,结合结构域可以是抗体轻链和重链可变区,或者轻链和重链可变区能够以单链和任一方向(例如,VL-VH或VH-VL)连接在一起。用于鉴定与特定靶标特异性结合的本公开的结合结构域的多种测定法是已知的,包括蛋白质印迹、ELISA、流式细胞术或表面等离子共振分析(例如,使用BIAcore分析),并且在本文中进行了描述。靶标可以是任何临床感兴趣的抗原,针对该抗原触发导致肿瘤杀伤的效应免疫反应是合乎需要的。在一个实施例中,嵌合抗原受体的结合结构域的靶抗原是肿瘤细胞表面上HLA-A2呈递的NY-ESO-1肽(诸如包含氨基酸残基157-165的肽NY-ESO-1)的构象表位。

[0170] 示例性结合结构域包括抗原结合蛋白(诸如抗体的抗原结合片段),诸如scFv、scTCR、受体的细胞外结构域、细胞表面分子/受体的配体或其受体结合结构域,以及肿瘤结合蛋白。在某些实施例中,本公开的CAR中包括的抗原结合结构域可以是可变区(Fv)、CDR、Fab、scFv、VH、VL、结构域抗体变体(dAb)、骆驼科动物抗体(VHH)、纤连蛋白3结构域变体、锚蛋白重复变体和衍生自其他蛋白质支架的其他抗原特异性结合结构域。

[0171] 在一个实施例中,CAR的结合结构域是抗HLA-A2:NY-ESO-1单链抗体(scFv),并且可以是鼠、人或人源化scFv。单链抗体可以从对所需靶标具有特异性的杂交瘤的V区基因中克隆出来。已经描述了可用于克隆可变区重链(VH)和可变区轻链(VL)的技术(例如Orlandi等人,《美国科学院院报(PNAS)》,1989;86:3833-3837)。因此,在某些实施例中,结合结构域包含抗体衍生的结合结构域,但也可以是非抗体衍生的结合结构域。抗体衍生的结合结构域可以是抗体的片段或抗体的一个或多个片段的基因工程产物,该片段涉及与抗原的结合。

[0172] 在某些实施例中,本公开的CAR可包含各种结构域之间的连接子,其添加用于分子的适当间距和构象。例如,在一些实施例中,在结合结构域VH和VL区之间可以有一个连接子,其长度可以是1-10个氨基酸。在其他实施例中,嵌合抗原受体的任何结构域之间的连接子的长度可以在1-20或20个氨基酸之间。就这一点而言,连接子的长度可以是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个氨基酸。在进一步的实施例中,连接子的长度可以是21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个氨基酸。包括本文所述数字的范围也包括在本文中,例如,10至30个氨基酸长度的连接子。

[0173] 在某些实施例中,适用于本文所述的CAR的连接子是柔性连接子。合适的连接子可易于选择且可为合适的不同长度中的任一个,诸如1个氨基酸(例如Gly)至20个氨基酸、2个氨基酸至15个氨基酸、3个氨基酸至12个氨基酸,包括4个氨基酸至10个氨基酸、5个氨基酸至9个氨基酸、6个氨基酸至8个氨基酸、或7个氨基酸至8个氨基酸,且可为1个、2个、3个、4个、5个、6个或7个氨基酸。

[0174] 示例性柔性连接子包括甘氨酸聚合物(G)_n、甘氨酸-丝氨酸聚合物(G)_nS、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物和本领域已知的其他柔性连接子,其中n是至少为1的整数(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多)。此外,连接子可包含上述序列的多个单元,例如((G)_nS)_m,其中n是至少为1的整数(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多)并且m是至少为1的整数(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多)。在一些实施例中,n是4,并且连接子包含序列GGGGS(SEQ ID NO:295)。在一些实施例中,n为4且m为3,并且连接子包含序列GGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO:303)。甘氨酸和甘氨酸-丝氨酸聚合物为相对非结构化的,且因此可能充当融合蛋白,诸如本文所述的CAR的结构域之间的中性系栓物。与丙氨酸相比,甘氨酸可以进入更多的phi-psi空间,并且比具有较长侧链的残基受到的限制要少得多(参见Scheraga,《计算化学综述(Rev.Computational Chem.)》11173/-142(1992))。普通技术人员将认识到CAR的设计可以包括全部或部分柔性的连接子,使得所述连接子可以包括柔性连接子以及赋予较低柔性结构以提供所需CAR结构的一个或多个部分。

[0175] CAR的结合结构域后面可能有一个“间隔区”或“铰链”,它是指将抗原结合结构域从效应细胞表面移开以实现适当的细胞/细胞接触、抗原-结合和激活的区域(Patel等人,《基因治疗(Gene Therapy)》,1999;6:412-419)。CAR中的铰链区通常位于跨膜(TM)和结合结构域之间。在某些实施例中,铰链区是免疫球蛋白铰链区并且可以是野生型免疫球蛋白铰链区或改变的野生型免疫球蛋白铰链区。本文所述的CAR中使用的其他示例性铰链区包括衍生自I型膜蛋白如CD8 α 、CD4、CD28和CD7的细胞外区的铰链区,其可以是来自这些分子的野生型铰链区或是可以变化的。在一个实施例中,铰链区包含CD8 α 铰链。

[0176] “跨膜”区域或结构域是将细胞外结合部分锚定到免疫效应细胞的质膜并促进结构域与靶抗原结合的CAR部分。跨膜结构域可以是CD3 ζ 跨膜结构域,然而,还可以使用的其他跨膜结构域包括从CD8 α 、CD4、CD28、CD45、CD9、CD16、CD22、CD33、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137和CD154中获得的那些跨膜结构域。在一个实施例中,跨膜结构域是CD137的跨膜结构域。在某些实施例中,跨膜结构域是合成的,在这种情况下,它将主要包含疏水残基,诸如亮氨酸和缬氨酸。

[0177] “细胞内信号传导结构域”是指嵌合抗原受体蛋白中参与将有效CAR与靶抗原结合的信息转导到免疫效应细胞内部以引发效应细胞功能,例如激活、细胞因子产生、增殖和细胞毒活性的部分,所述效应细胞功能包括向结合CAR的靶细胞释放细胞毒性因子,或通过抗原与细胞外CAR结构域结合而引发的其他细胞反应。术语“效应功能”是指细胞的特定功能。T细胞的效应功能例如可以是细胞溶解活性或帮助或活性,包括细胞因子的分泌。因此,术语“细胞内信号传导结构域”是指转导效应功能信号并指导所述细胞执行特定功能的蛋白质部分。尽管通常可以使用整个细胞内信号传导结构域,但在许多情况下无需使用整个结构域。就使用细胞内信号传导结构域的截短部分来说,可以使用这类截短部分代替整个结构域,只要其转导效应功能信号即可。术语细胞内信号传导结构域意图包括足以转导效

应功能信号的细胞内信号传导结构域的任何截短部分。细胞内信号传导结构域也称为“信号传导结构域”，通常来源于人CD3或FcR γ 链的部分。

[0178] 已知仅通过T细胞受体产生的信号不足以完全激活T细胞,还需要辅助或共刺激信号。因此,T细胞活化可以说是由两类不同的细胞质信号传导序列介导的:那些通过T细胞受体启动抗原依赖性初级激活的细胞质信号传导序列(初级细胞质信号序列);以及那些以不依赖抗原的方式发挥作用以提供次级或共刺激信号的细胞质信号传导序列(次级细胞质信号序列)。初级细胞质信号序列以抑制方式调节T细胞受体复合物的初级激活。以共刺激方式起作用的初级细胞质信号序列可能含有信号基序,称为基于免疫受体酪氨酸的激活基序或ITAM。

[0179] 在本公开中特别使用的含有初级细胞质信号传导序列的ITAM的实例包括衍生自TCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b和CD66d的那些序列。在某些特定实施例中,本文所述的抗HLA-A2:NY-ESO-1CAR的细胞内信号传导结构域衍生自CD3 ζ 或FcR γ 。

[0180] 如本文所用,术语“共刺激信号传导结构域”或“共刺激结构域”是指CAR的包含共刺激分子的细胞内结构域的部分。共刺激分子是除抗原受体或Fc受体以外的细胞表面分子,其在结合于抗原时提供T淋巴细胞的有效活化和功能所需的第二信号。此类共刺激分子的实例包括CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40(CD134)、CD30、CD40、PD-1、ICOS(CD278)、LFA-1、CD2、CD7、LIGHT、NKD2C、B7-H2和特异性结合CD83的配体。因此,虽然本公开提供了衍生自CD3 ζ 、CD28和4-1BB的示例性共刺激结构域,但其他共刺激结构域也被考虑用于本文所述的CAR。包括一个或多个共刺激信号传导结构域可以增强表达CAR受体的T细胞的功效和扩增。细胞内信号传导域和共刺激信号传导域可按任何次序串列连接至跨膜结构域的羧基端。

[0181] 尽管基于scFv的被工程化设计为包含来自CD3或FcR γ 的信号传导结构域的CAR已被证明可以为T细胞激活和效应功能提供有效的信号,但在没有伴随的共刺激信号的情况下,它们不足以引发促进T细胞存活和扩增的信号。包含结合结构域、铰链、跨膜和衍生自CD3 ζ 或FcR γ 的信号传导结构域以及一个或多个共刺激信号传导结构域(例如,衍生自CD28、CD137、CD134和CD278的细胞内共刺激结构域)的其他CAR可能更有效地指导体外、动物模型内和癌症患者中表达T细胞的CAR的抗肿瘤活性以及增加细胞因子分泌、裂解活性、存活和增殖(Milone等人,《分子疗法(Molecular Therapy)》,2009;17:1453-1464;Zhong等人,《分子疗法(Molecular Therapy)》,2010;18:413-420;Carpenito等人,《美国科学院院报》,2009;106:3360-3365)。

[0182] 在一个实施例中,本公开的HLA-A2:NY-ESO-1CAR包含:(a)抗HLA-A2:NY-ESO-1scFv作为结合结构域(例如,具有来自表1中描述的任何一种或多种HLA-A2:NY-ESO-1抗体的结合区(例如,CDR或可变结构域)的scFv);(b)衍生自人CD8 α 的铰链区;(c)人CD8 α 跨膜结构域;和(d)人T细胞受体CD3 ζ 链(CD3)细胞内信号传导结构域,和任选地一个或多个衍生自CD28、CD137、CD134和CD278的共刺激信号传导结构域。在一个实施例中,不同的蛋白质结构域从氨基到羧基末端按以下顺序排列:结合结构域、铰链区和跨膜结构域。细胞内信号传导结构域和任选的共刺激信号传导结构域以任何顺序串联连接到跨膜羧基末端以形成单链嵌合多肽。在一个实施例中,编码HLA-A2:NY-ESO-1CAR的核酸构建体是包含核酸分子的嵌合核酸分子,所述核酸分子包含不同的编码序列,例如,人抗HLA-A2:NY-ESO-1scFv、人CD8 α

铰链、人CD8 α 跨膜结构域、CD137共刺激结构域和CD3 ζ 细胞内信号传导结构域的编码序列(5'至3')。在另一个实施例中,编码HLA-A2:NY-ESO-1CAR的核酸构建体是包含核酸分子的嵌合核酸分子,所述核酸分子包含不同的编码序列,例如,人抗HLA-A2:NY-ESO-1scFv、人CD8 α 铰链、人CD8 α 跨膜结构域、CD137共刺激结构域和CD3 ζ 共刺激结构域的编码序列(5'至3')。在某些实施例中,编码HLA-A2:NY-ESO-1CAR的核酸构建体是包含核酸分子的嵌合核酸分子,所述核酸分子包含不同的编码序列,例如,人抗HLA-A2:NY-ESO-1scFv、人CD8 α 铰链、人CD8 α 跨膜结构域、CD137共刺激结构域和CD3 ζ 共刺激结构域的编码序列(5'至3'),其中抗HLA-A2:NY-ESO-1scFv包含选自下组的V_H:SEQ ID NO:2、22、42、62、82、102、122、142、162、180、196、211、230和250;或者其中抗HLA-A2:NY-ESO-1scFv包含选自下组的V_L:SEQ ID NO:10、30、50、70、90、110、130、150、170、186、203、219、238和258;或者其中抗HLA-A2:NY-ESO-1scFv包含选自下组的V_H/V_L对:SEQ ID NO:2/10、22/30、42/50、62/70、82/90、102/110、122/130、142/150、162/170、180/186、196/203、211/219、230/238和250/258。在一些实施方案中,本公开包括编码选自表2的序列的HLA-A2:NY-ESO-1CAR的核酸分子。

[0183] 在某些实施例中,将编码本文所述CAR的多核苷酸插入载体中。如本文所使用的,术语“载体”是指可以将编码蛋白质的多核苷酸共价插入其中以便引起所述蛋白质的表达和/或多核苷酸的克隆的媒介。此类载体也可以被称为“表达载体”。可以使用本领域已知的任何合适方法将分离的多核苷酸插入载体中,例如但不限于,可以使用适当的限制酶消化载体,并且然后可以将其与具有匹配的限制性末端的分离的多核苷酸连接。表达载体具有掺入并表达编码能够在细胞中转录的基因产物的至少一部分的异源或经修饰的核酸序列的能力。在大多数情况下,RNA分子然后被翻译成蛋白质。表达载体可以含有多种控制序列,其是指特定宿主生物体中的可操作连接的编码序列的转录和可能翻译所必需的核酸序列。除了控制转录和翻译的控制序列外,载体和表达载体还可以含有具有其它功能的核酸序列,并且在下文中进行讨论。表达载体可以包含另外的元件,例如,表达载体可以具有两个复制系统,从而使其在两种生物体中维持,例如在人类细胞中进行表达并在原核宿主中进行克隆和扩增。

[0184] 表达载体可以具有必要的5'上游和3'下游调控元件,诸如CMV、PGK和EF1 α 启动子等启动子序列、核糖体识别和结合TATA盒,以及3'UTR AAUAAA转录终止序列,用于在其各自的宿主细胞中进行有效的基因转录和翻译。其它合适的启动子包含猿猴病毒40(SV40)早期启动子、小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV)、HIV LTR启动子、MoMuLV启动子、禽白血病毒启动子、EBV立即早期启动子和劳斯肉瘤病毒启动子的组成型启动子。也可以使用人基因启动子,包含但不限于肌动蛋白启动子、肌球蛋白启动子、血红蛋白启动子和肌酸激酶启动子。在某些实施例中,诱导型启动子也被认为是表达嵌合抗原受体的载体的一部分。这提供了能够开启所关注的多核苷酸序列的表达或关闭表达的分子开关。诱导型启动子的实例包含但不限于金属硫蛋白启动子、糖皮质激素启动子、孕酮启动子或四环素启动子。

[0185] 表达载体可以具有额外的序列,诸如6x-组氨酸(SEQ ID NO:292)、c-Myc和FLAG标签,这些标签被并入到表达的CAR中。因此,表达载体可以被工程化以包含有时可以用作增强子序列、启动子区域和/或终止子序列的5'和3'非翻译调节序列,这些序列可以促进或增强表达载体上携带的目标核酸的有效转录。表达载体也可以被工程化用于在特定细胞类型、细胞位置或组织类型中的复制和/或表达功能(例如,转录和翻译)。表达载体可以包括

用于在宿主或受体细胞中维持载体的可选择标志物。

[0186] 载体的实例是质粒、自主复制序列和转座元件。另外的示例性载体包括但不限于：质粒、噬菌粒、粘粒、人工染色体诸如酵母人工染色体 (YAC)、细菌人工染色体 (BAC) 或P1来源的人工染色体 (PAC)、诸如 λ 噬菌体或M13噬菌体等噬菌体以及动物病毒。可用作载体的动物病毒的类别的实例包括但不限于：逆转录病毒 (包括慢病毒)、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒 (例如,单纯疱疹病毒)、痘病毒、杆状病毒、乳头瘤病毒以及乳多空病毒 (例如,SV40)。表达载体的实例是用于在哺乳动物细胞中表达的Lenti-X™双顺反子表达系统 (Neo) 载体 (Clontech公司)、pClneo载体 (普洛麦格公司 (Promega)) ;用于哺乳动物细胞中慢病毒介导的基因转移和表达的pLenti4/V5-DEST.TM.、pLenti6/V5-DEST.TM.和pLenti6.2N5-GW/lacZ (英杰公司 (Invitrogen))。本文公开的CAR的编码序列可以连接到此类表达载体中,用于在哺乳动物细胞中表达嵌合蛋白。

[0187] 在某些实施例中,编码本公开的CAR的核酸在病毒载体中提供。病毒载体可以是源自逆转录病毒、慢病毒或泡沫病毒的那些病毒载体。如本文所使用的,术语“病毒载体”是指核酸载体构建体,其包括至少一种病毒来源的元件并且具有被包装到病毒载体颗粒中的能力。病毒载体可以包含本文所述的各种嵌合蛋白的编码序列来代替非必需的病毒基因。载体和/或颗粒可以用于在体外或体内将DNA、RNA或其它核酸转移到细胞中的目的。多种形式的病毒载体是本领域已知的。

[0188] 在某些实施例中,包含本文所述的CAR编码序列的病毒载体是逆转录病毒载体或慢病毒载体。术语“逆转录病毒载体”是指含有主要源自逆转录病毒的结构和功能遗传元件的载体。术语“慢病毒载体”是指LTR外部的含有主要源自慢病毒的结构和功能遗传元件的载体。

[0189] 供本文使用的逆转录病毒载体可以源自任何已知的逆转录病毒 (例如,c型逆转录病毒,诸如莫洛尼鼠肉瘤病毒 (MoMSV)、哈维鼠肉瘤病毒 (HaMuSV)、鼠乳腺肿瘤病毒 (MuMTV)、长臂猿白血病毒 (GaLV)、猫白血病毒 (FLV)、泡沫病毒、弗兰德病毒 (Friend)、鼠干细胞病毒 (MSCV) 和劳斯肉瘤病毒 (RSV))。本公开的“逆转录病毒”还包括人T细胞白血病毒HTLV-1和HTLV-2,以及逆转录病毒的慢病毒家族,诸如人类免疫缺陷病毒、HIV-1、HIV-2、猿免疫缺陷病毒 (SIV)、猫免疫缺陷病毒 (FIV)、马免疫缺陷病毒 (EIV) 和其他类型的逆转录病毒。

[0190] 供本文使用的慢病毒载体是指源自慢病毒,引起缓慢发展的疾病的逆转录病毒组 (或属) 的载体。该组中包括的病毒包括HIV (人类免疫缺陷病毒;包括HIV1型和HIV2型);羊梅迪-维斯纳病;山羊关节炎-脑炎病毒;马感染性贫血病毒;猫免疫缺陷病毒 (FIV);牛免疫缺陷病毒 (BIV);以及猿猴免疫缺陷病毒 (SIV)。可以使用根据Dull等人 (《病毒学杂志 (J.Virol.)》,1998;72:8463-8471) 和 Zufferey等人 (《病毒学杂志 (J.Virol.)》1998;72:9873-9880) 的方法制备重组慢病毒 (Dull等人,《病毒学杂志 (J.Virol.)》,1998;72:8463-8471和 Zufferey等人,《病毒学杂志 (J.Virol.)》1998;72:9873-9880)。

[0191] 用于本公开的逆转录病毒载体手册体 (即,慢病毒和非慢病毒) 可以使用标准克隆技术通过以本文所述的顺序和方向组合所需的DNA序列来形成 (《现代分子生物学实验指南 (Current Protocols in Molecular Biology)》,Ausubel,F.M.等人) (英语方言协会) 格林出版协会 (Greene Publishing Associates), (1989),第9.10-9.14节和其它标准实验室手册;Eglitis等人 (1985)《科学 (Science)》230:1395-1398;Danos和Mulligan (1988)《美国科

学院院报》85:6460-6464;Wilson等人(1988)《美国科学院院报》85:3014-3018;Armentano等人(1990)《美国科学院院报》87:6141-6145;Huber等人(1991)《美国科学院院报》88:8039-8043;Ferry等人(1991)《美国科学院院报》88:8377-8381;Chowdhury等人(1991)《科学(Science)》254:1802-1805;van Beusechem等人(1992)《美国科学院院报》89:7640-7644;Kay等人(1992)《人类基因治疗(Human Gene Therapy)》3:641-647;Dai等人(1992)《美国科学院院报》89:10892-10895;Hwu等人(1993)《免疫学杂志(J. Immunol)》150:4104-4115;美国专利第4,868,116号;美国专利第4,980,286号;PCT申请WO 89/07136;PCT申请WO 89/02468;PCT申请WO 89/05345;和PCT申请WO 92/07573)。

[0192] 用于获得用于形成载体的逆转录病毒(即慢病毒和非慢病毒)序列的合适来源包括例如可从可商购获得的来源(包括美国典型培养物保藏中心(ATCC),马里兰州罗克维尔)获得的基因组RNA和cDNA。序列也可以化学合成。

[0193] 对于HLA-A2:NY-ESO-1CAR的表达,可以将载体引入宿主细胞以允许多肽在宿主细胞内表达。表达载体可以含有用于控制表达的各种元件,包括但不限于启动子序列、转录起始序列、增强子序列、可选择标志物和信号序列。如上文所描述的,这些元件可以由本领域普通技术人员适当地选择。例如,可以选择启动子序列以促进载体中多核苷酸的转录。合适的启动子序列包括但不限于T7启动子、T3启动子、SP6启动子、 β -肌动蛋白启动子、EF1a启动子、CMV启动子和SV40启动子。可以选择增强子序列以增强多核苷酸的转录。可以选择可选择标志物以允许从没有插入载体的宿主细胞中选择宿主细胞来插入载体,例如,可选择标志物可以是赋予抗生素抗性的基因。可以选择信号序列以允许经表达的多肽被转运到宿主细胞之外。

[0194] 为了克隆多核苷酸,可以将载体引入到宿主细胞(分离的宿主细胞)中以允许复制载体自身,并且从而扩增其中所含有的多核苷酸的拷贝。克隆载体可以含有序列组分,所述序列组分通常包括但不限于复制起点、启动子序列、转录起始序列、增强子序列和可选择标志物。这些元件可以由本领域普通技术人员适当地选择。例如,可以选择复制起点以促进载体在宿主细胞中的自主复制。

[0195] 在某些实施例中,本公开提供了含有本文提供的载体的分离的宿主细胞。含有载体的宿主细胞可用于表达或克隆载体中所含有的多核苷酸。合适的宿主细胞可以包括但不限于原核细胞、真菌细胞、酵母细胞或更高等的真核细胞,诸如哺乳动物细胞。用于该目的的合适原核细胞包括但不限于:诸如革兰氏阴性或革兰氏阳性生物的真细菌;诸如埃希氏杆菌属的肠杆菌科,例如大肠杆菌、肠杆菌、欧文氏菌、克雷伯氏菌、变形杆菌;沙门氏菌,例如鼠伤寒沙门氏菌;沙雷氏菌例如粘质沙雷氏菌和志贺氏菌;以及杆菌诸如枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌、假单胞菌例如铜绿假单胞菌和链霉菌。

[0196] 使用本领域已知的转染和/或转导技术将本公开的CAR引入宿主细胞。如本文所使用的,术语“转染”和“转导”是指将外源性核酸序列引入到宿主细胞中的过程。核酸可以整合到宿主细胞DNA中或可以在染色体外维持。核酸可以瞬时维持或可以是稳定的引入。转染可以通过本领域已知的各种方法来完成,包括但不限于磷酸钙-DNA共沉淀、DEAE-葡聚糖介导的转染、聚凝胺介导的转染、电穿孔、显微注射、脂质体融合、脂质转染、原生质体融合、逆转录病毒感染和基因枪法。转导是指使用病毒或逆转录病毒载体通过病毒感染而不是通过转染来递送一个或多个基因。在某些实施例中,逆转录病毒载体是通过在与细胞接触之前

将载体包装到病毒体中来转导的。例如,逆转录病毒载体携带的编码抗HLA-A2:NY-ESO-1CAR的核酸可以通过感染和原病毒整合转导到细胞中。

[0197] 如本文所使用的,术语“基因工程化”或“基因修饰”是指将额外的遗传物质以DNA或RNA的形式添加到细胞中的总遗传物质中。术语“经基因修饰的细胞”、“经修饰的细胞”和“重定向细胞”可互换使用。

[0198] 特别地,本公开的CAR被引入并在免疫效应细胞中表达,以便将它们的特异性重定向到目标靶抗原,例如HLA-A2展示的NY-ESO-1肽的构象表位,例如,氨基酸残基157-165。

[0199] 本公开提供了制备表达如本文所述的CAR的免疫效应细胞的方法。在一个实施例中,该方法包含转染或转导从受试者中分离的免疫效应细胞,诸如患有NY-ESO-1相关疾病或病症的受试者,使得免疫效应细胞表达一种或多种本文所述的CAR。在某些实施例中,免疫效应细胞从个体中分离并经基因修饰而无需在体外进一步操纵。然后可以将这些细胞直接重新施用于同一个体(所说的自体疗法)或不同个体(所说的同种异体疗法)。在其它实施例中,免疫效应细胞首先在体外经活化和刺激以增殖,随后经基因修饰以表达CAR。就这一点而言,免疫效应细胞可以在基因修饰(即,如本文所述被转导或转染以表达CAR)之前或之后培养。

[0200] 在本文所述的免疫效应细胞的体外操纵或基因修饰之前,可以从受试者中获得细胞来源。特别地,与本文所述的CAR一起使用的免疫效应细胞包含T细胞。此类重组T细胞在本文中称为“T体”。

[0201] 在本公开的一个实施例中,T体包括本公开的CAR,所述CAR包含:细胞外靶特异性结合结构域、跨膜结构域、细胞内信号传导结构域(诸如衍生自CD3 ζ 或FcR γ 的信号传导结构域)和/或衍生自共刺激分子例如但不限于CD28、CD137、CD134或CD278的共刺激信号传导结构域。在本公开的另一个实施例中,T体包括本公开的CAR,所述CAR包含:细胞外靶特异性结合结构域、跨膜结构域、细胞外结合结构域和跨膜结构域之间的铰链或间隔区、细胞内信号传导结构域(诸如衍生自CD3 ζ 或FcR γ 的信号传导结构域),和/或一个或多个衍生自共刺激分子的共刺激信号传导结构域。在本公开的又一个实施例中,T体包括T体构建体CAR,其包含细胞外靶特异性结合结构域和T细胞受体恒定结构域。适用于包含本文所述任何CAR的T体中的细胞外靶特异性结合结构域可包含本公开的抗原结合蛋白的Fab、Fab'、(Fab')₂、Fv或单链Fv(scFv)。

[0202] 获得T细胞的来源有很多,包括外周血单核细胞、骨髓、淋巴结组织、脐带血、胸腺组织、来自感染部位的组织、腹水、胸腔积液、脾组织和肿瘤。在某些实施例中,可以使用技术人员已知的任何数量的技术(如FICOLL分离)从采集自受试者的单位血液中获得T细胞。在一个实施例中,来自个体的循环血液的细胞通过单采血液成分术获得。单采血液成分术产物通常含有淋巴细胞,包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其它有核白细胞、红细胞和血小板。在一个实施例中,通过单采血液成分术收集的细胞可以经洗涤以去除血浆部分并且将细胞放在适当缓冲液或培养基中用于后续加工。在本公开的一个实施例中,细胞用PBS洗涤。在替代性实施例中,洗涤溶液缺乏钙并且可能缺乏镁或可能缺乏许多(如果不是全部的话)二价阳离子。如本领域一般技术人员将理解,洗涤步骤可以通过本领域技术人员已知的方法(例如通过使用半自动化流通式离心机)实现。洗涤之后,可以将细胞重新悬浮于各种生物相容性缓冲液或者具有或不具有缓冲液的其它盐溶液中。在某些实施例中,可以在

细胞直接重悬的培养基中移除单采血液成分术样本的不期望组分。

[0203] 在某些实施例中,通过裂解红细胞并消耗单核细胞(例如,通过用PERCOLL™梯度离心)从外周血单核细胞(PBMC)中分离T细胞。可以通过阳性或阴性选择技术进一步分离特定的T细胞亚群,诸如CD28⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD45RA⁺和CD45RO⁺T细胞。例如,可以通过针对阴性选择的细胞特有的表面标志物的抗体的组合来完成通过阴性选择富集T细胞群。供本文使用的一种方法是通过使用单克隆抗体的混合物的负磁性免疫粘附或流式细胞术进行细胞分选和/或细胞选择,所述单克隆抗体针对阴性选择的细胞上存在的细胞表面标志物。例如,为了通过阴性选择来富集CD4⁺细胞,单克隆抗体混合物通常包括针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR和CD8的抗体。流式细胞术和细胞分选也可用于分离目标细胞群以用于本公开。

[0204] PBMC可以使用本文所述的方法直接用于用CAR进行基因修饰。在某些实施例中,在PBMC的分离之后,进一步分离T淋巴细胞,并且在某些实施例中,可以在基因修饰和/或扩增之前或之后将细胞毒性和辅助T淋巴细胞分类为原初、记忆和效应T细胞亚群。CD8⁺细胞可以通过使用标准方法获得。在一些实施例中,通过鉴定与这些类型的CD8⁺细胞中的每一种相关的细胞表面抗原,将CD8⁺细胞进一步分类为原初细胞、中央记忆细胞和效应细胞。在实施例中,记忆T细胞存在于CD8⁺外周血淋巴细胞的CD62L⁺和CD62L⁻亚组中。用抗CD8和抗CD62L抗体染色后,PBMC分为CD62L⁻CD8⁺和CD62L⁺CD8⁺级分。在一些实施例中,中央记忆TCM的表型标志物的表达包括CD45RO、CD62L、CCR7、CD28、CD3和CD127并且对颗粒酶B是阴性的。在一些实施例中,中央记忆T细胞是CD45RO⁺、CD62L⁺、CD8⁺T细胞。在一些实施例中,效应T细胞对于CD62L、CCR7、CD28和CD127是阴性的,并且对于颗粒酶B和穿孔素是阳性的。在一些实施例中,原初CD8⁺T淋巴细胞的特征在于原初T细胞的表型标志物的表达,包括CD62L、CCR7、CD28、CD3、CD127和CD45RA。

[0205] 在某些实施例中,CD4⁺T细胞被进一步分类成亚群。例如,通过识别具有细胞表面抗原的细胞群,可以将CD4⁺T辅助细胞分为原初细胞、中央记忆细胞和效应细胞。CD4⁺淋巴细胞可以通过标准方法获得。在一些实施例中,原初CD4⁺T淋巴细胞是CD45RO⁻、CD45RA⁺、CD62L⁺CD4⁺T细胞。在一些实施例中,中央记忆CD4⁺细胞对于CD62L和CD45RO是阳性的。在一些实施例中,效应CD4⁺细胞对于CD62L和CD45RO是阴性的。

[0206] 可以在分离之后使用已知方法对诸如T细胞等免疫效应细胞进行基因修饰,或者可以在进行基因修饰之前对免疫效应细胞进行体外活化和扩增(或在祖细胞的情况下分化)。在另一个实施例中,诸如T细胞之类的免疫效应细胞用本文所述的嵌合抗原受体进行基因修饰(例如,用包含编码CAR的核酸的病毒载体转导),然后在体外被激活和扩增。用于激活和扩增T细胞的方法在本领域中是已知的并且被描述,例如美国专利第6,905,874号;美国专利第6,867,041号;美国专利第6,797,514号;W02012079000,US 2016/0175358。通常,此类方法包括在具有适当细胞因子诸如IL-2的培养基中,使PBMC或分离的T细胞与通常附着在珠子或其他表面上的刺激剂和共刺激剂(诸如,抗CD3和抗CD28抗体)接触。附着在同一珠子上的抗CD3和抗CD28抗体充当“替代”抗原呈递细胞(APC)。在其他实施例中,可以使用诸如美国专利第6,040,177号;美国专利第5,827,642号;和W02012129514中描述的那些方法,用饲养细胞和适当的抗体和细胞因子来激活和刺激T细胞以增殖。

[0207] 本公开提供了用于治疗NY-ESO-1相关疾病或病症例如癌症的修饰的免疫效应细

胞群,其包含如本文公开的HLA-A2:NY-ESO-1CAR。

[0208] 如本文所述制备的表达CAR的免疫效应细胞可用于根据已知技术或其对于本领域技术人员而言基于本公开显而易见的变化的过继免疫疗法的方法和组合物中。参见,例如,授予Gruenberg等人的美国专利申请公开号2003/0170238;另参见授予Rosenberg的美国专利第4,690,915号。

[0209] 在一些实施例中,通过首先从它们的培养基中收获细胞,然后在适合于施用的培养基和容器系统(“药学上可接受的”载体)中以治疗有效量洗涤和浓缩细胞来配制细胞。合适的输注介质可以是任何等渗介质制剂,通常是生理盐水、Normosol R(Abbott)或勃脉力A(Plasma-Lyte A(巴克斯特(Baxter))),但也可以使用5%葡萄糖水溶液或乳酸林格氏液(Ringer'lactate)。输注介质可以用人血清白蛋白补充。

[0210] 组合物中细胞的治疗有效量是至少2个细胞(例如,至少1个CD8+中央记忆T细胞和至少1个CD4+辅助T细胞亚群)或更典型地大于 10^2 个细胞,并且高达 10^6 个细胞,包括 10^8 或 10^9 个细胞,并且可以超过 10^{10} 个细胞。细胞的数目将取决于组合物的期望最终用途,其中包括的细胞的类型也是如此。

[0211] 细胞对于经历疗法的患者可以是自体的或异源的。如果需要,治疗还可以包括施用如本文所述的有丝分裂原(例如PHA)或淋巴因子、细胞因子和/或趋化因子(例如,IFN- γ 、IL-2、IL-12、TNF- α 、IL-18和TNF- β 、GM-CSF、IL-4、IL-13、Flt3-L、RANTES、MIP1 α 等)以增强免疫反应的诱导。

[0212] 本公开的表达CAR的免疫效应细胞群可以单独施用,或作为与稀释剂和/或与其他组分(诸如IL-2)或其他细胞因子或细胞群组合的药物组合物施用。简而言之,本公开的药物组合物可以包含表达CAR的免疫效应细胞群,诸如本文所述的T细胞,以及一种或多种药学或生理学可接受的载体、稀释剂或赋形剂。此类组合物可以包含缓冲剂,诸如中性缓冲盐水、磷酸盐缓冲盐水等;碳水化合物,诸如葡萄糖、甘露糖、蔗糖或葡聚糖、甘露醇;蛋白质;多肽或氨基酸,诸如甘氨酸;抗氧化剂;螯合剂,诸如EDTA或谷胱甘肽;佐剂(例如,氢氧化铝)和防腐剂。本公开组合物优选调配用于静脉内施用。

[0213] 通过使用本文所述的方法或本领域已知的其他方法施用本文所述的表达CAR的T细胞而在受试者中诱导的抗肿瘤免疫反应可以包括由能够杀死受感染细胞的细胞毒性T细胞、调节性T细胞和辅助性T细胞反应介导的细胞免疫反应。还可以诱导主要由能够活化B细胞从而导致抗体产生的辅助性T细胞介导的体液免疫应答。可以使用多种技术来分析由本公开的组合物诱导的免疫反应的类型,这些技术在本领域中有很好的描述;例如,《当前免疫学协议(Current Protocols in Immunology)》,由John E.Coligan,Ada M.Kruisbeek,David H.Margulies,Ethan M.Shevach,Warren Strober(2001) John Wiley和Sons(纽约)N.Y.编著。

[0214] 因此,本公开提供了治疗被诊断患有或怀疑患有或有发生NY-ESO-1相关疾病或病症,例如NY-ESO-1阳性癌症的风险的个体的方法,包含施用个体治疗有效量的如本文所述的表达CAR的免疫效应细胞。

[0215] 在一个实施例中,本公开提供了一种治疗被诊断患有NY-ESO-1阳性癌症的受试者的方法,包含从被诊断患有NY-ESO-1阳性癌症的受试者中去除免疫效应细胞,用包含编码本公开的嵌合抗原受体的核酸的载体对所述免疫效应细胞进行基因修饰,从而产生修饰的

免疫效应细胞群,并将经修饰的免疫效应细胞群施用于同一受试者。在一个实施例中,免疫效应细胞包含T细胞。

[0216] 用于施用本文所述的细胞组合物的方法包括具有下列作用的任何方法:将直接表达本公开的CAR的经离体基因修饰的免疫效应细胞的重新引入受试者中;或将在引入受试者时分化成表达所述CAR的成熟免疫效应细胞的免疫效应细胞的基因修饰祖细胞重新引入受试者中。一种方法包含利用根据本公开的核酸构建体离体转导外周血T细胞并将转导的细胞返回到受试者体内。

[0217] 治疗性施用和配制物

[0218] 本公开提供了包含本公开的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白(例如抗体),或其抗原结合片段或CAR的治疗组合物。根据本公开的治疗组合物将与合适的载体、赋形剂和其他试剂一起施用,这些试剂均被掺入制剂中以改善转移、递送、耐受性等。在所有药物化学家已知的处方集中可以找到许多合适的调配物:《雷明顿制药科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)》,麦克出版公司(Mack Publishing Company),伊斯顿,宾夕法尼亚州。这些制剂包括,例如,粉末、糊剂、软膏、凝胶剂、蜡质、油质、脂质、含有脂质(阳离子脂质或阴离子脂质)的囊泡(诸如LIPOFECTIN™)、DNA缀合物、无水吸收糊剂、水包油和水包油乳液、乳液碳蜡(各种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含有碳蜡的半固体混合物。参见例如Powell等人“非肠道制剂赋形剂纲要”(Compendium of excipients for parenteral formulations)PDA(1998)《药学科学与技术杂志(J Pharm Sci Technol)》52:238-311。

[0219] 抗原结合蛋白(例如抗体)或其抗原结合片段的剂量可以根据待施用的受试者的年龄和大小、目标疾病、状况、施用途径等而变化。当本公开的抗原结合蛋白用于治疗成年患者的疾病或病症,或用于预防此类疾病时,通常以约0.1至约60mg/kg体重、更优选约5至约60mg/kg体重,约20至约50mg/kg体重、约10至约50mg/kg体重、约1至约10mg/kg体重、或约0.8至约11mg/kg体重的单剂量施用本公开的抗原结合蛋白(例如抗体)或其抗原结合片段是有利的。根据病状的严重程度,可以调整治疗的频率和持续时间。在某些实施例中,本公开的抗原结合蛋白(例如抗体)或其抗原结合片段可以以至少约0.1mg至约800mg、约1至约500mg、约5至约300mg、或约10至约200mg、约10至约100mg或约10至约50mg的初始剂量施用。在某些实施例中,可以在初始剂量之后以与初始剂量相比大致相同或更少的量施用第二或多个后续剂量的抗原结合蛋白(例如抗体)或其抗原结合片段,其中随后的剂量相隔至少1天至3天;至少1周;至少2周;至少3周;至少4周;至少5周;至少6周;至少7周;至少8周;至少9周;至少10周;至少12周;或至少14周。

[0220] 各种递送系统是已知的并且可以用于施用本公开的药物组合物,例如,包封在脂质体、微粒、微胶囊、能够表达突变病毒的重组细胞、受体介导内吞作用中(参见,例如,Wu等人(1987)《生物化学杂志(J. Biol. Chem.)》262:4429-4432)。引入方法包括(但不限于):皮内、经皮、肌肉内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外以及口服途径。该组合物可以通过任何方便的途径施用,例如通过输注或快速浓注,通过上皮或粘膜皮肤内层(例如,口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)吸收,并且可以与其他生物活性剂一起施用。施用可以是全身性的或局部的。药物组合物也可以在囊泡(特别是脂质体)中递送(参见,例如,Langer(1990)《科学(Science)》249:1527-1533)。

[0221] 本文还考虑了使用纳米颗粒来递送本公开的抗原结合蛋白(例如抗体)或其抗原

结合片段。抗原结合蛋白缀合的纳米颗粒可用于治疗和诊断应用。Arruebo, M. 等人, 2009 详细描述了抗原结合蛋白缀合的纳米颗粒以及制备和使用方法 (“用于生物医学应用的抗体缀合和纳米颗粒” (Antibody-conjugated nanoparticles for biomedical applications), 《纳米材料杂志 (J. Nanomat)》2009 年卷, 文章 ID: 439389, 24 页, 数字对象识别符: 10.1155/2009/439389), 其通过引用并入本文。还可以开发纳米颗粒并将其与药物组合物中包含的抗原结合蛋白缀合, 以靶向肿瘤细胞或自身免疫组织细胞或病毒感染的细胞。用于药物递送的纳米颗粒也已在例如美国专利第 8,257,740 号或美国专利第 8,246,995 号中进行了描述, 每篇专利均以其全文并入本文。

[0222] 在某些情况下, 药物组合物可以在受控释放系统中递送。在一个实施例中, 可使用泵。在另一实施方案中, 可使用聚合材料。在又另一实施方案中, 可在组合物的目标附近放置控制释放系统, 因此仅需要一部分全身剂量。

[0223] 注射剂可以包括静脉注射、皮下注射、皮内注射、颅内注射、腹腔注射、肌肉注射、滴注等剂型。可通过众所周知的方法来制备这些可注射制剂。例如, 可注射制剂可以通过例如将上述抗原结合蛋白或其盐溶解、悬浮或乳化在无菌水性介质或常规用于注射的油性介质中来制备。作为用于注射的水性介质, 存在例如生理盐水、含有葡萄糖和其它助剂的等渗溶液等, 其可以与适当增溶剂, 诸如醇 (例如乙醇)、多元醇 (例如丙二醇、聚乙二醇)、非离子性表面活性剂 (例如聚山梨醇酯 80、HCO-50 (聚氧化乙烯 (50mol) 与氢化蓖麻油的加合物)) 等组合使用。作为油性介质, 采用了例如芝麻油、大豆油等, 其可与增溶剂, 诸如苯甲酸苯甲酯、苯甲醇等组合使用。由此制备的注射剂优选地填充于适当安瓿中。

[0224] 可以用标准针和注射器皮下或静脉内递送本公开的医药组合物。此外, 对于皮下递送, 笔式递送装置易于用于递送本公开的医药组合物。这种笔递送装置可以是可重复使用的或一次性的。可重复使用的笔递送装置通常利用含有药物组合物的可更换药筒。一旦已经施用了药筒内的全部药物组合物, 并且药筒是空的, 就可以容易地丢弃空药筒并且用含有药物组合物的新药筒更换。然后可以重复使用笔递送装置。在一次性笔递送装置中, 没有可更换的药筒。相反, 一次性笔递送装置预填充有固持在装置内的贮存器中的药物组合物。一旦贮存器中的药物组合物清空, 就丢弃整个装置。

[0225] 许多可重复使用的笔和自动注射器递送装置在本公开的医药组合物的皮下递送中具有应用。仅举几例来说, 实例包括但不限于: AUTOPENTM (欧文芒福德公司 (Owen Mumford, Inc.), 伍德斯托克, 英国)、DISETRONICTM 笔 (Disetronic 医疗系统 (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, 瑞士)、HUMALOG MIX 75/25TM 笔、HUMALOGTM 笔、HUMALIN 70/30TM 笔 (礼来公司 (Eli Lilly and Co.) 印第安纳波利斯)、NOVOPENTM I、II 和 III (诺和诺德 (Novo Nordisk), 哥本哈根, 丹麦)、NOVOPEN JUNIORTM (诺和诺德, 哥本哈根, 丹麦)、BDTM 笔 (贝克顿-迪金森公司 (Becton Dickinson), 富兰克林湖, 新泽西)、OPTIPENTM、OPTIPEN PROTM、OPTIPEN STARLETTM 和 OPTICLIKTM (赛诺菲-安万特 (Sanofi-Aventis), 法兰克福市, 德国)。仅举几例来说, 可应用于皮下递送根据本文所述方法有用的药物组合物的一次性笔递送装置的实例包括, 但绝不限于: SOLOSTARTM 笔 (Sanofi-Aventis)、FLEXPENTM (诺和诺德) 和 KWIKPENTM (礼来公司)、SURECLICKTM 自动注射器 (安进公司 (Amgen), 千橡市, 加利福尼亚州)、PENLETTM (Haselmeier, 斯图加特, 德国)、EPIPEN (Dey, L.P.) 和 HUMIRATM 笔 (雅培药厂 (Abbott Labs), 雅培科技园, 伊利诺伊州)。

[0226] 有利地是,将上述用于口服或肠胃外使用的药物组合物制备成适合于配合一定剂量的活性成分的单位剂量剂型。这类单位剂量的剂型包括例如片剂、药丸、胶囊、注射剂(安瓿)、栓剂等。在单位剂量中,上述抗原结合蛋白的含量通常为约5至约500mg/剂型;特别是在注射剂型中,优选地上述抗原结合蛋白的含量为约5至约100mg,在其他剂型中为约10至约250mg。

[0227] 抗原结合蛋白的治疗用途

[0228] 本公开的抗体尤其可用于治疗、预防和/或改善与NY-ESO-1相关或由NY-ESO-1介导的任何疾病或病症。本公开提供了用于通过向有需要的患者施用本文所述的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白(或包含抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白的药物组合物)来治疗NY-ESO-1相关疾病或病症,诸如NY-ESO-1相关癌症(例如,NY-ESO-1阳性癌症)(肿瘤生长抑制)和施用抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白(或包含抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白的药物组合物)来治疗NY-ESO-1相关癌症(肿瘤生长抑制)的方法。本公开的抗原结合蛋白可用于治疗、预防和/或改善疾病或病症或病状,例如NY-ESO-1相关癌症和/或用于改善与此类疾病、病症或病状相关的至少一种症状。在本文所述的治疗方法的背景下,抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白可以作为单一疗法(即,作为唯一的治疗剂)施用或与一种或多种额外的治疗剂组合施用(其实例在本文别处描述)。

[0229] 在一些实施例中,本文所述的抗体可用于治疗患有原发性或复发性癌症的受试者,包括但不限于:NY-ESO-1相关癌症,例如脂肪肉瘤、神经母细胞瘤、骨髓瘤、转移性黑色素瘤、滑膜肉瘤、膀胱癌、食管癌、肝细胞癌、头颈癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、前列腺癌、乳腺癌、星形细胞肿瘤、多形性胶质母细胞瘤、间变性星形细胞瘤、脑肿瘤、输卵管癌、卵巢上皮癌、原发性腹膜腔癌、晚期实体瘤、软组织肉瘤、黑色素瘤、恶性毒瘤、骨髓增生异常综合征、急性髓性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金病、多发性骨髓瘤、滑膜肉瘤、转移性实体瘤、食管癌、横纹肌肉瘤、晚期粘液样、圆形细胞脂肪肉瘤、转移性黑色素瘤或复发性非小细胞肺癌。

[0230] 抗原结合蛋白可用于治疗NY-ESO-1相关癌症的早期或晚期症状。在一个实施例中,本公开的抗体或其片段可用于治疗晚期或转移性癌症。抗原结合蛋白可用于减少或抑制或缩小肿瘤生长。在某些实施例中,用本公开的抗原结合蛋白的治疗导致受试者中超过40%、超过50%、超过60%、超过70%、超过80%或超过90%的肿瘤消退。在某些实施例中,抗原结合蛋白可用于预防肿瘤复发。在某些实施例中,抗原结合蛋白可用于延长患有NY-ESO-1相关癌症的受试者的无进展生存期或总生存期。在一些实施例中,抗体可用于降低化疗或放疗引起的毒性,同时维持患有NY-ESO-1相关癌症的患者的长期存活。

[0231] 可以施用本公开的一种或多种抗体以减轻或预防或降低疾病或病症的一种或多种症状或病状的严重性。

[0232] 本文还考虑将本公开的一种或多种抗体预防性地用于有发展疾病或病症诸如NY-ESO-1相关疾病或病症,诸如NY-ESO-1相关癌症的风险的患者。

[0233] 在本公开的另一个实施例中,本发明的抗体用于制备用于治疗患有NY-ESO-1相关疾病或病症例如NY-ESO-1相关癌症的患者的药物组合物。在本公开的另一个实施例中,本发明的抗体与任何其他药剂或本领域技术人员已知的可用于治疗NY-ESO-1相关癌症的任何其他疗法一起用作辅助疗法。

[0234] 组合疗法和调配物

[0235] 组合疗法可以包括本公开的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,例如本公开的CAR(例如,包含本公开的CAR的免疫效应细胞)或本公开的药物组合物,以及可以有利地与本公开的抗原结合蛋白组合的任何另外的治疗剂。本公开的抗原结合蛋白可以与一种或多种用于治疗或抑制NY-ESO-1相关疾病或病症,诸如NY-ESO-1阳性癌症的抗癌药物或疗法协同组合,所述NY-ESO-1相关疾病或病症包括例如:脂肪肉瘤、神经母细胞瘤、骨髓瘤、转移性黑色素瘤、滑膜肉瘤、膀胱癌、食管癌、肝细胞癌、头颈癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、前列腺癌、乳腺癌、星形细胞肿瘤、多形性胶质母细胞瘤、间变性星形细胞瘤、脑肿瘤、输卵管癌、卵巢上皮癌、原发性腹膜腔癌、晚期实体瘤、软组织肉瘤、黑色素瘤、恶性毒瘤、骨髓增生异常综合征、急性髓性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金病、多发性骨髓瘤、滑膜肉瘤、转移性实体瘤、食管癌、横纹肌肉瘤、晚期粘液样、圆形细胞脂肪肉瘤、转移性黑色素瘤或复发性非小细胞肺癌。

[0236] 本文考虑使用本公开的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白与免疫刺激和/或免疫支持疗法组合来抑制肿瘤生长和/或提高癌症患者的存活率。免疫刺激疗法包括直接免疫刺激疗法,其通过对抑制的免疫细胞“释放制动(releasing the brake)”或“踩油门(stepping on the gas)”以活化免疫应答来增强免疫细胞活性。实例包括靶向其它检查点受体、疫苗接种和佐剂。免疫支持模式可以通过促进免疫原性细胞死亡、炎症或具有其它促进抗肿瘤免疫应答的间接作用来增加肿瘤的抗原性。实例包括放射、化学疗法、抗血管生成剂和手术。

[0237] 在各种实施例中,本公开的一种或多种抗原结合蛋白可以与以下组合使用:PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体,例如纳武利尤单抗(nivolumab)、派姆单抗(pembrolizumab)、匹地利珠单抗(pidilizumab)、BGB-A317或REGN2810);PD-L1抑制剂(例如,抗PD-L1抗体,诸如阿维鲁单抗(avelumab)、阿替利珠单抗(atenzolizumab)、德瓦鲁单抗(durvalumab)、MDX-1105或REGN3504);CTLA-4抑制剂(例如,易普利姆玛(ipilimumab));TIM3抑制剂;BTLA抑制剂;TIGIT抑制剂;CD47抑制剂;GITR抑制剂;另一种T细胞共抑制剂或配体的拮抗剂(例如,针对CD-28、2B4、LY108、LAIR1、ICOS、CD160或VISTA的抗体);吡啶胺-2,3-双加氧酶(IDO)抑制剂;血管内皮生长因子(VEGF)拮抗剂(例如,诸如阿柏西普(Aflibercept)之类“VEGF-Trap”或US 7,087,411中所述的其他抑制VEGF的融合蛋白,或抗VEGF抗体或其抗原结合片段(例如,贝伐单抗(bevacizumab)或雷珠单抗(ranibizumab)或VEGF受体的小分子激酶抑制剂(例如舒尼替尼(sunitinib)、索拉非尼(sorafenib)或帕唑帕尼(pazopanib));Ang2抑制剂(例如,奈伐苏单抗(nesvacumab));转化生长因子 β (TGF β)抑制剂;表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂(例如,厄洛替尼(erlotinib)、西妥昔单抗(cetuximab));CD20抑制剂(例如,抗CD20抗体,诸如利妥昔单抗(rituximab));针对肿瘤特异性抗原(例如,CA9、CA125、黑色素瘤相关抗原3(MAGE3)的抗体、癌胚抗原(CEA)、波形蛋白、肿瘤-M2-PK、前列腺特异性抗原(PSA)、粘蛋白-1、MART-1和CA19-9);疫苗(例如,卡介苗芽孢杆菌、癌症疫苗);增加抗原呈递的佐剂(例如,粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子);双特异性抗体(例如,CD3xCD20双特异性抗体,或PSMAxCD3双特异性抗体);细胞毒素;化疗剂(例如,达卡巴嗪(dacarbazine)、替莫唑胺(temozolomide)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、多西他赛(docetaxel)、阿霉素(doxorubicin)、柔红霉素(daunorubicin)、顺铂(cisplatin)、卡铂(carboplatin)、吉西他

滨 (gemcitabine)、甲氨蝶呤 (methotrexate)、米托蒽醌 (mitoxantrone)、奥沙利铂 (oxaliplatin)、紫杉醇 (paclitaxel) 和长春新碱 (vincristine)); 环磷酰胺; 放射疗法; 手术; IL-6R 抑制剂 (例如, 托珠单抗 (sarilumab)); IL-4R 抑制剂 (例如, 度匹鲁单抗 (dupilumab)); IL-10 抑制剂; 细胞因子诸如 IL-2、IL-7、IL-21 和 IL-15; 抗体-药物缀合物 (ADC) (例如抗 CD19-DM4 ADC 和抗 DS6-DM4 ADC); 抗炎药 (例如, 皮质类固醇和非甾体抗炎药); 膳食补充剂, 例如抗氧化剂; 或任何其他治疗癌症的疗法。在某些实施例中, 本发明的抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白可与包括树突状细胞疫苗、溶瘤病毒、肿瘤细胞疫苗等在内的癌症疫苗联合使用以增强抗肿瘤反应。可以与本公开的抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白组合使用的癌症疫苗的实例包括: 针对黑色素瘤和膀胱癌的 MAGE3 疫苗、针对乳腺癌的 MUC1 疫苗、针对脑癌 (包括多形性胶质母细胞瘤) 的 EGFRv3 (例如 Rindopepimut) 或 (针对 CEA+癌症) 的 ALVAC-CEA。

[0238] 在某些实施例中, 本公开的抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白可以在产生长期持久抗肿瘤反应和/或提高癌症患者存活率的方法中与放射疗法联合施用。在一些实施例中, 本公开的抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白可以在向癌症患者施用放射疗法之前、同时或之后施用。例如, 可以以一剂或多剂对肿瘤病灶施用放射疗法, 然后施用一剂或多剂本公开的抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白。在一些实施例中, 可以对肿瘤病灶进行局部放射治疗, 以增强患者肿瘤的局部免疫原性 (辅助放射) 和/或杀死肿瘤细胞 (消融放射), 然后全身施用本公开的抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白。例如, 颅内辐射可与本公开的抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白的全身给药联合给予患有脑癌 (例如多形性胶质母细胞瘤) 的患者。在某些实施例中, 本公开的抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白可以与放射疗法和化学治疗剂 (例如替莫唑胺 (temozolomide)) 或 VEGF 拮抗剂 (例如阿柏西普 (afibercept)) 组合施用。

[0239] 可以在施用本公开的抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白之前、同时或之后施用另外的治疗活性剂/组分。出于本公开的目的, 此类施用方案被认为是抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白与第二治疗活性成分“组合”施用。

[0240] 可以在施用本公开的抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白之前向受试者施用额外的治疗活性组分。举例来说, 如果第一组分是在施用第二组分之前 1 周、之前 72 小时、之前 60 小时、之前 48 小时、之前 36 小时、之前 24 小时、之前 12 小时、之前 6 小时、之前 5 小时、之前 4 小时、之前 3 小时、之前 2 小时、之前 1 小时、之前 30 分钟、之前 15 分钟、之前 10 分钟、之前 5 分钟或之前不到 1 分钟施用, 则可以认为第一组分是在第二组分“之前”施用。在其他实施例中, 可以在施用本公开的抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白之后向受试者施用额外的治疗活性组分。举例来说, 如果第一组分是在施用第二组分之后 1 分钟、之后 5 分钟、之后 10 分钟、之后 15 分钟、之后 30 分钟、之后 1 小时、之后 2 小时、之后 3 小时、之后 4 小时、之后 5 小时、之后 6 小时、之后 12 小时、之后 24 小时、之后 36 小时、之后 48 小时、之后 60 小时、之后 72 小时、或之后 1 周施用, 则可以认为第一组分是在第二组分“之后”施用。在又一些实施例中, 额外的治疗活性组分可以与本公开的抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白的施用同时施用于受试者。就本公开而言, “同时 (concurrent)”施用包括例如以单一剂型 (例如, 共同配制的) 或在大约 30 分钟或更短的时间内以单独剂型向受试者施用抗 HLA-A2:NY-ESO-1 抗原结合蛋白和另外的治疗活性成分。如果以单独的剂型施用, 则每种剂型可以通过相同的途径施用 (例如, 抗 HLA-A2:

NY-ESO-1抗原结合蛋白和额外的治疗活性成分都可以通过静脉内、皮下等等施用);或者,每种剂型还可以通过不同的途径施用(例如,抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白可以静脉内施用,另外的治疗活性成分可以皮下施用)。在任何情况下,出于本公开的目的,以单一剂型、通过相同途径以单独的剂型或通过不同途径以单独的剂型施用组分均被视为是“同时施用”。出于本公开的目的,抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白在额外的治疗活性成分“之前”、“同时”或“之后”(如上文所定义的那些术语)施用被认为是抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白与另外的治疗活性成分“组合”施用。

[0241] 本公开包括药物组合物,其中本公开的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白与一种或多种如本文别处所述的另外的治疗活性组分使用多种剂量组合共同配制。

[0242] 给药方案

[0243] 根据本公开的某些实施例,可以在限定的时间段内向受试者施用多剂量的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白(或包含抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白和任何本文提及的其他治疗活性剂的组合的药物组合物)。根据本公开的该方面的方法包含向受试者依次施用多剂量的本公开的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白。本文使用的“依次施用”是指在不同时间点(例如在以预定间期(例如,数小时、数天、数周或数月)间隔开的不同日)向所述受试者施用每种剂量的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白。本文所述的方法包括向所述患者依次施用单次初始剂量的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,然后施用一次或多次第二剂量的所述抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,并任选地随后施用一次或多次第三剂量的所述抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白。抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白可以0.1mg/kg至100mg/kg受试者体重之间的剂量施用。

[0244] 术语“初始剂量”、“第二剂量”和“第三剂量”是指可用于本文的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白的施用时间顺序。因此,“初始剂量”是在治疗方案开始时施用的剂量(也被称为“基线剂量”);“第二剂量”是在初始剂量之后施用的剂量;并且“第三剂量”是在第二剂量之后施用的剂量。所述初始、第二和第三剂量可以都含有相同量的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白,但通常可以在施用频率方面彼此不同。然而,在某些实施例中,所述初始、第二和/或第三剂量中包含的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白的量在治疗过程中彼此不同(例如,适当地向上或向下调整)。在某些实施例中,在治疗开始时给予两个或更多个(例如,2、3、4或5个)剂量作为“负荷剂量”,然后在频率较低的基础上施用后续剂量(例如,“维持剂量”)。

[0245] 在某些实施例中,包含在所述初始、第二和/或第三剂量中的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白的量可能是次优的或亚治疗性的。如本文所用,术语“亚治疗性的”或“次优的”是指以非常低的水平施用以产生治疗效果的抗体剂量或低于治疗疾病诸如癌症所需的水平的抗体剂量。

[0246] 在本公开的某些示例性实施例中,每个第二和/或第三剂量在紧接前次剂量之后1至26周施用(例如,1、1^{1/2}、2、2^{1/2}、3、3^{1/2}、4、4^{1/2}、5、5^{1/2}、6、6^{1/2}、7、7^{1/2}、8、8^{1/2}、9、9^{1/2}、10、10^{1/2}、11、11^{1/2}、12、12^{1/2}、13、13^{1/2}、14、14^{1/2}、15、15^{1/2}、16、16^{1/2}、17、17^{1/2}、18、18^{1/2}、19、19^{1/2}、20、20^{1/2}、21、21^{1/2}、22、22^{1/2}、23、23^{1/2}、24、24^{1/2}、25、25^{1/2}、26、26^{1/2}或更多周)。如本文所用,短语“紧接前次剂量”是指在多次施用的序列中,抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白的剂量在该序列中的下一个剂量施用之前给予患者,没有干预剂量。

[0247] 根据本公开的该方面的方法可以包含向患者施用任意数量的第二和/或第三剂量的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白。例如,在某些实施例中,仅向患者施用单个第二剂量。在其他实施例中,向患者施用两个或更多(例如,2、3、4、5、6、7、8或更多个)第二剂量。同样,在某些实施例中,仅向患者施用单个第三剂量。在其它实施例中,向患者施用两个或更多个(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个或更多个)第三剂量。

[0248] 在涉及多个第二剂量的实施例中,每个第二剂量可以按与其它第二剂量相同的频率施用。例如,可以在紧接前次剂量之后1至2周或1至2个月,向患者施用每次第二剂量。类似地,在涉及多个第三剂量的实施例中,每个第三剂量可以按与其它第三剂量相同的频率施用。例如,在紧接前次剂量之后的2至12周,可向患者施用每次第三剂量。在某些实施例中,向患者施用第二和/或第三剂量的频率可以在治疗方案的过程中变化。施用频率也可以在由医师治疗的过程期间根据临床检查后个体患者的需要进行调整。

[0249] 抗原结合蛋白的诊断用途

[0250] 本公开的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白可用于检测和/或测量样品中的NY-ESO-1,例如用于诊断目的。一些实施例考虑在测定中使用本公开的一种或多种抗原结合蛋白以检测疾病或病症,诸如NY-ESO-1相关疾病或病症,诸如NY-ESO-1阳性癌症。NY-ESO-1的示例性诊断测定可以包含例如使从受试者(例如患者)中获得的样品与本公开的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白接触,其中抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白用可检测标记或报告分子标记或用作捕获配体以从受试者样品中选择性分离NY-ESO-1。或者,未标记的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗原结合蛋白可与本身可检测标记的第二抗原结合蛋白(例如抗体)组合用于诊断应用。可检测标记或报告分子可以是放射性同位素,诸如³H、¹⁴C、³²P、³⁵S或¹²⁵I;荧光或化学发光部分,诸如异硫氰酸荧光素或罗丹明;或碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、辣根过氧化物酶或萤光素酶等酶。可用于检测或测量样品中的NY-ESO-1的具体示例性测定包括酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)和荧光激活细胞分选(FACS)。

[0251] 可用于根据本公开的NY-ESO-1诊断测定的样品包括可从受试者中获得的任何组织或流体样品,其在正常或病理状态下含有可检测量的NY-ESO-1蛋白或其片段。通常,从健康患者(例如,未患NY-ESO-1相关疾病或病症,例如NY-ESO-1阳性癌症的患者)中获得的特定样品中的NY-ESO-1水平将进行测量以初步建立NY-ESO-1的基线或标准水平。然后可以将NY-ESO-1的基线水平与从怀疑患有癌症相关疾病或与此类疾病相关的症状的个体获得的样本中测量的NY-ESO-1水平进行比较。

[0252] 对NY-ESO-1具有特异性的抗原结合蛋白可能不包含额外的标记或部分,或者它们可能包含N末端或C末端标记或部分。在一个实施例中,所述标记或部分生物素。在结合分析中,标记(如果有的话)的位置可以确定肽相对于肽所结合的表面的取向。举例来说,如果表面涂覆有抗生物素蛋白,则含有N末端生物素的肽将被定向,使得肽的C末端部分将在表面远侧。

[0253] 本公开的方面涉及所公开的抗原结合蛋白作为用于预测患者中NY-ESO-1阳性癌症预后的标志物的用途。本公开的抗原结合蛋白可用于诊断测定以评估患者癌症的预后并预测存活。

[0254] 实例

[0255] 提出以下实例,以向本领域普通技术人员提供关于如何制备和使用本发明的方法

和组合物的完整公开和描述,并且以下实例不旨在限制发明人认为是其发明的范围。已经努力确保了有关所使用的数字(例如,量、温度等)的准确性,但是应该考虑一些实验误差和偏差。除非另有说明,否则份量是指按重量计(parts are parts by weight),分子量是平均分子量,温度为摄氏度,室温为约25°C,压力为大气压或接近大气压。

[0256] 实例1:产生针对HLA-A2:NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅的人源抗体

[0257] HLA-A2:NY-ESO-1的人源抗体是使用GenBank登录号NP_001318.1 (SEQ ID NO: 271)的HLA-A2偶联的NY-ESO-1肽片段产生的,该片段包括其中位置165处的半胱氨酸(C)被缬氨酸(V)取代的氨基酸157-165(SLLMWITQV;“NY-ESO-1_V”);SEQ ID NO:291)。例如,如美国专利第8,502,018号中所述,将免疫原与刺激免疫反应的佐剂一起直接给VELOCIMMUNE[®]小鼠(即,包含编码人免疫球蛋白重链和κ轻链可变区的DNA的工程化小鼠)施用。通过HLA-A2:NY-ESO-1特异性免疫测定法监测抗体免疫反应。当达到期望的免疫应答时,收获脾细胞并使其与小鼠骨髓瘤细胞融合,以保持其活力并形成杂交瘤细胞系。筛选和选择杂交瘤细胞系以鉴定产生HLA-A2:NY-ESO-1特异性抗体的细胞系。使用该技术和上述免疫原,获得了几种抗NY-ESO-1嵌合抗体(即,具有人可变结构域和小鼠恒定结构域的抗体)。

[0258] 如美国专利7,582,298中所述,抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体也直接从抗原阳性B细胞(来自任一免疫小鼠)中分离,而不与骨髓瘤细胞融合,该专利通过引用整体并入本文。使用这种方法,获得了几种完全人抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体(即具有人可变域和人恒定域的抗体)。

[0259] 根据前述方法产生的示例性抗体命名如下:mAb24955N;mAb24956N;mAb24958N;mAb24959N;mAb28042P;mAb28035P;mAb28037P2;mAb28075P;mAb28105P;mAb28113P;mAb28128P;mAb29814P;mAb24955N;和mAb29822P2。

[0260] 根据本实例的方法产生的示例性抗体的生物特性详细地描述于以下所阐述的实例中。

[0261] 实例2:重链和轻链可变区氨基酸和核苷酸序列

[0262] 表1列出了本公开的选定抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体的重链和轻链可变区、CDR以及重链和轻链的氨基酸序列标识符。表2中列出了相应的核酸序列标识符。

[0263] 表1:氨基酸序列标识符

抗体名称	序列号:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb24955N	2	4	6	8	10	12	14	16
mAb24956N	22	24	26	28	30	32	34	36
mAb24958N	42	44	46	48	50	52	54	56
mAb24959N	62	64	66	68	70	72	74	76
mAb28042P	82	84	86	88	90	92	94	96
mAb28035P	102	104	106	108	110	112	114	116
mAb28037P2	122	124	126	128	130	132	134	136
mAb28075P	142	144	146	148	150	152	154	156
mAb28105P	162	164	166	168	170	172	174	156
mAb28113P	180	144	182	184	186	188	154	190
mAb28128P	196	164	199	201	203	172	174	205
mAb29814P	211	213	215	217	219	221	174	224
mAb24955N2	230	232	234	236	238	240	242	244
mAb29822P2	250	252	254	256	258	260	262	264

[0265] 表2:核酸序列标识符

抗体名称	序列号:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb24955N	1	3	5	7	9	11	13	15
mAb24956N	21	23	25	27	29	31	33	35
mAb24958N	41	43	45	47	49	51	53	55
mAb24959N	61	63	65	67	69	71	73	75
mAb28042P	81	83	85	87	89	91	93	95
mAb28035P	101	103	105	107	109	111	113	115
mAb28037P2	121	123	125	127	129	131	133	135
mAb28075P	141	143	145	147	149	151	153	155
mAb28105P	161	163	165	167	169	171	173	155
mAb28113P	179	143	181	183	185	187	153	189
mAb28128P	195	197	198	200	202	171	173	204
mAb29814P	210	212	214	216	218	220	222	223
mAb24955N2	229	231	233	235	237	239	241	243
mAb29822P2	249	251	253	255	257	259	261	263

[0267] 抗体通常根据以下命名法在本文中提及:Fc前缀(例如“mAb”等),后跟数字标识符(例如,“17670”、“17930”等,如表1所示),然后是“P”、“N”或“N2”后缀。因此,根据该命名法,抗体在本文中可称为例如“mAb17670P”、“mAb17930N”、“mAb17368N2”等。如本领域普通技术人员将理解的,具有特定Fc同种型的抗体可以转化为具有不同Fc同种型的抗体(例如,具有小鼠IgG1 Fc的抗体可以转化为具有人IgG4 Fc的抗体),但在任何情况下,由表1所示数字标识符表示的可变结构域(包括CDR)都将保持不变,并且无论Fc结构域的性质如何,预期与抗原的结合特性相同或基本相似。

[0268] 在某些实施例中,具有小鼠IgG1 Fc的选定抗体被转化为具有人IgG4 Fc的抗体。在某些实施例中,抗体包含具有2个或更多个氨基酸变化的人IgG4 Fc,如美国专利公开第20100331527号(其全部内容并入本文)中所公开的。在一个实施例中,IgG4 Fc结构域在铰链区(S108P)中包含丝氨酸到脯氨酸的突变以促进二聚体稳定。

[0269] 表3列出了本公开的选定抗体的重链和轻链序列的氨基酸序列标识符。

[0270] 表3:重链和轻链序列标识符

抗体名称	序列号 (多肽)		序列号 (DNA)		Fc 同种型
	重链	轻链	重链	轻链	
mAb24955N	18	20	17	19	效应功能减弱的 IgG4*
mAb24956N	38	40	37	39	效应功能减弱的 IgG4*
mAb24958N	58	60	57	59	效应功能减弱的 IgG4*
mAb24959N	78	80	77	79	效应功能减弱的 IgG4*
mAb28042P	98	100	97	99	效应功能减弱的 IgG4*
[0271] mAb28035P	118	120	117	119	效应功能减弱的 IgG4*
mAb28037P2	138	140	137	139	效应功能减弱的 IgG4*
mAb28075P	158	160	157	159	效应功能减弱的 IgG4*
mAb28105P	176	178	175	177	效应功能减弱的 IgG4*
mAb28113P	192	194	191	193	效应功能减弱的 IgG4*
mAb28128P	207	209	206	208	效应功能减弱的 IgG4*
mAb29814P	226	228	225	227	效应功能减弱的 IgG4*
mAb24955N2	246	248	245	247	IgG2a
mAb29822	266	268	265	267	效应功能减弱的 IgG4*

[0272] *如美国专利9,359,437中所述。

[0273] 实施例3:人单克隆抗HLA-A2:NY-ESO-1单特异性抗体的表面等离子共振衍生的结合亲和力和动力学常数

[0274] 人抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体的结合亲和力和动力学常数通过实时表面等离子共振 (SPR;GE医疗生命科学的Biacore 4000,或Sierra Sensors的MASS-1) 在25°C和37°C下测定。在本实例中测试的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体是HLA-A2:NY-ESO-1的二价单特异性结合物 (用效应功能有所降低的恒定区 (例如hIgG4恒定区) (例如,如美国专利9,359,437中所述的)、hIgG2a恒定区、mIgG2a恒定区或mIgG1恒定区表达)。参考 (Ref) 抗体1、2和3由Stewart-Jones等人,《美国科学院院报》106 (14):5784-5788 (2009) 和国际专利公开第W02010106431号中描述的抗体产生。Ref Ab 1包含来自那些出版物中描述的具有人IgG1 Fc和人λ轻链的3M4E5抗体的VH和VL结构域;Ref Ab 2包含来自所述出版物的具有人IgG1 Fc和人λ轻链的3M4E5 VH结构域和T1 Fab VL结构域;Ref Ab 3包含来自所述出版物的具有效应功能Fc有所降低的人IgG4 (如美国专利9,359,437中所述) 和人λVL结构域的3M4E5 VH结构域和T1 Fab VL结构域。抗体被捕获到通过与单克隆抗人类Fc抗体 (Jackson Immunoresearch) 的胺偶联衍生的CM5 Biacore传感器表面 (GE医疗生命科学) 上或通过与多克隆抗-小鼠Fc抗体 (GE医疗生命科学) 胺偶联衍生的高容量胺传感器表面 (Sierra传感器) 上。各种浓度的单体HLA-A2:NY-ESO-1 (156-165) (SEQ ID NO:270或291;V在位置165处) 肽复合物和2906 (SEQ ID NO:272) 以50μL/分钟 (MASS-1) 或30μL/分钟 (Biacore 4000) 的流速注射到抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体捕获表面上。监测抗体-试剂结合4至5分钟,监测解离10分钟。所有结合研究均在HBS-ET缓冲液 (0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA、0.05% v/v表面活性剂P20) 中进行。

[0275] 通过使用Scrubber 2.0c曲线拟合软件将实时传感图拟合到1:1结合模型来确定动力学结合 (ka) 和解离 (kd) 速率常数。结合解离平衡常数 (KD) 和解离半衰期 ($t^{1/2}$) 根据动力学速率常数计算为:

$$[0276] \quad K_D (M) = (kd/ka) \text{ 和 } t^{1/2} (\text{min}) = ((\ln(2))/ (60*kd))$$

[0277] 单特异性抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体与单体HLA-A2:NY-ESO-1肽复合物的结合动力

学参数如下表4所示。

[0278] 表4:抗HLA-A2:NY-ES0-1抗体在25℃下的Biacore结合亲和力

抗体	25℃			
	ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)	t1/2 (min)
mAbm24955N	5.69E+05	1.29E-03	2.27E-09	9.0
mAb24956N	9.43E+05	3.65E-04	3.87E-10	31.6
mAb24958N	6.37E+04	1.77E-04	2.77E-09	65.4
mAb24959N	4.21E+05	5.17E-04	1.23E-09	22.3
mAb28035P	4.45E+05	1.52E-04	3.42E-10	75.9
mAb28037P2	4.43E+05	3.07E-04	6.92E-10	37.7
mAb28042P	3.62E+05	1.99E-04	5.50E-10	58.0
mAb28075P	9.07E+05	3.52E-04	3.88E-10	32.8
mAb28105P	4.76E+05	1.84E-04	3.86E-10	62.8
mAb28113P	5.10E+05	3.26E-04	6.39E-10	35.5
mAb28128P	1.16E+06	1.85E-04	1.60E-10	62.5
参考 Ab 1	4.77E+05	2.19E-03	4.60E-9	5.3
参考 Ab 2	6.81E+05	6.69E-04	9.82E-10	17.3
参考 Ab 3	7.35E+05	7.05E-04	9.58E-10	16.4

[0280] 表5:抗HLA-A2:NY-ES0-1抗体在37℃下的Biacore结合亲和力

抗体	37℃			
	Ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	t1/2 (min)
mAb28035P	6.69E+05	2.53E-04	3.78E-10	45.7
mAb28037P2	6.64E+05	1.83E-03	2.76E-09	6.3
mAb28042P	5.61E+05	1.17E-03	2.09E-09	9.9
mAb28075P	1.26E+06	1.27E-03	1.00E-09	9.1
mAb28105P	9.23E+05	5.41E-04	5.86E-10	21.3
mAb28113P	7.51E+05	1.46E-03	1.94E-09	7.9
mAb28128P	1.50E+06	4.41E-04	2.93E-10	26.2
参考 Ab 1	8.81E+05	4.82E-03	5.47E-09	2.4
参考 Ab 2	1.36E+06	1.84E-03	1.41E-09	6.3
参考 Ab 3	1.16E+06	1.94E-03	1.72E-09	6.0

[0282] 数据表明,大多数经测试的抗HLA-A2:NY-ES0-1抗体与可溶性HLA-A2:NY-ES0-1肽复合物选择性地结合,其中一些抗体显示出纳摩尔或亚纳摩尔的亲和力,并且许多抗体对复合物的亲和力高于参考抗体。

[0283] 实例4:抗HLA-A2:NY-ES0-1抗体与NY-ES0-1_157-165肽脉冲的T2细胞的FACS结合

[0284] NY-ES0-1:157-165抗体的相对结合通过流式细胞术对NY-ES0-1_157-165 (C165) 肽 (SEQ ID NO:269) 脉冲的T2 (174CEM.T2) 细胞进行评估。为了实现脉冲,将T2细胞 (174CEM.T2) 以 1×10^6 细胞/ml (胎牛血清Cat#31035-025) 的密度重新悬浮在AIM V培养基中。通过添加 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ hB2M (EMD Millipore Cat#475828) 和 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 所示肽对细胞进行脉冲。然后将T2细胞在37℃下孵育过夜,在染色缓冲液中洗涤并随后染色。

[0285] 为了染色细胞,使用细胞解离缓冲液 (Millipore, Cat#S-004-C) 从烧瓶中收获细胞并计数。在96孔V型底板中,将细胞以每孔200,000个细胞的密度铺在染色缓冲液 (不含钙

和镁的PBS (Corning, Ref#21-031-CV) +2%FBS (Seradigm, Lot#238B15) 中并用3倍系列稀释度 (1.7pM-100nM) 的一抗在4℃下染色30分钟。一抗孵育后,将细胞在染色缓冲液中洗涤一次,然后用APC缀和的二抗 (Jackson ImmunoResearch, Cat#109-136-170) 在4℃下以5μg/ml 染色30分钟。然后使用50%的BD Cytotfix溶液 (BD, Cat#554655) 清洗和固定细胞。在intellicyt iQue流式细胞仪上分析样品以计算平均荧光强度 (MFI)。在Graphpad Prism中使用四参数逻辑方程在12点响应曲线上绘制MFI值以计算EC₅₀值。每个剂量反应曲线的单独二抗 (即无一抗) 也包括在分析中,作为三倍系列稀释的延续,并表示为最低剂量。如上所述,Ref Ab 2和Ref Ab 3用作对照。EC₅₀值 (M) 如表6所示。

[0286] 表6:抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体的FACS结合

[0287]

抗体	T2脉冲NY-ESO-1_157-165)的EC ₅₀ (M)
mAb24955N	6.00E-10
mAb24956N	4.70E-10
mAb24958N	1.90E-08
mAb24959N	1.10E-09
mAb28035P	2.70E-09
mAb28037P2	7.80E-10
mAb28042P	1.60E-09
mAb28075P	3.80E-10
mAb28105P	1.80E-09
mAb28113P	6.00E-10
mAb28128P	3.20E-10
mAb29814P	1.10E-09
mAb29822P2	5.40E-09
参考Ab 2	2.20E-10
参考Ab 3	4.90E-10

[0288] 实例5:抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体与预测的脱靶肽脉冲的T2细胞的FACS结合

[0289] NY-ESO-1:157-165抗体的结合特异性通过对NY-ESO-1 (157-165) 肽 (C165; SEQ ID NO:269) 或预测的脱靶肽脉冲的T2 (174CEM.T2) 细胞进行流式细胞分析来评估 (表7)。为了实现脉冲,将T2细胞 (174CEM.T2) 以 1×10^6 细胞/ml (胎牛血清Cat#31035-025) 的密度重新悬浮在AIM V培养基中。通过添加10μg/ml hB2M (EMD Millipore Cat#475828) 和100μg/ml 所示肽对细胞进行脉冲。然后将T2细胞在37℃下孵育过夜,在染色缓冲液中洗涤,并按照上述实例4中所述的方案用浓度为10μg/ml的指定抗体染色。计算MFI值并将其表示为T2脉冲细胞与未脉冲细胞的比率。这些测定的结果列于表8中。通过比较使用抗HLA-A2抗体的脉冲细胞系与未脉冲细胞系的HLA-A2表面染色增加来确定有效肽负载。任何1.4倍或更多的增加都被认为是负载了肽。一种肽 (ITCH (807-815)) 的负载无法得到确认。然而,如上所述,两个比较对象NY-ESO-1mAb Ref Ab 1和Ref Ab 2与经该肽脉冲的细胞结合,从而表明一些肽已负载到细胞上。

[0290] 表7:NY-ESO-1_157-165肽和预测的脱靶肽

[0291]	肽名称	肽氨基酸序列
	NY-ESO-1: 157-165, wt	SLLMWITQC(SEQ ID NO: 269)
	BCL9L: 1351-1359	SLLMWLTPL(SEQ ID NO: 273)
[0292]	肽名称	肽氨基酸序列
	GRID1: 7-15	WLLPWICQC(SEQ ID NO: 274)
	EARS2: 306-314	SLLDIITNC(SEQ ID NO: 275)
	ZDHHC1 (376-384)	LLAMWGPQA(SEQ ID NO: 276)
	ITCH (807-815)	KQIMWFWQF(SEQ ID NO: 277)
	MAGEH1: 90-98	SLLMSILAL(SEQ ID NO: 278)
	FBXL22: 4-12	LLTMHITQL(SEQ ID NO: 279)
	URB1: 1853-1861	SLLTWILHI(SEQ ID NO: 280)
	NY-ESO-1:157-165, C165V	SLLMWITQV(SEQ ID NO: 281)
	NY-ESO-1:157-165, C165V, S157A	ALLMWITQV(SEQ ID NO: 282)
	NY-ESO-1:157-165, C165V, L158A	SALMWITQV(SEQ ID NO: 283)
	NY-ESO-1:157-165, C165V, L159A	SLAMWITQV(SEQ ID NO: 284)
	NY-ESO-1:157-165, C165V, M160A	SLLAWITQV(SEQ ID NO: 285)
	NY-ESO-1:157-165, C165V, W161A	SLLMAITQV(SEQ ID NO: 286)
	NY-ESO-1:157-165, C165V, I162A	SLLMWATQV(SEQ ID NO: 287)
NY-ESO-1:157-165, C165V, T163A	SLLMWIAQV(SEQ ID NO: 288)	
NY-ESO-1:157-165, C165V, Q164A	SLLMWITAV(SEQ ID NO: 289)	
NY-ESO-1:157-165, C165A	SLLMWITQA(SEQ ID NO: 290)	

[0293] 表8: 与经脱靶肽脉冲的T2细胞结合的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体与未脉冲细胞的比率

抗体	NY-ESO-1:157-165 wt 与未脉冲细胞的比率	BCL9L:1351-1359 与未脉冲细胞的比率	GRID1:7-15 与未脉冲细胞的比率	EARS2:306-314 与未脉冲细胞的比率	ZDHHC1 (376-384) 与未脉冲细胞的比率	ITCH (807-815) 与未脉冲细胞的比率	MAGEH1: 90-98 与未脉冲细胞的比率	FBXL22: 4-12 与未脉冲细胞的比率	URB1:1853-1861 与未脉冲细胞的比率
mAb24955N	110.1	0.4	1.1	0.6	0.4	1	0.5	0.5	0.6
mAb24956N	124.8	0.4	1	0.6	0.4	0.9	0.4	0.5	0.5
mAb24958N	98.6	0.4	0.7	0.6	0.4	1	0.5	0.5	0.6
mAb24959N	131	80.7	3.2	0.6	0.4	0.9	0.4	0.5	0.6
mAb28035P	131.4	170.1	1.4	0.6	0.9	1	0.4	0.5	0.5
mAb28037P2	136.6	52.3	0.7	0.6	0.5	1.3	0.4	0.5	0.6
mAb28042P	134.2	46.5	17.4	0.6	0.5	0.7	0.4	0.5	0.5
mAb28075P	58.8	1.5	1.4	0.5	0.4	1	0.5	0.5	0.5
mAb28105P	126.4	0.4	0.7	0.6	0.5	1	0.5	0.5	0.6
mAb28113P	114.7	1	0.9	0.5	0.4	0.9	0.4	0.5	0.6
mAb28128P	138.4	3	1.6	0.6	1.6	1	0.5	1.3	0.6
mAb29814P	124	150.1	1.6	0.6	0.6	0.9	0.4	0.5	7.9
mAb29822P2	36.7	0.8	0.7	0.5	0.3	0.8	0.4	0.4	0.4
抗 NY-ESO-1 3M4E5_VH.hlgG1 T1_Fab_VL.hLambda_opt	102.2	146.9	22.8	0.6	25.6	10.5	0.6	1.1	141.8
抗 NY-ESO-1 3M4E5_VH.hlgG4s T1_Fab_VL.hLambda_opt	137.6	174.3	21	0.7	30.3	9.4	0.6	0.8	171.9
人类 IgG4s) 同型对照	0.7	1.4	0.7	0.6	1	1	0.5	0.6	2.4
抗 HLA-A2	2.1	2.8	1.4	2.6	1.8	0.5	2.3	2.2	2.9
人类 IgG2a 同	0.6	1.1	1.7	1.9	1.1	0.8	1.7	1.5	2.1

[0295]

抗体	NY-ESO-1:157-165 wt 与未脉冲细胞的比率	BCL9L:1351-1359 与未脉冲细胞的比率	GRID1:7-15 与未脉冲细胞的比率	EARS2:306-314 与未脉冲细胞的比率	ZDHC1 (376-384) 与未脉冲细胞的比率	ITCH (807-815) 与未脉冲细胞的比率	MAGEH1:90-98 与未脉冲细胞的比率	FBXL22:4-12 与未脉冲细胞的比率	URB1:1853-1861 与未脉冲细胞的比率
型对照									
人类 IgG1 同型对照	0.8	1.1	0.8	0.6	0.8	0.9	0.5	0.6	1.5
抗 hFC	0.7	0.4	0.8	0.6	0.5	1	0.6	0.6	0.7
抗 mFC	1.9	0.8	1.0	0.9	1.0	1.1	0.7	0.9	0.9
未染色	0.9	0.9	1.1	1.1	1.1	1	1.1	1	0.8

[0296] 如表8中所见,许多经测试的抗体被确定为与经任何预测的脱靶肽脉冲的T2细胞没有显著结合,特别是与两种比较抗体相比,后者与多个脱靶肽具有显著结合。非特异性结合可能导致治疗效果降低和/或副作用增加(例如,降低肿瘤细胞杀伤活性和/或在受试者中引起副作用的非特异性细胞毒性)。因此,如本文所述,具有最小脱靶结合的抗原结合蛋白(例如抗体)的鉴定可有益于开发靶向MAGE-A4的治疗剂。

[0297] 进行丙氨酸扫描以确定NY-ESO-1 (157-165) 肽中的哪些残基对细胞结合很重要。用丙氨酸扫描肽(表7)对T2细胞进行脉冲,并用如上所述的NY-ESO-1 (157-165) 抗体染色。表9显示了未脉冲细胞的倍数变化。除NY-ESO-1:157-165、C165V、S157A和NY-ESO-1:157-165、C165V、I162A外,所有肽均通过HLA-A2表面染色(如上所述)进行有效负载。以下残基对于经测试的抗NY-ESO-1 mAb的结合很重要(定义为结合减少了90%或更多):亮氨酸158、色氨酸161、苏氨酸163和谷氨酰胺164。如上所述,苏氨酸163和谷氨酰胺164对于比较单克隆抗体Ref Ab 3的结合是可有可无的。蛋氨酸160对于mAb24956N、mAb24958N和mAb28105P的结合尤为重要。

[0298] 表9:与经丙氨酸扫描肽脉冲的T2细胞结合的抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体与未脉冲细胞的比率

[0299]

mAb	NY-ESO-1 (SLLMWITQV (SEQ ID NO: 281))	S157A (ALLMWITQV (SEQ ID NO: 282))	L158A (SALMWITQV (SEQ ID NO: 283))	L159A (SLAMWITQV (SEQ ID NO: 284))	M160A (SLLAWITQV (SEQ ID NO: 285))	W161A (SLLMAITQV (SEQ ID NO: 286))	I162A (SLLMWATQV (SEQ ID NO: 287))	T163A (SLLMWIAQV (SEQ ID NO: 288))	Q164A (SLLMWITAV (SEQ ID NO: 289))	C165A (SLLMWITQA (SEQ ID NO: 290))
mAb24955N	29.8	0.5	0.6	23.0	16.3	0.4	1.1	0.9	1.0	66.1
mAb24956N	32.6	0.4	0.4	27.8	0.7	0.4	0.7	1.7	0.8	53.5
mAb24958N	46.8	1.2	8.6	29.8	2.0	0.4	0.3	0.4	2.0	45.2
mAb28075P	29.3	1.6	5.1	25.0	27.1	0.4	2.3	7.5	2.1	25.4
mAb28105P	35.4	2.5	7.7	40.1	8.5	0.4	5.2	14.2	3.2	62.1
mAb28113P	44.6	2.5	7.6	34.5	27.9	0.4	5.0	16.0	9.1	45.1
mAb29822P2	5.3	0.3	0.3	10.3	10.3	0.4	0.3	0.4	0.4	14.2
参考 Ab 3	67.2	3.6	11.3	51.8	68.0	0.4	7.4	47.0	67.1	68.1
抗 HLA-A2	3.4	1.2	2.7	4.1	3.9	3.5	1.3	3.1	3.4	3.5
效应功能同种型对照降低的人类 IgG4	0.5	0.4	0.4	0.4	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4

[0300]

mAb	NY-ESO-1 (SLLMWITQV (SEQ ID NO: 281))	S157A (ALLMWITQV (SEQ ID NO: 282))	L158A (SALMWITQV (SEQ ID NO: 283))	L159A (SLAMWITQV (SEQ ID NO: 284))	M160A (SLLAWITQV (SEQ ID NO: 285))	W161A (SLLMAITQV (SEQ ID NO: 286))	I162A (SLLMWATQV (SEQ ID NO: 287))	T163A (SLLMWIAQV (SEQ ID NO: 288))	Q164A (SLLMWITAV (SEQ ID NO: 289))	C165A (SLLMWITQA (SEQ ID NO: 290))
抗鼠 FC	0.5	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.3	0.3	0.4	0.4
抗人类 FC	0.8	1.2	0.7	0.7	0.6	0.7	0.6	0.7	0.8	0.8
生存能力	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8	0.9	0.8	0.8	0.9	0.9

[0301] 实施例6:将抗HLA-A2:NY-ESO-1抗体重新格式化为用于嵌合抗原受体的ScFv

[0302] 使用CD8 α 铰链、跨膜结构域、4-1BB共刺激结构域和CD3 ζ 刺激结构域将四种NY-ESO-1(157-165)抗体(mAb24955N、mAb24956N、mAb24958N和mAb24959N)重新格式化为VL-VH或VH-VL单链可变片段嵌合抗原受体(CAR)。将NY-ESO-1:157-165CAR克隆到慢病毒表达载体(Lenti-X™双顺反子慢病毒表达系统,Clontech Cat#632181)中,并根据制造商协议,通过Lenti-X Packaging Single-Shot(VSV-G)系统(Clontech Cat#631276)生成慢病毒颗粒。然后根据制造商的方案,使用RetroNectin预涂培养皿(Clontech,Cat#T110a)用8种不同的CAR转导Jurkat/NFATLuc c1 3C7细胞(表达NFAT-荧光素酶报告基因的细胞)。在选择500 μ g/ml G418(Gibco,Cat#11811-098)至少2周后,生成以下CAR-T细胞系:Jurkat/NFATLuc c1 3C7/NY-ESO CAR-T 24955N VH-VL;Jurkat/NFATLuc c1 3C7/NY-ESO CAR-T 24955N VL-VH;Jurkat/NFATLuc c1 3C7/NY-ESO CAR-T 24956N VH-VL;Jurkat/NFATLuc c1 3C7/NY-ESO CAR-T 24956N VL-VH;Jurkat/NFATLuc c1 3C7/NY-ESO CAR-T 24958N VH-VL;Jurkat/NFATLuc c1 3C7/NY-ESO CAR-T 24958N VL-VH;Jurkat/NFATLuc c1 3C7/NY-ESO CAR-T 24959N VH-VL;和Jurkat/NFATLuc c1 3C7/NY-ESO CAR-T 24959N VL-VH。然后在CAR-T/APC(抗原呈递细胞)生物测定中评估CAR-T细胞系的活性。为了进行生物测定,将50,000个CAR-T细胞添加到Thermo-Nunc 96孔白板(赛默飞世尔科技(Thermo Scientific),Cat#136101)的50ml测定培养基(含有10%FBS和1%P/S/G的RPMI培养基)中,然后在50ml测定培养基中加入3倍连续稀释的APC(200,000个细胞至274个细胞)。使用了以下APC:3T3/HLA.A2/hB2M/NY-ESO-1:157-165WT(NIH3T3细胞,其经工程改造以表达人HLA.A2(登录号P01892)、人B2M(登录号NP_004039.1)和泛素肽盒(如上文所述的泛素肽盒),所述泛素肽盒包含NY-ESO-1:157-165肽、3T3/HLA.A2/hB2M/HPV16E7 11-19(Lévy F等人(1996)《美国科学院院报》93(10):4907-4912;Valmori D等人(1999)《实验科学杂志(J Exp Med.)》189(6):895-906);包含HPV16E7:11-19肽、IM9(HLA.A2阳性、NY-ESO-1:157-165阳性)和HEK293(HLA.A2阳性和NY-ESO-1:157-165阴性)。将细胞混合物在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂、加湿的培养箱中培养5小时。使用Promega One-Glo(Cat#E6130)和Perkin Elmer Envision读板器测量NFAT-荧光素酶活性。使用四参数逻辑方程在8点响应曲线上生成并绘制相对荧光素酶单位(RLU)以计算EC₅₀值。每个剂量反应曲线的零APC条件也包括在分析中,作为三倍连续稀释的延续,并表示为最低剂量。最大激活倍数通过曲线上最高RLU与最低RLU的比率来确定。在3T3/HLA.A2/hB2M/NY-ESO-1:157-165 WT细胞存在的情况下,所有八种NY-ESO-1 CAR细胞系均被激活。如表10所示,三个NY-ESO-1 CAR细胞系在下列IM9细胞(Jurkat/NFATLuc c1 3C7/NY-ESO CAR-T 24955N VH-VL;Jurkat/NFATLuc c1 3C7/NY-ESO CAR-T 24955N VL-VH;和Jurkat/NFATLuc c1 3C7/NY-ESO CAR-T 24956N VL-VH)的存在下被激活。

[0303] 表10:CAR-T/APC生物测定中NY-ESO-1:157-165CAR-T的激活

	3T3/HLA.A2/ hB2M/NY-ESO- 1 157-165 WT		3T3/HLA.A2/ hB2M/HPV16E 7 11-19		IM9		HEK293	
	EC50 (# APC 细胞)	最大倍 数 (RLU)	EC50 (# APC 细胞)	最大倍 数 (RLU)	EC50 (# APC 细胞)	最大倍 数 (RLU)	EC50 (# APC 细胞)	最大倍 数 (RLU)
[0304] Jurkat/NFATLuc cl 3C7	N.D.	1	N.D.	1	N.D.	1	N.D.	1
Jurkat/NFATLuc cl 3C7/NY-ESO CAR-T 24955N VH-VL	20306	39	N.D.	1	84852	3	N.D.	1
Jurkat/NFATLuc cl 3C7/NY-ESO CAR-T 24955N VL-VH	88656	30.5	N.D.	1	253190	4.1	N.D.	0.8
Jurkat/NFATLuc cl 3C7/NY-ESO CAR-T 24956N VH-VL	47635	30.1	N.D.	1	N.D.	1.2	N.D.	0.8
Jurkat/NFATLuc cl 3C7/NY-ESO CAR-T 24956N VL-VH	25855	38.1	N.D.	0.9	111502	4.4	N.D.	0.7
Jurkat/NFATLuc cl 3C7/NY-ESO CAR-T 24958N VH-VL	24506	6.7	N.D.	1.1	N.D.	1	N.D.	0.7
Jurkat/NFATLuc cl 3C7/NY-ESO	19871	6.4	N.D.	1	N.D.	0.9	N.D.	0.7
[0305] CAR-T 24958N VL-VH								
Jurkat/NFATLuc cl 3C7/NY-ESO CAR-T 24959N VH-VL	14233	13.3	N.D.	1.1	N.D.	1.1	N.D.	0.7
Jurkat/NFATLuc cl 3C7/NY-ESO CAR-T 24959N VL-VH	24009	28.6	N.D.	0.9	N.D.	0.8	N.D.	0.6

[0306] 实施例7:与HLA2:NY-ESO-1_157-165肽结合的Fab的结构分析

[0307] 为了更好地了解抗体和HLA-肽复合物之间的特异性相互作用,确定了与HLA-A2/hB2M结合的抗体mAb28105P的Fab片段的X射线晶体结构,该片段展示了包含来自癌睾丸抗原1 (CTAG1B;NY-ESO-1) 的残基157-165的肽。该肽通过用缬氨酸取代其原初半胱氨酸的残基165进行修饰。HLA展示的NY-ESO-1 (C165V) 肽的所有9个残基在该结构的电子密度图中清晰可见,并且围绕该肽的HLA和Fab的残基也得到了很好的分辨。这种结构以3.3 Å的分辨率进行了细化,但更新的晶体细化技术(可变形弹性网络或“果冻体”细化)有助于防止过度拟合,确保所得模型的准确性。

[0308] mAb28105P Fab以类似于TCR结合方式的方式结合到HLA-肽复合物的顶部。该Fab以结合肽为中心,HCDR3接触结合肽的C末端一半,轻链CDR接触肽的N末端一半。肽残基M160

和W161位于Fab结合界面的中心,与重链和轻链CDR残基接触,如下所述。其他已发表的沟槽肽抗体复合物结构(例如,PDB代码1W72和4WU)表明抗体不必覆盖整个HLA展示肽;然而,仅具有部分肽覆盖的抗体的特异性较差,可耐受未接触的肽部分的较大变化,而结合亲和力几乎没有损失。

[0309] 结构显示,mAb28105P Fab重链和与HLA结合的NY-ESO-1肽中的残基160、161和164接触,而Fab轻链与残基160和161接触。肽残基157、158、159、162和165都指向HLA分子。Fab轻链从溶剂中完全地筛选出残基163,但没有与所述抗体残基直接接触。结合肽根据SEQ ID NO:271中的残基位置编号,如SEQ ID NO:291所示:

[0310]	氨基酸	S	L	L	M	W	I	T	Q	V
	位置	157	158	159	160	161	162	163	164	165

[0311] (SEQ ID NO:291)

[0312] 所有的Fab接触都是用HLA结合肽的侧链进行的,而不是其骨架。

[0313] mAb28105P Fab产生的肽接触集中在HCDR3中,LCDR1和LCDR2的贡献很小。特别地,Fab重链残基100、101、104、105和111(SEQ ID NO:162)和轻链残基32和49(SEQ ID NO:170)与结合肽相互作用,而Fab重链残基100、101、107和109(SEQ ID NO:162)和轻链残基92(SEQ ID NO:170)与HLA相互作用。如本文所用,这里的术语“相互作用”可以包括直接或水介导的氢键、电荷-电荷相互作用或疏水/范德华相互作用。

[0314] NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅抗体中的四种(mAb24955N、mAb24956N、mAb24958N和mAb24959N)在轻链序列上都高度相似,但在HCDR2和HCDR3中重链序列不同。七个肽结合残基通常是保守的:所有四种抗体中的三个残基是相同的,四个序列中的三个以上序列是相同的,表明抗体之间存在共同的结合方式。

[0315] 实施例8:重组抗原受体信号传导结构域的分析

[0316] 嵌合抗原受体使用抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅抗体mAb28105P(V_L :SEQ ID NO:294; V_H :SEQ ID NO:293)的 V_L 和 V_H 序列来构建,所述嵌合抗原受体含有 V_H - V_L 方向的抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅ scFv;以及1)人CD8(huCD8)铰链/跨膜结构域、4-1BB共刺激结构域和CD3 ζ 信号传导结构域(BB/z CAR)(全长CAR序列:SEQ ID NO:301);或2)huCD28铰链/跨膜/共刺激结构域和CD3 ζ 信号传导结构域(28/z CAR)(全长CAR序列:SEQ ID NO:302)。作为非结合对照,BB/z CAR是使用不相关的scFv加上huCD8铰链/跨膜结构域、4-1BB共刺激结构域和CD3 ζ 信号传导结构域设计的。这些CAR被克隆到具有EF1a启动子和P2A:eGFP序列(SEQ ID NO:300)的pLVX慢病毒载体中,用于追踪CAR转导的细胞,并产生VSV假型慢病毒。图1A为构建体设计,表11为构建体的总结。

[0317] CD3+T细胞来自正常供体的人外周血单核细胞(PBMC)中分离出来,用CD3/CD28微珠+100U/ml重组人IL-2刺激,并用慢病毒以MOI=5进行转导。转导的细胞用CD3/CD28微珠+100U/ml重组人IL-2扩增19天,然后冷冻保存,直到在体内实验期间使用。

[0318] 为了确定抗HLA-A2/NY-ESO-1157-165靶向嵌合抗原受体(CAR)T细胞的体内功效,进行了异种肿瘤研究。在第0天,向免疫缺陷的NOD.Cg-Prkdc^{scid}I12rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG)小鼠皮下注射 5×10^6 HLA-A2⁺NY-ESO-1⁺A375人黑色素瘤肿瘤细胞。在肿瘤形成后的第3天,向小鼠(每组n=5)静脉内注射 20×10^6 个T细胞,这些T细胞表达非结合性对照BB/zCAR(对照CAR T)、抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅BB/z CAR、或者来自两个不同供体的抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅

28/z CAR (如表达GFP的细胞的频率所决定的,它们用CAR转导的那些细胞的标志物)。通过测量肿瘤体积在第21天评估肿瘤生长。

[0319] 为了通过外卡尺确定肿瘤体积,确定了最大纵向直径(长度单位mm)和最大横向直径(宽度单位mm)。基于卡尺测量的肿瘤体积通过以下公式计算:体积(mm^3) = (长度 \times 宽度 2)/2。

[0320] 表11:CAR构建体

亲本 mAb	特异性	描述
非相关	非结合对照	VL-VH 方向的抗 HLA-A2/HPV16E7 ₁₁₋₁₉ scFv, 具有 huCD8 铰链/跨膜结构域、4-1BB 共刺激结构域和 CD3z 信号传导结构域 (对照 CAR)
[0321] mAb28105P	HLA-A2/NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅	VL-VH 方向的抗 HLA-A2/NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ scFv mAb28105P, 具有 huCD8 铰链/跨膜结构域、4-1BB 共刺激结构域和 CD3z 信号传导结构域 (NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ BB/z CAR)
mAb28105P	HLA-A2/NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅	VL-VH 方向的抗 HLA-A2/NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ scFv mAb28105P, 具有 huCD28 铰链/跨膜/共刺激结构域和 CD3z 信号传导结构域 (NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR)

[0322] 总的来说,结果表明,与抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅BB/z CAR T细胞相比,抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR T细胞表现出优越的体内抗肿瘤活性和抗肿瘤动力学特性,但与非结合对照相比,两种类型的CAR均表现出抗肿瘤活性。A375肿瘤在接受对照CART细胞的小鼠中逐渐生长。与接收CAR T处理的对照小鼠相比,接受抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅BB/z CAR T细胞的小鼠在第21天 ($p < 0.04$)、第28天 ($p < 0.0001$) 和第38天 ($p < 0.0001$) 肿瘤生长减慢(通过2-way ANOVA分析的统计数据)。抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR T治疗还导致在第16天 ($p = 0.03$)、第19天 ($p = 0.0002$)、第21天 ($p < 0.0001$)、第28天 ($p < 0.0001$) 和第38天 ($p < 0.0001$) 已形成的A375肿瘤生长得到抑制(通过2-way ANOVA分析的统计数据)。从而确认了抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR与抗HLA-A2/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅BB/z CAR的增强功效,因为通过2-way ANOVA得知,第21天 ($p = 0.002$)、第28天 ($p < 0.0001$) 和第38天 ($p < 0.0001$) 的肿瘤大小具有统计学意义(有两天 $p < 0.0001$)。参见图1B和图1C,以及表12至22。

[0323] 表12:CAR功效,第3天

CART 治疗	第3天的平均肿瘤大小 (mm^3)	平均肿瘤大小标准误差 (SEM)	第3天仍存活的小鼠数量 (共5只)
[0324] 对照 CART	57.2	7.1	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ BB/z CART	69.1	11.4	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CART	79.4	4.0	5

[0325] 表13:CAR功效,第5天

[0326]

CART 治疗	第 5 天的平均肿瘤大小 (mm ³)	平均肿瘤大小标准误差 (SEM)	第 5 天仍存活的小鼠数量 (共 5 只)
对照 CAR T	78.8	7.0	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ BB/z CAR T	65.9	10.9	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR T	80.7	8.0	5

[0327] 表14:CAR功效,第7天

[0328]

CART 治疗	第 7 天的平均肿瘤大小 (mm ³)	平均肿瘤大小标准误差 (SEM)	第 7 天仍存活的小鼠数量 (共 5 只)
对照 CAR T	118.4	12.2	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ BB/z CAR T	69.8	8.4	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR T	77.6	7.1	5

[0329] 表15:CAR功效,第10天

[0330]

CART 治疗	第 10 天的平均肿瘤大小 (mm ³)	平均肿瘤大小标准误差 (SEM)	第 10 天仍存活的小鼠数量(共 5 只)
对照 CAR T	134.0	12.1	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ BB/z CAR T	81.8	10.4	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR T	43.7	2.5	5

[0331] 表16:CAR功效,第12天

[0332]

CART 治疗	第 12 天的平均肿瘤大小 (mm ³)	平均肿瘤大小标准误差 (SEM)	第 12 天仍存活的小鼠数量(共 5 只)
对照 CAR T	224.6	23.7	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ BB/z CAR T	92.1	12.0	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR T	43.8	8.1	5

[0333] 表17:CAR功效,第14天

[0334]

CART 治疗	第 14 天的平均肿瘤大小 (mm ³)	平均肿瘤大小标准误差 (SEM)	第 14 天仍存活的小鼠数量(共 5 只)
对照 CAR T	281.8	31.8	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ BB/z CAR T	98.3	16.4	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR T	56.6	5.6	5

[0335] 表18:CAR功效,第16天

[0336]

CART 治疗	第 16 天的平均肿瘤大小 (mm ³)	平均肿瘤大小标准误差 (SEM)	第 16 天仍存活的小鼠数量(共 5 只)
对照 CAR T	409.8	44.5	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ BB/z CAR T	157.9	16.7	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR T	70.5	6.0	5

[0337] 表19:CAR功效,第19天

[0338]

CART 治疗	第 19 天的平均肿瘤大小 (mm ³)	平均肿瘤大小标准误差 (SEM)	第 19 天仍存活的小鼠数量(共 5 只)
对照 CAR T	657.3	81.3	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ BB/z CAR T	359.8	41.9	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR T	106.6	14.5	5

[0339] 表20:CAR功效,第21天

[0340]

CART 治疗	第 21 天的平均肿瘤大小 (mm ³)	平均肿瘤大小标准误差 (SEM)	第 21 天仍存活的小鼠数量(共 5 只)
对照 CAR T	943.1	110.5	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ BB/z CAR T	607.6	57.8	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR T	142.7	12.6	5

[0341] 表21:CAR功效,第28天

[0342]

CART 治疗	第 28 天的平均肿瘤大小 (mm ³)	平均肿瘤大小标准误差 (SEM)	第 28 天仍存活的小鼠数量(共 5 只)
对照 CAR T	2168.4	162.9	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ BB/z CAR T	1351.5	154.6	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR T	523.8	57.7	5

[0343] 表22:CAR功效,第38天

[0344]

CART 治疗	第 38 天的平均肿瘤大小 (mm ³)	平均肿瘤大小标准误差 (SEM)	第 38 天仍存活的小鼠数量(共 5 只)
对照 CAR T	3904.3	157.4	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ BB/z CAR T	2754.3	443.7	5
NY-ESO-1 ₁₅₇₋₁₆₅ 28/z CAR T	1696.4	144.0	5

[0345] 本发明不应限于本文所述的具体实施例的范围。事实上,除了本文所述的那些修改之外,本发明的各种修改对于本领域的技术人员来说也将从前面的描述和附图中变得显而易见。此类修改意图在所附权利要求的范围内。

序列表

<110> 里珍纳龙药品有限公司

<120> 抗纽约食管鳞状细胞癌 1 (NY-ESO-1) 抗原结合蛋白及其使用方法

<130> 118003-10520

<140>

<141>

<150> 63/021, 826

<151> 2020-05-08

<150> 63/020, 177

<151> 2020-05-05

<150> 62/870, 232

<151> 2019-07-03

<160> 305

[0001]

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 396

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 1

gaagtgcagc tggctcgagtc tgggggagge gtggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgtag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgtactgggt cgcacaagtt 120

ccaggaagg atctggagtg ggtctctctt ataagtgggg atggtgatat cacatattat 180

gtagactctg tgaagggccg attcacgcgc tccagagaca acaacaaaaa ctccctgtat 240

ctgcaaatga aaagtctgag agttgaggac accgccttgt attactgtgc aaaagatatg 300

atatattacg cttcttgag tggttacggg tcgtccgact actactacta cgttatggac 360

gtctggggcc aaggaccac ggtcaccgtc tectca

396

<210> 2

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 2

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

[0002] Ala Met Tyr Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Asp Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Asp Ile Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Asn Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Met Ile Tyr Tyr Ala Ser Trp Ser Gly Tyr Gly Ser Ser
 100 105 110

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

Thr Val Ser Ser
130

<210> 3
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 3
ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

[0003] <220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 4
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

<210> 5
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 5
ataagtgggg atggtgatat caca 24

<210> 6
<211> 8

	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成肽	
	<400> 6	
	Ile Ser Gly Asp Gly Asp Ile Thr	
	1 5	
	<210> 7	
	<211> 75	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 7	
	gcaaaagata tgatatatta cgcttcttgg agtggttacg ggtcgtccga ctactactac	60
[0004]	tacgttatgg acgtc	75
	<210> 8	
	<211> 25	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成肽	
	<400> 8	
	Ala Lys Asp Met Ile Tyr Tyr Ala Ser Trp Ser Gly Tyr Gly Ser Ser	
	1 5 10 15	
	Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val	
	20 25	
	<210> 9	
	<211> 324	

<212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 9
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccctccgat caccttcggc 300
 caaggacac gactggagat taaa 324

[0005]

<210> 10
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多肽

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 11

[0006] cagagcatta gcagctat

18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 12

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 13	
	gctgcatcc	9
	<210> 14	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成肽	
	<400> 14	
	Ala Ala Ser	
	1	
[0007]	<210> 15	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 15	
	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
	<210> 16	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成肽	
	<400> 16	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	

	<210> 17	
	<211> 1377	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 17	
	gaagtgcagc tggtcgagtc tgggggaggc gtggtacagc ctggggggtc cctgagactc	60
	tectgtgtag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgtactgggt cgcacaagtt	120
	ccaggaagg atctggagtg ggtctctctt ataagtgggg atggtgatat cacatattat	180
	gtagactctg tgaagggccg attcacgctc tccagagaca acaacaaaaa ctccctgtat	240
	ctgcaaatga aaagtctgag agttgaggac accgccttgt attactgtgc aaaagatatg	300
	atatattacg cttcttggag tggttacggg tegtccgact actactacta cgttatggac	360
[0008]	gtctggggcc aaggaccac ggtcacgctc tctcagcct ccaccaaggc cccatcgctc	420
	ttccccctgg cgcctgctc caggagcacc tccgagagca cagccgcctt gggctgcctg	480
	gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc	540
	ggcgtgcaca cttccccgcg tgctctacag tctcaggac tctactcctt cagcagcgtg	600
	gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacg aagacctaca cctgcaacgt agatcacaag	660
	cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagtccaaat atggtccccc atgcccaccg	720
	tgcccagcac cacctgtggc aggaccatca gtcttctgt tcccccaaa acccaaggac	780
	actctcatga tctccccgac ccctgaggtc acgtgcgtgg tgggtgacgt gagccaggaa	840
	gaccccagg tccagttcaa ctggtacgtg gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca	900
	aagccgcggg aggagcagtt caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg	960
	caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtgaagg tctccaacaa aggcctcccc	1020
	tctccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagagcc acaggtgtac	1080

accctgcccc catcccagga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 1140
aaaggcttct accccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 1200
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacgget ctttcttct ctacagcagg 1260
ctcaccgtgg acaagagcag gtggcaggag gggaatgtct tctcatgctc cgtgatgcat 1320
gaggctctgc acaaccacta cacacagaag tccctctccc tgtctctggg taaatga 1377

<210> 18

<211> 458

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 18

[0009]

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Met Tyr Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Asp Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Asp Ile Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Asn Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

	Ala Lys Asp Met Ile Tyr Tyr Ala Ser Trp Ser Gly Tyr Gly Ser Ser	
	100	105 110
	Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val	
	115	120 125
	Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala	
	130	135 140
	Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu	
	145	150 155 160
	Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly	
	165	170 175
[0010]	Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser	
	180	185 190
	Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu	
	195	200 205
	Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr	
	210	215 220
	Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro	
	225	230 235 240
	Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro	
	245	250 255
	Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys	
	260	265 270

Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 275 280 285

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 290 295 300

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 325 330 335

Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 340 345 350

[0011] Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
 355 360 365

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 405 410 415

Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
 420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 450 455

<210> 19
 <211> 648
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 19
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatntaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 [0012] gaagatnttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccctccgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgctgct gaataacttc 420
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtactcc 480
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccttg 540
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgttag 648

<210> 20
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多肽

<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 Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

[0013] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 21

<211> 396

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

[0014]

<400> 21

gaagtgcagc tggtaggagtc tgggggagge gtggttcagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgtactgggt ccgtcaagct 120

ccaggaagg gtctggagtg ggtctctctt attagtgggg atggtggtag tatgtactat 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acagcaaaaa ctccctgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag aactgaggac accgccttgt attactgtgc aaaagatatg 300

atcttttacg ctttttggag tggttacggg tcgtccgact actactacta cgttatggac 360

gtctggggcc aaggaccac ggtcacgctc tactca 396

<210> 22

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 22

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Met Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

[0015]

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Met Ile Phe Tyr Ala Phe Trp Ser Gly Tyr Gly Ser Ser
 100 105 110

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

Thr Val Tyr Ser
 130

<210> 23

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

	<220>		
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸		
	<400> 23		
	ggattcacct ttgatgatta tgcc		24
	<210> 24		
	<211> 8		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 人工序列的描述: 合成肽		
	<400> 24		
	Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala		
	1 5		
[0016]	<210> 25		
	<211> 24		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸		
	<400> 25		
	attagtgggg atggtggtag tatg		24
	<210> 26		
	<211> 8		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 人工序列的描述: 合成肽		
	<400> 26		
	Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Met		
	1 5		

<210> 27	
<211> 75	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
<400> 27	
gcaaaaagata tgatctttta cgctttttgg agtggttacg ggtcgtccga ctactactac	60
tacgttatgg acgtc	75
<210> 28	
<211> 25	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成肽	
[0017]	
<400> 28	
Ala Lys Asp Met Ile Phe Tyr Ala Phe Trp Ser Gly Tyr Gly Ser Ser	
1 5 10 15	
Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val	
20 25	
<210> 29	
<211> 324	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
<400> 29	
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc	60
atcacttgcc gggcaagtca gcgcattagc acttatttaa attggtatca gcagaaacca	120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 30

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 30

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

[0018]

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Arg Ile Ser Thr Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100

105

<210> 31

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 31

cagcgcatta gcacttat

18

<210> 32

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

[0019]

<400> 32

Gln Arg Ile Ser Thr Tyr

1

5

<210> 33

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 33

gctgcatcc

9

<210> 34

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

- <220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
- <400> 34
Ala Ala Ser
1
- <210> 35
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
- <220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸
- <400> 35
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30
- [0020] <210> 36
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
- <220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
- <400> 36
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10
- <210> 37
<211> 1377
<212> DNA
<213> 人工序列
- <220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸
- <400> 37
gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggttcagc ctggggggtc cctgagactc 60

	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgtactgggt cegtcaagct	120
	ccaggaagg gtctggagtg ggtctctctt attagtgggg atggtggtag tatgtactat	180
	gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acagcaaaaa ctccctgtat	240
	ctgcaaatga acagtctgag aactgaggac accgccttgt attactgtgc aaaagatatg	300
	atcttttacg ctttttggag tggttacggg tcgtccgact actactacta cgttatggac	360
	gtctggggcc aaggaccac ggtcacgctc tactcagcct ccaccaaggc cccatcggtc	420
	ttccccctgg cgccctgctc caggagcacc tccgagagca cagccgcctt gggtgacctg	480
	gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc	540
	ggcgtgcaca ccttccccgc tgtctacag tcctcaggac tctactcctt cagcagcgtg	600
	gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacg aagacctaca cctgcaacgt agatcacaag	660
	cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagtccaaat atggtcccc atgcccaccg	720
[0021]	tgcccagcac cacctgtggc aggaccatca gtcttctgt tcccccaaa acccaaggac	780
	actctcatga tctccccgac ccctgaggtc acgtgcgtgg tgggtggact gagccaggaa	840
	gacccccagg tccagttcaa ctggtacgtg gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca	900
	aagcccgagg aggagcagtt caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg	960
	caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtgaagg tctccaaca aggctcccc	1020
	tctccatcg agaaaacat ctccaagcc aaagggcagc cccgagagcc acaggtgtac	1080
	acctgcccc catcccagga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc	1140
	aaagcttct accccagcga catcgccgtg gactgggaga gcaatgggca gccggagaac	1200
	aactacaaga ccacgctcc cgtgetggac tccgacgget ctttctct ctacagcagg	1260
	ctcaccgtgg acaagagcag gtggcaggag gggaatgtct tctcatgctc cgtgatgcat	1320
	gaggtctgc acaaccacta cacacagaag tcctctccc tgtctctggg taaatga	1377

<210> 38

<211> 458

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 38

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

[0022]

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Met Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Met Ile Phe Tyr Ala Phe Trp Ser Gly Tyr Gly Ser Ser
 100 105 110

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

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

130 135 140

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
195 200 205

Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
210 215 220

[0023]

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
225 230 235 240

Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
275 280 285

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

305	310	315	320	
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn	325	330	335	
Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly	340	345	350	
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu	355	360	365	
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr	370	375	380	
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn	385	390	395	400
[0024]				
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe	405	410	415	
Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn	420	425	430	
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr	435	440	445	
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys	450	455		
<210> 39				
<211> 645				
<212> DNA				
<213> 人工序列				

	<220>		
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸		
	<400> 39		
	gacatccaga tgaccagtc tccatctcc ctgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc	60	
	atcaactgcc gggcaagtca gcgcattage acttatttaa attggtatca gcagaaacca	120	
	gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180	
	aggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct	240	
	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc	300	
	caagggacac gactggagat taaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttccc	360	
	ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgctgct gaataacttc	420	
	tatccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cccccaatc gggtaaactc	480	
[0025]	caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg	540	
	acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag	600	
	ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt	645	
	<210> 40		
	<211> 215		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 人工序列的描述: 合成多肽		
	<400> 40		
	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 Ser Thr Tyr		
	20 25 30		

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

[0026]

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 41
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 41
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc ettcacagac cctgtccctc 60
acctgtactg tgtctggtgg ctccatcatc agtgatggtt actactggag ttggattcgc 120
cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacgtcg attacagtgg gaatacctac 180
tataatccgt ccctcaagag tcgaattatt atgtcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
[0027] tcctgaaat tgacctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtatttctg tgtgagagaa 300
gggccccttc gggatgcttt tgaaatctgg gggcaaggga caatggtcac cgtctcttca 360

<210> 42
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 42
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ile Ser Asp
20 25 30

Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Tyr Val Asp Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Ile Ile Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Phe
 85 90 95

Cys Val Arg Glu Gly Pro Leu Arg Asp Ala Phe Glu Ile Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

[0028]

<210> 43

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 43

ggtggctcca tcatcagtga tggttactac

30

<210> 44

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 44

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 48

Val Arg Glu Gly Pro Leu Arg Asp Ala Phe Glu Ile

1 5 10

<210> 49

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 49

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

[0030] atcacttgcc ggacaagtca gagcattagc agatatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctttgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tggggcagat ttcactctca ccatcagcag tetgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 50

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 50

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Ser Ile Ser Arg Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

[0031] Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 51

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 51

cagagcatta gcagatat

18

<210> 52

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 52
Gln Ser Ile Ser Arg Tyr
1 5

<210> 53
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 53
gctgcatcc

9

<210> 54
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

[0032]

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 54
Ala Ala Ser
1

<210> 55
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 55
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 56

<211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 56
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
 1 5 10

<210> 57
 <211> 1341
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 57
 [0033] caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgtactg tgtctggtgg ctccatcadc agtgatggtt actactggag ttggattcgc 120
 cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacgtcg attacagtgg gaatacctac 180
 tataatccgt ccctcaagag tcgaattatt atgtcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
 tcctgaaat tgacctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtatttctg tgtgagagaa 300
 gggccccttc gggatgcttt tgaaatctgg gggcaaggga caatggtcac cgtctcttca 360
 gcctccacca agggccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 420
 agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtctc 480
 tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtctcct acagtctca 540
 ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 600
 tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc 660
 aaatatggtc ccccatgccc accgtgccc gcaccacctg tggcaggacc atcagtcttc 720

	ctgttcccc caaaacccaa ggacactctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc	780
	gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggatggc	840
	gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt	900
	gtggtcagcg tectcacctg cctgcaccag gactggetga acggcaagga gtacaagtgc	960
	aaggtctcca acaaaggcct cccgtcctcc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg	1020
	cagccccgag agccacaggt gtacaccctg ccccatccc aggaggagat gaccaagaac	1080
	caggtcagcc tgacctgctt ggtcaaagge ttctaccca gcgacatcgc cgtggagtgg	1140
	gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac	1200
	ggctccttct tectctacag caggtcacc gtggacaaga gcaggtggca ggaggggaat	1260
	gtcttctcat gtcccgtgat gcatgagget ctgcacaacc actacacaca gaagtcctc	1320
[0034]	tccctgtctc tgggtaaattg a	1341

<210> 58

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 58

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ile Ser Asp

20 25 30

Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Val Asp Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Ile Ile Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Phe
 85 90 95

Cys Val Arg Glu Gly Pro Leu Arg Asp Ala Phe Glu Ile Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

[0035] Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220

	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	225	230	235	240
	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	245	250	255	
	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	260	265	270	
	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	275	280	285	
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	290	295	300	
[0036]	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	305	310	315	320
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	325	330	335	
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	340	345	350	
	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	355	360	365	
	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	370	375	380	
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	385	390	395	400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 59

<211> 645

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

[0037]

<400> 59

gacatccaga tgaccagtc tccatctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc ggacaagtca gagcattagc agatatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctttgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tggggcagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccctccgat cacctteggc 300
 caagggacac gactggagat taaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
 tatccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc ggtaactcc 480
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 540
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 60

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 60

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Ser Ile Ser Arg Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

[0038] Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ala Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

[0039]

<210> 61

<211> 369

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 61

cagttgcagc tgctggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

atctgcaactg tctctggtgg ctccatcaga ggaagtagtt attactgggg ctggatccgc 120

cagccccag agaaggggct ggagtggatt gggagtatct attctagtgg gactacctat 180

tacaatccgt cctcaagag tcgagtcacc atatccgcag acacgtccaa gaaccagttc 240

tcctgaagc tgagctctgt gaccgcccga gacacggctg tgtattactg tgcgagacat 300

ggggggatta cagcagtcca actggagttc gaccctggg gccaggaac cctggtcacc 360

gtctctca 369

<210> 62

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 62

Gln Leu Gln Leu Leu Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Ile Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Gly Ser
 20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Glu Lys Gly Leu Glu
 35 40 45

[0040]

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg His Gly Gly Ile Thr Ala Val Gln Leu Glu Phe Asp Pro
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 63

<211> 30
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 63
 ggtggctcca tcagaggaag tagttattac

30

<210> 64
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 64
 Gly Gly Ser Ile Arg Gly Ser Ser Tyr Tyr

[0041] 1 5 10

<210> 65
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 65
 atctattcta gtgggagtac c

21

<210> 66
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

aggttcagtg gaagtgagc tgggacagat tttattttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatattg gaacatatta ctgtcaacag tatgataatc tcccgatcac cttcggccaa 300
 gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 70

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 70

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

[0043] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

Leu Lys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ile Leu Ile
 35 40 45

His Asp Ala Ser Asn Leu Glu Ile Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Ile Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Ile
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

	<210> 71	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 71	
	caggacatta gcaactat	18
	<210> 72	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成肽	
	<400> 72	
[0044]	Gln Asp Ile Ser Asn Tyr	
	1 5	
	<210> 73	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 73	
	gatgcatcc	9
	<210> 74	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<223> 人工序列的描述: 合成肽	
	<400> 74	
	Asp Ala Ser	
	1	
	<210> 75	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 75	
	caacagtatg ataatctccc gatcacc	27
	<210> 76	
	<211> 9	
	<212> PRT	
[0045]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成肽	
	<400> 76	
	Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Ile Thr	
	1 5	
	<210> 77	
	<211> 1350	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 77	
	cagttgcagc tgctggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc	60
	atctgcactg tctctggtgg ctccatcaga ggaagtagtt attactgggg ctggatccgc	120

	cagcccccag agaaggggct ggagtggatt gggagtatct attctagtgg gagtacctat	180
	tacaatccgt cctcaagag tcgagtcacc atatccgag acacgtcaa gaaccagttc	240
	tcctgaagc tgagctctgt gaccgcccga gacacggctg tgtattactg tgcgagacat	300
	ggggggatta cagcagtcca actggagttc gaccctggg gccagggaac cctggtcacc	360
	gtctcctcag cctccaccaa gggcccatcg gtcttcccc tggcgcctg ctccaggagc	420
	acctccgaga gcacagccgc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg	480
	acggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta	540
	cagtcctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgcctccag cagcttgggc	600
	acgaagacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga	660
	gttgagtcca aatatggtcc cccatgccc cctgtcccag caccacctgt ggcaggacca	720
[0046]	tcagtcttcc tgttcccccc aaaaccaag gacactctca tgatctcccg gaccctgag	780
	gtcacgtgcg tggtggtgga cgtgagccag gaagacccc aggtccagtt caactggtac	840
	gtggatggcg tggaggtgca taatgccaa acaaagccgc gggaggagca gtcaacagc	900
	acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag	960
	tacaagtgca aggtctcaa caaaggctc ccgtctcca tcgagaaaac catctccaaa	1020
	gccaaagggc agccccgaga gccacaggtg tacaccctgc ccccatcca ggaggagatg	1080
	accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggt tctaccccag cgacatgcc	1140
	gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccagcc tcccgtgctg	1200
	gactccgacg gtccttctt cctctacagc aggctcaccg tggacaagag caggtggcag	1260
	gaggggaatg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacacag	1320
	aagtcctct cctgtctct gggtaaatga	1350

<210> 78

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 78

Gln Leu Gln Leu Leu Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Ile Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Gly Ser
 20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Glu Lys Gly Leu Glu
 35 40 45

[0047] Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg His Gly Gly Ile Thr Ala Val Gln Leu Glu Phe Asp Pro
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
	145					150					155					160
	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
					165					170						175
	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
				180					185						190	
	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val
			195					200							205	
	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys
	210						215					220				
[0048]	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro
	225					230					235					240
	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
					245					250						255
	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp
				260					265						270	
	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
			275					280					285			
	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
	290						295						300			
	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
	305					310					315					320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

[0049] Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 435 440 445

Lys

<210> 79

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 79		
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc		60
atcaactgcc aggcgagtca ggacattagc aactatitaa aatggatatca gcagaaacca		120
gggaaagccc ctaagatcct gatccacgat gcatccaatt tggagatagg ggtcccatca		180
aggttcagtg gaagtggagc tgggacagat tttatitca ccatcagcag cctgcagcct		240
gaagatattg gaacatatta ctgtcaacag taigataatc tcccgatcac cticggccaa		300
gggacacgac tggagattaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cticccgcca		360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat		420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag		480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg		540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgct gegaagtcac ccatcagggc		600
[0050] ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt		642

<210> 80

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 80

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Lys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ile Leu Ile

35 40 45

His Asp Ala Ser Asn Leu Glu Ile Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Ile Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Ile
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

[0051] Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210>	81	
<211>	369	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	人工序列的描述: 合成多核苷酸	
<400>	81	
	cagctgcagc tgcaggagtc ggacccaggc ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc	60
	acctgcactg tctctggtga ctccatcaga aacagtaatt actactgggg ctggatccgc	120
	cagccccccg ggaaggggct ggagtggatt gggagtatct attttagtgg gaggacctat	180
	ttcaaccctg cctcaagag tcgagtcacc atccccgttg acatgtccaa gaaccagttc	240
	tcccttatgt tgaactctgt gaccgccaca gacacggctg tgtattactg tgcgcgacat	300
	gggggtataa cagcagctgg gggcttcttt gactactggg gccagggaac cctggtcacc	360
[0052]	gtctcctca	369
<210>	82	
<211>	123	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	人工序列的描述: 合成多肽	
<400>	82	
	Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Asp Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu	
	1 5 10 15	
	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Arg Asn Ser	
	20 25 30	
	Asn Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu	

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

[0053]

<210> 83

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 83

ggtgactcca tcagaaacag taattactac

30

<210> 84

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 84

Gly Asp Ser Ile Arg Asn Ser Asn Tyr Tyr
 1 5 10

<210> 85

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 85

atctatttta gtgggaggac c 21

<210> 86

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

[0054]

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 86

Ile Tyr Phe Ser Gly Arg Thr

1 5

<210> 87

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 87

gcgcgacatg ggggtataac agcagctggg ggcttctttg actac 45

<210> 88

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 88

Ala Arg His Gly Gly Ile Thr Ala Ala Gly Gly Phe Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 89

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 89

	gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
[0055]	atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatntaa attggtatca acagaaacca	120
	gggaaagccc ctaacgtcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca	180
	aggttcagtg gaagtgggtc tgggacagat ttacgttca ccatcagcag tctacagcct	240
	gaagatnttg caacatatta ttgtcaacag aatgataatc tcccgtcac tttcgcgga	300
	gggaccaagg tggagatcaa a	321

<210> 90

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 90

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Val Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asp Asn Leu Pro Leu
 85 90 95

[0056] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 91

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 91

caggacatta gcaactat

18

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 92
Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 93
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 93
gatgcatcc

9

<210> 94
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

[0057]

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 94
Asp Ala Ser
1

<210> 95
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 95
caacagaatg ataatctccc gctcact

27

<210> 96

<211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 96
 Gln Gln Asn Asp Asn Leu Pro Leu Thr
 1 5

<210> 97
 <211> 1350
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 97

[0058] cagctgcagc tgcaggagtc ggacccaggc ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtga ctccatcaga aacagtaatt actactgggg ctggatccgc 120
 cagccccccg ggaaggggct ggagtggatt gggagtatct attttagtgg gaggacctat 180
 ttcaaccctg ccctcaagag tcgagtcacc atccccgttg acatgtccaa gaaccagttc 240
 tcccttatgt tgaactctgt gaccgccaca gacacggctg tgtattactg tgcgcgacat 300
 ggggtataa cagcagctgg gggtctcttt gactactggg gccagggaac cctggtcacc 360
 gtctcctcag cctccaccaa gggeccatcg gtcttcccc tggcgccttg ctccaggagc 420
 acctccgaga gcacagccgc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg 480
 acgggtgctg ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta 540
 cagtcctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgcctccag cagcttgggc 600
 acgaagacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga 660
 gttgagtcca aatatggtcc cccatgccca ccgtgccag caccacctgt ggcaggacca 720

tcagtcttcc	tgttcccccc	aaaaccaag	gacactctca	tgatctccc	gaccctgag	780
gtcacgtgcg	tggtggtgga	cgtgagccag	gaagacccc	aggtccagtt	caactggtac	840
gtggatggcg	tggaggtgca	taatgccaag	aaaagccgc	gggaggagca	gttcaacagc	900
acgtaccgtg	tggtcagcgt	cctcaccgtc	ctgcaccagg	actggetgaa	cggcaaggag	960
tacaagtgca	aggtctccaa	caaaggectc	ccgtctctca	tcgagaaaac	catctccaaa	1020
gccaaagggc	agccccgaga	gccacaggtg	tacaccctgc	ccccatccca	ggaggagatg	1080
accaagaacc	aggtcagcct	gacctgcctg	gtcaaagget	tctaccccag	cgacatcgcc	1140
gtggagtggg	agagcaatgg	gcagccggag	aacaactaca	agaccacgcc	tcccgtgctg	1200
gactccgacg	gtctcttctt	cctctacagc	aggctcaccg	tggacaagag	caggtggcag	1260
gaggggaatg	tcttctcatg	ctccgtgatg	catgaggetc	tgcacaacca	ctacacacag	1320
[0059]	aagtcctctc	ccctgtctct	gggtaaatga			1350

<210> 98

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 98

Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Asp Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Arg Asn Ser
 20 25 30

Asn Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Phe Ser Gly Arg Thr Tyr Phe Asn Pro Ser
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Pro Val Asp Met Ser Lys Asn Gln Phe
 65 70 75 80

Ser Leu Met Leu Asn Ser Val Thr Ala Thr Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg His Gly Gly Ile Thr Ala Ala Gly Gly Phe Phe Asp Tyr
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 115 120 125

[0060] Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
 130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
 195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
 210 215 220

	Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro		
	225	230	240
	Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
		245	255
	Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp		
		260	270
	Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
		275	285
	Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
		290	300
[0061]	Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
	305	310	320
	Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys		
		325	335
	Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
		340	350
	Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
		355	365
	Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
		370	380
	Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
		385	400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 435 440 445

Lys

- <210> 99
- <211> 645
- <212> DNA
- <213> 人工序列

[0062]

- <220>
- <223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 99
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatttaa attggtatca acagaaacca 120
 gggaaagccc ctaacgtcct gatctacgat gcatccaatt tggaacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtgggtc tgggacagat tttacgttca ccatcagcag tetacagcct 240
 gaagattttg caacatatta ttgtcaacag aatgataatc tcccgtcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat ctcccgccca 360
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgtttgtg gcctgctgaa taacttctat 420
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 100

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 100

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

[0063]

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Val Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asp Asn Leu Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

[0064] Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 101

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 101

caggtgcagc tggtagcagtc tggggctgag gtgatgaagc ctggggcctc agtgaaggct 60

tcctgcaagg tttccgata caccctcagt gatttatcca tgcaactgggt gcgacaggct 120

cctggaaaag gacttgagtg gatgggaggt tttgatttcg aacatggtaa aacaatctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accgaggaca catctacaga cacaacctac 240

atggagctga gtagtctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aaaggtacct 300

aactggggat tctttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca

354

<210> 102

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 102

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Ser Asp Leu
 20 25 30

[0065] Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Gly Phe Asp Phe Glu His Gly Lys Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Thr Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Val Pro Asn Trp Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 103
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 103
 ggatacaccc tcagtgatt atcc

24

<210> 104
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

[0066] <400> 104
 Gly Tyr Thr Leu Ser Asp Leu Ser
 1 5

<210> 105
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 105
 tttgatttcg aacatggtaa aaca

24

<210> 106
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 106

Phe Asp Phe Glu His Gly Lys Thr

1 5

<210> 107

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 107

gcaaaggtac ctaactgggg attctttgac tac

33

<210> 108

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

[0067]

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 108

Ala Lys Val Pro Asn Trp Gly Phe Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 109

<211> 336

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 109

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc

60

atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gattcaacta ttggattgg

120

tacctgcaga gccagggtca gtctccacaa ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
 tccgggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggtt tattactgca tgcaggctct acaaactcct 300
 ctcactttcg gcggaggac caagtgag atcaaa 336

<210> 110

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 110

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

[0068]

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

Asn Gly Phe Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

	100	105	110
	<210> 111		
	<211> 33		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸		
	<400> 111		
	cagagcctcc tgcataagtaa tggattcaac tat		33
	<210> 112		
	<211> 11		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
[0069]	<223> 人工序列的描述: 合成肽		
	<400> 112		
	Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Phe Asn Tyr		
	1 5 10		
	<210> 113		
	<211> 9		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸		
	<400> 113		
	ttgggttct		9
	<210> 114		
	<211> 3		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		

- <220>
<223> 人工序列的描述: 合成肽
- <400> 114
Leu Gly Ser
1
- <210> 115
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
- <220>
<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸
- <400> 115
atgcaggctc tacaactcc tctcact 27
- [0070] <210> 116
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
- <220>
<223> 人工序列的描述: 合成肽
- <400> 116
Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Leu Thr
1 5
- <210> 117
<211> 1335
<212> DNA
<213> 人工序列
- <220>
<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸
- <400> 117
cagggtgcagc tggtagctc tggggctgag gtgatgaagc ctggggcctc agtgaaggc 60

	tctgcaagg tttccggata caccctcagt gatttatcca tgcactgggt gcgacaggct	120
	cctggaaaag gacttgagt gatgggaggt tttgatttcg aacatggtaa aacaatctac	180
	gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctacaga cacaacctac	240
	atggagctga gtagtctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aaaggtacct	300
	aactggggat tctttgacta ctggggccag ggaacctgg tcaccgtctc ctcagcctcc	360
	accaagggcc catcggctct cccctggcg cctgtctcca ggagcacctc cgagagcaca	420
	gccgccctgg gctgcctgg caaggactac ttccccgaac cggtgacgggt gtctggaac	480
	tcaggcgecc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcttacagtc ctcaggactc	540
	tactccctca gcagcgtggt gaccgtgcc tccagcagct tgggcacgaa gacctacacc	600
	tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagtga gtccaaatat	660
	ggtcccccat gccaccgtg cccagcacca cctgtggcag gaccatcagt cttcctgttc	720
[0071]	ccccaaaac ccaaggacac tctcatgac tcccggacce ctgaggtcac gtgcgtgggtg	780
	gtggacgtga gccaggaaga ccccaggctc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag	840
	gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gacagttca acagcacgta ccgtgtggtc	900
	agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc	960
	tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag aaaacctct ccaaagccaa agggcagccc	1020
	cgagagccac aggtgtacac cctgccccca tcccaggagg agatgaccaa gaaccaggtc	1080
	agcctgacct gcctggtcaa aggettctac cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc	1140
	aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctccc tgctggactc cgacggctcc	1200
	ttttctctc acagcagget caccgtggac aagagcaggt ggcaggaggg gaatgtctc	1260
	tcatgctccg tgatgatga ggctctgcac aacctacta cacagaagtc cctctcctg	1320
	tctctgggta aatga	1335

<210> 118

<211> 444

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 118

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Met Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Ser Asp Leu
 20 25 30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

[0072]

Gly Gly Phe Asp Phe Glu His Gly Lys Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Thr Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Val Pro Asn Trp Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
210 215 220

[0073]

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

305	310	315	320
Ser Asn Lys Gly	Leu Pro Ser Ser Ile	Glu Lys Thr Ile Ser	Lys Ala
	325	330	335
Lys Gly Gln Pro Arg	Glu Pro Gln Val Tyr Thr	Leu Pro Pro Ser	Gln
	340	345	350
Glu Glu Met Thr Lys	Asn Gln Val Ser Leu Thr	Cys Leu Val Lys	Gly
	355	360	365
Phe Tyr Pro Ser Asp	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser	Asn Gly Gln Pro	
	370	375	380
Glu Asn Asn Tyr Lys	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp	Ser Asp Gly Ser	
385	390	395	400

[0074]

Phe Phe Leu Tyr Ser	Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser	Arg Trp Gln Glu	
	405	410	415
Gly Asn Val Phe Ser	Cys Ser Val Met His Glu Ala	Leu His Asn His	
	420	425	430
Tyr Thr Gln Lys Ser	Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		
	435	440	

<210> 119

<211> 660

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 119

	gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaga gccggcctcc	60
	atctctgca ggtctagtca gagcctctg catagtaatg gattcaacta tttggattgg	120
	tacctgcaga ggccaggta gctccacaa ctctgatct atttgggttc taatcgggcc	180
	tccgggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc	240
	agcagagtgg aggctgagga tgttgggtt tattactgca tgcaggctct acaaactcct	300
	ctcactttcg gcggaggac caaggtggag atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc	360
	ttcatcttc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tigtgcctg	420
	ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtga aggtggataa cgcctccaa	480
	tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagctc	540
	agcagcacc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa	600
[0075]	gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagact tcaacagggg agagtgttag	660

<210> 120

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 120

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asn Gly Phe Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

[0076] Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 121	
<211> 366	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
<400> 121	
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc	60
acttgcaactg tctctggtga ctccatcagt gtttattatt ggacctggat ccggcagccc	120
ccaggaagg gactggagtg gattgggtat gtccattata ctgggtatac caactacaat	180
ccctccctca agagtcgagt caccatgtca gtcgacacgg ccaagaaaca gatctccctg	240
aaggtgaggt ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtttact actgtgcgcg aacaattcca	300
gctgccgecc actactacca cggaacggac gctctggggcc caggaccac ggtcacctc	360
[0077] tcctca	366

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

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 122
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Val Tyr
 20 25 30
 Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Val His Tyr Thr Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ala Lys Lys Gln Ile Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Val Arg Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Thr Ile Pro Ala Ala Ala His Tyr Tyr His Gly Thr Asp Val Trp
 100 105 110

Gly Pro Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

[0078] <210> 123
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 123
 ggtgactcca tcagtgttta ttat

24

<210> 124
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 124
 Gly Asp Ser Ile Ser Val Tyr Tyr
 1 5

<210> 125	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
<400> 125	
gtccattata ctgggtatac c	21
<210> 126	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成肽	
[0079] <400> 126	
Val His Tyr Thr Gly Tyr Thr	
1 5	
<210> 127	
<211> 48	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
<400> 127	
gcgcgaacaa ttccagctgc cgcccactac taccacggaa cggacgtc	48
<210> 128	
<211> 16	
<212> PRT	
<213> 人工序列	

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 128

Ala Arg Thr Ile Pro Ala Ala Ala His Tyr Tyr His Gly Thr Asp Val
1 5 10 15

<210> 129

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 129

gacatccaga tgaccagtc tccatctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggcgaatca ggacattagg aaatatttaa attggtatca gcagaaatca 120
[0080] gggaaagccc ctacactcct gatctacgag gcgtccaatt tggagacagg ggccccatca 180
acgttcagtg gaagtggatc tgggacagaa ttactttca ctatcagcag tctgcggcct 240
gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgagagtc ttccgctcac ttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 130

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 130

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Asn Gln Asp Ile Arg Lys Tyr

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

[0081]

<210> 131

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 131

caggacatta ggaaatat

18

<210> 132

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 132

Gln Asp Ile Arg Lys Tyr
1 5

<210> 133

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 133

gaggcgtcc

9

<210> 134

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

[0082]

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 134

Glu Ala Ser

1

<210> 135

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 135

caacagtatg agagtcttcc getcact

27

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 136

Gln Gln Tyr Glu Ser Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 137

<211> 1347

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 137

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttegagac cctgtccctc 60

[0083]

acttgactg tctctggtga ctccatcagt gtttattatt ggacctggat ccggcagccc 120

ccaggaagg gactggagtg gattgggtat gtccattata ctgggtatac caactacaat 180

ccctccctca agagtcgagt caccatgtca gtcgacacgg ccaagaaaca gatctccctg 240

aagtgaggt ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtttact actgtgcgcg aacaattcca 300

gctgccgcc actactacca cggaacggac gctcggggcc cagggaccac ggtcacctgc 360

tcctcagcct ccaccaaggc cccatcggtc ttccccctgg cgccctgctc caggagcacc 420

tccgagagca cagccgccct gggtgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca cttccccggc tgtcctacag 540

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacg 600

aagacctaca cctgcaacgt agatcacaag ccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt 660

gagtcctaat atggtcccc atgccaccg tgcccagcac cacctgtggc aggacctca 720

gtcttctgt tcccccaaa acccaaggac actctcatga tctcccggac ccctgaggtc 780

acgtgcgtgg tgggtggacgt gagccaggaa gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg	840
gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagtt caacagcacg	900
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac	960
aagtgaagg tctccaacaa aggcctcccg tcttccatcg agaaaacat ctccaaagcc	1020
aaagggcagc cccgagagcc acaggtgtac acctgcccc catcccagga ggagatgacc	1080
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct accccagcga catgcctgtg	1140
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac	1200
tccgacggct cettcttctct ctacagcagg ctacacgtgg acaagagcag gtggcaggag	1260
gggaatgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctc acaaccacta cacacagaag	1320
tcctctctcc tgtctctggg taaatga	1347

[0084]

<210> 138

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 138

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Val Tyr
 20 25 30

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Val His Tyr Thr Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

225		230		235		240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg						
		245		250		255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro						
		260		265		270
Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala						
		275		280		285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val						
		290		295		300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr						
305		310		315		320
[0086]						
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr						
		325		330		335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu						
		340		345		350
Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys						
		355		360		365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser						
		370		375		380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp						
385		390		395		400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser						

405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 139
 <211> 645
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

[0087]

<400> 139
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcaactgcc aggcgaatca ggacattagg aatatatata attggtatca gcagaaatca 120
 gggaaagccc ctacactcct gatctacgag gcgtccaatt tggagacagg ggccccatca 180
 acgttcagtg gaagtggatc tgggacagaa tttactttca ctatcagcag tctgcggcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgagagtc ttccgetcac tttcgcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgttctcat ctccccgcca 360
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgetgaa taacttctat 420
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 140

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 140

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Asn Gln Asp Ile Arg Lys Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Lys Ala Pro Thr Leu Leu Ile
 35 40 45

[0088]

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Ala Pro Ser Thr Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Arg Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu Ser Leu Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

[0089]

<210> 141

<211> 381

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 141

gaagtgcagc tggaggagtc tgggggaggc gtggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt cegtcaagct 120

ccagggaagg gtctggagtg ggtctctctg attagtgggg atggtgataa tacatactat 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acaacaaaaa ctcctatat 240

ctgcaaatga acagtctgag aactgaggac accgccttct attactgtgc aaaagaactc 300

atTTTTGGAA aggttctcca tgacttttac tactacgtta tggacgtctg gggccaaggg 360

accacggtea cgtctctc a 381

<210> 142

<211> 127

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 142

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

[0090]

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Asn Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Glu Leu Ile Phe Gly Lys Val Leu His Asp Phe Tyr Tyr Tyr
 100 105 110

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

<210> 143

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 143

ggattcacct ttgatgatta tgcc

24

<210> 144

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 144

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala

1 5

[0091]

<210> 145

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 145

attagtgggg atggtgataa taca

24

<210> 146

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 146

Ile Ser Gly Asp Gly Asp Asn Thr

1 5

<210> 147

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 147

gcaaaagaac tcatttttgg aaagttctc catgactttt actactacgt tatggacgtc 60

<210> 148

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

[0092]

<400> 148

Ala Lys Glu Leu Ile Phe Gly Lys Val Leu His Asp Phe Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Val Met Asp Val

20

<210> 149

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 149

gacatccaga tgaccagtc tccatectcc ctgtctgeat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 150

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 150

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

[0093]

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100

105

<210> 151

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 151

cagagcatta gcagctat

18

<210> 152

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

[0094]

<400> 152

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1

5

<210> 153

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 153

gctgcatcc

9

<210> 154

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

- <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽
- <400> 154
 Ala Ala Ser
 1
- <210> 155
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸
- <400> 155
 caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30
- [0095] <210> 156
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽
- <400> 156
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
 1 5 10
- <210> 157
 <211> 1362
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸
- <400> 157
 gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt cegtcaagct	120
	ccaggaagg gtctggagtg ggtctctctg attagtgggg atggtgataa tacatactat	180
	gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acaacaaaaa ctccctatat	240
	ctgcaaatga acagtctgag aactgaggac accgccttct attactgtgc aaaagaactc	300
	atthttggaa aggtttcca tgacttttac tactacgtta tggacgtctg gggccaaggg	360
	accacgtca cgtctctc agcctccacc aagggeccat cggctctccc cctggcgccc	420
	tgctccagga gcacctccga gagcacagcc gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc	480
	cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca ggcgcctga ccagcggcgt gcacaccttc	540
	ccggtgtcc tacagtctc aggaetctac tccctcagca gcgtggtgac cgtgcctcc	600
	agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc aacgtagatc acaagcccag caacaccaag	660
	gtggacaaga gagttgagtc caaatatggt ccccatgcc caccgtgcc agcaccacct	720
[0096]	gtggcaggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaacca aggacactct catgatctcc	780
	cggaccctg aggtcacgtg cgtgggtgtg gacgtgagcc aggaagacc cagaggtccag	840
	ttcaactggt acgtggatgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag	900
	cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtctcaccg tctgcacca ggactggctg	960
	aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagcc tccctctc catcgagaaa	1020
	accatctcca aagccaaagg gcagccccga gagccacagg tgtacacct gccccatcc	1080
	caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg ctctacccc	1140
	agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccag	1200
	cctcccgtgc tggactccga cggtccttc ttctctaca gcaggtcac cgtggacaag	1260
	agcaggtggc aggaggggaa tgtcttctca tgctccgtga tgcatgagc tctgcacaac	1320
	cactacacac agaagtcct ctccctgtct ctgggtaaat ga	1362

<210> 158

<211> 453

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 158

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

[0097]

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Asn Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Glu Leu Ile Phe Gly Lys Val Leu His Asp Phe Tyr Tyr Tyr
 100 105 110

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

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser

130 135 140

Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
165 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
180 185 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr
195 200 205

Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg
210 215 220

[0098]

Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro
225 230 235 240

Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

305	310	315	320	
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser	325	330	335	
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro	340	345	350	
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln	355	360	365	
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala	370	375	380	
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr	385	390	395	400
[0099]				
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu	405	410	415	
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser	420	425	430	
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser	435	440	445	
Leu Ser Leu Gly Lys	450			
<210> 159				
<211> 648				
<212> DNA				
<213> 人工序列				

	<220>		
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸		
	<400> 159		
	gacatccaga tgaccagtc tccatctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60	
	atcaactgcc gggcaagtca gagcattage agctatttaa attggtatca gcagaaacca	120	
	gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca	180	
	aggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct	240	
	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc	300	
	caaggacac gactggagat taaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttccc	360	
	ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	420	
	tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cccccaatc gggtaaactc	480	
[0100]	caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg	540	
	acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag	600	
	ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgtag	648	
	<210> 160		
	<211> 215		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 人工序列的描述: 合成多肽		
	<400> 160		
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
	1 5 10 15		
	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr		
	20 25 30		

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

[0101] Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 161
<211> 381
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 161
gaagtgcagc tggtagagtc tgggggaggc gtggtacagc cgggggggtc cctgagactc 60
tctctggaag cctctggatt tatttttgat gattatgcca tgcactgggt cegtcaagct 120
ccaggaagg gtctggagtg ggtctctctc attagtgggg atggtgatat catatactat 180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acagcaaaaa ctccctgtat 240
[0102] cttcaaatga acagtctgat aattgaggac accgccttgt attactgtgc aaaggattgg 300
gtctttggcg tggttatgac ccactactgg tacttcggat tggacgtctg gggccaaggg 360
accacggtea cegtctctc a 381

<210> 162
<211> 127
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 162
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Asp Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Ile Ile Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Trp Val Phe Gly Val Val Met Thr His Tyr Trp Tyr Phe
 100 105 110

[0103] Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 163

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 163

ggatttattt ttgatgatta tgcc

24

<210> 164

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 164
 Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr Ala
 1 5

<210> 165
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 165
 attagtgggg atggtgatat cata 24

<210> 166
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0104]

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 166
 Ile Ser Gly Asp Gly Asp Ile Ile
 1 5

<210> 167
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 167
 gcaaaggatt gggctctttgg cgtggttatg acccactact ggtacttcgg attggacgtc 60

<210> 168

<211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 168
 Ala Lys Asp Trp Val Phe Gly Val Val Met Thr His Tyr Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Val
 20

<210> 169
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> 人工序列

[0105] <220>
 <223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 169
 gacatccaga tgaccagtc tccatctcc ctgtctgcat ctgaaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc acctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaactcct gatctatggt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccctccgat cacctteggc 300
 caagggacca aggtggaat caaa 324

<210> 170
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 170

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Glu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

[0106]

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 171

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 171

cagagcatta gcacctat

18

<210> 172

<211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 172
 Gln Ser Ile Ser Thr Tyr
 1 5

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

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 173
 ggtgcatcc

[0107]

9

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

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 174
 Gly Ala Ser
 1

<210> 175
 <211> 1362
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 175	
gaagtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtacagc cggggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgaag ccctctggatt tatttttgat gattatgcca tgcactgggt cegtcaagct	120
ccaggaagg gtctggagtg ggtctctctc attagtgggg atggtgatat catatactat	180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acagcaaaaa ctccctgtat	240
cttcaaatga acagtctgat aattgaggac accgccttgt attactgtgc aaaggattgg	300
gtctttggcg tggttatgac ccaactactgg tacttcggat tggacgtctg gggccaaggg	360
accacggtea ccgtctctc agcctccacc aagggcccat cggctctccc cctggcgccc	420
tgctccagga gcacctccga gacacagcc gccctgggct gcctgggcaa ggactacttc	480
cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt gcacacctc	540
ccggctgtcc tacagtctc aggactctac tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc	600
[0108] agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc aacgtagatc acaagcccag caacaccaag	660
gtggacaaga gaggtagtc caaatatggt ccccatgcc caccgtgccc agcaccacct	720
gtggcaggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaacca aggacactct catgatctcc	780
cggaccctg aggtcacgtg cgtgggtgtg gacgtgagcc aggaagacc caggtccag	840
ttcaactggt acgtggatgg cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag	900
cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtctcaccg tctgcacca ggactggctg	960
aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaaggcc tccgtctctc catcgagaaa	1020
accatctcca aagccaaagg gcagccccga gagccacagg tgtacacct gcccccctcc	1080
caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg cttctacccc	1140
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg	1200
cctcccgtgc tggactccga cggtctctc ttctctaca gcaggctcac cgtggacaag	1260

agcaggtggc aggaggggaa tgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac 1320

cactacacac agaagtcctt ctcctgtct ctgggtaaat ga 1362

<210> 176

<211> 453

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 176

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

[0109]

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Asp Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Ile Ile Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Trp Val Phe Gly Val Val Met Thr His Tyr Trp Tyr Phe
 100 105 110

Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 115 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser
 130 135 140

Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 165 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 180 185 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr
 195 200 205

[0110] Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg
 210 215 220

Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro
 225 230 235 240

Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 260 265 270

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 275 280 285

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
325 330 335

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380

[0111] Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Gly Lys
450

<210> 177

<211> 648

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 177	
	gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgaaggaga cagagtcacc	60
	atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc acctatttaa attggtatca gcagaaacca	120
	gggaaagccc ctaaactcct gatctatggt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180
	aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct	240
	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc	300
	caagggacca aggtggaat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg	360
	ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	420
[0112]	tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc	480
	caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccttg	540
	acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag	600
	ggcctgagct cgccccgcac aaagagcttc aacaggggag agtgtag	648
	<210> 178	
	<211> 215	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多肽	
	<400> 178	
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Glu Gly	
	1 5 10 15	
	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr	

195

200

205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 179

<211> 378

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 179

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggagge gtggtacage ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccgtcaagct 120

[0114]

ccaggaagg gtctggagtg ggtctctctt attagtgggg gtggtggtgg cacatactat 180

tcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca ccagcaaaga ctccctgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag aactgaggac accgccttgt attactgtgc aaaagatatg 300

gtttttggag tggttacccc ctactactac ttcgctttgg acgtctgggg ccaagggacc 360

acggtcaccg tctcctca 378

<210> 180

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 180

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Gly Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ser Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asp Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Met Val Phe Gly Val Val Thr Pro Tyr Tyr Tyr Phe Ala
 100 105 110

[0115]

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 181

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 181

attagtgggg gtggtggtgg caca

24

<210> 182

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 185

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcattccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagtg cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 186

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

[0117] <220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 186

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ala Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 187

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 187

cagagcatta acagctat

18

[0118]

<210> 188

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 188

Gln Ser Ile Asn Ser Tyr

1

5

<210> 189

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 189

caacagagtt acagtgcccc tccgatcacc

30

<210> 190
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 190
 Gln Gln Ser Tyr Ser Ala Pro Pro Ile Thr
 1 5 10

<210> 191
 <211> 1359
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

[0119]

<400> 191
 gaagtcgagc tggtagagtc tgggggaggc gtggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tctgtgagc cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccgtaagct 120
 ccagggaagg gtctggagtg ggtctctctt attagtgggg gtggtggtgg cacatactat 180
 tcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca ccagcaaaga ctccctgtat 240
 ctgcaaatga acagtctgag aactgaggac accgccttgt attactgtgc aaaagatatg 300
 gtttttggag tggttacccc ctactactac ttcgctttgg acgtctgggg ccaagggacc 360
 acggtcaccg tctcctcagc ctccaccaag ggcccatcgg tcttcccctt ggcgccttgc 420
 tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggetgcc tggtaagga ctacttcccc 480
 gaaccggtga cgggtctgtg gaactcaggc gccctgacca gggcgtgca caccttcccc 540
 gctgtcctac agtcctcagg actctactcc ctcagcagcg tggtagccgt gcctccagc 600

	agcttgggca cgaagaccta cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaaggtg	660
	gacaagagag ttgagtccaa atatggtccc ccatgccac cgtgcccagc accacctgtg	720
	gcaggaccat cagtcttctt gtcccccca aaaccaagg acactctcat gatctcccgg	780
	accctgagg tcacgtgctt ggtggtggac gtgagccagg aagacccga ggtccagttc	840
	aactggtacg tggatggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgag ggaggagcag	900
	ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac	960
	ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagcctcc cgtcctccat cgagaaaacc	1020
	atctccaaag ccaaagggca gccccgagag ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag	1080
	gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcttgg tcaaaggctt ctaccccagc	1140
	gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct	1200
[0120]	cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttc ctctacagca ggctcaccgt ggacaagagc	1260
	aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggtctt gcacaaccac	1320
	tacacacaga agtccctctc cctgtctctg ggtaaata	1359

<210> 192

<211> 452

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 192

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Gly Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ser Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asp Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Met Val Phe Gly Val Val Thr Pro Tyr Tyr Tyr Phe Ala
 100 105 110

[0121] Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 130 135 140

Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr
 195 200 205

	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val
	210						215					220				
	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val
	225					230					235					240
	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu
					245					250						255
	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser
				260						265					270	
	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu
			275					280					285			
[0122]	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr
	290						295					300				
	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn
	305					310					315					320
	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser
					325					330					335	
	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln
				340					345					350		
	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val
			355					360					365			
	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val
	370						375					380				

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
 405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445

Ser Leu Gly Lys
 450

[0123]

<210> 193

<211> 648

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 193

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagatthtg caacttacta ctgtcaacag agttacagtg cccctccgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaacgaact gtggctgcac catctgtett catcttcccg 360
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgectgct gaataacttc 420
 tatccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaate gggtactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 540
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag 648

<210> 194

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 194

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

[0124] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ala Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

[0125] Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 195

<211> 378

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 195

gaagtgcagc tggtagtc tgggggagc gtggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tctgtgcag cctctggatt catttttgat gattatgcca tgcactgggt cgtcaagtt 120

ccaggaagg gtctggagtg gatctctctt agtagtgggg gtggtggtgg cacatactat 180

gcagaccctg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca acagcaaaaa ctcctgcat 240
 cttcaaatga atagtctgag agctgaggac accgcctcat attattgtgc aaaagacatg 300
 gtttttgggg tggttacccc cgacttcctt tttgctatgg acgtctgggg ccaagggacc 360
 acggtcaccg tctcctca 378

<210> 196

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 196

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

[0126]

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Ser Leu Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Pro Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu His
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ser Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Met Val Phe Gly Val Val Thr Pro Asp Phe Phe Phe Ala
 100 105 110

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

<210> 197

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 197

ggattcattt ttgatgatta tgcc

24

<210> 198

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

[0127]

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 198

agtagtgggg gtggtggtg caca

24

<210> 199

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 199

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly Thr

1 5

<210> 200

	<211> 57	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 200	
	gcaaaagaca tggtttttgg ggtggttacc cccgacttct tttttgetat ggacgtc	57
	<210> 201	
	<211> 19	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成肽	
	<400> 201	
	Ala Lys Asp Met Val Phe Gly Val Val Thr Pro Asp Phe Phe Phe Ala	
[0128]	1 5 10 15	
	Met Asp Val	
	<210> 202	
	<211> 324	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 202	
	gacatccaga tgaccagtc tccatectcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
	atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc acctatttaa attggtatca gcagaaacca	120
	gggaaagccc ctaagctcct gatctatggt gcatccagtt tgcaaagggg ggtcccatca	180
	aggttcagtg gcagtggtac tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct	240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag acttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caaggacac gactggagat taaa 324

<210> 203

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 203

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr
 20 25 30

[0129]

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 204

	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 204	
	caacagactt acagtacccc tccgatcacc	30
	<210> 205	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成肽	
	<400> 205	
	Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
[0130]	1 5 10	
	<210> 206	
	<211> 1359	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 206	
	gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtacagc ctggggggtc cctgagactc	60
	tccctgtcag cctctggatt catttttgat gattatgcca tgcactgggt ccgtcaagtt	120
	ccaggaagg gtctggagtg gatctctctt agtagtgggg gtggtggtgg cacatactat	180
	gcagaccctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acagcaaaaa ctccctgcat	240
	cttcaaata atagtctgag agctgaggac accgcctcat attattgtgc aaaagacatg	300
	gtttttgggg tggttacccc cgacttcttt ttgctatgg acgtctgggg ccaagggacc	360

	acggtcaccg tctcctcagc ctccaccaag ggcccatcgg tcttcccctt ggcgcctgc	420
	tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc	480
	gaaccggtga cgggtgctgt gaactcagge gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc	540
	gctgtcctac agtcctcagg actctactcc ctccagcagg tggtagacct gccctccagc	600
	agcttgggca cgaagaccta cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg	660
	gacaagagag ttgagtccaa atatggtccc ccatgcccac cgtgcccagc accacctgtg	720
	gcaggacat cagtcttctt gttccccca aaaccaag acactctcat gatctcccgg	780
	accctgagg tcacgtgctt ggtggtggac gtgagccagg aagacccga ggtccagttc	840
	aactggtacg tggatggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	900
	ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac	960
[0131]	ggcaaggagt acaagtcaa ggtctccaac aaaggcctcc cgtctccat cgagaaaacc	1020
	atctccaaag ccaaggga gccccgagag ccacaggtgt acacctgcc cccatcccag	1080
	gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc	1140
	gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccagcct	1200
	cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct ctctacagca ggtcaccgt ggacaagagc	1260
	aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	1320
	tacacacaga agtccctctc cctgtctctg ggtaaatga	1359

<210> 207

<211> 452

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 207

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Ser Leu Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Pro Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu His
 65 70 75 80

[0132] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ser Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Met Val Phe Gly Val Val Thr Pro Asp Phe Phe Phe Ala
 100 105 110

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

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 130 135 140

Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr
 195 200 205

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
 210 215 220

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
 225 230 235 240

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255

[0133]

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
 325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
 405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430

[0134]

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445

Ser Leu Gly Lys
 450

<210> 208

<211> 648

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 208

gacatccaga tgaccagtc tccatctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattage acctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctect gatctatggt gcatccagtt tgcaaagggg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag acttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccttg 540
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag 648

<210> 209

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列

[0135]

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 209

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160

[0136] Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 210

<211> 375

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 210

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgtag cgtctggatt caccttcagt agttatggca tgcaactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggaatg ggtggcagtt atatggtatg ttggaagtaa taaatattat 180
 ggagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtct attactgtgc gagagatctg 300
 atagcagatc gtccgggcta ctactataac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cctca 375

<210> 211

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

[0137]

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 211

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Val Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

	<220>		
	<223>	人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400>	214	
		atatggtatg ttggaagtaa taaa	24
	<210>	215	
	<211>	8	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	人工序列的描述: 合成肽	
	<400>	215	
		Ile Trp Tyr Val Gly Ser Asn Lys	
		1 5	
[0139]	<210>	216	
	<211>	54	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400>	216	
		gcgagagatc tgatagcaga tcgtccgggc tactactata acggtatgga cgtc	54
	<210>	217	
	<211>	18	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	人工序列的描述: 合成肽	
	<400>	217	
		Ala Arg Asp Leu Ile Ala Asp Arg Pro Gly Tyr Tyr Tyr Asn Gly Met	
		1 5 10 15	

Asp Val

<210> 218

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 218

gaaattgtga tgacgcagtc tccagtcacc ctgtttgtgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgtgaac accaacttag cctggtacca acagcaacct 120

ggccaggtc ccaggtcct catccatgga gcatccacca ggcccactgg tgtcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca tcatcagcag cctgcagtct 240

[0140]

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcaa tataataatt ggccccctg gacgttcggc 300

caagggacca aggtggaaat caaa 324

<210> 219

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 219

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Val Thr Leu Phe Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Thr Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

His Gly Ala Ser Thr Arg Pro Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Ile Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Pro
 85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

[0141] <210> 220
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 220
 cagagtgtga acaccaac

18

<210> 221
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 221
 Gln Ser Val Asn Thr Asn
 1 5

	<210> 222	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 222	
	ggagcatcc	9
	<210> 223	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
[0142]	<400> 223	
	cagcaatata ataattggcc cccgtggacg	30
	<210> 224	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成肽	
	<400> 224	
	Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Pro Trp Thr	
	1 5 10	
	<210> 225	
	<211> 1356	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 225

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc	60
tctctgttag cgtctggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct	120
ccaggcaagg ggctggaatg ggtggcagtt atatggtatg ttggaagtaa taaatattat	180
ggagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtct attactgtgc gagagatctg	300
atagcagatc gtccgggcta ctactataac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg	360
gtcaccgtct cctcagectc caccaagggc ccatcggctt tccccctggc gccctgctcc	420
aggagcacct ccgagagcac agccgccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa	480
ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgct	540
[0143] gtcttacagt cctcaggact ctactcctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc	600
ttgggcacga agacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac	660
aagagagttg agtccaaata tgggtcccca tggccaccgt gccagcacc acctgtggca	720
ggaccatcag tcttctgtt cccccaaaa cccaaggaca ctctcatgat ctccccgacc	780
cctgaggtea cgtgcgtggt ggtggacgtg agccaggaag accccgaggt ccagttcaac	840
tggtacgtgg atggcgtgga ggtgcataat gccaaagaaa agccgcggga ggagcagttc	900
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtctc accgtctgc accaggactg gctgaacggc	960
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa ggctctccgt cctccatcga gaaaaccatc	1020
tccaaagcca aagggcagcc ccgagagcca caggtgtaca cctgcccc atcccaggag	1080
gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgctgtgta aagcttcta ccccagcagc	1140
atgccctgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc	1200

gtgctggact cgcacggctc cttcttctc tacagcaggc tcaccgtgga caagagcagg 1260
 tggcaggagg ggaatgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggetctgca caaccactac 1320
 acacagaagt cctctcctt gtctctgggt aaatga 1356

<210> 226

<211> 451

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 226

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

[0144]

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Val Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Leu Ile Ala Asp Arg Pro Gly Tyr Tyr Tyr Asn Gly Met
 100 105 110

	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr				
																	115	120	125	
	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser				
																	130	135	140	
	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu				
																	145	150	155	160
	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His				
																		165	170	175
	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser				
																		180	185	190
[0145]	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys				
																	195	200	205	
	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu				
																	210	215	220	
	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala				
																	225	230	235	240
	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met				
																		245	250	255
	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln				
																		260	265	270
	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val				
																	275	280	285	

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365

[0146]

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Leu Gly Lys
 450

	<210> 227	
	<211> 648	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 227	
	gaaattgtga tgacgcagtc tccagtcacc ctgtttgtgt ctccagggga aagagccacc	60
	ctctcctgca gggccagtca gagtgtgaac accaacttag cctggtacca acagcaacct	120
	ggccaggctc ccaggctcct catccatgga gcatccacca ggcccactgg tgtcccagcc	180
	aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca tcatcagcag cctgcagtct	240
	gaagattttg cagtttatta ctgtcagcaa tataataatt ggccccctg gacgttcggc	300
	caagggacca aggtggaaat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg	360
[0147]	ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	420
	tatccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtactcc	480
	caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg	540
	acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag	600
	ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgttag	648
	<210> 228	
	<211> 215	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多肽	
	<400> 228	
	Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Val Thr Leu Phe Val Ser Pro Gly	
	1 5 10 15	

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Thr Asn
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

His Gly Ala Ser Thr Arg Pro Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Ile Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Pro
 85 90 95

[0148] Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 229

<211> 396

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 229

gaaatacagc tggtcgagtc tgggggaggc gtggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tctgtgtag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgtactgggt ccgacaagtt 120

[0149] ccaggaagg atctggagtg ggtctctctt ataagtgggg atggtgatat cacatattat 180

gtagactctg tgaagggccg attcaccgtc tccagagaca acaacaaaaa ctccctgtat 240

ctgcaaatga aaagtctgag agttgaggac accgccttgt attactgtgc aaaagatatg 300

atatattacg cttcttggag tggttacggg tcgtccgact actactacta cgttatggac 360

gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc tcctca 396

<210> 230

<211> 132

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 230

Glu Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met Tyr Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Asp Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Asp Ile Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Asn Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

[0150] Ala Lys Asp Met Ile Tyr Tyr Ala Ser Trp Ser Gly Tyr Gly Ser Ser
 100 105 110

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

Thr Val Ser Ser
 130

<210> 231

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 231

ggattcacct ttgatgatta tgcc

24

<210> 232
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 232
 Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
 1 5

<210> 233
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

[0151]

<400> 233
 ataagtgggg atggtgatat caca

24

<210> 234
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 234
 Ile Ser Gly Asp Gly Asp Ile Thr
 1 5

<210> 235
 <211> 75
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 235

gcaaaaagata tgatatatta cgcttcttgg agtggttacg ggtcgtccga ctactactac 60

tacgttatgg acgtc 75

<210> 236

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 236

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

[0152]

Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Val
20 25

<210> 237

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 237

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacct 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccatcagcag tetgcaacct 240

gaagatTTTg caacttacta ctgtcaacag agttacagta tgtttccgat taccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 238

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 238

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

[0153]

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Met Phe Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 239

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 239

cagagcatta gcagctat

18

<210> 240

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 240

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1

5

[0154]

<210> 241

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 241

gctgcatcc

9

<210> 242

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 242

Ala Ala Ser 1	
<210> 243 <211> 30 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
<400> 243 caacagagtt acagtatggt tccgattacc	30
<210> 244 <211> 10 <212> PRT <213> 人工序列	
[0155] <220> <223> 人工序列的描述: 合成肽	
<400> 244 Gln Gln Ser Tyr Ser Met Phe Pro Ile Thr 1 5 10	
<210> 245 <211> 1389 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
<400> 245 gaaatacagc tggtegagtc tgggggagge gtggtacagc ctggggggtc cctgagactc	60
tctgtgtag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgtactgggt cgcacaagtt	120
ccaggaagg atctggagtg ggtctctctt ataagtgggg atggtgatat cacatattat	180

gtagactctg tgaaggccg attcaccgtc tccagagaca acaacaaaa ctccctgtat	240
ctgcaaatga aaagtctgag agttgaggac accgccttgt attactgtgc aaaagatatg	300
ataiattacg cttcttggag tggttacggg tcgiccagact actactacta cgttatggac	360
gtctggggcc aaggaccac ggtcaccgtc tccacagcca aaacaacagc cccatcggtc	420
tatccactgg cccctgtgtg tggagataca actggctcct cggtgactct aggatgcctg	480
gtcaagggtt atttccctga gccagtgacc ttgacctgga actctggatc cctgtccagt	540
ggtgtgcaca ccttcccagc tgtcctgcag tctgacctct acaccctcag cagctcagtg	600
actgtaacct cgagcacctg gcccagccag tccatcacct gcaatgtggc ccaccggca	660
agcagcacca aggtggacaa gaaaattgag cccagaggc ccacaatcaa gcctgtcct	720
ccatgcaaat gcccagcacc taacctcttg ggtggacat ccgtcttcat ctccctcca	780
aagatcaagg atgtactcat gatctcctg agcccatag tcacatgtgt ggtggtggat	840
[0156] gtgagcgagg atgaccaga tgtccagatc agctggtttg tgaacaacgt ggaagtacac	900
acagctcaga cacaaacca tagagaggat tacaacagta ctctccgggt ggtcagtgcc	960
ctccccatcc agcaccagga ctggatgagt ggcaaggagt tcaaatgcaa ggtcaacaac	1020
aaagacctcc cagcggccat cgagagaacc atctcaaac ccaaagggtc agtaagagct	1080
ccacaggtat atgtcttgc tccaccagaa gaagatga ctaagaaaca ggtcactctg	1140
acctgatgg tcacagactt catgcctgaa gacatttac tggagtggac caacaacggg	1200
aaaacagagc taaactacaa gaacactgaa ccagtctgg actctgatgg ttcttacttc	1260
atgtacagca agctgagagt ggaaaagaag aactgggtgg aaagaaatag ctactctgt	1320
tcagtgttc acgagggtct gcacaatcac cacacgacta agagcttctc ccggactccg	1380
ggtaaatga	1389
<210> 246	

<211> 462

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 246

Glu Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met Tyr Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Asp Leu Glu Trp Val
 35 40 45

[0157]

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Asp Ile Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Asn Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Met Ile Tyr Tyr Ala Ser Trp Ser Gly Tyr Gly Ser Ser
 100 105 110

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

Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala
 130 135 140

	Pro	Val	Cys	Gly	Asp	Thr	Thr	Gly	Ser	Ser	Val	Thr	Leu	Gly	Cys	Leu	
	145										150						155
	Val	Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Leu	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	
					165												170
	Ser	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Asp	
					180												185
	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser	Val	Thr	Val	Thr	Ser	Ser	Thr	Trp	Pro	
																	195
																	200
	Ser	Gln	Ser	Ile	Thr	Cys	Asn	Val	Ala	His	Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	
																	210
																	215
[0158]	Val	Asp	Lys	Lys	Ile	Glu	Pro	Arg	Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro	Cys	Pro	
	225																230
	Pro	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala	Pro	Asn	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
																	245
																	250
	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys	Asp	Val	Leu	Met	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	
																	260
																	265
	Ile	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Glu	Asp	Asp	Pro	Asp	Val	
																	275
																	280
	Gln	Ile	Ser	Trp	Phe	Val	Asn	Asn	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	
																	290
																	295
	Gln	Thr	His	Arg	Glu	Asp	Tyr	Asn	Ser	Thr	Leu	Arg	Val	Val	Ser	Ala	
																	305
																	310
																	315
																	320

Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys
 325 330 335

Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser
 340 345 350

Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro
 355 360 365

Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val
 370 375 380

Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly
 385 390 395 400

[0159] Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp
 405 410 415

Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp
 420 425 430

Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His
 435 440 445

Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 247

<211> 648

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 247		
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc		60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacct		120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca		180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct		240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta tgtttccgat taccttcggc		300
caagggacac gactggagat taaacagct gatgctgcac caactgtatc catcttccca		360
ccatccagtg agcagttaac atctggaggt gcctcagtcg tgtgtctctt gaacaacttc		420
taccccaaag acatcaatgt caagtggaag attgatggca gtgaacgaca aaatggcgtc		480
ctgaacagtt ggactgatca ggacagcaaa gacagcacct acagcatgag cagcacctc		540
acgttgacca aggacgagta tgaacgacat aacagctata cctgtgaggc cactcacaag		600
[0160] acatcaactt caccattgt caagagcttc aacaggggag agtgttga		648

<210> 248

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 248

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Met Phe Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala
 100 105 110

Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser
 115 120 125

[0161] Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp
 130 135 140

Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val
 145 150 155 160

Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser
 180 185 190

Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 249
<211> 381
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 249
 gaagtcgagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag tctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt cegtcaagct 120
 ccaggaagg gtctggagtg ggtctctctt attagtgggg atggtggtag tacacactat 180
 gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acagcaaaaa ctcctgtat 240
 ctgcaaatga acagtctgag aactggggac accgccttgt attactgtgc aaaagacatg 300
 atttttgcag tggttattac tgactaccac tactacggta tggacgtctg gggccaaggg 360
 [0162] accacggtca cegtctctc a 381

<210> 250
<211> 127
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 250
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Gly Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Met Ile Phe Ala Val Val Ile Thr Asp Tyr His Tyr Tyr
 100 105 110

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

[0163]

<210> 251

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 251

ggattcacct ttgatgatta tgcc

24

<210> 252

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 252

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala

1 5

<210> 253

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 253

attagtgggg atggtgtag taca

24

<210> 254

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

[0164]

<400> 254

Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 255

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 255

gcaaaagaca tgatTTTTgc agtggTTatt actgactacc actactacgg tatggacgTc

60

<210> 256

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 256

Ala Lys Asp Met Ile Phe Ala Val Val Ile Thr Asp Tyr His Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Val
 20

<210> 257

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 257

[0165] gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caaggacac gactggagat taaa 324

<210> 258

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 258

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 260

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 261

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 261

gctgcatcc

9

[0167]

<210> 262

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 262

Ala Ala Ser

1

<210> 263

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 263

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 264
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 264
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
 1 5 10

<210> 265
 <211> 1362
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

[0168]

<400> 265
 gaagtgcagc tggtagtc tgggggagc gtggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tctgtgcag tctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt cegtaagct 120
 ccagggaagg gtctggagtg ggtctctctt attagtgggg atggtgtag tacacactat 180
 gcagactctg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca acagcaaaaa ctccctgtat 240
 ctgcaaatga acagtctgag aactggggac accgccttgt attactgtgc aaaagacatg 300
 atttttgcag tggttattac tgactaccac tactacggtg tggacgtctg gggccaaggg 360
 accacggtca cegtctctc agcctccacc aagggccat cgtctctccc cctggcgccc 420
 tgctccagga gcacctcga gagcacagcc gcctgggct gctggtcaa ggactacttc 480
 cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc 540
 ccggetgtcc tacagtctc aggactctac tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc 600

	agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc aacgtagatc acaagcccag caacaccaag	660
	gtggacaaga gaggtagtc caaatatggt ccccatgcc caccgtgcc agcaccacct	720
	gtggcaggac catcagtett cctgttcccc ccaaaacca aggacactct catgatctcc	780
	cggacccctg aggtcacgtg cgtggtggtg gacgtgagcc aggaagacc cgaggtccag	840
	ttcaactggt acgtggatgg cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag	900
	cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtctcaccg tctgcacca ggactggctg	960
	aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaaggcc tcccgtctc catcgagaaa	1020
	accatctcca aagccaaagg gcagccccga gagccacagg tgtacacct gccccatcc	1080
	caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg cttctacccc	1140
	agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccag	1200
[0169]	cctcccgtgc tggactccga cggtctctc ttctctaca gcaggctcac cgtggacaag	1260
	agcaggtggc aggaggggaa tgtcttctca tgctccgtga tgcatgagge tctgcacaac	1320
	cactacacac agaagtcct ctccctgtct ctgggtaaata ga	1362

<210> 266

<211> 453

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 266

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Gly Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Met Ile Phe Ala Val Val Ile Thr Asp Tyr His Tyr Tyr
 100 105 110

[0170] Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 115 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser
 130 135 140

Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 165 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 180 185 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr
 195 200 205

Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg
 210 215 220

Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro
 225 230 235 240

Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 260 265 270

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 275 280 285

[0171] Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 325 330 335

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Gly Lys
450

<210> 267

<211> 648

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 267

gacatccaga tgaccagtc tccatctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagatthtg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

[0172]

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 540
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag 648

<210> 268

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 268

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

[0173]

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

[0174] Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 269

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 269

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys
 1 5

<210> 270

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 270

Ser Leu Met Met Trp Ile Thr Gln Val

1 5

<210> 271

<211> 180

<212> PRT

<213> 智人

<400> 271

Met Gln Ala Glu Gly Arg Gly Thr Gly Gly Ser Thr Gly Asp Ala Asp

1 5 10 15

Gly Pro Gly Gly Pro Gly Ile Pro Asp Gly Pro Gly Gly Asn Ala Gly

20 25 30

[0175]

Gly Pro Gly Glu Ala Gly Ala Thr Gly Gly Arg Gly Pro Arg Gly Ala

35 40 45

Gly Ala Ala Arg Ala Ser Gly Pro Gly Gly Gly Ala Pro Arg Gly Pro

50 55 60

His Gly Gly Ala Ala Ser Gly Leu Asn Gly Cys Cys Arg Cys Gly Ala

65 70 75 80

Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe Tyr Leu Ala Met Pro Phe

85 90 95

Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg Ser Leu Ala Gln Asp

100 105 110

Ala Pro Pro Leu Pro Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr Val

115 120 125

Ser Gly Asn Ile Leu Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg Gln
 130 135 140

Leu Gln Leu Ser Ile Ser Ser Cys Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu Met
 145 150 155 160

Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro Ser
 165 170 175

Gly Gln Arg Arg
 180

<210> 272

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

[0176]

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 272

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Val Gly Cys Gly Gly Ser Gly Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln
 20 25 30

Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn
 35 40 45

Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu
 50 55 60

Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe

65		70		75		80									
Ser	Lys	Asp	Trp	Ser	Phe	Tyr	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Thr	Glu	Phe	Thr	Pro
				85					90					95	
Thr	Glu	Lys	Asp	Glu	Tyr	Ala	Cys	Arg	Val	Asn	His	Val	Thr	Leu	Ser
				100					105					110	
Gln	Pro	Lys	Ile	Val	Lys	Trp	Asp	Arg	Asp	Met	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
		115						120						125	
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
	130							135						140	
Ser	His	Ser	Met	Arg	Tyr	Phe	Phe	Thr	Ser	Val	Ser	Arg	Pro	Gly	Arg
145					150					155					160

[0177]

Gly	Glu	Pro	Arg	Phe	Ile	Ala	Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Gln	Phe
				165						170				175	
Val	Arg	Phe	Asp	Ser	Asp	Ala	Ala	Ser	Gln	Arg	Met	Glu	Pro	Arg	Ala
			180						185					190	
Pro	Trp	Ile	Glu	Gln	Glu	Gly	Pro	Glu	Tyr	Trp	Asp	Gly	Glu	Thr	Arg
		195					200						205		
Lys	Val	Lys	Ala	His	Ser	Gln	Thr	His	Arg	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Leu
	210						215				220				
Arg	Gly	Cys	Tyr	Asn	Gln	Ser	Glu	Ala	Gly	Ser	His	Thr	Val	Gln	Arg
225					230					235					240
Met	Tyr	Gly	Cys	Asp	Val	Gly	Ser	Asp	Trp	Arg	Phe	Leu	Arg	Gly	Tyr

245

250

255

His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp
 260 265 270

Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys His
 275 280 285

Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu
 290 295 300

Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320

Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His Ala
 325 330 335

[0178]

Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr
 340 345 350

Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr
 355 360 365

Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe
 370 375 380

Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr
 385 390 395 400

Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg
 405 410 415

Trp Glu Pro Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu

420

425

430

Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu His His His His His His
 435 440 445

<210> 273

<211> 9

<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 未知的描述: BCL9L 脱靶序列

<400> 273

Ser Leu Leu Met Trp Leu Thr Pro Leu
 1 5

[0179]

<210> 274

<211> 9

<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 未知的描述: GRID1 脱靶序列

<400> 274

Trp Leu Leu Pro Trp Ile Cys Gln Cys
 1 5

<210> 275

<211> 9

<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 未知的描述: EARS2 脱靶序列

<400> 275

Ser Leu Leu Asp Ile Ile Thr Asn Cys
 1 5

<210> 276
<211> 9
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述: ZDHHC1 脱靶序列

<400> 276
Leu Leu Ala Met Trp Gly Pro Gln Ala
1 5

<210> 277
<211> 9
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述: ITCH 脱靶序列

[0180]

<400> 277
Lys Gln Ile Met Trp Phe Trp Gln Phe
1 5

<210> 278
<211> 9
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述: MAGEH1 脱靶序列

<400> 278
Ser Leu Leu Met Ser Ile Leu Ala Leu
1 5

<210> 279
<211> 9
<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 未知的描述: FBXL22 脱靶序列

<400> 279

Leu Leu Thr Met His Ile Thr Gln Leu
1 5

<210> 280

<211> 9

<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 未知的描述: URB1 脱靶序列

<400> 280

Ser Leu Leu Thr Trp Ile Leu His Ile
1 5

[0181]

<210> 281

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 281

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Val
1 5

<210> 282

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 282
Ala Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Val
1 5

<210> 283
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 283
Ser Ala Leu Met Trp Ile Thr Gln Val
1 5

[0182]

<210> 284
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 284
Ser Leu Ala Met Trp Ile Thr Gln Val
1 5

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

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 285
Ser Leu Leu Ala Trp Ile Thr Gln Val
1 5

<210> 286
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 286
Ser Leu Leu Met Ala Ile Thr Gln Val
1 5

<210> 287
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

[0183] <400> 287
Ser Leu Leu Met Trp Ala Thr Gln Val
1 5

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

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 288
Ser Leu Leu Met Trp Ile Ala Gln Val
1 5

<210> 289
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 289

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Ala Val

1 5

<210> 290

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 290

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Ala

1 5

[0184]

<210> 291

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 291

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Val

1 5

<210> 292

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成 6×His 标签

<400> 292

His His His His His His

1 5

<210> 293

<211> 127

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 293

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

[0185] Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Asp Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Ile Ile Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Trp Val Phe Gly Val Val Met Thr His Tyr Trp Tyr Phe
100 105 110

Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 294
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 294
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Glu Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

[0186] Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 295
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 295

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 296

<211> 69

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 296

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala

1 5 10 15

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly

20 25 30

[0187]

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile

35 40 45

Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val

50 55 60

Ile Thr Leu Tyr Cys

65

<210> 297

<211> 42

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 297

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 100 105 110

<210> 299

<211> 41

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 299

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
 1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
 20 25 30

[0189] Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
 35 40

<210> 300

<211> 261

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 300

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
 1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr
 20 25 30

Gly Val Val Pro Ile Leu Val Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His

35

40

45

Lys Phe Ser Val Ser Gly Glu Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys
 50 55 60

Leu Thr Leu Lys Phe Ile Cys Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp
 65 70 75 80

Pro Thr Leu Val Thr Thr Leu Thr Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg
 85 90 95

Tyr Pro Asp His Met Lys Gln His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro
 100 105 110

Glu Gly Tyr Val Gln Glu Arg Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn
 115 120 125

[0190]

Tyr Lys Thr Arg Ala Glu Val Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn
 130 135 140

Arg Ile Glu Leu Lys Gly Ile Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu
 145 150 155 160

Gly His Lys Leu Glu Tyr Asn Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met
 165 170 175

Ala Asp Lys Gln Lys Asn Gly Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His
 180 185 190

Asn Ile Glu Asp Gly Ser Val Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn
 195 200 205

Thr Pro Ile Gly Asp Gly Pro Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu

210

215

220

Ser Thr Gln Ser Ala Leu Ser Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His
 225 230 235 240

Met Val Leu Leu Glu Phe Val Thr Ala Ala Gly Ile Thr Leu Gly Met
 245 250 255

Asp Glu Leu Tyr Lys
 260

<210> 301

<211> 739

<212> PRT

<213> 人工序列

[0191]

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 301

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Asp Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Ile Ile Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Trp Val Phe Gly Val Val Met Thr His Tyr Trp Tyr Phe
 100 105 110

Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly
 115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
 130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Glu Gly Asp Arg
 145 150 155 160

[0192] Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr Leu Asn
 165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly
 180 185 190

Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 195 200 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp
 210 215 220

Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
 225 230 235 240

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Thr
 245 250 255

Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
 260 265 270

Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
 275 280 285

Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
 290 295 300

Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
 305 310 315 320

Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
 325 330 335

[0193]

Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
 340 345 350

Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
 355 360 365

Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
 370 375 380

Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
 385 390 395 400

Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
 405 410 415

Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
 420 425 430

	Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg		
	435	440	445
	Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys		
	450	455	460
	Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Gly Ser		
	465	470	475 480
	Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu		
		485	490 495
	Asn Pro Gly Pro Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val		
		500	505 510
[0194]	Val Pro Ile Leu Val Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe		
	515	520	525
	Ser Val Ser Gly Glu Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr		
	530	535	540
	Leu Lys Phe Ile Cys Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr		
	545	550	555 560
	Leu Val Thr Thr Leu Thr Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro		
		565	570 575
	Asp His Met Lys Gln His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly		
	580	585	590
	Tyr Val Gln Glu Arg Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys		
	595	600	605

Thr Arg Ala Glu Val Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile
610 615 620

Glu Leu Lys Gly Ile Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His
625 630 635 640

Lys Leu Glu Tyr Asn Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp
645 650 655

Lys Gln Lys Asn Gly Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile
660 665 670

Glu Asp Gly Ser Val Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro
675 680 685

[0195] Ile Gly Asp Gly Pro Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr
690 695 700

Gln Ser Ala Leu Ser Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val
705 710 715 720

Leu Leu Glu Phe Val Thr Ala Ala Gly Ile Thr Leu Gly Met Asp Glu
725 730 735

Leu Tyr Lys

<210> 302

<211> 735

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 302

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Asp Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

[0196] Leu Gln Met Asn Ser Leu Ile Ile Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Trp Val Phe Gly Val Val Met Thr His Tyr Trp Tyr Phe
 100 105 110

Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly
 115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
 130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Glu Gly Asp Arg
 145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr Leu Asn
 165 170 175

Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg
 355 360 365

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
 370 375 380

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
 385 390 395 400

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
 405 410 415

Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
 420 425 430

[0198] Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
 435 440 445

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
 450 455 460

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn
 465 470 475 480

Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
 485 490 495

Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val Pro Ile Leu
 500 505 510

Val Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly
 515 520 525

Glu Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe Ile
 530 535 540

Cys Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu Val Thr Thr
 545 550 555 560

Leu Thr Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp His Met Lys
 565 570 575

Gln His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr Val Gln Glu
 580 585 590

Arg Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr Arg Ala Glu
 595 600 605

[0199] Val Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile Glu Leu Lys Gly
 610 615 620

Ile Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His Lys Leu Glu Tyr
 625 630 635 640

Asn Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys Gln Lys Asn
 645 650 655

Gly Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile Glu Asp Gly Ser
 660 665 670

Val Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile Gly Asp Gly
 675 680 685

Pro Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln Ser Ala Leu
 690 695 700

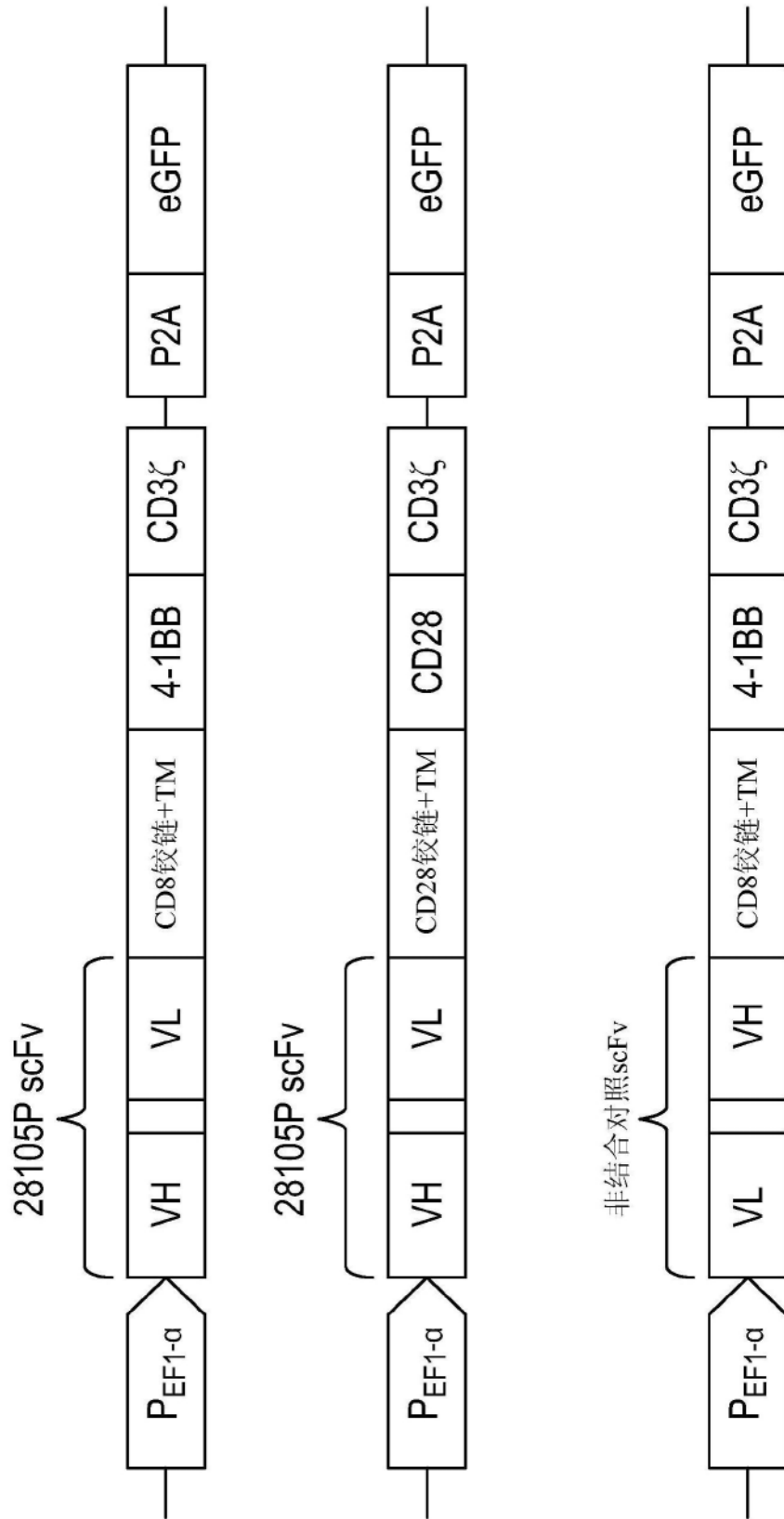


图1A

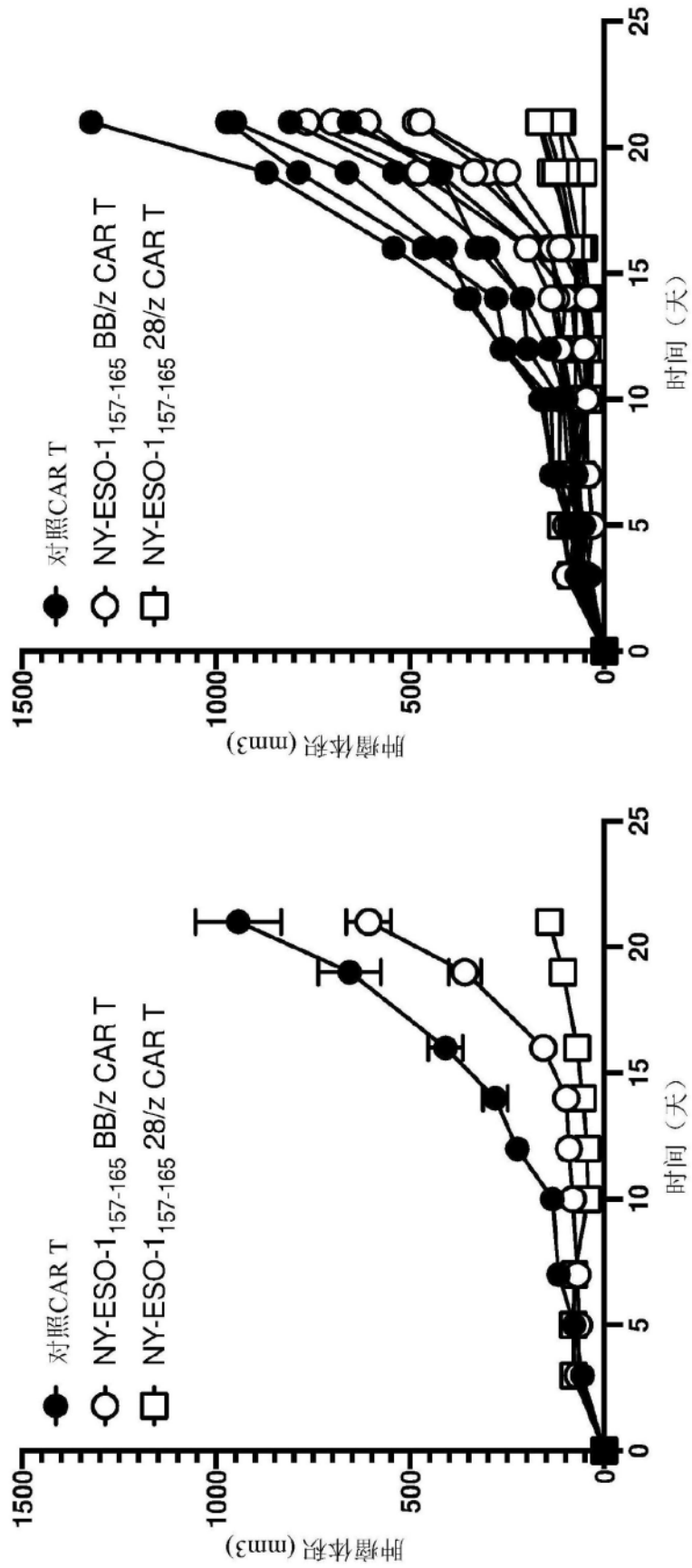


图1B

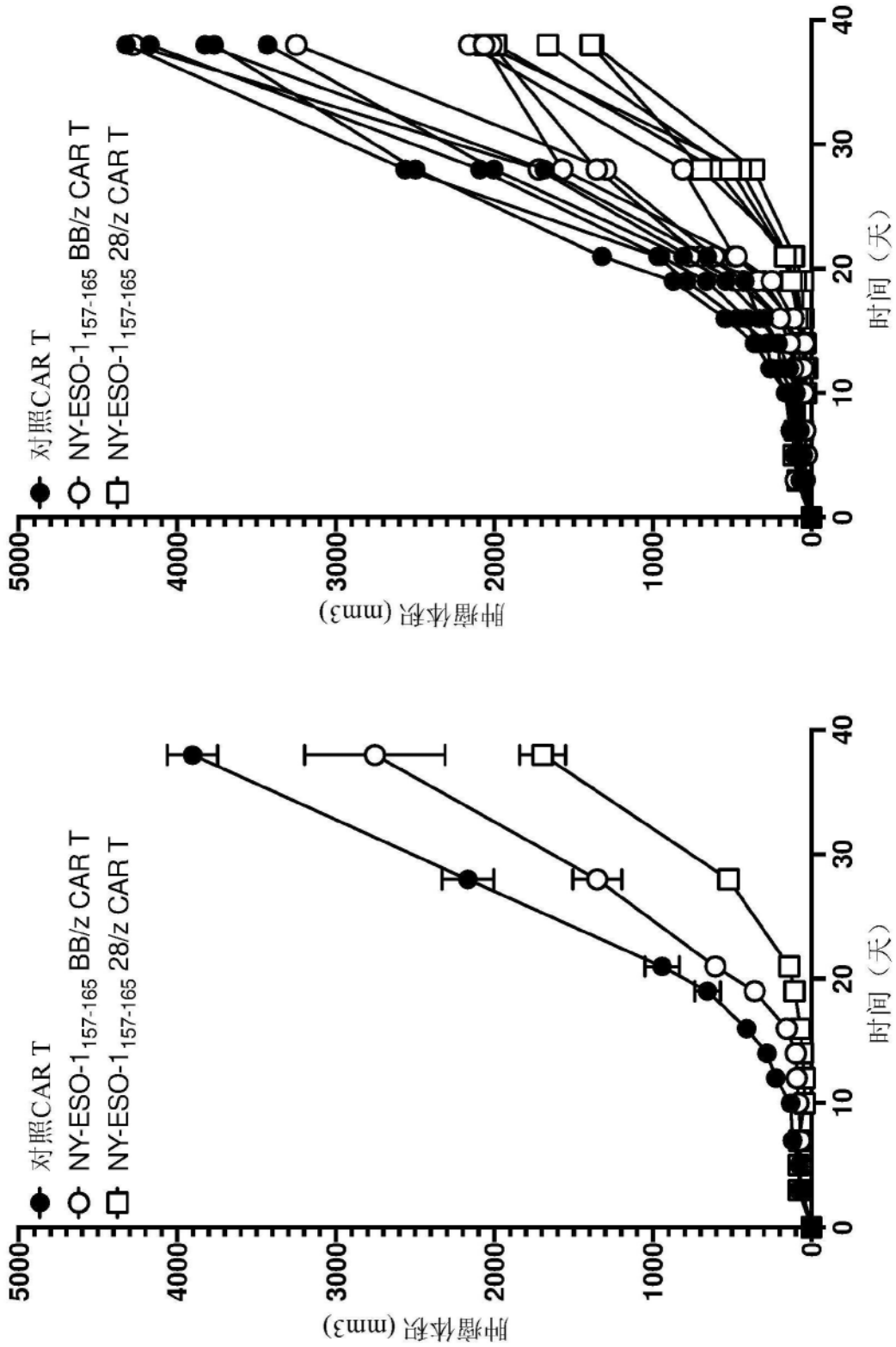


图1C