



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 110914295 B

(45) 授权公告日 2024. 08. 09

(21) 申请号 201880044309.7

(22) 申请日 2018.06.27

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110914295 A

(43) 申请公布日 2020.03.24

(30) 优先权数据
62/525,937 2017.06.28 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.12.30

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/039654 2018.06.27

(87) PCT国际申请的公布数据
W02019/005897 EN 2019.01.03

(73) 专利权人 里珍纳龙药品有限公司
地址 美国纽约州

(72) 发明人 K·A·布雷 F·德尔菲诺
M·C·富兰克林 E·S·加尔诺瓦
J·R·科什纳 D·麦克唐纳
W·奥尔森 G·瑟斯顿

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所
11256
专利代理师 陈文平 袁元

(51) Int.Cl.
C07K 16/08 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)

(56) 对比文件
CA 1341287 C, 2001.08.28
CN 105452288 A, 2016.03.30

审查员 李一峰
权利要求书2页 说明书58页
序列表208页

(54) 发明名称
抗人乳头瘤病毒 (HPV) 抗原结合蛋白及其使用
方法

(57) 摘要
本发明提供抗原结合蛋白,其特异性结合
HLA-展示人乳头瘤病毒 (HPV) 肽,以及使用这些
结合蛋白的治疗和诊断方法。

1. 一种分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段, 其特异性结合HLA-A2呈递人乳头瘤病毒(HPV) 16E7肽(HPV16E7肽)的构象表位,

其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(HCVR)/轻链可变区(LCVR)(HCVR/LCVR)氨基酸序列对, 其中所述HCVR/LCVR氨基酸序列对的氨基酸序列由SEQ ID NO:506/514所示。

2. 权利要求1所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段具有选自以下的特性:

(a) 以如在表面等离子共振测定法中在25°C下测量的小于约20nM的结合解离平衡常数(K_D)结合单体由SEQ ID NO:538所示的HLA-A2:HPV16E7 11-19肽;

(b) 如通过发光测定法确定的, 以小于约6nM的 EC_{50} 结合由SEQ ID NO:538所示的HLA-A2:HPV16E7 11-19肽表达细胞, 并且不结合表达预测的脱靶肽的细胞;

(c) 如通过流式细胞术测定法确定的, 以小于约30nM的 EC_{50} 结合由SEQ ID NO:538所示的HLA-A2:HPV16E7 11-19肽表达细胞; 和

(d) 其中所述构象表位包含选自SEQ ID NO:537的Y11, D14, L15, P17和E18的氨基酸。

3. 权利要求1所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中所述HPV16E7肽包含YMLDLQPET的氨基酸序列(SEQ ID NO:538)。

4. 权利要求1-3中任一项所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段是全长抗体, Fab, Fab', (Fab')₂或Fv。

5. 权利要求1-3中任一项所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段是单链Fv(scFv)。

6. 权利要求1-3中任一项所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其包含:

(a) HCDR1结构域, 其中所述HCDR1结构域的氨基酸序列由SEQ ID NO:508所示;

(b) HCDR2结构域, 其中所述HCDR2结构域的氨基酸序列由SEQ ID NO:510所示;

(c) HCDR3结构域, 其中所述HCDR3结构域的氨基酸序列由SEQ ID NO:512所示;

(d) LCDR1结构域, 其中所述LCDR1结构域的氨基酸序列由SEQ ID NO:516所示;

(e) LCDR2结构域, 其中所述LCDR2结构域的氨基酸序列由SEQ ID NO:518所示; 和

(f) LCDR3结构域, 其中所述LCDR3结构域的氨基酸序列由SEQ ID NO:52所示。

7. 权利要求1-3中任一项所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其还包含可检测部分。

8. 一种T体构建体, 其包含权利要求1-7中任一项所述的分离的抗体或其抗原结合片段。

9. 一种药物组合物, 其包含权利要求1-7中任一项所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其结合HLA-A2:HPV16E7, 和药学上可接受的载体或稀释剂。

10. 一种载体, 其包含多核苷酸分子, 其中所述多核苷酸分子包含编码权利要求1-7中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的HCVR和LCVR的多核苷酸序列。

11. 一种细胞, 其表达权利要求10所述的载体。

12. 权利要求1-7中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求9所述的药物组合物在制备药物中的用途, 所述药物用于治疗患有HPV相关癌症和/或HPV感染的受试者。

13. 权利要求12所述的用途, 其中所述HPV相关癌症是鳞状细胞癌。

14. 权利要求13所述的用途, 其中所述HPV相关癌症是宫颈癌, 肛殖癌, 头颈癌, 或口咽

癌。

15. 权利要求12-14中任一项所述的用途,其中所述药物用于与第二治疗剂组合施用于所述受试者。

16. 权利要求15所述的用途,其中所述第二治疗剂选自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,皮质类固醇,以及抗-HPV疫苗。

17. 权利要求12-14中任一项所述的用途,其中所述药物是皮下,静脉内,皮内,腹膜内,口服,肌内或颅内施用的。

18. 权利要求12-14中任一项所述的用途,其中所述药物以所述受试者的0.1mg/kg体重至100mg/kg体重的剂量施用。

19. 一种嵌合抗原受体(CAR),其包含特异性结合HLA-A2呈递人乳头瘤病毒(HPV)16E7肽(HPV16E7肽)的构象表位的胞外结合结构域,跨膜结构域和细胞内信号传导结构域,其中所述胞外结合结构域包含人单克隆抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(HCVR)/轻链可变区(LCVR)(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,其中所述HCVR/LCVR氨基酸序列对的氨基酸序列包含SEQ ID NO:506/514。

20. 权利要求19所述的CAR,其包含SEQ ID NO:540。

21. 权利要求19或20所述的CAR,其中所述分离的抗原结合蛋白是scFv。

22. 一种载体,其包含权利要求19-21中任一项所述的CAR。

23. 一种分离的免疫效应细胞,其包含权利要求22所述的载体。

24. 权利要求23所述的分离的免疫效应细胞,其是T体。

25. 权利要求23或24所述的免疫效应细胞在制备药物中的用途,所述药物用于治疗患有HPV相关癌症和/或HPV感染的受试者。

26. 权利要求25所述的用途,其中所述HPV相关癌症是鳞状细胞癌。

27. 权利要求26所述的用途,其中所述HPV相关癌症是宫颈癌,肛殖癌,头颈癌,或口咽癌。

28. 权利要求25-27中任一项所述的用途,其中所述药物用于与第二治疗剂组合施用于所述受试者。

抗人乳头瘤病毒 (HPV) 抗原结合蛋白及其使用方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2017年6月28日提交的美国临时申请号62/525,937的优先权,其全部内容明确地通过引用整体并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含序列表,该序列表已经以ASCII格式电子提交,并且通过引用整体并入本文。所述ASCII副本创建于2018年6月27日,命名为10355W001_seqlisting.txt,大小为253,600字节。

技术领域

[0005] 本发明涉及抗原结合蛋白,其特异性结合HLA-展示人乳头瘤病毒 (HPV) 肽,以及使用这些结合蛋白的治疗和诊断方法。

背景技术

[0006] 人乳头瘤病毒 (HPV) 是一组在世界范围内非常普遍的小型非包膜DNA病毒。HPV主要通过性接触传播,大多数人在发生性行为后不久感染HPV。

[0007] 有超过170种类型的HPV,其中一些可引起疣或良性乳头状瘤,而其他中的至少13种引起癌症(也称为高危型HPV),包括宫颈癌,肛殖癌(肛门,阴茎,阴道和外阴的癌症),头/颈癌,和口咽癌,包括喉咙的后部,舌头的基部,和扁桃体。事实上,HPV在所有头颈鳞状细胞癌(HNSCC)的20-40%中存在并且在100%的宫颈癌中存在。

[0008] 宫颈癌是生活在欠发达地区的女性中第二常见的癌症,2012年估计有445,000例新病例(占全球新病例的84%)。2012年,约有270,000名妇女死于宫颈癌;这些死亡中超过85%发生在低收入和中等收入国家。

[0009] 两种HPV类型(16和18)导致约70%的所有宫颈癌和癌前宫颈病变。高风险HPV亚型如HPV 16或18的持续性感染时的癌症发展主要可归因于两种病毒性肿瘤蛋白E6和E7的表达,其在病变中持续表达并通过MHC I类呈递在细胞表面上,但不在正常细胞中表达。E6和E7通过以蛋白酶体依赖性方式降解肿瘤抑制蛋白p53和Rb而促进基因组不稳定性和细胞转化。肿瘤在初始细胞永生事件之后数年出现,E6和E7的持续表达是维持转化的表型,以及阻止细胞生长停滞和/或凋亡所需的(McLaughlin-Drubin M.E.&Miinger K.,Virology (2009) 384:335-344)。

[0010] 尽管已经开发了靶向HPV-6,-11,-16和-18亚型的HPV L1和L2主要衣壳蛋白的疫苗以预防感染,但这样的疫苗不可以治疗具有已建立的病变的受试者。因此,患有宫颈癌的受试者的治疗仍然是使用传统方法,其是高度侵入性的和病态的,例如外科手术,放射疗法和化学疗法。此外,尽管这样的治疗可以为患有早期宫颈癌的受试者提供益处,但是它们对于患有晚期或复发性宫颈癌的患者的价值有限。

[0011] 因此,在本领域中对于以高特异性靶向HPV并治疗HPV引起的宫颈癌和其它癌症的新治疗策略存在未满足的需要。

发明内容

[0012] 本发明提供了抗原结合蛋白,其特异性结合HLA-展示人乳头瘤病毒(HPV)16 E7肽(HLA-A2:HPV16E7)的构象表位。本发明的抗原结合蛋白高度特异性结合HLA展示HPV16E7,并且不结合相差1,2,3,4,5或更多个氨基酸的HLA展示肽。本发明的抗原结合蛋白允许特异性靶向HPV16E7肽呈递细胞(即,在其表面呈递结合MHC分子的HPV16E7肽的细胞,例如,HLA-A2),例如表达HPV16E7的癌细胞,并且在一些实施方式中,刺激T细胞激活,例如,以刺激对这样的细胞的T细胞介导杀伤。此外,当融合至可检测部分时,本发明的抗原结合蛋白允许以对HPV16E7肽呈递细胞的数量和分布的变化(比循环HPV16E7水平更相关的疾病进展度量)的高灵敏度诊断和预后HPV16E7阳性疾病或病症。

[0013] 本发明的抗原结合蛋白可以是抗体,如全长(例如,IgG1或IgG4抗体)抗体,或可以仅包括抗体的抗原结合部分(例如,Fab,F(ab')₂或scFv片段),并且可以被修饰以影响功能性,例如,以消除残留的效应子功能(Reddy等,2000,J. Immunol. 164:1925-1933)。在一些实施方式中,本发明的抗原结合蛋白可以是抗体或其抗原结合片段。在某些实施方式中,抗原结合蛋白可以是双特异性的。

[0014] 在第一方面,本发明提供分离的重组抗原结合蛋白,其特异性结合HLA-展示人乳头瘤病毒(HPV)16 E7肽的构象表位,例如包含HPV16E7的氨基酸残基11-19或82-90的HLA-展示肽。在某些实施方式中,抗原结合蛋白是抗体。在一些实施方式中,抗体是全人的。

[0015] 本发明的示例性抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白列于本文中的表1和2。表1列出了示例性抗HLA-A2:HPV16E7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)的氨基酸序列标识符。表2列出了该等示例性抗HLA-A2:HPV16E7抗体的HCVR,LCVR,HCDR1,HCDR2,HCDR3,LCDR1,LCDR2和LCDR3的核酸序列标识符。

[0016] 本发明提供了抗原结合蛋白,其包含HCVR,所述HCVR包含选自表1列出的HCVR氨基酸序列中任一个的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0017] 本发明还提供了抗原结合蛋白,其包含LCVR,所述LCVR包含选自表1列出的LCVR氨基酸序列中任一个的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0018] 本发明还提供了抗原结合蛋白,其包含HCVR和LCVR氨基酸序列对(HCVR/LCVR),其包含与表1列出的LCVR氨基酸序列中任一个成对的表1列出的HCVR氨基酸序列中任一个。根据某些实施方式,本发明提供了抗原结合蛋白,其包含表1列出的示例性抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白中任一个内含有的HCVR/LCVR氨基酸序列对。在某些实施方式中,HCVR/LCVR氨基酸序列对选自SEQ ID NO:2/10,18/26,34/42,50/58,66/74,82/90,98/106,114/122,130/138,146/154,162/170,178/186,194/202,210/202,218/226,234/242,250/258,266/274,282/290,298/306,314/322,330/338,346/354,362/370,378/386,394/402,410/418,426/434,442/450,458/466,474/482,490/498,506/514和522/530。在某些实施方式中,HCVR/LCVR氨基酸序列对选自SEQ ID NO:2/10(例如,H4sH17364N),34/42(例如,H4sH17670P),82/90(例如,H4sH17675P),194/202(例如,H4sH17930N2),282/290(例如,H4sH21064P)和506/514(例如,H4sH17363N)中的一个。

[0019] 在某些实施方式中,本发明提供了抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,其包含HCVR和LCVR,所述HCVR包含具有不超过五个氨基酸置换的表1列出的氨基酸序列,且所述LCVR包含具有不超过五个氨基酸置换的表1列出的氨基酸序列。例如,本发明提供了抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,其包含HCVR和LCVR,所述HCVR包含具有不超过五个氨基酸置换的SEQ ID NO:194的氨基酸序列,且所述LCVR包含具有不超过五个氨基酸置换的SEQ ID NO:202的氨基酸序列。在另一个示例性实施方式中,本发明提供了抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白质,其包含HCVR和LCVR,所述HCVR包含具有至少一个氨基酸置换的SEQ ID NO:194的氨基酸序列,且所述LCVR包含具有至少一个氨基酸置换的SEQ ID NO:202的氨基酸序列。

[0020] 本发明还提供了抗原结合蛋白,其包含重链CDR1 (HCDR1),所述HCDR1包含选自表1列出的HCDR1氨基酸序列的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0021] 本发明还提供了抗原结合蛋白,其包含重链CDR2 (HCDR2),所述HCDR2包含选自表1列出的HCDR2氨基酸序列的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0022] 本发明还提供了抗原结合蛋白,其包含重链CDR3 (HCDR3),所述HCDR3包含选自表1列出的HCDR3氨基酸序列的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0023] 本发明还提供了抗原结合蛋白,其包含轻链CDR1 (LCDR1),所述LCDR1包含选自表1列出的LCDR1氨基酸序列的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0024] 本发明还提供了抗原结合蛋白,其包含轻链CDR2 (LCDR2),所述LCDR2包含选自表1列出的LCDR2氨基酸序列的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0025] 本发明还提供了抗原结合蛋白,其包含轻链CDR3 (LCDR3),所述LCDR3包含选自表1列出的LCDR3氨基酸序列的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0026] 本发明还提供了抗原结合蛋白,其包含HCDR3和LCDR3氨基酸序列对 (HCDR3/LCDR3),其包含与表1列出的LCDR3氨基酸序列中任一个成对的表1列出的HCDR3氨基酸序列中任一个。根据某些实施方式,本发明提供了抗原结合蛋白,其包含表1列出的示例性抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白中任一个内含有的HCDR3/LCDR3氨基酸序列对。在某些实施方式中,HCDR3/LCDR3氨基酸序列对选自SEQ ID NO:8/16 (例如,H4sH17364N),40/48 (例如,H4sH17670P),88/96 (例如,H4sH17675P),200/208 (例如,H4sH17930N2),288/296 (例如,H4sH21064P)和512/520 (例如,H4sH17363N)。

[0027] 本发明还提供了抗原结合蛋白,其包含HCVR和LCVR,所述HCVR包含HCDR1,HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包含与表1列出的氨基酸序列相差1个氨基酸的氨基酸序列,所述HCDR2包含与表1列出的氨基酸序列相差1个氨基酸的氨基酸序列,且所述HCDR3包含与表1列出的氨基酸序列相差1个氨基酸的氨基酸序列。在某些实施方式中,本发明提供了抗原结合蛋白,其包含HCVR和LCVR,所述LCVR包含LCDR1,LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包含与表1列出的氨基酸序列相差1个氨基酸的氨基酸序列,所述LCDR2包含与表1列出的氨基酸序列相差1个氨基

酸的氨基酸序列,且所述LCDR3包含与表1列出的氨基酸序列相差1个氨基酸的氨基酸序列。例如,本发明提供了抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,其包含HCVR和LCVR,所述HCVR包含HCDR1,HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列或与SEQ ID NO:196相差1个氨基酸的氨基酸序列,所述HCDR2包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列或与SEQ ID NO:198相差1个氨基酸的氨基酸序列,且所述HCDR3包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列或与SEQ ID NO:200相差1个氨基酸的氨基酸序列。在另一个示例性实施方式中,本发明提供了抗原结合蛋白,其包含HCVR和LCVR,所述LCVR包含LCDR1,LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包含SEQ ID NO:204的氨基酸序列或与SEQ ID NO:204相差1个氨基酸的氨基酸序列,所述LCDR2包含SEQ ID NO:206的氨基酸序列或与SEQ ID NO:206相差1个氨基酸的氨基酸序列,且所述LCDR3包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列或与SEQ ID NO:208相差1个氨基酸的氨基酸序列。

[0028] 本发明还提供了抗原结合蛋白,其包含表1列出的示例性抗原结合蛋白中任一内含有的一组六个CDR(即,HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)。在某些实施方式中,HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组选自SEQ ID NO:4-6-8-12-14-16(例如,H4sH17364N),36-38-40-44-46-48(例如,H4sH17670P),84-86-88-92-94-96(例如,H4sH17675P),196-198-200-204-206-208(例如,H4sH17930N2),284-286-288-292-294-296(例如H4sH21064P)和508-510-512-516-518-520(例如H4sH17363N)。

[0029] 在相关实施方式中,本发明提供了抗原结合蛋白,其包含通过表1列出的示例性抗原结合蛋白中任一限定的HCVR/LCVR氨基酸序列对内含有的一组六个CDR(即,HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)。例如,本发明包括抗原结合蛋白,其包含选自以下的HCVR/LCVR氨基酸序列对内含有的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组:SEQ ID NO:2/10(例如,H4sH17364N),34/42(例如,H4sH17670P),82/90(例如,H4sH17675P),194/202(例如,H4sH17930N2),282/290(例如H4sH21064P)和506/514(例如H4sH17363N)。

[0030] 用于识别HCVR和LCVR氨基酸序列内的CDR的方法和技术是本领域众所周知的,并且可用于识别本文公开的指定HCVR和/或LCVR氨基酸序列内的CDR。可用于识别CDR的边界的示例性惯例包括例如Kabat定义,Chothia定义和AbM定义。一般而言,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,而AbM定义是Kabat和Chothia方法之间的折衷。参见,例如,Kabat,"Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani等, J. Mol. Biol. 273:927-948(1997); 和Martin等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 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。

[0031] 本发明包括抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,其具有修饰的糖基化模式。在一些实施方式中,用于去除不期望的糖基化位点的修饰可以是有用的,或者缺少寡糖链上存在的岩藻糖部分的抗体,例如,以增加抗体依赖性细胞细胞毒性(ADCC)功能(参见Shield等,(2002) JBC 277:26733)。在其他应用中,可以进行半乳糖基化的修饰以改变补体依赖性细胞毒性(CDC)。

[0032] 在某些实施方式中,本发明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氨基酸表对包括与表1列出的LCVR氨基酸序列中任一成对的表1列出的HCVR氨基酸序列中任一。在某些实施方式中,单克隆抗体包含

选自IgA, IgD, IgE, IgG, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM及其变体的同种型的Fc结构域。

[0033] 本发明提供了抗原结合蛋白或其抗原结合片段,其包含重链,所述重链包含选自表3列出的HC氨基酸序列中任一个的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0034] 本发明还提供了抗原结合蛋白或其抗原结合片段,其包含轻链,所述轻链包含选自表3列出的LC氨基酸序列中任一个的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0035] 本发明还提供了抗原结合蛋白或其抗原结合片段,其包含HC和LC氨基酸序列对(HC/LC),所述HC和LC氨基酸序列对包含与表3列出的LC氨基酸序列中任一个成对的表3列出的HC氨基酸序列中任一个。根据某些实施方式,本发明提供了抗体或其抗原结合片段,其包含表3列出的示例性抗PD-1抗体中任一个内含有的HC/LC氨基酸序列对。在某些实施方式中,HC/LC氨基酸序列对选自SEQ ID NO:578/579,580/581,582/583,584/585,586/587,588/589,590/591和592/593。

[0036] 在第一方面,本发明提供了抗原结合蛋白或其抗原结合片段,其结合HLA-肽复合物,其中所述抗原结合蛋白或其抗原结合片段接触至少60%,至少70%,至少80%或至少90%的HLA-肽复合物中包含的肽的氨基酸残基。在某些实施方式中,抗原结合蛋白或其抗原结合片段“覆盖”或接触HLA-肽复合物中包含的肽的所有氨基酸残基。在某些实施方式中,抗原结合蛋白或其抗原结合片段以高亲和力和特异性结合HLA-肽复合物,其中所述抗原结合蛋白或其抗原结合片段接触展示的肽的全长。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/范德华相互作用。在一个实施方式中,抗原结合蛋白或其抗原结合片段结合HLA-A2-HPV16E7 11-19肽复合物,其中所述抗原结合蛋白结合肽11-19(SEQ ID NO:538)的10个氨基酸残基中的至少6个且结合HLA-A2,使得其完全覆盖所述HLA-A2-肽复合物。在某些实施方式中,抗原结合蛋白或其抗原结合片段包含HCVR的CDR和LCVR的CDR,其中所述HCVR和LCVR各自具有选自表1列出的HCVR和LCVR序列的氨基酸序列。在一个实施方式中,抗原结合蛋白是全人的。在某些实施方式中,所述全人抗原结合蛋白不是使用噬菌体展示方法和技术获得。在一个实施方式中,抗原结合蛋白包含IGKV1-39亚型的轻链可变区。

[0037] 在某些实施方式中,本发明提供了抗原结合蛋白或其抗原结合片段,其结合HLA-A2:HPV16E7 11-19肽,其中所述抗原结合蛋白结合SEQ ID NO:538的一个或多个氨基酸。在一个实施方式中,抗原结合蛋白结合SEQ ID NO:538的至少6个氨基酸。在一个实施方式中,抗原结合蛋白结合选自SEQ ID NO:538的Y11,D14,L15,P17和E18的一个或多个氨基酸。

[0038] 在某些实施方式中,本发明提供了抗原结合蛋白,其特异性结合HLA-A2呈递人乳头瘤病毒(HPV)16 E7肽(HPV16E7肽)的构象表位,其中所述构象表位包含SEQ ID NO:538的一个或多个氨基酸。在某些实施方式中,构象表位包含选自SEQ ID NO:538的Y11,D14,L15,P17和E18的一个或多个氨基酸。

[0039] 本发明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性特异性结合HLA-A2:HPV16E7,其中所述HCVR和LCVR各自具有选自表1列出的HCVR和LCVR序列的氨基酸序列。

[0040] 本发明还提供了抗原结合蛋白,其与包含HCVR的CDR和LCVR的CDR的参比抗原结合

蛋白交叉竞争结合HLA-A2:HPV16E7,其中所述HCVR和LCVR各具有选自表1列出的HCVR和LCVR序列的氨基酸序列。

[0041] 本发明还提供抗原结合蛋白,其结合与包含HCVR的CDR和LCVR的CDR的参比抗原结合蛋白相同的表位,其中所述HCVR和LCVR各自具有选自表1列出的HCVR和LCVR序列的氨基酸序列。在某些实施方式中,本发明提供了抗原结合蛋白,其结合与包含HCVR的CDR和LCVR的CDR的参比抗原结合蛋白相同的表位,其中所述HCVR选自SEQ ID NO:2,34,82,194,282和504,且所述LCVR选自SEQ ID NO:10,42,90,202,290和514。

[0042] 在一个实施方式中,本发明提供了分离的重组抗原结合蛋白,其特异性结合HLA-A2呈递人乳头瘤病毒(HPV)16 E7肽(HPV16E7肽)的构象表位,其中所述抗原结合蛋白具有选自以下的特性:(a)以如在表面等离子激元(plasmon)共振测定法中在25℃下测量的小于约20nM的结合解离平衡常数(K_D)结合单体HLA-A2:HPV16E7 11-19肽;(b)以如在表面等离子激元共振测定法中在25℃下测量的小于约25nM的结合解离平衡常数(K_D)结合单体HLA-A2:HPV16E7 82-90肽;(c)如通过发光测定法确定的,以小于约6nM的 EC_{50} 结合HLA-A2:HPV16E7 11-19肽表达细胞,并且不结合表达预测的脱靶肽的细胞;(d)如通过发光测定法确定的,以小于约1nM的 EC_{50} 结合HLA-A2:HPV16E7 82-90肽表达细胞,并且基本上不结合表达预测的脱靶肽的细胞;(e)如通过流式细胞术测定法确定的,以小于约30nM的 EC_{50} 结合HLA-A2:HPV16E7 11-19肽表达细胞;(f)如通过流式细胞术测定法确定的,以小于约75nM的 EC_{50} 结合HLA-A2:HPV16E7 82-90肽表达细胞;和(g)构象表位包含SEQ ID NO:538的一个或多个氨基酸。如本文其他地方所公开的,“脱靶肽”是指与靶肽(例如,HPV16 E7 11-19肽)相差1,2,3,4,5或更多个氨基酸的肽。

[0043] 在第二方面,本发明提供了核酸分子,其编码抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白。例如,本发明提供了核酸分子,其编码表1列出的HCVR氨基酸序列中任一个;在某些实施方式中,核酸分子包含选自表2列出的HCVR核酸序列中任一个的多核苷酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0044] 本发明还提供了核酸分子,其编码表1列出的LCVR氨基酸序列中任一个;在某些实施方式中,核酸分子包含选自表2列出的LCVR核酸序列中任一个的多核苷酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0045] 本发明还提供了核酸分子,其编码表1列出的HCDR1氨基酸序列中任一个;在某些实施方式中,核酸分子包含选自表2列出的HCDR1核酸序列中任一个的多核苷酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0046] 本发明还提供了核酸分子,其编码表1列出的HCDR2氨基酸序列中任一个;在某些实施方式中,核酸分子包含选自表2列出的HCDR2核酸序列中任一个的多核苷酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0047] 本发明还提供了核酸分子,其编码表1列出的HCDR3氨基酸序列中任一个;在某些实施方式中,核酸分子包含选自表2列出的HCDR3核酸序列中任一个的多核苷酸序列,或

其具有至少90%，至少95%，至少96%，至少97%，至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0048] 本发明还提供了核酸分子，其编码表1列出的LCDR1氨基酸序列中任一个；在某些实施方式中，核酸分子包含选自表2列出的LCDR1核酸序列中任一个的多核苷酸序列，或与其具有至少90%，至少95%，至少96%，至少97%，至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0049] 本发明还提供了核酸分子，其编码表1列出的LCDR2氨基酸序列中任一个；在某些实施方式中，核酸分子包含选自表2列出的LCDR2核酸序列中任一个的多核苷酸序列，或与其具有至少90%，至少95%，至少96%，至少97%，至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0050] 本发明还提供了核酸分子，其编码表1列出的LCDR3氨基酸序列中任一个；在某些实施方式中，核酸分子包含选自表2列出的LCDR3核酸序列中任一个的多核苷酸序列，或与其具有至少90%，至少95%，至少96%，至少97%，至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。

[0051] 本发明还提供了核酸分子，其编码HCVR，其中所述HCVR包含一组三个CDR（即，HCDR1-HCDR2-HCDR3），其中所述HCDR1-HCDR2-HCDR3氨基酸序列组是如表1列出的示例性抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白中任一个限定。

[0052] 本发明还提供了核酸分子，其编码LCVR，其中所述LCVR包含一组三个CDR（即，LCDR1-LCDR2-LCDR3），其中所述LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组是如表1列出的示例性抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白中任一个限定。

[0053] 本发明还提供了核酸分子，其编码HCVR和LCVR两者，其中所述HCVR包含表1列出的HCVR氨基酸序列中任一个的氨基酸序列，且其中所述LCVR包含表1列出的LCVR氨基酸序列中任一个的氨基酸序列。在某些实施方式中，核酸分子包含选自表2列出的HCVR核酸序列中任一个的多核苷酸序列，或与其具有至少90%，至少95%，至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列，和选自表2列出的LCVR核酸序列中任一个的多核苷酸序列，或与其具有至少90%，至少95%，至少96%，至少97%，至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列。在根据本发明的这个方面的某些实施方式中，核酸分子编码HCVR和LCVR，其中所述HCVR和LCVR两者均衍生自表1列出的相同抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白。

[0054] 本发明提供了编码表3列出的重链氨基酸序列中任一个的核酸分子。本发明还提供了编码表3列出的轻链氨基酸序列中任一个的核酸分子。

[0055] 本发明还提供了编码重链（HC）和轻链（LC）两者的核酸分子，其中所述HC包含表3列出的HC氨基酸序列中任一个的氨基酸序列，并且所述LC包含表3列出的LC氨基酸序列中任一个的氨基酸序列。

[0056] 在一个相关方面，本发明提供了能够表达包含抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白的重和/或轻链可变区的多肽的重组表达载体。例如，本发明包括包含上文提及的核酸分子中任一个的重组表达载体，即，编码表1所述HCVR，LCVR和/或CDR序列中任一个的核酸分子。本发明还提供了能够表达包含抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白的重和/或轻链的多肽的重组表达载体。例如，本发明包括重组表达载体，其包含上文提及的核酸分子中任一个，即编码表2所述的重链或轻链序列中任一个的核酸分子。也包括在本发明的范围内的是已经向其

中引入这样的载体的宿主细胞,以及通过在允许生产抗原结合蛋白的条件下培养宿主细胞,并回收如此生产的抗原结合蛋白而生产抗原结合蛋白的方法。

[0057] 在第三方面,本发明提供了药物组合物,其包含治疗有效量的分离的重组抗原结合蛋白,其特异性结合HLA-A2呈递HPV16E7肽的构象表位(例如,包含HPV16E7的氨基酸残基11-19或82-90的肽),和药学上可接受的载体。在一个相关方面,本发明特征在于组合物,其是抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白和第二治疗剂的组合。在一个实施方式中,第二治疗剂是有利地与抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白组合的任何药剂。可以有利地与抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白组合的示例性试剂包括,但不限于,结合和/或调节HPV复制或感染的其它试剂(包括其他抗体或其抗原结合片段,等等)和/或调节免疫细胞激活的试剂。可用于与本发明的抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白组合的另外的疗法在本文其它地方公开。

[0058] 在第四方面,本发明提供了治疗患有HPV相关疾病或病症例如HPV16E7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发明的抗HLA-A2:h**HPV16**E7抗原结合蛋白或本发明的药物组合物。所治疗的疾病是通过本文提供的抗原结合蛋白和组合物而改善,减轻,抑制或预防的任何疾病或病症。在某些实施方式中,本发明的抗原结合蛋白(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针对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,针对病毒感染细胞上的表位的抗体,细胞毒剂,抗癌药,抗病毒药,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。在某些实施方式中,第二治疗剂可以是有助于抵消或减少与本发明的抗原结合蛋白相关联的任何可能副作用的试剂,如果这样的副作用应发生的话。

[0059] 在某些实施方式中,本发明提供了抑制HPV相关癌症的生长的方法。例如,本发明提供了抑制受试者中由于原发性肿瘤或转移性肿瘤引起的肿瘤生长的方法。在某些实施方式中,本发明提供了增强患有HPV相关癌症的受试者的存活(例如,无进展存活或总存活)的方法。癌症的实例包括但不限于鳞状细胞癌,例如头颈鳞状细胞癌,宫颈癌,肛殖癌,口咽癌。

[0060] 在某些实施方式中,本发明提供了用于抑制(inhibiting)或抑制(suppressing)已建立的肿瘤的生长的方法。该方法包括向有需要的受试者施用包含治疗有效量的本发明的抗原结合蛋白的药物组合物。在某些实施方式中,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,可以以受试者的约0.1mg/kg体重至约100mg/kg体重的剂量施用。

[0062] 在第五方面,本发明提供了编码嵌合抗原受体(CAR)的分离的核酸分子。所述CAR可以包含特异性结合HLA-A2呈递人乳头瘤病毒(HPV)16 E7肽(HPV16E7肽)的构象表位,例如,HPV16E7的氨基酸残基11-19或82-90的胞外结合结构域,跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施方式中,胞外结合结构域是抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白或其抗原结合片段。本发明的示例性抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白是本文所述抗原结合蛋白中任一个。

[0063] 例如,在某些实施方式中,适用于本发明的CAR的抗原结合蛋白包含表1列出的重链可变区(HCVR)序列的任一个内含有的三个重链互补决定区(CDR)(HCDR1,HCDR2和

HCDR3);和表1列出的轻链可变区(LCVR)序列的任一个内含有的三个轻链CDR(LCDR1,LCDR2和LCDR3)。

[0064] 在其它实施方式中,适用于本发明的CAR的抗原结合蛋白包含具有选自表1列出的HCVR序列的氨基酸序列的HCVR;和/或具有选自表1列出的LCVR序列的氨基酸序列的LCVR。

[0065] 在一些实施方式中,适用于本发明的CAR的抗原结合蛋白包含:(a)具有选自表1列出的HCVR序列的氨基酸序列的HCVR;和(b)具有选自表1列出的LCVR序列的氨基酸序列的LCVR。

[0066] 在一个实施方式中,适用于本发明的CAR的抗原结合蛋白包含:(a)具有选自SEQ ID NO:4,20,36,52,68,84,100,116,132,148,164,180,196,212,220,236,252,268,284,300,316,332,348,364,380,396,412,428,444,460,476,492,508和524的氨基酸序列的HCDR1结构域;(b)具有选自SEQ ID NO:6,22,38,54,70,86,102,118,134,150,166,182,198,214,222,238,254,270,286,302,318,334,350,366,382,398,414,430,446,462,478,494,510和526的氨基酸序列的HCDR2结构域;(c)具有选自SEQ ID NO:8,24,40,56,72,88,104,120,136,152,168,184,200,216,224,240,256,272,288,304,320,336,352,368,384,400,416,432,448,464,480,496,512和528的氨基酸序列的HCDR3结构域;(d)具有选自SEQ ID NO:12,28,44,60,76,92,108,124,140,156,172,188,204,228,244,260,276,292,308,324,340,356,372,388,404,420,436,452,468,484,500,516和532的氨基酸序列的LCDR1结构域;(e)具有选自SEQ ID NO:14,30,46,62,78,94,110,126,142,158,174,190,206,230,246,262,278,294,310,326,342,358,374,390,406,422,438,454,470,486,502,518和534的氨基酸序列的LCDR2结构域;和(f)具有选自SEQ ID NO:16,32,48,64,80,96,112,128,144,160,176,192,208,224,240,256,272,288,304,320,336,352,368,384,400,416,432,448,464,480,496,512和528的氨基酸序列的LCDR3结构域。

[0067] 在进一步的实施方式中,适用于本发明的CAR的抗原结合蛋白包含HCVR/LCVR氨基酸序列对,其选自SEQ ID NO:2/10,18/26,34/42,50/58,66/74,82/90,98/106,114/122,130/138,146/154,162/170,178/186,194/202,210/202,218/226,234/242,250/258,266/274,282/290,298/306,314/322,330/338,346/354,362/370,378/386,394/402,410/418,426/434,442/450,458/466,474/482,490/498,506/514和522/530,例如选自SEQ ID NO:2/10,34/42,82/90,194/202,282/290和506/514的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

[0068] 在一些实施方式中,用于本发明的CAR的分离的抗原结合蛋白是scFv。

[0069] 在其它方面,本发明提供了包含分离的CAR核酸分子的载体;和包含这样的载体的免疫效应细胞。

[0070] 在本发明的又一些方面,提供了用于治疗患有HPV相关疾病或病症,如HPV16E7阳性癌症,例如,鳞状细胞癌,例如,宫颈癌,头颈小细胞癌,肛殖癌和口咽癌的受试者的方法。所述方法包括向受试者施用包含本发明的CAR的免疫效应细胞群体。

[0071] 在某些方面,本发明提供了用于检测,例如受试者中或获自受试者的样品中的,HPV16E7阳性细胞的方法。所述方法包括使细胞,例如获自受试者的细胞样品,接触包含可检测部分的本发明的抗原结合蛋白,或向受试者施用包含可检测部分的本发明的抗原结合蛋白,并检测所述可检测部分的存在。

[0072] 通过阅读下文的详细描述,其他实施方式将变得显而易见。

具体实施方式

[0073] 在描述本方法之前,应理解,本发明不限于特定方法和所描述的实验条件,因为这些方法和条件可以变化。还应理解,本文中使用的术语仅出于描述特定实施方式的目的,而无意于限制本发明,因为本发明的范围仅由所附权利要求书限制。

[0074] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域结构的普通技术人员通常所理解的含义。尽管类似于或等同于本文描述的那些方法和材料的任何方法和材料都可以用于本发明的实践或测试中,但是现在描述优选的方法和材料。本文提及的所有出版物均通过引用全文并入本文。

[0075] 术语“人乳头瘤病毒”(“HPV”)是指感染皮肤或粘膜细胞的小的、无包膜的脱氧核糖核酸(DNA)病毒。该环状双链病毒基因组的长度约为8kb。该基因组编码负责病毒复制的6种早期蛋白质和2种晚期蛋白质L1和L2,其是病毒结构蛋白。已经识别超过170种类型的HPV,其用数字命名。某些HPV类型,例如HPV-5,可以建立持续个体一生的感染,而从不表现出任何临床症状。HPV 1型和2型可在某些感染个体中引起普通疣。HPV 6和11型可导致生殖器疣和呼吸道乳头瘤病。HPV 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73和82型被认为是致癌的。

[0076] 术语“HPV16E7”是指HPV 16型早期基因,命名为E7,以及从该基因翻译的蛋白质。

[0077] 全长HPV16E7的氨基酸序列在GenBank中以登录号NP_041326.1 (SEQ ID NO:537)提供。术语“HPV16E7”包括重组HPV16E7或其片段。该术语还涵盖与例如组氨酸标签、小鼠或人Fc、或信号序列(例如ROR1)偶联的HPV16E7或其片段。在某些实施方式中,该术语在HLA-A2的上下文中包括HPV16E7或其片段,其连接至HLA-A2或由HLA-A2展示。

[0078] 术语“HLA”是指人白细胞抗原(HLA)系统或复合物,其是编码人中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体的免疫系统。对应于MHC I类(A,B和C)的HLA从细胞内部呈递多肽。

[0079] 术语“HLA-A”是指由HLA-A基因座编码的人类白细胞抗原(HLA)的组。HLA-A是人类MHC I类细胞表面受体的三种主要类型之一。该受体是异二聚体,并且由重 α 链和较小 β 链组成。 α 链由变异的HLA-A基因编码,而 β 链(β 2-微球蛋白)是不变的 β 2微球蛋白分子。

[0080] 术语“HLA-A2”是在HLA-A基因座处的一个特定的I类主要组织相容性复合体(MHC)等位基因。 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。

[0081] 如本文使用的术语“抗原结合蛋白”、“结合蛋白”或“结合分子”包括分子,其含有至少一个抗原结合位点,其特异性结合感兴趣的分子,如HLA-A2呈递人乳头瘤病毒(HPV)16E7肽(HPV16E7肽)的构象表位,例如包含氨基酸残基11-19或82-90的HLA-A2展示肽。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。

[0082] 术语“HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白”或“HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白”等等是指抗原结合蛋白,如抗体,或其抗原结合部分,其特异性结合通过HLA-A2呈递的HPV16E7的肽片段的构象表位,例如氨基酸残基11-19或氨基酸残基82-90。在某些实施方式中,构象表位由HLA-A2呈递的HPV16E7肽在细胞表面上产生。

[0083] 术语“表位”是指抗原决定簇,其与抗原结合蛋白的称为互补位的可变区中的特定抗原结合位点相互作用。单个抗原可以具有一个以上的表位。因此,不同的抗原结合蛋白可

以结合抗原上的不同区域,并且可具有不同的生物效应。术语“表位”还指抗原上B和/或T细胞对其应答的位点。它还指由抗原结合蛋白结合的抗原的区域。表位可以定义为结构或功能上的。功能性表位通常是结构表位的子集,并具有直接有助于相互作用的亲和力的那些残基。表位也可以是“构象的”,即由非线性氨基酸组成。在某些实施方式中,表位可以包括作为分子的化学活性表面基团,例如氨基酸,糖侧链,磷酸基或磺酰基的决定簇,并且在某些实施方式中,可以具有特定的三维结构特征和/或特定的电荷特性。

[0084] 在本发明的一些实施方式中,结合蛋白是抗体或其抗原结合片段,如全长抗体或其抗原结合片段。

[0085] 如本文所用,术语“抗体”旨在指由通过二硫键相互连接的四个多肽链——两个重(H)链和两个轻(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。每条重链包含重链可变区(“HCVR”或“V_H”)和重链恒定区(包括C_H1, C_H2和C_H3结构域)。每条轻链包含轻链可变区(“LCVR”或“V_L”)和轻链恒定区(C_L)。可以将V_H和V_L区进一步细分为高变区,称为互补决定区(CDR),其间散布着更为保守的区,称为框架区(FR)。每个V_H和V_L由三个CDR和四个FR组成,从氨基末端到羧基末端按以下顺序排列:FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4。在本发明的某些实施方式中,抗体的FR(或抗原结合片段)可以是与人种系序列相同,或可以是天然或人工修饰。可以基于两个或更多个CDR的并排分析来定义氨基酸共有序列。

[0086] 一个或多个CDR残基的置换或一个或多个CDR的省略也是可能的。抗原结合蛋白,例如抗体,已经在科学文献中描述,其中一个或两个CDR可以被省去用于结合。Padlan等(1995 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,只有约1/5至1/3的CDR残基实际上与抗原接触。Padlan还发现了许多抗体,其中一个或两个CDR没有与抗原接触的氨基酸(另请参见Vajdos等,2002 J Mol Biol 320:415-428)。

[0087] 不接触抗原的CDR残基可以根据以前的研究(例如,通常不需要CDRH2中的H60-H65残基),通过分子模拟和/或凭经验从在Chothia CDR之外的Kabat CDR区域中识别。如果省略CDR或其残基,则其通常被在另一个人抗体序列或这样的序列的共有序列中占据相应位置的氨基酸置换。CDR中的置换位置和待置换的氨基酸也可以凭经验选择。经验性置换可以是保守性或非保守性置换。

[0088] 本文公开的抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,例如,全人抗HLA-A2:HPV16E7单克隆抗体,或其抗原结合片段,或CAR,可以包含与相应的种系序列相比,在重链和轻链可变结构域的框架和/或CDR区域中的一个或多个氨基酸置换、插入和/或缺失。通过将本文公开的氨基酸序列与可从例如公共抗体序列数据库获得的种系序列进行比较,可以容易地确定这样的突变。本发明包括抗原结合蛋白,例如抗体,或其CAR,或抗原结合片段,其衍生自本文公开的氨基酸序列中任一个,其中一个或多个框架和/或CDR区内的一个或多个氨基酸被突变成从其衍生该抗原结合蛋白的种系序列的相应残基,或突变成另一人种系序列的相应残基,或突变成相应种系残基的保守氨基酸置换(这样的序列改变在本文中统称为“种系突变”)。本领域的普通技术人员,以本文公开的重链和轻链可变区序列开始,可以很容易地产生无数抗原结合蛋白,例如抗体,或其抗原结合片段,或CAR,其包含一个或多个个体种系突变或其组合。在某些实施方式中,V_H和/或V_L结构域内的所有框架和/或CDR残基被突变回到

见于从其衍生抗原结合抗体例如抗体的原始种系序列中的残基。在其他实施方式中,仅某些残基被突变回到原始种系序列,例如,仅见于FR1的前8个氨基酸内或FR4的后8个氨基酸内的突变残基,或仅见于CDR1,CDR2或CDR3内的突变残基。在其他实施方式中,一个或多个框架和/或CDR残基被突变为不同种系序列(即,不同于从其初始衍生抗体的种系序列的种系序列)的相应残基。此外,本发明的抗原结合蛋白,例如抗体,或其抗原结合片段,或CAR,可以在框架和/或CDR区中包含两种或更多种系突变的任何组合,例如,其中某些个体残基被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得以维持或被突变为不同种系序列的相应残基。一旦获得,抗原结合蛋白,例如抗体,和抗原结合片段,其含有一个或多个种系突变,可以被容易地测试一种或多种期望性质,例如,改善的结合特异性,增加的结合亲和力,提高或增强的拮抗或激动生物学特性(视情况而定),免疫原性降低等。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,包括在本发明内。

[0089] 本发明也包括抗原结合蛋白,例如,全人抗HLA-A2:HPV16E7单克隆抗体,或其抗原结合片段,或CAR,其包含本文公开的HCVR,LCVR和/或CDR氨基酸序列具有一个或多个保守取代的任意变体。例如,本发明包括抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,其具有HCVR,LCVR和/或CDR氨基酸序列,其相对于本文公开的任何HCVR,LCVR和/或CDR氨基酸序列具有,例如,10个或更少,8个或更少,6个或更少,4个或更少,等等保守氨基酸置换。

[0090] 如本文所用,术语“人抗体”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。本发明的人单克隆抗体(mAb)可以包括例如在CDR中不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。尤其是CDR3。然而,如本文所使用的,术语“人抗体”并不意图包括mAb,其中已经将衍生自另一哺乳动物物种(例如,小鼠)的种系的CDR序列嫁接到人FR序列上。该术语包括在非人类哺乳动物或非人类哺乳动物细胞中重组产生的抗体。该术语无意包括从人类受试者中分离或产生的抗体。

[0091] 本文所用的术语“重组”是指通过本领域中已知是重组DNA技术的技术或方法,包括例如DNA剪接和转基因表达,创建、表达、分离或获得的本发明的抗原结合蛋白,例如抗体,或其抗原结合片段。该术语是指抗原结合蛋白,例如,在非人类哺乳动物(包括转基因非人类哺乳动物,例如,转基因小鼠)或细胞(例如,CHO细胞)表达系统中表达,或从重组组合人抗体文库分离的抗体。

[0092] 如本文所用,术语“嵌合抗原受体”或“CAR”在本文中可互换使用,是指重组融合蛋白,其包含胞外结构域,其能够结合抗原(例如,HLA-A2展示的HPV16E7肽的构象表位,例如包含HPV16E7的氨基酸残基11-19或82-90的肽),跨膜结构域和至少一个细胞内信号传导结构域。

[0093] 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,细胞因子的分泌,ADCC和/或CDC的诱导)的免疫系统的任何细胞。在一个实施方式中,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)。T细胞的其他种群也可用于本研究,例如天然T细胞和记忆T细胞。如本领域技术人员将理解的,其他细胞也可以与本文所述的CAR一起用作免疫效应细胞。特别地,免疫效应细胞还包括NK细胞,NKT细胞,嗜中性粒细胞和巨噬

细胞。免疫效应细胞还包括效应细胞的祖细胞,其中可以诱导这些祖细胞在体内或体外分化为免疫效应细胞。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,例如来自脐带血、骨髓或动员的外周血的CD34+细胞群中所包含的造血干细胞(HSC),其在受试者中给药后分化为成熟的免疫效应细胞,或者可以在体外诱导分化为成熟的免疫效应细胞。

[0094] 如本文所公开,术语“脱靶肽”是指与靶肽(例如,HPV16E7 11-19肽)相差1,2,3,4,5或更多个氨基酸的肽。在某些实施方式中,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,如果1,2或3个氨基酸与靶肽不同,则将其视为“脱靶”肽。在某些实施方式中,氨基酸同一性以“相似度”(DoS)表示。如果9聚肽内的6个或更多个氨基酸是相同的,则DoS为6。在某些实施方式中,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相似,被预测与HLA-A2结合并且包含在基本、正常组织中表达的蛋白质中的肽。

[0095] 术语“特异性结合”或“特异性结合于”等等,意味着抗原结合蛋白,例如抗体,或其抗原结合片段,或CAR,与抗原形成在生理条件下相对稳定的复合物。特异性结合可通过至少约 1×10^{-8} M或更小的平衡解离常数来表征(例如, k_D 越小表示结合越紧密)。确定两个分子是否特异性结合的方法在本领域中是众所周知的,并且包括例如平衡透析,表面等离子激元共振等。如本文所述,抗原结合蛋白,例如抗体,已经通过表面等离子激元共振识别,例如,BIACORETM,其特异性结合HLA-A2呈递人乳头瘤病毒(HPV)16 E7肽(HPV16E7肽)的构象表位,例如包含HPV16E7的氨基酸残基11-19或82-90肽。

[0096] 术语“高亲和力”抗原结合蛋白,例如抗体,是指具有至少 10^{-8} M;优选 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的对HLA-A2呈递HPV16E7肽的构象表位,例如,包含HPV16E7的氨基酸残基11-19或82-90的肽的结合亲和力的那些抗原结合蛋白,例如,单克隆抗体,表示为 K_D ,如通过表面等离子激元共振测量的,例如,BIACORETM或溶液亲合性ELISA。

[0097] 术语“slow off速率”、“Koff”或“kd”是指抗原结合蛋白以 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:HPV16E7解离,如通过表面等离子激元共振测定的,例如BIACORETM。

[0098] 如本文中所使用的,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,可酶促获得的,合成的,或基因工程化的多肽或糖蛋白。如本文所用,术语抗体的“抗原结合片段”,或“抗体片段”,是指保留结合HLA-A2呈递HPV16E7肽的构象表位,例如,包含与HLA-A2偶联的HPV16E7的氨基酸残基11-19或82-90的肽的能力的抗体的一个或多个片段。

[0099] 在具体实施方式中,本发明的抗原结合蛋白,例如抗体或抗体片段,或CAR,可缀合至部分(moiety),例如配体,可检测部分,或治疗部分(“免疫缀合物”),如细胞毒素,第二抗-HLA-A2:HPV16E7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疾病或病症的治疗部分,包括HPV相关疾病或病症,例如HPV16E7阳性癌症或HPV感染,包括慢性HPV感染。

[0100] 如本文所用,“分离的抗原结合蛋白”,例如,分离的抗体,意在指抗原结合蛋白,例

如抗体,其基本上不含其它具有不同抗原特异性的抗原结合蛋白,例如抗体(Abs)(例如,特异性结合HLA-A2:HPV16E7的分离的抗体,或其片段,基本上不含特异性结合除HLA-A2呈递HPV16E7肽的构象表位以外的抗原的抗原结合蛋白,例如抗体)。

[0101] 如本文所用,术语“表面等离子激元共振”是指光学现象,其允许通过例如使用BIACORE™系统(Pharmacia Biosensor AB,Uppsala,Sweden和Piscataway,N.J.)检测生物传感器基质内蛋白质浓度的变化来分析实时生物分子相互作用。

[0102] 如本文所用,术语“ K_D ”是指特定抗原结合蛋白-抗原相互作用的平衡解离常数。

[0103] 本文所用的术语“交叉竞争”是指抗原结合蛋白,例如抗体,或其抗原结合片段,结合抗原并抑制或阻断另一个抗原结合蛋白,例如抗体,或其抗原结合片段的结合。该术语还包括两个抗原结合蛋白,例如抗体,在两个方向之间的竞争,即,第一抗原结合蛋白,例如抗体,其结合并阻断第二抗原结合蛋白,例如抗体的结合,反之亦然。在某些实施方式中,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,可以结合相同的表位。或者,第一和第二抗原结合蛋白,例如抗体,可以结合不同的,但重叠的表位,使得一者的结合抑制或阻断第二者的结合,例如,通过空间位阻。抗原结合蛋白,例如抗体,之间的交叉竞争可以通过本领域中已知的方法测量,例如,通过实时、无标记生物层干涉测量法。两个抗原结合蛋白,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)。两个抗原结合蛋白例如抗体之间的交叉竞争可以表示为例如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)。

[0104] 当涉及核酸或其片段时,术语“基本上相同”或“基本上相同”表示,当与另一个核酸(或其互补链)以适当的核苷酸插入或缺失最佳地比对时,存在核苷酸碱基的至少约90%,更优选至少约95%,96%,97%,98%或99%的核苷酸序列同一性,如通过以下讨论的任何众所周知的序列同一性算法测得的。与参比核酸分子基本上相同的核酸分子可在某些情况下编码与参比核酸分子编码的多肽具有相同或基本上相似氨基酸序列的多肽。

[0105] 序列同一性可以使用算法进行计算,例如用于全局比对的Needleman Wunsch算法(Needleman and Wunsch 1970,J.Mol.Biol.48:443-453)或用于局部比对的Smith Waterman算法(Smith and Waterman,1981,J.Mol.Biol.147:195-197)。Dufresne等在2002年的Nature Biotechnology(第20卷,第1269-71页)中描述了另一种优选算法,该算法在软件GenePAST(GQ Life Sciences,Inc.Boston,MA)中使用。

[0106] 应用于多肽时,术语“基本上相似”或“基本上相似”是指两个肽序列当例如通过使用默认缺口权重的GAP或BESTFIT程序进行最佳比对时,共享至少90%的序列同一性,甚至更优选至少95%,96%,97%,98%或99%的序列同一性。优选地,不相同的残基位置通过保守氨基酸置换而不同。“保守氨基酸置换”是其中氨基酸残基被具有具有相似化学性质(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置换。通常,保守氨基酸置换基本上不改变蛋白质的功能特性。在两个或更多个氨基酸序列通过保守置换而彼此不同的情况下,可以向上调节相似性的百分比或程度以校正置换的保守性质。进行这种调整的手段是本领域技术人员众所周知的。参见,例如,Pearson(1994)Methods Mol.Biol.24:307-331,其通过引用并入本文。具有具有类似化学性质的侧链的氨基酸的组的例子包括:1)脂

族侧链:甘氨酸,丙氨酸,缬氨酸,亮氨酸和异亮氨酸;2)脂族-羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;3)含酰胺的侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;4)芳香族侧链:苯丙氨酸,酪氨酸和色氨酸;5)碱性侧链:赖氨酸,精氨酸和组氨酸;6)酸性侧链:天冬氨酸和谷氨酸,以及7)含硫侧链:半胱氨酸和蛋氨酸。优选的保守氨基酸置换组是: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,保守替换是在Gonnet等,(1992)Science 256:1443-45,通过引用并入本文中公开的PAM250对数似然矩阵中具有正值的任何改变。“中等保守”替换是在PAM250对数似然矩阵中具有非负值的任何改变。

[0107] 通常使用序列分析软件来测量多肽的序列相似性。蛋白质分析软件使用分配给各种置换、缺失和其他修饰(包括保守氨基酸置换)的相似性度量来匹配相似序列。例如,GCG软件包含诸如GAP和BESTFIT之类的程序,这些程序可以与默认参数一起使用,以确定紧密相关多肽(例如来自不同物种的生物体的同源多肽或野生型蛋白质与其突变蛋白之间)之间的序列同源性或序列同一性。参见例如GCG版本6.1。也可以使用具有缺省或推荐参数的FASTA比较多肽序列;其是GCG版本6.1中的程序。FASTA(例如FASTA2和FASTA3)提供查询序列和搜索序列之间的最佳重叠的区域的比对和序列同一性百分比(Pearson(2000),同上)。当将本发明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,另一优选算法是使用缺省参数的计算机程序BLAST,特别是BLASTP或TBLASTN。参见例如Altschul等(1990)J.Mol.Biol.215:403-410和(1997)Nucleic Acids Res.25:3389-3402,其各自通过引用并入本文。

[0108] 短语“治疗有效量”是指产生为此施用的期望效果的量。确切的量将取决于治疗的目的,并且将由本领域技术人员使用已知技术来确定(参见,例如,Lloyd(1999)The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding)。

[0109] 如本文所用,术语“受试者”是指需要改善,预防和/或治疗诸如HPV感染或与HPV相关疾病或病症,例如HPV相关癌症(例如,HPV16E7阳性癌症)的疾病或病症的动物,优选哺乳动物。该术语包括患有或处于患有HPV相关疾病或病症的风险的人类受试者,例如HPV相关癌症,转移性HPV相关癌症或HPV感染。

[0110] 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试剂,包括但不限于细胞毒素和试剂,例如抗代谢药,烷化剂,蒽环类抗生素,抗生素,抗有丝分裂剂,甲基苄肼,羟基脲,天冬酰胺酶,皮质类固醇,环磷酰胺,mytotane(O,P'-(DDD)),生物制剂(例如抗体和干扰素)和放射性试剂。如本文所用,“细胞毒素或细胞毒素剂”也指化学治疗剂,并且是指对细胞有害的任何试剂。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,吐根碱,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(coichicin),阿霉素,柔红霉素,二羟基炭疽菌素二酮,米托蒽醌,光神霉素,放线菌素D,1-去氢睾酮素,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。

[0111] 如本文使用的,术语“抗病毒药物”是指用于治疗,预防或改善宿主受试者中的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,依非韦伦,cobicistat,替诺福韦,利比韦林,镇痛药和皮质类固醇。

[0112] 包含以下中任一项目的免疫原可用于产生针对HLA-A2呈递HPV16E7肽的构象表位,例如,包含与HLA-A2连接的HPV16E7的氨基酸残基11-19或残基82-90的肽的抗原结合蛋白,例如抗体。在某些实施方式中,本发明的抗原结合蛋白,例如抗体,获自用与HLA-A2相连的全长天然HPV16E7蛋白(参见NCBI登录号NP_041326.1)(SEQ ID NO:537),或用重组HPV16E7肽,例如包含GenBank登录号NP_041326.1(SEQ ID NO:537)的氨基酸残基11-19(YMLDLQPET;SEQ ID NO:538)或GenBank登录号NP_041326.1(SEQ ID NO:537)的氨基酸残基82-90(LLMGTLGIV;SEQ ID NO:539)免疫化的小鼠。

[0113] 或者,可以使用标准生化技术产生HPV16E7或其片段,并在HLA-A2的背景下对其进行修饰并用作免疫原。

[0114] 在一些实施方式中,免疫原可以是在大肠杆菌或在任何其他真核或哺乳动物细胞例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中表达的重组HPV16E7肽。

[0115] 在某些实施方式中,抗原结合蛋白,其特异性结合HLA-A2呈递HPV16E7肽的构象表位,可使用上述区域的片段,或从本文所述的区域的N或C端或两者延伸超过指定区域约5至约20个氨基酸残基的肽来制备。在某些实施方式中,上述区域或其片段的任何组合可以用于制备HLA-A2:HPV16E7特异性抗原结合蛋白,例如抗体。

[0116] 肽可以被修饰以包括某些残基的添加或置换,以用于标记或为了缀合至诸如KLH之类的载体分子。例如,可以在肽的N末端或C末端添加半胱氨酸,或可以添加接头序列以制备肽用于缀合至例如用于免疫的KLH。

[0117] 在本文的实施例中说明了用于测量结合活性的非限制性示例性体外测定。在实施例4中,人抗HLA-A2:HPV16E7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测定,测量在Biacore 4000或T200仪器上进行。实施例6和7描述了抗体与过表达HPV16E7片段的细胞的结合。

[0118] 特异于HLA-A2:HPV16E7的抗原结合蛋白,例如抗体,可以不包含附加的标记或部分,或者它们可以包含N-末端或C-末端标签或部分。在一个实施方式中,标记或部分生物素。在结合测定中,标记(如果有的话)的位置可以确定肽相对于结合肽的表面的取向。例如,如果表面用抗生物素蛋白包被,则包含N端生物素的肽将被取向为使得该肽的C端部分将在该表面的远端。在一个实施方式中,标记可以是放射性核素,荧光染料或MRI可检测标记。在某些实施方式中,这样标记的抗原结合蛋白可用于诊断测定法,包括成像测定法。

[0119] 抗原结合蛋白

[0120] 本发明提供抗原结合蛋白,其包括抗体,或其抗原结合片段,和CAR(例如,编码本发明的CAR的核酸分子)(下面描述)。除非另有明确说明,否则本文所用的术语“抗体”应理解为包括包含两个免疫球蛋白重链和两个免疫球蛋白轻链的抗体分子(即“完整抗体分子”)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”等包括与抗原特异性结合以形成复合物的任何天然存在的,可酶促获得的,合成的或基因工程化的多肽或糖蛋白。如本文所用,术语抗体的“抗原结合片段”或“抗体片段”是指抗体的一个或多个片段,其保留特异性结合HLA-A2呈递HPV16E7肽的构象表位的能力。抗原结合蛋白,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。使用任何合适的标准技术如蛋白水解消化或涉及编码抗体可变和(任选地)恒定结构域的DNA的操作和表达的重组基因工程技术,抗原结合蛋白,例如抗体的抗原结合片

段,可以衍生自,例如,完整抗体分子。这样的DNA是已知的和/或可容易地从例如商业来源,DNA文库(包括例如噬菌体-抗体文库)获得,或者可以合成,可以化学地或通过使用分子生物学技术,对DNA进行测序和操作,例如将一个或多个可变和/或恒定结构域排列成合适的构型,或引入密码子,产生半胱氨酸残基,修饰,添加或删除氨基酸等。

[0121] 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碎片;(iv) Fv片段;(v) 单链Fv(scFv)分子;(vi) dAb片段;和(vii) 最小识别单元,其由模拟抗体的高变区(例如,分离的互补决定区(CDR),例如CDR3肽)的氨基酸残基,或受约束的FR3-CDR3-FR4肽组成。其它工程化分子,如结构域特异性抗体,单结构域抗体,结构域缺失抗体,嵌合抗体,CDR移植抗体,二抗体,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),小模块化免疫药物(SMIP)和鲨鱼可变IgNAR结构域也包括在本文所用的表达“抗原结合片段”中。

[0122] 抗原结合蛋白(例如,抗体)的抗原结合片段将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,并且通常将包含至少一个CDR,其与具有一个或多个框架序列的框架相邻或在其中。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 结构域可以相对于彼此以任何合适的布置相处。例如,可变区可以是二聚和含有 V_H-V_H , V_H-V_L 或 V_L-V_L 二聚体。或者,抗体的抗原结合片段可以含有单体 V_H 或 V_L 结构域。

[0123] 在某些实施方式中,抗体的抗原结合片段可以包含共价连接至至少一个恒定结构域的至少一个可变结构域。可见于本发明的抗原结合蛋白的抗原结合片段内的可变和恒定结构域的非限制性的、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 。在可变和恒定结构域的任何配置中,包括上面列出的任何示例性配置,可变和恒定结构域可以彼此直接连接,或者可以通过全部或部分铰链或连接区连接。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,其导致在单个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,本发明的抗体的抗原结合片段可包括同二聚体或异二聚体(或其他多聚体),其具有彼此的非共价结合和/或具有一个或多个单体 V_H 或 V_L 结构域(例如,通过二硫键)的任何上文列出的可变和恒定结构域配置。

[0124] 如同完整抗体分子,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(例如,双特异性)。抗体的多特异性抗原结合片段通常将包含至少两个不同的可变结构域,其中每个可变结构域都能够特异性结合单独的抗原或相同抗原上的不同表位。使用本领域可得的常规技术,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,都可以适用于本发明的抗体的抗原结合片段的上下文。

[0125] 抗原结合蛋白的制备

[0126] 用于在转基因小鼠中产生抗原结合蛋白如人抗体的方法在本领域中是已知的。任何这样的已知方法可以在本发明的上下文中用于制备特异性结合HLA-A2提呈人类乳头瘤病毒(HPV)16 E7肽(HPV16E7肽)的构象表位的人抗体。

[0127] 使用 **VELOCIMMUNE®** 技术(参见,例如,US6,596,541,Regeneron Pharmaceuticals, **VELOCIMMUNE®**)或任何其它用于产生抗原结合蛋白的已知方

法,例如,单克隆抗体,针对HLA-A2呈递HPV16E7肽的构象表位的高亲合性抗原结合蛋白,例如,嵌合抗体,是最初分离为具有人可变区和小鼠恒定区。VELOCIMMUNE技术涉及生成具有包含可操作地连接到内源小鼠恒定区基因座的人重链和轻链可变区的基因组的转基因小鼠,使得所述小鼠产生抗原结合蛋白,例如抗体,其包含响应抗原刺激的人可变区和小鼠恒定区。分离编码抗体的重链和轻链的可变区的DNA,并与编码人重链和轻链恒定区的DNA可操作地连接。然后在能够表达全人抗体的细胞中表达DNA。

[0128] 通常,用感兴趣的抗原挑战 **VELOCIMMUNE®** 小鼠,从表达抗原结合蛋白,例如抗体的小鼠回收淋巴细胞(如B细胞)。可将淋巴细胞与骨髓瘤细胞系融合以制备永生化杂交瘤细胞系,并且筛选并选择这样的杂交瘤细胞系以识别产生对靶抗原具有特异性的抗体的杂交瘤细胞系。可以分离编码重链和轻链可变区的DNA,并将其连接至重链和轻链的所需同型恒定区。这样的抗原结合蛋白可以在细胞中产生,例如CHO细胞。或者,编码抗原特异性抗原结合蛋白,例如,嵌合抗体,或者轻和重链的可变结构域的DNA可以直接从抗原特异性淋巴细胞中分离。

[0129] 首先,高亲和力抗原结合蛋白,例如,嵌合抗体,是分离为具有人可变区和小鼠恒定区。如在下面的实验部分中,抗原结合蛋白的特征在于期望特性且针对期望特性进行选择,包括亲和力,选择性,表位,等等。小鼠恒定区被期望的人恒定区替换以生成本发明的抗原结合蛋白,例如,全人抗体,例如野生型或修饰的IgG1或IgG4。虽然选择的恒定区可以根据特定用途而变化,但是高亲和力抗原结合和靶标特异性特征存在于可变区中。

[0130] 生物等效物

[0131] 本发明的抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白涵盖具有从那些所述的抗原结合蛋白例如抗体变化的氨基酸序列,但保留结合HLA-A2呈递HPV16E7肽的构象表位的能力。这样的变体抗原结合蛋白包含与亲代序列相比时的氨基酸的一个或多个添加、缺失或置换,但表现出与所描述的抗原结合蛋白基本上等同的生物活性。同样地,本发明的抗原结合蛋白编码DNA序列涵盖与所公开的序列相比时包含核苷酸的一个或多个添加、缺失或置换的序列,但其编码与本发明的抗原结合蛋白基本上生物等效的抗原结合蛋白。

[0132] 如果例如两种抗原结合蛋白或抗体是吸收速率和程度当在相似实验条件下以相同摩尔剂量施用时不显示显著差异的药物等效物或药物替代物,无论是单个剂量或多个剂量,则其被认为是生物等效的。如果一些抗原结合蛋白或抗体在其吸收程度而非其吸收速率方面等同,则将被认为是等效物或药物替代物,而又因为这样的吸收速率差异是故意的并反映在标签中,对于获得有效体内药物浓度(例如,长期使用)不是必不可少的,并且被认为对所研究的特定药物在医学上无足轻重,则被认为是生物等效的。

[0133] 在一个实施方式中,如果没有在它们的安全性,纯度,或效力方面有临床上有意义的差异,则两种抗原结合蛋白(或抗体)是生物等效的。

[0134] 在一个实施方式中,如果患者可以在参比产品和生物产品之间切换一次或多次而与不进行这样的转换的持续治疗相比,没有不良反应的风险的预期增加,包括免疫原性的临床显著改变,或降低的有效性,则两种抗原结合蛋白(或抗体)是生物等效的。

[0135] 在一个实施方式中,如果它们都通过使用的一个或多个情况的一个或多个共同作用机制发挥作用到了这些机制是已知的程度,则两种抗原结合蛋白(或抗体)是生物等效的。

[0136] 可以通过体内和/或体外方法证明生物等效性。生物等效性的度量包括,例如,(a)在人类或其他哺乳动物中的体内测试,其中抗原结合蛋白或其代谢物的浓度在血液,血浆,血清或其它生物流体中测量为时间的函数;(b)已与人类体内生物利用度数据相关并可以合理预测的体外试验;(c)在人类或其它哺乳动物中的体内测试,其中抗原结合蛋白(或其靶标)的适当急性药理效果测量为时间的函数;和(d)在良好控制的临床试验中,其确定抗原结合蛋白的安全性,有效性,或生物利用度或生物等效性。

[0137] 本发明的抗原结合蛋白(或抗体)的生物等效变体可以通过例如进行残基或序列的各种置换或删除生物学活性不需要的末端或内部残基或序列来构造。例如,对于生物学活性不是必需的半胱氨酸残基可以被删除或被其他氨基酸替代,以防止复性时形成不必要或不正确的分子内二硫键。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改变的抗原结合蛋白变体,其改变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。

[0138] 包括Fc变体的抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白

[0139] 根据本发明的某些实施方式,提供了抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,例如抗体,其包含Fc结构域,其包含一个或多个突变,其增强或减弱抗原结合蛋白对FcRn受体的结合,例如在酸性pH下与中性pH相比。例如,本发明包括抗HLA-A2:HPV16E7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,其中所述突变增加在酸性环境中Fc结构域对FcRn的亲合(例如,在pH为约5.5至约6.0的核内体中)。这样的突变可以导致施用于动物时抗原结合蛋白的血清半衰期的增加。这样的Fc修饰的非限制性实例包括,例如,在位置250处的修饰(例如,E或Q);250和428(例如L或F);252(例如L/Y/F/W或T),254(例如S或T)和256(例如S/R/Q/E/D或T);或在位置428和/或433处的修饰(例如,H/L/R/S/P/Q或K)和/或434(例如,A,W,H,F或Y[N434A,N434W,N434H,N434F或N434Y]);或在位置250和/或428处的修饰;或在位置307或308处的修饰(例如,308F,V308F),和434。在一个实施方式中,修饰包括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修饰(例如T250Q和M428L);和307和/或308修饰(例如308F或308P)。在又一个实施方式中,修饰包括265A(例如,D265A)和/或297A(例如,N297A)修饰。

[0140] 例如,本发明包括抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,其包含Fc结构域,其包含选自以下的一个或多个突变对或组: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)。在一个实施方式中,本发明包括抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,其包含Fc结构域,其包含促进二聚体稳定化的IgG4铰链区中的突变S108P。前述Fc结构域突变的所有可能组合,以及本文公开的抗原结合蛋白可变结构域内的其他突变,在本发明的范围内设想。

[0141] 本发明还包括抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,其包含嵌合重链恒定(C_H)区域,其中所述嵌合C_H区包含衍生自多于一种免疫球蛋白同种型的C_H区的区段。例如,本发明的抗原结合蛋白可包含嵌合C_H区,其包含衍生自人IgG1,人IgG2或人IgG4分子的部分或全部的C_H2结构域,与衍生自人IgG1,人IgG2或人IgG4分子的部分或全部的C_H3结构域结合。根据某

些实施方式中,本发明的抗原结合蛋白包含嵌合C_H区域,其具有嵌合铰链区。例如,嵌合铰链可包含衍生自人IgG1,人IgG2或人IgG4铰链区的“上铰链”氨基酸序列(根据EU编号来自位置216至227的氨基酸残基),与衍生自人IgG1,人IgG2或人IgG4铰链区的“下铰链”序列(根据EU编号来自位置228至236的氨基酸残基)结合。根据某些实施方式,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。包含如本文描述的嵌合C_H区域的抗原结合蛋白可以在某些实施方式中展示出改变的Fc效应子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性质。(参见,例如,美国专利公开号20140243504,其公开内容通过引用整体并入本文)。

[0142] 抗原结合蛋白的生物学特性

[0143] 一般而言,本发明的抗原结合蛋白通过结合HLA-A2呈递人乳头瘤病毒(HPV)16 E7肽(HPV16E7肽)的构象表位而发挥功能。

[0144] 本发明包括抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,其在HLA-A2的环境下以高特异性结合HPV16E7肽。在没有HLA-A2的情况下,抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白不与HPV16E7肽结合。此外,在HLA-A2的环境下,抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白不结合脱靶肽。

[0145] 本发明包括以高亲和力结合单体HLA-A2:HPV16E7 11-19肽的抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白。例如,本发明包括抗原结合蛋白,其以小于约20nM的K_D结合单体HLA-A2:HPV16E7 11-19肽(例如,在25°C或在37°C),如通过表面等离子共振测量的,例如,使用如本文实施例4中定义的测定形式。在某些实施方式中,抗原结合蛋白以小于约15nM,小于约12nM,小于约10nM,小于约5nM,小于约2nM,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结合单体HLA-A2:HPV16E7 11-19肽,如通过表面等离子共振测量的,例如,使用如本文实施例4中定义的测定形式,或基本上相似的测定。

[0146] 本发明包括抗原结合蛋白,其以小于约25nM的K_D结合单体HLA-A2:HPV16E7 82-90肽(例如,在25°C或在37°C),如通过表面等离子共振测量的,例如,使用本文实施例4中定义的测定形式,或基本上相似的测定。在某些实施方式中,抗原结合蛋白以小于约20nM,小于约15nM,小于约12nM,小于约10nM,小于等于约5nM,小于约2nM,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结合单体HLA-A2:HPV16E7 82-90肽,如通过表面等离子共振测量的,例如使用如本文实施例4所定义的测定形式,或基本上相似的测定。

[0147] 本发明也包括抗原结合蛋白,其以小于约6nM的EC₅₀结合表达HLA-A2:HPV16E7 11-19肽的细胞,且不结合表达预测的脱靶肽的细胞,如通过发光测定法测定的,如本文实施例6所定义,或基本上相似的测定法。在某些实施方式中,抗原结合蛋白以小于约6nM,小于约5nM,小于约2nM,小于约1nM,或小于约0.5nM的EC₅₀结合表达HLA-A2:HPV16E7 11-19肽的细胞,且不结合表达预测的脱靶肽的细胞,如通过发光测定法测定的,如本文实施例6所定义,或基本上相似的测定,例如,使用本文实施例6中的测定形式,或基本上相似的测定。

[0148] 本发明也包括抗原结合蛋白,其以小于约1nM的EC₅₀结合表达HLA-A2:HPV16E7 82-90肽的细胞,且不结合表达预测的脱靶肽的细胞,如通过发光测定法测定的,如本文实施例6所定义,或基本上相似的测定。在某些实施方式中,抗原结合蛋白以小于约1nM,小于约0.5nM,小于约0.2nM,或小于约0.01nM的EC₅₀结合表达HLA-A2:HPV16E7 82-90肽的细胞,且不结合表达预测的脱靶肽的细胞,如通过发光测定法测定的,如本文实施例6所定义,或基

本上相似的测定,例如,使用本文实施例6中的测定形式,或基本上相似的测定。

[0149] 本发明也包括抗原结合蛋白,其以小于约30nM的EC₅₀结合表达HLA-A2:HPV16E7 82-90肽的细胞,如通过流式细胞术测定法测量的,如本文实施例7所定义,或基本上相似的测定。在某些实施方式中,抗原结合蛋白以小于约25nM,小于约20nM,小于约15nM,小于约10nM,小于约5nM,小于约2nM,小于约1nM,或小于约0.5nM的EC₅₀结合表达HLA-A2:HPV16E7 82-90肽的细胞,如通过流式细胞术测定法测量的,例如,使用本文实施例7中的测定形式,或基本上相似的测定。

[0150] 本发明也包括抗原结合蛋白,其以小于约75nM的EC₅₀结合表达HLA-A2:HPV16E7 82-90肽的细胞,如通过流式细胞术测定法测量的,如本文实施例7所定义,或基本上相似的测定。在某些实施方式中,抗原结合蛋白以小于约75nM,小于约70nM,小于约65nM,小于约60nM,小于约55nM,小于约50nM,小于约45nM,小于约40nM,小于约35nM,小于约30nM,小于约25nM,小于约20nM,小于约15nM,小于约10nM,小于约5nM,小于约2nM,小于约1nM,或小于约0.5nM的EC₅₀结合表达HLA-A2:HPV16E7 82-90肽的细胞,如通过流式细胞术测定法测量的,例如,使用本文实施例7中的测定形式,或基本上相似的测定。

[0151] 在某些实施方式中,本发明的抗原结合蛋白当预防性地施用于有需要的受试者时可用于抑制肿瘤生长或延缓癌症发展,并且可以增加所述受试者的存活。例如,施用本发明的抗原结合蛋白可导致原发性肿瘤的收缩,并且可以防止继发性肿瘤的转移或发展。在某些实施方式中,本发明的抗原结合蛋白当治疗性地施用于有需要的受试者时可用于抑制肿瘤生长,并且可以增加所述受试者的存活。例如,向受试者施用治疗有效量的本发明的抗原结合蛋白可以导致受试者中已建立的肿瘤的收缩和消失。

[0152] 在一个实施方式中,本发明提供一种分离的重组抗原结合蛋白,其结合HLA-A2呈递HPV16E7肽的构象表位,其中所述抗原结合蛋白表现出以下特征中的一种或多种:(i) 包含具有选自SEQ ID NO:2,18,34,50,66,82,98,114,130,146,162,178,194,210,218,234,250,266,282,298,314,330,346,362,378,394,410,426,442,458,474,490,506和522的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列的HCVR;(ii) 包含具有选自SEQ ID NO:10,26,42,58,74,90,106,122,138,154,170,186,202,226,242,258,274,290,306,322,338,354,370,386,402,418,434,450,466,482,498,514和530的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列的LCVR;(iii) 包含具有选自SEQ ID NO:8,24,40,56,72,88,104,120,136,152,168,184,200,216,224,240,256,272,288,304,320,336,352,368,384,400,416,432,448,464,480,496,512和528的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列的HCDR3结构域;和具有选自SEQ ID NO:16,32,48,64,80,96,112,128,144,160,176,192,208,232,248,264,280,296,312,328,344,360,376,392,408,424,440,456,472,488,504,520和536的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列的LCDR3结构域;(iv) 包含具有选自SEQ ID NO:4,20,36,52,68,84,100,116,132,148,164,180,196,212,220,236,252,268,284,300,316,332,348,364,380,396,412,428,444,460,476,492,508和524的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序

列同一性的基本上相似的序列的HCDR1结构域;具有选自SEQ ID NO:12,28,44,60,76,92,108,124,140,156,172,188,204,228,244,260,276,292,308,324,340,356,372,388,404,420,436,452,468,484,500,516和532的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列的LCDR1结构域;以及具有选自SEQ ID NO:14,30,46,62,78,94,110,126,142,158,174,190,206,230,246,262,278,294,310,326,342,358,374,390,406,422,438,454,470,486,502,518和534的氨基酸序列,或与其具有至少90%,至少95%,至少96%,至少97%,至少98%或至少99%的序列同一性的基本上相似的序列的LCDR2结构域;(v)以小于约20nM的结合解离平衡常数(K_D)结合单体HLA-A2:HPV16E7 11-19肽,如在25°C的表面等离激元共振测定法测得的;(vi)以小于约25nM的结合解离平衡常数(K_D)结合单体HLA-A2:HPV16E7 82-90肽,如在25°C的表面等离激元共振测定法测得的;(vii)以小于约6nM的 EC_{50} 结合HLA-A2:HPV16E7 11-19肽表达细胞,并且不结合表达预测的脱靶肽的细胞,如通过发光测定法确定的;(viii)以小于约1nM的 EC_{50} 结合HLA-A2:HPV16E7 11-19肽表达细胞,并且基本上不结合表达预测的脱靶肽的细胞,如通过发光测定法确定的;(ix)以小于约30nM的 EC_{50} 结合表达HLA-A2:HPV16E7 11-19肽的细胞,如通过流式细胞术测定的;(x)以小于约75nM的 EC_{50} 结合表达HLA-A2:HPV16E7 82-90肽的细胞,如通过流式细胞术测定的;(xi)不结合HLA-A2展示的脱靶肽,其中该肽与SEQ ID NO:538相差1,2,3,4,5个或更多个氨基酸;(xii)不结合HLA-A2展示的脱靶肽,其中该肽与SEQ ID NO:539相差1,2,3,4,5个或更多个氨基酸。

[0153] 本发明的抗原结合蛋白可具有上述生物特性中的一种或多种,或其任意组合。本发明的抗原结合蛋白的其它生物学特性从包括本文的工作实施例的本公开内容来看对于本领域普通技术人员将是明显的。

[0154] 表位映射(epitope mapping)及相关技术

[0155] 本发明包括抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,其与见于HLA-A2展示HPV16E7肽的一个或多个结构域内的一个或多个氨基酸相互作用。该表位可以由位于HPV16E7分子的前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(例如构象表位)。

[0156] 本领域普通技术人员已知的各种技术可用于确定是否抗原结合蛋白“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测定,例如在Antibodies, Harlow and Lane(冷泉港出版社,冷泉港,纽约)中描述的。其它方法包括丙氨酸扫描突变分析,肽印迹分析(Reineke(2004)Methods Mol.Biol.248:443-63),肽切割分析晶体学研究和NMR分析。此外,可以采用方法如表位切除,表位提取和抗原的化学修饰(Tomer(2000)Prot.Sci.9:487-496)。可用于识别多肽内的、抗原结合蛋白与之相互作用的氨基酸的另一种方法是通过质谱法检测的氢/氘交换。概括地说,氢/氘交换方法包括氘标记的感兴趣的蛋白质,然后是使抗原结合蛋白结合氘标记的蛋白质。接着,将蛋白质/抗原结合蛋白复合物转移到水,并且受到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是表面的一部分的氨基酸内的可交换质子更慢的速率发生氘-氢回换。结果,构成蛋白质/抗原结合蛋白界面的一部分的氨基酸可以保留氘,因此表现出相比于界面中不包含的氨基酸相对更高的质量。在抗原结合蛋白解离之后,靶蛋白进行蛋白酶切割和质谱分析,从而揭示氘标记的残基,其对应于抗原结合蛋白与之相互作用的特定氨基酸。参见例如, Ehring(1999)Analytical Biochemistry 267:252-259;Engen and Smith(2001)

Anal.Chem.73:256A-265A。

[0157] 术语“表位”是指B和/或T细胞对其应答的抗原上的位点。B细胞表位可以由蛋白质的三级折叠并置的连续氨基酸或非连续氨基酸两者形成。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。表位通常以独特的空间构象包含至少3个,更通常至少5或8-10个氨基酸。

[0158] 修饰辅助分析(Modification-Assisted Profiling,MAP),也被称为基于结构抗原的抗体分析(Antigen Structure-based Antibody Profiling,ASAP),是根据每种抗体与化学或酶促修饰的抗原表面的结合概况的相似性,分类针对相同抗原的大量单克隆抗原结合蛋白例如抗体(mAb)的方法(参见US2004/0101920,通过引用整体并入本文)。每个类别可以反映独特的表位,该独特的表位与另一类别所代表的表位明显不同或部分重叠。该技术允许快速过滤基因上相同的抗原结合蛋白,使得表征可集中于基因上不同的抗原结合蛋白。当应用于杂交瘤筛选时,MAP可促进识别产生具有期望特性的抗原结合蛋白的罕见杂交瘤克隆。MAP可用于将本发明的抗原结合蛋白分类为结合不同表位的抗原结合蛋白的组。

[0159] 本发明包括抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,其结合相同表位,或所述表位的一部分,如表1中本文所述的任何特定示例性抗原结合蛋白,或具有表1中所述的任何示例性抗原结合蛋白的CDR序列的抗原结合蛋白。同样地,本发明还包括抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,其与表1中本文所述的任何特定示例性抗原结合蛋白,或具有表1中所述的任何示例性抗原结合蛋白的CDR序列的抗原结合蛋白,竞争结合HLA-A2:HPV16E7或其片段。

[0160] 通过使用本领域已知的常规方法,可以容易地确定是否抗原结合蛋白与参比抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白结合相同表位,或与参比抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白竞争结合。例如,为了确定测试抗原结合蛋白是否与本发明的参比抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白结合相同表位,参比抗原结合蛋白被允许在饱和条件下结合HLA-A2:HPV16E7蛋白或肽。接着,评估测试抗原结合蛋白结合HLA-A2:HPV16E7分子的能力。如果测试抗原结合蛋白在用参比抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白饱和结合后能够结合HLA-A2:HPV16E7,则可以得出结论,测试抗原结合蛋白结合与参比抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白不同的表位。在另一方面,如果测试抗原结合蛋白在用参比抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白饱和结合后不能结合HLA-A2:HPV16E7蛋白,则测试抗原结合蛋白可以结合与本发明的参比抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白结合的表位相同的表位。

[0161] 为了确定抗原结合蛋白是否与参比抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白竞争结合,上述结合方法在两个方向进行:在第一个方向,参比抗原结合蛋白被允许在饱和条件下结合HLA-A2:HPV16E7蛋白,随后评估测试抗原结合蛋白对HLA-A2:HPV16E7分子的结合。在第二个方向,测试抗原结合蛋白被允许在饱和条件下结合HLA-A2:HPV16E7分子,然后评估参比抗原结合蛋白对HLA-A2:HPV16E7分子的结合。如果,在两个方向,仅第一(饱和)抗原结合蛋白能够结合HLA-A2:HPV16E7分子,则可以得出结论,测试抗原结合蛋白与参比抗原结合蛋白竞争结合HLA-A2:HPV16E7。如普通技术人员的技术人员理解的,与参比抗原结合蛋白竞争结合的抗原结合蛋白可以不一定结合与参比抗原结合蛋白相同的表位,但可以通过结合重叠或相邻表位而空间阻断参比抗原结合蛋白的结合。

[0162] 如果各自竞争性抑制(阻断)另一种对抗原的结合,则两种抗原结合蛋白结合相同或重叠的表位。即,1-,5-,10-,20-或100-倍过量的一种抗原结合蛋白抑制另一种的结合的

至少50%，但优选75%，90%或甚至99%，如竞争性结合测定法测量的（参见，例如，Junghans等，Cancer Res.1990 50:1495-1502）。或者，如果减少或消除一种抗原结合蛋白的结合的抗原中的基本上所有氨基酸突变减少或消除另一种的结合，则两种抗原结合蛋白具有相同的表位。如果减少或消除一种抗原结合蛋白的结合的一些氨基酸突变减少或消除另一种的结合，则两种抗原结合蛋白具有重叠的表位。

[0163] 然后可以进行另外的常规实验（例如，肽突变和结合分析），以确认测试抗原结合蛋白的观察到的结合缺乏实际上是否是由于与参比抗原结合蛋白结合相同的表位所导致，或者空间阻断（或其他现象）是否造成缺乏观察到的结合。这种实验可使用ELISA,RIA,表面等离子共振,流式细胞术或本领域中可用的任何其它定量或定性抗原结合蛋白结合测定进行。

[0164] 免疫缀合物

[0165] 本发明包括抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白，其缀合至治疗性部分（“免疫缀合物”），如细胞毒素或化学治疗剂，以治疗癌症。如本文所用，术语“免疫缀合物”是指抗原结合蛋白，其化学或生物连接于细胞毒素，放射性试剂，细胞因子，干扰素，靶标或报告分子部分，例如可检测部分，酶，毒素，肽或蛋白质或治疗剂。抗原结合蛋白可以在沿分子的任何位置连接至细胞毒素，放射性试剂，细胞因子，干扰素，靶标或报告分子部分，酶，毒素，肽或治疗剂，只要其能够结合其靶标。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。在一个实施方式中，试剂可以是针对HPV16E7或HLA-A2:HPV16E7的第二种不同抗体。在某些实施方式中，抗原结合蛋白可以缀合至特异于肿瘤细胞或病毒感染细胞，即，HPV感染细胞的试剂。可缀合至抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白的治疗性部分的类型将考虑待治疗的病症和所要达到的所需治疗效果。用于形成免疫缀合物的合适试剂的实例在本领域中是已知的；参见例如PCT公开号W005/103081。

[0166] 嵌合抗原受体（CAR）

[0167] 嵌合抗原受体（CAR）将T细胞特异性重定向至癌细胞表面表达的抗体识别抗原，而T细胞受体（TCR）扩展了靶标范围以包括细胞内肿瘤抗原。重定向对B细胞分化抗原CD19特异的T细胞的CAR在治疗B细胞恶性肿瘤方面展示出显著功效，而TCR重定向T细胞在患有实体癌的患者中展示出益处。Staass等描述了修饰治疗性CAR和TCR的策略，以用于治疗癌症，例如以增强抗原特异性效应子功能并限制工程化T细胞的毒性（Current Opinion in Pharmacology 2015,24:113-118）。

[0168] 本发明的一方面包括嵌合抗原受体（CAR），其对通过HLA-A2在肿瘤细胞表面展示的HPV16E7肽具有特异性，例如包含HPV16E7的氨基酸残基11-19或82-90的肽。在本发明的一个实施方式中，本文所述的CAR包含胞外靶标特异性结合结构域，跨膜结构域，细胞内信号传导结构域（例如衍生自CD3 ζ 或FcR γ 的信号传导结构域）和/或一个或多个源自共刺激分子的 β -刺激信号结构域，例如但不限于CD28,CD137,CD134或CD278。在一个实施方式中，CAR包括在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。在本发明的另一个实施方式中，如本文所述的CAR包含胞外靶标特异性结合结构域和T细胞受体恒定结构域（“T体构建体”）。

[0169] 应理解，用于本文所述的任何CAR，细胞外靶标特异性结合结构域可包含本发明的抗原结合蛋白的Fab,Fab', (Fab')₂,Fv或单链Fv(scFv)。

[0170] 如本文所用, CAR的结合结构域或细胞外结构域向CAR提供结合感兴趣的靶抗原的能力。结合结构域可以是具有特异性识别并结合生物分子(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。结合结构域包括感兴趣的生物分子的任何天然存在的, 合成的, 半合成的或重组产生的结合伴侣。例如, 并且如本文进一步所述, 结合结构域可以是抗体的轻链和重链可变区, 或者轻链和重链可变区可以在单链中和在任一方向上连接在一起(例如, VL-VH或VH-VL)。已知用于识别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, 包括Western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。靶标可以是期望触发导致肿瘤杀灭的效应免疫应答的任何临床上感兴趣的抗原。在一个实施方式中, 嵌合抗原受体的结合结构域的靶抗原是肿瘤细胞的表面上HLA-A2呈递的HPV16E7肽的构象表位, 如包含HPV16E7的氨基酸残基11-19或82-90的肽。

[0171] 示意性结合结构域包括抗原结合蛋白, 如抗体的抗原结合片段, 如scFv, scTCR, 受体的胞外结构域, 用于细胞表面分子/受体的配体, 或其受体结合结构域, 和肿瘤结合蛋白质。在某些实施方式中, 本发明的CAR包含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), 骆驼抗体(VHH), 纤连蛋白3结构域变体, 锚蛋白重复序列变体和衍生自其他蛋白支架的其他抗原特异性结合结构域。

[0172] 在一个实施方式中, CAR的结合结构域是抗-HLA-A2:HPV16E7单链抗体(scFv), 并且可以是鼠、人或人源化scFv。可以从对所需靶标特异的杂交瘤的V区基因克隆单链抗体。可以用于克隆可变区重链(VH)和可变区轻链(VL)的技术已经描述, 例如, 在Orlandi等, PNAS, 1989; 86: 3833-3837。因此, 在某些实施方式中, 结合结构域包含抗体衍生的结合结构域, 但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, 该片段参与与抗原结合。

[0173] 在某些实施方式中, 本发明的CAR可以在各个结构域之间包含接头, 为适当间隔和构象而添加该接头。例如, 在一个实施方式中, 在结合结构域VH或VL之间可以有接头, 其长度可以在1-10个氨基酸之间。在其他实施方式中, 嵌合抗原受体的任何结构域之间的接头可以是1-20或20个氨基酸长。就这一点而言, 接头可以是1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19或20个氨基酸长。在进一步的实施方式中, 接头可以是21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29或30个氨基酸长。包括本文所述数字的范围也包括在本文中, 例如长度为10-30个氨基酸的接头。

[0174] 在某些实施方式中, 适用于本文所述的CAR的接头是柔性接头。合适的接头可以容易地选择, 并且可以具有任何合适的不同长度, 例如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, 可以是1, 2, 3, 4, 5, 6或7个氨基酸。

[0175] 示例性柔性接头包括甘氨酸聚合物(G)_n, 甘氨酸-丝氨酸聚合物, 其中n是至少一的整数, 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接头。甘氨酸和甘氨酸-丝氨酸聚合物是相对无结构的, 因此可以用作融合蛋白(例如本文所述的CAR)的结构域之间的中性系链。甘氨酸比甚至丙氨酸到达显著更多的phi-psi的空间, 而且比具有更长侧链的残基受到少得多的限制(参见Scheraga, Rve. Computational Chem. 11173-

142(1992))。本领域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接头,使得接头可以包括柔性接头以及一个或多个赋予较不柔性的结构的部分,以提供所需的CAR结构。

[0176] CAR结合结构域可以接着是“间隔”或“铰链”,其是指将抗原结合结构域从效应细胞表面移开以使能够进行适当的细胞/细胞接触,抗原结合和激活的区域(Patel等, *Gene Therapy*, 1999;6:412-419)。CAR中的铰链区通常是在跨膜(TM)和结合结构域之间。在某些实施方式中,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型膜蛋白的细胞外区域的铰链区,如CD8 α , CD4, CD28和CD7,其可以是来自这些分子的野生型铰链区或可以被改变。在一个实施方式中,铰链区包括CD8 α 铰链。

[0177] “跨膜”区或结构域是CAR的一部分,其将胞外结合部分锚定至免疫效应细胞的质膜,并促进结合结构域与靶抗原的结合。跨膜结构域可以是CD3 ζ 跨膜结构域,但是可以采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获得的那些。在一个实施方式中,跨膜结构域是CD137的跨膜结构域。在某些实施方式中,跨膜结构域是合成的,在这种情况下,其将主要包含疏水性残基,例如亮氨酸和缬氨酸。

[0178] “细胞内信号传导结构域”是指嵌合抗原受体蛋白的一部分,其参与将与靶抗原结合的有效CAR的信息转导至免疫效应细胞的内部以引发效应细胞功能,例如,激活,细胞因子产生,增殖和细胞毒性活性,包括向CAR结合的靶细胞释放细胞毒性因子,或由抗原与细胞外CAR结构域结合引起的其他细胞应答。术语“效应子功能”是指细胞的专门功能。T细胞的效应子功能例如可以是溶细胞活性或包括细胞因子分泌的帮助或活性。因此,术语“细胞内信号传导结构域”是指蛋白质的一部分,其转导效应子功能信号并指导细胞执行专门的功能。尽管通常可以使用整个细胞内信号传导结构域,但是在许多情况下,不必使用整个结构域。就使用细胞内信号传导结构域的截短部分而言,只要其转导效应子功能信号,就可以使用该截短部分代替整个结构域。术语细胞内信号传导结构域意在包括足以转导效应子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被称为“信号转导结构域”,并且通常衍生自人CD3或FcR γ 链的部分。

[0179] 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,并且还需要次级或共刺激信号。因此,可以说T细胞激活是由两类不同的细胞质信号传导序列介导的:通过T细胞受体启动抗原依赖性初级激活的那些(初级细胞质信号传导序列)和以抗原非依赖性方式起作用以提供次级或共刺激信号(次要细胞质信号传导序列)的那些。初级细胞质信号传导序列以抑制方式或抑制方式调节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传导序列可以包含信号基序,其被称为基于免疫受体酪氨酸的激活基序或ITAM。

[0180] 在本发明中特别有用的包含ITAM的初级细胞质信号传导序列的例子包括衍生自TCR ζ , FcR γ , FcR β , CD3 γ , CD3delta, CD3epsilon, CD5, CD22, CD79a, CD79b和CD66d的那些。在某些特定实施方式中,本文描述的抗HLA-A2:HPV16E7 CAR的细胞内信号传导结构域衍生自CD3 ζ 或FcR γ 。

[0181] 如本文所用,术语“共刺激信号结构域”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,其在结合抗原后提供有效激活T淋巴细胞和功能所需的次级信号。这种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,尽管本公开提供了衍生自CD3 ζ 和4-1BB的示例性共刺激结构域,但是其他共刺激结构域也被考虑与本文所述的CAR一起使用。包含一个或多个共刺激性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。细胞内信号传导和共刺激信号传导结构域可以以任何顺序串联连接至跨膜结构域的羧基末端。

[0182] 尽管工程改造为包含来自CD3或FcR γ 的信号传导结构域的基于scFv的CAR已显示递送用于T细胞激活和效应子功能的有效信号,但它们在缺乏共刺激信号的情况下不足以引发促进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 的信号传导结构域与一个或多个共刺激信号结构域(例如,衍生自CD28,CD137,CD134和CD278的细胞内共刺激结构域)一起的其他CAR可以在动物模型中和癌症患者中更有效地指导抗肿瘤活性以及增加的细胞因子分泌,溶解活性,存活和在CAR表达T细胞体外增殖(Milone等,Molecular Therapy,2009;17:1453-1464;Zhong等,Molecular Therapy,2010;18:413-420;Carpenito等,PNAS,2009;106:3360-3365)。

[0183] 在一个实施方式中,本发明的HLA-A2:HPV16E7 CAR包含(a)抗HLA-A2:HPV16E7的scFv作为结合结构域(例如,具有来自表1中描述的HLA-A2:HPV16E7抗体中的一种或多种的结合区(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,衍生自CD28,CD137,CD134和CD278的一个或多个共刺激信号传导结构域。在一个实施方式中,不同的蛋白质结构域按以下顺序从氨基到羧基末端排列: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至跨膜羧基末端以形成单链嵌合多肽。在一个实施方式中,编码HLA-A2:HPV16E7 CAR的核酸构建体是嵌合核酸分子,其包含核酸分子,其包含不同的编码序列,例如,人抗-HLA-A2:HPV16E7 scFv,人CD8 α 铰链,人CD8 α 跨膜结构域和CD3 ζ 胞内信号传导结构域的(5'至3')编码序列。在另一个实施方式中,编码HLA-A2:HPV16E7 CAR的核酸构建体是嵌合核酸分子,其包含核酸分子,其包含不同的编码序列,例如,人抗-HLA-A2:HPV16E7 scFv,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(5'至3')编码序列。在某些实施方式中,编码HLA-A2:HPV16E7 CAR的核酸构建体是嵌合核酸分子,其包含核酸分子,其包含不同的编码序列,例如人抗-HLA-A2:HPV16E7 scFv,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(5'至3')编码序列,其中所述抗HLA-A2:HPV16E7 scFv包含选自SEQ ID NO:2,34,82,194,282和506的V_H,和选自SEQ ID NO:10,42,90,202,290和514的V_L。在一些实施方式中,本发明包括选自SEQ ID NO:540,541,542,543,544和545的编码HLA-A2:HPV16E7 CAR的核酸分子。

[0184] 在某些实施方式中,将编码本文所述的CAR的多核苷酸插入载体中。如本文所用,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引起该蛋白质的表达和/或该多核苷酸的克隆的载体。这样的载体也可以称为“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,例如但不限于,可以使用合适的限制酶消化该载

体,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至少部分能够在细胞中转录的基因产物的异源或修饰核酸序列的能力。在大多数情况下, RNA分子然后被翻译成蛋白质。表达载体可包含多种控制序列,其是指在特定宿主生物体中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包含具有其他功能的核酸序列,并在下文中讨论。表达载体可以包含其他元件,例如,表达载体可以具有两个复制系统,从而使其可以在两种生物体中维持,例如在人细胞中进行表达,并在原核宿主中进行克隆和扩增。

[0185] 表达载体可以具有必需的5'上游和3'下游调控元件,例如启动子序列,例如CMV, PGK和EF1 α 启动子,核糖体识别和结合TATA盒,和3'UTR AAUAAA转录终止序列,以在其各自的宿主细胞中进行有效的基因转录和翻译。其他合适的启动子包括猿猴病毒40(SV40)早期组成型启动子,小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV),HIVLTR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。也可以使用人基因启动子,包括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。在某些实施方式中,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。这提供了能够开启感兴趣的多核苷酸序列的表达或关闭其表达的分子开关。诱导型启动子的实例包括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。

[0186] 表达载体可以具有掺入表达的CAR中的额外序列,例如6 $\times$ -组氨酸,c-Myc和FLAG标签。因此,表达载体可以被工程化以包含5'和3'非翻译调控序列,其有时可以充当增强子序列,启动子区域和/或终止子序列,其可以促进或增强所携带的感兴趣的核酸的有效转录。在表达载体上。表达载体也可以被改造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选择标记。

[0187] 载体的实例是质粒,自主复制序列和转座元件。其他示例性载体包括但不限于质粒,噬菌粒,粘粒,人工染色体,例如酵母人工染色体(YAC),细菌人工染色体(BAC)或P1衍生人工染色体(PAC),噬菌体,例如 λ 噬菌体或M13噬菌体,和动物病毒。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,和乳多空病毒(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-XTM双顺反子表达系统(Neo)载体(Clontech), pCIneo载体(Promega);用于慢病毒介导基因转移和哺乳动物细胞中表达的pLenti4/V5-DEST.TM,pLenti6/V5-DEST.TM和pLenti6.2N5-GW/lacZ(Invitrogen)。可将本文公开的CAR的编码序列连接到这样的表达载体中,以在哺乳动物细胞中表达嵌合蛋白。

[0188] 在某些实施方式中,在病毒载体中提供了编码本发明的CAR的核酸。病毒载体可以是衍生自逆转录病毒,慢病毒或泡沫病毒的那些。如本文所用,术语“病毒载体”是指核酸载体构建体,其包含至少一种具有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。病毒载体可以包含代替非必需病毒基因的本文所述的各种嵌合蛋白的编码序列。可以将载体和/或颗粒用于在体外或体内将DNA, RNA或其他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。

[0189] 在某些实施方式中,包含本文描述的CAR的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”是指含有主要来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”是指在LTR之外包含主要来自慢病毒的结构和功能遗传元件的载体。

[0190] 用于本文的逆转录病毒载体可以衍生自任何已知的逆转录病毒(例如c型逆转录病毒,例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),长臂猿白血病病毒(GaLV),猫白血病病毒(FLV),spumavirus,Friend,鼠干细胞病毒(MSCV)和劳斯肉瘤病毒(RSV)。本发明的“逆转录病毒”还包括人T细胞白血病病毒,HTLV-1和HTLV-2,以及逆转录病毒的慢病毒家族,例如人免疫缺陷病毒,HIV-1,HIV-2,猿猴免疫缺陷病毒(SIV),猫免疫缺陷病毒(FIV),马免疫缺陷病毒(EIV)和其他类别的逆转录病毒。

[0191] 用于本文的慢病毒载体是指衍生自慢病毒的载体,所述慢病毒是一组(或属)引起缓慢发展的疾病的逆转录病毒。该组中包括的病毒包括HIV(人免疫缺陷病毒;包括HIV 1型和HIV 2型);visna-maedi;山羊关节炎-脑炎病毒;马传染性贫血病毒;猫免疫缺陷病毒(FIV);牛免疫缺陷病毒(BIV);和猿猴免疫缺陷病毒(SIV)。重组慢病毒的制备可以使用根据Dull等和Zufferey等的方法进行(Dull等,J.Virol.,1998;72:8463-8471和Zufferey等,J.Virol.1998;72:9873-9880)。

[0192] 用于本发明的逆转录病毒载体(即,慢病毒和非慢病毒)可以使用标准克隆技术通过以本文描述的顺序和方向组合所需的DNA序列来形成(Current Protocols in Molecular Biology,Ausubel,F.M.等.(eds.)Greene Publishing Associates,(1989),Sections 9.10-9.14,和其他标准实验室手册;Eglitis,等.(1985)Science 230:1395-1398;Danos and Mulligan(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:6460-6464;Wilson等.(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:3014-3018;Armentano等.(1990)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87:6141-6145;Huber等.(1991)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:8039-8043;Ferry等.(1991)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:8377-8381;Chowdhury等.(1991)Science 254:1802-1805;van Beusechem等.(1992)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:7640-7644;Kay等.(1992)Human Gene Therapy 3:641-647;Dai等.(1992)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:10892-10895;Hwu等.(1993)J.Immunol 150:4104-4115;U.S.Pat.No.4,868,116;U.S.Pat.No.4,980,286;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)。

[0193] 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,可从可商购来源获得的基因组RNA和cDNA,包括典型培养物保藏中心(ATCC)。序列也可以化学合成。

[0194] 为了表达HLA-A2:HPV16E7 CAR,载体可以被引入宿主细胞,以允许多肽在宿主细胞内的表达。表达载体可包含多种用于控制表达的元件,包括但不限于启动子序列,转录起始序列,增强子序列,选择标记和信号序列。如上所述,这些要素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。可以选择选择标记以允许从那些载体中选择没有插入载体的宿主细胞,例如,选择标记可以是赋予抗生素抗性的基因。可以选择信号序列以使表达的多肽被转运到宿主细胞之外。

[0195] 为了克隆多核苷酸,可以将载体引入宿主细胞(分离的宿主细胞)中以允许载体自

身的复制,从而扩增其中包含的多核苷酸的拷贝。克隆载体可以包含序列成分,通常包括但不限于复制起点,启动子序列,转录起始序列,增强子序列和选择标记。这些要素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。

[0196] 在某些实施方式中,本公开提供了包含本文提供的载体的分离的宿主细胞。包含载体的宿主细胞可用于表达或克隆包含在载体中的多核苷酸。合适的宿主细胞可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,例如哺乳动物细胞。用于该目的的合适原核细胞包括,但不限于,真细菌,如革兰氏阴性或革兰氏阳性生物体,例如,肠杆菌科,如埃希氏菌属,例如,大肠杆菌,肠杆菌属,欧文氏菌属,克雷伯氏菌属,变形杆菌属,沙门氏菌属,例如鼠伤寒沙门氏菌,沙雷氏菌属,例如粘质沙雷氏菌,和志贺氏菌属,以及芽孢杆菌属,例如枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌,假单胞菌属,例如铜绿假单胞菌,和链霉菌属。

[0197] 使用本领域中已知的转染和/或转导的技术将本发明的CAR导入宿主细胞。如本文所用,术语“转染”和“转导”是指将外源核酸序列引入宿主细胞的过程。核酸可以整合到宿主细胞DNA中,或者可以在染色体外维持。核酸可以被瞬时维持或可以稳定引入。转染可以通过本领域已知的多种方法来完成,包括但不限于磷酸钙-DNA共沉淀,DEAE-葡聚糖介导的转染,多聚烯介导的转染,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。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基因。在某些实施方式中,逆转录病毒载体是通过在与细胞接触之前将其包装成病毒颗粒来转导。例如,逆转录病毒载体携带的编码抗HLA-A2:HPV16E7CAR的核酸可以通过感染和前病毒整合而转导到细胞中。

[0198] 如本文所用,术语“基因工程化”或“基因修饰”是指将DNA或RNA形式的额外遗传物质添加到细胞中的总遗传物质中。术语“基因修饰的细胞”,“修饰的细胞”和“重定向的细胞”可互换使用。

[0199] 特别地,本发明的CAR被引入免疫效应细胞并在其中表达,以便将其特异性重定向至感兴趣的靶抗原,例如,HLA-A2展示HPV16E7肽的构象表位,例如,氨基酸残基11-19或82-90。

[0200] 本发明提供了制备表达如本文所述的CAR的免疫效应细胞的方法。在一个实施方式中,所述方法包括转染或转导从受试者分离的免疫效应细胞,例如患有HPV16E7相关疾病或病症的受试者,使得免疫效应细胞表达如本文描述的一种或多种CAR。在某些实施方式中,免疫效应细胞是从个体分离并基因修饰而没有进一步的体外操作。然后可以将这样的细胞直接重新施用于个体。在其他实施方式中,在被基因修饰以表达CAR之前,首先激活免疫效应细胞并刺激其在体外增殖。在这方面,免疫效应细胞可以在被基因修饰(即,如本文所述被转导或转染以表达CAR)之前或之后培养。

[0201] 在本文所述的免疫效应细胞的体外操作或基因修饰之前,细胞的来源可获自受试者。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。这样的重组T细胞在本文中称为“T体(T-bodies)”。

[0202] 在本发明的一个实施方式中,T体包含本发明的CAR,其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FcR γ 的信号传导结构域)和/或衍生自共刺激分子的一个或多个共刺激信号结构域,例如但不限于CD28,CD137,

CD134或CD278。在本发明的另一个实施方式中,T体包括本发明的CAR,其包含细胞外靶特异性结合结构域,跨膜结构域,胞外结合结构域与跨膜结构域之间的铰链或间隔区,细胞内信号传导结构域。(例如衍生自CD3 ζ 或FcR γ 的信号结构域)和/或衍生自共刺激分子的一个或多个共刺激信号结构域。在本发明的又一个实施方式中,T体包含T体构建体CAR,其包括细胞外靶标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体的细胞外靶标特异性结合结构域可以包括本发明的抗原结合蛋白的Fab,Fab', (Fab')₂,Fv或单链Fv(scFv)。

[0203] T细胞可以从许多来源获得,包括外周血单核细胞,骨髓,淋巴结组织,脐带血,胸腺组织,感染部位的组织,腹水,胸腔积液,脾组织和肿瘤。在某些实施方式中,可以使用本领域技术人员已知的任何数量的技术,例如FICOLL分离,从从受试者收集的单位血液中获得T细胞。在一个实施方式中,来自个体循环血液的细胞通过单采血液分离术获得。血液分离术产品通常包含淋巴细胞,包括T细胞,单核细胞,粒细胞,B细胞,其他有核白细胞,红细胞和血小板。在一个实施方式中,可以洗涤通过单采血液分离术收集的细胞以除去血浆级分并将细胞置于适当的缓冲液或培养基中以用于后续处理。在本发明的一个实施方式中,细胞用PBS洗涤。在另一个实施方式中,洗涤后的溶液缺少钙,且可以缺少镁,或者可以缺少许多(如果不是全部)二价阳离子。如本领域普通技术人员将理解的,洗涤步骤可以通过本领域技术人员已知的方法来完成,例如通过使用半自动流通式离心机。洗涤后,可将细胞重悬于各种生物相容性缓冲液或其他带或不带缓冲液的盐溶液中。在某些实施方式中,单采血液分离术样品的不期望的组分可以在细胞直接重悬浮的培养基中去除。

[0204] 在某些实施方式中,例如通过通过PERCOLLTM梯度离心,通过裂解红细胞并消耗单核细胞,从外周血单核细胞(PBMC)分离T细胞。可以通过阳性或阴性选择技术进一步分离T细胞的特定亚群,例如CD28⁺,CD4⁺,CD8⁺,CD45RA⁺和CD45RO⁺T细胞。例如,可以通过针对负选择的细胞特有的表面标记的抗体组合来完成通过负选择进行的T细胞群的富集。本文使用的一种方法是通过负磁性免疫粘附或流式细胞术进行细胞分选和/或选择,该方法使用针对存在于阴性选择的细胞上的细胞表面标志物的单克隆抗体混合物。例如,为了通过阴性选择富集CD4⁺细胞,单克隆抗体混合物通常包括针对CD 14,CD20,CD11b,CD16,HLA-DR和CD8的抗体。流式细胞术和细胞分选也可以用于分离感兴趣的细胞群以用于本发明。

[0205] PBMC可以使用本文所述的方法直接用于用CAR进行基因修饰。在某些实施方式中,在分离PBMC之后,进一步分离T淋巴细胞,并且在某些实施方式中,可以在基因修饰和/或扩增之前或之后,将细胞毒性T细胞和辅助T淋巴细胞分类为幼稚、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。在一些实施方式中,通过识别与那些类型的CD8⁺细胞中的每一种相关的细胞表面抗原,将CD8⁺细胞进一步分类为幼稚、中央记忆和效应细胞。在实施方式中,记忆T细胞存在于CD8⁺外周血淋巴细胞的CD62L⁺和CD62L⁻亚集中。用抗CD8和抗CD62L抗体染色后,将PBMC分为CD62L⁻CD8⁺和CD62L⁺CD8⁺部分。在一些实施方式中,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。在一些实施方式中,中央记忆T细胞是CD45RO⁺,CD62L⁺,CD8⁺T细胞。在一些实施方式中,效应T细胞对于CD62L,CCR7,CD28和CD127是阴性的,而对于颗粒酶B和穿孔素则是阳性的。在一些实施方式中,幼稚CD8⁺T淋巴细胞的特征在于幼稚T细胞的表型标志物的表达,包括CD62L,CCR7,CD28,CD3,CD127和CD45RA。

[0206] 在某些实施方式中,将CD4⁺T细胞进一步分类为亚群。例如,通过识别具有细胞表面抗原的细胞群,可以将CD4⁺T辅助细胞分类为幼稚、中枢记忆和效应细胞。CD4⁺淋巴细胞可以通过标准方法获得。在一些实施方式中,幼稚CD4⁺T淋巴细胞是CD45RO⁻,CD45RA⁺,CD62L⁺CD4⁺T细胞。在一些实施方式中,中央记忆CD4⁺细胞是CD62L阳性和CD45RO阳性。在一些实施方式中,效应子CD4⁺细胞是CD62L和CD45RO阴性。

[0207] 免疫效应细胞,例如T细胞,可以在使用已知方法分离后进行基因修饰,或者可以在进行基因修饰之前体外激活和扩增免疫效应细胞(或在祖细胞的情况下分化)。在另一个实施方式中,用本文所述的嵌合抗原受体基因修饰(例如,用包含编码CAR的核酸的病毒载体转导)免疫效应细胞,例如T细胞,然后体外激活和扩增。激活和扩增T细胞的方法在本领域中是已知的,并且描述于例如美国专利号6,905,874;美国专利号6,867,041;美国专利号6,797,514;W02012079000,US2016/0175358。通常,这样的方法包括在具有适当细胞因子(例如IL-2)的培养基中,使PBMC或分离的T细胞与刺激剂和共刺激剂(例如抗CD3和抗CD28抗体,通常附着于珠子或其他表面)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)。在其他实施方式中,可以使用如美国专利号6,040,177;美国专利5,827,642;和W02012129514中所述的方法,用饲养细胞以及合适的抗体和细胞因子激活和刺激T细胞增殖。

[0208] 本发明提供了用于治疗HPV相关疾病或病症例如癌症的修饰的免疫效应细胞群体,所述修饰的免疫效应细胞包含如本文公开的HLA-A2:HPV16E7 CAR。

[0209] 如本文所述制备的表达CAR的免疫效应细胞可以用于根据已知技术的过继免疫疗法的方法和组合物,或其基于本公开对于本领域技术人员显而易见的变化方式。参见,例如,Gruenberg等的美国专利申请公开号2003/0170238;还参见Rosenberg的美国专利号4,690,915。

[0210] 在一些实施方式中,通过首先从细胞的培养基中收获细胞,然后洗涤并在适合用于施用的介质和容器系统(“药学上可接受的”载体)中浓缩细胞成治疗有效量来配制细胞。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 Plasma-Lyte A (Baxter),但也可以使用在水中或林格氏乳酸中的5%葡萄糖。输注介质可以补充有人血清白蛋白。

[0211] 组合物中治疗有效量的细胞是至少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),或更通常多于 10^2 个细胞,和至多 10^6 个细胞,且包括 10^8 或 10^9 个细胞,且可以多于 10^{10} 个细胞。细胞的数量将取决于组合物所预期的最终用途,以及其中所含细胞的类型。

[0212] 细胞对于接受治疗的患者可以是自体的或异源的。如果需要,该处理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 , 等等)以增强免疫应答的诱导。

[0213] 本发明的表达CAR的免疫效应细胞群体可以单独施用,或者作为药物组合物与稀释剂和/或与其他成分例如IL-2或其他细胞因子或细胞群体组合施用。简而言之,本发明的药物组合物可以包含表达CAR的免疫效应细胞群体,例如本文所述的T细胞,以及一种或多种药学或生理上可接受的载体,稀释剂或赋形剂。这样的组合物可以包含缓冲剂,例如中性

缓冲盐溶液,磷酸盐缓冲盐溶液等;碳水化合物,例如葡萄糖,甘露糖,蔗糖或葡聚糖,甘露醇;蛋白质多肽或氨基酸,例如甘氨酸;抗氧化剂;螯合剂,例如EDTA或谷胱甘肽;佐剂(例如氢氧化铝);和防腐剂。本发明的组合物优选配制用于静脉内给药。

[0214] 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细胞在受试者中诱导的抗肿瘤免疫应答可以包括由能够杀死感染细胞的细胞毒性T细胞介导的细胞免疫应答,调节性T细胞,和辅助性T细胞应答。也可以诱导主要由能够激活B细胞从而导致抗体产生的辅助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发明的组合物诱导的免疫应答的类型,这在本领域中已被很好地描述;例如,Current Protocols in Immunology, John E. Coligan, Ada M. Kruisbeek, David H. Margulies, Ethan M. Shevach, Warren Strober编辑, (2001) John Wiley & Sons, NY, N.Y.

[0215] 因此,本发明提供了治疗诊断为患有或怀疑患有HPV相关疾病或病症例如HPV16E7阳性癌症或处于发生HPV相关疾病或病症例如HPV16E7阳性癌症的风险的个体的方法,其包括向所述个体施用治疗有效量的如本文所述的表达CAR的免疫效应细胞。

[0216] 在一个实施方式中,本发明提供了治疗诊断为HPV16E7阳性癌症的受试者的方法,其包括从诊断为HPV16E7阳性癌症的受试者中移除免疫效应细胞,用包含编码本发明的嵌合抗原受体的核酸的载体基因修饰所述免疫效应细胞,从而产生修饰的免疫效应细胞群,并且将修饰的免疫效应细胞群施用于同一受试者。在一个实施方式中,免疫效应细胞包含T细胞。

[0217] 施用本文所述的细胞组合物的方法包括有效导致重新引入在受试者中直接表达本发明的CAR的离体基因修饰的免疫效应细胞,或重新引入在引入受试者中时分化为表达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的任何方法。一种方法包括用根据本发明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受试者。

[0218] 治疗性施用和制剂

[0219] 本发明提供包含本发明的抗HLA-A2:HPV16E7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。根据本发明的治疗组合物将与合适的载体,赋形剂和其他掺入制剂中以提供改善的转移,递送,耐受性等的试剂一起施用。可以在所有药物化学家都知道的配方中找到许多合适的制剂:Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. 这些制剂包括,例如,粉剂,糊剂,软膏剂,凝胶剂,蜡,油,脂质,含脂质(阳离子或阴离子)的载体(如LIPOFECTIN™), DNA缀合物,无水吸收糊剂,水包油和油包水型乳剂,乳剂Carbowax(具有各种分子量的聚乙二醇),半固体凝胶,和含Carbowax的半固体混合物。另参见Powell等, "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA(1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311。

[0220] 抗原结合蛋白,例如抗体,或其抗原结合片段的剂量,可根据待施用的受试者的年龄和尺寸,目标疾病,症状,施用途径等等而变化。当本发明的抗原结合蛋白用于治疗成年患者的疾病或病症,或用于预防这样的疾病时,有利的是通常以约0.1至约60mg/kg体重,更优选约5至约60,约20至约50,约10至约50,约1至约10,或约0.8至约11mg/kg体重的单剂量的施用本发明的抗原结合蛋白,例如抗体,或其抗原结合片段。根据病情的严重程度,可以调整治疗的频率和持续时间。在某些实施方式中,本发明的抗原结合蛋白,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, 至约100mg, 或至约50mg的初始剂量施用。在某些实施方式中, 初始剂量可以之后是以可以与初始剂量大约相同或少于初始剂量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, 其中后续剂量间隔至少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。

[0221] 各种递送系统是已知的, 并且可以用于施用本发明的药物组合物, 例如, 脂质体中的包封, 微粒, 微囊, 能够表达突变病毒的重组细胞, 受体介导的内吞作用(参见, 例如, Wu等(1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432)。引入方法包括但不限于皮内, 透皮, 肌内, 腹膜内, 静脉内, 皮下, 鼻内, 硬膜外和口服途径。组合物可以通过任何方便的途径施用, 例如通过输注或弹丸注射, 通过上皮或粘膜皮肤衬里(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) Science 249:1527-1533)。

[0222] 使用纳米颗粒递送本发明的抗原结合蛋白, 例如抗体, 或其抗原结合片段也在本文中设想。抗原结合蛋白缀合的纳米颗粒可用于治疗和诊断应用。抗原结合蛋白缀合的纳米颗粒及其制备和使用方法由Arruebo, M. 等2009(“Antibody-conjugated nanoparticles for biomedical applications” in J. Nanomat. Volume 2009, Article ID 439389, 24 pages, doi:10.1155/2009/439389)详细描述, 其通过引用并入本文。纳米颗粒可被开发和缀合至包含在药物组合物中的抗原结合蛋白以靶向肿瘤细胞或自身免疫组织细胞或病毒感染细胞。用于药物递送的纳米颗粒也已描述在, 例如, 美国专利号8,257,740, 或美国专利号8,246,995, 各自通过引用整体并入本文。

[0223] 在某些情况下, 可以在控释系统中递送药物组合物。在一个实施方式中, 可以使用泵。在另一个实施方式中, 可以使用聚合物材料。在又一个实施方式中, 可将控释系统置于组合物的靶标附近, 因此仅需要全身剂量的一部分。

[0224] 可注射制剂可以包括用于静脉内, 皮下, 皮内, 颅内, 腹膜内和肌内注射, 滴注, 等等的剂型。这些可注射制剂可以通过公知的方法制备。例如, 可注射制剂可例如通过在常规用于注射的无菌水性介质或油状介质中溶解、悬浮或乳化上述抗原结合蛋白或其盐而制备。作为用于注射的水性介质, 有例如生理盐水, 含有葡萄糖和其他辅助剂的等渗溶液, 等等, 其可以与适当的增溶剂例如醇(例如乙醇), 多元醇(例如丙二醇, 聚乙二醇), 非离子表面活性剂[例如聚山梨酯80, HCO-50(氢化蓖麻油的聚氧乙烯(50摩尔)加合物)]等结合使用。作为油性介质, 有例如芝麻油, 大豆油, 等等, 其可以与增溶剂如苯甲酸苄酯, 苄醇等组合使用。将如此制备的注射剂优选填充在适当的安瓿中。

[0225] 本发明的药物组合物可以用标准针头和注射器皮下或静脉内递送。另外, 关于皮下递送, 笔递送装置容易地在递送本发明的药物组合物中具有应用。这样的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包含药物组合物的可更换药筒。一旦已经施用了药筒内的所有药物组合物并且药筒是空的, 则可以容易地丢弃空的药筒并用包含药物组合物的新药筒替换。然后可以重新使用笔传送装置。在一次性笔递送装置中, 没有可更换的输送。而是一次性笔递送装置预填充有保持在装置内的储存器中的药物组合物。一旦容器中的药物组合物排空, 整个装置将被丢弃。

[0226] 众多可重复使用的笔和自动注射器递送装置在皮下递送本发明的药物组合物中

具有应用。实例包括但不限于AUTOPENTM (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), DISETRONICTM笔 (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Switzerland), HUMALOG MIX 75/25TM笔, HUMALOGTM笔, HUMALIN 70/30TM笔 (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPENTM I, II和III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIORTM (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), BDTM笔 (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPENTM, OPTIPEN PROTM, OPTIPEN STARLETTM, 和OPTICLIKTM (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany), 仅举几例。具有皮下递送本发明的药物组合物的用途的一次性笔递送装置的实例包括, 但当然不限于SOLOSTARTM pen (Sanofi-Aventis), FLEXPENTM (Novo Nordisk), 和KWIKPENTM (Eli Lilly), SURECLICKTM Autoinjector (Amgen, Thousand Oaks, CA), the PENLETTM (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.) 和HUMIRATM笔 (Abbott Labs, Abbott Park, IL), 仅举几例。

[0227] 有利地, 将上述用于口服或肠胃外用途的药物组合物制备成适合于安装一定剂量的活性成分的单位剂量的剂型。这样的单位剂量的剂型包括例如片剂, 丸剂, 囊剂, 注射剂 (安瓿), 栓剂等。所含抗原结合蛋白的量通常为单位剂量中约5至约500mg每剂型; 特别是在注射剂的形式中, 优选的是对于其他剂型, 抗原结合蛋白以约5至约100mg和约10至约250mg包含。

[0228] 抗原结合蛋白的治疗用途

[0229] 本发明的抗体尤其可用于治疗, 预防和/或改善HPV16相关或由其介导的任何疾病或病症。例如, 本发明提供了通过向需要这样的治疗的受试者施用如本文所述的抗HLA-A2: HPV16E7抗原结合蛋白 (或包含抗-HLA-A2: HPV16E7抗原结合蛋白的药物组合物) 来治疗HPV相关疾病或病症, 例如HPV相关癌症 (例如, HPV16E7阳性癌症) (肿瘤生长抑制) 和/或HPV感染的方法, 和抗-HLA-A2: HPV16E7抗原结合蛋白 (或包含抗-HLA-A2: HPV16E7抗原结合蛋白的药物组合物) 用于治疗HPV相关癌症 (肿瘤生长抑制) 和/或HPV感染的用途。本发明的抗原结合蛋白可用于治疗, 预防和/或改善疾病或病症或状况, 如HPV相关癌症或HPV感染和/或用于改善与这样的疾病, 病症或状况相关的至少一种症状。在本文所述的治疗方法的上下文中, 抗-HLA-A2: HPV16E7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, 或与一种或多种另外的治疗剂组合 (其实例在本文其他地方进行说明) 施用。

[0230] 在本发明的一些实施方式中, 本文描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HPV相关癌症, 例如鳞状细胞癌, 例如头颈鳞状上皮细胞癌, 宫颈癌, 肛殖癌, 口咽癌。

[0231] 抗原结合蛋白可以用于治疗HPV相关癌症的早期或晚期症状。在一个实施方式中, 本发明的抗体或其片段可以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收缩肿瘤生长。在某些实施方式中, 采用本发明的抗原结合蛋白的治疗导致受试者中的肿瘤的超过40%的消退, 超过50%的消退, 超过60%的消退, 超过70%的消退, 超过80%的消退或超过90%的消退。在某些实施方式中, 抗原结合蛋白可用于预防肿瘤的复发。在某些实施方式中, 抗原结合蛋白可用于延长患有HPV相关癌症的受试者的无进展存活或总体存活。在一些实施方式中, 抗体可用于减少由于化学疗法或放射疗法引起的毒性, 同时在患有HPV相关癌症的患者中维持长期存活。

[0232] 在某些实施方式中, 本发明的抗原结合蛋白可用于治疗患有慢性HPV感染的受试

者。在一些实施方式中,本发明的抗原结合蛋白可用于降低宿主中的病毒滴度。

[0233] 可以施用本发明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状况的严重性。

[0234] 本文中还想向处于发生疾病或病症例如HPV相关疾病或病症(例如HPV相关癌症)和HPV感染的风险的患者的预防性地使用本发明的一种或多种抗体。

[0235] 在本发明的进一步实施方式中,本发明的抗体用于制备用于治疗患有HPV相关疾病或病症,例如HPV相关癌症,或HPV感染的患者的药物组合物。在本发明的另一个实施方式中,本发明的抗体用作与本领域技术人员已知可用于治疗HPV相关癌症或HPV感染的任何其他试剂或任何其他疗法一起的辅助疗法。

[0236] 组合疗法和制剂

[0237] 组合疗法可包括本发明的抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,例如本发明的CAR(例如,包含本发明的CAR的免疫效应细胞)或本发明的药物组合物,以及可以有利地与本发明的抗原结合蛋白组合的任何另外的治疗剂。本发明的抗原结合蛋白可与用于治疗或抑制HPV16E7相关疾病或病症,如HPV阳性癌症,例如,鳞状细胞癌,宫颈癌,肛殖癌,头颈癌或口咽癌的一种或多种抗癌药物或疗法协同地组合。

[0238] 本文中设想使用本发明的抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白结合免疫刺激和/或免疫支持疗法以抑制肿瘤生长,和/或增强癌症患者存活。免疫刺激疗法包括通过“放开”对抑制的免疫细胞的“刹车”或“踩油门”以激活免疫应答而增强免疫细胞活性的直接免疫刺激疗法。实例包括靶向其他检查点受体,疫苗接种和佐剂。免疫支持方式可通过促进免疫原性细胞死亡,炎症或具有其他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。

[0239] 在各种实施方式中,本发明的一种或多种抗原结合蛋白可用于结合PD-1抑制剂(例如,抗PD-1抗体如纳武单抗,派姆单抗,pidilizumab,BGB-A317或REGN2810),PD-L1抑制剂(例如抗PD-L1抗体,例如avelumab,阿特珠单抗,durvalumab,MDX-1105或REGN3504),CTLA-4抑制剂(例如伊匹单抗),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),吲哚胺-2,3-双加氧酶(IDO)抑制剂,血管内皮生长因子(VEGF)拮抗剂[例如,“VEGF-陷阱”如阿柏西普或其他VEGF抑制融合蛋白,如美国7,087,411所述,或抗VEGF抗体或其抗原结合片段(例如,贝伐单抗,或兰尼单抗)或VEGF受体的小分子激酶抑制剂(例如舒尼替尼,索拉非尼或帕唑帕尼)],Ang2抑制剂(例如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(例如埃洛替尼,西妥昔单抗),CD20抑制剂(例如抗CD20抗体,如利妥昔单抗),针对肿瘤特异性抗原[例如CA9,CA125,黑素瘤相关抗原3(MAGE3),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]的抗体,疫苗(例如,卡介苗,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,CD3 $\times$ CD20双特异性抗体,或PSMA $\times$ CD3双特异性抗体),细胞毒素,化学治疗剂(例如,达卡巴嗪,替莫唑胺,环磷酰胺,多西他赛,多柔比星,柔红霉素,顺铂,卡铂,吉西他滨,甲氨蝶呤,米托蒽醌,奥沙利铂,紫杉醇和长春新碱),环磷酰胺,放射疗法,手术,IL-6R抑制剂(例如sarilumab),IL-4R抑制剂(例如dupilumab),IL-10抑制剂,细胞因子(例如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,皮质类固醇和非类固醇抗炎药),膳食补充剂,如抗氧化剂,或任何其他治疗癌症的治疗护理。在某些实施方式中,本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白可与HPV疫苗组合使用。示例性HPV疫苗包括Gardasil,Gardasil 9,和Cervarix,Lm-LLo-E7(ADXS11-001;ADXS-HPV;Advaxis,Inc.);GLBL101c(GENOLAC BL Corp);TA-HPV(European Organization for Research and Treatment of Cancer(EORTC));TG4001(Transgene/Roche);MVA E2(Instituto Mexicano del Seguro Social);HPV16-SLP(ISA Pharmaceuticals);GL-0810(Gliknik Inc.);Pepcan+Candin(University of Arkansas);GTL001(ProCervix;Gentical);TA-CIN(Xenova Research Limited);TA-CIN+TA-HPV(Celtic Pharma);pNGVL4a-sig/E7(detox)/HSP70+TA-HPV(Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center);pNGVL4a-CRT/E7(detox)(Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center);GX-188E(Genexine,Inc);VGX-3100(Inovio Pharmaceuticals);用HPV-16和HPV-18E7和钥孔戚血蓝素脉冲的树突状细胞(National Institutes of Health);用HPV+肿瘤溶解物脉冲的DC(Department of Biotechnology(DBT,Govt.of India));PDS0101(PDS Biotechnology Corp);ProCervix(Gentical);GX-188E(Genexine,Inc);pNGVL4a-CRT/E7(detox)(Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center);pNGVL4a-sig/E7(detox)/HSP70+TA-HPV(Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center);TVGV-1+GPI-0100(THVAX Genetics Vaccine Co.);Pepcan+Candin(University of Arkansas);ISA101(SLP-HPV-01;HPV16-SLP;ISA Pharmaceuticals);ADXS11-001(Lm-LLo-E7;Advaxis,Inc.);ISA101(SLP-HPV-01;HPV 16-SLP;ISA Pharmaceuticals);DPX-E7(Dana-Farber Cancer Institute);ADXS11-001(Lm-LLo-E7;Advaxis,Inc.);INO-3112(VGX-3100+INO-9012;Inovio Pharmaceuticals);ADXS11-001(Lm-LLo-E7;Advaxis,Inc.);INO-3112(VGX-3100+INO-9012;Inovio Pharmaceuticals);ISA101(SLP-HPV-01;HPV16-SLP;ISA Pharmaceuticals);和TA-CIN+GPI-0100(Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center)。在某些实施方式中,本发明的抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白可以与包括树突状细胞疫苗,溶瘤病毒,肿瘤细胞疫苗等的癌症疫苗结合使用以增强抗肿瘤应答。可结合本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白使用的癌症疫苗的实例包括用于黑素瘤和膀胱癌的MAGE3疫苗,用于乳腺癌的MUC1疫苗,用于脑癌(包括胶质母细胞多形性细胞瘤)的EGFRv3(例如,Rindopepimut),或ALVAC-CEA(用于CEA+癌症)。

[0240] 在某些实施方式中,本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白可在方法中与放射疗法结合施用,以产生长期持久的抗肿瘤应答和/或增强具有癌症的患者的存活。在一些实施方式中,本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白可在向癌症患者施用放射疗法之前,同时或之后施用。例如,可以向肿瘤病变施用一个或多个剂量的放射治疗,接着施用一个或多个剂量的本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白。在一些实施方式中,放射疗法可以局部施用于肿瘤病变,以增强患者的肿瘤的局部免疫原性(辅助辐射)和/或杀死肿瘤细胞(烧蚀辐射),之后是全身施用本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白。例如,颅内辐射可与全身施用本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白组合施用于患有脑癌(例如,胶质母细胞多形性细胞瘤)的患者。在某些实施方式中,本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白可与放射疗法和化疗剂(例如,替莫唑胺)或VEGF拮抗剂(例如,阿柏西普)组合施

用。

[0241] 在某些实施方式中,本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白可与治疗慢性HPV感染的一种或多种抗病毒药物组合施用。抗病毒药物的实例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,依非韦伦,考比司他,替诺福韦,利比韦林和皮质类固醇。

[0242] 另外的治疗活性试剂/组分可在施用本发明的抗HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白之前,同时或之后施用。为了本公开的目的,这样的施用方案被认为是“与”第二治疗活性组分“组合”施用抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白。

[0243] 另外的治疗活性组分可以在施用本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白之前施用于受试者。例如,如果第一组分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,或之前少于1分钟施用,则可以认为第一组分是在第二组分“之前”施用。在其它实施方式中,另外的治疗活性组分可以在施用本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白之后施用于受试者。例如,如果第一组分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小时施用,则可以认为第一成分是在第二组分之后施用。在又一些实施方式中,另外的治疗活性组分可以与施用本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白同时施用于受试者。出于本发明的目的,“同时”施用包括,例如,以单一剂型向受试者施用抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白和另外的治疗活性组分(例如,共同配置),或在彼此之间约30分钟或更短内在分开的剂型中施用于受试者。如果以分开的剂型施用,则各剂型可以通过相同途径施用(例如,抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白和另外的治疗活性组分两者可以静脉内,皮下等施用);或者,各剂型可以通过不同途径施用(例如,抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白可以静脉内施用,而另外的治疗活性组分可以皮下施用)。在任何情况下,出于本公开的目的,以单一剂型、通过相同途径以分开的剂型、或通过不同途径以分开的剂型施用组分均被认为是“同时施用”。出于本公开的目的,在施用另外的治疗活性组分“之前”、“同时”或“之后”(这些术语在本文上文定义)施用抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白被认为是“与”另外的治疗活性组分“组合”施用抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白。

[0244] 本发明包括药物组合物,其中使用各种各样的剂量组合,本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白与如本文其它地方所述的一种或多种另外的治疗活性组分共同配制。

[0245] 施用方案

[0246] 根据本发明的某些实施方式,多剂量的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白(或包含抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白和本文提及的任何另外的治疗活性剂的组合的药物组合物)可以在规定时程内施用于受试者。根据本发明的这个方面的方法包括向受试者顺序施用多剂量的本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白。如本文所用,“顺序施用”是指各剂量的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白在不同的时间点施用于受试者,例如,在按预定间隔(例如,小时,天,周或月)分开的不同天。本发明包括方法,其包括向患者顺序施用单一起

始剂量的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,随后是一个或多个第二剂量的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,和任选地随后是一个或多个第三剂量的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白。抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白可以以0.1mg/kg至100mg/kg受试者体重的剂量施用。

[0247] 术语“初始剂量”、“第二剂量”和“第三剂量”是指施用本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白的时间顺序。因此,“初始剂量”是在治疗方案开始时施用的剂量(也称为“基线剂量”);“第二剂量”是在初始剂量之后施用的剂量;“第三剂量”是在第二剂量之后施用的剂量。初始、第二和第三剂量可以都含有相同量的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白,但通常可以彼此在施用频率方面不同。在某些实施方式中,然而,初始、第二和/或第三剂量中所含抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白的量在治疗过程中彼此变化(例如,向上或向下适当调节)。在某些实施方式中,在治疗方案开始时以“加载剂量”施用两个或更多个(例如2,3,4或5)剂量,随后按较低频率基础施用后续剂量(例如,“维持剂量”)。

[0248] 在某些实施方式中,初始、第二和/或第三剂量所含抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白的量可以是次优的或亚治疗的。如本文所用,术语“亚治疗的”或“次优的”是指以过低而不产生治疗效果的水平或低于治疗疾病例如癌症所必需的水平施用的抗体剂量。

[0249] 在本发明的某些示例性实施方式中,每个第二和/或第三剂量在紧接在先剂量(immediately preceding dose)之后施用1至26(例如,1,1¹/₂,2,2¹/₂,3,3¹/₂,4,4¹/₂,5,5¹/₂,6,6¹/₂,7,7¹/₂,8,8¹/₂,9,9¹/₂,10,10¹/₂,11,11¹/₂,12,12¹/₂,13,13¹/₂,14,14¹/₂,15,15¹/₂,16,16¹/₂,17,17¹/₂,18,18¹/₂,19,19¹/₂,20,20¹/₂,21,21¹/₂,22,22¹/₂,23,23¹/₂,24,24¹/₂,25,25¹/₂,26,26¹/₂或更多)周。如本文所用,短语“紧接在先剂量”表示在多次施用的顺序中,在施用顺序中的下一个剂量之前施用于患者的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白的剂量,没有中间剂量。

[0250] 根据本发明的这个方面的方法可包括向患者施用任何数量的第二和/或第三剂量的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白。例如,在某些实施方式中,仅向患者施用单个第二剂量。在其他实施方式中,向患者施用两个或更多个(例如2,3,4,5,6,7,8或更多个)第二剂量。同样,在某些实施方式中,仅向患者施用单个第三剂量。在其他实施方式中,向患者施用两个或更多个(例如2,3,4,5,6,7,8或更多个)第三剂量。

[0251] 在涉及多个第二剂量的实施方式中,每个第二剂量可以与其他第二剂量相同的频率施用。例如,每个第二剂量可以在紧接在先剂量之后1-2周或1-2个月施用于患者。类似地,在涉及多个第三剂量的实施方式中,每个第三剂量可以与其他第三剂量相同的频率施用。例如,每个第三剂量可以在紧接在先剂量之后2-12周施用于患者。在本发明的某些实施方式中,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。施用的频率也可以在医生的治疗过程中根据临床检查后个体患者的需要进行调整。

[0252] 抗原结合蛋白的诊断用途

[0253] 本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白可以用于检测和/或测量样品中的HPV16E7,例如,用于诊断目的。一些实施方式设想在测定中使用本发明的一种或多种抗原结合蛋白以检测疾病或病症,例如HPV相关疾病或病症,如HPV16E7阳性癌症,或HPV感染。针对HPV16E7的示例性诊断测定可以包括,例如,使获自受试者(例如,患者)的样品与本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白接触,其中所述抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白标记

有可检测标记或报告分子或用作捕获配体以从受试者样品选择性分离HPV16E7。或者,未标记的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白可以与自身被可检测地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,例如³H,¹⁴C,³²P,³⁵S或¹²⁵I;荧光或化学发光部分,如异硫氰酸荧光素,或若丹明;或酶,如碱性磷酸酶, β -半乳糖苷酶,辣根过氧化物酶,或萤光素酶。可用于检测或测量样品中的HPV16E7的特定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)。

[0254] 可用于根据本发明的HPV16E7诊断测定的样品包括可从受试者获得的任何组织或流体样品,其包含在正常或病理条件下可检测量的HPV16E7蛋白或其片段。通常,获自健康患者的特定样品的HPV16E7的水平(例如,未患有HPV16E7相关疾病或病症,例如,HPV16E7阳性癌症的患者)将被测量以初始建立HPV16E7的基线或标准水平。这个HPV16E7基线水平然后可以与在从怀疑具有癌症相关状况,或与这样的状况相关的症状的个体获得的样品中测量的HPV16E7的水平进行比较。

[0255] 特异于HPV16E7的抗原结合蛋白可以不包含另外的标记或模块,或者它们可以包含N-末端或C-末端标签或部分。在一个实施方式中,标记或部分生物素。在结合测定中,标记(如果有的话)的位置可以确定肽相对于结合肽的表面的方向。例如,如果表面用抗生物素蛋白包被,则包含N端生物素的肽将被取向为使得该肽的C端部分将在该表面的远端。

[0256] 本发明的各方面涉及使用所公开的抗原结合蛋白作为标志物用于预测HPV16E7阳性癌症或HPV感染的患者的预后。本发明的抗原结合蛋白可以用于诊断测定中以评估患者癌症的预后并预测存活。

[0257] 实施例

[0258] 提出以下实施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,而不旨在限制发明人认为是他们的发明的范围。已经做出努力以确保所使用的数字(例如,量,温度等)的准确性,但一些实验误差和偏差应考虑在内。除非另有说明,份数是重量份数,分子量是平均分子量,温度是摄氏度,室温是约25°C,并且压力为大气压或接近大气压。

[0259] 实施例1:针对HLA-A2:HPV16E7的人抗体的产生

[0260] 使用与HLA-A2偶联的HPV16E7的肽片段产生针对HLA-A2:HPV16E7的人抗体,所述肽片段包括GenBank Accession NP_041326.1(SEQ ID NO:537)的氨基酸11-19(YMLDLQPET;SEQ ID NO:538)或GenBank Accession NP_041326.1(SEQ ID NO:537)的氨基酸残基82-90(LLMGTLGIV;SEQ ID NO:539)。向**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)直接施用免疫原与佐剂一起以刺激免疫应答,例如,如在美国专利号8,502,018中所述。通过HLA-A2:HPV16E7特异性免疫测定法监测抗体免疫应答。当达到所需的免疫应答时,收获脾细胞并与小鼠骨髓瘤细胞融合以保持其存活力并形成杂交瘤细胞系。筛选并选择杂交瘤细胞系以识别产生HLA-A2:HPV16E7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HPV16E7嵌合抗体(即,具有人可变结构域和小鼠恒定结构域的抗体)。以这种方式产生的示例性抗体分别命名如下:H4sH17364N;H4sH17368N2;H4sH17930N;H4sH17930N2;H4sH17363N和H4sH17368N3。

[0261] 抗HLA-A2:HPV16E7抗体也直接从抗原阳性的B细胞(来自任何免疫化小鼠)分离而没有与骨髓瘤细胞融合,如美国专利7,582,298中所述,该专利通过引用整体并入本文。使

用该方法,获得了几种全人抗HLA-A2:HPV16E7抗体(即,具有人可变结构域和人恒定结构域的抗体)。

[0262] 根据上述方法产生的示例性抗体分别命名如下:H4sH17670P;H4sH17672P;H4sH17673P;H4sH17675P;H4sH17680P;H4sH17697P;H4sH17707P;H4sH17715P;H4sH17726P;H4sH17730P;H4sH21051P;H4sH21054P;H4sH21055P;H4sH21058P;H4sH21064P;H4sH21073P;H4sH21077P;H4sH21079P;H4sH21080P;H4sH21083P;H4sH21086P;H4sH21090P;H4sH21091P;H4sH21093P;H4sH21099P;H4sH21100P;H4sH21103P;和H4sH21104P。

[0263] 在下文阐述的实施例中详细描述了根据该实施例的方法产生的示例性抗体的生物学特性。

[0264] 实施例2:重链和轻链可变区氨基酸和核苷酸序列

[0265] 表1列出了本发明的选择的抗HLA-A2:HPV16E7抗体的重链和轻链可变区和CDR的氨基酸序列标识符。表2列出了相应的核酸序列标识符。

[0266] 表1:氨基酸序列标识符

[0267]

抗体名称	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H4sH17364N	2	4	6	8	10	12	14	16
H4sH17368N2	18	20	22	24	26	28	30	32
H4sH17670P	34	36	38	40	42	44	46	48
H4sH17672P	50	52	54	56	58	60	62	64
H4sH17673P	66	68	70	72	74	76	78	80
H4sH17675P	82	84	86	88	90	92	94	96
H4sH17680P	98	100	102	104	106	108	110	112
H4sH17697P	114	116	118	120	122	124	126	128
H4sH17707P	130	132	134	136	138	140	142	144
H4sH17715P	146	148	150	152	154	156	158	160
H4sH17726P	162	164	166	168	170	172	174	176
H4sH17730P	178	180	182	184	186	188	190	192
H4sH17930N	210	212	214	216	202	204	206	208
H4sH17930N2	194	196	198	200	202	204	206	208
H4sH21051P	218	220	222	224	226	228	230	232
H4sH21054P	234	236	238	240	242	244	246	248
H4sH21055P	250	252	254	256	258	260	262	264
H4sH21058P	266	268	270	272	274	276	278	280
H4sH21064P	282	284	286	288	290	292	294	296
H4sH21073P	298	300	302	304	306	308	310	312
H4sH21077P	314	316	318	320	322	324	326	328
H4sH21079P	330	332	334	336	338	340	342	344
H4sH21080P	346	348	350	352	354	356	358	360
H4sH21083P	362	364	366	368	370	372	374	376
H4sH21086P	378	380	382	384	386	388	390	392
H4sH21090P	394	396	398	400	402	404	406	408
H4sH21091P	410	412	414	416	418	420	422	424
H4sH21093P	426	428	430	432	434	436	438	440
H4sH21099P	442	444	446	448	450	452	454	456
H4sH21100P	458	460	462	464	466	468	470	472
H4sH21103P	474	476	478	480	482	484	486	488
H4sH21104P	490	492	494	496	498	500	502	504
H4sH17363N	506	508	510	512	514	516	518	520
H4sH17368N3	522	524	526	528	530	532	534	536

[0268] 表2:核酸序列标识符

[0269]

抗体名称	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H4sH17364N	1	3	5	7	9	11	13	15
H4sH17368N2	17	19	21	23	25	27	29	31
H4sH17670P	33	35	37	39	41	43	45	47
H4sH17672P	49	51	53	55	57	59	61	63
H4sH17673P	65	67	69	71	73	75	77	79
H4sH17675P	81	83	85	87	89	91	93	95
H4sH17680P	97	99	101	103	105	107	109	111
H4sH17697P	113	115	117	119	121	123	125	127
H4sH17707P	129	131	133	135	137	139	141	143

[0270]

H4sH17715P	145	147	149	151	153	155	157	159
H4sH17726P	161	163	165	167	169	171	173	175
H4sH17730P	177	179	181	183	185	187	189	191
H4sH17930N	209	211	213	215	201	203	205	207
H4sH17930N2	193	195	197	199	201	203	205	207
H4sH21051P	217	219	221	223	225	227	229	231
H4sH21054P	233	235	237	239	241	243	245	247
H4sH21055P	249	251	253	255	257	259	261	263
H4sH21058P	265	267	269	271	273	275	277	279
H4sH21064P	281	283	285	287	289	291	293	295
H4sH21073P	297	299	301	303	305	307	309	311
H4sH21077P	313	315	317	319	321	323	325	327
H4sH21079P	329	331	333	335	337	339	341	343
H4sH21080P	345	347	349	351	353	355	357	359
H4sH21083P	361	363	365	367	369	371	373	375
H4sH21086P	377	379	381	383	385	387	389	391
H4sH21090P	393	395	397	399	401	403	405	407
H4sH21091P	409	411	413	415	417	419	421	423
H4sH21093P	425	427	429	431	433	435	437	439
H4sH21099P	441	443	445	447	449	451	453	455
H4sH21100P	457	459	461	463	465	467	469	471
H4sH21103P	473	475	477	479	481	483	485	487
H4sH21104P	489	491	493	495	497	499	501	503
H4sH17363N	505	507	509	511	513	515	517	519
H4sH17368N3	521	523	525	527	529	531	533	535

[0271] 在本文中通常根据以下命名法提及抗体:Fc前缀(例如“H1M”,“H4sH”,“H4H”等),接着是数字标识符(例如“17670”,“17930”等,如表1所示),接着是“P”,“N”或“N2”后缀。因此,根据该命名法,抗体可在本文中称为,例如,“H4sH17670P”,“H4sH17930N”,“H4sH17368N2”等。本文使用的抗体名称上的H4sH和H4H前缀表示抗体的特定Fc区同种型。例如,“H4sH”抗体具有人IgG4 Fc,具有2个或更多个氨基酸变化,如美国专利公布号20140243504公开(其整体并入本文),“H4H”抗体具有人IgG4 Fc,在铰链区中具有丝氨酸至脯氨酸突变(S108P),“H1M”抗体具有小鼠IgG1 Fc,“H2M”抗体具有小鼠IgG2 Fc(如抗体名称中的第一个“H”所示,所有可变区都是全人的)。如本领域普通技术人员将理解的,可以将具有特定Fc同种型的抗体转化为具有不同Fc同种型的抗体(例如,可以将具有小鼠IgG1 Fc的抗体转化为具有人IgG4等等的抗体),但无论如何,可变结构域(包括CDR)(如表1所示的数字标识符所识别)将保持不变,并且预期与抗原结合的特性相同或基本上相似,不论Fc结构域的性质如何。

[0272] 在某些实施方式中,将具有小鼠IgG1 Fc的选择的抗体转化为具有人IgG4 Fc的抗体。在某些实施方式中,该抗体包含具有2个或更多个氨基酸变化的人IgG4 Fc,如美国专利号20100331527所述(整体并入本文)。在一个实施方式中,IgG4 Fc结构域包含铰链区中的丝氨酸至脯氨酸突变(S108P),以促进二聚体稳定化。

[0273] 表3列出了本发明的选择的抗体的重链和轻链序列的氨基酸序列标识符。

[0274] 表3:重链和轻链序列标识符

抗体名称	SEQ ID NO:	
	重链	轻链
H4sH17363N	578	579
H4sH17364N	580	581
H4sH17670P	582	583
H4sH17675P	584	585
H4sH17930N2	586	587
H4sH21058P	588	589
H4sH21064P	590	591
H4sH21104P	592	593

[0276] 实施例3:可变基因利用分析

[0277] 为了分析产生的抗体的结构,克隆编码抗体可变区的核酸并测序。根据抗体的核酸序列和预测的氨基酸序列,确定了每个重链可变区 (HCVR) 和轻链可变区 (LCVR) 的基因使用(表4)。

[0278] 表4.

抗体名称	HCVR (HPV)			LCVR (HPV)	
	V _H	D _H	J _H	V _H	J _H
H4sH17363N	V3-23	D6-6	J6	V1-39	J5
H4sH17364N	V3-23	D6-6	J6	V1-39	J5
H4sH17368N2	V3-23	D3-9	J4	V1-39	J5
H4sH17368N3	V3-23	D3-9	J4	V1-39	J5
H4sH17670P	V3-64	D1-26	J6	V1-39	J5
H4sH17672P	V3-64	D1-26	J6	V1-39	J5
H4sH17673P	V3-23	D4-11	J6	V1-39	J5
H4sH17675P	V3-64	D1-26	J6	V1-39	J5
H4sH17680P	V3-23	D4-23	J6	V1-39	J5
H4sH17697P	V3-11	D6-13	J4	V1-39	J2
H4sH17707P	V3-23	D1-20	J4	V1-39	J5
H4sH17715P	V6-1	D1-7	J3	V1-39	J2
H4sH17726P	V1-18	D1-7	J4	V3-15	J4
H4sH17730P	V3-11	D1-7	J4	V1-17	J2

[0280]

H4sH17930N	V3-64	D2-2	J6	V1-39	J5
H4sH17930N2	V3-64	D2-2	J6	V1-39	J5
H4sH21051P	V3-23	D7-27	J4	V1-39	J5
H4sH21054P	V3-23	D1-7	J4	V1-39	J5
H4sH21055P	V3-11	D7-27	J2	V1-39	J2
H4sH21058P	V3-20	D2-2	J5	V1-39	J2
H4sH21064P	V3-64	D6-6	J6	V1-39	J5
H4sH21073P	V3-43	D6-19	J3	V1-39	J2
H4sH21077P	V3-23	D6-19	J3	V1-39	J2
H4sH21079P	V3-15	D1-7	J4	V1-39	J2
H4sH21080P	V3-23	D1-7	J6	V2-28	J1
H4sH21083P	V3-23	D1-7	J2	V3-15	J5
H4sH21086P	V3-33	D2-21	J6	V4-1	J5
H4sH21090P	V3-23	D1-20	J4	V3-15	J4
H4sH21091P	V3-15	D6-19	J6	V1-17	J4
H4sH21093P	V3-33	D3-3	J3	V1-6	J2
H4sH21099P	V3-9	D1-1	J6	V1-39	J5
H4sH21100P	V3-9	D1-7	J3	V1-39	J5
H4sH21103P	V3-15	D1-7	J4	V1-39	J5
H4sH21104P	V3-11	D3-10	J3	V1-39	J5

[0281] 实施例4:人单克隆抗HLA-A2:HPV16E7单特异性抗体的表面等离子激元共振衍生结合亲和力和动力学常数

[0282] 人抗HLA-A2/HPV16E7抗体的结合亲和力和动力学常数是通过实时表面等离子激元共振(SPR;Biacore 4000或Biacore T-200,GE Healthcare Life Sciences,Pittsburgh,PA)在25℃测定。将抗体捕获到通过胺偶联用单克隆抗人Fc抗体(GE,#BR-1008-39)衍生化的CM5 Biacore传感器表面(GE Healthcare Life Sciences)上。将含有E7:11-19肽(SEQ ID NO:538)或E7:82-90肽(SEQ ID NO:539)的各种浓度的单体HLA-A2:HPV16E7肽复合物以50μL/min(Biacore T-200)或30μL/min(Biacore 4000)的流速注射到抗-HLA-A2:HPV16E7抗体捕获表面上。监测抗体-试剂结合4-5分钟,并监测解离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,0.05%v/v Surfactant P20)中进行。

[0283] 动力学结合(K_a)和解离(K_d)速率常数是通过使用Scrubber 2.0c曲线拟合软件,将实时传感图拟合至1:1结合模型而确定。根据动力学速率常数计算结合解离平衡常数(K_D)和解离半衰期($t^{1/2}$)为:

[0284] $K_D (M) = \frac{k_d}{k_a}$ 和 $t^{1/2} (min) = \frac{\ln(2)}{50 \cdot k_d}$ 。

[0285] 单特异性抗HLA-A2:HPV16E7抗体对单体HLA-A2/HPV16E7肽复合物的结合动力学参数示于下表5和6。

[0286] 表5:抗HLA-A2/HPV16E7(11-19)抗体在25℃下的Biacore结合亲和力

[0287]

抗体	HLA-A2:HPV16E7(11-19)			
	ka (1/Ms)	ka (1/Ms)	ka (1/Ms)	ka (1/Ms)
H4sH17670P	8.16E+04	1.43E-03	1.75E-08	8.1
H4sH17672P	1.29E+05	8.19E-04	6.37E-09	14.1
H4sH17673P	NB	NB	NB	NB
H4sH17675P	5.99E+04	1.38E-03	2.31E-08	8.4
H4sH17680P	NB	NB	NB	NB
H4sH17697P	NB	NB	NB	NB
H4sH17707P	NB	NB	NB	NB
H4sH17715P	NB	NB	NB	NB
H4sH17726P	NB	NB	NB	NB
H4sH17730P	NB	NB	NB	NB
H4sH17363N	8.72E+04	1.54E-03	1.76E-08	7.5
H4sH17364N	8.56E+04	1.57E-03	1.83E-08	7.4
H4sH17368N2	NB	NB	NB	NB
H4sH17368N3	NB	NB	NB	NB
H4sH17930N	7.84E+04	7.96E-04	1.02E-08	14.5
H4sH17930N2	8.28E+04	7.92E-04	9.57E-09	14.6
H4sH21051P	NB	NB	NB	NB
H4sH21054P	NB	NB	NB	NB
H4sH21055P	NB	NB	NB	NB
H4sH21058P	NB	NB	NB	NB
H4sH21064P	5.47E+04	7.91E-04	1.44E-08	14.6
H4sH21073P	NB	NB	NB	NB
H4sH21077P	NB	NB	NB	NB
H4sH21079P	3.74E+04	1.09E-02	2.90E-07	1.1
H4sH21080P	1.79E+05	3.90E-02	2.18E-07	0.3
H4sH21083P	NB	NB	NB	NB
H4sH21086P	NB	NB	NB	NB
H4sH21090P	NB	NB	NB	NB
H4sH21091P	NB	NB	NB	NB
H4sH21093P	NB	NB	NB	NB
H4sH21099P	NB	NB	NB	NB
H4sH21100P	NB	NB	NB	NB
H4sH21103P	NB	NB	NB	NB
H4sH21104P	NB	NB	NB	NB

[0288] *NB表示在实验条件下,HLA-A2:HPV16E7(11-19)肽试剂不与捕获的抗HLA-A2:HPV16E7单克隆抗体结合

[0289] 表6:抗HLA-A2/HPV16E7(82-90)抗体在25℃下的Biacore结合亲和力

抗体	HLA-A2:HPV16E7(82-90)			
	ka (1/Ms)	ka (1/Ms)	ka (1/Ms)	ka (1/Ms)
H4sH17670P	NB	NB	NB	NB
H4sH17672P	NB	NB	NB	NB
H4sH17673P	NB	NB	NB	NB
H4sH17675P	NB	NB	NB	NB
H4sH17680P	NB	NB	NB	NB
H4sH17697P	NB	NB	NB	NB
H4sH17707P	7.15E+04	3.61E-04	5.05E-09	32.0
H4sH17715P	4.58E+04	5.68E-04	1.24E-08	20.3
H4sH17726P	5.17E+04	4.19E-04	8.10E-09	27.6
H4sH17730P	NB	NB	NB	NB
H4sH17363N	NB	NB	NB	NB
H4sH17364N	NB	NB	NB	NB
H4sH17368N2	8.31E+05	1.92E-03	2.30E-09	6.0
H4sH17368N3	7.12E+05	1.22E-03	1.71E-09	9.5
H4sH17930N	NB	NB	NB	NB
H4sH17930N2	NB	NB	NB	NB
H4sH21051P	1.37E+04	3.31E-04	2.41E-08	34.9
H4sH21054P	1.98E+05	7.65E-04	3.86E-09	15.1
H4sH21055P	1.56E+05	1.21E-03	7.76E-09	9.6
H4sH21058P	2.46E+05	2.60E-04	1.06E-09	44.5
H4sH21064P	NB	NB	NB	NB
H4sH21073P	5.77E+05	1.15E-04	2.00E-10	100.3
H4sH21077P	NB	NB	NB	NB
H4sH21079P	NB	NB	NB	NB
H4sH21080P	NB	NB	NB	NB
H4sH21083P	5.38E+04	2.12E-04	3.94E-09	54.5
H4sH21086P	6.97E+04	1.14E-03	1.63E-08	10.2
H4sH21090P	8.11E+04	1.91E-04	2.35E-09	60.6
H4sH21091P	1.74E+05	1.46E-04	8.42E-10	79.1
H4sH21093P	1.18E+05	1.92E-03	1.63E-08	6.0
H4sH21099P	1.24E+05	9.79E-05	7.88E-10	118.0
H4sH21100P	2.90E+05	1.82E-04	6.26E-10	63.5
H4sH21103P	8.35E+05	3.22E-03	3.86E-09	3.6
H4sH21104P	4.36E+04	2.15E-04	4.94E-09	53.7

[0291] *NB表示在实验条件下,HLA-A2:HPV16E7 (82-90) 肽试剂不与捕获的抗HLA-A2:HPV16E7单克隆抗体结合

[0292] 数据证明,本发明的大多数抗-HLA-A2/HPV16E7抗体选择性地结合可溶性HLA-A2/HPV16E7肽复合物,一些表现出亚纳摩尔亲和力。一些抗体然而未展示与HLA-A2/HPV16E7复合物的结合。

[0293] 实施例5:潜在脱靶肽的预测

[0294] 给定靶9聚肽-HLA-A2复合物,基于三个标准定义相关潜在脱靶肽:A) 该肽为9聚体并且被预测结合HLA-A2,B) 基于序列同源性,该肽与靶肽相似,和C) 该肽衍生自在基本、正常组织中表达的基因。因此,为了预测与YMLDLQPET (HPV16E7 11-19;SEQ ID NO:538) 和LLMGTLGIV (HPV16E7 82-90;SEQ ID NO:539) 相关的潜在脱靶肽,使用以下方法 (通常参见Dhanik,Ankur,等 (2016) BMC Bioinformatics 17(1):286)。

[0295] 作为第一步,从UniprotKB数据库 (2014年9月版本) (Magrane,Michele,and

UniProt Consortium.Database 2011(2011):bar009) 下载经典人蛋白质序列并提取所有9聚体。这产生了来自20,014个蛋白质序列的11,118,076个肽。

[0296] 接下来,使用NetMHCstab网络服务器(1.0版本)(Jørgensen, Kasper W.,等(2014) Immunology 141(1):18-26) 计算该等肽与HLA-A2结合的亲和力。亲和力值<500nM的肽被预测为结合HLA-A2,其余丢弃,产生剩余的338,452个肽。

[0297] 然后评估肽序列与靶肽的序列同源性。对于每种肽,计算其与靶肽的相似度(DoS)。DoS值表示两个肽之间在相同位置处的相同氨基酸的数量。拒绝DoS值小于6的肽,在HLA-A2/HPV16E7:11-19的情况下产生剩余的21个肽,在HLA-A2/HPV16E7:82-90的情况下产生剩余的78个肽。

[0298] 检查对应于这21个肽的基因在基本、正常组织中的表达。对该表达的评价是使用从OmicSoft提供的GTEx(基因组织表达)和TCGA(癌症基因组图谱)数据库衍生的基因表达数据来完成(Hu,Jun,等Bioinformatics(2012)28(14):1933-1934)。来自497个TCGA相邻正常样本(横跨15种基本组织类型)和2,928个GTEx正常样本(横跨22种基本组织类型)的RPKM(读数每千碱基每百万)值的数据可得。除乳房,宫颈,输卵管,睾丸,子宫和阴道以外的组织被认为是基本的。如果GTEx和TCGA数据库中每种基本、正常组织类型中95百分位数表达的最大值为 ≥ 0.5 RPKM,则认为基因在基本、正常组织中表达。对于HLA-A2/HPV16E7:11-19(YMLDLQPET),在21个肽中,有10个肽衍生自在基本、正常组织中表达的基因。对于HLA-A2/HPV16E7:82-90(LLMGTLGIV),在78个肽中,有49个肽衍生自在基本、正常组织中表达的基因。

[0299] 这10个肽构成与靶标YMLDLQPET-HLA-A2复合物相关的预测的脱靶标(表7)。在预测构成与LLMGTLGIV-HLA-A2复合物相关的可能脱靶的49个潜在肽中,随机挑取13个进行实验验证,并列于表8中。

[0300] 表7:与HLA-A2/HPV16E7:11-19(YMLDLQPET;SEQ ID NO:538)相似的预测的脱靶肽

No.	肽序列	肽名称	基因	预测的 IC50 (nM)
1	YMLDLQKQL (SEQ ID NO: 546)	SH3GLB1:244-252	SH3GLB1	9.2
2	KMLDKNPET (SEQ ID NO: 547)	CAMKK1:388-396	CAMKK1	107.9
3	YMFDLLLET (SEQ ID NO: 548)	USP47:691-699	USP47	3.5
4	YTLDLQLEA (SEQ ID NO: 549)	CHPF:463:471	CHPF	132.8
5	MMLILQAET (SEQ ID NO: 550)	PKD1:2694-2702	PKD1	244.3
6	LMLPLQPCT (SEQ ID NO: 551)	NBR1:357-365	NBR1	487.8
7	YILDLLPDT (SEQ ID NO: 552)	CBL:83-91	CBL	145.9
8	YMEDLQELT (SEQ ID NO: 553)	PPP4R4:20-28	PPP4R4	482.1
9	GLLDLDPET (SEQ ID NO: 554)	SBK3:285-293	SBK3	91.6
10	VMKDLLPET (SEQ ID NO: 555)	FNDC3B:921-929	FNDC3B	379.9

[0302] 表8:与HLA-A2/HPV16E7:82-90(LLMGTLGIV;SEQ ID NO:539)相似的预测的脱靶肽

[0303]

No.	肽序列	肽名称	基因	预测的 IC50 (nM)
1	LLMGTFLSV (SEQ ID NO: 556)	VPREB3:9-17	VPREB3	5.9
2	LLGGTLERV (SEQ ID NO: 557)	B4GALT2:4-12	B4GALT2	93.6
3	LLMGSENTIV (SEQ ID NO: 558)	GCAT:312-320	GCAT	13.2
4	LLQATLDIV (SEQ ID NO: 559)	CYP39A1:246-254	CYP39A1	88.7
5	LLLTFLGIV (SEQ ID NO: 560)	ALDH3A2:467-475	ALDH3A2	85.4
6	LLAGTLAGV (SEQ ID NO: 561)	CLCN4:79-87	CLCN4	11.0
7	LLQDTLGHV (SEQ ID NO: 562)	ZHX2:234-242	ZHX2	50.5
8	LLLAVLGIV (SEQ ID NO: 563)	GRM6:590-598	GRM6	64.4
9	LVMETLCIV (SEQ ID NO: 564)	IPO9:582-590	IPO9	18.8
10	LLNETLGEV (SEQ ID NO: 565)	IPO4:163-171	IPO4	25.8
11	KLMGHLGVV (SEQ ID NO: 566)	SF3B1:969-977	SF3B1	11.2
12	LLMCYLYIV (SEQ ID NO: 567)	DOCK11:1282-1290	DOCK11	2.7
13	LLNKVLGIV (SEQ ID NO: 568)	Human CNOT1:1962-1970	CNOT1	247.8

[0304] 实施例6: T2肽脉冲以确定HLA-A2/HPV16E7 M特异性

[0305] 为了确定抗HLA-A2/HPV16E7单克隆抗体特异性,使用加载有靶肽或脱靶肽(在前文实施例中识别)的肽脉冲T2细胞。实验进行如下:为了外源加载HPV16E7靶肽或脱靶肽,将T2细胞在AIM V®培养基中冲洗,并用Cellometer™ Auto T4细胞计数器(Nexcelom Bioscience)计数。每个T-75烧瓶大约6,000,000个T2细胞在26°C下在9mL含有10μg人b2m和100μgHPV16E7肽或脱靶肽(表6和7)的AIM V®培养基中培养24小时。用不含Ca²⁺/Mg²⁺的PBS洗涤肽加载T2细胞一次并计数。将细胞清洗缓冲液中的肽加载T2或未处理T2以每孔约10,000个细胞接种到96孔碳电极板(MULTI-ARRAY高结合板,MSD)中,并在37°C下孵育1小时以使细胞附着于板。在室温下使用PBS中的2%BSA(w/v)将非特异性结合位点封闭1小时。向板结合的细胞添加范围为1.7pM至100nM的系列稀释中的抗HLA-A2/HPV16E7:11-19,抗HLA-A2/HPV16E7:82-90或对照抗体的溶液,以及没有抗体的溶液。将板在室温下孵育1小时,然后使用AquaMax2000板洗涤器(MDS Analytical Technologies)洗涤以去除未结合的抗体。用对Fcγ片段特异性的SULFO-TAG™缀合山羊多克隆抗人IgG抗体(Jackson ImmunoResearch,Meso Scale Discovery)在室温下检测1小时板结合的抗体。洗涤后,按照制造商推荐的程序,用读数缓冲液(MSD)对板进行显影,并用SECTOR Imager 600(Meso Scale Discovery)仪器记录发光信号。记录以相对光单位(RLU)测量的发光强度以指示每种抗体在浓度范围内的结合强度。在11nM下每种抗HLA-A2/HPV16E7抗体相对于同种型对照的细胞结合信号比率在表8和9中报告且是特异性的指示。在11nM浓度下,大多数抗体展示出与T2未处理细胞的很小结合。并非所有抗体都用所有相应的相关脱靶肽进行测试。那些未经测试的被标记为NT,即“未经测试”。结合率大于15的抗体被标记为(+++),比率等于或小于15但大于或等于10的抗体被标记为(++),比率小于10但大于或等于3的抗体被标记为(+),结合比率小于3的抗体被分类为非结合体且表示为(-)。此外,分析了直接结合信号(在RLU中)作为抗体浓度的函数,并使用GraphPad Prism™将数据拟合到S形(四参数对数)剂量响应模型中。在可能的情况下,确定EC₅₀值,定义为在细胞上检测到最大结合信号的50%的抗体浓度,以指示每种抗体的效力。仅与细胞表面HLA-A2/HPV16E7:11-19或HLA-A2/HPV16E7:82-90结合的EC₅₀值也在表9和10中报告。

[0306] 本发明的13种抗HLA-A2/HPV16E7:11-19抗体中的10种结合T2细胞表面HLA-A2/肽复合物。这10种抗体中的7种(H4sH17670P;H4sH17675P;H4sH17363N;H4sH17364N;

H4sH17930N;H4sH17930N2;和H4sH21064P)对HLA-A2/HPV16E7:11-19复合体具有特异性。三种抗体(H4sH17672P,H4sH21079P,H4sH21080P)显示 EC_{50} 值低于1.1nM的展示的更高效力。三种抗体(H4sH17673P,H4sH17680P,H4sH17697P)不结合T2肽加载细胞,在表9第一列中用(-)表示。

[0307] 表9总结了在加载有HPV16E7:82-90靶标和预测的脱靶肽的T2细胞上的细胞结合结果。本发明的21种抗HLA-A2/HPV16E7:82-90mAb中的16种结合T2细胞表面HLA-A2/肽复合物。该组中仅2个mAb(H4sH17368N2,H4sH21086P)表现出对HLA-A2/HPV16E7 82-90复合物的特异性。5种抗体(H4sH17730P,H4sH21051P,H4sH21054P,H4sH21055P,H4sH21077P)不结合T2肽加载细胞,在表10中用(-)表示。

[0308]

表 9: 抗 HLA-A2/HPV16E7:11-19 单克隆抗体的结合特异性

细胞结合 EC ₅₀ (nM)		在 11nM 下与无关的 hIgG4 同种型对照相比的 T2+肽细胞结合特异性											T2 未处理
AbPID	T2+HPV16E7 11-19	HPV16E7 11-19	SH3GLB1 244-252	CAMKK1 388-396	USP47 691-699	CHPF 463-471	PKD1 2694-2702	NBR1 357-365	CBL 83-91	PPP4R4 20-28	SBK3 285-293	T2	
H4sH17670P	1.3E-09	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H4sH17672P	4.5E-10	++	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
H4sH17673P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H4sH17675P	1.1E-09	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H4sH17680P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H4sH17697P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H4sH17363N	2.1E-09	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H4sH17364N	2.0E-09	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H4sH17930N	3.1E-09	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H4sH17930N2	5.8E-09	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H4sH21064P	2.2E-09	+++	NT	NT	NT	-	NT	-	-	NT	NT	-	
H4sH21079P	1.1E-09	+++	NT	NT	NT	+	NT	-	+	NT	NT	-	
H4sH21080P	2.2E-10	++	NT	NT	NT	+	NT	-	+	NT	NT	-	
在 11nM 下的细胞结合信号, RLU													
同种型对照	-	1029	976	772	1102	1077	1123	820	1104	1038	945	847	

[0309]

表 10: 抗 HLA-A2/HPV16E7.82-90 单克隆抗体的结合特异性

细胞结合 EC ₅₀		在 11nM 下与无关的 hlgG4 同种型对照相比的 T2+肽细胞结合特异性														
(M)		HPV16 E7 82-90	VPRE B3 9-17	B4GAL T2 4-12	GCA T 312-3 20	CYP39 A1 246-254	ALDH3 A2 467-475	CLC N4 79-87	ZH X2 234- 242	GR M6 590-5 98	IPO 9 582- 590	IPO 4 163- 171	SF3B 1 969-9 77	DOCK 11 1282-12 90	CNO T1 1962-1 970	T2 未脉冲
AbPID	T2+HP V16E7 82-90															
	H4sH17707P	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	H4sH17715P	++	-	-	-	-	+	-	-	++	-	-	+	-	+	-
	H4sH17726P	++	+++	++	-	++	+	++	+	++	+	-	+	+	+	-
	H4sH17730P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H4sH17368N2	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H4sH17368N3	++	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	H4sH21051P	-	-	-	NT	NT	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-
	H4sH21054P	-	-	-	NT	NT	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-
	H4sH21055P	-	-	-	NT	NT	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-
	H4sH21077P	-	-	-	NT	NT	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-
	H4sH21086P	+++	-	-	NT	NT	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-
	H4sH21090P	+++	-	-	NT	NT	NT	NT	+++	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-
	H4sH21091P	+++	-	-	NT	NT	NT	NT	+++	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-
	H4sH21093P	++	-	-	NT	NT	NT	NT	+	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-
	H4sH21058P	++	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
	H4sH21073P	++	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

[0310]

H4sH21083P	3.3E-10	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	++	-	+	-
H4sH21099P	8.7E-11	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
H4sH21100P	9.6E-11	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
H4sH21103P	4.5E-11	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	++	+++	++	-	-
H4sH21104P	4.8E-10	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
在 11nM 下的细胞结合信号, RLU																				
同种型对照	-	835	871	926	872	562	856	725	797	807	768	106	7	702	776	780	860			

[0311] 如表9和10所示,本发明的抗-HLA-A2:HPV16E7抗原结合蛋白仅以高特异性结合 HLA-A2呈递的特定HPV肽(表9中的SEQ ID NO:538,或表10中的SEQ ID NO:539),并且不结

合HLA-A2呈递的任何脱靶肽。

[0312] 实施例7:使用肽脉冲T2细胞的结合特异性分析,以及FACS分析

[0313] 通过流式细胞术在呈递HPV 11-19肽 (3T3/HLA.A2/hB2M/HPV16E7:11-19) 或HPV 82-90肽 (3T3/HLA.A2/hB2M/HPV16E7:82-90) 的表达HLA-A2复合物的NIH3T3细胞上评估HPV16E7抗体的相对结合和特异性。表达HLA复合物的NIH3T3细胞是通过使用lipofectomine 2000 (Invitrogen, Cat#11668) 转染人HLA.A2 (登录号P01892), 人B2M (登录号NP_004039.1) 和包含HPV16E7的氨基酸11-19 (SEQ ID NO:538) 或氨基酸82-90 (SEQ ID NO:539) 的泛素肽盒 (登录号AKI85233) (Lévy F., 等 (1996) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 93(10):4907-4912; Valmori D, 等 (1999) Journal of Experimental Medicine 189(6):895-906), 然后在1 μ g/ml嘌呤霉素, 500 μ g/ml G418和100 μ g/ml潮霉素中选择至少2周而产生。为了染色, 使用细胞解离缓冲液 (Millipore, Cat#S-004-C) 收获细胞并计数。将细胞在96孔V型底板中以200,000个细胞/孔的密度在染色缓冲液 (不含钙和镁的PBS (Irving9240) +2%FBS) (ATCC30-2020) 中接种, 并用一抗的三倍系列稀释 (1.7pM-100nM) 在4 $^{\circ}$ C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, 并用Alexa-Flour 647缀合二抗 (Jackson ImmunoResearch, Cat#109-606-170) 以10 μ g/ml在4 $^{\circ}$ C染色30分钟。然后用在染色缓冲液中稀释的BD Cytofix (BD, Cat#554655) 的50%溶液洗涤细胞并固定。样品在intellicyt iQue流式细胞仪上运行和分析以计算平均荧光强度 (MFI)。使用四参数逻辑方程在12点响应曲线上在Graphpad Prism中作图MFI值以计算EC₅₀值。对于每个剂量响应曲线, 单独的二抗 (即, 非一抗) 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。EC₅₀值 (M) 和最大结合倍数 (从最高剂量改变为最低剂量的倍数) 示于表11中。几种抗体特异性结合3T3/HLA.A2/hB2M/HPV16E7:11-19或3T3/HLA.A2/hB2M/HPV16E7:82-90细胞系。EC₅₀值范围为5-500nM, 倍数结合范围为1.0 $\times$ 至43.8 $\times$ 。

[0314] 表11:HPV16E7抗体的FACS结合

[0315]

抗体命名	3T3/HLA.A2/hB2M/HPV16 E7 (11-19)		3T3/HLA.A2/hB2M/HPV16 E7 (82-90)		HEK293	
	EC ₅₀	最大倍数	EC ₅₀	最大倍数	EC ₅₀	最大倍数
*H4sH17363N	1.40E-08	11.4	ND	1.7	ND	1.3
*H4sH17364N	2.40E-08	11.4	2.91E-08	2.3	ND	1.2
H4sH17368N2	ND	1.8	1.94E-07	9.1	ND	1.8
H4sH17368N3	ND	1.1	3.26E-08	6.1	ND	1.7
*H4sH17670P	2.37E-08	6.7	ND	1.5	ND	0.8
H4sH17672P	3.72E-08	10.2	ND	1.4	ND	1.6
H4sH17673P	ND	1.8	ND	1.3	ND	1.6
*H4sH17675P	1.27E-08	5.1	ND	1.3	ND	0.65
H4sH17680P	ND	1.5	ND	1.1	ND	1
H4sH17697P	ND	1.2	ND	1.5	ND	1.1
H4sH17707P	ND	1.5	ND	1.8	ND	2
H4sH17715P	ND	1.7	6.60E-06	6.7	3.47E-08	3.1
H4sH17726P	5.20E-08	28.11	7.19E-08	43.8	ND	2.0
H4sH17730P	ND	0.9	5.80E-08	2.9	ND	0.9
H4sH17930N	1.73E-08	13.5	6.62E-08	10.3	1.53E-07	4.3
*H4sH17930N2	2.78E-08	11.4	7.48E-08	3	3.93E-08	3
H4sH21051P	ND	1.2	ND	2.0	ND	1.2
H4sH21054P	ND	3.8	ND	4.9	3.51E-08	3.6
H4sH21055P	ND	1.4	ND	1.5	ND	1.9
H4sH21058P	ND	1.3	1.01E-08	8.6	ND	0.9
*H4sH21064P	2.05E-08	12.3	6.60E-08	2.2	ND	0.7
H4sH21073P	ND	0.9	4.09E-08	6.5	ND	0.9
H4sH21077P	ND	2.0	ND	1.5	ND	1.6
H4sH21079P	4.02E-08	26.6	5.40E-08	20.5	ND	1.3
H4sH21080P	3.10E-08	11.7	2.11E-08	7.4	5.19E-08	4.4
H4sH21083P	ND	1.5	3.31E-09	8.5	ND	1.4
H4sH21086P	5.537E-07	14.6	3.49E-07	22	ND	1.3
H4sH21090P	ND	1.6	1.85E-09	6.25	ND	1.1
H4sH21091P	ND	1.5	3.74E-10	5.6	ND	1.6
H4sH21093P	ND	1.9	2.95E-08	3.9	ND	1.4
H4sH21099P	ND	1	1.19E-09	4.8	ND	2
H4sH21100P	3.55E-08	4.4	1.19E-08	10.3	ND	0.7
H4sH21103P	ND	1.6	9.20E-09	6.3	ND	1.5
H4sH21104P	ND	1.6	5.481E-09	8.5	ND	1
Isotype Ctrl	ND	1	ND	1	ND	1.2

[0316] 带有(*)的抗体在单独的实验中一起运行

[0317] ND=EC₅₀未确定,当最大倍数结合小于或等于2倍时

[0318] 6种HPV16E7:11-19抗体的特异性通过评估与用HPV16E7:11-19,HPV16E7:82-90或预测的脱靶肽(表7)脉冲的T2(174 CEM.T2)细胞的结合来进一步表征。为了脉冲,将T2(174 CEM.T2)以 1×10^6 个细胞/ml的密度重悬浮在AIM V培养基中(Gibco.Cat#31035-025)。细胞通过加入10 μ g/ml hB2M(EMD Millipore Cat#475828)和100 μ g/ml的指定肽来脉冲。按照下述方案,T2细胞然后在26 $^{\circ}$ C下孵育过夜,在染色缓冲液中洗涤,并用10 μ g/ml浓度的指定抗体染色。计算MFI值,并表示为相对于未染色细胞的倍数变化。这6种HPV16E7:11-19抗体在用HPV16E7:11-19脉冲的T2细胞上的相对结合的范围是比未染色细胞高986-1200倍。在用其他肽脉冲的T2细胞上,未观察到高于同种型对照的显著结合(表12)。

[0319] 表12:HPV16E7抗体与T2脉冲细胞的FACS结合。(相对于未染色的倍数变化)

[0320]

	HPV16 E7:11-19 YMLDLQ PET	SH3GLB 1 244-252	CAMK K1 388-396	USP4 7 691-6 99	CHPF 463:47 1	PKD 1 2694 -270 2	NBR 1 357-3 65	CB L 83- 91	PPP4R 4 20-28	SBK 3 285- 293	未脉冲 的细胞
H4sH17363N	1001.4	13.6	2.0	0.6	7.4	1.2	3.6	19.5	6.1	0.4	8.5
H4sH17364N	986.1	15.2	1.0	1.3	10.9	1.0	3.0	23.9	9.0	0.8	11.7
H4sH17670P	1005.5	3.7	2.9	5.3	3.6	3.5	2.2	2.0	2.9	2.6	5.0
H4sH17675P	1204.2	10.5	2.4	13.3	5.0	2.9	2.2	4.9	5.5	2.9	7.2
H4sH17930N2	1166.7	28.2	2.6	8.9	7.5	3.3	3.3	4.6	7.3	3.0	6.7
H4sH21064P	1204.2	10.5	2.4	13.3	5.0	2.9	2.2	4.9	5.5	2.9	7.2
同种型对照	17.1	8.5	6.3	11.5	9.9	9.8	8.7	9.0	8.0	6.8	10.2
第二 单独	14.2	3.7	5.8	5.2	4.8	4.4	3.7	4.4	4.0	4.1	6.5
未染色	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

[0321] 实施例8:使用丙氨酸扫描肽的表位分析

[0322] 进行丙氨酸扫描以确定HPV16E7:11-19肽中的哪些残基对于抗体结合是关键的。如上所述,用丙氨酸扫描肽脉冲T2细胞并用HPV16E7:11-19抗体染色。使用以下丙氨酸扫描肽(表13)。

[0323] 表13:研究中使用的丙氨酸扫描肽

[0324]

SEQ ID NO:	肽	Ala 置换
569	AMLDLQPET	Y11A
570	YALDLQPET	M12A
571	YMADLQPET	L13A
572	YMLALQPET	D14A
573	YMLDAQPET	L15A
574	YMLDLAPET	Q16A
575	YMLDLQAET	P17A
576	YMLDLQPAT	E18A
577	YMLDLQPEA	T19A

[0325] 天冬氨酸14向丙氨酸的转化(D14A)和谷氨酰胺16向丙氨酸的转化(Q16A)大大降低了所有测试抗体的抗体结合。酪氨酸11向丙氨酸的转化(Y11A)降低了H4sH17670P, H4sH17675P, H4sH21064P和H4sH17930N2的结合;但没有降低H4sH17363N或H4sH17364N的结合。亮氨酸13向丙氨酸的转化(L13A)和脯氨酸17向丙氨酸的转化(P17A)降低了总体抗体结合(表14)。

[0326] 总的来说,D14和Q16是对于抗体结合关键的残基。

[0327] 表14:HPV16E7抗体与用丙氨酸扫描肽脉冲的T2细胞的FACS结合

[0328]

	AMLD LQPE T (Y11A)	YALD LQPE T (M12A)	YMAD LQPE T (L13A)	YMLA LQPE T (D14A)	YMLDA QPET (L15A)	YMLD LAPET (Q16A)	YMLD LQAE T (P17A)	YMLD LQPA T (E18A)	YMLD LQPE A (T19)
H4sH17363N	694.8	998.5	529.9	58.2	1019.3	13.3	401.8	775.7	1034.3
H4sH17364N	708.3	997.9	489.9	69.7	1008.4	13.2	384.8	756.2	1075.7
H4sH17670P	8.1	670.3	374.9	10.7	1062.8	6.2	168.8	614.7	1150.1
H4sH17675P	19.0	823.8	527.2	6.3	1153.1	5.8	371.1	808.3	1165.0
H4sH17930N 2	39.0	972.9	665.7	5.8	1245.9	6.8	531.9	1035.4	1330.3
H4sH21064P	19.0	823.8	527.2	6.3	1153.1	5.8	371.1	808.3	1165.0
同种型对照	14.4	10.9	8.4	9.9	8.1	9.0	8.2	9.1	9.6
第二 单独	9.7	6.9	4.9	6.4	6.3	5.5	4.6	4.5	6.5
未染色	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

[0329] 实施例9:将HLA-A2/HPV16E7抗体重定格式为ScFv用于嵌合抗原受体

[0330] 将6种HLA-A2/HPV16E7:11-19抗体(17363N,17364N,17670P,17675P,17930N2和21064P)重定格式为VL-VH单链可变片段(ScFv),并置于嵌合抗原受体(CAR)构建体中,其使用CD8 α 铰链和跨膜结构域,4-1BB共刺激结构域和CD3 ζ 刺激结构域(SEQ ID NO:540-545)。将HLA-A2/HPV16E7:11-19特异性CAR克隆到慢病毒表达载体(Lenti-X™ Bicistronic Expression System(Neo),Clontech Cat#632181)中,并通过Lenti-X Packaging Single-Shot(VSV-G)系统(Clontech Cat#631276)根据制造商方案产生慢病毒颗粒。然后根据制造商方案,使用RetroNectin® Pre-coated Dishes(Clontech,Cat#T110a),用6种不同的CAR构建体转导被工程化以表达NFAT荧光素酶报告基因的Jurkat细胞(Jurkat/NFATLuc cl.3C7)。在500 μ g/ml G418(Gibco,Cat#11811-098)中选择至少2周后,产生CAR-T细胞系。

[0331] 在CAR-T/抗原呈递细胞(APC)生物测定中评估了CAR-T系的活性。

[0332] 为了进行该生物测定,将50,000个Jurkat/NFATLuc cl.3C7 CAR-T细胞在50 μ l的测定培养基(RPMI培养基,具有10%FBS和1%P/S/G)中加入到Thermo-Nunc 96孔白色板(Thermo Scientific,Cat#136101),随后加入在50 μ l的测定培养基中的APC的3倍系列稀释(150,000个细胞至200个细胞)。使用以下APC:CASKI(HLA-A2+/HPV16+),过表达呈递11-19或82-90肽的HLA-A2的单链形式的CASKI细胞;HEK293(HLA-A2+/HPV16-),或C33a(HLA-A2+/HPV16-)。将细胞混合物在37℃、5%CO₂、加湿培养箱孵育5小时。使用Promega One-Glo(Cat#E6130)和Perkin Elmer Envision读板仪测量NFAT-荧光素酶活性。产生相对荧光素酶单位(RLU)并在Graphpad Prism中使用四参数对数方程在8点响应曲线上绘制以计算EC₅₀值。对于每个剂量响应曲线,零APC条件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。通过采用曲线上的最高RLU与最低的比率来确定最大倍数激活。全部6个HLA-A2/HPV16E7:11-19 CAR-T细胞系均被过表达HPV16E7:11-19肽的CASKI细胞激活,最大倍数激活在2.5-32.3倍之间。过表达HPV16E7:82-90肽的APC或HEK293和C33a细胞不激活CAR-T细胞系。有趣的是,使用来自抗体17675P的ScFv的一种CAR-T细胞系被天然CASKI细胞激活,倍数激活为4.1,EC₅₀为68654个细胞(表15)。

[0333] 表15:HPV16E7(11-19)CAR-T在CAR-T/APC生物测定中的激活

[0334] Jurkat/NFATLuc嵌合抗原受体构建体

APC	17363N		17364N		17670P		17675P		17930N2		21064P	
	EC50 (细胞)	倍数 激活	EC50 (细胞)	倍数 激活	EC50 (细胞)	倍数 激活	EC50 (细胞)	倍数 激活	EC50 (细胞)	倍数 激活	EC50 (细胞)	倍数 激活
CASKI	ND	0.9	ND	1	ND	0.8	68654	4.1	ND	0.9	ND	1.2
CASKI 11-19	5108	2.5	6632	10.4	4145	8.5	9703	32.3	7885	16.8	7220	20.7
CASKI 82-90	ND	0.9	ND	1	ND	0.9	ND	1.5	ND	0.7	ND	0.9
HEK293	ND	0.8	ND	0.9	ND	0.8	ND	0.7	ND	0.7	ND	0.8
C33a	ND	0.7	ND	1.2	ND	0.8	ND	0.6	ND	0.6	ND	0.4

[0336] ND=EC₅₀未确定,当最大倍数结合小于或等于2倍时

[0337] 增加HPV16E7:11-19呈递肽HLA-A2的量应导致HLA-HPV16E7:11-19CAR的激活增加。已报告,干扰素 γ 可以通过MHC I类分子通过蛋白酶体的上调增加抗原呈递(Früh K.and Yang Y.(1999)Curr Opin Immunol.11(1):76-81)。基于这一观察,确定用干扰素 γ 预处理的野生型CASKI细胞或HEK293细胞是否可以导致CAR-T细胞系激活增加。用500单位/ml重组人IFN- γ (Peprotech Cat#300-02)预处理CASKI细胞和HEK293细胞48小时,然后用

于如上所描述的CAR-T/APC生物测定(表16)。IFN γ 预处理的CASKI细胞激活所有6种HPV16E7:11-19 CAR-T细胞系,倍数激活范围为2.4-10.6。

[0338] 表16:在IFN- γ 存在下HPV16E7(11-19)CAR-T的激活

	CASKI		CASKI + IFN-g		HEK293		HEK293 + IFN-g	
	Jurkat/NFAT Luc CART	EC ₅₀ (细胞)	Max Fold	EC ₅₀ (细胞)	Max Fold	EC ₅₀ (细胞)	Max Fold	EC ₅₀ (细胞)
[0340]	17363N	ND	1.0	51837	2.4	ND	1.0	ND
	17364N	ND	1.0	6440	5.6	ND	0.86	ND
	17670P	ND	1.0	51360	2.7	ND	0.77	ND
	17675P	13844	1.77	64903	10.6	ND	0.81	ND
	17930N2	ND	0.97	57186	8.1	ND	0.75	ND
	21064P	ND	1.0	55863	8.97	ND	0.8	ND

[0341] ND=EC₅₀未确定,当最大倍数结合小于或等于2倍时

[0342] 为了在荧光素酶测定中进一步评估HPV16E7:11-19CAR-T系的特异性,我们使用T2细胞作为APC并用预测的脱靶肽(表17)脉冲。简而言之,将T2细胞用指定肽的三倍系列稀释(1.7pg/ml至100ng/ml)脉冲。脉冲后,将50,000个CAR-T细胞在50 μ l的测定培养基中加入到Thermo-Nunc 96孔白色板(Thermo Scientific,Cat#136101)。然后,将50,000个脉冲T2细胞在50 μ l的测定培养基中加入到所述板中。细胞混合物在37°C、5%CO₂、加湿培养箱孵育5小时。使用Promega One-Glo™(Cat#E6130)和Perkin Elmer Envision读板器测定NFAT-荧光素酶活性。使用四参数对数方程在Graphpad Prism中在12点响应曲线上绘制RLU以计算EC₅₀值。对于每个剂量响应曲线,未脉冲条件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。如前所述确定最大倍数激活。所有CAR-T细胞系均被用HPV16E7:11-19肽脉冲的T2细胞激活。利用来自抗体17364N的ScFv的Jurkat/NFATLuc CART系被用Endophilin-B1(SH3GLB1:244-252),硫酸软骨素合酶2(CHPF:463:471)和E3泛素-蛋白连接酶CBL(CBL:83-91)脉冲的T2细胞非特异性地激活。所有其他CAR-T细胞系不具有任何脱靶肽的显著激活。

[0343] 表17:HPV16E7(11-19)CAR-T对T2脉冲细胞的最大倍数激活。

	Jurkat/NFATLuc 嵌合抗原受体构建体					
	17363N	17364N	17670P	17675P	17930N2	21064P
[0344]	最大倍数激活					
	HPV16E7:11-19	6.5	10.9	1.9	10.6	7.8
	HPV16E7:82-90	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
	SH3GLB1:244-252	1.3	6.1	0.9	1.1	1.4
[0345]	CAMKK1:388-396	0.9	1.0	0.9	0.9	0.9
	USP47:691-699	1.0	0.9	0.9	1.0	0.9
	CHPF:463:471	1.1	5.2	0.9	1.0	0.9
	PKD1:2694-2702	0.8	0.9	1.0	1.0	0.9
	NBR1:357-365	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
	CBL:83-91	1.3	7.2	0.9	1.1	0.9
	PPP4R4:20-28	0.9	0.9	1.0	1.0	0.9
	SBK3:285-293	1.0	0.9	1.0	1.0	0.9

[0346] 实施例10:Fab与HLA-A2+HPV16E7:11-19肽的结合的结构分析

[0347] 在更好地理解抗体与HLA-肽复合物之间的特定相互作用的努力中,测定结合展示HPV16E7:11-19肽的HLA-A2/b2m的抗体Fab片段的X射线晶体结构。一个结构包含17670P Fab,另一个结构包含17363N Fab;这两个结构在一起覆盖了上文呈现的6种抗体的序列空间(例如表11和表12)。该HLA展示的HPV16E7:11-19肽的所有9个残基在17670P和17363N结

构两者的电子密度图中清晰可见。即使在 $2.9 \text{ \AA}$ 下 (17670P结构的分辨率), 肽残基的位置和身份是毫无疑问的, 并且残基-残基相互作用可以被准确地确定。17363P结构为 $2.6 \text{ \AA}$, 允许改善的准确度。

[0348] 17670P和17363N Fab以与TCR结合的方式非常相似的方式结合HLA-肽复合物的顶部。该等Fab彼此几乎相同地定位和取向; 两者都与接近肽结合槽的“轨道”相当平行地对齐, 并且都以结合的肽为中心, 重链CDR接触结合的肽的N端半部, 且轻链CDR接触肽的C端半部。其他已公布的抗体复合物结构 (例如, PDB代码1W72和4WUU) 揭示该抗体不必覆盖整个HLA展示的肽。然而, 这些仅具有部分肽覆盖的抗体具有较差的特异性, 容忍在未接触的肽的部分中的广泛变化, 而结合亲和力损失很少。

[0349] 该等结构显示, 17670P和17363N Fab重链接触HPV16E7肽中的残基11, 14, 15, 而Fab轻链接触残基15, 17, 18。没有Fab接触是与残基12, 13, 16, 或19的侧链进行, 因为它们指向HLA分子。结合的肽是根据原始HPV16 E7蛋白中的残基位置进行编号, 如下:

[0350] Y M L D L Q P E T (SEQ ID NO: 358)

[0351] 11 12 13 14 15 16 17 18 19

[0352] 大多数Fab接触是通过与肽侧链而不是骨架来进行。

[0353] 通过17670P进行的肽接触几乎排他地集中在CDR LCDR1和HCDR3中, 特别是HCDR3。特别是, SEQ ID NO: 34的Fab重链残基100, 101, 102, 105, 109, 110和SEQ ID NO: 42的轻链残基30, 31, 32, 50接触结合的肽, 而SEQ ID NO: 34的Fab重链残基28, 31, 32, 100, 102, 104, 109, 110, 113和SEQ ID NO: 42的轻链残基31, 50, 52, 53, 54, 55, 92接触HLA。本文的“接触”可以涉及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。对于17363N, SEQ ID NO: 506的Fab重链残基102, 103, 108, 111, 112和SEQ ID NO: 514的轻链残基28, 30, 32, 50, 68接触结合的肽, 而SEQ ID NO: 506的Fab重链残基28, 32, 100, 102, 103, 107, 112和SEQ ID NO: 514的轻链残基31, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 92接触HLA分子。

[0354] 在这6个抗HLA-A2:HPV16E7:11-19抗体中, 17675P是与17670P在决定肽结合的CDR序列方面最为相似, 21064P和17930N2也共享高度的肽结合CDR区相似性。17670P与HLA-肽复合物之间的关键接触在17675P, 21064P和17930N2中主要是保守的, 因此这些抗体的结合方式可能与17670P相同。

[0355] 相比之下, 17363N的CDR H3具有与来自17670P的CDR H3相比非常不同的序列, 并且该序列差异转化为CDR H3的结构差异, 从而改变了在该区域中与HLA-肽复合物的接触。例如, 17670P中的重链Tyr 100与结合的肽的Tyr 11接触。17363N中的等效残基为Tyr 102 (该抗体的CDR H3是两个残基更长), 并且该残基不接触肽Tyr 11。相反, Tyr 102已重新定向以与附近的HLA分子接触。

[0356] 前导抗体17364N具有与17363N非常相似的序列, 并且在与HLA-肽复合物接触的所有残基方面相同。该抗体应具有与17363N非常相似的结合模式, 因此不同于17670P, 17675P, 17930N2和21064P。

[0357] 本发明的范围不受本文描述的具体实施方式的限制。实际上, 除了本文描述的那些之外, 根据前述描述和附图, 本发明的各种修改对于本领域技术人员将变得显而易见。这样的修改旨在落入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> 抗人乳头瘤病毒（HPV）抗原结合蛋白及其使用方法
	<130> 118003-28920 / 10355W001
	<140>
	<141>
	<150> 62/525,937
	<151> 2017-06-28
	<160> 593
	<170> FastSEQ for Windows Version 4.0
	<210> 1
	<211> 381
	<212> DNA
[0001]	<213> Artificial Sequence
	<220>
	<223> 合成的
	<400> 1
	gaggtgcagt tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
	tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agttatgcc a tgacctgggt ccgccaggct 120
	ccagggaagg gactggagtg ggtctcagtt attagtggta gtggtagtga aacatactac 180
	gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaaaaa cacgctgtat 240
	ctgcaaatga acagcctgag agccgaagac acggccgtat attactgtgt gaaagattct 300
	tcgtatagga gctcgtcgag ggcctactac tactacggaa tggacgtctg gggcctaggg 360
	accacggtca ccgtctcctc a 381
	<210> 2
	<211> 127
	<212> PRT
	<213> Artificial Sequence
	<220>
	<223> 合成的

<400> 2
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Lys Asp Ser Ser Tyr Arg Ser Ser Ser Arg Ala Tyr Tyr Tyr Tyr
 100 105 110
 Gly Met Asp Val Trp Gly Leu Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 3
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

[0002]

<220>
 <223> 合成的

<400> 3
 ggattcacct ttagcagtta tgcc

24

<210> 4
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

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

<210> 5
 <211> 24
 <212> DNA

[0003]

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 5

attagtggta gtggtagtga aaca

24

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 6

Ile Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr

1

5

<210> 7

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 7

gtgaaagatt cttcgtatag gagctcgtcg agggcctact actactacgg aatggacgtc 60

<210> 8

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 8

Val Lys Asp Ser Ser Tyr Arg Ser Ser Ser Arg Ala Tyr Tyr Tyr Tyr

1

5

10

15

Gly Met Asp Val

20

<210> 9
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 9
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca acagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gtttccattt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagctc tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttactc ctgtcaacag acttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 10
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

[0004] <220>
 <223> 合成的

<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 Val Ser Ile 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 Ser 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> 11
 <211> 18
 <212> DNA

	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 11	
	cagagcatta gcagctat	18
	<210> 12	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 12	
	Gln Ser Ile Ser Ser Tyr	
	1 5	
[0005]	<210> 13	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 13	
	gctgtttcc	9
	<210> 14	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 14	
	Ala Val Ser	
	1	
	<210> 15	

<211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 15
 caacagactt acagtacccc tccgatcacc 30

<210> 16
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 16
 Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
 1 5 10

[0006]

<210> 17
 <211> 381
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 17
 gaggtgcagc tattggagtc aggggggagc ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc 60
 tctgtgcag cctctggatt cacccttagt ggctatgccg tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact attagtggaa gtggtactat cacacattac 180
 gtagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga gcagcctgag agccgaggac acggccatat attactgtgc gagagaccgc 300
 tattacgatg ttttgactgg ttattataag gaggactact ttgactactg gggccaggga 360
 accctgggtca ccgtctcctc a 381

<210> 18
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 18

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

[0007]

<210> 19

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 19

ggattcacct ttagtggcta tgcc

24

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 20

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Ala

1

5

	<210> 21	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 21	
	attagtggaa gtggtactat caca	24
	<210> 22	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 22	
	Ile Ser Gly Ser Gly Thr Ile Thr	
[0008]	1 5	
	<210> 23	
	<211> 60	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 23	
	gcgagagacc cgtattacga tgttttgact ggttattata aggaggacta ctttgactac 60	
	<210> 24	
	<211> 20	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 24	
	Ala Arg Asp Pro Tyr Tyr Asp Val Leu Thr Gly Tyr Tyr Lys Glu Asp	

1	5	10	15
Tyr Phe Asp Tyr			
20			

<210> 25

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 25

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattage aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcattcagct tgcaaactgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa                                     324

```

<210> 26

[0009] <211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 26

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn 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 Phe Ser Leu Gln Thr 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> 27	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 27	
	cagagcatta gcaactat	18
	<210> 28	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 28	
	Gln Ser Ile Ser Asn Tyr	
[0010]	1 5	
	<210> 29	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 29	
	gctgcattc	9
	<210> 30	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 30	
	Ala Ala Phe	

	1	
	<210> 31	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 31	
	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
	<210> 32	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
[0011]	<400> 32	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	
	<210> 33	
	<211> 375	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 33	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagat ttggtccagc ctgggacgtc cctgagactc 60	
	tcctgtgaag cctctggatt caccttaagt ttctacgcta tgtactgggt ccgccaggct 120	
	cctgggaagg aactggaact tgtttcaggt attagtggta atggggaaag catgttttat 180	
	ggaaactctg tgaagggcag attctccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240	
	cttcaaatgg gcagtgtgag agctgaggac atggctgtgt attactgtgc gagagcctac 300	
	gctagtggaa actcctactt cttttactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360	
	gtcaccgtct cctca	375
	<210> 34	
	<211> 125	

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 34

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Thr

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Phe Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Asn Gly Glu Ser Met Phe Tyr Gly Asn Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Gly Ser Val Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ala Tyr Ala Ser Gly Asn Ser Tyr Phe Phe Tyr Tyr Gly Met

100 105 110

[0012]

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 35

ggattcacct taagtttcta cgct

24

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 36

Gly Phe Thr Leu Ser Phe Tyr Ala
1 5

<210> 37

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 37

attagtggta atggggaaag catg

24

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

[0013]

<400> 38

Ile Ser Gly Asn Gly Glu Ser Met

1 5

<210> 39

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 39

gcgagagcct acgctagtgg aaactcctac ttcttttact acggtatgga cgtc

54

<210> 40

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 40

Ala Arg Ala Tyr Ala Ser Gly Asn Ser Tyr Phe Phe Tyr Tyr Gly Met

1 5 10 15

Asp Val

<210> 41

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 41

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccaatt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagtg gcccccgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaa 324

[0014]

<210> 42

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 42

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln 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 Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Gly Pro Pro
 85 90 95

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

<210> 43

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 43

cagagcatta gcagctat

18

<210> 44

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

[0015]

<400> 44

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1

5

<210> 45

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 45

gctgcatcc

9

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

	<400> 46	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 47	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 47	
	caacagagtt acagtggccc cccgaccacc	30
	<210> 48	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
[0016]	<223> 合成的	
	<400> 48	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Gly Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	
	<210> 49	
	<211> 375	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 49	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggcgct cctgagactc 60	
	tcctgtgaag cctctggatt caccttaagt ttctattcta tgcactgggt ccgccaggct 120	
	ccaggaggag aattggaata tgtttcaggt attagtggta atggaaataa catatattat 180	
	agagactctg taaagggcag attcaccatt tctagagaca attccaagaa cacgctgaat 240	
	cttcaaatgg gcagtgtgag agctgaggat atgggtgttt attactgtgc gagatectac 300	
	tctagtggga attcctacaa ctactactac ggaatggacg tctggggcca agggaccacg 360	
	gtcaccgtct cctca	375

<210> 50
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 50
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Phe Tyr
 20 25 30
 Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Glu Leu Glu Tyr Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Gly Asn Gly Asn Asn Ile Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asn
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Gly Ser Val Arg Ala Glu Asp Met Gly Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 [0017] Ala Arg Ser Tyr Ser Ser Gly Asn Ser Tyr Asn Tyr Tyr Tyr Gly Met
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 51
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 51
 ggattcacct taagtttcta ttct

24

<210> 52
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 52

Gly Phe Thr Leu Ser Phe Tyr Ser

1 5

<210> 53

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 53

attagtggta atggaaataa cata

24

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

[0018]

<220>

<223> 合成的

<400> 54

Ile Ser Gly Asn Gly Asn Asn Ile

1 5

<210> 55

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 55

gcgagatcct actctagtgg gaattcctac aactactact acggaatgga cgtc

54

<210> 56

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 56

Ala Arg Ser Tyr Ser Ser Gly Asn Ser Tyr Asn Tyr Tyr Tyr Gly Met
 1 5 10 15
 Asp Val

<210> 57

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 57

[0019]

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc 60
 atcactgcc gggcaagtca gaccattagt agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtcct catctatgct gtatccaatt tacaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caaggacac gactggagat taaa 324

<210> 58

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 58

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 Thr 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 Val Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro			
	85	90	95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys			
100	105		

<210> 59
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 59
cagaccatta gtagctat 18

<210> 60
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0020]

<220>
<223> 合成的

<400> 60
Gln Thr Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 61
gctgtatcc 9

<210> 62
<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 62	
	Ala Val Ser	
	1	
	<210> 63	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 63	
	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
	<210> 64	
	<211> 10	
	<212> PRT	
[0021]	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 64	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	
	<210> 65	
	<211> 381	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 65	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttagaacaac cggggggggtc cctgagactc 60	
	tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agttatgccca tgacctgggt ccgccagget 120	
	ccaggaggagg ggctggagtg ggtctcagtt attagtggtc gtggtgatac tacatactac 180	
	gcagactccg tgaagggccg gttcactatc tccagagaca attccaaaaa cacgctatat 240	

```

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagacagt 300
aattatgtta catctcttgg gaattactac tactacggta tagacgtctg gggccaaggg 360
accacgggtca ccgtctcctc a 381

```

<210> 66

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 66

```

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

```

[0022]

<210> 67

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 67

```

ggattcacct ttagcagtta tgcc

```

24

<210> 68

<211> 8

<212> PRT

[0023]

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 68

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 69

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 69

attagtgggc gtggtgatac taca

24

<210> 70

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 70

Ile Ser Gly Arg Gly Asp Thr Thr

1

5

<210> 71

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 71

gcgaaagaca gtaattatgt tacatctctt gggaattact actactacgg tatagacgtc 60

<210> 72

<211> 20
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 72
 Ala Lys Asp Ser Asn Tyr Val Thr Ser Leu Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr
 1 5 10 15
 Gly Ile Asp Val
 20

<210> 73
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

[0024] <400> 73
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa 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> 74
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 74
 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> 75
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 75
 cagagcatta gcagctat 18

[0025]

<210> 76
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 76
 Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 1 5

<210> 77
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 77
 gctgcatcc 9

<210> 78

<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 78
Ala Ala Ser
1

<210> 79
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 79
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

[0026]

<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 80
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 81
<211> 375
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 81
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggcgtc cctgagactc 60

```

tcctgtgaag cctctggatt caccttaagt ttctatgcta tgcactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg aactggaata tgtttcagggt attagtggta atgggaatag catatattat 180
agagactctg taaagggcag attcaccatt tctagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
cttcaaatgg gcagtgtggg agctgaggat atggctgtgt attactgtgc gagatcctac 300
tctagtggga actcctacta ctactactac ggaatggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cctca 375

```

<210> 82

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 82

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ala
1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Phe Tyr
20          25          30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Leu Glu Tyr Val
35          40          45
Ser Gly Ile Ser Gly Asn Gly Asn Ser Ile Tyr Tyr Arg 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 Gly Ser Val Gly Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
85          90          95
Ala Arg Ser Tyr Ser Ser Gly Asn Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
100         105         110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115         120         125

```

[0027]

<210> 83

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 83

```

ggattcacct taagtttcta tgct

```

24

	<210> 84	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 84	
	Gly Phe Thr Leu Ser Phe Tyr Ala	
	1 5	
	<210> 85	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 85	
[0028]	attagtggta atgggaatag cata	24
	<210> 86	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 86	
	Ile Ser Gly Asn Gly Asn Ser Ile	
	1 5	
	<210> 87	
	<211> 54	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 87	

gcgagatcct actctagtgg gaactcctac tactactact acggaatgga cgtc 54

<210> 88

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 88

Ala Arg Ser Tyr Ser Ser Gly Asn Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met

1 5 10 15

Asp Val

<210> 89

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

[0029] <223> 合成的

<400> 89

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagaattacc 60
atcacttgcc gggcaagtca ggcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcatccaatt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 90

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 90

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

1 5 10 15

Asp Arg Ile 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 Asn Leu Leu Ile		
35	40	45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
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> 91

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 91

cagagcatta gcagctat

18

[0030]

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 92

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1

5

<210> 93

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 93

	gctgcatcc	9
	<210> 94	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 94	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 95	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
[0031]	<400> 95	
	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
	<210> 96	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 96	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	
	<210> 97	
	<211> 378	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	

<400> 97

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccagget 120
 ccagggaggg gactggagtg ggtctcagtt attagtggca gtgatggtaa cacaaactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgttt 240
 ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatgcc 300
 cgctacggtg gtaactccca ctactactac tacggtatag acgtctgggg ccaagggacc 360
 acggtcaccg tctcctca 378

<210> 98

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 98

[0032] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Val Ile Ser Gly Ser Asp Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Ala Arg Tyr Gly Gly Asn Ser His Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Ile Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 99

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

	<400> 99 ggattcacct ttagcagcta tgcc	24
	<210> 100 <211> 8 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 100 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala 1 5	
	<210> 101 <211> 24 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
[0033]	<400> 101 attagtggca gtgatggtaa caca	24
	<210> 102 <211> 8 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 102 Ile Ser Gly Ser Asp Gly Asn Thr 1 5	
	<210> 103 <211> 57 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
	<220>	

	<223> 合成的
	<400> 103
	gcgaaagatg cccgctacgg tggtaactcc cactactact actacggtat agacgtc 57
	<210> 104
	<211> 19
	<212> PRT
	<213> Artificial Sequence
	<220>
	<223> 合成的
	<400> 104
	Ala Lys Asp Ala Arg Tyr Gly Gly Asn Ser His Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
	1 5 10 15
	Ile Asp Val
	<210> 105
	<211> 324
	<212> DNA
[0034]	<213> Artificial Sequence
	<220>
	<223> 合成的
	<400> 105
	gacatccaga tgaccagtc tccatctctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
	atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
	gggaaagccc ctaagcacct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
	aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
	caagggacac gactggagat taaa 324
	<210> 106
	<211> 108
	<212> PRT
	<213> Artificial Sequence
	<220>
	<223> 合成的
	<400> 106

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys His 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> 107

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

[0035]

<400> 107

cagagcatta gcagctat

18

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 108

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1

5

<210> 109

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

	<223> 合成的	
	<400> 109	
	gctgcatcc	9
	<210> 110	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 110	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 111	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
[0036]	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 111	
	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
	<210> 112	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 112	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	
	<210> 113	
	<211> 360	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	

<220>

<223> 合成的

<400> 113

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccctcagt gactactaca tgagctggat ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagtagta gtggtattac catatactac 180
 gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagggaca acgccaagaa ctactgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatagg 300
 tatagtagca gctggtactt tgactactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

<210> 114

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 114

[0037] Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ile Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Arg Tyr Ser Ser Ser Trp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 115

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

	<223> 合成的	
	<400> 115 ggattcaccc tcagtgaacta ctac	24
	<210> 116 <211> 8 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 116 Gly Phe Thr Leu Ser Asp Tyr Tyr 1 5	
	<210> 117 <211> 24 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
[0038]	<220> <223> 合成的	
	<400> 117 attagtagta gtggtattac cata	24
	<210> 118 <211> 8 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 118 Ile Ser Ser Ser Gly Ile Thr Ile 1 5	
	<210> 119 <211> 39 <212> DNA <213> Artificial Sequence	

<220>

<223> 合成的

<400> 119

gcgagagata ggtatagtag cagctggtac ttgactac

39

<210> 120

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 120

Ala Arg Asp Arg Tyr Ser Ser Ser Trp Tyr Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 121

<211> 321

<212> DNA

[0039]

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 121

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccgtaac ttttggccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 122

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 122

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 Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 123

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

[0040]

<400> 123

cagagcatta gcagctat

18

<210> 124

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 124

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1

5

<210> 125

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

	<223> 合成的	
	<400> 125	
	gctgcatcc	9
	<210> 126	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 126	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 127	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
[0041]	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 127	
	caacagagtt acagtacccc gtacact	27
	<210> 128	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 128	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr	
	1 5	
	<210> 129	
	<211> 357	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	

<220>

<223> 合成的

<400> 129

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacttttagc agttatggta tgacctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgtta gtggtggtac cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa aatgctgaat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccatat attactgtgc gaaagatgag 300
 ggctggaacg actactttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctca 357

<210> 130

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 130

[0042] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Val Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Lys Met Leu Asn
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Glu Gly Trp Asn Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 131

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

	<223> 合成的	
	<400> 131	
	ggattcactt ttagcagtta tgg	24
	<210> 132	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 132	
	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly	
	1 5	
	<210> 133	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
[0043]	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 133	
	attagtgtta gtggtgttac caca	24
	<210> 134	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 134	
	Ile Ser Val Ser Gly Gly Thr Thr	
	1 5	
	<210> 135	
	<211> 36	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	

	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 135	
	gcgaaagatg agggctggaa cgactacttt gactac	36
	<210> 136	
	<211> 12	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 136	
	Ala Lys Asp Glu Gly Trp Asn Asp Tyr Phe Asp Tyr	
	1 5 10	
	<210> 137	
	<211> 324	
	<212> DNA	
[0044]	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 137	
	gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60	
	atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa 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> 138	
	<211> 108	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 138	

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> 139

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

[0045]

<400> 139

cagagcatta gcagctat

18

<210> 140

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 140

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1

5

<210> 141

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

	<223> 合成的	
	<400> 141	
	gctgcatcc	9
	<210> 142	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 142	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 143	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
[0046]	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 143	
	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
	<210> 144	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 144	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	
	<210> 145	
	<211> 378	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	

<220>

<223> 合成的

<400> 145

```

caggtacagc tgcagcagtc aggtccagga ctggtgaagc cctcgcagac cctctcaetc 60
acctgtgccca tctccgggga cagtgtctct agcaacagtg ctgcttggaa ctggatcagg 120
cagtcccat cgagaggcct tgagtggctg ggaaggacat actacaggtc caagtggat 180
attgattatg cactatctgt gaaaagtcga ataaccatca acccagacac atccaagaac 240
cagttctccc tgcagctgaa ctctgtgact cccgaggaca cggctgtgta ttactgtgca 300
ggaggtatag agtattactg gaactacctt gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca 360
atggtcaccg tctcttca 378

```

<210> 146

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 146

[0047]

```

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

```

<210> 147

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 147		
	ggggacagtg tctctagcaa cagtgtgct	30	
	<210> 148		
	<211> 10		
	<212> PRT		
	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 148		
	Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala		
	1 5 10		
	<210> 149		
	<211> 27		
	<212> DNA		
[0048]	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 149		
	acatactaca ggtccaagtg gtatatt	27	
	<210> 150		
	<211> 9		
	<212> PRT		
	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 150		
	Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Ile		
	1 5		
	<210> 151		
	<211> 48		

[0049]

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 151
gcaggaggta tagagtatta ctggaactac cttgatgctt ttgatata 48

<210> 152
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 152
Ala Gly Gly Ile Glu Tyr Tyr Trp Asn Tyr Leu Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 153
<211> 321
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 153
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gaggcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggtac tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagatttta caatttacta ctgtcaacag agttacagta ccccgatcac cttcgcccaa 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 154
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 154
 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 Thr Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ile
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 155
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

[0050] <220>
 <223> 合成的

<400> 155
 cagagcatta gcagctat 18

<210> 156
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 156
 Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 1 5

<210> 157
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

	<220> <223> 合成的	
	<400> 157 gctgcatcc	9
	<210> 158 <211> 3 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 158 Ala Ala Ser 1	
	<210> 159 <211> 27 <212> DNA [0051] <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 159 caacagagtt acagtacccc gatcacc	27
	<210> 160 <211> 9 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 160 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ile Thr 1 5	
	<210> 161 <211> 348	

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 161

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaaga cttctgggta caccttaacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg agcagcggtc acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagc tccagggcag agtcacatg accgcagaca catccacgag cacagcctac 240
atggacctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gactttaact 300
ggaacctttg actactgggg ccaggggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

```

<210> 162

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

[0052]

<400> 162

```

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

```

<210> 163

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 163	
	ggttacacct taaccagcta tggt	24
	<210> 164	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 164	
	Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr Gly	
	1 5	
	<210> 165	
	<211> 24	
	<212> DNA	
[0053]	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 165	
	agcagcggtc acaatggtaa caca	24
	<210> 166	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 166	
	Ser Ser Gly His Asn Gly Asn Thr	
	1 5	
	<210> 167	
	<211> 27	

	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 167	
	gcgactttaa ctggaacctt tgactac	27
	<210> 168	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 168	
	Ala Thr Leu Thr Gly Thr Phe Asp Tyr	
	1 5	
[0054]	<210> 169	
	<211> 324	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 169	
	gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60	
	ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc atcaacctag cctggtagca gcagcaccct 120	
	ggccaggetc ccaggtcct catctatgtt gcaaccacca gggccactgg tatccagcc 180	
	aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240	
	gaagattttg cagtttatta ctgtcaacag tataataact ggcctgcgct cactttcggc 300	
	ggagggacca aggtggagat caaa 324	
	<210> 170	
	<211> 108	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	

<400> 170

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

1

5

10

15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ile Asn

20

25

30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35

40

45

Tyr Gly Ala Thr Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Ala

85

90

95

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

100

105

<210> 171

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

[0055]

<220>

<223> 合成的

<400> 171

cagagtgtta gcatcaac

18

<210> 172

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 172

Gln Ser Val Ser Ile Asn

1

5

<210> 173

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 173	
	ggtgcaacc	9
	<210> 174	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 174	
	Gly Ala Thr	
	1	
	<210> 175	
	<211> 30	
	<212> DNA	
[0056]	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 175	
	caacagtata ataactggcc tgcgctcact	30
	<210> 176	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 176	
	Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Ala Leu Thr	
	1 5 10	
	<210> 177	
	<211> 357	

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 177

```
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gactactaca tgagctggat ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatac atttgagta ctggtactac catatactac 180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagggaca acgccaagca ctcaacttat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagagggg 300
ataactggaa ctctctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctccctca 357
```

<210> 178

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

[0057]

<400> 178

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

<210> 179

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 179	
	ggattcacct tcagtgacta ctac	24
	<210> 180	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 180	
	Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr	
	1 5	
	<210> 181	
	<211> 24	
	<212> DNA	
[0058]	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 181	
	atttgagta ctggtactac cata	24
	<210> 182	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 182	
	Ile Trp Ser Thr Gly Thr Thr Ile	
	1 5	
	<210> 183	
	<211> 36	

	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 183	
	gcgagagagg ggataactgg aactctcttt gactac	36
	<210> 184	
	<211> 12	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 184	
	Ala Arg Glu Gly Ile Thr Gly Thr Leu Phe Asp Tyr	
	1 5 10	
[0059]	<210> 185	
	<211> 321	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 185	
	gacatccaga tgaccagtc tccatctctc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60	
	atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggatatca gcagaaacca 120	
	gggaaagccc ctaagcgct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180	
	aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240	
	gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtacac ttttggccag 300	
	gggaccaagc tggagatcaa a 321	
	<210> 186	
	<211> 107	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	

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

<210> 187
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

[0060] <220>
 <223> 合成的

<400> 187
 cagggcatta gaaatgat 18

<210> 188
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

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

<210> 189
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 189		
	gctgcatcc	9	
	<210> 190		
	<211> 3		
	<212> PRT		
	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 190		
	Ala Ala Ser		
	1		
	<210> 191		
	<211> 27		
	<212> DNA		
[0061]	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 191		
	ctacagcata atagttaccc gtacact	27	
	<210> 192		
	<211> 9		
	<212> PRT		
	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 192		
	Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr		
	1 5		
	<210> 193		
	<211> 375		

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 193

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt tactatgctt tgcactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg gactggaata tgtttcagct attagtggta atgggggtag cacatattat 180
gcagactctg tgaagggcag attcaccatc tccagagaca aatccatgag cacggtgtat 240
cttcaagtgg gcagcctgag ggctgaggac atggctgttt attactgtgc gagatectat 300
gccagttcgt ccgattacca ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cctca                                     375

```

<210> 194

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

[0062]

<400> 194

```

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

```

<210> 195

<211> 24

<212> DNA

	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 195	
	ctggattcac cttcagttac tatg	24
	<210> 196	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 196	
	Leu Asp Ser Pro Ser Val Thr Met	
	1 5	
[0063]	<210> 197	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 197	
	agctattagt ggtaatgggg gtag	24
	<210> 198	
	<211> 5	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 198	
	Ser Tyr Trp Trp Gly	
	1 5	
	<210> 199	

<211> 50
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 199
 attactgtgc gagatcctat gccagttcgt ccgattacca ctactactac 50

<210> 200
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 200
 Ile Thr Val Arg Asp Pro Met Pro Val Arg Pro Ile Thr Thr Thr Thr
 1 5 10 15
 Thr

[0064]

<210> 201
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 201
 gacatccaga tgaccacgac tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtcctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgta 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccacagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caaggacac gactggagat taaa 324

<210> 202
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 202

```

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> 203

<211> 18

[0065]

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 203

cagagcatta gcagctat

18

<210> 204

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 204

```

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 1             5

```

<210> 205

	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 205	
	gctgcatcc	9
	<210> 206	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 206	
	Ala Ala Ser	
	1	
[0066]	<210> 207	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 207	
	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
	<210> 208	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 208	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	

<210> 209
 <211> 375
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 209
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt tactatgctt tgcactgggt cggccaggct 120
 ccagggaagg gactggaata tgtttcagct attagtggta atgggggtag cacatattat 180
 gcagactctg tgaagggcag attcaccatc tccagagaca aatccatgag cacggtgtat 240
 cttcaagtgg gcagcctgag ggctgaggac atggctgttt attactgtgc gagatcctat 300
 gccagtctgt cggattacca ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cctca 375

<210> 210
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

[0067]

<220>
 <223> 合成的

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

	<210> 211	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 211	
	ggattcacct tcagttacta tgct	24
	<210> 212	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 212	
	Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr Ala	
[0068]	1 5	
	<210> 213	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 213	
	attagtggta atgggggtag caca	24
	<210> 214	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 214	
	Ile Ser Gly Asn Gly Gly Ser Thr	

	1	5	
	<210> 215 <211> 54 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 215 gcgagatcct atgccagttc gtccgattac cactactact acggtatgga cgtc 54 <210> 216 <211> 18 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 216 Ala Arg Ser Tyr Ala Ser Ser Ser Asp Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Met 1 5 10 15 Asp Val <210> 217 <211> 357 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 217 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc acttatgcca tgagttgggt ccgccaggct 120 ccagggatgg ggctggagtg ggtctcaact attagtgggt ttggtgggtac cacatactac 180 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa ctgctgttat 240 ctgcaaatga acagcctgag agccgaagac acggccgtat attactgtac gaaagatgag 300 aactgggaat cccactttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctccctca 357 <210> 218		

<211> 119
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 218
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Met Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Thr Ile Ser Gly Phe Gly Gly Thr Thr 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 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Lys Asp Glu Asn Trp Glu Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

[0070]

<210> 219
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 219
 ggattcacct ttagcactta tgcc

24

<210> 220
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

	<400> 220 Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala 1 5	
	<210> 221 <211> 24 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 221 attagtgggtt ttggtggtac caca	24
	<210> 222 <211> 8 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
[0071]	<400> 222 Ile Ser Gly Phe Gly Gly Thr Thr 1 5	
	<210> 223 <211> 36 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 223 acgaaagatg agaactggga atcccacttt gactac	36
	<210> 224 <211> 12 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220>	

<223> 合成的

<400> 224

Thr Lys Asp Glu Asn Trp Glu Ser His Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 225

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 225

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gaccattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct acatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caaggacac gactggagat taaa 324

[0072]

<210> 226

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 226

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr 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 Thr 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> 227 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 227 cagaccatta gcagctat	18
	<210> 228 <211> 6 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的	
[0073]	<400> 228 Gln Thr Ile Ser Ser Tyr 1 5 <210> 229 <211> 9 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 229 gctacatcc	9
	<210> 230 <211> 3 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的	

[0074]	<400> 230	
	Ala Thr Ser	
	1	
	<210> 231	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 231	
	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
[0074]	<210> 232	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 232	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	
	<210> 233	
	<211> 357	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
[0074]	<400> 233	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60	
	tcctgtgcag cctctggatt cacccttaac acctatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120	
	ccaggaagg ggcctggagtg ggtctcagaa attagtgggt atggtgggtac cacatactac 180	
	gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240	
	ttgcaaatga acagcctgag agccgaagac acggccgtat attactgtgc gaaagacgaa 300	
	aactggaact cacacttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctca 357	
	<210> 234	

<211> 119
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 234
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Glu Ile Ser Gly Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Glu Asn Trp Asn Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

[0075]

<210> 235
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 235
 ggattcacct ttaacaccta tgcc

24

<210> 236
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

	<400> 236 Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala 1 5	
	<210> 237 <211> 24 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 237 attagtgggtt atggtggtac caca	24
	<210> 238 <211> 8 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
[0076]	<400> 238 Ile Ser Gly Tyr Gly Gly Thr Thr 1 5	
	<210> 239 <211> 36 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 239 gcgaaagacg aaaactggaa ctcacacttt gactac	36
	<210> 240 <211> 12 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220>	

<223> 合成的

<400> 240

Ala Lys Asp Glu Asn Trp Asn Ser His Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 241

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 241

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaacga 327

[0077]

<210> 242

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 242

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

	100	105
	<210> 243 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 243 cagagcatta gcagctat	18
	<210> 244 <211> 6 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的	
[0078]	<400> 244 Gln Ser Ile Ser Ser Tyr 1 5 <210> 245 <211> 9 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 245 gctgcatcc	9
	<210> 246 <211> 3 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的	

	<400> 246	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 247	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 247	
	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
	<210> 248	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
[0079]	<400> 248	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	
	<210> 249	
	<211> 360	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 249	
	caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60	
	tcctgtgcag cctctggatt cacccttcagt gacaactaca tgagctggat ccgccaggct 120	
	ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatat attagtagta gtggtagtat catatactac 180	
	gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagggaca acgccaagaa ctactgtat 240	
	ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccatat attactgtgc gagaggcgga 300	
	tggggatggg actggtactt cgatctctgg ggccgtggca ccctggtcac tgtctcctca 360	
	<210> 250	

<211> 120
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 250
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Asn
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Trp Gly Trp Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

[0080]

<210> 251
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 251
 ggattcacct tcagtgacaa ctac

24

<210> 252
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

	<400> 252 Gly Phe Thr Phe Ser Asp Asn Tyr 1 5	
	<210> 253 <211> 24 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 253 attagtagta gtggtagtat cata	24
	<210> 254 <211> 8 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
[0081]	<400> 254 Ile Ser Ser Ser Gly Ser Ile Ile 1 5	
	<210> 255 <211> 39 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 255 gcgagaggcg gatggggatg ggactggtac ttcgatctc	39
	<210> 256 <211> 13 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220>	

<223> 合成的

<400> 256

Ala Arg Gly Gly Trp Gly Trp Asp Trp Tyr Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 257

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 257

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacca agctggagat caaa 324

[0082]

<210> 258

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 258

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 Lys Leu Glu Ile Lys

	100	105
	<210> 259 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 259 cagagcatta gcagctat	18
	<210> 260 <211> 6 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的	
[0083]	<400> 260 Gln Ser Ile Ser Ser Tyr 1 5 <210> 261 <211> 9 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 261 gctgcatcc	9
	<210> 262 <211> 3 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的	

	<400> 262	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 263	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 263	
	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
	<210> 264	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
[0084]	<223> 合成的	
	<400> 264	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	
	<210> 265	
	<211> 372	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 265	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaaat gtggtacggc ctgggggggtc cctgagactc 60	
	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatggca tgagctgggt ccgccaagct 120	
	ccagggaagg ggctggagtg ggtctctggt attaattgga atggtgatag cacaaattat 180	
	gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240	
	ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggccttgt atcactgtgc gagagcgggg 300	
	attgtagtag actggaatta cgcgggctgg ttcgaccctt ggggccaggg aaccctggtc 360	
	accgtctcct ca	372

<210> 266
<211> 124
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 266
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asn Val Val Arg 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
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Asn Trp Asn Gly Asp Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr His Cys
85 90 95
Ala Arg Ala Gly Ile Val Val Asp Trp Asn Tyr Ala Gly Trp Phe Asp
100 105 110
Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

[0085]

<210> 267
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 267
ggattcacct ttgatgatta tggc

24

<210> 268
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

	<400> 268 Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Gly 1 5	
	<210> 269 <211> 24 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 269 attaattgga atggtgatag caca	24
	<210> 270 <211> 8 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
[0086]	<220> <223> 合成的	
	<400> 270 Ile Asn Trp Asn Gly Asp Ser Thr 1 5	
	<210> 271 <211> 51 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 271 gcgagagcgg ggattgtagt agactggaat tacgcgggct ggttcgaccc c	51
	<210> 272 <211> 17 <212> PRT <213> Artificial Sequence	

<220>

<223> 合成的

<400> 272

Ala Arg Ala Gly Ile Val Val Asp Trp Asn Tyr Ala Gly Trp Phe Asp
 1 5 10 15
 Pro

<210> 273

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 273

[0087]

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcaggaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caagggacca agctggagat caaa 324

<210> 274

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 274

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Glu 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 Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 275
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 275
 cagagcatta gcagctat 18

<210> 276
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

[0088] <220>
 <223> 合成的

<400> 276
 Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 1 5

<210> 277
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 277
 gctgcatcc 9

<210> 278
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 278	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 279	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 279	
	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
	<210> 280	
	<211> 10	
	<212> PRT	
[0089]	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 280	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	
	<210> 281	
	<211> 375	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 281	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggc cctgagactc 60	
	tcctgtgcag cctctggatt caccttcact ttctatgcta tgcactgggt ccgccaggct 120	
	ccaggaagg gactggaata tgtttcaggt attagcagta atgggggaag cacaaaatat 180	
	gcagactctg tgaagggcag attcaccatt tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240	
	cttcaaattg gcagcctgag agctgaggac ttggctgtgt attactgtgc gagatcgtat 300	

gccagctcgt cggattacca ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cctca 375

<210> 282

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 282

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

[0090]

<210> 283

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 283

ggattcacct tcactttcta tgct 24

<210> 284

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 284	
	Gly Phe Thr Phe Thr Phe Tyr Ala	
	1 5	
	<210> 285	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 285	
	attagcagta atgggggaag caca	24
	<210> 286	
	<211> 8	
	<212> PRT	
[0091]	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 286	
	Ile Ser Ser Asn Gly Gly Ser Thr	
	1 5	
	<210> 287	
	<211> 54	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 287	
	gcgagatcgt atgccagctc gtcgattac cactactact acggtatgga cgtc	54
	<210> 288	
	<211> 18	

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 288

Ala Arg Ser Tyr Ala Ser Ser Ser Asp Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Met

1 5 10 15

Asp Val

<210> 289

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 289

[0092]

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 cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 290

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 290

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile 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> 291
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 291
cagagcatta gcagctat 18

<210> 292
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 292
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 293
<211> 9
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 293
gctgcatcc 9

<210> 294
<211> 3

[0093]

	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 294	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 295	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 295	
	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
[0094]	<210> 296	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 296	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	
	<210> 297	
	<211> 357	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 297	
	gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60	
	tcctgtgcag cctctggact cacctttgat gattatgtca tgcactgggt ccgccaagct 120	

ccaggggaagg gtctggagtg ggtctctctt ataagtggga atggaggtaa cacagactat 180
 gtagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acagcaaaaa ctccctgtat 240
 ctgcaaatga acagtctgag aactgaggac accgccttgt attactgtgc aaaagatata 300
 ggctgggctg atgcttttga tatctggggc caagggacaa tggtcaccgt ctcttca 357

<210> 298

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 298

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 Leu Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Leu Ile Ser Gly Asn Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Val 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 Ile Gly Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115

[0095]

<210> 299

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 299

ggactcacct ttgatgatta tgtc

24

<210> 300

<211> 8

	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 300	
	Gly Leu Thr Phe Asp Asp Tyr Val	
	1 5	
	<210> 301	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 301	
	ataagtggga atggaggtaa caca	24
[0096]	<210> 302	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 302	
	Ile Ser Gly Asn Gly Gly Asn Thr	
	1 5	
	<210> 303	
	<211> 36	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 303	
	gcaaaaagata tcggctgggc tgatgctttt gatatac	36

<210> 304
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 304
 Ala Lys Asp Ile Gly Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 305
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 305
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gacggttagc ccctatttaa attggtatca gcagaaccca 120
 gggaaagccc ctaagttcct gatctttgct gcatccaatt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagctc tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacacca ccccgtagac ttttgccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 306
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 306
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Pro Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
 35 40 45
 Phe Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[0097]

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 Thr Thr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 307

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 307

cagagcgtta gcccttat

18

<210> 308

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 308

Gln Ser Val Ser Pro Tyr

1

5

<210> 309

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 309

gctgcatcc

9

<210> 310

<211> 3

[0098]

	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 310	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 311	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 311	
	caacagagtt acaccacccc gtacact	27
[0099]	<210> 312	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 312	
	Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr	
	1 5	
	<210> 313	
	<211> 360	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 313	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60	
	tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120	

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagtt attagtggta atggtggtaa cacaaactat 180
 gtagactccg tggagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa ctccctgtat 240
 ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaaggtatt 300
 agtggctggg ctgatgcttt tgatatctgg ggccaaggga caatggtcac cgtctcttca 360

<210> 314

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 314

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

[0100]

<210> 315

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 315

ggattcacct ttagtaacta tggc

24

<210> 316

<211> 8

	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 316	
	Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly	
	1 5	
	<210> 317	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 317	
	attagtggta atggtggtaa caca	24
[0101]	<210> 318	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 318	
	Ile Ser Gly Asn Gly Gly Asn Thr	
	1 5	
	<210> 319	
	<211> 39	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 319	
	gcgaaaggta ttagtggtg ggctgatgct tttgatatc	39

<210> 320
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 320
 Ala Lys Gly Ile Ser Gly Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 321
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 321
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gacggttagc ccctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaattcct gatctttgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccgtagac ttttgccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 322
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 322
 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 Val Ser Pro Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
 35 40 45
 Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[0102]

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 Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 323
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 323
cagagcgtta gcccttat 18

<210> 324
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

[0103]

<220>
<223> 合成的

<400> 324
Gln Ser Val Ser Pro Tyr
1 5

<210> 325
<211> 9
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 325
gctgcatcc 9

<210> 326
<211> 3

	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 326	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 327	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 327	
	caacagagtt acagtacccc gtacact	27
[0104]	<210> 328	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 328	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr	
	1 5	
	<210> 329	
	<211> 363	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 329	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctggggggtc ccttagactc 60	
	tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggct 120	

ccagggaagg ggctggaatg ggttgccgt attaaaacca gagctgatgg tgggacaaca 180
 gactacgtg caccgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240
 ctgtatctgc aactgaacag cctgaaaacc gaggacacag cegtgtatta ctgtacctct 300
 cataactgga actacgaaga ctttgactac tggggccagg gaaccctggt cactgtctcc 360
 tca 363

<210> 330

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 330

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

[0105]

<210> 331

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 331

ggattcactt tcagtaacgc ctgg

24

<210> 332

	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 332	
	Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp	
	1 5	
	<210> 333	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 333	
	attaaaacca gagctgatgg tgggacaaca	30
[0106]	<210> 334	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 334	
	Ile Lys Thr Arg Ala Asp Gly Gly Thr Thr	
	1 5 10	
	<210> 335	
	<211> 36	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 335	
	acctctcata actggaacta cgaagacttt gactac	36

<210> 336
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 336
 Thr Ser His Asn Trp Asn Tyr Glu Asp Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 337
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

[0107] <400> 337
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagagtttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta tcccgtacac ttttggccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 338
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 338
 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 Asn 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 Glu Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 339
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 339
 gcaagtcaga gcattagcaa ctat 24

[0108]

<210> 340
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 340
 Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr
 1 5

<210> 341
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 341
 gctgcatcca gtttgcaaag tggggtccca 30

<210> 342

<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 342
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro
1 5 10

<210> 343
<211> 12
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 343
atcccgtaga ct 12

[0109]

<210> 344
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 344
Ile Pro Tyr Thr
1

<210> 345
<211> 369
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 345
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

```

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcc ttagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggtctgagtg ggtctcaggt attagtggta gtggtggtac aacatacgac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatgc acagtctgag agccgaggac acggccgcat attactgtgc gaaagactgg 300
aactacgggc cctattacta cttcggtatg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
gtctcctca 369

```

<210> 346

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 346

[0110]

```

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

```

<210> 347

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 347

ggattcacct ttagcagcta tgcc

24

	<210> 348	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 348	
	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala	
	1 5	
	<210> 349	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 349	
[0111]	attagtggta gtggtgtac aaca	24
	<210> 350	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 350	
	Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr	
	1 5	
	<210> 351	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 351	

gcgaaagact ggaactacgg gccctattac tacttcggtg taggacgtc

48

<210> 352

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 352

Ala Lys Asp Trp Asn Tyr Gly Pro Tyr Tyr Tyr Phe Gly Met Asp Val

1

5

10

15

<210> 353

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

[0112]

<400> 353

gatatgtgga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtc gagcctcctg catagtaatg aatacaacta ttgggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac attgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300
ccgacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaa 336

<210> 354

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 354

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 Glu Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

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

<210> 355

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 355

cagagcctcc tgcataagtaa tgaatacaac tat

33

[0113]

<210> 356

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 356

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Glu Tyr Asn Tyr

1

5

10

<210> 357

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 357

ttgggttct

9

	<210> 358 <211> 3 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 358 Leu Gly Ser 1 <210> 359 <211> 27 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 359 atgcaagctc tacaaactcc tccgacg	27
[0114]	<210> 360 <211> 9 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 360 Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Pro Thr 1 5 <210> 361 <211> 366 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 361	

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggcagg ggctggaatg ggtctcagct attagtggta gcggtgatgg cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca tttccaagaa cacgtgtat 240
ctgcaaataa acagcctgaa aaccgaggac acggccgtat attactgtgc gagagatgcc 300
tataactgga actactactg gtatttcgat ctctggggcc gtggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctca

```

<210> 362

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 362

[0115]

```

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

```

<210> 363

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 363

```

ggattcacct ttagcageta tgcc

```

24

	<210> 364 <211> 8 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 364 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala 1 5 <210> 365 <211> 24 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的	
[0116]	<400> 365 attagtggta gcggtgatgg caca <210> 366 <211> 8 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 366 Ile Ser Gly Ser Gly Asp Gly Thr 1 5 <210> 367 <211> 45 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的	24

<400> 367
gcgagagatg cctataactg gaactactac tggatatttcg atctc 45

<210> 368
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 368
Ala Arg Asp Ala Tyr Asn Trp Asn Tyr Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10 15

<210> 369
<211> 321
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

[0117]

<400> 369
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccaggaga cagagccacc 60
ctctcctgta gggccagtca gactgttagt agcagcttag ttgtgtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggactgag ttactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag ttttaataatt ggccgatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 370
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 370
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Asp Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

<210> 371

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 371

cagactgtta gtagcagc

18

[0118]

<210> 372

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 372

Gln Thr Val Ser Ser Ser

1

5

<210> 373

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 373

ggtgcatcc

9

	<210> 374 <211> 3 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 374 Gly Ala Ser 1 <210> 375 <211> 27 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的	
[0119]	<400> 375 cagcagttta ataattggcc gatcacc <210> 376 <211> 9 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 376 Gln Gln Phe Asn Asn Trp Pro Ile Thr 1 5 <210> 377 <211> 378 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的	27

<400> 377

```
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc cagggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcaa cgtctggatt cacctttagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
caaggcaagg gactggagtg ggtggcagtt atatggtttg atggaagtga taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaggct 300
attgtggagg tgattactac ccagggtac tacggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360
acggtcaccg tctctca                                     378
```

<210> 378

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 378

[0120]

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

<210> 379

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 379

	ggattcacct ttagtaacta tggc	24
	<210> 380	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 380	
	Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly	
	1 5	
	<210> 381	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
[0121]	<400> 381	
	atatggtttg atggaagtga taaa	24
	<210> 382	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 382	
	Ile Trp Phe Asp Gly Ser Asp Lys	
	1 5	
	<210> 383	
	<211> 57	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	

<400> 383
gcgagagagg ctattgtgga ggtgattact acccagggt actacggtat ggacgtc 57

<210> 384
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 384
Ala Arg Glu Ala Ile Val Glu Val Ile Thr Thr Gln Gly Tyr Tyr Gly
1 5 10 15
Met Asp Val

<210> 385
<211> 339
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

[0122]

<220>
<223> 合成的

<400> 385
gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gactatttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120
tggtaccagc agaaaccagg acagctcct aagctgctca tttactggtc atcttcccg 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcaacaata ttatactact 300
ccgatcacct tcggccaggg gacacgactg gagattaaa 339

<210> 386
<211> 113
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 386
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

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

<210> 387
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

[0123]

<220>
 <223> 合成的

<400> 387
 cagactatattt tatacagctc caacaataag aactac

36

<210> 388
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 388
 Gln Thr Ile Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr
 1 5 10

<210> 389
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

	<220> <223> 合成的	
	<400> 389 tgggtcatct	9
	<210> 390 <211> 3 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 390 Trp Ser Ser 1	
	<210> 391 <211> 27 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
[0124]	<220> <223> 合成的	
	<400> 391 caacaatatt atactactcc gatcacc	27
	<210> 392 <211> 9 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 392 Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Ile Thr 1 5	
	<210> 393 <211> 366 <212> DNA	

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 393

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctccggact catatttagc aactatgtca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt atcagtgggt atggtgataa cacatactac 180
gcagattccg tgaagggccg gttcaccatt tccagagaca attccaagaa cactctgtat 240
ctgcaaatac acagcctgag agccgagggc acggccatat attactgtgc gaaagatcac 300
cataactgga atcccgcccc ttattttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctca
```

<210> 394

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

[0125]

<400> 394

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

<210> 395

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 395	
	ggactcatat ttagcaacta tgtc	24
	<210> 396	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 396	
	Gly Leu Ile Phe Ser Asn Tyr Val	
	1 5	
	<210> 397	
	<211> 24	
	<212> DNA	
[0126]	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 397	
	atcagtgggtg atggtgataa caca	24
	<210> 398	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 398	
	Ile Ser Gly Asp Gly Asp Asn Thr	
	1 5	
	<210> 399	
	<211> 45	

	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 399	
	gcgaaagatc accataactg gaatcccgtc cttattttg actac	45
	<210> 400	
	<211> 15	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 400	
	Ala Lys Asp His His Asn Trp Asn Pro Val Pro Tyr Phe Asp Tyr	
	1 5 10 15	
[0127]	<210> 401	
	<211> 321	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 401	
	gaaattgtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctctagggga aagagacacc 60	
	ctctcctgta gggccagtca gagtgttagc agcaacttag cctggtagca gcagaaacct 120	
	ggccaggetc ccaggtcct catctatggt gtatccacca gggccactgg tatcccagcc 180	
	aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcagtctca ccatcagtag cctgcagtct 240	
	gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggccgctcac tttcggcgga 300	
	gggaccaagg tggagatcaa a 321	
	<210> 402	
	<211> 107	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	

<400> 402

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

<210> 403

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

[0128] <220>

<223> 合成的

<400> 403

cagagtgtta gcagcaac

18

<210> 404

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 404

Gln Ser Val Ser Ser Asn
 1 5

<210> 405

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

	<220> <223> 合成的	
	<400> 405 ggtgtatcc	9
	<210> 406 <211> 3 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 406 Gly Val Ser 1	
	<210> 407 <211> 27 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
[0129]	<220> <223> 合成的	
	<400> 407 cagcagtata ataactggcc gtcact	27
	<210> 408 <211> 9 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 408 Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr 1 5	
	<210> 409 <211> 375	

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 409

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc cggggggggtc ccttagactt 60
tcctgtgcag cctctggatt cactttcact aacgcctgga tgacctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagta aaactgatgg tgggacaaca 180
gactacgcag caccctgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaccacg 240
ctgtatctac aaatgaacag cctgagaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgttcata 300
gatccgttta gcagtgtctg gtacttctac gctttggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cctca                                     375

```

<210> 410

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

[0130]

<400> 410

```

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

```

<210> 411

<211> 24

<212> DNA

	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 411	
	ggattcactt tcactaacgc ctgg	24
	<210> 412	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 412	
	Gly Phe Thr Phe Thr Asn Ala Trp	
	1 5	
[0131]	<210> 413	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 413	
	attaaaagta aaactgatgg tgggacaaca	30
	<210> 414	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 414	
	Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr	
	1 5 10	
	<210> 415	

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 415

tccatagatc cgttttagcag tgtctggtac ttctacgctt tggacgtc

48

<210> 416

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 416

Ser Ile Asp Pro Phe Ser Ser Val Trp Tyr Phe Tyr Ala Leu Asp Val

1

5

10

15

[0132]

<210> 417

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 417

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag catgatagtt tccctccac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa a

321

<210> 418

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 418

```

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

```

<210> 419

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

[0133]

<220>

<223> 合成的

<400> 419

cagggcatta gaaatgat

18

<210> 420

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 420

```

Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 1           5

```

<210> 421

<211> 9

<212> DNA

	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 421	
	gctgcatcc	9
	<210> 422	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 422	
	Ala Ala Ser	
	1	
[0134]	<210> 423	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 423	
	ctacagcatg atagtttccc tcccact	27
	<210> 424	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 424	
	Leu Gln His Asp Ser Phe Pro Pro Thr	
	1 5	
	<210> 425	

<211> 375
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 425
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgaaactc 60
 tcttgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtgtcagtt atattatttg atggaagtga taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatacc 300
 ggcgggcgat ttttggagtg gttatccgat gcttttgata tctggggcca agggacaatg 360
 gtcaccgtct cttca 375

<210> 426
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

[0135] <220>
 <223> 合成的

<400> 426
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Val Ile Leu Phe Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Thr Gly Gly Arg Phe Leu Glu Trp Leu Ser Asp Ala Phe
 100 105 110
 Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 427
 <211> 24

	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 427	
	ggattcacct tcagtaacta tggc	24
	<210> 428	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 428	
	Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly	
	1 5	
[0136]	<210> 429	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 429	
	atattatttg atggaagtga taaa	24
	<210> 430	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 430	
	Ile Leu Phe Asp Gly Ser Asp Lys	
	1 5	

<210> 431
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 431
 gcgagagata cggcgggcg atttttggag tggttatccg atgcttttga tate 54

<210> 432
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 432
 Ala Arg Asp Thr Gly Gly Arg Phe Leu Glu Trp Leu Ser Asp Ala Phe
 1 5 10 15
 Asp Ile

[0137]

<210> 433
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 433
 gccatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctacat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcgagtca ggacattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccaatt tacaaagtgg ggtcccatca 180
 agtttcagcg gcagtggatc tggcacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtctgcaa aattacaatt accgtacac ttttgccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 434
 <211> 107
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 434

```

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

```

[0138] <210> 435

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 435

caggacatta gaaatgat

18

<210> 436

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 436

Gln Asp Ile Arg Asn Asp

1

5

	<210> 437	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 437	
	gctgcatcc	9
	<210> 438	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 438	
	Ala Ala Ser	
[0139]	1	
	<210> 439	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 439	
	ctgcaaaatt acaattaccc gtacact	27
	<210> 440	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 440	
	Leu Gln Asn Tyr Asn Tyr Pro Tyr Thr	

	1	5	
	<210> 441 <211> 381 <212> DNA <213> Artificial Sequence		
	<220> <223> 合成的		
	<400> 441 gaagtcgacg tgggtggagtc tggcggaggc ttggtgcagc ctggcaggtc cctgagactc 60 tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gcttttacca tgcactgggt ccggcacgtt 120 ccaggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtgatag tatagcctat 180 gcggactctg tgaagggccg attcaccatg tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240 ctgcaaatga acagtctgag aggtgaggac acggccttct attactgtgc aaaagatctg 300 acgtatgtct ggaaccggga ctaccactac tatttcggta tggacgtctg gggccaaggg 360 accacggtca cgtctcctc a 381		
	<210> 442 <211> 127 <212> PRT <213> Artificial Sequence		
	<220> <223> 合成的		
	<400> 442 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg 1 5 10 15 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Ala Phe 20 25 30 Thr Met His Trp Val Arg His Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val 35 40 45 Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Asp Ser Ile Ala Tyr Ala Asp Ser Val 50 55 60 Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr 65 70 75 80 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys 85 90 95 Ala Lys Asp Leu Thr Tyr Val Trp Asn Arg Asp Tyr His Tyr Tyr Phe 100 105 110 Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser 115 120 125		

[0140]

	<210> 443	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 443	
	ggattcacct ttgatgcttt tacc	24
	<210> 444	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 444	
	Gly Phe Thr Phe Asp Ala Phe Thr	
[0141]	1 5	
	<210> 445	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 445	
	attagttgga atagtgatag tata	24
	<210> 446	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 446	

Ile Ser Trp Asn Ser Asp Ser Ile
1 5

<210> 447

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 447

gcaaaaagatc tgacgtatgt ctggaaccgg gactaccact actatttcgg tatggacgtc 60

<210> 448

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

[0142]

<400> 448

Ala Lys Asp Leu Thr Tyr Val Trp Asn Arg Asp Tyr His Tyr Tyr Phe

1 5 10 15

Gly Met Asp Val

20

<210> 449

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 449

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc ggacaagtca gacattagt aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccgatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 450
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 450
 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 Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Thr 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 Ile
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 [0143] 100 105

<210> 451
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 451
 cagagcatta gtaactat 18

<210> 452
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 452

	Gln Ser Ile Ser Asn Tyr 1 5	
	<210> 453 <211> 9 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 453 actgcatcc	9
	<210> 454 <211> 3 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
[0144]	<400> 454 Thr Ala Ser 1	
	<210> 455 <211> 27 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 455 caacagagtt acagtacccc gatcacc	27
	<210> 456 <211> 9 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	

<400> 456

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ile Thr

1

5

<210> 457

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 457

```
gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggatt cacctttgat gattacgcc tgcactgggt ccggcaagtt 120
ccaggaagg gcctggagtg ggtctcaggg attacttgga atagtggtaa gttagactat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctcttt 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aaaagatatg 300
gagggatggg ataactggaa ctatTTTTTTT ggTTTTcata tatggggcca agggacaatg 360
gtcaccgtct ctcca 375
```

[0145]

<210> 458

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 458

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

	100	105	110
	His Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser		
	115	120	125
	<210> 459 <211> 24 <212> DNA <213> Artificial Sequence		
	<220> <223> 合成的		
	<400> 459 ggattcacct ttgatgatta cgcc		
			24
	<210> 460 <211> 8 <212> PRT <213> Artificial Sequence		
	<220> <223> 合成的		
[0146]	<400> 460 Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala 1 5		
	<210> 461 <211> 24 <212> DNA <213> Artificial Sequence		
	<220> <223> 合成的		
	<400> 461 attacttgga atagtggtaa gtta		
			24
	<210> 462 <211> 8 <212> PRT <213> Artificial Sequence		
	<220>		

<223> 合成的

<400> 462

Ile Thr Trp Asn Ser Gly Lys Leu

1 5

<210> 463

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 463

gcaaaagata tggagggatg gtataactgg aactatTTTT ttggttttca tata 54

<210> 464

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

[0147]

<220>

<223> 合成的

<400> 464

Ala Lys Asp Met Glu Gly Trp Tyr Asn Trp Asn Tyr Phe Phe Gly Phe

1 5 10 15

His Ile

<210> 465

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 465

gacatccaga tgaccagtc tccatctctc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtcg gaacatagcg agcttttttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactcttca tcatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta tacctccgat caccttcggc 300
caaggacac gactggagat taaa 324

<210> 466

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 466

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Asn Ile Gly Ser Phe
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 Ile Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

[0148]

<210> 467

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 467

cggaacatag gcagcttt 18

<210> 468

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

	<223> 合成的	
	<400> 468	
	Arg Asn Ile Gly Ser Phe	
	1 5	
	<210> 469	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 469	
	gctgcatcc	9
	<210> 470	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
[0149]	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 470	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 471	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 471	
	caacagagtt acagtatacc tccgatacc	30
	<210> 472	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	

<220>

<223> 合成的

<400> 472

Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 473

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 473

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggagac ttggtaaagc cggggggggtc ccttggactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt gacgcctgga tgaactgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatga tgggacaaca 180
 gacttcgctg caccgtaaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240
 ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gacgacacag ccatgtatta ctgtaccaca 300
 gattttcttc actataactg ggactactct ttttttgact actggggccg gggaaccctg 360
 gtcaccgtct cctca 375

[0150]

<210> 474

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 474

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Thr Asp Phe Phe His Tyr Asn Trp Asp Tyr Ser Phe Phe
100 105 110
Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 475

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 475

ggattcactt tcagtgcgc ctgg

24

<210> 476

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

[0151]

<220>

<223> 合成的

<400> 476

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala Trp

1

5

<210> 477

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 477

attaaaagca aaactgatga tgggacaaca

30

<210> 478

<211> 10

<212> PRT

[0152]

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 478

Ile Lys Ser Lys Thr Asp Asp Gly Thr Thr

1 5 10

<210> 479

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 479

accacagatt tcttcacta taactgggac tactcttttt ttgactac 48

<210> 480

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 480

Thr Thr Asp Phe Phe His Tyr Asn Trp Asp Tyr Ser Phe Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 481

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 481

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc tactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

```

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat cacccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa                                     324

```

<210> 482

<211> 108

<212> PRT

⟨213⟩ Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成的

<400> 482

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

<210> 483

<211> 18

<212> DNA

⟨213⟩ Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成的

<400> 483

cagagcatta gctactat 18

<210> 484

<211> 6

<212> PRT

⟨213⟩ Artificial Sequence

	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 484	
	Gln Ser Ile Ser Tyr Tyr	
	1 5	
	<210> 485	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 485	
	gctgcatcc	9
	<210> 486	
	<211> 3	
	<212> PRT	
[0154]	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 486	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 487	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 487	
	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
	<210> 488	
	<211> 10	
	<212> PRT	

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 488

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1

5

10

<210> 489

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 489

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtacag cctctggatt caccttcagt gactactaca tgagctggat ccgccaggct 120
ccagggaagg gactggagtg ggtttcatac attagtagta gtggaaatac catatactac 180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagggaca acgccaagaa ctcactgtat 240
ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagacttggg 300
atattcctat ggttcgggga gttattcctt gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca 360
atggtcaccg tctcttca 378

[0155]

<210> 490

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 490

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

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

<210> 491
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 491
ggattcacct tcagtgacta ctac 24

[0156]

<210> 492
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 492
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 493
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 493
attagtagta gtggaaatac cata 24

<210> 494
<211> 8

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 494
Ile Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ile
1 5

<210> 495
<211> 57
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 495
gcgagacttg ggatattcct atggttcggg gagttattcc ttgatgcttt tgatatac 57

[0157]

<210> 496
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 496
Ala Arg Leu Gly Ile Phe Leu Trp Phe Gly Glu Leu Phe Leu Asp Ala
1 5 10 15
Phe Asp Ile

<210> 497
<211> 324
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 497

```

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gatcattagc agctatitaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta tccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa                                     324

```

<210> 498

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 498

```

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 Ile 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 Ile Pro Pro
          85           90           95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
          100          105

```

[0158]

<210> 499

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 499

```

cagatcatta gcagctat                                     18

```

<210> 500

<211> 6

	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 500	
	Gln Ile Ile Ser Ser Tyr	
	1 5	
	<210> 501	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 501	
	gctgcatcc	9
[0159]	<210> 502	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 502	
	Ala Ala Ser	
	1	
	<210> 503	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 503	
	caacagagtt acagtatccc tccgatcacc	30

<210> 504
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 504
 Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Pro Ile Thr
 1 5 10

<210> 505
 <211> 381
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 505
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacaac ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agttatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120
 ccagggatgg gactggagtg ggtctcagtt attagtggta gtggtagtga aacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaaaaa cacactgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaagac acggccgtat attactgtgt gaaagattct 300
 tcgtatagga gctcgtcgag ggcctactac tactacggaa tggacgtctg gggcctaggg 360
 accacggtca ccgtctcctc a 381

<210> 506
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 合成的

<400> 506
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Met Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

[0160]

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

<210> 507

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 507

ggattcacct ttagcagtta tgcc

24

[0161]

<210> 508

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 508

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 509

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 509

attagtggta gtggtagtga aaca

24

<210> 510
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 510
Ile Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr
1 5

<210> 511
<211> 60
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 511
[0162] gtgaaagatt cttcgtatag gagctcgteg agggcctact actactacgg aatggacgtc 60

<210> 512
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 512
Val Lys Asp Ser Ser Tyr Arg Ser Ser Ser Arg Ala Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15
Gly Met Asp Val
20

<210> 513
<211> 324
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 513

```
gacatccaga tgaccagtc tccatctccc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca acagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gtttccattt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaactc tctgcaacct 240
gaagattttg caacttactc ctgtcaacag acttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caaggacac gactggagat taaa 324
```

<210> 514

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 514

[0163]

```
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 Val Ser Ile 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 Asn Ser Leu Gln Pro
 65          70          75          80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Ser 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> 515

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 515

```
cagagcatta gcagctat 18
```

	<210> 516 <211> 6 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 516 Gln Ser Ile Ser Ser Tyr 1 5 <210> 517 <211> 9 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的	
[0164]	<400> 517 gctgtttcc <210> 518 <211> 3 <212> PRT <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的 <400> 518 Ala Val Ser 1 <210> 519 <211> 30 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> 合成的	9

	<400> 519	
	caacagactt acagtacccc tccgatcacc	30
	<210> 520	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 520	
	Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
	1 5 10	
	<210> 521	
	<211> 381	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
[0165]	<400> 521	
	gaggtgcagc tattggagtc aggggggaggc ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc 60	
	tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt ggctatgccg tgagctgggt ccgccaggct 120	
	ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact attagtggaa gtggtactat cacacattac 180	
	gtagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240	
	ctgcaaatga gcagcctgag agccgaggac acggccatat attactgtgc gagagaccgc 300	
	tattacgatg ttttgactgg ttattataag gaggactact ttgactactg gggccaggga 360	
	accctggtea ccgtctcctc a 381	
	<210> 522	
	<211> 127	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 522	
	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
	1 5 10 15	
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr	

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

<210> 523
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

[0166]

<400> 523
ggattcacct ttagtggcta tgcc

24

<210> 524
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 524
Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Ala
1 5

<210> 525
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

	<400> 525 attagtggaa gtggtactat caca	24
	<210> 526 <211> 8 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 526 Ile Ser Gly Ser Gly Thr Ile Thr 1 5	
	<210> 527 <211> 60 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
[0167]	<220> <223> 合成的	
	<400> 527 gcgagagacc cgtattacga tgttttgact ggttattata aggaggacta ctttgactac 60	
	<210> 528 <211> 20 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 528 Ala Arg Asp Pro Tyr Tyr Asp Val Leu Thr Gly Tyr Tyr Lys Glu Asp 1 5 10 15 Tyr Phe Asp Tyr 20	
	<210> 529 <211> 324 <212> DNA	

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 529

```
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtea gagcattage aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcattcagct tgcaaactgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caaggacac gactggagat taaa 324
```

<210> 530

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 530

[0168]

```
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 Asn 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 Phe Ser Leu Gln Thr 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> 531

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

	<400> 531 cagagcatta gcaactat	18
	<210> 532 <211> 6 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 532 Gln Ser Ile Ser Asn Tyr 1 5	
	<210> 533 <211> 9 <212> DNA <213> Artificial Sequence	
[0169]	<220> <223> 合成的	
	<400> 533 gctgcattc	9
	<210> 534 <211> 3 <212> PRT <213> Artificial Sequence	
	<220> <223> 合成的	
	<400> 534 Ala Ala Phe 1	
	<210> 535 <211> 30 <212> DNA <213> Artificial Sequence	

<220>

<223> 合成的

<400> 535

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 536

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 536

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1

5

10

<210> 537

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

[0170]

<220>

<223> GenBank Ac. No: NP_041326.1

<400> 537

Met His Gly Asp Thr Pro Thr Leu His Glu Tyr Met Leu Asp Leu Gln

1

5

10

15

Pro Glu Thr Thr Asp Leu Tyr Cys Tyr Glu Gln Leu Asn Asp Ser Ser

20

25

30

Glu Glu Glu Asp Glu Ile Asp Gly Pro Ala Gly Gln Ala Glu Pro Asp

35

40

45

Arg Ala His Tyr Asn Ile Val Thr Phe Cys Cys Lys Cys Asp Ser Thr

50

55

60

Leu Arg Leu Cys Val Gln Ser Thr His Val Asp Ile Arg Thr Leu Glu

65

70

75

80

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

85

90

95

Lys Pro

<210> 538

<211> 9

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> HPV16E7:11-19

<400> 538
Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr
1 5

<210> 539
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> HPV16E7:82-90

<400> 539
Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val
1 5

[0171]

<210> 540
<211> 478
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 17364N CAR

<400> 540
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 Val Ser Ile 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 Ser Cys Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly

[0172]

100	105	110
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu		
115	120	125
Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser		
130	135	140
Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Thr Trp Val		
145	150	155
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Ser Gly		
165	170	175
Ser Gly Ser Glu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr		
180	185	190
Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser		
195	200	205
Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Lys Asp Ser Ser		
210	215	220
Tyr Arg Ser Ser Ser Arg Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp		
225	230	235
Gly Leu Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser 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
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys		
325	330	335
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 Lys 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
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		
	465	470	475
	<210> 541		
	<211> 476		
	<212> PRT		
	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> 17670P CAR		
	<400> 541		
	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 Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
	50	55	60
[0173]	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 Gly Pro Pro		
	85	90	95
	Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly		
	100	105	110
	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val		
	115	120	125
	Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Thr Ser Leu Arg Leu Ser		
	130	135	140
	Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Phe Tyr Ala Met Tyr Trp Val		
	145	150	155 160
	Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Leu Glu Leu Val Ser Gly Ile Ser Gly		
	165	170	175
	Asn Gly Glu Ser Met Phe Tyr Gly Asn Ser Val Lys Gly Arg Phe Ser		
	180	185	190
	Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Gly Ser		
	195	200	205
	Val Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Tyr Ala		
	210	215	220
	Ser Gly Asn Ser Tyr Phe Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln		
	225	230	235 240
	Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Thr Thr Thr		

[0174]

	245	250	255												
Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro
	260	265	270												
Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val
	275	280	285												
His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro
	290	295	300												
Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu
305		310	315	320											
Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro
	325	330	335												
Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys
	340	345	350												
Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe
	355	360	365												
Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Lys	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu
370		375	380												
Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp
385		390	395	400											
Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys
	405	410	415												
Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala
	420	425	430												
Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys
	435	440	445												
Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr
	450	455	460												
Tyr	Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg				
465		470	475												

<210> 542

<211> 476

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 17675P CAR

<400> 542

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

[0175]

35	40	45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
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 Gly Gly Gly Gly		
100	105	110
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val		
115	120	125
Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ala Ser Leu Arg Leu Ser		
130	135	140
Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Phe Tyr Ala Met His Trp Val		
145	150	155
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Leu Glu Tyr Val Ser Gly Ile Ser Gly		
165	170	175
Asn Gly Asn Ser Ile Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr		
180	185	190
Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Gly Ser		
195	200	205
Val Gly Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Tyr Ser		
210	215	220
Ser Gly Asn Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln		
225	230	235
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Thr Thr Thr		
245	250	255
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro		
260	265	270
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val		
275	280	285
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro		
290	295	300
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu		
305	310	315
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro		
325	330	335
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys		
340	345	350
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe		
355	360	365
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu		
370	375	380
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp		

```

385          390          395          400
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
          405          410          415
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
          420          425          430
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
          435          440          445
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
          450          455          460
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
465          470          475

```

```

<210> 543
<211> 476
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

```

<220>
<223> 17930N2 CAR

```

```

[0176] <400> 543
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 His 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 Gly Gly Gly Gly
          100          105          110
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
          115          120          125
Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
          130          135          140
Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr Ala Leu His Trp Val
145          150          155          160
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val Ser Ala Ile Ser Gly
          165          170          175
Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr

```

	180	185	190
	Ile Ser Arg Asp Lys Ser Met Ser Thr Val Tyr Leu Gln Val Gly Ser		
	195	200	205
	Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Tyr Ala		
	210	215	220
	Ser Ser Ser Asp Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln		
	225	230	235
	Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Thr Thr Thr		
	245	250	255
	Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro		
	260	265	270
	Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val		
	275	280	285
	His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro		
	290	295	300
	Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu		
	305	310	315
	Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro		
	325	330	335
	Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys		
	340	345	350
[0177]	Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe		
	355	360	365
	Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu		
	370	375	380
	Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp		
	385	390	395
	Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys		
	405	410	415
	Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala		
	420	425	430
	Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys		
	435	440	445
	Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr		
	450	455	460
	Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg		
	465	470	475

<210> 544

<211> 476

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 21064P CAR

<400> 544

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 Gly Gly Gly Gly
 100 105 110
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
 115 120 125
 Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
 130 135 140
 Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Phe Tyr Ala Met His Trp Val
 145 150 155 160
 Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val Ser Gly Ile Ser Ser
 165 170 175
 Asn Gly Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
 180 185 190
 Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Gly Ser
 195 200 205
 Leu Arg Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Tyr Ala
 210 215 220
 Ser Ser Ser Asp Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
 225 230 235 240
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Thr Thr Thr
 245 250 255
 Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
 260 265 270
 Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
 275 280 285
 His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
 290 295 300
 Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
 305 310 315 320
 Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro

[0178]

```

          325          330          335
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
          340          345          350
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
          355          360          365
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu
          370          375          380
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
385          390          395          400
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
          405          410          415
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
          420          425          430
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
          435          440          445
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
          450          455          460
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
465          470          475

```

[0179]

```

<210> 545
<211> 478
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

```

<220>
<223> 17363N CAR

```

```

<400> 545
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 Val Ser Ile 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 Asn Ser Leu Gln Pro
65          70          75          80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Ser Cys Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Pro
          85          90          95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly
          100          105          110
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu

```

	115	120	125
	Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser		
	130	135	140
	Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Thr Trp Val		
	145	150	155
	Arg Gln Ala Pro Gly Met Gly Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Ser Gly		
	165	170	175
	Ser Gly Ser Glu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr		
	180	185	190
	Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser		
	195	200	205
	Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Lys Asp Ser Ser		
	210	215	220
	Tyr Arg Ser Ser Ser Arg Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp		
	225	230	235
	Gly Leu Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser 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
[0180]	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
	Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys		
	325	330	335
	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 Lys 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
	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		

465 470 475

<210> 546

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SH3GLB1:244-252

<400> 546

Tyr Met Leu Asp Leu Gln Lys Gln Leu

1

5

<210> 547

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CAMKK1:388-396

[0181]

<400> 547

Lys Met Leu Asp Lys Asn Pro Glu Thr

1

5

<210> 548

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> USP47:691-699

<400> 548

Tyr Met Phe Asp Leu Leu Leu Glu Thr

1

5

<210> 549

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CHPF:463:471

<400> 549

Tyr Thr Leu Asp Leu Gln Leu Glu Ala

1 5

<210> 550

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> PKD1:2694-2702

<400> 550

Met Met Leu Ile Leu Gln Ala Glu Thr

1 5

<210> 551

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

[0182]

<220>

<223> NBR1:357-365

<400> 551

Leu Met Leu Pro Leu Gln Pro Cys Thr

1 5

<210> 552

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CBL:83-91

<400> 552

Tyr Ile Leu Asp Leu Leu Pro Asp Thr

1 5

<210> 553

<211> 9

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> PPP4R4:20-28

<400> 553
Tyr Met Glu Asp Leu Gln Glu Leu Thr
1 5

<210> 554
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> SBK3:285-293

<400> 554
Gly Leu Leu Asp Leu Asp Pro Glu Thr
1 5

[0183]

<210> 555
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> FNDC3B:921-929

<400> 555
Val Met Lys Asp Leu Leu Pro Glu Thr
1 5

<210> 556
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> VPRED3:9-17

<400> 556
Leu Leu Met Gly Thr Phe Leu Ser Val

1 5

<210> 557

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> B4GALT2:4-12

<400> 557

Leu Leu Gly Gly Thr Leu Glu Arg Val

1 5

<210> 558

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GCAT:312-320

[0184]

<400> 558

Leu Leu Met Gly Ser Asn Thr Ile Val

1 5

<210> 559

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CYP39A1:246-254

<400> 559

Leu Leu Gln Ala Thr Leu Asp Ile Val

1 5

<210> 560

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> ALDH3A2:467-475

<400> 560

Leu Leu Leu Thr Phe Leu Gly Ile Val

1 5

<210> 561

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CLCN4:79-87

<400> 561

Leu Leu Ala Gly Thr Leu Ala Gly Val

1 5

<210> 562

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

[0185]

<220>

<223> ZHX2:234-242

<400> 562

Leu Leu Gln Asp Thr Leu Gly His Val

1 5

<210> 563

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GRM6:590-598

<400> 563

Leu Leu Leu Ala Val Leu Gly Ile Val

1 5

<210> 564

<211> 9

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> IP09:582-590

<400> 564
Leu Val Met Glu Thr Leu Cys Ile Val
1 5

<210> 565
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> IP04:163-171

<400> 565
Leu Leu Asn Glu Thr Leu Gly Glu Val
1 5

[0186]

<210> 566
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> SF3B1:969-977

<400> 566
Lys Leu Met Gly His Leu Gly Val Val
1 5

<210> 567
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> DOCK11:1282-1290

<400> 567
Leu Leu Met Cys Tyr Leu Tyr Ile Val

	1	5
	<210> 568	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> hCNOT1:1962-1970	
	<400> 568	
	Leu Leu Asn Lys Val Leu Gly Ile Val	
	1	5
	<210> 569	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
[0187]	<400> 569	
	Ala Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr	
	1	5
	<210> 570	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 570	
	Tyr Ala Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr	
	1	5
	<210> 571	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Artificial Sequence	
	<220>	

<223> 合成的

<400> 571

Tyr Met Ala Asp Leu Gln Pro Glu Thr

1 5

<210> 572

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 572

Tyr Met Leu Ala Leu Gln Pro Glu Thr

1 5

<210> 573

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

[0188]

<220>

<223> 合成的

<400> 573

Tyr Met Leu Asp Ala Gln Pro Glu Thr

1 5

<210> 574

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 合成的

<400> 574

Tyr Met Leu Asp Leu Ala Pro Glu Thr

1 5

<210> 575

<211> 9

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 575
Tyr Met Leu Asp Leu Gln Ala Glu Thr
1 5

<210> 576
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 576
Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Ala Thr
1 5

[0189]

<210> 577
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 合成的

<400> 577
Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Ala
1 5

<210> 578
<211> 453
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> HC 17363N

<400> 578
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

[0190]


```

          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> 579
<211> 215
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

```

<220>
<223> LC 17363N

```

[0191]

```

<400> 579
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 Val Ser Ile 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 Asn Ser Leu Gln Pro
65              70              75              80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Ser 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
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> 580

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HC 17364N

<400> 580

[0192]

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1			5					10					15		
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
		20					25					30			
Ala	Met	Thr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
	35					40						45			
Ser	Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50				55					60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65				70				75					80		
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85					90				95			
Val	Lys	Asp	Ser	Ser	Tyr	Arg	Ser	Ser	Ser	Arg	Ala	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr
	100						105					110			
Gly	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Leu	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	
	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	
[0193]	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> 581			
	<211> 215			
	<212> PRT			
	<213> Artificial Sequence			
	<220>			
	<223> LC 17364N			
	<400> 581			
	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 Val Ser Ile 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 Ser 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
 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

[0194]

<210> 582

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HC 17670P

<400> 582

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

65	70	75	80
Leu Gln Met Gly Ser Val Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Ala Tyr Ala Ser Gly Asn Ser Tyr Phe Phe Tyr Tyr 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
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
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			

[0195]

	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> 583		
	<211> 215		
	<212> PRT		
	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> LC 17670P		
	<400> 583		
	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		
[0196]	Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
	50 55 60		
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
	65 70 75 80		
	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Gly 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> 584
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> HC 17675P

<400> 584

[0197] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Phe Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Leu Glu Tyr Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Gly Asn Gly Asn Ser Ile Tyr Tyr Arg 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 Gly Ser Val Gly Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Tyr Ser Ser Gly Asn Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr 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
 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
 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
 [0198] 450

<210> 585

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LC 17675P

<400> 585

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Ile 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 Asn Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln 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> 586

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

[0199]

<220>

<223> HC 17930N2

<400> 586

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr			
20	25	30	
Ala Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val			
35	40	45	
Ser Ala Ile Ser Gly Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Met Ser Thr Val Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Val Gly Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Ser Tyr Ala Ser Ser Ser Asp Tyr His Tyr Tyr Tyr 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	
	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	
[0200]	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	
	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> 587			
	<211> 214			

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LC 17930N2

<400> 587

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 Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 [0201] Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 588

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HC 21058P

<400> 588
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asn Val Val Arg 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
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Asn Trp Asn Gly Asp Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr His Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ala Gly Ile Val Val Asp Trp Asn Tyr Ala Gly Trp Phe Asp
 100 105 110
 Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 115 120 125
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
 130 135 140
 Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 145 150 155 160
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 165 170 175
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 180 185 190
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
 195 200 205
 Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
 210 215 220
 Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

```

          340          345          350
Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
          355          360          365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
          370          375          380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
          385          390          395          400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
          405          410          415
Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
          420          425          430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
          435          440          445
Gly Lys
          450

```

<210> 589

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

[0203]

<220>

<223> LC 21058P

<400> 589

```

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 Glu 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 Lys 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> 590

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HC 21064P

<400> 590

[0204]

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

[0205]

<210> 591

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LC 21064P

<400> 591

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 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
 [0206] 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> 592

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HC 21104P

<400> 592

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

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

	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		
	<210> 593		
	<211> 215		
	<212> PRT		
	<213> Artificial Sequence		
	<220>		
	<223> LC 21104P		
	<400> 593		
	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 Ile Ile Ser Ser Tyr		
	20 25 30		
[0208]	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 Ile 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		
[0209]	210 215		