



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 106414496 B

(45) 授权公告日 2021. 11. 30

(21) 申请号 201580026696.8

C12N 15/13 (2006.01)

(22) 申请日 2015.05.20

A61K 39/42 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61K 45/06 (2006.01)

申请公布号 CN 106414496 A

A61P 31/14 (2006.01)

(43) 申请公布日 2017.02.15

(56) 对比文件

(30) 优先权数据

CN 103554244 A, 2014.02.05

62/002,233 2014.05.23 US

WO 2014/045254 A2, 2014.03.27

62/004,971 2014.05.30 US

62/051,717 2014.09.17 US

62/072,716 2014.10.30 US

Xian-chun Tang. Identification of human neutralizing antibodies against MERS-CoV and their role in virus adaptive evolution.《PNAS》.2014,第111卷(第19期),参见摘要、表1、图1-2、图5、图S1-S5、第2022页右栏第1段、第2022页右栏-第2024页左栏、第2019页右栏第2-3段、第2020页左栏最后一段、第2019页左栏最后一段、第2019页右栏第2-3段、第2020页右栏第2段、第2022页右栏最后一段、第2019页右栏最后一段。

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2016.11.22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/031800 2015.05.20

(87) PCT国际申请的公布数据

W02015/179535 EN 2015.11.26

(73) 专利权人 瑞泽恩制药公司

地址 美国纽约州

马亦林. 中东呼吸综合征冠状病毒与人类感染.《会议论文》.2013,全文.

(72) 发明人 C·基拉特索斯 N·斯塔尔

S·西瓦帕拉辛格姆

Liwei Jiang. Potent Neutralization of MERS-CoV by Human Neutralizing Monoclonal Antibodies to the Viral Spike Glycoprotein.《Science Translational Medicine》.2014,第6卷(第234期),全文.

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 凌立 黄革生

审查员 吴胜

(51) Int. Cl.

C07K 16/10 (2006.01)

权利要求书3页 说明书44页

序列表161页 附图14页

(54) 发明名称

针对中东呼吸综合征-冠状病毒刺突蛋白的人抗体

(57) 摘要

本发明提供与中东呼吸综合征-冠状病毒(MERS-CoV)刺突蛋白结合的单克隆抗体,及其使用方法。在本发明的多个实施方案中,抗体为与MERS-CoV刺突蛋白结合的全长人抗体。在一些实施方案中,本发明的抗体可用于抑制或中和MERS-CoV活性,因此提供治疗或预防人中的MERS

感染的方式。在一些实施方案中,本发明提供一种或多种抗体的组合,所述抗体与MERS-CoV刺突蛋白结合用于治疗MERS感染。在一些实施方案中,所述一种或多种抗体与包含在MERS-CoV刺突蛋白的受体结合域中的不同的非竞争性表位结合。

CN 106414496 B

1. 一种分离的重组抗体或其抗原结合片段,其特异性地与中东呼吸综合征冠状病毒刺突蛋白结合,其中所述抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:218的重链可变区中的三个重链互补决定区,称为HCDR1、HCDR2和HCDR3和SEQ ID NO:226的轻链可变区中的三个轻链互补决定区,称为LCDR1、LCDR2和LCDR3。

2. 权利要求1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一种或多种下列特征:

(a) 为全长的人单克隆抗体;

(b) 与在中东呼吸综合征冠状病毒刺突蛋白的受体结合域中的一个或多个氨基酸残基相互作用,其中所述氨基酸残基选自SEQ ID NO:457的氨基酸残基367-606;

(c) 与中东呼吸综合征冠状病毒刺突蛋白以小于18.5nM的解离常数结合,如在表面等离子体共振测定中所测量的;

(d) 阻断中东呼吸综合征冠状病毒刺突蛋白与二肽基肽酶4大于90%的结合,如在阻断ELISA测定中所测量的;

(e) 中和人宿主细胞大于90%的中东呼吸综合征冠状病毒感染性且具有小于4nM的 $IC_{50}$ ,如在病毒样颗粒中和测定中所测量的;

(f) 中和中东呼吸综合征冠状病毒感染性,其中所述中东呼吸综合征冠状病毒包含选自下组的病毒的分离株:EMC/2012、Jordan-N3/2012、England-Qatar/2012、Al-Hasa\_1\_2013、Al-Hasa\_2\_2013、Al-Hasa\_3\_2013、Al-Hasa\_4\_2013、Al-Hasa\_12、Al-Hasa\_15、Al-Hasa\_16、Al-Hasa\_17、Al-Hasa\_18、Al-Hasa\_19、Al-Hasa\_21、Al-hasa\_25、Bisha\_1、Buraidah\_1、England 1、Hafr-Al-batin\_1、Hafr-Al-Batin\_2、Hafr-Al-Batin\_6、Jeddah\_1、KFU-HKU 1、KFU-HKU 13、Munich、Qatar3、Qatar4、Riyadh\_1、Riyadh\_2、Riyadh\_3、Riyadh\_3、Riyadh\_4、Riyadh\_5、Riyadh\_9、Riyadh\_14、Taif\_1、UAE和Wadi-Ad-Dawasir;且

(g) 为双特异性抗体,其包含与中东呼吸综合征冠状病毒刺突蛋白的受体结合域中第一表位的第一结合特异性和与中东呼吸综合征冠状病毒刺突蛋白的受体结合域中第二表位的第二结合特异性,其中所述第一和第二表位是不同的和非重叠的。

3. 权利要求1或2的抗体或其抗原结合片段,包含SEQ ID NOs:220-222-224-228-230-232的一组六个互补决定区,称为HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3。

4. 权利要求3的抗体或其抗原结合片段,其包含含有SEQ ID NO:218的氨基酸序列的重链可变区。

5. 权利要求3的抗体或其抗原结合片段,其包含含有SEQ ID NO:226的氨基酸序列的轻链可变区。

6. 权利要求1的抗体或抗原结合片段,其包含SEQ ID NO:218的氨基酸序列的重链可变区和SEQ ID NO:226的氨基酸序列的轻链可变区。

7. 权利要求1的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述分离的抗体或其抗原结合片段阻断中东呼吸综合征冠状病毒刺突蛋白与DPP4的结合。

8. 权利要求7的分离的全长人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与包含SEQ ID NO:457的氨基酸残基367-606的氨基酸序列相互作用。

9. 权利要求1或2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防止中东呼吸综合征冠状病毒进入宿主细胞。

10. 权利要求1或2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多重特异性抗原结合分子。

11. 一种药物组合物,其包含权利要求1或2的分离的抗体或其抗原结合片段和药物上可接受的载剂或稀释剂。

12. 权利要求11的药物组合物,其中所述药物组合物包含:

(a) 根据权利要求1-8中任一项的第一抗体或其抗原结合片段;

(b) 在第二表位与中东呼吸综合征冠状病毒刺突蛋白结合的第二抗体或其抗原结合片段,和

(c) 药物上可接受的载剂或稀释剂;

其中所述第一抗体或其抗原结合片段不与第二抗体或其抗原结合片段交叉竞争与中东呼吸综合征冠状病毒刺突蛋白的结合。

13. 权利要求12的药物组合物,其中至少第一抗体或其抗原结合片段或第二抗体或其抗原结合片段阻断中东呼吸综合征冠状病毒刺突蛋白与DPP4的结合。

14. 权利要求12或13的药物组合物,其中所述第一和第二表位存在于中东呼吸综合征冠状病毒刺突蛋白的受体结合域中,且是不同和非重叠的。

15. 权利要求12或13的药物组合物,其中

(a) 所述第一抗体或其抗原结合片段包含:

(i) 包含在SEQ ID N0s:218的重链可变区氨基酸序列中的三个重链互补决定区,称为HCDR1,HCDR2和HCDR3,

(ii) SEQ ID N0s:220-222-224-228-230-232的六个互补决定区,称为HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3;或

(iii) SEQ ID N0s:218的重链可变区氨基酸序列和SEQ ID N0s:226的轻链可变区氨基酸序列;和

(b) 所述第二抗体或其抗原结合片段包含:

(i) 包含在SEQ ID N0s:66的重链可变区氨基酸序列中的三个重链互补决定区,称为HCDR1,HCDR2和HCDR3,

(ii) SEQ ID N0s:68-70-72-76-78-80的六个互补决定区,称为HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3;或

(iii) SEQ ID N0s:66的重链可变区氨基酸序列和SEQ ID N0s:74的轻链可变区氨基酸序列。

16. 一种分离的多核苷酸分子,其包含编码权利要求1或2所述的抗体或其抗原结合片段的轻链可变区的多核苷酸序列,和包含编码权利要求1或2所述的抗体或其抗原结合片段的轻链可变区的多核苷酸序列。

17. 一种包含权利要求16的多核苷酸序列的载体。

18. 一种表达权利要求17的载体的细胞。

19. 权利要求1或2的抗体或其抗原结合片段或权利要求11的药物组合物在制备用于预防、治疗或缓解中东呼吸综合征冠状病毒感染的至少一种症状或适应症的药物中的用途。

20. 权利要求19的用途,其中所述至少一种症状或适应症选自下组:肺部炎症、肺泡损伤、病毒载量、发热、咳嗽、呼吸浅短、肺炎、腹泻、器官衰竭、败血性休克和死亡。

21. 权利要求19或20的用途,其中将所述药物组合物或所述抗体或其抗原结合片段预防性或治疗性施用于对其有需要的受试者。

22. 权利要求21的用途,其中将所述药物组合物或所述抗体或其抗原结合片段预防性施用于选自下组的受试者:免疫功能低下的个体、大于65岁的成年人、至中东地区的旅行者、医护人员、具有医疗问题史的人、职业或娱乐性接触骆驼或蝙蝠的人、和与具有确认或疑似中东呼吸综合征冠状病毒感染的人接触的人。

23. 权利要求22的用途,其中所述医疗问题史是心脏问题和糖尿病史。

24. 权利要求19的用途,其中所述药物组合物或所述抗体或其抗原结合片段与第二治疗剂组合施用。

25. 权利要求24的用途,其中所述第二治疗剂选自下组:抗炎症药物、抗病毒药物、针对中东呼吸综合征冠状病毒刺突蛋白的不同的抗体、对于中东呼吸综合征冠状病毒的疫苗、抗生素、膳食补充剂和治疗中东呼吸综合征冠状病毒感染的任何其他姑息疗法。

26. 权利要求25的用途,其中所述抗炎症药物是皮质类固醇。

27. 权利要求25的用途,其中所述抗炎症药物是非甾体抗炎症药物。

28. 权利要求25的用途,其中所述膳食补充剂是如抗氧化剂。

29. 权利要求19的用途,其中所述药物组合物或所述抗体或其抗原结合片段通过皮下、静脉内、皮内、腹膜内、口服、肌内或颅内施用。

## 针对中东呼吸综合征-冠状病毒刺突蛋白的人抗体

### 发明领域

[0001] 本发明涉及特异性结合中东呼吸综合征-冠状病毒 (MERS-CoV) 的刺突蛋白的人抗体和人抗体的抗原结合片段和使用这些抗体的治疗和诊断方法。

### [0002] 相关技术的陈述

[0003] 中东呼吸综合征-冠状病毒 (MERS-CoV) 是新出现的β冠状病毒,其引起严重的急性呼吸疾病。其首先在沙特阿拉伯于2012年分离 (Zaki等2012,NEJM 367:1814-1820) 且自此传播至约18个国家,其中大多数的病例在沙特阿拉伯和阿拉伯联合酋长国。截止2014年5月15日,世界卫生组织报告了571例MERS,包括171例死亡。最近在美国发现两例MERS感染。人中MERS-CoV感染的临床特征范围从无感染症状到非常严重的肺炎,伴随急性呼吸窘迫综合征、败血性休克和导致死亡的多器官功能衰竭的发展潜力。

[0004] MERS-CoV与蝙蝠冠状病毒HKU4和HKU5分享相似性。病毒使用其刺突蛋白用于与用来进入靶细胞的细胞受体相互作用。Raj等展示了病毒经由其刺突蛋白的受体结合域与在人上皮和内皮细胞上的二肽基肽酶4 (DPP4) 结合 (Raj等2013,Nature 495:251-256)。Lu等在2013年已显示MERS-CoV受体结合域由核心和与DPP4相互作用的受体结合亚结构域组成 (Lu等2013,Nature 500:227-231)。

[0005] W02014/045254描述了MERS-CoV的分离和表征、刺突蛋白和针对刺突蛋白的受体结合域的多克隆抗体。通过例如Du等 (2014,J.Virol.)、Ying等 (2014,J.Virol.)、Tang等 (2014,PNAS) 和Jiang等 (2014,Sci.Transl.Med.Vol.6,234ra59) 已公开了刺突蛋白受体结合域的中和单克隆抗体。

[0006] 迄今,并没有预防或治疗MERS感染的疫苗或治疗剂。由于其持续危及人类健康并引起高致死率 (超过30%),对于用于MERS控制的预防和治疗性抗病毒疗法是急需的。以高亲和力特异性结合MERS-CoV刺突蛋白并抑制病毒感染性的全长人抗体对于预防和治疗MERS感染可能是重要的。

### [0007] 发明简述

[0008] 本发明提供结合MERS-CoV刺突蛋白的抗体及其抗原结合片段。本发明的抗体可特别用于抑制或中和MERS-CoV刺突蛋白的活性。在一些实施方案中,抗体用于阻断病毒与其宿主细胞受体二肽基肽酶4 (DPP4) 的结合并用于预防MERS-冠状病毒进入宿主细胞。在一些实施方案中,抗体通过抑制病毒细胞至细胞的转移而发挥功能。在一些实施方案中,抗体用于预防、治疗或缓解受试者中至少一种症状。在一些实施方案中,可将抗体预防性或治疗性施用于具有MERS-CoV感染或处于具有MERS-CoV感染风险的受试者。

[0009] 本发明的抗体可以是全长的 (例如,IgG1或IgG4抗体) 或可以仅包含抗原结合部分 (例如,Fab、F(ab')<sub>2</sub>或scFv片段),且可经修饰以影响功能性,例如,增加在宿主中的持久性或消除残留的效应功能 (Reddy等,2000,J.Immunol.164:1925-1933)。在一些实施方案中,抗体可以是双特异性的。

[0010] 第一方面,本发明提供与MERS-CoV刺突蛋白特异性结合的分离的重组单克隆抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体是全长的人单克隆抗体。本发明的抗体及其抗

原结合片段与在MERS-CoV的刺突蛋白的受体结合域(RBD)内的表位结合。在一些实施方案中,本发明提供抗体及其抗原结合片段,其与选自GenBank登录号AFS88936.1(SEQ ID NO: 457)的氨基酸367-606的氨基酸结合。在一个实施方案中,本发明的抗体结合MERS-CoV分离株EMC/2012的刺突蛋白结合。在一些实施方案中,抗体与不同的MERS-CoV分离株的刺突蛋白结合。

[0011] 本发明示例性的抗MERS-CoV-S抗体列于本文的表2和3。表2描述了示例性的抗MERS-CoV-S抗体的重链可变区(HCVR)、轻链可变区(LCVR)、重链互补决定区(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和LCDR3)的氨基酸序列标识符。表3描述了示例性的抗MERS-CoV-S抗体的HCVR、LCVR、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的核酸序列标识符。

[0012] 本发明提供包含HCVR的抗体或其抗原结合片段,所述HCVR含有的氨基酸序列选自列于表2的HCVR氨基酸序列,或与其基本上相似的与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的序列。

[0013] 本发明还提供包含LCVR抗体或其抗原结合片段,所述LCVR含有的氨基酸序列选自列于表2的LCVR氨基酸序列,或与其基本上相似的与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的序列。

[0014] 本发明还提供包含HCVR和LCVR氨基酸序列对(HCVR/LCVR)的抗体或其抗原结合片段,所述序列对包含列于表2的任何HCVR氨基酸序列与列于表2的任何LCVR氨基酸序列的配对。根据一些实施方案,本发明提供包含HCVR/LCVR氨基酸序列对的抗体或其抗原结合片段,所述HCVR/LCVR氨基酸序列对包含在列于表2的任何示例性的抗MERS-CoV-S抗体内。在一些实施方案中,HCVR/LCVR氨基酸序列对选自下组:SEQ ID NO:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/106、122/106、130/106、138/106、146/106、154/162、170/162、178/162、186/194、202/210、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和442/450。在一些实施方案中,HCVR/LCVR氨基酸序列对选自下列之一:SEQ ID NO:2/10(例如H1H15177P)、18/26(例如H1H15188P)、66/74(例如H1H15211P)、114/106(例如H1H15231P2)、170/162(例如H1H15260P2)或218/226(例如H1H15277N)。

[0015] 本发明还提供包含重链CDR1(HCDR1)的抗体或其抗原结合片段,所述重链CDR1(HCDR1)含有的氨基酸序列选自列于表2的任何HCDR1氨基酸序列或与其基本上相似的具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的序列。

[0016] 本发明还提供包含重链CDR2(HCDR2)的抗体或其抗原结合片段,所述重链CDR2(HCDR2)含有的氨基酸序列选自列于表2的任何HCDR2氨基酸序列或与其基本上相似的具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的序列。

[0017] 本发明还提供包含重链CDR3(HCDR3)的抗体或其抗原结合片段,所述重链CDR3(HCDR3)含有的氨基酸序列选自列于表2的任何HCDR3氨基酸序列或与其基本上相似的具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的序列。

[0018] 本发明还提供包含轻链CDR1(LCDR1)的抗体或其抗原结合片段,所述轻链CDR1(LCDR1)含有的氨基酸序列选自列于表2的任何LCDR1氨基酸序列或与其基本上相似的具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的序列。

[0019] 本发明还提供包含轻链CDR2 (LCDR2) 的抗体或其抗原结合片段,所述重链CDR2 (LCDR2) 含有的氨基酸序列选自列于表2的任何LCDR2氨基酸序列或与其基本上相似的具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的序列。

[0020] 本发明还提供包含轻链CDR3 (LCDR3) 的抗体或其抗原结合片段,所述重链CDR3 (LCDR3) 含有的氨基酸序列选自列于表2的任何LCDR3氨基酸序列或与其基本上相似的具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的序列。

[0021] 本发明还提供包含HCDR3和LCDR3氨基酸序列对 (HCDR3/LCDR3) 的抗体或其抗原结合片段,所述HCDR3/LCDR3含有列于表2的任何HCDR3氨基酸序列与列于表2的任何LCDR3氨基酸序列的配对。根据一些实施方案,本发明提供包含HCDR3/LCDR3氨基酸序列对的抗体或其抗原结合片段,所述HCDR3/LCDR3氨基酸序列对包含在列于表2的任何示例性的抗MERS-CoV-S抗体中。在一些实施方案中,HCDR3/LCDR3氨基酸序列对选自下组:SEQ ID NO:8/16 (例如H1H15177P)、24/32 (例如H1H15188P)、72/80 (例如H1H15211P)、120/112 (例如H1H15231P2)、176/168 (例如H1H15260P2) 和224/232 (例如H1H15277N)。

[0022] 本发明还提供包含6个CDR组(即HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)的抗体或其抗原结合片段,所述组包含在列于表2的任何示例性的抗MERS-CoV-S抗体中。在一些实施方案中,HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组选自下组:SEQ ID NO:4-6-8-12-14-16 (例如H1H15177P)、20-22-24-28-30-32 (例如H1H15188P);68-70-72-76-78-80 (例如H1H15211P);116-118-120-108-110-112 (例如H1H15231P2);172-174-176-164-166-168 (例如H1H15260P2) 和220-222-224-228-230-232 (例如H1H15277N)。

[0023] 在相关的实施方案中,本发明提供6个CDR组(即HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)的抗体或其抗原结合片段,所述组包含在通过列于表2的任何示例性的抗MERS-CoV-S抗体定义的HCVR/LCVR氨基酸序列对中。例如,本发明包括含有HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组的抗体或其抗原结合片段,所述组包含在选自下组的HCVR/LCVR氨基酸序列对中:SEQ ID NO:2/10 (例如H1H15177P)、18/26 (例如H1H15188P);66/74 (例如H1H15211P);114/106 (例如H1H15231P2);170/162 (例如H1H15260P2) 和218/226 (例如H1H15277N)。用于鉴定在HCVR和LCVR氨基酸序列内的CDR的方法和技术为本领域已知且可用于鉴定本文公开的指定HCVR和/或LCVR氨基酸序列中的CDR。可用于界定CDR边界的示例性的惯例包括例如Kabat定义、Chothia定义和AbM定义。一般而言,Kabat定义基于序列的可变性,Chothia定义基于结构环区的位置,且AbM定义在Kabat和Chothia方式间折中。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)。可获得公开的数据库用于鉴定在抗体内的CDR序列。

[0024] 本发明包括具有修饰的糖基化模式的抗MERS-CoV-S抗体。在一些实施方案中,去除不想要的糖基化位点的修饰可以是有用的,或缺乏寡糖链上的岩藻糖部分的抗体可增加抗体依赖的细胞毒性 (ADCC) 功能 (参见Shield等 (2002) JBC 277:26733)。在其他应用中,可进行糖基化修饰以修饰补体依赖的细胞毒性 (CDC)。

[0025] 本发明还提供抗体及其抗原结合片段,其与含有HCVR的CDR和LCVR的CDR的抗体或其抗原结合片段竞争对MERS-CoV-S的特异性结合,其中HCVR和LCVR各具有选自列于表2的

HCVR和LCVR序列的氨基酸序列。

[0026] 本发明还提供抗体及其抗原结合片段,其与含有HCVR的CDR和LCVR的CDR的参照抗体或其抗原结合片段交叉竞争对MERS-CoV-S的结合,其中HCVR和LCVR各具有选自列于表2的HCVR和LCVR序列的氨基酸序列。

[0027] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可以激动剂的方式特异性结合MERS-CoV-S,即,其可增强或刺激MERS-CoV-S结合和/或活性;在其他实施方案中,抗体可以拮抗剂的方式特异性结合MERS-CoV-S,即,其可阻断MERS-CoV-S与其受体(DPP4)的结合。

[0028] 本发明还提供分离的抗体及其抗原结合片段,其阻断MERS-CoV刺突蛋白与DPP4的结合。在一些实施方案中,阻断MERS-CoV刺突蛋白与DPP4的结合的抗体或其抗原结合片段可结合MERS-CoV刺突蛋白上与DPP4相同的表位或可结合MERS-CoV刺突蛋白上与DPP4不同的表位。在一些实施方案中,本发明提供抗体或其抗原结合片段,其阻断MERS-CoV-S与人、骆驼或蝙蝠的DPP4的结合。

[0029] 在一些实施方案中,本发明的抗体或抗原结合片是双特异性的,其包含与MERS-CoV刺突蛋白的受体结合域中的第一表位的第一结合特异性和与MERS-CoV刺突蛋白的受体结合域中的第二表位的第二结合特异性,其中所述第一和第二表位是不同和非重叠的。

[0030] 在一个实施方案中,本发明提供分离的抗体或抗原结合片段,其具有一种或多种下列特征:(a)是全长的人单克隆抗体;(b)分离自选自下组的杂交瘤细胞系:HBVX06H05、HBVX11H04、HBVX11D02、HBVZ10E10、HBVY09F08、HBVZ05G02、HBVZ09B06、HBVY01F08、HBVY10G02、HBVY04B06、HBVY07D10、HBVZ08A09、HBVZ05G04、HBVY06C07、HBVY03H06、HBVZ10G06、HBVZ04F10、HBVX11E09、HBVY06H09、HBVZ05B11、HBVY02E05和HBVZ04C07;(c)与MERS-CoV刺突蛋白的受体结合域中的一个或多个氨基酸残基相互作用,所述氨基酸残基选自SEQ ID NO:457的氨基酸残基367-606;(d)以小于 $10^{-9}$ M的解离常数( $K_D$ )与MERS-CoV刺突蛋白结合,如在表面等离子体共振测定中所测量的;(e)阻断MERS-CoV刺突蛋白与二肽基肽酶4(DPP4)的大于90%的结合;如在阻断ELISA测定中所测量的;(f)中和人宿主细胞大于90%的MERS-CoV感染性且具有小于4nM的 $IC_{50}$ ,如在病毒样颗粒(VLP)中和测定中所测量的;(g)中和MERS-CoV感染性,其中所述MERS-CoV包含选自下组的病毒的分离株:EMC/2012、Jordan-N3/2012、England-Qatar/2012、Al-Hasa\_1\_2013、Al-Hasa\_2\_2013、Al-Hasa\_3\_2013、Al-Hasa\_4\_2013、Al-Hasa\_12、Al-Hasa\_15、Al-Hasa\_16、Al-Hasa\_17、Al-Hasa\_18、Al-Hasa\_19、Al-Hasa\_21、Al-hasa\_25、Bisha\_1、Buraidah\_1、England 1、Hafr-Al-batin\_1、Hafr-Al-Batin\_2、Hafr-Al-Batin\_6、Jeddah\_1、KFU-HKU 1、KFU-HKU 13、Munich、Qatar3、Qatar4、Riyadh\_1、Riyadh\_2、Riyadh\_3、Riyadh\_3、Riyadh\_4、Riyadh\_5、Riyadh\_9、Riyadh\_14、Taif\_1、UAE和Wadi-Ad-Dawasir;且(h)为双特异性抗体,其包含与MERS-CoV刺突蛋白的受体结合域中第一表位的第一结合特异性和与MERS-CoV刺突蛋白的受体结合域中第二表位的第二结合特异性,其中所述第一和第二表位是不同的和非重叠的。

[0031] 第二方面,本发明提供编码抗MERS-CoV-S抗体或其部分的核酸分子。例如本发明提供编码任何列于表2的HCVR氨基酸序列的核酸分子;在一些实施方案中,核酸分子包含多核苷酸序列,其选自列于表3的任何HCVR核酸序列或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的其基本上相似的序列。

[0032] 本发明还提供编码任何列于表2的LCVR氨基酸序列的核酸分子,在一些实施方案

中,核酸分子包含多核苷酸序列,其选自列于表3的任何LCVR核酸序列或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的其基本上相似的序列。

[0033] 本发明还提供编码任何列于表2的HCDR1氨基酸序列的核酸分子;在一些实施方案中,核酸分子包含多核苷酸序列,其选自列于表3的任何HCDR1核酸序列或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的其基本上相似的序列。

[0034] 本发明还提供编码任何列于表2的HCDR2氨基酸序列的核酸分子;在一些实施方案中,核酸分子包含多核苷酸序列,其选自列于表3的任何HCDR2核酸序列或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的其基本上相似的序列。

[0035] 本发明还提供编码任何列于表2的HCDR3氨基酸序列的核酸分子;在一些实施方案中,核酸分子包含多核苷酸序列,其选自列于表3的任何HCDR3核酸序列或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的其基本上相似的序列。

[0036] 本发明还提供编码任何列于表2的LCDR1氨基酸序列的核酸分子;在一些实施方案中,核酸分子包含多核苷酸序列,其选自列于表3的任何LCDR1核酸序列或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的其基本上相似的序列。

[0037] 本发明还提供编码任何列于表2的LCDR2氨基酸序列的核酸分子;在一些实施方案中,核酸分子包含多核苷酸序列,其选自列于表3的任何LCDR2核酸序列或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的其基本上相似的序列。

[0038] 本发明还提供编码任何列于表2的LCDR3氨基酸序列的核酸分子;在一些实施方案中,核酸分子包含多核苷酸序列,其选自列于表3的任何LCDR3核酸序列或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的其基本上相似的序列。

[0039] 本发明还提供编码HCVR的核酸分子,其中所述HCVR包含三个CDR(即HCDR1-HCDR2-HCDR3)的组,其中HCDR1-HCDR2-HCDR3氨基酸序列组如通过任何列于表2的示例性的抗MERS-CoV-S抗体定义。

[0040] 本发明还提供编码LCVR的核酸分子,其中所述LCVR包含三个CDR(即LCDR1-LCDR2-LCDR3)的组,其中LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组如通过任何列于表2的示例性的抗MERS-CoV-S抗体定义。

[0041] 本发明还提供编码HCVR和LCVR的核酸分子,其中所述HCVR包含任何列于表2的HCVR氨基酸序列的氨基酸序列,且其中所述LCVR包含任何列于表2的LCVR氨基酸序列的氨基酸序列。在一些实施方案中,核酸分子包含多核苷酸序列,其选自任何列于表3的HCVR核酸序列或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的其基本上相似的序列,和多核苷酸序列,其选自任何列于表3的LCVR核酸序列或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的其基本上相似的序列。在一些实施方案中,根据本发明的该方面,核酸分子编码HCVR和LCVR,其中所述HCVR和LCVR都源自列于表2的相同抗MERS-CoV-S抗体。

[0042] 本发明提供编码任何列于表2的重链氨基酸序列的核酸分子。本发明还提供编码任何列于表2的轻链氨基酸序列的核酸分子。

[0043] 在相关方面,本发明提供能够表达含有抗MERS-CoV-S抗体的重链和轻链可变区的多肽的重组表达载体。例如,本发明包括重组表达载体,其包含任何上文提及的核酸分子,即编码任何列于表3的HCVR、LCVR和/或CDR序列的核酸分子。还包括在本发明的范围内的是

其中已引入所述载体的宿主细胞以及通过在允许抗体或抗体片段产生的条件下培养宿主细胞而生产抗体或其部分,并回收如此产生的抗体和抗体片段的方法。

[0044] 第三方面,本发明提供药物组合物,其包含治疗上有效量的至少一种重组单克隆抗体或其抗原结合片段和药物上可接受的载体,所述单克隆抗体或其抗原结合片段特异性结合MERS-CoV刺突蛋白。在相关方面,本发明特征为一种组合物,其为抗MERS-CoV-S抗体和第二治疗剂的组合。在一个实施方案中,第二治疗剂是利地与抗MERS-CoV-S抗体组合的任何作用剂。可利地与抗MERS-CoV-S抗体组合的示例性作用剂包括但不限于结合和/或抑制MERS-CoV活性的其他作用剂(包括其他抗体或其抗原结合片段等)和/或不直接结合MERS-CoV-S但抑制病毒活性包括宿主细胞感染性的作用剂。在一些实施方案中,本发明提供药物组合物,所述药物组合物包含:(a)第一抗MERS-CoV-S抗体或其抗原结合片段;(b)第二抗MERS-CoV-S抗体或其抗原结合片段,其中第一抗体结合MERS-CoV刺突蛋白上的第一表位且第二抗体结合MERS-CoV刺突蛋白上的第二表位,其中第一和第二表位是不同且非重叠的;和(c)药物上可接受的载剂或稀释剂。在一些实施方案中,本发明提供药物组合物,其包含:(a)第一抗MERS-CoV-S抗体或其抗原结合片段;(b)第二抗MERS-CoV-S抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗体不与第二抗体交叉竞争与MERS-CoV刺突蛋白的结合;和(c)药物上可接受的载剂或稀释剂。涉及本发明的抗MERS-CoV-S抗体的其他组合疗法和共配制剂在本文的他处公开。

[0045] 第四方面,本发明提供用于治疗受试者中与MERS-CoV有关的疾病或病症如病毒感染的治疗方法,其使用本发明的抗MERS-CoV-S抗体或抗体的抗原结合部分,其中所述治疗方法包括将治疗上有效量的含有本发明的抗体或抗体的抗原结合片段的药物组合物施用于对其有需要的受试者。治疗的病症是通过抑制MERS-CoV活性改善、缓解、抑制或预防的任何疾病或病况。在一些实施方案中,本发明提供预防、治疗或缓解MERS-CoV感染的至少一种症状的方法,所述方法包括将治疗上有效量的本发明的抗MERS-CoV-S抗体或其抗原结合片段施用于对其有需要的受试者。在一些实施方案中,本发明提供通过施用本发明的抗MERS-CoV-S抗体缓解或减少受试者中的MERS感染的至少一种症状或适应症的严重性的方法,其中所述至少一种症状或适应症选自下组:肺部炎症、肺泡损伤、发热、咳嗽、呼吸浅短、腹泻、器官衰竭、肺炎、败血性休克和死亡。在一些实施方案中,本发明提供减少受试者中病毒载量的方法,其包括对受试者施用有效量的本发明的抗体或其片段,所述抗体或其片段结合MERS-CoV-S并阻断MERS-CoV-S与宿主细胞受体DPP4的结合。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可预防性或治疗性施用于具有MERS感染或处于具有MERS感染的风险的受试者。处于风险的受试者包括但不限于免疫功能低下的个体、老年人(大于65岁)、小于2岁的儿童、至中东地区(如沙特阿拉伯、阿拉伯联合酋长国、卡塔尔等)的旅行者、医护人员、与确认具有或疑似具有MERS感染的人密切接触的成人或儿童,和具有潜在的医疗病况(如肺部感染、心脏病或糖尿病)的人。在一些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段与第二治疗剂组合施用于对其有需要的受试者。第二治疗剂可选自下组:抗炎症药物(如皮质类固醇和非甾体抗炎症药物)、抗病毒药物、针对MERS-CoV刺突蛋白的不同的抗体、抗病毒药物、对于MERS-CoV的疫苗、膳食补充剂如抗氧化剂和本领域已知的任何其他药物或疗法。在一些实施方案中,第二治疗剂可为帮助抵消或减少与本发明的抗体或其抗原结合片段有关的任何可能的副作用(如果这种副作用会发生)的作用剂。抗体或其片段可通过皮下、静脉内、

皮内、腹膜内、口服、肌内或颅内施用。在一个实施方案中,抗体可作为单静脉输注用于抗体在受试者血清中的最大浓度。抗体或其片段可以约0.1mg/kg至约100mg/kg受试者体重的剂量施用。在一些实施方案中,本发明的抗体可以包含50mg-600mg的一个或多个剂量施用。

[0046] 本发明还包括本发明的抗MERS-CoV-S抗体或其抗原结合片段在制造用于治疗将从阻断MERS-CoV结合和/或活性获益的疾病或病症的药物中的用途。

[0047] 其他实施方案基于随后的发明详述将变得显而易见。

[0048] 附图简述

[0049] 图1的表列举了抗体杂交瘤上清(通过其样品ID在列1中列举)及其在结合、阻断和中和测定中的特征。如本文他处所述。

[0050] 图2的矩阵显示抗体交叉竞争测定结果,其中将第一抗MERS-CoV-S抗体(mAb-1)应用至MERS RBD涂覆的传感器尖端,随后用第二抗MERS-CoV-S抗体(mAb-2)处理。描述了测定的每种抗体组合的结合响应(数值-0.05至0.64)。具有黑色字体的浅灰色框代表自身竞争的结合响应。不依赖于抗原结合的顺序在两个方向中竞争的抗体以白色字体在黑色框中高亮。指示不同结合区的无竞争以黑色字体的白色框代表。在结合中显示大于0.18nm移动的抗体不与另一种交叉竞争。

[0051] 图3的矩阵显示抗体交叉竞争测定结果,其中将第一抗MERS-CoV-S抗体(mAb-1)应用至MERS RBD涂覆的传感器尖端,随后用第二抗MERS-CoV-S抗体(mAb-2)处理。描述了测定的每种抗体组合的结合响应(数值-0.01至0.55)。黑色字体的浅灰色框代表自身竞争的结合响应。不依赖于抗原结合的顺序在两个方向中竞争的抗体以白色字体在黑色框中高亮。指示不同结合区的无竞争以黑色字体的白色框代表。在结合中显示大于0.14nm移动的抗体不与另一种交叉竞争。

[0052] 图4显示在感染后的第2天和第4天在人源化的DPP4小鼠中,MERS-CoV转录物(包膜基因-UpE的基因组上游的转录mRNA)的定量PCR。

[0053] 图5显示在感染后的第2天和第4天在人源化的DPP4小鼠中,MERS-CoV转录物(MERS-CoV基因组-先导序列)的定量PCR。

[0054] 图6显示在感染后第4天感染的小鼠肺的MERS-CoV病毒滴度的量化。量化小鼠肺MERS-CoV水平并表示为pfu/ml均质化的小鼠肺。

[0055] 图7显示来自以MERS-CoV感染前一天,用200 $\mu$ g、20 $\mu$ g或2 $\mu$ g的H1H15211P或H1H15277N抗体或用hIgG同型对照处理的小鼠的肺的MERS-CoV转录物(包膜基因-UpE的基因组上游的转录mRNA)的定量PCR。全部样品与设置为100%的hIgG1同型对照进行比较。

[0056] 图8显示来自以MERS-CoV感染前一天,用200 $\mu$ g、20 $\mu$ g或2 $\mu$ g的H1H15211P或H1H15277N抗体或用hIgG同型对照处理的小鼠的肺的MERS-CoV转录物(MERS-CoV基因组-先导序列)的定量PCR。全部样品与设置为100%的hIgG1同型对照进行比较。

[0057] 图9显示如通过噬斑测定量化的肺中的病毒滴度分析,且报告为pfu/ml(来自以MERS-CoV感染前一天,用200 $\mu$ g、20 $\mu$ g或2 $\mu$ g的H1H15211P或H1H15277N抗体或用hIgG同型对照处理的小鼠的肺)。全部样品与设置为100%的hIgG1同型对照进行比较。

[0058] 图10显示来自以MERS-CoV感染前一天,用200 $\mu$ g、20 $\mu$ g或2 $\mu$ g的H1H15211P或H1H15277N抗体或用hIgG同型对照处理的小鼠的肺的组织学分析的炎症评分。

[0059] 图11显示来自在以MERS-CoV感染后一天用200 $\mu$ g或500 $\mu$ g的H1H15211P或hIgG同型

对照或在以MERS-CoV感染前一天用200 $\mu$ g的H1H15211P处理的小鼠的肺的MERS-CoV转录物(包膜基因-UpE的基因组上游的转录mRNA)的定量PCR。全部样品与设置为100%的hIgG1同型对照进行比较。

[0060] 图12显示来自在MERS-CoV感染后一天用200 $\mu$ g或500 $\mu$ g的H1H15211P或hIgG同型对照或在以MERS-CoV感染前一天用200 $\mu$ g的H1H15211P处理的小鼠的肺的MERS-CoV转录物(MERS-CoV基因组-先导序列)的定量PCR。全部样品与设置为100%的hIgG1同型进行比较。

[0061] 图13显示通过噬斑测定量化的肺中的病毒滴度分析,且报告为pfu/ml(来自MERS-CoV感染后一天用200 $\mu$ g或500 $\mu$ g的H1H15211P或hIgG同型对照或在以MERS-CoV感染前一天用200 $\mu$ g的H1H15211P处理的小鼠的肺)。全部样品与设置为100%的hIgG1同型进行比较。

[0062] 图14显示来自以MERS-CoV感染后一天用200 $\mu$ g或500 $\mu$ g的H1H15211P或hIgG同型对照处理的小鼠的肺的组织学分析的炎症评分。

[0063] 发明详述

[0064] 描述本发明的方法前,应该理解的是本发明不限于具体的方法和描述的实验条件,因为这些方法和条件可以变化。还应该理解的是本文使用的术语仅出于描述具体实施方案的目的,且并非意欲为限制性的,而本发明的范围将仅受所附的权利要求限制。

[0065] 除非另外限定,本文使用的全部技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员所通常理解的相同的含义。尽管与本文所述的那些相似或等同的任何方法和材料可用于实践或测试本发明,现在描述优选的方法和材料。本文提及的全部出版物通过提述以其整体并入本文。

[0066] 定义

[0067] 术语“MERS-CoV”也称作“MERS冠状病毒”,指新发生的中东呼吸综合征-冠状病毒,其首先在2012年于阿拉伯半岛分离(Zaki等2012,NEJM 367:1814-1820)并鉴定为严重的急性呼吸疾病的暴发的原因。其最初称为人冠状病毒-EMC(伊拉斯姆斯医疗中心;hCoV-EMC)。它属于 $\beta$ 冠状病毒谱系2c且引起严重的呼吸疾病,与2002年在中国发生的严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)相似。MERS冠状病毒已发现与在蝙蝠和骆驼中发现的冠状病毒密切相关。其经由病毒刺突蛋白与人宿主细胞受体二肽基肽酶4(DPP4)结合。MERS-CoV刺突蛋白已发现与其他物种的DPP4结合,特别是蝙蝠和骆驼(Raj等2013,Nature 495:251-254)。

[0068] 术语“MERS-CoV-S”也称为“S蛋白”,指MERS冠状病毒的刺突蛋白。MERS-CoV刺突蛋白是1353个氨基酸的I型膜糖蛋白,其装配成为三体,构成包膜MERS冠状病毒颗粒的表面的刺突或垂体。蛋白具有两种基本功能,宿主受体结合和膜融合,其有助于S蛋白N末端(S1,氨基酸残基1-751)和C末端(S2,氨基酸残基752-1353)的两半。MERS-CoV-S与其同源受体二肽基肽酶4(DPP4)经由存在于S1亚基的约230个氨基酸长的受体结合域(RBD)结合。Mou等(2013)已在J.Virology(87卷,第9379-9383页)中显示MERS-CoV RBD位于刺突蛋白的残基358-588内。全长MERS-CoV刺突蛋白的氨基酸序列由GenBank中以登录号AFS88936.1(SEQ ID NO:457)提供的MERS-CoV分离株EMC/2012的刺突蛋白的氨基酸序列示例。术语“MERS-CoV-S”还包括分离自下述不同MERS-CoV分离株的MERS-CoV刺突蛋白的蛋白变体:例如Jordan-N3/2012、England-Qatar/2012、Al-Hasa\_1\_2013、Al-Hasa\_2\_2013、Al-Hasa\_3\_2013、Al-Hasa\_4\_2013、Al-Hasa\_12、Al-Hasa\_15、Al-Hasa\_16、Al-Hasa\_17、Al-Hasa\_18、Al-Hasa\_19、Al-Hasa\_21、Al-Hasa\_25、Bisha\_1、Buraidah\_1、England 1、Hafr-Al-Batin\_

1、Hafr-Al-Batin\_2、Hafr-Al-Batin\_6、Jeddah\_1、KFU-HKU 1、KFU-HKU 13、Munich、Qatar3、Qatar4、Riyadh\_1、Riyadh\_2、Riyadh\_3、Riyadh\_3、Riyadh\_4、Riyadh\_5、Riyadh\_9、Riyadh\_14、Taif\_1、UAE和Wadi-Ad-Dawasir。术语“MERS-CoV-S”包括重组MERS-CoV刺突蛋白或其片段。术语还涵盖与下述偶联的MERS-CoV刺突蛋白或其片段：例如组氨酸标签、小鼠或人Fc或信号序列如ROR1。例如，术语包括通过SEQ ID NO: 458所示序列示例的序列，其在C末端包括与全长MERS-CoV刺突蛋白的氨基酸残基367-606偶联的小鼠Fc (mIgG2a) 或人 (hIgG1)。术语还包括与全长MERS-CoV刺突蛋白的氨基酸残基367-606偶联的蛋白变体，所述蛋白变体在C末端包含组氨酸标签。

[0069] 术语“DPP4”指二肽基肽酶4，一种MERS-CoV的受体。DPP4是以二聚体形式在细胞表面上存在的766个氨基酸的II型跨膜糖蛋白。它是切割脯氨酸残基后来自激素和趋化因子的二肽的外肽酶，由此调节激素和趋化因子的生物活性。在人中，DPP4主要表达在肾、小肠、肝和前列腺中的上皮细胞上，上和下呼吸道中的纤毛和非纤毛细胞上和免疫细胞上（即CD4+、CD8+、树突细胞和巨噬细胞）。除非指定为来自非人物种，如本文使用的术语“DPP4”意为人DPP4。

[0070] 如本文使用的也表征为中东呼吸综合症的术语“MERS感染”或“MERS-CoV感染”指由MERS冠状病毒引起的严重急性呼吸性疾病且最初在2013年于沙特阿拉伯报导。术语包括呼吸道感染，经常在下呼吸道。症状包括高热、咳嗽、呼吸浅短、肺炎、胃肠症状如腹泻、器官衰竭（肾衰竭和肾功能不全）、败血性休克和严重情况下的死亡。

[0071] 如本文使用的术语“抗体”意在指由四条多肽链组成的免疫球蛋白分子（其中两条重链（H）和两条轻链（L）通过二硫键相互连接（即“完整的抗体分子”）），以及其多聚体（例如IgM）或其抗原结合片段。每条重链由重链可变区（“HCVR”或“V<sub>H</sub>”）和重链恒定区（由结构域C<sub>H1</sub>、C<sub>H2</sub>和C<sub>H3</sub>组成）组成。每条轻链由轻链可变区（“LCVR”或“V<sub>L</sub>”）和轻链恒定区（C<sub>L</sub>）组成。V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>区可进一步细分为称为互补决定区（CDR）的高变区，其间插有更保守的区域称为框架区（FR）。每个V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>由三个CDR和四个FR组成，以下列顺序从氨基末端至羟基末端排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本发明的一些实施方案中，抗体（或其抗原结合片段）的FR可与人种系序列相同或可经天然或人工修饰。氨基酸共有序列可基于两个或多个CDR并排分析定义。

[0072] 一个或多个CDR残基的取代或一个或多个CDR的省略也是可能的。抗体已在科学文献中进行描述，其中一个或多个CDR可免除用于结合。Padlan等（1995 FASEB J. 9:133-139）基于公开的晶体结构分析了抗体和其抗原的接触区，并得出结论仅约1/5-1/3的CDR残基实际上接触抗原。Padlan还发现许多抗体其中的一个或两个CDR没有氨基酸接触抗原（还参见Vajdos等2002 J Mol Biol 320:415-428）。

[0073] 不接触抗原的CDR残基可基于之前的研究（例如CDRH2中的残基H60-H65经常是不需要的）从位于Chothia CDR外的Kabat CDR的区域通过分子建模和/或经验鉴定。如果CDR或其残基省略，其通常由在另一人抗体序列或该序列的共有序列中占据相应位置的氨基酸取代。用于在CDR内取代的位置和待取代的氨基酸也可凭经验选择。经验取代可以是保守或非保守取代。

[0074] 本文公开的全长的人抗MERS-CoV-S单克隆抗体相比对应的种系序列可在重链和轻链可变域的在框架区和/或CDR区包含一个或多个氨基酸取代、插入和/或缺失。这种突变

可通过将本文公开的氨基酸序列与从例如公开的抗体序列数据库获得的种系序列进行比较而容易地确定。本发明包括抗体及其抗原结合片段,其源自本文公开的任何氨基酸序列,其中在一个或多个框架区和/或CDR区内的一个或多个氨基酸突变为抗体所来源的种系序列的相应残基,或突变为另一人种系序列的相应残基,或突变为相应种系残基的保守氨基酸取代(该序列的变化在本文统称为“种系突变”)。本领域的技术人员以本文公开的重链和轻链可变区起始可容易地生成众多抗体和抗原结合片段,其包含一个或多个单独的种系突变或其组合。在一些实施方案中,在 $V_H$ 和/或 $V_L$ 结构域内的全部框架和/或CDR残基回复突变为在抗体所来源的最初种系序列中发现的残基。在其他实施方案中,仅一些残基回复突变为最初的种系序列,例如仅在FR1的最初8个氨基酸内或FR4的最后8个氨基酸内发现的突变的残基,或仅在CDR1、CDR2或CDR3内发现的突变的残基。在其他实施方案中,一个或多个框架和/或CDR残基突变为不同种系序列的相应残基(即不同于抗体最初来源的种系序列的种系序列)。此外,本发明的抗体可包含在框架区和/或CDR区内的两个或多个种系突变的任何组合,例如其中一些单独的残基突变为特定种系序列的相应残基而一些不同于最初种系序列的其他残基保留或突变为不同种系序列的相应残基。一旦获得,可容易地对包含一个或多个种系突变的抗体和抗原结合片段的一种或多种合意的特征进行测试,如改善的结合特异性、增加的结合亲和力、改善或增强的拮抗或激动生物特性(视情况可定)、减少的免疫原性等。以该一般方式获得的抗体和抗原结合片段涵盖在本发明内。

[0075] 本发明还包括全长的人抗MERS-CoV-S单克隆抗体,其包含本文公开的任何HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的具有一个或多个保守取代的变体。例如,本发明包括抗MERS-CoV抗体,其具有的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列相对本文公开的任何HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列具有例如10个以下、8个以下、6个以下、4个以下等的保守氨基酸取代。

[0076] 如本文使用的术语“人抗体”意在包括具有源自人种系免疫球蛋白序列的可变和恒定区的抗体。本发明的人mAb可包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如由随机或体外位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变),例如在CDR中且特别是在CDR3中。然而,如本文使用的术语“人抗体”并非意在包括其中CDR源自另一哺乳动物物种(例如小鼠)的种系的CDR序列已植入人FR序列上的mAb。术语包括在非人哺乳动物或在非人哺乳动物细胞中重组产生的抗体。术语并非意在包括分离自人受试者或在其中生成的抗体。

[0077] 如本文使用的术语“重组”指本发明的抗体或其抗原结合片段,其通过本领域已知的技术或方法生成、表达、分离或获得,如重组DNA技术(其包括例如DNA剪接和转基因表达)。术语指表达在非人哺乳动物(包括转基因非人哺乳动物例如转基因小鼠)或细胞(例如CHO细胞)表达系统中或分离自重组组合性人抗体文库的抗体。

[0078] 术语“特异性结合”或“特异性地与...结合”等意为抗体或其抗原结合片段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 $1 \times 10^{-8} M$ 或更小的平衡解离常数表征(例如更小的 $K_D$ 表示更紧密的结合)。用于确定两分子是否特异性结合的方法为本领域已知且包括例如平衡透析、表面等离子体共振等。如本文所述,抗体已通过表面等离子体共振鉴定,例如BIACORE™,其特异性地与MERS-CoV-S结合。此外,结合MERS-CoV-S中的一个结构域和一种或多种其他抗原的多特异性抗体或结合MERS-CoV-S的两个不同的区的双特异性抗体也认为是如本文所使用的“特异性结合”的抗体。

[0079] 术语“高亲和力”抗体指具有与MERS-CoV-S的结合亲和力的那些mAb,以至少 $10^{-8}$ M,优选 $10^{-9}$ M;更优选 $10^{-10}$ M,进一步优选 $10^{-11}$ M,更优选 $10^{-12}$ M的 $K_D$ 表示,如通过表面等离子体共振例如BIAcore™或溶液亲和力ELISA所测量的。

[0080] 术语“慢速率”、“Koff”或“kd”意为从MERS-CoV解离的抗体,具有 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 或更小,优选 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 或更小的速率常数,如通过表面等离子体共振例如BIAcore™所确定的。

[0081] 如本文使用的术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括任何天然存在的、酶学可获得的、合成的或基因工程的特异性结合抗原以形成复合物的多肽或糖蛋白。如本文使用的术语抗体的“抗原结合片段”或“抗体片段”指抗体的保持与MERS-CoV刺突蛋白结合的能力的一个或多个片段。

[0082] 在特定的实施方案中,本发明的抗体或抗体片段可与如配体的部分或治疗性部分(“免疫缀合物”)如抗病毒药物、第二抗MERS-CoV-S抗体、或可用于治疗MERS-CoV引起的感染的任何其他治疗部分偶联。

[0083] 如本文使用的“分离的抗体”意在指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体(Ab)的抗体(例如特异性结合MERS-CoV-S的分离的抗体或其片段基本上不含特异性结合除MERS-CoV-S外的抗原的Ab)。

[0084] 如本文使用的“阻断抗体”或“中和抗体”(或“中和MERS-CoV-S活性的抗体”或“拮抗抗体”)意在指其与MERS-CoV-S的结合导致MERS-CoV的至少一种生物活性抑制的抗体。例如本发明的抗体可防止或阻断MERS-CoV与DPP4的结合。

[0085] 如本文使用的术语“表面等离子体共振”指通过检测生物传感器基质内蛋白浓度的改变允许对实时生物分子相互作用进行分析的光学现象,例如使用BIAcore™系统(Pharmacia Biosensor AB,Uppsala,Sweden and Piscataway,N.J.)。

[0086] 如本文使用的术语“ $K_D$ ”意在指特定抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。

[0087] 术语“表位”指与已知为互补位的抗体分子的可变区中特异性抗原结合位点相互作用的抗原决定区。单抗原可具有多于一个的表位。因此,不同的抗体可结合抗原上的不同区域且可具有不同的生物效应。术语“表位”还指在抗原上B和/或T细胞对其响应的位点。其还指由抗体所结合的抗原的区。表位可由结构或功能定义。功能性表位一般是结构表位的子集且具有直接有助于相互作用亲和性的那些残基。表位还可以是构象性的,即,由非线性氨基酸构成。在一些实施方案中,表位可包括下述分子的化学活性表面组合的决定区:如氨基酸、糖侧链、磷酸基或磺酰基,且在一些实施方案中,可具有特定的三维结构特征和/或特定的电荷特征。

[0088] 如本文使用的术语“交叉竞争”意为与抗原结合并抑制或阻断其与另一抗体或其抗原结合片段结合的抗体或其抗原结合片段。术语还包括两种抗体间以两种方向的竞争,即结合并阻断第二抗体结合的第一抗体,反之亦然。在一些实施方案中,第一抗体和第二抗体可与相同的表位结合。可替换地,第一和第二抗体可与不同但重叠的表位结合,从而一者的结合抑制或阻断第二抗体的结合,例如经由空间位阻。抗体间的交叉竞争可通过本领域已知的方法测量,例如,通过实时、无标记生物层干涉测定。两抗体间的交叉竞争可表示为少于由于自身-自身结合所致的背景信号的第二抗体的结合(其中第一和第二抗体是相同的抗体)。2种抗体间的交叉竞争可表示为例如少于基线自身-自身背景结合的第二抗体的结合%(其中第一和第二抗体是相同的抗体)。

[0089] 当指代核酸或其片段时,术语“基本同一性”或“基本上相同”指示当与另一核酸(或其互补链)以适当的核酸插入或缺失而最佳比对时,存在至少约90%,且更优选至少约95%、96%、97%、98%或99%的核苷酸碱基的核苷酸序列同一性,如通过已知的序列同一性算法,如FASTA、BLAST或GAP所测量的,如下文所讨论的。与参照核酸具有较大同一性的核酸分子在一些实例中可编码具有与由参照核酸分子编码的多肽相同或基本上相似的氨基酸序列的多肽。

[0090] 当应用至多肽时,术语“基本相似性”或“基本上相似”意为当最佳比对时,如通过程序GAP或BESTFIT使用默认缺口权重,两种肽序列分享至少90%的序列同一性,甚至更优选地至少95%、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取代区分。“保守的氨基酸取代”是其中氨基酸残基通过另一具有侧链(R基)的氨基酸残基(拥有相似化学特征(例如电荷或疏水性))取代的一种。一般而言,保守的氨基酸取代将基本上不改变蛋白的功能性特征。在其中两个或多个氨基酸序列彼此通过保守取代不同的情况中,相似性的百分比或程度可向上调整以对于取代的保守性质进行校正。进行该调整的方式为本领域的技术人员已知。参见例如Pearson(1994) *Methods Mol. Biol.* 24:307-331,其在本文通过提述并入。具有拥有相似化学特征的侧链的氨基酸组的实例包括1) 脂肪族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;2) 脂肪族-羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;3) 含酰胺侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;4) 芳香族侧链: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:天冬氨酸和谷氨酸和7) 含硫侧链:半胱氨酸和甲硫氨酸。优选的保守氨基酸取代基为: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。可替换地,保守替换是在Gonnet等(1992) *Science* 256:1443-45公开的PAM250log-可能性矩阵中具有阳性值的任何变化,其在本文通过提述并入。“中度保守”替换是在PAM250log-可能性矩阵中具有阴性值的任何变化。

[0091] 多肽的序列相似性通常使用序列分析软件测量。蛋白分析软件使用分配于多种取代、缺失和其他修饰(包括保守的氨基酸取代)的相似性量度匹配相似的序列。例如,GCG软件包含程序如GAP和BESTFIT,其可以默认的参数使用以在密切相关的多肽(如来自生物体不同物种的同源多肽或在野生型蛋白和其突变蛋白之间)中确定序列同源性或序列同一性。参见例如GCG版本6.1。多肽序列还可使用FASTA以默认或推荐的参数比较;GCG版本6.1中的程序。FASTA(例如FASTA2和FASTA3)提供查询和搜索序列间最佳重叠的区的比对和百分比序列同一性(Pearson(2000)同上)。当将本发明的序列与包含大量来自不同生物体的序列的数据库比较时,另一优选的算法是计算机程序BLAST,特别是使用默认参数的BLASTP或TBLASTN。参见例如Altschul等(1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410和(1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402,其每一篇通过提述并入本文。

[0092] 表述“治疗上有效的量”意为将其施用以产生合意效果的量。精确的量将取决于治疗目的,且将由本领域的技术人员使用已知的技术确认(参见例如,Lloyd(1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*)。

[0093] 如本文使用的术语“受试者”指需要缓解、预防和/或治疗疾病或病症如病毒感染的动物,优选哺乳动物,更优选人。术语包括具有MERS感染或处于具有MERS感染风险的人受试者。

[0094] 如本文使用的术语“治疗(treat、treating或treatment)”指由于将治疗剂如本发明的抗体施用于对其有需要的受试者所致的MERS感染的至少一种症状或适应症的严重性的减少或缓解。术语包括疾病进展或感染恶化的抑制。术语还包括疾病的阳性预后,即当施用治疗剂如本发明的抗体时,受试者可无感染或可具有减少的病毒滴度或无病毒滴度。治疗剂可以治疗剂量施用于受试者。

[0095] 术语“预防/防止(prevent、preventing或prevention)”指当施用本发明的抗体时,MERS感染的表现或MERS感染的任何症状或适应症的抑制。术语包括暴露于病毒或处于具有MERS感染的风险的受试者中感染传播的预防。

[0096] 如本文使用的术语“抗病毒药物”指使用以治疗、预防或缓解受试者中感染的任何抗感染药物或疗法。术语“抗病毒药物”包括但不限于利巴韦林、奥司他韦、扎那米韦、干扰素- $\alpha$ 2b、镇痛药和皮质类固醇。在本发明的语境中,病毒感染包括由人冠状病毒(包括但不限于MERS-CoV、HCoV\_229E、HCoV\_NL63、HCoV-OC43、HCoV\_HKU1和SARS-CoV)引起的感染。

[0097] 一般性描述

[0098] 用于预防或治疗感染性疾病的被动免疫治疗已使用超过一个世纪,经常以包含中和抗体的高滴度的恢复期人血清的形式使用(Good等1991;Cancer 68:1415-1421)。现今,多次纯化的单克隆抗体作为抗微生物剂使用目前处于临床前和临床开发(Marasco等2007; Nature Biotechnology 25:1421-1434)中。

[0099] 发明人在本文描述了全长的人抗体及其抗原结合片段,其特异性地与MERS-CoV-S结合并调节MERS-CoV-S与DPP4的相互作用。抗MERS-CoV-S抗体可以高亲和力结合MERS-CoV-S。在一些实施方案中,本发明的抗体是阻断抗体,其中所述抗体可与MERS-CoV-S结合且可阻断MERS-CoV-S与DPP4的相互作用。在一些实施方案中,本发明的阻断抗体可阻断MERS-CoV-S与DPP4的结合和/或抑制或中和宿主细胞的病毒感染性。在一些实施方案中,阻断抗体可用于治疗罹患MERS感染的受试者。在一些实施方案中,不交叉竞争与刺突蛋白的结合的所选抗体作为鸡尾酒组合使用以减少病毒响应来自每种组分的选择性压力经由突变逃脱的能力。当施用于对其有需要的受试者时,抗体可减少被病毒如受试者中的MERS-CoV感染。其可用于减少受试者中的病毒载量。其可单独使用,或作为辅助疗法与用于治疗病毒感染的其他治疗部分或本领域已知的模态使用。本文还显示这些抗体与在S蛋白上的表位结合,所述S蛋白在过去的2年中在病毒天然进化过程中是保守的。此外,用新的转基因小鼠模型证明了鉴定的抗体可在接种后的治疗方案中预防性地保护小鼠免于感染以及缓解之前确立的感染。在实施例7中,显示感染前1天施用抗MERS-CoV-S抗体能够将MERS-CoV复制减少至接近活病毒测定中的检测水平和在病毒RNA测定中减少3log。该抗体证明了剂量依赖性保护,由于在感染前24小时给予的更低剂量的抗体能够将MERS-CoV阻断至更少的程度。此外,肺部组织的组织学分析证明了用抗体预处理的小鼠显示减少的MERS-CoV诱导的支气管周围皱缩、肺泡壁增厚和总体炎症病灶。

[0100] 全长MERS-CoV刺突蛋白的全长氨基酸序列在SEQ ID NO:457中显示。在一些实施方案中,本发明的抗体获得自用初级免疫原如全长的MERS-CoV刺突蛋白(SEQ ID NO:457)免疫的小鼠,或用重组形式的MERS-CoV-S或修饰的MERS-CoV-S片段(例如SEQ ID NO:458)免疫的小鼠,随后用二级免疫原或用MERS-CoV-S的免疫活性片段免疫。

[0101] 免疫原可以是MERS-CoV-S的生物活性和/或免疫原性片段或编码其活性片段的

DNA。所述片段可源自MERS-CoV-S的N末端或C末端。在本发明的一些实施方案中,免疫原是SEQ ID NO:457的氨基酸残基367-606的MERS-CoV-S片段。

[0102] 可修饰肽以包括一些残基的添加或取代用于标记或出于与载体分子如KLH偶联的目的。例如,半胱氨酸可添加在肽的N末端或C末端,或可添加接头序列以制备用于与例如KLH偶联用于免疫的肽。

[0103] 本发明的一些抗MERS-CoV-S抗体能够结合MERS-CoV-S以中和其活性,如通过体外或体内测定所确定的。本发明的抗体结合MERS-CoV-S并中和其活性的能力可使用本领域的技术人员已知的任何标准方法测量,包括本文所述的结合测定或活性测定。

[0104] 用于测量结合和阻断活性的非限制性、示例性的体外测定在本文的实施例4-5中说明。在实施例4中,针对MERS-CoV-S的抗MERS-CoV-S抗体的结合亲和力和解离常数通过表面等离子体共振测定确定。在实施例5中,使用中和测定以确定包含MERS-CoV刺突蛋白病毒样颗粒的感染性。

[0105] 特异性针对MERS-CoV-S的抗体可不包含其他标记或部分,或其可包含N末端或C末端的标记或部分。在一个实施方案中,所述标记或部分为生物素。在结合测定中,标记(如果存在的话)的位置可确定肽相对肽所结合的表面的方向。例如,如果表面用抗生物素蛋白涂覆,包含N末端生物素的肽将被定向从而肽的C末端部分将远离表面。在一个实施方案中,标记可以是放射性核素、荧光染料或MRI可检测的标记。在一些实施方案中,这种标记的抗体可在诊断测定包括成像测定中使用。

[0106] 抗体的抗原结合片段

[0107] 除非特别另外指示,本文使用的术语“抗体”将理解为涵盖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“全长的抗体分子”)及其抗原结合片段。本文使用的术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括天然存在的、酶学可获得的、合成的或基因工程的多肽或糖蛋白,其特异性地结合抗原以形成复合物。术语抗体的“抗原结合片段”或“抗体片段”指一种或多种保持特异性与MERS-CoV刺突蛋白结合的能力的抗体片段。抗体片段可包括Fab片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、Fv片段、dAb片段、包含CDR的片段或分离的CDR。在一些实施方案中,术语“抗原结合片段”指多重特异性抗原结合分子的多肽片段。抗体的抗原结合片段可使用任何合适的标准技术如蛋白水解消化或重组基因工程技术源自例如全长的抗体分子,所述技术涉及编码抗体可变和(任选的)恒定域的DNA的操纵和表达。这些DNA为已知的和/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)得到,或可为合成的。DNA可测序并通过使用分子生物技术化学操纵,例如以将一个或多个可变和/或恒定域排列成为合适的配置,或以引入密码子、生成半胱氨酸残基、修饰、添加或缺失氨基酸等。

[0108] 抗原结合片段的非限制性实例包括:(i) Fab片段;(ii) F(ab')<sub>2</sub>片段;(iii) Fd片段;(iv) Fv片段;(v) 单链Fv(scFv)分子;(vi) dAb片段和(vii) 由模拟抗体高变区的氨基酸残基组成的最小识别单元(例如分离的互补决定区(CDR)如CDR3肽)或受限的FR3-CDR3-FR4肽。其他工程化的分子如结构域特异性抗体、单结构域抗体、结构域缺失的抗体、嵌合抗体、CDR移植的抗体、双抗体、三抗体、四抗体、微抗体、纳米抗体(例如单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小模块免疫药物(SMIP)和鲨鱼可变IgNAR结构域(shark variable IgNAR domain)也涵盖在本文使用的表述“抗原结合片段”内。

[0109] 抗体的抗原结合片段将通常包含至少一个可变域。该可变域可以是任何大小或氨基酸组成且将一般包含至少一个CDR,其与一个或多个框架序列相邻或在与一个或多个框架序列在框架中。在具有与 $V_L$ 结构域相关的 $V_H$ 结构域的抗原结合片段中, $V_H$ 和 $V_L$ 结构域可相对彼此以任何适当的排列进行配置。例如,可变区可以是二聚化的并包含 $V_H$ - $V_H$ 、 $V_H$ - $V_L$ 或 $V_L$ - $V_L$ 二聚体。可替换地,抗体的抗原结合片段可包含单聚 $V_H$ 或 $V_L$ 结构域。

[0110] 在一些实施方案中,抗体的抗原结合片段可包含至少一个可变域,其与至少一个恒定域共价连接。可在本发明的抗体的抗原结合片段内发现的可变和恒定域的非限制性示例性配置包括:(i) $V_H$ - $C_H1$ ; (ii) $V_H$ - $C_H2$ ; (iii) $V_H$ - $C_H3$ ; (iv) $V_H$ - $C_H1$ - $C_H2$ ; (v) $V_H$ - $C_H1$ - $C_H2$ - $C_H3$ ; (vi) $V_H$ - $C_H2$ - $C_H3$ ; (vii) $V_H$ - $C_L$ ; (viii) $V_L$ - $C_H1$ ; (ix) $V_L$ - $C_H2$ ; (x) $V_L$ - $C_H3$ ; (xi) $V_L$ - $C_H1$ - $C_H2$ ; (xii) $V_L$ - $C_H1$ - $C_H2$ - $C_H3$ ; (xiii) $V_L$ - $C_H2$ - $C_H3$ ; 和 (xiv) $V_L$ - $C_L$ 。在可变和恒定域的任何配置中,包括上文列举的任何示例性配置,可变和恒定域可直接彼此连接或可通过全长或部分铰链或接头区连接。铰链区可由至少2(例如5、10、15、20、40、60或更多)个氨基酸组成,其导致在单个的多肽分子中相邻的可变和/或恒定域间柔性或半柔性连接基。此外,本发明的抗体的抗原结合片段可包含任何上文列举的可变和恒定域构造彼此和/或与一个或多个单聚 $V_H$ 或 $V_L$ 结构域(例如通过二硫键)以非共价缔合的同二聚体或异二聚体(或其他多聚体)。

[0111] 而对于全长的抗体分子,抗原结合片段可以是单特异性的或多特异性的(例如双特异性的)。抗体的多特异性抗原结合片段将通常包含至少两个不同的可变域,其中每个可变域能够特异性地结合不同的抗原或在相同抗原上的不同表位。本文公开的任何多特异性抗体形式,包括示例性的双特异性抗体形式可适于在本发明抗体的抗原结合片段的语境中使用本领域可获得的常规技术使用。

[0112] 人抗体的制备

[0113] 用于在转基因小鼠中生成成人抗体的方法为本领域已知。任何这些已知的方法可在本发明的语境中使用以制备特异性与MERS-CoV刺突蛋白结合的人抗体。

[0114] 包含下述任一项的免疫原可用于生成对MERS-CoV刺突蛋白的抗体。在一些实施方案中,本发明的抗体从用全长的天然MERS-CoV刺突蛋白,或用编码其蛋白或片段的DNA获得免疫的小鼠获得(参见例如,GenBank登录号AFS88936.1)(SEQ ID NO:457)。可替换地,刺突蛋白或其片段可使用标准的生化技术产生并修饰和作为免疫原使用。在一个实施方案中,免疫原是MERS-CoV刺突蛋白的受体结合域(S1)。在本发明的一些实施方案中,免疫原是MERS-CoV刺突蛋白的片段,其范围为SEQ ID NO:457的约氨基酸残基367-606。

[0115] 在一些实施方案中,免疫原可以是在大肠杆菌中或任何其他真核或哺乳动物细胞如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中表达的重组MERS-CoV刺突蛋白受体结合域肽。

[0116] 使用VELOCIMMUNE®技术(参见例如,US 6,596,541,Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE®)或任何其他已知的用于生成单克隆抗体的方法,初始分离对MERS-CoV-S的高亲和力嵌合抗体,其具有人可变区和小鼠恒定区。VELOCIMMUNE®技术涉及转基因小鼠的生成,所述小鼠基因组包含与内源性小鼠恒定区基因座可操作连接的人重链和轻链可变区,从而小鼠产生对应抗原性刺激包含小鼠可变区和小鼠恒定区的抗体。分离编码抗体的重链和轻链可变区的DNA并与编码人重链和轻链恒定区的DNA可操作地连接。随后在能够表达全长人抗体的细胞中表达DNA。

[0117] 一般而言,VELOCIMMUNE®小鼠用感兴趣的抗原挑战,并从表达抗体的小鼠

回收淋巴细胞(如B-细胞)。淋巴细胞可与骨髓瘤细胞系融合以制备永生的杂交瘤细胞系,并筛选和选择该杂交瘤细胞系以鉴定产生特异性针对感兴趣抗原的抗体。可分离编码重链和轻链的可变区的DNA并连接至重链和轻链的合意的同型恒定区。这种抗体蛋白可在细胞中产生,如CHO细胞。可替换地,编码抗原特异性嵌合抗体或轻链和重链的可变域的DNA可直接从抗原特异性淋巴细胞分离。

[0118] 最初,分离高亲和性嵌合抗体,其具有人可变区和小鼠恒定区。根据下文实验部分,针对合意的特性包括亲和力、选择性、表位等表征并选择抗体。小鼠恒定区使用合意的人恒定区替换以生成本发明的全长的人抗体,例如野生型或修饰的IgG1或IgG4。由于所选的恒定区可根据特定用途发生变化,高亲和力抗原结合和靶特异性特征取决于可变区。

[0119] 生物等同物

[0120] 本发明的抗MERS-CoV-S抗体和抗体片段涵盖具有不同于所述抗体的氨基酸序列的蛋白,但其仍保持结合MERS-CoV刺突蛋白的能力。当与亲代序列比较时,这种变体抗体和抗体片段包含一个或多个氨基酸添加、缺失或取代,但呈现与所述抗体本质上等同的生物活性。同样地,当与公开的序列比较时,本发明编码抗体的DNA序列涵盖包含一个或多个核苷酸的添加、缺失或取代的序列,但其编码与本发明的抗体或抗体片段本质上生物等同的抗体或抗体片段。

[0121] 如果例如两种抗原结合蛋白或抗体是药物等同物或药物替代物,即当以相同的摩尔浓度(单剂量或多重剂量)在相似的实验环境下施用,其吸收的速率和程度未显示显著差异,则将其认作生物等同。一些抗体将认为是等同物或药物替代物,如果它们在其吸收程度上等同但在其吸收速率上不同但由于这种在吸收速率上的差异是刻意的且反映在标记上,对例如长期使用的有效机体药物浓度的达成并非至关重要,则其可认为是生物等同的且认为是对于研究的特定药物产品在医学上非显著的。

[0122] 在一个实施方案中,如果在其安全性、纯度或效力上不存在临床上有意义的差异时,认为两种抗原结合蛋白是生物等同的。

[0123] 在一个实施方案中,如果患者可在参照产品间转化一次或多次,且与无该转换的持续疗法相比,生物产品无副作用风险的预期增加(包括免疫原性中的临床显著性变化或消除的有效性),则两种抗原结合蛋白是生物等同的。

[0124] 在一个实施方案中,如果在使用情况下其都通过共同的一种作用机制或多种机制发挥作用至该机制已知的程度,则两种抗原结合蛋白是生物等同的。

[0125] 生物等同性可通过体内和/或体外的方法证明。生物等同性的测量包括例如(a)人或其他哺乳动物中的体内测试,其中将在血液、血浆、血清或其他生物体液中测量的抗体或其代谢物的浓度作为时间的函数;(b)体外测试,其与人体内生物利用度数据相关且是对其合理的预测;(c)人或其他哺乳动物中的体内测试,其中抗体(或其靶标)适当的急性药理作用作为时间的函数测量;和(d)在建立安全性、效力或生物利用度或抗体的生物等同性的良好控制的临床试验中。

[0126] 本发明抗体的生物等同变体可通过例如生成残基或序列的不同取代或对于生活活性不需要的末端或内部残基或序列的缺失来构建。例如对于生物活性不必须的半胱氨酸残基可缺失或用其他氨基酸替换以防止复性时不需要的或不正确的分子内二硫桥的形成。其他语境中,生物等同抗体可包括含有氨基酸改变的抗体变体,其修饰抗体的糖基化特性,

例如消除或去除糖基化的突变。

[0127] 包含Fc变体的抗MERS-CoV-S抗体

[0128] 根据本发明的一些实施方案,提供了抗MERS-CoV-S抗体,其包含含有一个或多个增强或消除抗体与FcRn受体结合的突变的Fc结构域(例如相比中性pH在酸性pH)。例如,本发明包括在Fc结构域的C<sub>H</sub>2或C<sub>H</sub>3区中含有突变的抗MERS-CoV-S抗体,其中所述突变在酸性环境中增加Fc结构域与FcRn的亲合力(例如在内涵体中,其中pH为约5.5至约6.0)。当施用于动物时,这种突变可导致抗体血清半衰期的增加。这种Fc修饰的非限制性实例包括例如在位置250(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(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])的修饰,或在位置250和/或428的修饰;或在位置307或308(例如308F、V308F)和434的修饰。在一个实施方案中,所述修饰包含428L(例如M428L)和434S(例如N434S)修饰;428L、259I(例如V259I)和308F(例如V308F)修饰;433K(例如H433K)和434(例如434Y)修饰;252、254和256(例如252Y、254T和256E)修饰;250Q和428L修饰(例如T250Q和M428L);和307和/或308修饰(例如308F或308P)。在另一实施方案其中,修饰包含265A(例如D265A)和/或297A(例如N297A)修饰。

[0129] 例如,本发明包括含有Fc结构域的抗MERS-CoV-S抗体,所述Fc结构域包含一个或多个选自下组的突变对或组: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)。本文公开的抗体可变域内的前述Fc结构域突变和其他突变的全部可能的组合预期在本发明的保护范围内。

[0130] 本发明还包括含有嵌合重链恒定区(C<sub>H</sub>)的抗MERS-CoV-S抗体,其中所述嵌合C<sub>H</sub>区包含源自多于一种免疫球蛋白同型的C<sub>H</sub>区的区段。例如,本发明的抗体可包含嵌合C<sub>H</sub>区,所述嵌合C<sub>H</sub>区含有与源自人IgG1、人IgG2或人IgG4分子的C<sub>H</sub>3结构域的部分或全部组合的源自人IgG1、人IgG2或人IgG4分子的部分或全部C<sub>H</sub>2结构域。根据一些实施方案,本发明的抗体包含具有嵌合铰链区的嵌合C<sub>H</sub>区。例如,嵌合铰链可包含与源自人IgG1、人IgG2或人IgG4分子铰链区的“下铰链”序列(根据EU编号位置228-236的氨基酸残基)组合的源自人IgG1、人IgG2或人IgG4分子铰链区的“上铰链”氨基酸序列(根据EU编号位置216-227的氨基酸残基)。根据一些实施方案,嵌合铰链区包含源自人IgG1或人IgG4上铰链的氨基酸残基和源自人IgG2下铰链的氨基酸残基。在一些实施方案中,包含如本文所述的嵌合C<sub>H</sub>区的抗体可呈现修饰的Fc效应器功能而不负面影响抗体的治疗或药理学特性(参见例如2013年2月1日提交的美国临时申请号61/759,578,其公开内容由此通过提述以其整体并入)。

[0131] 抗体的生物学特性

[0132] 一般而言,本发明的抗体通过与MERS-CoV刺突蛋白结合发挥功能。在一些实施方案中,本发明的抗体以高亲和力与在MERS-CoV的刺突蛋白的受体结合域(RBD)中的一个或多个氨基酸结合。例如,本发明包括以少于20nM的K<sub>D</sub>结合二聚MERS-CoV刺突蛋白RBD(例如在25°C或在37°C)的抗体和抗体的抗原结合片段,如通过表面等离子体共振所测量的,例如使用如本文实施例4所定义的测定形式。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段以少于约20nM、少于约10nM、少于约5nM、少于约2nM、少于约1nM、少于约500pM、少于约250pM或少于

100pM的 $K_D$ 结合二聚MERS-CoV-S,如通过表面等离子体共振所测量的,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。

[0133] 本发明还包括以大于约2.1分钟的解离半衰期( $t_{1/2}$ )结合MERS-CoV刺突蛋白的抗体及其抗原结合片段,如在25°C通过表面等离子体共振所测量的,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。在一些实施方案中,本发明的抗体或抗原结合片段以大于约5分钟、大于约10分钟、大于约30分钟、大于约50分钟、大于约100分钟、大于约150分钟、大于约200分钟或大于约250分钟的 $t_{1/2}$ 结合MERS-CoV刺突蛋白,如在25°C通过表面等离子体共振所测量的,例如使用如本文实施例4所定义的测定形式(例如mAb-捕获或抗原捕获形式),或基本上相似的测定。

[0134] 本发明还包括以大于1.5分钟的解离半衰期( $t_{1/2}$ )结合MERS-CoV刺突蛋白的抗体及其抗原结合片段,如通过在37°C的表面等离子体共振所测量的,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。在一些实施方案中,本发明的抗体或抗原结合片段以大于约2分钟、大于约5分钟、大于约10分钟、大于约25分钟、大于约50分钟、大于约100分钟、大于约150分钟、大于约200分钟的 $t_{1/2}$ 结合MERS-CoV刺突蛋白,如在37°C通过表面等离子体共振所测量的,例如使用如本文实施例4所定义的测定形式(例如mAb-捕获或抗原捕获形式),或基本上相似的测定。

[0135] 本发明还包括阻断大于90%的MERS-CoV-S与DPP4的结合的抗体或其抗原结合片段,如使用基于ELISA的免疫测定所确定的,例如在实施例2中所示,或基本上相似的测定。

[0136] 本发明还包括中和或抑制MERS-CoV对于其宿主细胞的感染性的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体中和MERS-CoV样假颗粒(MERSpp)的感染性。在一些实施方案中,在优化的病毒样假颗粒(VLP)中和测定中,抗体抑制大于90%的人宿主细胞上的MERS-CoV结合,例如在实施例5中所示,或基本上相似的测定。抗体以58.9pM至2.93nM的IC50中和MERSpp感染性。

[0137] 在一些实施方案中,本发明的抗体结合MERS-CoV刺突蛋白的受体结合域或结构域的片段。在一些实施方案中,本发明的抗体可与多于一个结构域结合(交叉反应性抗体)。在一些实施方案中,本发明的抗体可结合位于受体结合域中的包含MERS-CoV-S的氨基酸残基367-606的表位。在一个实施方案中,抗体可结合包含一个或多个选自下组的氨基酸的表位:SEQ ID NO:457中所述的氨基酸残基367-606。

[0138] 在一些实施方案中,本发明的抗体可通过阻断或抑制与MERS-CoV刺突蛋白相关的DPP4-结合活性通过与全长蛋白(SEQ ID NO:457所述的序列)的任何其他区或片段结合而发挥功能。

[0139] 在一些实施方案中,本发明的抗体可以是双特异性抗体。本发明的双特异性抗体可结合一个结构域中的一个表位且还可结合在MERS-CoV刺突蛋白的相同或不同的结构域中的第二表位。在一些实施方案中,本发明的双特异性抗体可结合相同结构域中的两个不同表位。在一个实施方案中,本发明提供特异性结合MERS-CoV刺突蛋白的分离的重组抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其片段呈现一种或多种下列特征:(a)为全长的人单克隆抗体;(b)与在MERS-CoV刺突蛋白的受体结合域中的一个或多个氨基酸残基相互作用,其中所述氨基酸残基选自SEQ ID NO:457的氨基酸残基367-606;(c)与MERS-CoV刺突蛋白以小于18.5nM的解离常数( $K_D$ )结合,如在表面等离子体共振测定中所测量的;(d)阻断MERS-

CoV刺突蛋白与二肽基肽酶4大于90%的结合,如在阻断ELISA测定中所测量的;(e)中和人宿主细胞大于90%的MERS-CoV感染性且具有小于4nM的 $IC_{50}$ ,如在VLP中和测定中所测量的;(f)中和MERS-CoV感染性,其中所述MERS-CoV包含选自下组的病毒的分离株:EMC/2012、Jordan-N3/2012、England-Qatar/2012、Al-Hasa\_1\_2013、Al-Hasa\_2\_2013、Al-Hasa\_3\_2013、Al-Hasa\_4\_2013、Al-Hasa\_12、Al-Hasa\_15、Al-Hasa\_16、Al-Hasa\_17、Al-Hasa\_18、Al-Hasa\_19、Al-Hasa\_21、Al-hasa\_25、Bisha\_1、Buraidah\_1、England 1、Hafr-Al-batin\_1、Hafr-Al-Batin\_2、Hafr-Al-Batin\_6、Jeddah\_1、KFU-HKU 1、KFU-HKU 13、Munich、Qatar3、Qatar4、Riyadh\_1、Riyadh\_2、Riyadh\_3、Riyadh\_3、Riyadh\_4、Riyadh\_5、Riyadh\_9、Riyadh\_14、Taif\_1、UAE和Wadi-Ad-Dawasir;(g)在以MERS-CoV感染的受试者中阻断MERS-CoV体内复制;和(h)为双特异性抗体,其包含与MERS-CoV刺突蛋白的受体结合域中第一表位的第一结合特异性和与MERS-CoV刺突蛋白的受体结合域中第二表位的第二结合特异性,其中所述第一和第二表位是不同的和非重叠的。

[0140] 本发明的抗体可具有一种或多种上述生物学特性,或其任何组合。本发明抗体的其他生物学特性以本文为基础包括本文的工作实施例对本领域的技术人员将变得显而易见。

[0141] 表位映射和相关技术

[0142] 本发明包括抗MERS-CoV-S抗体,其与在MERS-CoV刺突蛋白分子的一个或多个结构域内发现的一个或多个氨基酸相互作用,所述氨基酸包括N末端S1结构域(氨基酸残基1-751)和C末端S2结构域(氨基酸残基752-1353)。抗体与之结合的表位可由位于任何上述MERS-CoV刺突蛋白分子的结构域内的3个或更多(例如3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多)氨基酸的单一连续序列组成(例如结构域中的线性表位)。可替换地,表位可由位于刺突蛋白分子的上述结构域之一或两者内的多个非连续氨基酸(或氨基酸序列)组成(例如构象表位)。

[0143] 本领域的技术人员已知的多种技术可用于确定抗体是否与多肽或蛋白内的“一个或多个氨基酸相互作用”。示例性的技术包括例如,常规的交叉阻断测定,如抗体中所述,Harlow和Lane(Cold Spring Harbor Press,Cold Spring Harbor,NY)。其他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)、肽裂解分析晶体学研究和NMR分析。此外,可采用方法如抗原的表位切除、表位提取和化学修饰(Tomer(2000)Prot.Sci.9:487-496)。可用于鉴定多肽内抗体与之相互作用的氨基酸的另一方法是通过质谱检测的氢/氘交换。一般而言,氢/氘交换的方法涉及氘标记感兴趣的蛋白,随后使抗体与氘标记的蛋白结合。接下来,将蛋白/抗体复合物转移至水并通过抗体复合物保护的氨基酸内的可交换质子以低于并非为界面部分的氨基酸内可交换的质子的速率经历氘至氢的回复交换。结果是,形成蛋白/抗体界面部分的氨基酸可保留氘并因此呈现比未包括在界面内的氨基酸更高的质量。抗体解离后,对靶蛋白进行蛋白酶裂解和质谱分析,由此揭示对应抗体与之相互作用的特定氨基酸的氘标记的残基。参见例如Ehring(1999)Analytical Biochemistry 267:252-259;Engen和Smith(2001)Anal.Chem.73:256A-265A。

[0144] 术语“表位”指B和/或T细胞对其响应的抗原上的位点。B细胞表位可从通过蛋白的三级折叠并置的非连续的氨基酸或连续的氨基酸形成。由连续的氨基酸形成的表位通常保

持对变性溶剂的暴露,而由三级折叠形成的表位通常因变性溶剂的处理而丧失。表位通常在特定的空间构象中包括至少3个或更多,通常至少5个或8-10个氨基酸。

[0145] 修饰辅助的分析(MAP),也称为基于抗原结构的抗体分析(ASAP),是一种根据每种抗体与化学或酶学修饰的抗原表面结合概貌的相似性针对相同抗原的大量单克隆抗体(mAb)分类的方法(参见US 2004/0101920,其在本文通过提述以其整体具体并入)。每个种类可反映与由另一种类代表的表位完全不同或部分重叠的特定表位。该技术允许基因上相同的抗体的迅速过滤,从而表征可专注于基因上不同的抗体。当应用至杂交瘤筛选时,MAP可促进产生具有合意的特性的mAb的罕见杂交瘤克隆的鉴定。MAP可用于将本发明的抗体分选入结合不同表位的抗体的组。

[0146] 在一些实施方案中,抗MERS-CoV-S抗体或其抗原结合片段结合在MERS-CoV刺突蛋白(如SEQ ID NO:457中所示的天然形式或如SEQ ID NO:458中所示的重组产生的)或其片段中所示的任何一个或多个区内的表位。在一些实施方案中,本发明的抗体与包含选自MERS-CoV刺突蛋白的氨基酸残基367-606的一个或多个氨基酸的胞外区结合。

[0147] 在一些实施方案中,本发明的抗体与选自下组的至少一个氨基酸序列相互作用:SEQ ID NO:457的约位置358至约位置450的氨基酸残基;或约位置451至约位置606的氨基酸残基。

[0148] 本发明包括与相同的表位或表位部分结合的抗MERS-CoV-S抗体,如从图1列举的细胞系获得的任何具体示例性抗体。同样,本发明还包括与任何从图1列举的杂交瘤获得的具体的示例性抗体竞争对MERS-CoV刺突蛋白或其片段的结合的抗MERS-CoV-S抗体。例如,本发明包括与一种或多种从图1列举的杂交瘤获得的抗体交叉竞争对MERS-CoV刺突蛋白的结合的抗MERS-CoV-S抗体。

[0149] 通过使用本领域已知的常规方法,技术人员可容易地确定抗体是否与参照抗MERS-CoV-S抗体结合相同的表位,或与其竞争对相同表位的结合。例如,为确定测试的抗体是否与本发明的参照抗MERS-CoV-S抗体结合相同的表位,在饱和条件下,允许参照抗体结合MERS-CoV刺突蛋白或肽。接下来,评估测试的抗体与MERS-CoV刺突蛋白分子结合的能力。如果与参照MERS-CoV-S抗体饱和结合后,测试的抗体能够与MERS-CoV-S结合,可以得出的结论是测试的抗体与参照抗MERS-CoV-S抗体结合不同的表位。另一方面,如果与参照MERS-CoV刺突蛋白饱和结合后,测试的抗体不能与MERS-CoV刺突蛋白结合,则测试的抗体可结合与本发明的参照抗MERS-CoV-S抗体所结合的表位相同的表位。

[0150] 为确定抗体是否与参照抗MERS-CoV-S抗体竞争结合,以两种方向实施上述结合方法:在第一方向,允许参照抗体在饱和条件下与MERS-CoV刺突蛋白结合,随后评估测试的抗体与MERS-CoV-S分子的结合。在第二方向,允许测试的抗体在饱和条件下与MERS-CoV-S分子结合,随后评估参照抗体与MERS-CoV-S分子的结合。如果在两种方向中,仅第一(饱和)抗体能够与MERS-CoV-S分子结合,则可以得出的结论是测试的抗体与参照抗体竞争对MERS-CoV-S的结合。本领域的技术人员将理解的是,与参照抗体对对结合竞争的抗体可不必须结合与参照抗体相同的表位,但在空间上可通过结合重叠或相邻的表位阻断参照抗体的结合。

[0151] 如果每种抗体竞争性地抑制(阻断)另一种与抗原的结合,则两种抗体结合相同或重叠的表位。也就是说,如在竞争性结合测定中所测量的,1、5、10、20或100倍过量的一种抗

体抑制另一种至少50%但优选75%、90%或甚至99%的结合(参见例如Junghans等,Cancer Res.1990 50:1495-1502)。可替换地,如果抗原中减少或消除一种抗体的结合的基本上全部的氨基酸突变减少或消除另一种的结合,则两种抗体具有相同的表位。如果减少或消除一种抗体的结合的一些氨基酸突变减少或消除另一种的结合,则两种抗体具有重叠的表位。

[0152] 可随后实施其他常规的实验(例如肽突变和结合分析)以确认观察到的测试的抗体结合的缺失是否事实上是由于与参照抗体结合相同的表位或是否是空间阻断(或另一种现象)对观察到的结合的进行负责。该分选的实验可使用ELISA、RIA、表面等离子体共振、流式细胞术或任何其他本领域可获得的定量或定性的抗体结合测定实施。

[0153] 免疫缀合物

[0154] 本发明涵盖与治疗部分如类毒素或抗病毒药物缀合以治疗MERS感染的人抗MERS-CoV-S单克隆抗体(“免疫缀合物”)。如本文使用,术语“免疫缀合物”指与放射性作用剂、细胞因子、干扰素、靶或报告物部分、酶、肽或蛋白或治疗剂化学或生物连接的抗体。抗体可沿分子的任何位置连接至放射性作用剂、细胞因子、干扰素、靶或报告物部分、酶、肽或治疗剂,只要其能够结合其靶。免疫缀合物的实例包括抗体药物缀合物和抗体-毒素融合蛋白。在一个实施方案中,作用剂可以是针对MERS-CoV刺突蛋白的第二种不同的抗体。在一些实施方案中,抗体可与特异于病毒感染的细胞的作用剂缀合。可与抗MERS-CoV-S抗体缀合的治疗部分的类型应考虑待治疗的病况和将实现的理想的治疗效果。用于形成免疫缀合物的适当的作用剂的实例为本领域已知,参见例如WO 05/103081。

[0155] 多特异性抗体

[0156] 本发明的抗体可以是单特异性的、双特异性的或多特异性的。多特异性抗体可以特异性针对靶多肽的不同表位或可包含特异性针对多于一种的靶多肽的抗原结合域。参见例如Tutt等,1991,J.Immunol.147:60-69;Kufer等,2004,Trends Biotechnol.22:238-244。

[0157] 本发明的任何多特异性抗原结合分子或其变体可使用标准的分子生物学技术构建(例如重组DNA和蛋白表达技术),如本领域的技术人员已知。

[0158] 在一些实施方案中,MERS-CoV-S-特异性抗体以双特异性的形式生成(“双特异性”),其中与MERS-CoV刺突蛋白的不同结构域结合的可变区连接在一起以在单结合分子内赋予双结构域特异性。适当设计的双特异性抗体可通过增加特异性和结合亲和力增强总体的MERS-CoV-刺突蛋白抑制性效力。具有针对单结构域的特异性的可变区(例如N末端结构域的区段),或可与一个结构域内的不同区结合的可变区在允许每个区同时与不同表位结合或允许每个区与一个结构域内的不同区结合的结构支架上配对。在双特异性抗体的一个实例中,来自一个结合的具有针对一个结构域的特异性的重链可变区( $V_H$ )与来自系列结合的具有针对第二结构域的轻链可变区( $V_L$ )重组以识别可与最初的 $V_H$ 配对而不破坏针对该 $V_H$ 的最初的特异性的非同源 $V_L$ 伴侣。以这种该方式,单 $V_L$ 区段(例如 $V_{L1}$ )可与两种不同的 $V_H$ 结构域(例如 $V_{H1}$ 和 $V_{H2}$ )组合以生成包含两个结合“臂”的双特异性抗体( $V_{H1}$ - $V_{L1}$ 和 $V_{H2}$ - $V_{L1}$ )。单 $V_L$ 区段的使用减少系统的复杂性且由此简化生成双特异性抗体使用的克隆、表达和纯化步骤并增加其效率(参见例如,USSN13/022759和US2010/0331527)。

[0159] 可替换地,结合多于一个结构域的第二靶如但不限于第二种不同的抗MERS-CoV-S

抗体的抗体可使用本文所述的技术或其他本领域的技术人员已知的技术以双特异性的形式制备。与不同的区结合的抗体可变区可与结合例如在MERS-CoV-S的胞外结构域上相关位点的可变区连接在一起,以在单结合分子内赋予双抗原特异性。适当设计的该双特异性性质可作为双功能发挥作用。具有针对胞外结构域的特异性的可变区与具有针对胞外结构域的外侧的可变区组合,且在允许每个可变区与不同抗原结合的结构支架上配对。

[0160] 可在本发明的语境中使用的示例性的双特异性抗体形式涉及第一免疫球蛋白(Ig) $C_H3$ 结构域和第二Ig  $C_H3$ 结构域的使用,其在第一和第二Ig  $C_H3$ 结构域通过至少一个氨基酸彼此不同,且其中至少一个氨基酸的差异相比缺乏氨基酸差异的双特异性抗体减少了双特异性抗体与蛋白A的结合。在一个实施方案中,第一Ig  $C_H3$ 结构域结合蛋白A和第二Ig  $C_H3$ 结构域包含减少或阻断蛋白A结合的突变如H95R修饰(通过IMGT外显子编号;H435R通过EU编号)。第二 $C_H3$ 可进一步包含Y96F修饰(通过IMGT;通过EU为Y436F)。在IgG1抗体的情况中,可在第二 $C_H3$ 内发现的其他突变包括:在IgG1抗体的情况中,D16E、L18M、N44S、K52N、V57M和V82I(通过IMGT;通过EU为D356E、L358M、N384S、K392N、V397M和V422I);在IgG2抗体的情况中,N44S、K52N,和V82I(IMGT;通过EU为N384S、K392N和V422I);且在IgG4抗体的情况中,Q15R、N44S、K52N、V57M、R69K、E79Q和V82I(通过IMGT;通过EU为Q355R、N384S、K392N、V397M、R409K、E419Q和V422I)。上文所述的双特异性抗体形式上的变化预期在本发明的范围之内。

[0161] 可在本发明的语境中使用的其他示例性的双特异性形式包括但不限于例如基于scFv或双抗体的双特异性形式、IgG-scFv融合、双可变域(DVD)-Ig、Quadroma、旋钮入孔、通用轻链(例如具有旋钮入孔的通用轻链等)、CrossMab、CrossFab、(SEED)体、亮氨酸拉链、双体(Duobody)、IgG1/IgG2、双作用Fab(DAF)-IgG和Mab<sup>2</sup>双特异性形式(参见例如Klein等2012,mAb 4:6,1-11和其中引用的文献,用于上述形式的综述)。双特异性抗体还可使用肽/核酸缀合构建,例如其中具有正交化学反应性的非天然的氨基酸用于生成位点特异性抗体-寡核苷酸缀合物,其随后自我装配成为具有限定组成、效价和几何的多聚复合物(参见例如Kazane等,J. Am. Chem. Soc. [Epub:Dec. 4, 2012])。

[0162] 治疗性施用和配制

[0163] 本发明提供包含本发明的抗MERS-CoV-S抗体或其抗原结合片段的治疗组合物。依照本发明的治疗组合物将与适当的载剂、赋形剂和其他并入以提供改善的转移、递送、耐受等的作用剂共同施用。多种适当的制剂可在全体药物化学家已知的处方集中发现:Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA。这些制剂包括例如粉末、糊剂、软膏、胶冻、蜡、油、脂质、包含脂质(阳离子或阴离子)的囊泡(如LIPOFECTIN<sup>TM</sup>)、DNA缀合物、无水吸收膏、水包油和油包水乳液、乳液碳蜡(多种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含有碳蜡的半固体混合物。还参见Powell等“Compendium of excipients for parenteral formulations”PDA(1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311。

[0164] 抗体的剂量取决于待施用受试者的年龄和体型、靶向的疾病、病况、施用途径等可发生变化。当将本发明的抗体用于治疗成年患者中的疾病或病症时,或用于预防该疾病时,有利的是以约0.1至约60mg/kg体重,更优选约5至约60,约10至约50或约20至约50mg/kg体重的单剂量正常地施用本发明的抗体。取决于病况的严重性,可调整治疗的频率和持续时

间。在一些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段可以至少约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。在一些实施方案中,初始剂量后以与初始剂量大致相同或较少的量施用第二或多次后续剂量的抗体或其抗原结合片段,其中后续剂量通过至少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;至少14周分隔。

[0165] 已知多种递送系统且可用于施用本发明的药物组合物,例如封装在脂质体、微粒、微胶囊中,能够表达突变病毒的重组细胞、受体介导的内吞(参见例如Wu等(1987) J.Biol.Chem.262:4429-4432)。导入的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。组合物可通过任何方便的途径施用,例如通过输液或推注、通过经上皮或粘膜皮层的吸收(例如口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)且可与其他生物活性作用剂共同施用。可全身或局部施用。药物组合物还可在囊泡中递送,特别是脂质体(参见例如,Langer(1990) Science 249:1527-1533)。

[0166] 递送本发明抗体的纳米颗粒的使用预期也在本文中。抗体缀合的纳米颗粒还可用于治疗 and 诊断应用两者。抗体缀合的纳米颗粒和制备方法及其用途由Arruebo,M.,等2009 (“Antibody-conjugated nanoparticles for biomedical applications” in J.Nanomater. Volume 2009, Article ID 439389, 24 pages, doi:10.1155/2009/439389) 详细描述,其在本文通过提述并入。可开发纳米颗粒并与包含在药物组合物中的抗体缀合以靶向病毒感染的细胞。用于药物递送的纳米颗粒已描述于例如US 8257740或US 8246995,每一篇在本文以其整体并入。

[0167] 在一些情况中,药物组合物可在受控的释放系统中递送。在一个实施方案中,可使用泵。在另一个实施方案中,可使用多聚材料。在另一个实施方案中,受控的释放系统可置于组合物靶的附近,因此仅需要全身剂量的一部分。

[0168] 可注射的制剂可包括用于静脉内、皮下、皮内、颅内、腹膜内和肌内注射、滴注等的剂型。这些可注射的制剂可通过公共已知的方法制备。例如,可通过在常规用于注射的无菌水性介质或油性介质中溶解、悬浮或乳化上述抗体或其盐制备可注射的制剂。作为用于注射的水性介质,存在例如生理盐水、含有葡萄糖和其他辅助剂的等渗溶液等,其可与适当的增溶剂如醇(例如乙醇)、多元醇(例如丙二醇、聚乙二醇)、非离子表面活性剂[例如聚山梨醇酯80、氢化蓖麻油的HCO-50(聚氧乙烯(50mol)加合物)]等组合使用。作为油性介质,存在采用的例如芝麻油、大豆油等,其可与增溶剂如苯甲酸苄酯、苄醇等组合使用。因此制备的注射剂优选填充在适当的安瓿中。

[0169] 本发明的药物组合物可使用标准的针和注射器皮下或静脉内递送。此外,关于皮下递送,笔递送装置容易地具有在递送本发明药物组合物中的应用。这种笔递送装置可重复使用或是一次性的。可重复使用的笔递送装置一般利用包含药物组合物的可替换的盒。一旦在盒内的全部药物组合物已施用且盒已空,可容易地丢弃空盒并以新的包含药物组合物的盒替换。可重复使用笔递送装置。在一次性的笔递送装置中,不存在可替换的盒。而是一次性的笔递送装置使用保持在装置内容器中的药物组合物预先填充。一旦容器无药物组合物,则丢弃整个装置。

[0170] 多种可重复使用的笔和自动注射递送装置在本发明药物组合物的皮下递送中具有应用。实例包括但当然不限于,AUTOPEN<sup>TM</sup>(Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、

DISETRONIC™笔 (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25™笔、HUMALOG™笔、HUMALIN 70/30™笔 (Eli Lilly和Co., Indianapolis, IN)、NOVOPEN™I、II和III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD™笔 (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPEN™、OPTIPEN PRO™、OPTIPEN STARLET™和OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany), 仅举几例。在本发明的药物组合物的皮下递送中具有应用的一次性笔递送装置的实例包括但当然不限于, SOLOSTAR™笔 (Sanofi-Aventis)、FLEXPEN™ (Novo Nordisk) 和 KWIKPEN™ (Eli Lilly)、SURECLICK™ Autoinjector (Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN (Dey, L.P.) 和 HUMIRA™笔 (Abbott Labs, Abbott Park, IL), 仅举几例。

[0171] 有利的是, 用于上述口服或肠胃外使用的药物组合物制备为适于匹配活性成分剂量的单位剂量中的剂型。这种在单位剂量中的剂型包括例如片剂、丸剂、胶囊、注射剂(安瓿)、栓剂等。在单位剂量特别是在注射形式中包含的抗体的量一般为约5至约500mg每剂型; 优选的是对于其他剂型包含约5至约100mg和以约10至约250mg的抗体。

[0172] 抗体的治疗性用途

[0173] 本发明的抗体可用于治疗和/或预防与MERS冠状病毒如MERS感染相关的疾病或病症或病况和/或用于改善与该疾病、病症或病况相关的至少一种症状。在一个实施方案中, 本发明的抗体或其抗原结合片段可以治疗剂量施用于具有MERS感染的患者。

[0174] 在一些实施方案中, 本发明的抗体用于治疗由MERS冠状病毒引起的患有严重和急性呼吸感染的受试者。在一些实施方案中, 本发明的抗体用于在宿主中减少病毒滴度或减少病毒装载。在一个实施方案中, 本发明的抗体用于预防或减少具有MERS的受试者的肺中的炎症。在一个实施方案中, 本发明的抗体用于预防或减少具有MERS的受试者中的间质、外周支气管或外周血管的炎症、肺泡损伤和胸膜变化。

[0175] 可施用本发明的一种或多种抗体以释放或预防或减少疾病或病症的一种或多种症状或病况。抗体可用于改善或减少MERS感染的至少一种症状的严重性, 包括但不限于由如下组成: 发热、咳嗽、呼吸浅短、肺炎、腹泻、器官衰竭(例如肾衰和肾功能不全)、败血性休克和死亡。

[0176] 本文还预期预防性地使用一种或多种本发明的抗体至处于发展MERS感染的风险的受试者如免疫功能低下的个体、老年人(年龄大于65岁)、年龄小于2岁的儿童、至中东国家的旅行者(例如沙特阿拉伯、阿拉伯联合酋长国和卡塔尔)、医护人员、与骆驼或蝙蝠具有职业或娱乐接触的人、与MERS患者密切接触的家庭成员、与确认或疑似MERS感染的患者接触的成人或儿童, 和具有医疗史(例如增加的肺部感染、心脏病或糖尿病的风险)的患者。

[0177] 在本发明进一步的实施方案中, 本发明的抗体用于制备治疗患有MERS感染的患者的药物组合物或药物。在本发明的另一实施方案中, 本发明的抗体用作本领域的技术人员已知用于治疗或改善MERS感染的任何其他作用剂或任何其他疗法的辅助疗法。

[0178] 组合疗法

[0179] 组合疗法可包括本发明的抗MERS-CoV-S抗体和任何其他可有利地与本发明的抗体或与本发明抗体的生物活性片段组合的治疗剂。本发明的抗体可与一种或多种用于治疗MERS的药物或疗法协同组合。在一些实施方案中, 本发明的抗体可与第二治疗剂组合以

减少具有MERS感染的患者中的病毒装载,或改善感染的一个或多个症状。

[0180] 本发明的抗体可与下述组合使用:抗炎症药物(例如皮质类固醇和非甾体抗炎药物)、抗感染药物、针对MERS-CoV刺突蛋白的不同的抗体、抗病毒药物、干扰素- $\alpha$ -2b加肌内利巴韦林、恢复期血浆、主要病毒蛋白酶的抑制剂和靶向MERS-CoV刺突蛋白的进入/融合抑制剂、对于MERS-CoV的疫苗、抗生素、膳食补充剂如抗氧化剂或任何其他治疗MERS感染的姑息治疗。

[0181] 在一些实施方案中,第二治疗剂是MERS-CoV刺突蛋白的另一抗体。本文预期使用具有针对MERS-CoV的广泛的中和或抑制活性的抗体的组合(“鸡尾酒”)。在一些实施方案中,可组合非竞争性抗体并施用于对其有需要的受试者,以减少MERS病毒由于选择压力而迅速突变所致逃脱的能力。在一些实施方案中,包含组合的抗体与刺突蛋白上的不同非重叠表位结合。包含组合的抗体可阻断MERS-CoV与DPP4的结合或可防止/抑制膜融合。包含组合的抗体可抑制一个或多个MERS-CoV分离株的MERS-CoV活性,所述分离株包括但不限于EMC/2012、Jordan-N3/2012、England-Qatar/2012、Al-Hasa\_1\_2013、Al-Hasa\_2\_2013、Al-Hasa\_3\_2013、Al-Hasa\_4\_2013、Al-Hasa\_12、Al-Hasa\_15、Al-Hasa\_16、Al-Hasa\_17、Al-Hasa\_18、Al-Hasa\_19、Al-Hasa\_21、Al-Hasa\_25、Bisha\_1、Buraidah\_1、England\_1、Hafr-Al-batin\_1、Hafr-Al-Batin\_2、Hafr-Al-Batin\_6、Jeddah\_1、KFU-HKU\_1、KFU-HKU\_13、Munich、Qatar3、Qatar4、Riyadh\_1、Riyadh\_2、Riyadh\_3、Riyadh\_3、Riyadh\_4、Riyadh\_5、Riyadh\_9、Riyadh\_14、Taif\_1、UAE和Wadi-Ad-Dawasir。

[0182] 本文还预期使用本发明的抗MERS-CoV-S抗体的组合,其中所述组合包含一种或多种不交叉竞争的抗体;在一些实施方案中,所述组合包括具有广泛中和活性的第一抗体与具有针对较窄范围的分离株且不与第一抗体交叉竞争的第二抗体。

[0183] 如本文使用,术语“与...组合”意为其他治疗活性组分可在施用本发明的抗MERS-CoV-S抗体之前、与其同时或之后施用。术语“与...组合”还包括抗MERS-CoV-S抗体和第二治疗剂的顺序或伴随施用。

[0184] 可在施用本发明的抗MERS-CoV-S抗体前将其他治疗活性组分施用于受试者。例如,如果第一抗体在第二抗体施用的1周前、72小时前、60小时前、48小时前、36小时前、24小时前、12小时前、6小时前、5小时前、4小时前、3小时前、2小时前、1小时前、30分钟前、15分钟前、10分钟前、5分钟前或少于1分钟前施用,则认为第一组分可在第二组分“前”施用。在其他实施方案中,其他治疗活性组分可在施用本发明的抗MERS-CoV-S抗体后施用于受试者。例如,如果第一组分在第二组分施用1分钟后、5分钟后、10分钟后、15分钟后、30分钟后、1小时后、2小时后、3小时后、4小时后、5小时后、6小时后、12小时后、24小时后、36小时后、48小时后、60小时后、72小时后施用,则认为第一组分在第二组分“后”施用。在其他实施方案中,可将其他治疗活性组分在施用本发明的抗MERS-CoV-S抗体同时施用于受试者。就本发明而言,“同时”施用包括将例如抗MERS-CoV-S抗体和其他治疗活性组分在单一剂型中施用于受试者或在分开的剂型中在约30分钟或彼此更短的时间内施用于受试者。如果以分开的剂型施用,每个剂型可经由相同的途径施用(例如抗MERS-CoV-S抗体和其他治疗活性组分两者可静脉内施用等);可替换地,每种剂型可经由不同的途径施用(例如抗MERS-CoV-S抗体可静脉内施用,而其他治疗活性则分可口服施用)。就本发明而言,在任何事件中,组分在单一剂型中的施用、通过相同途径的不同剂型中的施用或通过不同途径以不同剂型施用都认为

是“同时施用”。就本发明而言,抗MERS-CoV-S抗体在其他治疗活性组分施用“前”、“同时”或“后”施用认为是抗MERS-CoV-S抗体与其他治疗活性组分“组合”施用。

[0185] 本发明包括药物组合物,其中本发明的抗MERS-CoV-S抗体与本文他处所述的一种或多种其他的治疗活性组分共配制。

[0186] 施用方案

[0187] 根据一些实施方案,单一剂量的本发明的抗MERS-CoV-S抗体(或包含抗MERS-CoV-S抗体和任何其他本文提及的治疗活性作用剂的组合的药物组合物)可施用于对其有需要的受试者。根据本发明的一些实施方案,多重剂量的抗MERS-CoV-S抗体(或包含抗MERS-CoV-S抗体和任何其他本文提及的治疗活性作用剂的组合的药物组合物)可经过限定的时间过程施用于受试者。根据本发明该方面的方法包括将本发明的抗MERS-CoV-S抗体的多重剂量顺序施用于受试者。如本文使用,“顺序施用”意为每剂量的抗MERS-CoV-S抗体在时间上不同的点施用于受试者,例如在通过预先确定的时间间隔(例如小时、日、周或月)分开的不同日。本发明包括方法,其包括对患者顺序施用单一初始剂量的抗MERS-CoV-S抗体,随后一次或多次第二剂量的抗MERS-CoV-S抗体,且任选地随后是一次或多次第三剂量的抗MERS-CoV-S抗体。

[0188] 术语“初始剂量”、“第二剂量”和“第三剂量”指施用本发明的抗MERS-CoV-S抗体的时间序列。因此,“初始剂量”是在治疗方案的开始施用的剂量(也称作“基线剂量”);“第二剂量”是在初始剂量后施用的剂量;且“第三剂量”是在第二剂量后施用的剂量。初始、第二和第三剂量都可包含相同的量的抗MERS-CoV-S抗体,但一般就施用频率上可彼此不同。然而在一些实施方案中,包含在初始、第二和/或第三剂量中的抗MERS-CoV-S抗体的量在治疗过程中彼此不同(例如酌情上调或下调)。在一些实施方案中,在治疗方案的开始施用两个或多个(例如2、3、4或5)个剂量作为“装载剂量”,随后是以更少频率为基础施用的后续剂量(例如“维持剂量”)。

[0189] 在一些本发明示例性的实施方案中,每个第二和/或第三剂量在之前剂量后即刻1-48小时(例如1、1<sup>1/2</sup>、2、2<sup>1/2</sup>、3、3<sup>1/2</sup>、4、4<sup>1/2</sup>、5、5<sup>1/2</sup>、6、6<sup>1/2</sup>、7、7<sup>1/2</sup>、8、8<sup>1/2</sup>、9、9<sup>1/2</sup>、10、10<sup>1/2</sup>、11、11<sup>1/2</sup>、12、12<sup>1/2</sup>、13、13<sup>1/2</sup>、14、14<sup>1/2</sup>、15、15<sup>1/2</sup>、16、16<sup>1/2</sup>、17、17<sup>1/2</sup>、18、18<sup>1/2</sup>、19、19<sup>1/2</sup>、20、20<sup>1/2</sup>、21、21<sup>1/2</sup>、22、22<sup>1/2</sup>、23、23<sup>1/2</sup>、24、24<sup>1/2</sup>、25、25<sup>1/2</sup>、26、26<sup>1/2</sup>或更久)施用。如本文使用的短语“之前的剂量后即刻”指在多重施用顺序中,在施用顺序上无间隔剂量的紧接下来剂量之前施用于患者的抗MERS-CoV-S抗体的剂量。

[0190] 根据本发明该方面的方法可包括对患者施用任何数目的第二和/或第三剂量的抗MERS-CoV-S抗体。例如,在一些实施方案中,仅对患者施用单次第二剂量。在其他实施方案中,对患者施用两次或多次(例如2、3、4、5、6、7、8或更多)第二剂量。同样地,在一些实施方案中,仅对患者施用单次第三剂量。在其他实施方案中,对患者施用两次或多次(例如2、3、4、5、6、7、8或更多)第三剂量。

[0191] 在本发明的一些实施方案中,施用于患者的第二和/或第三剂量的频率可在治疗方案的过程中发生变化。在治疗过程中,施用的频率还可由医师根据个体患者临床检查后的需要调整。

[0192] 抗体的诊断用途

[0193] 本发明的抗MERS-CoV-S抗体可用于检测和/或测量样品中的MERS-CoV,例如用于

诊断目的。一些实施方案预期在测定中使用本发明的一种或多种抗体以检测疾病或病症如病毒感染。用于MERS-CoV的示例性诊断测定包括例如使用本发明的抗MERS-CoV-S抗体接触从患者获得的样品,其中使用可检测的标记或报告分子标记抗MERS-CoV-S抗体或用作捕获配体以选择性地从患者样品分离MERS-CoV。可替换地,未标记的抗MERS-CoV-S抗体可与本身被可检测地标记的第二抗体组合在诊断应用中使用。可检测的标记或报告分子可以是放射性同位素、如<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S或<sup>125</sup>I;荧光或化学发光的部分如荧光素异硫氰酸酯或罗丹明,或酶如碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶、辣根过氧化物酶或荧光素酶。可用于检测或测量样品中MERS-CoV的具体的示例性测定包括酶连接的免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)和荧光活化细胞分选(FACS)。

[0194] 可在根据本发明的MERS-CoV诊断测定中使用的样品包括从患者可获得的任何组织或液体样品,其包含在正常或生理条件下可检测量的MERS-CoV刺突蛋白或其片段。一般而言,将测量从健康患者获得的特定样品中的MERS-CoV刺突蛋白水平(例如未受与MERS-CoV相关的疾病所扰的患者)以初始性地建立基线或标准MERS-CoV水平。该MERS-CoV基线水平可随后与从疑似具有MERS-CoV相关病况或与该病况相关的症状的个体获得的样品中测量的MERS-CoV水平进行比较。

[0195] 特异性针对MERS-CoV刺突蛋白的抗体可不包含其他标记或部分,或其可包含N-末端或C末端的标记或部分。在一个实施方案中,标记或部分生物素。在结合测定中,标记(如果存在的话)的位置可确定肽相对肽与之结合的表面的方向。例如,如果表面以抗生物素蛋白涂覆,包含N末端生物素的肽将定向,从而肽的C末端部分将远离表面。

## 实施例

[0196] 描述下列实施例从而为本领域的技术人员提供如何制备和使用本发明的组合物和方法的完整公开和描述,且并非意在限制发明人所认为的其发明的保护范围。已作出努力来确保关于使用的数字的精确性(例如数量、温度等),但一些试验误差和偏差应考虑在内。除非另外指示,部分是按体重的部分,分子量是平均分子量,温度时摄氏度,室温为约25℃且压力是处于或接近大气压。

[0197] 实施例1:针对MERS-CoV刺突蛋白的人抗体的生成

[0198] 在VELOCIMMUNE<sup>®</sup>小鼠中生成MERS-CoV刺突蛋白的人抗体,所述小鼠包含编码人免疫球蛋白重链和κ轻链可变区的DNA。所述小鼠用编码全长的MERS-CoV刺突蛋白的DNA构建体免疫,随后进行包含纯化的刺突蛋白片段(GenBank登录号AFS88936.1(SEQ ID NO:457)的氨基酸367-606)的加强免疫。编码MERS-CoV S蛋白(EMC/2012-GenBank JX869059)的密码子优化的cDNA序列通过GeneArt合成并克隆入标准的表达载体。编码受体结合域(RBD)中的MERS-CoV S蛋白变体的质粒使用QuikChange II(Agilent Technologies)根据制造商的说明书通过诱变生成。

[0199] 抗体免疫响应通过MERS-CoV-S特异性免疫测定监测。当获得合意的免疫响应时,收获脾细胞并与小鼠的骨髓瘤细胞融合以保留其可变性并形成杂交瘤细胞系。筛选并选择杂交瘤细胞系以鉴定产生MERS-CoV-S特异性抗体的细胞系。对于表达抗原特异性抗体的一共696个杂交瘤,发现182个阻断DPP4与刺突蛋白的相互作用且123个阻断MERSpp进入靶细胞。以该方式生成的示例性的细胞系命名为HBVX06H05、HBVX11H04、HBVX11D02、HBVZ10E10、

HBVY09F08、HBVZ05G02、HBVZ09B06、HBVY01F08、HBVY10G02、HBVY04B06、HBVY07D10、HBVZ08A09、HBVZ05G04、HBVY06C07、HBVY03H06、HBVZ10G06、HBVZ04F10、HBVX11E09、HBVY06H09、HBVZ05B11、HBVY02E05和HBVZ04C07。使用细胞系以获得数种抗MERS-CoV-S嵌合抗体(即具有人可变域和小鼠恒定域的抗体);以这种方式生成的示例性的抗体命名为H1M15277N、H2aM15279N、H1M15280N、H2aM15278N、H2aM15271N、H1M15267N、H2bM15292N、H2bM15291N、H1M15290N、H1M15293N、H1M15289N、H1M15269N、H2aM15287N、H1M15288N、H2aM15268N、H2aM15270N、H2aM15281N和H2aM15272N。

[0200] 表1显示从相应的杂交瘤上清获得的嵌合抗体

[0201] 表1

[0202]

Ab PID#	克隆名称
H1M15267N	HBVX11H04
H1M15269N	HBVY07D10
H1M15277N	HBVX06H05
H1M15280N	HBVZ09B06
H1M15288N	HBVY02E05
H1M15289N	HBVY03H06
H1M15290N	HBVZ04F10
H1M15293N	HBVZ10G06
H2aM15268N	HBVY04B06
H2aM15270N	HBVY09F08
H2aM15271N	HBVY10G02
H2aM15272N	HBVZ05G02
H2aM15278N	HBVX11D02
H2aM15279N	HBVY01F08
H2aM15281N	HBVZ10E10
H2aM15287N	HBVX11E09
H2bM15291N	HBVZ05G04
H2bM15292N	HBVZ08A09

[0203] 抗MERS-CoV-S抗体还直接从不与骨髓瘤细胞杂交的抗原阳性的小鼠B细胞分离,如在美国专利7582298中所述,在本文具体通过提述以其整体并入。使用该方法,获得了数种全长的人抗MERS-CoV-S抗体(即具有人可变域和人恒定域的抗体);以这种方式生成的示例性抗体命名为H4sH15188P、H1H15188P、H1H15211P、H1H15177P、H4sH15211P、H1H15260P2、H1H15259P2、H1H15203P、H4sH15260P2、H4sH15231P2、H1H15237P2、H1H15208P、H1H15228P2、H1H15233P2、H1H15264P2、H1H15231P2、H1H15253P2、H1H15215P和H1H15249P2。

[0204] 依照本实施例的方法生成的示例性抗体的生物学特性详细描述于下文所述的实施例中。

[0205] 实施例2:杂交瘤上清的表征

[0206] 实施ELISA结合测定以鉴定结合MERS-CoV刺突蛋白的抗体上清(从上文所述的杂交瘤获得)。与人IgG1分子在C末端的Fc部分一起表达的MERS-CoV-S(氨基酸E367-Y606)的

受体结构域所组成的蛋白 (MERSRBD-hFc; SEQ ID NO:458) 以  $2\mu\text{g}/\text{ml}$  在 PBS 缓冲液中涂覆在 96 孔板上于  $4^\circ\text{C}$  过夜。随后使用 PBS 中的  $0.5\%$  (w/v) BSA 溶液阻断非特异性结合位点。在阻断缓冲液中  $1:50$  稀释杂交瘤上清并允许与 MERS RBD 涂覆的平板在室温结合 1 小时。洗涤后, 结合的抗体使用 HRP 缀合的 a-hFc 多克隆抗体 (Jackson Immunochemical) 检测。样品用  $3,3',5,5'$ -四甲基联苯胺溶液 (TMB; BD Biosciences) 显色以产生比色反应且随后用  $1\text{M}$  硫酸中和, 之后在 Victor 读板器 (Perkin Elmer) 上测量  $450\text{nm}$  处的吸收。结果示于图 1。使用在  $450\text{nm}$  的信号强度选择抗体用于进一步表征。

[0207] 在 Biacore 4000 或 Biacore T200 仪器上使用实时表面等离子体共振生物传感器测定确定抗原与杂交瘤上清结合的结合缔合和解离速率常数 (分别为  $k_a$  和  $k_d$ ), 平衡解离常数和半衰期 (分别为  $K_D$  和  $t_{1/2}$ ) (细节描述于实施例 4)。如图 1 所示, 22 个杂交瘤抗体中的 21 个与 MERS-CoV 刺突蛋白以  $245\text{pM}$ - $21.5\text{nM}$  的  $K_D$  值结合。

[0208] 抗 MERS 冠状病毒刺突蛋白抗体阻断 MERS (MERS-RBD) 的受体结合域与同源结合伴侣人二肽基肽酶 4 (hDPP4) 结合的能力使用基于 ELISA 的免疫测定评估。简而言之, 在 C 末端具有  $6\times$  组氨酸标签的表达的人二肽基肽酶 4 (hDPP4-6His; R&D 目录 #1180-SE) 以  $2\mu\text{g}/\text{mL}$  在 PBS 缓冲液中涂覆在 96 孔板上在  $4^\circ\text{C}$  过夜。非特异性结合位点随后使用在 PBS 中的  $0.5\%$  (w/v) BSA 溶液阻断。在以抗 MERS 抗体上清的稀释液预先平衡的 MERS RBD-hFc 溶液中, 将该平板用于测量与人 IgG1 分子在 C 末端的 Fc 部分一起表达的 MERS-RBD (氨基酸 E367-Y606) (MERS RBD-hFc; SEQ ID NO:458)。将  $300\text{pM}$  恒定浓度的 MERS RBD-hFc 与  $10\%$  体积的抗 MERS 抗体上清预先混合, 随后在室温进行 1 小时的温育以允许抗体-抗原结合来达到平衡。随后将平衡的样品溶液转移至 hDPP4-6his 涂覆的平板。在 RT 结合 1 小时后, 洗涤平板并使用 HRP 缀合的 a-hFc 多克隆抗体 (Jackson Immunochemical) 检测结合的 MERS RBD。样品用 TMB 溶液显色 (BD Biosciences, #51-2606KC 和 #51-2607KC) 以生成比色反应且随后用  $1\text{M}$  硫酸中和, 之后在 Victor X5 读板器 (Perkin Elmer) 上在  $450\text{nm}$  测量吸收。将单独的 MERS RBD-hFc 恒定浓度测量的吸收定义为  $0\%$  阻断且无 MERS RBD-hFc 添加测量的吸收定义为  $100\%$  阻断。阻断百分比计算为抗体存在观察到的信号减少的比率,

[0209] 百分比阻断如下计算: 抗体存在下观察到的信号减少相对于从如前文定义的  $100\%$  阻断减去使用单独的 MERS RBD-hFc 与背景 (信号仅来自 HRP 偶联的 a-hFc 抗体) 间的差异的比率。

[0210] 如图 1 所示, 源自不同的 22 种独立杂交瘤的抗 MERS-CoV-S 抗体中的 17 种阻断大于  $90\%$  的 MERS-CoV 刺突蛋白与 DPP4 的结合。

[0211] 测试了源自不同的独立杂交瘤的抗 MERS-CoV-S 抗体对 MERS 感染性的中和 (测定详情在实施例 5 中)。如图 1 中所示, 22 种细胞抗 MERS-CoV-S 杂交瘤抗体中的 12 种抑制或中和大于  $90\%$  的 MERS 感染性且具有  $68.4\text{pM}$ - $3.58\text{nM}$  的  $\text{IC}_{50}$ 。

[0212] 实施例 3: 重链和轻链可变区氨基酸和核苷酸序列

[0213] 表 2 说明了本发明所选抗 MERS-CoV-S 抗体的重链和轻链可变区和 CDR 的氨基酸序列标识。

[0214] 表 2: 氨基酸序列标识

[0215]

抗体命名	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H15177P	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H15188P	18	20	22	24	26	28	30	32
H1H15203P	34	36	38	40	42	44	46	48
H1H15208P	50	52	54	56	58	60	62	64
H1H15211P	66	68	70	72	74	76	78	80
H1H15215P	82	84	86	88	90	92	94	96
H1H15228P2	98	100	102	104	106	108	110	112
H1H15231P2	114	116	118	120	106	108	110	112
H1H15233P2	122	124	126	128	106	108	110	112
H1H15237P2	130	132	134	136	106	108	110	112
H1H15249P2	138	140	142	144	106	108	110	112
H1H15253P2	146	148	150	152	106	108	110	112
H1H15259P2	154	156	158	160	162	164	166	168

[0216]

H1H15260P2	170	172	174	176	162	164	166	168
H1H15264P2	178	180	182	184	162	164	166	168
H1M15267N2	186	188	190	192	194	196	198	200
H1M15269N	202	204	206	208	210	212	214	216
H1M15277N	218	220	222	224	226	228	230	232
H1M15280N	234	236	238	240	242	244	246	248
H1M15289N	250	252	254	256	258	260	262	264
H1M15290N	266	268	270	272	274	276	278	280
H1M15293N	282	284	286	288	290	292	294	296
H2M15268N	298	300	302	304	306	308	310	312
H2M15270N	314	316	318	320	322	324	326	328
H2M15271N	330	332	334	336	338	340	342	344
H2M15272N	346	348	350	352	354	356	358	360
H2M15278N	362	364	366	368	370	372	374	376
H2M15279N	378	380	382	384	386	388	390	392
H2M15281N	394	396	398	400	402	404	406	408
H2M15287N	410	412	414	416	418	420	422	424
H2M15291N	426	428	430	432	434	436	438	440
H2M15292N	442	444	446	448	450	452	454	456

[0217] 相应的核酸序列标识阐述于表3中。

[0218] 表3:核酸序列标识

		SEQ ID NO:							
抗体命名	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3	
[0219]	H1H15177P	1	3	5	7	9	11	13	15
	H1H15188P	17	19	21	23	25	27	29	31
	H1H15203P	33	35	37	39	41	43	45	47
	H1H15208P	49	51	53	55	57	59	61	63
	H1H15211P	65	67	69	71	73	75	77	79
	H1H15215P	81	83	85	87	89	91	93	95
	H1H15228P2	97	99	101	103	105	107	109	111
	H1H15231P2	113	115	117	119	105	107	109	111
	H1H15233P2	121	123	125	127	105	107	109	111
	H1H15237P2	129	131	133	135	105	107	109	111
	H1H15249P2	137	139	141	143	105	107	109	111
	H1H15253P2	145	147	149	151	105	107	109	111
	H1H15259P2	153	155	157	159	161	163	165	167
	H1H15260P2	169	171	173	175	161	163	165	167
	H1H15264P2	177	179	181	183	161	163	165	167
	H1M15267N2	185	187	189	191	193	195	197	199
	H1M15269N	201	203	205	207	209	211	213	215
[0220]	H1M15277N	217	219	221	223	225	227	229	231
	H1M15280N	233	235	237	239	241	243	245	247
	H1M15289N	249	251	253	255	257	259	261	263
	H1M15290N	265	267	269	271	273	275	277	279
	H1M15293N	281	283	285	287	289	291	293	295
	H2M15268N	297	299	301	303	305	307	309	311
	H2M15270N	313	315	317	319	321	323	325	327
	H2M15271N	329	331	333	335	337	339	341	343
	H2M15272N	345	347	349	351	353	355	357	359
	H2M15278N	361	363	365	367	369	371	373	375
	H2M15279N	377	379	381	383	385	387	389	391
	H2M15281N	393	395	397	399	401	403	405	407
	H2M15287N	409	411	413	415	417	419	421	423
	H2M15291N	425	427	429	431	433	435	437	439
	H2M15292N	441	443	445	447	449	451	453	455

[0221] 本文所述抗体通常依照下述命名法:Fc字首(例如“H4xH”、“H1M”、“H2M”等),随后为数字标识(例如“15177”、“15228”、“15268”等,如表2中所示),随后为“P”、“P2”、“N”或“B”后缀。因此,根据该命名法,抗体在本文可称为例如“H1H15177P”、“H1H15228P2”、“H2M15268N”等。本文使用的抗体名称上的H4sH、H1M和H2M字首指示抗体的特定Fc区同型。例如,“H4sH”抗体具有如US20100331527中公开的其中2个或多个氨基酸改变的人IgG4 Fc,“H1M”抗体具有小鼠IgG1 Fc,且“H2M”抗体具有小鼠IgG2 Fc(a或b同型)(全部可变区完全是人,如由抗体命名最初的‘H’表示)。本领域的普通技术人员可以理解的是,具有特定Fc同型

的抗体可转化为具有不同Fc同型的抗体(例如具有小鼠IgG1 Fc的抗体可转化为具有人IgG4的抗体等),但在任何事件中,可变域(包括CDR)-其通过表2中所示的数字标识表示-将保持相同,且与抗原的结合特性预期相同或基本上相似,无论Fc结构域的性质如何。

[0222] 实施例4:通过表面等离子体共振确定的抗体与MERS-CoV-S的结合

[0223] 在Biacore 4000或Biacore T200仪器上使用实时表面等离子体共振生物传感器测定确定抗原与杂交瘤上清结合的结合缔合和解离速率常数(分别为 $k_a$ 和 $k_d$ ),平衡解离常数和半衰期(分别为 $K_D$ 和 $t_{1/2}$ )。Biacore传感器表面用多克隆兔抗小鼠抗体(GE, #BR-1008-38)或用单克隆小鼠抗人Fc抗体(GE, #BR-1008-39)衍生化以捕获约100-900RU的抗MERS-CoV-S单克隆抗体,分别与小鼠Fc或人Fc表达。测试的用于与抗MERS-CoV-S抗体结合的MERS-CoV试剂包括与C末端人IgG1 Fc一起表达的重组MERS-CoV-S受体结合域(MERS RBD-hFc; SEQ ID NO:458)。将3.7nM-200nM的不同浓度的MERS-CoV试剂以30 $\mu$ L/分钟的流速在Biacore 4000上或以50 $\mu$ L/分钟在Biacore T200上注射于抗MERS-CoV-S单克隆抗体捕获的表面上。在HBST运行缓冲液(0.01M HEPES pH 7.4, 0.15M NaCl, 3mM EDTA, 0.05% v/v Surfactant P20)中监测3-5分钟MERS-CoV试剂与捕获的单克隆抗体的结合,同时监测7-10分钟其从抗体的解离。在25 $^{\circ}$ C实施实验。动力学结合( $k_a$ )和解离( $k_d$ )速率常数通过使用Scrubber 2.0c曲线拟合软件处理数据并将其拟合至1:1结合模型而确定。结合解离平衡常数( $K_D$ )和解离半衰期( $t_{1/2}$ )随后从动力学速率常数计算为: $K_D$  (M) =  $k_d/k_a$ 和 $t_{1/2}$  (分钟) =  $[\ln 2 / (60 * k_d)]$ 。

[0224] 在最初的实验中,确定了22种杂交瘤上清的结合解离平衡常数和半衰期(描述于实施例2中)。

[0225] 在后续的实验中,使用上文所述的表面等离子体共振测定测试了纯化的抗体与MERS-CoV刺突蛋白的结合。

[0226] 表4

		在 25°C 的结合动力学					
捕获的 mAb	mAb 捕获水平(RU)	100nM Ag 结合(RU)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	t <sub>1/2</sub> (min)	
[0227]	H2aM15281N	223 ± 0.8	127	2.10E+06	8.18E-04	3.90E-10	14
	H1M15289N	224 ± 1.5	88	2.10E+05	4.41E-05	2.10E-10	262
	H1M15267N	173 ± 0.7	109	8.43E+05	1.53E-04	1.81E-10	75
	H2aM15272N	229 ± 1.1	120	1.65E+06	7.33E-04	4.43E-10	16
	H2aM15279N	195 ± 0.7	127	8.70E+05	8.91E-05	1.02E-10	130
	H2aM15278N	230 ± 1	118	1.72E+06	8.73E-04	5.06E-10	13
	H2aM15268N	174 ± 0.6	121	2.68E+06	9.50E-04	3.55E-10	12
	H2aM15270N	182 ± 0.7	107	7.79E+05	6.05E-04	7.76E-10	19
	H1M15277N	211 ± 1	150	2.63E+06	9.10E-04	3.46E-10	13
	H2bM15292N	185 ± 1.2	95	4.57E+05	1.55E-04	3.40E-10	75
	H2aM15271N	227 ± 1.4	112	9.08E+05	1.24E-03	1.37E-09	9
	H1M15269N	268 ± 2.8	83	1.76E+05	1.08E-04	6.16E-10	107
	H1M15290N	210 ± 1.9	108	4.82E+05	2.11E-04	4.38E-10	55
	H1M15293N	187 ± 0.9	91	6.04E+05	1.98E-04	3.28E-10	58
	H2bM15291N	179 ± 1.8	83	2.52E+05	1.41E-04	5.59E-10	82
	H1M15288N	149 ± 1	55	1.73E+05	7.16E-04	4.15E-09	16
[0228]	H2aM15287N	186 ± 1.9	50	6.33E+04	4.42E-04	6.98E-09	26
	H1M15280N	168 ± 0.8	56	2.83E+05	5.25E-03	1.85E-08	2.2
	H1H15233P2	250 ± 13.2	141	1.99E+05	4.56E-05	2.29E-10	253
	H1H15231P2	228 ± 3.8	154	6.39E+05	7.44E-05	1.16E-10	155
	H1H15188P	189 ± 1.4	158	1.48E+06	1.22E-04	8.25E-11	95
	H1H15211P	226 ± 1.1	180	1.13E+06	8.72E-05	7.75E-11	133
	H1H15249P2	195 ± 1.2	99	3.49E+05	7.91E-05	2.27E-10	146
	H1H15260P2	242 ± 2	164	1.16E+06	1.60E-04	1.38E-10	72
	H1H15203P	128 ± 1.4	100	4.43E+05	1.21E-04	2.73E-10	95
	H1H15237P2	171 ± 2.2	131	4.39E+05	1.20E-04	2.74E-10	96
	H1H15264P2	110 ± 2.9	66	2.23E+05	1.86E-04	8.33E-10	62
	H1H15228P2	144 ± 4.3	113	4.43E+05	1.85E-04	4.18E-10	63
	H1H15208P	114 ± 4.3	98	4.39E+05	2.43E-04	5.53E-10	48
	H1H15177P	135 ± 1.3	105	4.93E+05	1.92E-04	3.90E-10	60
	H1H15253P2	127 ± 1.7	94	3.56E+05	1.24E-04	3.48E-10	93
	H1H15215P	171 ± 1	86	1.44E+05	9.67E-05	6.71E-10	119
	H1H15259P2	234 ± 2.1	142	2.26E+05	3.77E-04	1.67E-09	31

[0229] 表5

		在 37°C 的结合动力学					
捕获的 mAb	mAb 捕获水平(RU)	100nM Ag (RU)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	t <sub>1/2</sub> (min)	
[0230]	H2aM15281N	276 ± 1.6	140	2.55E+06	5.43E-04	2.13E-10	21
	H1M15289N	271 ± 2.2	119	4.59E+05	1.26E-04	2.75E-10	92
	H1M15267N	202 ± 1.1	132	2.37E+06	7.45E-04	3.14E-10	16
	H2aM15272N	284 ± 1.9	135	2.00E+06	6.34E-04	3.16E-10	18
	H2aM15279N	229 ± 1	150	1.39E+06	4.45E-04	3.20E-10	26
	H2aM15278N	266 ± 1.1	127	2.17E+06	1.13E-03	5.19E-10	10
	H2aM15268N	208 ± 1.1	126	3.75E+06	2.02E-03	5.37E-10	6
	H2aM15270N	219 ± 0.8	128	1.75E+06	1.14E-03	6.51E-10	10
	H1M15277N	246 ± 1.1	156	3.24E+06	2.18E-03	6.71E-10	5
	H2bM15292N	242 ± 0.6	117	5.44E+05	5.24E-04	9.63E-10	22
	H2aM15271N	276 ± 1.5	117	1.45E+06	1.45E-03	1.00E-09	8
	H1M15269N	319 ± 1.7	107	2.54E+05	3.39E-04	1.34E-09	34
	H1M15290N	243 ± 1.8	117	6.66E+05	9.84E-04	1.48E-09	12
	H1M15293N	213 ± 1.7	112	5.12E+05	8.53E-04	1.66E-09	14
	H2bM15291N	229 ± 1.7	97	3.42E+05	6.40E-04	1.87E-09	18
	H1M15288N	176 ± 1	69	2.73E+05	2.08E-03	7.61E-09	6
[0231]	H2aM15287N	228 ± 1.4	61	1.74E+05	1.89E-03	1.09E-08	6
	H1M15280N	196 ± 1	59	4.97E+05	6.57E-03	1.32E-08	1.8
	H1H15233P2	317 ± 6.9	184	3.74E+05	4.74E-05	1.27E-10	244
	H1H15231P2	306 ± 4.3	228	6.59E+05	9.19E-05	1.39E-10	126
	H1H15188P	267 ± 1.6	217	1.59E+06	2.65E-04	1.67E-10	44
	H1H15211P	305 ± 2.7	232	8.27E+05	1.60E-04	1.94E-10	72
	H1H15249P2	260 ± 2.3	157	4.42E+05	1.27E-04	2.88E-10	91
	H1H15260P2	322 ± 2.5	220	1.05E+06	5.47E-04	5.19E-10	21
	H1H15203P	179 ± 1.2	106	5.01E+05	3.23E-04	6.45E-10	36
	H1H15237P2	218 ± 1.4	181	5.14E+05	4.09E-04	7.97E-10	28
	H1H15264P2	149 ± 2.1	106	5.07E+05	4.75E-04	9.36E-10	24
	H1H15228P2	188 ± 2	157	4.76E+05	4.64E-04	9.75E-10	25
	H1H15208P	151 ± 3.6	145	5.25E+05	5.31E-04	1.01E-09	22
	H1H15177P	181 ± 1.5	149	5.68E+05	7.01E-04	1.23E-09	16
	H1H15253P2	172 ± 0.7	139	4.36E+05	6.29E-04	1.44E-09	18
	H1H15215P	224 ± 2.1	96	1.38E+05	2.33E-04	1.68E-09	50
	H1H15259P2	282 ± 3.8	173	4.78E+05	8.88E-04	1.86E-09	13

[0232] 如表4和5所示,抗体在25°C以77.5pM-18.5nM的K<sub>D</sub>值在37°C以127pM-13.2nM的K<sub>D</sub>值与MERS-CoV刺突蛋白结合。抗体在25°C显示2.2-262分钟的解离半衰期(t<sub>1/2</sub>)值且在37°C显示1.8-244分钟的解离半衰期(t<sub>1/2</sub>)值。

[0233] 实施例5:MERS感染性的抗体介导的中和

[0234] 材料和方法

[0235] 假颗粒的生成

[0236] 通过使用表达MERS刺突蛋白的质粒构建体、HIV gag-pol和编码萤火虫荧光素酶的HIV前病毒载体共转染293T细胞而生成MERS假颗粒 (MERSpp; 也称为病毒样颗粒-VLP)。在转染后的72小时收获包含MERSpp的上清, 使用离心澄清, 浓缩, 等分并在-80℃冷冻。通过用编码水泡性口炎病毒糖蛋白 (Vesicular Stomatitis Virus Glycoprotein, VSVg) 的质粒取代表达MERS-CoV刺突蛋白的质粒而生成对照假颗粒。

[0237] 基于MERSpp的测定

[0238] 抗体稀释液与MERSpp在室温温育1小时。在完全DMEM介质中的Huh7细胞使用1% EDTA分离, 洗涤并与抗体/MERSpp混合物温育72小时。感染效力通过用BrightGlo<sup>®</sup> 荧光素酶测定 (Promega, San Luis Obispo, CA, USA) 的荧光素酶检测而量化并在Victor<sup>®</sup> X3读板器中对光的生成进行读取。

[0239] 基于病毒的测定

[0240] 实验前1天, 将 $1 \times 10^4$  Vero E6细胞每孔接种于96孔板。MERS-CoV EMC/2012株的500TCID<sub>50</sub>与所示量的抗体在100ul正常Vero E6生长介质中混合并在室温温育30分钟, 且随后将混合物添加至Vero E6细胞。在感染后第2天, 使用CellTiter-Glo<sup>®</sup> 荧光细胞活力测定 (CellTiter-Glo<sup>®</sup> Luminescent Cell Viability Assay, Promega) 根据制造商的说明评估细胞死亡。在Spectramax M读板器 (Molecular Devices) 上读取荧光。数据表示为模拟感染对照的百分比。

[0241] 结果[0242] 通过抗MERS-CoV-S抗体中和MERS-CoV

[0243] 在最初的实验中, 测试了源自不同独立的杂交瘤的抗MERS-CoV-S抗体的MERS感染性的中和。如图1所示, 22种细胞抗MERS-CoV-S杂交瘤抗体中的12种抑制或中和多于90%的MERS感染性且具有68.4pM-3.58nM的IC<sub>50</sub>。

[0244] 在随后的实验中, 测试了纯化的抗体的MERSpp和活MERS病毒 (分离株: EMC/2012) 的中和。结果示于表6和7。

[0245] 表6

[0246]

抗体	针对MERSpp的IC50 (M)	针对活病毒 (EMC2012) 的IC50 (M)
H1M15277N	6.46E-11	2.87E-10
H2aM15279N	9.39E-11	8.25E-10
H1M15280N	1.11E-10	7.63E-10
H2aM15278N	1.42E-10	6.44E-10
H2aM15271N	1.27E-10	1.03E-09
H1M15267N	9.98E-11	8.91E-10
H2bM15292N	1.13E-10	2.26E-09
H2bM15291N	1.86E-10	2.22E-09
H1M15290N	2.10E-10	2.55E-09
H1M15293N	2.58E-10	2.58E-09
H1M15289N	2.81E-10	3.15E-09

H1M15269N	6.88E-10	6.80E-09
H2aM15287N	2.93E-09	8.92E-09
H1M15288N	~0.1209	2.66E-08
H2aM15268N	5.89E-11	2.72E-10
H2aM15270N	1.02E-10	7.11E-10
H2aM15281N	7.85E-11	2.92E-10
H2aM15272N	7.23E-11	5.69E-10

[0247] 表7

[0248]

抗体	针对MERSpp的IC50 (M)	针对活病毒 (EMC2012) 的IC50 (M)
H1H15211P	4.74E-11	3.69E-10
H1H15188P	6.20E-11	5.05E-10
H1H15177P	4.57E-11	6.29E-10
H1H15203P	7.65E-11	8.26E-10
H1H15228P2	9.75E-11	8.98E-10
H1H15231P2	1.02E-10	9.20E-10
H1H15237P2	6.60E-11	1.01E-09
H1H15233P2	8.73E-11	1.37E-09
H1H15259P2	7.64E-11	1.63E-09
H1H15264P2	1.34E-10	2.39E-09
H1H15208P	8.27E-11	2.41E-09
H1H15253P2	1.51E-10	2.42E-09
H1H15215P	1.92E-10	2.67E-09
H1H15260P2	6.43E-11	6.70E-09
H1H15249P2	2.27E-10	1.20E-08
H4sH15188P	2.91E-11	NA
H4sH15211P	6.08E-11	NA
H4sH15260P2	6.24E-11	NA
H4sH15231P2	7.33E-11	NA

[0249] 上述数据指示本发明的抗MERS-CoV-S抗体强效地阻断MERS-CoV进入易感细胞并中和感染性。

[0250] 通过抗MERS-CoV-S抗体中和临床分离株

[0251] RNA病毒编码低保真基因组复制机器,这允许他们迅速适应其宿主环境 (Malpica等2002;Genetics 162:1505-1511)。然而,冠状病毒如MERS-CoV编码具有3' -5' 的核糖核酸外切酶活性的非结构蛋白,这在其复制过程中提供校对功能且大大增加了基因组的编码能力而不导致突变灾难 (Cotton等2013;Lancet doi:10.1016/S0140-6736(13)61887-5)。尽管如此,对MERS-CoV疫情的最初两年中的多个临床分离株的测序已揭示病毒的MERS-CoV S蛋白处于进化中 (Cotton等2014;MBio 5doi:10.1128/mBio.01062-13)。对于本研究,比对了38种NCBI保藏的MERS-CoV临床分离株的序列并与首次分离的株EMC/2012进行了比较。基于筛选测定的设计,本发明的抗体预期在MERS-CoV S蛋白的RBD内结合,因此序列的比较特

别聚焦于氨基酸367-606。鉴定了7种不同的氨基酸,其不同于测序的临床分离株和原型EMC/2012序列,A431P、S457G、S460F、A482V、L506F、D509G和V534A(表8)。

[0252] 表8

氨基酸改变	分离株
A431P	Riyadh_9
S457G	KFU-HKU 1;KFU-HKU 13
S469F	Qatar3;Qatar4
A482V	Riyadh_9
L506F	England 1;England-Qatar/2012
D509G	Bisha_1;Riyadh_1
V534A	Riyadh_2

[0254] 为测试抗体与RBD内的保守区结合并中和2014年7月测序的全部MERS-CoV临床分离株的能力,使用位点导向诱变生成编码全部S蛋白变体的质粒构建体。将这些用于生成具有修饰的S蛋白的MERSpp假型并实施中和测定。使用以上述突变生成的MERSpp测试了纯化的抗体(描述于实施例1中)MERS感染性的中和。表9和10显示MERSpp变体的百分比中和。

[0255] 表9

RBD 变体	wt	A431P	S457G	S460F	A482V	L506F	D509G
抗体 $\mu\text{g/mL}$	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
H1M15267N	71.65%	68.15%	70.81%	76.82%	66.78%	57.11%	84.91%
H1M15269N	7.19%	11.87%	27.48%	19.57%	7.74%	21.09%	7.08%
H1M15280N	56.69%	59.42%	74.42%	73.14%	65.89%	65.90%	38.21%
H1M15277N	75.83%	89.05%	90.07%	89.35%	75.14%	83.27%	62.26%
H2aM15268N	79.86%	89.51%	93.08%	89.11%	83.50%	88.63%	87.74%
H2aM15270N	63.45%	81.24%	81.64%	80.51%	67.96%	79.63%	45.28%
H2aM15271N	53.38%	63.32%	67.50%	65.52%	52.90%	4.79%	38.21%
H2aM15272N	62.88%	72.97%	78.34%	80.51%	58.90%	16.58%	7.08%
H2aM15281N	78.99%	85.38%	86.76%	83.70%	73.96%	17.87%	19.81%
H2aM15279N	48.92%	68.84%	69.91%	65.27%	55.36%	71.27%	53.77%
H2aM15278N	50.50%	65.39%	70.81%	73.87%	48.97%	56.25%	-29.72%
H1M15288N	1.29%	11.64%	20.86%	26.45%	23.68%	8.22%	-2.83%
H1M15289N	43.74%	44.26%	45.54%	51.27%	36.86%	42.32%	28.30%
H1M15290N	36.55%	39.20%	43.73%	48.08%	22.89%	-0.14%	-39.62%
H1M15293N	27.91%	29.10%	34.40%	40.21%	20.33%	1.57%	-15.57%
H2aM15287N	11.65%	5.90%	12.14%	15.15%	19.06%	15.30%	-1.42%

[0256]

[0257]

H2bM15291N	45.90%	38.74%	50.05%	49.80%	28.30%	-3.57%	18.40%
H2bM15292N	42.01%	41.04%	49.45%	51.02%	40.21%	14.87%	-16.98%
同种型对照 (mIgG1)	-0.14%	10.03%	-3.81%	1.39%	-5.25%	2.64%	-24.06%
同种型对照 (mIgG2a)	5.32%	-1.00%	7.32%	8.76%	10.30%	5.65%	-26.89%
同种型对照 (mIgG2b)	0.43%	-5.13%	26.88%	5.08%	13.35%	6.08%	-4.25%
H1H15211P	87.77%	90.20%	93.98%	93.78%	88.82%	91.85%	80.66%
H4sH15211P	91.65%	95.02%	98.80%	91.81%	95.41%	96.35%	67.92%
同种型对照 (hIgG1)	11.80%	10.26%	-11.63%	3.60%	15.61%	6.08%	-8.49%
同种型对照 (hIgG4)	-4.60%	-0.54%	-0.50%	-0.33%	13.84%	-5.50%	8.49%

[0258]

表10

[0259]

RBD 变体	wt	A431P	S457G	S460F	A482V	L506F	D509G
Ab ID $\mu\text{g/mL}$	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
H4sH15188P	81.6%	89.7%	95.7%	92.6%	74.2%	93.6%	101.4%
H4sH15211P	77.1%	91.6%	88.1%	86.0%	73.8%	88.2%	57.2%
H4sH15231P2	70.6%	72.3%	74.5%	75.7%	70.5%	80.6%	60.0%
H4sH15260P2	73.3%	82.8%	77.7%	74.8%	79.0%	73.3%	73.8%
H1H15177P	82.8%	83.2%	84.4%	84.5%	75.9%	90.9%	35.2%
H1H15188P	81.4%	88.9%	86.8%	85.5%	86.4%	92.4%	90.3%
H1H15203P	61.0%	80.5%	74.5%	74.0%	74.0%	61.3%	35.2%
H1H15208P	53.9%	79.3%	73.8%	77.7%	65.2%	76.5%	82.1%
H1H15211P	77.8%	87.3%	93.5%	94.6%	80.2%	82.6%	79.3%
H1H15215P	20.2%	43.0%	42.4%	44.0%	41.7%	15.8%	-47.6%
H1H15228P2	47.8%	64.1%	68.4%	57.4%	63.1%	74.8%	62.8%
H1H15231P2	48.1%	60.6%	71.4%	55.7%	60.0%	55.2%	46.2%
H1H15233P2	55.4%	66.8%	69.7%	59.9%	65.0%	50.8%	65.5%
H1H15237P2	52.6%	74.4%	82.7%	73.5%	70.5%	73.8%	79.3%
H1H15249P2	15.6%	34.6%	19.8%	34.2%	37.2%	30.7%	29.7%
H1H15253P2	52.9%	66.4%	56.0%	57.7%	58.2%	56.9%	51.7%
H1H15259P2	61.2%	79.3%	77.1%	63.8%	68.1%	73.0%	79.3%
H1H15260P2	68.8%	85.6%	74.5%	86.7%	80.4%	82.1%	54.5%
H1H15264P2	23.1%	55.5%	52.3%	52.3%	40.1%	47.4%	-20.0%

[0260]	同种型对照 (hIgG1)	-38.0%	-0.3%	1.6%	-36.9%	0.8%	-16.9%	15.9%
	同种型对照 (hIgG4)	-19.9%	1.1%	-4.5%	-8.1%	6.7%	-7.4%	15.9%
	H1M15277N	35.2%	86.7%	83.1%	65.0%	75.1%	73.0%	71.0%
	同种型对照 (mIgG1)	-8.8%	2.6%	-3.6%	3.7%	0.2%	-9.6%	26.9%

[0261] 这些数据表明本发明的抗体结合于病毒的天然进化过程中保守的MERS-CoV刺突蛋白的区。

[0262] 本发明的抗MERS-CoV-S抗体相比之前分离的抗MERS-CoV抗体是更有效的中和剂

[0263] 将本发明所选抗体的效力与之前分离的单克隆抗体进行了比较。三组使用了体外抗体分离方法,即噬菌体展示 (Tang等2014,PNAS doi:10.1073/pnas.1402074111;和Ying等2014,J.Virol.doi:10.1128/JVI.00912-14) 和酵母展示 (Jiang等2014,Sci.Transl.Med.doi:10.1126/scitranslmed.3008140),以选择与MERS-CoV S蛋白结合并阻断病毒进入的抗体。对于该研究,选择了报道为中和MERS-CoV并与不同的表位结合的具有公开的可变域序列的三个抗体的组。将抗体3B12 (Tang等2014,PNAS doi:10.1073/pnas.1402074111)、MERS-4和MERS-27 (Jiang等2014,Sci.Transl.Med.doi:10.1126/scitranslmed.3008140) 的序列克隆至人IgG1恒定域上,随后与本发明所选抗体相似地表达并纯化。使用以原型EMC/2012序列和全部上述的临床分离株生成的假颗粒测试了全部抗体的中和效力。

[0264] 针对MERSpp变体的所选抗体的中和IC<sub>50</sub>示于表11。如在表11中所见,H1H15211P能够以1.3E-11M至6.5E-11M的IC<sub>50</sub>值中和全部的分离株。对于H1H15277N观察到相似的值,V534A变体除外,其呈现对抗体的部分抗性。然而值得注意的是,该氨基酸变化仅在2012年分离的且为MERS-CoV进化树的死枝部分的单MERS-CoV分离株 (Riyadh\_2) 中观察到。

[0265] H1H15211P和H1H15277N以比最强效的比较抗体MERS-4低至少1个log的IC<sub>50</sub>值中和MERSpp。此外,3B12和MERS-27都看起来与MERS-CoV S蛋白上较不保守的位点结合,因为具有多重临床分离株的假颗粒不能使用这种抗体中和。

[0266] 表11

	H1H15177P	H1H15188P	H1H15211P	H1H15277N	H1H15267N2	3B12	MERS-4	MERS-27	
[0267]	wt	5.374E-11	4.819E-11	6.525E-11	6.978E-11	7.621E-11	1.69E-09	3.90E-10	8.36E-09
	A431P	1.924E-11	1.323E-11	2.15E-11	3.162E-11	4.877E-11	6.35E-10	2.02E-10	4.50E-09
	S457G	3.022E-11	1.99E-11	2.578E-11	3.532E-11	4.973E-11	7.43E-10	2.81E-10	5.06E-09
	S460F	2.435E-11	1.49E-11	2.031E-11	3.19E-11	6.805E-11	6.69E-10	3.14E-10	6.36E-09
	A482V	2.044E-11	1.955E-11	2.735E-11	8.094E-11	6.533E-11	9.58E-10	6.83E-10	1.26E-08
	L506F	1.624E-11	1.017E-11	1.341E-11	3.967E-11	3.537E-11	~0.001534	5.64E-10	6.64E-09
	D509G	1.792E-10	1.682E-11	4.036E-11	4.322E-11	4.846E-11	1.17E-07	1.37E-09	4.57E-09
	V534A	3.663E-11	2.034E-11	3.195E-11	7.064E-09	4.317E-10	5.63E-08	2.19E-10	1.31E-07

[0268] 这些数据表明本发明的抗体相比仅基于体外生化特性分离的数种抗体能够以改进的效力中和更广范围的MERS-CoV分离株。

[0269] 实施例6:抗MERS-CoV-S抗体间的八位(octet)交叉竞争

[0270] 在Octet® RED96生物传感器(Pall ForteBio Corp)上使用实时、无标记生物层干涉测定确定了MERS-CoV S抗体间的结合竞争。在25°C HBS-P Octet缓冲液(10mM HEPES, 150mM NaCl和0.05% v/v表面活性剂吐温-20, pH 7.4, 1mg/mL BSA)中以1000rpm的速度振荡平板实施了完整的实验。为评估抗体是否能够彼此竞争与在融合了人Fc标签的重组表达的MERS刺突蛋白受体结合域(MERS RBD-hFc; SEQ ID:458)上其对应的表位的结合,在实施结合竞争测定前,采用了预先混合的测定形式且将50nM的MERS-CoV-RBD-mFc与500nM的不同抗MERS单克隆抗体(随后称为mAb-2)预温育至少2小时。非特异性单克隆抗体与作为同种型对照的MERS-RBS.mFc温育。首先将以抗hFc多克隆抗体(Pall ForteBio Corp., 目录#18-5060)涂覆的Octet生物传感器浸入包含50µg/mL溶液的孔中4分钟以捕获约2nm的抗MERS抗体(随后称为mAb-1)。捕获步骤后,空置的抗hFc多克隆抗体随后通过将Octet生物传感器浸入包含100µg/mL的非特异性完全人单克隆抗体的孔中而饱和。最终,将生物传感器浸入包含50nM MERS-RBD-mFc和500nM mAb-2的预先混合样品的孔中4分钟。实验的每个步骤间在HBS-P Octet缓冲液中洗涤生物传感器。在实验过程中监测实时结合响应并在每个步骤结尾测量结合响应。比较了mAb-1与MERS-RBD-mFc和mAb-2的前复合物结合的反应并确定了不同的抗MERS单克隆抗体的竞争/非竞争行为。

[0271] 在该实施例中使用的实验条件下,观察到交叉竞争(即在两个方向的抗体间的竞争),例如,对于:(a) H2aM15281N、H1M15290N、H1M15293N和H2bM15291N;(b) H2aM15272N; H2bM15292N和H2aM15271N;和(c) H2aM15268N、H1M15267N、H2M15279N、H1M15289N和H1M15277N(图2)。

[0272] 在另一实验中,确定了从抗原阳性小鼠B细胞直接分离的所选抗体间的结合竞争(描述在实施例1中)。在该实施例中使用的实验条件下,观察到交叉竞争(即在两个方向的抗体间的竞争),例如:(a) H1H15215P、H1H15177P、H1H15203P和H1H15211P;(b) H1H15188P、H1H15208P、H1H15228P2、H1H15233P2、H1H15237P2、H1H15253P2和H1H15259P2;和(c) H1H15231P2、H1H15249P2、H1H15260P2和H1H15264P2(图3)。

[0273] 在另一实验中,监测了两种抗体H1H15211P和H1H15277N间的结合竞争。

[0274] 表12

		mAb2 和 MERS-RBD-mFc 的前复合物与捕获的 mAb1 的结合			
mAb1	mAb1 捕获水平(nm)	H1H15277N	H1H15211P	同种型对照 mAb	无 mAb
H1H15277N	2.19	0.22	0.55	1.03	0.96
H1H15211P	2.08	0.68	0.22	0.73	0.69

[0276] 表12显示两种抗体不彼此抑制且一种抗体与MERS-CoV RBD的结合仍允许第二抗体的结合。这些数据表明两种抗体结合于离散、不重叠的表位。作为由一种抗体的选择压力的结果的一个表位的突变不会影响另一者的结合。

[0277] 实施例7:抗MERS-CoV-S抗体的体内效力

[0278] 材料和方法

[0279] 人DPP4敲入小鼠的生成

[0280] 由于MERS刺突蛋白不与小鼠DPP4相互作用,使用VelociGene®技术生成MERS-

CoV感染的人源化模型 (Valenzuela等2003, Nat. Biotechnol. 21:652-659)。简言之, 构建了大靶向载体 (LTVEC) 以包含来自外显子2至26含有3' UTR的82kb人DPP4基因组DNA来替换79kb的小鼠Dpp4对应物序列。使用Blast鉴定了包含Dpp4基因的人BAC RP11-68L22和小鼠BAC RP23-362N15, 并使用Illumina台式测序仪MiSeq确认了序列。将LTVEC电穿孔入F1杂合体 (129S6SvEvTac/C57BL6NTac) ES细胞。电穿孔后10天挑选G418抵抗克隆并通过等位基因丧失测定来筛选正确的靶向。使用**VelociMouse®**方法 (Poueymirou等, 2007; Nature Biotechnology 25:91-99), 其中将靶向的ES细胞注射入未压实的8细胞阶段Swiss Webster胚, 以产生携带人DPP4基因等位基因的完全的ES细胞衍生的F0代小鼠。严格依照NIH的实验动物护理和使用指导的推荐实施全部动物方法。该规程由Regeneron制药机构动物护理和使用委员会 (Regeneron Pharmaceuticals Institutional Animal Care And Use Committee, IACUC) 批准。所述方法详细描述于2014年9月17日提交的美国专利申请号62/051,626, 其以整体并入本文。还通过hDPP4基因在小鼠基因组中的随机插入生成转基因小鼠。

#### [0281] 动物实验

[0282] 取决于实验, 在感染前1天或感染后1天, 用所示量的抗体或作为对照的无菌盐水腹腔内 (i. p.) 注射6-8周龄的人源化DPP4小鼠。鼻内接种前, 使用赛拉嗪 (0.38mg/小鼠; Lloyd laboratories) 和氯胺酮 (1.3mg/小鼠; Henry Schein animal health) 的混合物 (在PBS中稀释以生成每小鼠50 $\mu$ l的总体积) 通过腹腔内注射麻醉小鼠。一旦麻醉, 使用总接种量50 $\mu$ l的PBS或稀释于PBS中的 $2 \times 10^5$  pfu的MERS-CoV (Jordan) 鼻内接种小鼠。在实验过程中, 在感染前和实验的每天对小鼠称重以评估MERS-CoV诱导的体重丧失。在感染后第2天和第4天使用致死剂量的异氟烷 (Butler Animal Health Supply) 使小鼠安乐死。收获肺用于进一步的MERS-CoV复制和病理分析。

#### [0283] MERS-CoV RNA分析

[0284] 根据制造商的指导使用Magnalyzer (Roche) 通过在1ml的**Trizol®** (Life Technologies Inc) 中均质化而从小鼠肺提取RNA。根据制造商的指导使用从Life Technologies获得的引物双链体 (靶向包膜基因 (UpE) 的基因组上游区)、核衣壳信使RNA的先导序列 (先导引物) 利用**Taqman®** Fast病毒一步主混合物 (Applied Biosystems) 评估了MERS-CoV RNA的水平; 并与小鼠18S rRNA (内源对照) 进行了比较。**Microamp®** 快速光学反应平板 (Applied Biosystems) 中的qPCR反应在7500快速DX实时PCR仪器 (Applied Biosystems) 上读取, 并使用 $\delta$ Ct方法分析了数据, 其中未感染的对照设置为1。检测的百分比MERS-CoV RNA相对于用同种型匹配的对照抗体治疗的感染小鼠中检测的RNA水平表示。

#### [0285] MERS-CoV滴度的噬斑测定

[0286] 在6000rpm使用Magnalyzer (Roche) 在1ml的PBS中用玻璃珠将小鼠的肺均质化60秒。随后以10,000rpm离心匀浆10分钟, 并通过在Vero E6细胞上的噬斑测定分析上清以量化处理后残留的病毒水平。如之前所述实施噬斑测定, 只是将平板保留3天用于噬斑的出现。

#### [0287] 组织学分析

[0288] 从固定、石蜡包埋的组织制备组织学切片, 并用苏木精和曙红染色。通过光学显微

镜检查视野并分析。将间质、周围支气管和外周血管的炎症从0-5进行评分。对于每个实验组,盲化载玻片并从0-5评分和制表以比较株、时间点和处理/治疗。还注意到文本中每组的其他组织学特征如支气管上皮的存在和肺泡损伤、胸膜变化和纤维支气管血管炎症的程度。对于每组平均化每只小鼠的整体炎症评分并表示为每组和时间点中全部小鼠的平均评分。

[0289] 结果

[0290] DPP4人源化的小鼠对MERS-CoV感染易感

[0291] 抗病毒分子的体内测试需要对MERS-CoV感染易感的小动物模型。小鼠对MERS-CoV感染并不易感。小鼠和人DPP4序列的序列比较揭示了之前鉴定为MERS-CoV S蛋白和其受体之间的接触位点的氨基酸在两物种间不同。此外,人DPP4在小鼠细胞中的表达允许MERSpp进入和MERS-CoV传播,指示病毒的进入是小鼠细胞感染的限制步骤且小鼠DPP4和MERS-CoV糖蛋白间相互作用的缺乏限定体外物种嗜性。

[0292] 发明人假设使小鼠表达人DPP4来代替小鼠DPP4将对MERS-CoV易感且允许抗MERS-CoV疗法的体内测试。采用 **VelociGene®** 技术以用82kb的其人直向同源物替代79kb的小鼠Dpp4基因。获得的小鼠在小鼠调节元件控制下表达全长人DPP4,以保持适当的表达调节和蛋白组织分布。

[0293] 为测试人源化的小鼠和转基因小鼠是否可支持MERS-CoV感染,在一个初始实验中,用200 $\mu$ g的抗MERS-CoV-S抗体或同种型对照在第-1天腹膜内处理转基因小鼠并在第0天用MERS-CoV( $\sim 10^6$  pfu的EMC2012)鼻内感染。感染后4天,收获肺并通过RT-PCR测量病毒的RNA水平以检查抗体对病毒载量的影响。表13显示病毒基因组RNA和复制RNA的平均水平,其表示为同种型对照的百分比。用H1H15211P的治疗导致感染小鼠中病毒RNA的约500倍的减少(减少为约1/500)。

[0294] 表13

[0295]	抗体	基因组 RNA	复制 RNA (先导)
	H1H15177P	0.356839562	0.273565089
[0296]	H1H15211P	0.254493202	0.206006238
	H4sH15211P	1.989548316	1.112094283
	IgG1 同种型对照	104.0889287	101.2578723
	IgG4 同种型对照	100	100

[0297] 在另一实验中,用MERS-CoV鼻内接种6-8周龄的人源化DPP4(huDPP4)小鼠。尽管直至第4天都未观察到死亡或疾病的临床征兆,但在接种后的第2天和第4天,使小鼠安乐死并对其肺进行解剖。为获得病毒RNA水平,在 **Trizol®** 中均质化肺并通过实时PCR使用特异性针对MERS-CoV的引物进行分析(图4和5)。为获得病毒滴度,在PBS中均质化肺,通过离心澄清并在Vero E6细胞上滴定(图6)。肺中稳固的MERS-CoV复制在感染后的第2和4天明显。使用经设计仅扩增复制的MERS-CoV的对于MERS-CoV先导序列特异性的引物组的RNA量化,证明了在第2天收集的肺中高水平的MERS-CoV复制RNA,且这些水平维持至感染后第4天(图5)。Vero E6细胞上的肺匀浆的噬斑测定量化了MERS-CoV(Jordan)水平在感染后的第2天为

~7.27x10<sup>4</sup>pfu/g肺,且在感染后的第4天为~3.75x10<sup>5</sup>pfu/g肺(图6),这证明MERS-CoV在huDPP4小鼠的肺中活跃复制。这些数据表明使用VelociGene®技术的受体DPP4的人源化小鼠中创建了稳固的MERS-CoV模型,其可用于评估体内MERS-CoV治疗。

[0298] 对来自用MERS-CoV(Jordan株)或PBS(模拟感染的)鼻内接种的huDPP4小鼠的肺分析了病理学变化。在感染后第2天,周围支气管炎明显,其中遍及肺部发现支气管细胞结构的改变。在该时间点注意到最小外周血管炎症或对肺泡结构的影响。在感染后第4天,观察到显著的间质浸润及外周血管扩张和广泛的肺泡增厚。支气管改变也仍存在。重要的是,该病理学与间质性肺炎发展和在具有MERS-CoV的人中看到的显著的肺部疾病的射线照相发现相一致,表明该MERS-CoV感染的人源化DPP4体内模型概括了在人的MERS-CoV感染中看到的病理后遗症。

[0299] 在进一步的实验中(参加下文),预防性和/或治疗性地以一个或多个剂量的纯化抗体(如实施例1中所述)或抗体组合施用感染的小鼠以测试其针对MERS感染的效力。

[0300] H1H15211P和H1H15277N保护人源化的DPP4小鼠免于MERS-CoV感染

[0301] 已建立了人源化的DPP4小鼠对MERS-CoV易感后,将该模型用于评估两种单克隆抗体的体内活性。在以1x10<sup>5</sup>pfu的MERS-CoV(Jordan株)鼻内感染前24小时,用200ug、20ug或2ug的H1H15211P或H1H15277N或用200ug的hIgG1同种型对照抗体腹膜内(i.p.)注射小鼠。如图7和8中所见,在200ug每小鼠剂量,相比同种型对照抗体,两种抗体都能够以超过2log显著减少肺中的MERS-CoV特异性RNA水平。相比相同剂量的H1H15277N,20ug剂量的H1H15211P在降低MERS-CoV RNA水平上更加有效。相比同种型对照治疗的小鼠,每种抗体的2ug给药在减少病毒RNA水平方面无效。当在肺中分析MERS-CoV滴度时(图9),发现了200ug和20ug剂量的H1H15211P都将病毒水平减少至接近测定中所检测的水平(2x10<sup>3</sup>pfu/ml)。H1H15277N在200ug剂量与H1H15211P等效,而20ug和2ug显示病毒抑制的剂量依赖性抑制。这些数据表明H1H15211P和H1H15277N在体内可有效地阻断MERS-CoV感染。

[0302] 还在来自感染前24小时用H1H15277N、H1H15211P或用hIgG1同种型对照抗体在感染后第4天处理的小鼠的肺上实施组化分析。来自用hIgG同种型对照小鼠预处理的小鼠的肺显示显著的肺病理,其具有增加的间质炎症、外周血管套囊(cuffing)和肺泡间隔增厚。用200ug的H1H15277N或H1H15211P处理的小鼠具有减少的炎症,在间质和小支气管套囊方面具有炎症细胞的最小病灶。在用20ug的H1H15277N和H1H15211P预处理的小鼠中,相比更高的抗体组,发现了中等水平的外周血管套囊和间质炎症。相对而言,2ug抗体预处理组具有与显示显著间质炎症和主要的外周血管炎症的hIgG1同种型对照相似的病理。盲化的组织学评分(图10)反映了治疗小鼠减少的炎症评分。这些发现证明MERS-CoV感染后,H1H15277N和REGN3051赋予肺病理的剂量依赖性减少,确证了为这些小鼠确定的病毒RNA水平和病毒滴度。

[0303] 总的来说,这些数据指示当在感染前1天注射时,H1H15211P和H1H15277N可在体内阻断MERS-CoV感染和疾病。就我们所知,H1H15211P和H1H15277N是在MERS-CoV感染的体内模型中展示效力的最早的全长人抗体。

[0304] H1H15211P和H1H15277N可治疗用MERS-CoV感染的人源化DPP4小鼠

[0305] 感染后抑制MERS-CoV复制和肺病理的能力在潜在的疗法中是理想的性状。为评估H1H15211P是否能够具有治疗效果,huDPP4小鼠用MERS-CoV感染,且随后24小时后用500ug

的hIgG同种型对照或500ug或200ug的H1H15211P腹膜内注射。在感染后第4天,使小鼠安乐死并分析小鼠肺的病毒RNA、病毒滴度和肺病理。相比对照抗体治疗的小鼠,500ug和200ug剂量的H1H15211P都能将小鼠肺中的病毒RNA水平减少约10倍(图11和12)。在感染后第4天,相同的小鼠的肺的滴度证明了肺中以大于2log减少的病毒水平的显著减少(图13)。这些数据证明即使当接种病毒24小时后施用,H1H15211P也可显著抑制病毒复制。

[0306] 在感染后24小时用hIgG对照抗体、500ug或200ug H1H15211P治疗的小鼠上实施组织学分析。用对照抗体治疗的小鼠展示与上述对照相似的病理,具有显著间质炎症,外周血管套囊和肺泡间隔增厚。用200ug或500ug的H1H15211P治疗的小鼠遍及肺部具有最小间质炎症且具有减少的且仅有的局灶性外周血管炎症。盲化的组织学评分证明对于治疗的小鼠减少的炎症评分(图14)。这些数据证明即使在感染后24小时给予,H1H15211P的治疗剂量也减少MERS-CoV诱导的肺病理。

[0307] 本发明不限于本文所述具体实施方案的范围。事实上,从上述说明和附图,本发明的多种修饰以及本文所述的那些对本领域的技术人员将变得显而易见。这些修饰意欲落入所附的权利要求的范围内。

## 序列表

<110> 再生元制药公司 (Regeneron Pharmaceuticals Inc.)  
 Christos Kyratsous  
 Neil Stahl  
 Sumathi Sivapalasingam

<120> 针对中东呼吸综合征-冠状病毒刺突蛋白的人抗体

<130> A0027W001

<150> 62/002, 233

<151> 2014-05-23

<150> 62/004, 971

<151> 2014-05-30

<150> 62/051, 717

<151> 2014-09-17

<150> 62/072, 716

<151> 2014-10-30

[0001]

<160> 458

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 1

```
gaggtgcagc tggtagtc tgggggagc ttggttcagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgttcag cctctggatt cacctttagc agctatgaca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attcgttgta gtggtcatac cacatactac 180
gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgttgat 240
ctggaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attattgtgt gaaagatggg 300
agtatcgtag gtttcgacc ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca      354
```

<210> 2

<211> 118  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 2  
 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 Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
                   20                    25                    30  
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                    40                    45  
 Ser Ala Ile Arg Gly Ser Gly His Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
                   50                    55                    60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65                    70                    75                    80  
 Leu Glu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95  
 Val Lys Asp Gly Ser Ile Val Gly Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr  
                   100                    105                    110  
 [0002] Leu Val Thr Val Ser Ser  
                   115

<210> 3  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 3  
 ggattcacct ttagcagcta tgac

24

<210> 4  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asp

1 5

<210> 5

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 5

attcgtggta gtggtcatac caca

24

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

[0003]

<220>

<223> 合成的

<400> 6

Ile Arg Gly Ser Gly His Thr Thr

1 5

<210> 7

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 7

gtgaaagatg ggagtatcgt agggttcgac ccc

33

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 8

Val Lys Asp Gly Ser Ile Val Gly Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 9

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 9

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggccagtca gactattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
 gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtacac ttttgccag 300  
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

[0004]

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 10

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Ser Trp

20 25 30

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

35 40 45

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

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

<220>  
 <223> 合成的

<400> 11  
 cagactatta gtagctgg 18

[0005]

<210> 12  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

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

<210> 13  
 <211> 9  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 13  
 aaggcgtct 9

<210> 14  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 14  
 Lys Ala Ser  
 1

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

<220>  
 <223> 合成的

[0006] <400> 15  
 caacagtata atagttattc gtacact

27

<210> 16  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 16  
 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Tyr Thr  
 1 5

<210> 17  
 <211> 375  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 17

```
caggtgcagc tgggtcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tctgcaagg cttctggagg ctcttcagc gtctatgcta tcagctgggt gcgccaggcc 120
cciggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatcccaa tctttggtac agcaaaactac 180
gcacagaagt tccaggacag attcacgatt accacggacg aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccatgt attactgtgc gagagagggg 300
gatattgtag tactaccagc tggtaagggg ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cctca 375
```

<210> 18

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 18

[0007]

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

<210> 19

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 19		
	ggaggctcct tcagcgtcta tgct		24
	<210> 20		
	<211> 8		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 20		
	Gly Gly Ser Phe Ser Val Tyr Ala		
	1                    5		
[0008]	<210> 21		
	<211> 24		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 21		
	atcatcccaa tctttgtac agca		24
	<210> 22		
	<211> 8		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 22		
	Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala		
	1                    5		

<210> 23

<211> 54

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 23

gcgagagagg gggatattgt agtactacca gctggtaagg ggggtatgga cgtc 54

<210> 24

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

[0009] <400> 24

Ala Arg Glu Gly Asp Ile Val Val Leu Pro Ala Gly Lys Gly Gly Met

1 5 10 15

Asp Val

<210> 25

<211> 336

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 25

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctctgca ggtctagtca gagectctg catggtaatg gatacaacta ttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct attggtttc tcatcgggcc 180  
 tccgggggcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaate 240  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaagtcct 300  
 tggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaa 336

<210> 26  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 26

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

[0010]

<210> 27  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 27

cagagcctcc tgcattgtaa tggatacaac tat

33

<210> 28  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 28  
 Gln Ser Leu Leu His Gly Asn Gly Tyr Asn Tyr  
 1                    5                    10

<210> 29  
 <211> 9  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 29  
 ttggtttct 9

<210> 30  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0011]

<220>  
 <223> 合成的

<400> 30  
 Leu Val Ser  
 1

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

<220>  
 <223> 合成的

<400> 31  
 atgcaagctc tacaaagtcc ttggacg 27

<210> 32

<211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 32  
 Met Gln Ala Leu Gln Ser Pro Trp Thr  
 1 5

<210> 33  
 <211> 354  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

[0012]

<400> 33  
 gaggtgcagc tggtagagtc tgggggagac ttggtacagc cgggggggtc cctgagagtc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttage aactatgaca tgtactgggt ccgccaggct 120  
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagtt attagtggta ttggtgctac cacatattac 180  
 gcagactccg tgaaggccg gttcaccata tccagagaca attccaagaa cacgggtgtt 240  
 ctgcaaatga atagtctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgt gaaaggggga 300  
 cctatagtgg ctacggatta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 34  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 34  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Val Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
 20 25 30  
 Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Val Ile Ser Gly Ile Gly Ala 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 Val Phe  
 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 Gly Gly Pro Ile Val Ala Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 35

ggattcacct ttagcaacta tgac

24

[0013]

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 36

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Asp

1

5

<210> 37

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 37  
attagtgga ttggtgctac caca 24

<210> 38  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 38  
Ile Ser Gly Ile Gly Ala Thr Thr  
1 5

<210> 39  
<211> 33  
<212> DNA  
<213> 人工序列

[0014]

<220>  
<223> 合成的

<400> 39  
gtgaaagggg gacctatagt ggctacggat tac 33

<210> 40  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 40  
Val Lys Gly Gly Pro Ile Val Ala Thr Asp Tyr  
1 5 10

<210> 41

<211> 321  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 41  
 gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggcatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagt tagaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggate tggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
 gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtggac gttcggccaa 300  
 gggaccaagg tggaaatcaa a 321

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

[0015]

<220>  
 <223> 合成的

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

<210> 43  
 <211> 18  
 <212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 43

cagagtatta gtagctgg

18

<210> 44

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 44

Gln Ser Ile Ser Ser Trp

1

5

[0016]

<210> 45

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 45

aaggcgtct

9

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 46

Lys Ala Ser

1

&lt;210&gt; 47

&lt;211&gt; 27

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 47

caacagtata atagttattc gtggacg

27

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

[0017] &lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 48

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp Thr

1

5

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 354

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 49

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac ttggtacagc ctggagggtc cctaagactc 60  
 tcctgtacag cctctggatt caccttcagt aattatgaaa tgaactgggt ccgccaggct 120  
 ccagagaagg ggctggactg ggtttcattc attagtagta gtggtggtgc catatactac 180  
 gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac tccgctattt atttctgtgc gcgatccgac 300  
 tccggtggta actcgaggta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 50

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 50

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Asp Trp Val

35                    40                    45

Ser Phe Ile Ser Ser Ser Gly Gly Ala 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 Ser Ala Ile Tyr Phe Cys

85                    90                    95

[0018] Ala Arg Ser Asp Ser Gly Gly Asn Ser Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100                    105                    110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 51

ggattcacct tcagtaatta tgaa

24

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 52

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Glu

1

5

<210> 53

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 53

attagtagta gtggtggtgc cata

24

[0019]

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 54

Ile Ser Ser Ser Gly Gly Ala Ile

1

5

<210> 55

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 55

gcgcgatccg actccggtgg taactcgagg tac

33

<210> 56

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 56

Ala Arg Ser Asp Ser Gly Gly Asn Ser Arg Tyr

1 5 10

<210> 57

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

[0020]

<400> 57

```

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
gtcacttgtc gggcgagtca ggatattagc aactggtag tctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagttcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctacagcct 240
gaagattttg cgacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctac tttcgcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

```

<210> 58

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 58

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

1 5 10 15

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

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

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

<220>  
 <223> 合成的

[0021]

<400> 59  
 caggatatta gcaactgg

18

<210> 60  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 60  
 Gln Asp Ile Ser Asn Trp  
 1                      5

<210> 61  
 <211> 9  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>

	<223> 合成的	
	<400> 61	
	gctgcatcc	9
	<210> 62	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 62	
	Ala Ala Ser	
	1	
[0022]	<210> 63	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 63	
	caacaggcta acagtttccc tctact	27
	<210> 64	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 64	
	Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro Thr	
	1 5	

<210> 65

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 65

```
gaggtgcagc tggtagtc tgggggagc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgtag tttctggatt caccttagt aattatgaca tgagctgggt cgcaggct 120
ccagggagg ggctggagtg ggtctcagct attaggggta gtggttttaa cacatattac 180
gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatggg 300
tctatagtga gtatggacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca      354
```

<210> 66

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

[0023]

<220>

<223> 合成的

<400> 66

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

<210> 67

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 67

ggattcacct ttagtaatta tgac

24

<210> 68

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 68

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Asp

[0024]

1

5

<210> 69

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 69

attaggggta gtggttttaa caca

24

<210> 70

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 70

Ile Arg Gly Ser Gly Phe Asn Thr

1                    5

<210> 71

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 71

gcgaaagatg ggtctatagt gagtatggac tac

33

<210> 72

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

[0025]

<220>

<223> 合成的

<400> 72

Ala Lys Asp Gly Ser Ile Val Ser Met Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 73

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 73

gacatccaga tgaccagtc tccttccgcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggccagtc gagtattagt agctggttg cctggtatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaaactcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtggac gttcggccaa 300  
 gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 74

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

[0026]

<210> 75

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 75

cagagtatta gtagctgg 18

<210> 76

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 76

Gln Ser Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 77

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 77

aaggcgtct

9

[0027]

<210> 78

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 78

Lys Ala Ser

1

<210> 79

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 79

caacagtata atagttattc gtggacg

27

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 80

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp Thr

1

5

<210> 81

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

[0028]

<220>

<223> 合成的

<400> 81

gaggtgcagc tggtagtc tgggggagc ttggtacagc cgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttage acctatggca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact attattgta gtggtataa cacatactac 180  
 tcagactccg tgaaggccg gttcaccatg tccagagaca attccaagag cacgctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtac gaaagaagc 300  
 cctataattg gaaccacgaa ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 82

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 82

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  
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Thr Ile Ile Gly Ser Gly Tyr Asn Thr Tyr Tyr Ser Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser 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  
 Thr Lys Glu Gly Pro Ile Ile Gly Thr Thr Asn Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

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

[0029]

<220>  
 <223> 合成的

<400> 83  
 ggattcacct ttagcaccta tggc

24

<210> 84  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

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

<210> 85  
 <211> 24  
 <212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 85

attattggta gtggtataa caca

24

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 86

Ile Ile Gly Ser Gly Tyr Asn Thr

1

5

[0030]

<210> 87

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 87

acgaaagaag gcctataat tggaaccacg aac

33

<210> 88

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 88

Thr Lys Glu Gly Pro Ile Ile Gly Thr Thr Asn

1                                      5                                      10

<210> 89

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 89

```

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtc gagtattagt agctggttgg cctggtatca acagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gacgattttg caacttatta ctgccaccaa tataatagtt attcgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a                                           321
    
```

[0031]

<210> 90

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 90

```

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

<210> 91

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 91

cagagtatta gtagctgg

18

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 92

[0032]

Gln Ser Ile Ser Ser Trp

1

5

<210> 93

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 93

aaggcgtct

9

<210> 94

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的  
  
 <400> 94  
 Lys Ala Ser  
 1

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

<220>  
 <223> 合成的

<400> 95  
 caccaatata atagttattc gtggagc 27

[0033]

<210> 96  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 96  
 His Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp Thr  
 1 5

<210> 97  
 <211> 351  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 97  
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag tctttggatt cacctttage ggctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgggt gtgggtgtag cacatactac 180

acagactcgg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gtcctactgg 300  
 aacaacggta tggacgtctg gggccaaggg accacggta cegtctctc a 351

<210> 98

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 98

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

[0034]

<210> 99

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 99

ggattcacct ttageggcta tgcc

24

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

<220>  
 <223> 合成的

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

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

<220>  
 <223> 合成的

[0035]

<400> 101  
 attagtggtg gtggtgtag caca

24

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

<220>  
 <223> 合成的

<400> 102  
 Ile Ser Gly Gly Gly Gly Ser Thr  
 1                    5

<210> 103  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>

	<223> 合成的	
	<400> 103	
	gcgtcctact ggaacaacgg tatggacgtc	30
	<210> 104	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 104	
	Ala Ser Tyr Trp Asn Asn Gly Met Asp Val	
	1                      5                      10	
	<210> 105	
	<211> 324	
[0036]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 105	
	gacatccaga tgaccacagtc 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> 106	
	<211> 108	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<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 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> 107  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

[0037]

<220>  
 <223> 合成的

<400> 107  
 cagagcatta gcagctat

18

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

<220>  
 <223> 合成的

<400> 108  
 Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
 1                    5

<210> 109  
 <211> 9

<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 109  
gctgcatcc

9

<210> 110  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 110  
Ala Ala Ser  
1

[0038]

<210> 111  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 111  
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 112  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<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> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 113

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctagtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agtaatactt actactgggg ctggatccgc 120  
 cagccccag ggaaggggct ggagtggatt ggaactatat attatactgg gaacacctac 180  
 tacaagtcgt ccctcaagag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccag gaaccagttc 240  
 tccttgaagc tgacctctgt gaccgccgca gacacggctg tctattactg tgcgcgacag 300  
 tttgtgact tgaactactg tgactactgg ggccagggaa ccctgtgtac cgtctctca 360

[0039]

<210> 114

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 114

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 115  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 115  
 ggtggctcca tcagtagtaa tacttactac 30

<210> 116  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0040]

<220>  
 <223> 合成的

<400> 116  
 Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn Thr Tyr Tyr  
 1 5 10

<210> 117  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 117  
 atatattata ctggaacac c 21

<210> 118  
 <211> 7  
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 118

Ile Tyr Tyr Thr Gly Asn Thr

1                    5

<210> 119

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 119

gcgcgacagt ttgctgactt gaactacgtt gactac

36

[0041]

<210> 120

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 120

Ala Arg Gln Phe Ala Asp Leu Asn Tyr Val Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 121

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 121

```

gaggtgcagc tgggtggagtc ggggggagc ttggttcagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt ctcttttagc agctatggca tgaactgggt ccgccagct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggtc gtggtggtaa cacatactcc 180
gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
cttcaaatga atggcctgag agccgaggac tcggcctttt attactgtgc gaaagtgggg 300
acttatagtt cttcgtcccc ctttgactac tggggccagg gaacctgtgt caccgtctcc 360
tca 363

```

<210> 122

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 122

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

```

<210> 123

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 123  
 ggattctcct ttagcagcta tggc 24

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

<220>  
 <223> 合成的

<400> 124  
 Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Gly  
 1 5

<210> 125  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

[0043]

<220>  
 <223> 合成的

<400> 125  
 attagtggtc gtggtggtaa caca 24

<210> 126  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 126  
 Ile Ser Gly Arg Gly Gly Asn Thr  
 1 5

<210> 127  
 <211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 127

gcgaaagtgg ggacttatag ttcttcgtcc ccctttgact ac

42

<210> 128

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 128

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

1

5

10

[0044]

<210> 129

<211> 348

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 129

gaggtgcage tggtaggagtc tgggggagge ttggttcage ctggggggte cctgagacte 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cacctctaac agctatccca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcaggt attagtggtg gaggtggtaa cacatactac 180  
 gcagactccg tgaaggcccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cactctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agtcgaggac acggccgtat attactgtgc ggaaactgga 300  
 actgcctttg actactgggg ccaggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 130

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 130

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

[0045]

<210> 131

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 131

ggattcacct ctaacagcta tccc

24

<210> 132

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 132

Gly Phe Thr Ser Asn Ser Tyr Pro  
 1 5

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

<220>  
 <223> 合成的

<400> 133  
 attagtggta gaggtggtaa caca 24

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

[0046]

<220>  
 <223> 合成的

<400> 134  
 Ile Ser Gly Arg Gly Gly Asn Thr  
 1 5

<210> 135  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 135  
 gcggaaactg gaactgcctt tgactac 27

<210> 136  
 <211> 9  
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 136

Ala Glu Thr Gly Thr Ala Phe Asp Tyr

1 5

<210> 137

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 137

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
 acctgcactg tctctggtgg ciccacagc aataataatt actactgggg ctggatccgc 120  
 cagccccag ggaaggggct ggactggatt gggagtatct attatagtgg gaatacctac 180  
 tacaaccctg ccctcaagag tcgagtcacc atatccgttg acacgtccaa gaaccagttc 240  
 tcctgaaga tgagttctgt gaccgccaca gacacggctc tgtattactg tgcgagacag 300  
 ggagcagatc acaactgggt cgaccctgg ggccagggaa ccctggteac cgtctctca 360

[0047]

<210> 138

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 138

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Asn Asn

20 25 30

Asn Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Asp

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60



atctattata gtgggaatac c

21

- <210> 142
- <211> 7
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成的

<400> 142  
 Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr  
 1                    5

- <210> 143
- <211> 36
- <212> DNA
- <213> 人工序列

[0049]

- <220>
- <223> 合成的

<400> 143  
 gcgagacagg gagcagatca caactgggtc gacccc

36

- <210> 144
- <211> 12
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成的

<400> 144  
 Ala Arg Gln Gly Ala Asp His Asn Trp Val Asp Pro  
 1                    5                    10

- <210> 145
- <211> 351
- <212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 145

```
gaggtgcagc tggtagtc tgggggagc tggtagcagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgttg tctctggatt cacctctaga aactatgcca ttagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggggggag cacatactac 180
gcagactccg tgaaggccg gttcaccate tccagagaca atccaagaa cacgttgat 240
ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggcctat attactgtgc ggaagatcct 300
ggaacttctt ttgactactg gggccaggga acctgtgta ccgtctctc a          351
```

<210> 146

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

[0050]

<400> 146

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

<210> 147

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 147

ggattcacct ctagaacta tgcc

24

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 148

Gly Phe Thr Ser Arg Asn Tyr Ala

1

5

[0051]

<210> 149

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 149

attagtggtgta gtggtgggag caca

24

<210> 150

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 150

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 151  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 151  
 gcggaagatc ctggaacttc ttttgactac 30

<210> 152  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

[0052]

<400> 152  
 Ala Glu Asp Pro Gly Thr Ser Phe Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 153  
 <211> 390  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 153  
 caggtgcagc tggtagatc tgggggagc gtggtccagc ctgggagtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tacactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaggc atatactatg atggaagtaa taaatactat 180  
 ggagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cagcgtatat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagategg 300  
 ggtaataacc actactatca taataatccc tactactatt atcacggttt ggacgtctgg 360  
 ggccaaggga ccacggctac cgtctctca 390

<210> 154

<211> 130

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 154

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Gly Ile Tyr Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

[0053]

Ala Arg Asp Arg Gly Asn Asn His Tyr Tyr His Asn Asn Pro Tyr Tyr

100 105 110

Tyr Tyr His Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 155

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 155

ggattcacct tcagtaacta tggc

24

<210> 156

<211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 156  
 Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly  
 1                    5

<210> 157  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 157  
 atatactatg atggaagtaa taaa

[0054]

24

<210> 158  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 158  
 Ile Tyr Tyr Asp Gly Ser Asn Lys  
 1                    5

<210> 159  
 <211> 69  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 159

gcgagagatc ggggtaataa ccactactat cataataatc cctactacta ttatcacggt 60  
ttggacgtc 69

<210> 160

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 160

Ala Arg Asp Arg Gly Asn Asn His Tyr Tyr His Asn Asn Pro Tyr Tyr  
1                    5                    10                    15  
Tyr Tyr His Gly Leu Asp Val  
20

[0055]

<210> 161

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 161

gaaatagttt tgacacagag tcccggcaca ctgtcactct ctcccgggga aagagccacc 60  
ttgtcatgta gagcaagtca gtcagtctct agctcttata tcgectggta ccagcagaag 120  
ccgggacagg ccctagact gctgatctac ggggcaagtt ccagggccac cggaatcccc 180  
gaccggttca gtggaagcgg aagcggaacc gattttactt tgacgatttc tagactggag 240  
ccagaggatt tcgccgttta ctattgtcaa cagtacggaa gcagcccgtg gacgtttggc 300  
cagggcacga aggtagaaat caag 324

<210> 162

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 162

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

<210> 163

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 163

agagcaagtc agtcagtctc tagctcttat ctcgcc

36

<210> 164

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 164

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala  
 1                    5                    10

[0056]

	<210> 165	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 165	
	ggggcaagtt ccaggccac c	21
	<210> 166	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 166	
[0057]	Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr	
	1                      5	
	<210> 167	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 167	
	caacagtacg gaagcagccc gtggacg	27
	<210> 168	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	

<400> 168  
 Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr  
 1 5

<210> 169  
 <211> 345  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 169  
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc ctteggagac cctgtccctc 60  
 acctgctctg tctctggtgg ctccatcact agttcctatt ggagctggat cggcagccc 120  
 ccaggaaggg gcctggagtg gattggatat gtctattact acgggaccac caatacaac 180  
 ccctccctca agagtcgagt caccacatca atggacacgt ccaagaacca gttctcctg 240  
 aaactgaact ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtttatt actgtgagag actggaacta 300  
 ctctttgact actggggcca gggaacctg gtcactgtct cctca 345

[0058]

<210> 170  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 170  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Gly Ser Ile Thr Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Tyr Val Tyr Tyr Tyr Gly Thr Thr Lys Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60  
 Ser Arg Val Thr Thr Ser Met Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65 70 75 80  
 Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95

Arg Leu Glu Leu Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110  
 Val Ser Ser  
 115

<210> 171  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 171  
 ggtggctcca tcactagttc ctat 24

[0059]

<210> 172  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 172  
 Gly Gly Ser Ile Thr Ser Ser Tyr  
 1 5

<210> 173  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 173  
 gtctattact acgggaccac c 21

<210> 174

<211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 174  
 Val Tyr Tyr Tyr Gly Thr Thr  
 1 5

<210> 175  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 175  
 gcgagactgg aactactctt tgactac

[0060]

27

<210> 176  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 176  
 Ala Arg Leu Glu Leu Leu Phe Asp Tyr  
 1 5

<210> 177  
 <211> 363  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 177

```
cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcagtg tcctctggtg ctccatcaac aataataatt actactgggg ctggatccgc 120
cagccccag ggaggggct ggagtggatt gggagtttct tttatagtgg gcccacctac 180
tacaaccctt ccctcaggag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaaccagttc 240
tcctgaagc tgaactctgt aaccgccga gacacggcta tatattactg tgcgagacag 300
gatgggaact actaccctt cttgactac tggggccagg gaacctggt caccgtctcc 360
tca 363
```

<210> 178

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 178

[0061]

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

<210> 179

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

	<223> 合成的	
	<400> 179	
	ggtggctcca tcaacaataa taattactac	30
	<210> 180	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 180	
	Gly Gly Ser Ile Asn Asn Asn Asn Tyr Tyr	
	1                    5                    10	
	<210> 181	
[0062]	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 181	
	ttcttttata gtgggccac c	21
	<210> 182	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 182	
	Phe Phe Tyr Ser Gly Pro Thr	
	1                    5	

<210> 183  
 <211> 39  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 183  
 gcgagacagg atgggaacta ctaccccctc tttgactac 39

<210> 184  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 184  
 Ala Arg Gln Asp Gly Asn Tyr Tyr Pro Leu Phe Asp Tyr  
 [0063] 1 5 10

<210> 185  
 <211> 354  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 185  
 caggtgcage tgcaggagtc gggcccaggg ctggtgaage ctctggagac cctgtccctc 60  
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agttactact ggagctggat cggcagccc 120  
 ccaggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagccc caactacaac 180  
 ccctccctca agagtcgagt caccatata gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240  
 aagctgacct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag atccctaac 300  
 tggggacccc cttttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 186  
 <211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 186

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

[0064]

<210> 187

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 187

ggtggetcca tcagtagtta ctac

24

<210> 188

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 188

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr

1 5

<210> 189

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 189

atctattaca gtgggagccc c

21

<210> 190

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

[0065]

<220>

<223> 合成的

<400> 190

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Pro

1 5

<210> 191

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 191

gcgagatccc ttaactgggg accccctttt gactac

36

<210> 192

<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 192  
Ala Arg Ser Leu Asn Trp Gly Pro Pro Phe Asp Tyr  
1 5 10

<210> 193  
<211> 321  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

[0066]

<400> 193  
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctctgt ctccagggga aagagccacc 60  
ctctctctgca gggccagtca gagtgttagc agcaacttag cctggtacca gcaaaaacct 120  
ggccaggctc ccaggctect catctatggt gcatccacca gggccactgg tatccagcc 180  
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240  
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tttataact ggccgtacac ttttgccag 300  
gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 194  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 194  
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15  
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser 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 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 Tyr  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 195

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 195

cagagtgtta gcagcaac

18

[0067]

<210> 196

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 196

Gln Ser Val Ser Ser Asn

1 5

<210> 197

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 197

	ggtgcatcc	9
	<210> 198	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 198	
	Gly Ala Ser	
	1	
	<210> 199	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0068]	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 199	
	cagcagttta ataactggcc gtacact	27
	<210> 200	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 200	
	Gln Gln Phe Asn Asn Trp Pro Tyr Thr	
	1 5	
	<210> 201	
	<211> 375	
	<212> DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 201

```

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggagc tiggtagcagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtccag cctctggatt cacctttage aactatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtctac cacaaagtac 180
gcagactccg tgaaggccg gttcaccatt tccagagaca attccaggaa tacgctatat 240
ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaggggggt 300
tcggggagtt atttccotta ctactactac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcacctctc cctca 375

```

<210> 202

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

[0069]

<400> 202

```

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

```

<210> 203

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 203

ggattcacct ttagcaacta tgcc

24

<210> 204

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 204

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala

1

5

[0070]

<210> 205

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 205

attagtggtgta gtggtgctac caca

24

<210> 206

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 206

Ile Ser Gly Ser Gly Ala Thr Thr  
1 5

<210> 207

<211> 54

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 207

gcgaaggggg gttcggggag ttatttcct tactactact acggtttgga cgtc 54

<210> 208

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

[0071]

<220>

<223> 合成的

<400> 208

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

1 5 10 15

Asp Val

<210> 209

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 209

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga tagtgccacc 60  
ctctctgca gggccagtca gactgttagc agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120  
ggccaggctc ccaggctect catctatggt gcaccacca ggccactgg tateccagcc 180  
aggttcagtg gcagtggtc tgggacagag ttcactctca ccaccagcag cctgcagtct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tattataact ggtggacggt cggccaaggg 300  
 accaaggtgg aatcaaaa 318

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

<220>  
 <223> 合成的

<400> 210  
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Asp Ser Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr 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 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  
 [0072] 65                    70                    75                    80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Asn Trp Trp Thr  
                   85                    90                    95  
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
                   100                    105

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

<220>  
 <223> 合成的

<400> 211  
 cagactgtta gcagcaac 18

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

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 212

Gln Thr Val Ser Ser Asn

1 5

<210> 213

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 213

ggtgcatcc

9

[0073]

<210> 214

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 214

Gly Ala Ser

1

<210> 215

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 215

cagcagtatt ataactggtg gacg

24

&lt;210&gt; 216

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 216

Gln Gln Tyr Tyr Asn Trp Trp Thr

1

5

&lt;210&gt; 217

&lt;211&gt; 354

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

[0074]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 217

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggagc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttage agctatgcca tgagctgggt ccgccagct 120  
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggtc gtggtggtaa cacatactac 180  
 gcagactccg tgaaggccg gttcaccate tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240  
 ctgcaaatga acaccctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatagg 300  
 ggttttgggt tcttcgatat ctggggccgt ggcaccctgg ccactgtctc ctca 354

&lt;210&gt; 218

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 218

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

<210> 219  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

[0075]

<220>  
 <223> 合成的

<400> 219  
 ggattcacct ttagcagcta tgcc

24

<210> 220  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 220  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala  
 1 5

<210> 221  
 <211> 24  
 <212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 221

attagtggtc gtggtggtaa caca

24

<210> 222

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 222

Ile Ser Gly Arg Gly Gly Asn Thr

1

5

[0076]

<210> 223

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 223

gcgaaagata ggggttttgg gttcttcgat atc

33

<210> 224

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 224

Ala Lys Asp Arg Gly Phe Gly Phe Phe Asp Ile



	<210> 227	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 227	
	caggacatta gtaactat	18
	<210> 228	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 228	
[0078]	Gln Asp Ile Ser Asn Tyr	
	1                    5	
	<210> 229	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 229	
	gatgcatcc	9
	<210> 230	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	

<223> 合成的

<400> 230

Asp Ala Ser

1

<210> 231

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 231

caacagtatg ataatctccc attcact

27

<210> 232

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

[0079]

<220>

<223> 合成的

<400> 232

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Phe Thr

1

5

<210> 233

<211> 351

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 233

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggagc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttage agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtagtag cacatactac 180

gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtct attactgtgc ggaaggggga 300  
 gacgtggatt ttgactactg gggccaggga accttggtca cegtctctc a 351

<210> 234

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 234

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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu 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 Glu Gly Gly Asp Val Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser  
 115

[0080]

<210> 235

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 235

ggattcacct ttagcagcta tgcc

24

<210> 236  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 236  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala  
 1                    5

<210> 237  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

[0081]

<400> 237  
 attagtggtgta gtggtagtag caca

24

<210> 238  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 238  
 Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr  
 1                    5

<210> 239  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 239

gcggaagggg gagacgtgga ttttgactac

30

<210> 240

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 240

Ala Glu Gly Gly Asp Val Asp Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 241

<211> 324

[0082]

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 241

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> 242

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<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  
                   100                    105

<210> 243  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

[0083]

<220>  
 <223> 合成的

<400> 243  
 cagagcatta gcagctat

18

<210> 244  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 244  
 Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
 1                    5

<210> 245  
 <211> 9

<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 245  
gctgcatcc

9

<210> 246  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 246  
Ala Ala Ser  
1

[0084]

<210> 247  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 247  
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 248  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 248

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr  
 1                    5                    10

<210> 249

<211> 348

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 249

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agttactact ggagctggat cgggcagccc 120  
 ccaggggaagg gactggaatg gattgggtac atctattaca gtgggagcgc caactacaac 180  
 ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240  
 aagctaagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgtgag agaccgggac 300  
 ctactccttg accactgggg ccaggaacc ctggtcaccg tctcctca                    348

[0085]

<210> 250

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 250

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

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 251  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 251  
ggtggctcca tcagtagtta ctac

24

<210> 252  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0086]

<220>  
<223> 合成的

<400> 252  
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr  
1 5

<210> 253  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 253  
atctattaca gtgggagcgc c

21

<210> 254  
<211> 7  
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 254

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ala

1 5

<210> 255

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 255

gtgagagacc gggacctact ccttgaccac

30

[0087]

<210> 256

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 256

Val Arg Asp Arg Asp Leu Leu Leu Asp His

1 5 10

<210> 257

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 257

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggaa aagagccacc 60  
 ctctctctgca gggccagtc gagtgtagc agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggtctct catctatggt gcatccacca ggaccactgg tttccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggccgtacac ttttgccag 300  
 gggacatgc tggagatcaa a 321

<210> 258

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 258

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Lys Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn  
                   20                    25                    30  
 [0088] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
                   35                    40                    45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Thr Thr Gly Phe Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
                   50                    55                    60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp 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 Tyr  
                   85                    90                    95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Met Leu Glu Ile Lys  
                   100                    105

<210> 259

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 259

cagagtgtta gcagcaac

18

<210> 260

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 260

Gln Ser Val Ser Ser Asn

1 5

<210> 261

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

[0089]

<400> 261

ggtgcatcc

9

<210> 262

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 262

Gly Ala Ser

1

<210> 263

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 263

cagcagtata ataactggcc gtacact

27

<210> 264

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 264

Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Tyr Thr

1

5

[0090]

<210> 265

<211> 387

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 265

caggtccagc tgggtcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
 tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc acttatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120  
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatccctt tctttggtac agcaactac 180  
 gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accacggacg aatccacgag cacagcctac 240  
 atggagttga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaggga 300  
 acgtattacg attctttgac tggttattac acccaactact accgtatgga cgtctggggc 360  
 caagggacca cggtcaccgt ctctca 387

<210> 266

<211> 129

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 266

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

[0091]

<210> 267

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 267

ggaggcacct tcagcactta tgtt

24

<210> 268

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 268

Gly Gly Thr Phe Ser Thr Tyr Ala  
1 5

<210> 269  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 269  
atcatccctt tctttggtac agca 24

<210> 270  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0092]

<220>  
<223> 合成的

<400> 270  
Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Ala  
1 5

<210> 271  
<211> 66  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 271  
gcgagagagg gaacgtatta cgattctttg actggttatt acaccacta ctaccgatg 60  
gacgtc 66

<210> 272  
<211> 22



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> 275

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 275

cagaccatta gcagctat

18

[0094]

<210> 276

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 276

Gln Thr Ile Ser Ser Tyr

1

5

<210> 277

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 277 gctgcatcc	9
<210> 278 <211> 3 <212> PRT <213> 人工序列	
<220> <223> 合成的	
<400> 278 Ala Ala Ser 1	
<210> 279 <211> 30 <212> DNA <213> 人工序列	
[0095] <220> <223> 合成的	
<400> 279 caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
<210> 280 <211> 10 <212> PRT <213> 人工序列	
<220> <223> 合成的	
<400> 280 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr 1                    5                    10	
<210> 281 <211> 381	

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 281

```
caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg tttctggagt caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatcctt tctttgttac agcaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacggtt accacggacg aatccacgag cacagcctac 240
atggaggtga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagataat 300
ccggaactaa ctaaggaggg gtactaccac tactacgcta tggacgtctg gggccaaggg 360
accacggtea cegtctcctc a 381
```

<210> 282

<211> 127

<212> PRT

<213> 人工序列

[0096]

<220>

<223> 合成的

<400> 282

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

<210> 283

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 283

ggagtcacct tcagcagcta tgct

24

<210> 284

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 284

Gly Val Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

[0097]

1

5

<210> 285

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 285

atcatccctt tctttgtac agca

24

<210> 286

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 286

Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Ala

1 5

<210> 287

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 287

gcgagagata atccggaact aactaaggag gggtactacc actactacgc tatggacgtc 60

<210> 288

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

[0098]

<220>

<223> 合成的

<400> 288

Ala Arg Asp Asn Pro Glu Leu Thr Lys Glu Gly Tyr Tyr His Tyr Tyr

1 5 10 15

Ala Met Asp Val

20

<210> 289

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 289

gacatccaga tgaccagtc tccatctcct ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcaactgcc gggcaagtca gacattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcattccagtt tgcaaagtgg ggtccatca 180

aggttcagtg gcagtgatc tggacagat ttacactca ccatacagcag tctgcaacct 240  
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300  
 caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 290  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<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

[0099]

<210> 291  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 291  
 cagagcatta gcagctat 18

<210> 292  
 <211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 292

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1

5

<210> 293

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 293

gctgcatcc

9

[0100]

<210> 294

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 294

Ala Ala Ser

1

<210> 295

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 295  
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

<210> 296  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 296  
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr  
1 5 10

<210> 297  
<211> 354  
<212> DNA  
<213> 人工序列

[0101]

<220>  
<223> 合成的

<400> 297  
gaggtgcagc tgttgagtc tgggggagtc ttggtacagc cgggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctttgcca tgagctgggt cgcaggct 120  
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgta gaggtggtac tacatactac 180  
gcagactccg tgatgggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
gtgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatagg 300  
gggttcgggg tctttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 298  
<211> 118  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 298  
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Val 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 Phe  
                          20                    25                    30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                          35                    40                    45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
                          50                    55                    60  
 Met Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65                    70                    75                    80  
 Val Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                          85                    90                    95  
 Ala Lys Asp Arg Gly Phe Gly Val Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
                          100                    105                    110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
                          115

<210> 299  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

[0102]

<220>  
 <223> 合成的

<400> 299  
 ggattcacct ttagcagctt tgcc

24

<210> 300  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 300  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ala  
 1                    5

<210> 301  
 <211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 301

attagtgga gaggtgtac taca

24

<210> 302

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 302

Ile Ser Gly Arg Gly Gly Thr Thr

1

5

[0103]

<210> 303

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 303

gcgaaagata gggggttcgg ggtctttgac tac

33

<210> 304

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 304

Ala Lys Asp Arg Gly Phe Gly Val Phe Asp Tyr  
 1                      5                      10

<210> 305  
 <211> 315  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 305  
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagggtcacc 60  
 atcacttgcc aggcgagtc ggtcattaac aattatttaa attcgtatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaaggtcct gatctgcgat gcatccaatg tggaaacagg ggtcccgtca 180  
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat ttactittca ccatcagcag cctgcagact 240  
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tcactttcgg cggagggacc 300  
 aaggtggagg tcaaa 315

[0104]

<210> 306  
 <211> 105  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

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

	<210> 307	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 307	
	caggtcatta acaattat	18
	<210> 308	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
[0105]	<400> 308	
	Gln Val Ile Asn Asn Tyr	
	1                      5	
	<210> 309	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 309	
	gatgcatcc	9
	<210> 310	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	

<220>

<223> 合成的

<400> 310

Asp Ala Ser

1

<210> 311

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 311

caacagtatg ataatctcac t

21

[0106]

<210> 312

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 312

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Thr

1

5

<210> 313

<211> 381

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 313

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggagge ttggaacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
tctctgtcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgatctgggt cgcaggct 120

```

ccaggaagg gactggagtg ggtctcaact attagtggga gtgggtgtaa cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgcat 240
ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgttt atcactgtgc gaaagagga 300
ttgattgtg ctaatggtgt atgctataac tactacgta tggacgtctg gggccaaggg 360
accacgtca cegtctctc a 381

```

<210> 314  
 <211> 127  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 314

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

[0107]

<210> 315  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 315  
 ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 316

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 316

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 317

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

[0108]

<400> 317

attagtggga gtggtgtaa caca

24

<210> 318

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 318

Ile Ser Gly Ser Gly Val Asn Thr

1

5

<210> 319

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 319

gcgaaagagg gattggattg tgctaattggt gtatgctata actactacgg tatggacgtc 60

<210> 320

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 320

Ala Lys Glu Gly Leu Asp Cys Ala Asn Gly Val Cys Tyr Asn Tyr Tyr

1                    5                    10                    15

Gly Met Asp Val

20

[0109]

<210> 321

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 321

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggcaagtc gagcattaac agctttttaa attggtatca tcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaaattcct gatctatagt gcatccaatt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180  
 aggttcagtg gcagtggate tgggacagat ttactctca ccattagcag tctgcaacct 240  
 gaagattttt caacttacta ctgtcaacag agttacagta tcccgtcac ttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 322

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

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

[0110]

<210> 323

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 323

cagagcatta acagcttt

18

<210> 324

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 324

Gln Ser Ile Asn Ser Phe

1

5

	<210> 325	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 325	
	agtgcaccc	9
	<210> 326	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
[0111]	<400> 326	
	Ser Ala Ser	
	1	
	<210> 327	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 327	
	caacagagtt acagtatccc gctcact	27
	<210> 328	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	

<220>

<223> 合成的

<400> 328

Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Leu Thr

1 5

<210> 329

<211> 378

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 329

gaggtgcagc tggtagtc tggggagcc ttgtacagc ctggagggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt catcttcggt agttatgaga tgaactgggt cegccaggct 120  
 ccaggaagg ggctggagtg gctttcatac attagtagta gtgtagtac catatactac 180  
 gcagactctg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagaacgg 300  
 gggcagctcg gccggggagg gtattactac tacggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360  
 acggtcaccg tctcctca 378

[0112]

<210> 330

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 330

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

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

<210> 331  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 331  
 ggattcatct tcggtagtta tgag 24

[0113]

<210> 332  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 332  
 Gly Phe Ile Phe Gly Ser Tyr Glu  
 1 5

<210> 333  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 333  
 attagtagta gtgtagtac cata 24

<210> 334  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 334  
 Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile  
 1                    5

<210> 335  
 <211> 57  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

[0114]

<400> 335  
 gcgagagaac gggggcagct cggccgggga ggtattact actacggtat ggacgtc 57

<210> 336  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 336  
 Ala Arg Glu Arg Gly Gln Leu Gly Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Met Asp Val

<210> 337  
 <211> 327

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 337

```

gaaattgtgt tgacgcggtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gactgttagc agcagctact tagcctggta ccatcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggt cctcatgtat ggtacatcca tcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gtcacacctc gtggacgttc 300
ggccaaggga ccaaggtgga aatcaaaa                                     327

```

<210> 338

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

[0115]

<400> 338

```

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

```

<210> 339

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 339	
	cagagtgtta gcagcagcta c	21
	<210> 340	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 340	
	Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr	
	1                      5	
[0116]	<210> 341	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 341	
	ggtacatcc	9
	<210> 342	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 342	
	Gly Thr Ser	
	1	

<210> 343

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 343

cagcagtatg gtagctcacc tccgtggacg

30

<210> 344

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

[0117]

<400> 344

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Trp Thr

1

5

10

<210> 345

<211> 384

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 345

caggtccggc tggatcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
 tcttgcaagg cttctggaga caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120  
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcaccctt tctttgttac aactacctac 180  
 gcacagaatt tccagggcag agtcacgatt accacggacg aatccacgcg cacagcctac 240  
 atggagetga gcagtctgag atctgaggac tcggccgtgt attactgtgc gagagatcgg 300  
 ccgtgtatca gctcggctgg tacacgctac cactactgcg ttatggacgt ctggggccaa 360  
 gggacaacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 346  
 <211> 128  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 346

Gln Val Arg Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr  
                   20                    25                    30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                   35                    40                    45  
 Gly Gly Ile Ile Pro Phe Phe Val Thr Thr Thr Tyr Ala Gln Asn Phe  
                   50                    55                    60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Thr Asp Glu Ser Thr Arg Thr Ala Tyr  
 65                    70                    75                    80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95  
 [0118] Ala Arg Asp Arg Pro Cys Ile Ser Ser Ala Gly Thr Arg Tyr His Tyr  
                   100                    105                    110  
 Cys Val Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
                   115                    120                    125

<210> 347  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 347

ggagacacct tcagcageta tgct

24

<210> 348  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 348

Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 349

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 349

atcatccctt tctttgttac aact

24

[0119]

<210> 350

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 350

Ile Ile Pro Phe Phe Val Thr Thr

1

5

<210> 351

<211> 63

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 351

gcgagagatc ggccgtgtat cagctcggct ggtacacgct accactactg cgttatggac 60

gtc

63

&lt;210&gt; 352

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 352

Ala Arg Asp Arg Pro Cys Ile Ser Ser Ala Gly Thr Arg Tyr His Tyr

1

5

10

15

Cys Val Met Asp Val

20

&lt;210&gt; 353

&lt;211&gt; 324

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

[0120]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 353

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

&lt;210&gt; 354

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 354

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> 355  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

[0121]

<220>  
 <223> 合成的

<400> 355  
 cagagcatta gcagttat

18

<210> 356  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 356  
 Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
 1                    5

<210> 357  
 <211> 9  
 <212> DNA

<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 357	
gctgcatcc	9
<210> 358	
<211> 3	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 358	
Ala Ala Ser	
1	
[0122]	
<210> 359	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 359	
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc	30
<210> 360	
<211> 10	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 360	
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	

1 5 10

<210> 361  
 <211> 357  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 361  
 caggttcaac tggtagcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
 tcttgaagg ctcttggtta cacctttacc agccatggta tcagctgggt gcgacagcc 120  
 cctggacagg ggtttgagtg gatgggatgg atcggcactt acaatagtaa cacagactat 180  
 gcacagaact tccagggcag agtcacatg accacagaca catccacgag cacggcctac 240  
 atggagctga ggaacctgag atctgacgac acggccgtat attattgtgc gagagaaagg 300  
 ggtccctatt acggtatgga cgtctggggc caagggacca cggtcaccgt ctctca 357

[0123]

<210> 362  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 362  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser His  
 20 25 30  
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Phe Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Trp Ile Gly Thr Tyr Asn Ser Asn Thr Asp Tyr Ala Gln Asn Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Arg Asn Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Glu Arg Gly Pro Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110  
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 363  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 363  
 ggttacacct ttaccagcca tgg

24

<210> 364  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

[0124]

<400> 364  
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser His Gly  
 1                    5

<210> 365  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 365  
 atcggcactt acaatagtaa caca

24

<210> 366  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 366

Ile Gly Thr Tyr Asn Ser Asn Thr

1

5

<210> 367

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 367

gcgagagaaa ggggtcccta ttacggtatg gacgtc

36

[0125]

<210> 368

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 368

Ala Arg Glu Arg Gly Pro Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1

5

10

<210> 369

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 369

gaaattgtgt tggcgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

```

ctctcctgca gggccagtca gagtgttaac agcaactact tagcctggta tcagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gtagggecac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcaa cagtatggta actcactcac ttteggcect 300
gggaccaaag tggatttcaa a 321

```

<210> 370

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 370

```

Glu Ile Val Leu Ala Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1           5           10          15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Ser Asn
          20           25          30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
[0126]    35           40          45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
          50           55          60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65           70           75          80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Leu
          85           90          95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Phe Lys
          100          105

```

<210> 371

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 371

```

cagagtgtta acagcaacta c 21

```

<210> 372  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 372  
 Gln Ser Val Asn Ser Asn Tyr  
 1 5

<210> 373  
 <211> 9  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

[0127]

<400> 373  
 ggtgcatcc

9

<210> 374  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 374  
 Gly Ala Ser  
 1

<210> 375  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>

- <223> 合成的
- <400> 375  
caacagtatg gtaactcact cact 24
- <210> 376  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成的
- <400> 376  
Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Leu Thr  
1 5
- [0128] <210> 377  
<211> 354  
<212> DNA  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成的
- <400> 377  
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacaga ctggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag ccctctggatt cacctttagc aattatgcca tgagctgggt cgcaggct 120  
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtata gaggtgtag tatatactac 180  
gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgaagtat 240  
ctgcaaatgg acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gcaagatagg 300  
gggttcgggg tctttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354
- <210> 378  
<211> 118  
<212> PRT  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成的

<400> 378  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr 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  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                   40                   45  
 Ser Ala Ile Ser Asp Arg Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
                   50                   55                   60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Lys Tyr  
 65                   70                   75                   80  
 Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                   90                   95  
 Ala Gln Asp Arg Gly Phe Gly Val Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
                   100                   105                   110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
                   115

[0129]

&lt;210&gt; 379

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 379

ggattcacct ttagcaatta tgcc

24

&lt;210&gt; 380

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 380

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala

1

5

<210> 381  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 381  
 attagtgata gaggtggtag tata

24

<210> 382  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 382  
 Ile Ser Asp Arg Gly Gly Ser Ile  
 1                    5

[0130]

<210> 383  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 383  
 gcgcaagata gggggttcgg ggtctttgac tac

33

<210> 384  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 384

Ala Gln Asp Arg Gly Phe Gly Val Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 385

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 385

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc aggcgagtc ggacattggc aactatntaa attggtttca gcagagacca 120  
 gggaaagccc ctaatctcct gatctacggt gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180  
 aggttcagtg gaggtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240  
 gaagatattg caacatattt ctgcaacag tatgataatc tccctttcac tttcgccct 300  
 gggaccaaag tggaaatcaa a 321

[0131]

<210> 386

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 386

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 387  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 387  
 caggacattg gcaactat 18

<210> 388  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0132]

<220>  
 <223> 合成的

<400> 388  
 Gln Asp Ile Gly Asn Tyr  
 1 5

<210> 389  
 <211> 9  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 389  
 ggtgcatcc 9

<210> 390  
 <211> 3  
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 390

Gly Ala Ser

1

<210> 391

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 391

caacagtatg ataatctccc tttcact

27

[0133]

<210> 392

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 392

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Phe Thr

1

5

<210> 393

<211> 384

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 393

caggtccagc tgggtcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaagtc 60  
 tctgcaagg cttctaaaga caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120  
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatccctt tctttggtac aactacctac 180  
 gaacagaagt tcagggcag agtcacgatt accacggacg aateccacgcg cacagcctac 240  
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac tcggccgtgt attactgtgc gagagatcgg 300  
 ccgtgtatca gctcggctgg tacacgctac cactactgcg ttatggacgt ctggggccaa 360  
 gggacaacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 394

<211> 128

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 394

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

[0134]

<210> 395

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 395  
aaagacacct tcagcagcta tgct 24

<210> 396  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 396  
Lys Asp Thr Phe Ser Ser Tyr Ala  
1 5

<210> 397  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

[0135]

<220>  
<223> 合成的

<400> 397  
atcatccctt tctttgtac aact 24

<210> 398  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 398  
Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Thr  
1 5

<210> 399  
<211> 63

<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 399  
gcgagagatc ggccgtgtat cagctcgget ggtacacgct accactactg cgttatggac 60  
gtc 63

<210> 400  
<211> 21  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 400  
Ala Arg Asp Arg Pro Cys Ile Ser Ser Ala Gly Thr Arg Tyr His Tyr  
1 5 10 15  
Cys Val Met Asp Val  
20

[0136]

<210> 401  
<211> 324  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 401  
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgcc gggcaagtca gagtattage agttatttaa attggtatca gcagaaacca 120  
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
aggttcagtg gcagtggate tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccttcgat caccttcggc 300  
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 402

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 402

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  
 [0137]                    100                    105

<210> 403

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 403

cagagtatta gcagttat

18

<210> 404

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 404

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 405

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 405

gctgcatcc

9

<210> 406

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

[0138]

<220>

<223> 合成的

<400> 406

Ala Ala Ser

1

<210> 407

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 407

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 408

<211> 10

<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 408  
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr  
1 5 10

<210> 409  
<211> 357  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 409  
cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc ctctggagac cctgtccctc 60  
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggttaatt actactgggg ctggatccgc 120  
cagccccccg ggaaggggct ggagtgggtt gggactatct attatagtgg gagcacctac 180  
tacaaccctg ccctcaagag tcgagtcacc atatccgtag acacgtcca gaaccagttc 240  
tccctgaage tgagctctgt gaccgccgca gacacggctg tgtattactg tgcgagacgg 300  
gcagcagttg gtcactttga ctactggggc cagggaaacc tggtcaccgt ctctca 357

[0139]

<210> 410  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 410  
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
1 5 10 15  
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30  
Asn Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
35 40 45  
Trp Phe Gly Thr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser



	<400> 413	
	atctattata gtgggagcac c	21
	<210> 414	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 414	
	Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr	
	1                    5	
	<210> 415	
	<211> 33	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0141]	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 415	
	gcgagacggg cagcagttgg tcactttgac tac	33
	<210> 416	
	<211> 11	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 416	
	Ala Arg Arg Ala Ala Val Gly His Phe Asp Tyr	
	1                    5                    10	
	<210> 417	
	<211> 318	

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 417

```
gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtc gagtattagt acctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagttgatt tgggacagaa ttactctca ccatcagccg cctgcagcct 240
gatgatitgt caacttattt ctgccaacag tataatactt attggacgtt cggccaaggg 300
accaaggtgg aatcaaaa                                     318
```

<210> 418

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

[0142]

<400> 418

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

<210> 419

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 419	
	cagagtatta gtacctgg	18
	<210> 420	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 420	
	Gln Ser Ile Ser Thr Trp	
	1                    5	
[0143]	<210> 421	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 421	
	gagcgctct	9
	<210> 422	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 合成的	
	<400> 422	
	Glu Ala Ser	
	1	

<210> 423

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 423

caacagtata atacttattg gacg

24

<210> 424

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

[0144]

<400> 424

Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Trp Thr

1

5

<210> 425

<211> 381

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 425

caggtccagc tgggtcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
 tcttgcaagg cttctggaga caccttcagc acctatgctg tcagctgggt acgtcaggcc 120  
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcaccctt tctttgttac atcaaaactac 180  
 gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accacggacg aatccacgac cacagcctac 240  
 atggaactga acagcctgag atctgaggac acggccgtat attactgtgc gagagaaatt 300  
 actatggttc ggggacttac caactaccac ttctacggta tggacgtctg gggccaaggg 360  
 accacggta ccgtctcctc a 381

<210> 426  
 <211> 127  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 426

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Thr Tyr  
                   20                    25                    30  
 Ala Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                   35                    40                    45  
 Gly Gly Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Ser Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
                   50                    55                    60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Thr Asp Glu Ser Thr Thr Thr Ala Tyr  
 65                    70                    75                    80  
 Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95  
 [0145] Ala Arg Glu Ile Thr Met Val Arg Gly Leu Thr Asn Tyr His Phe Tyr  
                   100                    105                    110  
 Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
                   115                    120                    125

<210> 427  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 427

ggagacacct tcagcaccta tgct

24

<210> 428  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 428

Gly Asp Thr Phe Ser Thr Tyr Ala

1

5

<210> 429

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 429

atcatccctt tctttgtac atca

24

[0146]

<210> 430

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 430

Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Ser

1

5

<210> 431

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 431

gcgagagaaa ttactatggt tcggggactt accaactacc acttctacgg tatggacgtc 60

<210> 432

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 432

Ala Arg Glu Ile Thr Met Val Arg Gly Leu Thr Asn Tyr His Phe Tyr

1 5 10 15

Gly Met Asp Val

20

<210> 433

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

[0147]

<220>

<223> 合成的

<400> 433

gacatccaga tgaccacgac tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgcc gggcaagica gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120  
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
gaagattttg caacttaeta ctgtcaacag agttacagta tttcccgat caccttcgge 300  
caggggacac gactggagat taaa 324

<210> 434

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 434

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

<210> 435  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

[0148]

<400> 435  
 cagagcatta gcagctat

18

<210> 436  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 436  
 Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
 1 5

<210> 437  
 <211> 9  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列



<210> 441  
 <211> 381  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 441  
 caggtccagc tggttcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggttcctc ggtgaagtc 60  
 tctgcaagg cttctggggg cacctcaac aactatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120  
 cctggacaag ggcttgaatg gatgggaggg atcatccctt tctttgtac aacaaactac 180  
 gcacagaagt tccaggacag agtcacgatt acctcggacg actcaacgat aacagcctac 240  
 atggaactga gtcgectgag atctgaggac acggcctgtg attactgtgc gagagatgaa 300  
 ccccgtagag atggctacaa ttactaccac tactactata tggacgtctg gggccaaggg 360  
 accacggtca ccgtctcctc a 381

[0150]

<210> 442  
 <211> 127  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 442  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Asn Asn Tyr  
                   20                    25                    30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                   35                    40                    45  
 Gly Gly Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
                   50                    55                    60  
 Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Ser Asp Asp Ser Thr Ile Thr Ala Tyr  
 65                    70                    75                    80  
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95  
 Ala Arg Asp Glu Pro Arg Arg Asp Gly Tyr Asn Tyr Tyr His Tyr Tyr  
                   100                    105                    110  
 Tyr Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

	115	120	125
	<210> 443		
	<211> 24		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 443		
	gggggcacct tcaacaacta tgct		24
	<210> 444		
	<211> 8		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成的		
[0151]	<400> 444		
	Gly Gly Thr Phe Asn Asn Tyr Ala		
	1                    5		
	<210> 445		
	<211> 24		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成的		
	<400> 445		
	atcatccctt tctttggtac aaca		24
	<210> 446		
	<211> 8		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		

<220>

<223> 合成的

<400> 446

Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Thr

1                    5

<210> 447

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 447

gcgagagatg aaccccgtag agatggctac aattactacc actactacta tatggacgtc 60

[0152]

<210> 448

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 448

Ala Arg Asp Glu Pro Arg Arg Asp Gly Tyr Asn Tyr Tyr His Tyr Tyr

1                    5                    10                    15

Tyr Met Asp Val

20

<210> 449

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 449  
 gacatccaga tgaccagtc tccatectcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcatcct 240  
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300  
 caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 450  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

[0153]

<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 Ala Ser Gln Ser Ile Asn 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 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  
 100 105

<210> 451  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 451  
 cagagcatta acagctat 18

<210> 452

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 452

Gln Ser Ile Asn Ser Tyr

1

5

<210> 453

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

[0154]

<400> 453

gctgcatcc

9

<210> 454

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 454

Ala Ala Ser

1

<210> 455

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 455

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

&lt;210&gt; 456

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 456

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1 5 10

&lt;210&gt; 457

[0155]

&lt;211&gt; 1353

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; MERS-CoV-S

氨基酸 367-606: RBD

&lt;400&gt; 457

Met Ile His Ser Val Phe Leu Leu Met Phe Leu Leu Thr Pro Thr Glu

1 5 10 15

Ser Tyr Val Asp Val Gly Pro Asp Ser Val Lys Ser Ala Cys Ile Glu

20 25 30

Val Asp Ile Gln Gln Thr Phe Phe Asp Lys Thr Trp Pro Arg Pro Ile

35 40 45

Asp Val Ser Lys Ala Asp Gly Ile Ile Tyr Pro Gln Gly Arg Thr Tyr

50 55 60

Ser Asn Ile Thr Ile Thr Tyr Gln Gly Leu Phe Pro Tyr Gln Gly Asp

65 70 75 80

His Gly Asp Met Tyr Val Tyr Ser Ala Gly His Ala Thr Gly Thr Thr

85 90 95

Pro Gln Lys Leu Phe Val Ala Asn Tyr Ser Gln Asp Val Lys Gln Phe



450                      455                      460  
 Ser Gln Phe Asn Tyr Lys Gln Ser Phe Ser Asn Pro Thr Cys Leu Ile  
 465                      470                      475                      480  
 Leu Ala Thr Val Pro His Asn Leu Thr Thr Ile Thr Lys Pro Leu Lys  
                             485                      490                      495  
 Tyr Ser Tyr Ile Asn Lys Cys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Asp Arg Thr  
                             500                      505                      510  
 Glu Val Pro Gln Leu Val Asn Ala Asn Gln Tyr Ser Pro Cys Val Ser  
                             515                      520                      525  
 Ile Val Pro Ser Thr Val Trp Glu Asp Gly Asp Tyr Tyr Arg Lys Gln  
                             530                      535                      540  
 Leu Ser Pro Leu Glu Gly Gly Gly Trp Leu Val Ala Ser Gly Ser Thr  
 545                      550                      555                      560  
 Val Ala Met Thr Glu Gln Leu Gln Met Gly Phe Gly Ile Thr Val Gln  
                             565                      570                      575  
 Tyr Gly Thr Asp Thr Asn Ser Val Cys Pro Lys Leu Glu Phe Ala Asn  
                             580                      585                      590  
 Asp Thr Lys Ile Ala Ser Gln Leu Gly Asn Cys Val Glu Tyr Ser Leu  
                             595                      600                      605  
 Tyr Gly Val Ser Gly Arg Gly Val Phe Gln Asn Cys Thr Ala Val Gly  
                             610                      615                      620  
 Val Arg Gln Gln Arg Phe Val Tyr Asp Ala Tyr Gln Asn Leu Val Gly  
 625                      630                      635                      640  
 Tyr Tyr Ser Asp Asp Gly Asn Tyr Tyr Cys Leu Arg Ala Cys Val Ser  
                             645                      650                      655  
 Val Pro Val Ser Val Ile Tyr Asp Lys Glu Thr Lys Thr His Ala Thr  
                             660                      665                      670  
 Leu Phe Gly Ser Val Ala Cys Glu His Ile Ser Ser Thr Met Ser Gln  
                             675                      680                      685  
 Tyr Ser Arg Ser Thr Arg Ser Met Leu Lys Arg Arg Asp Ser Thr Tyr  
                             690                      695                      700  
 Gly Pro Leu Gln Thr Pro Val Gly Cys Val Leu Gly Leu Val Asn Ser  
 705                      710                      715                      720  
 Ser Leu Phe Val Glu Asp Cys Lys Leu Pro Leu Gly Gln Ser Leu Cys  
                             725                      730                      735  
 Ala Leu Pro Asp Thr Pro Ser Thr Leu Thr Pro Arg Ser Val Arg Ser  
                             740                      745                      750  
 Val Pro Gly Glu Met Arg Leu Ala Ser Ile Ala Phe Asn His Pro Ile  
                             755                      760                      765  
 Gln Val Asp Gln Leu Asn Ser Ser Tyr Phe Lys Leu Ser Ile Pro Thr  
                             770                      775                      780  
 Asn Phe Ser Phe Gly Val Thr Gln Glu Tyr Ile Gln Thr Thr Ile Gln  
 785                      790                      795                      800  
 Lys Val Thr Val Asp Cys Lys Gln Tyr Val Cys Asn Gly Phe Gln Lys

[0157]

	805	810	815
	Cys Glu Gln Leu Leu Arg Glu Tyr Gly Gln Phe Cys Ser Lys Ile Asn		
	820	825	830
	Gln Ala Leu His Gly Ala Asn Leu Arg Gln Asp Asp Ser Val Arg Asn		
	835	840	845
	Leu Phe Ala Ser Val Lys Ser Ser Gln Ser Ser Pro Ile Ile Pro Gly		
	850	855	860
	Phe Gly Gly Asp Phe Asn Leu Thr Leu Leu Glu Pro Val Ser Ile Ser		
	865	870	875
	Thr Gly Ser Arg Ser Ala Arg Ser Ala Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asp		
	885	890	895
	Lys Val Thr Ile Ala Asp Pro Gly Tyr Met Gln Gly Tyr Asp Asp Cys		
	900	905	910
	Met Gln Gln Gly Pro Ala Ser Ala Arg Asp Leu Ile Cys Ala Gln Tyr		
	915	920	925
	Val Ala Gly Tyr Lys Val Leu Pro Pro Leu Met Asp Val Asn Met Glu		
	930	935	940
	Ala Ala Tyr Thr Ser Ser Leu Leu Gly Ser Ile Ala Gly Val Gly Trp		
	945	950	955
	Thr Ala Gly Leu Ser Ser Phe Ala Ala Ile Pro Phe Ala Gln Ser Ile		
	965	970	975
[0158]	Phe Tyr Arg Leu Asn Gly Val Gly Ile Thr Gln Gln Val Leu Ser Glu		
	980	985	990
	Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Lys Phe Asn Gln Ala Leu Gly Ala Met		
	995	1000	1005
	Gln Thr Gly Phe Thr Thr Thr Asn Glu Ala Phe Gln Lys Val Gln Asp		
	1010	1015	1020
	Ala Val Asn Asn Asn Ala Gln Ala Leu Ser Lys Leu Ala Ser Glu Leu		
	1025	1030	1035
	Ser Asn Thr Phe Gly Ala Ile Ser Ala Ser Ile Gly Asp Ile Ile Gln		
	1045	1050	1055
	Arg Leu Asp Val Leu Glu Gln Asp Ala Gln Ile Asp Arg Leu Ile Asn		
	1060	1065	1070
	Gly Arg Leu Thr Thr Leu Asn Ala Phe Val Ala Gln Gln Leu Val Arg		
	1075	1080	1085
	Ser Glu Ser Ala Ala Leu Ser Ala Gln Leu Ala Lys Asp Lys Val Asn		
	1090	1095	1100
	Glu Cys Val Lys Ala Gln Ser Lys Arg Ser Gly Phe Cys Gly Gln Gly		
	1105	1110	1115
	Thr His Ile Val Ser Phe Val Val Asn Ala Pro Asn Gly Leu Tyr Phe		
	1125	1130	1135
	Met His Val Gly Tyr Tyr Pro Ser Asn His Ile Glu Val Val Ser Ala		
	1140	1145	1150
	Tyr Gly Leu Cys Asp Ala Ala Asn Pro Thr Asn Cys Ile Ala Pro Val		

1155                      1160                      1165  
 Asn Gly Tyr Phe Ile Lys Thr Asn Asn Thr Arg Ile Val Asp Glu Trp  
 1170                      1175                      1180  
 Ser Tyr Thr Gly Ser Ser Phe Tyr Ala Pro Glu Pro Ile Thr Ser Leu  
 1185                      1190                      1195                      1200  
 Asn Thr Lys Tyr Val Ala Pro Gln Val Thr Tyr Gln Asn Ile Ser Thr  
                                  1205                      1210                      1215  
 Asn Leu Pro Pro Pro Leu Leu Gly Asn Ser Thr Gly Ile Asp Phe Gln  
                                  1220                      1225                      1230  
 Asp Glu Leu Asp Glu Phe Phe Lys Asn Val Ser Thr Ser Ile Pro Asn  
                                  1235                      1240                      1245  
 Phe Gly Ser Leu Thr Gln Ile Asn Thr Thr Leu Leu Asp Leu Thr Tyr  
                                  1250                      1255                      1260  
 Glu Met Leu Ser Leu Gln Gln Val Val Lys Ala Leu Asn Glu Ser Tyr  
 1265                      1270                      1275                      1280  
 Ile Asp Leu Lys Glu Leu Gly Asn Tyr Thr Tyr Tyr Asn Lys Trp Pro  
                                  1285                      1290                      1295  
 Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe Ile Ala Gly Leu Val Ala Leu Ala Leu  
                                  1300                      1305                      1310  
 Cys Val Phe Phe Ile Leu Cys Cys Thr Gly Cys Gly Thr Asn Cys Met  
                                  1315                      1320                      1325  
 Gly Lys Leu Lys Cys Asn Arg Cys Cys Asp Arg Tyr Glu Glu Tyr Asp  
 1330                      1335                      1340  
 Leu Glu Pro His Lys Val His Val His  
 1345                      1350

[0159]

&lt;210&gt; 458

&lt;211&gt; 467

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; MERS RBD-hFc

氨基酸 1-240: MERS RBD

氨基酸 241-467: hFc

&lt;400&gt; 458

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

[0160]

Leu Ser Leu Phe Ser Val Asn Asp Phe Thr Cys Ser Gln Ile Ser Pro  
 50 55 60  
 Ala Ala Ile Ala Ser Asn Cys Tyr Ser Ser Leu Ile Leu Asp Tyr Phe  
 65 70 75 80  
 Ser Tyr Pro Leu Ser Met Lys Ser Asp Leu Ser Val Ser Ser Ala Gly  
 85 90 95  
 Pro Ile Ser Gln Phe Asn Tyr Lys Gln Ser Phe Ser Asn Pro Thr Cys  
 100 105 110  
 Leu Ile Leu Ala Thr Val Pro His Asn Leu Thr Thr Ile Thr Lys Pro  
 115 120 125  
 Leu Lys Tyr Ser Tyr Ile Asn Lys Cys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Asp  
 130 135 140  
 Arg Thr Glu Val Pro Gln Leu Val Asn Ala Asn Gln Tyr Ser Pro Cys  
 145 150 155 160  
 Val Ser Ile Val Pro Ser Thr Val Trp Glu Asp Gly Asp Tyr Tyr Arg  
 165 170 175  
 Lys Gln Leu Ser Pro Leu Glu Gly Gly Gly Trp Leu Val Ala Ser Gly  
 180 185 190  
 Ser Thr Val Ala Met Thr Glu Gln Leu Gln Met Gly Phe Gly Ile Thr  
 195 200 205  
 Val Gln Tyr Gly Thr Asp Thr Asn Ser Val Cys Pro Lys Leu Glu Phe  
 210 215 220  
 Ala Asn Asp Thr Lys Ile Ala Ser Gln Leu Gly Asn Cys Val Glu Tyr  
 225 230 235 240  
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
 245 250 255  
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 260 265 270  
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 275 280 285  
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 290 295 300  
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 305 310 315 320  
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 325 330 335  
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 340 345 350  
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 355 360 365  
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 370 375 380  
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 385 390 395 400



样品 ID	ELISA 结合	ELISA 阻断	% 中和 (.025 µg/ml)	中和 IC50 (M)	KD (M)	t <sub>1/2</sub> (min)
HBVX06H05	2.676	99.7	99%	1.328E-10	1.72E-09	11.1
HBVX11H04	2.623	99.7	99%	1.492E-10	3.28E-10	94.1
HBVX11D02	2.420	97.8	98%	2.108E-10	2.05E-09	13.5
HBVZ10E10	2.537	90.8	98%	4.636E-10	2.77E-09	10.4
HBVY09F08	2.044	99.3	98%	3.245E-10	1.79E-09	17.3
HBVZ05G02	2.515	92.7	97%	2.212E-10	2.72E-09	9.5
HBVZ09B06	2.751	100.2	97%	1.759E-10	6.53E-09	7.4
HBVY01F08	2.182	99.0	97%	1.377E-10	2.66E-10	96.0
HBVY10G02	2.587	100.1	97%	2.737E-10	3.73E-09	7.7
HBVY04B06	2.463	100.1	96%	6.845E-11	1.51E-09	13.3
HBVY07D10	2.417	25.9	40%	1.02E-09	9.39E-09	29.5
HBVZ08A09	2.782	100.1	91%	3.567E-10	5.93E-10	67.8
HBVZ05G04	2.675	99.8	90%	3.054E-10	4.77E-10	≥ 115
HBVY06C07	2.508	90.9	89%	5.56E-10	3.94E-10	≥ 115
HBVY03H06	2.735	97.6	89%	4.253E-10	6.69E-10	≥ 115
HBVZ10G06	2.383	98.7	86%	4.357E-10	4.72E-10	≥ 115
HBVZ04F10	2.756	96.3	83%	5.843E-10	7.78E-10	80.7
HBVX11E09	2.533	100.3	5%	3.587E-09	2.45E-10	≥ 115
HBVY06H09	2.806	7.4	2%	-	7.12E-09	18.8
HBVZ05B11	2.677	2.6	-6%	-	2.97E-09	94.8
HBVY02E05	2.644	74.4	-10%	-	2.15E-08	13.3
HBVZ04C07	2.405	14.8	40%	1.534E-09	IC	IC

图1

mAb-2与mAb-1 & MERS.hFc前复合物的结合

mAb-1	小鼠 种系	KD (nM) / % (min) @ 25°C	MERS.hFc 结合水平 (nM)	mAb-1 结合(nM)	mAb 号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
H2aM15281N	1633	0.39 / 14	0.67 ± 0.03	0.67 ± 0.02	1	0.08	0.11	0.08	0.08	0.08	0.08	0.07	0.41	0.36	0.56	0.53	0.55	0.51	0.61	0.62	0.41	0.50	0.48	0.02	
H1M15290N	1633	0.44 / 55	0.68 ± 0.02	0.71 ± 0.02	2	0.08	0.08	0.06	0.08	0.08	0.07	0.07	0.39	0.29	0.52	0.50	0.50	0.44	0.60	0.61	0.39	0.49	0.55	0.03	
H1M15293N	1633	0.33 / 58	0.67 ± 0.03	0.67 ± 0.02	3	0.11	0.10	0.08	0.10	0.11	0.10	0.09	0.47	0.35	0.57	0.53	0.54	0.48	0.64	0.61	0.39	0.51	0.51	0.03	
H2bM15291N	1633	0.56 / 82	0.73 ± 0.07	0.62 ± 0.01	4	0.09	0.09	0.08	0.10	0.09	0.08	0.09	0.33	0.32	0.55	0.53	0.53	0.47	0.60	0.59	0.41	0.52	0.60	0.04	
H2aM15272N	1633	0.44 / 16	0.68 ± 0.04	0.67 ± 0.03	5	0.08	0.11	0.07	0.07	0.09	0.07	0.07	0.15	0.38	0.56	0.53	0.54	0.49	0.63	0.60	0.38	0.52	0.46	0.03	
H2bM15292N	1633	0.34 / 75	0.64 ± 0.03	0.62 ± 0.02	6	0.10	0.11	0.08	0.09	0.10	0.14	0.08	0.33	0.39	0.57	0.52	0.55	0.48	0.61	0.62	0.43	0.53	0.54	0.04	
H2aM15271N	Adam6M-3	1.37 / 9	0.68 ± 0.04	0.68 ± 0.02	7	0.09	0.10	0.07	0.08	0.08	0.07	0.08	0.11	0.40	0.52	0.50	0.23	0.47	0.58	0.60	0.39	0.50	0.46	0.00	
H2aM15270N	Adam6M-3	0.78 / 19	0.69 ± 0.03	0.74 ± 0.02	8	0.32	0.27	0.21	0.16	0.09	0.14	0.06	0.10	0.11	0.06	0.06	0.06	0.05	0.09	0.05	0.40	0.49	0.50	0.02	
H1M15280N	1633	18.5 / 2	0.56 ± 0.02	0.63 ± 0.02	9	0.45	0.49	0.44	0.48	0.48	0.48	0.50	0.29	0.18	0.24	0.24	0.25	0.22	0.26	0.27	0.38	0.42	0.42	0.04	
H2aM15268N	Adam6M-3	0.36 / 12	0.82 ± 0.10	0.69 ± 0.01	10	0.60	0.62	0.53	0.53	0.56	0.53	0.55	0.14	0.14	0.08	0.08	0.07	0.09	0.11	0.59	0.42	0.55	0.65	0.03	
H1M15267N	Adam6M-3	0.18 / 75	0.80 ± 0.10	0.68 ± 0.02	11	0.57	0.58	0.53	0.52	0.58	0.50	0.58	0.13	0.14	0.08	0.07	0.09	0.06	0.10	0.55	0.43	0.53	0.60	0.05	
H2aM15279N	Adam6M-3	0.1 / 130	0.68 ± 0.03	0.66 ± 0.02	12	0.58	0.58	0.50	0.53	0.55	0.49	0.39	0.12	0.14	0.06	0.08	0.08	0.07	0.09	0.55	0.42	0.52	0.54	0.03	
H1M15289N	Adam6M-3	0.21 / 262	0.78 ± 0.09	0.67 ± 0.02	13	0.60	0.58	0.54	0.55	0.56	0.55	0.54	0.14	0.13	0.08	0.07	0.08	0.07	0.10	0.59	0.44	0.52	0.57	0.03	
H1M15277N	Adam6M-3	0.35 / 13	0.54 ± 0.01	0.72 ± 0.02	14	0.62	0.61	0.52	0.58	0.63	0.54	0.57	0.10	0.10	0.06	0.05	0.07	0.05	0.07	0.64	0.33	0.42	0.38	0.01	
H2aM15278N	Adam6M-3	0.51 / 13	0.79 ± 0.09	0.67 ± 0.01	15	0.61	0.64	0.58	0.56	0.60	0.58	0.58	0.13	0.11	0.55	0.46	0.48	0.51	0.60	0.07	0.41	0.50	0.61	0.00	
H2aM15287N	Adam6M-3	6.98 / 26	0.66 ± 0.03	0.59 ± 0.02	16	0.60	0.57	0.50	0.53	0.56	0.57	0.57	0.62	0.44	0.58	0.55	0.55	0.51	0.66	0.58	0.10	0.14	0.49	0.03	
H1M15288N	Adam6M-3	4.15 / 16	0.66 ± 0.04	0.66 ± 0.02	17	0.59	0.56	0.48	0.52	0.54	0.53	0.56	0.60	0.41	0.56	0.51	0.56	0.51	0.60	0.61	0.08	0.08	0.40	0.03	
H1M15269N	Adam6M-3	0.62 / 107	0.62 ± 0.05	0.66 ± 0.11	18	0.61	0.58	0.51	0.58	0.62	0.59	0.60	0.59	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.47	0.53	0.58	0.31	0.41	0.06	0.04
	N/A	N/A	0.63 ± 0.03	0.11 ± 0.01	19	0.61	0.61	0.56	0.58	0.57	0.61	0.58	0.61	0.50	0.56	0.57	0.59	0.55	0.61	0.61	0.51	0.58	0.50	0.04	

图2

mAb-2与mAb-1 & MERS.mFc前复合物的结合																				
mAb 滴度	mAb-1	MERS.mFc 捕获水平 (nm)	mAb-1 结合 (nm)	mAb #	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
9.18	H1H15215P	0.38 ± 0.01	0.56 ± 0.02	1	0.02	0.04	0.02	0.19	0.03	0.03	0.04	0.05	0.04	0.03	0.03	0.30	0.29	0.12	0.33	0.04
16.6	H1H15177P	0.45 ± 0.01	0.60 ± 0.02	2	0.04	0.06	0.03	0.22	0.05	0.03	0.05	0.05	0.07	0.07	0.06	0.39	0.36	0.21	0.36	0.06
9.7	H1H15203P	0.36 ± 0.02	0.51 ± 0.02	3	0.01	0.04	0.02	0.20	0.04	0.01	0.02	0.03	0.04	0.01	0.03	0.31	0.33	0.19	0.34	0.04
11	H1H15211P	0.45 ± 0.01	0.76 ± 0.03	4	0.01	0.02	-0.01	0.14	0.01	0.00	0.01	0.01	0.02	-0.01	0.02	0.35	0.32	0.18	0.36	0.02
6.64	H1H15188P	0.38 ± 0.02	0.54 ± 0.02	5	0.02	0.05	0.03	0.19	0.04	0.03	0.03	0.02	0.04	0.02	0.03	0.04	0.04	0.03	0.03	0.06
6.63	H1H15208P	0.35 ± 0.02	0.46 ± 0.03	6	0.02	0.03	0.03	0.25	0.04	0.01	0.03	0.02	0.03	0.03	0.03	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02
8.29	H1H15228P2	0.37 ± 0.01	0.52 ± 0.02	7	0.00	0.03	0.01	0.19	0.03	0.01	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02
8.51	H1H15233P2	0.34 ± 0.02	0.46 ± 0.03	8	0.01	0.03	0.01	0.23	0.04	0.02	0.01	0.02	0.03	0.00	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.03
9.43	H1H15237P2	0.32 ± 0.02	0.39 ± 0.02	9	0.01	0.05	0.01	0.21	0.03	-0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.04
9.56	H1H15253P2	0.32 ± 0.02	0.38 ± 0.02	10	0.03	0.06	0.05	0.27	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.03	0.00	0.01	0.02	0.03
9.13	H1H15259P2	0.33 ± 0.01	0.42 ± 0.01	11	0.12	0.15	0.12	0.30	0.01	0.00	0.00	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02
6.32	H1H15231P2	0.37 ± 0.01	0.50 ± 0.02	12	0.33	0.38	0.35	0.53	0.02	0.01	0.02	0.03	0.03	0.01	-0.01	0.02	0.03	0.02	0.02	0.03
7.45	H1H15249P2	0.32 ± 0.02	0.40 ± 0.02	13	0.29	0.33	0.30	0.52	0.04	0.01	0.01	0.02	0.03	0.02	0.02	0.03	0.01	0.01	0.02	0.02
0.24	H1H15260P2	0.32 ± 0.01	0.39 ± 0.01	14	0.28	0.39	0.35	0.54	0.04	0.02	0.04	0.04	0.05	0.02	0.03	0.04	0.02	0.03	0.04	0.02
7.22	H1H15264P2	0.33 ± 0.01	0.41 ± 0.01	15	0.32	0.38	0.34	0.55	0.03	0.02	0.01	0.01	0.02	0.00	0.02	0.01	0.00	0.01	0.02	0.02
10	REGN1536	0.33 ± 0.01	0.12 ± 0.01	16	0.35	0.38	0.33	0.55	0.25	0.27	0.28	0.29	0.28	0.24	0.30	0.29	0.27	0.24	0.30	0.03

图3

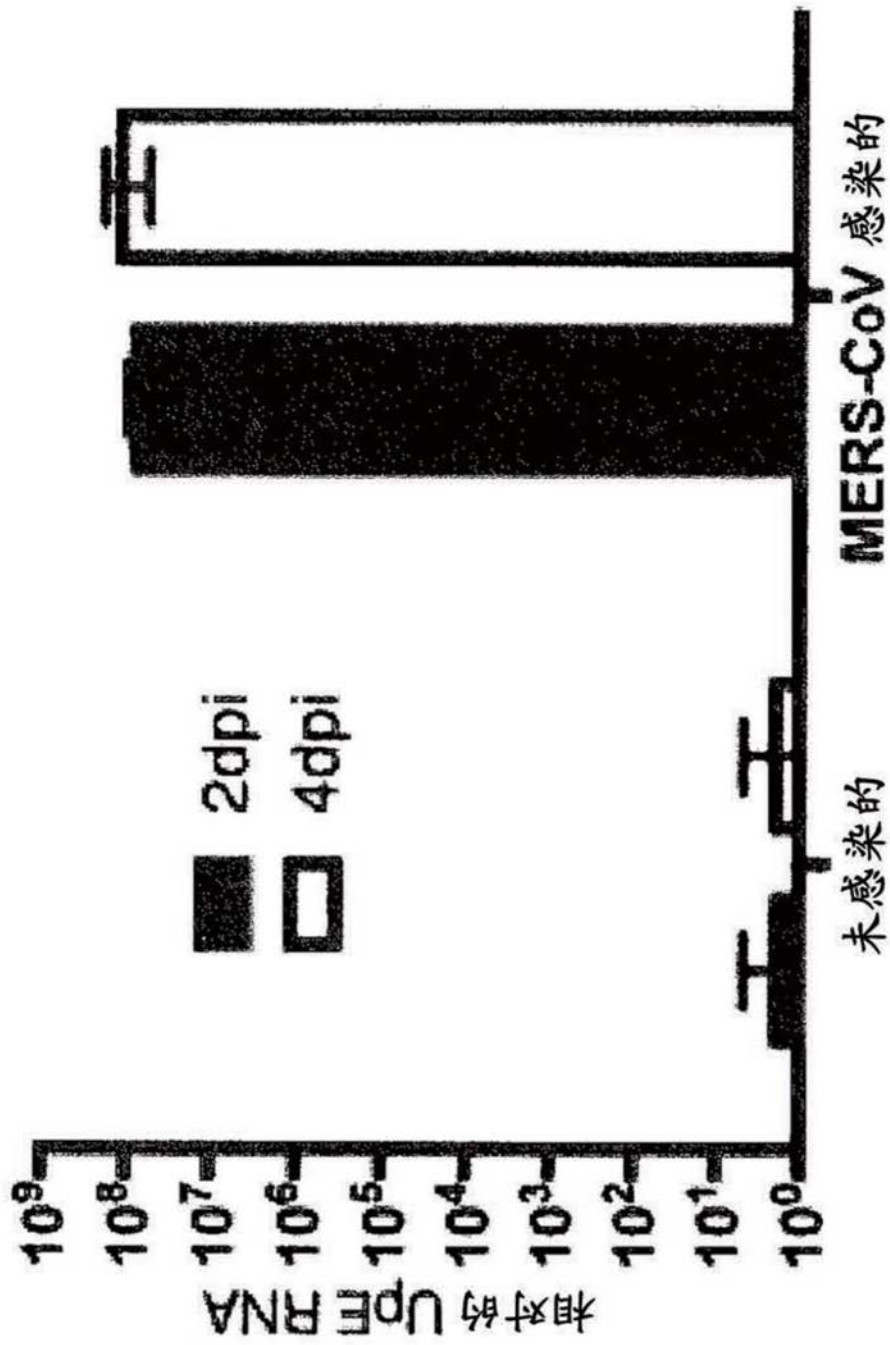


图4

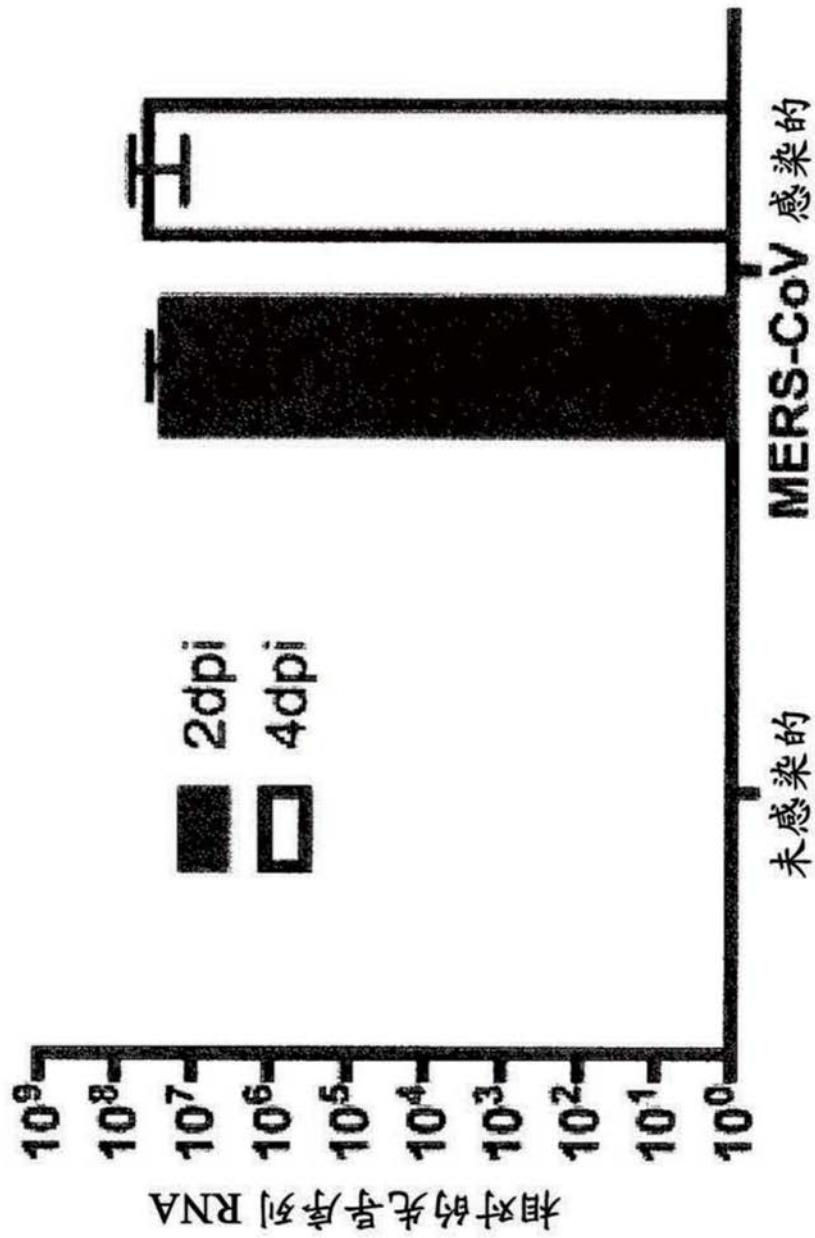


图5

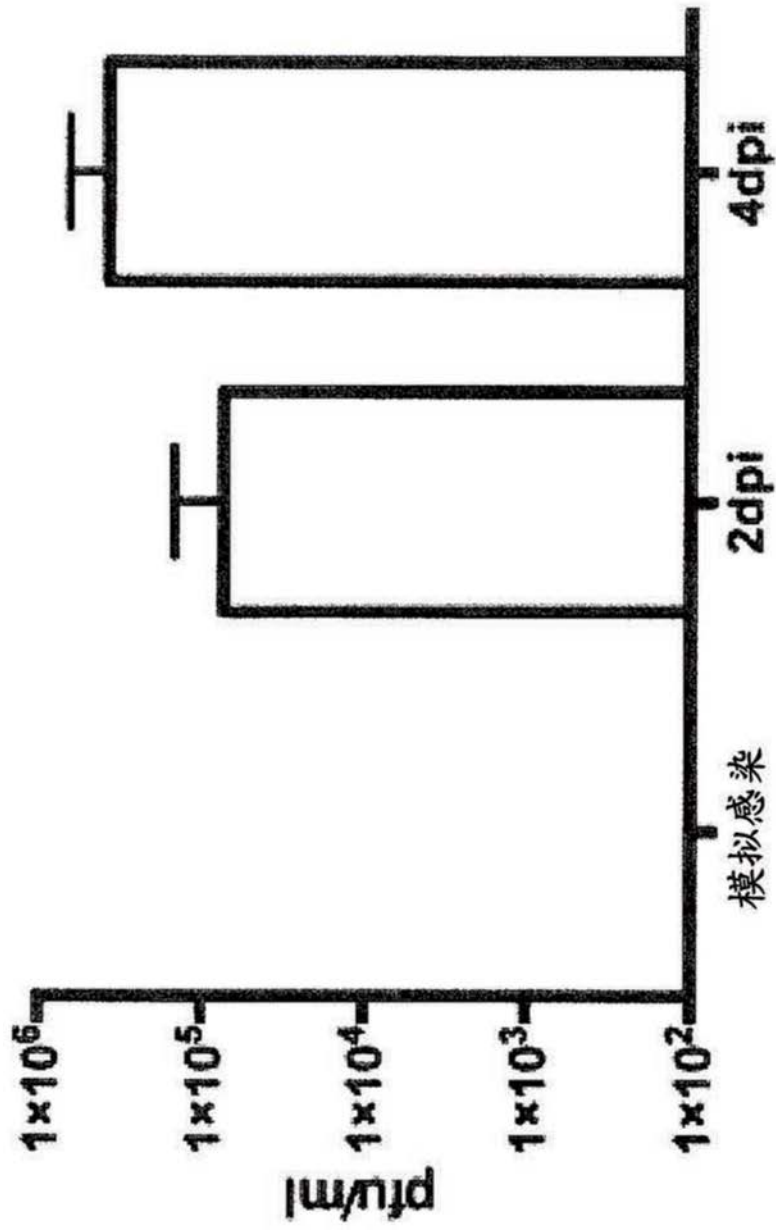


图6

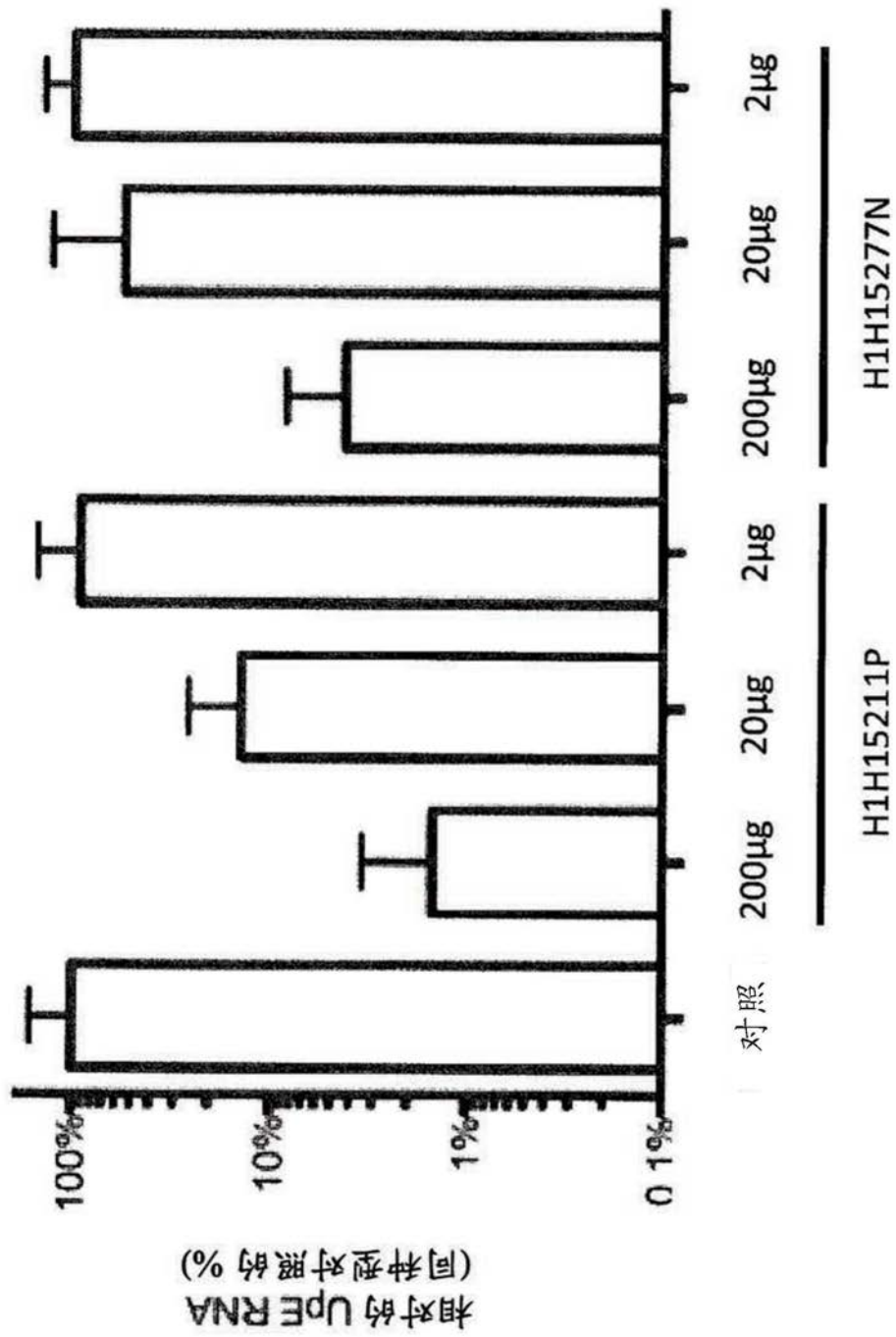


图7

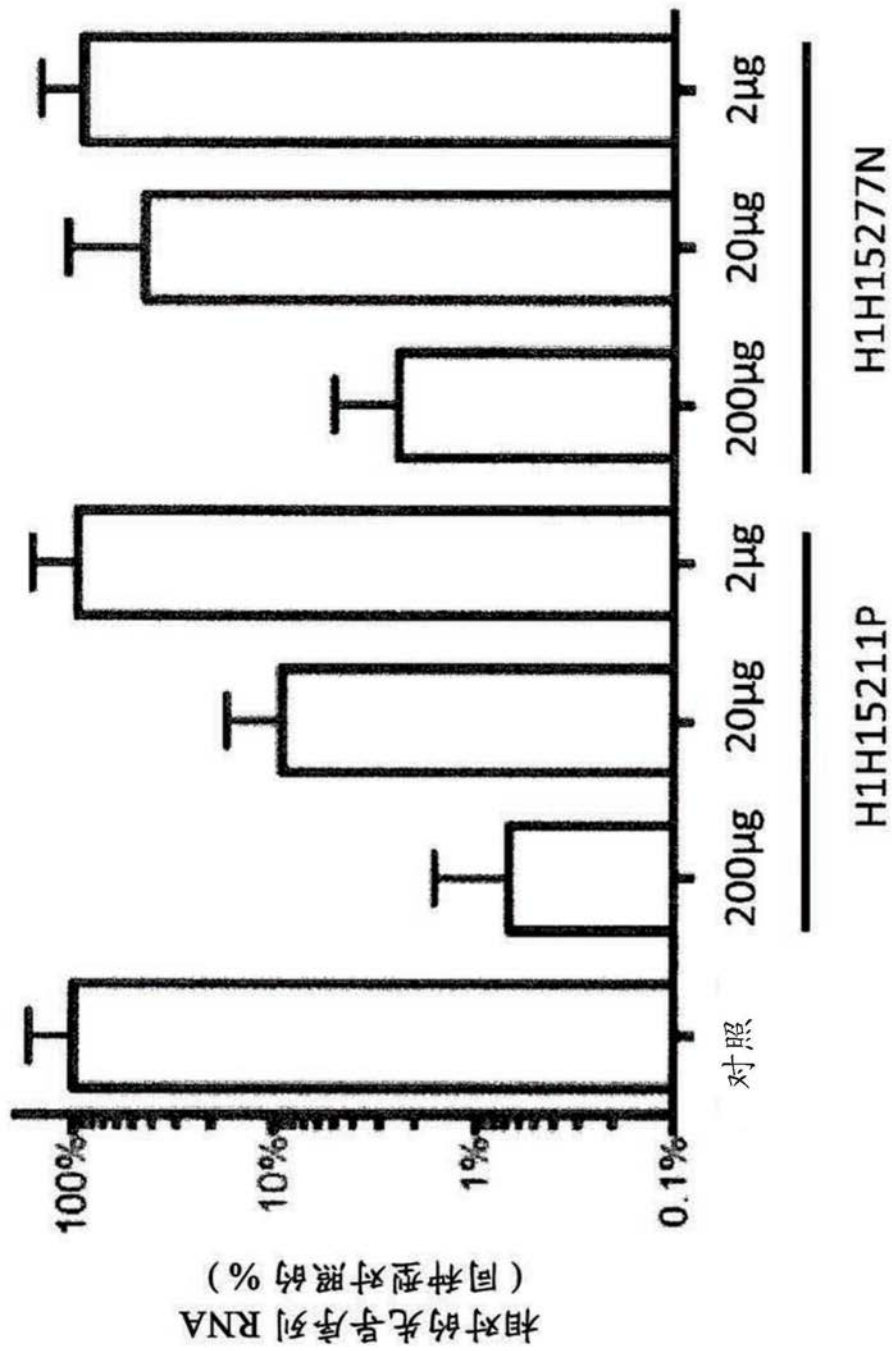


图8

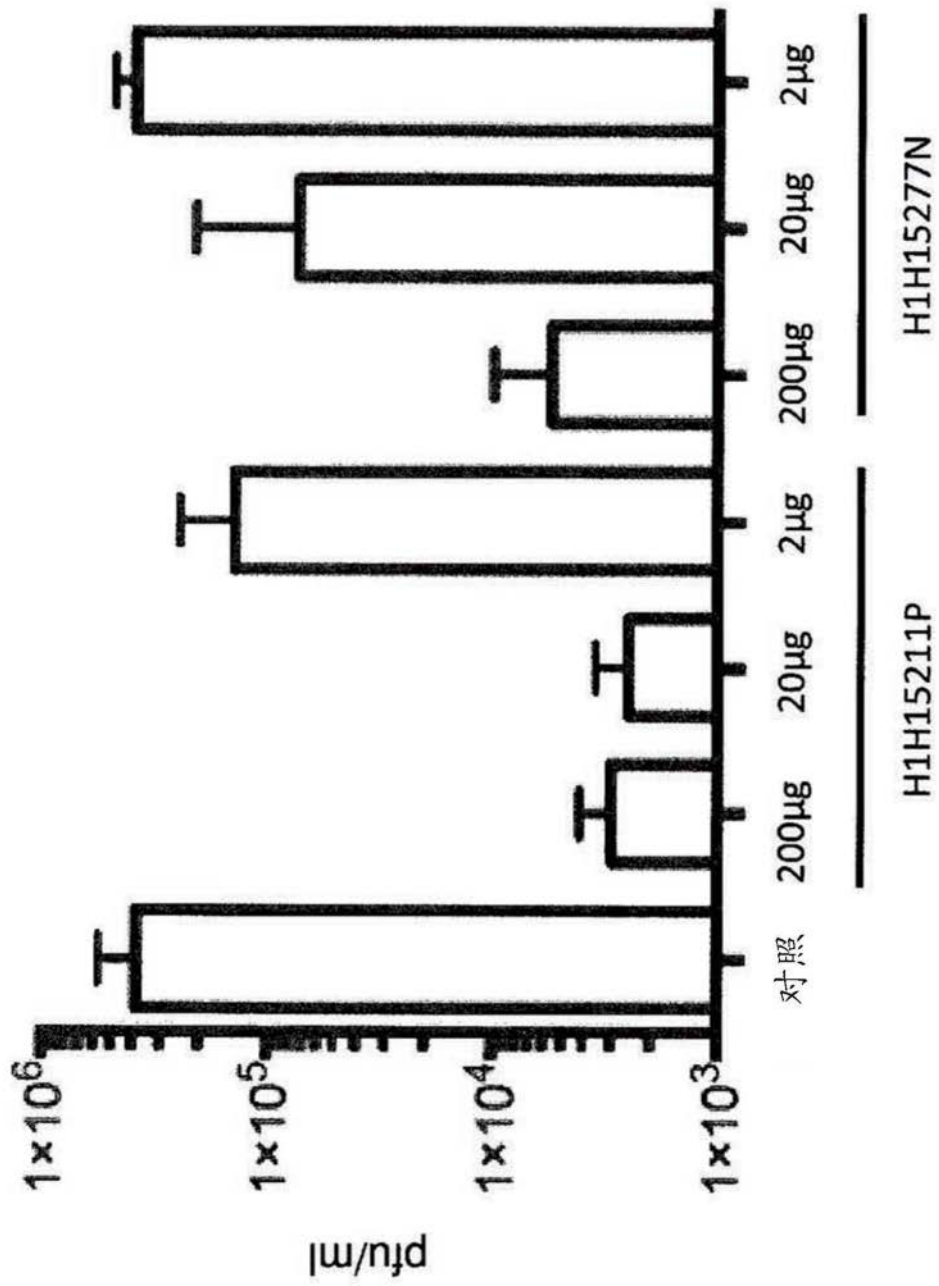


图9

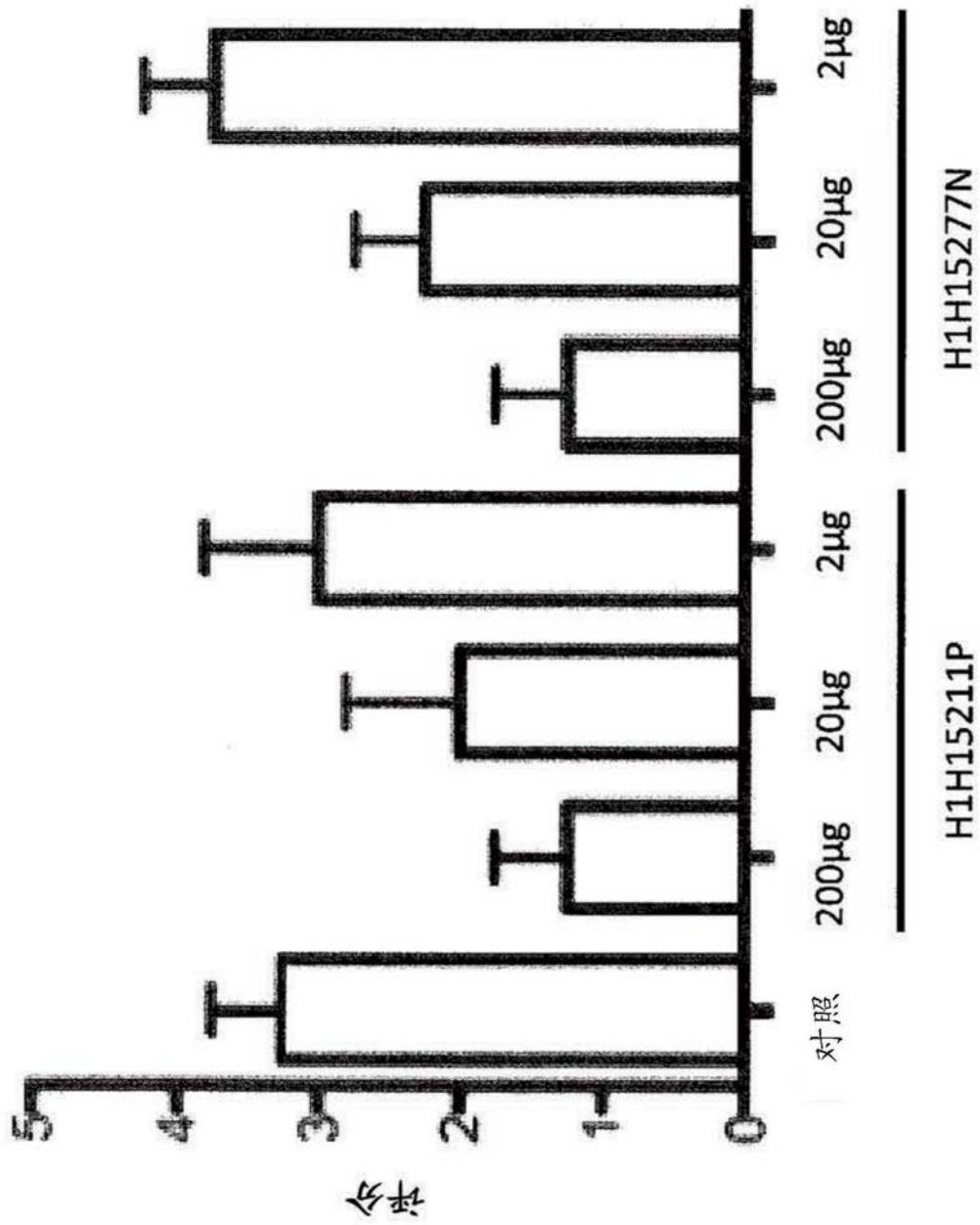


图10

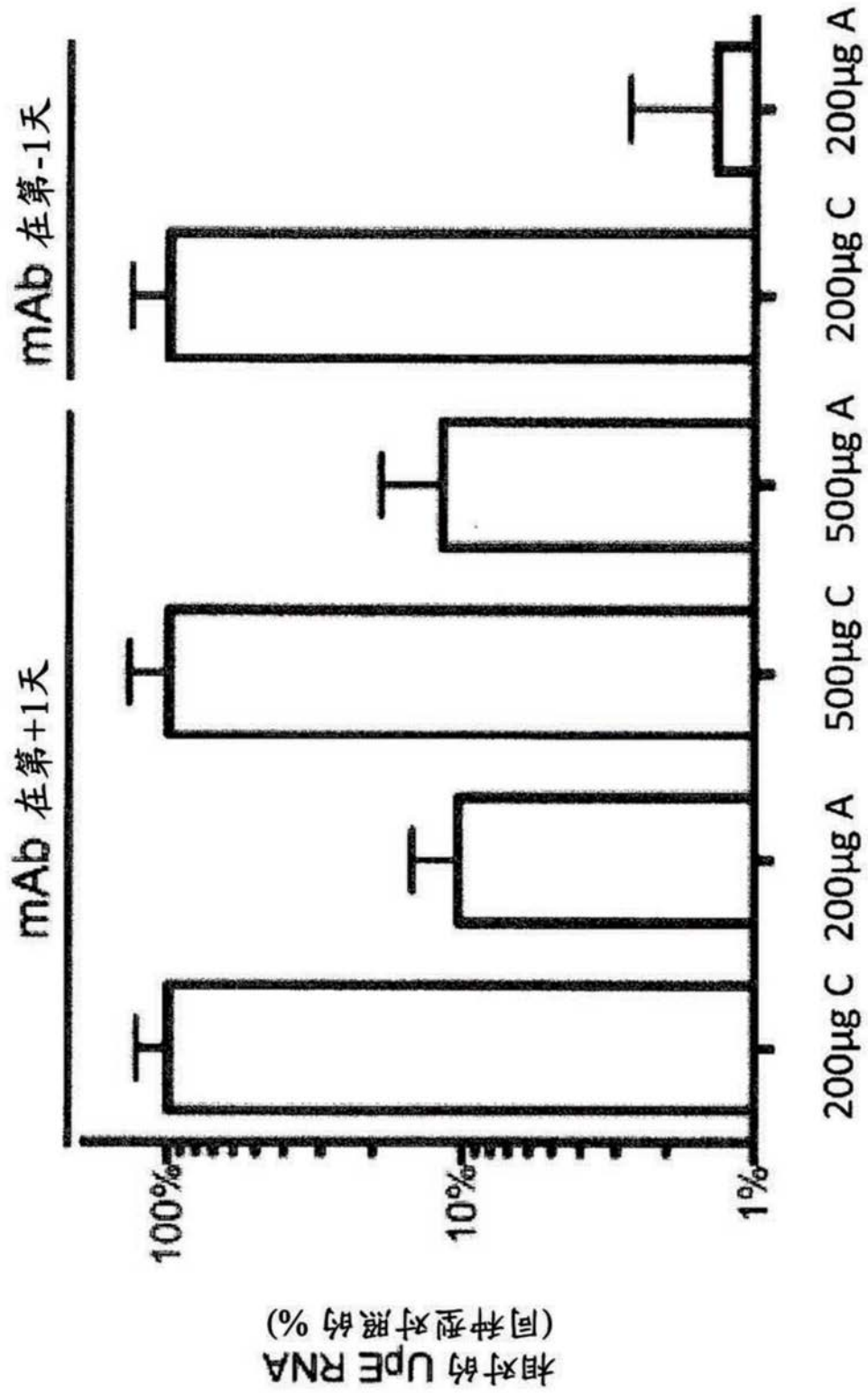


图11

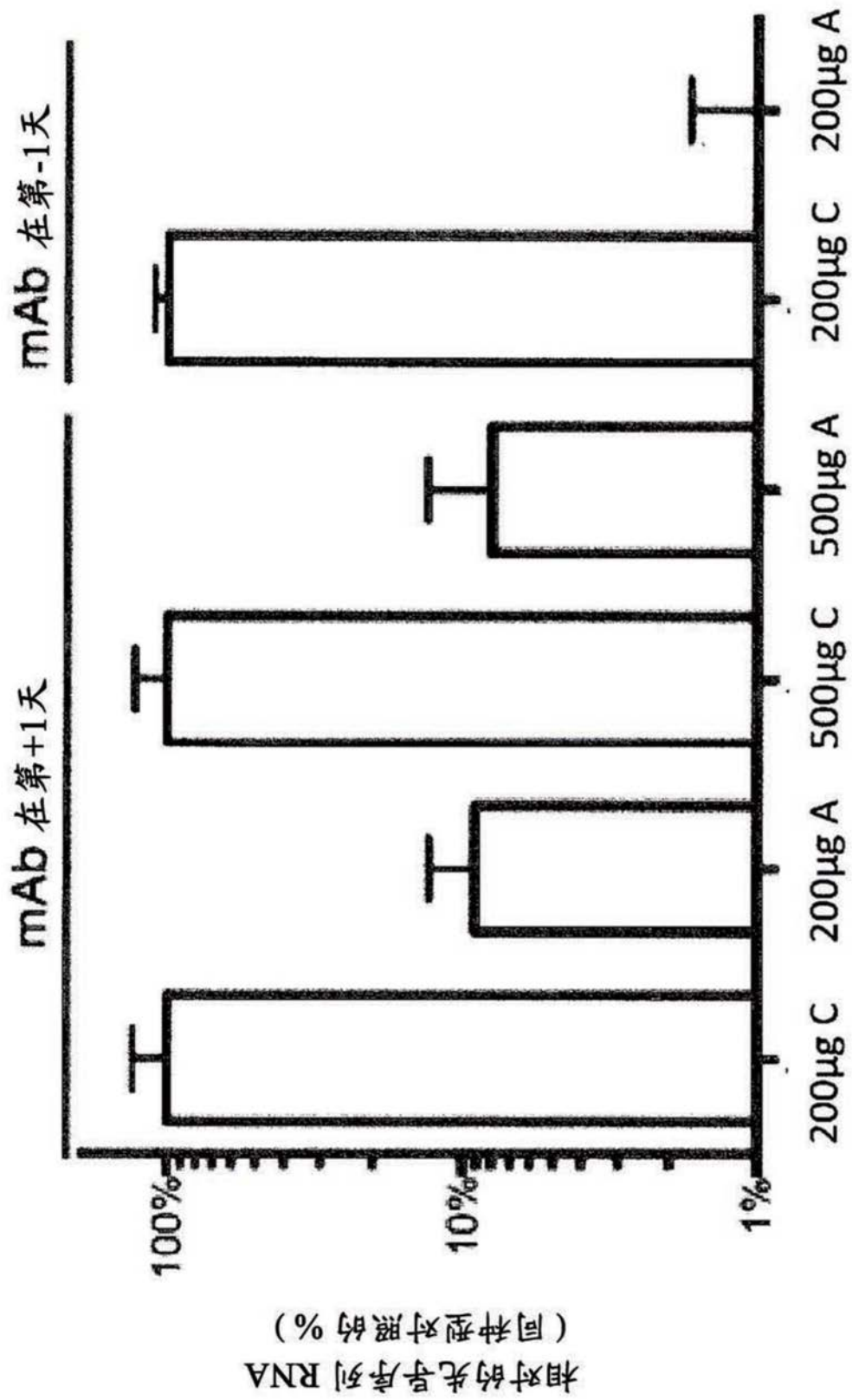


图12

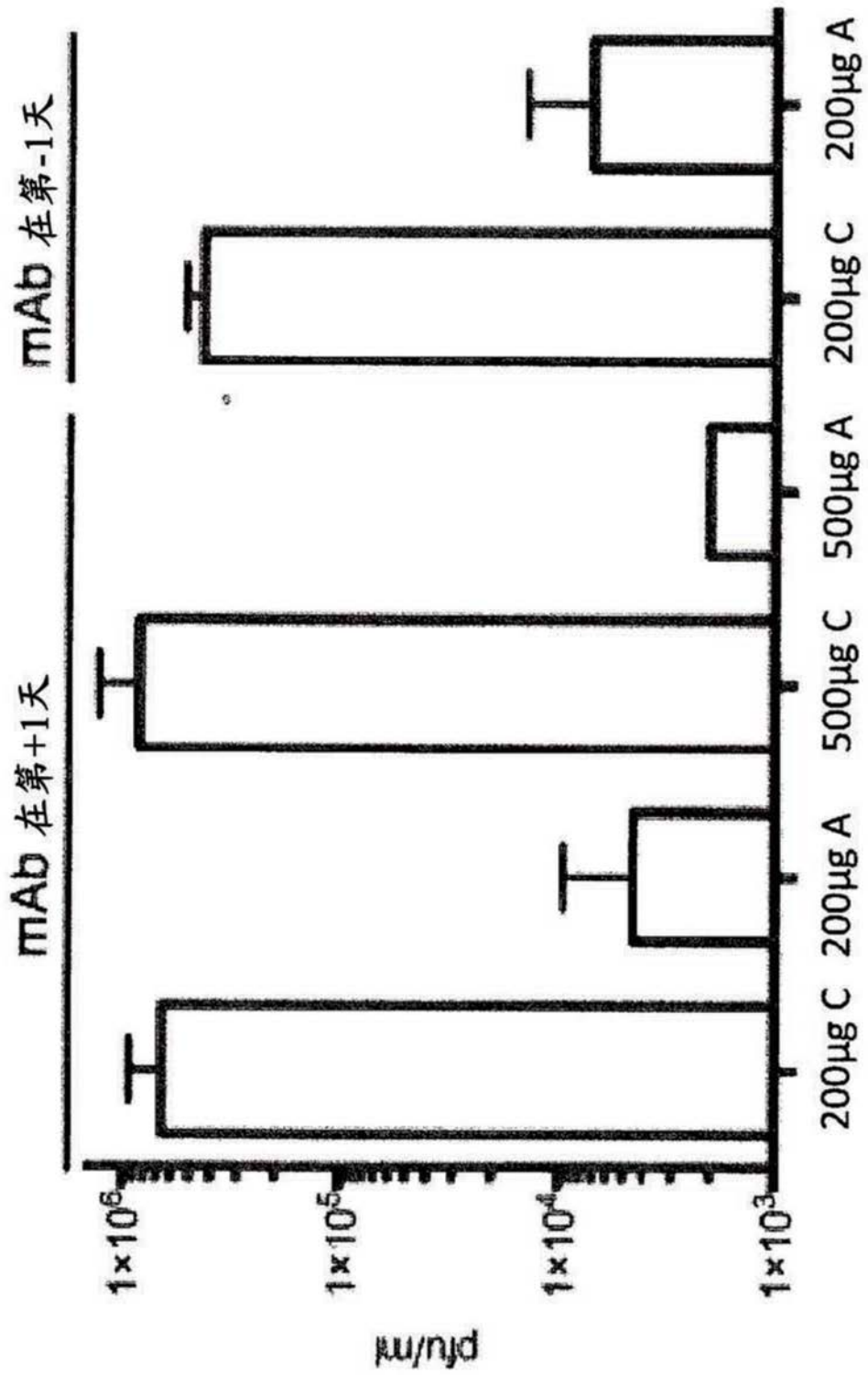


图13

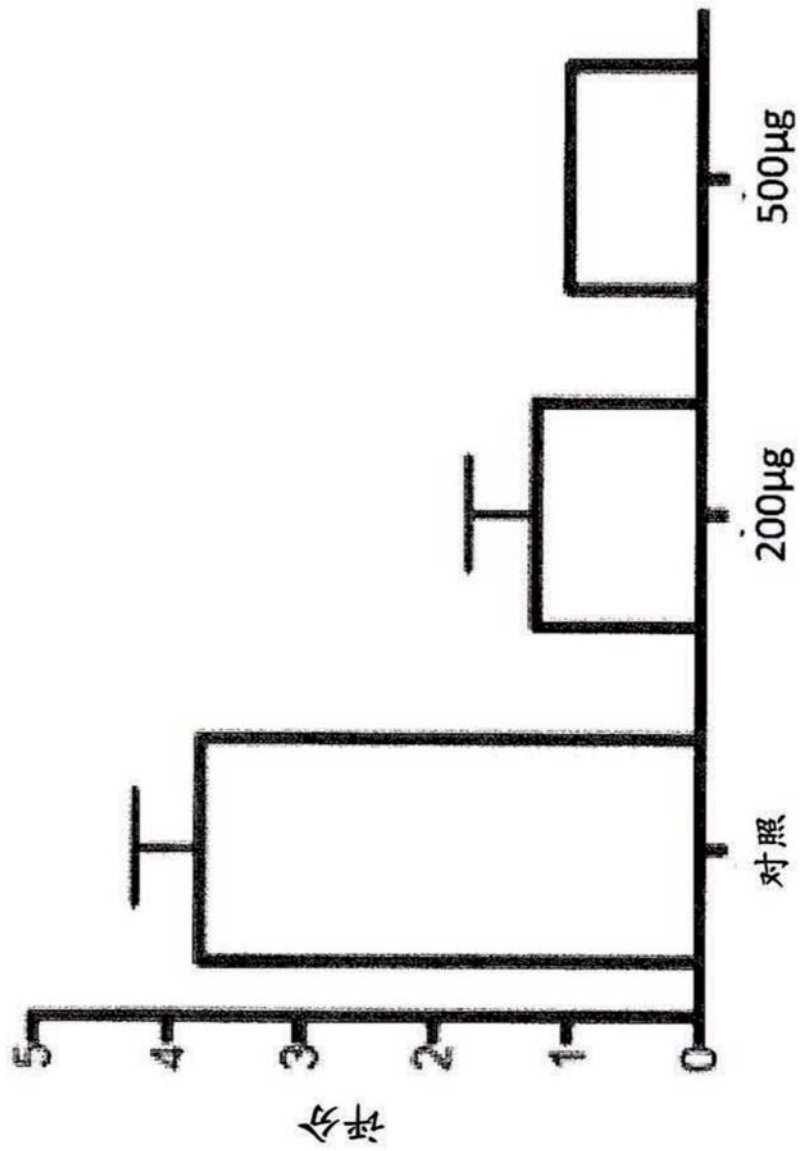


图14