



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107148428 B

(45) 授权公告日 2021.03.09

(21) 申请号 201580054216.9

A61P 3/06 (2006.01)

(22) 申请日 2015.08.06

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 101128485 A, 2008.02.20

申请公布号 CN 107148428 A

CN 102741284 A, 2012.10.17

(43) 申请公布日 2017.09.08

WO 2007109307 A2, 2007.09.27

(30) 优先权数据

WO 2011079257 A2, 2011.06.30

62/034,409 2014.08.07 US

WO 2006074228 A1, 2006.07.13

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

CN 101044164 A, 2007.09.26

2017.04.06

CN 103782177 A, 2014.05.07

(86) PCT国际申请的申请数据

CN 102692500 A, 2012.09.26

PCT/IB2015/055986 2015.08.06

CN 101080419 A, 2007.11.28

(87) PCT国际申请的公布数据

Urvi Desai et al..Lipid-lowering  
Effects of Anti-Angiopoietin-Like 4

W02016/020880 EN 2016.02.11

Antibody Recapitulate the Lipid Phenotype  
Found in Angiopoietin-Like 4 Knockout

(73) 专利权人 诺华股份有限公司

Mice.《Proc Natl Acad Sci U S A.》.2007,第  
104卷(第28期),11766-11771.

地址 瑞士巴塞尔

E-Chiang Lee et al..Identification of

(72) 发明人 J·特劳格 A·I·沃兹涅先斯基

a New Functional Domain in Angiopoietin-  
Like 3 (ANGPTL3) and Angiopoietin-Like 4

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

Like 3 (ANGPTL3) and Angiopoietin-Like 4  
(ANGPTL4) Involved in Binding and

11247

代理人 胡志君 黄革生

Inhibition of Lipoprotein Lipase (LPL).  
《THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY》

(51) Int.Cl.

.2009,第284卷(第20期),13735-13745.

C07K 16/22 (2006.01)

审查员 侯玮婷

A61K 39/395 (2006.01)

权利要求书1页 说明书74页

A61P 3/10 (2006.01)

序列表116页 附图8页

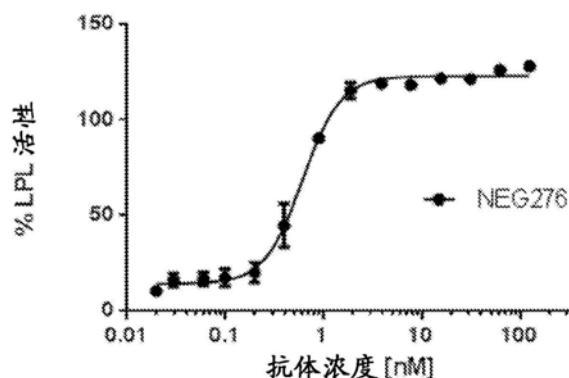
A61P 3/00 (2006.01)

(54) 发明名称

血管生成素样蛋白4抗体和使用方法

(57) 摘要

本发明涉及与人血管生成素样蛋白4(下文  
中有时称作“ANGPTL4”)结合的单克隆抗体,和包  
含所述单克隆抗体的药物组合物 and 治疗方法。



1. 分离的抗ANGPTL4抗体或其抗原结合片段, 包含

(i) Kabat编号方案定义的SEQ ID NO:7的重链可变区互补决定区CDR1; SEQ ID NO:8的CDR2; 和SEQ ID NO:9的CDR3; 以及SEQ ID NO:17的轻链可变区CDR1; SEQ ID NO:18的CDR2; 和SEQ ID NO:19的CDR3; 或

(ii) Chothia编号方案定义的SEQ ID NO:10的重链可变区CDR1; SEQ ID NO:11的CDR2; 和SEQ ID NO:12的CDR3; 以及SEQ ID NO:20的轻链可变区CDR1; SEQ ID NO:21的CDR2; 和SEQ ID NO:22的CDR3。

2. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 包含重链可变区和轻链可变区, 所述重链可变区具有与SEQ ID NO:13至少90%同一的氨基酸序列, 所述轻链可变区是与SEQ ID NO:23至少90%同一。

3. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 包含重链可变区和轻链可变区, 所述重链可变区具有SEQ ID NO:13的序列, 所述轻链可变区具有SEQ ID NO:23的序列。

4. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 包含重链和轻链, 所述重链具有与SEQ ID NO:28至少90%同一的序列, 所述轻链具有与SEQ ID NO:25至少90%同一的序列。

5. 根据权利要求4所述的抗体或其抗原结合片段, 包含重链和轻链, 所述重链具有SEQ ID NO:28的序列, 所述轻链具有SEQ ID NO:25的序列。

6. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 包含重链和轻链, 所述重链具有与SEQ ID NO:15至少90%同一的序列, 所述轻链具有与SEQ ID NO:25至少90%同一的序列。

7. 根据权利要求6所述的抗体或其抗原结合片段, 包含重链和轻链, 所述重链具有SEQ ID NO:15的序列, 所述轻链具有SEQ ID NO:25的序列。

8. 根据权利要求1—7中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 是单克隆抗体、人源化抗体、单链抗体、Fab片段、Fv片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、或scFv片段。

9. 根据权利要求8所述的抗体或其抗原结合片段, 是IgG1或IgG4同种型。

10. 药物组合物, 包含权利要求1—9中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和可药用载体。

11. 根据权利要求10所述的药物组合物, 用于治疗ANGPTL4疾病。

12. 根据权利要求11所述的药物组合物, 其中所述疾病涉及重度高甘油三酯血症、与肥胖相关的高甘油三酯血症、V型高甘油三酯血症和乳糜微粒血症中的一种或多种。

13. 根据权利要求12所述的药物组合物, 其中重度高甘油三酯血症是血浆甘油三酯浓度>500mg/dL的重度高甘油三酯血症。

14. 根据权利要求11所述的药物组合物, 其中所述疾病涉及原发性血脂异常、代谢综合征和2型糖尿病中的一种或多种。

## 血管生成素样蛋白4抗体和使用方法

### [0001] 发明背景

[0002] 血管生成素样蛋白4 (ANGPTL4) 是分泌型蛋白的血管生成素样家族的成员。它是由多个细胞类型 (包括巨噬细胞、脂肪细胞、肌肉细胞和肝脏细胞) 表达的同型寡聚蛋白, 能够形成二聚体和四聚体。ANGPTL4也称作肝纤维蛋白原/血管生成素相关蛋白 (HFARP) (Kim等人, (2000) Biochem. J. 346:603-610); PPAR  $\gamma$  血管生成素相关蛋白 (PGAR) (Yoon等人 (2000) Mol. Cell Biol., 20:5343-5349) 和禁食诱导的脂肪因子 (FIAF) (Kerten等人, (2000) J. Biol. Chem., 275:28488-28493)。ANGPTL4含有一个N末端卷曲螺旋结构域和一个C末端纤维蛋白原 (FBN) 样结构域 (Kim等人 (2000) Biochem. J. 346:603-610)。

[0003] 脂蛋白脂肪酶 (LPL) 在脂蛋白代谢中具有核心作用, 所述核心作用包括维持血液中的脂蛋白水平和通过组织特异性调节其活性。已知ANGPTL4的卷曲螺旋区抑制脂蛋白脂肪酶 (LPL)-介导的甘油三酯 (TG) 清除。因此, 观察到ANGPTL4功能丧失型突变 (例如, 如人类受试者中所见)、遗传缺失 (例如, 如转基因小鼠中所见), 和抗体抑制作用 (例如, 如小鼠和食蟹猴中所见) 均减少血浆甘油三酯。另外, 还已知ANGPTL4抗体激活LPL。相反, 向小鼠中注射ANGPTL4导致循环型甘油三酯快速增加并且这是比注射血管生成素样蛋白3 (ANGPTL3) 更高的速率 (Yoshida等人, (2002) J Lipid Res 43:1770-1772)。

[0004] 本发明中所述的抗ANGPTL4抗体和抗原结合片段启动、促进或增强LPL激活, 例如, 通过阻断ANGPTL4对LPL的抑制, 因而减少血浆甘油三酯做到。这些抗体预计防止和改善以甘油三酯水平升高为特征的疾病 (例如, 原发性血脂异常、高甘油三酯血症、代谢综合征、II型糖尿病等) 的急性和慢性表现。

### [0005] 发明概述

[0006] 本发明涉及与人血管生成素样蛋白4 (下文, 有时称作“ANGPTL4”) 结合的单克隆抗体, 和包含所述单克隆抗体的药物组合物和治疗方法。

[0007] 本文所述的分离的抗ANGPTL4抗体或抗原结合片段按小于或等于100pM的平衡解离常数 ( $K_D$ ) 结合ANGPTL4。例如, 本文所述的分离抗体或抗原结合片段可以按小于或等于150nM、小于或等于50nM、小于或等于10nM、小于或等于750pM、小于或等于600pM、小于或等于500pM、小于或等于400pM、小于或等于300pM、小于或等于200pM、小于或等于100pM、小于或等于75pM、小于或等于65pM、小于或等于60pM、小于或等于55pM的 $K_D$ 与人ANGPTL4结合。更具体地, 本文所述的分离抗体或抗原结合片段还可以按小于或等于45pM (如通过ForteBio动力学结合测定法所测量) 或小于或等于24pM (如通过溶液平衡滴定测定法 (SET) 所测量) 的 $K_D$ 结合人ANGPTL4; 并且还可以按小于或等于87pM (如通过ForteBio动力学结合测定法所测量) 或小于或等于22pM (如通过SET所测量) 的 $K_D$ 结合食蟹猴ANGPTL4。

[0008] 本发明涉及与人ANGPTL4结合的分离抗体或其抗原结合片段。本发明还涉及结合ANGPTL4并且与如表1中所述的抗体进一步竞争结合的分离抗体或其抗原结合片段。本发明也进一步涉及结合与表1中所述的抗体相同的表位的分离抗体或其抗原结合片段。

[0009] 本文所述的分离抗体和抗原结合片段的结合亲和力可以通过溶液平衡滴定法 (SET) 测定。用于SET的方法是本领域已知的并且在下文进一步详细描述。备选地, 本文所述

的分离抗体或片段的结合亲和力可以通过Biacore测定法测定。用于BIAcore动力学测定的方法是本领域已知的并且在下文进一步详细描述。

[0010] 本文所述的分离的抗ANGPTL4抗体和抗原结合片段可以用来以小于或等于100nM、小于或等于50nM、小于或等于35nM、小于或等于25nM、小于或等于10nM或小于或等于3nM的EC<sub>50</sub>抑制ANGPTL4与脂蛋白脂肪酶(LPL)结合。

[0011] 分离的抗ANGPTL4抗体或其抗原结合片段可以用来降低循环型甘油三酯(TG)的水平。

[0012] 如本文所述的分离的抗ANGPTL4抗体或其抗原结合片段可以是单克隆抗体、人或人源化抗体、嵌合抗体、单链抗体、Fab片段、Fv片段、F(ab')<sub>2</sub>片段或scFv片段和/或IgG同种型。

[0013] 如本文所述的分离的抗ANGPTL4抗体或其抗原结合片段还可以包括这样的构架，其中的氨基酸已经置换为来自相应的人VH或VL种系序列的抗体构架。

[0014] 本发明的另一个方面包括具有表1中所述的人源化抗体的完整重链序列和完整轻链序列的分离抗体或其抗原结合片段。更具体地，分离的抗体或其抗原结合片段可以具有NEG276、NEG276-LALA、NEG278、NEG310、NEG313、NEG315、NEG318、NEG319的重链序列和轻链序列。

[0015] 本发明的又一个方面包括具有表1中所述的人源化抗体的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列的分离抗体或其抗原结合片段。更具体地，分离的抗体或其抗原结合片段可以具有NEG276、NEG276-LALA、NEG278、NEG310、NEG313、NEG315、NEG318、NEG319的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列。

[0016] 本发明还涉及一种分离的抗体或其抗原结合片段，其包含选自SEQ ID NO:7、32、52、72、92、112和132的重链CDR1；选自SEQ ID NO:8、33、53、73、93、113和133的重链CDR2以及选自SEQ ID NO:9、34、54、74、94、114和134的重链CDR3，其中分离的抗体或其抗原结合片段与人ANGPTL4结合。在另一个方面，这种分离的抗体或其抗原结合片段还包括选自SEQ ID NO:17、42、62、82、102、122和142的轻链CDR1；选自SEQ ID NO:18、43、63、83、103、123和143的轻链CDR2；和选自SEQ ID NO:19、44、64、84、104、124和144的轻链CDR3。

[0017] 本发明还涉及一种分离的抗体或其抗原结合片段，其包含选自SEQ ID NO:17、42、62、82、102、122和142的轻链CDR1；选自SEQ ID NO:18、43、63、83、103、123和143的轻链CDR2以及选自SEQ ID NO:19、44、64、84、104、124和144的轻链CDR3，其中分离的抗体或其抗原结合片段与人ANGPTL4结合。

[0018] 本发明还涉及具有HCDR1、HCDR2和HCDR3及LCDR1、LCDR2并且LCDR3的结合ANGPTL4的分离抗体或其抗原结合片段，其中HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:7、8和9并且LCDR1、LCDR2、LCDR3包含SEQ ID NO:17、18和19；或HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:32、33和34和LCDR1、LCDR2、LCDR3包含SEQ ID NO:42、43和44；或HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:52、53和54并且LCDR1、LCDR2、LCDR3包含SEQ ID NO:62、63和64；或HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:72、73和74并且LCDR1、LCDR2、LCDR3包含SEQ ID NO:82、83和84；或HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:92、93和94并且LCDR1、LCDR2、LCDR3包含SEQ ID NO:102、103和104；或HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:112、113和114并且LCDR1、LCDR2、LCDR3包含SEQ ID NO:122、123和124；或HCDR1、HCDR2和HCDR3包含SEQ ID NO:132、133和



134并且LCDR1、LCDR2、LCDR3包含SEQ ID NO:142、143和144。

[0019] 本发明还涉及抗体或抗原结合片段,其具有如Chothia所定义的SEQ ID NO:13、38、58、78、98、118和138的重链可变结构域的HCDR1、HCDR2和HCDR3以及SEQ ID NO:23、48、68、88、108、128和148的轻链可变结构域的LCDR1、LCDR2和LCDR3。在本发明的另一个方面,抗体或抗原结合片段可以具有如Kabat所定义的SEQ ID NO:13、38、58、78、98、118和138的重链可变结构域序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3以及SEQ ID NO:23、48、68、88、108、128和148的轻链可变结构域序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0020] 在本发明的一个方面,分离的抗体或其抗原结合片段包含选自SEQ ID NO:13、38、58、78、98、118和138的重链可变结构域序列。分离的抗体或抗原结合片段还可以包含轻链可变结构域序列,其中重链可变结构域和轻链可变结构域组合以形成ANGPTL4的抗原结合位点。特别地,轻链可变结构域序列可以选自SEQ ID NO:23、48、68、88、108、128和148,其中所述分离的抗体或其抗原结合片段结合ANGPTL4。

[0021] 本发明还涉及包含选自SEQ ID NO:23、48、68、88、108、128和148的轻链可变结构域序列的分离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与人ANGPTL4结合。分离的抗体或抗原结合片段还可以包含重链可变结构域序列,其中轻链可变结构域和重链可变结构域组合以形成ANGPTL4的抗原结合位点。

[0022] 特别地,结合ANGPTL4的分离抗体或其抗原结合片段可以具有分别包含SEQ ID NO:13和23;38和48;58和68;78和88;98和108;118和128;或138和148的序列的重链可变结构域和轻链可变结构域。

[0023] 本发明还涉及包含下述重链可变结构域的分离抗体或其抗原结合片段,所述重链可变结构域与选自SEQ ID NO:13、38、58、78、98、118和138的序列具有至少90%序列同一性,其中所述抗体与ANGPTL4结合。在一个方面,分离的抗体或其抗原结合片段还包含与选自SEQ ID NO:23、48、68、88、108、128和148的序列具有至少90%序列同一性的轻链可变结构域。在本发明的又一个方面,分离的抗体或抗原结合片段具有如Kabat所定义的和如表1中所述的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0024] 本发明还涉及具有下述轻链可变结构域的分离抗体或其抗原结合片段,所述轻链可变结构域与选自SEQ ID NO:23、48、68、88、108、128和148的序列具有至少90%序列同一性,其中所述抗体结合ANGPTL4。

[0025] 在本发明的另一个方面,与ANGPTL4结合的分离抗体或其抗原结合片段可以具有包含SEQ ID NO:15、28、40、60、80、100、120和140的序列的重链。分离的抗体还可以包含可以与重链组合以形成针对人ANGPTL4的抗原结合位点的轻链。特别地,轻链可以具有包含SEQ ID NO:25、50、70、90、110、130和150的序列。特别地,结合ANGPTL4的分离抗体或其抗原结合片段可以具有分别包含SEQ ID NO:15和25;28和25;40和50;60和70;80和90;100和110;120和130;或140和150的序列的重链和轻链。

[0026] 本发明还涉及包含下述重链的分离抗体或其抗原结合片段,所述重链与选自SEQ ID NO:15、28、40、60、80、100、120和140的序列具有至少90%序列同一性,其中所述抗体与ANGPTL4结合。在一个方面,分离的抗体或其抗原结合片段还包含与选自SEQ ID NO:25、50、70、90、110、130和150的序列具有至少90%序列同一性的轻链。

[0027] 本发明还涉及包含下述轻链的分离抗体或其抗原结合片段,所述轻链与选自SEQ

ID NO:25、50、70、90、110、130和150的序列具有至少90%序列同一性,其中所述抗体结合ANGPTL4。

[0028] 本发明仍进一步涉及分离的抗体或抗原结合片段,其竞争与本文所述的抗体或抗原结合片段结合,例如,与人源化抗体NEG276、NEG276-LALA、NEG278、NEG310、NEG313、NEG315、NEG318和NEG319结合。在一个实施方案中,本发明的分离抗体或抗原结合片段能够抑制选自NEG276、NEG276-LALA、NEG278、NEG310、NEG313、NEG315、NEG318和NEG319的人源化抗体与ANGPTL4的结合作用超过50%,此时两种抗体或抗原结合片段以等摩尔浓度存在。

[0029] 在另一个实施方案中,本发明的分离抗体或抗原结合片段能够抑制选自NEG276、NEG276-LALA、NEG278、NEG310、NEG313、NEG315、NEG318和NEG319的人源化抗体与ANGPTL4的结合作用超过80%,此时两种抗体或抗原结合片段以等摩尔浓度存在。在另外的实施方案中,本发明的分离抗体或抗原结合片段能够抑制选自NEG276、NEG276-LALA、NEG278、NEG310、NEG313、NEG315、NEG318和NEG319的人源化抗体与ANGPTL4的结合作用超过85%(或90%、95%、98%或99%),此时两种抗体或抗原结合片段以等摩尔浓度存在。

[0030] 本发明还涉及包含本文所述的分离抗体或其抗原结合片段的组合物。以及,与可药用载体组合的抗体组合物。具体而言,本发明进一步包括药物组合物,所述药物组合物包含表1的抗体或其抗原结合片段,如,例如人源化抗体NEG276、NEG276-LALA、NEG278、NEG310、NEG313、NEG315、NEG318、NEG319。本发明还涉及药物组合物,所述药物组合物包含表1的两种或更多种分离的抗体或其抗原结合片段的组合。

[0031] 本发明还涉及编码下述重链可变结构域的分离的核酸序列,所述重链可变结构域具有选自SEQ ID NO:13、38、58、78、98、118和138的序列。特别地,该核酸具有这样的序列,所述序列与选自SEQ ID NO:14、27、39、59、79、99、119和139的序列具有至少90%序列同一性。在本发明的又一个方面,该序列是SEQ ID NO:14、27、39、59、79、99、119或139。

[0032] 本发明还涉及编码下述轻链可变结构域的分离的核酸序列,所述轻链可变结构域具有选自SEQ ID NO:23、48、68、88、108、128和148的序列。特别地,该核酸具有这样的序列,所述序列与选自SEQ ID NO:24、31、49、69、89、109、129和149的序列具有至少90%序列同一性。在本发明的又一个方面,该序列是SEQ ID NO:24、31、49、69、89、109、129或149。

[0033] 本发明还涉及分离的核酸,所述分离的核酸包含编码多肽的序列,所述多肽包含与选自SEQ ID NO:23、48、68、88、108、128和148的序列具有至少90%序列同一性的轻链可变结构域。

[0034] 本发明还涉及包含本文所述的一种或多种核酸分子的载体。

[0035] 本发明还涉及包含重组DNA序列和第二重组DNA序列的分离的宿主细胞,所述重组DNA序列编码上文描述的抗体的重链,所述第二重组DNA序列编码上文描述的抗体的轻链,其中所述DNA序列与启动子有效连接并且能够在该宿主细胞中表达。构思了抗体可以是人源化抗体。还构思了宿主细胞是非人类的哺乳动物细胞。

[0036] 构思了细胞是人细胞。还构思了细胞在受试者中。在一个实施方案中,构思了细胞是内皮细胞。在其他实施方案中,细胞可以是脂肪细胞、肌肉细胞和肝脏细胞中的一种或多种细胞。仍然还构思了受试者是人。

[0037] 本发明还涉及一种治疗、改善或预防患者中ANGPTL4相关病症的方法,其中所述方法包括步骤:向患者施用有效量的包含本文所述的抗体或其抗原结合片段的组合物。在一

个方面,ANGPTL4相关病症与高甘油三酯血症(例如,重度高甘油三酯血症(例如,血浆甘油三酯浓度>500mg/dL)、与肥胖相关的高甘油三酯血症和V型高甘油三酯血症)相关。在其他方面,ANGPTL4相关病症与原发性血脂异常、代谢综合征、II型糖尿病相关。构思了该患者是人。

[0038] 前述任一种分离的抗体或其抗原结合片段可以是单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0039] 定义

[0040] 除非另外定义,否则本文中所用的全部技术与科学术语均具有如本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义。

[0041] 术语“ANGPTL4蛋白”或“ANGPTL4抗原”或“ANGPTL4”可互换使用并且指不同物种中的血管生成素样蛋白4(ANGPTL4)。例如,人ANGPTL4具有如表1中所述的序列(SEQ ID NO: 1),并且已经在先前的报告和文献中描述(Nature,第386卷,第页73-77,1997;Genomics,第54卷,第2期,第191-199页,1998;Biochem.J.,第339卷,Part 1,第177-184页,1999;Genbank登录号NP\_002534)。ANGPTL4含有一个N末端卷曲螺旋结构域和一个C末端纤维蛋白原(FBN)样结构域(Kim等人(2000)Biochem.J.346:603-610)。它是由多个细胞类型(包括巨噬细胞、脂肪细胞、肌肉细胞和肝脏细胞)表达的同型寡聚蛋白,能够形成二聚体和四聚体,并且已知其抑制脂蛋白脂肪酶(LPL)-介导的甘油三酯(TG)清除。

[0042] 此外,在本发明的上下文中,术语“ANGPTL4”包括天然血管生成素样蛋白4(ANGPTL4)的突变体,所述突变体具有与上文所提报告中描述的天然一级结构(氨基酸序列)基本上相同的氨基酸序列。本文中,术语“具有基本上相同氨基酸序列的人天然血管生成素样蛋白4(ANGPTL4)突变体”指这类突变蛋白。

[0043] 如本文所用的术语“抗体”意指完整抗体和任何抗原结合片段(即,“抗原结合部分”)或其单链。完整抗体是包含由二硫键相互连接的至少两条重链(H)和两条轻链(L)的糖蛋白。每条重链由重链可变区(本文中缩写为V<sub>H</sub>)和重链恒定区组成。重链恒定区由3个结构域CH1、CH2和CH3组成。每条轻链由轻链可变区(本文中缩写为V<sub>L</sub>)和轻链恒定区组成。轻链恒定区由一个结构域CL组成。V<sub>H</sub>区和V<sub>L</sub>区可以进一步再划分为超变区,名为互补决定区(CDR),其间插有较保守的区域,名为构架区(FR)。每个V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>由三个CDR和4个FR组成,从氨基端到羧基端以如下顺序排列:FR1,CDR1,FR2,CDR2,FR3,CDR3,FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子(包括免疫系统的各种细胞(例如,效应细胞)和经典补系统的第一组分(C1q))结合。

[0044] 如本文所用,术语抗体的“抗原结合部分”或“抗原结合片段”指完整抗体的保留与给定抗原(例如,人氧化型LDL受体(ANGPTL4))特异性结合的能力的一种或多种片段。抗体的抗原结合功能可以通过完整抗体的片段执行。在术语“抗体的抗原结合部分或抗原结合片段”范围内涵盖的结合片段的例子包括Fab片段,一种由V<sub>L</sub>结构域、V<sub>H</sub>结构域、CL结构域和CH1结构域组成的单价片段;F(ab)<sub>2</sub>片段,一种包含由二硫键在铰链区连接的两个Fab片段的双价片段;由V<sub>H</sub>结构域和CH1结构域组成的Fd片段;由抗体单臂的V<sub>L</sub>结构域和V<sub>H</sub>结构域组成的F<sub>v</sub>片段;由V<sub>H</sub>结构域或V<sub>L</sub>结构域组成的单结构域抗体(dAb)片段(Ward等人,1989Nature 341:544-546);和分离的互补决定区(CDR)。

[0045] 另外,虽然F<sub>v</sub>片段的两个结构域V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>由独立基因编码,但是使用重组方法,可以将它们通过能够使这两个结构域作为单条蛋白链产生的人工肽接头连接,在所述单条蛋白

链中VL区和VH区配对以形成单价分子(称作单链Fv(scFv);见例如Bird等人,1988Science 242:423-426;和Huston等人,1988Proc.Natl.Acad.Sci.85:5879-5883)。这类单链抗体包括抗体的一个或多个抗原结合部分或片段。使用本领域技术人员已知的常规技术,获得这些抗体片段,并且按照与完整抗体相同的方式筛选所述片段的用途。

[0046] 也可以将抗原结合片段并入单结构域抗体、大抗体(maxibody)、微型抗体、胞内抗体、双体抗体、三体抗体、四体抗体、v-NAR和双-scFv(参见,例如,Hollinger和Hudson,2005,Nature Biotechnology,23,9,1126-1136)。抗体的抗原结合部分可以移植至基于多肽的支架如纤连蛋白III型(Fn3)中(见美国专利号6,703,199,其描述纤连蛋白多肽单体抗体)。

[0047] 可以将抗原结合片段并入单链分子中,其中所述单链分子包含一对串联Fv区段(VH-CH1-VH-CH1),它们与互补轻链多肽一起形成一对抗原结合区(Zapata等人,1995Protein Eng.8(10):1057-1062;和美国专利号5,641,870)。

[0048] 如本文所用,术语“亲和力”(affinity)指抗体与抗原在单个抗原部位上相互作用的强度。在每一抗原部位中,抗体“臂”的可变区与抗原在许多位点上通过弱的非共价力相互作用;相互作用越多,亲和力越强。如本文所用,术语抗体或其抗原结合片段(例如,Fab片段)的“高亲和力”通常指具有 $10^{-9}$ M或更小KD的抗体或抗原结合片段。

[0049] 术语“氨基酸”指天然存在的和合成的氨基酸,以及以类似于天然存在氨基酸的方式发挥作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些,以及稍后经修饰的那些氨基酸,例如,羟脯氨酸、 $\gamma$ -羧谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物指具有与天然存在氨基酸相同的基本化学结构(即,与氢、羧基、氨基和R基团结合的 $\alpha$ -碳)的化合物,例如,高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基硫鎓。这些类似物具有修饰的R基团(例如,正亮氨酸)或修饰的肽主链,但是保留与天然存在氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物指具有与氨基酸的一般化学结构不同的结构,但是以类似于天然存在氨基酸的方式发挥作用的化学化合物。

[0050] 如本文所用,术语“结合特异性”指独立抗体结合位点仅与一种抗原决定簇反应的能力。

[0051] 短语“特异性(或选择性)结合”抗体(例如,ANGPTL4结合抗体)指决定在蛋白质和其它生物产品的异质群体中存在相关抗原(例如人ANGPTL4或食蟹猴ANGPTL4)的结合反应。短语“识别抗原的抗体”和“对抗原特异的抗体”在本文中与术语“与抗原特异性结合的抗体”可互换使用。

[0052] 术语“ANGPTL4介导的”指以下事实:已知ANGPTL4抑制脂蛋白脂肪酶(LPL)-介导的甘油三酯(TG)清除并因而增加甘油三酯水平。

[0053] 如本文所用的“ANGPTL4相关的病症”、“ANGPTL4相关的病状”或相似术语指任何数目的其中寻求减少ANGPTL4-介导的LPL抑制作用和脂蛋白调节作用的病状或疾病。这些病状包括但不限于涉及脂质代谢的那些,如高脂血症、高脂蛋白血症和血脂异常,包括致粥样硬化性血脂异常、糖尿病血性脂异常、高甘油三酯血症(例如,重度高甘油三酯血症(例如,其中血浆甘油三酯浓度 $>500$ mg/dL)、与肥胖相关的高甘油三酯血症、和V型高甘油三酯血症)、高胆固醇血症、乳糜微粒血症、混合性血脂异常(肥胖症、代谢综合征、糖尿病等)、脂肪营养不良(lipodystrophy)、脂肪萎缩和由例如LPL活性降低和/或LPL缺乏、LDL受体活性降

低和/或LDL受体缺乏、ApoC2改变、ApoE缺乏、ApoB增加、极低密度脂蛋白(VLDL)的产生增加和/或其消除减少、某些药物治疗(例如,糖皮质激素治疗诱导的血脂异常)、任何遗传素质、膳食、生活方式等引起的其他病状。

[0054] 与高脂血症、高脂蛋白血症和/或血脂异常相关或因其产生的其他ANGPTL4相关疾病或病症包括但不限于心血管疾病或病症,如动脉粥样硬化、血管瘤、高血压、心绞痛、卒中、脑血管病、充血性心力衰竭、冠状动脉病、心肌梗死、外周血管疾病等;急性胰腺炎;非酒精性脂肪性肝炎(NASH);血糖紊乱如糖尿病;肥胖症等。

[0055] 术语“嵌合抗体”是这样的抗体分子,其中(a)将恒定区或其部分改变、替换或交换,从而抗原结合位点(可变区)与不同的或改变的类别、效应子功能和/或物种的恒定区或赋予嵌合抗体新性能的完全不同的分子(例如,酶、毒素、激素、生长因子、药物)等连接;或(b)将可变区或其部分用具有不同或改变的抗原特异性的可变区改变、替换或交换。例如,小鼠抗体可以通过将其恒定区更换为来自人免疫球蛋白的恒定区进行修饰。由于更换为人类恒定区,该嵌合抗体可以保留其在识别抗原方面的特异性,同时如与原始小鼠抗体相比,具有在人类中降低的抗原性。

[0056] 术语“保守性修饰的变体”适用于氨基酸序列和核酸序列。就特定的核酸序列,保守性修饰的变体指编码相同或基本上相同的氨基酸序列的那些核酸,或在核酸不编码氨基酸序列的情况下,指基本上相同的序列。因为遗传密码的简并性,大量功能上相同的核酸编码任何给出的蛋白质。例如,密码子GCA、GCC、GCG和GCU均编码氨基酸丙氨酸。因而,在其中丙氨酸由某个密码子指定的每个位置,可以将该密码子变成任一个所述的相应密码子,而不改变编码的多肽。这类核酸变异是“沉默性变异”,它们是一个种类的保守性修饰变异。本文中编码多肽的每个核酸序列也描述了该核酸的每种可能沉默变异。技术人员会认识到,可以修饰核酸中的每个密码子(例外是AUG,它通常是甲硫氨酸的唯一密码子,和TGG,它通常是色氨酸的唯一密码子)以产生功能上相同的分子。因此,编码多肽的核酸的每种沉默性变异隐含于每个描述的序列中。

[0057] 对于多肽序列,“保守性修饰的变体”包括对多肽序列的各个置换、缺失或添加,它们导致某个氨基酸置换为化学上相似的氨基酸。提供功能上相似氨基酸的保守性置换表是本领域熟知的。这类保守性修饰的变体相对于本发明的多态性变体、物种间同源物和等位基因而言是附加的并且不排斥它们。以下8组含有互为保守替换的氨基酸:1) 丙氨酸(A)、甘氨酸(G);2) 天冬氨酸(D)、谷氨酸(E);3) 天冬酰胺(N)、谷氨酰胺(Q);4) 精氨酸(R)、赖氨酸(K);5) 异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、甲硫氨酸(M)、缬氨酸(V);6) 苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)、色氨酸(W);7) 丝氨酸(S)、苏氨酸(T);和8) 半胱氨酸(C)、甲硫氨酸(M)(参阅例如,Creighton, Proteins(1984))。在一些实施方案中,术语“保守序列修饰”用于指不显著影响或改变含有氨基酸序列的抗体的结合特征的氨基酸修饰。

[0058] 术语“表位”意指能够与抗体特异性结合的蛋白质决定簇。表位通常由化学活跃的表面成组分子如氨基酸或糖侧链组成并且通常具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。构象型表位和非构象型表位的区别在于,对前者的结合作用在变性溶剂存在的条件下丧失,而对后者的结合作用不丧失。

[0059] 如本文所用,术语“人抗体”意在包括具有构架和CDR区均从人源序列衍生的可变区的抗体。另外,如果该抗体含有恒定区,该恒定区还衍生自这类人序列,例如,人种系序列

或突变形式的人种系序列。本发明的人抗体可以包括不由人序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。

[0060] “人源化抗体”是一种保留非人类抗体(例如小鼠单克隆抗体)的抗原特异性反应性,同时作为治疗药在人类中施用免疫原性较低的抗体。参见,例如,Robello等人,Transplantation,68:1417-1420。这可以例如通过保留非人类抗原结合区并且抗体的剩余部分替换成它们的人类对应物(即,恒定区以及可变区中不参与结合的部分)来实现。参见,例如Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855,1984;Morrison和Oi,Adv.Immunol.,44:65-92,1989;Verhoeyen等人,Science,239:1534-1536,1988;Padlan,Molec.Immun.,28:489-498,1991;和Padlan,Molec.Immun.,31:169-217,1994。人类工程化技术的其他例子包括但不限于US 5,766,886中公开的Xoma技术。

[0061] 在两个或更多个核酸序列或多肽序列的情境下,术语“同一的”或“同一性百分数”指相同的两个或更多个序列或子序列。如果在比较窗口或指定区域范围内为了最大对应性而比较及比对时,如使用以下序列比较算法之一或通过手工比对和目视检查所测量那样,两个序列具有指定百分数的相同氨基酸残基或核苷酸(即,在指定区域范围内或当未指定时在整个序列范围内60%同一性,任选地65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%同一性),则这两个序列是“基本上同一的”。任选地,同一性存在于长度至少约50个核苷酸(或10个氨基酸)的区域内,或更优选地在长度100到500或1000或更多个核苷酸(或20、50、200或更多个氨基酸)的区域内。

[0062] 对于序列比较,一般地一个序列充当与测试序列比较的参考序列。当使用序列比较算法时,将测试序列和参考序列输入计算机,如果需要,指定子序列坐标,并指定序列算法程序参数。可以使用默认程序参数或可以指定备选参数。基于程序参数,序列比较算法随后相对于参考序列计算测试序列的序列同一性百分数。

[0063] 如本文所用,“比较窗口”包括针对具有任一连续位置数的节段的参考,所述的连续位置数选自20至600、通常约50至约200、更通常约100至约150,其中一个序列可以与具有相同连续位置数的参考序列在最佳比对这两个序列后进行比较。用于比对序列以比较的方法是本领域熟知的。用于比较的最佳序列比对可以按如下方式进行,例如通过Smith和Waterman,(1970)Adv.Appl.Math.2:482c的局部同源性算法、通过Needleman和Wunsch,J.Mol.Biol.48:443,1970的同源性比对算法、通过Pearson和Lipman,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:2444,1988的相似性检索方法、通过这些算法的计算机化执行(Wisconsin Genetics软件包,Genetics Computer Group,575Science Dr.,Madison,WI中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA)或通过手工比对和目视审查(见,例如,Brent等人,(2003)Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons,Inc.(Ringbou编著,2003))。

[0064] 适用于确定序列同一性和序列相似性百分数的两个算法例子是BLAST算法和BLAST 2.0算法,它们分别在Altschul等人,Nuc.Acids Res.25:3389-3402,1977;和Altschul等人,J.Mol.Biol.215:403-410,1990中描述。用于进行BLAST分析的软件是通过国家生物技术信息中心可公开获得的。这种算法涉及首先通过确定查询序列中长度为W的短字,鉴定高评分序列对(HSP),其中与数据库序列中具有相同长度的字比对时,所述短字匹配或满足某些正值阈评分T。将T称作相邻字评分阈值(Altschul等人,上文)。这些初始相

邻字命中充当种子,所述种子用于启动检索以找到含有这些种子的更长HSP。所述字命中在两个方向沿每个序列尽可能远地延伸,只要可以提高累积比对评分。对于核苷酸序列,使用参数M(一对匹配残基的报酬评分;总是 $>0$ )和N(错配残基的惩罚评分;总是 $<0$ )计算累积评分。对于氨基酸序列,使用评分矩阵计算累积评分。字命中在每个方向上的延伸在以下情况时停止:累积比对评分从其最大实现值跌落达量X;累积评分因积累一个或更多负评分残基比对结果而达到或低于零;或抵达两个序列中任一序列的末端。BLAST算法参数W、T和X决定比对的灵敏度和速度。BLASTN程序(对于核苷酸序列)使用字长度(W) 11、期望(E) 10、 $M=5$ 、 $N=-4$ 和两条链的比较作为默认。对于氨基酸序列,BLASTP程序使用字长度3和期望(E) 10,以及BLOSUM62评分矩阵(见Henikoff和Henikoff,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:10915,1989)、比对(B) 50、期望(E) 10、 $M=5$ 、 $N=-4$ 和两条链的比较作为默认。

[0065] BLAST算法也进行两个序列之间相似性的统计分析(见,例如,Karlin和Altschul,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:5873-5787,1993)。由BLAST算法提供的相似性的一种度量是最小总和概率( $P(N)$ ),其提供两个核苷酸序列或氨基酸序列之间的匹配会因偶然发生的概率指示。例如,如果最小总和概率在测试核酸与参考核酸的比较中小于约0.2、更优选小于约0.01并且最优选小于约0.001,则认为核酸相似于参考序列。

[0066] 还可以使用PAM120权重残基表、空位长度罚分12,空位罚分4,利用已经并入ALIGN程序(2.0版)的E.Meyers和W.Miller算法(Comput.Appl.Biosci.,4:11-17,1988)确定两个氨基酸序列之间的同一性百分数。此外,可以使用已经集成至GCG软件包的GAP程序中的Needlema和Wunsch(J.Mol.Biol.48:444-453(1970))算法(在万维网上gcg.com处可获得),使用Blossom 62矩阵或PAM250矩阵和空位权重16、14、12、10、8、6或4和长度权重1、2、3、4、5或6,确定两个氨基酸序列之间的同一性百分数。

[0067] 除上文所示的序列同一性的百分数之外,两个核酸序列或多肽基本上同一的另一个指标是由第一核酸编码的多肽与针对第二核酸编码的多肽所产生的抗体发生免疫杂交反应,如下文描述。因此,在两种肽仅因保守性置换而不同的情况下,一个多肽一般与第二多肽基本上同一。两个核酸序列基本上同一的另一个指标是这两个分子或它们的互补物在严格条件下彼此杂交,如下文描述。两个核酸序列基本上同一的又一个指标是能用相同的引物来扩增该序列。

[0068] 术语“分离的抗体”指一种抗体,它基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体(例如,与ANGPTL4特异性结合的分离抗体基本上不含特异性结合除ANGPTL4之外的抗原的抗体)。然而,特异性结合ANGPTL4的分离抗体可以对其他抗原具有交叉反应性。另外,分离的抗体可以基本上不含其他细胞物质和/或化学品。

[0069] 术语“同种型”指由重链恒定区基因提供的抗体类别(例如,IgM、IgE、IgG如IgG1或IgG4)。同种型还包括这些类别之一的修饰形式,其中已经作出修饰以改变Fc功能,例如,以增强或减少效应子功能或与Fc受体结合。

[0070] 如本文所用,术语“ $K_{\text{assoc}}$ ”或“ $K_a$ ”意指特定抗体-抗原相互作用的结合速率,而如本文所用,术语“ $K_{\text{dis}}$ ”或“ $K_d$ ”意指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。如本文所用,术语“ $K_D$ ”意指解离常数,它从 $K_d$ 对 $K_a$ 的比率(即 $K_d/K_a$ )获得,并且表述为摩尔浓度(M)。可以使用本领域充分建立的方法确定抗体的 $K_D$ 值。用于确定抗体的 $K_D$ 的方法包括使用生物传感器系统如Biacore<sup>®</sup>系统测量表面等离子体共振或通过溶液平衡滴定法(SET)测量溶液中的亲和力。

[0071] 如本文所用,术语“单克隆抗体”或“单克隆抗体组合物”指具有单一分子组成的抗体分子的制备物。一种单克隆抗体组合物对特定表位显示单一结合特异性和亲和力。

[0072] 术语“核酸”在本文中可与术语“多核苷酸”互换使用并且指脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸及其单链形式或双链形式的聚合物。本术语涵盖含有已知的核苷酸类似物或已修饰的主链残基或键的核酸,所述核酸是合成的、天然存在的和非天然存在的,具有与参考核酸相似的结合特性,并且以类似参考核苷酸的方式代谢。这类类似物的例子包括但不限于硫代磷酸酯、磷酰胺酯、甲基膦酸酯、手性-甲基膦酸酯、2'-O-甲基核糖核苷酸、肽核酸(PNA)。

[0073] 除非另外说明,特定核酸序列也内在包括其保守方式修饰的变体(例如简并密码子置换)和互补序列,以及明确指出的序列。具体而言,如下文详述,可以通过产生其中一个或多个选择的(或全部)密码子的第三位置用混合的碱基和/或脱氧肌苷残基置换的序列,实现简并密码子置换(Batzer等人,Nucleic Acid Res.19:5081,1991;Ohtsuka等人,J.Biol.Chem.260:2605-2608,1985;和Rossolini等人,Mol.Cell.Probes 8:91-98,1994)。

[0074] 术语“有效连接”指两个或更多个多核苷酸(例如,DNA)区段之间的功能性关系。一般,本术语指转录调节序列与被转录序列的功能性关系。例如,如果启动子或增强子序列在适宜的宿主细胞或其他表达系统中刺激或调节编码序列的转录,则该启动子或增强子序列与编码序列有效连接。通常,与被转录的序列有效连接的启动子转录调节序列物理地与转录的序列连续,即,它们是顺式作用的。然而,一些转录调节序列(如增强子)不需要物理上与它们所增强转录的编码序列连续或与之紧邻。

[0075] 如本文所用,术语“优化的”意指已经改变核苷酸序列以使用在生产性细胞或生物(通常是真核细胞,例如毕赤酵母属(*Pichia*)细胞、木霉属(*Trichoderma*)细胞、中国仓鼠卵巢细胞(CHO)或人细胞)中为优选的密码子编码氨基酸序列。优化的核苷酸序列经工程化以完全或尽可能保留由起始核苷酸序列最初编码的起始氨基酸序列,也称作“亲本”序列。优化的序列在本文中已经工程化以具有在哺乳动物细胞中为优选的密码子。但是,本文中还可构思这些序列在其他真核细胞或原核细胞中的优化表达。由优化的核苷酸序列编码的氨基酸序列也称作优化的。

[0076] 术语“多肽”和“蛋白质”在此互换地使用来指氨基酸残基的聚合物。这些术语适用于其中一个或多个氨基酸残基是相应的天然存在氨基酸的人造化学模拟物的氨基酸聚合物,以及天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。除非另有指出,特定的多肽序列也隐含地涵盖其保守修饰的变体。

[0077] 如本文所用,术语“重组人抗体”包括通过重组手段制备、表达、产生或分离的全部人抗体,如从就人免疫球蛋白基因而言为转基因或转染色体的动物(例如,小鼠)或从所述动物中制备的杂交瘤分离的抗体,从经转化以表达人抗体的宿主细(例如,从转染瘤)分离的抗体、从重组人抗体组合文库分离的抗体和通过涉及将全部或一部分人免疫球蛋白基因序列剪接成其他DNA序列的任何其他手段制备、表达、产生或分离的抗体。这类重组人抗体具有其中构架区和CDR区从人种系免疫球蛋白序列衍生的可变区。然而,在某些实施方案中,此类重组人抗体可以经历体外诱变(或,使用相对于人Ig序列为转基因的动物时,经历体内体细胞诱变)并且因此重组抗体的V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>区的氨基酸序列是尽管衍生自人种系V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>序列并且与之相关,但可能在体内人抗体种系库内部不天然存在的序列。



[0078] 术语“重组宿主细胞”(或简称为“宿主细胞”)指已经向其引入重组表达载体的细胞。应当理解这类术语不仅意指特定的主题细胞,还意指这种细胞的子代。因为某些修饰可以因突变或环境影响而出现于后续世代中,所以这类子代实际上可以与亲代细胞不完全相同,但仍包含于如本文中所述的术语“宿主细胞”的范围内。

[0079] 术语“受试者”包括人类和非人类动物。非人动物包括全部脊椎动物(例如:哺乳动物和非哺乳动物)如非人灵长类(例如:食蟹猴)、绵羊、犬、奶牛、鸡、两栖类和爬行类。除非指出时,否则术语“患者”或“受试者”在本文中可互换地使用。如本文所用,术语“cyno”或“食蟹猴”指食蟹猴(*Macaca fascicularis*)。

[0080] 如本文所用,术语对任何疾病或病症(例如,ANGPTL4相关病症)的“治疗着”或“治疗”在一个实施方案中指改善该疾病或病症(即,延缓或停滞或减少疾病或其至少一个临床症状的形成)。在另一个实施方案中,“治疗着”或“治疗”指缓和或缓解至少一个身体参数,包括患者可能不可察觉的那些身体参数。在又一个实施方案中,“治疗着”或“治疗”指在身体上(例如,稳定可察觉症状)、生理上(例如,稳定身体参数)或在这两方面调节疾病或病症。在又一个实施方案中,“治疗着”或“治疗”指防止或延迟疾病或病症的发作或形成或进展。

[0081] “防止”在涉及本文所述的适应症(例如包括ANGPTL4相关病症)时,意指防止或减缓如下文描述的例如ANGPTL4相关疾病参数在面临恶化风险的患者中的所述恶化。

[0082] 术语“载体”意指多核苷酸分子,它能够运输已经之连接的另一个多核苷酸。一种类型的载体是“质粒”,其指可以向其中连接额外DNA区段的环状双链DNA环。另一类型的载体是病毒载体,如腺相关病毒病毒载体(AAV或AAV2),其中额外的DNA区段可以连入病毒基因组中。某些载体能够在导入了它们的宿主细胞中自主复制(例如,具有细菌复制起点的细菌载体和附加体型哺乳动物载体)。其他载体(例如非附加体型哺乳动物载体)可以在导入宿主细胞时整合到该宿主细胞的基因组中,并因而随宿主基因组一起复制。另外,某些载体能够指导与它们有效连接的基因表达。此类载体在本文中称作“重组表达载体”(或简单地称作,“表达载体”)。通常,重组DNA技术中使用的表达载体经常处于质粒形式。在本说明书中,“质粒”和“载体”可以互换地使用,因为质粒是最常用形式的载体。然而,本发明意在包括起到同等功能的其他形式的表达载体,如病毒载体(例如,复制缺陷型逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒)。

[0083] 附图简述

[0084] 图1A-1D描述了通过本发明的所选ANGPTL4抗体逆转ANGPTL4介导对人脂蛋白脂肪酶(LPL)蛋白的抑制。

[0085] 图2描述了本发明的所选抗体与全长人ANGPTL4和人ANGPTL4 N末端卷曲螺旋结构域的结合和不存在与人全长ANGPTL3结合。ANGPTL3 Ab=ANGPTL3特异性参考抗体。

[0086] 图3A-3B描述了在施用本发明的所选ANGPTL4抗体后人ANGPTL4转基因小鼠中血浆甘油三酯水平的变化。

[0087] 图4描述了在施用本发明的一种ANGPTL4抗体(NEG276-LALA)后肥胖的糖尿病食蟹猴中的血浆总人抗体浓度。

[0088] 图5描述了在施用本发明的一种ANGPTL4抗体(NEG276-LALA)后肥胖的糖尿病食蟹猴中血浆甘油三酯(TG)浓度的变化。

[0089] 图6描述了在施用本发明的一种ANGPTL4抗体 (NEG276-LALA) 后肥胖的糖尿病食蟹猴中血浆总胆固醇浓度的变化。

[0090] 图7描述了在施用本发明的一种ANGPTL4抗体 (NEG276-LALA) 后肥胖的糖尿病食蟹猴中血浆高密度脂蛋白 (HDL) 浓度的变化。

[0091] 图8描述了在施用本发明的一种ANGPTL4抗体 (NEG276-LALA) 后肥胖的糖尿病食蟹猴中血浆总载脂蛋白B (ApoB) 浓度的变化。

[0092] 图9描述了在施用本发明的一种ANGPTL4抗体 (NEG276-LALA) 后肥胖的糖尿病食蟹猴中血浆载脂蛋白C-III (ApoC-III) 浓度的变化。

[0093] 图10描述了在施用本发明的一种ANGPTL4抗体后如通过快速蛋白质液相色谱 (FPLC) 分离血浆脂蛋白所评估的血浆脂蛋白相关胆固醇水平的变化。显示来自一只猴的数据 (NEG276-LALA, 猴#6296)。缩写:TRL, 甘油三酯丰富的脂蛋白;LDL, 低密度脂蛋白;HDL, 高密度脂蛋白。

[0094] 图11描述了在施用本发明的一种ANGPTL4抗体后如通过快速蛋白质液相色谱 (FPLC) 分离血浆脂蛋白所评估的血浆脂蛋白相关甘油三酯 (TG) 水平的变化。显示了来自一只猴的数据 (NEG276-LALA, 猴#6296)。缩写:TRL, 甘油三酯丰富的脂蛋白;LDL, 低密度脂蛋白;HDL, 高密度脂蛋白。

[0095] 详细描述

[0096] 本发明部分地基于发现与ANGPTL4特异性结合并抑制其生物学活性的抗体分子。本发明涉及完整IgG样抗体 (例如, 人源化抗体NEG276、NEG276-LALA、NEG278、NEG310、NEG313、NEG315、NEG318、NEG319) 以及其抗原结合片段, 如Fab片段。

[0097] 因此, 本发明提供与ANGPTL4 (例如, 人ANGPTL4) 特异性结合的抗体、药物组合物、产生方法和使用这类抗体和组合物的方法。

[0098] ANGPTL4蛋白

[0099] 本发明提供与ANGPTL4特异性结合并抑制其生物学活性 (包括激活脂蛋白脂肪酶 (LPL) 的能力) 的抗体分子。相反, 血管生成素样蛋白4 (ANGPTL4) 是分泌型蛋白的血管生成素家族的成员。它是由多个细胞类型 (包括巨噬细胞、脂肪细胞、肌肉细胞和肝脏细胞) 表达的同型寡聚蛋白, 能够形成二聚体和四聚体。ANGPTL4也称作肝纤维蛋白原/血管生成素相关蛋白 (HFARP) (Kim等人, (2000) Biochem. J. 346:603-610); PPAR  $\gamma$  血管生成素相关蛋白 (PGAR) (Yoon等人 (2000) Mol. Cell Biol., 20:5343-5349) 和禁食诱导的脂肪因子 (FIAF) (Kerten等人, (2000) J. Biol. Chem., 275:28488-28493)。ANGPTL4含有一个N末端卷曲螺旋结构域和一个C末端纤维蛋白原 (FBN) 样结构域 (Kim等人 (2000) Biochem. J. 346:603-610)。

[0100] 脂蛋白脂肪酶 (LPL) 在脂蛋白代谢中具有维持血液中的正常脂蛋白水平和通过其活性的组织特异性调节作用而决定何时和在何种组织中卸载甘油三酯 (TG) 的核心作用。已知ANGPTL4的卷曲螺旋区抑制脂蛋白脂肪酶 (LPL) -介导的甘油三酯 (TG) 清除。因此, 观察到ANGPTL4功能丧失型突变 (例如, 如人类受试者中所见)、遗传缺失 (例如, 如转基因小鼠中所见), 和抗体抑制作用 (例如, 如小鼠和食蟹猴中所见) 均减少血浆甘油三酯。另外, 还已知ANGPTL4抗体激活LPL。相反, 向小鼠中注射ANGPTL4导致循环型甘油三酯快速增加并且这是比注射血管生成素样蛋白3 (ANGPTL3) 更高的速率 (Yoshida等人, (2002) J Lipid Res 43: 1770-1772)。

[0101] 本发明中所述的抗ANGPTL4抗体和抗原结合片段启动、促进或增强LPL激活,例如,通过阻断ANGPTL4对LPL的抑制,因而减少血浆甘油三酯做到。这些抗体预计防止和改善以甘油三酯水平升高为特征的疾病(例如,原发性血脂异常、高甘油三酯血症、代谢综合征、II型糖尿病等)的急性和慢性表现。

[0102] 本发明中所述的抗ANGPTL4抗体和抗原结合片段启动、促进或增强LPL激活,例如,通过阻断ANGPTL4对LPL的抑制,因而减少血浆甘油三酯做到。这些抗体预计防止和改善以甘油三酯水平升高为特征的疾病(例如,原发性血脂异常、高甘油三酯血症、代谢综合征、II型糖尿病等)的急性和慢性表现。

[0103] ANGPTL4抗体和抗原结合片段

[0104] 本发明提供与ANGPTL4特异性结合的抗体。在一些实施方案中,本发明提供与人ANGPTL4和食蟹猴ANGPTL4特异性结合的抗体。本发明的抗体包括但不限于如实施例所述的分离的人源化抗体和Fab。

[0105] 本发明提供特异性结合ANGPTL4蛋白(例如,人ANGPTL4和食蟹猴ANGPTL4)的抗体,其中抗体包含具有SEQ ID NO:13、38、58、78、98、118和138的氨基酸序列的VH结构域。本发明还提供与ANGPTL4蛋白特异性结合的抗体,其中抗体包含具有本文下表1中所列出任一个VH CDR的氨基酸序列的VH CDR。特别地,本发明提供与ANGPTL4蛋白(例如,人ANGPTL4和食蟹猴ANGPTL4)特异性结合的抗体,其中抗体包含具有本文下表1中所列任意个VH CDR的氨基酸序列的一个、两个、三个或更多个VH CDR(或备选地,由其组成)。

[0106] 本发明提供与ANGPTL4蛋白特异性结合的抗体,所述抗体包含具有SEQ ID NO:23、48、68、88、108、128和148的氨基酸序列的VL结构域。本发明还提供与ANGPTL4蛋白(例如,人ANGPTL4和食蟹猴ANGPTL4)特异性结合的抗体,所述抗体包含具有本文下表2中所列出任一个VL CDR的氨基酸序列的VL CDR。特别地,本发明提供与ANGPTL4蛋白(例如,人ANGPTL4和食蟹猴ANGPTL4)特异性结合的抗体,所述抗体包含具有本文下表1中所列任意个VL CDR的氨基酸序列的一个、两个、三个或更多个VL CDR(或备选地,由其组成)。

[0107] 本发明的其他抗体包含已经被突变,然而在CDR区内具有与表1中所述序列描述的CDR区至少60%、70%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸。在一些实施方案中,它包括这样的突变氨基酸序列,其中与表1所述序列中描述的CDR区相比时,已经在CDR区中突变了不多于1、2、3、4或5个氨基酸。

[0108] 本发明还提供了编码与ANGPTL4蛋白(例如,人ANGPTL4和食蟹猴ANGPTL4)特异性结合的抗体的VH、VL、全长重链和全长轻链的核酸序列。可以优化这些核酸序列以在哺乳动物细胞中表达(例如,表1显示本发明抗体的重链和轻链的优化核酸序列)。

[0109] 表1. ANGPTL4抗体、Fab和ANGPTL4蛋白的例子

[0110]

序列描述	序列标识符 (SEQ ID NO.)	氨基酸或多核苷酸序列
人 ANGPTL4 氨基酸序列 (NCBI 参考序列 : NM_139314.2)	1	MSGAPTAGAALMLCAATAVLLSAQGGPVQSKSPRFASWDEMNVLAHG LLQLGQGLREHAERTRSQLSALERRLSACGSACQGTEGSTDLPLAPE SRVDPEVLHSLQTQLKAQNSRIQQLFHKVAQQQRHLEKQHLRIQHLQ SQFGLLDHKHLDHEVAKPARRKRLPEMAQPVDPAHNVSRLHRLPRDC QELFQVGERQSGLFEIQPGSPFLVNCKMTSDGGWTVIQRHDGSV DFNRPWEAYKAGFGDPHGEFWLGLEKVHSITGDRNSRLAVQLRDWDG NAELLQFSVHLGGEDTAYSLQLTAPVAGQLGATTVPSPGLSVPFSTW DQDHDLRDRDKNCAKSLSGGWFGTCSHSNLNGQYFRSIPQQRQKLKK GIFWKTRGRYYPLQATTMLIQPMAAEAAS
人 ANGPTL4 核酸序列 (NCBI 参 考 NM_139314.2)	2	ATGAGCGGTGCTCCGACGGCCGGGGCAGCCCTGATGCTCTGCGCCGC CACCGCCGTGCTACTGAGCGCTCAGGGCGGACCCGTGCAGTCCAAGT CGCCGCGCTTTGCGTCCTGGGACGAGATGAATGTCCTGGCGCACGGA CTCCTGCAGCTCGGCCAGGGGCTGCGCGAACACGCGGAGCGCACCCG CAGTCAGCTGAGCGCGCTGGAGCGGCGCCTGAGCGCGTGCGGGTCCG

[0111]

		<p>CCTGTCAGGGAACCGAGGGGTCCACCGACCTCCCCTTAGCCCCCTGAG  AGCCGGGTGGACCTGAGGTCCTTCACAGCCTGCAGACACAACCTCAA  GGCTCAGAACAGCAGGATCCAGCAACTCTTCCACAAGGTGGCCCAGC  AGCAGCGGCACCTGGAGAAGCAGCACCTGCGAATTACAGCATCTGCAA  AGCCAGTTTGGCCTCCTGGACCACAAGCACCTAGACCATGAGGTGGC  CAAGCCTGCCCCAAGAAAGAGGCTGCCCCGAGATGGCCCAGCCAGTTG  ACCCGGCTCACAATGTCAGCCGCTGCACCGGCTGCCAGGGATTGC  CAGGAGCTGTTCCAGGTTGGGGAGAGGCAGAGTGGACTATTTGAAAT  CCAGCCTCAGGGGTCTCCGCCATTTTGGTGAAGTGAAGATGACCT  CAGATGGAGGCTGGACAGTAATTCAGAGGCGCCACGATGGCTCAGTG  GACTTCAACCGGCCCTGGGAAGCCTACAAGCGGGGTTTGGGGATCC  CCACGGCGAGTTCTGGCTGGGTCTGGAGAAGGTGCATAGCATCACGG  GGGACCGCAACAGCCGCTGGCCGTGCAGCTGCGGGACTGGGATGGC  AACGCCGAGTTGCTGCAGTTCTCCGTGCACCTGGGTGGCGAGGACAC  GGCCTATAGCCTGCAGCTCACTGCACCCGTGGCCGGCCAGCTGGGCG  CCACCACCGTCCCACCCAGCGGCTCTCCGTACCCTTCTCCACTTGG  GACCAGGATCACGACCTCCGCAGGGACAAGAACTGCGCCAAGAGCCT  CTCTGGAGGCTGGTGGTTTGGCACCTGCAGCCATTCCAACCTCAACG  GCCAGTACTTCCGCTCCATCCCACAGCAGCGGCAGAACTTAAGAAG  GGAATCTTCTGGAAGACCTGGCGGGGCCGCTACTACCCGCTGCAGGC  CACCACCATGTTGATCCAGCCCATGGCAGCAGAGGCAGCCTCCTAGC  GTC</p>
食蟹猴 ANGPTL4 (氨基酸 序列)	3	<p>MRGAPTAGAALMLCVATAVLLRAQGGPVQSKSPRFASWDEMNVLAHG  LLQLGQGLREHAERTRSQLNALERRLSACGSACQGTGSTALPLAPE  SRVDPEVLHSLQTQLKAQNSRIQQLFHKVAQQQRHLEKQHLRIQRLQ  SQVGLLDPKHLDEHAVKPARRRPEMAQPVDSAHNASRLHRLPRDC  QELFEDGERQSGLFEIQPGSPFVLNCKMTSDGGWTVIQRHDSV  DFNRPWEAYKAGFGDPQGEFWLGLEKVHSITGDRNSRLAVQLQDWDG  NAESLQFSVHLGGEDTAYSLQLTEPVASQLGATTVPSPGLSVPFSTW  DQDHLRLDKNCAKSLSGGWFGTCSHSLNNGQYFRSIPQQRQELKK  GIFWKTWRGRYYPLQATTMLIQPTAAEAAS</p>
食蟹猴 ANGPTL4 (核酸序 列)	4	<p>ATGCGCGGTGCTCCGACGGCCGGAGCAGCCCTGATGCTCTGCGTCGC  CACGGCCGTGCTGCTGAGAGCTCAGGGCGGCCCGGTGCAGTCCAAGT  CTCCGCGCTTTGCGTCCTGGGACGAGATGAATGTCCTGGCGCACGGA  CTCCTGCAGCTAGGCCAGGGGCTGCGCGAACACGCGGAGCGCACCCG  CAGTCAGCTGAACGCGCTGGAGCGGCGCCTCAGCGCTTGCGGGTCTG  CCTGCCAGGGAACCGAGGGGTCCACCGCCCTCCCCTTAGCCCCCTGAG  AGCCGGGTGGACCTGAGGTCCTTCACAGCCTGCAGACACAACCTCAA  GGCTCAGAACAGCAGGATCCAGCAACTCTTCCACAAGGTGGCCCAGC  AGCAGCGGCACCTGGAGAAGCAGCACCTGCGAATTACAGCGTCTGCAA  AGCCAGGTTGGCCTCCTGGACCCCAAGCACCTAGACCATGAGGTGGC  CAAGCCTGCCCCAAGAAAGAGGCGGCCCGAGATGGCCCAGCCAGTTG  ACTCGGCTCACAATGCCAGCCGCTGCACCGGCTGCCAGGGATTGC  CAGGAGCTGTTGAAGATGGGGAGAGGCAGAGTGGACTATTTGAGAT  CCAGCCTCAGGGGTCTCCGCCATTTTGGTGAAGTGAAGATGACCT</p>

[0112]

		<p>CAGATGGAGGCTGGACAGTAATTCAGAGGCGCCACGATGGCTCTGTG  GACTTCAACCGGCCCTGGGAAGCCTACAAGCGGGGTTTGGGGATCC  CCAAGGCGAGTTCTGGCTGGGCCTGGAGAAGGTGCATAGCATCACAG  GGGACCGCAACAGCCGCTGGCCGTGCAGCTGCAGGACTGGGATGGC  AACGCCGAGTCGCTGCAGTTCTCTGTGCACCTGGGTGGCGAGGACAC  GGCTTACAGCCTGCAGCTCACCAGCCCGTGGCCAGCCAGTTGGGTG  CCACCACCGTCCCGCCTAGCGGCCTCTCCGTACCCTTCTCCACTTGG  GACCAGGATCACGACCTCCGCAGGGACAAGAACTGCGCCAAGAGCCT  CTCTGGAGGCTGGTGGTTTGGCACCTGCAGCCATTCCAACCTCAATG  GCCAGTACTTCCGCTCCATCCCACAGCAGCGGCAGGAGCTTAAGAAA  GGAATCTTCTGGAAGACCTGGCGGGGCCGCTACTACCCGCTGCAGGC  CACCACCATGTTGATCCAGCCCACGGCGGCAGAGGCAGCCTCCTAG</p>
人 ANGPTL3 氨基酸序列 (NCBI 参 考 NM_014495.3)	5	<p>MFTIKLLLFIVPLVISSRIDQDNSSFDSLSPEPKSRFAMLDDEVKILA  NGLLQLHGLKDFVHKTKGQINDIFQKLNIFDQSFYDLSLQTSIKE  EEKELRRRTTYKLQVKNEEVKNMSLELNSKLESLEEKILLQQKVLYL  EEQLTNLIQNQPETPEHPEVTSKTFVEKQDNSIKDLLQTVEDQYKQ  LNQQHSIQIKEIENQLRRTSIQEPTEISLSSKPRAPRTTFFLQLNEIR  NVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPW  TLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQSNY  VLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNETNYTLHLVAITGNVPAIPEN  KDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWVHDECENNLNGKYNKPRAK  SKPERRRLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESE</p>
人 ANGPTL3 核酸序列 (NCBI 参 考 NM_014495.3)	6	<p>ATGTTTCAACAATTAAGCTCCTTCTTTTATTGTTCTCTAGTTATTTTC  CTCCAGAATTGATCAAGACAATTCATCATTTGATTCTCTATCTCCAG  AGCCAAAATCAAGATTGCTATGTTAGACGATGTAAAAATTTTAGCC  AATGGCCTCCTTCAGTTGGGACATGGTCTTAAAGACTTTGTCCATAA  GACGAAGGGCCAAATTAATGACATATTTCAAAAACCAACATATTTG  ATCAGTCTTTTTATGATCTATCGCTGCAAACAGTGAAATCAAAGAA  GAAGAAAAGGAAGTGAAGAAGTACATATAAACTACAAGTCAAAAA  TGAAGAGGTAAAGAATATGTCACTTGAAGTCAACTCAAACTTGAAA  GCCTCCTAGAAGAAAAAATCTACTTCAACAAAAAGTGAAATATTTA  GAAGAGCAACTAACTAACTTAATTCAAAATCAACCTGAAACTCCAGA  ACACCCAGAAGTAACTTCACTTAAACTTTTGTAGAAAAACAAGATA  ATAGCATCAAAGACCTTCTCCAGACCGTGAAGACCAATATAAACAA  TTAAACCAACAGCATAGTCAAATAAAAGAAATAGAAAATCAGCTCAG  AAGGACTAGTATTCAAGAACCACAGAAATTTCTCTATCTTCCAAGC  CAAGAGCACCAAGAACTACTCCCTTTCTTCAGTTGAATGAAATAAGA  AATGTAAAACATGATGGCATTCTGCTGAATGTACCACCATTTTATAA  CAGAGGTGAACATACAAGTGGCATGTATGCCATCAGACCCAGCAACT  CTCAAGTTTTTCATGTCTACTGTGATGTTATATCAGGTAGTCCATGG  ACATTAATTCAACATCGAATAGATGGATCACAAAACCTCAATGAAAC  GTGGGAGAACTACAAATATGGTTTTGGGAGGCTTGATGGAGAATTTT  GGTTGGGCTAGAGAAGATATACTCCATAGTGAAGCAATCTAATTAT  GTTTTACGAATTGAGTTGGAAGACTGGAAGACAACAAACATTATAT  TGAATATTCTTTTACTTGGGAAATCACGAAACCAACTATACGCTAC</p>

[0113]

		ATCTAGTTGCGATTACTGGCAATGTCCCCAATGCAATCCCGGAAAAAC AAAGATTTGGTGTCTTCTACTTGGGATCACAAAGCAAAGGACACTT CAACTGTCCAGAGGTTATTTCAGGAGGCTGGTGGTGGCATGATGAGT GTGGAGAAAACAACCTAAATGGTAAATATAACAAACCAAGAGCAAAA TCTAAGCCAGAGAGGAGAAGAGGATTATCTTGAAGTCTCAAAATGG AAGGTTATACTCTATAAAATCAACCAAAATGTTGATCCATCCAACAG ATTTCAGAAAGCTTTGAA
<b>NEG276</b>		
HCDR1 (Kabat)	7	SSWMQ
HCDR2 (Kabat)	8	EIDPSDNYANYNQKFQG
HCDR3 (Kabat)	9	GSYFSNFFDY
HCDR1 (Chothia)	10	AYTFTSS
HCDR2 (Chothia)	11	DPSDNY
HCDR3 (Chothia)	12	GSYFSNFFDY
VH	13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASAYTFTSSWMQWVRQAPQGLEW MGEIDPSDNYANYNQKFQGRVTLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVY YCASGSYFSNFFDYWGQGLTVTVSS
编码 VH 的 DNA	14	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGC CAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCAGCGCCTACACCTTTACCAGCA GCTGGATGCAGTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAATGG ATGGGCGAGATCGACCCAGCGACAACCTACGCCAACAACAACAGAA ATTCCAGGGCAGAGTGACCCCTGACCGTGGACACCAGCACCTCCACCG CCTACATGGAACCTGAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTAC TATTGTGCCAGCGGAGCTACTTCAGCAACTTCTTCGACTACTGGGG CCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGTCATCT
重链	15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASAYTFTSSWMQWVRQAPQGLEW MGEIDPSDNYANYNQKFQGRVTLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVY YCASGSYFSNFFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
编码重链的 DNA	16	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGC CAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCAGCGCCTACACCTTTACCAGCA GCTGGATGCAGTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAATGG ATGGGCGAGATCGACCCAGCGACAACCTACGCCAACAACAACAGAA ATTCCAGGGCAGAGTGACCCCTGACCGTGGACACCAGCACCTCCACCG CCTACATGGAACCTGAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTAC TATTGTGCCAGCGGAGCTACTTCAGCAACTTCTTCGACTACTGGGG CCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGTCATCTGCTAGCACCAAGGGCCCCA GCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACA

[0114]

		GCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGAC CGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTG ACAGTGGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCA AGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCAGCCCCAGAG CTGCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCTGTTCCTCCCCCAAGCCCAAGGA CACCTGATGATCAGCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGG ACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTA CAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGG ACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGAAGGTCTCCAACAAGGCC CTGCCAGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCC ACGGGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTCCCGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCC AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCAGAAACAA CTACAAGACCACCCCCCAGTGTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCC TGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAAC GTGTTACAGCTGCAGCGTATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC CCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGGCAAG
LCDR1 (Kabat)	17	KASQDIGSNLN
LCDR2 (Kabat)	18	AVSNRGP
LCDR3 (Kabat)	19	LQYASSPWT
LCDR1 (Chothia)	20	SQDIGSN
LCDR2 (Chothia)	21	AVS
LCDR3 (Chothia)	32	YASSPW
VL	23	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQDIGSNLNLWLQKPGQAPRRL IYAVSNRGPPIPARFSGSRSGSEYTLTISLQSEDFAVYYCLQYASS PWTFGQGTKVEIK
编码 VL 的 DNA	24	GAGATCGTGATGACACAGAGCCCCGCCACCCTGTCCGTGTCTCCAGG CGAAAGAGCCACCCTGAGCTGCAAAGCCAGCCAGGACATCGGCAGCA ACCTGAACTGGCTGCAGCAGAAACCAGGCCAGGCCCCAGAAGGCTG ATCTACGCTGTTTCCAACCGTGGTCCTGGCATCCCCGCCAGATTTTC CGGCAGCAGATCCGGCAGCGAGTACACCCTGACCATCAGCAGCCTGC AGAGCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCTGCAGTACGCCAGCAGC CCCTGGACATTTGGCCAGGGCACCAAGGTGAAATCAAG
轻链	25	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQDIGSNLNLWLQKPGQAPRRL IYAVSNRGPPIPARFSGSRSGSEYTLTISLQSEDFAVYYCLQYASS PWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
编码轻链的 DNA	26	GAGATCGTGATGACACAGAGCCCCGCCACCCTGTCCGTGTCTCCAGG CGAAAGAGCCACCCTGAGCTGCAAAGCCAGCCAGGACATCGGCAGCA ACCTGAACTGGCTGCAGCAGAAACCAGGCCAGGCCCCAGAAGGCTG ATCTACGCTGTTTCCAACCGTGGTCCTGGCATCCCCGCCAGATTTTC



[0115]

		CGGCAGCAGATCCGGCAGCGAGTACACCCTGACCATCAGCAGCCTGC AGAGCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCTGCAGTACGCCAGCAGC CCCTGGACATTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGT GGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGA AGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCC CGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGG CAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC CGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
<b>NEG276-LALA</b>		
HCDR1 (Kabat)	7	SSWMQ
HCDR2 (Kabat)	8	EIDPSDNYANYNQKFQG
HCDR3 (Kabat)	9	GSYFSNFFDY
HCDR1 (Chothia)	10	AYTFTSS
HCDR2 (Chothia)	11	DPSDNY
HCDR3 (Chothia)	12	GSYFSNFFDY
VH	13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASAYTFTSSWMQWVRQAPGQGLEW MGEIDPSDNYANYNQKFQGRVTLTVDSTSTAYMELSSLRSEDYAVY YCASGSYFSNFFDYWGQGLTVTVSS
编码 VH 的 DNA	27	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCGGCGC TAGTGTGAAAGTCAGCTGTAAAGCTAGTGCCTACACCTTCACCTCTA GCTGGATGCAGTGGGTGAGACAGGCCCCAGGTGAGGCGCTGGAGTGG ATGGGCGAGATCGACCCTAGCGATAACTACGCTAACTATAATCAGAA GTTTCAGGGTAGAGTCACCCTGACCGTGGACACTAGCACTAGCACCG CCTATATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCGCTCTAC TACTGCGCTAGTGGTAGCTACTTCTCTAACTTCTTCGACTACTGGGG TCAGGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTAGC
重链	28	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASAYTFTSSWMQWVRQAPGQGLEW MGEIDPSDNYANYNQKFQGRVTLTVDSTSTAYMELSSLRSEDYAVY YCASGSYFSNFFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTCTPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
编码重链的 DNA	29	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCGGCGC TAGTGTGAAAGTCAGCTGTAAAGCTAGTGCCTACACCTTCACCTCTA GCTGGATGCAGTGGGTGAGACAGGCCCCAGGTGAGGCGCTGGAGTGG ATGGGCGAGATCGACCCTAGCGATAACTACGCTAACTATAATCAGAA GTTTCAGGGTAGAGTCACCCTGACCGTGGACACTAGCACTAGCACCG CCTATATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCGCTCTAC

[0116]

		TACTGCGCTAGTGGTAGCTACTTCTCTAACTTCTTCGACTACTGGGG TCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCCCT CCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTCCAGCAAGTCTACCTCCGGCGGCACA GCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGAC AGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGACACCTTCC CTGCCGTGCTGCAGTCCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTGGTC ACAGTGCCTTCAAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGT GAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGCGGTGGAGCCTA AGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCCTGCCCTGCTCTCTGAA GCTGCTGGCGGCCCTTCTGTGTTCTGTCCCTCCAAAGCCCAAGGA CACCTGATGATCTCCCGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGG ACGTGTCCACGAGGATCCTGAAGTGAAGTCAATTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTA CAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGACACAGG ACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCC CTGCCTGCCCTATCGAAAAGACAATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCC TAGGGAACCCAGGTGTACACCCTGCCACCCAGCCGGGAGGAAATGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCTT TCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAACGGCCAGCCTGAGAACAA CTACAAGACCACCCCTCTCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCC TGTACTCCAACCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAAC GTGTTCTCTGTCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC CCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAG
LCDR1 (Kabat)	17	KASQDIGSNLN
LCDR2 (Kabat)	18	AVSNRGP
LCDR3 (Kabat)	19	LQYASSPWT
LCDR1 (Chothia)	20	SQDIGSN
LCDR2 (Chothia)	21	AVS
LCDR3 (Chothia)	22	YASSPW
VL	23	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQDIGSNLNWLQKPGQAPRRL IYAVSNRGPPIPARFSGSRSGSEYTLTISSLQSEDFAVYYCLQYASS PWTFGQGTKVEIK
编码 VL 的 DNA	30	GAGATCGTGATGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCGTCAGCCCTGG CGAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAAGCCTCTCAGGATATCGGCTCTA ACCTGAACTGGCTGCAGCAGAAGCCCGGTGAGGCCCTAGACGGCTG ATCTACGCCGTGTCTAATAGAGGCCCCGGAATCCCCGCTAGGTTTAG CGGCTCTAGGTGAGGTTGAGAGTACACCCTGACTATCTCTAGCCTGC AGTCAGAGGACTTCGCCGTCTACTACTGCCTGCAGTACGCCTCTAGC CCCTGGACCTTCGGTCAGGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
轻链	25	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQDIGSNLNWLQKPGQAPRRL IYAVSNRGPPIPARFSGSRSGSEYTLTISSLQSEDFAVYYCLQYASS PWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
编码轻链的 DNA	31	GAGATCGTGATGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCGTCAGCCCTGG

[0117]

		CGAGCGGGCTACACTGAGCTGTAAAGCCTCTCAGGATATCGGCTCTA ACCTGAACTGGCTGCAGCAGAAGCCCGGTGAGGCCCTAGACGGCTG ATCTACGCCGTGTCTAATAGAGGCCCCGGAATCCCCGCTAGGTTTAG CGGCTCTAGGTGAGGTTGAGAGTACACCCTGACTATCTCTAGCCTGC AGTCAGAGGACTTCGCCGTCTACTACTGCCTGCAGTACGCCTCTAGC CCCTGGACCTTCGGTCAGGGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGT GGCCGCTCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACAGCAGCTGA AGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCC CGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGG CAACAGCCAGGAGAGCGTCAACGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC CGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
<b>NEG278</b>		
HCDR1 (Kabat)	32	SSWMQ
HCDR2 (Kabat)	33	EIDPSDNYANYNQKEQG
HCDR3 (Kabat)	34	GSYFSNFFDY
HCDR1 (Chothia)	35	AYTFTSS
HCDR2 (Chothia)	36	DPSDNY
HCDR3 (Chothia)	37	GSYFSNFFDY
VH	38	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASAYTFTSSWMQWVRQAPGQGLEW MGEIDPSDNYANYNQKFQGRVTLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVY YCASGSYFSNFFDYWGQGLTVTVSS
编码 VH 的 DNA	39	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGC CAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCAGCGCTACACCTTTACCAGCA GCTGGATGCAGTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAATGG ATGGGCGAGATCGACCCAGCGACAACACGCAACTACAACCAGAA ATTCCAGGGCAGAGTGACCCTGACCGTGGACACCAGCACCTCCACCG CCTACATGGAACCTGAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTAC TATTGTGCCAGCGGAGCTACTTCAGCAACTTCTTCGACTACTGGGG CCAGGGCACCTCGTGACCGTGTCTATCT
重链	40	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASAYTFTSSWMQWVRQAPGQGLEW MGEIDPSDNYANYNQKFQGRVTLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVY YCASGSYFSNFFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTCPCPAPAE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
编码重链的 DNA	41	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGC CAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCAGCGCTACACCTTTACCAGCA GCTGGATGCAGTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAATGG

[0118]

		ATGGGCGAGATCGACCCAGCGACAACCTACGCCAACTACAACCAGAA ATTCCAGGGCAGAGTGACCCTGACCGTGGACACCAGCACCTCCACCG CCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTAC TATTGTGCCAGCGGCAGCTACTTCAGCAACTTCTTCGACTACTGGGG CCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGTCTGTAGCACCAGGGCCCCA GCGTGTTCCTCCCTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACA GCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGAC CGTGTCTTGGAAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTG ACAGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCA AGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCAGCCCCAGAG CTGCTGGGCGGACCCCTCCGTGTCTGTTCCTCCCAAGCCCAAGGA CACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGG ACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTA CAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGG ACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGAAGGTCTCCAACAAGGCC CTGCCAGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCC ACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTCCCGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCC AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACA CTACAAGACCACCCCCCAGTGTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCC TGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAAC GTGTTACAGTGCAGCGTGTATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC CCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCGGCAAG
LCDR1 (Kabat)	42	KASQDIGSNLN
LCDR2 (Kabat)	43	AASVREP
LCDR3 (Kabat)	44	LQYASSPWT
LCDR1 (Chothia)	45	SQDIGSN
LCDR2 (Chothia)	46	AAS
LCDR3 (Chothia)	47	YASSPW
VL	48	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQDIGSNLNLWLQKPGQAPRRL IYAASVREPGIPARFSGSRSGSEYTLTISLQSEDFAVYYCLQYASS PWTFGQGTKVEIK
编码 VL 的 DNA	49	GAGATCGTGATGACACAGAGCCCCGCCACCCTGTCCGTGTCTCCAGG CGAAAGAGCCACCCTGAGCTGCAAAGCCAGCCAGGACATCGGCAGCA ACCTGAACTGGCTGCAGCAGAAACCAGGCCAGGCCCCAGAAGGCTG ATCTACGCTGCTTCCGTCCGTGAGCCTGGCATCCCCGCCAGATTTTC CGGCAGCAGATCCGGCAGCGAGTACACCCTGACCATCAGCAGCCTGC AGAGCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCTGCAGTACGCCAGCAGC CCCTGGACATTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAG
轻链	50	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQDIGSNLNLWLQKPGQAPRRL IYAASVREPGIPARFSGSRSGSEYTLTISLQSEDFAVYYCLQYASS PWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP

[0119]

		REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
编码轻链的 DNA	51	GAGATCGTGATGACACAGAGCCCCGCCACCCTGTCCGTGTCTCCAGG CGAAAGAGCCACCCTGAGCTGCAAAGCCAGCCAGGACATCGGCAGCA ACCTGAACTGGCTGCAGCAGAAACCAGGCCAGGCCCCCAGAAGGCTG ATCTACGCTGCTTCCGTCCGTGAGCCTGGCATCCCCGCCAGATTTTC CGGCAGCAGATCCGGCAGCGAGTACACCCTGACCATCAGCAGCCTGC AGAGCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCTGCAGTACGCCAGCAGC CCCTGGACATTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGT GGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGA AGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGTGAACAACCTTCTACCCC CGGGAGGCCAAGGTGAGTGGAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGG CAACAGCCAGGAGAGCGTCAACGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC CGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
<b>NEG310</b>		
HCDR1 (Kabat)	52	SYTMH
HCDR2 (Kabat)	53	YINPSSGYTKYNQKFQG
HCDR3 (Kabat)	54	GWLLLAMDY
HCDR1 (Chothia)	55	GYTFTSY
HCDR2 (Chothia)	56	NPSSGY
HCDR3 (Chothia)	57	GWLLLAMDY
VH	58	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYTMHWVRQAPGQGLEW MGYINPSSGYTKYNQKFQGRVTMTADKSTSTAYMELSSLRSEDYAVY YCAEGWLLLAMDYWGQGLTVTVSS
编码 VH 的 DNA	59	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGC CAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTTACCAGCT ACACCATGCACTGGGTGCGCCAGGCTCCAGGCCAGGGACTGGAATGG ATGGGCTACATCAACCCCAGCAGCGGCTATACCAAGTACAACCAGAA ATTCCAGGGCCCGGTGACCATGACCGCCGACAAGAGCACAAGCACCG CCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTAC TATTGTGCCGAGGGCTGGCTGCTGCTGGCCATGGATTATTGGGGCCA GGGCACCCTCGTGACCGTGTCTAGT
重链	60	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYTMHWVRQAPGQGLEW MGYINPSSGYTKYNQKFQGRVTMTADKSTSTAYMELSSLRSEDYAVY YCAEGWLLLAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0120]

编码重链的 DNA	61	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGC CAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTTACCAGCT ACACCATGCACTGGGTGCGCCAGGCTCCAGGCCAGGGACTGGAATGG ATGGGCTACATCAACCCAGCAGCGGCTATACCAAGTACAACCAGAA ATTCCAGGGCCGCGTGACCATGACCGCCGACAAGAGCACAAGCACCG CCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTAC TATTGTGCCGAGGGCTGGCTGCTGCTGGCCATGGATTATTGGGGCCA GGGCACCCTCGTGACCGTGTCTAGTGTAGCACCAAGGGCCCCAGCG TGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAAGCGCGGCACAGCC GCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGT GTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGCGGTGCACACCTTCCCCG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACA GTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAA CCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCCAAGA GCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCAGCCCCAGAGCTG CTGGGCGGACCCTCCGTGTTCTGTTCCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGACAC CCTGATGATCAGCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACG TGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC GTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAA CAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCAACAGGACT GGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCCCTG CCAGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACG GGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTCCCGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCAGAACTA CAAGACCACCCCCAGTGTGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGT ACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTG TTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCA GAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGCAAG
LCDR1 (Kabat)	62	RSSTGAVTTSNYAI
LCDR2 (Kabat)	63	GTNNRAP
LCDR3 (Kabat)	64	ALWYSDHWV
LCDR1 (Chothia)	65	STGAVTTSNY
LCDR2 (Chothia)	66	GTN
LCDR3 (Chothia)	67	WYSDHW
VL	68	EAVVTQSPATLSLSPGERATLSCRSTGAVTTSNYAIWVQEKPGQAP RGLIGGTNNRAPGIPARFSGSLSGDDATLTISLQPEDFAVYFCALW YSDHWVFGQGTKVEIK
编码 VL 的 DNA	69	GAAGCCGTCGTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCACTGAGCCCTGG CGAAAGAGCCACCCTGAGCTGCAGATCTAGCACCGGCGCTGTGACCA CCAGCAACTACGCCATCTGGGTGCAGGAAAAGCCCGCCAGGCTCCC AGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAATAGAGCCCCTGGCATCCCCGC CAGATTACGCGGATCTCTGTCTGGCGACGACGCCACACTGACCATCA GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCGGTGTACTTCTGCGCCCTGTGG TACAGCGACCACTGGGTGTTTCGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAA

[0121]

		G
轻链	70	EAVVTQSPATLSLSLSPGERATLSCRSSTGAVTTSNYAIWVQEKPGQAP RGLIGGTNNRAPGIPARFSGSLSGDDATLTISLQPEDFAVYFCALW YSDHWVFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
编码轻链的 DNA	71	GAAGCCGTCGTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCACTGAGCCCTGG CGAAAGAGCCACCCTGAGCTGCAGATCTAGCACCGGCGCTGTGACCA CCAGCAACTACGCCATCTGGGTGCAGGAAAAGCCCGGCCAGGCTCCC AGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAATAGAGCCCCTGGCATCCCCGC CAGATTCAGCGGATCTCTGTCTGGCGACGACGCCACACTGACCATCA GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCGTGTACTTCTGCGCCCTGTGG TACAGCGACCACTGGGTGTTTCGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAA GCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACG AGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAAC TTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCT GCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGAC TACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCT GTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
<b>NEG313</b>		
HCDR1 (Kabat)	72	NYWIT
HCDR2 (Kabat)	73	DFYPGGGSTNYNAKLQG
HCDR3 (Kabat)	74	SPPQVAPFDY
HCDR1 (Chothia)	75	GYTFNNY
HCDR2 (Chothia)	76	YPGGGS
HCDR3 (Chothia)	77	SPPQVAPFDY
VH	78	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNYWITWVRQAPGQGLEW MGDFYPGGGSTNYNAKLQGRVTLTVDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARSPQVAPFDYWQGTLTVSS
编码 VH 的 DNA	79	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGC CAGCGTGAAGGTGTCTTCAAGGCCAGCGCTACACCTTTAACAAC ACTGGATCACCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGACAGGGACTGGAATGG ATGGGCGACTTCTACCTGGCGGCGGCAGCACCAACTACAACGCCAA GCTGCAGGGCAGAGTGACCCTGACCGTGGACACCAGCACCTCCACCG CCTACATGGAAGTGCAGGAGCCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTAT TACTGCGCTAGAAGCCCTCCTCAGGTGGCCCCCTTCGATTATTGGGG CCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTCT
重链	80	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNNYWITWVRQAPGQGLEW MGDFYPGGGSTNYNAKLQGRVTLTVDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARSPQVAPFDYWQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0122]

		GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
编码重链的 DNA	81	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGC CAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCAGCGCTACACCTTTAACAAC ACTGGATCACCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGACAGGGACTGGAATGG ATGGGCGACTTCTACCCTGGCGGCGGCAGCACCACCTACAACGCCAA GCTGCAGGGCAGAGTGACCCTGACCGTGGACACCAGCACCTCCACCG CCTACATGGAAGTGGGAGCCTGAGAAGCGACGACACCGCCCGTGTAT TACTGCGCTAGAAGCCCTCCTCAGGTGGCCCCCTTCGATTATTGGGG CCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTCTGCTAGCACCAAGGGCCCCA GCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACA GCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGAC CGTGTCTTGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTG ACAGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCA AGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCAGCCCCAGAG CTGCTGGGCGGACCCTCCGTGTCTCTGTTCCTCCCCCAAGCCCAAGGA CACCTGATGATCAGCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGG ACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTA CAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGG ACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCC CTGCCAGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCC ACGGGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTCCCGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCC AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCAGAACAA CTACAAGACCACCCCCCAGTGTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCC TGACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAAC GTGTTACAGTGCAGCGTGTATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC CCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGGCAAG
LCDR1 (Kabat)	82	QASDYIYHWLG
LCDR2 (Kabat)	83	GASGLET
LCDR3 (Kabat)	84	QQYWSTPWT
LCDR1 (Chothia)	85	SDYIYHW
LCDR2 (Chothia)	86	GAS
LCDR3 (Chothia)	87	YWSTPW
VL	88	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCQASDYIYHWLGWYQQKPKAPKLL ISGASGLETGVPSTRFSGSGSKDYFTFTISSLQPEDATYYCQQYWST PWTFGQGTKLEIK
编码 VL 的 DNA	89	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGG CGACAGGGTGACCATCACCTGTCAGGCCAGCGACTACATCTACCACT GGCTGGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTG



[0123]

		ATTAGCGGAGCCTCCGGTCTGGAAACCGGCGTGCCAAGCAGATTTTC CGGCAGCGGCTCCGGCAAGGACTACACCTTCACCATCAGCTCCCTGC AGCCCGAGGATATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACTGGTCCACC CCCTGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAG
轻链	90	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASDIYIHWLWYQQKPKAPKLL ISGASGLETVPSRFSGSGSGKDYFTFTISSLQPEDATYYCQQYWST PWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYF REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
编码轻链的 DNA	91	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGG CGACAGGGTGACCATCACCTGTCAGGCCAGCGACTACATCTACCACT GGCTGGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTG ATTAGCGGAGCCTCCGGTCTGGAAACCGGCGTGCCAAGCAGATTTTC CGGCAGCGGCTCCGGCAAGGACTACACCTTCACCATCAGCTCCCTGC AGCCCGAGGATATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACTGGTCCACC CCCTGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGTACGGT GGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGA AGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCC CGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGG CAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCTTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC CGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
<b>NEG315</b>		
HCDR1 (Kabat)	92	NYWIT
HCDR2 (Kabat)	93	DFYPGGGNTNYNAKLQG
HCDR3 (Kabat)	94	SPPQVAPFDY
HCDR1 (Chothia)	95	GYTFTNY
HCDR2 (Chothia)	96	YPGGGN
HCDR3 (Chothia)	97	SPPQVAPFDY
VH	98	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWITWVRQAPGQGLEW MGDFYPGGGNTNYNAKLQGRVTLTVDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARSPQVAPFDYWGQGLTVTVSS
编码 VH 的 DNA	99	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGC CAGCGTGAAGGTGTCTTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTTACCAACT ACTGGATCACCTGGGTGCGCCAGGCCCCCTGGACAGGGACTGGAATGG ATGGGCGACTTCTACCCTGGCGGCGGCAACACCAACTACAACGCCAA GCTGCAGGGCAGAGTGACCCTGACCGTGGACACCAGCACCTCCACCG CCTACATGGAAGTGCAGGAGCCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTAT TACTGCGCTAGAAGCCCTCCTCAGGTGGCCCCCTTCGATTATTGGGG CCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTCT
重链	100	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWITWVRQAPGQGLEW MGDFYPGGGNTNYNAKLQGRVTLTVDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARSPQVAPFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT

[0124]

		AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
编码重链的 DNA	101	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGC CAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTTACCAACT ACTGGATCACCTGGGTGCGCCAGGCCCCCTGGACAGGGACTGGAATGG ATGGGCGACTTCTACCCTGGCGGCGGCAACACCAACTACAACGCCAA GCTGCAGGGCAGAGTGACCCTGACCGTGGACACCAGACCTCCACCG CCTACATGGAAGTGCAGGAGCCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTAT TACTGCGCTAGAAGCCCTCCTCAGGTGGCCCCCTTCGATTATTGGGG CCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTCTGCTAGCACCAAGGGCCCCA GCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGCGGCACA GCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGAC CGTGTCTTGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTG ACAGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCA AGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCAGCCCCAGAG CTGCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGA CACCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGG ACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTA CAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGACCCAGG ACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCC CTGCCAGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCC ACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTCCCGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCC AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCAGAGAACA CTACAAGACCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCC TGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAAC GTGTTTACGTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC CCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGGCAAG
LCDR1 (Kabat)	102	QASEYIYNWL
LCDR2 (Kabat)	103	GASGLET
LCDR3 (Kabat)	104	QQYWSTPWT
LCDR1 (Chothia)	105	SEYIYNW
LCDR2 (Chothia)	106	GAS
LCDR3 (Chothia)	107	YWSTPW
VL	108	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASEYIYNWLGWYQQKPGKAPKLL ISGASGLETGVPSRFSGSGSKDYFTFTISSLPEDIATYYCQQYWST PWTFGQGTKLEIK

[0125]

编码 VL 的 DNA	109	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGG CGACAGGGTGACCATCACCTGTCAGGCCAGCGAATACATCTACAAC GGCTGGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCAAGCTGCTG ATTAGCGGAGCCTCCGGTCTGGAAACCGGCGTGCCAAGCAGATTTTC CGGCAGCGGCTCCGGCAAGGACTACACCTTCACCATCAGCTCCCTGC AGCCCGAGGATATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACTGGTCCACC CCCTGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAG
轻链	110	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASEYIYNWLGWYQQKPKAPKLL ISGASGLETGVPSPRFSGSGSGKDYFTTISLQPEDIATYYCQQYWST PWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
编码轻链的 DNA	111	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGG CGACAGGGTGACCATCACCTGTCAGGCCAGCGAATACATCTACAAC GGCTGGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCAAGCTGCTG ATTAGCGGAGCCTCCGGTCTGGAAACCGGCGTGCCAAGCAGATTTTC CGGCAGCGGCTCCGGCAAGGACTACACCTTCACCATCAGCTCCCTGC AGCCCGAGGATATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACTGGTCCACC CCCTGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGTACGGT GGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGA AGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCC CGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGG CAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC CGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
<b>NEG318</b>		
HCDR1 (Kabat)	112	SFWIT
HCDR2 (Kabat)	113	DIYPGGATTNYNEKLQG
HCDR3 (Kabat)	114	SPPQVGPFYDY
HCDR1 (Chothia)	115	GYTFTSF
HCDR2 (Chothia)	116	YPGGAT
HCDR3 (Chothia)	117	SPPQVGPFYDY
VH	118	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSFWITWVRQAPGQGLEW MGDIYPGGATTNYNEKLQGRVTLTVDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARSPQVGPFYDWGQGLTVTVSS
编码 VH 的 DNA	119	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGC CAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCAGCGGCTATACCTTCACCAGCT TTTGGATCACCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGACAGGGACTGGAATGG ATGGGCGACATCTACCCTGGCGGCGCCACCACCAACTACAACGAGAA GCTGCAGGGCAGAGTGACCCTGACCGTGGACACCAGCACCTCCACCG CCTACATGGAAGTGCAGGAGCCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTAC TACTGCGCTAGAAGCCCTCCTCAGGTGGGCCCCCTTCGATTATTGGGG CCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTCT

[0126]

重链	120	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSFWITWVRQAPGQGLEW MGDIYPGGATTNYNEKLQGRVTLTVDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARSPQVGPFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
编码重链的 DNA	121	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGGAAGTGAAGAAACCAGGCGC CAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCAGCGGCTATACCTTCACCAGCT TTTGGATCACCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGACAGGGACTGGAATGG ATGGGCGACATCTACCCTGGCGGCGCCACCACCAACTACAACGAGAA GCTGCAGGGCAGAGTGACCCTGACCGTGGACACCAGCACCTCCACCG CCTACATGGAAGTGCAGGAGCCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTAC TACTGCGCTAGAAGCCCTCCTCAGGTGGGCCCCCTTCGATTATTGGGG CCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTCTGCTAGCACCAAGGGCCCCA GCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACA GCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGAC CGTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTG ACAGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCA AGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCAGCCCCAGAG CTGCTGGGCGGACCCCTCCGTGTCTCTGTCCCCCCTCAAGCCCAAGGA CACCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGG ACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTA CAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGG ACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGAAGGTCTCCAACAAGGCC CTGCCAGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCC ACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTCCCGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCC AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCAGAACAA CTACAAGACCACCCCCCAGTGTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCC TGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAAC GTGTTACAGTGCAGCGTGTATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC CCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGGCAAG
LCDR1 (Kabat)	122	QASDYIYHWA
LCDR2 (Kabat)	123	GASSLET
LCDR3 (Kabat)	124	QQYWSIPWT
LCDR1 (Chothia)	125	SDYIYHW
LCDR2 (Chothia)	126	GAS
LCDR3 (Chothia)	127	YWSIPW

[0127]

VL	128	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASDYIYHWLAWYQQKPGKAPKLL ISGASSLETGVPSRFSGSGSGKDYFTFTISSLQPEDIAITYYCQQYWSI PWTFGQGTKLEIK
编码 VL 的 DNA	129	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGG CGACAGAGTGACCATCACCTGTCAGGCCAGCGACTACATCTACCACT GGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTG ATTAGCGGAGCCTCCAGTCTGGAAACCGGCGTGCCAAGCAGATTTTC CGGCAGCGGCTCCGGCAAGGACTACACCTTCACCATCAGCTCCCTGC AGCCCGAGGATATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACTGGTCCATC CCCTGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAG
轻链	130	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASDYIYHWLAWYQQKPGKAPKLL ISGASSLETGVPSRFSGSGSGKDYFTFTISSLQPEDIAITYYCQQYWSI PWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPY REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
编码轻链的 DNA	131	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGG CGACAGAGTGACCATCACCTGTCAGGCCAGCGACTACATCTACCACT GGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTG ATTAGCGGAGCCTCCAGTCTGGAAACCGGCGTGCCAAGCAGATTTTC CGGCAGCGGCTCCGGCAAGGACTACACCTTCACCATCAGCTCCCTGC AGCCCGAGGATATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACTGGTCCATC CCCTGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGTACGGT GGCCGCTCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCAGCAGCAGCAGCTGA AGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCC CGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGG CAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC CGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
<b>NEG319</b>		
HCDR1 (Kabat)	132	SFWIT
HCDR2 (Kabat)	133	DIYPGGANTNYNEKLQG
HCDR3 (Kabat)	134	SPPQVGPFDY
HCDR1 (Chothia)	135	GYTFTSF
HCDR2 (Chothia)	136	YPGGAN
HCDR3 (Chothia)	137	SPPQVGPFDY
VH	138	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSFWITWVRQAPGQGLEW MGDIYPGGANTNYNEKLQGRVTLTVDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARSPQVGPFDYWGQGLVTVSS
编码 VH 的 DNA	139	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGC CAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCAGCGGCTATACCTTCACCAGCT TTTGGATCACCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGACAGGGACTGGAATGG ATGGGCGACATCTACCCTGGCGGCGCCAACACCAACTACAACGAGAA GCTGCAGGGCAGAGTGACCCTGACCGTGGACACCAGCACCTCCACCG

[0128]

		CCTACATGGAAGTGGGAGCCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCTAGAAGCCCTCCTCAGGTGGGCCCCCTTCGATTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTCT
重链	140	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSFWITWVRQAPGQGLEWMGDIYPGGANTNYNEKLQGRVTLTVDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARSPQVGPFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
编码重链的 DNA	141	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCAGCGCTATACCTTCACCAGCTTTTGGATCACCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGACAGGGACTGGAATGGATGGGCGACATCTACCCTGGCGGCGCCAACACCAACTACAACGAGAAAGCTGCAGGGCAGAGTGACCTGACCGTGGACACCAGCACCTCCACCGCCTACATGGAAGTGGGAGCCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCTAGAAGCCCTCCTCAGGTGGGCCCCCTTCGATTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTCTGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGACACCTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCAGCCCCAGAGCTGCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCAGAACAACTACAAGACCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGGCAAG
LCDR1 (Kabat)	142	QASEYIINWLA
LCDR2 (Kabat)	143	GATGLET
LCDR3 (Kabat)	144	QQYWSIPWT

[0129]

LCDR1 (Chothia)	145	SEYIINW
LCDR2 (Chothia)	146	GAT
LCDR3 (Chothia)	147	YWSIPW
VL	148	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCQASEYIINWLAWYQQKPGKAPKLL ISGATGLETGVPSPRFSGSGSGKDYFTFTISLQPEDIAITYYCQQYWSI PWTFGQGTKLEIK
编码 VL 的 DNA	149	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGG CGACAGAGTGACCATCACCTGTCAGGCCAGCGAATACATCATAAACT GGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTG ATTAGCGGAGCCACCGGTCTGGAAACCGGCGTGCCAAGCAGATTTTC CGGCAGCGGCTCCGGCAAGGACTACACCTTCACCATCAGCTCCCTGC AGCCCGAGGATATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACTGGTCCATC CCCTGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAG
轻链	150	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCQASEYIINWLAWYQQKPGKAPKLL ISGATGLETGVPSPRFSGSGSGKDYFTFTISLQPEDIAITYYCQQYWSI PWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
编码轻链的 DNA	151	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGG CGACAGAGTGACCATCACCTGTCAGGCCAGCGAATACATCATAAACT GGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTG ATTAGCGGAGCCACCGGTCTGGAAACCGGCGTGCCAAGCAGATTTTC CGGCAGCGGCTCCGGCAAGGACTACACCTTCACCATCAGCTCCCTGC AGCCCGAGGATATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACTGGTCCATC CCCTGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGTACGGT GGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGA AGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGTGAACAACCTTCTACCCC CGGGAGGCCAAGGTGAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGG CAACAGCCAGGAGAGCGTCAACGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCC CGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC

[0130] 本发明的其他抗体包括这些抗体,其中所述氨基酸或编码所述氨基酸的核酸已经被突变,但仍与表1中描述的序列具有至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性。一些实施方案包括突变的氨基酸序列,其中与表1所述序列所示的可变区相比时,可变区中已突变了不多于1、2、3、4或5个氨基酸,但保留基本相同的抗原结合活性。

[0131] 由于这些抗体中的每一种抗体可以与ANGPTL4结合,可以“混合并匹配”VH、VL、全长轻链和全长重链序列(氨基酸序列和编码所述氨基酸序列的核苷酸序列)以产生结合ANGPTL4的本发明其他抗体。可以使用本领域已知的结合测定法(例如,ELISA,和实施例部分中描述的其他测定法)测试这类“混合和匹配的”结合ANGPTL4的抗体。在混合和匹配这些链时,应当将来自特定VH/VL配对的VH序列替换为结构相似的VH序列。同样,来自特定全长重链/全长轻链配对的全长重链序列应当替换为结构上相似的全长重链序列。同样,来自特定VH/VL配对的VL序列应当替换为结构上相似的VL序列。同样地,应当将来自特定全长重链/全长轻链配对的全长轻链序列替换为结构相似的全长轻链序列。

[0132] 因此,在一个方面,本发明提供分离的抗体或其抗原结合区,其具有:包含选自SEQ ID NO:13、38、58、78、98、118和138的氨基酸序列的重链可变结构域;和包含选自SEQ ID

N0:23、48、68、88、108、128和148的氨基酸序列的轻链可变结构域；其中抗体与LANGPTL4（例如，人ANGPTL4）特异性结合。

[0133] 更具体地，在某些方面，本发明提供分离的抗体或其抗原结合区，其具有重链可变结构域和轻链可变结构域，所述重链可变结构域和轻链可变结构域包含分别选自SEQ ID N0:13和23；38和48；58和68；78和88；98和108、118和128或138和148的序列。

[0134] 在另一个方面，本发明提供 (i) 分离的抗体，其具有：包含已经优化用于哺乳动物细胞中表达的氨基酸序列的全长重链，所述氨基酸序列选自SEQ ID N0:15、28、40、60、80、100、120和140；和包含已经优化用于哺乳动物细胞中表达的氨基酸序列的全长轻链，所述氨基酸序列选自SEQ ID N0:25、50、70、90、110、130和150；或(ii) 包含其抗原结合部分的有功能的蛋白质。更具体地，在某些方面，本发明提供分离的抗体或其抗原结合区，其具有重链和轻链，所述重链和轻链包含分别选自SEQ ID N0:15和25；28和25；40和50；60和70；80和90；100和110；120和130；或140和150的序列。

[0135] 如本文所用，术语“互补决定区”和“CDR”指在抗体可变区内部赋予抗原特异性和结合亲和力的氨基酸序列。通常而言，在每个重链可变区中存在三个CDR (HCDR1、HCDR2、HCDR3) 并且在每个轻链可变区中存在三个CDR (LCDR1、LCDR2、LCDR3)。

[0136] 可以通过使用多种熟知方案的任一者轻易地确定给定CDR的精确氨基酸序列界限，所述熟知方案包括由Kabat等人，(1991)，“Sequences of Proteins of Immunological Interest (目的免疫蛋白质的序列)”，第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (“Kabat”编号方案)，Al-Lazikani等人，(1997) JMB 273, 927-948 (“Chothia”编号方案) 描述的那些方案。

[0137] 例如，根据Kabat，将抗体FF1在重链可变结构域 (VH) 中的CDR氨基酸残基编号为31-35 (HCDR1)、50-66 (HCDR2) 和99-104 (HCDR3)；并且将在轻链可变结构域 (VL) 中的CDR氨基酸残基编号为24-34 (LCDR1)、50-55 (LCDR2) 和89-97 (LCDR3)。根据Chothia，将VH中的CDR氨基酸编号为26-32 (HCDR1)、52-57 (HCDR2) 和99-104 (HCDR3)；和将VL中的氨基酸残基编号为26-32 (LCDR1)、50-52 (LCDR2) 和91-96 (LCDR3)。通过组合Kabat和Chothia二者的CDR定义，CDR由人VH中的氨基酸残基26-35 (HCDR1)、50-66 (HCDR2) 和99-104 (HCDR3) 以及人VL中的氨基酸残基24-34 (LCDR1)、50-55 (LCDR2) 和89-97 (LCDR3) 组成。

[0138] 在另一方面，本发明提供结合ANGPTL4的抗体，所述抗体包含表1中所述的重链和轻链CDR1、CDR2和CDR3或其组合。这些抗体的VH CDR1的氨基酸序列在SEQ ID N0:7、32、52、72、92、112和132中显示。这些抗体的VH CDR2的氨基酸序列在SEQ ID N0:8、33、53、73、93、113和133中显示。这些抗体的VH CDR3的氨基酸序列在SEQ ID N0:9、34、54、74、94、114和134中显示。这些抗体的VL CDR1的氨基酸序列在SEQ ID N0:17、42、62、82、102、122和142中显示。这些抗体的VL CDR2的氨基酸序列在SEQ ID N0:18、43、63、83、103、123和143中显示。这些抗体的VL CDR3的氨基酸序列在SEQ ID N0:19、44、64、84、104、124和144中显示。使用Kabat系统描述这些CDR区。

[0139] 备选地，如使用Chothia系统 (Al-Lazikani等人，(1997) JMB 273, 927-948) 所定义的，所述抗体的VH CDR1的氨基酸序列在SEQ ID N0:10、35、55、75、95、115和135中显示。这些抗体的VH CDR2的氨基酸序列在SEQ ID N0:11、36、56、76、96、116和136中显示。这些抗体的VH CDR3的氨基酸序列在SEQ ID N0:12、37、57、77、97、117、117和137中显示。这些抗体的



VL CDR1的氨基酸序列在SEQ ID NO:20、45、65、85、105、125和145中显示。这些抗体的VL CDR2的氨基酸序列在SEQ ID NO:21、46、66、86、106、126和146中显示。这些抗体的VL CDR3的氨基酸序列在SEQ ID NO:22、47、67、87、107、127和147中显示。

[0140] 鉴于这些抗体的每一者均可以与ANGPTL4结合以及抗原结合特异性主要由CDR1、2和3区提供,可以将VH CDR1、2和3序列和VL CDR1、2和3序列“混合并匹配”(即,可以混合并匹配来自不同抗体的CDR,不过每种抗体优选地含有VH CDR1、2和3和VL CDR1、2和3以产生结合ANGPTL4的本发明其他分子。可以使用本领域已知的结合测定法和实施例中描述的那些测定法(例如,ELISA、SET、Biacore)测试这类“混合和匹配的”结合ANGPTL4的抗体。当混合并匹配VH CDR序列时,来自特定VH序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列应当替换为结构上相似的CDR序列。同样,当混合并匹配VL CDR序列时,来自特定VL序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列应当替换为结构上相似的CDR序列。普通技术人员将轻易地明白,可以通过将一个或多个VH和/或VL CDR区序列置换为结构上相似的来自本文中对本发明单克隆抗所显示的CDR序列中的序列。除前述之外,在一个实施方案中,本文所述抗体的抗原结合片段可以包含VH CDR1、2和3,或VL CDR1、2和3,其中该片段与作为单一可变结构域的ANGPTL4结合。

[0141] 在本发明的某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可以具有表1中描述的人源化抗体的重链序列和轻链序列。更具体地,抗体或其抗原结合片段可以具有NEG276、NEG276-LALA、NEG278、NEG310、NEG313、NEG315、NEG318和NEG319的重链序列和轻链序列。

[0142] 在本发明的其他实施方案中,特异性结合ANGPTL4的抗体或抗原结合片段包含如Kabat所定义和在表1中描述的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3、轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3。在本发明的另外实施方案中,特异性结合ANGPTL4的抗体或抗原结合片段包含如Chothia所定义和在表1中描述的重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3、轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2和轻链可变区CDR3。

[0143] 在一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:7的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:8的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:9的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:17的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:18的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:19的轻链可变区CDR3。

[0144] 在另一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:32的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:33的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:34的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:42的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:43的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:44的轻链可变区CDR3。

[0145] 在另一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:52的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:53的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:54的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:62的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:63的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:64的轻链可变区CDR3。

[0146] 在另一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:72的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:73的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:74的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:82的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:83的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:84的轻链可变区CDR3。

[0147] 在另一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包

含SEQ ID NO:92的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:93的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:94的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:102的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:103的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:104的轻链可变区CDR3。

[0148] 在另一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:112的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:113的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:114的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:122的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:123的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:124的轻链可变区CDR3。

[0149] 在另一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:132的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:133的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:134的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:142的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:143的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:144的轻链可变区CDR3。

[0150] 在另一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:11的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:12的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:20的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:21的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:22的轻链可变区CDR3。

[0151] 在另一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:35的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:36的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:37的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:45的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:46的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:47的轻链可变区CDR3。

[0152] 在另一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:55的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:56的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:57的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:65的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:66的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:67的轻链可变区CDR3。

[0153] 在另一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:75的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:76的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:77的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:85的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:86的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:87的轻链可变区CDR3。

[0154] 在另一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:95的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:96的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:97的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:105的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:106的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:107的轻链可变区CDR3。

[0155] 在另一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:115的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:116的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:117的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:125的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:126的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:127的轻链可变区CDR3。

[0156] 在另一个具体实施方案中,本发明包括与ANGPTL4特异性结合的抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:135的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:136的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:137的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:145的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:146的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:147的轻链可变区CDR3。

[0157] 在某些实施方案中,本发明包括如表1中所述的与ANGPTL4特异性结合的抗体或抗原结合片段。在一个优选实施方案中,结合ANGPTL4的抗体或抗原结合片段是NEG276、NEG276-LALA、NEG278、NEG310、NEG313、NEG315、NEG318、NEG319。

[0158] 同源抗体

[0159] 在又一个实施方案中,本发明提供了包含与表1中所述序列同源的氨基酸序列的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体与ANGPTL4蛋白(例如,人ANGPTL4和食蟹猴ANGPTL4)结合并且保留表1中描述的那些抗体的所需功能特征。

[0160] 例如,本发明提供一种包含重链可变结构域和轻链可变结构域的分离抗体或其功能性抗原结合片段,其中所述重链可变结构域包含与选自SEQ ID NO:13、38、58、78、98、118和138的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%同一的氨基酸序列;轻链可变结构域包含与选自SEQ ID NO:23、23、48、68、88、108、128、148的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%同一的氨基酸序列;并且所述抗体与ANGPTL4(例如,人ANGPTL4和食蟹猴ANGPTL4)特异性结合。在本发明的某些方面,重链序列和轻链序列还包含如Kabat所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,例如分别包含SEQ ID NO:7、8、9、17、18和19。在本发明的某些其他方面,重链序列和轻链序列还包含如Chothia所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,例如分别包含SEQ ID NO:10、11、12、20、21和22。

[0161] 在其他实施方案中,VH和/或VL氨基酸序列可以与表1中所述的序列50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一。在其他实施方案中,VH和/或VL氨基酸序列可以是同一的,除了不多于1、2、3、4或5个氨基酸位置中的氨基酸置换外。可以通过以下方式获得具有与表1中描述的那些抗体的VH区和VL区具备高(即,80%或更大)同一性的VH区和VL区的抗体:诱变(例如,位点定向诱变或PCR介导诱变)分别编码SEQ ID NO:13、38、58、78、98、118、118或138和SEQ ID NO:23、48、68、88、108、128或148的核酸分子,随后使用本文所述的功能测定法对编码的已改变的抗体测试保留的功能。

[0162] 在其他实施方案中,全长重链氨基酸序列和/或全长轻链氨基酸序列可以与表1中所述的序列50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一。可以通过以下方式获得具有全长重链和全长轻链的抗体,所述全长重链和全长轻链与SEQ ID NO:15、28、40、60、80、100、120或140中任一者的全长重链和SEQ ID NO:25、25、50、70、90、110、130或150中任一者的全长轻链具备高(即,80%或更高)同一性:诱变(例如,位点定向诱变或PCR介导诱变)编码这类多肽的核酸分子,随后使用本文所述的功能测定法对编码的已改变的抗体测试保留的功能。

[0163] 在其他实施方案中,全长重链核苷酸序列和/或全长轻链核苷酸序列可以与表1中所述的序列60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一。

[0164] 在其他实施方案中,重链可变区核苷酸序列和/或轻链可变区核苷酸序列可以与表1中所述序列60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一。

[0165] 如本文所用,考虑到需要为最佳比对这两个序列而导入的空位的数目和每个空位的长度,两个序列之间的同一性百分数是所述序列共有的相同位置的函数(即,%同一性等于相同位置数/位置总数 $\times$ 100)。可以使用如下文非限制性实施例中所述的数学算法,完成序列的比较和两个序列之间同一性百分数的确定。

[0166] 额外地或备选地,可以进一步使用本发明的核酸序列和蛋白质序列作为“查询序

列”以针对公共数据库执行检索,以例如鉴定相关序列。例如,可以使用Altschul等人,1990J.Mol.Biol.215:403-10的BLAST程序执行此类检索。

[0167] 具有保守修饰的抗体

[0168] 在某些实施方案中,本发明的抗体具有重链可变区,所述重链可变区包含CDR1、CDR2和CDR3序列,和轻链可变区,所述轻链可变区包含CDR1、CDR2和CDR3序列,其中这些CDR序列的一个或多个序列具有基于本文所述抗体的指定氨基酸序列或其保守修饰物,并且其中所述抗体保留结合ANGPTL4的本发明抗体的所需功能特性。

[0169] 因此,本发明提供一种分离的抗体或其抗原结合片段,其由包含CDR1、CDR2和CDR3序列的重链可变区和包含CDR1、CDR2和CDR3序列的轻链可变区组成,其中:重链可变区CDR1的氨基酸序列选自SEQ ID NO:7、32、52、72、92、112和132及其保守修饰物;重链可变区CDR2的氨基酸序列选自SEQ ID NO:8、33、53、73、93、113和133及其保守修饰物;重链可变区CDR3的氨基酸序列选自SEQ ID NO:9、34、54、74、94、114和134及其保守修饰物;轻链可变区CDR1的氨基酸序列选自SEQ ID NO:17、42、62、82、102、122和142及其保守修饰物;轻链可变区CDR2的氨基酸序列选自SEQ ID NO:18、43、63、83、103、123和143及其保守修饰物;轻链可变区CDR3的氨基酸序列选自SEQ ID NO:19、44、64、84、104、124和144及其保守修饰物;并且抗体或其抗原结合片段与ANGPTL4特异性结合。

[0170] 在其他实施方案中,本发明的抗体为哺乳动物细胞中的表达而优化,具有全长重链序列和全长轻链序列,其中这些序列的一个或多个序列具有基于本文所述的优选抗体的指定氨基酸序列或其保守修饰物,并且其中抗体保留本发明结合ANGPTL4的抗体的所需功能特性。因此,本发明提供为哺乳动物细胞中表达而优化的分离抗体,所述分离的抗体由全长重链和全长轻链组成,其中所述全长重链具有选自SEQ ID NO:15、28、40、60、80、100、120和140的氨基酸序列及其保守修饰物;并且全长轻链具有选自SEQ ID NO:25、50、70、90、110、130和150的氨基酸序列及其保守修饰物;并且所述抗体与ANGPTL4(例如,人ANGPTL4和食蟹猴ANGPTL4)特异性结合。

[0171] 结合相同表位的抗体

[0172] 本发明提供了抗体,所述抗体与表1中描述的结合ANGPTL4的抗体结合相同的表位。额外的抗体可以因此基于它们在ANGPTL4结合测定法(如实施例中描述的那些)中与本发明的其他抗体竞争(例如,以统计显著方式竞争性抑制其他抗体的结合作用)的能力而鉴定。测试抗体抑制本发明抗体与ANGPTL4蛋白结合的能力表明,该测试抗体可以这种抗体竞争与ANGPTL4的结合;根据非限制性理论,这种抗体可以结合至与它竞争的抗体在ANGPTL4蛋白上的相同或相关(例如,结构上相似或空间上靠近的)表位。在某些实施方案中,与本发明抗体在ANGPTL4蛋白上的相同表位结合的抗体是人源化抗体。可以本文所述制备并分离这类人源化抗体。如本文所用,当竞争性抗体抑制等摩尔浓度的竞争性抗体存在下本发明抗体或抗原结合片段的ANGPTL4结合作用超过50%(例如,80%、85%、90%、95%、98%或99%)时,该抗体“竞争”结合作用。

[0173] 在其他实施方案中,本发明的抗体或抗原结合片段与ANGPTL4的一个或多个表位结合。在一些实施方案中,与本发明的抗体或抗原结合片段结合的表位是线性表位。在其他实施方案中,与本发明的抗体或抗原结合片段结合的表位是非线性构象表位。

[0174] 工程化和修饰的抗体

[0175] 还可利用具有一个或多个本文所示VH和/或VL序列的抗体作为起始材料,工程化出修饰的抗体,以制备本发明的抗体,所述修饰的抗体可以具有相对于起始抗体改变的性质。可通过修饰一个或两个可变区(即VH和/或VL)内,例如一个或多个CDR区内和/或一个或多个构架区内的一个或多个残基来改造抗体。额外地或备选地,可以通过修饰恒定区内部的残基,例如以改变抗体的效应子功能),将抗体工程化。

[0176] 可以进行的一种可变区工程化是CDR移植。抗体优势地通过位于六个重链和轻链互补决定区(CDR)内的氨基酸残基与靶抗原相互作用。出于这个原因,各抗体之间CDR内部的氨基酸序列比CDR外部更多样。因为CDR序列负责大部分的抗体-抗原相互作用,所以可以通过构建表达载体表达模拟天然存在的特定抗体的特性的重组抗体,其中所述表达载体包含来自该天然存在的特定抗体的CDR序列,所述CDR序列被移植到来自具有不同特性的不同抗体的构架序列上(参见,例如Riechmann等人,1998Nature 332:323-327;Jones,P.等人,1986Nature 321:522-525;Queen,C.等人,1989Proc.Natl.Acad.,U.S.A.86:10029-10033;授予Winter的美国专利号5,225,539,和授予Queen等人的美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,762和6,180,370)。

[0177] 因此,本发明的另一个实施方案涉及一种包含重链可变区和轻链可变区的分离抗体或其抗原结合片段,所述重链可变区分别包含了具有选自SEQ ID NO:7、32、52、72、92、112和132的氨基酸序列的CDR1序列;具有选自SEQ ID NO:8、33、53、73、93、113和133的氨基酸序列的CDR2序列;具有选自SEQ ID NO:9、34、54、74、94、114和134的氨基酸序列的CDR3序列,所述轻链可变区分别包含了具有选自SEQ ID NO:17、42、62、82、102、122和142的氨基酸序列的CDR1序列;具有选自SEQ ID NO:18、43、63、83、103、123和143的氨基酸序列的CDR2序列;具有选自SEQ ID NO:19、44、64、84、104、124和144的氨基酸序列的CDR3序列。因而,这类抗体含有单克隆抗体的VH和VL CDR序列,然而可以含有来自这些抗体的不同构架序列。

[0178] 这类构架序列可以从包含种系抗体基因序列的公共DNA数据库或公布的参考文献中获得。例如,人重链和轻链可变区基因的种系DNA序列可以在“VBase”人种系序列数据库(在万维网上以下网址可获得:[mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase](http://mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase))中以及在Kabat,E.A.等人,1991Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services,NIH出版编号91-3242;Tomlinson,I.M.等人,1992J.Mol.Biol.227:776-798;和Cox,J.P.L.等人,1994Eur.J Immunol.24:827-836中找到。各文献的内容在此明确引入作为参考。

[0179] 用于本发明的抗体的构架序列的实例是与所选本发明抗体使用的构架序列在结构上相似的那些构架序列(例如本发明的单克隆抗体使用的共有序列和/或构架序列)。可以将VH CDR1、2和3序列和VL CDR 1、2和3序列移植到下述构架区上,所述构架区的序列与衍生该构架序列的种系免疫球蛋白基因中存在的序列相同,或可以将所述CDR序列移植到与种系序列相比含有一种或多种突变的构架区上。例如,已经发现在某些情况下,使构架区内部的残基突变有益于维持或增强抗体的抗原结合能力(见,例如,授予Queen等人的美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,762和6,180,370)。可以作为在其上构建本文所述抗体和抗原结合片段的支架利用的构架包括但不限于VH1A、VH1B、VH3、Vk1、Vl2和Vk2。额外的构架是本领域已知的并且可以在例如万维网上以下网址[vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/index.php?&MMN\\_position=1:1](http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/index.php?&MMN_position=1:1)处的vBase数据库中找到。

[0180] 因此,本发明的一个实施方案涉及结合ANGPTL4的分离抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区,所述重链可变区包含选自SEQ ID NO:13、38、58、78、98、118和138的氨基酸序列,或在这类序列的构架区中具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列,并且还包含轻链可变区,所述轻链可变区具有选自SEQ ID NO:23、48、68、88、108、128和148的氨基酸序列,或在这类序列的构架区中具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列。

[0181] 另一个类型的可变区修饰是突变VH和/或VL CDR1区、CDR2区和/或CDR3区内部的氨基酸残基,以便因而改善目的抗体的一种或多种结合特性(例如亲和力),称作“亲和力成熟”。可以进行位点定向诱变或PCR介导的诱变以引入突变,并且可以在如本文所述和实施例中提供的体外或在体内测定法中评价对抗体结合作用或其他目的功能特性的影响。可以引入(如上文讨论的)保守修饰。突变可以是氨基酸置换、添加或缺失。另外,一般改变CDR区内部不多于1个、2个、3个、4个、5个残基。

[0182] 因此,在另一个实施方案中,本发明提供一种结合ANGPTL4的分离的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段由重链可变区组成,所述重链可变区具有:具有选自SEQ ID NO:7、32、52、72、92、112和132的氨基酸序列或如与SEQ ID NO:7、32、52、72、92、112和132相比,含有1个、2个、3个、4个、5个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列的VH CDR1区域;具有选自SEQ ID NO:8、33、53、73、93、113和133的氨基酸序列或如与SEQ ID NO:8、33、53、73、93、113和133相比,含有1个、2个、3个、4个、5个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列的VH CDR2区域;具有选自SEQ ID NO:9、34、54、74、94、114、114和134的氨基酸序列或如SEQ ID NO:9、34、54、74、94、114和134相比,含有1个、2个、3个、4个、5个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列的VH CDR3区域;具有选自SEQ ID NO:17、42、62、82、102、122和142的氨基酸序列或如与SEQ ID NO:17、42、62、82、102、122和142相比,含有1个、2个、3个、4个、5个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列的VL CDR1区域;具有选自SEQ ID NO:18、43、63、83、103、123和143的氨基酸序列或如与SEQ ID NO:18、43、63、83、103、123和143相比,含有1个、2个、3个、4个、5个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列的VL CDR2区域;和具有选自SEQ ID NO:19、44、64、84、104、124和144的氨基酸序列或如与SEQ ID NO:19、44、64、84、104、124和144相比,含有1个、2个、3个、4个、5个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列的VL CDR3区域。

[0183] 因此,在另一个实施方案中,本发明提供一种结合ANGPTL4的分离的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段由重链可变区组成,所述重链可变区具有:具有选自SEQ ID NO:10、35、55、75、95、115和135的氨基酸序列或如与SEQ ID NO:10、35、55、75、95、115和135相比,含有1个、2个、3个、4个、5个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列的VH CDR1区域;具有选自SEQ ID NO:11、36、56、76、96、116和136的氨基酸序列或如与SEQ ID NO:11、36、56、76、96、116和136相比,含有1个、2个、3个、4个、5个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列的VH CDR2区域;具有选自SEQ ID NO:12、37、57、77、97、117和137的氨基酸序列或如SEQ ID NO:12、37、57、77、97、117和137相比,含有1个、2个、3个、4个、5个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列的VH CDR3区域;具有选自SEQ ID NO:20、45、65、85、105、125和145的氨基酸序列或如与SEQ ID NO:20、45、65、85、105、125和145相比,含有1个、2个、3个、4个、5个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列的VL CDR1区域;具有选自SEQ ID NO:21、46、

66、86、106、126和146的氨基酸序列或如与SEQ ID NO:21、46、66、86、106、126和146相比,含有1个、2个、3个、4个、5个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列的VL CDR2区域;和具有选自SEQ ID NO:22、47、67、87、107、127和147的氨基酸序列或如与SEQ ID NO:22、47、67、87、107、127和147相比,含有1个、2个、3个、4个、5个氨基酸置换、缺失或添加的氨基酸序列的VL CDR3区域。

[0184] 移植抗原结合结构域至备选的构架或支架中

[0185] 可以使用广泛类型的抗体/免疫球蛋白构架或支架,只要所产生的多肽包括至少一个与ANGPTL4特异性结合的结合区。这类构架或支架包括5个主要独特型的人免疫球蛋白或其片段,并且包括其他动物物种的免疫球蛋白,优选地具有人源化方面。在这个方面,单个重链抗体如在驼类(camelid)中鉴定的那些,是特别有意义的。新的构架、支架和片段继续由本领域技术人员发现并开发。

[0186] 在一个方面,本发明涉及使用可以将本发明的CDR移植到其上的非免疫球蛋白支架,产生基于非免疫球蛋白的抗体。可以使用已知的或将来的非免疫球蛋白构架和支架,只要它们包含对靶ANGPTL4蛋白特异的结合区。已知的非免疫球蛋白构架或支架包括但不限于纤连蛋白(Compound Therapeutics, Inc., Waltham, MA)、锚蛋白(Molecular Partners AG, Zurich, 瑞士)、结构域抗体(Domantis, Ltd., Cambridge, MA和Ablynx nv, Zwijnaarde, 比利时)、脂笼蛋白(Pieris Proteolab AG, Freising, 德国)、小模块免疫药物(Trubion Pharmaceuticals Inc., Seattle, WA)、maxybodies(Avidia, Inc., Mountain View, CA)、蛋白A(Affibody AG, 瑞典)和affilin( $\gamma$ -晶体蛋白或遍在蛋白)(Scil Proteins GmbH, Halle, 德国)。

[0187] 纤连蛋白支架基于纤连蛋白III型结构域(例如,纤连蛋白III型的第十模块(10Fn3结构域))。纤连蛋白III型结构域具有7条或8条 $\beta$ 链,这些 $\beta$ 链分布在两个 $\beta$ 折叠之间,所述 $\beta$ 折叠本身相互叠加以形成蛋白质的核芯,并且还含有使 $\beta$ 链彼此连接并且暴露于溶剂的环(类似于CDR)。在 $\beta$ 折叠夹心的每个边缘存在至少三个这样的环,其中所述边缘是与 $\beta$ 链的方向垂直的蛋白质边界(参见US 6 818 418)。这些基于纤连蛋白的支架不是免疫球蛋白,不过总体折叠与包含骆驼和羊驼IgG中完整抗原识别单元的最小功能性抗体片段(即重链可变区)密切相关。由于这种结构,非免疫球蛋白抗体模拟在性质和亲和力方面与抗体相似的抗原结合特性。这些支架可用于体外环随机化和改组策略,该策略与体内抗体的亲和力成熟过程相似。这些基于纤连蛋白的分子可用作支架,其中使用标准克隆技术用本发明的CDR替换分子的环区。

[0188] 锚蛋白技术基于将具有锚蛋白来源的重复模块的蛋白质用作携带可变区的支架,该可变区可用于结合不同的靶。锚蛋白重复序列模块是一种由两个反平行 $\alpha$ -螺旋和一个 $\beta$ 转角组成的33个氨基酸多肽。可变区的结合大多通过使用核糖体展示法优化。

[0189] Avimers衍生自天然的含有A-结构域的蛋白质如LRP-1。这些结构域由自然界用于蛋白质-蛋白质相互作用并且在人类中超过250种蛋白质在结构上基于A-结构域。Avimers由借助氨基酸接头连接的多个不同“A-结构域”单体(2-10个)组成。使用例如在美国专利申请公开号20040175756;20050053973;20050048512;和20060008844中描述的方法,可以产生可以与靶抗原结合的Avimers。

[0190] Affibody亲和配体是由三螺旋束组成的小的简单蛋白质,基于蛋白A的一个IgG结

合域的支架。蛋白A是来自细菌金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 的表面蛋白。这种支架结构域由58个氨基酸组成,其中13个氨基酸经随机化以产生具有大量配体变体的Affibody文库(参见例如,US 5 831 012)。Affibody分子模拟抗体,与150kDa的抗体分子量相比,它们具有6kDa的分子量。尽管其尺寸小,Affibody分子的结合位点类似于抗体。

[0191] 抗运载蛋白 (Anticalin) 是由Pieris ProteoLab AG公司开发的产品。它们衍生自脂笼蛋白,一组广泛分布的小而稳健的通常参与生理学运输或储存化学敏感性或不溶性化合物的蛋白质。几种天然脂笼蛋白存在于人组织或体液中。该蛋白质的构造类似于免疫球蛋白,在刚性构架顶部上具有高变环。但是,与抗体或其重组片段相反,脂笼蛋白由仅略微大于单个免疫球蛋白结构域的具有160个至180个氨基酸残基的单条多肽链组成。构成结合袋的一组四个环显示突出的结构塑性并且承受多种侧链。结合位点因此可以在专有过程中再成型,旨在以高亲和力和高特异性识别规定的不同形状的靶分子。一种脂笼蛋白家族蛋白,大菜粉蝶 (*Pieris brassicae*) 的后胆色素结合蛋白 (BBP),已经用来通过诱变这四个环集合,开发抗运载蛋白 (Anticalin)。描述抗运载蛋白的专利申请的一个例子在PCT公开号WO 199916873中。

[0192] Affilin分子是小的非免疫球蛋白,其中就针对蛋白质和小分子的特异性亲和力设计所述蛋白质。新的affilin分子可以非常迅速选自两个文库,每个文库基于人衍生的不同支架蛋白。Affilin分子不对免疫球蛋白显示任何结构同源性。目前,使用两种affilin支架,其中之一是 $\gamma$ 晶状体蛋白(人眼晶状体结构性蛋白)并且另一种是“遍在蛋白”超家族蛋白。两种人类支架均非常小,显示高度的温度稳定性并且几乎均抵抗pH变化和变性剂。这种高度稳定性主要归因于蛋白质的扩展 $\beta$ 折叠结构。 $\gamma$ 晶状体蛋白衍生的蛋白质的例子在WO 200104144中描述并且“遍在蛋白样”蛋白质的例子在WO 2004106368中描述。

[0193] 蛋白质表位模拟物 (PEM) 是模拟蛋白质 $\beta$ -发夹二级结构(参与蛋白质-蛋白质相互作用的主要二级结构)的中等大小、环状肽样分子(MW 1-2kDa)。

[0194] 本发明提供与ANGPTL4蛋白特异性结合的全人抗体。与嵌合或人源化抗体相比,施用至人类受试者时,本发明结合ANGPTL4的人抗体具有进一步降低的抗原性。

[0195] 驼类抗体

[0196] 从骆驼和单峰驼(双峰驼 (*Camelus bactrianus*) 和单峰驼 (*Camelus dromaderius*)) 家族成员,包括新世界成员如羊驼属物种(羊驼 (*Lama paccos*)、大羊驼 (*Lama glama*) 和小羊驼 (*Lama vicugna*)) 获得的抗体蛋白已经就大小、结构复杂性和针对人类受试者的抗原性加以表征。如自然界中所找到的来自这个哺乳动物家族的某些IgG抗体缺少轻链,并且因此在结构上区别于来自其他动物的抗体的具有两条重链和两条轻链的常见四链四级结构。参见PCT/EP 93/02214(1994年3月3日公布的WO 94/04678)。

[0197] 可以通过基因工程获得驼类抗体的一个区域(该区域是小的单可变区,确定为VHH)以产生对靶具有高亲和力的小蛋白质,从而产生称作“驼类纳米体”的低分子量抗体蛋白。参见1998年6月2日授予的美国专利号5,759,808;还参见Stijlemans,B.等人,2004J Biol Chem 279:1256-1261;Dumoulin,M.等人,2003Nature 424:783-788;Pleschberger,M.等人2003Bioconjugate Chem 14:440-448;Cortez-Retamozo,V.等人2002Int J Cancer 89:456-62;和Lauwereys,M.等人1998EMBO J 17:3512-3520。驼类抗体和抗体片段的工程化文库是例如从Ablynx,Ghent,Belgium可商业获得的。与其他非人源抗体一样,驼类抗体



的氨基酸序列可以重组地改变以获得更逼真模仿人序列的序列,即,纳米体可以“人源化”。因此可以进一步降低驼类抗体对人类的天然低的抗原性。

[0198] 驼类纳米体的分子量是人IgG分子的分子量的十分之一,并且这种蛋白质具有仅数纳米的物理直径。小尺寸的一个结果是驼类纳米体能够与较大抗体蛋白在功能上不可识别的抗原位点结合,即,驼类纳米体可用作试剂以检测使用经典免疫技术时隐匿的抗原,并且可以用作可能的治疗药。因此小尺寸的又一个结果是驼类纳米体可以因为与靶蛋白的槽或狭缝中的特定位置结合而发挥抑制作用,并且因此可以提供比经典抗体更逼真模仿经典低分子量药物功能的能力。

[0199] 低分子量和紧凑大小进一步导致驼类纳米体具有极端热稳定性、对极端pH和蛋白酶消化稳定和抗原性低。另一个结果是驼类纳米体轻易地从循环系统移入组织,并且甚至跨越血-脑屏障并且可以治疗累及神经组织的病症。纳米体还可以促进跨血脑屏障运输药物。参见2004年8月19日公开的美国专利申请20040161738。这些特征与对人的低抗原性组合指示了巨大的治疗潜能。另外,这些分子可在原核细胞,如大肠杆菌(E.coli)中充分表达,并可以用噬菌体表达为融合蛋白,且是有功能的。

[0200] 因此,本发明的一个特征是一种对ANGPTL4具有高亲和力的驼类抗体或纳米体。在本文的某些实施方案中,驼类抗体或纳米体天然地在驼类动物中产生,即,在使用本文对其他抗体所述的技术用ANGPTL4或其肽片段免疫之后由驼类产生。备选地,如本文实施例所述,使用以ANGPTL4作为靶的淘洗法,从展示适当诱变的驼类纳米体蛋白的噬菌体文库,将结合ANGPTL4的驼类纳米体工程化(即,例如通过选择过程产生)。还可以通过基因工程,定制工程化的纳米体以在接受受试者中具有45分钟至2周的半寿期。在一个具体实施方案中,如例如PCT/EP93/02214中所述,通过将本发明人抗体的重链或轻链的CDR序列移植入纳米抗体或单结构域抗体构架序列中,获得驼类抗体或纳米抗体。

[0201] 双特异性分子和多价抗体

[0202] 在另一个方面,本发明特征在于包含结合ANGPTL4的本发明抗体或其片段的双特异性或多特异性分子。可以将本发明的抗体或其抗原结合区域衍生化或连接至另一种功能分子,例如另一种肽或蛋白质(例如针对受体的另一种抗体或配体)以产生与至少两个不同结合位点或靶分子结合的双特异性分子。本发明的抗体可以实际上进行衍生化或连接至多于一种其他功能分子以产生与多于两个不同结合位点和/或靶分子结合的多特异性分子;这类多特异性分子也意在由本文所用的术语“双特异性分子”包括。为了产生本发明的双特异性分子,本发明的抗体可以功能性连接(例如通过化学偶联、遗传融合、非共价结合或其他方式)至一种或多种其他结合分子,如另一种抗体、抗体片段、肽或结合性模拟物,从而产生双特异性分子。

[0203] 因此,本发明包括双特异性分子,所述双特异性分子包含针对ANGPTL4的至少一种第一结合特异性和针对第二靶表位的第二结合特异性。例如,第二靶表位是与第一靶表位不同的另一个ANGPTL4表位。

[0204] 另外,对于其中双特异性分子具有多特异性的本发明,该分子还可以包括除第一和第二靶表位之外的第三结合特异性。

[0205] 在一个实施方案中,本发明的双特异性分子包含至少一种抗体或其抗体片段作为结合特异性,所述抗体片段包括例如Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv或单链Fv。抗体也可以是轻链或

重链二聚体或其任何最小片段如Fv或单链构建体,如Ladner等人在美国专利号4,946,778中所述的抗体。

[0206] 双体抗体(diabody)是双价的双特异性分子,其中VH和VL结构域表达于单一多肽链上,由太短以至于不允许这两个结构域之间在相同链上配对的接头连接。所述VH和VL结构域与另一条链的互补结构域配对,因而产生两个抗原结合位点(见,例如,Holliger等人,1993Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448;Poljak等人,1994Structure 2:1121-1123)。可以通过在相同细胞内部表达具有结构VHA-VLB和VHB-VLA(VH-VL构型)或VLA-VHB和VLB-VHA(VL-VH构型)的两条多肽链产生双体抗体。它们大部分可以在细菌中以可溶性形式表达。通过用大约15个氨基酸残基的接头连接两条形成双体抗体的多肽链,产生单链双体抗体(scDb)(见Holliger和Winter,1997Cancer Immunol.Immunother.,45(3-4):128-30;Wu等人,1996Immunotechnology,2(1):21-36)。scDb可以在细菌中以可溶性活性单体形式表达(参见Holliger和Winter,1997Cancer Immunol.Immunother.,45(34):128-30;Wu等人,1996Immunotechnology,2(1):21-36;Pluckthun和Pack,1997Immunotechnology,3(2):83-105;Ridgway等人,1996Protein Eng.,9(7):617-21。双体抗体可以与Fc融合以产生“双-双体抗体”(见Lu等人,2004J.Biol.Chem.,279(4):2856-65)。

[0207] 可以用于本发明双特异性分子中的其他抗体是鼠单克隆抗体、嵌合单克隆抗体和人源化单克隆抗体。

[0208] 可以通过使用本领域已知的方法缀合组分结合特异性,制备双特异性分子。例如,双特异性分子的每种结合特异性可以单独地产生并且随后彼此缀合。当结合特异性是蛋白质或肽时,多种偶联或交联剂可以用于共价缀合。交联剂的实例包括蛋白A、碳二亚胺、N-琥珀酰亚胺-S-乙酰-硫代乙酸酯(SATA)、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、邻亚苯基双马来酰亚胺(oPDM)、N-琥珀酰亚胺-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP)和磺基琥珀酰亚胺-4-(N-马来酰亚胺甲基)环己烷-1-羧酸酯(磺基-SMCC)(见,例如,Karpovsky等人,1984J.Exp.Med.160:1686;Liu,MA等人,1985Proc Natl Acad Sci USA 82:8648)。其他方法包括在Paulus,1985Behring Ins.No.78,118-132;Brennan等人,1985Science 229:81-83)和Glennie等人,1987J.Immunol.139:2367-2375)中描述的那些方法。缀合剂是SATA和磺基-SMCC,两者均可从Pierce Chemical Co.(Rockford,IL)获得。

[0209] 在结合特异性是抗体时,它们可通过两条重链的C端铰链区的硫氢基成键而缀合。在一个特别的实施方案中,在缀合之前修饰铰链区以含有奇数个硫氢基残基,例如1个硫氢基残基。

[0210] 备选地,可以在相同的载体中编码两种结合特异性并且在相同的宿主细胞中表达及装配。这种方法在下列情况特别有用,其中双特异性分子是mAb x mAb、mAb x Fab、Fab x F(ab')<sub>2</sub>或配体x Fab融合蛋白。本发明的双特异性分子可以是包含一个单链抗体和一个结合决定簇的单链分子、或包含两个结合决定簇的单链双特异性分子。双特异性分子可包含至少两个单链分子。用于制备双特异性分子的方法例如在美国专利号5,260,203;美国专利号5,455,030;美国专利号4,881,175;美国专利号5,132,405;美国专利号5,091,513;美国专利号5,476,786;美国专利号5,013,653;美国专利号5,258,498;和美国专利号5,482,858中描述。

[0211] 可以通过例如酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(REA)、FACS分析、生物测

定法(例如生长抑制)或蛋白质印迹测定法证实双特异性分子与其特异性靶的结合。这些测定法中的每一种方法通常通过使用对目的蛋白质-抗体复合物特异的标记试剂(例如抗体)来检测特定的目的复合物的存在。

[0212] 在另一个方面,本发明提供包含与ANGPTL4结合的本发明抗体的至少两个相同或不同抗原结合部分的多价化合物。可以经蛋白质融合或共价连接或非共价连接将抗原结合部分连接在一起。备选地,已经描述了用于双特异性分子的连接方法。例如,可以通过用结合本发明抗体的恒定区(例如Fc或铰链区)的抗体来交联本发明的抗体,获得四价化合物。

[0213] 三聚化结构域例如在Boreau专利EP 1 012 280B1中描述。五聚化模块例如在PCT/EP97/05897中描述。

[0214] 半寿期延长的抗体

[0215] 本发明提供与ANGPTL4蛋白特异性结合的抗体,所述抗体具有延长的体内半寿期。

[0216] 许多因素可能影响蛋白质的体内半寿期。例如,肾过滤、肝脏中代谢、遭蛋白水解酶(蛋白酶)降解和免疫原性反应(例如,抗体的蛋白质中和作用和被巨噬细胞和树状细胞摄取)。多种策略可用于延长本发明抗体的半寿期。例如,通过化学连接聚乙二醇(PEG)、reCODE PEG、抗体支架、聚唾液酸(PSA)、羟乙基淀粉(HES)、白蛋白结合配体和糖保护层;通过与血清蛋白质如白蛋白、IgG、FcRn结合并转移的蛋白质遗传融合;通过偶联(遗传上或化学上)到其他结合部分,该其他结合部分结合血清蛋白质,如纳米抗体、Fab、DARPin、avimer、affibody和抗运载蛋白;通过遗传融合rPEG、白蛋白、白蛋白的结构域、白蛋白结合蛋白质和Fc;或通过掺入到纳米载体、缓释制剂或医疗设备中。

[0217] 为了延长抗体的体内血清循环,惰性聚合物分子如高分子量PEG可以在采用或不采用接合接头的情况下,借助PEG与抗体N末端或C末端的位点特异性缀合或借助赖氨酸残基上存在的 $\epsilon$ -氨基,连接至抗体或其片段。为了使抗体聚乙二醇化,一般使该抗体或其片段与聚乙二醇(PEG)如PEG的活性酯或醛衍生物在其中一个或多个PEG基团变得与该抗体或其片段连接的条件反应。可以通过与反应性PEG分子(或类似的反应性水溶聚合物)的酰化反应或烷基化反应实施PEG化。如本文所用,术语“聚乙二醇”意图包括已经用来衍生其他蛋白质的任何形式的PEG,如单(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)烷氧基或芳氧基-聚乙二醇或聚乙二醇-马来酰亚胺。在某些实施方案中,待聚乙二醇化的抗体是无糖基化的抗体。将使用导致生物学活性丧失最少的直链或分枝聚合物衍生化。可以通过SDS-PAGE和质谱法密切监测缀合程度以确保PEG分子与抗体正确缀合。未反应的PEG可以通过大小排阻层析或通过离子交换层析与抗体-PEG缀合物分离。可使用本领域技术人员熟知的方法,例如通过本文描述的免疫测定试验,测试PEG衍生的抗体的结合活性以及体内效力。聚乙二醇化蛋白质的方法为本领域已知,并可应用于本发明的抗体。见例如,Nishimura等人的EP 0 154 316和Ishikawa等人的EP 0 401 384。

[0218] 其他改良的聚乙二醇化技术包括重构化学正交定向工程化技术(ReCODE PEG),该技术借助包括tRNA合成酶和tRNA的重构系统将化学指定的侧链掺入生物合成的蛋白质。这项技术使得在大肠杆菌(E.coli)、酵母和哺乳动物细胞中将多于30个新氨基酸掺入生物合成的蛋白质中成为可能。tRNA在存在琥珀密码子的位置掺入非天然氨基酸,使琥珀密码子从终止密码子转变成掺入化学指定的氨基酸的一个密码子信号。

[0219] 重组聚乙二醇化技术(rPEG)也可以用于血清半寿期延长。这项技术涉及300-600

个氨基酸的非结构化蛋白质尾与现有药用蛋白质遗传融合。因为这种非结构化蛋白质链的表观分子量比其实际分子量大约15倍,所以这种蛋白质的血清半寿期将大大增加。与需要化学缀合和再纯化的常规聚乙二醇化相反,生产工艺大为简化并且产物是均质的。

[0220] 聚唾液酸化是使用天然聚合物聚唾液酸(PSA)来延长治疗性肽和蛋白质的有效寿命并改善其稳定性的另一项技术。PSA是唾液酸(一种糖)的聚合物。当用于蛋白质和治疗肽药物递送时,聚唾液酸对缀合提供保护性微环境。这增加治疗性蛋白在循环中的有效寿命并防止它被免疫系统识别。PSA聚合物天然存在于人体中。它由某些细菌采纳,这些细菌经数百万年演化用PSA覆盖它们的细胞壁。这些天然聚唾液酸化的细菌则能够通过分子拟态挫败身体的防御系统。PSA,自然界的终极隐形术,可以容易地从这类细菌以巨大量和以预定的物理特征产生。细菌PSA完全无免疫原性,甚至与蛋白质偶联时也是如此,因为它在化学上与人体中的PSA同一。

[0221] 另一项技术包括使用与抗体连接的羟乙基淀粉(“HES”)衍生物。HES是源自蜡质玉米淀粉的改性天然聚合物并且可以由身体的酶代谢。通常施用HES溶液以替代不足的血液容积并改善血液的流变学特性。通过增加分子的稳定性,以及通过降低肾清除率,抗体的HES化使得延长循环半寿期成为可能,导致增加的生物学活性。通过变动不同参数,如HES的分子量,可以定制广泛类型的HES抗体缀合物。

[0222] 也可以向IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选地Fc或铰链Fc结构域片段)中引入一个或多个氨基酸修饰(即,置换、插入或缺失),产生具有增加的体内半寿期的抗体。参见,例如,国际公开号W098/23289;国际公开号W097/34631;和美国专利号6 277 375。

[0223] 进一步,抗体可以与白蛋白(例如,人血清白蛋白;HSA)缀合以使抗体或抗体片段在体内更稳定或具有较长的体内半寿期。这些技术是本领域熟知的,参见,例如,国际公开号W0 93/15199、W0 93/15200和W0 01/77137;和欧洲专利号EP 413,622。此外,在如上文所述的双特异性抗体背景下,可以如此设计抗体的特异性,从而抗体的一个结合结构域与ANGPTL4结合,而抗体的第二结合结构域与血清白蛋白、优选地与HSA结合。

[0224] 增加半寿期的策略特别可用于纳米体、基于纤连蛋白的结合物和需要增加体内半寿期的其他抗体或蛋白质。

[0225] 抗体缀合物

[0226] 本公开提供与ANGPTL4蛋白特异性结合的抗体或其片段,所述抗体或其片段重组融合于或化学缀合(包括共价和非共价缀合)至异源蛋白或多肽(或其片段、优选地与至少10个、至少20个、至少30个、至少40个、至少50个、至少60个、至少70个、至少80个、至少90个或至少100个氨基酸的多肽缀合)以产生融合蛋白。特别地,本发明提供融合蛋白,所述融合蛋白包含本文所述的抗体的抗原结合片段(例如,Fab片段、Fd片段、Fv片段、F(ab)<sub>2</sub>片段、VH结构域、VH CDR、VL结构域或VLC DR)和异源蛋白、多肽或肽。蛋白质、多肽或肽与抗体或抗体片段融合或缀合的方法是本领域已知的。参见,例如,美国专利号5,336,603、5,622,929、5,359,046、5,349,053、5,447,851和5,112,946;欧洲专利号EP 307,434和EP 367,166;国际公开号W0 96/04388和W0 91/06570;Ashkenazi等人,1991,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:10535-10539;Zheng等人,1995,J.Immunol.154:5590-5600;和Vil等人,1992,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:11337-11341。

[0227] 可通过基因改组、基序改组、外显子改组和/或密码子改组(统称为“DNA改组”)技

术,产生其他融合蛋白。可利用DNA改组来改变本发明抗体或其片段的活性(例如,具有更高亲和力和更低解离速率的抗体或其片段)。通常参见美国专利号5,605,793、5,811,238、5,830,721、5,834,252和5,837,458;Patten等人,1997,Curr.Opinion Biotechnol.8:724-33;Harayama,1998,Trends Biotechnol.16(2):76-82;Hansson等人,1999,J.Mol.Biol.287:265-76;和Lorenzo和Blasco,1998,Biotechniques 24(2):308-313(这些专利和出版物的每篇因而通过引用方式完整地并入)。可以通过在重组之前借助易错PCR、随机核苷酸插入或其他方法经历随机诱变,改变抗体或其片段或编码的抗体或其片段。编码与ANGPTL4蛋白特异性结合的抗体或其片段的多核苷酸可以与一种或多种异源分子的一种或多种组分、基序、节段、部分、结构域、片段等重组。

[0228] 另外,抗体或其片段可以与标记序列(如肽)融合以促进纯化。在优选的实施方案中,标记氨基酸序列是六组氨酸肽,如pQE载体(QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311)等中提供的标签,它们中的许多是可商业获得的。如Gentz等人,1989,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:821-824中所述,例如,六组氨酸提供融合蛋白的便利纯化。用于纯化的其他肽标签包括但不限于血凝素(“HA”)标签,其对应于源自流感血凝素蛋白的表位(Wilson等人,1984,Cell 37:767)和“flag”标签。

[0229] 在其他实施方案中,本发明的抗体或其片段与诊断剂或可检测剂缀合。这类抗体可以作为临床检验方法的部分(如确定特定疗法的效力),用于监测或预测疾病或病症的发作、形成、进展和/或严重性。可以通过将抗体与可检测物质偶联实现这类诊断和检测,所述可检测物质包括但不限于多种酶,如但不限于辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;辅基,如但不限于链霉亲和素/生物素和抗生物素蛋白/生物素;荧光物质,如但不限于伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪胺荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白;发光物质,如但不限于鲁米诺;生物发光物质,如但不限于萤光素酶、萤光素和水母发光蛋白;放射性物质,如但不限于碘( $^{131}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 和 $^{121}\text{I}$ )、碳( $^{14}\text{C}$ )、硫( $^{35}\text{S}$ )、氚( $^3\text{H}$ )、铟( $^{115}\text{In}$ 、 $^{113}\text{In}$ 、 $^{112}\text{In}$ 和 $^{111}\text{In}$ )、锝( $^{99}\text{Tc}$ )、钽( $^{201}\text{Ti}$ )、镓( $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ )、钯( $^{103}\text{Pd}$ )、钼( $^{99}\text{Mo}$ )、氙( $^{133}\text{Xe}$ )、氟( $^{18}\text{F}$ )、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{159}\text{Gd}$ 、 $^{149}\text{Pm}$ 、 $^{140}\text{La}$ 、 $^{175}\text{Yb}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{142}\text{Pr}$ 、 $^{105}\text{Rh}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{68}\text{Ge}$ 、 $^{57}\text{Co}$ 、 $^{65}\text{Zn}$ 、 $^{85}\text{Sr}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{153}\text{Gd}$ 、 $^{169}\text{Yb}$ 、 $^{51}\text{Cr}$ 、 $^{54}\text{Mn}$ 、 $^{75}\text{Se}$ 、 $^{113}\text{Sn}$ 和 $^{117}\text{Te}$ ;和用于各种正电子发射成像术中的正电子发射金属和非放射性顺磁金属离子。

[0230] 本发明还包括与治疗性部分缀合的抗体或其片段的用途。抗体或其片段可缀合到治疗性部分,如细胞毒素(例如细胞生长抑制剂或细胞杀伤剂),治疗剂或放射性金属离子,例如 $\alpha$ 发射体。术语“细胞毒素”或“细胞毒性剂”包括有害于细胞的任何物质。

[0231] 另外,抗体或其片段可以与调节给定生物学反应的治疗性部分或药物部分缀合。治疗性部分或药物部分不得解释为限于经典的化学治疗药。例如,药物部分可以是拥有所需生物学活性的蛋白质、肽或多肽。这类蛋白质可以例如包括毒素如相思豆毒蛋白、蓖麻毒蛋白A、假单胞菌外毒素、霍乱毒素、或白喉毒素;蛋白质如肿瘤坏死因子、 $\alpha$ -干扰素、 $\beta$ -干扰素、神经生长因子、血小板衍生生长因子、组织纤维蛋白溶酶原激活物、凋亡剂、抗血管生成剂或生物学反应调节物,例如淋巴因子。

[0232] 另外,抗体可以缀合至治疗性部分如放射性金属离子,如 $\alpha$ -发射体如 $^{213}\text{Bi}$ 或可用于使放射金属离子(包括但不限于 $^{131}\text{In}$ 、 $^{131}\text{Lu}$ 、 $^{131}\text{Y}$ 、 $^{131}\text{Ho}$ 、 $^{131}\text{Sm}$ )缀合至多肽的大环螯合剂。在某些实施方案中,大环螯合剂是1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸

(DOTA),其可通过接头分子附着到抗体上。这类接头分子是本领域公知的并且在Denardo等人,1998,Clin Cancer Res.4(10):2483-90;Peterson等人,1999,Bioconjug.Chem.10(4):553-7;和Zimmerman等人,1999,Nucl.Med.Biol.26(8):943-50中描述,所述文献每篇通过引用的方式完整并入。

[0233] 用于治疗性部分与抗体缀合的技术是熟知的,参见,例如Arnon等人,“Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy”,引自Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy,Reisfeld等人(编著),第243-56页(Alan R.Liss, Inc.1985);Hellstrom等人,“Antibodies For Drug Delivery”,引自Controlled Drug Delivery(第2版),Robinson等人(编著),第623-53页(Marcel Dekker, Inc.1987);Thorpe, “Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy:A Review”,引自Monoclonal Antibodies 84:Biological And Clinical Applications,Pinchera等人(编著),第475-506页(1985);“Analysis,Results,And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy”,引自Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy,Baldwin等人(编著),第303-16页(Academic Press 1985)和Thorpe等人,1982,Immunol.Rev.62:119-58。

[0234] 抗体也可以连接至固相支持物,所述支持物特别可用于免疫测定法或靶抗原的纯化。此类固相支持物包括但不限于玻璃、纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

[0235] 产生本发明抗体的方法

[0236] 编码抗体的核酸

[0237] 本发明提供基本上纯化的核酸分子,所述核酸分子编码包含上述结合ANGPTL4的抗体链的区段或结构域的多肽。本发明的一些核酸包含编码SEQ ID NO:13、38、58、78、98、118或138中所示的重链可变区的核苷酸序列,和/或编码SEQ ID NO:23、48、68、88、108、128或148中所示的轻链可变区的核苷酸序列。在一个具体实施方案中,核酸分子是表1中鉴定的那些。本发明的一些其他核酸分子包含与表1中鉴定的那些核酸分子的核苷酸序列基本上同一(例如,至少65%、80%、95%、或99%同一)的核苷酸序列。从适宜的表达载体表达时,由这些多核苷酸编码的多肽能够显示ANGPTL4抗原结合能力。

[0238] 本发明中还提供多核苷酸,所述多核苷酸编码来自上文所述的结合ANGPTL4的抗体的重链或轻链的至少一个CDR区和通常全部三个CDR区。一些其他多核苷酸编码上文所述的结合ANGPTL4的抗体的重链和/或轻链的全部或基本上全部的可变区序列。由于密码子的简并性,每一种免疫球蛋白氨基酸序列可以由多种核酸序列编码。

[0239] 本发明的核酸分子能编码抗体的可变区和恒定区两者。本发明的一些核酸序列包含编码重链序列的核苷酸,所述重链序列与SEQ ID NO:15、28、40、60、80、100、120和140中所述的重链序列基本上同一(例如,至少80%、90%或99%同一)。一些其他核酸序列包含编码轻链序列的核苷酸,所述轻链序列与SEQ ID NO:25、50、70、90、110、130和150中所述的轻链序列基本上同一(例如,至少80%、90%或99%同一)。

[0240] 可以通过从头固相DNA合成或通过PCR诱变编码结合ANGPTL4的抗体或其结合片段的现有序列(例如,如下文实施例中所述的序列),产生多核苷酸序列。可以通过本领域已知的方法完成核酸的直接化学合成,如Narang等人,1979,Meth.Enzymol.68:90的磷酸三酯

法;Brown等人,Meth.Enzymol.68:109,1979的磷酸二酯法;Beaucage等人,Tetra.Lett., 22:1859,1981的二乙基磷酰亚胺法;和美国专利号4,458,066的固相支持法。通过PCR向多核苷酸序列引入突变可以如同例如PCR Technology:Principles and Applications for DNA Amplification,H.A.Erlich(编著),Freeman Press,NY,NY,1992;PCR Protocols:A Guide to Methods and Applications,Innis等人(编著),Academic Press,San Diego, CA,1990;Mattila等人,Nucleic Acids Res.19:967,1991;和Eckert等人,PCR Methods and Applications 1:17,1991中所述那样进行。

[0241] 本发明中还提供用于产生上文描述的结合ANGPTL4的抗体的表达载体和宿主细胞。多种表达载体可以用来表达编码结合ANGPTL4的抗体链或结合片段的多核苷酸。基于病毒的表达载体和非病毒表达载体都可用于在哺乳动物宿主细胞中产生抗体。非病毒载体和系统包含质粒、游离型载体,一般含有用于表达蛋白质或RNA的表达盒,和人类人工染色体(参见,例如,Harrington等人,Nat Genet 15:345,1997)。例如,可用于哺乳动物(例如人)细胞中表达结合ANGPTL4的多核苷酸和多肽的非病毒载体包括pThioHis A、B和C、pcDNA3.1/His、pEBVHis A、B和C(Invitrogen,圣迭戈,CA)、MPSV载体和本领域已知用于表达其他蛋白质的许多其他载体。有用的病毒载体包括基于逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒的载体,基于SV40、乳头瘤病毒、HBV EB病毒、痘苗病毒载体和Semliki森林病毒(SFV)的载体。参见,Brent等人,上文;Smith,Annu.Rev.Microbiol.49:807,1995;和Rosenfeld等人,Cell 68:143,1992。

[0242] 表达载体的选择依赖于待在其中表达该载体的预期宿主细胞。一般,表达载体含有与编码结合ANGPTL4的抗体链或片段的多核苷酸有效连接的启动子和其他调节序列(例如,增强子)。在一些实施方案中,用诱导型启动子来防止插入序列在诱导条件之外的条件下表达。诱导型启动子包括,例如阿拉伯糖、lacZ、金属硫蛋白启动子或热休克启动子。可在非诱导条件下扩大转化的生物培养物,而不偏离表达产物能更好地被宿主细胞耐受的编码序列群体。除启动子之外,也可能要求或需要其他调节元件用于有效表达结合ANGPTL4的抗体链或片段。这些元件通常包括ATG起始密码子和邻近核糖体结合位点或其他序列。此外,可以通过纳入适用于所用细胞系统的增强子增强表达的效率(参见,例如,Scharf等人,Results Probl.Cell Differ.20:125,1994;和Bittner等人,Meth.Enzymol.,153:516,1987)。例如,SV40增强子或CMV增强子可用于提高哺乳动物宿主细胞中的表达。

[0243] 表达载体还可以提供分泌信号序列位置以形成含有多肽的融合蛋白,其中所述多肽由插入的结合ANGPTL4的抗体序列编码。更经常地,插入的结合ANGPTL4的抗体序列在纳入载体之前与信号序列连接。待用来接受编码结合ANGPTL4的抗体轻链可变结构域和重链可变结构域的序列的载体有时还编码恒定区或其部分。此类载体允许可变区表达为与恒定区的融合蛋白,由此导致完整抗体或其片段的产生。通常,此类恒定区是人的恒定区。

[0244] 用于携带并表达结合ANGPTL4的抗体链的宿主细胞可以是原核的或真核的宿主细胞。大肠杆菌是可以用于克隆和表达本发明的多核苷酸的一种原核宿主。适合使用的其他微生物宿主包括杆菌如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),和其他肠杆菌属(*Enterobacter*)如沙门氏菌属(*Salmonella*)、沙雷菌属(*Serratia*)和多种假单胞菌属(*Pseudomonas*)物种。在这些原核宿主中,还可以产生一般含有与宿主细胞相容的表达控制序列(例如,复制起点)的表达载体。此外,将存在任何数目的多种熟知启动子,如乳糖启动

子系统、色氨酸(trp)启动子系统、 $\beta$ -内酰胺酶启动子系统或来自噬菌体 $\lambda$ 的启动子系统。启动子通常控制表达,任选地与操纵子序列一起控制表达,并具有核糖体结合位点序列等,用于起始并完成转录和翻译。其他微生物,如酵母,也可以用来表达结合ANGPTL4的本发明多肽。也可组合使用昆虫细胞与杆状病毒载体。

[0245] 在一些优选的实施方案中,哺乳动物宿主细胞用来表达并产生结合ANGPTL4的本发明多肽。例如,它们可以是表达内源免疫球蛋白基因的杂交瘤细胞系(例如,如实施例中所描述的1D6.C9骨髓瘤杂交瘤克隆)或携带外源表达载体的哺乳动物细胞系(例如,下文例举的SP2/0骨髓瘤细胞)。这些包括任何正常的非永生的或正常或非正常的永生的动物细胞或人细胞。例如,已经开发出能够分泌完整免疫球蛋白的多种合适宿主细胞系,包括CHO细胞系、多种Cos细胞系、HeLa细胞、骨髓瘤细胞系、转化的B细胞和杂交瘤。通常例如在Winnacker, FROM GENES TO CLONES, VCH Publishers, N.Y., N.Y., 1987中讨论了使用哺乳动物组织细胞培养物表达多肽。用于哺乳动物宿主细胞的表达载体可以包括表达控制序列,如复制起点、启动子和增强子(参见,例如,Queen等人, Immunol. Rev. 89: 49-68, 1986),和必需的加工信息位点如核糖体结合位点、RNA剪接位点、聚腺苷酸化位点和转录终止子序列。这些表达载体通常含有衍生自哺乳动物基因或哺乳动物病毒的启动子。合适的启动子可以是组成型的、细胞类型特异的、阶段特异的和/或可调节或可控制的。有用的启动子包括但不限于金属硫蛋白启动子、组成型腺病毒主要晚期启动子、地塞米松诱导型MMTV启动子、SV40启动子、MRP polIII启动子、组成型MPSV启动子、四环素诱导型CMV启动子(如人CMV立即早期启动子)、组成型CMV启动子和本领域已知的启动子-增强子组合。

[0246] 用于引入含有目的多核苷酸序列的表达载体的方法根据细胞宿主的类型变动。例如,氯化钙转染常用于原核细胞,而磷酸钙处理法或电穿孔法可以用于其他细胞宿主。(通常见Sambrook等人,上文)。其他方法例如包括电穿孔法、磷酸钙处理法、脂质体介导转化法、注射法和微量注射法、抛射体法、病毒体法、免疫脂质体法、聚阳离子:核酸缀合物法、裸DNA法、人工病毒粒法、疱疹病毒结构蛋白VP22融合法(Elliot和O'Hare, Cell 88: 223, 1997)、试剂增强的DNA摄取法和离体转导法。对于重组蛋白质的长期高产率产生,通常期望稳定表达。例如,可以使用含有病毒复制起点或内源表达元件和选择标记基因的本发明表达载体,制备稳定表达结合ANGPTL4的抗体链或结合片段的细胞系。在引入该载体之后,可以允许细胞在加富培养基中生长1-2日,之后将它们转换至选择性培养基。选择标记目的是赋予选择抗性,并且它的存在允许成功表达所引入序列的细胞在选择性培养基中生长。抗性、稳定转染的细胞可以使用适于该细胞类型的组织培养技术增殖。

#### [0247] 本发明单克隆抗体的产生

[0248] 可以通过多种技术产生单克隆抗体(mAb),所述技术包括常规单克隆抗体方法学例如,Kohler和Milstein, 1975 Nature 256: 495的标准体细胞杂交技术。可以使用产生单克隆抗体的许多技术,例如,B淋巴细胞的病毒性或致癌性转化。

[0249] 用于制备杂交瘤的动物系统包括鼠类、大鼠和兔系统。在小鼠中产生杂交瘤是一项充分建立的方法。用于分离免疫的脾细胞以便融合的免疫操作方案和技术是本领域已知的。融合配偶体(例如,鼠骨髓瘤细胞)和融合方法也是已知的。

[0250] 可以基于上文所述制备的鼠单克隆抗体的序列,制备本发明的嵌合抗体或人源化抗体。编码重链和轻链免疫球蛋白的DNA可以从目的鼠杂交瘤获得并且使用标准分子生物



学技术,经工程化以含有非鼠(例如人)免疫球蛋白序列。例如,为产生嵌合抗体,可以使用本领域已知的方法,将鼠可变区与人恒定区连接(见例如授予Cabilly等人的美国专利号4,816,567)。为了产生人源化抗体,可以使用本领域已知的方法,将鼠CDR区插入人构架中。参见例如,授予Winter的美国专利号5225539,和授予Queen等人的美国专利号5530101;5585089;5693762和6180370。

[0251] 在某个实施方案中,本发明的抗体是人源化抗体。可以使用携带部分人免疫系统而非小鼠系统的转基因小鼠或转染色体小鼠,产生这类针对ANGPTL4的人源化抗体。这些转基因小鼠和转染色体小鼠包括本文中分别称作HuMAb小鼠和KM小鼠的小鼠,并且在本文中统称为“人Ig小鼠”。

[0252] HuMAb小鼠<sup>®</sup>(Medarex, Inc.)含有人免疫球蛋白基因微基因座,所述微基因座编码未重排的人重链免疫球蛋白序列( $\mu$ 和 $\gamma$ )和K轻链免疫球蛋白序列,以及使内源 $\mu$ 和K链基因座失活的靶向的突变(参见例如,Lonberg等人,1994Nature 368(6474):856-859)。因此,这种小鼠显示减少的小鼠IgM或K表达,并且响应于免疫,引入的人重链和轻链转基因经历类转换和体细胞突变以产生高亲和力人IgG<sub>K</sub>单克隆(Lonberg, N.等人,1994上文;综述于Lonberg, N., 1994Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101;Lonberg, N.和Huszar, D., 1995Intern. Rev. Immunol. 13:65-93,和Harding, F.和Lonberg, N., 1995, 1995Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:536-546)。HuMAb小鼠的制备和使用以及这类小鼠携带的基因组修饰进一步在Taylor, L.等人, 1992Nucleic Acids Research 20:6287-6295;Chen, J.等人, 1993International Immunology 5:647-656;Tuailon等人, 1993Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:3720-3724;Choi等人, 1993Nature Genetics 4:117-123;Chen, J.等人, 1993EMBO J. 12:821-830;Tuailon等人, 1994J. Immunol. 152:2912-2920;Taylor, L.等人, 1994International Immunology 579-591;和Fishwild, D.等人, 1996Nature Biotechnology 14:845-851中描述,所述全部文献的内容因而特别通过引用的方式完整并入。还参见全部授予Lonberg和Kay的美国专利号5,545,806;5,569,825;5,625,126;5,633,425;5,789,650;5,877,397;5,661,016;5,814,318;5,874,299;和5,770,429;授予Surani等人的美国专利号5,545,807;全部授予Lonberg和Kay的PCT公开号W0 92103918、W0 93/12227、W0 94/25585、W0 97113852、W0 98/24884和W0 99/45962;和授予Korman等人的PCT公开号W0 01/14424。

[0253] 在另一个实施方案中,可以使用在转基因和转染色体上携带人免疫球蛋白序列的小鼠如携带人重链转基因和人轻链转染色体的小鼠,产生本发明的人抗体。本文中称作“KM小鼠”的这类小鼠在授予Ishida等人的PCT公开W0 02/43478中详述。

[0254] 另外,表达人免疫球蛋白基因的替代性转基因动物系统是本领域可获得的并且可以用来产生本发明结合ANGPTL4的抗体。例如,可以使用称作Xenomouse (Abgenix, Inc.)的替代性转基因系统。这类小鼠在例如授予Kucherlapati等人的美国专利号5,939,598;6,075,181;6,114,598;6,150,584和6,162,963中描述。

[0255] 另外,表达人免疫球蛋白基因的替代性转染色体动物系统是本领域可获得的并且可以用来产生本发明结合ANGPTL4的抗体。例如,可以使用称作“TC小鼠”的携带人重链转染色体和人轻链转染色体两者的小鼠;这类小鼠在Tomizuka等人, 2000Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:722-727中描述。另外,携带人重链和轻链染色体的奶

牛已经在本领域中描述 (Kuroiwa等人, 2002 Nature Biotechnology 20:889-894) 且可以用来产生本发明结合ANGPTL4的抗体。

[0256] 也可以使用筛选人免疫球蛋白基因文库的噬菌体展示法, 制备本发明的人源化抗体。本领域建立了或以下实施例中描述了分离人抗体的这类噬菌体展示法。参见例如: 授予Ladner等人的美国专利号5,223,409; 5,403,484; 和5,571,698; 授予Dower等人的美国专利号5,427,908和5,580,717; 授予McCafferty等人的美国专利号5,969,108和6,172,197; 和授予Griffiths等人的美国专利号5,885,793; 6,521,404; 6,544,731; 6,555,313; 6,582,915和6,593,081。

[0257] 也可以使用SCID小鼠制备本发明的人源化抗体, 其中已经向所述SCID小鼠内重构人免疫细胞, 从而一旦免疫就可以产生人抗体反应。这类小鼠在例如授予Wilson等人的美国专利号5,476,996和5,698,767中描述。

#### [0258] 构架或Fc工程化

[0259] 本发明的工程化抗体包括其中VH和/或VL内的构架残基已被修饰例如以改善抗体性质的那些抗体。一般, 进行这种构架修饰以降低抗体的免疫原性。例如, 一种方案是将一个或多个构架残基“回复突变”成相应的种系序列。更具体地, 已经历过体细胞突变的抗体可以含有与衍生该抗体的种系序列不同的构架残基。可以通过将抗体构架序列与衍生该抗体的种系序列比较而鉴定这类残基。为了使构架区序列恢复其种系构型, 可以例如通过位点定向诱变, 将体细胞突变“回复突变”成种系序列。此类“回复突变的”抗体也意在由本发明涵盖。

[0260] 另一个类型的构架修饰涉及使构架区内部、或甚至一个或多个CDR区内部的一个或多个残基突变, 以移除T细胞表位, 从而减少抗体的潜在免疫原性。该方法也称为“去免疫化”, 并进一步详细描述于Carr等的美国专利公开号20030153043中。

[0261] 除在构架或CDR区内进行的修饰外, 本发明的抗体还可以或备选地可以被改造以包括Fc区内的修饰, 通常用来改变抗体的一种或多种功能性质, 如血清半寿期、补体固定、Fc受体结合和/或抗原依赖性细胞毒性。此外, 可化学修饰 (例如, 一个或多个化学部分可附着到抗体上) 或修饰本发明的抗体以改变其糖基化, 进而改变抗体的一种或多种功能性质。下文中进一步详细描述了这些实施方案中的每一个实施方案。Fc区中残基的编号是Kabat的EU索引。

[0262] 在一个实施方案中, 修饰CH1的铰链区, 使得改变 (例如增加或减少) 铰链区中半胱氨酸残基的数目。Bodmer等的美国专利号5,677,425中进一步描述了该方法。改变CH1的铰链区中半胱氨酸残基的数目, 例如用来便于轻链和重链的装配、或提高或降低抗体的稳定性。

[0263] 在另一实施方案中, 突变抗体的Fc铰链区, 以降低抗体的生物半寿期。更特别地, 可以向Fc铰链片段的CH2-CH3结构域界面区引入一个或多个氨基酸突变, 使得抗体相对于天然的Fc铰链结构域SpA结合具有受损的葡萄球菌蛋白A (SpA) 结合。在Ward等人的美国专利号6,165,745中更详细地描述了这种方法。

[0264] 在另一实施方案中, 修饰抗体以增加其生物半寿期。可使用多种方法。例如, 可以引入以下一种或多种突变: T252L、T254S、T256F, 如Ward的美国专利号6,277,375中所述。备选地, 为了增加生物学半寿期, 可以在CH1或CL区内部改变抗体以含有救援受体 (salvage

receptor) 结合表位, 所述救援受体结合表位取自 IgG 的 Fc 区的 CH2 结构域的两个环, 如 Presta 等人的美国专利号 5,869,046 和 6,121,022 中所述。

[0265] 还在其他实施方案中, 通过将至少一个氨基酸残基替换为不同氨基酸残基, 改变 Fc 区, 以改变抗体的效应子功能。例如, 可用不同氨基酸残基替换一个或多个氨基酸, 使得抗体对效应子配体具有改变的亲和力, 但保留亲本抗体的抗原结合能力。改变亲和力的效应子配体可以是例如 Fc 受体或补体的 C1 组分。这种方法在 Winter 等人的美国专利号 5,624,821 和 5,648,260 中进一步详细描述。

[0266] 在另一实施方案中, 可用不同氨基酸残基替换选自氨基酸残基的一个或多个氨基酸, 使得抗体具有改变的 C1q 结合/或降低的或消除的补体依赖性细胞毒性 (CDC)。这种方法在美国专利号 6,194,551 (Idusogie 等人) 中进一步详细描述。

[0267] 在另一实施方案中, 改变一个或多个氨基酸残基, 由此改变抗体固定补体的能力。这种方法在 Bodmer 等人的 PCT 公开 W0 94/29351 中进一步描述。

[0268] 还在另一实施方案中, 修饰 Fc 区以提高抗体介导抗体依赖性细胞毒性 (ADCC) 的能力, 和/或通过修饰一个或多个氨基酸来增加抗体对 Fc  $\gamma$  受体的亲和力。这种方法在 Presta 的 PCT 公开 W0 00/42072 中进一步描述。另外, 人 IgG1 上 Fc  $\gamma$  R1、Fc  $\gamma$  RII、Fc  $\gamma$  RIII 和 FcRn 的结合位点已经定位, 并且已经描述了具有改进的结合作用的变体 (见 Shields, R.L. 等人, 2001 J. Biol. Chem. 276:6591-6604)。

[0269] 还在另一实施方案中, 修饰抗体的糖基化。例如, 可以产生非糖基化的抗体 (即, 抗体缺少糖基化)。可以改变糖基化以便例如增加抗体对“抗原”的亲和力。这类糖修饰也可以通过例如改变抗体序列内部的一个或多个糖基化位点来完成。例如, 可以产生一个或多个氨基酸置换, 所述氨基酸置换导致消除一个或多个可变区构架糖基化位点, 从而消除在这个位点处的糖基化。这种非糖基化可以增加抗体对抗原的亲和力。在例如 Co 等人的美国专利号 5,714,350 和 6,350,861 中更详细地描述了这种方法。

[0270] 额外地或备选地, 可以产生一种抗体, 所述抗体具有改变的糖基化类型, 如岩藻糖残基数量减少的过低岩藻糖化的抗体或具有对分 GlcNac 结构增加的抗体。这类改变的糖基化模式已经展示增加抗体的 ADCC 能力。这类糖修饰可以通过例如在具有改变的糖基化装置的宿主细胞中表达这种抗体而完成。已经在本领域中描述了具有改变的糖基化机器的细胞, 并且该细胞可用作表达本发明重组抗体的宿主细胞, 由此产生具有改变的糖基化的抗体。例如, Hang 等人的 EP 1,176,195 描述了编码岩藻糖基转移酶的 FUT8 基因在功能上遭破坏的细胞系, 从而在这种细胞系中表达的抗体显示过低岩藻糖化。Presta 的 PCT 公开 W0 03/035835 描述了一种变异 CHO 细胞系 (Lec13 细胞), 所述细胞系具有降低的将岩藻糖连接至 Asn (297) 联糖的能力, 这也导致在这种宿主细胞中表达的抗体过低岩藻糖化 (还参见 Shields, R.L. 等人, 2002 J. Biol. Chem. 277:26733-26740)。Umana 等人的 PCT 公开 W0 99/54342 描述了经工程化以表达修饰糖蛋白的糖基转移酶 (例如  $\beta$  (1,4)-N-乙酰葡萄糖胺基转移酶 III (GnTIII)) 的细胞系, 从而在这种工程化的细胞系中表达的抗体显示出增加的对分 GlcNac 结构物, 这导致抗体的增加的 ADCC 活性 (还参见 Umana 等人, 1999 Nat. Biotech. 17:176-180)。

[0271] 工程化改变的抗体的方法

[0272] 如上文讨论, 通过修饰全长重链和/或轻链序列、VH 和/或 VL 序列或与其连接的恒

定区,具有本文所示的VH和VL序列或全长重链和轻链序列的结合ANGPTL4的抗体可以用来产生结合ANGPTL4的新抗体。因此,在本发明的另一个方面,结合ANGPTL4的本发明抗体的结构特征用来产生结构上相关的结合ANGPTL4的抗体,所述抗体保留本发明抗体的至少一种功能特性,如与人ANGPTL4的结合和还抑制ANGPTL4的一个或多个功能特征(例如,抑制ANGPTL4与ANGPTL4受体结合、抑制ANGPTL4依赖性细胞增殖)。

[0273] 例如,本发明的抗体或其突变物的一个或多个CDR区可以重组地与已知的构架区和/或其他CDR组合,以产生额外的重组工程化的本发明结合ANGPTL4的抗体,如上文讨论。其他类型的修饰包括在先前部分中描述的那些修饰。用于工程化方法的初始材料是本文中提供的一个或多个VH序列和/或VL序列或其一个或多个CDR区。为产生工程化抗体,不需要实际地制备(即表达为蛋白质)具有本文中提供的一个或多个VH序列和/或VL序列或其一个或多个CDR区的抗体。相反,使用序列中所含的信息作为初始材料以产生源自原始序列的“第二代”序列并且随后制备“第二代”序列并且表达为蛋白质。

[0274] 因此,在另一个实施方案中,本发明提供了一种用于制备结合ANGPTL4的抗体的方法,所述结合ANGPTL4的抗体由重链可变区抗体序列和轻链可变区抗体序列组成,所述重链可变区抗体序列具有选自SEQ ID NO:7、32、52、72、92、112和132的CDR1序列、选自SEQ ID NO:8、33、53、73、93、113和133的CDR2序列和/或选自SEQ ID NO:9、34、54、74、94、114和134的CDR3序列;所述轻链可变区抗体序列具有选自SEQ ID NO:17、42、62、82、102、122和142的CDR1序列、选自SEQ ID NO:18、43、63、83、103、123和143的CDR2序列和/或选自SEQ ID NO:19、44、64、84、104、124和144的CDR3序列;改变重链可变区抗体序列和/或轻链可变区抗体序列内部的至少一个氨基酸残基以产生至少一个改变的抗体序列;并且将改变的抗体序列表达为蛋白质。

[0275] 因此,在另一个实施方案中,本发明提供了一种用于制备结合ANGPTL4的抗体的方法,所述结合ANGPTL4的抗体由重链可变区抗体序列和轻链可变区抗体序列组成,所述重链可变区抗体序列具有选自SEQ ID NO:10、35、55、75、95、115和135的CDR1序列、选自SEQ ID NO:11、36、56、76、96、116和136的CDR2序列和/或选自SEQ ID NO:12、37、57、77、97、117和137的CDR3序列;所述轻链可变区抗体序列包含选自SEQ ID NO:20、45、65、85、105、125和145的CDR1序列、选自SEQ ID NO:21、46、66、86、106、126和146的CDR2序列和/或选自SEQ ID NO:22、47、67、87、107、127和147的CDR3序列;改变重链可变区抗体序列和/或轻链可变区抗体序列内部的至少一个氨基酸残基以产生至少一个改变的抗体序列;并且将改变的抗体序列表达为蛋白质。

[0276] 因此,在另一个实施方案中,本发明提供一种用于制备为哺乳动物细胞中表达而优化的结合ANGPTL4的抗体的方法,所述结合ANGPTL4的抗体由全长重链抗体序列和全长轻链抗体序列组成,所述全长重链抗体序列具有选自SEQ ID NO:15、28、40、60、80、100、120和140的序列;所述全长轻链抗体序列具有选自SEQ ID NO:25、50、70、90、110、130和150的序列;改变全长重链抗体序列和/或全长轻链抗体序列内部的至少一个氨基酸残基以产生至少一个改变的抗体序列;并且将改变的抗体序列作为蛋白质表达。在一个实施方案中,重链或轻链的改变处于重链或轻链的构架区内。

[0277] 也可以通过筛选抗体文库制备改变的抗体序列,所述抗体文库具有如US 2005025552中所述的固定的CDR3序列或最小必需结合决定簇并在CDR1和CDR2序列上具有

多样性。可以根据适于从抗体文库筛选抗体的任何筛选技术(如噬菌体展示技术)进行筛选。

[0278] 可以用标准分子生物学技术来制备并表达改变的抗体序列。由改变的抗体序列编码的抗体是这样一种抗体,所述抗体保留本文所述的结合ANGPTL4的抗体的一个、一些或全部功能特征,所述功能特征包括但不限于与人、食蟹猴、大鼠和/或小鼠ANGPTL4特异性结合;并且所述抗体在F36E和/或Ba/F3-ANGPTL4R细胞增殖测定法中抑制ANGPTL4依赖性细胞增殖。

[0279] 在工程化本发明抗体的方法的某些实施方案中,可以随机地或选择性地沿着全部或部分的结合ANGPTL4的抗体编码序列引入突变,并且可以对所得到的结合ANGPTL4的经修饰抗体筛选如本文所述的结合活性和/或其他功能特征。已经在本领域描述了突变方法。例如,Short的PCT公开W0 02/092780描述了用于使用饱和诱变法、合成连接装配法或其组合产生并筛选抗体突变物的方法。备选地,Lazar等人的PCT公开W0 03/074679描述了使用计算筛选方法优化抗体物理化学特性的方法。

[0280] 在本发明的某些实施方案中,已经将抗体工程化以移除脱酰胺化位点。已知的脱酰胺化在肽或蛋白质中造成结构性和功能性改变。脱酰胺化可以导致降低的生物学活性,以及蛋白质药物药代动力学和抗原性的改变。(Anal Chem.2005Mar 1;77(5):1432-9)。

[0281] 在本发明的某些实施方案中,已经将抗体工程化以增加pI并改善它们的药物样特性。蛋白质的pI是分子总体生物物理特性的决定因素。已经已知具有低pI的抗体更不可溶解,较不稳定和易于聚集。另外,具有低pI的抗体的纯化困难并且可能棘手,尤其在放大用于临床使用期间。增加本发明的抗ANGPTL4抗体或Fab的pI改善其溶解度,使得按较高浓度(>100mg/ml)配制抗体成为可能。以高浓度(例如>100mg/ml)配制抗体提供以下优点:能够将较高剂量的抗体借助玻璃体内注射施用至患者的眼部中,这转而可以实现给药频率减少,这是一个治疗慢性疾病(包括心血管病)的明显优点。更高的pI还可能增加FcRn介导的IgG形式的抗体再循环,因此使得药物在身体内续存较长持续时间成为可能,需要更少的注射。最后,由于较高的pI导致更长的货架期和体内生物学活性,抗体的总体稳定性显著地改善。优选地,pI大于或等于8.2。

[0282] 可以使用本领域可获得的和/或本文所述的标准测定法,如实施例中所述的那些(例如,ELISA),评估改变的抗体的功能特性。

[0283] 预防性用途和治疗性用途

[0284] 例如,如本文所述的结合ANGPTL4的抗体或可以在治疗有用的浓度,通过向有需求的受试者施用有效量的本发明抗体或抗原结合片段,用于治疗与ANGPTL4水平和/或活性增加相关的疾病或病症。本发明还提供一种通过向有需求的受试者施用有效量的本发明抗体,治疗ANGPTL4相关的心血管病的方法。本发明还提供一种通过向有需求的受试者施用有效量的本发明抗体,治疗ANGPTL4相关的心血管病的方法。

[0285] 本发明的抗体可以尤其用来预防治疗、防止和改善ANGPTL4相关的病状或病症,所述病状或病症包括但不限于任何数目的其中ANGPTL4蛋白水平异常高和/或其中寻求降低ANGPTL4蛋白水平的病状或疾病。这些病状包括但不限于涉及脂质代谢的那些病状,如高脂血症、高脂蛋白血症和血脂异常,包括致粥样硬化性血脂异常、糖尿病血性脂异常、高甘油三酯血症(例如,重度高甘油三酯血症(例如,TG>1000mg/dL)、与肥胖相关的高甘油三酯血

症、和V型高甘油三酯血症)、高胆固醇血症、乳糜微粒血症、混合性血脂异常(肥胖症、代谢综合征、糖尿病等)、脂肪营养不良(lipodystrophy)、脂肪萎缩和由例如LPL活性降低和/或LPL缺乏、LDL受体活性降低和/或LDL受体缺乏、ApoC2改变、ApoE缺乏、ApoB增加、极低密度脂蛋白(VLDL)的产生增加和/或其消除减少、某些药物治疗(例如,糖皮质激素治疗所致血脂异常)、任何遗传素质、膳食、生活方式等引起的其他病状。

[0286] 与高脂血症、高脂蛋白血症和/或血脂异常相关或因其产生的其他ANGPTL4相关疾病或病症包括但不限于心血管疾病或病症,如动脉粥样硬化、血管瘤、高血压、心绞痛、卒中、脑血管病、充血性心力衰竭、冠状动脉病、心肌梗死、外周血管疾病等;急性胰腺炎;非酒精性脂肪性肝炎(NASH);血糖紊乱如糖尿病;肥胖症等。

[0287] 本发明的抗体也可以与预防、治疗或改善ANGPTL4相关病症的其他药物组合使用。例如,他汀治疗药可以与本发明的ANGPTL4抗体和抗原结合片段组合用于治疗患有甘油三酯相关病症的患者。

[0288] 药物组合物

[0289] 本发明提供药物组合物,所述组合物包含与可药用载体配制在一起的结合ANGPTL4的抗体(完整抗体或其结合片段)。该组合物可以额外地含有适于例如治疗或预防心血管病的一种或多种其他治疗药。可药用载体增强或稳定组合物,或可以用来促进组合物的制备。可药用载体包括生理上相容的溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。

[0290] 可以通过本领域已知的多种方法施用本发明的药物组合物。施用途径和/或模式根据所需的结果变动。优选玻璃体内、静脉内、肌内、腹内或皮下施用或靠近靶部位施用。可药用载体应当适于玻璃体内、静脉内、肌内、皮下、肠胃外、脊髓或表皮施用(例如,通过注射或输注)。取决于施用途径,可以将活性化合物(即,抗体,双特异性和多特异性分子)包覆在保护该化合物免遭可能使这种化合物失活的酸和其他天然条件作用的材料中。

[0291] 组合物应当是无菌和流动的。可以例如通过使用包衣如卵磷脂、在分散体情况下通过维持要求的粒度和通过使用表面活性剂,维持适宜的流动性。在许多情况下,优选在组合物中包含等渗剂,例如糖、多元醇如甘露醇或山梨醇和氯化钠。可以通过在组合物中包含延迟吸收的物质例如单硬脂酸铝或明胶,引起可注射组合物的长期吸收。

[0292] 可以根据本领域熟知和常规实施的方法制备本发明的药物组合物。参见,例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy,Mack Publishing Co.,第20版,2000和Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems,J.R.Robinson编著,Marcel Dekker,Inc.,New York,1978。优选地在GMP条件下制造药物组合物。一般,在本发明的药物组合物中使用治疗有效剂量的或有效剂量的结合ANGPTL4的抗体。通过本领域技术人员已知的常规方法,将结合ANGPTL4的抗体配制成可药用的剂型。调整剂量方案以提供最佳的所需反应(例如,治疗反应)。例如,可以施用单次大丸剂,可以随时间推移施用几个分开的剂量,或可以如治疗情况的危急性所示,按比例减少或增加该剂量。特别有利的是以剂量单位形式配制肠胃外组合物以易于剂量的施用和均匀性。如本文所用的剂量单位形式指适合作为用于待治疗受试者的单一剂量的物理分立的单元;每个单元含有预定量的活性化合物,所述的预定量经计算与所要求的药用载体结合时产生所需的治疗效果。

[0293] 可以变动有效成分在本发明药物组合物中的实际剂量水平,从而以获得有效成分

的量,其中对于特定患者、组合物和施用模型,所述的量有效实现想要的治疗反应,而对患者无毒。选择的剂量水平取决于多种药物代谢动力学因素,包括所用的本发明特定组合物或其酯、盐或酰胺的活性、施用途径、施用时间、正在使用的化合物的排泄速率、治疗的持续期、与所用特定组合物联合使用的其他药物、化合物和/或材料、正在治疗的患者的年龄、性别、重量、状况、总体健康和既往病史等因素。

[0294] 医师或兽医可以在低于为实现所需治疗作用而要求的水平开始在药物组合物中使用的结合ANGPTL4的本发明抗体的剂量并且逐渐地增加剂量直至所需的作用实现。从总体上看,用于治疗本文所述的心血管病的本发明组合物的有效剂量根据许多不同因素变动,所述因素包括施用手段、靶部位、患者的生理状态、患者是否为人或动物、施用的其他用药和治疗是否为预防治疗或治疗性治疗。治疗剂量需要滴定以优化安全性和效力。对于全身性施用抗体,剂量是约0.0001至100mg/kg和更常见地0.01至15mg/kg宿主体重。对于玻璃体内施用抗体,剂量可以是0.1mg/眼至5mg/眼。例如,0.1mg/ml、0.2mg/ml、0.3mg/ml、0.4mg/ml、0.5mg/ml、0.6mg/ml、0.7mg/ml、0.8mg/ml、0.9mg/ml、1.0mg/ml、1.1mg/ml、1.2mg/ml、1.3mg/ml、1.4mg/ml、1.5mg/ml、1.6mg/ml、1.7mg/ml、1.8mg/ml、1.9mg/ml、2.0mg/ml、2.1mg/ml、2.2mg/ml、2.3mg/ml、2.4mg/ml、2.5mg/ml、2.6mg/ml、2.7mg/ml、2.8mg/ml、2.9mg/ml、3.0mg/ml、3.1mg/ml、3.2mg/ml、3.3mg/ml、3.4mg/ml、3.5mg/ml、3.6mg/ml、3.7mg/ml、3.8mg/ml、3.9mg/ml、4.0mg/ml、4.1mg/ml、4.2mg/ml、4.3mg/ml、4.4mg/ml、4.5mg/ml、4.6mg/ml、4.7mg/ml、4.8mg/ml、4.9mg/ml或5.0mg/ml。一个示例性治疗方案能够进行每两周一次或每月一次或每3至6个月一次全身性施用。一个示例性治疗方案能够进行每两周一次或每月一次或每3至6个月一次或根据需要 (PRN) 全身性施用。

[0295] 通常在多种情形下施用抗体。单个剂量之间的时间间隔可以是每周一次、每月一次或每年一次。间隔期也可以是不规则的,如通过测量结合ANGPTL4的抗体在患者中的血液水平所指示。此外,备选给药间隔时间可以由医师确定并且每月施用一次或如需要的效果施用。在一些全身性施用方法中,调整剂量以实现1-1000 $\mu$ g/ml的血浆抗体浓度,并且在一些方法中以实现25-500 $\mu$ g/ml的血浆抗体浓度。备选地,抗体可以作为持续释放形式施用,在这种情况下需要较少频率的施用。根据抗体在患者中的半寿期变动剂量和频率。通常,人源化抗体显示比嵌合抗体和非人抗体更长的半寿期。可以根据治疗是否为预防性或治疗性而变动施用的剂量和频率。在预防性应用中,相对低的剂量以相对地不频繁的间隔期在长的时间范围内施用。一些患者继续接受治疗持续其余生。在治疗性应用中,有时需要在相对短的间隔期以相对高的剂量直至疾病的进展减低或终止,并且优选地直至患者显示出部分或完全的疾病症状改善。此后,患者可以按预防性方案施用。

## 实施例

[0296] 提供以下实施例以进一步说明本发明,而非限制其范围。本发明的其他变型将是本领域普通技术人员轻易明白的并且由所附权利要求涵盖。

[0297] 实施例1:制备用作抗原和用于抗体表征实验中的纯化重组人ANGPTL4

[0298] 将编码全长人ANGPTL4多肽(氨基酸26-406,匹配NCBI序列NM\_139314.2)以及来自人IgG- $\kappa$ 的N端信号肽(MKTFILLWVLLLWVIFLLPGATA) (SEQ ID NO:152) 和C末端FLAG表位(DYKDDDDKH) (SEQ ID NO:153)、六组氨酸纯化标签(HHHHHH) (SEQ ID NO:154) 和Avi标签

(即,BirA生物素酰化序列GGGLNDIFEAQKIEWHE)(SEQ ID NO:155)的核酸序列亚克隆入哺乳动物细胞表达载体pRS5a以产生含有20个氨基酸IKK信号序列,后接人ANGPTL4的氨基酸26-406以及羧基末端Flag、6HIS和Avi标签(表2,SEQ ID NO:156)的质粒pRS-Ikk-hANGPTL4(26-406)-FLAG-6HIS-Avi。

[0299] 对于一些制备物,以下程序用来表达、纯化和生物素化人ANGPTL4蛋白(方法1):将适应悬浮培养的HEK293T细胞在无血清FreeStyle 293表达培养基(Life Technologies,目录编号12338-018)中培养,并且使用聚乙烯亚胺转染试剂(Polysciences,目录编号23966),用质粒pRS-Ikk-hANGPTL4(26-406)-FLAG-His6-Avi转染。转染后5小时,将肝素(Alfa Aesar,目录编号A16198)添加到培养基至终浓度0.5mg/ml。随后将细胞培养72-96小时并随后通过在4℃离心收获细胞培养上清液并使用0.22μm滤器(Thermo,目录编号567-0010)无菌过滤。随后通过切线流过滤,将过滤的细胞培养上清液浓缩至约100ml。将浓缩的上清液用TBS-甘油缓冲液(50mM Tris-HCl,150mM NaCl,和15%甘油,pH 7.4)稀释至1升体积,并且通过切线流过滤,将样品浓缩至约200ml。随后添加经TBS-甘油缓冲液预平衡的抗-Flag M2琼脂糖树脂(Sigma,目录编号220102-177)至样品,并且所得溶液温和地在4℃混合1小时。随后将琼脂糖树脂用25ml TBS-甘油洗涤5次,并将结合的ANGPTL4蛋白用含有0.2mg/ml Flag肽(Sigma,目录编号220176-317)的20ml TBS-甘油洗脱。添加无过氧化物的吐温20(AppliChem,目录编号A1284,0025)到洗脱的蛋白质溶液至终浓度0.1%,并将所得溶液加载于经含有0.1%吐温20的TBS-甘油(缓冲液A)中预平衡的5ml HiTrap肝素柱(GE Lifesciences,目录编号17-0407-01)上。将柱用50ml缓冲液A洗涤,随后用含有300mM NaCl的50ml缓冲液A洗涤。随后用含有600mM NaCl的20ml缓冲液A洗脱ANGPTL4蛋白。使用具有30kD分子量截止值的离心浓缩器(Amicon Ultra,目录编号UFC903024),浓缩洗脱的蛋白质。如通过SDS-PAGE所评估,纯化的ANGPTL4蛋白的纯度是>90%。

[0300] 对于一些应用,使用10μg纯化的生物素-蛋白质连接酶(BirA)(Avidity)/mg ANGPTL4,将ANGPTL4蛋白在C末端Avi标签上进行位点特异性生物素酰化。缓冲液以终浓度10mM ATP、10mM乙酸镁和0.5M d-生物素补充。将反应混合物在30℃温育2小时并且随后在4℃温育过夜,随后加载于经缓冲液A平衡的HiLoad Superdex 200柱(26mm x 600mm)(GE Lifesciences,目录编号28-9893-36)。使用SDS-PAGE分析来自Superdex 200柱的级分,并且汇集含有ANGPTL4的级分并使用离心浓缩器浓缩。

[0301] 对于其他制备物,以下程序用来表达、纯化和生物素化人ANGPTL4蛋白(方法2):使用标准聚乙烯亚胺(PEI)转染方法,将质粒pRS-Ikk-hANGPTL4(26-406)-C-Flag6HisAvi瞬时转染入HEK293T细胞中。将细胞以悬浮培养方式在Freestyle 293表达培养基中增殖并且使用多个1升培养瓶,在4升培养基中以 $1 \times 10^6$ 个细胞/ml细胞终浓度实施转染。转染后5小时,将肝素以终浓度500μg/ml添加。将细胞在37℃和5%CO<sub>2</sub>培育72小时。随后通过离心沉淀细胞,并且使上清液穿过0.22μm无菌滤器。使用切线流过滤(TFF),浓缩澄清的上清液并令其缓冲液交换成缓冲液B(50mM Tris-HCl,150mM NaCl,10%甘油,10mM咪唑,pH 7.4)。随后使浓缩的样品在经缓冲液C(50mM Tris.HCl,150mM NaCl,10%甘油,10mM咪唑,0.1%正辛基-β-麦芽糖苷,pH 7.4)平衡的5ml Ni-NTA亲和柱上通过。在装载样品后,将柱用相同的缓冲液洗涤直至达到基线280nm处的吸光度。随后通过使用咪唑梯度(10mM至500mM)洗脱结合的ANGPTL4蛋白。将含有人ANGPTL4的洗脱级分汇集,使用Amicon浓缩器(分子量截止值10kD)



浓缩,使用PD-10柱令其缓冲液交换成储存缓冲液(50mM Tris-HCl,150mM NaCl,15%甘油,pH 7.4),等分,在液氮中急冻,并贮存在-80℃。如通过SDS-PAGE所评估,纯化的人ANGPTL4蛋白的纯度是>90%。

[0302] 对于一些应用,将如上述制备的纯化ANGPTL4蛋白如下进行位点特异性生物素酰化:将50mM Bicine pH 8.3缓冲液中终浓度大约1mg/mL的纯化蛋白质在10mM ATP、10mM乙酸镁,0.1mM生物素和BirA生物素连接酶(Avidity)存在下在30℃温育1小时并且随后在4℃过夜。将蛋白质随后使用Amicon浓缩器(分子量截值值10kD)浓缩,使用PD-10柱令其缓冲液交换成储存缓冲液(50mM Tris-HCl,150mM NaCl,15%甘油,pH 7.4),等分,在液氮中急冻,并贮存在-80℃。

[0303] 实施例2:制备用于抗体表征实验中的纯化重组人ANGPTL4 N末端卷曲螺旋结构域蛋白

[0304] 使用实施例1方法2中对人全长人ANGPTL4描述的基本上相同的方法,实施人ANGPTL4的N末端卷曲螺旋结构域(氨基酸26-161)的表达、纯化和生物素酰化。表2中显示纯化的人ANGPTL4 N端结构域蛋白的序列(SEQ ID NO:157)。

[0305] 表2.人ANGPTL4(26-406)-FLAG-His6-Avi的氨基酸序列(加下划线突出显示信号肽,并且以斜体突出显示信号肽后的N末端QP序列和C末端FLAG-His6-Avi序列)

构建体	SEQ ID NO.	氨基酸序列
[0306] 人 ANGPTL4 (26-406)-FLAG-His6-Avi	156	MKTFILLWVLLWVIFLLPGATAQPGPVQSKSPRFASWDEMNVLAHGLLQL GQGLREHAERTRSQLSALERRLSACGSACQGTEGSTDLPLAPESRVDPEVLH SLQTQLKAQNSRIQQLFHKVAQQQRHLEKQHLRIQHLQSQFGLLDHKHLDHE VAKPARRKRLPEMAQPVDPAHNVSRHLRLPRDCQELFQVGERQSGLFIEIQPQ GSPFLVNCKMTSDGGWTVIQRHDGSDVDFNRPEAYKAGFGDPHGEFWLGL EKVHSITGDRNSRLAVQLRDWDGNAELLQFSVHLGGEDTAYSLQLTAPVAGQ LGATTVPSPGLSVPFSTWDQDHDLRDKNCAKSLSGGWWFGTCSHNSLNGQY FRSIPQQRQKLKKGIFWKTWRGRYYPLQATTMLIQPMAAEAASDYKDDDDKH HHHHHGGGLNDIFEAQKIEWHE
	157	MKTFILLWVLLWVIFLLPGATAQPGPVQSKSPRFASWDEMNVLAHGLLQL
[0307] ANGPTL4 (26-161)-FLAG-His6-Avi		GQGLREHAERTRSQLSALERRLSACGSACQGTEGSTDLPLAPESRVDPEVLH SLQTQLKAQNSRIQQLFHKVAQQQRHLEKQHLRIQHLQSQFGLLDHKHLDHE VAKPARRKRLPEMAQPVDPAHNVSRHLRLPRDYKDDDDKHHHHHHHDYKDDDD KHHHHHGGGLNDIFEAQKIEWHE

[0308] 实施例3:单克隆抗体的制备和筛选

[0309] 如实施例1中所述自行制备重组人ANGPTL4蛋白,并且用作免疫原以产生抗ANGPTL4杂交瘤克隆。用重组人ANGPTL4根据标准快速免疫方案免疫Bcl-2转基因小鼠。通过使用基于电融合的标准方法产生杂交瘤。

[0310] 使用标准方法,生成了稳定表达与跨膜结构域融合的人ANGPTL4的CHO-K1PD细胞。由于存在跨膜结构域,这些细胞在细胞表面上展示ANGPTL4。因此,可以使用流式细胞术检测到抗体与这些细胞表面上ANGPTL4的结合。

[0311] 通过检测上清液中存在的抗体与CHO-K1PD细胞表面上表达的人ANGPTL4的结合,筛选杂交瘤上清液。使用荧光标记的抗小鼠第二抗体和流式细胞术检测抗体与细胞的结

合。使用不表达ANGPTL4的亲本CHO-K1PD细胞作为阴性对照。对于与ANGPTL4结合的杂交瘤，使用标准方法，从细胞上清液纯化抗体，并且在流式细胞术测定法中用CHO-K1PD/ANGPTL4和CHO-K1PD-亲本细胞测试所产生的富集上清液。

[0312] 通过使用标准的直接ELISA测定法确定杂交瘤上清液中的ANGPTL4抗体滴度，在上述测定法中，重组人ANGPTL4蛋白固定在ELISA平板的表面上。将证实阳性的杂交瘤亚克隆，并且使用标准方法测定由这些杂交瘤产生的单克隆抗体的序列。

[0313] 随后使用以下实施例7中描述的方法，显示单克隆抗体14P18、17B1、19C16和37P1抑制人ANGPTL4介导的人脂蛋白脂肪酶抑制作用。使用标准方法测定14P18、17B1、19C16和37P1的重链可变区和轻链可变区的核苷酸序列和氨基酸序列。

[0314] 实施例4:单克隆抗体的人源化

[0315] 人源化过程是本领域充分描述的(Jones等人,1986;Queen等人,1989;Riechmann等人,1988;Verhoeyen,Milstein和Winter 1988)。将术语人源化描述为转移非人类抗体(例如鼠衍生抗体)的抗原结合位点至人接纳体构架,例如人类种系序列(Retter等人,2005)。使抗体人源化的主要原理是在人类中施用抗体作为治疗剂时,最小化对抗体形成免疫原性应答的风险(Rebello等人,1999)。

[0316] 抗原结合位点包含互补决定区(CDR)(Chothi和Lesk,1987,Kabat等人,1991)和可变结构域(VL和VH)中直接或间接影响结合的构架区中位置。可能直接影响结合的构架残基可以例如在位于CDR2和CDR3之间的所谓“外”环区域存在。间接影响结合的残基例如在所谓Vernier区存在(Foote和Winter,1992)。认为它们支持CDR构象。当选择合适的接纳体构架以使得构架区中最终人源化抗体相对于人种系接纳体序列偏差的数目最小化时,考虑CDR外部的那些位置。

[0317] 实施例5:抗体序列优化和亲和力成熟

[0318] 已知某些氨基酸序列基序经历翻译后修饰(PTM)如糖基化(例如N<sub>x</sub>S/T,其中x是除P之外的任何氨基酸)、游离半胱氨酸的氧化、脱酰胺化(例如NG序列中N的脱酰胺化)或异构化(例如,在DG序列处)。如果存在于CDR区中,则理想地通过位点定向诱变移除这些基序,以增加产物均匀性。

[0319] 本领域充分描述了亲和力成熟的过程。在许多展示系统当中,噬菌体展示(Smith,1985)和真核细胞如酵母上展示(Boder和Witttrup,1997)是最常用来选择抗体-抗原相互作用的系统。这些展示系统的优点是它们适用于广泛类型的抗原并且可以容易地调整选择严格性。在噬菌体展示中,可以展示scFv或Fab片段并且在酵母展示中,可以展示scFv、Fab或全长IgG。这些通常采用的方法允许从多样性超过 $1 \times 10^7$ 的较大文库选择所需的抗体变体。可以通过微量表达和ELISA,筛选多样性较小(例如1,000)的文库。

[0320] 非靶向或随机抗体变体文库可以例如通过易错PCR(Cadwell和Joyce,1994)生成,并且提供了非常简单的、但有时受限的方案。另一种策略是CDR指导的候选抗体多样化。可以使用例如简并寡核苷酸(Thompson等人,1996)、三核苷酸诱变法(TRIM)(Kayushin等人,1996)或本领域已知的任何其他方案,特异性靶向一个或多个CDR中的一个或多个位置。

[0321] 实施例6:人源化抗体的表达和纯化

[0322] 编码人源化VL和VH结构域的DNA序列在GeneArt订购(Life Technologies Inc.雷根斯堡,德国),其包括针对智人(Homo Sapiens)优化的密码子。通过切割和连接,将编码VL

结构域和VH结构域的序列从GeneArt衍生的载体亚克隆至适于哺乳动物细胞表达和分泌的表达载体中。将重链和轻链克隆至分别的表达载体中以允许共转染。表达载体的元件包括启动子(巨细胞病毒(CMV)增强子-启动子)、促进分泌的信号序列、聚腺苷酸化信号和转录终止子(来自牛生长激素(BGH)基因)、允许附加体型复制并且在原核生物中复制的元件(例如SV40复制起点和ColE1或本领域已知的其他元件)和允许选择的元件(氨苄青霉素耐药基因和博来霉素(zeocin)标记)。

[0323] 以组成型方式表达SV40大T抗原的人胚肾细胞(HEK293-T ATCC11268)是用于瞬时表达人源化和/或优化的IgG蛋白的优选宿主细胞系之一。使用PEI(聚乙烯亚胺,分子量25,000线型,Polysciences,美国,目录号23966)作为转染试剂,进行转染。通过在室温(RT)在900ml细胞培养级水中小心溶解1g PEI,制备PEI母液。为了促进PEI的溶解,通过添加HCl至pH 3-5,使溶液酸化,随后用NaOH中和至最终pH 7.05。最后,将体积调节至1L并且将溶液经0.22 $\mu$ m滤器过滤,等分并冷冻在-80 $^{\circ}$ C直至进一步使用。使用用于细胞转染和增殖的诺华专利无血清培养基,并使用ExCell VPRO无血清培养基(SAFC Biosciences,美国,目录号24561C)作为生产/进料培养基,培养HEK 293T细胞。以悬浮培养法培育为瞬时转染所制备的细胞。对于小规模(<5L)转染,在5%CO<sub>2</sub>的增湿培养箱中回转摇床(100-120转/分钟)上的Corning摇瓶(Corning,Tewksbury,MA)中培育细胞(种子瓶)。应当维持种子培养物中的细胞处于指数生长期(细胞密度在5 $\times 10^5$ /mL和3 $\times 10^6$ /mL之间)并且对于转染,这些细胞显示>90%的活力。对于小规模(<5L)转染,将细胞等分试样从种子培养物取出并以诺华无血清培养基在36%终体积中调节至1.4 $\times 10^6$ 个细胞/mL。通过以7%最终培养物体积稀释DNA至1mg/L(终体积)随后温柔混合,制备DNA溶液(对于1L转染,溶液1:0.5mg重链和0.5mg轻链表达质粒)。为了防止细菌的污染,使用0.22 $\mu$ m滤器(例如Millipore Stericup)过滤这种溶液。随后还将3mg/L(终体积)的PEI溶液稀释于7%的最终培养物体积中并温和地混合(溶液2)。两种溶液均在室温(RT)温育5-10分钟。此后将溶液2添加至溶液1,伴以温和混合,并在室温温育另外5-15分钟。随后将转染混合物添加至细胞并且细胞的培育继续4至6小时。最后,通过添加**ExCell®**VPRO无血清培养基实现剩余的50%总生产体积。转染后,将细胞培育继续11天。

[0324] 通过在4 $^{\circ}$ C以4500转/分钟离心20分钟(**Heraeus®**,Multifuge 3S-R,Thermo Scientific,Rockford,IL)收获培养物。将回收的细胞上清液经Stericup滤器(0.22 $\mu$ m)无菌过滤并贮存在4 $^{\circ}$ C直至进一步处理。使用新净化的(0.25M NaOH)HiTrap 5ml蛋白A**MabSelect®**SuRe柱,在4 $^{\circ}$ C在冷却柜中的“**ÄKTA** 100Explorer Air”色谱系统上进行纯化。将柱用5个柱体积的磷酸盐缓冲盐水(PBS,Gibco,Life Technologies,Carlsbad,CA)平衡,并且随后将无菌过滤的上清液以4.0ml/分钟加载。将柱用13个柱体积的PBS洗涤。随后将抗体用5个柱体积的50mM柠檬酸盐,70mM NaCl pH 3.2洗脱。将洗脱物按3ml级分收集并用1M Tris-HCl,pH 10调整至pH 7。将含有抗体的级分合并并无菌过滤(Millipore Steriflip,0.22 $\mu$ m),使用分光光度计(NanoDrop ND-1000)测量OD<sub>280nm</sub>值,并且根据OD<sub>280nm</sub>值和基于蛋白质序列计算的摩尔消光系数,计算蛋白质浓度。通过大小排阻色谱联合多角度光散射探测器(SEC-MALS)测试洗脱物的聚集情况,并通过凝胶电泳(SDS-PAGE)、内毒素测定法(LAL)和质谱法(MS)评定纯度。对于第二纯化步骤,如果需要,将来自第一次纯

化的抗体加载到新净化 (0.5M NaOH) 的凝胶过滤柱 (Hi Load 16/60Superdex 200, 120mL, GE-Healthcare) 中。将柱用PBS平衡, 并且用PBS缓冲液按流速1ml/分钟运行。洗脱物按1.2ml级分收集。汇集含有抗体的蛋白质, 并且如对第一纯化步骤所述那样分析所产生的纯化抗体。

[0325] 使用上文描述的方法, 制备、表达和纯化以下人源化抗体: NEG276、NEG276-LALA、NEG278、NEG310、NEG318、NEG318-LALA、NEG319、NEG313和NEG315。表3中显示这些人源化抗体的构架和亲本抗体, 并且表1中显示了核苷酸序列和氨基酸序列。全部人源化抗体均作为人IgG1抗体制备, 例外是NEG276-LALA和NEG318-LALA, 它们是使用重链中Leu234-Leu235序列由Ala234-Ala235替换的修饰的Fc区 (人IgG1-LALA) 制备。已知与野生型人IgG1抗体相比, 人IgG1-LALA抗体具有减少的抗体效应子功能。

[0326] 表3. 本发明的人源化ANGPTL4抗体

抗体	VH SEQ ID NO.	VL SEQ ID NO.	构架	亲本抗体
NEG276	13	23	hIgG1/ $\kappa$	19C16
NEG276-LALA	13	23	hIgG1-LALA/ $\kappa$	19C16
NEG278	38	48	hIgG1/ $\kappa$	19C16
NEG310	58	68	hIgG1/ $\kappa$	17B1
NEG313	78	88	hIgG1/ $\kappa$	37P1
NEG315	98	108	hIgG1/ $\kappa$	37P1
NEG318	118	128	hIgG1/ $\kappa$	14P18
NEG319	138	148	hIgG1/ $\kappa$	14P18

[0328] 实施例7: 人脂蛋白脂肪酶测定法

[0329] 使用标准聚乙烯亚胺 (PEI) 转染方法, 将FreeStyle表达培养基 (Invitrogen) 中培养的HEK293T细胞用编码全长人脂蛋白脂肪酶 (LPL) 多肽 (匹配NCBI序列NM\_000237.2) 的哺乳动物表达质粒转染。在转染后24小时, 将肝素添加到培养基至终浓度3U/ml, 以增强分泌的hLPL从细胞表面的释放。在转染后60小时, 收集培养基, 使用0.2 $\mu$ m滤器过滤, 并且添加甘油至终浓度10% v/v。所得溶液加载于已经用缓冲液A (50mM Tris-HCl, 200mM NaCl, 10% v/v甘油, pH 7.2) 预平衡的5ml肝素琼脂糖凝胶HiTrap柱 (GE) 上。将柱用缓冲液A洗涤, 并且随后用缓冲液A中500mM NaCl、1M NaCl和2M NaCl的阶梯梯度洗脱人LPL蛋白质。最纯和最具有催化活性的人LPL在2M NaCl处洗脱。将纯化的人LPL的等分试样快速冷冻并贮存在-80℃直至使用。

[0330] 以下方案用来评估本发明抗体阻断ANGPTL4抑制人脂蛋白脂肪酶的能力。将384孔分析平板 (Corning, 目录编号3573) 和样品平板 (Greiner Bio-one, 目录编号781201) 在室温用1%牛血清白蛋白 (BSA) (0.1ml/孔) 洗涤30分钟。随后将平板用0.05%吐温20溶液洗涤两次。

[0331] 将100mM HEPES, pH 7.0中的ANGPTL4抗体 (20 $\mu$ l/孔, 系列稀释物, 分析终浓度范围

是0.02至500nM)添加至样品平板,随后添加分析缓冲液(100mM HEPES,2mM MgCl<sub>2</sub>,pH 7.0)中的20μl人ANGPTL4蛋白(10nM分析终浓度),并且将平板在室温温育20分钟伴以温和振摇。随后添加稀释于分析缓冲液中的脂蛋白脂肪酶(20μl)并且将平板在室温温育10分钟伴以温和振摇。

[0332] 在分析缓冲液中配制偶联酶混合物,所述混合物含有酰基-辅酶A氧化酶(Sekisui Diagnostics,目录编号T-17),酰基-辅酶A合成酶(Sekisui Diagnostics,目录编号T-16),和辣根过氧化物酶(Sekisui Diagnostics),ATP(Sigma,目录编号A7699)和辅酶A(MP Biomedicals,目录编号100493)。添加过氧化氢酶琼脂糖珠(Sigma,目录编号C9284)至偶联酶混合物,并将混合物在4℃温育30分钟伴以振摇,并且随后通过离心移除过氧化氢酶琼脂糖珠。

[0333] 将人VLDL(Millipore,目录编号LP1)稀释于分析缓冲液中,用过氧化氢酶琼脂糖珠处理30分钟,并且通过离心从溶液移除珠。添加分析缓冲液中的Amplex Red(Invitrogen,目录编号A12222)至浓度33μM。

[0334] 向含有LPL、ANGPTL4和ANGPTL4抗体的样品平板中的溶液添加偶联酶混合物(20μl),并将54μl所得溶液转移至分析平板。为了启动脂蛋白脂肪酶反应,添加VLDL/Amplex Red溶液(18μl),并且使用EnVision多孔平板读数仪(Perkin Elmer)连续监测试卤灵荧光30分钟。分析终浓度是:9.4nM ANGPTL4,约4nM人脂蛋白脂肪酶,2.3μg/ml人VLDL,0.75mM ATP,90μM辅酶A,0.5U/ml ACO,1.25U/ml ACS,1.2U/ml HRP,和10μM Amplex Red。

[0335] 所产生的试卤灵荧光对时间的数据用来确定每种样品的脂蛋白脂肪酶酶活性(初始速率)。无LPL(背景对照)或无ANGPTL4或ANGPTL4抗体(LPL活性对照)的对照样品用来归一化酶活性,其表示为LPL对照活性的百分数。使用GraphPad Prism软件,将不同ANGPTL4抗体浓度的酶活性数据作图,并且拟合数据以产生ANGPTL4抗体介导的脂蛋白脂肪酶酶活性增加的EC<sub>50</sub>值。在这个测定法中,10nM浓度的人ANGPTL4一般抑制LPL活性70-95%。本发明的ANGPTL4抗体以剂量依赖性方式逆转ANGPTL4的LPL抑制作用。表4中显示来自这个测定法的EC<sub>50</sub>结果。图1中显示本发明所选抗体的代表性数据。

[0336] 表4. 本发明的ANGPTL4抗体阻断脂蛋白脂肪酶(LPL)的人ANGPTL4抑制作用

[0337]

抗体	人 ANGPTL4 EC <sub>50</sub> (nM)
NEG276	0.6
NEG276-LALA	0.7
NEG278	0.7
NEG310	1.6
NEG313	3
NEG315	3
NEG318	1.4
NEG319	0.5

[0338] 实施例8:抗体表征中所用食蟹猴、小鼠和大鼠ANGPTL4蛋白和人ANGPTL3蛋白的制备

[0339] 通过从食蟹猴肝cDNA文库 (Biochain, 目录编号C1534149-Cy, 批号B409051) 扩增基因序列, 测定食蟹猴ANGPTL4的序列。基于人ANGPTL4 cDNA (NCBI序列NM\_139314.2) 的5'和3'非翻译区, 设计引物5-UT-Cyno 5'-ATCCCCGCTCCCAGGCTAC-3' (SEQ ID NO:158) 和3-UT-cyno 5'-CAGCAAGGAGTGAAG-CTCCATGCC-3' (SEQ ID NO:159)。将凝胶纯化的PCR产物连接入pCR4-Blunt-TOPO (Life Technologies, 目录编号K2875-40) 并测序。克隆的食蟹猴ANGPTL4 cDNA编码与人ANGPTL4同源95%的406个氨基酸的蛋白质。将编码食蟹猴ANGPTL4氨基酸26-406的核酸序列亚克隆入哺乳动物表达载体pRS5, 以产生质粒pRS-Ikk-cynoANGPTL4 (26-406)-FLAG-6HIS-Avi, 所述质粒具有20氨基酸的Ikk信号序列、食蟹猴ANGPTL4的氨基酸26-406、和羧末端FLAG、6HIS及Avi标签 (表5中SEQ ID NO:160)。

[0340] 使用实施例1中如对人ANGPTL4 (26-406)-FLAG-6HIS-Avi蛋白所述的相似方法, 表达并纯化食蟹猴ANGPTL4 (26-406)-FLAG-6HIS-Avi蛋白。对于一些应用, 使用实施例1中如对人ANGPTL4蛋白所述的相似方法, 对纯化的食蟹猴ANGPTL4蛋白进行位点特异性生物素酰化。如通过SDS-PAGE所评估, 纯化的食蟹猴ANGPTL4蛋白的纯度是>90%。

[0341] 使用相似的方法, 制备食蟹猴ANGPTL4 (26-161)-FLAG-6HIS-Avi蛋白。表5中显示由其表达构建体编码的食蟹猴ANGPTL4 (26-161) 蛋白的序列 (SEQ ID NO:161)。

[0342] 使用实施例1方法2中对人ANGPTL4描述的基本上相同方法, 实施小鼠ANGPTL4 (氨基酸26-410) 和大鼠ANGPTL4 (氨基酸24-405) 的表达、纯化和生物素酰化。表5中显示由相应表达构建体编码的小鼠ANGPTL4蛋白和大鼠ANGPTL4蛋白的序列 (分别是SEQ ID NO:162和163)。如通过SDS-PAGE所评估, 纯化的小鼠ANGPTL4蛋白和大鼠ANGPTL4蛋白的纯度是>90%。

[0343] ANGPTL3 (SEQ ID NO:5, 表1) 是与ANGPTL4密切相关的人蛋白质。为了评价本发明抗体对ANGPTL3的可能结合, 使用实施例1方法2中对人ANGPTL4描述的相似方法, 实施人ANGPTL3 (14-460)-FLAG-His-Avi蛋白 (SEQ ID NO:164, 表5) 的表达、纯化和生物素酰化。

[0344] 表5. 食蟹猴ANGPTL4 (26-406) -FLAG-His6-Avi、小鼠ANGPTL4 (26-410) -FLAG-His6-Avi、大鼠ANGPTL4 (24-405) -FLAG-His6-Avi和人ANGPTL3 (17-460) -FLAG-His-Avi的氨基酸序列(加下划线突出显示信号肽,并且以斜体突出显示信号肽后的N末端QP序列和C末端FLAG-His6-Avi序列)

[0345]

构建体	SEQ ID NO.	氨基酸序列
食蟹猴 ANGPTL4 (26-406) -FLAG-His6-Avi	160	<u>MKT</u> FILLWVLLWVIFLLPGATAQPGPVQSKSPRFASWDEMNVLAHGLLQLG QGLREHAERTRSQNLALERRLSACGSACQGTEGSTALPLAPESRVDPEVLLHSL QTQLKAQNSRIQQLFHKVAQQQRHLEKQHLRIQRLQSQVGLLDPKHLDEHAVK PARRKRPEMAQPVDSAHNASRLHRLPRDCQELFEDGERQSGLFEIQPGSP FLVNCKMTSDGGWTVIQRHDGSDVDFNRPWEAYKAGFGDPQGEFWLGLEKVHS ITGDRNSRLAVQLQDWDGNAESLQFSVHLGGEDTAYSLQLTEPVASQLGATT PPSGLSVPFSTWDQDHDLRDKNCAKSLSGGWFWGTCSHSNLNGQYFRSIPQQ RQELKKGIFWKTWRGRYYPLQATTMLIQPTAAEAASDYKDDDDKHHHHHGGG LNDIFEAQKIEWHE
食蟹猴 ANGPTL4 (26-161) -FLAG-His6-Avi	161	<u>MKT</u> FILLWVLLWVIFLLPGATAQPGPVQSKSPRFASWDEMNVLAHGLLQLG QGLREHAERTRSQNLALERRLSACGSACQGTEGSTALPLAPESRVDPEVLLHSL QTQLKAQNSRIQQLFHKVAQQQRHLEKQHLRIQRLQSQVGLLDPKHLDEHAVK PARRKRPEMAQPVDSAHNASRLHRLPRDYKDDDDKHHHHHGGGLNDIFEAQ KIEWHE
小鼠 ANGPTL4 (26-410) -FLAG-His6-Avi	162	<u>MKT</u> FILLWVLLWVIFLLPGATAQPRPAQPEPPRFASWDEMNVLAHGLLQLG HGLREHVERTRGQLGALERRMAACGNACQGPKGKDAFKDSEDRVPEGQTPET LQSLQTQLKAQNSKIQQLFQKVAQQQRYLSKQNLRIQNLQSQIDLLAPTHLDN GVDKTSRGKRLPKMTQLIGLTPNATHLHRPPRDCQELFQEGERHSGLFQIQPL GSPFFLVNCEMTSDGGWTVIQRRLNGSDVFNQSWEAYKDGFGDPQGEFWLGLE KMHSITGNRGSQAVQLQDWDGNAKLLQFPIHLGGEDTAYSLQLTEPTANELG ATNVSPNGLSLPFSTWDQDHDLRDLNCAKSLSGGWFWGTCSHSNLNGQYFHS IPRQRQERKKGIFWKTWKGRYYPLQATTLLIQPMEATAASDYKDDDDKHHHHH HGGGLNDIFEAQKIEWHE
大鼠 ANGPTL4 (24-405) -FLAG-His6-Avi	163	<u>MKT</u> FILLWVLLWVIFLLPGATAQPQGRPAQPEPPRFASWDEMNVLAHGLLQ LGHGLREHVERTRGQLGALERRMAACGNACQGPKGKDPKDRVPEGQAPETLQS LQTQLKAQNSKIQQLFQKVAQQQRYLSKQNLRIQNLQSQIDLLTPTHLDNGVD KTSRGKRLPKMAQLIGLTPNATRLHRPPRDCQELFQEGERHSGLFQIQPLGSP PFLVNCEMTSDGGWTVIQRRLNGSDVFNQSWEAYKDGFGDPQGEFWLGLEKMH SITGDRGSQAVQLQDWDGNAKLLQFPIHLGGEDTAYSLQLTEPTANELGATN VSPNGLSLPFSTWDQDHDLRDLNCAKSLSGGWFWGTCSHSNLNGQYFHSIPR QRQQRKKGIFWKTWKGRYYPLQATTLLIQPMEATAASDYKDDDDKHHHHHGG GLNDIFEAQKIEWHET
人 ANGPTL3 (17-460)	164	<u>MKT</u> FILLWVLLWVIFLLPGATAQPSRIDQDNSSFDSLSPKSRFAMLLDV KILANGLLQLGHGLKDFVHKTKGQINDIFQKLNIFDQSFYDLSLQTSEIKEEE KELRRTTYKLQVKNEEVKNMSLELNSKLESLEEKILLQQKVYLEEQLTNLI QNQPETPEHPEVTSKTFVEKQDNISIKDLLQTVEDQYKQLNQHSQIKEIENQ LRRTSIQEPTEISLSSKPRAPRTTFFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEH TSGMYAIRPSNSQVHFVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGR LDGEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGHNHETNYTLH LVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWVWHDECENNLN GKYNKPRAKSKPERRRLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFEDYKDDDD KHHHHHGGGLNDIFEAQKIEWHE

[0347] 实施例9:通过直接ELISA测定法表征抗体结合特异性

[0348] 实施直接ELISA测定法以表征本发明所选抗体的抗体结合特异性。该测定法如下进行。通过将384孔链霉亲和素包被的Meso Scale Discovery (MSD) 平板与50μL封闭缓冲液 (PBS, pH 7.4, 5% w/v牛血清白蛋白) /孔在22℃温育1小时伴以恒定振摇 (600转/分钟), 封闭平板。随后使用洗板器 (BioTek), 将封闭的MSD平板用洗涤缓冲液 (PBS, pH 7.4和0.05% v/v吐温20) 洗涤3次。在洗涤后, 将稀释于分析缓冲液 (无CaCl<sub>2</sub>或MgCl<sub>2</sub>的PBS, pH 7.4, 0.5% w/v无脂肪酸牛血清白蛋白和0.02% v/v吐温20) 中的生物素酰化的人ANGPTL4蛋白以1nM浓度 (15μL/孔) 在22℃温育1小时固定在表面上: 全长人ANGPTL4 (hANGPTL4)、人ANGPTL4卷曲螺旋结构域 (hANGPTL4-CCD) 和全长人ANGPTL3 (hANGPTL3)。随后将平板如先前所述那样洗涤3次。随后将分析缓冲液中稀释至1nM浓度的抗体施加至MSD平板 (15μL/孔), 并且将平板在22℃温育1小时, 伴以恒定振摇 (600转/分钟)。通过添加15μL/孔加碘基标签的山羊抗人IgG 1:500稀释物, 检测结合的抗体。随后将平板温育1小时, 伴以恒定振摇 (600转/分钟)。将平板洗涤3次, 并且随后添加15μL/孔的1x MSD读取缓冲液T以及利用Sector Imager 6000 (Meso Scale Discovery), 使平板显色。将数据转移至Microsoft Excel用于分析并利用GraphPad Prism v6作图。这些实验显示, 这个测定法中测试的本发明全部抗体均与全长人ANGPTL4及与人ANGPTL4的N端结构域结合, 并且不与全长人ANGPTL3结合。使用ANGPTL3-特异性参考抗体作为ANGPTL3结合测定法的阳性对照 (图2)。

[0349] 实施例10: 通过溶液平衡滴定 (SET) 测定法确定抗体解离常数

[0350] SET测定法如下进行。在96孔聚丙烯平板中, 将恒定浓度的ANGPTL4抗体 (10pM) 与不同浓度的非生物素酰化的人、食蟹猴、小鼠或大鼠全长ANGPTL4蛋白或人ANGPTL4 N端结构域蛋白 (0.01pM至100nM的5倍系列稀释物) 在SET缓冲液 (无CaCl<sub>2</sub>或MgCl<sub>2</sub>的PBS, pH 7.4, 0.5% w/v牛血清白蛋白 (无脂肪) 和0.02% v/v吐温20) 中混合。最终反应体积是80μL。将平板用粘性膜密封并且在22℃温育14小时, 伴以恒定振摇 (300转/分钟)。在相同的时间期间, 通过将384孔链霉亲和素包被的Meso Scale Discovery (MSD) 平板与50μL封闭缓冲液 (PBS, pH 7.4, 5% w/v牛血清白蛋白) /孔在4℃温育。使用洗板器 (BioTek), 将封闭的MSD平板用洗涤缓冲液 (PBS, pH 7.4和0.05% v/v吐温20) 洗涤3次。通过在22℃温育1小时伴以恒定振摇 (600转/分钟), 将生物素酰化的ANGPTL4 (全长的人、食蟹猴、小鼠或大鼠ANGPTL4, 或人ANGPTL4 N端结构域) 蛋白 (1nM, 15μL/孔) 固定在链霉亲和素包被的MSD平板的表面上。随后将平板如先前所述那样洗涤3次。

[0351] 应用平衡结合反应 (15μL/孔) 至ANGPTL4固定的MSD平板并在22℃温育20分钟。通过用洗涤缓冲液洗涤平板3次, 移除未结合的材料, 并且通过添加15μL/孔加碘基标签的山羊抗人IgG (Meso Scale Discovery) 1:500稀释物, 检测捕获的抗体。随后将平板温育1小时, 伴以恒定振摇 (600转/分钟)。将平板洗涤3次, 并且随后添加15μL/孔的1x MSD读取缓冲液T以及利用Sector Imager 6000 (Meso Scale Discovery), 使平板显色。将数据转移至Microsoft Excel用于分析并利用GraphPad Prism v6作图。通过将数据对以下等式拟合确定K<sub>D</sub>值:  $y = (B_{max} / (C_{Ab}/2)) * ((C_{Ab}/2) - (((((C_{Ag} + C_{Ab}) + K_D) / 2) - (((((C_{Ag} + C_{Ab}) + K_D)^2 / 4) - (C_{Ag} * C_{Ab}))^{0.5}))^2 / (2 * C_{Ab})))$ ,

[0352] 其中B<sub>max</sub>是溶液中不存在ANGPTL4时的信号, C<sub>Ab</sub>是溶液中恒定浓度的ANGPTL4抗体, C<sub>Ag</sub>是溶液中ANGPTL4的浓度, 并且K<sub>D</sub>是平衡解离常数。表6中显示使用这种方法确定的平衡解离常数。



[0353] 表6.通过溶液平衡滴定 (SET) 测定法确定的本发明抗体与ANGPTL4蛋白结合的解离常数 ( $K_D$ )

[0354]

抗体 (IgG)	人 ANGPTL4(26-4 06) $K_D$ (pM)	食蟹猴 ANGPTL4(26-4 06) $K_D$ (pM)	大鼠 ANGPTL4(24-4 05) $K_D$ (pM)	小鼠 ANGPTL4(26-4 10) $K_D$ (pM)
NEG276	24	14	>500*	>500*
NEG276-LALA	8	7	>500*	>500*
NEG278	15	20	>500*	>500*
NEG310	21	22	>500*	>500*
NEG313	9	15	>500*	>500*
NEG315	12	21	>500*	>500*
NEG318	9	17	>500*	>500*
NEG319	16	8	>500*	>500*
参考 Ab*	17	4	517	194

[0355] \*以所用的实验条件未检测到结合信号,表明 $K_D$ 值>500pM。测定ANGPTL4参考抗体与大鼠ANGPTL4结合的 $K_D$ 值为517pM。

[0356] 实施例11:通过Octet动力学结合测定法确定抗体结合动力学和解离常数

[0357] 通过使用Octet (ForteBio) 动力学结合测定法确定本发明所选抗体的解离常数 ( $K_D$ )。将ForteBio 10X动力学缓冲液 (ForteBio, 目录编号18-5032) 用DPBS (Life Technologies, 目录编号14190-136) 稀释10倍,并添加所得溶液 (0.2ml/孔) 至96孔板 (Greiner, 目录编号65520)。链霉亲和素传感器 (ForteBio, 目录编号18-5020) 浸没于溶液中并且在室温平衡至少10分钟。在第二块96孔板 (Greiner, 目录编号65520) 中,将传感器在1X动力学缓冲液中洗涤,并且随后浸没于200ul 25nM生物素酰化的人ANGPTL4或生物素酰化的参比蛋白 (用于扣除背景) 中在室温浸没1000秒。随后将传感器在1X动力学缓冲液中洗涤120秒,并浸没于按多种浓度 (2倍系列稀释;最高浓度是12.5nM或25nM;最低浓度从0.8至3.1nM;对于每种 $K_D$ 测定,使用4-6种不同的抗体浓度) 稀释于1X动力学缓冲液中的200ul ANGPTL4抗体中,并且监测抗体缔合480秒。随后将传感器转移至含有200ul 1X动力学缓冲液的孔,并且监测抗体解离1200秒。通过Octet软件 (ForteBio) 总体拟合背景校正的缔合曲线和解离曲线,以产生缔合 ( $k_a$ ) 和解离 ( $k_d$ ) 速率常数,它们随后用来计算平衡解离常数 ( $K_D$ )。表7和表8中显示本发明所选抗体的所得数据。

[0358] 表7.通过ForteBio动力学结合测定法确定的人ANGPTL4 (26-406) 抗体解离常数 ( $K_D$ )

[0359]

抗体	人 ANGPTL4(26-406)		
	$k_a$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_d$ ( $s^{-1}$ )	$K_D$ (pM)
NEG276	$3.4 \times 10^5$	$8.0 \times 10^{-6}$	23
NEG278	$3.0 \times 10^5$	$6.7 \times 10^{-7}$	$\leq 17^*$
NEG310	$2.2 \times 10^5$	$1.1 \times 10^{-5}$	25
NEG313	$2.8 \times 10^5$	$1.1 \times 10^{-5}$	40
NEG315	$2.8 \times 10^5$	$7.9 \times 10^{-6}$	29
NEG318	$2.7 \times 10^5$	$1.2 \times 10^{-5}$	45
NEG319	$2.8 \times 10^5$	$1.0 \times 10^{-5}$	36

[0360] \*报告的上限,因为解离速率低于检测限,所述检测限为大约 $5 \times 10^{-6} s^{-1}$ 。[0361] 表8.通过ForteBio动力学结合测定法确定的NEG276-LALA解离常数 ( $K_D$ )

[0362]

抗体	ANGPTL4 蛋白	$k_a$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_d$ ( $s^{-1}$ )	$K_D$ (pM)	平均 $K_D$ (pM)
NEG276-LALA	人 ANGPTL4(26-406)	$4.1 \times 10^5$	$5.9 \times 10^{-6}$	14	13
		$3.6 \times 10^5$	$6.0 \times 10^{-6}$	17	
		$4.3 \times 10^5$	$4.9 \times 10^{-7}$	$\leq 12^*$	
		$6.8 \times 10^5$	$7.0 \times 10^{-6}$	10	
	食蟹猴 ANGPTL4(26-406)	$3.6 \times 10^5$	$5.4 \times 10^{-6}$	15	15
		$3.7 \times 10^5$	$4.1 \times 10^{-6}$	$\leq 14^*$	
	大鼠 ANGPTL4(24-405)	$1.6 \times 10^5$	$1.2 \times 10^{-3}$	7470	6343
		$1.7 \times 10^5$	$1.1 \times 10^{-3}$	6030	
		$5.2 \times 10^4$	$2.8 \times 10^{-5}$	5530	
	小鼠 ANGPTL4(26-410)	$3.6 \times 10^5$	$2.9 \times 10^{-3}$	8250	6200
		$4.3 \times 10^5$	$1.8 \times 10^{-3}$	4150	
	人 ANGPTL4(26-161)	$2.2 \times 10^5$	$3.1 \times 10^{-6}$	$\leq 23^*$	38
		$1.8 \times 10^5$	$9.2 \times 10^{-6}$	52	
	食蟹猴 ANGPTL4(26-161)	$2.7 \times 10^5$	$6.4 \times 10^{-6}$	24	56
		$1.9 \times 10^5$	$1.7 \times 10^{-5}$	87	
	人 ANGPTL3(17-460)	--*	--*	$>6000^{**}$	$>6000^{**}$
		--*	--*	$>6000^{**}$	

[0363] \*报告上限,因为解离速率低于检测限,所述检测限为大约 $5 \times 10^{-6} \text{s}^{-1}$ 。\*\*在所测试抗体的最高浓度25nM未检测到结合。

[0364] 实施例12:通过氢-氘交换/质谱法的表位绘图

[0365] 氢-氘交换 (HD) 联合质谱法 (MS) (Woods, 2001) 用来绘图抗体NEG276和NEG318对ANGPTL4 N端结构域上的结合位点。在HDx中,蛋白质的可互换酰胺氢由氘替换。这种过程对蛋白质结构/动力学和溶剂可及性敏感,并且因此能够报道配体结合。这些实验的目标是鉴定ANGPTL4上NEG276和NEG318的表位。

[0366] 进行自动化HDx/MS实验,使用与那些文献中描述相似的方法 (Chalmers, 2006)。在Waters HDx-MS平台上进行这些实验,所述平台包括LEAP自动采样器、nanoACQUITY UPLC系统和Synapt G2质谱仪。用来以氘标记蛋白质主链的氘缓冲液是50mM D-Tris-HCl (pH 7.4), 500mM NaCl, 15%甘油和0.1%正辛基 $\beta$ -D-麦芽糖苷,溶液中的总氘百分数是82.5%。对于不存在ANGPTL4抗体情况下的人ANGPTL4 (26-161) 氘标记实验,使用冰冷管中的100 $\mu$ l氘缓冲液稀释300pmol人ANGPTL4 (26-161) (1.3 $\mu$ l) 并且在摇床上在4 $^{\circ}$ C温育25分钟。随后用100 $\mu$ l冰冷的猝灭缓冲液在冰上猝灭标记反应3分钟。在三分钟后,将猝灭的溶液注射到LC-MS系统上以进行自动化胃蛋白酶消化和肽分析。对于存在结合的ANGPTL4抗体情况下的人ANGPTL4 (26-161) 氘标记实验,将300pmol ANGPTL4抗体首先固定在Thermo蛋白G Plus珠上并且使用辛二酸二琥珀酰亚胺酯 (DSS) 交联。为了进行标记实验,将抗体珠 (含有300pmol抗体) 与300pmol人ANGPTL4 (26-161) 在4 $^{\circ}$ C温育30分钟。在30分钟后,用200 $\mu$ l TRIS缓冲液洗涤珠。随后,添加200 $\mu$ l冰冷的氘缓冲液并且将复合物在4 $^{\circ}$ C温育25分钟。在25分钟后,将标记反应用125 $\mu$ l冰冷的猝灭缓冲液在冰上猝灭2.5分钟。在离心机中离心样品30秒后,将猝灭的溶液注射到LC-MS系统上以进行自动化胃蛋白酶消化和肽分析。

[0367] 使用最少三个分析的一式三份重复,实施全部测量。使用0.5M TCEP和3M尿素 (pH = 2.5), 猝灭全部氘交换实验。在猝灭后,使用Poroszyme固定化胃蛋白酶柱 (2.1x30mm), 使交换的抗原在12 $^{\circ}$ C经历在线胃蛋白酶消化,随后捕集在Waters Vanguard HSS T3捕集柱上。使用2%至35%B的双元8分钟梯度 (流动相A是99.9%水和0.1%甲酸;流动相B是99.9%乙腈和0.1%甲酸), 将肽从捕集柱洗脱并在Waters CSH C18 1x100mm柱 (维持在1 $^{\circ}$ C) 上以流速40 $\mu$ l/分钟分离。

[0368] 在这些氘交换实验中,检测到覆盖87%的ANGPTL4 N端结构域序列的肽。表9中显示已检测的肽和每种肽的氘掺入减少。HDxMS绘图实验鉴定到ANGPTL4 N端结构域中受NEG276和NEG318二者明显保护的三个区域:氨基酸26-35 (G<sub>26</sub>PVQSKSPRF<sub>35</sub>) (SEQ ID NO: 165)、氨基酸42-68 (N<sub>42</sub>VLAHGLLQLGQGLREHAERTRSQLSA<sub>68</sub>) (SEQ ID NO: 174) 和氨基酸69-95 (L<sub>69</sub>ERRLSACGSACQTEGSTDLPLAPES<sub>95</sub>) (SEQ ID NO: 190)。NEG276和NEG318保护ANGPTL4 N端结构域的多个区域免于氘掺入的观察结果与线性肽表位绘图结果一致 (参见实施例13), 表明NEG276和NEG318具有构象表位而非线性表位的。

[0369] 表9: NEG276和NEG318结合对氘掺入人ANGPTL4 (26-161) 的影响。对于通过质谱法检测的每种肽,显示相对于仅ANGPTL4的情况,抗体/ANGPTL4复合物的氘掺入 (以道尔顿计) 减少。

[0370]

多肽名称	序列	SEQ ID NO	氘掺入减少(道尔顿)	
			NEG276	NEG318
26-35	GPVQSKSPRF	165	1.1	1.2
28-38	VQSKSPRFASW	166	1.0	0.9
42-49	NVLAHGLL	167	<0.5	<0.5
42-51	NVLAHGLLQL	168	<0.5	<0.5
44-51	LAHGLLQL	169	<0.5	<0.5
42-54	NVLAHGLLQLGQG	170	0.8	0.8
42-55	NVLAHGLLQLGQGL	171	0.9	0.8
42-57	NVLAHGLLQLGQGLRE	172	0.9	0.9
42-66	NVLAHGLLQLGQGLREHAERTRSQL	173	1.2	1.6
42-68	NVLAHGLLQLGQGLREHAERTRSQLSA	174	1.3	1.8
44-66	LAHGLLQLGQGLREHAERTRSQL	175	1.1	1.6
45-57	AHGLLQLGQGLRE	176	0.7	0.9

[0371]

45-66	AHGLLQLGQGLREHAERTRSQL	177	1.0	1.5
49-66	LQLGQGLREHAERTRSQL	178	0.5	1.0
52-66	GQGLREHAERTRSQL	179	<0.5	0.9
69-102	LERRLSACGSACQTEGSTDLPAESRVDPEVL	180	1.4	1.9
76-102	CGSACQTEGSTDLPAESRVDPEVL	181	1.0	1.2
86-102	STDLPAPESRVDPEVL	182	1.1	1.1
96-102	RVDPEVL	183	<0.5	<0.5
103-109	HSLQTQL	184	0.5	0.5
110-119	KAQNSRIQQL	185	<0.5	<0.5
110-135	KAQNSRIQQLFHKVAQQQRHLEKQHL	186	<0.5	<0.5
120-135	FHKVAQQQRHLEKQHL	187	<0.5	<0.5
141-147	QSQFGLL	188	0.6	0.6
144-155	FGLLDHKHLDHE	189	<0.5	<0.5

[0372] 实施例13:通过线性肽结合的表位绘图

[0373] 测试了本发明所选抗体即NEG276和NEG318与衍生自人ANGPTL4 N末端卷曲螺旋结构域的线型性15氨基酸肽结合的能力。使用标准方法合成并纯化了总计43种肽;表10中显示肽的序列。肽固定在玻璃表面上,并且在JPT Peptide Technologies(柏林,德国),使用为线性肽表位绘图而优化的实验方法评价NEG276和NEG318与固定化肽结合的能力。使用不与ANGPTL4结合的抗体作为非特异性结合对照。在这些实验中未观察到NEG276或NEG318与43种15聚肽的任一者特异性结合。这些结果有力地提示,NEG276和NEG318的表位不是线性ANGPTL4肽,而是构象表位。

[0374] 表10.用于肽结合实验的线性ANGPTL4-衍生肽的序列。

[0375]

肽	名称(SEQ ID NO.)	肽	名称(SEQ ID NO.)
GPVQSKSPRFASWDE	P1 (191)	APESRVDPEVLHSLQ	P23 (213)
QSKSPRFASWDEMNV	P2 (192)	SRVDPEVLHSLQTQL	P24 (214)
SPRFASWDEMNVLAH	P3 (193)	DPEVLHSLQTQLKAQ	P25 (215)
FASWDEMNVLAHGLL	P4 (194)	VLHSLQTQLKAQNSR	P26 (216)
WDEMNVLAHGLLQLG	P5 (195)	SLQTQLKAQNSRIQQ	P27 (217)
MNVLAHGLLQLGQGL	P6 (196)	TQLKAQNSRIQQLFH	P28 (218)
LAHGLLQLGQGLREH	P7 (197)	KAQNSRIQQLFHKVA	P29 (219)
GLLQLGQGLREHAER	P8 (198)	NSRIQQLFHKVAQQQ	P30 (220)
QLGQGLREHAERTRS	P9 (199)	IQQLFHKVAQQQRHL	P31 (221)
QGLREHAERTRSQLS	P10 (200)	LFHKVAQQQRHLEKQ	P32 (222)
REHAERTRSQLSALE	P11 (201)	KVAQQQRHLEKQHLR	P33 (223)
AERTRSQLSALERRL	P12 (202)	QQQRHLEKQHLRIQH	P34 (224)
TRSQLSALERRLSAS	P13 (203)	RHLEKQHLRIQHLQS	P35 (225)
QLSALERRLSASGSA	P14 (204)	EKQHLRIQHLQSQFG	P36 (226)
ALERRLSASGSASQG	P15 (205)	HLRIQHLQSQFGLLD	P37 (227)
RRLSASGSASQGTEG	P16 (206)	IQHLQSQFGLLDHKKH	P38 (228)
SASGSASQGTEGSTD	P17 (207)	LQSQFGLLDHKKHLDH	P39 (229)

[0376]	GSASQGTEGSTDLPL	P18 (208)	QFGLLDHKHLDHEVA	P40 (230)
	SQGTEGSTDLPLAPE	P19 (209)	LLDHKHLDEHVAKPA	P41 (231)
	TEGSTDLPLAPESRV	P20 (210)	HKHLDHEVAKPARRK	P42 (232)
	STDPLAPESRVDPE	P21 (211)	KHLDHEVAKPARRKR	P43 (233)
	LPLAPESRVDPEVLH	P22 (212)		

[0377] 实施例14: 本发明的ANGPTL4抗体对人ANGPTL4转基因小鼠中血浆甘油三酯浓度的影响

[0378] 通过将全长人ANGPTL4 cDNA序列插入含有人载脂蛋白E基因启动子及其肝控制区的pLIVLE6载体的多接头区域产生了在小鼠中表达转基因人ANGPTL4的构建体。ANGPTL4转基因小鼠在C57BL/6J背景上产生并且在Novartis (East Hanover, NJ) 繁育。转基因小鼠在7日龄剪尾并且使用REDExtract-N-Amp组织PCR试剂盒 (Sigma-Aldrich; St. Louis, MO; 目录号XNATR) 从尾部提取DNA。通过使用靶向pLIVLE6载体和靶向ANGPTL4 cDNA的引物对, 检测到人ANGPTL4转基因。小鼠在配备自动提供随意饮水的架上的实底笼中圈养, 按12小时光照/黑暗循环 (早6点至晚6点) 维持, 并且给予标准啮齿类饲料 (Harlan-Teklad; Frederick, MD; 目录号8604)。动物饲养室维持在68-76°F之间, 湿度30-70%。在研究期间, 小鼠与同窝仔鼠一起圈养并且自由接受食物和水, 例外是在采集样品之前禁食4小时。

[0379] 将动物禁食4小时并且就下颌下采血接受短暂麻醉以测量基线血浆甘油三酯浓度。小鼠随后用稀释于PBS中的30mg/kg抗体 (10mL/kg注射体积) 腹膜内注射 (i.p.)。在给药后第1、2和5日4小时禁食后采集血液以测量血浆甘油三酯浓度和人IgG总浓度。将血液采集入含EDTA的BD Microtainer采集/分离管 (Becton, Dickinson, and Company; Franklin Lakes, NJ, 目录编号365973)。将样品在20,817x g离心10分钟, 并将血浆转移至0.2mL Thermo排管 (Thermo-Scientific; 匹兹堡, PA; 目录号AB0451) 并且冷冻并贮存在-80°C。

[0380] 使用甘油三酯 (GPO) 液体试剂套装 (Pointe Scientific, Canton, MI, 目录编号T7532-500), 测量血浆甘油三酯浓度。简而言之, 将预温至37°C的300μL分析试剂添加至透明平底96孔板 (Thermo Scientific, 目录编号269620) 中的5μL血浆中。将平板在平板摇床上混合30秒并且随后置于37°C培养箱中5分钟。在20秒混合后, 使用Molecular Devices SPECTRAMax PLUS读数仪测量在500nm的吸光度。通过使用以已知量的甘油三酯标准品 (Pointe Scientific, 目录编号T7531-STD) 生成的标准曲线, 计算甘油三酯浓度。

[0381] 当施用至人ANGPTL4转基因小鼠时, 抗体NEG276和NEG318均降低血浆甘油三酯水平 (图3)。

[0382] 实施例15: 向肥胖、患糖尿病、高甘油三酯血症食蟹猴施用一种本发明的ANGPTL4抗体的作用

[0383] 为了评价NEG276-LALA的药代动力学特征和药理学效应, 我们向4个高甘油三酯血症食蟹猴施用单次皮下3mg/kg剂量。这项研究所用的猴具有207mg/dL至2438mg/dL的基线

血浆甘油三酯水平。在NEG276-LALA给药后的5周范围内的多个时间点,收集血浆样品(在清晨饲喂之前从动物抽取血液样品,但是动物不禁食过夜)。

[0384] 通过标准方法测定NEG276-LALA血浆总浓度。NEG276-LALA在给药后3天达到平均最大血浆浓度( $C_{\max}$ )  $15536 \pm 2281 \text{ ng/mL}$ 。在给药后第21天,平均NEG276-LALA血浆浓度是  $2663 \text{ ng/mL}$  (图4)。

[0385] 使用市售分析试剂盒测定血浆TG浓度、总胆固醇浓度、高密度脂蛋白(HDL)浓度、胆固醇浓度、总载脂蛋白B(apoB)浓度和载脂蛋白CIII(apoCIII)浓度(TG:甘油三酯(GPO)液体试剂套装,Pointe Scientific,目录编号T7532-500;总胆固醇:胆固醇试剂套装,Pointe Scientific,目录编号C7510-500;HDL:来自手控HDL试剂盒的胆固醇沉淀试剂,Wako,目录编号431-52501;总ApoB:K-Assay Apo B,Kamiya Biomedical Company,目录编号KAI-004;ApoC-III:ApoC-III分析试剂,Randox,目录编号LP-3865)。

[0386] NEG276-LALA施用导致血浆甘油三酯(TG)水平明显下降。在给药后第7日观察到最大血浆TG降低;在这个时间点,血浆TG浓度比基线血浆TG水平低58%。在给药后第7日出现最大TG降低之后,相对于基线浓度,血浆TG浓度仍受抑制超过40%直至给药后第21日,随后返回基线(图5)。除其对血浆TG的影响之外,相对于基线,NEG276-LALA施用降低血浆总胆固醇浓度大约30%(图6)并且在给药后第7日直至第21日距基线增加HDL胆固醇浓度超过20%(图7)。此外,在给药后第7日直至第21日观察到血浆ApoB总浓度下降大约30%(图8),并且在第7日直至第21日观察到血浆ApoC-III浓度相对于基线下降大约25%(图9)。我们还通过使用标准大小排阻色谱方法分离脂蛋白组分,评价了NEG276-LALA施用对脂蛋白相关的甘油三酯水平和胆固醇水平的影响。给药前(第0日)样品和给药后第7日样品的脂蛋白特征数据的比较显示,NEG276-LALA施用导致富含甘油三酯的脂蛋白(TRL)相关的胆固醇浓度和甘油三酯浓度明显下降(图10和图11中显示来自一只猴的结果)。

[0387] 通过引用方式并入作为参考

[0388] 本文援引的全部参考文献,包括专利、专利申请、论文、教材等及其中引用的参考文献,因而通过引用的方式完整并入本文至它们尚未达到的程度。

[0389] 等同物

[0390] 认为前面的书面说明书足以使本领域技术人员实施本发明成为可能。前面的描述和实施例详述了本发明的某些优选实施方案并描述了发明人构思的最佳模式。然而,将理解无论前述内容可能在文本上如何详细出现,本发明可以按多种方式实施并且本发明应当根据所附权利要求书及其任何等同物解释。



## 序列表

<110> 诺华股份有限公司  
<120> 血管生成素样蛋白 4 抗体和使用方法  
<130> PAT056029-US-NP  
<140> 14/819, 680  
<141> 2015-08-06  
<150> 62/034, 409  
<151> 2014-08-07  
<160> 233  
<170> PatentIn 版本 3.5  
<210> 1  
<211> 406  
<212> PRT  
<213> 智人  
<400> 1

[0001]

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

145	150	155	160
Arg Arg Lys Arg Leu Pro Glu Met Ala Gln Pro Val Asp Pro Ala His			
	165	170	175
Asn Val Ser Arg Leu His Arg Leu Pro Arg Asp Cys Gln Glu Leu Phe			
	180	185	190
Gln Val Gly Glu Arg Gln Ser Gly Leu Phe Glu Ile Gln Pro Gln Gly			
	195	200	205
Ser Pro Pro Phe Leu Val Asn Cys Lys Met Thr Ser Asp Gly Gly Trp			
	210	215	220
Thr Val Ile Gln Arg Arg His Asp Gly Ser Val Asp Phe Asn Arg Pro			
225	230	235	240
Trp Glu Ala Tyr Lys Ala Gly Phe Gly Asp Pro His Gly Glu Phe Trp			
	245	250	255
Leu Gly Leu Glu Lys Val His Ser Ile Thr Gly Asp Arg Asn Ser Arg			
	260	265	270
Leu Ala Val Gln Leu Arg Asp Trp Asp Gly Asn Ala Glu Leu Leu Gln			
	275	280	285
Phe Ser Val His Leu Gly Gly Glu Asp Thr Ala Tyr Ser Leu Gln Leu			
	290	295	300
Thr Ala Pro Val Ala Gly Gln Leu Gly Ala Thr Thr Val Pro Pro Ser			
305	310	315	320
Gly Leu Ser Val Pro Phe Ser Thr Trp Asp Gln Asp His Asp Leu Arg			
	325	330	335
Arg Asp Lys Asn Cys Ala Lys Ser Leu Ser Gly Gly Trp Trp Phe Gly			
	340	345	350
Thr Cys Ser His Ser Asn Leu Asn Gly Gln Tyr Phe Arg Ser Ile Pro			
	355	360	365
Gln Gln Arg Gln Lys Leu Lys Lys Gly Ile Phe Trp Lys Thr Trp Arg			
	370	375	380
Gly Arg Tyr Tyr Pro Leu Gln Ala Thr Thr Met Leu Ile Gln Pro Met			
385	390	395	400
Ala Ala Glu Ala Ala Ser			
	405		
<210> 2			

	<211> 1225	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 2	
	atgagcgggtg ctccgacggc cggggcagcc ctgatgctct gcgccgccac cgccgtgcta	60
	ctgagcgctc agggcggacc cgtgcagtcc aagtcgccgc gctttgcgtc ctgggacgag	120
	atgaatgtcc tggcgcacgg actcctgcag ctcgccagg ggctgcgca acacgcggag	180
	cgcacccgca gtcagctgag cgcgctggag cggcgccctga gcgcgtgcgg gtccgcctgt	240
	cagggaaaccg aggggtccac cgacctcccg ttagccctg agagccgggt ggaccctgag	300
	gtccttcaca gcctgcagac acaactcaag gtcagaaca gcagatcca gcaactcttc	360
	cacaaggtgg cccagcagca gcggcacctg gagaagcagc acctgcgaat tcagcatctg	420
	caaagccagt ttggcctcct ggaccacaag cacctagacc atgaggtggc caagcctgcc	480
	cgaagaaaga ggctgcccga gatggcccag ccagttgacc cggtcaca tgctagccgc	540
	ctgcaccggc tgcccaggga ttgccaggag ctgttccagg ttggggagag gcagagtgga	600
	ctatttgaat tccagcctca ggggtctccg ccatttttgg tgaactgcaa gatgacctca	660
	gatggaggct ggacagtaat tcagaggcgc cacgatggct cagtggactt caaccggccc	720
[0003]	tgggaagcct acaaggcggg gtttggggat cccacggcg agttctggct gggctctggag	780
	aaggtgcata gcatcacggg ggaccgcaac agccgcctgg ccgtgcagct gcgggactgg	840
	gatggcaacg ccgagttgct gcagttctcc gtgcacctgg gtggcgagga cacggcctat	900
	agcctgcagc tcaactgcacc cgtggccggc cagctgggag ccaccaccgt cccaccagc	960
	ggcctctccg tacccttctc cacttgggac caggatcacg acctccgag ggacaagaac	1020
	tgcgccaaga gcctctctgg aggctggtgg tttggcacct gcagccattc caacctcaac	1080
	ggccagtact tccgtccat cccacagcag cggcagaagc ttaagaagg aatcttctgg	1140
	aagacctggc ggggcccgtc ctaccgctg caggccacca ccatgttgat ccagcccatg	1200
	gcagcagagg cagcctccta gcgtc	1225
	<210> 3	
	<211> 406	
	<212> PRT	
	<213> 食蟹猴	
	<400> 3	
	Met Arg Gly Ala Pro Thr Ala Gly Ala Ala Leu Met Leu Cys Val Ala	
	1 5 10 15	
	Thr Ala Val Leu Leu Arg Ala Gln Gly Gly Pro Val Gln Ser Lys Ser	
	20 25 30	

[0004]

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

Thr Glu Pro Val Ala Ser Gln Leu Gly Ala Thr Thr Val Pro Pro Ser  
 305 310 315 320  
 Gly Leu Ser Val Pro Phe Ser Thr Trp Asp Gln Asp His Asp Leu Arg  
 325 330 335  
 Arg Asp Lys Asn Cys Ala Lys Ser Leu Ser Gly Gly Trp Trp Phe Gly  
 340 345 350  
 Thr Cys Ser His Ser Asn Leu Asn Gly Gln Tyr Phe Arg Ser Ile Pro  
 355 360 365  
 Gln Gln Arg Gln Glu Leu Lys Lys Gly Ile Phe Trp Lys Thr Trp Arg  
 370 375 380  
 Gly Arg Tyr Tyr Pro Leu Gln Ala Thr Thr Met Leu Ile Gln Pro Thr  
 385 390 395 400  
 Ala Ala Glu Ala Ala Ser  
 405

<210> 4

<211> 1221

<212> DNA

[0005]

<213> 食蟹猴

<400> 4

atgcgcggtg ctccgacggc cggagcagcc ctgatgctct gcgtcgccac ggccgtgctg	60
ctgagagctc agggcggccc ggtgcagtcc aagtctccgc gctttgcgtc ctgggacgag	120
atgaatgtcc tggcgcacgg actcctgcag ctaggccagg ggctgcgcga acacgcggag	180
cgcacccgca gtcagctgaa cgcgtggag cggcgcctca gcgcttgagg gtcctgctgc	240
caggaaccg aggggtccac cggcctccc ttagccctg agagccgggt ggaccctgag	300
gtccttcaca gcctgcagac acaactcaag gtcagaaca gcaggatcca gcaactcttc	360
cacaaggtgg ccagcagca cgggcacctg gagaagcagc acctgcgaat tcagcgtctg	420
caaagccagg ttggcctcct ggaccccaag cacctagacc atgaggtggc caagcctgcc	480
cgaagaaaga ggcgcccgga gatggccag ccagttgact cggtcaca tgccagccgc	540
ctgcaccggc tgccagggga ttccaggag ctgtttgaag atggggagag gcagagtgga	600
ctatttgaga tccagcctca ggggtctccg ccatttttg tgaactgaa gatgacctca	660
gatggaggct ggacagtaat tcagaggcgc cagatggct ctgtggactt caaccggccc	720
tggaagcct acaaggcggg gtttggggat cccaaggcg agttctggct gggcctggag	780
aaggtgcata gcatcacagg ggaccgcaac agccgcctgg ccgtgcagct gcaggactgg	840

	gatggcaacg ccgagtcgct gcagttctct gtgcacctgg gtggcgagga cacggcttac	900
	agcctgcagc tcaccgagcc cgtggccagc cagttgggtg ccaccaccgt cccgcctagc	960
	ggcctctccg tacccttctc cacttgggac caggatcacg acctccgcag ggacaagaac	1020
	tgcgccaaga gcctctctgg aggctggtgg tttggcacct gcagccattc caacctcaat	1080
	ggccagtact tccgctccat cccacagcag cggcaggagc ttaagaaagg aatcttctgg	1140
	aagacctggc ggggccccta ctaccgctg caggccacca ccatgttgat ccagcccacg	1200
	gcggcagagg cagcctccta g	1221
	<210> 5	
	<211> 460	
	<212> PRT	
	<213> 智人	
	<400> 5	
	Met Phe Thr Ile Lys Leu Leu Leu Phe Ile Val Pro Leu Val Ile Ser	
	1 5 10 15	
	Ser Arg Ile Asp Gln Asp Asn Ser Ser Phe Asp Ser Leu Ser Pro Glu	
	20 25 30	
[0006]	Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu Ala Asn	
	35 40 45	
	Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val His Lys Thr	
	50 55 60	
	Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile Phe Asp Gln	
	65 70 75 80	
	Ser Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Gln Thr Ser Glu Ile Lys Glu Glu Glu	
	85 90 95	
	Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Tyr Lys Leu Gln Val Lys Asn Glu Glu	
	100 105 110	
	Val Lys Asn Met Ser Leu Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu Ser Leu Leu	
	115 120 125	
	Glu Glu Lys Ile Leu Leu Gln Gln Lys Val Lys Tyr Leu Glu Glu Gln	
	130 135 140	
	Leu Thr Asn Leu Ile Gln Asn Gln Pro Glu Thr Pro Glu His Pro Glu	
	145 150 155 160	
	Val Thr Ser Leu Lys Thr Phe Val Glu Lys Gln Asp Asn Ser Ile Lys	
	165 170 175	

[0007]	Asp	Leu	Leu	Gln	Thr	Val	Glu	Asp	Gln	Tyr	Lys	Gln	Leu	Asn	Gln	Gln	
							180				185					190	
	His	Ser	Gln	Ile	Lys	Glu	Ile	Glu	Asn	Gln	Leu	Arg	Arg	Thr	Ser	Ile	
							195				200					205	
	Gln	Glu	Pro	Thr	Glu	Ile	Ser	Leu	Ser	Ser	Lys	Pro	Arg	Ala	Pro	Arg	
							210				215					220	
	Thr	Thr	Pro	Phe	Leu	Gln	Leu	Asn	Glu	Ile	Arg	Asn	Val	Lys	His	Asp	
	225						230				235					240	
	Gly	Ile	Pro	Ala	Glu	Cys	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asn	Arg	Gly	Glu	His	Thr	
							245				250					255	
	Ser	Gly	Met	Tyr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe	His	Val	
							260				265					270	
	Tyr	Cys	Asp	Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile	Gln	His	Arg	
							275				280					285	
	Ile	Asp	Gly	Ser	Gln	Asn	Phe	Asn	Glu	Thr	Trp	Glu	Asn	Tyr	Lys	Tyr	
							290				295					300	
	Gly	Phe	Gly	Arg	Leu	Asp	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu	Lys	Ile	
	305						310				315					320	
	Tyr	Ser	Ile	Val	Lys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Ile	Glu	Leu	Glu	
							325				330					335	
	Asp	Trp	Lys	Asp	Asn	Lys	His	Tyr	Ile	Glu	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Leu	Gly	
							340				345					350	
	Asn	His	Glu	Thr	Asn	Tyr	Thr	Leu	His	Leu	Val	Ala	Ile	Thr	Gly	Asn	
							355				360					365	
	Val	Pro	Asn	Ala	Ile	Pro	Glu	Asn	Lys	Asp	Leu	Val	Phe	Ser	Thr	Trp	
							370				375					380	
	Asp	His	Lys	Ala	Lys	Gly	His	Phe	Asn	Cys	Pro	Glu	Gly	Tyr	Ser	Gly	
	385						390				395					400	
	Gly	Trp	Trp	Trp	His	Asp	Glu	Cys	Gly	Glu	Asn	Asn	Leu	Asn	Gly	Lys	
							405				410					415	
	Tyr	Asn	Lys	Pro	Arg	Ala	Lys	Ser	Lys	Pro	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Leu	
							420				425					430	
	Ser	Trp	Lys	Ser	Gln	Asn	Gly	Arg	Leu	Tyr	Ser	Ile	Lys	Ser	Thr	Lys	
							435				440					445	

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

450

455

460

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 1380

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 6

[0008]

```

atgttcacaa ttaagctcct tcttttttatt gttcctctag ttatttcctc cagaattgat      60
caagacaatt catcatttga ttctctatct ccagagccaa aatcaagatt tgctatgtta      120
gacgatgtaa aaatttttagc caatggcctc cttcagttgg gacatggctt taaagacttt      180
gtccataaga cgaagggcca aattaatgac atatttcaaa aactcaacat atttgatcag      240
tctttttatg atctatcgct gcaaaccagt gaaatcaaag aagaagaaaa ggaactgaga      300
agaactacat ataaactaca agtcaaaaat gaagaggtaa agaatatgtc acttgaactc      360
aactcaaaac ttgaaagcct cctagaagaa aaaattctac ttcaacaaaa agtgaaatat      420
ttagaagagc aactaactaa cttaattcaa aatcaacctg aaactccaga acaccagaa      480
gtaacttcac ttaaaacttt ttagaataaa caagataata gcatcaaaga ctttctccag      540
accgtggaag accaatataa acaattaaac caacagcata gtcaataaaa agaaatagaa      600
aatcagctca gaaggactag tattcaagaa cccacagaaa tttctctatc ttccaagcca      660
agagcaccaa gaactactcc ctttcttcag ttgaatgaaa taagaaatgt aaaacatgat      720
ggcattcctg ctgaatgtac caccatttat aacagaggtg aacatacaag tggcatgtat      780
gccatcagac ccagcaactc tcaagttttt catgtctact gtgatgttat atcaggtagt      840
ccatggacat taattcaaca tcgaatagat ggatcacaaa acttcaatga aacgtgggag      900
aactacaaat atggtttttg gaggccttgat ggagaatttt ggttgggcct agagaagata      960
tactccatag tgaagcaatc taattatgtt ttacgaattg agttggaaga ctggaagac     1020
aacaacacatt atattgaata ttctttttac ttgggaaatc acgaaaccaa ctataccta     1080
catctagttg cgattactgg caatgtcccc aatgcaatcc cggaaaacaa agatttggtg     1140
ttttctactt gggatcacaa agcaaaagga cacttcaact gtccagaggg ttattcagga     1200
ggctggtggt ggcatgatga gtgtggagaa aacaacctaa atggtaaata taacaaacca     1260
agagcaaaat ctaagccaga gaggagaaga ggattatctt ggaagtctca aaatggaagg     1320
ttatactcta taaaatcaac caaatgttg atccatccaa cagattcaga aagctttgaa     1380

```

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列



[0009]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的肽

&lt;400&gt; 7

Ser Ser Trp Met Gln

1 5

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的肽

&lt;400&gt; 8

Glu Ile Asp Pro Ser Asp Asn Tyr Ala Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的肽

&lt;400&gt; 9

Gly Ser Tyr Phe Ser Asn Phe Phe Asp Tyr

1 5 10

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述：合成的  
肽

&lt;400&gt; 10

Ala Tyr Thr Phe Thr Ser Ser

1 5

<210> 11  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 11  
Asp Pro Ser Asp Asn Tyr  
1 5  
<210> 12  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
[0010]  
<400> 12  
Gly Ser Tyr Phe Ser Asn Phe Phe Asp Tyr  
1 5 10  
<210> 13  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
多肽  
<400> 13  
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 Ala Tyr Thr Phe Thr Ser Ser  
20 25 30  
Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

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

<210> 14

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多核苷酸

[0011]

<400> 14

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaggtg	60
tcctgcaagg ccagcgcccta cacctttacc agcagctgga tgcagtgggt gcgccagget	120
cctggacagg gcctggaatg gatgggagag atcgacccca gcgacaacta cgccaactac	180
aaccagaaat tccagggcag agtgaccctg accgtggaca ccagcacctc caccgcctac	240
atggaactga gcagcctgcg gagcgaggac accgccgtgt actattgtgc cagcggcagc	300
tacttcagea acttcttcga ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcacatc	357

<210> 15

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

<400> 15

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

[0012]

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

	Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val	
	290	295
	300	
	Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu	
	305	310
	315	320
	Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys	
	325	330
	335	
	Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr	
	340	345
	350	
	Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr	
	355	360
	365	
	Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu	
	370	375
	380	
	Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu	
	385	390
	395	400
	Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys	
	405	410
	415	
[0013]	Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu	
	420	425
	430	
	Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
	435	440
	445	
	Lys	
	<210> 16	
	<211> 1347	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成的	
	多核苷酸	
	<400> 16	
	caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaagggtg	60
	tcctgcaagg ccagcgcta cacttttacc agcagctgga tgcagtgggt gcgccaggct	120
	cctggacagg gcctggaatg gatgggcgag atcgaccca gcgacaacta cgccaactac	180
	aaccagaaat tccagggcag agtgaccctg accgtggaca ccagcacctc caccgcctac	240
	atggaactga gcagcctgcg gagcgaggac accgccgtgt actattgtgc cagcggcagc	300

	tacttcagca acttcttcga ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcattctgct	360
	agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc	420
	acagccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg	480
	aacagcggag ccctgacctc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gaggcagcgc	540
	ctgtacagcc tgtccagcgt ggtgacagtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac	600
	atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt ggagcccaag	660
	agctgcgaca agaccacac ctgccccccc tgccagccc cagagctgct gggcggaccc	720
	tccgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagcag gacccccgag	780
	gtgacctgcg tgggtgtgga cgtgagccac gaggaccag aggtgaagtt caactggtac	840
	gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagccca gagaggagca gtacaacagc	900
	acctacaggg tgggtgtcgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa	960
	tacaagtgca aggtctccaa caaggccctg ccagccccc tcaaaaagac catcagcaag	1020
	gccaaaggcc agccacggga gccccaggtg tacaccctgc cccctcccg ggaggagatg	1080
	accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaagggt tctaccccag cgacatgcc	1140
	gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag acaactaca agaccacccc cccagtgtg	1200
	gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag	1260
	cagggcaacg tgttcagctg cagcgtgatg cagaggccc tgcacaacca ctacaccag	1320
[0014]	aagagcctga gcctgtcccc cggcaag	1347
	<210> 17	
	<211> 11	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成的	
	肽	
	<400> 17	
	Lys Ala Ser Gln Asp Ile Gly Ser Asn Leu Asn	
	1 5 10	
	<210> 18	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成的	

肽  
<400> 18  
Ala Val Ser Asn Arg Gly Pro  
1 5  
<210> 19  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述: 合成的  
肽  
<400> 19  
Leu Gln Tyr Ala Ser Ser Pro Trp Thr  
1 5  
<210> 20  
<211> 7  
<212> PRT  
[0015] <213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述: 合成的  
肽  
<400> 20  
Ser Gln Asp Ile Gly Ser Asn  
1 5  
<210> 21  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述: 合成的  
肽  
<400> 21  
Ala Val Ser  
1

<210> 22

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 22

Tyr Ala Ser Ser Pro Trp

1 5

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

[0016]

<400> 23

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Gly Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ala Val Ser Asn Arg Gly Pro Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Arg Ser Gly Ser Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ala Ser Ser Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 24

<211> 321



<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多核苷酸

<400> 24

```
gagatcgtga tgacacagag ccccgccacc ctgtccgtgt ctccaggcga aagagccacc      60
ctgagctgca aagccagcca ggacatcggc agcaacctga actggctgca gcagaaacca      120
ggccaggccc ccagaaggct gatctacgct gtttccaacc gtggtcctgg catccccgcc      180
agattttccg gcagcagatc cggcagcgag tacacctga ccatcagcag cctgcagagc      240
gaggacttcg ccgtgtacta ctgcctgcag tacgccagca gcccctggac atttgccag      300
ggcaccaagg tggaatcaa g      321
```

<210> 25

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

<400> 25

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

[0017]

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125  
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 642

&lt;212&gt; DNA

[0018]

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述: 合成的

多核苷酸

&lt;400&gt; 26

gagatcgtga tgacacagag ccccgccacc ctgtccgtgt ctccaggcga aagagccacc	60
ctgagctgca aagccagcca ggacatcggc agcaacctga actggctgca gcagaaacca	120
ggccaggccc ccagaaggct gatctacgct gtttccaacc gtggtcctgg catccccgcc	180
agattttccg gcagcagatc cggcagcgag tacacctga ccatcagcag cctgcagagc	240
gaggacttcg ccgtgtacta ctgcctgcag tacgccagca gcccctggac atttgccag	300
ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacgggtg gccgtccca gcgtgttcat cttccccccc	360
agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtgggtgt gcctgctgaa caacttctac	420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag	480
gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc	540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc	600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc	642

&lt;210&gt; 27

Ala Ser Gly Ser Tyr Phe Ser Asn Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

370	375	380	
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
385	390	395	400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
	405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
	420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
	435	440	445
Lys			

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 1347

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述: 合成的

[0021]

多核苷酸

&lt;400&gt; 29

caggtgcagc tgggtgcagtc aggcgcgcgaa gtgaagaaac cggcgctag tgtgaaagtc	60
agctgtaaag ctagtgccta caccttcacc tctagctgga tgcagtgggt cagacaggcc	120
ccaggtcagg gcctggagtg gatgggcgag atcgacccta gcgataacta cgctaactat	180
aatcagaagt ttcagggtag agtcaccctg accgtggaca ctagcactag caccgcctat	240
atggaactgt ctagcctgag atcagaggac accgccgtct actactgcgc tagtggtagc	300
tactttctcta actttcttca ctactggggt cagggcaccc tggtcaccgt gtctagcgt	360
agcactaagg gcccctccgt gttccctctg gccccttcca gcaagtctac ctccggcggc	420
acagctgctc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccctg agcctgtgac agtgtcctgg	480
aactctggcg ccctgacctc tggcgtgcac accttccctg ccgtgctgca gtcctccggc	540
ctgtactccc tgtcctccgt ggtcacagtg ctttcaagca gcctgggcac ccagacctat	600
atctgcaacg tgaaccacaa gccttccaac accaagggtg acaagcgggt ggagcctaag	660
tcctgcgaca agaccacac ctgtcctccc tgccctgctc ctgaagctgc tggcggccct	720
tctgtgttcc tgttccctcc aaagcccaag gacaccctga tgatctcccg gaccctgaa	780
gtgacctgcg tgggtggtgga cgtgtccac gaggatcctg aagtgaagtt caattgttac	840
gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagcctc gggaggaaca gtacaactcc	900

	acctaccggg tgggtgccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaagag	960
	tacaagtgca aagtctccaa caaggccctg cctgccccta tcgaaaagac aatctccaag	1020
	gccaaaggcc agcctaggga accccaggtg tacaccctgc caccagccg ggaggaaatg	1080
	accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtcaagggt tctacccttc cgatatcgcc	1140
	gtggagtggg agtctaacgg ccagcctgag aacaactaca agaccacccc tcctgtgctg	1200
	gactccgacg gctccttctt cctgtactcc aaactgaccg tggacaagtc ccggtggcag	1260
	cagggaacg tgttctcctg ctccgtgatg cagcaggccc tgcacaacca ctacaccag	1320
	aagtcctgt ccctgtctcc cggcaag	1347
	<210> 30	
	<211> 321	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成的	
	多核苷酸	
	<400> 30	
[0022]	gagatcgtga tgactcagtc acccgctacc ctgagcgtca gccctggcga gcgggctaca	60
	ctgagctgta aagcctctca ggatatcggc tctaacctga actggctgca gcagaagccc	120
	ggtcaggccc ctagacggct gatctacgcc gtgtctaata gagggcccgg aatccccgct	180
	aggttttagcg gctctaggtc aggttcagag tacaccctga ctatctctag cctgcagtca	240
	gaggacttcg ccgtctacta ctgcctgcag tacgcctcta gcccctggac cttcggtcag	300
	ggcactaagg tcgagattaa g	321
	<210> 31	
	<211> 642	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成的	
	多核苷酸	
	<400> 31	
	gagatcgtga tgactcagtc acccgctacc ctgagcgtca gccctggcga gcgggctaca	60
	ctgagctgta aagcctctca ggatatcggc tctaacctga actggctgca gcagaagccc	120
	ggtcaggccc ctagacggct gatctacgcc gtgtctaata gagggcccgg aatccccgct	180

	aggttttagcg gctctaggtc aggttcagag tacaccctga ctatctctag cctgcagtca	240
	gaggacttcg ccgtctacta ctgcctgcag tacgcctcta gcccctggac ctteggtcag	300
	ggcactaagg tcgagattaa gcgtacggtg gccgtccca gcgtgttcat ctccccccc	360
	agcgacgagc agctgaagag cggcacccgc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac	420
	ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag	480
	gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc	540
	ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc	600
	ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc	642
	<210> 32	
	<211> 5	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成的	
	肽	
	<400> 32	
[0023]	Ser Ser Trp Met Gln	
	1 5	
	<210> 33	
	<211> 17	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成的	
	肽	
	<400> 33	
	Glu Ile Asp Pro Ser Asp Asn Tyr Ala Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Gln	
	1 5 10 15	
	Gly	
	<210> 34	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	

[0024]

<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 34  
Gly Ser Tyr Phe Ser Asn Phe Phe Asp Tyr  
1 5 10  
<210> 35  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 35  
Ala Tyr Thr Phe Thr Ser Ser  
1 5  
<210> 36  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 36  
Asp Pro Ser Asp Asn Tyr  
1 5  
<210> 37  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 37



Gly Ser Tyr Phe Ser Asn Phe Phe Asp Tyr  
1 5 10  
<210> 38  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
多肽  
<400> 38  
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 Ala Tyr Thr Phe Thr Ser Ser  
20 25 30  
Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
[0025] Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Asn Tyr Ala Asn Tyr Asn Gln Lys Phe  
50 55 60  
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr 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 Ser Gly Ser Tyr Phe Ser Asn Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110  
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115  
<210> 39  
<211> 357  
<212> DNA  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
多核苷酸  
<400> 39

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaggtg 60  
 tcctgcaagg ccagcgccta cacctttacc agcagctgga tgcagtgggt gcgccaggct 120  
 cctggacagg gcctggaatg gatgggcgag atcgacccca gcgacaacta cgccaactac 180  
 aaccagaaat tccagggcag agtgaccctg accgtggaca ccagcacctc caccgcctac 240  
 atggaactga gcagcctgcg gagcgaggac accgccgtgt actattgtgc cagcggcagc 300  
 tacttcagca acttcttcga ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcattct 357

<210> 40

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

<400> 40

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 Ala Tyr Thr Phe Thr Ser Ser

[0026]

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Asn Tyr Ala Asn Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr 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 Ser Gly Ser Tyr Phe Ser Asn Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

[0027]	Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
	165	170	175
	Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
	180	185	190
	Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
	195	200	205
	Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
	210	215	220
	Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
	225	230	235
	Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
	245	250	255
	Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
	260	265	270
	Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
	275	280	285
	Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
	290	295	300
	Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
	305	310	315
	Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
	325	330	335
	Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
	340	345	350
	Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
	355	360	365
	Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
	370	375	380
	Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
	385	390	395
	Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
	405	410	415
	Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
	420	425	430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435

440

445

Lys

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 1347

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述: 合成的

多核苷酸

&lt;400&gt; 41

[0028]

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaagggtg	60
tcctgcaagg ccagcgccta cacttttacc agcagctgga tgcagtgggt gcgccaggct	120
cctggacagg gcctggaatg gatgggcgag atcgacccca gcgacaacta cgccaactac	180
aaccagaaat tccagggcag agtgaccctg accgtggaca ccagcacctc caccgcctac	240
atggaaactga gcagcctgcg gagcgaggac accgccgtgt actattgtgc cagcggcagc	300
tacttcagca acttcttcga ctactggggc cagggcaccc tcgtgaccgt gtcattctgct	360
agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc	420
acagccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg	480
aacagcggag ccctgacctc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc	540
ctgtacagcc tgtccagcgt ggtgacagt cccagcagca gcctgggcac ccagacctac	600
atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt ggagcccaag	660
agctgcgaca agaccacac ctgccccccc tgcccagccc cagagctgct gggcggaccc	720
tccgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagcag gacccccgag	780
gtgacctgcg tgggtgtgga cgtgagccac gaggaccacag aggtgaagtt caactggtac	840
gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagccca gagaggagca gtacaacagc	900
acctacaggg tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa	960
tacaagtgca aggtctccaa caaggccctg ccagccccc a tcgaaaagac catcagcaag	1020
gccaaaggcc agccacggga gccccagggtg tacaccctgc cccctcccc ggaggagatg	1080
accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaagggt tctaccccag cgacatcgcc	1140
gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc cccagtgtctg	1200
gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag	1260
cagggcaacg tgttcagctg cagcgtgatg cagcaggccc tgcacaacca ctacaccag	1320

	aagagcctga gcctgtcccc cggcaag	1347
	<210> 42	
	<211> 11	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成的	
	肽	
	<400> 42	
	Lys Ala Ser Gln Asp Ile Gly Ser Asn Leu Asn	
	1 5 10	
	<210> 43	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
[0029]	<223> 人工序列的描述：合成的	
	肽	
	<400> 43	
	Ala Ala Ser Val Arg Glu Pro	
	1 5	
	<210> 44	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成的	
	肽	
	<400> 44	
	Leu Gln Tyr Ala Ser Ser Pro Trp Thr	
	1 5	
	<210> 45	
	<211> 7	
	<212> PRT	

[0030]

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的  
肽

<400> 45

Ser Gln Asp Ile Gly Ser Asn

1 5

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的  
肽

<400> 46

Ala Ala Ser

1

<210> 47

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的  
肽

<400> 47

Tyr Ala Ser Ser Pro Trp

1 5

<210> 48

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的  
多肽

&lt;400&gt; 48

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Gly Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Val Arg Glu Pro Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Arg Ser Gly Ser Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ala Ser Ser Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 321

[0031]

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述: 合成的

多核苷酸

&lt;400&gt; 49

gagatcgtga tgacacagag ccccgccacc ctgtccgtgt ctccaggcga aagagccacc 60

ctgagctgca aagccagcca ggacatcggc agcaacctga actggctgca gcagaaacca 120

ggccaggccc ccagaaggct gatctacgct gcttccgtcc gtgagcctgg catccccgcc 180

agattttccg gcagcagatc cggcagcgag tacaccctga ccatcagcag cctgcagagc 240

gaggacttcg ccgtgtacta ctgcctgcag tacgccagca gcccctggac atttgccag 300

ggcaccaagg tggaaatcaa g 321

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 214

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

<400> 50

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Gly Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Val Arg Glu Pro Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Arg Ser Gly Ser Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ala Ser Ser Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

[0032]

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 51

<211> 642

<212> DNA



<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多核苷酸

<400> 51

```
gagatcgtga tgacacagag ccccgccacc ctgtccgtgt ctccaggcga aagagccacc      60
ctgagctgca aagccagcca ggacatcggc agcaacctga actggctgca gcagaaacca      120
ggccaggccc ccagaaggct gatctacgct gcttccgtcc gtgagcctgg catccccgcc      180
agattttccg gcagcagatc cggcagcgag tacaccctga ccatcagcag cctgcagagc      240
gaggacttcg ccggtgtacta ctgcctgcag tacgccagca gcccctggac atttgccag      300
ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacgggtg gccgtcctcca gcgtgttcat cttecccccc      360
agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac      420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag      480
gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc      540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc      600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc                        642
```

[0033]

<210> 52

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 52

Ser Tyr Thr Met His

1 5

<210> 53

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 53

Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Thr Lys Tyr Asn Gln Lys Phe Gln  
1 5 10 15  
Gly

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的  
肽

<400> 54

Gly Trp Leu Leu Leu Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

[0034]

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的  
肽

<400> 55

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

1 5

<210> 56

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的  
肽

<400> 56

Asn Pro Ser Ser Gly Tyr

1 5

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 57

Gly Trp Leu Leu Leu Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 58

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

[0035]

<400> 58

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Thr Lys Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Lys 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 Glu Gly Trp Leu Leu Leu Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 59

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多核苷酸

<400> 59

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaggtg	60
tcctgcaagg ccagcggcta cacctttacc agctacacca tgcactgggt gcgccaggct	120
ccaggccagg gactggaatg gatgggctac atcaacccca gcagcggcta taccaagtac	180
aaccagaaat tccagggccg cgtgaccatg accgccgaca agagcacaag caccgcctac	240
atgggaactga gcagcctgcg gagcggaggac accgccgtgt actattgtgc cgagggctgg	300
ctgctgctgg ccatggatta ttggggccag ggcaccctcg tgaccgtgtc tagt	354

<210> 60

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

<400> 60

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

[0036]

[0037]

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

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
 370 375 380  
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 385 390 395 400  
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
 405 410 415  
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
 420 425 430  
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 61

<211> 1344

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多核苷酸

[0038]

<400> 61

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaggtg	60
tectgcaagg ccagcggtcta cacctttacc agctacacca tgcactgggt gcgccagget	120
ccaggccagg gactggaatg gatgggctac atcaaccca gcagcggtcta taccaagtac	180
aaccagaaat tccagggccg cgtgaccatg accgccgaca agagcacaag caccgcctac	240
atggaactga gcagcctgcg gagcgaggac accgccgtgt actattgtgc cgagggctgg	300
ctgctgctgg ccatggatta ttggggccag ggcaccctcg tgaccgtgtc tagtgctagc	360
accaagggcc ccagcgtgtt ccccttgcc cccagcagca agagcaccag cggcggcaca	420
gccgccctgg gctgcctggt gaaggactac ttccccgagc ccgtgaccgt gtcctggaac	480
agcggagccc tgacctccgg cgtgcacacc ttccccgccc tgctgcagag cagcggcctg	540
tacagcctgt ccagcgtggt gacagtgcgc agcagcagcc tgggcaccca gacctacatc	600
tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagtga gccaagagc	660
tgcgacaaga cccacacctg cccccctgc ccagccccag agctgctggg cggaccctcc	720
gtgttcctgt tccccccaa gccaaggac accctgatga tcagcaggac ccccgaggtg	780
acctgcgtgg tgggtggacgt gagccacgag gaccagagg tgaagttcaa ctggtacgtg	840
gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc aagcccagag aggagcagta caacagcacc	900
tacagggtgg tgtccgtgct gaccgtgctg caccaggact ggctgaacgg caaggaatac	960

aagtgcaagg tctccaacaa ggccctgcca gcccccatcg aaaagaccat cagcaaggcc 1020  
aagggccagc cacgggagcc ccaggtgtac accctgcccc cctcccggga ggagatgacc 1080  
aagaaccagg tgtccctgac ctgtctggtg aagggttct accccagcga catgcccgtg 1140  
gagtgggaga gcaacggcca gcccgagaac aactacaaga ccaccccccc agtgtggac 1200  
agcgacggca gcttcttct gtacagcaag ctgaccgtgg acaagtccag gtggcagcag 1260  
ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggccctgc acaaccacta caccagaag 1320  
agcctgagcc tgtccccgg caag 1344

<210> 62

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 62

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Ile

1 5 10

[0039]

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 63

Gly Thr Asn Asn Arg Ala Pro

1 5

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

[0040]

&lt;400&gt; 64

Ala Leu Trp Tyr Ser Asp His Trp Val

1 5

&lt;210&gt; 65

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 65

Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr

1 5 10

&lt;210&gt; 66

&lt;211&gt; 3

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 66

Gly Thr Asn

1

&lt;210&gt; 67

&lt;211&gt; 6

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 67

Trp Tyr Ser Asp His Trp

1 5

&lt;210&gt; 68



<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

<400> 68

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Asn Tyr Ala Ile Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg

35 40 45

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Asn Arg Ala Pro Gly Ile Pro Ala Arg

50 55 60

Phe Ser Gly Ser Leu Ser Gly Asp Asp Ala Thr Leu Thr Ile Ser Ser

65 70 75 80

[0041]

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser

85 90 95

Asp His Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 69

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多核苷酸

<400> 69

gaagccgtcg tgacacagag ccctgccacc ctgtcactga gccctggcga aagagccacc 60

ctgagctgca gatctagcac cggcgctgtg accaccagca actacgccat ctgggtgcag 120

gaaaagcccg gccaggctcc cagaggactg atcggcggca ccaacaatag agcccctggc 180

atccccgcca gattcagcgg atctctgtct ggcgacgacg ccacactgac catcagcagc 240

```

ctgcagcccg aggacttcgc cgtgtacttc tgcgccctgt ggtacagcga ccactgggtg      300
ttcggccagg gcaccaaggt ggaaatcaag      330
<210> 70
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成的
      多肽
<400> 70
Glu Ala Val Val Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1           5           10           15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
      20           25           30
Ser Asn Tyr Ala Ile Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg
      35           40           45
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Asn Arg Ala Pro Gly Ile Pro Ala Arg
[0042] 50           55           60
Phe Ser Gly Ser Leu Ser Gly Asp Asp Ala Thr Leu Thr Ile Ser Ser
65           70           75           80
Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
      85           90           95
Asp His Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
      100          105          110
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
      115          120          125
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
      130          135          140
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145          150          155          160
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
      165          170          175
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
      180          185          190

```

	Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val	
	195	200 205
	Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
	210	215
	<210> 71	
	<211> 651	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成的	
	多核苷酸	
	<400> 71	
[0043]	gaagccgctcg tgacacagag ccctgccacc ctgtcactga gccctggcga aagagccacc	60
	ctgagctgca gatctagcac cggcgctgtg accaccagca actacgccat ctgggtgcag	120
	gaaaagcccg gccaggctcc cagaggactg atcggcggca ccaacaatag agcccctggc	180
	atccccgcca gattcagcgg atctctgtct ggcgacgacg ccacactgac catcagcagc	240
	ctgcagcccg aggacttcgc cgtgtacttc tgcgccctgt ggtacagcga cactgggtg	300
	ttcggccagg gcaccaaggt ggaaatcaag cgtacgggtgg ccgtcccag cgtgttcac	360
	ttcccccca gcgacgagca gctgaagagc ggcaccgcca gcgtggtgtg cctgctgaac	420
	aacttctacc cccgggaggc caaggtgcag tggaaggtgg acaacgccct gcagagcggc	480
	aacagccagg agagcgtcac cgagcaggac agcaaggact ccacctacag cctgagcagc	540
	accctgaccc tgagcaaggc cgactacgag aagcataagg tgtacgcctg cgaggtgacc	600
	caccagggcc tgtccagccc cgtgaccaag agcttcaaca ggggcgagtg c	651
	<210> 72	
	<211> 5	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成的	
	肽	
	<400> 72	
	Asn Tyr Trp Ile Thr	
	1	5
	<210> 73	

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 73

Asp Phe Tyr Pro Gly Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ala Lys Leu Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 74

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 74

Ser Pro Pro Gln Val Ala Pro Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 75

Gly Tyr Thr Phe Asn Asn Tyr

1

5

<210> 76

<211> 6

<212> PRT

[0044]

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 76

Tyr Pro Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 77

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 77

Ser Pro Pro Gln Val Ala Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

[0045]

<210> 78

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

<400> 78

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 Asn Asn Tyr

20 25 30

Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Asp Phe Tyr Pro Gly Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ala Lys Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

	65	70	75	80
	Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
		85	90	95
	Ala Arg Ser Pro Pro Gln Val Ala Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
		100	105	110
	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
	115			
	<210> 79			
	<211> 357			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 人工序列的描述: 合成的			
	多核苷酸			
	<400> 79			
[0046]	caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaggtg			60
	tcctgcaagg ccagcggcta cacctttaac aactactgga tcacctgggt gcgccaggcc			120
	cctggacagg gactggaatg gatgggcgac ttctaccctg gcggcggcag caccaactac			180
	aacgccaagc tgcagggcag agtgaccctg accgtggaca ccagcacctc caccgcctac			240
	atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt attactgcgc tagaagccct			300
	cctcaggtgg ccccttcga ttattggggc cagggcacac tcgtgaccgt gtcctct			357
	<210> 80			
	<211> 449			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 人工序列的描述: 合成的			
	多肽			
	<400> 80			
	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 Asn Asn Tyr			
	20 25 30			
	Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			

	35				40				45							
	Gly	Asp	Phe	Tyr	Pro	Gly	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Ala	Lys	Leu
	50				55				60							
	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
	65				70				75				80			
	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85				90				95			
	Ala	Arg	Ser	Pro	Pro	Gln	Val	Ala	Pro	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
	100				105				110							
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
	115				120				125							
	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
	130				135				140							
	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
	145				150				155				160			
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
					165				170				175			
[0047]	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
	180				185				190							
	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
	195				200				205							
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys
	210				215				220							
	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
	225				230				235				240			
	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
					245				250				255			
	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp
	260				265				270							
	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
	275				280				285							
	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
	290				295				300							
	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu

305	310	315	320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
	325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
	340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
	355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
	370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
385	390	395	400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
	405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
	420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
	435	440	445
[0048] Lys			

<210> 81

<211> 1347

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的

多核苷酸

<400> 81

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaggtg	60
tcttgcaagg ccagcggtta cacctttaac aactactgga tcacctgggt gcgccaggcc	120
cctggacagg gactggaatg gatgggacac ttctaccctg gcggcggcag caccaactac	180
aacgccaagc tgcagggcag agtgaccctg accgtggaca ccagcacctc caccgcctac	240
atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt attactgcgc tagaagcct	300
cctcaggtgg ccccttcga ttattggggc cagggcacac tegtaccgt gtcctctgct	360
agcaccaagg gcccagcgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcgcgggc	420



```

acagccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg      480
aacagcggag ccctgacctc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc      540
ctgtacagcc tgtccagcgt ggtgacagtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac      600
atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaagggtgg acaagagagt ggagcccaag      660
agctgcgaca agaccacac ctgccccccc tgcccagccc cagagctgct gggcggaccc      720
tccgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacacctga tgatcagcag gacccccgag      780
gtgacctgcg tgggtgtgga cgtgagccac gaggaccag aggtgaagtt caactggtac      840
gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagccca gagaggagca gtacaacagc      900
acctacaggg tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa      960
tacaagtgca aggtctccaa caaggccctg ccagccccca tcgaaaagac catcagcaag     1020
gccaaaggcc agccacggga gccccaggtg tacacctgc cccctccccg ggaggagatg     1080
accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaagggt tctaccccag cgacatcgcc     1140
gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc cccagtgtg      1200
gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag      1260
cagggaacg tgttcagctg cagcgtgatg cagaggccc tgcacaacca ctacaccag      1320
aagagcctga gcctgtcccc cggcaag                                     1347

```

[0049]

&lt;210&gt; 82

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 82

Gln Ala Ser Asp Tyr Ile Tyr His Trp Leu Gly

1

5

10

&lt;210&gt; 83

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 83

	Gly Ala Ser Gly Leu Glu Thr
	1 5
	<210> 84
	<211> 9
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 人工序列的描述：合成的
	肽
	<400> 84
	Gln Gln Tyr Trp Ser Thr Pro Trp Thr
	1 5
	<210> 85
	<211> 7
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
[0050]	<223> 人工序列的描述：合成的
	肽
	<400> 85
	Ser Asp Tyr Ile Tyr His Trp
	1 5
	<210> 86
	<211> 3
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 人工序列的描述：合成的
	肽
	<400> 86
	Gly Ala Ser
	1
	<210> 87
	<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的  
肽

<400> 87

Tyr Trp Ser Thr Pro Trp

1 5

<210> 88

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的  
多肽

<400> 88

[0051]

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 Asp Tyr Ile Tyr His Trp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Thr Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 89

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述: 合成的

多核苷酸

&lt;400&gt; 89

gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgtctgccg gcgtgggcga cagggtgacc	60
atcacctgtc aggccagcga ctacatctac cactggctgg gctggtatca gcagaagccc	120
ggcaaggccc ccaagctgct gattagcgga gcctccggtc tggaaaccgg cgtgccaagc	180
agattttccg gcagcggctc cggcaaggac tacaccttca ccatcagctc cctgcagccc	240
gaggatatcg ccacctacta ctgccagcag tactgggtcca ccccctggac ctttggccag	300
ggcaccaagc tggaaatcaa g	321

&lt;210&gt; 90

&lt;211&gt; 214

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述: 合成的

多肽

[0052]

&lt;400&gt; 90

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

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 91

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

[0053]

<223> 人工序列的描述：合成的  
 多核苷酸

<400> 91

gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgtctgccg gcgtgggcga cagggtgacc 60  
 atcacctgtc aggccagcga ctacatctac cactggctgg gctggtatca gcagaagccc 120  
 ggcaaggccc ccaagctgct gattagcgga gcctccggtc tggaaccgg cgtgccaagc 180  
 agattttccg gcagcggtc cggaaggac tacacctca ccatcagctc cctgcagccc 240  
 gaggatatcg ccacctacta ctgccagcag tactgggtcca cccctggac ctttgccag 300  
 ggcaccaagc tggaatcaa gcgtacgggtg gccgctccca gcgtgttcat cttccccccc 360  
 agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420  
 cccgggagg ccaagtgca gtggaagtg gacaacgcc tgcagagcgg caacagccag 480  
 gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540  
 ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600  
 ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc 642

<210> 92

<211> 5

<212> PRT

	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 人工序列的描述：合成的
	肽
	<400> 92
	Asn Tyr Trp Ile Thr
	1 5
	<210> 93
	<211> 17
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 人工序列的描述：合成的
	肽
	<400> 93
	Asp Phe Tyr Pro Gly Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Ala Lys Leu Gln
[0054]	1 5 10 15
	Gly
	<210> 94
	<211> 10
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 人工序列的描述：合成的
	肽
	<400> 94
	Ser Pro Pro Gln Val Ala Pro Phe Asp Tyr
	1 5 10
	<210> 95
	<211> 7
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>

[0055]

<223> 人工序列的描述：合成的  
肽

<400> 95

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

1 5

<210> 96

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的  
肽

<400> 96

Tyr Pro Gly Gly Gly Asn

1 5

<210> 97

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的  
肽

<400> 97

Ser Pro Pro Gln Val Ala Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 98

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的  
多肽

<400> 98

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

115

&lt;210&gt; 99

&lt;211&gt; 357

[0056]

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述: 合成的

多核苷酸

&lt;400&gt; 99

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaggtg	60
tcctgcaagg ccagcggcta cacctttacc aactactgga tcacctgggt gcgccaggcc	120
cctggacagg gactggaatg gatgggacac ttctaccctg gcggcggaac caccaactac	180
aacgccaagc tgcagggcag agtgaccctg accgtggaca ccagcacctc caccgcctac	240
atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt attactgcgc tagaagccct	300
cctcaggtgg ccccttcga ttattggggc cagggcacac tcgtgaccgt gtcctct	357

&lt;210&gt; 100

&lt;211&gt; 449

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;



<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

<400> 100

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

[0057]

	245	250	255
	Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
	260	265	270
	Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
	275	280	285
	Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
	290	295	300
	Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
	305	310	315
	Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
	325	330	335
	Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
	340	345	350
	Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
	355	360	365
	Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
[0058]	370	375	380
	Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
	385	390	395
	Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
	405	410	415
	Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
	420	425	430
	Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
	435	440	445
	Lys		

<210> 101

<211> 1347

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多核苷酸

<400> 101	
caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaggtg	60
tcctgcaagg ccagcggtcta cacctttacc aactactgga tcacctgggt gcgccaggcc	120
cctggacagg gactggaatg gatgggagac ttctacctg gcggcgga caccactac	180
aacgccaagc tgcagggcag agtgaccctg accgtggaca ccagcacctc caccgcctac	240
atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt attactgcgc tagaagccct	300
cctcaggtgg ccccttcga ttattggggc cagggcacac tcgtgaccgt gtcctctgct	360
agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcgcgggc	420
acagccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg	480
aacagcgag ccctgacctc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc	540
ctgtacagcc tgtccagcgt ggtgacagt cccagcagca gcctgggcac ccagacctac	600
atctgcaac tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt ggagcccaag	660
agctgcgaca agaccacac ctgccccccc tgcccagccc cagagctgct gggcggaccc	720
tccgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacacctga tgatcagcag gacccccgag	780
gtgacctgcg tgggtgtgga cgtgagccac gaggaccag aggtgaagtt caactggtac	840
gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagccca gagaggagca gtacaacagc	900
acctacaggg tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa	960
tacaagtga aggtctccaa caaggccctg ccagccccca tcgaaaagac catcagcaag	1020
gccaagggcc agccacggga gccccaggtg tacacctgc cccctcccg ggaggagatg	1080
accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaagggt tctaccccag cgacatgcc	1140
gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc cccagtgtg	1200
gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag	1260
cagggcaacg tggtcagctg cagcgtgatg cagaggccc tgcacaacca ctacaccag	1320
aagagcctga gcctgtcccc cggcaag	1347
<210> 102	
<211> 11	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成的	
肽	
<400> 102	
Gln Ala Ser Glu Tyr Ile Tyr Asn Trp Leu Gly	
1	5 10

<210> 103  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 103  
Gly Ala Ser Gly Leu Glu Thr  
1 5  
<210> 104  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
[0060]  
<400> 104  
Gln Gln Tyr Trp Ser Thr Pro Trp Thr  
1 5  
<210> 105  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 105  
Ser Glu Tyr Ile Tyr Asn Trp  
1 5  
<210> 106  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0061]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 106

Gly Ala Ser

1

&lt;210&gt; 107

&lt;211&gt; 6

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 107

Tyr Trp Ser Thr Pro Trp

1

5

&lt;210&gt; 108

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

多肽

&lt;400&gt; 108

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Thr Pro Trp	
	85	90 95
	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
	100	105
	<210> 109	
	<211> 321	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成的	
	多核苷酸	
	<400> 109	
	gacatccaga tgacccagag cccagcagc ctgtctgcca gcgtgggcga cagggtgacc	60
	atcacctgtc aggccagcga atacatctac aactggctgg gctggtatca gcagaagccc	120
	ggcaaggccc ccaagctgct gattagcgga gcctccggtc tggaaaccgg cgtgccaagc	180
	agattttccg gcagcggctc cggcaaggac tacaccttca ccatcagctc cctgcagccc	240
[0062]	gaggatatcg ccacctacta ctgccagcag tacttggtcca cccctggac ctttgccag	300
	ggcaccaagc tggaaatcaa g	321
	<210> 110	
	<211> 214	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成的	
	多肽	
	<400> 110	
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
	1 5 10 15	
	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Tyr Ile Tyr Asn Trp	
	20 25 30	
	Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
	35 40 45	
	Ser Gly Ala Ser Gly Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
	50 55 60	

[0063]	Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
	65	70
	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Thr Pro Trp	
		85
	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala	
		100
	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly	
		115
	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala	
		130
	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln	
		145
	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser	
		165
	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr	
		180
	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser	
		195
	Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
		210
	<210> 111	
	<211> 642	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成的	
	多核苷酸	
	<400> 111	
	gacatccaga tgaccagag cccagcagc ctgtctgccg gcgtgggcga cagggtgacc	60
	atcacctgtc aggccagcga atacatctac aactggctgg gctggtatca gcagaagccc	120
	ggcaaggccc ccaagctgct gattagcgga gcctccggtc tggaaaccgg cgtgccaagc	180
	agattttccg gcagcggctc cggaaggac tacaccttca ccatcagctc cctgcagccc	240
	gaggatateg ccacctacta ctgccagcag tactgggtcca cccctggac ctttgccag	300
	ggcaccaagc tggaaatcaa gcgtacggtg gccgctccca gcgtgttcat cttccccccc	360

agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420  
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480  
gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540  
ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600  
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc 642

<210> 112

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 112

Ser Phe Trp Ile Thr

1 5

<210> 113

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 113

Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Ala Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Leu Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 114

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

[0064]



<400> 114

Ser Pro Pro Gln Val Gly Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 115

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 115

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Phe

1 5

<210> 116

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

[0065]

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 116

Tyr Pro Gly Gly Ala Thr

1 5

<210> 117

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 117

Ser Pro Pro Gln Val Gly Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 118

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

<400> 118

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 Phe

20 25 30

Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Ala Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Leu

50 55 60

[0066]

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Pro Pro Gln Val Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 119

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多核苷酸

<400> 119

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggtta taccttcacc agcttttgga tcacctgggt gcgccaggcc 120

cctggacagg gactggaatg gatgggcgac atctaccctg gcggcgccac caccaactac	180
aacgagaagc tgcagggcag agtgaccctg accgtggaca ccagcacctc caccgcctac	240
atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc tagaagccct	300
cctcaggtgg gccccttcga ttattggggc cagggcacac tcgtgaccgt gtcctct	357
<210> 120	
<211> 449	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成的	
多肽	
<400> 120	
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 Phe	
20 25 30	
Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
35 40 45	
Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Ala Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Leu	
50 55 60	
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr	
65 70 75 80	
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
85 90 95	
Ala Arg Ser Pro Pro Gln Val Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly	
100 105 110	
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe	
115 120 125	
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu	
130 135 140	
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp	
145 150 155 160	
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu	
165 170 175	

[0067]

[0068]

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
180	185	190	
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro			
195	200	205	
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys			
210	215	220	
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro			
225	230	235	240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser			
245	250	255	
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp			
260	265	270	
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn			
275	280	285	
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val			
290	295	300	
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
305	310	315	320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
325	330	335	
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
340	345	350	
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
355	360	365	
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
370	375	380	
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
385	390	395	400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
405	410	415	
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
420	425	430	
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
435	440	445	

Lys

&lt;210&gt; 121

&lt;211&gt; 1347

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述：合成的  
多核苷酸

&lt;400&gt; 121

[0069]

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaaggtg      60
tcctgcaagg ccagcggcta taccttcacc agcttttggga tcacctgggt gcgccaggcc      120
cctggacagg gactggaatg gatgggcgac atctaccctg gcggcgccac caccaactac      180
aacgagaagc tgcagggcag agtgaccctg accgtggaca ccagcacctc caccgcctac      240
atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc tagaagccct      300
cctcaggtgg gccccttcga ttattggggc cagggcacac tcgtgaccgt gtcctctgct      360
agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc      420
acagccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtagc cgtgtcctgg      480
aacagcggag ccctgacctc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc      540
ctgtacagcc tgtccagcgt ggtgacagtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac      600
atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt ggagcccaag      660
agctgcgaca agaccacac ctgccccccc tgcccagccc cagagctgct gggcggaccc      720
tccgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagcag gacccccgag      780
gtgacctgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaggaccag aggtgaagtt caactgtgtac      840
gtggacggcg tggaggtgca caacgccaa accaagccca gagaggagca gtacaacagc      900
acctacaggg tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa      960
tacaagtgca aggtctccaa caaggccctg ccagccccca tcgaaaagac catcagcaag     1020
gccaaaggcc agccacggga gccccaggtg tacaccctgc cccctccccg ggaggagatg     1080
accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaagggtt tctaccccag cgacatcgcc     1140
gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc cccagtgtctg     1200
gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag     1260
cagggaacg tgttcagctg cagcgtgatg cagaggccc tgcacaacca ctacaccag     1320
aagagcctga gcctgtcccc cggcaag                                     1347

```

&lt;210&gt; 122

<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 122  
Gln Ala Ser Asp Tyr Ile Tyr His Trp Leu Ala  
1 5 10  
<210> 123  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
[0070] <400> 123  
Gly Ala Ser Ser Leu Glu Thr  
1 5  
<210> 124  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 124  
Gln Gln Tyr Trp Ser Ile Pro Trp Thr  
1 5  
<210> 125  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>

[0071]

<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 125  
Ser Asp Tyr Ile Tyr His Trp  
1 5

<210> 126  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 126  
Gly Ala Ser  
1

<210> 127  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 127  
Tyr Trp Ser Ile Pro Trp  
1 5

<210> 128  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
多肽  
<400> 128

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

<210> 129

<211> 321

<212> DNA

[0072]

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多核苷酸

<400> 129

gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgtctgccg gcgtgggcga cagagtgacc	60
atcacctgtc aggccagcga ctacatctac cactggctgg cctggtatca gcagaagccc	120
ggcaaggccc ccaagctgct gattagcgga gcctccagtc tggaaaccgg cgtgccaagc	180
agattttccg gcagcggctc cggcaaggac tacaccttca ccatcagctc cctgcagccc	240
gaggatatcg ccacctacta ctgccagcag tacttggtcca tcccctggac ctttgccag	300
ggcaccaagc tggaaatcaa g	321

<210> 130

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的



## 多肽

&lt;400&gt; 130

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Ile Pro Trp

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

[0073]

115 120 125

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

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

&lt;210&gt; 131

&lt;211&gt; 642

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多核苷酸

<400> 131

gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgtctgccg gcgtgggcga cagagtgacc	60
atcacctgtc aggccagcga ctacatctac cactggctgg cctggtatca gcagaagccc	120
ggcaaggccc ccaagctgct gattagcgga gcctccagtc tggaaaccgg cgtgccaagc	180
agattttccg gcagcggtc cggaaggac tacaccttca ccacagctc cctgcagccc	240
gaggatatcg ccacctacta ctgccagcag tactgtgtcca tcccctggac ctttgccag	300
ggcaccaagc tggaaatcaa gcgtacggtg gccgtccca gcgtgttcat ctteccccc	360
agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac	420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag	480
gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc	540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc	600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc	642

[0074]

<210> 132

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 132

Ser Phe Trp Ile Thr

1 5

<210> 133

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 133

Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Ala Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Leu Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 134

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 134

Ser Pro Pro Gln Val Gly Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 135

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 135

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Phe

1 5

<210> 136

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 136

Tyr Pro Gly Gly Ala Asn

1 5

[0075]

<210> 137

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 137

Ser Pro Pro Gln Val Gly Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 138

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

[0076]

<400> 138

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 Phe

20 25 30

Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Ala Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Pro Pro Gln Val Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

&lt;210&gt; 139

&lt;211&gt; 357

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

多核苷酸

&lt;400&gt; 139

```

caggtgcagc tggcgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaagggtg      60
tcctgcaagg ccagcggcta taccttcacc agcttttga tcacctgggt gcgccaggcc      120
cctggacagg gactggaatg gatgggcgac atctaccctg gggcgccaa caccaactac      180
aacgagaagc tgcagggcag agtgaccctg accgtggaca ccagcacctc caccgcctac      240
atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc tagaagccct      300
cctcaggtgg gccccttcga ttattggggc cagggcacac tcgtgaccgt gtcctct      357

```

&lt;210&gt; 140

&lt;211&gt; 449

&lt;212&gt; PRT

[0077]

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

多肽

&lt;400&gt; 140

```

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

```

[0078]

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

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 370 375 380  
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 385 390 395 400  
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415  
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430  
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445  
 Lys

<210> 141

<211> 1347

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

[0079]

<223> 人工序列的描述：合成的  
 多核苷酸

<400> 141

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac caggcgccag cgtgaagggtg	60
tcctgcaagg ccagcggcta taccttcacc agcttttggga tcacctgggt gcgccaggcc	120
cctggacagg gactggaatg gatgggagac atctaccctg gcggcgccaa caccaactac	180
aacgagaagc tgcagggcag agtgaccctg accgtggaca ccagcacctc caccgcctac	240
atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc tagaagccct	300
cctcaggtgg gccccttcga ttattggggc cagggcacac tcgtgaccgt gtcctctgct	360
agcaccaagg gcccagcgt gttccccctg gcccagca gcaagagcac cagcggcggc	420
acagccgccc tgggtgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg	480
aacagcggag ccctgacctc cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc	540
ctgtacagcc tgtccagcgt ggtgacagt cccagcagca gcctgggcac ccagacctac	600
atctgcaacg tgaaccaca gccagcaac accaaggtgg acaagagagt ggagcccaag	660
agctgcgaca agaccacac ctgccccccc tgcccagccc cagagctgct gggcggaccc	720
tcctgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagcag gacccccgag	780
gtgacctgcg tgggtgtgga cgtgagccac gaggaccag aggtgaagtt caactgtgtac	840

	gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagccca gagaggagca gtacaacagc	900
	acctacaggg tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa	960
	tacaagtgca aggtctccaa caaggccctg ccagcccca tcgaaaagac catcagcaag	1020
	gccaagggcc agccacggga gccccaggtg tacaccctgc cccctcccg ggaggagatg	1080
	accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaagggt tctacccag cgacatcgcc	1140
	gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc ccagtgctg	1200
	gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagtc caggtggcag	1260
	cagggaacg tgttcagctg cagcgtgatg cagcaggccc tgcacaacca ctacaccag	1320
	aagacctga gcctgtcccc cggcaag	1347
	<210> 142	
	<211> 11	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成的	
	肽	
	<400> 142	
[0080]	Gln Ala Ser Glu Tyr Ile Ile Asn Trp Leu Ala	
	1 5 10	
	<210> 143	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成的	
	肽	
	<400> 143	
	Gly Ala Thr Gly Leu Glu Thr	
	1 5	
	<210> 144	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	



[0081]

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 144

Gln Gln Tyr Trp Ser Ile Pro Trp Thr

1 5

<210> 145

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 145

Ser Glu Tyr Ile Ile Asn Trp

1 5

<210> 146

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 146

Gly Ala Thr

1

<210> 147

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 147

Tyr Trp Ser Ile Pro Trp

1	5		
<210> 148			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列的描述: 合成的			
多肽			
<400> 148			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Tyr Ile Ile Asn Trp			
	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
	35	40	45
Ser Gly Ala Thr Gly Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50	55	60	
[0082]			
Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Ile Pro Trp			
	85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
	100	105	
<210> 149			
<211> 321			
<212> DNA			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列的描述: 合成的			
多核苷酸			
<400> 149			
gacatccaga tgaccagag ccccagcagc ctgtctgccg gcgtgggcga cagagtgacc			60
atcacctgtc aggccagcga atacatcata aactggctgg cctggtatca gcagaagccc			120

ggcaaggccc ccaagctgct gattagcgga gccaccggtc tggaaaccgg cgtgccaagc	180
agattttccg gcagcggctc cggcaaggac tacaccttca ccatcagctc cctgcagccc	240
gaggatatcg ccacctacta ctgccagcag tactgggtcca tcccctggac ctttgccag	300
ggcaccaagc tggaaatcaa g	321
<210> 150	
<211> 214	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成的	
多肽	
<400> 150	
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
1 5 10 15	
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Tyr Ile Ile Asn Trp	
20 25 30	
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
35 40 45	
Ser Gly Ala Thr Gly Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
50 55 60	
Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
65 70 75 80	
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Ile Pro Trp	
85 90 95	
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala	
100 105 110	
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly	
115 120 125	
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala	
130 135 140	
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln	
145 150 155 160	
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser	
165 170 175	

[0083]

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180

185

190

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

195

200

205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 151

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的

多核苷酸

<400> 151

[0084]

```
gacatccaga tgaccagag ccccagcagc ctgtctgcca gcgtgggcga cagagtgacc      60
atcacctgtc aggccagcga atacatcata aactggctgg cctggtatca gcagaagccc      120
ggcaaggccc ccaagctgct gattagcgga gccaccggtc tggaaaccgg cgtgccaagc      180
agattttccg gcagcggctc cggcaaggac tacaccttca ccatcagctc cctgcagccc      240
gaggatatcg ccacctacta ctgccagcag tacttggtcca tcccctggac ctttgccag      300
ggcaccaagc tggaaatcaa gcgtacggtg gccgtcccca gcgtgttcat cttccccccc      360
agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac      420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag      480
gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc      540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc      600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc                        642
```

<210> 152

<211> 24

<212> PRT

<213> 智人

<400> 152

Met Lys Thr Phe Ile Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Ile

1

5

10

15

Phe Leu Leu Pro Gly Ala Thr Ala

20

<210> 153  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 153  
Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys His  
1 5  
<210> 154  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
6xHis 标签  
[0085]  
<400> 154  
His His His His His His  
1 5  
<210> 155  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 155  
Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His  
1 5 10 15  
Glu  
  
<210> 156  
<211> 438

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

<400> 156

Met Lys Thr Phe Ile Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Ile

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Pro Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Val Leu Ala His Gly

35 40 45

Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg

50 55 60

Ser Gln Leu Ser Ala Leu Glu Arg Arg Leu Ser Ala Cys Gly Ser Ala

65 70 75 80

Cys Gln Gly Thr Glu Gly Ser Thr Asp Leu Pro Leu Ala Pro Glu Ser

[0086]

85 90 95

Arg Val Asp Pro Glu Val Leu His Ser Leu Gln Thr Gln Leu Lys Ala

100 105 110

Gln Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala Gln Gln Gln

115 120 125

Arg His Leu Glu Lys Gln His Leu Arg Ile Gln His Leu Gln Ser Gln

130 135 140

Phe Gly Leu Leu Asp His Lys His Leu Asp His Glu Val Ala Lys Pro

145 150 155 160

Ala Arg Arg Lys Arg Leu Pro Glu Met Ala Gln Pro Val Asp Pro Ala

165 170 175

His Asn Val Ser Arg Leu His Arg Leu Pro Arg Asp Cys Gln Glu Leu

180 185 190

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

195 200 205

Gly Ser Pro Pro Phe Leu Val Asn Cys Lys Met Thr Ser Asp Gly Gly

210 215 220

Trp Thr Val Ile Gln Arg Arg His Asp Gly Ser Val Asp Phe Asn Arg  
225 230 235 240  
Pro Trp Glu Ala Tyr Lys Ala Gly Phe Gly Asp Pro His Gly Glu Phe  
245 250 255  
Trp Leu Gly Leu Glu Lys Val His Ser Ile Thr Gly Asp Arg Asn Ser  
260 265 270  
Arg Leu Ala Val Gln Leu Arg Asp Trp Asp Gly Asn Ala Glu Leu Leu  
275 280 285  
Gln Phe Ser Val His Leu Gly Gly Glu Asp Thr Ala Tyr Ser Leu Gln  
290 295 300  
Leu Thr Ala Pro Val Ala Gly Gln Leu Gly Ala Thr Thr Val Pro Pro  
305 310 315 320  
Ser Gly Leu Ser Val Pro Phe Ser Thr Trp Asp Gln Asp His Asp Leu  
325 330 335  
Arg Arg Asp Lys Asn Cys Ala Lys Ser Leu Ser Gly Gly Trp Trp Phe  
340 345 350  
[0087] Gly Thr Cys Ser His Ser Asn Leu Asn Gly Gln Tyr Phe Arg Ser Ile  
355 360 365  
Pro Gln Gln Arg Gln Lys Leu Lys Lys Gly Ile Phe Trp Lys Thr Trp  
370 375 380  
Arg Gly Arg Tyr Tyr Pro Leu Gln Ala Thr Thr Met Leu Ile Gln Pro  
385 390 395 400  
Met Ala Ala Glu Ala Ala Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys His  
405 410 415  
His His His His His Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln  
420 425 430  
Lys Ile Glu Trp His Glu  
435  
<210> 157  
<211> 232  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述: 合成的

## 多肽

&lt;400&gt; 157

Met Lys Thr Phe Ile Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Ile

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Pro Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Val Leu Ala His Gly

35 40 45

Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg

50 55 60

Ser Gln Leu Ser Ala Leu Glu Arg Arg Leu Ser Ala Cys Gly Ser Ala

65 70 75 80

Cys Gln Gly Thr Glu Gly Ser Thr Asp Leu Pro Leu Ala Pro Glu Ser

85 90 95

Arg Val Asp Pro Glu Val Leu His Ser Leu Gln Thr Gln Leu Lys Ala

100 105 110

Gln Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala Gln Gln Gln

[0088]

115 120 125

Arg His Leu Glu Lys Gln His Leu Arg Ile Gln His Leu Gln Ser Gln

130 135 140

Phe Gly Leu Leu Asp His Lys His Leu Asp His Glu Val Ala Lys Pro

145 150 155 160

Ala Arg Arg Lys Arg Leu Pro Glu Met Ala Gln Pro Val Asp Pro Ala

165 170 175

His Asn Val Ser Arg Leu His Arg Leu Pro Arg Asp Tyr Lys Asp Asp

180 185 190

Asp Asp Lys His His His His His His Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp

195 200 205

Lys His His His His His His Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu

210 215 220

Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu

225 230

&lt;210&gt; 158

&lt;211&gt; 19



[0089]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成的	
	引物	
	<400> 158	
	atccccgctc ccaggtac	19
	<210> 159	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成的	
	引物	
	<400> 159	
	cagcaaggag tgaagctcca tgcc	24
	<210> 160	
	<211> 438	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成的	
	多肽	
	<400> 160	
Met Lys Thr Phe Ile Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Ile		
1                    5                    10                    15		
Phe Leu Leu Pro Gly Ala Thr Ala Gln Pro Gly Pro Val Gln Ser Lys		
20                    25                    30		
Ser Pro Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Val Leu Ala His Gly		
35                    40                    45		
Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg		
50                    55                    60		
Ser Gln Leu Asn Ala Leu Glu Arg Arg Leu Ser Ala Cys Gly Ser Ala		
65                    70                    75                    80		

	Cys	Gln	Gly	Thr	Glu	Gly	Ser	Thr	Ala	Leu	Pro	Leu	Ala	Pro	Glu	Ser
	85				90				95							
	Arg	Val	Asp	Pro	Glu	Val	Leu	His	Ser	Leu	Gln	Thr	Gln	Leu	Lys	Ala
	100				105				110							
	Gln	Asn	Ser	Arg	Ile	Gln	Gln	Leu	Phe	His	Lys	Val	Ala	Gln	Gln	Gln
	115				120				125							
	Arg	His	Leu	Glu	Lys	Gln	His	Leu	Arg	Ile	Gln	Arg	Leu	Gln	Ser	Gln
	130				135				140							
	Val	Gly	Leu	Leu	Asp	Pro	Lys	His	Leu	Asp	His	Glu	Val	Ala	Lys	Pro
	145				150				155				160			
	Ala	Arg	Arg	Lys	Arg	Arg	Pro	Glu	Met	Ala	Gln	Pro	Val	Asp	Ser	Ala
	165				170				175							
	His	Asn	Ala	Ser	Arg	Leu	His	Arg	Leu	Pro	Arg	Asp	Cys	Gln	Glu	Leu
	180				185				190							
	Phe	Glu	Asp	Gly	Glu	Arg	Gln	Ser	Gly	Leu	Phe	Glu	Ile	Gln	Pro	Gln
	195				200				205							
[0090]	Gly	Ser	Pro	Pro	Phe	Leu	Val	Asn	Cys	Lys	Met	Thr	Ser	Asp	Gly	Gly
	210				215				220							
	Trp	Thr	Val	Ile	Gln	Arg	Arg	His	Asp	Gly	Ser	Val	Asp	Phe	Asn	Arg
	225				230				235				240			
	Pro	Trp	Glu	Ala	Tyr	Lys	Ala	Gly	Phe	Gly	Asp	Pro	Gln	Gly	Glu	Phe
	245				250				255							
	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu	Lys	Val	His	Ser	Ile	Thr	Gly	Asp	Arg	Asn	Ser
	260				265				270							
	Arg	Leu	Ala	Val	Gln	Leu	Gln	Asp	Trp	Asp	Gly	Asn	Ala	Glu	Ser	Leu
	275				280				285							
	Gln	Phe	Ser	Val	His	Leu	Gly	Gly	Glu	Asp	Thr	Ala	Tyr	Ser	Leu	Gln
	290				295				300							
	Leu	Thr	Glu	Pro	Val	Ala	Ser	Gln	Leu	Gly	Ala	Thr	Thr	Val	Pro	Pro
	305				310				315				320			
	Ser	Gly	Leu	Ser	Val	Pro	Phe	Ser	Thr	Trp	Asp	Gln	Asp	His	Asp	Leu
	325				330				335							
	Arg	Arg	Asp	Lys	Asn	Cys	Ala	Lys	Ser	Leu	Ser	Gly	Gly	Trp	Trp	Phe
	340				345				350							

Gly Thr Cys Ser His Ser Asn Leu Asn Gly Gln Tyr Phe Arg Ser Ile  
355 360 365  
Pro Gln Gln Arg Gln Glu Leu Lys Lys Gly Ile Phe Trp Lys Thr Trp  
370 375 380  
Arg Gly Arg Tyr Tyr Pro Leu Gln Ala Thr Thr Met Leu Ile Gln Pro  
385 390 395 400  
Thr Ala Ala Glu Ala Ala Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys His  
405 410 415  
His His His His His Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln  
420 425 430  
Lys Ile Glu Trp His Glu  
435

<210> 161

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0091]

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

<400> 161

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

Gln Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala Gln Gln Gln  
115 120 125  
Arg His Leu Glu Lys Gln His Leu Arg Ile Gln Arg Leu Gln Ser Gln  
130 135 140  
Val Gly Leu Leu Asp Pro Lys His Leu Asp His Glu Val Ala Lys Pro  
145 150 155 160  
Ala Arg Arg Lys Arg Arg Pro Glu Met Ala Gln Pro Val Asp Ser Ala  
165 170 175  
His Asn Ala Ser Arg Leu His Arg Leu Pro Arg Asp Tyr Lys Asp Asp  
180 185 190  
Asp Asp Lys His His His His His His Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile  
195 200 205  
Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu  
210 215

<210> 162

<211> 442

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

<400> 162

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

[0092]

[0093]	Arg Val Pro Glu Gly Gln Thr Pro Glu Thr Leu Gln Ser Leu Gln Thr		
	100	105	110
	Gln Leu Lys Ala Gln Asn Ser Lys Ile Gln Gln Leu Phe Gln Lys Val		
	115	120	125
	Ala Gln Gln Gln Arg Tyr Leu Ser Lys Gln Asn Leu Arg Ile Gln Asn		
	130	135	140
	Leu Gln Ser Gln Ile Asp Leu Leu Ala Pro Thr His Leu Asp Asn Gly		
	145	150	155
	Val Asp Lys Thr Ser Arg Gly Lys Arg Leu Pro Lys Met Thr Gln Leu		
	165	170	175
	Ile Gly Leu Thr Pro Asn Ala Thr His Leu His Arg Pro Pro Arg Asp		
	180	185	190
	Cys Gln Glu Leu Phe Gln Glu Gly Glu Arg His Ser Gly Leu Phe Gln		
	195	200	205
	Ile Gln Pro Leu Gly Ser Pro Pro Phe Leu Val Asn Cys Glu Met Thr		
	210	215	220
	Ser Asp Gly Gly Trp Thr Val Ile Gln Arg Arg Leu Asn Gly Ser Val		
	225	230	235
	Asp Phe Asn Gln Ser Trp Glu Ala Tyr Lys Asp Gly Phe Gly Asp Pro		
	245	250	255
	Gln Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Met His Ser Ile Thr Gly		
	260	265	270
	Asn Arg Gly Ser Gln Leu Ala Val Gln Leu Gln Asp Trp Asp Gly Asn		
	275	280	285
	Ala Lys Leu Leu Gln Phe Pro Ile His Leu Gly Gly Glu Asp Thr Ala		
	290	295	300
	Tyr Ser Leu Gln Leu Thr Glu Pro Thr Ala Asn Glu Leu Gly Ala Thr		
	305	310	315
	Asn Val Ser Pro Asn Gly Leu Ser Leu Pro Phe Ser Thr Trp Asp Gln		
	325	330	335
	Asp His Asp Leu Arg Gly Asp Leu Asn Cys Ala Lys Ser Leu Ser Gly		
	340	345	350
	Gly Trp Trp Phe Gly Thr Cys Ser His Ser Asn Leu Asn Gly Gln Tyr		
	355	360	365

Phe His Ser Ile Pro Arg Gln Arg Gln Glu Arg Lys Lys Gly Ile Phe  
370 375 380  
Trp Lys Thr Trp Lys Gly Arg Tyr Tyr Pro Leu Gln Ala Thr Thr Leu  
385 390 395 400  
Leu Ile Gln Pro Met Glu Ala Thr Ala Ala Ser Asp Tyr Lys Asp Asp  
405 410 415  
Asp Asp Lys His His His His His His Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile  
420 425 430  
Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu  
435 440

<210> 163

<211> 440

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

多肽

[0094]

<400> 163

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

[0095]	Gln Arg Tyr Leu Ser Lys Gln Asn Leu Arg Ile Gln Asn Leu Gln Ser		
	130	135	140
	Gln Ile Asp Leu Leu Thr Pro Thr His Leu Asp Asn Gly Val Asp Lys		
	145	150	155
	Thr Ser Arg Gly Lys Arg Leu Pro Lys Met Ala Gln Leu Ile Gly Leu		
	165	170	175
	Thr Pro Asn Ala Thr Arg Leu His Arg Pro Pro Arg Asp Cys Gln Glu		
	180	185	190
	Leu Phe Gln Glu Gly Glu Arg His Ser Gly Leu Phe Gln Ile Gln Pro		
	195	200	205
	Leu Gly Ser Pro Pro Phe Leu Val Asn Cys Glu Met Thr Ser Asp Gly		
	210	215	220
	Gly Trp Thr Val Ile Gln Arg Arg Leu Asn Gly Ser Val Asp Phe Asn		
	225	230	235
	Gln Ser Trp Glu Ala Tyr Lys Asp Gly Phe Gly Asp Pro Gln Gly Glu		
	245	250	255
	Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Met His Ser Ile Thr Gly Asp Arg Gly		
	260	265	270
	Ser Gln Leu Ala Val Gln Leu Gln Asp Trp Asp Gly Asn Ala Lys Leu		
	275	280	285
	Leu Gln Phe Pro Ile His Leu Gly Gly Glu Asp Thr Ala Tyr Ser Leu		
	290	295	300
	Gln Leu Thr Glu Pro Thr Ala Asn Glu Leu Gly Ala Thr Asn Val Ser		
	305	310	315
	Pro Asn Gly Leu Ser Leu Pro Phe Ser Thr Trp Asp Gln Asp His Asp		
	325	330	335
	Leu Arg Gly Asp Leu Asn Cys Ala Lys Ser Leu Ser Gly Gly Trp Trp		
	340	345	350
	Phe Gly Thr Cys Ser His Ser Asn Leu Asn Gly Gln Tyr Phe His Ser		
	355	360	365
	Ile Pro Arg Gln Arg Gln Gln Arg Lys Lys Gly Ile Phe Trp Lys Thr		
	370	375	380
	Trp Lys Gly Arg Tyr Tyr Pro Leu Gln Ala Thr Thr Leu Leu Ile Gln		
	385	390	395
			400

Pro Met Glu Ala Thr Ala Ala Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys  
405 410 415  
His His His His His His Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala  
420 425 430  
Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Thr  
435 440  
<210> 164  
<211> 501  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述: 合成的  
多肽  
<400> 164  
Met Lys Thr Phe Ile Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Ile  
1 5 10 15  
Phe Leu Leu Pro Gly Ala Thr Ala Gln Pro Ser Arg Ile Asp Gln Asp  
[0096] 20 25 30  
Asn Ser Ser Phe Asp Ser Leu Ser Pro Glu Pro Lys Ser Arg Phe Ala  
35 40 45  
Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu Ala Asn Gly Leu Leu Gln Leu Gly  
50 55 60  
His Gly Leu Lys Asp Phe Val His Lys Thr Lys Gly Gln Ile Asn Asp  
65 70 75 80  
Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile Phe Asp Gln Ser Phe Tyr Asp Leu Ser  
85 90 95  
Leu Gln Thr Ser Glu Ile Lys Glu Glu Glu Lys Glu Leu Arg Arg Thr  
100 105 110  
Thr Tyr Lys Leu Gln Val Lys Asn Glu Glu Val Lys Asn Met Ser Leu  
115 120 125  
Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu Ser Leu Leu Glu Glu Lys Ile Leu Leu  
130 135 140  
Gln Gln Lys Val Lys Tyr Leu Glu Glu Gln Leu Thr Asn Leu Ile Gln  
145 150 155 160



[0097]	Asn	Gln	Pro	Glu	Thr	Pro	Glu	His	Pro	Glu	Val	Thr	Ser	Leu	Lys	Thr
	165				170				175							
	Phe	Val	Glu	Lys	Gln	Asp	Asn	Ser	Ile	Lys	Asp	Leu	Leu	Gln	Thr	Val
	180				185				190							
	Glu	Asp	Gln	Tyr	Lys	Gln	Leu	Asn	Gln	Gln	His	Ser	Gln	Ile	Lys	Glu
	195				200				205							
	Ile	Glu	Asn	Gln	Leu	Arg	Arg	Thr	Ser	Ile	Gln	Glu	Pro	Thr	Glu	Ile
	210				215				220							
	Ser	Leu	Ser	Ser	Lys	Pro	Arg	Ala	Pro	Arg	Thr	Thr	Pro	Phe	Leu	Gln
	225				230				235				240			
	Leu	Asn	Glu	Ile	Arg	Asn	Val	Lys	His	Asp	Gly	Ile	Pro	Ala	Glu	Cys
	245				250				255							
	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asn	Arg	Gly	Glu	His	Thr	Ser	Gly	Met	Tyr	Ala	Ile
	260				265				270							
	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe	His	Val	Tyr	Cys	Asp	Val	Ile	Ser
	275				280				285							
	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile	Gln	His	Arg	Ile	Asp	Gly	Ser	Gln	Asn
	290				295				300							
	Phe	Asn	Glu	Thr	Trp	Glu	Asn	Tyr	Lys	Tyr	Gly	Phe	Gly	Arg	Leu	Asp
	305				310				315				320			
	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu	Lys	Ile	Tyr	Ser	Ile	Val	Lys	Gln
	325				330				335							
	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Ile	Glu	Leu	Glu	Asp	Trp	Lys	Asp	Asn	Lys
	340				345				350							
	His	Tyr	Ile	Glu	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Leu	Gly	Asn	His	Glu	Thr	Asn	Tyr
	355				360				365							
	Thr	Leu	His	Leu	Val	Ala	Ile	Thr	Gly	Asn	Val	Pro	Asn	Ala	Ile	Pro
	370				375				380							
	Glu	Asn	Lys	Asp	Leu	Val	Phe	Ser	Thr	Trp	Asp	His	Lys	Ala	Lys	Gly
	385				390				395				400			
	His	Phe	Asn	Cys	Pro	Glu	Gly	Tyr	Ser	Gly	Gly	Trp	Trp	Trp	His	Asp
	405				410				415							
	Glu	Cys	Gly	Glu	Asn	Asn	Leu	Asn	Gly	Lys	Tyr	Asn	Lys	Pro	Arg	Ala
	420				425				430							

Lys Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser Trp Lys Ser Gln Asn  
435 440 445  
Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met Leu Ile His Pro Thr  
450 455 460  
Asp Ser Glu Ser Phe Glu Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys His His  
465 470 475 480  
His His His His Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys  
485 490 495  
Ile Glu Trp His Glu  
500

<210> 165

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 165

Gly Pro Val Gln Ser Lys Ser Pro Arg Phe

1 5 10

[0098]

<210> 166

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 166

Val Gln Ser Lys Ser Pro Arg Phe Ala Ser Trp

1 5 10

<210> 167

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人

<400> 167

Asn Val Leu Ala His Gly Leu Leu

1 5

<210> 168

<211> 10

<212> PRT

	<213>	智人		
	<400>	168		
	Asn Val Leu Ala His Gly Leu Leu Gln Leu			
	1	5	10	
	<210>	169		
	<211>	8		
	<212>	PRT		
	<213>	智人		
	<400>	169		
	Leu Ala His Gly Leu Leu Gln Leu			
	1	5		
	<210>	170		
	<211>	13		
	<212>	PRT		
	<213>	智人		
	<400>	170		
[0099]	Asn Val Leu Ala His Gly Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly			
	1	5	10	
	<210>	171		
	<211>	14		
	<212>	PRT		
	<213>	智人		
	<400>	171		
	Asn Val Leu Ala His Gly Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu			
	1	5	10	
	<210>	172		
	<211>	16		
	<212>	PRT		
	<213>	智人		
	<400>	172		
	Asn Val Leu Ala His Gly Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu			
	1	5	10	15
	<210>	173		
	<211>	25		

<212> PRT

<213> 智人

<400> 173

Asn Val Leu Ala His Gly Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu

1 5 10 15

His Ala Glu Arg Thr Arg Ser Gln Leu

20 25

<210> 174

<211> 27

<212> PRT

<213> 智人

<400> 174

Asn Val Leu Ala His Gly Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu

1 5 10 15

His Ala Glu Arg Thr Arg Ser Gln Leu Ser Ala

20 25

[0100]

<210> 175

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人

<400> 175

Leu Ala His Gly Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala

1 5 10 15

Glu Arg Thr Arg Ser Gln Leu

20

<210> 176

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人

<400> 176

Ala His Gly Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu

1 5 10

<210> 177

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人

<400> 177

Ala His Gly Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu

1 5 10 15

Arg Thr Arg Ser Gln Leu

20

<210> 178

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人

<400> 178

Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg Ser

1 5 10 15

Gln Leu

[0101]

<210> 179

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人

<400> 179

Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg Ser Gln Leu

1 5 10 15

<210> 180

<211> 32

<212> PRT

<213> 智人

<400> 180

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

1 5 10 15

Ser Thr Asp Leu Pro Ala Pro Glu Ser Arg Val Asp Pro Glu Val Leu

20 25 30

<210> 181

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人

<400> 181

Cys Gly Ser Ala Cys Gln Thr Glu Gly Ser Thr Asp Leu Pro Ala Pro

1 5 10 15

Glu Ser Arg Val Asp Pro Glu Val Leu

20 25

<210> 182

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人

<400> 182

Ser Thr Asp Leu Pro Ala Pro Glu Ser Arg Val Asp Pro Glu Val Leu

1 5 10 15

<210> 183

<211> 7

<212> PRT

[0102]

<213> 智人

<400> 183

Arg Val Asp Pro Glu Val Leu

1 5

<210> 184

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 184

His Ser Leu Gln Thr Gln Leu

1 5

<210> 185

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 185

Lys Ala Gln Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu

	1	5	10
	<210> 186		
	<211> 26		
	<212> PRT		
	<213> 智人		
	<400> 186		
	Lys Ala Gln Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala Gln		
	1	5	10 15
	Gln Gln Arg His Leu Glu Lys Gln His Leu		
		20	25
	<210> 187		
	<211> 16		
	<212> PRT		
	<213> 智人		
	<400> 187		
	Phe His Lys Val Ala Gln Gln Gln Arg His Leu Glu Lys Gln His Leu		
[0103]	1	5	10 15
	<210> 188		
	<211> 7		
	<212> PRT		
	<213> 智人		
	<400> 188		
	Gln Ser Gln Phe Gly Leu Leu		
	1	5	
	<210> 189		
	<211> 12		
	<212> PRT		
	<213> 智人		
	<400> 189		
	Phe Gly Leu Leu Asp His Lys His Leu Asp His Glu		
	1	5	10
	<210> 190		
	<211> 26		
	<212> PRT		

<213> 智人

<400> 190

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

1 5 10 15

Ser Thr Asp Leu Pro Leu Ala Pro Glu Ser

20 25

<210> 191

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 191

Gly Pro Val Gln Ser Lys Ser Pro Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu

1 5 10 15

<210> 192

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 192

Gln Ser Lys Ser Pro Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Val

1 5 10 15

<210> 193

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 193

[0104]



Ser Pro Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Val Leu Ala His

1 5 10 15

<210> 194

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 194

Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Val Leu Ala His Gly Leu Leu

1 5 10 15

<210> 195

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0105]

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 195

Trp Asp Glu Met Asn Val Leu Ala His Gly Leu Leu Gln Leu Gly

1 5 10 15

<210> 196

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 196

Met Asn Val Leu Ala His Gly Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu

1 5 10 15

<210> 197

<211> 15

<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 197  
Leu Ala His Gly Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His  
1 5 10 15  
<210> 198  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 198  
Gly Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg  
[0106] 1 5 10 15  
<210> 199  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的  
肽  
<400> 199  
Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg Ser  
1 5 10 15  
<210> 200  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 200

Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg Ser Gln Leu Ser

1 5 10 15

&lt;210&gt; 201

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 201

Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg Ser Gln Leu Ser Ala Leu Glu

1 5 10 15

&lt;210&gt; 202

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 202

Ala Glu Arg Thr Arg Ser Gln Leu Ser Ala Leu Glu Arg Arg Leu

1 5 10 15

&lt;210&gt; 203

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 203

Thr Arg Ser Gln Leu Ser Ala Leu Glu Arg Arg Leu Ser Ala Ser

1 5 10 15

[0107]

<210> 204

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 204

Gln Leu Ser Ala Leu Glu Arg Arg Leu Ser Ala Ser Gly Ser Ala

1 5 10 15

<210> 205

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

[0108]

<400> 205

Ala Leu Glu Arg Arg Leu Ser Ala Ser Gly Ser Ala Ser Gln Gly

1 5 10 15

<210> 206

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 206

Arg Arg Leu Ser Ala Ser Gly Ser Ala Ser Gln Gly Thr Glu Gly

1 5 10 15

<210> 207

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 207

Ser Ala Ser Gly Ser Ala Ser Gln Gly Thr Glu Gly Ser Thr Asp

1 5 10 15

<210> 208

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 208

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

1 5 10 15

<210> 209

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 209

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

1 5 10 15

<210> 210

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 210

[0109]

[0110]

Thr Glu Gly Ser Thr Asp Leu Pro Leu Ala Pro Glu Ser Arg Val

1 5 10 15

&lt;210&gt; 211

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 211

Ser Thr Asp Leu Pro Leu Ala Pro Glu Ser Arg Val Asp Pro Glu

1 5 10 15

&lt;210&gt; 212

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 212

Leu Pro Leu Ala Pro Glu Ser Arg Val Asp Pro Glu Val Leu His

1 5 10 15

&lt;210&gt; 213

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 213

Ala Pro Glu Ser Arg Val Asp Pro Glu Val Leu His Ser Leu Gln

1 5 10 15

&lt;210&gt; 214

&lt;211&gt; 15

	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	人工序列的描述：合成的
		肽
	<400>	214
		Ser Arg Val Asp Pro Glu Val Leu His Ser Leu Gln Thr Gln Leu
	1	5 10 15
	<210>	215
	<211>	15
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	人工序列的描述：合成的
		肽
	<400>	215
[0111]		Asp Pro Glu Val Leu His Ser Leu Gln Thr Gln Leu Lys Ala Gln
	1	5 10 15
	<210>	216
	<211>	15
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	人工序列的描述：合成的
		肽
	<400>	216
		Val Leu His Ser Leu Gln Thr Gln Leu Lys Ala Gln Asn Ser Arg
	1	5 10 15
	<210>	217
	<211>	15
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 217

Ser Leu Gln Thr Gln Leu Lys Ala Gln Asn Ser Arg Ile Gln Gln

1 5 10 15

&lt;210&gt; 218

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述: 合成的

肽

&lt;400&gt; 218

Thr Gln Leu Lys Ala Gln Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His

1 5 10 15

&lt;210&gt; 219

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述: 合成的

肽

&lt;400&gt; 219

Lys Ala Gln Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala

1 5 10 15

&lt;210&gt; 220

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述: 合成的

肽

&lt;400&gt; 220

Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala Gln Gln Gln

1 5 10 15

[0112]



<210> 221

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 221

Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala Gln Gln Gln Arg His Leu

1 5 10 15

<210> 222

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

[0113]

<400> 222

Leu Phe His Lys Val Ala Gln Gln Gln Arg His Leu Glu Lys Gln

1 5 10 15

<210> 223

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 223

Lys Val Ala Gln Gln Gln Arg His Leu Glu Lys Gln His Leu Arg

1 5 10 15

<210> 224

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

[0114]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 224

Gln Gln Gln Arg His Leu Glu Lys Gln His Leu Arg Ile Gln His

1 5 10 15

&lt;210&gt; 225

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 225

Arg His Leu Glu Lys Gln His Leu Arg Ile Gln His Leu Gln Ser

1 5 10 15

&lt;210&gt; 226

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 226

Glu Lys Gln His Leu Arg Ile Gln His Leu Gln Ser Gln Phe Gly

1 5 10 15

&lt;210&gt; 227

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述：合成的

肽

&lt;400&gt; 227

His Leu Arg Ile Gln His Leu Gln Ser Gln Phe Gly Leu Leu Asp

1 5 10 15

<210> 228

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 228

Ile Gln His Leu Gln Ser Gln Phe Gly Leu Leu Asp His Lys His

1 5 10 15

<210> 229

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0115]

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 229

Leu Gln Ser Gln Phe Gly Leu Leu Asp His Lys His Leu Asp His

1 5 10 15

<210> 230

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的

肽

<400> 230

Gln Phe Gly Leu Leu Asp His Lys His Leu Asp His Glu Val Ala

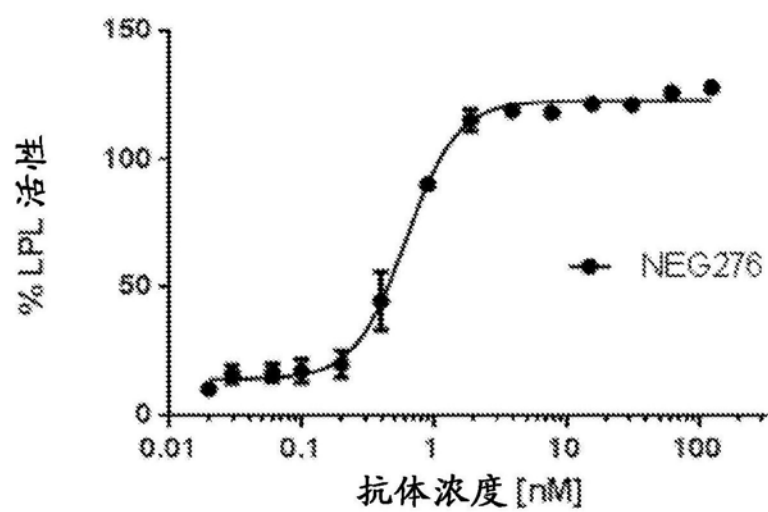
1 5 10 15

<210> 231

<211> 15

	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	人工序列的描述：合成的
		肽
	<400>	231
		Leu Leu Asp His Lys His Leu Asp His Glu Val Ala Lys Pro Ala
	1	5 10 15
	<210>	232
	<211>	15
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
[0116]	<223>	人工序列的描述：合成的
		肽
	<400>	232
		His Lys His Leu Asp His Glu Val Ala Lys Pro Ala Arg Arg Lys
	1	5 10 15
	<210>	233
	<211>	15
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<223>	人工序列的描述：合成的
		肽
	<400>	233
		Lys His Leu Asp His Glu Val Ala Lys Pro Ala Arg Arg Lys Arg
	1	5 10 15

(A)



(B)

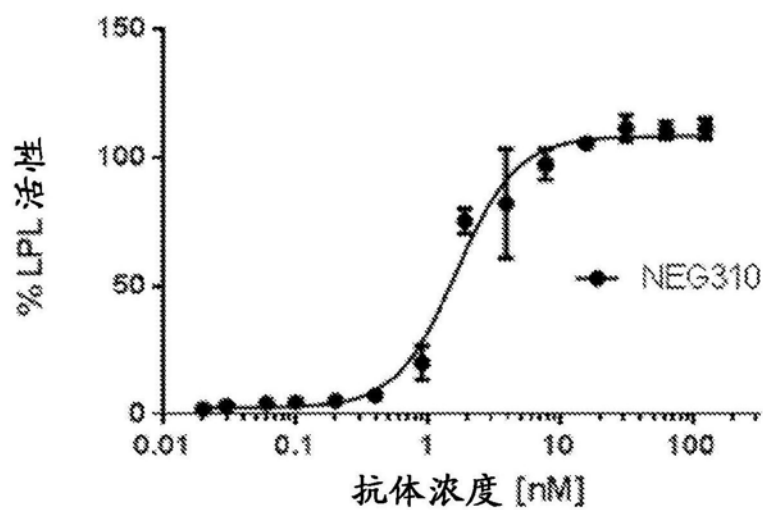
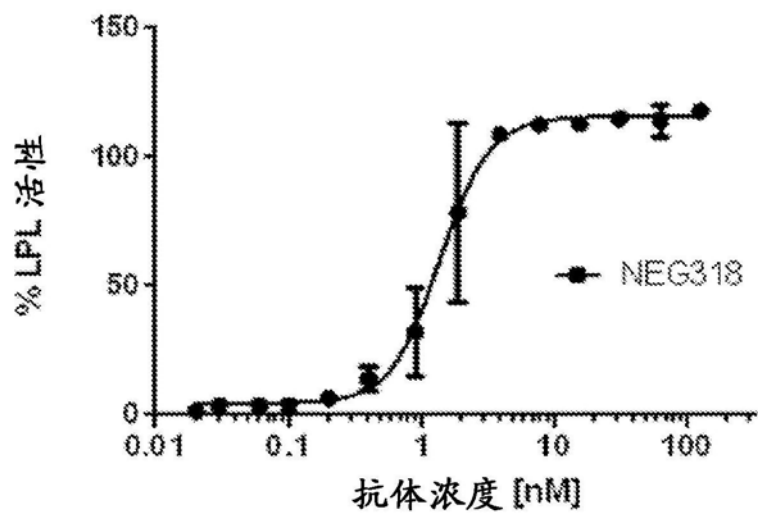


图1A-1B

(C)



(D)

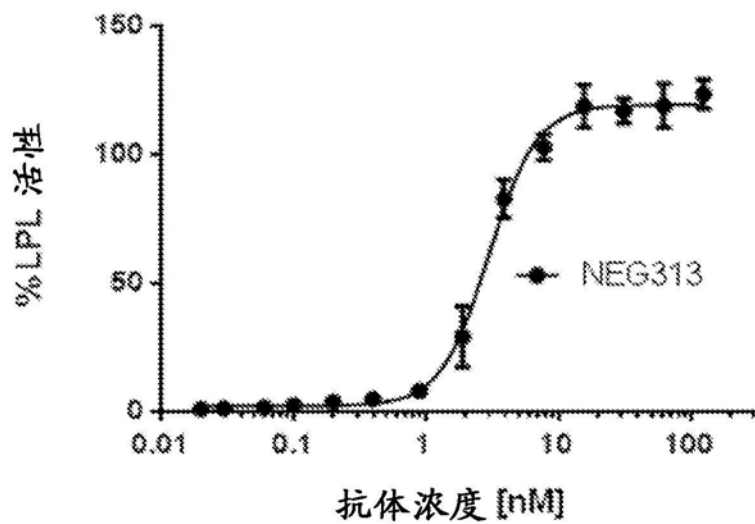


图1C-1D

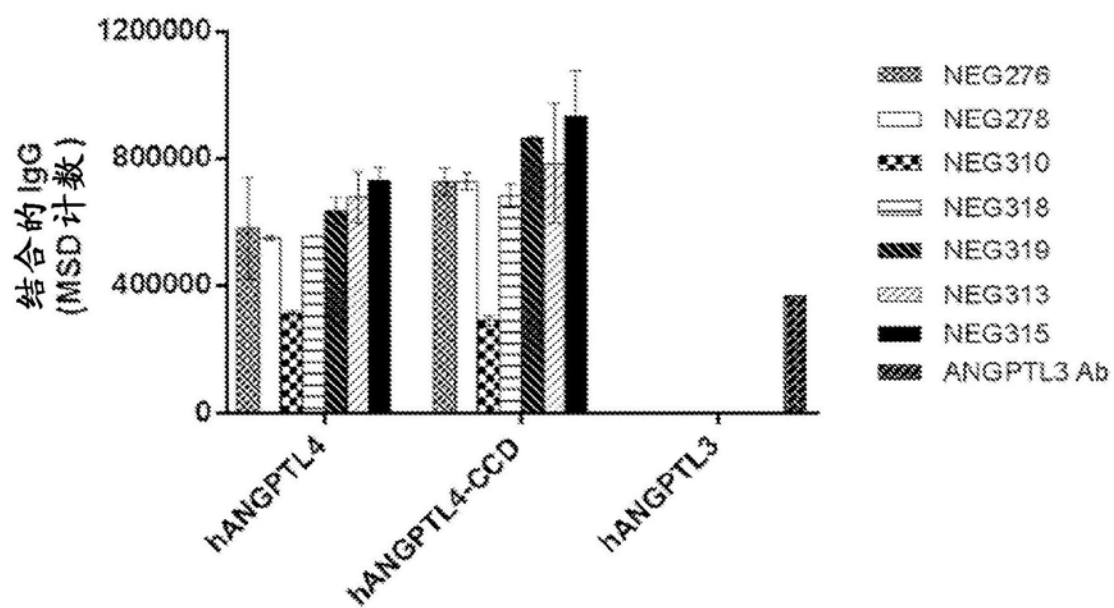
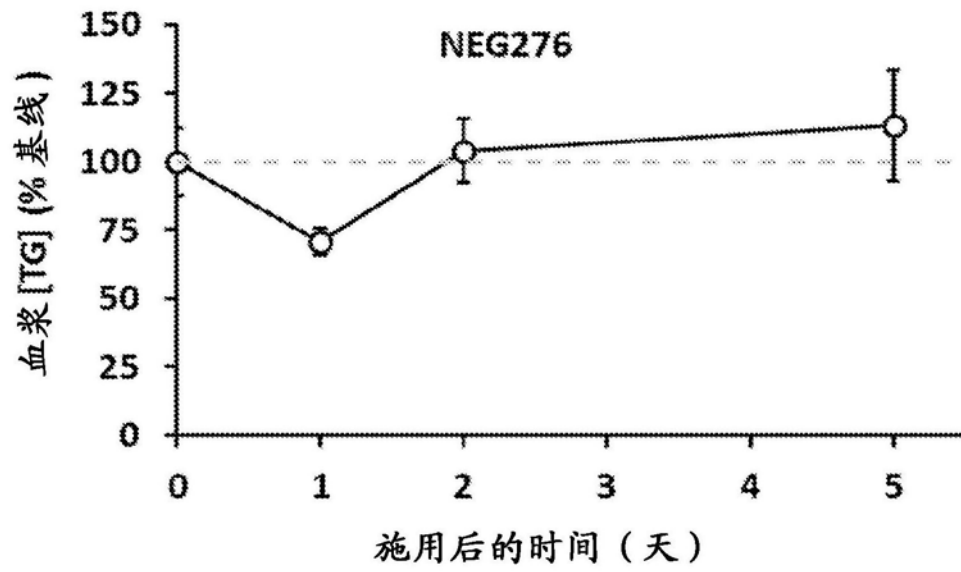


图2

(A)



(B)

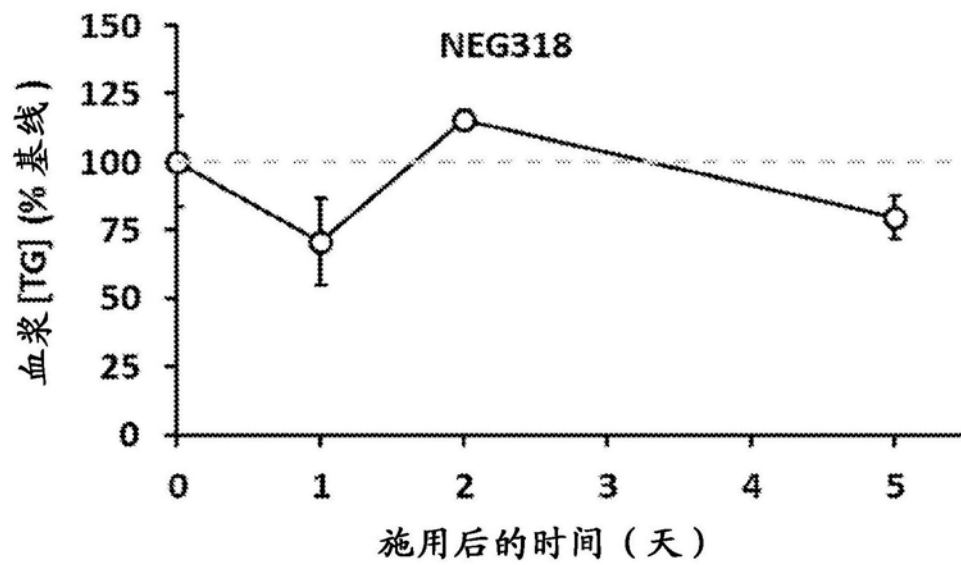


图3A-3B



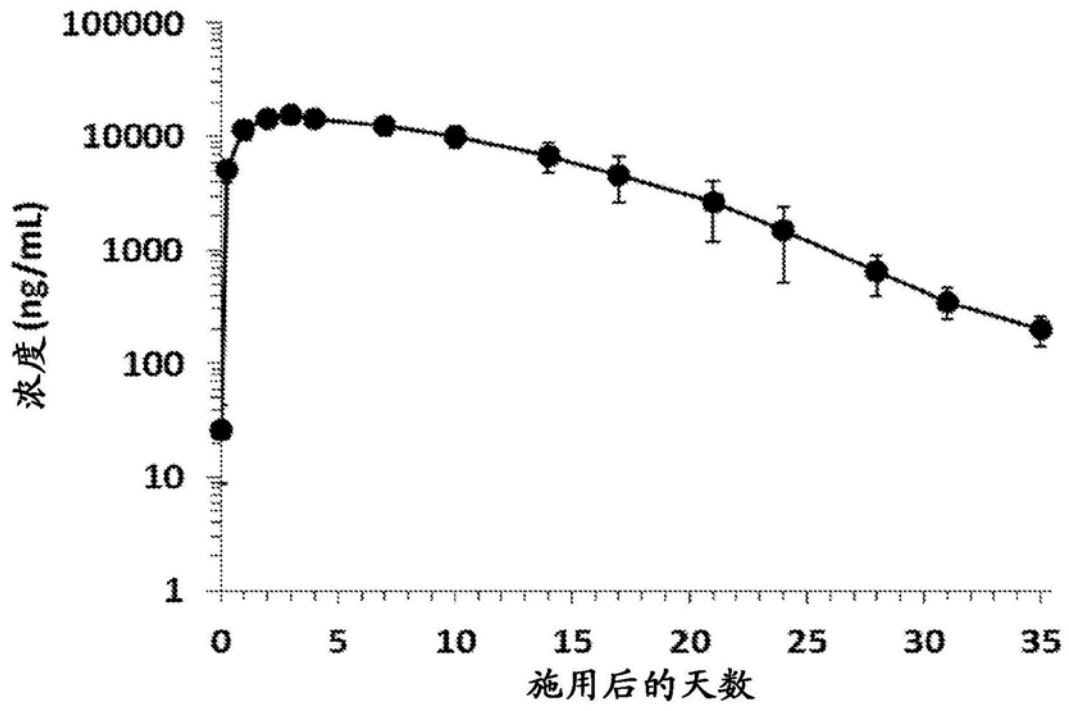


图4

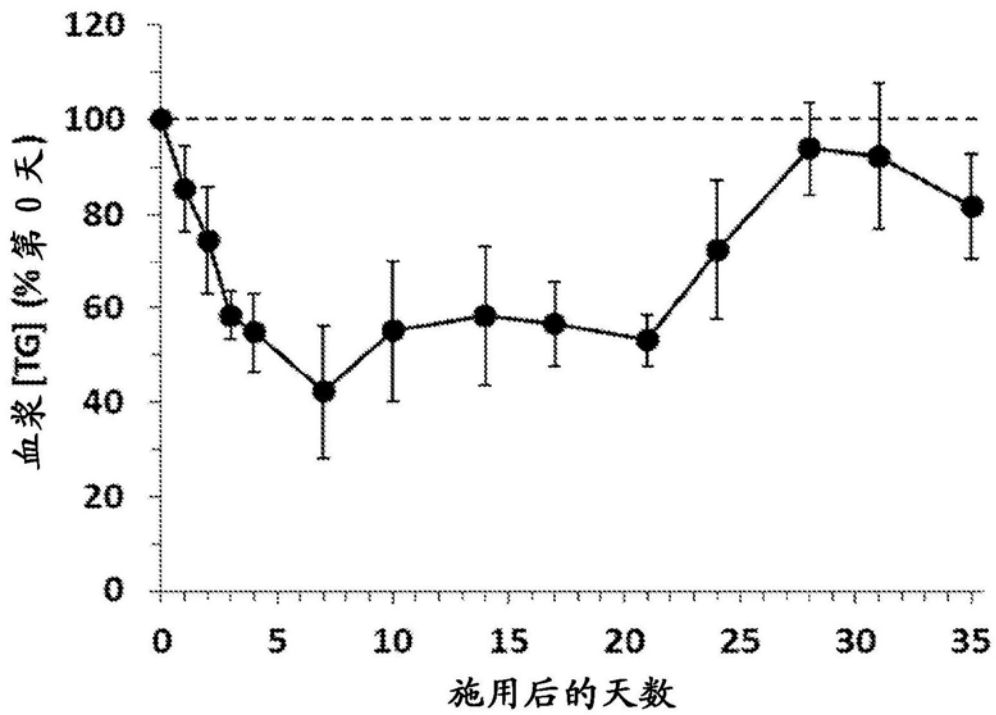


图5

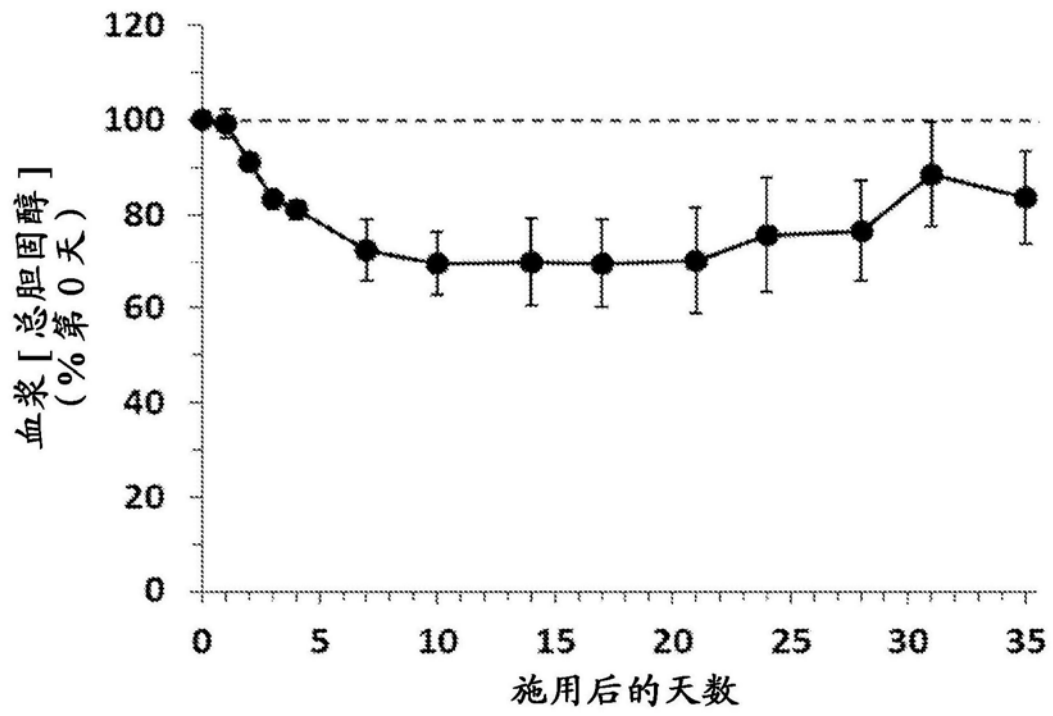


图6

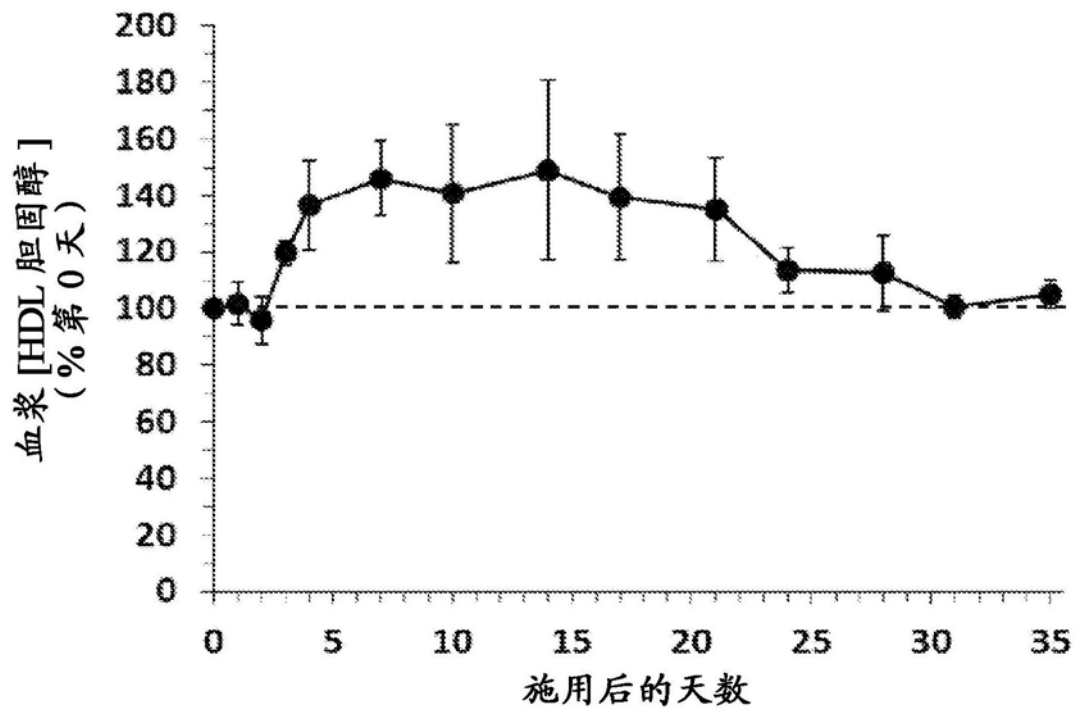


图7

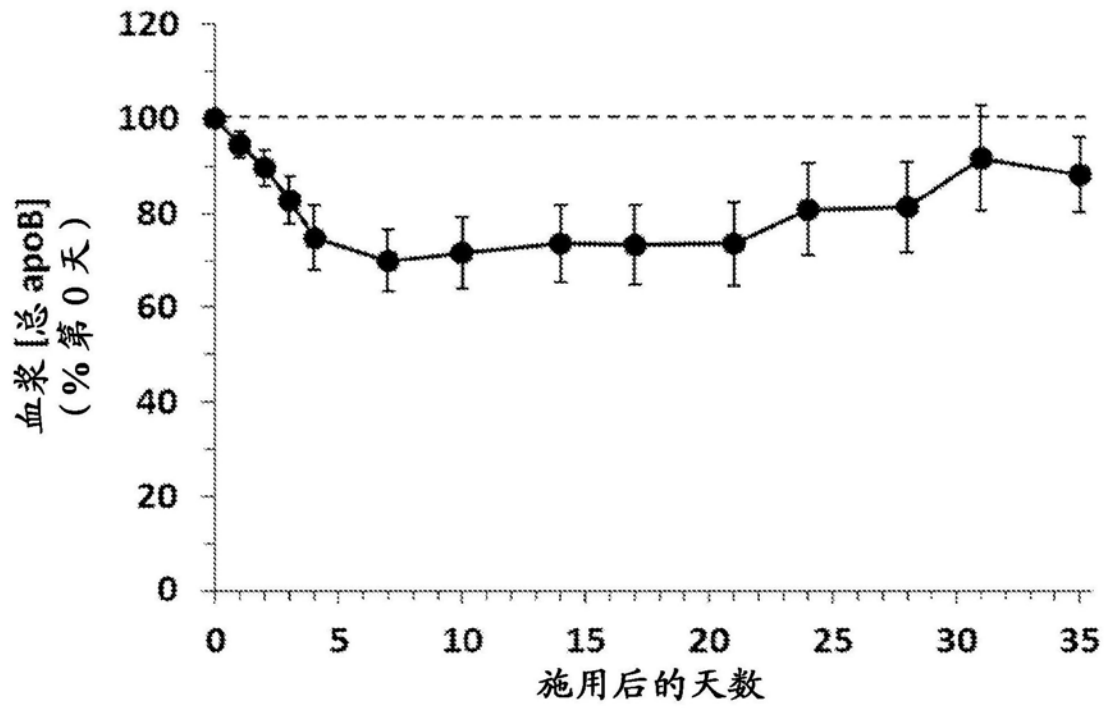


图8

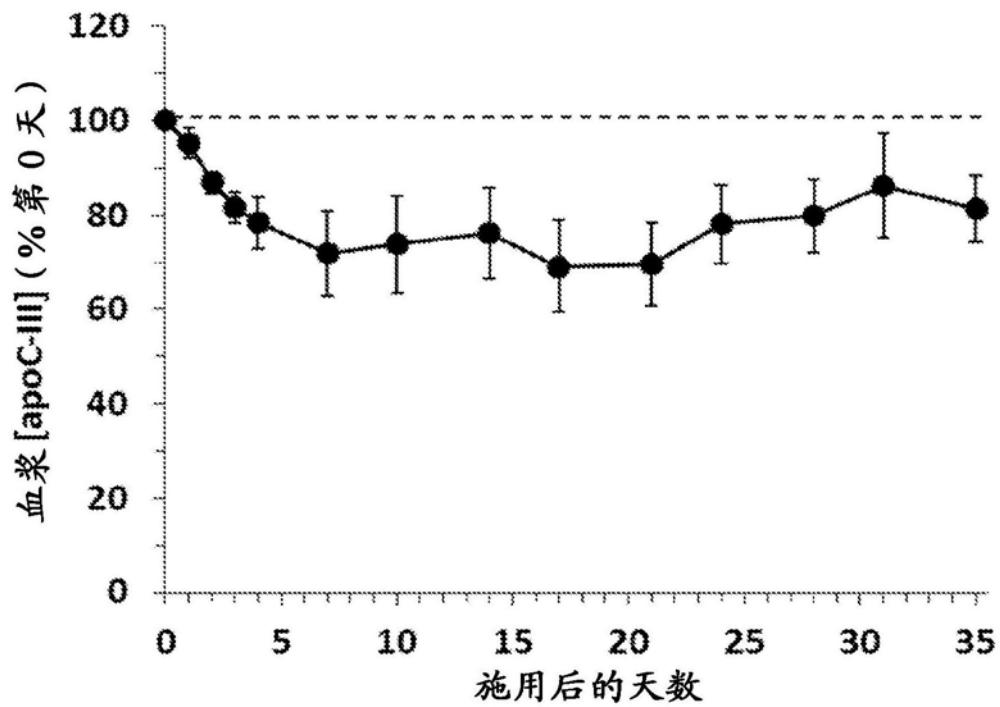


图9

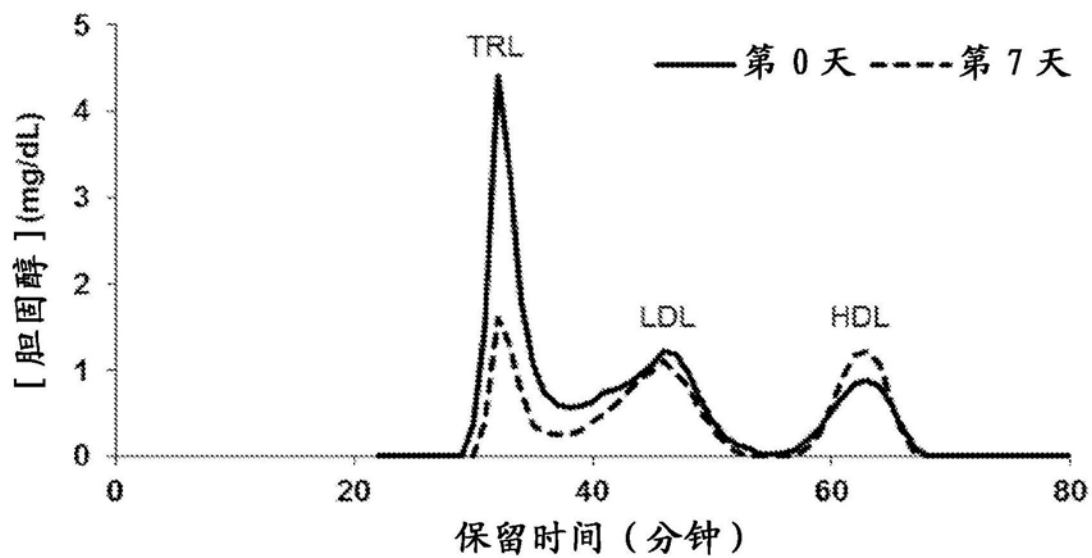


图10

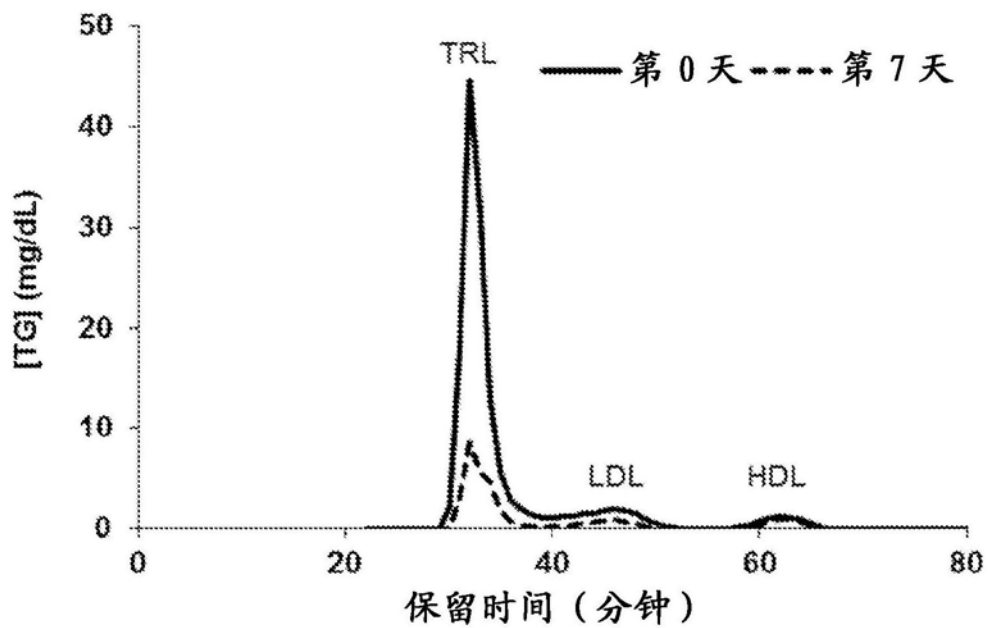


图11