



(10) 授权公告号 CN 113226367 B

(45) 授权公告日 2025. 05. 06

(21) 申请号 201980030211.0

许志雯 翟丽婷

(22) 申请日 2019.04.05

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理
有限责任公司 11204

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113226367 A

专利代理师 王达佐 洪欣

(43) 申请公布日 2021.08.06

(51) Int.Cl.

(30) 优先权数据

A61K 39/395 (2006.01)

62/653,823 2018.04.06 US

A61K 45/00 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.11.04

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/026128 2019.04.05

(56) 对比文件

CN 101754771 A, 2010.06.23

(87) PCT国际申请的公布数据
W02019/195770 EN 2019.10.10

Maresa Caunt等. Blocking Neuropilin-2
Function Inhibits Tumor Cell

(73) 专利权人 ATYR 医药公司
地址 美国加利福尼亚州92121圣地亚哥索
伦托山谷路10240号300室

Metastasis. Cancer Cell. 2008, 第13卷 (第4
期), 摘要、第331页左栏第1段-第341页左栏第1
段.

(72) 发明人 卢克·伯曼 张宇婷 耿艳艳
莱斯利·南格尔·格林
克里斯蒂娜·哈默尔 大卫·金
安·梅尼菲 凯特琳·劳奇

审查员 李素荣

权利要求书2页 说明书122页

序列表107页 附图28页

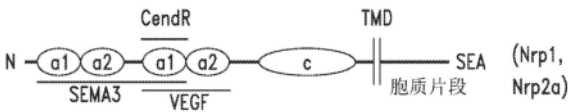
(54) 发明名称

包括抗NRP2抗体的组合物和方法

(57) 摘要

提供了与人神经纤毛蛋白-2 (NRP2) 多肽特
异性结合的抗体和其抗原结合片段, 包含调节人
NRP2与至少一种NRP2配体 (例如, 人组氨酰-tRNA
合成酶 (HRS)) 之间的结合相互作用并且由此调
节随后的NRP2介导的下游信号传导事件的抗体
和其抗原结合片段, 包含用于调节NRP2活性和治
疗如NRP2相关疾病等疾病的相关治疗性组合物
和方法。

神经纤毛蛋白的一般结构域结构



1. 一种治疗性组合物,其包括与人神经纤毛蛋白-2(NRP2)多肽特异性结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与人NRP2多肽B1结构域中的至少一个表位特异性结合,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(V_H)序列和轻链可变区(V_L)序列,所述 V_H 序列包含互补决定区 V_H CDR1、 V_H CDR2和 V_H CDR3序列;以及所述 V_L 序列包含互补决定区 V_L CDR1、 V_L CDR2和 V_L CDR3序列,其中:

所述 V_H CDR1、 V_H CDR2和 V_H CDR3序列分别如SEQ ID NO:59-61所示,并且所述 V_L CDR1、 V_L CDR2和 V_L CDR3序列分别如SEQ ID NO:62-64所示。

2. 根据权利要求1所述的治疗性组合物,其中所述抗体或其抗原结合片段包括人IgA、IgD、IgE、IgG或IgM Fc结构域。

3. 根据权利要求2所述的治疗性组合物,其中所述IgA Fc结构域是IgA1或IgA2 Fc结构域,或者其中所述IgG Fc结构域是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc结构域。

4. 根据权利要求2所述的治疗性组合物,其中所述抗体或其抗原结合片段包括IgG1或IgG3 Fc结构域。

5. 根据权利要求2所述的治疗性组合物,其中所述抗体或其抗原结合片段包括IgG2或IgG4 Fc结构域。

6. 根据权利要求2所述的治疗性组合物,其中所述抗体或其抗原结合片段包括选自SEQ ID NO:116-118的IgG1或IgG4 Fc结构域。

7. 根据权利要求1所述的治疗性组合物,其中所述抗体或其抗原结合片段是Fv片段。

8. 根据权利要求1所述的治疗性组合物,其中所述抗体或其抗原结合片段是单链Fv(scFv)多肽或单抗体(unibody)。

9. 根据权利要求1所述的治疗性组合物,其中所述抗体或其抗原结合片段是单克隆人源化抗体。

10. 根据权利要求1或2所述的治疗性组合物,其中以蛋白质计,所述组合物针对所述抗体或抗原结合片段的纯度为至少90%,并且具有低于10%的高分子量聚集蛋白。

11. 根据权利要求10所述的治疗性组合物,其中以蛋白质计,所述组合物针对所述抗体或抗原结合片段的纯度为至少95%。

12. 根据权利要求10所述的治疗性组合物,其中以蛋白质计,所述组合物针对所述抗体或抗原结合片段的纯度为至少98%。

13. 根据权利要求10所述的治疗性组合物,其中以蛋白质计,所述组合物针对所述抗体或抗原结合片段的纯度为至少99%。

14. 根据权利要求10所述的治疗性组合物,其中所述治疗性组合物至少99%不含内毒素。

15. 根据权利要求1或2所述的治疗性组合物,其中所述治疗性组合物是无菌可注射溶液。

16. 根据权利要求15所述的治疗性组合物,其中所述无菌可注射溶液适于静脉内、肌肉内、皮下或腹膜内施用。

17. 根据权利要求1或2所述的治疗性组合物,其进一步包括选自癌症免疫治疗剂、化疗剂、激素治疗剂和激酶抑制剂的至少一种另外的药剂。

18. 根据权利要求17所述的治疗性组合物,其中所述癌症免疫治疗剂选自免疫检查点

调节剂、溶瘤病毒和细胞因子中的一种或多种。

19. 根据权利要求17所述的治疗性组合物,其中所述癌症免疫治疗剂是癌症疫苗。

20. 根据权利要求17所述的治疗性组合物,其中所述癌症免疫治疗剂是基于细胞的免疫治疗剂。

21. 一种细胞组合物,其包括经过工程化的细胞群体,所述经过工程化的细胞群体中的至少一个细胞包括对根据权利要求1到20中任一项所限定的抗体或其抗原结合片段进行编码的一种或多种多核苷酸,其中所述细胞能够在无血清培养基中生长。

22. 一种细胞生长装置,其包括根据权利要求1到20中任一项所限定的抗体或其抗原结合片段;经过工程化的细胞群体,所述经过工程化的细胞群体中的至少一个细胞包括对根据权利要求1到20中任一项所限定的抗体或其抗原结合片段进行编码的一种或多种多核苷酸;至少10升无血清生长培养基以及无菌容器。

包括抗NRP2抗体的组合物和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请根据35U.S.C.§119(e)要求于2018年4月6日提交的美国专利申请第62/653,823号的权益,所述美国专利申请通过引用整体并入本文。

[0003] 关于序列表的声明

[0004] 与本申请相关的序列表以文本格式提供以代替纸质副本,并且特此通过引用并入本说明书中。含有序列表的文本文件的名称为ATYR_134_01WO_ST25.txt。所述文本文件为228KB,创建于2019年4月5日并且通过EFS-Web以电子方式提交。

技术领域

[0005] 本公开的实施例涉及与人神经纤毛蛋白-2(NRP2)多肽特异性结合的抗体和其抗原结合片段,包含调节人NRP2与至少一种NRP2配体(例如,人组氨酰-tRNA合成酶(HRS))之间的结合相互作用并且由此调节随后的NRP2介导的下游信号传导事件的抗体和其抗原结合片段,包含用于调节NRP2活性和治疗如NRP2相关疾病等疾病的相关治疗性组合物和方法。

背景技术

[0006] 最近的研究进展表明,tRNA合成酶除了在蛋白质合成中得到充分表征的作用外,还在细胞应答中发挥重要作用。具体地,人们日益认识到,在细胞内和细胞外环境中,tRNA合成酶均在对细胞应激和组织稳态作出反应方面发挥一系列先前未知的作用。

[0007] Resokine蛋白质家族(HRS多肽)通过蛋白质水解或选择性剪接(alternative splicing)源自组氨酰-tRNA合成酶基因(HARS)并且是细胞内和细胞外活性的重要调节剂。可以在正常健康志愿者的血液循环中很容易地检测到细胞外HARS,并且针对HARS的自身抗体(Jo-1抗体)已经在炎性肌病(IM)和患有炎性肺病(ILD)的受试者中表征。虽然Jo-1抗体在疾病进展中的作用尚不明确,但与没有Jo-1抗体的患有炎性肌病的受试者相比,具有Jo-1抗体的受试者往往不容易患癌症(参见例如Lu等人,《公共科学图书馆:综合(PLOS ONE)》9(4)e94128,2014;Modan等人,《临床与实验皮肤病学(Clin.Exp.Dermatol.)》34(5)561-565,2009;以及Shi等人,《风湿病学杂志(J.Rheum)》44(7)doi 10.3899/jrheum.161480)。

[0008] 在阐明细胞外HARS源性蛋白质的作用方面已经取得了重大进展,包含鉴定假定的细胞受体——神经纤毛蛋白-2(NRP2或NRP-2)。HARS与NRP2的相互作用似乎是由HARS的N端区介导的,并且可能引起NRP2的细胞功能的重要变化。

[0009] 因此,目前对Reoskine/神经纤毛蛋白-2轴线的发现代表先前未知的机制,所述机制充当细胞过程的核心调节物,所述细胞过程包含例如与癌症的起始、生长和转移以及肌肉、血管、神经元、骨和免疫稳态直接相关的轴突导向、内吞作用、细胞迁移、增殖、存活、凋亡、淋巴管生成、细胞分化和细胞附着。这些过程中的任何过程的反常都可能引起一系列疾病,所述疾病可以通过开发选择性靶向Reoskine/神经纤毛蛋白-2轴线的抗NRP2抗体来解决。本公开提供了此类抗体和相关实施例。

发明内容

[0010] 本公开的实施例包含治疗性组合物,所述治疗性组合物包括与人神经纤毛蛋白-2(NRP2)多肽特异性结合至少一种抗体或其抗原结合片段(抗NRP2抗体)。

[0011] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与全长人NRP2多肽或选自表N1的人NRP2多肽特异性结合,任选地以约10pM到约500pM或到约50nM、或约、至少约或不超过约10pM、20pM、30pM、40pM、50pM、60pM、70pM、80pM、90pM、100pM、110pM、120pM、130pM、140pM、150pM、160pM、170pM、180pM、190pM、200pM、300pM、400pM、500pM、600pM、700pM、800pM、900pM、1nM、10nM、25nM或50nM的亲和力结合,或任选地以范围为约10pM到约500pM、约10pM到约400pM、约10pM到约300pM、约10pM到约200pM、约10pM到约100pM、约10pM到约50pM、或约20pM到约500pM、约20pM到约400pM、约20pM到约300pM、约20pM到约200pM、约20pM到约100pM、约20pM到约50pM、或约30pM到约500pM、约30pM到约400pM、约30pM到约300pM、约30pM到约200pM、约30pM到约100pM、约30pM到约50pM、或约20pM到约200pM、约30pM到约300pM、约40pM到约400pM、约50pM到约500pM、约60pM到约600pM、约70pM到约700pM、约80pM到约800pM、约90pM到约900pM、约100pM到约1nM、约1nM到约5nM、约5nM到约10nM、约10nM到25nM或约25nM到约50nM的亲和力结合。在一些情况下,所述至少一种抗体或其抗原结合片段以其天然形式与所述人NRP2多肽特异性结合,但基本上不以其变性形式与所述人NRP2多肽结合。

[0012] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与选自以下中的一个或多个的神经纤毛蛋白结构域中的至少一个表位特异性结合:神经纤毛蛋白A1结构域、神经纤毛蛋白A2结构域、神经纤毛蛋白B1结构域、神经纤毛蛋白B2结构域、神经纤毛蛋白C结构域、神经纤毛蛋白A1/A2组合结构域、神经纤毛蛋白B1/B2组合结构域、神经纤毛蛋白A2/B1组合结构域、神经纤毛蛋白B2/C组合结构域、神经纤毛蛋白A2/B1/B2组合结构域、神经纤毛蛋白A2/B1/B2/C组合结构域、神经纤毛蛋白A1/A2/B1组合结构域、神经纤毛蛋白A1/A2/B1/B2组合结构域、神经纤毛蛋白A1/A2/B1/B2/C组合结构域和神经纤毛蛋白B1/B2/C组合结构域,任选地以约10pM到约500pM或到约50nM、或约、至少约或不超过约10pM、20pM、30pM、40pM、50pM、60pM、70pM、80pM、90pM、100pM、110pM、120pM、130pM、140pM、150pM、160pM、170pM、180pM、190pM、200pM、300pM、400pM、500pM、600pM、700pM、800pM、900pM、1nM、10nM、25nM或50nM的亲和力结合,或任选地以范围为约10pM到约500pM、约10pM到约400pM、约10pM到约300pM、约10pM到约200pM、约10pM到约100pM、约10pM到约50pM、或约20pM到约500pM、约20pM到约400pM、约20pM到约300pM、约20pM到约200pM、约20pM到约100pM、约20pM到约50pM、或约30pM到约500pM、约30pM到约400pM、约30pM到约300pM、约30pM到约200pM、约30pM到约100pM、约30pM到约50pM、或约20pM到约200pM、约30pM到约300pM、约40pM到约400pM、约50pM到约500pM、约60pM到约600pM、约70pM到约700pM、约80pM到约800pM、约90pM到约900pM、约100pM到约1nM、约1nM到约5nM、约5nM到约10nM、约10nM到25nM或约25nM到约50nM的亲和力结合。

[0013] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述神经纤毛蛋白A1结构域、所述神经纤毛蛋白A2结构域和/或所述神经纤毛蛋白A1A2组合结构域中的至少一个表位,包含相邻的接头区,特异性结合,例如,大约在以下残基处结合:

[0014] (神经纤毛蛋白A1结构域) 20-148、30-141、40-141、50-141、60-141、70-141、80-

141-90-141、100-141、110-141、120-141、130-141;20-130、20-120、20-110、20-100、20-90、20-80、20-70、20-60、20-50、20-40或20-30,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的;或

[0015] (神经纤毛蛋白A2结构域) 142-280、150-265、160-265、170-265、180-265、190-265、200-265、210-265、220-265、230-265、240-265、250-265、260-265、141-270、141-260、141-250、141-240、141-230、141-220、141-210、141-200、141-190、141-180、141-170、141-160、141-150、200-250、210-250、220-250、230-250、200-240、210-240、220-240、230-240、227-247、228-247、229-247、230-247、231-247、232-247、233-247、234-247、235-247、236-247;227-246、227-245、227-244、227-243、227-242、227-241、227-240、227-239、227-238;235-240、236-239、236-238或残基237,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的;或

[0016] (组合A1A2结构域) 20-280、30-280、40-280、50-280、60-280、70-280、80-280、90-280、100-280、110-280、120-280、130-280、140-280、150-280、160-280、170-280、180-280、190-280、200-280、210-280、220-280、230-280、240-280、260-280、270-280、20-270、20-260、20-250、20-240、20-230、20-220、20-210、20-200、20-190、20-180、20-170、20-160、20-150、20-140、20-130、20-120、20-110、20-100、20-90、20-80、20-70、20-60、20-50、20-40或20-30,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的。

[0017] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述神经纤毛蛋白B1结构域(SEQ ID NO:12)、所述神经纤毛蛋白B2结构域(SEQ ID NO:13) 和/或所述神经纤毛蛋白B1/B2组合结构域(SEQ ID NO:20) 中的至少一个表位,包含相邻的接头区,特异性结合,例如,大约在以下残基处结合:

[0018] (神经纤毛蛋白B1结构域) 266-426、280-426、290-426、300-426、310-426、320-426、330-426、340-426、350-426、360-426、370-426、380-426、390-426、400-426、410-426、420-426、280-420、280-410、280-400、280-390、280-380、280-370、280-360、280-350、280-340、280-330、280-320、280-310、280-300或280-290,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的;

[0019] (神经纤毛蛋白B2结构域) 438-591、450-591、460-591、470-591、480-591、490-591、500-591、510-591、520-591、530-591、540-591、550-591、560-591、570-591、580-591、438-590、438-580、438-570、438-560、438-550、438-540、438-530、438-520、438-510、438-500、438-490、438-480、438-470、438-460或438-450,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的;或

[0020] (神经纤毛蛋白B1/B2组合结构域) 266-591、276-591、286-591、296-591、306-591、316-591、326-591、336-591、346-591、356-591、366-591、376-591、386-591、396-591、406-591、416-591、426-591、436-591、446-591、456-591、466-591、476-591、486-591、498-591、508-591、518-591、528-591、538-591、548-591、558-591、568-591、578-591、588-591、266-581、266-571、266-561、266-551、266-541、266-531、266-521、266-511、266-501、266-491、266-481、266-471、266-461、266-451、266-441、266-431、266-421、266-411、266-401、266-391、266-381、266-371、266-361、266-351、266-341、266-331、266-321、266-311、266-301、266-291、266-281或266-271,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的。

[0021] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述神经纤毛蛋白A2/B1组合结构域和/或所述神经纤毛蛋白B2C组合结构域中的至少一个表位,包含相邻的接头区,特异性结合,例如,大约在以下残基处结合:

[0022] (神经纤毛蛋白A2B1组合结构域) 149-437、159-426、169-426、179-426、189-426、199-426、209-426、219-426、229-426、239-426、249-426、259-426、269-426、279-426、289-426、299-426、309-426、319-426、329-426、339-426、349-426、359-426、369-426、379-426、389-426、399-426、409-426、419-426、149-436、149-426、149-416、149-406、149-396、149-386、149-376、149-366、149-356、149-346、149-336、149-326、149-316、149-306、149-296、149-286、149-276、149-266、149-256、149-246、149-236、149-226、149-216、149-206、149-196、146-186、146-176、146-166或146-155,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的;或

[0023] (神经纤毛蛋白B2C组合结构域) 438-794、448-794、458-794、468-794、478-794、487-794、497-794、507-794、517-794、527-794、537-794、547-794、557-794、567-794、587-794、597-794、607-794、617-794、627-794、637-794、647-794、657-794、667-794、677-794、687-794、697-794、707-794、717-794、727-794、737-794、747-794、757-794、767-794、777-794、787-794、427-794、438-784、438-774、438-764、438-754、438-744、438-734、438-728、438-714、438-704、438-694、438-684、438-674、438-664、438-654、438-644、438-634、438-624、438-614、438-604、438-596、438-586、438-576、438-566、438-556、438-546、438-536、438-526、438-516、438-506、438-494、438-484、438-474、438-464、438-454、438-444,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的。

[0024] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述神经纤毛蛋白C结构域中的至少一个表位,包含相邻的接头区,特异性结合,例如,大约在以下残基处结合: 591-794、600-794、610-794、620-794、630-794、640-794、650-794、660-794、670-794、680-794、690-794、700-794、710-794、720-794、730-794、740-794、750-794、760-794、770-794、780-794、790-794、591-790、591-780、591-770、591-760、591-750、591-740、591-730、591-720、591-710、591-700、591-690、591-680、591-670、591-660、591-650、591-640、591-630、591-620、591-610或591-600,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的。

[0025] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述神经纤毛蛋白B1/B2/C组合结构域中的至少一个表位,包含相邻的接头区,特异性结合,例如,大约在以下残基处结合: 276-794、286-794、296-794、306-794、316-794、326-794、336-794、346-794、356-794、366-794、376-794、387-794、396-794、406-794、416-794、426-794、436-794、446-794、456-794、466-794、476-794、486-794、496-794、506-794、516-794、526-794、536-794、546-794、556-794、566-794、576-794、586-794、596-794、606-794、616-794、626-794、636-794、646-794、656-794、666-794、676-794、686-794、696-794、706-794、716-794、726-794、736-794、746-794、756-794、766-794、776-794、786-794、266-794、276-784、276-774、276-764、276-754、276-744、276-734、276-724、276-714、276-704、276-694、276-684、276-674、276-664、276-654、276-644、276-634、276-624、276-614、276-604、276-594、276-584、276-574、276-564、276-554、276-544、276-534、276-524、276-514、276-504、276-594、276-584、276-574、276-564、276-554、276-544、276-534、276-524、276-514、276-504或276-496,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的。

[0026] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与由两个或更多个不连续表位区构成的构象表位特异性结合。在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与包括以下或由以下组成的构象表位特异性结合:

- [0027] (a) 所述人NPR2多肽的所述A1结构域内的第一表位区和所述A2结构域内的第二表位区；
- [0028] (b) 所述人NPR2多肽的所述A1结构域内的第一表位区和所述B1结构域内的第二表位区；
- [0029] (c) 所述人NPR2多肽的所述A1结构域内的第一表位区和所述B2结构域内的第二表位区；
- [0030] (d) 所述人NPR2多肽的所述A1结构域内的第一表位区和所述C结构域内的第二表位区；
- [0031] (e) 所述人NPR2多肽的所述A2结构域内的第一表位区和所述B1结构域内的第二表位区；
- [0032] (f) 所述人NPR2多肽的所述A2结构域内的第一表位区和所述B2结构域内的第二表位区；
- [0033] (g) 所述人NPR2多肽的所述A2结构域内的第一表位区和所述C结构域内的第二表位区；
- [0034] (h) 所述人NPR2多肽的所述B1结构域内的第一表位区和所述B2结构域内的第二表位区；
- [0035] (i) 所述人NPR2多肽的所述B1结构域内的第一表位区和所述C结构域内的第二表位区；或
- [0036] (j) 所述人NPR2多肽的所述B2结构域内的第一表位区和所述C结构域内的第二表位区。

[0037] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段调节(例如,干扰)所述人NRP2多肽与至少一种NRP2配体(例如,选自表N2或表N3的NRP2配体和/或选自表H1的人组氨酰-tRNA合成酶(HRS)多肽)的结合。在一些实施例中,所述至少NRP2配体是选自表H1的HRS剪接变体,例如,选自SV9(HRS(1-60))、SV11(HRS(1-60)+(399-509))和SV14(HRS(1-100)+(399-509))中的一种或多种的HRS剪接变体。

[0038] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段是封闭抗体,所述封闭抗体在以化学计量当量与所述人NRP2多肽预温育后,抑制所述人NRP2多肽与所述至少一种NRP2配体之间的理论最大结合的约或至少约80-100%,任选地理论最大结合的约或至少约80%、85%、90%、95%或100%。

[0039] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段是部分封闭抗体,所述部分封闭抗体在以化学计量当量与所述人NRP2多肽预温育后,抑制所述人NRP2多肽与所述至少一种NRP2配体之间的理论最大结合的约或至少约20-80%,任选地理论最大结合的约或至少约20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%。

[0040] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述NRP2多肽的HRS多肽相互作用区特异性结合,并且模拟或激动与所述NRP2多肽结合的所述HRS多肽的一种或多种信号传导活性。

[0041] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述NRP2多肽的HRS多肽相互作用区特异性结合,并且调节所述NRP2多肽与至少一种NRP2配体之间的结合/信号传导活性。在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与所

述至少一种NRP2配体之间的所述结合/信号传导活性。在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段激动或增强所述NRP2多肽与所述至少一种NRP2配体之间的所述结合/信号传导活性。

[0042] 在一些实施例中,所述至少一种NRP2配体选自以下中的一种或多种:

[0043] -VEGF,其选自VEGF-A145、VEGF-A165、VEGF-C、VEGF-D和PIGF-2中的一种或多种;

[0044] -VEGF受体(VEGFR),其选自VEGFR2和VEGFR3;

[0045] -臂板蛋白(semaphorin),其选自SEMA-3B、SEMA-3C、SEMA-3D、SEMA-3F和SEMA-3G中的一种或多种;

[0046] -神经丛蛋白(plexin),其选自神经丛蛋白A1、A2、A3、A4和D1中的一种或多种;

[0047] -生长因子,其选自成纤维细胞生长因子(FGF)、肝细胞生长因子(HGF)和血小板源性生长因子(PDGF)中的一种或多种;

[0048] -生长因子受体,其选自成纤维细胞生长因子受体(FGFR)、肝细胞生长因子受体(HGFR)和血小板源性生长因子受体(PDGF)中的一种或多种;

[0049] -半乳凝素或半乳凝素受体;

[0050] -转录因子,其选自FAC1和溴蛋白PHD指转录因子;

[0051] -衔接蛋白,其选自GIPC1、GIPC2和GIPC3中的一种或多种;

[0052] -整联蛋白,其选自表N3,任选地 $\alpha_v\beta_1$ 、 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_v\beta_6$ 、 $\alpha_v\beta_8$ 、 $\alpha_6\beta_1$ 和 $\alpha_6\beta_4$ 中的一种或多种;

[0053] -转化生长因子 β ,其选自TGF β 1、TGF β 2、TGF β 3和其对应TGF β 受体中的一种或多种;以及

[0054] -HRS多肽,其选自表H1,任选地为选自以下中的一种或多种的HRS剪接变体:HisRS^{N1}、HisRS^{N2}、HisRS^{N3}、HisRS^{N4}(SV9)、HisRS^{N5}、HisRS^{C1}、HisRS^{C2}、HisRS^{C3}、HisRS^{C4}、HisRS^{C5}、HisRS^{C6}、HisRS^{C7}、HisRS^{C8}(SV11)和HisRS^{C9}(SV14)。

[0055] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与神经丛蛋白受体和/或臂板蛋白之间的结合/信号传导活性,而基本上不调节所述NRP2多肽与VEGFR3或VEGF-C之间的结合/信号传导活性。

[0056] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与神经丛蛋白受体和/或臂板蛋白之间的结合/信号传导活性,而基本上不调节所述NRP2多肽与HRS多肽之间的结合/信号传导活性。

[0057] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与神经丛蛋白受体和/或臂板蛋白之间的结合/信号传导活性,而基本上不调节所述NRP2多肽与HRS多肽之间的结合/信号传导活性,并且基本上不调节所述NRP2多肽与VEGFR3或VEGF-C之间的结合/信号传导活性。

[0058] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与VEGFR3之间的结合/信号传导活性,而基本上不调节所述NRP2多肽与神经丛蛋白受体和/或臂板蛋白之间的结合/信号传导活性。

[0059] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与VEGFR3或VEGF-C之间的结合/信号传导活性,而基本上不调节所述NRP2多肽与HRS多肽之间的结合/信号传导活性。

[0060] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与神经丛蛋白受体之间的结合/信号传导活性,而基本上不调节臂板蛋白3与NRP2的配体结合。

[0061] 在一些实施例中,所述神经丛蛋白受体选自神经丛蛋白A1、A2、A3、A4和D1。在一些实施例中,所述臂板蛋白选自臂板蛋白3B、3C、3D、3F和3G。

[0062] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述人NRP2 A2结构域内的表位特异性结合,所述表位包括SEQ ID NO:11的至少5个连续氨基酸,其中所述至少一种抗体或其抗原结合片段选择性地抑制NRP2与神经丛蛋白A1之间的受体二聚化,而基本上不抑制NRP2与FLT4 (VEGFR3) 之间的二聚化。在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与人NRP2 SEQ ID NO:1的氨基酸232-242内的表位特异性结合。

[0063] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述人NRP2 B1结构域内的表位特异性结合,所述表位包括SEQ ID NO:12的至少5个连续氨基酸,其中所述至少一种抗体或其抗原结合片段选择性地抑制NRP2与FLT4 (VEGFR3) 之间的受体二聚化,而基本上不抑制NRP2与神经丛蛋白A1之间的二聚化。

[0064] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述人NRP2 B2结构域内的表位特异性结合,所述表位包括SEQ ID NO:13的至少5个连续氨基酸,其中所述至少一种抗体或其抗原结合片段抑制NRP2与FLT4 (VEGFR3) 之间的受体二聚化并且抑制NRP2与神经丛蛋白A1之间的二聚化。

[0065] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述人NRP2 C结构域内的表位特异性结合,所述表位包括SEQ ID NO:14的至少5个连续氨基酸,其中所述至少一种抗体或其抗原结合片段抑制NRP2与神经丛蛋白A1之间的受体二聚化并且部分抑制NRP2与FLT4 (VEGFR3) 之间的二聚化。

[0066] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段对(i) 人NRP2多肽和(ii) 食蟹猴NRP2多肽的对应区中的每一个都具有亲和力(Kd或EC₅₀),其中对(i) 和(ii) 的所述亲和力在以下范围内:约20pM到约200pM、约30pM到约300pM、约40pM到约400pM、约50pM到约500pM、约60pM到约600pM、约70pM到约700pM、约80pM到约800pM、约90pM到约900pM、约100pM到约1nM、约0.4nM到约1.2nM、约0.9nM到约5.5nM、约0.9nM到约5nM或约1nM到约10nM。

[0067] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段对(i) 人NRP2多肽和(ii) 鼠NRP2多肽的对应区中的每一个都具有亲和力(Kd或EC₅₀),其中对(i) 和(ii) 的所述亲和力在以下范围内:约20pM到约200pM、约30pM到约300pM、约40pM到约400pM、约50pM到约500pM、约60pM到约600pM、约70pM到约700pM、约80pM到约800pM、约90pM到约900pM、约100pM到约1nM或约1nM到约10nM。

[0068] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段包括:

[0069] 重链可变区(V_H) 序列,所述V_H序列包括与所述人NRP2多肽特异性结合的选自表A1的互补决定区V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列和其变体;以及

[0070] 轻链可变区(V_L) 序列,所述V_L序列包括与所述人NRP2多肽特异性结合的选自表A1的互补决定区V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列和其变体,

[0071] 包含前述各项的与所述人NRP2多肽特异性结合的亲和力成熟变体。

[0072] 在具体实施例中:

[0073] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:23-25,并且所述V_LCDR1、

V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:26-28,包含其变体,所述变体在所述一个或多个CDR中具有1种、2种、3种、4种或5种改变并且与所述人NRP2多肽特异性结合;

[0074] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:29-31,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:32-34,包含其变体,所述变体在所述一个或多个CDR中具有1种、2种、3种、4种或5种改变并且与所述人NRP2多肽特异性结合;

[0075] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:35-37,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:38-40,包含其变体,所述变体在所述一个或多个CDR中具有1种、2种、3种、4种或5种改变并且与所述人NRP2多肽特异性结合;

[0076] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:41-43,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:44-46,包含其变体,所述变体在所述一个或多个CDR中具有1种、2种、3种、4种或5种改变并且与所述人NRP2多肽特异性结合;

[0077] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:47-49,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:50-52,包含其变体,所述变体在所述一个或多个CDR中具有1种、2种、3种、4种或5种改变并且与所述人NRP2多肽特异性结合;

[0078] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:53-55,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:56-58,包含其变体,所述变体在所述一个或多个CDR中具有1种、2种、3种、4种或5种改变并且与所述人NRP2多肽特异性结合;

[0079] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:59-61,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:62-64,包含其变体,所述变体在所述一个或多个CDR中具有1种、2种、3种、4种或5种改变并且与所述人NRP2多肽特异性结合;

[0080] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:65-67,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:68-70,包含其变体,所述变体在所述一个或多个CDR中具有1种、2种、3种、4种或5种改变并且与所述人NRP2多肽特异性结合;

[0081] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:71-73,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:74-76,包含其变体,所述变体在所述一个或多个CDR中具有1种、2种、3种、4种或5种改变并且与所述人NRP2多肽特异性结合;

[0082] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:77-79,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:80-82,包含其变体,所述变体在所述一个或多个CDR中具有1种、2种、3种、4种或5种改变并且与所述人NRP2多肽特异性结合;

[0083] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:83-85,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:86-88,包含其变体,所述变体在所述一个或多个CDR中具有1种、2种、3种、4种或5种改变并且与所述人NRP2多肽特异性结合。

[0084] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段包括IgA(包含亚类IgA1和IgA2)、IgD、IgE、IgG(包含亚类IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)或IgM Fc结构域,任选地人Fc结构域或其杂交体和/或变体。在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段包括在人中具有高效应子功能的IgG Fc结构域,任选地IgG1或IgG3 Fc结构域。在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段包括在人中具有低效应子功能的IgG Fc结构域,任选地IgG2或IgG4 Fc结构域。在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段包括任选地选自表F1的IgG1或IgG4 Fc结构域。

[0085] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体。在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段是人源化抗体。在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段是Fv片段、单链Fv(scFv)多肽、adnectin、anticalin、适配体、亲和性多聚体(avimer)、骆驼科动物抗体、预设计锚蛋白重复蛋白(DARPin)、微型抗体、纳米抗体或单抗体(unibody)。

[0086] 在一些实施例中,以蛋白质计,所述组合物关于所述至少一种抗体或抗原结合片段的纯度为至少约80%、85%、90%、95%、98%或99%并且基本上不含聚集体。在一些实施例中,所述治疗性组合物基本上不含内毒素。

[0087] 在一些实施例中,所述治疗性组合物是任选地适于静脉内、肌肉内、皮下或腹膜内施用的无菌可注射溶液。

[0088] 在某些实施例中,所述治疗性组合物进一步包括选自癌症免疫治疗剂、化疗剂、激素治疗剂和激酶抑制剂中的一种或多种的至少一种另外的药剂。在一些实施例中,所述癌症免疫治疗剂选自免疫检查点调节剂、癌症疫苗、溶瘤病毒、细胞因子和基于细胞的免疫疗法中的一种或多种。在一些实施例中,所述免疫检查点调节剂是多肽,任选地抗体或其抗原结合片段或配体或小分子。在一些实施例中,所述免疫检查点调节剂包括:

[0089] (a) 抑制性免疫检查点分子的拮抗剂;或

[0090] (b) 刺激性免疫检查点分子的激动剂,

[0091] 例如,任选地其中所述免疫检查点调节剂与所述免疫检查点分子特异性结合。

[0092] 在一些实施例中,所述抑制性免疫检查点分子选自以下中的一种或多种:程序性死亡-配体1(PD-L1)、程序性死亡受体1(PD-1)、程序性死亡-配体2(PD-L2)、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(CTLA-4)、吡咯啉胺2,3-双加氧酶(IDO)、色氨酸2,3-双加氧酶(TDO)、T细胞免疫球蛋白结构域和粘蛋白结构域3(TIM-3)、淋巴细胞活化基因-3(LAG-3)、T细胞活化V结构域Ig抑制剂(VISTA)、B和T淋巴细胞活化因子(BTLA)、CD160、疱疹病毒进入介导子(HVEM)以及具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体(TIGIT)。

[0093] 在一些实施例中,所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的PD-L1和/或PD-L2拮抗剂:与PD-L1和/或PD-L2特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子、阿特珠单抗(atezolizumab,MPDL3280A)、阿维鲁单抗(avelumab,MSB0010718C)以及度伐单抗(durvalumab,MEDI4736);

[0094] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的PD-1拮抗剂:与PD-1特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子、纳武单抗(nivolumab)、派姆单抗(pembrolizumab)、MK-3475、AMP-224、AMP-514、PDR001和皮地利珠单抗(pidilizumab);

[0095] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的CTLA-4拮抗剂:与CTLA-4特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子、伊匹单抗(ipilimumab)和曲美木单抗(tremelimumab);

[0096] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的IDO拮抗剂:与IDO特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子、吡咯莫德(indoximod,NLG-8189)、1-甲基-色氨酸(1MT)、 β -咔啉(去甲哈尔满(norharmane);9H-吡啶并[3,4-b]吡咯)、迷迭香酸和艾卡噪司他(epacadostat);

[0097] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的TDO拮抗剂:与TDO特异性结合的

抗体或抗原结合片段或小分子、680C91和LM10;

[0098] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的TIM-3拮抗剂:与TIM-3特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子;

[0099] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的LAG-3拮抗剂:与LAG-3特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子和BMS-986016;

[0100] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的VISTA拮抗剂:与VISTA特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子;

[0101] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的BTLA、CD160和/或HVEM拮抗剂:与BTLA、CD160和/或HVEM特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子;和/或

[0102] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的TIGIT拮抗剂:与TIGIT特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子。

[0103] 在一些实施例中,所述刺激性免疫检查点分子选自以下中的一种或多种:OX40、CD40、糖皮质激素诱导的TNFR家族相关基因(GITR)、CD137(4-1BB)、CD27、CD28、CD226和疱疹病毒进入介导子(HVEM)。

[0104] 在一些实施例中,所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的OX40激动剂:与OX40特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体、OX86、Fc-OX40L和GSK3174998;

[0105] 所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的CD40激动剂:与CD40特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体、CP-870,893、达西珠单抗(dacetuzumab)、Chi Lob 7/4、ADC-1013和rhCD40L;

[0106] 所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的GITR激动剂:与GITR特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体、INCAGN01876、DTA-1和MEDI1873;

[0107] 所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的CD137激动剂:与CD137特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体、乌托米卢单抗(utomilumab)和4-1BB配体;

[0108] 所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的CD27激动剂:与CD27特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体、瓦利路单抗(varlilumab)和CDX-1127(1F5);

[0109] 所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的CD28激动剂:与CD28特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体和TAB08;和/或

[0110] 所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的HVEM激动剂:与HVEM特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体。

[0111] 在一些实施例中,所述癌症疫苗选自以下中的一种或多种:Oncophage;人乳头瘤病毒HPV疫苗,任选地加德西(Gardasil)或希瑞适(Cervarix);乙肝疫苗,任选地安在时-B(Engerix-B)、Recombivax HB或Twinrix;以及西普鲁塞-T(sipuleucel-T,普罗文奇(Provenge)),或者所述癌症疫苗包括选自以下中的一种或多种的癌症抗原:人Her2/neu、Her1/EGF受体(EGFR)、Her3、A33抗原、B7H3、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23(IgE受体)、MAGE-3、C242抗原、5T4、IL-6、IL-13、血管内皮生长因子VEGF(例如,VEGF-A)、VEGFR-1、VEGFR-2、CD30、CD33、CD37、CD40、CD44、CD51、CD52、CD56、CD74、CD80、CD152、CD200、CD221、CCR4、HLA-DR、CTLA-4、NPC-1C、生腱蛋白、波形蛋白、胰岛素样生长因子1受体(IGF-1R)、 α -胎儿蛋白、胰岛素样生长因子1(IGF-1)、碳酸酐酶9(CA-IX)、癌胚抗原(CEA)、鸟苷酸环化酶C、NY-ESO-1、p53、生存素、整合素 $\alpha v \beta 3$ 、整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 、叶酸受体1、跨膜糖蛋白NMB、成纤维细胞活化蛋白

α (FAP)、糖蛋白75、TAG-72、MUC1、MUC16 (或CA-125)、磷脂酰丝氨酸、前列腺特异性膜抗原 (PMSA)、NR-LU-13抗原、TRAIL-R1、肿瘤坏死因子受体超家族成员10b (TNFRSF10B或TRAIL-R2)、SLAM家族成员7 (SLAMF7)、EGP40泛癌症抗原、B细胞活化因子 (BAFF)、血小板源性生长因子受体、糖蛋白EpCAM (17-1A)、程序性死亡受体-1、蛋白质二硫键异构酶 (PDI)、肝再生磷酸酶3 (PRL-3)、前列腺酸性磷酸酶、Lewis-Y抗原、GD2 (在神经外胚层来源的肿瘤上表达的二唾液酸神经节苷酯)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 (GPC3) 以及间皮素。

[0112] 在一些实施例中,所述溶瘤病毒选自以下中的一种或多种:塔利拉赫 (talimogene laherparepvec, T-VEC)、柯萨奇病毒A21 (coxsackievirus A21, CAVATAKTM)、安柯瑞 (Oncorine, H101)、佩拉雷奥雷普 (pelareorep, REOLYSIN®)、塞内加谷病毒 (Seneca Valley virus, NTX-010)、塞内加病毒SVV-001 (Senecavirus SVV-001)、ColoAd1、SEPREHVIR (HSV-1716)、CGTG-102 (Ad5/3-D24-GMCSF)、GL-ONC1、MV-NIS和DNX-2401。在一些实施例中,所述细胞因子选自以下中的一种或多种:干扰素 (IFN) - α 、IL-2、IL-12、IL-7、IL-21和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)。在一些实施例中,所述基于细胞的免疫治疗剂包括癌症抗原特异性T细胞,任选地离体源性T细胞。在一些实施例中,所述癌症抗原特异性T细胞选自以下中的一种或多种:嵌合抗原受体 (CAR) 修饰的T细胞和T细胞受体 (TCR) 修饰的T细胞、肿瘤浸润淋巴细胞 (TIL) 以及肽诱导的T细胞。

[0113] 在一些实施例中,所述至少一种化疗剂选自以下中的一种或多种:烷化剂、抗代谢物、细胞毒性抗生素、拓扑异构酶抑制剂 (I型或II型) 和抗微管剂。

[0114] 在一些实施例中,所述烷化剂选自以下中的一种或多种:氮芥 (任选地二氯甲基二乙胺 (mechlorethamine)、环磷酰胺 (cyclophosphamide)、氮芥 (mustine)、美法仑 (melphalan)、苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、异环磷酰胺 (ifosfamide) 和白消安 (busulfan))、亚硝基脲 (任选地N-亚硝基-N-甲基脲 (MNU)、卡莫司汀 (carmustine, BCNU)、洛莫司汀 (lomustine, CCNU)、司莫司汀 (semustine, MeCCNU)、福莫司汀 (fotemustine) 和链脲佐菌素 (streptozotocin))、四嗪 (任选地达卡巴嗪 (dacarbazine)、米托唑胺 (mitozolomide) 和替莫唑胺 (temozolomide))、氮丙啶 (任选地噻替派 (thiotepa)、丝裂霉素 (mitomycin) 和地吡醌 (diaziquone, AZQ))、顺铂和其衍生物 (任选地卡铂 (carboplatin) 和奥沙利铂 (oxaliplatin)) 以及非典型烷化剂 (任选地丙卡巴肼 (procarbazine) 和六甲密胺 (hexamethylmelamine));

[0115] 所述抗代谢物选自以下中的一种或多种:抗叶酸剂 (任选地甲氨蝶呤 (methotrexate) 和培美曲塞 (pemetrexed))、氟嘧啶 (任选地5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil) 和卡培他滨 (capecitabine))、脱氧核苷类似物 (任选地安西他滨 (ancitabine)、依诺他滨 (enocitabine)、阿糖胞苷 (cytarabine)、吉西他滨 (gemcitabine)、地西他滨 (decitabine)、阿扎胞苷 (azacitidine)、氟达拉滨 (fludarabine)、奈拉滨 (nelarabine)、克拉屈滨 (cladribine)、氯法拉滨 (clofarabine)、氟达拉滨 (fludarabine) 和喷司他丁 (pentostatin)) 以及硫嘌呤 (任选地硫鸟嘌呤 (thioguanine) 和巯嘌呤 (mercaptopurine));

[0116] 所述细胞毒性抗生素选自以下中的一种或多种:蒽环类药物 (任选地阿霉素 (doxorubicin)、柔红霉素 (daunorubicin)、表柔比星 (epirubicin)、伊达比星 (idarubicin)、吡柔比星 (pirarubicin)、阿柔比星 (aclarubicin) 和米托蒽醌

(mitoxantrone))、博来霉素(bleomycin)、丝裂霉素C(mitomycin C)、米托蒽醌和放线菌素(actinomycin)；

[0117] 所述拓扑异构酶抑制剂选自以下中的一种或多种：喜树碱(camptothecin)、伊立替康(irinotecan)、拓扑替康(topotecan)、依托泊苷(etoposide)、阿霉素、米托蒽醌、替尼泊苷(teniposide)、新生霉素(novobiocin)、美巴龙(merbarone)、阿柔比星；和/或

[0118] 所述抗微管剂选自以下中的一种或多种：紫杉烷(任选地紫杉醇(paclitaxel)和多西他赛(docetaxel))和长春花生物碱(任选地长春碱(vinblastine)、长春新碱(vincristine)、长春地辛(vindesine)、长春瑞滨(vinorelbine))。

[0119] 在一些实施例中，所述至少一种激素治疗剂是激素激动剂或激素拮抗剂。在一些实施例中，所述激素激动剂选自以下中的一种或多种：孕激素(孕酮)、皮质类固醇(任选地泼尼松龙(prednisolone)、甲基泼尼松龙(methylprednisolone)或地塞米松(dexamethasone))、胰岛素样生长因子、VEGF源性血管生成和淋巴管生成因子(任选地VEGF-A、VEGF-A145、VEGF-A165、VEGF-C、VEGF-D、PlGF-2)、成纤维细胞生长因子(FGF)、半乳凝素、肝细胞生长因子(HGF)、血小板源性生长因子(PDGF)、转化生长因子(TGF)- β 、雄激素、雌激素和生长抑素类似物。在一些实施例中，所述激素拮抗剂选自以下中的一种或多种：激素合成抑制剂，任选地芳香酶抑制剂或促性腺激素释放激素(GnRH)或其类似物；以及激素受体拮抗剂，任选地选择性雌激素受体调节剂(SERM)或抗雄激素；或针对激素受体的抗体，任选地西妥木单抗(cixutumumab)、多妥珠单抗(dalotuzumab)、芬妥木单抗(figitumumab)、加尼妥单抗(ganitumab)、异妥单抗(istiratumab)、罗妥木单抗(robatumumab)、培阿赛珠单抗(alacizumab pegol)、贝伐单抗(bevacizumab)、伊鲁库单抗(icrucumab)、雷莫芦单抗(ramucirumab)、夫苏木单抗(fresolimumab)、美替木单抗(metelimumab)、那昔妥单抗(naxitamab)、西妥昔单抗(cetuximab)、莫福汀德帕妥昔单抗(depatuxizumab mafodotin)、伏妥昔单抗(futuximab)、伊马曲单抗(imgatuzumab)、恩星拉妥昔单抗(laprituximab emtansine)、马妥珠单抗(matuzumab)、莫妥昔单抗(modotuximab)、奈昔木单抗(necitumumab)、尼妥珠单抗(nimotuzumab)、帕尼单抗(panitumumab)、托木妥昔单抗(tomuzotuximab)、扎芦木单抗(zalutumumab)、aprutumab ixadotin、贝马里妥珠单抗(bemarituzumab)、奥拉单抗(olaratumab)或托维单抗(tovetumab)。

[0120] 在一些实施例中，所述激酶抑制剂选自以下中的一种或多种：阿达索替尼(adavosertib)、阿法替尼(afanitib)、阿柏西普(aflibercept)、阿昔替尼(axitinib)、贝伐单抗、博舒替尼(bosutinib)、卡博替尼(cabozantinib)、西妥昔单抗、考比替尼(cobimetinib)、克唑替尼(crizotinib)、达沙替尼(dasatinib)、恩曲替尼(entrectinib)、厄达替尼(erdafitinib)、厄洛替尼(erlotinib)、福坦替尼(fostamitinib)、吉非替尼(gefitinib)、依鲁替尼(ibrutinib)、伊马替尼(imatinib)、拉帕替尼(lapatinib)、乐伐替尼(lenvatinib)、木利替尼(mubritinib)、尼罗替尼(nilotinib)、帕尼单抗、帕唑帕尼(pazopanib)、哌加他尼(pegaptanib)、帕纳替尼(ponatinib)、兰尼单抗(ranibizumab)、瑞戈非尼(regorafenib)、鲁索替尼(ruxolitinib)、索拉非尼(sorafenib)、舒尼替尼(sunitinib)、SU6656、托法替尼(tofacitinib)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、凡德他尼(vandetanib)和威罗菲尼(vemurafenib)。

[0121] 还包含治疗有需要的受试者的疾病或病状的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗性组合物,所述治疗性组合物包括与人神经纤毛蛋白-2(NRP2)多肽特异性结合的至少一种抗体或其抗原结合片段,其中所述至少一种抗体或其抗原结合片段例如作为本文所述的治疗性组合物调节(例如,干扰)所述人NRP2多肽与至少一种NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体和/或来自表H1的人组氨酰-tRNA合成酶(HRS)多肽)的结合。

[0122] 在一些实施例中,所述疾病或病状是NRP2相关疾病或病状。在一些实施例中,所述NRP2相关疾病或病状选自以下中的一种或多种:癌症和与癌症相关的疾病和途径,包含癌细胞生长、起始、迁移、粘附、侵袭和/或转移;与炎症、自身免疫和相关炎性疾病相关的疾病,包含与不适当的免疫细胞活化或迁移相关的疾病,如移植物抗宿主病(GVHD);与淋巴发育、淋巴管生成和淋巴损伤相关的疾病,包含例如水肿、淋巴水肿、继发性淋巴水肿、不适当的脂肪吸收和沉积、过量脂肪沉积和血管通透性;与感染相关的疾病,包含潜伏感染;与过敏性病症/疾病、过敏反应相关的疾病,包含例如慢性阻塞性肺病症(COPD)、中性粒细胞性哮喘、抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)相关的全身性血管炎、全身性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎性小体相关疾病和皮肤相关中性粒细胞介导的疾病,如坏疽性脓皮病;与肉芽肿性炎性疾病相关的疾病,包含结节病和肉芽肿;与纤维化相关的疾病,包含纤维化疾病、纤维化、内皮-间充质转化(EMT)和伤口愈合;与不适当的平滑肌收缩性和不适当的血管平滑肌细胞迁移和粘附相关的疾病;与不适当的自噬、吞噬作用和胞葬作用相关的疾病;与不适当的游走细胞移动相关的疾病;与神经元疾病、周围神经系统重塑和疼痛感知相关的疾病;以及与骨骼发育和骨骼重塑相关的疾病。

[0123] 在一些实施例中,所述疾病是癌症,例如,其中所述癌症表达或过表达NRP2。在一些实施例中,所述癌症显示出NRP2依赖性生长、NRP2依赖性粘附、NRP2依赖性迁移和/或NRP2依赖性侵袭。在一些实施例中,所述癌症表达或过表达NRP2,但基本上不表达神经纤毛蛋白-1(NRP1)。

[0124] 还包含用于减少或预防有需要的受试者的癌症的复发的方法,其中施用所述治疗性组合物能够产生对所述癌症的免疫记忆。在一些实施例中,所述受试者患有糖尿病或有患糖尿病的风险。

[0125] 某些方法包括向所述受试者施用例如如本文所描述的选自癌症免疫治疗剂、化疗剂、激素治疗剂和激酶抑制剂中的一种或多种的至少一种另外的药剂。在一些实施例中,所述至少一种抗NRP2抗体或其抗原结合片段和所述至少一种药剂作为单独的组合物分开施用。在一些实施例中,所述至少一种抗NRP2抗体和所述至少一种药剂作为同一治疗性组合物的一部分一起施用,例如,作为本文所述的治疗性组合物一起施用。

[0126] 在一些实施例中,所述癌症免疫治疗剂选自免疫检查点调节剂、癌症疫苗、溶瘤病毒、细胞因子和基于细胞的免疫疗法中的一种或多种。在一些实施例中,所述免疫检查点调节剂是多肽,任选地抗体或其抗原结合片段或配体或小分子。在一些实施例中,所述免疫检查点调节剂包括:

[0127] (a) 抑制性免疫检查点分子的拮抗剂;或

[0128] (b) 刺激性免疫检查点分子的激动剂。

[0129] 例如,其中所述免疫检查点调节剂特异性结合。在一些实施例中,所述抑制性免疫检查点分子选自以下中的一种或多种:程序性死亡-配体1(PD-L1)、程序性死亡受体1(PD-

1)、程序性死亡-配体2 (PD-L2)、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4 (CTLA-4)、吡咯胺2,3-双加氧酶 (IDO)、色氨酸2,3-双加氧酶 (TDO)、T细胞免疫球蛋白结构域和粘蛋白结构域3 (TIM-3)、淋巴细胞活化基因-3 (LAG-3)、T细胞活化V结构域Ig抑制剂 (VISTA)、B和T淋巴细胞弱化因子 (BTLA)、CD160、疱疹病毒进入介导子 (HVEM) 以及具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体 (TIGIT)。

[0130] 在一些实施例中,所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的PD-L1和/或PD-L2拮抗剂:与PD-L1和/或PD-L2特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子、阿特朱单抗 (MPDL3280A)、阿维鲁单抗 (MSB0010718C) 以及度伐单抗 (MEDI4736), 任选地其中所述癌症选自以下中的一种或多种:结肠直肠癌、黑色素瘤、乳腺癌、非小细胞肺癌、膀胱癌和肾细胞癌;

[0131] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的PD-1拮抗剂:与PD-1特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子、纳武单抗、派姆单抗、MK-3475、AMP-224、AMP-514PDR001 和皮地利珠单抗, 任选地其中所述PD-1拮抗剂是纳武单抗, 并且所述癌症任选地选自以下中的一种或多种:霍奇金氏淋巴瘤 (Hodgkin's lymphoma)、黑色素瘤、非小细胞肺癌、肝细胞癌、肾细胞癌和卵巢癌;

[0132] 所述PD-1拮抗剂是派姆单抗, 并且所述癌症任选地选自以下中的一种或多种:黑色素瘤、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、头颈癌和尿路上皮癌;

[0133] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的CTLA-4拮抗剂:与CTLA-4特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子、伊匹单抗和曲美木单抗, 任选地其中所述癌症选自以下中的一种或多种:黑色素瘤、前列腺癌、肺癌和膀胱癌;

[0134] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的IDO拮抗剂:与IDO特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子、吡咯莫德 (NLG-8189)、1-甲基-色氨酸 (1MT)、 β -吡啶 (去甲哈尔满; 9H-吡啶并[3,4-b]吡咯) 和艾卡噪司他, 并且其中所述癌症任选地选自以下中的一种或多种:转移性乳腺癌和脑癌, 任选地多形性胶质母细胞瘤、神经胶质瘤、胶质肉瘤或恶性脑肿瘤;

[0135] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的TDO拮抗剂:与TDO特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子、680C91和LM10;

[0136] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的TIM-3拮抗剂:与TIM-3特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子;

[0137] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的LAG-3拮抗剂:与LAG-3特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子和BMS-986016;

[0138] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的VISTA拮抗剂:与VISTA特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子;

[0139] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的BTLA、CD160和/或HVEM拮抗剂:与BTLA、CD160和/或HVEM特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子;

[0140] 所述拮抗剂是任选地选自以下中的一种或多种的TIGIT拮抗剂:与TIGIT特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子。

[0141] 在一些实施例中,所述刺激性免疫检查点分子选自以下中的一种或多种:OX40、CD40、糖皮质激素诱导的TNFR家族相关基因 (GITR)、CD137 (4-1BB)、CD27、CD28、CD226和疱

疹病毒进入介导子 (HVEM)。

[0142] 在一些实施例中,所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的OX40激动剂:与OX40特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体、OX86、Fc-OX40L和GSK3174998;

[0143] 所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的CD40激动剂:与CD40特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体、CP-870,893、达西珠单抗、Chi Lob 7/4、ADC-1013和rhCD40L,并且其中所述癌症任选地选自以下中的一种或多种:黑色素瘤、胰腺癌、间皮瘤和血液学癌症,任选地淋巴瘤,如非霍奇金氏淋巴瘤 (Non-Hodgkin's lymphoma);

[0144] 所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的GITR激动剂:与GITR特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体、INCAGN01876、DTA-1和MEDI1873;

[0145] 所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的CD137激动剂:与CD137特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体、乌托米卢单抗和4-1BB配体;

[0146] 所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的CD27激动剂:与CD27特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体、瓦利路单抗和CDX-1127 (1F5);

[0147] 所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的CD28激动剂:与CD28特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体和TAB08;和/或

[0148] 所述激动剂是任选地选自以下中的一种或多种的HVEM激动剂:与HVEM特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子或配体。

[0149] 在一些实施例中,所述癌症疫苗选自以下中的一种或多种:Oncophage;人乳头瘤病毒HPV疫苗,任选地加德西或希瑞适;乙肝疫苗,任选地安在时-B、Recombivax HB或Twinrix;以及西普鲁塞-T(普罗文奇),或者所述癌症疫苗包括选自以下中的一种或多种的癌症抗原:人Her2/neu、Her1/EGF受体(EGFR)、Her3、A33抗原、B7H3、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23(IgE受体)、MAGE-3、C242抗原、5T4、IL-6、IL-13、血管内皮生长因子VEGF(例如,VEGF-A)、VEGFR-1、VEGFR-2、CD30、CD33、CD37、CD40、CD44、CD51、CD52、CD56、CD74、CD80、CD152、CD200、CD221、CCR4、HLA-DR、CTLA-4、NPC-1C、生腱蛋白、波形蛋白、胰岛素样生长因子1受体(IGF-1R)、 α -胎儿蛋白、胰岛素样生长因子1(IGF-1)、碳酸酐酶9(CA-IX)、癌胚抗原(CEA)、鸟苷酸环化酶C、NY-ESO-1、p53、生存素、整合素 $\alpha v \beta 3$ 、整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 、叶酸受体1、跨膜糖蛋白NMB、成纤维细胞活化蛋白 α (FAP)、糖蛋白75、TAG-72、MUC1、MUC16(或CA-125)、磷脂酰丝氨酸、前列腺特异性膜抗原(PMSA)、NR-LU-13抗原、TRAIL-R1、肿瘤坏死因子受体超家族成员10b(TNFRSF10B或TRAIL-R2)、SLAM家族成员7(SLAMF7)、EGP40泛癌症抗原、B细胞活化因子(BAFF)、血小板源性生长因子受体、糖蛋白EpCAM(17-1A)、程序性死亡受体-1、蛋白质二硫键异构酶(PDI)、肝再生磷酸酶3(PRL-3)、前列腺酸性磷酸酶、Lewis-Y抗原、GD2(在神经外胚层来源的肿瘤上表达的二唾液酸神经节苷酯)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3)以及间皮素,任选地其中所述受试者患有癌症或有患癌症的风险,所述癌症包括对应癌症抗原。

[0150] 在一些实施例中,所述溶瘤病毒选自以下中的一种或多种:塔利拉赫(T-VEC)、柯萨奇病毒A21(CAVATAK™)、安柯瑞(H101)、佩拉雷奥雷普(REOLYSIN®)、塞内加谷病毒(NTX-010)、塞内加病毒SVV-001、ColoAd1、SEPREHVIR(HSV-1716)、CGTG-102(Ad5/3-D24-GMCSF)、GL-ONC1、MV-NIS和DNX-2401。在一些实施例中,所述细胞因子选自以下中的一种或多种:干扰素(IFN)- α 、IL-2、IL-12、IL-7、IL-21和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)。在一些实施例中,所述基于细胞的免疫治疗剂包括癌症抗原特异性T细胞,任选地离

体源性T细胞。在一些实施例中,所述癌症抗原特异性T细胞选自以下中的一种或多种:嵌合抗原受体(CAR)修饰的T细胞和T细胞受体(TCR)修饰的T细胞、肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)以及肽诱导的T细胞。

[0151] 在一些实施例中,所述至少一种化疗剂选自以下中的一种或多种:烷化剂、抗代谢物、细胞毒性抗生素、拓扑异构酶抑制剂(I型或II型)和抗微管剂。

[0152] 在一些实施例中,所述烷化剂选自以下中的一种或多种:氮芥(任选地二氯甲基二乙胺、环磷酰胺、氮芥、美法仑、苯丁酸氮芥、异环磷酰胺和白消安)、亚硝基脲(任选地N-亚硝基-N-甲基脲(MNU)、卡莫司汀(BCNU)、洛莫司汀(CCNU)、司莫司汀(MeCCNU)、福莫司汀和链脲佐菌素)、四嗪(任选地达卡巴嗪、米托唑胺和替莫唑胺)、氮丙啶(任选地噻替派、丝裂霉素和地吡醌(AZQ))、顺铂和其衍生物(任选地卡铂和奥沙利铂)以及非典型烷化剂(任选地丙卡巴肼和六甲密胺);

[0153] 所述抗代谢物选自以下中的一种或多种:抗叶酸剂(任选地甲氨蝶呤和培美曲塞)、氟嘧啶(任选地5-氟尿嘧啶和卡培他滨)、脱氧核苷类似物(任选地安西他滨、依诺他滨、阿糖胞苷、吉西他滨、地西他滨、阿扎胞苷、氟达拉滨、奈拉滨、克拉屈滨、氯法拉滨、氟达拉滨和喷司他丁)以及硫嘌呤(任选地硫鸟嘌呤和巯嘌呤);

[0154] 所述细胞毒性抗生素选自以下中的一种或多种:蒽环类药物(任选地阿霉素、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、吡柔比星、阿柔比星和米托蒽醌)、博莱霉素、丝裂霉素C、米托蒽醌和放线菌素;

[0155] 所述拓扑异构酶抑制剂选自以下中的一种或多种:喜树碱、伊立替康、拓扑替康、依托泊苷、阿霉素、米托蒽醌、替尼泊苷、新生霉素、美巴龙、阿柔比星;和/或

[0156] 所述抗微管剂选自以下中的一种或多种:紫杉烷(任选地紫杉醇和多西他赛)和长春花生物碱(任选地长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨)。

[0157] 在一些实施例中,所述至少一种激素治疗剂是激素激动剂或激素拮抗剂。在一些实施例中,所述激素激动剂选自以下中的一种或多种:孕激素(孕酮)、皮质类固醇(任选地泼尼松龙、甲基泼尼松龙或地塞米松)、胰岛素样生长因子、VEGF源性血管生成和淋巴管生成因子(任选地VEGF-A、VEGF-A145、VEGF-A165、VEGF-C、VEGF-D、PIGF-2)、成纤维细胞生长因子(FGF)、半乳凝素、肝细胞生长因子(HGF)、血小板源性生长因子(PDGF)、转化生长因子(TGF)- β 、雄激素、雌激素和生长抑素类似物。在一些实施例中,所述激素拮抗剂选自以下中的一种或多种:激素合成抑制剂,任选地芳香酶抑制剂或促性腺激素释放激素(GnRH)或其类似物;以及激素受体拮抗剂,任选地选择性雌激素受体调节剂(SERM)或抗雄激素;或针对激素受体的抗体,任选地西妥木单抗、多妥珠单抗、芬妥木单抗、加尼妥单抗、异妥单抗、罗妥木单抗、培阿赛珠单抗、贝伐单抗、伊鲁库单抗、雷莫芦单抗、夫苏木单抗、美替木单抗、那昔妥单抗、西妥昔单抗、莫福汀德帕妥昔单抗、伏妥昔单抗、伊马曲单抗、恩星拉妥昔单抗、马妥珠单抗、莫妥昔单抗、奈昔木单抗、尼妥珠单抗、帕尼单抗、托木妥昔单抗、扎芦木单抗、aprutumab ixadotin、贝马里妥珠单抗、奥拉单抗或托维单抗。

[0158] 在一些实施例中,所述激酶抑制剂选自以下中的一种或多种:阿达索替尼、阿法替尼、阿柏西普、阿昔替尼、贝伐单抗、博舒替尼、卡博替尼、西妥昔单抗、考比替尼、克唑替尼、达沙替尼、恩曲替尼、厄达替尼、厄洛替尼、福坦替尼、吉非替尼、依鲁替尼、伊马替尼、拉帕替尼、乐伐替尼、木利替尼、尼罗替尼、帕尼单抗、帕唑帕尼、哌加他尼、帕纳替尼、兰尼单抗、

瑞戈非尼、鲁索替尼、索拉非尼、舒尼替尼、SU6656、托法替尼、曲妥珠单抗、凡德他尼和威罗菲尼。在一些实施例中,所述癌症是原发性癌症。在一些实施例中,所述癌症是转移性癌症,例如,表达NRP2和/或NRP2B的转移性癌症。在一些实施例中所述癌症选自以下中的一种或多种:黑色素瘤(例如,转移性黑色素瘤)、胰腺癌、骨癌、前列腺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(NSCLC)、间皮瘤、白血病(例如,淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、急性骨髓性白血病、复发性急性骨髓性白血病)、淋巴瘤、肝癌(肝细胞癌)、肉瘤、B细胞恶性肿瘤、乳腺癌、卵巢癌、结肠直肠癌、神经胶质瘤、多形性胶质母细胞瘤、脑膜瘤、垂体腺瘤、前庭神经鞘瘤、原发性CNS淋巴瘤、原始神经外胚层瘤(成神经管细胞瘤)、肾癌(例如,肾细胞癌)、膀胱癌、子宫癌、食管癌、脑癌、头颈癌、宫颈癌、睾丸癌、甲状腺癌和胃癌。

[0159] 在一些实施例中,所述转移性癌症选自以下中的一种或多种:

[0160] (a) 已经转移到骨、肝和/或肺的膀胱癌;

[0161] (b) 已经转移到骨、脑、肝和/或肺的乳腺癌;

[0162] (c) 已经转移到肝、肺和/或腹膜的结肠直肠癌;

[0163] (d) 已经转移到肾上腺、骨、脑、肝和/或肺的肾癌;

[0164] (e) 已经转移到肾上腺、骨、脑、肝和/或其它肺部位的肺癌;

[0165] (f) 已经转移到骨、脑、肝、肺和/或皮肤/肌肉的黑色素瘤;

[0166] (g) 已经转移到肝、肺和/或腹膜的卵巢癌;

[0167] (h) 已经转移到肝、肺和/或腹膜的胰腺癌;

[0168] (i) 已经转移到肾上腺、骨、肝和/或肺的前列腺癌;

[0169] (j) 已经转移到肝、肺和/或腹膜的胃癌;

[0170] (l) 已经转移到骨、肝和/或肺的甲状腺癌;以及

[0171] (m) 已经转移到骨、肝、肺、腹膜和/或阴道的子宫癌。

[0172] 在一些实施例中,相对于健康对照或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体的至少一种结合的或游离的NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体和/或来自表H1的HRS多肽)的循环或血清水平,所述受试者的所述水平有所增加和/或基于所述水平有所增加而被选择进行治疗,任选地所述水平为约或至少约30pM、40pM、50pM、60pM、70pM、80pM、90pM、100pM、200pM、300pM、400pM、500pM、600pM、700pM、800pM、900pM、1000pM、1100pM、1200pM、1300pM、1400pM、1500pM、1600pM、1700pM、1800pM、1900pM、2000pM、3000pM、4000pM或5000pM的所述至少一种NRP2配体(例如,HRS多肽)或者约或至少约30-100pM、40-100pM、50-100pM、30-2000pM、40-2000pM、50-2000pM、60-2000pM、70-2000pM、80-2000pM、90-2000pM、100-2000pM、200-2000pM、300-2000pM、400-2000pM、500-2000pM、600-2000pM、700-2000pM、800-2000pM、900-2000pM、1000-2000pM、2000-3000pM、3000-4000pM或4000-5000pM的所述至少一种NRP2配体。

[0173] 在一些实施例中,相对于健康对照或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体,所述受试者患有与至少一种NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体和/或来自表H1的HRS多肽)和/或其编码mRNA的水平或表达有所增加相关的疾病和/或基于患有所述疾病而被选择进行治疗,所述疾病任选地为相对于非癌性对照细胞或组织,任选地相对于类型与所述癌症相同的非癌性细胞或组织,所述至少一种NRP2配体和/或其编码mRNA的水平或表达有所增加的癌症,任选地其中所述HRS多肽是选自以下的剪接变体:

HisRS^{N1}、HisRS^{N2}、HisRS^{N3}、HisRS^{N4}、HisRS^{N5}、HisRS^{C1}、HisRS^{C2}、HisRS^{C3}、HisRS^{C4}、HisRS^{C5}、HisRS^{C6}、HisRS^{C7}、HisRS^{C8}和HisRS^{C9}。

[0174] 在一些实施例中,相对于健康对照或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体的结合的或游离的可溶性神经纤毛蛋白2(NRP2)多肽(例如,选自表N1)的循环或血清水平,所述受试者的所述水平有所增加和/或基于所述水平有所增加而被选择进行治疗,任选地循环或血清水平为约或至少约10pM、20pM、30pM、50pM、100pM、200pM、300pM、400pM、500pM、600pM、700pM、800pM、900pM、1000pM、1100pM、1200pM、1300pM、1400pM、1500pM、1600pM、1700pM、1800pM、1900pM、2000pM、3000pM、4000pM、5000pM的所述可溶性NRP2多肽,或任选地循环或血清水平为约30-50pM、50-100pM、100-2000pM、200-2000pM、300-2000pM、400-2000pM、500-2000pM、600-2000pM、700-2000pM、800-2000pM、900-2000pM、1000-2000pM、2000-3000pM、3000-4000pM、4000-5000pM的所述可溶性NRP2多肽。

[0175] 在一些实施例中,相对于健康对照或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体,所述受试者患有与NRP2多肽(例如,选自表N1)和/或其编码mRNA的水平或表达有所增加相关的疾病和/或基于患有所述疾病而被选择进行治疗,所述疾病任选地为相对于非癌性对照细胞或组织,任选地相对于类型与所述癌症相同的细胞或组织,NRP2多肽(例如,选自表N1)和/或其编码mRNA的水平或表达有所增加的癌症。

[0176] 在一些实施例中,相对于健康对照或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体,所述受试者患有与NRP2A和/或NRP2B的水平或表达有所增加或NRP2A:NRP2B表达的比率有所改变相关的疾病和/或基于患有所述疾病而被选择进行治疗。在一些实施例中,相对于健康对照或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体,所述受试者的NRP2B表达或水平显著较高。在一些实施例中,与健康对照或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体相比,NRP2B的所述水平增加约或至少约10%、20%、30%、40%、50%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%。

[0177] 在一些实施例中,相对于健康或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体,所述受试者的HRS:NRP2复合物的循环水平有所增加和/或基于所述HRS:NRP2复合物的所述循环水平有所增加而被选择进行治疗。

[0178] 在一些实施例中,所述健康对照或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体包括类型与所述癌症相同的癌性或非癌性细胞或组织的年龄匹配样品的平均范围,所述平均范围包括如耐药性、转移潜能、攻击性、遗传特征(例如,p53突变、PTEN缺失、IGFR表达)和/或表达模式等具体特性。

[0179] 某些实施例包括以足以实现约或小于约500pM、400pM、300pM、200pM、100pM、50pM、40pM、30pM、20pM或10pM的可溶性NRP2多肽的平均持续性血清或循环水平的量和频率施用所述至少一种抗NRP2抗体。

[0180] 某些实施例包括以足以使HRS:NRP2复合物的所述循环水平降低,任选地降低约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%的量和频率施用所述至少一种抗NRP2抗体。

[0181] 在一些实施例中,相对于对照物,所述至少一种抗NRP2抗体使对所述癌症的免疫应答增强约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更

多。

[0182] 在一些实施例中,相对于未经处理的对照物,所述至少一种抗NRP2使所述癌症的体外生长速率降低约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。

[0183] 在一些实施例中,相对于未经处理的对照物,所述至少一种抗NRP2抗体使所述癌症对基质的体外粘附性降低约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。在一些情况下,所述基质包括层粘连蛋白。

[0184] 在一些实施例中,相对于未经处理的对照物,所述至少一种抗NRP2抗体使所述癌症的侵袭性降低约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。

[0185] 在一些实施例中,相对于未经处理的对照物,所述至少一种抗NRP2抗体将所述癌症的迁移或运动速率抑制约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。

[0186] 在一些实施例中,相对于未经处理的对照物,所述至少一种抗NRP2抗体将所述癌症或相关免疫细胞的自噬或内体成熟(例如,内体酸化)速率抑制约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。

[0187] 在一些实施例中,相对于仅使用化疗剂,所述至少一种抗NRP2抗体使所述癌症对所述化疗剂、激素治疗剂或激酶抑制剂的易感性增强约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。

[0188] 在一些实施例中,相对于仅使用所述癌症免疫治疗剂,所述至少一种抗NRP2抗体使所述癌症免疫治疗剂的抗肿瘤和/或免疫刺激活性增强约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。

[0189] 某些实施例包括以足以实现约1nM与约1 μ M之间、约1nM与约100nM之间、约1nM与约10nM之间或约1nM与约3 μ M之间的所述至少一种抗NRP2抗体的稳态浓度或平均循环浓度的量和频率施用所述至少一种抗NRP2抗体。

[0190] 还包含患者护理试剂盒,所述患者护理试剂盒包括:

[0191] (a) 如本文所描述的与人神经纤毛蛋白-2(NRP2)多肽特异性结合的至少一种抗体或其抗原结合片段;以及任选地

[0192] (b) 选自癌症免疫治疗剂、化疗剂、激素治疗剂和激酶抑制剂中的一种或多种的至少一种另外的药剂。

[0193] 在一些实施例中,(a)和(b)位于单独的治疗性组合物中。在一些实施例中,(a)和(b)位于如本文所描述的同一种治疗性组合物中。

[0194] 在一些患者护理试剂盒中,在一些实施例中,所述至少一种化疗剂选自以下中的一种或多种:烷化剂、抗代谢物、细胞毒性抗生素、拓扑异构酶抑制剂(1型或II型)和抗微管剂。

[0195] 在一些患者护理试剂盒中,所述烷化剂选自以下中的一种或多种:氮芥(任选地二氯甲基二乙胺、环磷酰胺、氮芥、美法仑、苯丁酸氮芥、异环磷酰胺和白消安)、亚硝基脲(任选地N-亚硝基-N-甲基脲(MNU)、卡莫司汀(BCNU)、洛莫司汀(CCNU)、司莫司汀(MeCCNU)、福莫司汀和链脲佐菌素)、四嗪(任选地达卡巴嗪、米托唑胺和替莫唑胺)、氮丙啶(任选地噻替派、丝裂霉素和地吡啶(AZQ))、顺铂和其衍生物(任选地卡铂和奥沙利铂)以及非典型烷化剂(任选地丙卡巴肼和六甲密胺);

[0196] 所述抗代谢物选自以下中的一种或多种:抗叶酸剂(任选地甲氨蝶呤和培美曲塞)、氟嘧啶(任选地5-氟尿嘧啶和卡培他滨)、脱氧核苷类似物(任选地安西他滨、依诺他滨、阿糖胞苷、吉西他滨、地西他滨、阿扎胞苷、氟达拉滨、奈拉滨、克拉屈滨、氯法拉滨、氟达拉滨和喷司他丁)以及硫嘌呤(任选地硫鸟嘌呤和巯嘌呤);

[0197] 所述细胞毒性抗生素选自以下中的一种或多种:蒽环类药物(任选地阿霉素、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、吡柔比星、阿柔比星和米托蒽醌)、博莱霉素、丝裂霉素C、米托蒽醌和放线菌素;

[0198] 所述拓扑异构酶抑制剂选自以下中的一种或多种:喜树碱、伊立替康、拓扑替康、依托泊苷、阿霉素、米托蒽醌、替尼泊苷、新生霉素、美巴龙、阿柔比星;和/或

[0199] 所述抗微管剂选自以下中的一种或多种:紫杉烷(任选地紫杉醇和多西他赛)和长春花生物碱(任选地长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨)。

[0200] 在一些患者护理试剂盒中,在一些实施例中,所述至少一种激素治疗剂是激素激动剂或激素拮抗剂。在一些患者护理试剂盒中,在一些实施例中,所述激素激动剂选自以下中的一种或多种:孕激素(孕酮)、皮质类固醇(任选地泼尼松龙、甲基泼尼松龙或地塞米松)、胰岛素样生长因子、VEGF源性血管生成和淋巴管生成因子(任选地VEGF-A、VEGF-A145、VEGF-A165、VEGF-C、VEGF-D、PlGF-2)、成纤维细胞生长因子(FGF)、半乳凝素、肝细胞生长因子(HGF)、血小板源性生长因子(PDGF)、转化生长因子(TGF)- β 、雄激素、雌激素和生长抑素类似物。

[0201] 在一些患者护理试剂盒中,所述激素拮抗剂选自以下中的一种或多种:激素合成抑制剂,任选地芳香酶抑制剂或促性腺激素释放激素(GnRH)或其类似物;以及激素受体拮抗剂,任选地选择性雌激素受体调节剂(SERM)或抗雄激素;或针对激素受体的抗体,任选地西妥木单抗、多妥珠单抗、芬妥木单抗、加尼妥单抗、异妥单抗、罗妥木单抗、培阿赛珠单抗、贝伐单抗、伊鲁库单抗、雷莫芦单抗、夫苏木单抗、美替木单抗、那昔妥单抗、西妥昔单抗、莫福汀德帕妥昔组单抗、伏妥昔单抗、伊马曲单抗、恩星拉妥昔单抗、马妥珠单抗、莫妥昔单抗、奈昔木单抗、尼妥珠单抗、帕尼单抗、托木妥昔单抗、扎芦木单抗、aprutumab ixadotin、贝马里妥珠单抗、奥拉单抗或托维单抗。

[0202] 在一些患者护理试剂盒中,在一些实施例中,所述激酶抑制剂选自以下中的一种或多种:阿达索替尼、阿法替尼、阿柏西普、阿昔替尼、贝伐单抗、博舒替尼、卡博替尼、西妥昔单抗、考比替尼、克唑替尼、达沙替尼、恩曲替尼、厄达替尼、厄洛替尼、福坦替尼、吉非替尼、依鲁替尼、伊马替尼、拉帕替尼、乐伐替尼、木利替尼、尼罗替尼、帕尼单抗、帕唑帕尼、哌

加他尼、帕纳替尼、兰尼单抗、瑞戈非尼、鲁索替尼、索拉非尼、舒尼替尼、SU6656、托法替尼、曲妥珠单抗、凡德他尼和威罗菲尼。

[0203] 还包含生物测定系统,所述生物测定系统包括任选地如本文所定义的基本上纯的抗NRP2抗体或其抗原结合片段以及在细胞表面上表达人NRP2多肽的宿主细胞系。

[0204] 在一些实施例中,所述NRP2多肽用可检测标记进行标记。在一些实施例中,所述抗NRP2抗体用可检测标记进行标记。在一些实施例中,所述NRP2多肽与读出物或指示剂,如所述NRP2多肽的生物活性的荧光或发光指示剂功能性地偶联。在一些实施例中,所述NRP2多肽选自表N1。一些生物测定系统包括至少一种NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体和/或来自表H1的人组氨酰-tRNA合成酶(HRS)多肽),例如其中所述宿主细胞表达所述至少一种NRP2配体。在一些实施例中,所述HRS多肽选自表H1,例如其中所述HRS多肽包括任选地选自HisRS^{N1}、HisRS^{N2}、HisRS^{N3}、HisRS^{N4}、HisRS^{N5}、HisRS^{C1}、HisRS^{C2}、HisRS^{C3}、HisRS^{C4}、HisRS^{C5}、HisRS^{C6}、HisRS^{C7}、HisRS^{C8}和HisRS^{C9}的HRS剪接变体。在一些实施例中,所述至少一种NRP2配体选自表N2或表N3。

[0205] 一些实施例包含一种检测系统,所述检测系统包括表达人神经纤毛蛋白2(NRP2)多肽的细胞和至少一种NRP2配体(例如,选自表N2或表N3的重组NRP2配体和/或选自表H1的人组氨酰-tRNA合成酶(HRS)多肽)以及如本文所描述的调节所述NRP2多肽与所述至少一种NRP2配体之间的相互作用的人或人源化抗NRP2抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,所述抗NRP2抗体用可检测标记进行标记。在一些实施例中,所述NRP2多肽选自表N1。在一些实施例中,所述HRS多肽选自表H1,例如其中所述HRS多肽包括任选地选自HisRS^{N1}、HisRS^{N2}、HisRS^{N3}、HisRS^{N4}、HisRS^{N5}、HisRS^{C1}、HisRS^{C2}、HisRS^{C3}、HisRS^{C4}、HisRS^{C5}、HisRS^{C6}、HisRS^{C7}、HisRS^{C8}和HisRS^{C9}的HRS剪接变体。在一些实施例中,所述至少一种NRP2配体选自表N2或表N3。在一些实施例中,所述NRP2多肽和/或所述至少一种NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体和/或来自表H1的HRS多肽)与读出物或指示剂,如所述NRP2多肽或所述至少一种NRP2配体的生物活性的荧光或发光指示剂功能性地偶联。

[0206] 还包含诊断系统,所述诊断系统包括包含神经纤毛蛋白2(NRP2)多肽的细胞和与所述NRP2多肽特异性结合的至少一种NRP2配体(例如,选自表N2或表N3的NRP2配体和/或选自表H1的人组氨酰-tRNA合成酶(HRS)多肽),其中所述细胞包括指示所述NRP2多肽的水平或活性响应于与所述至少一种NRP2配体的相互作用而发生的变化的指示分子。

[0207] 还包含细胞组合物,所述细胞组合物包括经过工程化的细胞群,所述经过工程化的细胞群中的至少一个细胞包括对如本文所描述的人或人源化抗NRP2抗体或其抗原结合片段进行编码的一种或多种多核苷酸,其中所述细胞能够在无血清培养基中生长。

[0208] 还包含细胞生长装置,所述细胞生长装置包括如本文所描述的人或人源化抗NRP2抗体或其抗原结合片段、其中至少一个细胞包括对所述抗NRP2抗体或其抗原结合片段进行编码的一种或多种多核苷酸的经过工程化的细胞群、至少约10升无血清生长培养基以及无菌容器。

附图说明

[0209] 图1A-1B展示了神经纤毛蛋白的一般结构域结构(1A)和示例性神经纤毛蛋白共受体功能(1B)。

[0210] 图2展示了某些NRP2亚型的结构域结构和示例性NRP2配体结合结构域。

[0211] 图3示出了用针对人NRP2的可商购获得的抗体(BAF2215,加利福尼亚州博士德公司(Boster))每泳道使用总计6 μ g细胞裂解物进行印迹处理的所指示细胞系的蛋白质印迹。在外部泳道中示出了分子量标记。

[0212] 图4A-4D示出了所指示细胞系上使用c结构域特异性抗NRP2抗体3F2(aNRP2-2)实现的流式细胞术细胞表面结合图,所述结合使用AF647缀合的山羊抗小鼠IgG二级抗体(GaM AF647)检测。以浅灰色(每个附图中的左侧曲线)示出了仅二级抗体的结合。图4A示出了抗体与U251细胞的结合,图4B示出了抗体与HUVEC细胞的结合,图4C示出了抗体与THP-1M1细胞的结合,并且图4D示出了抗体与HLEC细胞的结合。

[0213] 图5A-5D示出了使用指定的抗NRP2抗体实现的与各种细胞系的流式细胞术表面结合图。抗体结合使用AF647缀合的山羊抗小鼠IgG二级抗体(GaM AF647)检测。图5A示出了在0.06nM-1000nM范围内的抗体浓度下抗体与HUVEC细胞的结合。图5B示出了在0.01nM-1000nM范围内的抗体浓度下与U251细胞的结合。图5C示出了在0.01nM-1000nM范围内的抗体浓度下与A549细胞的结合。图5D示出了在0.01nM-1000nM范围内的抗体浓度下与THP-1M1细胞的结合。将抗体14v2(aNRP2-14)、10v2(aNRP2-10)、11v2(aNRP2-11)、2v2(aNRP2-2)和同型对照物(cMOPC21)以实例中所描述的所指示浓度与细胞一起温育。

[0214] 图6A-6B示出了抗NRP2抗体与过表达人NRP2的Expi293-hNRP2克隆细胞的结合曲线。图6A示出了0.05-30nM范围内的抗体浓度,并且图6B示出了在0.02-10nM范围内测试的抗体浓度下的结果,两者的抗体稀释度均为3倍。抗体结合使用AF647缀合的山羊抗小鼠IgG二级抗体(GaM AF647)检测。将抗体8v2(aNRP2-8)#1328、9v2(aNRP2-9)#1329、10v2(aNRP2-10)#1330、14v2、11v2(aNRP2-11)#1331、14v2(aNRP2-14)#1344、15v2(aNRP2-15)#1347和同型对照物(cMOPC21)以实例中所描述的所指示浓度与细胞一起温育。

[0215] 图7A-7B示出了VEGF-C与过表达人NRP2的Expi293-hNRP2克隆细胞的结合。图7A示出了使用VEGF-C(R&D系统公司(R&D systems))、使用兔检测抗体(艾博抗公司(Abcam))和山羊抗体AF647标记的二级抗体实现的FACS结合曲线。图7B示出了流式细胞术散点图。从左到右,图7B中的曲线示出了(a-R AF647);(Rb Iso_Ctl1+a-R AF647);(a-VEGFc+a-R AF647);和(VEGFc 100nM+a-VEGFc+a-R AF647)。

[0216] 图8A-8M示出了所指示抗体对VEGF-C与过表达人NRP2的Expi293-hNRP2克隆细胞的结合的抗NRP2抗体封闭置换曲线。图8A示出了使用同型对照抗体得到的结果,图8B示出了使用抗体8v2(aNRP2-8)#1328得到的结果,图8C示出了使用抗体9v2(aNRP2-9)#1329得到的结果,图8D示出了使用抗体11v2(aNRP2-11)#1331得到的结果,图8E示出了使用抗体14v2(aNRP2-14)#1344得到的结果,图8F示出了使用抗体2v1(aNRP2-1)#1326得到的结果,图8G示出了使用抗体2v2(aNRP2-2)#1327得到的结果,图8H示出了使用抗体2v10(aNRP2-10)#1330得到的结果,图8I示出了使用抗体#1333得到的结果,图8J示出了使用抗体#1334得到的结果,图8K示出了使用抗体2v7(aNRP2-7)#1335得到的结果,图8L示出了使用抗体2v12(aNRP2-12)#1336得到的结果,并且图8M示出了使用抗体#1337得到的结果。

[0217] 图9示出了Sema3F-p95和Sema 3F-p65(0.05-100nM)与过表达人NRP2的Expi293-hNRP2克隆细胞的结合。图9示出了使用Sema 3F-p95或p65(内部)、使用如实例中所描述的抗myc检测抗体实现的FACS结合曲线。

[0218] 图10A-10H示出了所指示抗体对Sema 3F-p95与过表达人NRP2的Expi293-hNRP2克隆细胞结合的抗NRP2抗体封闭置换曲线。图10A示出了使用同种对照抗体得到的结果,图10B示出了使用抗体14v2 (aNRP2-14) #1344得到的结果,图10C示出了使用抗体8v2 (aNRP2-8) #1328得到的结果,图10D示出了使用抗体9v2 (aNRP2-9) #1329得到的结果,图10E示出了使用抗体2v10 (aNRP2-10) #1330得到的结果,图10F示出了使用抗体15v2 (aNRP2-15) #1347得到的结果,图10G示出了使用抗体11v2 (aNRP2-11) #1331得到的结果,并且图10H示出了使用抗体2v2 (aNRP2-2) #1327得到的结果。

[0219] 图11A-11F示出了所指示抗体对Sema 3F-p95与过表达人NRP2的Expi293-hNRP2克隆细胞结合的抗NRP2抗体封闭置换曲线。图11A示出了使用抗体14v2 (aNRP2-14) #1344得到的结果,图11B示出了使用抗体8v2 (aNRP2-8) #1328得到的结果,图11C示出了使用抗体9v2 (aNRP2-9) #1329得到的结果,图11D示出了使用抗体2v10 (aNRP2-10) #1330得到的结果,图11E示出了使用抗体15v2 (aNRP2-15) #1347得到的结果,并且图11F示出了使用抗体11v2 (aNRP2-11) #1331得到的结果。

[0220] 图12示出了使用所公开抗体实现的抗NRP2抗体结合对如实例中所描述的NRP2-神经丛蛋白A1诱导的受体异源二聚化的影响。

[0221] 图13示出了使用所公开抗体实现的抗NRP2抗体结合对如实例中所描述的NRP2-FLT4 (VEGFR3) 诱导的受体异源二聚化的影响。

[0222] 图14示出了人NRP2的晶体结构,其示出了a2结构域和b1/b2结构域与aNRP2-14Fab的可变重链(V_H)和可变轻链(V_L)复合。

[0223] 图15示出了显示出a2结构域和b1结构域的人NRP2与aNRP2-14 Fab的重链(V_H)和轻链(V_L)之间的相互作用表面以及相互作用性氨基酸。

[0224] 图16示出了人NRP2 a2结构域(下方)与aNRP2-14 Fab的重链(左上方)和轻链(右上方)之间的相互作用界面的视图。圈出了人NRP2的相互作用性残基E237和Fab重链的S57。

具体实施方式

[0225] 除非另外定义,否则本文所使用的所有技术术语和科学术语的含义均与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同。尽管可以在实践或测试本公开的主题时使用与本文所述的任何方法、材料、组合物、试剂、细胞类似或等同类似或等同的方法、材料、组合物、试剂、细胞,但描述了优选的方法和材料。本说明书中引用的所有出版物和参考文献,包括但不限于专利和专利申请,均通过引用整体并入本文,如同明确且单独地指示每个单独的出版物或参考文献都如完全阐述一样通过引用并入本文。本申请要求优先权的任何专利申请也以上文针对出版物和参考文献所描述的方式通过引用整体并入本文。

[0226] 可以将标准技术用于重组DNA、寡核苷酸合成以及组织培养和转化(例如,电穿孔、脂质体转染)。可以根据制造商的说明书或者如本领域通常实现那样或如本文所描述那样执行酶促反应和纯化技术。这些技术和程序以及相关技术和程序通常可以根据本领域熟知的常规方法并且如在整个本说明书中引用和讨论的各种一般的和更具体的参考文献中所描述那样执行。除非提供具体的定义,否则与本文所描述的分子生物学、分析化学、合成有机化学以及药用和药物化学结合使用的命名以及所述分子生物学、分析化学、合成有机化学以及药用和药物化学的实验室程序和技术是本领域中熟知和常用的命名和实验室程序

和技术。可以将标准技术用于重组技术、分子生物合成、微生物合成、化学合成、化学分析、药物制备、调配和递送以及患者治疗。

[0227] 出于本公开的目的,以下术语定义如下。

[0228] 本文使用冠词“一个/一种(a/an)”来指代所述冠词的一个或多个(即,至少一个)语法宾语。举例来说,“元件”包含“一个元件”、“一个或多个元件”和/或“至少一个元件”。

[0229] “约”意味着某一数量、水平、值、数量、频率、百分比、尺寸、大小、量、重量或长度相对于参考数量、水平、值、数量、频率、百分比、尺寸、大小、量、重量或长度变化多达30%、25%、20%、15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%。

[0230] 术语“抗原”是指能够由如抗体等选择性结合剂结合并且另外能够在动物中使用以产生能够与所述抗原的表位结合的抗体的分子或分子的一部分。抗原可以具有一个或多个表位。如本文所使用的,术语“抗原”包含能够在适当条件下诱导对物质的免疫应答并且能够与免疫应答的产物发生反应的物质。例如,抗原可以被抗体(体液免疫应答)或致敏T淋巴细胞(辅助型T细胞或细胞介导的免疫应答)或两者识别。抗原可以是可溶性物质(如毒素和外源蛋白)或微粒(如细菌和组织细胞);然而,只有蛋白质或多糖分子的被称为抗原决定簇(表位)的部分与抗体或淋巴细胞上的特定受体组合。更广泛地说,术语“抗原”包含抗体与其结合或需要抗体的任何物质,而无论所述物质是否具有免疫原性。对于此类抗原,可以通过重组方法鉴定抗体,这与任何免疫应答无关。

[0231] “拮抗剂”是指干扰或以其它方式降低另一种药剂或分子的生理作用的生物结构或化学药剂。在一些情况下,拮抗剂与另一种药剂或分子特异性结合。包含完全拮抗剂和部分拮抗剂。

[0232] “激动剂”是指增加或增强另一种药剂或分子的生理作用的生物结构或化学药剂。在一些情况下,激动剂与另一种药剂或分子特异性结合。包含完全激动剂和部分激动剂。

[0233] 术语“无反应性”是指T细胞或B细胞对抗原进行的再刺激的应答的功能性失活。

[0234] 如本文所使用的,术语“氨基酸”旨在意指天然存在的和非天然存在的氨基酸以及氨基酸类似物和模拟物。例如,天然存在的氨基酸包含在蛋白质生物合成期间使用的20种(L)-氨基酸以及其它氨基酸,例如4-羟脯氨酸、羟赖氨酸、锁链素、异锁链素、同型半胱氨酸、瓜氨酸和鸟氨酸。非天然存在的氨基酸包含例如本领域技术人员已知的(D)-氨基酸、正亮氨酸、正缬氨酸、对氟苯丙氨酸、乙硫氨酸等。氨基酸类似物包含天然和非天然存在的氨基酸的经修饰形式。此类修饰可以包含例如氨基酸上的化学基团和部分的取代或替代,或氨基酸的衍生化。氨基酸模拟物包含例如表现出参考氨基酸的如电荷和电荷间隔特性等功能上类似的性质的有机结构。例如,模拟精氨酸(Arg或R)的有机结构将具有定位于类似分子空间中并且迁移度与天然存在的Arg氨基酸的侧链的 ϵ -氨基的迁移度相同的正电荷部分。模拟物还包含受约束的结构,以便维持氨基酸或氨基酸官能团的最佳间隔和电荷相互作用。本领域的技术人员已知或可以确定哪些结构构成功能上等同的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。

[0235] 如本文所使用的,术语“抗体”不仅涵盖完整的多克隆或单克隆抗体,还涵盖其片段(如dAb、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv)、单链(ScFv)、其合成变体、天然存在的变体、包括具有拥有所需特异性的抗原结合片段的抗体部分的融合蛋白、人源化抗体、嵌合抗体以及免疫球

蛋白分子的包括具有所需特异性的抗原结合位点或片段(表位识别位点)的任何其它经修饰构型。本文更加详细地描述了抗体(和其抗原结合片段)的某些特征和特性。

[0236] 抗体或抗原结合片段可以属于基本上任何类型。如本领域中所熟知的,抗体是能够通过定位于免疫球蛋白分子的可变区中的至少一个表位识别位点与如免疫检查点分子等靶标特异性结合的免疫球蛋白分子。

[0237] 如本文所使用的术语“抗原结合片段”是指含有免疫球蛋白重链和/或轻链的与所关注的抗原结合的至少一个CDR的多肽片段。在此方面,本文所述抗体的抗原结合片段可以包括来自与靶分子结合的抗体的 V_H 和 V_L 序列的1个、2个、3个、4个、5个或所有6个CDR。

[0238] 可以使用本领域熟知的方法对抗体和其抗原结合片段的结合性质进行定量(参见Davies等人,《生物化学年度评论(Annual Rev.Biochem.)》59:439-473,1990)。在一些实施例中,抗体或其抗原结合片段以约或范围为约 $\leq 10^{-7}M$ 到约 $10^{-8}M$ 的平衡解离常数与靶分子(例如,NRP2多肽或其表位或复合物)特异性结合。在一些实施例中,平衡解离常数为约或范围为约 $\leq 10^{-9}M$ 到约 $\leq 10^{-10}M$ 。在某些说明性实施例中,抗体或其抗原结合片段对靶分子(与其特异性结合的靶标)的亲和力(K_d 或 EC_{50})为约、至少约或小于约0.01nM、0.05nM、0.1nM、0.2nM、0.3nM、0.4nM、0.5nM、0.6nM、0.7nM、0.8nM、0.9nM、1nM、2nM、3nM、4nM、5nM、6nM、7nM、8nM、9nM、10nM、11nM、12nM、13nM、14nM、15nM、16nM、17nM、18nM、19nM、20nM、21nM、22nM、23nM、24nM、25nM、26nM、27nM、28nM、29nM、30nM、40nM或50nM。

[0239] 如果相比如多肽或抗体等分子与特定细胞、物质或特定表位与替代性细胞或物质或表位反应或缔合,所述分子更频繁地、更快速地、以更长的持续时间和/或以更高的亲和力与替代性细胞或物质或表位反应或缔合,则所述分子被称为表现“特异性结合”或“优先结合”。如果相比抗体与其它物质或表位结合,所述抗体以更高的亲和力、更高的亲合力、更容易和/或以更长的持续时间进行结合,例如,所述更优性达到统计学显著的量,则所述抗体与靶分子或表位“特异性结合”或“优先结合”。通常,表现出特异性结合的一个成员具有位于其表面上的区或具有腔,所述区域或腔与分子对的另一成员的特定空间和/或极性组织特异性结合并因此与其互补。因此,分子对的成员具有彼此特异性结合的性质。例如,与特定表位特异性或优先结合的抗体是这样的抗体:相比于所述抗体与其它表位结合,所述抗体以更高的亲和力、以更高的亲合力、更容易地和/或以更长的持续时间与特定表位结合。通过阅读此定义还应理解,例如,与第一靶标特异性或优先结合的抗体(或部分或表位)可以或可以不与第二靶标特异性或优先结合。所述术语还适用于例如抗体对由多种抗原携带的特定表位具有特异性的情况,在这种情况下,携带抗原结合片段或结构域的特定结合成员将能够与携带表位的各种抗原结合;例如,其可以对来自共享共同表位的多种物种的靶抗原的多种不同形式具有交叉反应性。

[0240] 免疫结合通常是指在免疫球蛋白分子与免疫球蛋白对其具有特异性的抗原之间例如举例来说但不限于由于静电、离子、亲水和/或疏水吸引或排斥、位阻力、氢键结合、范德华力和其它相互作用而发生的类型的非共价相互作用。可以用免疫结合相互作用的解离常数(K_d)来表示相互作用的强度或亲和力,其中 K_d 越小,亲和力越大。可以使用本领域中熟知的方法对所选多肽的免疫结合性质进行定量。一种此类方法需要测量抗原结合位点/抗原复合物形成和解离的速率,其中那些速率取决于复合物配偶体的浓度、相互作用的亲和力并且取决于在两个方向上同等地影响速率的几何参数。因此,可以通过计算缔合和解离

的浓度和实际速率来测定“缔合速率常数”(Kon)和“解离速率常数”(Koff)。Koff/Kon的比率可以实现与亲和力无关的所有参数的消除,并且因此等于解离常数Kd。如本文所使用的,术语“亲和力”包含两种药剂的可逆结合的平衡常数,并且表示为Kd或EC₅₀。结合蛋白质对配体的亲和力,如抗体对表位的亲和力可以为例如约100纳摩尔(nM)到约0.1nM、约100nM到约1皮摩尔(pM)或约100nM到约1飞摩尔(fM)。或如本文所使用的,术语“亲合力”是指两种或更多种药剂的复合物在稀释之后对解离的抗性。在一些实施例中,亲和力以半最大效应浓度(EC₅₀)来表示,所述半最大效应浓度是指如本文所公开的药剂(如抗体或抗NRP2抗体)的在特定暴露时间后诱导基线与最大值之间的应答的浓度。EC₅₀通常用作抗体的效力的度量。

[0241] 可以通过本领域的普通技术人员已知的各种技术中的任何技术来制备抗体。参见例如Harlow和Lane,《抗体:实验室手册(Antibodies: A Laboratory Manual)》,冷泉港实验室(Cold Spring Harbor Laboratory),1988。可以例如使用Kohler和Milstein,《欧洲免疫学杂志(Eur. J. Immunol.)》6:511-519,1976的技术以及对其的改进来制备所关注的多肽具有特异性的单克隆抗体。还包含利用如小鼠等转基因动物表达人抗体的方法。参见例如Neuberger等人,《自然-生物技术(Nature Biotechnology)》,14:826,1996;Lonberg等人,《实验药理学手册(Handbook of Experimental Pharmacology)》113:49-101,1994;以及Lonberg等人,《国际免疫学评论(Internal Review of Immunology)》13:65-93,1995。特定实例包含REGENEREX®的VELOCIMMUNE®平台(参见例如美国专利第6,596,541号)。

[0242] 还可以通过使用噬菌体展示文库或酵母展示文库产生或鉴定抗体(参见例如美国专利第7,244,592号;Chao等人,《自然-实验室指南(Nature Protocols)》1:755-768,2006)。可用文库的非限制性实例包含克隆或合成文库,如人组合抗体库(HuCAL),在所述文库中,人抗体组库的结构多样性由七个重链可变区基因和七个轻链可变区基因表示。这些基因的组合产生主文库中的49个框架。通过在这些框架上叠加高度可变基因盒(CDR=互补决定区),可以复制庞大的人抗体组库。还包含设计有编码轻链可变区的人类供体来源的片段、重链CDR-3、编码重链CDR-1中的多样性的合成DNA以及编码重链CDR-2中的多样性的合成DNA的人文库。适用的其它文库对本领域的技术人员而言将是明显的。

[0243] 在某些实施例中,如本文所描述的抗体和其抗原结合片段包含分别插入重链框架区(FR)组与轻链FR组之间的重链和轻链CDR组,所述重链和轻链FR组向CDR提供支撑并且限定CDR相对于彼此的空间关系。如本文所使用的,术语“CDR组”是指重链或轻链V区的三个高变区。从重链或轻链的N端开始,这些区分别表示为“CDR1”、“CDR2”和“CDR3”。因此,抗原结合位点包含六个CDR,其包括来自重链和轻链V区中的每一个的CDR组。包括单个CDR(例如,CDR1、CDR2或CDR3)的多肽在本文中被称为“分子识别单元”。对多种抗原-抗体复合物的晶体学分析已经表明,CDR的氨基酸残基形成与所结合抗原的广泛接触,其中最广泛的抗原接触是与重链CDR3的抗原接触。因此,分子识别单元主要负责抗原结合位点的特异性。

[0244] 如本文所使用的,术语“FR组”是指框住重链或轻链V区的CDR组中的CDR的四个侧翼氨基酸序列。一些FR残基可以与所结合抗原接触;然而,FR主要负责将V区折叠成抗原结合位点,特别是直接邻近CDR的FR残基。在FR内,某些氨基酸残基和某些结构特征是非常高度保守的。在这方面,所有V区序列均含有由约90个氨基酸残基构成的内部二硫环。当V区折叠成结合位点时,CDR被展示为形成抗原结合表面的突出的环基序。通常认为存在FR的保守结构区,所述保守结构区影响CDR环折叠成某些“典型”结构的折叠形状——无论精确的CDR

氨基酸序列如何。进一步地,已知某些FR残基参与使抗体重链和轻链的相互作用稳定的非共价结构域间接触。

[0245] 可以通过参考以下来测定免疫球蛋白可变结构域的结构和位置:Kabat,E.A.等人,《免疫学关注的蛋白质的序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)》第4版美国卫生与公众服务部(US Department of Health and Human Services)1987以及其更新。

[0246] 还包含“单克隆”抗体,其是指均质抗体群,其中单克隆抗体包含参与表位的选择性结合的氨基酸(天然存在的和非天然存在的)。单克隆抗体是高度特异性的,针对单个表位。术语“单克隆抗体”不仅涵盖完整单克隆抗体和全长单克隆抗体,还涵盖其片段(如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv)、单链(ScFv)、其变体、包括抗原结合部分的融合蛋白、人源化单克隆抗体、嵌合单克隆抗体以及免疫球蛋白分子的包括具有所需特异性的抗原结合片段(表位识别位点)并且能够与表位结合的任何其它经修饰构型。不旨在限制抗体的来源或其形成方式(例如,通过杂交瘤、噬菌体选择、重组表达、转基因动物)。所述术语包含全部免疫球蛋白以及上文在“抗体”定义下描述的片段等。

[0247] 蛋白水解酶——木瓜蛋白酶优先切割IgG分子以产生若干片段,所述片段(F(ab)片段)中的两个片段各自包括包含完整抗原结合位点的共价异源二聚体。酶——胃蛋白酶能够切割IgG分子以提供若干片段,包含包括两个抗原结合位点的F(ab')₂片段。根据某些实施例的供使用的Fv片段可以通过IgM的优先蛋白水解切割来产生,并且在极少情况下可以通过IgG或IgA免疫球蛋白分子的优先蛋白水解切割来产生。然而,更常见的是,使用本领域中已知的重组技术来得到Fv片段。Fv片段包含非共价VH::VL异源二聚体,所述非共价VH::VL异源二聚体包含保留天然抗体分子的许多抗原识别和结合能力的抗原结合位点。参见Inbar等人,《美国国家科学院院刊(PNAS USA)》69:2659-2662,1972;Hochman等人,《生物化学(Biochem.)》15:2706-2710,1976;以及Ehrlich等人,《生物化学》19:4091-4096,1980。

[0248] 在某些实施例中,设想了单链Fv(scFv)抗体。例如,κ体(Ill等人,《蛋白质工程(Prot.Eng.)》10:949-57,1997);微型抗体(Martin等人,《欧洲分子生物学组织杂志(EMBO J)》13:5305-9,1994);双功能抗体(Holliger等人,《美国国家科学院院刊》90:6444-8,1993);或Janusins(Traunecker等人,《欧洲分子生物学组织杂志》10:3655-59,1991;以及Traunecker等人,《国际癌症杂志增刊(Int.J.Cancer Suppl.)》7:51-52,1992)可以使用标准分子生物学技术根据本申请中关于选择具有期望特异性的抗体的教导来制备。

[0249] 单链Fv(scFv)多肽是共价连接的VH::VL异二聚体,所述共价连接的VH::VL异二聚体从包含由肽编码性连接子连接的VH和VL编码性基因的基因融合物表达。Huston等人,《美国国家科学院院刊》85(16):5879-5883,1988)。已经描述了用于辨别用于将来自抗体V区的天然聚集但是化学分离的轻多肽链和重多肽链转换成scFv分子的化学结构的多种方法,所述scFv分子将折叠成与抗原结合位点的结构基本上类似的三维结构。参见例如授权给Huston等人的美国专利第5,091,513号和第5,132,405号;以及授权给Ladner等人的美国专利第4,946,778号。

[0250] 在某些实施例中,本文所描述的抗体或抗原结合片段采用“双功能抗体”的形式。双功能抗体是由多肽形成的多聚体,每个多肽包括第一结构域和第二结构域,所述第一结构域包括免疫球蛋白轻链的结合结构域,所述第二结构域包括免疫球蛋白重链的结合结构

域,所述两个结构域(例如,通过肽接头)连接但是不能彼此缔合以形成抗原结合位点:抗原结合位点是通过多聚体内的一个多肽的第一结构域与多聚体内的另一个多肽的第二结构域缔合来形成的(W094/13804)。抗体的dAb片段由VH结构域组成(Ward等人,《自然(Nature)》341:544-546,1989)。双功能抗体和其它多价或多特异性片段可以例如通过基因融合来构建(参见W094/13804;以及Holliger等人,《美国国家科学院院刊》90:6444-6448,1993)。

[0251] 还包含包括与CH3结构域连接的scFv的微型抗体(参见Hu等人,《癌症研究(Cancer Res.)》,56:3055-3061,1996)。还参见Ward等人,《自然》341:544-546,1989;Bird等人,《科学(Science)》242:423-426,1988;Huston等人,《美国国家科学院院刊》85:5879-5883,1988);PCT/US92/09965;W0 94/13804;以及Reiter等人,《自然-生物技术(Nature Biotech.)》14:1239-1245,1996。

[0252] 当要使用双特异性抗体时,所述抗体抗体可以是各种方式(Holliger和Winter,《生物技术新见(Current Opinion Biotechnol.)》4:446-449,1993)制造,例如以化学方法制备或由杂交瘤制备的常规双特异性抗体,或者可以是上文提到的双特异性抗体片段中的任何双特异性抗体片段。可以仅使用可变结构域来构建没有Fc区的双功能抗体和scFv,从而潜在地减少抗独特型反应的影响。

[0253] 与双特异性完整抗体相反,双特异性双功能抗体还可能特别有用,因为其可以容易地构建并且在大肠杆菌中表达。可以使用噬菌体展示(W094/13804)从文库中容易地选择具有合适结合特异性的双功能抗体(和许多其它多肽,如抗体片段)。如果要使双功能抗体的一个臂保持恒定,例如,对抗原X具有特异性,则可以产生另一个臂得以改变的文库并且选择具有合适特异性的抗体。双特异性完整抗体可以通过杵臼(knobs-into-holes)工程来产生(Ridgeway等人,《蛋白质工程》,9:616-621,1996)。

[0254] 在某些实施例中,本文所描述的抗体或抗原结合片段采用UniBody®的形式。UniBody®是去除了铰链区的IgG4抗体(参见荷兰乌德勒支GenMab(GenMab Utrecht, The Netherlands);还参见例如US20090226421)。这种抗体技术产生治疗窗预期比当前的小抗体形式的治疗窗长的稳定的较小抗体形式。IgG4抗体被认为是惰性的,并且因此不与免疫系统相互作用。完全人IgG4抗体可以通过消除抗体的铰链区进行修饰以获得相对于相应的完整IgG4具有不同稳定性性质的半分子片段(乌德勒支GenMab)。将IgG4分子二等分使得在UniBody®上仅留下可以与同源抗原(例如,疾病靶标)结合的区域,并且因此,UniBody®仅与靶细胞上的一个位点单价结合。对于某些癌细胞表面抗原,这种单价结合可能不刺激癌细胞像可以使用具有相同抗原特异性的二价抗体看到的那样生长,并且因此,UniBody®技术可以向对使用常规抗体进行治疗表现出难治性的某些类型的癌症提供治疗选项。当治疗某些形式的癌症时,UniBody®的小尺寸可以带来很大的益处,从而使分子在较大实体瘤上更好地分布并且潜在地提高功效。

[0255] 在某些实施例中,本文所描述的抗体或抗原结合片段采用纳米抗体的形式。微型抗体由单一基因编码并且在几乎所有原核和真核宿主中高效地产生,所述宿主例如大肠杆菌(参见美国专利第6,765,087号)、霉菌(例如曲霉属(Aspergillus)或木霉属(Trichoderma))和酵母(例如酵母属(Saccharomyces)、克鲁维酵母属(Kluyvermyces)、汉逊酵母属(Hansenula)或毕赤酵母属(Pichia)(参见美国专利第6,838,254号)。产生过程是

可扩展的,并且已经产生了数千克纳米抗体。可以将纳米抗体调配为保质期较长的即用型溶液。纳米克隆方法(Nanoclone method)(参见W0 06/079372)是一种用于基于B细胞的自动化高吞吐量选择来产生针对期望靶标的纳米抗体的专有方法。

[0256] 在一些实施例中,本文所描述的抗体或抗原结合片段采用适体的形式(参见例如Ellington等人,《自然》346,818-22,1990;以及Tuerk等人,《科学》249:505-10,1990,所述文献通过引用并入)。适体的实例包含核酸适体(例如,DNA适体、RNA适体)和肽适体。核酸适体通常是指已经通过重复轮次的体外选择或等效方法(如SELEX(配体指数增强系统进化技术))工程化以与如小分子、蛋白质、核酸,甚至细胞、组织和生物体等各种分子靶标结合的核酸物种。参见例如美国专利第6,376,190号;和第6,387,620号,所述文献通过引用并入。

[0257] 肽适体通常包含在两端与蛋白质支架连接的可变肽环,所述蛋白质支架是通常将肽适体的结合亲和力增加到与抗体的结合亲和力相当的水平(例如,在纳摩尔范围内)的双重结构约束。在某些实施例中,可变环长度可以由约10-20个氨基酸(包含其间的所有整数)构成,并且支架可以包含具有良好溶解性和相容性的任何蛋白质。某些示例性实施例将细菌蛋白——硫氧还蛋白-A(Thioredoxin-A)用作支架蛋白,可变环插入在还原活性位点内(野生型蛋白质中的-Cys-Gly-Pro-Cys-环),其中两个半胱氨酸侧链能够形成二硫桥。例如在美国申请第2003/0108532号中描述了用于鉴定肽适体的方法,所述美国申请通过引用并入。可以使用本领域中已知的不同系统(包含酵母双杂交系统)来执行肽适体选择。

[0258] 在一些实施例中,本文所描述的抗体或抗原结合片段采用亲和性多聚体的形式。亲和性多聚体是指使用体外外显子改组和噬菌体展示进行工程化的多聚体结合蛋白或肽。多个结合结构域相连,从而相比单表位免疫球蛋白结构域产生更大的亲和力和特异性。参见例如Silverman等人,《自然-生物技术》。23:1556-1561,2005;美国专利第7,166,697号;以及美国申请第2004/0175756号、第2005/0048512号、第2005/0053973号、第2005/0089932号和第2005/0221384号,所述文献通过引用并入。

[0259] 在一些实施例中,本文所描述的抗体或抗原结合片段采用adnectin的形式。adnectin是指一类源自人纤连蛋白的靶向生物制剂,所述人纤连蛋白是一种与其它蛋白质天然结合的丰富的细胞外蛋白。参见例如美国申请第2007/0082365号;第2008/0139791号;和第2008/0220049号,所述美国申请通过引用并入。adnectin通常由天然纤连蛋白骨架以及人纤连蛋白的特定部分的多个靶向结构域组成。可以将靶向结构域工程化以使adnectin能够特异性识别NRP2多肽或其表位。

[0260] 在一些实施例中,本文所描述的抗体或抗原结合片段采用anticalin的形式。anticalin是指一类通常由人脂质运载蛋白合成的抗体模拟物,所述人脂质运载蛋白是一种具有由结构刚性框架支撑的高变环区的结合蛋白家族。参见例如美国申请第2006/0058510号。anticalin的大小通常为约20kDa。anticalin可以以由八个反平行 β 链(稳定的 β 桶支架)形成的桶结构为特征,所述八个反平行 β 链由四个肽环和一个所连接 α 螺旋成对连接。在某些方面,在一个或多个高变环区中产生实现特异性结合的构象偏差。参见例如Skerra,《欧洲生物化学联合会杂志(FEBS J.)》275:2677-83,2008,其通过引用并入。

[0261] 在一些实施例中,本文所描述的抗体或抗原结合片段采用预设计锚蛋白重复蛋白(DARPin)的形式。DARPin包含一类可以在药物发现和药物开发中相比用于靶结合的抗体提供优势的非免疫球蛋白蛋白质。在其它用途中,DARPin非常适合于毒素或其它治疗性有效

载荷的体内成像或递送,因为其具有良好的分子特性,包含小尺寸和高稳定性。低成本的细菌产生和许多靶特异性DARPin的快速产生使得DARPin方法对药物发现有用。另外,DARPin可以很容易地以多特异性形式产生,从而有可能将效应子DARPin靶向特定器官,或者用由若干DARPin构成的一个分子靶向多个受体。参见例如Stumpp等人,《药物发现与开发新见(Curr Opin Drug Discov Devel.)》10:153-159,2007;美国申请第2009/0082274号;和PCT/EP2001/10454,所述文献通过引用并入。

[0262] 还包含重链二聚体,如来自骆驼科动物和鲨鱼的抗体。骆驼科动物和鲨鱼抗体包括由V样和C样结构域的两条链(两者都没有轻链)构成的同源二聚体对。由于骆驼科动物体内的重链二聚体IgG的VH区不必与轻链进行疏水相互作用,所以在骆驼科动物中,重链中通常与轻链接触的区域变成亲水性氨基酸残基。重链二聚体IgG的VH结构域被称为VHH结构域。鲨鱼Ig-NAR包括由一个可变结构域(被称为V-NAR结构域)和五个C样恒定结构域(C-NAR结构域)构成的同源二聚体。

[0263] 在骆驼科动物中,抗体组库的多样性由VH或VHH区中的互补决定区(CDR)1、2和3决定。骆驼VHH区中的CDR3以其相对较长的平均为16个氨基酸的长度为特征(Muyldermans等人,1994,《蛋白质工程》7(9):1129)。这与许多其它物种的抗体的CDR3区形成对比。例如,小鼠VH的CDR3的平均长度为9个氨基酸。可以通过例如在于2005年2月17日公开的美国专利申请序列号20050037421中公开的方法来产生维持骆驼科动物的可变区的体内多样性的由骆驼科动物源性抗体可变区构成的文库。

[0264] 在某些实施例中,抗体或其抗原结合片段是人源化的。这些实施例涉及通常使用重组技术制备的嵌合分子,所述嵌合分子具有源自非人物种的免疫球蛋白的抗原结合位点,并且分子的剩余免疫球蛋白结构基于人免疫球蛋白的结构和/或序列。抗原结合位点可以包括融合到恒定结构域上的完整可变结构域或者仅移植到可变结构域中的适当框架区上的CDR。表位结合位点可以是野生型的或可以由一个或多个氨基酸取代修饰。这消除了作为人类个体中的免疫原的恒定区,但是仍然存在对外源可变区产生的免疫应答的可能性(LoBuglio等人,《美国国家科学院院刊》86:4220-4224,1989;Queen等人,《美国国家科学院院刊》86:10029-10033,1988;Riechmann等人,《自然》332:323-327,1988)。用于使抗体人源化的说明性方法包含美国专利第7,462,697号中所描述的方法。

[0265] 另一种方法不仅着重于提供人源性恒定区,还着重于修饰可变区,以尽可能地将其重塑为人形式。已知的是,重链和轻链两者的可变区均含有侧翼是四个框架区(FR)的三个互补决定区(CDR),所述三个CDR响应于所讨论的表位而变化并且决定结合能力,所述四个FR区在给定物种中相对保守并且推定地为CDR提供支架。当关于特定表位制备非人抗体时,可以通过将源自非人抗体的CDR移植到存在于要修饰的人抗体中的FR上来对可变区进行“重塑”或“人源化”。已在以下文献中报道这种方法在各种抗体中的应用:Sato等人,《癌症研究》53:851-856,1993;Riechmann等人,《自然》332:323-327,1988;Verhoeyen等人,《科学》239:1534-1536,1988;Kettleborough等人,《蛋白质工程》4:773-3783,1991;Maeda等人,《人抗体与杂交瘤(Human Antibodies Hybridoma)》2:124-134,1991;Gorman等人,《美国国家科学院院刊》88:4181-4185,1991;Tempest等人,《生物技术(Bio/Technology)》9:266-271,1991;Co等人,《美国国家科学院院刊》88:2869-2873,1991;Carter等人,《美国国家科学院院刊》89:4285-4289,1992;以及Co等人,《免疫学杂志(J Immunol.)》148:1149-

1154, 1992。在一些实施例中,人源化抗体保留所有CDR序列(例如,含有来自小鼠抗体的所有六个CDR的人源化小鼠抗体)。在其它实施例中,人源化抗体具有关于原始抗体改变的一个或多个CDR(一个、两个、三个、四个、五个、六个),所述一个或多个CDR也称为“源自”来自原始抗体的一个或多个CDR的一个或多个CDR。

[0266] 在某些实施例中,抗体是“嵌合”抗体。在这方面,嵌合抗体由抗体的与不同抗体的异源Fc部分可操作连接或以其它方式融合的抗原结合片段构成。在某些实施例中,Fc结构域或异源Fc结构域源自人。在某些实施例中,Fc结构域或异源Fc结构域源自小鼠。在其它实施例中,异源Fc结构域可以来自与亲本抗体不同的Ig类,包含IgA(包含子类IgA1和IgA2)、IgD、IgE、IgG(包含子类IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)以及IgM。在另外的实施例中,异源Fc结构域可以由来自不同Ig类中的一类或多类的CH2和CH3结构域。如上文关于人源化抗体所述,嵌合抗体的抗原结合片段可以仅包括本文所描述的抗体的CDR中的一个或多个CDR(例如,本文所描述的抗体的1个、2个、3个、4个、5个或6个CDR),或者可以包括整个可变结构域(VL、VH或两者)。

[0267] 如本文所使用的,“有风险”患上疾病或产生不良反应的受试者可能患有或未患有可检测的疾病或疾病症状,并且在本文所描述的治疗方法之前可能表现出或可能未表现出可检测的疾病或疾病症状。“有风险”表示受试者具有一个或多个风险因素,所述风险因素是如本文所描述的和本领域已知的与疾病的产生相关的可测量参数。具有这些风险因素中的一个或多个风险因素的受试者患有疾病或产生不良反应的可能性比不具有这些风险因素中的一个或多个风险因素的受试者患有疾病或产生不良反应的可能性高。

[0268] “生物相容的”是指通常不会对细胞或受试者的生物功能造成损害并且不会导致任何程度的不可接受的毒性(包含过敏和疾病状态)的材料或化合物。

[0269] 术语“结合”是指由于例如共价、静电、疏水和离子和/或氢键相互作用(包含如盐桥和水桥等相互作用)而产生的两个分子之间的直接缔合。

[0270] “编码序列”是指有助于基因的多肽产物的编码的任何核酸序列。相反,术语“非编码序列”是指不直接有助于基因的多肽产物的编码的任何核酸序列。

[0271] 贯穿本公开,除非上下文另有要求,否则词语“包括(comprise)”、“包括(comprises)”和“包括(comprising)”将被理解为暗示包含所陈述的步骤或元件或步骤或元件组,但不排除任何其它步骤或元件或步骤或元件组。

[0272] “由...组成”意指包含并限于短语“由...组成”之后的任何内容。因此,短语“由...组成”指示所列元件是必需的或强制性的,并且可以不存在其它元件。“基本上由...组成”意指包含在所述短语之后列出的任何元件,并且限于不干扰或促进本公开中对所列元件指定的活动或动作的其它元件。因此,短语“基本上由...组成”表示所列元件是必需的或强制性的,但是其它元件是任选的并且可以存在或不存在,这取决于其是否实质上影响所列元件的活动或动作。

[0273] 在抗体的上下文中,术语“效应子功能”或“ADCC效应子功能”是指所述抗体与免疫系统的其它臂连接(包含例如典型补体途径的活化,或通过Fc受体的连接)的能力。补体依赖性途径主要由C1q与具有聚集的抗体Fc结构域的C1复合物的相互作用驱动。抗体依赖性细胞毒性(ADCC)主要由效应细胞(自然杀伤细胞、巨噬细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞)表面上的Fc受体(FcR)的相互作用驱动,所述Fc受体与自身与靶细胞结合的IgG的Fc区结合。

Fc受体 (FcR) 是将抗体介导的 (体液) 免疫应答与细胞效应子功能关联的关键免疫调节受体。已经鉴定了所有类别的免疫球蛋白的受体, 包含Fc γ R (IgG)、Fc ϵ RI (IgE)、Fc α RI (IgA)、Fc μ R (IgM) 和Fc δ R (IgD)。在白细胞上发现了存在至少三类人IgG的受体: CD64 (Fc γ RI)、CD32 (Fc γ RIIa、Fc γ RIIb和Fc γ RIIc) 和CD16 (Fc γ RIIIa和Fc γ RIIIb)。Fc γ RI被归类为高亲和力受体 (纳摩尔范围KD), 而Fc γ RII和Fc γ RIII具有低到中等亲和力 (微摩尔范围KD)。当发生Fc结合时, 信号传导途径被触发, 这导致介导靶细胞的破坏的各种物质如分解酶、穿孔素、颗粒酶和肿瘤坏死因子的分泌。ADCC效应子功能的水平因人IgG亚型而异。虽然这取决于同种异型和特异性Fc γ R, 但简单地说, ADCC效应子功能对于人IgG1和IgG3而言“较高”, 并且对于IgG2和IgG4而言“较低”。

[0274] 术语“不含内毒素”或“基本上不含内毒素”总体上是指组合物、溶剂和/或血管至多含有痕量 (例如, 对受试者没有临床不良生理作用的量) 并且优选地含有无法检测到的量的内毒素。内毒素是与某些微生物, 如细菌 (通常为革兰氏阴性细菌) 相关的毒素, 但是可以在如单核细胞增生性李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*) 等革兰氏阳性细菌中发现内毒素。最普遍的内毒素是在各种革兰氏阴性细菌的外膜中发现的脂多糖 (LPS) 或脂寡糖 (LOS), 所述LPS和LOS表示这些细菌引起疾病的能力中的中心致病特征。人体中的少量内毒素可能引起发热、血压降低以及炎症和凝结激活以及其它不良生理作用。

[0275] 因此, 在药物生产中, 通常令人期望的是, 从药品和/或药物容器中去大部分或全部痕量的内毒素, 因为即使少量也可能对人产生不良作用。可以将去热原烘箱用于此目的, 因为分解大多数内毒素通常需要超过300°C的温度。例如, 基于如注射器或小瓶等初级包装材料, 250°C的玻璃温度和30分钟的保持时间的组合通常足以实现内毒素水平的3对数减少。设想了去除内毒素的其它方法, 包含例如如本文所描述的和本领域中已知的色谱法和过滤法。

[0276] 可以使用本领域中已知的常规技术来检测内毒素。例如, 利用来自马蹄蟹的血液的鲎变形细胞裂解物 (*Limulus Amoebocyte Lysate*) 测定是用于检测内毒素存在的非常灵敏的测定。在此测试中, 非常低LPS水平就可能引起鲎裂解物的可检测凝结, 这是由于强大的酶促级联反应放大了这一反应。内毒素还可以通过酶联免疫吸附测定 (ELISA) 进行定量。为了基本上不含内毒素, 内毒素水平可以低于约0.001、0.005、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.08、0.09、0.1、0.5、1.0、1.5、2、2.5、3、4、5、6、7、8、9或10EU/mg活性化合物。通常, 1ng脂多糖 (LPS) 对应于约1-10EU。

[0277] 术语“表位”包含能够与免疫球蛋白或T细胞受体特异性结合的任何决定簇, 优选地多肽决定簇。表位包含由抗原的与抗体结合的区域。在某些实施例中, 表位决定簇包含分子的化学活性表面基团, 如氨基酸、糖侧链、磷酸基或磺酰基, 并且在某些实施例中可以具有特定三维结构特性和/或特定电荷特性。关于抗原的一级结构 (例如, NRP2多肽), 表位可以是连续的或非连续的。在特定实施例中, 表位包括本文所描述的参考序列 (参见例如表N1) 或靶分子的约、至少约或不超过约3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个连续氨基酸 (即线性表位) 或非连续氨基酸 (即构象表位)、由其组成或基本上由其组成。

[0278] “表位”包含抗原或能够形成结合相互作用的其它大分子的与结合蛋白的可变区结合袋相互作用的部分。这种结合相互作用可以表现为与CDR的一个或多个氨基酸残基的

分子间接触。抗原结合可以涉及CDR3或CDR3对。表位可以是线性肽序列(即,“连续的”),或者可以由不连续的氨基酸序列构成(即,“构象的”或“不连续的”)。结合蛋白可以识别一个或多个氨基酸序列;因此,表位可以限定多于一个不同的氨基酸序列。通过结合蛋白识别的表位可以通过本领域的技术人员熟知的肽图分析和序列分析技术来测定。“隐蔽表位”或“隐蔽结合位点”是蛋白质序列的表位或结合位点,所述表位或结合位点未暴露于未经修饰的多肽内或基本上不会在未经修饰的多肽内被识别到,但能够被经变性或蛋白水解的多肽的结合蛋白识别。未暴露于或仅部分暴露于未经修饰的多肽结构中的氨基酸序列是潜在的隐蔽表位。如果表位未暴露或者仅部分暴露,则其很可能埋藏在多肽的内部。可以例如通过检查未经修饰的多肽的三维结构来鉴定候选隐蔽表位。

[0279] 术语“半最大效应浓度”或“EC₅₀”是指本文所描述的药剂(例如,抗体)的所述药剂在其下在某一特定暴露时间后诱导基线与最大值之间的应答的浓度;因此,分级剂量-反应曲线(graded dose response curve)的EC₅₀表示化合物的在其下观察到其最大效应的50%的浓度。EC₅₀还表示在体内获得最大效应的50%所需的血浆浓度。类似地,“EC₉₀”是指药剂或组合物的在其下观察到最大效应的90%的浓度。“EC₉₀”可以根据“EC₅₀”和希尔斜率(Hill slope)计算,或者可以使用本领域的常规知识直接根据数据测定。在一些实施例中,药剂(例如,抗体)的EC₅₀小于约0.01nM、0.05nM、0.1nM、0.2nM、0.3nM、0.4nM、0.5nM、0.6nM、0.7nM、0.8nM、0.9nM、1nM、2nM、3nM、4nM、5nM、6nM、7nM、8nM、9nM、10nM、11nM、12nM、13nM、14nM、15nM、16nM、17nM、18nM、19nM、20nM、25nM、30nM、40nM、50nM、60nM、70nM、80nM、90nM、100nM、200nM或500nM。在一些实施例中,药剂的EC₅₀值为约1nM或更小。

[0280] “免疫应答”意指源于免疫系统的任何免疫学应答,包含来自细胞和肱骨、先天和后天免疫系统的应答。示例性细胞免疫细胞包含例如淋巴细胞、巨噬细胞、T细胞、B细胞、NK细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、树突状细胞、肥大细胞、单核细胞及其所有亚群。细胞应答包含例如效应子功能、细胞因子释放、吞噬作用、胞葬作用、易位、运输、增殖、分化、活化、抑制、细胞间相互作用、细胞凋亡等。肱骨应答包含例如IgG、IgM、IgA、IgE应答及其对应的效应子功能。

[0281] 如抗体等药剂的“半衰期”可以指药剂相对于其在施用到生物体的血清或组织中的时的药理学、生理学或其它活性或相对于任何其它限定的时间点丧失此类活性的一半所耗费的时间。“半衰期”还可以指药剂的量或浓度相对于施用到生物体的血清或组织中的时的此类量或浓度或相对于任何其它限定的时间点减少施用到生物体的血清或组织中的起始量的一半所耗费的时间。可以在血清和/或任何一种或多种所选组织中测量半衰期。

[0282] 术语“调节”和“改变”包含相对于对照物通常以统计学上显著或生理学上显著的量或程度“增加”、“增强”或“刺激”以及“降低”或“减少”。“增加的”、“刺激的”或“增强的”量通常是“统计学上显著的”量,并且可以包含相对于通过无组合物(例如,不存在药剂)的情况下或在对照组合物的情况下产生的量增加1.1、1.2、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100或更多倍(例如,500倍、1000倍)(包含所有整数和其之间的范围,例如,1.5、1.6、1.7、1.8等)。“降低的”或“减少的”量通常是“统计学上显著的”量,并且可以包含相对于在无组合物(例如,不存在药剂)的情况下或在对照组合物的情况下产生的量减少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、

80%、85%、90%、95%或100% (包含所有整数和其之间的范围)。本文描述了比较和“统计学上显著的”量的实例。

[0283] 术语“游走细胞”是指能够响应于刺激而从一个地方移动到另一个地方的细胞。示例性游走细胞包含免疫细胞,如单核细胞;自然杀伤(NK)细胞;树突状细胞(未成熟或成熟);树突状细胞亚群,包含髓样细胞、浆细胞样细胞(也称为淋巴样细胞)和朗格汉斯细胞(Langerhans cell);巨噬细胞,如组织细胞、如库弗氏细胞(Kupffer's cell)等组织驻留巨噬细胞、CNS中的小胶质细胞、肺泡巨噬细胞和腹膜巨噬细胞;巨噬细胞亚型,如M0、M1、Mox、M2a、M2b和M2c巨噬细胞;嗜中性粒细胞;嗜酸性粒细胞;肥大细胞;嗜碱性粒细胞;B细胞,包含血浆B细胞、记忆B细胞、B-1细胞和B-2细胞;CD45RO(自然T)细胞;CD45RA(记忆T)细胞;CD4辅助性T细胞,包含Th1、Th2和Tr1/Th3细胞;CD8细胞毒性T细胞;调节性T细胞; γ δ T细胞;和胸腺细胞。游走细胞的另外的实例包含成纤维细胞、纤维细胞、肿瘤细胞和干细胞。术语“细胞迁移”是指游走细胞的移动,并且术语“对细胞迁移的调节”是指对任何此类游走细胞的移动的调节。

[0284] 术语“多肽”、“蛋白质”和“肽”可互换使用,并且意指不限于任何特定长度的氨基酸聚合物。术语“酶”包含多肽或蛋白质催化剂。所述术语包含如豆蔻酰化、硫酸化、糖基化、磷酸化和信号序列的添加或缺失等修饰。术语“多肽”或“蛋白质”意指一条或多条氨基酸链,其中每条链包括通过肽键共价连接的氨基酸,并且其中所述多肽或蛋白质可以包括通过肽键非共价和/或共价连接在一起的具有由天然蛋白质(即,由天然存在的细胞,特别是非重组细胞、或基因工程化的细胞或重组细胞产生的蛋白质)构成的序列的多条链,并且包括具有天然蛋白质的氨基酸序列的分子或具有天然序列的一个或多个氨基酸的缺失、添加和/或取代的分子。在某些实施例中,多肽是由重组细胞产生的“重组”多肽,所述重组细胞包括一个或多个重组DNA分子,所述一个或多个重组DNA分子通常由在细胞中无法以其它方式找到的异源多核苷酸序列或多核苷酸序列的组合作成。

[0285] 术语“多核苷酸”和“核酸”包含mRNA、RNA、cRNA、cDNA和DNA。所述术语通常指长度为至少10个碱基的核苷酸的聚合形式,要么是核糖核苷酸,要么是脱氧核苷酸或者是任一种类型的核苷酸的经修饰形式。所述术语包含DNA的单链和双链形式。术语“分离的DNA”和“分离的多核苷酸”以及“分离的核酸”是指已经被分离成不含特定物种的总基因组DNA的分子。因此,对多肽进行编码的分离的DNA片段是指含有一个或多个编码序列但基本上从获得所述DNA片段的物种的总基因组DNA分离出去或被纯化成不含所述总基因组DNA的DNA片段。还包含不对多肽进行编码的非编码多核苷酸(例如,引物、探针、寡核苷酸)。还包含重组载体,包含例如表达载体、病毒载体、质粒、粘粒、噬菌粒、噬菌体、病毒等。

[0286] 在本文所描述的多核苷酸内可以但不必存在另外的编码或非编码序列,并且多核苷酸可以但不必与其它分子和/或支撑材料连接。因此,多核苷酸或可表达的多核苷酸,无论编码序列本身的长度如何,都可以与其它序列,例如表达控制序列组合。

[0287] “表达控制序列”包含核酸或对应氨基酸的调节序列,如启动子、前导子、增强子、内含子、RNA或DNA结合蛋白的识别基序、聚腺苷酸化信号、终止子、内部核糖体进入位点(IRES)、分泌信号、亚细胞定位信号等,其有能力影响宿主细胞中的编码序列的转录或翻译或亚细胞或细胞定位。以下文献中描述了示例性表达控制序列:Goeddel,《基因表达技术:酶学方法(Gene Expression Technology:Methods in Enzymology)》185,加利福尼亚州圣

地亚哥学术出版社(Academic Press, San Diego, Calif.), (1990)。

[0288] “启动子”是能够与细胞中的RNA聚合酶结合并启动下游(3'方向)编码序列的转录的DNA调节区。如本文所使用的,启动子序列在其3'端处由转录起始位点界定并且向上游(5'方向)延伸以包含在高于背景时可检测的水平下启动转录所必需的最小数量的碱基或元件。可以在启动子序列以及负责RNA聚合酶的结合的蛋白质结合结构域(共有序列)内找到转录起始位点(通过用核酸酶S1作图方便地限定)。真核启动子通常可以但不总是含有“TATA”盒和“CAT”盒。原核启动子除了-10和-35共有序列外还含有夏因-达尔加诺序列(Shine-Dalgarno sequence)。

[0289] 来自各种不同来源的大量启动子(包含组成型、诱导型和阻遏型启动子)在本领域中是众所周知的。代表性来源包含例如病毒、哺乳动物、昆虫、植物、酵母和细菌细胞类型,并且来自这些来源的合适的启动子是容易获得的,或可以基于在线可公开获得或例如来自ATCC等保藏机构以及其它商业或个人来源以合成方式制备。启动子可以是单向的(即,启动一个方向上的转录)或双向的(即,启动3'或5'方向上的转录)。启动子的非限制性实例包含例如T7细菌表达系统、pBAD(araA)细菌表达系统、巨细胞病毒(CMV)启动子、SV40启动子、RSV启动子。诱导型启动子包含Tet系统(美国专利5,464,758和5,814,618)、蜕皮激素诱导型系统(No等人,《美国国家科学院院刊》(1996)93(8):3346-3351);T-REx™系统(加利福尼亚州卡尔斯巴德英杰公司(Invitrogen Carlsbad, CA))、LacSwitch®(加利福尼亚州圣地亚哥Stratagene公司(Stratagene, San Diego, CA))和Cre-ERT三苯氧胺诱导型重组酶系统(Indra等人,《核酸研究(Nuc. Acid. Res.)》(1999)27(22):4324-4327;《核酸研究》(2000)28(23):e99;美国专利第7,112,715号;以及Kramer和Fussenegger,《分子生物学方法(Methods Mol Biol)》(2005)308:123-144)或本领域已知的适于在期望细胞中表达的任何启动子。

[0290] “可表达的多核苷酸”包含包括至少一个编码序列和任选地至少一个表达控制序列(例如,转录和/或翻译调节元件)并且可以在引入到细胞(例如,受试者的细胞)中时表达经编码的多肽的cDNA、RNA、mRNA或其它多核苷酸。

[0291] 可以用于递送可表达的多核苷酸的各种病毒载体包含腺病毒载体、疱疹病毒载体、痘苗病毒载体、腺相关病毒(AAV)载体和逆转录病毒载体。在一些情况下,逆转录病毒载体是鼠或禽类逆转录病毒的衍生物,或者是慢病毒载体。单个外源基因可以插入其中的逆转录病毒载体的实例包含但不限于:莫洛尼鼠白血病病毒(Moloney murine leukemia virus, MoMuLV)、哈维鼠肉瘤病毒(Harvey murine sarcoma virus, HaMuSV)、鼠乳腺肿瘤病毒(MuMTV)、SIV、BIV、HIV和劳斯肉瘤病毒(Rous Sarcoma Virus, RSV)。许多另外的逆转录病毒载体可以结合多个基因。所有这些载体都可以转移或结合可选择标志物的基因,使得可以鉴定和产生经过转导的细胞。通过例如将所关注的多肽序列连同对特定靶细胞上的受体的配体进行编码的另一个基因一起插入到病毒载体中,可以使载体具有靶特异性。可以通过插入例如对蛋白质进行编码的多核苷酸来使逆转录病毒载体具有靶特异性。说明性靶向可以通过使用抗体靶向逆转录病毒载体来实现。本领域的技术人员将了解或者无需过度实验就可以容易地确定可以插入到逆转录病毒基因组中以允许逆转录病毒载体的靶特异性递送的特定多核苷酸序列。

[0292] 在特定实施例中,可表达的多核苷酸是经修饰的RNA或经修饰的mRNA多核苷酸,例

如,非天然存在的RNA类似物。在某些实施例中,经修饰的RNA或mRNA多肽包括一个或多个经修饰的或非天然的碱基,例如除腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)和/或尿嘧啶(U)之外的核苷酸碱基。在一些实施例中,经修饰的mRNA包括一个或多个经修饰的或非天然的核苷酸间连接。例如在以下文献中描述了用于递送经编码的治疗性多肽的可表达的RNA多核苷酸:Kormann等人,《自然-生物技术》29:154-7,2011;以及美国申请第2015/0111248号;第2014/0243399号;第2014/0147454号;和第2013/0245104号,所述文献通过引用整体并入。

[0293] 本文提及的术语“分离的”多肽或蛋白质意味着主题蛋白质:(1)不含所述主题蛋白质在自然界通常与其一起被发现的至少一些其它蛋白质;(2)基本上不含来自同一来源,例如来自同一物种的其它蛋白质;(3)由来自不同物种的细胞表达;(4)已与所述主题蛋白质在自然接种与其缔合的多核苷酸、脂质、碳水化合物或其它材料中至少约50%分离;(5)不与“分离的蛋白质”在自然界中与其缔合的蛋白质部分缔合(通过共价或非共价相互作用);(6)与所述主题蛋白质在自然界中不与其缔合的多肽可操作地缔合(通过共价或非共价相互作用);或(7)在自然界中不存在。这种分离的蛋白质可以由基因组DNA、cDNA、mRNA或其它RNA编码,或者可以通过合成产生,或其任何组合。在某些实施例中,分离的蛋白质基本上不含在其天然环境中发现的会干扰其用途(治疗、诊断、预防、研究或其它)的蛋白质或多肽或其它污染物。

[0294] 在某些实施例中,可以限定组合物中的任何给定药剂(例如,如抗体等多肽)的“纯度”。例如,某些组合物可以包括如多肽药剂等药剂,以蛋白质或重量-重量计,如例如但不限于通过高效液相色谱法(HPLC)所测量的,所述药剂的纯度为至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,包含所有小数和介于其之间的范围,所述HPLC是生物化学和分析化学中常用于分离、鉴定和定量化合物的柱色谱法的公知形式。

[0295] “脂质纳米颗粒”或“固体脂质纳米颗粒”是指平均直径在约10纳米与约1000纳米之间并且包括可以增溶亲脂性分子的固体脂质核基质的一种或多种球形纳米颗粒。脂质核由表面活性剂(例如,乳化剂)稳定,并且可以包括三酸甘油酯(例如,三硬脂酸甘油酯)、二酸甘油酯(例如,山嵛酸甘油酯)、单酸甘油酯(例如,单硬脂酸甘油酯)、脂肪酸(例如,硬脂酸)、类固醇(例如,胆固醇)和蜡(例如,棕榈酸鲸蜡酯)中的一种或多种,包含其组合。例如在以下文献中描述了脂质纳米颗粒:Petrilli等人,《当代药物生物技术(Curr Pharm Biotechnol.)》15:847-55,2014;以及美国专利第6,217,912号;第6,881,421号;第7,402,573号;第7,404,969号;第7,550,441号;第7,727,969号;第8,003,621号;第8,691,750号;第8,871,509号;第9,017,726号;第9,173,853号;第9,220,779号;第9,227,917号;和第9,278,130号,所述文献通过引用整体并入。本文所描述的某些组合物是用一种或多种脂质纳米颗粒调配的。

[0296] 术语或“神经纤毛蛋白2相关疾病”或“NRP2相关疾病”是指这样的疾病和病状:NRP2活性、表达和/或空间分布在所述疾病或病状的病理生理学中起作用。在一些情况下,由本公开的抗NRP2抗体通过改变NRP2与至少一种NRP2配体的相互作用以影响NRP2活性、信号传导、表达和/或空间分布,从而调节NRP2相关疾病。示例性NRP2相关疾病和病状包含但不限于癌症和与癌症相关的疾病或病变,包含癌细胞生长、癌症起始、癌症迁移、癌细胞粘

附、侵袭和转移。还包含与炎症和自身免疫以及相关炎性疾病相关的疾病,包含与不适当的免疫细胞活化或迁移相关的疾病,如移植物抗宿主病 (GVHD); 另外的实例包含与淋巴发育、淋巴管生成和淋巴损伤相关的疾病,包含水肿、淋巴水肿、继发性淋巴水肿、不适当的脂肪吸收和沉积、过量脂肪沉积和血管通透性。还包含与感染 (包含潜伏感染) 相关的疾病以及 与过敏性病症/疾病和过敏反应相关的疾病,包含慢性阻塞性肺病症 (COPD)、中性粒细胞性哮喘、抗中性粒细胞胞浆抗体 (ANCA) 相关的全身性血管炎、全身性红斑狼疮、类风湿性关节炎、一种或多种炎性小体相关疾病和一种或多种皮肤相关中性粒细胞介导的疾病,如坏疽性脓皮病。另外的实例包括与肉芽肿性炎性疾病相关的疾病,包含结节病和肉芽肿,以及纤维化疾病,包含子宫内膜异位症、纤维化、内皮-间充质转化 (EMT) 和伤口愈合等。还包含与不适当的平滑肌收缩性和血管平滑肌细胞迁移和/或粘附相关的疾病,以及与不适当的自噬、吞噬作用和胞葬作用相关的疾病。还包含与不适当的游走细胞移动相关的疾病,如本文所描述的。另外的实例包含神经元疾病,包含与周围神经系统重塑和疼痛感知相关的疾病。还包含与骨骼发育和/或骨骼重塑相关的疾病。通常,术语“不适当的”是指与病变或疾病状态相关或引起病变或疾病状态的活动或特性。

[0297] 术语“参考序列”通常是指另一序列与之进行比较的核酸编码序列或氨基酸序列。本文所描述的所有多肽和多核苷酸序列都作为参考序列而包含,包含通过名称描述的序列和在表和序列表中描述的序列。

[0298] 某些实施例包含本文所描述的多肽 (例如,抗体) 的生物活性“变体”和“片段”,以及对其进行编码的多核苷酸。“变体”含有相对于参考多肽或多核苷酸 (参见例如表和序列表) 的一种或多种取代、添加、缺失和/或插入。变体多肽或多核苷酸包括与本文所描述的参考序列具有至少约 50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高序列同一性或相似性或同源性的氨基酸或核苷酸序列,并且基本上保留所述参考序列的活性。还包含由 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个、9 个、10 个、11 个、12 个、13 个、14 个、15 个、16 个、17 个、18 个、19 个、20 个、30 个、40 个、50 个、60 个、70 个、80 个、90 个、100 个、110 个、120 个、130 个、140 个、150 个或更多个氨基酸或核苷酸组成或与参考序列的不同之处在所述氨基酸或核苷酸的添加、缺失、插入或取代并且基本上保留所述参考序列的活性的序列。在某些实施例中,添加或缺失包含 C 端和/或 N 端添加和/或缺失。

[0299] 如本文所使用的,术语“序列同一性”或例如包括“与...50% 相同的序列”指代序列在一个比较窗口内在逐核苷酸的基础上或在逐氨基酸的基础上相同的程度。因此,“序列同一性百分比”可以通过以下来计算:在比较窗口内比较两个经过最佳比对的序列,测定相同的核酸碱基 (例如,A、T、C、G、I) 或相同的氨基酸残基 (例如,Ala、Pro、Ser、Thr、Gly、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Lys、Arg、His、Asp、Glu、Asn、Gln、Cys 和 Met) 出现在这两个序列中的位置的数量以产生匹配位置的数量,用匹配位置的数量除以比较窗口中的位置的总数 (即,窗口大小),以及将结果乘以 100 以产生序列同一性百分比。用于比对比较窗口的序列的最佳比对可以通过算法的计算机化实施方案 (美国威斯康星州麦迪逊科学大道 575 号遗传学计算机集团 (Genetics Computer Group, 575 Science Drive Madison, Wis., USA) 的威斯康星州遗传学软件包 7.0 版本中的 GAP、BESTFIT、FASTA 和 TFASTA), 或者通过检验和通过各种所选方法中的任何方法产生的最佳比对 (即,产生比较窗口内的最高百分比同源性) 来进

行。还可以参考如例如Altschul等人,《核酸研究》25:3389,1997所公开的BLAST程序家族。

[0300] 术语“溶解度”是指本文提供的药剂(例如,抗体)溶解在液体溶剂中并形成均匀溶液的性质。溶解度通常表示为浓度,或者溶质质量/单位体积溶剂(克溶质/千克溶剂数、g/dL(100mL)、mg/ml等)、摩尔浓度、质量摩尔浓度、摩尔分数或者其它类似的浓度描述。单位量的溶剂可以溶解的溶质的最大均衡量是所述溶质在包含温度、压力、pH和溶剂性质的指定条件下在所述溶剂中的溶解度。在某些实施例中,溶解度是在生理pH或其它pH下,例如在pH 5.0、pH 6.0、pH 7.0、pH 7.4、pH 7.6、pH 7.8、或pH 8.0(例如,约pH 5-8)下测量的。在某些实施例中,溶解度是在水或如PBS或NaCl(具有或不具有 NaPO_4)等生理缓冲液中测量的。在特定实施例中,溶解度是在相对较低的pH(例如,pH 6.0)和相对较高的盐(例如,500mM NaCl和10mM NaPO_4)下测量的。在某些实施例中,溶解度是在如血液或血清等生物流体(溶剂)中测量的。在某些实施例中,温度可以约为室温(例如,约20°C、21°C、22°C、23°C、24°C、25°C)或约为体温(37°C)。在某些实施例中,药剂在室温或37°C下的溶解度为至少约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、1mg/ml、2mg/ml、3mg/ml、4mg/ml、5mg/ml、6mg/ml、7mg/ml、8mg/ml、9mg/ml、10mg/ml、11mg/ml、12mg/ml、13mg/ml、14mg/ml、15mg/ml、16mg/ml、17mg/ml、18mg/ml、19mg/ml、20mg/ml、25mg/ml、30mg/ml、40mg/ml、50mg/ml、60mg/ml、70mg/ml、80mg/ml、90或100mg/ml。

[0301] “受试者”或“有需要的受试者”或“患者”或“有需要的患者”包含哺乳动物受试者,如人类受试者。

[0302] “基本上”或“实质上”意指几乎完全或完全,例如,某一给定量的95%、96%、97%、98%、99%、或更高。

[0303] “统计学上显著的”意味着结果不太可能偶然发生。统计学显著性可以通过本领域已知的任何方法来测定。常用的显著性度量包含p值,如果零假设为真,则p值是将发生所观察到的事件的频率或概率。如果获得的p值小于显著性水平,则零假设被否定。在简单的情况下,显著性水平限定于0.05或更小的p值下。

[0304] “治疗反应”是指基于一种或多种治疗剂的施用实现的症状改善(无论是否持续)。

[0305] 如本文所使用的,术语“治疗有效量”、“治疗剂量”、“预防有效量”或“诊断有效量”是在施用后引起期望生物反应所需的药剂(例如,抗NRP2抗体、免疫治疗剂)的量。

[0306] 如本文所使用的,对受试者(例如,哺乳动物,如人)或细胞的“治疗”是用于试图改变个体或细胞的自然病程的任何类型的干预。治疗包含但不限于施用药物组合物,并且可以预防性地或在病理事件起始后或与病原体接触后进行。还包含“预防性”治疗,其可以旨在降低所治疗的疾病或病状的进展速率、延迟所述疾病或病状的发作或降低其发病的严重程度。“治疗”或“预防”不一定表示完全根除、治愈或预防疾病或病状或其相关症状。

[0307] 术语“野生型”是指在群体中最常观察到的基因或基因产物(例如,多肽),并且因此被任意地设计为基因的“正常”或“野生型”形式。

[0308] 除非另外明确说明,否则本说明书中的每个实施例适用于每个其它实施例。

[0309] 抗NRP2抗体

[0310] 某些实施例包含与人神经纤毛蛋白2(NRP2)多肽特异性结合的抗体和其抗原结合片段。在一些实施例中,至少一种抗体或其抗原结合片段调节(例如,干扰)所述人NRP2多肽与至少一种NRP2配体,如人组氨酰-tRNA合成酶(HRS)多肽或其它NRP2配体的结合。

[0311] 神经纤毛蛋白-2是一种细胞表面受体蛋白,所述细胞表面受体蛋白通过其作为必需的细胞表面受体和各种配体的共受体的作用来调节大范围的细胞功能(参见例如Guo和Vander Kooi,《细胞生物学杂志(J.Cell.Biol.)》290(49):29120-29126,2015)。例如,其在上皮-间充质转化(EMT)期间例如通过促进结肠直肠癌细胞和其它癌细胞中的TGF- β 1介导的EMT(参见例如Grandclement等人,《公共科学图书馆:综合》6(7)e20444,2011)并且通过介导成纤维细胞、肌成纤维细胞和内皮细胞中的EMT或内EMT(endo-EMT)以促进纤维化形成(参见例如Pardali等人,《国际分子科学杂志(Int.J.Mol.Sci.)》18:2157,2017)来发挥作用。

[0312] 神经纤毛蛋白-2表达促进淋巴管生成(参见例如Docì等人,《癌症研究》75:2937-2948,2015),NRP2中的单核苷酸多态性(SNP)与淋巴水肿相关(参见例如Miaskowski等人,《国际分子科学杂志》8(4)e60164,2013)。NRP2还调节平滑肌收缩性(参见例如Bielenberg等人,《美国病理学杂志(Amer.J.Path.)》181:548-559,2012),调节例如在癌症中的自噬(参见例如Stanton等人,《癌症研究》73:160-171,2013),促进肿瘤起始、存活和转移(参见例如Goel等人,《EMBO分子医学(EMBO Mol.Med.)》5:488-508,2013;和Samuel等人,《公共科学图书馆:综合》6(10)e23208,2011),并调节免疫细胞活化和迁移(参见例如Mendes-da-Cruz等人,《公共科学图书馆:综合》9(7)e103405,2014)。神经纤毛蛋白还是参与肿瘤起始、生长、转移和免疫的多功能共受体(参见例如Prud'homme等人,《肿瘤标靶(Oncotarget)》3:921-939,2012)。

[0313] 神经纤毛蛋白-2在免疫系统的各种细胞中表达,所述细胞包含淋巴细胞,如B细胞和T细胞;以及髓样细胞,如嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞、树突状细胞、中性粒细胞和巨噬细胞,包含组织特异性巨噬细胞,例如,肺泡巨噬细胞。其还在肺和其它组织中的内皮和上皮细胞中以及肌肉细胞中表达(参见例如Bielenberg等人,《美国病理学杂志》181:548-559,2012;Aung等人,《公共科学图书馆:综合》11(2)e0147358,2016;Schellenburg等人,《分子免疫学(Mol.Imm)》,90:239-244,2017;和Wild等人,《国际实验病理学杂志(Int.J.Exp.Path.)》93:81-103,2012)。

[0314] 神经纤毛蛋白-2还在内体发育中例如通过调节晚期内体成熟发挥关键作用,所述晚期内体成熟是分别促进感染和凋亡细胞清除的吞噬作用和胞吞作用的重要方面(参见例如Diaz-Vera等人,《细胞科学杂志(J.Cell.Sci.)》130:697-711,2017;Dutta等人,《癌症研究》76:418-428,2016)。

[0315] 已知神经纤毛蛋白-2是许多疾病(例如,“NRP2相关疾病”)的病理生理学中的关键因素,并且与包含臂板蛋白3F、VEGF-C和D以及TGF- β (参见例如表N2和表N3)的各种可溶性配体以及大量细胞受体和辅助因子(参见例如图1A-1B和图2)相互作用。NRP2还在树突状细胞上聚唾液酸化,并且与趋化因子CCL21主动相互作用以介导免疫细胞迁移,并且为此已描述了与ILD和RA相关的单核苷酸多态性(参见例如Rey-Gallardo等人,《糖生物学(Glycobiology)》20:1139-1146,2010;Stahl等人,《自然-遗传学(Nat.Genet.)》42:508-514,2013;和Miller等人,《关节炎与风湿病学(Arthritis Rheum.)》65:3239-3247)。另外,NRP-2的可溶性循环形式是已知的(参见例如Parker等人,《结构(Structure)》23(4)677-687,2015),并且内部研究已证实循环中存在HRS多肽和NRP-2多肽的循环复合物。因此,鉴于NRP2在多种疾病的病理生理学中发挥的核心作用,很明显,NRP2与一个或多个NRP2配体

(例如,来自表N2和表N3的NRP2配体)之间的相互作用以及用抗NRP2抗体对那些相互作用进行调节以选择性地改变对应生物活性为包含NRP2相关疾病的疾病的治疗提供了广阔的潜力。

[0316] NRP2是单次跨膜受体,其主要的胞外区含有两个CUB结构域(A1/A2组合结构域)、双因子V/VIII同源结构域(B1/B2组合结构域)和一个MAM结构域(C结构域)(参见图1A-1B)。A1A2组合结构域与臂板蛋白的sema区相互作用,并且B1结构域与臂板蛋白PSI和Ig样结构域相互作用。NRP2对SEMA3F和3G具有较高的亲和力;相反,SEMA 3A、3B和3E优先与NRP1相互作用。NRP1和NRP2两者均对SEMA 3C具有类似的亲和力。B1B2组合结构域与含有肝素结合结构域的若干生长因子相互作用,所述生长因子包含VEGF C和D、胎盘生长因子(PIGF)-2、成纤维细胞生长因子(FGF)、半乳凝素、肝细胞生长因子(HGF)、血小板源性生长因子(PDGF)和转化生长因子(TGF)- β (参见例如Prud'homme等人,《肿瘤标靶》3:921-939,2012)。NRP2还与各种生长因子特异性受体相互作用,并且与这些受体的相互作用独立于与SEMA的结合而发生。在这种情况下,已经显示,整合素和生长因子受体(如VEGF受体、TGF- β 受体、c-Met、EGFR、FGFR、PDGFR)与NRP相互作用并且总体上似乎增加了每种配体对其受体的亲和力并调节下游信号传导。C结构域(Mam)结构域似乎不是配体结合所必需的,但似乎是信号传导所必需的。

[0317] 因此,与NRP2的A1和/或A2结构域结合的抗NRP2抗体有可能选择性调节臂板蛋白结合。同样地,与B1结构域结合的抗NRP2抗体有可能调节臂板蛋白和VEGF以及生长因子结合,并且与B2结构域结合的抗NRP2抗体有可能选择性调节VEGF和生长因子结合。与C结构域结合的抗体可能不会直接影响NRP2配体结合,但有可能调节NRP2下游信号传导。基于特异性抗NRP2抗体的结合模式并且由于可能间接影响配体结合的位阻效应,可以预期特异性抗NRP2抗体的功能效应的另外的多样性。

[0318] NRP2可以形成同源二聚体以及异源二聚体,并且是高度糖基化的。NRP2具有长度介于约551个氨基酸与926个氨基酸之间的不同剪接变体。NRP2的两种主要变体被分类为NRP2a和NRP2b。它们的不同之处在于其细胞内C端部分(图1A-1B),其中对于NRP2a,C端结构域包括42个氨基酸和具有C端SEA氨基酸序列的PDZ结合结构域。相比之下,NRP2b包括46个氨基酸的C端结构域,所述结构域共享NRP2a的细胞内和跨膜序列的约11%。在MAM结构域与跨膜结构域之间,可以发生另外的剪接,并且可以向NRP2a或NRP2b形式添加5个另外的氨基酸(GENFK)——这些变体是根据通过选择性剪接添加的另外的氨基酸的数量命名的。因此,NRP2的两种另外的变体被命名为NRP2a(17)和NRP2a(22),并且NRP2b的两种不同跨膜变体被命名为NRP2b(0)和NRP2b(5)。另外,还可以产生被称为sNRP2b的可溶性形式。下表N1中提供了示例性NRP2多肽序列。

[0319]

表 N1. 示例性人 NRP2 多肽			
名称	残基	序列	SEQ ID NO:
人全长 NRP2	1-931	MDMFPLTWVFLALYFSRHQVRGQPDPPCGGRLNSKDAG YITSPGYPDYPSHQNCEWIVYAPEPNQKIVLNFNPHEIE	1

[0320]

变体 1 NRP2a(22)		KHDCKYDFIEIRDGDSEADLLGKHCGNIAPPTIISSGSMYI RFTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGSEDCSKNFTSPNGTIESPG FPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEIILQFLIFDLEHDPLQVGEG DCKYDWLDIWDGIPHVGPLIGKYCGTKTPSELRSSTGILSLT FHTDMAVAKDGFSAARYLVHQEPLNFQCNVPLGMESGR IANEQISASSTYS DGRWTPQQSRLHGDDNGWTPNLDN KEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRETQNGYVVKSYKLEVST NGEDWMVYRHGKNHKVFQANNDATEVVLNKLHAPLLTR FVRIRPQTWHSIALRLELFGCRVTDAPCSNMLGMLSLI ADSQISASSTQEYLWSPSAARLVSSRSGWFPRIPQAQPG EWLQVDLGTPTKTVKGVIQGARGGDSITAVEARAFVRKFK VSYSLNGKDW EYIQDPRTQQPKLFEGNMHYDTPDIRRFD PIPAQYVRVYPERWSPAGIGMRLEVLGCDWTD SKPTVETL GPTVKSEETTPYPT EEEATECGENCSFEDDKDLQLPSGFN CNFDFLEPCGWMYDHAKWLRTTWASSSPNDRTPDD RNFLRLQSDSQREGQYARLISPPVHLPRSPVCM EFQYQAT GGRGVALQVVREASQESKLLWVIREDDQGG EWKHGRILPS YDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIAIDDIRISTDVPLENCMEPIS AFAGENFKVDIPEIHEREGYEDEIDDEYEV DWSNSSSATSG SGAPSTDKEKSWLYTLDPILITIIAMSSLG VLLGATCAGLLLY CTCSYSGLSRSCTTLENYNFELYDGLKHKVKMNHQKCCSE A	
人 NRP2 变体 2 前体 NRP2a(17)	1-926	MDMFPLTWVFLALYFSRHQVRGQDP PCCGRLNSKDAG YITSPGYPDYPSHQNCEWIVYAPEPNQKIVLNFNPHFEIE KHDCKYDFIEIRDGDSEADLLGKHCGNIAPPTIISSGSMYI KFTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGSEDCSKNFTSPNGTIESPG FPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEIILQFLIFDLEHDPLQVGEG DCKYDWLDIWDGIPHVGPLIGKYCGTKTPSELRSSTGILSLT FHTDMAVAKDGFSAARYLVHQEPLNFQCNVPLGMESGR IANEQISASSTYS DGRWTPQQSRLHGDDNGWTPNLDN KEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRETQNGYVVKSYKLEVST NGEDWMVYRHGKNHKVFQANNDATEVVLNKLHAPLLTR FVRIRPQTWHSIALRLELFGCRVTDAPCSNMLGMLSLI ADSQISASSTQEYLWSPSAARLVSSRSGWFPRIPQAQPG EWLQVDLGTPTKTVKGVIQGARGGDSITAVEARAFVRKFK VSYSLNGKDW EYIQDPRTQQPKLFEGNMHYDTPDIRRFD PIPAQYVRVYPERWSPAGIGMRLEVLGCDWTD SKPTVETL GPTVKSEETTPYPT EEEATECGENCSFEDDKDLQLPSGFN CNFDFLEPCGWMYDHAKWLRTTWASSSPNDRTPDD RNFLRLQSDSQREGQYARLISPPVHLPRSPVCM EFQYQAT GGRGVALQVVREASQESKLLWVIREDDQGG EWKHGRILPS YDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIAIDDIRISTDVPLENCMEPIS AFAVDIPEIHEREGYEDEIDDEYEV DWSNSSSATSGSGAPS TDKEKSWLYTLDPILITIIAMSSLG VLLGATCAGLLLYCTCSY GLSSRSCTTLENYNFELYDGLKHKVKMNHQKCCSEA	2
人 NRP2 变体 3 前体	1-909	MDMFPLTWVFLALYFSRHQVRGQDP PCCGRLNSKDAG YITSPGYPDYPSHQNCEWIVYAPEPNQKIVLNFNPHFEIE KHDCKYDFIEIRDGDSEADLLGKHCGNIAPPTIISSGSMYI KFTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGSEDCSKNFTSPNGTIESPG	3

[0321]

NRP2a(0)		FPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEIILQFLIFDLEHDPLQVGEG DCKYDWLDIWDGIPHVGLIGKYCGTKTPSELRSSTGILSLT FHTDMAVAKDGFSAARYLVHQEPLNFQCNVPLGMESGR IANEQISASSTYS DGRWTPQQSRLHGDDNGWTPNLDN KEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRETQNGYVYKSYKLEVST NGEDWMVYRHGKNHKVFQANNDATEVVLNKLHAPLLTR FVRIRPQTWHSIALRLELFGCRVTDAPCSNMLGMLSLI ADSQISASSTQEYLWSPSAARLVSSRSGWFPRIPQAQPG EWLQVDLGTPTKTVKGVIIQGARGGDSITAVEARAFVRKFK VSYSLNGKDWEYIQDPRTQQPKLFEGNMHYDTPDIRRFD PIPAQYVRVYPERWSPAGIGMRLEV LGCDWTD SKPTVETL GPTVKSEETTPYPTTEEATECGENC SFEDDKDLQLPSGFN CNFDFLEPCGW MYDHAKWLRTTWASSSPNDRTFPDD RNFLRLQSDSQREGQYARLISPPVHLPRSPVCMEFQYQAT GGRGVALQVVREASQESKLLWVIREDDQGGEWKHGRIILPS YDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIAIDDIRISTDVPLENCMEPIS AFADEYEV DWSNSSSATSGSGAPSTDKEKSWLYTLDPILITI IAMSSLGVLLGATCAGLLLYCTCSYSGLSRSCTTLENYNFEL YDGLKHKVKMNHQKCCSEA	
人 NRP2 变体 4 前体 NRP2b(5)	1-906	MDMFPLTWVFLALYFSRHQVRGQPDPPCGGRLNSKDAG YITSPGYPDYPSHQNCEWIVYAPEPNQKIVLNFNPHFEIE KHCKYDFIEIRDGDSEADLLGKHCGNIAPPTIISGSMYI KFTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGSEDCSKNFTSPNGTIESPG FPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEIILQFLIFDLEHDPLQVGEG DCKYDWLDIWDGIPHVGLIGKYCGTKTPSELRSSTGILSLT FHTDMAVAKDGFSAARYLVHQEPLNFQCNVPLGMESGR IANEQISASSTYS DGRWTPQQSRLHGDDNGWTPNLDN KEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRETQNGYVYKSYKLEVST NGEDWMVYRHGKNHKVFQANNDATEVVLNKLHAPLLTR FVRIRPQTWHSIALRLELFGCRVTDAPCSNMLGMLSLI ADSQISASSTQEYLWSPSAARLVSSRSGWFPRIPQAQPG EWLQVDLGTPTKTVKGVIIQGARGGDSITAVEARAFVRKFK VSYSLNGKDWEYIQDPRTQQPKLFEGNMHYDTPDIRRFD PIPAQYVRVYPERWSPAGIGMRLEV LGCDWTD SKPTVETL GPTVKSEETTPYPTTEEATECGENC SFEDDKDLQLPSGFN CNFDFLEPCGW MYDHAKWLRTTWASSSPNDRTFPDD RNFLRLQSDSQREGQYARLISPPVHLPRSPVCMEFQYQAT GGRGVALQVVREASQESKLLWVIREDDQGGEWKHGRIILPS YDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIAIDDIRISTDVPLENCMEPIS AFAGENFKGGTLLPGTEPTVDTVPMQPIPAYWYVMAAG GAVLVLSVALALVLHYHRFRYA AKKTDHSITYKTSHTYNG APLAVEPTLTIKLEQDRGSHC	4
人 NRP2 变体 5 前体 NRP2b(0)	1-901	MDMFPLTWVFLALYFSRHQVRGQPDPPCGGRLNSKDAG YI TSPGYPDYPSHQNCEWIVYAPEPNQKIVLNFNPHFEIEK HDCKYDFIEIRDGDSEADLLGKHCGNIAPPTIISGSMYIK FTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGSEDCSKNFTSPNGTIESPGF PEKYPHNLDCTFTILAKPKMEIILQFLIFDLEHDPLQVGEGD CKYDWLDIWDGIPHVGLIGKYCGTKTPSELRSSTGILSLTF	5

[0322]

		HTDMAVAKDGFSAARYLVHQEPLNFQCNVPLGMESGRI ANEQISASSTYSDGRWTPQQSRLHGDDNGWTPNLDSNK EYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRETQNGYYVKSYLEVSTN GEDWMVYRHGKNHKVFQANNDATEVVLNKLHAPLLTRF VRIRPQTWHSGIALRLELFGCRVTDAPCSNMLGMLSLGLIA DSQISASSTQEYLWSPSAARLVSSRSGWFPRIQAQPGEE WLQVDLGTPKTVKGVIQGARGGDSITAVEARAFVRKFKV SYSLNGKDWEYIQDPRTQQPKLFEGNMHYDTPDIRRFDPI PAQYVRVYPERWSPAGIGMRLEVLGCDWTDKPTVETLG PTVKSEETTPYPTTEEEATECGENCSFEDDKDLQLPSGFNC NFDLEPCGWMYDHAKWLRTTWASSSSPNDRTPDDR NFLRLQSDSQREGQYARLISPPVHLPRSPVCMEFYQATG GRGVALQVVREASQESKLLWVIREDDQGGEWKHGRILPSY DMEYQIVFEGVIGKGRSGEIAIDDIRISTDVPLENCMEPISA FAGGTLPGTEPTVDTVPMQPIPAYWYVMAAGGAVLV VSVALALVLHYHRFRYAARKTDHSITYKTSHTNGAPLAVE PTLTIKLEQDRGSHC	
人 NRP2 变体 6 前体 S9NRP2b 可溶性 NRP2	1-555	MDMFPLTWVFLALYFSRHQVRGQPDPPCGGRLNSKDAG YITSPGYPDYPSHQNCEWIVYAPEPNQKIVLNFNPHFEIE KHDCKYDFIEIRDGDSEADLLGKHCGNIAPPTIISGSMYI KFTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGSEDCSKNFTSPNGTIESPG FPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEIILQFLIFDLEHDPLQVGEG DCKYDWLDIWDGIPHVGPLIGKYCGTKTPSELRSSTGILSLT FHTDMAVAKDGFSAARYLVHQEPLNFQCNVPLGMESGR IANEQISASSTYSDGRWTPQQSRLHGDDNGWTPNLDSN KEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRETQNGYYVKSYLEVST NGEDWMVYRHGKNHKVFQANNDATEVVLNKLHAPLLTR FVRIRPQTWHSGIALRLELFGCRVTDAPCSNMLGMLSLGLI ADSQISASSTQEYLWSPSAARLVSSRSGWFPRIQAQPGEE EWLQVDLGTPKTVKGVIQGARGGDSITAVEARAFVRKFK VSYSLNGKDWEYIQDPRTQQPKVGCWRPL	6
人 NRP2 变体 2 NRP2a(17)	23-926	QPDPPCGGRLNSKDAGYITSPGYPDYPSHQNCEWIVYA PEPNQKIVLNFNPHFEIEKHDCKYDFIEIRDGDSEADLLGK HCGNIAPPTIISGSMYIKFTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGS EDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEI LQFLIFDLEHDPLQVGEGDCKYDWLDIWDGIPHVGPLIGK YCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVHQ EPLNFQCNVPLGMESGRIANEQISASSTYSDGRWTPQQ SRLHGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGA SRETQNGYYVKSYLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQA NNDATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSGIALRLELFGC RVTDAPCSNMLGMLSLGLIADSQISASSTQEYLWSPSAARL VSSRSGWFPRIQAQPGEEWLQVDLGTPKTVKGVIQGA RGGDSITAVEARAFVRKFKVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQP KLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIGM RLEVLGCDWTDKPTVETLGPTVKSEETTPYPTTEEEATEC GENCSFEDDKDLQLPSGFNCNFDLEPCGWMYDHAKW LRTTWASSSSPNDRTPDDRNFLRLQSDSQREGQYARLIS PVHLPRSPVCMEFYQATGGRGVALQVVREASQESKLLW	7

[0323]

		VIREDQGGGEWKHGRILPSYDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIA IDDIRISTDVPLENCMEPISAFVDIPEIHEREGYEDEIDDEY EVDWSNSSSATS GSGAPSTDKEKSWLYTLDPILITIAMSSL GVLLGATCAGLLYCTCSYSGLSRSCTTLENYNFELYDGLK HKVKMNHQKCCSEA	
NRP2 剪接 变体 5 NRP2b(0)	23-901	QPDPPCGRLNSKDAGYITSPGYQQDYPSHQNCEWIVYA PEPNQKIVLNFNPHFEIEKHCKYDFIEIRDGDSEADLLGK HCGNIAPPTIISSGSMYIKFTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGS EDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEII LQFLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGPGLIGK YCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVHQ EPLNFQCNVPLGMESGRIANEQISASSTYS DGRWTPQQ SRLHGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAI SRETQNGYYVKSYLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQA NNDATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSIALRLLEFGC RVTDA PCSNMLGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAARL VSSRSGWFPRIPQAQPGEEWLQVDLGTPKTVKGVIQGA RGGDSITAVEARAFVRKFVSYSLNGKDWEYIQDPRTPQQP KLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIGM RLEV LGCDWTD SKPTVETLGPTVKSEETTPYPTTEEEATEC GENCSFEDDKDLQLPSGFNCNFDLEPCGWMYDHAKW LRTTWASSSSPNDRTPDDRNLRLQSDSQREGQYARLISP PVHLPRSPVCMFQYQATGGRGVALQVVREASQESKLLW VIREDQGGGEWKHGRILPSYDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIA IDDIRISTDVPLENCMEPISAFAGGTLLPGTEPTVDTVPMQ PIPAYWYYVMAAGGAVLVLSVALALVLYHFRFRAAKKT DHSITYKTSHYTNGAPLAVEPTLTIKLEQDRGSHC	8
可溶性 NRP2 S9Nrp-2b	23-555	QPDPPCGRLNSKDAGYITSPGYQQDYPSHQNCEWIVYA PEPNQKIVLNFNPHFEIEKHCKYDFIEIRDGDSEADLLGK HCGNIAPPTIISSGSMYIKFTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGS EDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEII LQFLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGPGLIGK YCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVHQ EPLNFQCNVPLGMESGRIANEQISASSTYS DGRWTPQQ SRLHGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAI SRETQNGYYVKSYLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQA NNDATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSIALRLLEFGC RVTDA PCSNMLGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAARL VSSRSGWFPRIPQAQPGEEWLQVDLGTPKTVKGVIQGA RGGDSITAVEARAFVRKFVSYSLNGKDWEYIQDPRTPQQP KVGCSWRPL	9
NRP2 A1 结 构域	28-141	CGRLNSKDAGYITSPGYQQDYPSHQNCEWIVYAPEPNQ KIVLNFNPHFEIEKHCKYDFIEIRDGDSEADLLGKHCGNI APPTIISSGSMYIKFTSDYARQGAGFSLRYEI	10
NRP2 A2 结 构域	149-265	CSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEIILQ FLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGPGLIGKYC GKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYY	11
NRP2 B1 结	280-426	PLGMESGRIANEQISASSTYS DGRWTPQQSRLHGDDNG WTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRETQNGYY	12

[0324]

构域		VKSYKLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQANNDATEVVL NKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSIALRLELFG	
NRP2 B2 结 构域	438-591	LGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAARLVSSRSWFPRI PQAQPGEEWLQVDLGTPKTVKGVIIQGARGGDSITAVEAR AFVRKFKVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQPKLFEGNMHYDT PDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIGMRLEVLG	13
NRP2 C 结构 域	641-794	PSGFNCNFDLEPCGWMYDHAKWLRTTWASSSSPNDR TFPDDRNFLRLQSDSQREGQYARLISPPVHLPRSPVCMF QYQATGGRGVALQVREASQESKLLWVIREDDQGGWKH GRIILPSYDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIAIDDIRISTD	14
NRP2 A1A2 组合 结构域	23-265	QPDPPCGGRLNSKDAGYITSPGYPQDYPHQNCEWIVYA PEPNQKIVLNFNPHFEIEKHCKYDFIEIRDGDSEADLLGK HCGNIAPPTIISSGSMLYIKFTSDYARQGAGFSRLYEIFKTGS EDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEII LQFLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGPLIGK YCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARY	15
NRP2 A2B1 组合 结构域	149-426	CSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEIILQ FLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGPLIGKYC GKTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVHQEPL ENFQCNVPLGMESGRIANEQISASSTYSDGRWTPQQSRL HGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRE TQNGYYVKSYLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQANN DATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSIALRLELFG	16
NRP2 A1A2B1 组 合结构域	23-426	QPDPPCGGRLNSKDAGYITSPGYPQDYPHQNCEWIVYA PEPNQKIVLNFNPHFEIEKHCKYDFIEIRDGDSEADLLGK HCGNIAPPTIISSGSMLYIKFTSDYARQGAGFSRLYEIFKTGS EDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEII LQFLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGPLIGK YCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVHQ EPLNFQCNVPLGMESGRIANEQISASSTYSDGRWTPQQ SRLHGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAIS RETQNGYYVKSYLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQAN NDATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSIALRLELFG	17
NRP2 A1A2B1B2 组合结构域	23-595	QPDPPCGGRLNSKDAGYITSPGYPQDYPHQNCEWIVYA PEPNQKIVLNFNPHFEIEKHCKYDFIEIRDGDSEADLLGK HCGNIAPPTIISSGSMLYIKFTSDYARQGAGFSRLYEIFKTGS EDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEII LQFLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGPLIGK YCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVHQ EPLNFQCNVPLGMESGRIANEQISASSTYSDGRWTPQQ SRLHGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAIS RETQNGYYVKSYLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQAN NDATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSIALRLELFGC RVTDA PCSNMLGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAARL VSSRSWFPRI PQAQPGEEWLQVDLGTPKTVKGVIIQGA RGGDSITAVEARAFVRKFKVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQP KLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIGM RLEVLGCDWT	18

[0325]

NRP2 A2B1B2 组合结构域	145-595	GSEDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKM EIILQFLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGLPI GKYCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVH QEPLNFQCNVPLGMESGRIANEQISASSTYS DGRWTPQ QSRLHGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQG AISRETQNGYYVKS YKLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVF QANNDATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSGIALRLELF GCRVTDAPCSNMLGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAA RLVSSRS GWFPRIQAQPGEEWLQVDLGTPKTVKGVIIQG ARGGDSITAVEARAFVRKFVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQ PKLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIG MRLEVLGCDWT	19
NRP2 B1B2 组合结构域	276-595	QCNVPLGMESGRIANEQISASSTYS DGRWTPQQSRLHGD DNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRETQN GYYVKS YKLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQANNDATE VVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSGIALRLELFGCRVTDAP CSNMLGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAA RLVSSRS GWFPRIPQAQPGEEWLQVDLGTPKTVKGVIIQGARGGDSI TAVEARAFVRKFVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQPKLFEGN MHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIGMRLEVLGC DWT	20
NRP2 v2 - Fc 融合蛋白	23-855	QPDPPCGGRLNSKDAGYITSPGYPPQDYP SHQNC EWIVYA PEPNQKIVLNFNPHFEIEKH DCKYDFIEIRDGDS ESADLLGK HCGNIAPPTIISSGSM LYIKFTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGS EDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEII LQFLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGLPIGLK YCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVHQ EPLENFQCNVPLGMESGRIANEQISASSTYS DGRWTPQQ SRLHGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGA SRETQNGYYVKS YKLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQA NNDATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSGIALRLELFGC RVTDA PCSNMLGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAA RLV SSRS GWFPRIQAQPGEEWLQVDLGTPKTVKGVIIQGA RGGDSITAVEARAFVRKFVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQP KLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIGM RLEVLGCDWTD SKPTVETLGPTVKSEETTPYPT EEEATEC GENCSFEDDKDLQLPSGFNCNFD FLEPCGW MYDHAKW LRTTWASSSSPNDRTPDDRNFRLRLQSDS QREGQYARLISP PVHLPRSPVCM EFQYQATGGRGVALQVVREASQESKLLW VIREDDQGG EWKHGRILPSYDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIA IDDIRISTDVPLENCMEPI SAFAVDIPEIHEREGYEDEIDDEY EVDWSNSSSATS GSGAPSTDKEKSWLYDKHTCPCPAPPE LLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	21
NRP2	145-595	GSEDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKM	22

[0326]

A2B1B2-Fc		EIILQFLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGLI GKYCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVH QEPLNFQCNVPLGMESGRIANEQISASSTYSDGRWTPQ QSRLHGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQG AISRETQNGYYVKSYLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVF QANNDATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSGIALRLELF GCRVTDAPCSNMLGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAA RLVSSRSGWFPRIPQAQPGEEWLQVDLGTPTVKGVIIQG ARGGDSITAVEARAFVRKFKVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQ PKLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIG MRLEVLGCDWTDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
NRP2 B2C 组合结 构域	438-794	LGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAAARLVSSRSGWFPRIP PQAQPGEEWLQVDLGTPTVKGVIIQGARGGDSITAVEAR AFVRKFKVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQPKLFEGNMHYDT PDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIGMRLEVLGCDWTD KPTVETLGPTVKSEETTPYPTTEEATECGENCSFEDDKDL QLPSGFNCNFDLEPCGWMYDHAKWLRTTWASSSPN DRTFPDDRNLRLQSDSQREGQYARLISPPVHLRSPVCM EFQYQATGGRGVALQVVREASQESKLLWVIREDDQGEWK HGRIILPSYDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIAIDDIRISTD	89
NRP2 B1B2C 组合 结构域	276-794	QCNVPLGMESGRIANEQISASSTYSDGRWTPQQSRLHGD DNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRETQ NGYYVKSYLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFNQANND ATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSGIALRLELF GCRVTDAPCSNMLGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAA RLVSSRSGWFPRIPQAQPGEEWLQVDLGTPTVKGVIIQG ARGGDSITAVEARAFVRKFKVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQ PKLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIG MRLEVLGCDWTDKPTVETLGPTVKSEETTPYPTTEEATE CGENCSFEDDKDLQLPSGFNCNFDLEPCGWMYDHAKWL RTTWASSSPNDRTFPDDRNLRLQSDSQREGQYARLISPP VHLRSPVCMFQYQATGGRGVALQVVREASQESKLLWVIR EDDQGEWKHGRIILPSYDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIAI DDIRISTD	90
NRP2 A2B1B2C 组 合结构域	149-802	CSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEILQ FLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGLI GKYCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVH QEPLNFQCNVPLGMESGRIANEQISASSTYSDGRWTPQQSRL HGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRE TQNGYYVKSYLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFNQANND ATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSGIALRLELF GCRVTDAPCSNMLGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAA RLVSSRSGWFPRIPQAQPGEEWLQVDLGTPTVKGVIIQG ARGGDSITAVEARAFVRKFKVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQ PKLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIG MRLEVLGCDWTDKPTVETLGPTVKSEETTPYPTTEEATE CGENCSFEDDKDLQLPSGFNCNFDLEPCGWMYDHAKWL RTTWASSSPNDRTFPDDRNLRLQSDSQREGQYARLISPP VHLRSPVCMFQYQATGGRGVALQVVREASQESKLLWVIR EDDQGEWKHGRIILPSYDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIAI DDIRISTD	121

[0327]

		GNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIGMRLEV LGCDWTDKPTVETLGPTVKSEETTPYPTEEEATECGENC SFEDDKDLQLPSGFNCNFDLEPCGWMYDHAKWLRTT WASSSSPNDRTPDDRNLRLQSDSQREGQYARLISPPVH LPRSPVCMFQYQATGGRGVALQVVREASQESKLLWVIRE DQGGGEWKHGRILPSYDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIAIDDI RISTDVPLENCME	
NRP2 A1A2B1B2C 组合结构域	23-802	QPDPPCGRLNSKDAGYITSPGYQQDYPSHQNCEWIVYA PEPNQKIVLNFNPHFEIEKHDCKYDFIEIRDGDSEADLLGK HCGNIAPPTIISSGSMYIKFTSDYARQGAGFSRLYEIFKTGS EDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEII LQFLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGPLIGK YCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVHQ EPLNFQCNVPLGMESGRANEQISASSTYSDGRWTPQQ SRLHGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAI SRETQNGYVVKSYKLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQA NNDATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSGIALRLELFGC RVTDA PCSNMLGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAARL VSSRSGWFPRIPQAQPGEEWLQVLDGTPKTVKGVIIQGA RGGDSITAVEARAFVRKFKVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQP KLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIGM RLEV LGCDWTDKPTVETLGPTVKSEETTPYPTEEEATEC GENCSFEDDKDLQLPSGFNCNFDLEPCGWMYDHAKW LRTTWASSSSPNDRTPDDRNLRLQSDSQREGQYARLIS PVHLPRSPVCMFQYQATGGRGVALQVVREASQESKLLW VIREDDQGGGEWKHGRILPSYDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIA IDDIRISTDVPLENCME	122
NRP2A A1A2B1B2C 组合结构域 +近膜区		QPDPPCGRLNSKDAGYITSPGYQQDYPSHQNCEWIVYA PEPNQKIVLNFNPHFEIEKHDCKYDFIEIRDGDSEADLLGK HCGNIAPPTIISSGSMYIKFTSDYARQGAGFSRLYEIFKTGS EDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEII LQFLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGPLIGK YCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVHQ EPLNFQCNVPLGMESGRANEQISASSTYSDGRWTPQQ SRLHGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAI SRETQNGYVVKSYKLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQA NNDATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSGIALRLELFGC RVTDA PCSNMLGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAARL VSSRSGWFPRIPQAQPGEEWLQVLDGTPKTVKGVIIQGA RGGDSITAVEARAFVRKFKVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQP KLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIGM RLEV LGCDWTDKPTVETLGPTVKSEETTPYPTEEEATEC GENCSFEDDKDLQLPSGFNCNFDLEPCGWMYDHAKW LRTTWASSSSPNDRTPDDRNLRLQSDSQREGQYARLIS PVHLPRSPVCMFQYQATGGRGVALQVVREASQESKLLW VIREDDQGGGEWKHGRILPSYDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIA IDDIRISTDVPLENCMEPISAFVDIPEIHEREGYEDEIDDEY EVDWSNSSSATSGSGAPSTDKEKSWLYTLDP	123
NRP2B		QPDPPCGRLNSKDAGYITSPGYQQDYPSHQNCEWIVYA	124

[0328]	A1A2B1B2C 组合结构域 +近膜区	PEPNQKIVLNFNPHFEIEKHDCKYDFIEIRDGDSEADLLGK HCGNIAPPTIISSGSMLYIKFTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGS EDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEII LQFLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGLIGK YCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVHQ EPLNFQCNVPLGMESGRIANEQISASSTYS DGRWTPQQ SRLHGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAI SRETQNGYVVKSYKLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQA NNDATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSGIALRLELFGC RVTDA PCSNMLGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAARL VSSRS GWFPRIQAQPGEEWLQVDLGTPKTVKGVIIQGA RGGDSITAVEARAFVRKFKVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQP KLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIGM RLEVLGCDWTD SKPTVETLGPTVKSEETTPYPTEEEATEC GENCSFEDDKDLQLPSGFNCNDFLEPCGW MYDHAKW LRTTWASSSSPNDRTPDDRNLRLQSDSQREGQYARLISP PVHLPRSPVCM EFQYQATGGRGVALQVVREASQESKLLW VIREDDQGG EWKHGRIILPSYDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIA IDDIRISTDVPLENCMEPISAFAGGTL LPGTEPTVDTVPMQ PIPAY	
	NRP2 (23-595)-Fc	QPDPPCGRLNSKDAGYITSPGYQDYP SHQNC EWIVYA PEPNQKIVLNFNPHFEIEKHDCKYDFIEIRDGDSEADLLGK HCGNIAPPTIISSGSMLYIKFTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGS EDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEII LQFLIFDLEHDPLQVGECDCKYDWLDIWDGIPHVGLIGK YCGTKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSAARYLVHQ EPLNFQCNVPLGMESGRIANEQISASSTYS DGRWTPQQ SRLHGDDNGWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAI SRETQNGYVVKSYKLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQA NNDATEVVLNKLHAPLLTRFVRIRPQTWHSGIALRLELFGC RVTDA PCSNMLGMLSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAARL VSSRS GWFPRIQAQPGEEWLQVDLGTPKTVKGVIIQGA RGGDSITAVEARAFVRKFKVSYSLNGKDWEYIQDPRTQQP KLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYPERWSPAGIGM RLEVLGCDWTDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	120

[0329] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与全长人NRP2多肽或选自表N1的人NRP2多肽特异性结合。在一些实施例中,所述抗体或其抗原结合片段以约10pM到约500pM或到约50nM、或约、至少约或不超过约10pM、20pM、30pM、40pM、50pM、60pM、70pM、80pM、90pM、100pM、110pM、120pM、130pM、140pM、150pM、160pM、170pM、180pM、190pM、200pM、300pM、400pM、500pM、600pM、700pM、800pM、900pM、1nM、10nM、25nM或50nM的亲和力,或任选地以范围为约10pM到约500pM、约10pM到约400pM、约10pM到约300pM、约10pM到约200pM、约10pM到约100pM、约10pM到约50pM、或约20pM到约500pM、约20pM到约400pM、约20pM到约300pM、约20pM到约200pM、约20pM到约100pM、约20pM到约50pM、或约30pM到约500pM、约30pM到约400pM、约30pM到约300pM、约30pM到约200pM、约30pM到约100pM、约30pM到约50pM、或约20pM到约200pM、约30pM到约300pM、约40pM到约400pM、约50pM到约500pM、约60pM到约

600pM、约70pM到约700pM、约80pM到约800pM、约90pM到约900pM、约100pM到约1nM、约1nM到约5nM、约5nM到约10nM、约10nM到25nM或约25nM到约50nM的亲合力与所述人NRP2多肽结合。

[0330] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与至少一个神经纤毛蛋白结构域中的至少一个表位特异性结合。示例性神经纤毛蛋白结构域包含以下中的一个或多个:神经纤毛蛋白A1结构域(SEQ ID NO:10)、神经纤毛蛋白A2结构域(SEQ ID NO:11)、神经纤毛蛋白B1结构域(SEQ ID NO:12)、神经纤毛蛋白B2结构域(SEQ ID NO:13)、神经纤毛蛋白C结构域(SEQ ID NO:14)、神经纤毛蛋白A1/A2组合结构域(SEQ ID NO:15)、神经纤毛蛋白B1/B2组合结构域(SEQ ID NO:20)、神经纤毛蛋白A2/B1组合结构域(SEQ ID NO:16)、神经纤毛蛋白B2/C组合结构域(SEQ ID NO:89)、神经纤毛蛋白A2/B1/B2组合结构域(SEQ ID NO:19)、神经纤毛蛋白A2/B1/B2/C组合结构域(SEQ ID NO:121)、神经纤毛蛋白A1/A2/B1组合结构域(SEQ ID NO:17)、神经纤毛蛋白A1/A2/B1/B2组合结构域(SEQ ID NO:18)、神经纤毛蛋白A1/A2/B1/B2/C组合结构域(SEQ ID NO:122)和神经纤毛蛋白B1/B2/C组合结构域(SEQ ID NO:90)。在具体实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述神经纤毛蛋白B1结构域、所述神经纤毛蛋白B2结构域和/或所述神经纤毛蛋白B1/B2组合结构域(参见表N1)中的至少一个表位特异性结合。在特定实施例中,所述抗体或其抗原结合片段以约10pM到约500pM或到约50nM、或约、至少约或不超过约10pM、20pM、30pM、40pM、50pM、60pM、70pM、80pM、90pM、100pM、110pM、120pM、130pM、140pM、150pM、160pM、170pM、180pM、190pM、200pM、300pM、400pM、500pM、600pM、700pM、800pM、900pM、1nM、10nM、25nM或50nM的亲合力,或任选地以范围为约10pM到约500pM、约10pM到约400pM、约10pM到约300pM、约10pM到约200pM、约10pM到约100pM、约10pM到约50pM、或约20pM到约500pM、约20pM到约400pM、约20pM到约300pM、约20pM到约200pM、约20pM到约100pM、约20pM到约50pM、或约30pM到约500pM、约30pM到约400pM、约30pM到约300pM、约30pM到约200pM、约30pM到约100pM、约30pM到约50pM、或约20pM到约200pM、约30pM到约300pM、约40pM到约400pM、约50pM到约500pM、约60pM到约600pM、约70pM到约700pM、约80pM到约800pM、约90pM到约900pM、约100pM到约1nM、约1nM到约5nM、约5nM到约10nM、约10nM到25nM或约25nM到约50nM的亲合力与所述至少一个结构域(或其中的至少一个表位)结合。

[0331] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述神经纤毛蛋白A1结构域、所述神经纤毛蛋白A2结构域和/或所述神经纤毛蛋白A1A2组合结构域中的至少一个表位,包含相邻的接头区,特异性结合,例如,大约在以下残基处结合:(神经纤毛蛋白A1结构域)20-148、30-141、40-141、50-141、60-141、70-141、80-141、90-141、100-141、110-141、120-141、130-141;20-130、20-120、20-110、20-100、20-90、20-80、20-70、20-60、20-50、20-40或20-30,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2)所定义的;或者例如大约在以下残基处结合:(神经纤毛蛋白A2结构域)142-280、150-265、160-265、170-265、180-265、190-265、200-265、210-265、220-265、230-265、240-265、250-265、260-265、141-270、141-260、141-250、141-240、141-230、141-220、141-210、141-200、141-190、141-180、141-170、141-160、141-150、200-250、210-250、220-250、230-250、200-240、210-240、220-240、230-240、227-247、228-247、229-247、230-247、231-247、232-247、233-247、234-247、235-247、236-247;227-246、227-245、227-244、227-243、227-242、227-241、227-240、227-239、227-238;235-240、236-239、236-238或残基237,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2)所定义的;或者例如,大约在以下残基处结

合：(组合A1A2结构域) 20-280、30-280、40-280、50-280、60-280、70-280、80-280、90-280、100-280、110-280、120-280、130-280、140-280、150-280、160-280、170-280、180-280、190-280、200-280、210-280、220-280、230-280、240-280、260-280、270-280、20-270、20-260、20-250、20-240、20-230、20-220、20-210、20-200、20-190、20-180、20-170、20-160、20-150、20-140、20-130、20-120、20-110、20-100、20-90、20-80、20-70、20-60、20-50、20-40或20-30，如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的。

[0332] 在特定实施例中，所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述神经纤毛蛋白B1结构域 (SEQ ID NO:12)、所述神经纤毛蛋白B2结构域 (SEQ ID NO:13) 和/或所述神经纤毛蛋白B1/B2组合结构域 (SEQ ID NO:20) 中的至少一个表位，包含相邻的接头区，特异性结合，例如，大约在以下残基处结合：(神经纤毛蛋白B1结构域) 266-426、280-426、290-426、300-426、310-426、320-426、330-426、340-426、350-426、360-426、370-426、380-426、390-426、400-426、410-426、420-426、280-420、280-410、280-400、280-390、280-380、280-370、280-360、280-350、280-340、280-330、280-320、280-310、280-300或280-290，如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的；(神经纤毛蛋白B2结构域) 438-591、450-591、460-591、470-591、480-591、490-591、500-591、510-591、520-591、530-591、540-591、550-591、560-591、570-591、580-591、438-590、438-580、438-570、438-560、438-550、438-540、438-530、438-520、438-510、438-500、438-490、438-480、438-470、438-460、438-450，如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的；或(神经纤毛蛋白B1/B2组合结构域) 266-591、276-591、286-591、296-591、306-591、316-591、326-591、336-591、346-591、356-591、366-591、376-591、386-591、396-591、406-591、416-591、426-591、436-591、446-591、456-591、466-591、476-591、486-591、498-591、508-591、518-591、528-591、538-591、548-591、558-591、568-591、578-591、588-591、266-581、266-571、266-561、266-551、266-541、266-531、266-521、266-511、266-501、266-491、266-481、266-471、266-461、266-451、266-441、266-431、266-421、266-411、266-401、266-391、266-381、266-371、266-361、266-351、266-341、266-331、266-321、266-311、266-301、266-291、266-281或266-271，如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的。

[0333] 在一些实施例中，所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述神经纤毛蛋白A2/B1组合结构域和/或所述神经纤毛蛋白B2C组合结构域中的至少一个表位，包含相邻的接头区，特异性结合，例如，大约在以下残基处结合：(神经纤毛蛋白A2B1组合结构域) 149-437、159-426、169-426、179-426、189-426、199-426、209-426、219-426、229-426、239-426、249-426、259-426、269-426、279-426、289-426、299-426、309-426、319-426、329-426、339-426、349-426、359-426、369-426、379-426、389-426、399-426、409-426、419-426、149-436、149-426、149-416、149-406、149-396、149-386、149-376、149-366、149-356、149-346、149-336、149-326、149-316、149-306、149-296、149-286、149-276、149-266、149-256、149-246、149-236、149-226、149-216、149-206、149-196、146-186、146-176、146-166或146-155，如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2) 所定义的；或者例如，大约在以下残基处结合：(神经纤毛蛋白B2C组合结构域) 438-794、448-794、458-794、468-794、478-794、487-794、497-794、507-794、517-794、527-794、537-794、547-794、557-794、567-794、587-794、597-794、607-794、617-794、627-794、637-794、647-794、657-794、667-794、677-794、687-794、697-794、707-794、717-794、727-794、737-794、747-794、757-794、767-794、777-794、787-794、427-794、438-784、438-

774、438-764、438-754、438-744、438-734、438-728、438-714、438-704、438-694、438-684、438-674、438-664、438-654、438-644、438-634、438-624、438-614、438-604、438-596、438-586、438-576、438-566、438-556、438-546、438-536、438-526、438-516、438-506、438-494、438-484、438-474、438-464、438-454、438-444,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2)所定义的。

[0334] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述神经纤毛蛋白C结构域中的至少一个表位,包含相邻的接头区,特异性结合,例如,大约在以下残基处结合:591-794、600-794、610-794、620-794、630-794、640-794、650-794、660-794、670-794、680-794、690-794、700-794、710-794、720-794、730-794、740-794、750-794、760-794、770-794、780-794、790-794、591-790、591-780、591-770、591-760、591-750、591-740、591-730、591-720、591-710、591-700、591-690、591-680、591-670、591-660、591-650、591-640、591-630、591-620、591-610或591-600,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2)所定义的。

[0335] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述神经纤毛蛋白B1/B2/C组合结构域中的至少一个表位,包含相邻的接头区,特异性结合,例如,大约在以下残基处结合:276-794、286-794、296-794、306-794、316-794、326-794、336-794、346-794、356-794、366-794、376-794、387-794、396-794、406-794、416-794、426-794、436-794、446-794、456-794、466-794、476-794、486-794、496-794、506-794、516-794、526-794、536-794、546-794、556-794、566-794、576-794、586-794、596-794、606-794、616-794、626-794、636-794、646-794、656-794、666-794、676-794、686-794、696-794、706-794、716-794、726-794、736-794、746-794、756-794、766-794、776-794、786-794、266-794、276-784、276-774、276-764、276-754、276-744、276-734、276-724、276-714、276-704、276-694、276-684、276-674、276-664、276-654、276-644、276-634、276-624、276-614、276-604、276-594、276-584、276-574、276-564、276-554、276-544、276-534、276-524、276-514、276-504、276-594、276-584、276-574、276-564、276-554、276-544、276-534、276-524、276-514、276-504或276-496,如SEQ ID NO:1 (FL人NRP2)所定义的。

[0336] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与由两个或更多个不连续表位区构成的构象表位特异性结合。在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与包括以下或由以下组成的构象表位特异性结合:

[0337] (a) 所述人NPR2多肽的所述A1结构域内的第一表位区和所述A2结构域内的第二表位区;

[0338] (b) 所述人NPR2多肽的所述A1结构域内的第一表位区和所述B1结构域内的第二表位区;

[0339] (c) 所述人NPR2多肽的所述A1结构域内的第一表位区和所述B2结构域内的第二表位区;

[0340] (d) 所述人NPR2多肽的所述A1结构域内的第一表位区和所述C结构域内的第二表位区;

[0341] (e) 所述人NPR2多肽的所述A2结构域内的第一表位区和所述B1结构域内的第二表位区;

[0342] (f) 所述人NPR2多肽的所述A2结构域内的第一表位区和所述B2结构域内的第二表位区;

[0343] (g) 所述人NPR2多肽的所述A2结构域内的第一表位区和所述C结构域内的第二表位区;

[0344] (h) 所述人NPR2多肽的所述B1结构域内的第一表位区和所述B2结构域内的第二表位区;

[0345] (i) 所述人NPR2多肽的所述B1结构域内的第一表位区和所述C结构域内的第二表位区;或

[0346] (j) 所述人NPR2多肽的所述B2结构域内的第一表位区和所述C结构域内的第二表位区。

[0347] 在一些实施例中,所述抗体或其抗原结合片段与人NRP2多肽的与至少一个“NRP2配体”——包含与人NRP2相互作用或可逆结合的任何分子——结合或相互作用的区内的至少一个表位特异性结合。“NRP2配体”的一般实例包含如HRS多肽等多肽、可溶性配体、受体(例如,细胞表面受体),包含生长因子、生长因子受体等,并且本文中详细描述了NRP2配体的具体实例。在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段调节(例如,拮抗、干扰、激动、增强)所述人NRP2多肽与至少一种“NRP2配体”的结合。

[0348] 如上所述,在某些实施例中,所述至少一种NRP2配体是HRS多肽。因此,在某些实施例中,抗体或其抗原结合片段与人NRP2多肽的与至少一种人HRS多肽结合或相互作用的区内的至少一个表位特异性结合,并且由此调节人NRP2多肽与人HRS多肽的结合。下表H1提供了示例性HRS多肽。

[0349]

表 H1. 示例性人 HRS 多肽			
名称	残基	序列	SEQ ID NO:
FL 胞质野生型	1-509	MAERAAL EELVKLQGERVRGLKQQKASAE LIEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLKTPKGT RDYSPRQMAVREKVF DVIIRCF KRHGAEVIDTPVFELKETLMGKYGEDSKLIYDLKDQGGELLS LRYDLTPVFARYLAMNKL TNIKRYHIAKVYRRDNPAMTRGRY REFYQCDFDIAGNFDPMIPDAECLKIMCEILSSLQIGDFLVKV NDRRILDGMFAICGVSDSKFRTICSSVDKLDKVSWE EVKNE MVGEKGLAPEVADRIGDYVQQHGGVSLVEQLLQDPKLSQN KQALEGLGDLKLLFEYLT LFGIDDKISFDLSLARGLDYYTGV IYE AVLLQTPAQAGEEPLGVGSVAAGGRYDGLVGMFDPKGRKV PCVGLSIGVERIFSIVEQRLEALEEKIRT TETQVLVASAQKKLLE ERLKLVS ELWDAGIKAELLYKKNPKLLNLQYCEEAGIPLVAII GEQELKDGVIKLRSVTSREEVDVRREDLVEEIKRRTGQPLCIC	91
HisRS1 ^{N1}	1-141	MAERAAL EELVKLQGERVRGLKQQKASAE LIEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLKTPKGT RDYSPRQMAVREKVF DVIIRCF KRHGAEVIDTPVFELKETLMGKYGEDSKLIYDLKDQGGELLS LRYDLTPVFARYLAM	92
HisRS1 ^{N2}	1-408	MAERAAL EELVKLQGERVRGLKQQKASAE LIEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLKTPKGT RDYSPRQMAVREKVF DVIIRCF KRHGAEVIDTPVFELKETLMGKYGEDSKLIYDLKDQGGELLS LRYDLTPVFARYLAMNKL TNIKRYHIAKVYRRDNPAMTRGRY REFYQCDFDIAGNFDPMIPDAECLKIMCEILSSLQIGDFLVKV NDRRILDGMFAICGVSDSKFRTICSSVDKLDKVSWE EVKNE MVGEKGLAPEVADRIGDYVQQHGGVSLVEQLLQDPKLSQN KQALEGLGDLKLLFEYLT LFGIDDKISFDLSLARGLDYYTGV IYE AVLLQTPAQAGEEPLGVGSVAAGGRYDGLVGMFDPKGRKV PCVGLSIGVERIFSIVEQRLEALEEKIRTTE	93
HisRS1 ^{N3}	1-113	MAERAAL EELVKLQGERVRGLKQQKASAE LIEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLKTPKGT RDYSPRQMAVREKVF DVIIRCF KRHGAEVIDTPVFELKETLMGKYGEDSKL	94
HisRS1 ^{N4}	1-60	MAERAAL EELVKLQGERVRGLKQQKASAE LIEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLKTPK	95
HisRS1 ^{N5}	1-243 + 27aa	MAERAAL EELVKLQGERVRGLKQQKASAE LIEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLKTPKGT RDYSPRQMAVREKVF DVIIRCF KRHGAEVIDTPVFELKETLMGKYGEDSKLIYDLKDQGGELLS LRYDLTPVFARYLAMNKL TNIKRYHIAKVYRRDNPAMTRGRY REFYQCDFDIAGNFDPMIPDAECLKIMCEILSSLQIGDFLVKV NDRRILDGMFAICGVSDSKFRTICSSVDKLDKVGYPWWNSC SRILNYPKTSRPWRAWET	96
HisRS1 ^{C1}	405-509	RTTETQVLVASAQKKLLEERLKLVS ELWDAGIKAELLYKKNPK LLNLQYCEEAGIPLVAII GEQELKDGVIKLRSVTSREEVDVRR EDLVEEIKRRTGQPLCIC	97
HisRS1 ^{C2}	1-60 + 175-509	MAERAAL EELVKLQGERVRGLKQQKASAE LIEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLKTPKDFDIAGNFDPMIPDAECLKIMCEI LSSLQIGDFLVKVNDRRILDGMFAICGVSDSKFRTICSSVDKL DKVSWE EVKNEMVGEKGLAPEVADRIGDYVQQHGGVSLV	98

[0350]

		EQLLQDPKLSQNKQALEGLGDLKLLFEYLTFLGIDDKISFDLSL ARGLDYYTGVIYEAVLLQTPAQAGEEPLGVGSVAAGGRYDGLVGMFDPKGRKVP CVGLSIGVERIFSIVEQRLEALEEKIRTTETQVLVASAQKKLLEERLKL VSELWDAGIKAELLYKKNPKLLNQLQYCEEAGIPLVAIIGEQELKDGVIK LRSVTSREEVDVRREDLVEIKRRTGQPLCIC	
HisRS1 ^{C3}	1-60 + 211-509	MAERAALVELVKLQGERVRGLKQKASAELEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLTTPKVNDRRILDGMFAICGVSDSKFRTICSSVDKLDK VSWEEVKNEVMGEKGLAPEVADRIGDYVQQHGGVSLVEQLLQDPKLSQNKQ ALEGLGDLKLLFEYLTFLGIDDKISFDLSLARGLDYYTGVIYEAVLLQTPAQ AGEEPLGVGSVAAGGRYDGLVGMFDPKGRKVP CVGLSIGVERIFSIVEQRLEALEEKIRTTETQVLVASAQKKLLEERLKL VSELWDAGIKAELLYKKNPKLLNQLQYCEEAGIPLVAIIGEQELKDGVIK LRSVTSREEVDVRREDLVEIKRRTGQPLCIC	99
HisRS1 ^{C4}	1-100 + 211-509	MAERAALVELVKLQGERVRGLKQKASAELEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLTTPKGTDRDYSRQMAVREKVFVDIRCFKRHGA EVIDTPVFELKVNDRRILDGMFAICGVSDSKFRTICSSVDKLDKVS WEEVKNEVMGEKGLAPEVADRIGDYVQQHGGVSLVEQLLQDPKLSQNKQ ALEGLGDLKLLFEYLTFLGIDDKISFDLSLARGLDYYTGVIYEAVLLQTPAQ AGEEPLGVGSVAAGGRYDGLVGMFDPKGRKVP CVGLSIGVERIFSIVEQRLEALEEKIRTTETQVLVASAQKKLLEERLKL VSELWDAGIKAELLYKKNPKLLNQLQYCEEAGIPLVAIIGEQELKDGVIK LRSVTSREEVDVRREDLVEIKRRTGQPLCIC	99
HisRS1 ^{C5}	1-174 + 211-509	MAERAALVELVKLQGERVRGLKQKASAELEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLTTPKGTDRDYSRQMAVREKVFVDIRCFKRHGA EVIDTPVFELKETLMGKYGEDSKLIYDLKDQGGELLSRYDLTPFARYL AMNKLTNIKRYHIAKVYRRDNPAMTRGRYREFYQCVNDRRILDGMFAIC GVSDSKFRTICSSVDKLDKVSWEVKNEVMGEKGLAPEVADRIGDYVQQH GGVSLVEQLLQDPKLSQNKQALEGLGDLKLLFEYLTFLGIDDKISFDLS LARGLDYYTGVIYEAVLLQTPAQAGEEPLGVGSVAAGGRYDGLVGMFDP KGRKVP CVGLSIGVERIFSIVEQRLEALEEKIRTTETQVLVASAQKKLLEERLKL VSELWDAGIKAELLYKKNPKLLNQLQYCEEAGIPLVAIIGEQELKDGVIK LRSVTSREEVDVRREDLVEIKRRTGQPLCIC	100
HisRS1 ^{C6}	1-60 + 101-509	MAERAALVELVKLQGERVRGLKQKASAELEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLTTPKETLMGKYGEDSKLIYDLKDQGGELLSRYDL TPFARYL AMNKLTNIKRYHIAKVYRRDNPAMTRGRYREFYQCDFDIAGNFDPMIPDA ECLKIMCEILSSQIGDFLVKNDRRILDGMFAICGVSDSKFRTICSSVDKLDK VSWEEVKNEVMGEKGLAPEVADRIGDYVQQHGGVSLVEQLLQDPKLSQNKQ ALEGLGDLKLLFEYLTFLGIDDKISFDLSLARGLDYYTGVIYEAVLLQTPAQ AGEEPLGVGSVAAGGRYDGLVGMFDPKGRKVP CVGLSIGVERIFSIVEQRLEALEEKIRTTETQVLVASAQKKLLEERLKL VSELWDAGIKAELLYKKNPKLLNQLQYCEEAGIPLVAIIGEQELKDGVIK LRSVTSREEVDVRREDLVEIKRRTGQPLCIC	101

[0351]

HisRS1 ^{C7}	1-100 + 175-509	MAERAALEELVKLQGERVRGLKQQKASAEIEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLKTPKGTDRDYSRQMAVREKVFVDIIRCF KRHGAEVIDTPVFELKDFDIAGNFDPMPDAECLKIMCEILSS LQIGDFLVKVNDRRILDGMFAICGVSDSKFRTICSSVDKLDKV SWEEVKNEVMVGEKGLAPEVADRIGDYVQQHGGVSLVEQLL QDPKLSQNKQALEGLGDLKLLFEYLTFLGIDDKISFDLSLARGL DYTGVIYEAVLLQTPAQAGEEPLGVGSVAAGGRYDGLVGM FDPKGRKVPVGLSIGVERIFSIVEQRLEALEEKIRTETQVLV ASAQKKLEERLKLSELWDAGIKAELLYKKNPKLLNLQYCE EAGIPLVAIIGEQLKDGVIKLSVTSREEVDVRREDLVEEIKR RTGQPLCIC	102
HisRS1 ^{C8}	1-60 + 399-509	MAERAALEELVKLQGERVRGLKQQKASAEIEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLKTPKALEEKIRTETQVLVASAQKKLLEE RLKLSELWDAGIKAELLYKKNPKLLNLQYCEEAGIPLVAIIG EQELKDGVIKLSVTSREEVDVRREDLVEEIKRRTGQPLCIC	103
HisRS1 ^{C9}	1-100 + 399-509	MAERAALEELVKLQGERVRGLKQQKASAEIEEEVAKLLKLK AQLGPDESKQKFVLKTPKGTDRDYSRQMAVREKVFVDIIRCF KRHGAEVIDTPVFELKALEEKIRTETQVLVASAQKKLEERLK LVSELWDAGIKAELLYKKNPKLLNLQYCEEAGIPLVAIIGEQL KDGVIKLSVTSREEVDVRREDLVEEIKRRTGQPLCIC	104
HisRS1 ^{C10}	369-509	MFDPKGRKVPVGLSIGVERIFSIVEQRLEALEEKIRTETQVL VASAQKKLEERLKLSELWDAGIKAELLYKKNPKLLNLQYCE EEAGIPLVAIIGEQLKDGVIKLSVTSREEVDVRREDLVEEIK RRTGQPLCIC	105
HisRS1 ^{I1}	191-333	CLKIMCEILSSLQIGDFLVKVNDRRILDGMFAICGVSDSKFRTI CSSVDKLDKVSWEVKNEVMVGEKGLAPEVADRIGDYVQQH GGVSLVEQLLQDPKLSQNKQALEGLGDLKLLFEYLTFLGIDDK ISFDLSLARGLDYYTG	106
FL mito 野生型	1-506	MPLLGLLPRRAWASLLSQLLRPPCASCTGAVRCQSQVAEAV LTSQLKAHQEKNPFIKTPKGTDRDLSPQHMMVREKILDLVISC FKRHGAKGMDTPAFELKETLTEKYGEDSGLMYDLKDQGGEL LSLRYDLTPFARYLAMNKVKMKRYHVGKVVRRRESPTIVQ GRYREFCQCDFDIAGQFDPMPDAECLKIMCEILSGLQLGDF LIKVNDRRIVDGMFAVCGVPESKFRAICSSIDKLDKMAWKD VRHEMVVKGLAPEVADRIGDYVQCHGGVSLVEQMFQDP RLSQNKQALEGLGDLKLLFEYLTFLGIADKISFDLSLARGLDYY TGVIYEAVLLQTPAQAGEEPLNVGSVAAGGRYDGLVGMFDP KGHKVPCVGLSIGVERIFYIVEQRMKTGKGVRTTETQVFVA TPQKNFLQERLKLIAELWDSGIKAEMLYKNNPKLLTQLHYCE STGIPLVVIIGEQLKEGVKIRSVASREEVAIKRENFVAIEIQR LSES	107
	152-398	HVGKVVRRRESPTIVQGRYREFCQCDFDIAGQFDPMPDAE CLKIMCEILSGLQLGDFLIKVNDRRIVDGMFAVCGVPESKFR AICSSIDKLDKMAWKDVRHEMVVKGLAPEVADRIGDYVQ CHGGVSLVEQMFQDPRLSQNKQALEGLGDLKLLFEYLTFLGI ADKISFDLSLARGLDYYTGVIYEAVLLQTPAQAGEEPLNVGSV AAGGRYDGLVGMFDPKGHKVPCVGLSIGVERIFYIVEQRM	108
	294-372	QALEGLGDLKLLFEYLTFLGIDDKISFDLSLARGLDYYTGVIYE	109

		AVLLQTPAQAGEEPLGVGSVAAGGRYDGLVGMFDP	
氨基酰化 结构域和 反密码子 结合结构 域	54-509	FVLKTPKGTRDYSRQMAVREKVFVDIIRCFKRHGAVIDTP VFELKETLMGKYGEDSKLIYDLKDQGGELLSRYDLTPFARY LAMNKLNIKRYHIAKVYRRDNPAMTRGRYREFYQCDFDIA GNFDPMPDAECLKIMCEILSSLQIGDFLVKVNDRRILDGMF AICGVSDSKFRTICSSVDKLDKVSWEVKNEMVGEKGLAPE VADRIGDYVQQHGGVSLVEQLLQDPKLSQNKQALEGLGDL KLLFEYLTFLGIDDKISFDLSLARGLDYYTGVIYEAULLQTPAQ GEEPLGVGSVAAGGRYDGLVGMFDPKGRKPCVGLSIGVE RIFSIVEQRLEALEEKIRTETQVLVASAQKKLEERLKLSELW DAGIKAELLYKKNPKLLNQLQYCEEAGIPLVAIIGEQELKDGVI KLRSVTSREEVDVRREDLVEEIKRRTGQPLCIC	110
氨基酰化 结构域	54-398	FVLKTPKGTRDYSRQMAVREKVFVDIIRCFKRHGAVIDTP VFELKETLMGKYGEDSKLIYDLKDQGGELLSRYDLTPFARY LAMNKLNIKRYHIAKVYRRDNPAMTRGRYREFYQCDFDIA GNFDPMPDAECLKIMCEILSSLQIGDFLVKVNDRRILDGMF AICGVSDSKFRTICSSVDKLDKVSWEVKNEMVGEKGLAPE VADRIGDYVQQHGGVSLVEQLLQDPKLSQNKQALEGLGDL KLLFEYLTFLGIDDKISFDLSLARGLDYYTGVIYEAULLQTPAQ GEEPLGVGSVAAGGRYDGLVGMFDPKGRKPCVGLSIGVE RIFSIVEQRLE	111
[0352] 氨基酰化 (核) 结构 域	61-398	GTRDYSRQMAVREKVFVDIIRCFKRHGAVIDTPVFELKET LMGKYGEDSKLIYDLKDQGGELLSRYDLTPFARYLAMNKL TNIKRYHIAKVYRRDNPAMTRGRYREFYQCDFDIAGNFDP IPDAECLKIMCEILSSLQIGDFLVKVNDRRILDGMFAICGVSD SKFRTICSSVDKLDKVSWEVKNEMVGEKGLAPEVADRIGD YVQQHGGVSLVEQLLQDPKLSQNKQALEGLGDLKLLFEYLT FGIDDKISFDLSLARGLDYYTGVIYEAULLQTPAQAGEEPLGV GSVAAGGRYDGLVGMFDPKGRKPCVGLSIGVERIFSIVEQ RLE	112
反密码子 结合结构 域	399-509	ALEEKIRTETQVLVASAQKKLEERLKLSELWDAGIKAELLY KKNPKLLNQLQYCEEAGIPLVAIIGEQELKDGVIKLRSVTSREE VDVRREDLVEEIKRRTGQPLCIC	113
反密码子 结合 (核) 结构 域	406-501	TTETQVLVASAQKKLEERLKLSELWDAGIKAELLYKKNPKLL NQLQYCEEAGIPLVAIIGEQELKDGVIKLRSVTSREEVDVRRE DLVEEIKRR	114
HRS WHEP 共有序列		X _A -L-X _B -Q-G-X-X-V-R-X-L-K-X-X-K-A-X _C -V-X-X-L-L-X-L-K-X _D 其中: X 是任何氨基酸 X _A 是 0-50 个氨基酸 X _B 是约 5-7 个氨基酸, 优选地 6 个氨基酸 X _C 是约 7-9 个氨基酸, 优选地 8 个氨基酸 X _D 是 0-50 个氨基酸	115

[0353] 因此,在某些实施例中,所述至少一种NRP2配体选自表H1,并且所述抗NRP2抗体或其抗原结合片段调节(例如,干扰)人NRP2多肽(例如,选自表N1的人NRP2多肽)与选自表H1的人HRS多肽的结合。在一些实施例中,所述抗NRP2抗体或抗原结合片段与所述NRP2多肽的HRS多肽相互作用区特异性结合,并且在一些情况下例如作为激动剂抗体模拟所述HRS多肽与所述NRP2多肽的结合的一种或多种信号传导活性。“HRS多肽相互作用区”包含人NRP2多肽的区或结构域,所述区或结构域例如在不同NRP2配体(本文提供了其实例)、二聚化结构

域、蛋白质-蛋白质相互作用结构域的配体结合位点处或者在NRP2多肽内的对变构敏感的位点处与人HRS多肽的某一区或结构域相互作用以调节NRP2多肽的活性。

[0354] 在某些实施例中,抗体或其抗原结合片段是“封闭抗体”,所述封闭抗体完全或基本上抑制人NRP2多肽(例如,选自表N1)与如人HRS多肽等NRP2配体(例如,选自表H1)或其它NRP2配体(例如,选自表N2或表N3)之间的结合。在一些实施例中,在“封闭抗体”与NRP2多肽以基本上化学计量当量预温育后,“封闭抗体”抑制NRP2多肽与NRP2配体(例如,HRS多肽)之间的理论最大结合的约或至少约80-100%(例如,80%、85%、90%、95%或100%)。如本文所使用的,“化学计量当量”是指在给定方程式或反应中一种物质(例如,抗NRP2抗体)的摩尔数等于或基本上等于至少一种其它物质(例如,NRP2多肽)的摩尔数的情况。

[0355] 在某些实施例中,抗体或其抗原结合片段是“部分封闭抗体”,所述部分封闭抗体至少部分地但不完全抑制人NRP2多肽(例如,选自表N1)与如人HRS多肽等NRP2配体(例如,选自表H1)或其它NRP2配体(例如,选自表N2或表N3)之间的结合。在一些实施例中,在“部分封闭抗体”与NRP2多肽以化学计量预温育后,“部分封闭抗体”抑制NRP2多肽与NRP2配体(例如,HRS多肽)之间的理论最大结合的约或至少约20-80%(例如,20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%)。

[0356] 在具体实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段特异性抑制或以其它方式减少人NRP2多肽与选自表H1的HRS多肽剪接变体之间的结合,所述HRS多肽剪接变体例如选自以下中的一种或多种的HRS剪接变体:HisRS^{N1}、HisRS^{N2}、HisRS^{N3}、HisRS^{N4}(SV9)、HisRS^{N5}、HisRS^{C1}、HisRS^{C2}、HisRS^{C3}、HisRS^{C4}、HisRS^{C5}、HisRS^{C6}、HisRS^{C7}、HisRS^{C8}(SV11)和HisRS^{C9}(SV14)。

[0357] 如上所述,NRP2与除HRS以外的介导下游信号传导事件的多种NRP2配体相互作用。下表N2和表N3中提供了NRP2配体的另外的实例。

[0358]

表 N2. 示例性神经纤毛蛋白配体		
配体	NRP1	NRP2

[0359]

VEGF-A121	+	
VEGF-A145		+
VEGF-A165	+	+
VEGF-B167	+	
VEGF-C	+	+
VEGF-D	+	+
VEGF-E	+	
PlGF-2	+	+
VEGFR	+R1 和 R2	+R1、R2、R3
肝素	+	+
SEMA3A	+	
SEMA 3B、C、D、F、G	+	+
神经丛蛋白 A1、A2、A3、A4、D1	+	+
GIPC1	+	+
TGF- β 1、 β 2、 β 3 和 LAP	+	+
TbRI 和 TbRII	+	+
FGF-1、2、4 和 7	+	+
FGF 受体 1	+	+
整合素 (参见表 N3)	+	+
纤连蛋白	+	
半乳凝素-1 和半乳凝素受体	+	+
Li-CAM	+	+
Glat-1	+	
HRS 多肽 (参见表 H1)		+

[0360]

表 N3. 作为 NRP2 配体的脊椎动物整合素			
名称	异名	分布	配体
$\alpha_1\beta_1$	VLA-1	许多	胶原蛋白、层粘连蛋白
$\alpha_2\beta_1$	VLA-2	许多	胶原蛋白、层粘连蛋白
$\alpha_3\beta_1$	VLA-3	许多	层粘连蛋白-5
$\alpha_4\beta_1$	VLA-4	造血细胞	纤连蛋白、VCAM-1
$\alpha_5\beta_1$	VLA-5; 纤连蛋白受体	广泛分布	纤连蛋白和蛋白酶
$\alpha_6\beta_1$	VLA-6; 层粘连蛋白受体	广泛分布	层粘连蛋白
$\alpha_7\beta_1$		肌肉、神经胶质瘤	层粘连蛋白
$\alpha_L\beta_2$	LFA-1	T 淋巴细胞	ICAM-1、ICAM-2
$\alpha_M\beta_2$	Mac-1、CR3	中性粒细胞和单核细胞	血清蛋白、ICAM-1
$\alpha_{IIb}\beta_3$	纤维蛋白原受体; gpIIbIIIa	血小板	纤维蛋白原、纤连蛋白 ^[24]
$\alpha_v\beta_1$		眼部黑色素瘤; 神经系统肿瘤	玻连蛋白; 纤维蛋白原

[0361]	$\alpha_v\beta_3$	玻连蛋白受体	活化的内皮细胞、黑色素瘤、胶质母细胞瘤	玻连蛋白、纤连蛋白、纤维蛋白原、骨桥蛋白、Cyr61、甲状腺素、TETRAC
	$\alpha_v\beta_5$		广泛分布, 尤指是成纤维细胞、上皮细胞	玻连蛋白和腺病毒
	$\alpha_v\beta_6$		增生的上皮细胞, 尤指是肺和乳腺	纤连蛋白; TGF β 1+3
	$\alpha_v\beta_8$		神经组织; 周围神经	纤连蛋白; TGF β 1+3
	$\alpha_6\beta_4$		上皮细胞	层粘连蛋白

[0362] 因此,在某些实施例中,所述至少一种NRP2配体选自表N2和/或表N3。

[0363] 例如,在一些方面,所述至少一种NRP2配体是选自VEGF-A145、VEGF-A165、VEGF-C、VEGF-D和PIGF-2的VEGF(血管内皮生长因子)配体。VEGF-VEGFR2/3-NRP2相互作用与促进细胞迁移、细胞生长、细胞存活和细胞附着相关,并且还与淋巴管生成、增加血管通透性、激活整合素信号传导、促进囊泡运输和内化以及减缓细胞分化相关。因此,预期调节VEGF相关NRP2配体的抗NRP2抗体将用于调节这些途径中的一种或多种途径。

[0364] 在某些方面,所述至少一种NRP2配体是选自SEMA-3B、SEMA-3C、SEMA-3D、SEMA-3F和SEMA-3B中的一种或多种的臂板蛋白,或者是选自神经丛蛋白A1、A2、A3、A4和D1中的一种或多种的神经丛蛋白受体。SEMA通常通过VEGF与Sema信号传导途径之间存在紧密的动态相互作用来拮抗VEGF-C的效应。SEMA通常在免疫系统中起作用,以控制细胞移动、细胞迁移、细胞间通信和细胞活化。SEMA神经丛蛋白-NRP2相互作用与抑制细胞迁移、抑制细胞生长、促进细胞凋亡、抑制细胞附着、抑制整合素信号传导、促进细胞分化、抑制淋巴管生成、降低血管通透性、促进微管去稳定、介导肌动蛋白细胞骨架的塌缩和细胞收缩(包含生长锥塌缩和肌动球蛋白收缩)以及防止神经元细胞扩散和抑制轴突增生相关。因此,预期调节SEMA相关NRP2配体的抗NRP2抗体将用于调节这些途径中的一种或多种途径。

[0365] 在一些方面,所述至少一种NRP2配体是选自 $\alpha_v\beta_1$ 、 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_v\beta_6$ 、 $\alpha_v\beta_8$ 、 $\alpha_6\beta_1$ 和 $\alpha_6\beta_4$ 中的一种或多种的整合素。整合素-NRP2相互作用通常与细胞粘附、细胞生长、癌症生长和侵袭性增加相关。因此,预期调节整合素相关NRP2配体的抗NRP2抗体将用于调节这些途径中的一种或多种途径。

[0366] 在一些方面,所述至少一种NRP2配体选自TGF β 1、TGF β 2、TGF β 3和其对应的TGF β 受体。TGF- β 信号传导大量参与癌症中的EMT的调节,并且还参与纤维化发展(参见例如Gemmill等人,《科学信号(Sci.Signal.)》10eaag0528,2017)。NRP2B表达在异常肺中优先通过TGF- β 信号传导上调,并且在正常肺中表现出很少表达或未表现出表达。NRP2B表达增强迁移、侵袭、转移和肿瘤球形成,并且还增强与癌细胞中的EMT相关的获得性EGFR抑制剂耐药性。因此,预期调节TGF- β 相关NRP2配体的抗NRP2抗体将用于调节这些途径中的一种或多种途径。因此,在某些实施例中,抗NRP2抗体或其抗原结合片段例如通过与NRP2多肽的NRP2配体相互作用区特异性结合来调节NRP2多肽与来自表N2和/或表N3的NRP2配体中的至少一种配体之间的结合/信号传导活性。

[0367] 在一些情况下,所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与所述至少一种NRP2配体之间的所述结合/信号传导活性。例如,在一些实施例中,在抗NRP2抗体与NRP2多肽以基本上化学计量当量预温育后,抗NRP2抗体拮抗或减少NRP2多肽与NRP2配体之

间的理论最大结合/信号传导的约或至少约20-100% (例如, 约20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%或100%)。

[0368] 在一些情况下, 所述至少一种抗体或其抗原结合片段激动或增强所述NRP2多肽与所述至少一种NRP2配体之间的所述结合/信号传导活性。例如, 在一些实施例中, 在抗NRP2抗体与NRP2多肽以基本上化学计量当量预温育后, 抗NRP2抗体激动或增强NRP2多肽与所述至少一种NRP2配体之间的理论最大结合/信号传导活性的约或至少约20%-500% (例如, 约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%或500%)。

[0369] 在一些实施例中, 所述至少一种抗体或其抗原结合片段选择性调节臂板蛋白与NRP2多肽的结合和/或信号传导或臂板蛋白通过NRP2多肽进行的结合和/或信号传导。在一些方面, 这种抗体基本上不封闭VEGF-C或相关NRP2配体的相互作用。在一些方面, 这种抗体是关于臂板蛋白信号传导的激动性抗体。在一些方面, 这种抗体是关于臂板蛋白信号传导的拮抗性抗体。

[0370] 在一些实施例中, 所述至少一种抗体或其抗原结合片段选择性调节VEGF-C或相关NRP2配体与NRP2多肽的结合和/或信号传导或VEGF-C或相关NRP2配体通过NRP2多肽进行的结合和/或信号传导。在一些方面, 这种抗体基本上不封闭臂板蛋白的相互作用。在一些实施例中, 这种抗体选择性调节VEGF-C或相关NRP2配体和臂板蛋白与NRP2多肽的结合。在一些实施例中, 这种抗体是关于VEGF-C信号传导的激动性抗体。在一些方面, 这种抗体是关于VEGF-C信号传导的拮抗性抗体。

[0371] 在一些实施例中, 所述至少一种抗体或其抗原结合片段选择性调节整合素或相关NRP2配体与NRP2多肽的结合和/或信号传导。

[0372] 在一些实施例中, 所述至少一种抗体或其抗原结合片段选择性调节TGF β 1、TGF β 2、TGF β 3或其对应的TGF β 受体与NRP2多肽的结合和/或信号传导。

[0373] 在一些实施例中, 所述至少一种抗体或其抗原结合片段选择性调节成纤维细胞生长因子(FGF)、半乳凝素、肝细胞生长因子(HGF)、血小板源性生长因子和/或其对应的受体与NRP2多肽的结合和/或信号传导。

[0374] 在一些实施例中, 所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与神经丛蛋白受体和/或臂板蛋白之间的结合/信号传导活性, 而基本上不调节所述NRP2多肽与VEGFR3或VEGF-C之间的结合/信号传导活性。

[0375] 在一些实施例中, 所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与神经丛蛋白受体和/或臂板蛋白之间的结合/信号传导活性, 而基本上不调节所述NRP2多肽与HRS多肽之间的结合/信号传导活性。

[0376] 在一些实施例中, 所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与神经丛蛋白受体和/或臂板蛋白之间的结合/信号传导活性, 而基本上不调节所述NRP2多肽与HRS多肽之间的结合/信号传导活性, 并且基本上不调节所述NRP2多肽与VEGFR3或VEGF-C之间的结合/信号传导活性。

[0377] 在一些实施例中, 所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与VEGFR3之间的结合/信号传导活性, 而基本上不调节所述NRP2多肽与神经丛蛋白受体和/或臂板蛋白之间的结合/信号传导活性。

[0378] 在一些实施例中, 所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与

VEGR3或VEGF-C之间的结合/信号传导活性,而基本上不调节所述NRP2多肽与HRS多肽之间的结合/信号传导活性。

[0379] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与神经丛蛋白受体之间的结合/信号传导活性,而基本上不调节臂板蛋白3与NRP2的配体结合。

[0380] 在一些实施例中,所述神经丛蛋白受体选自神经丛蛋白A1、A2、A3、A4和D1。在一些实施例中,所述臂板蛋白选自臂板蛋白3B、3C、3D、3F和3G。

[0381] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述人NRP2 A2结构域内的表位特异性结合,所述表位包括SEQ ID NO:11的至少5个连续氨基酸,其中所述至少一种抗体或其抗原结合片段选择性地抑制NRP2与神经丛蛋白A1之间的受体二聚化,而基本上不抑制NRP2与FLT4 (VEGFR3) 之间的二聚化。在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与人NRP2 SEQ ID NO:1的氨基酸232-242内的表位特异性结合。

[0382] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述人NRP2 B1结构域内的表位特异性结合,所述表位包括SEQ ID NO:12的至少5个连续氨基酸,其中所述至少一种抗体或其抗原结合片段选择性地抑制NRP2与FLT4 (VEGFR3) 之间的受体二聚化,而基本上不抑制NRP2与神经丛蛋白A1之间的二聚化。

[0383] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述人NRP2 B2结构域内的表位特异性结合,所述表位包括SEQ ID NO:13的至少5个连续氨基酸,其中所述至少一种抗体或其抗原结合片段抑制NRP2与FLT4 (VEGFR3) 之间的受体二聚化并且抑制NRP2与神经丛蛋白A1之间的二聚化。

[0384] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段与所述人NRP2 C结构域内的表位特异性结合,所述表位包括SEQ ID NO:14的至少5个连续氨基酸,其中所述至少一种抗体或其抗原结合片段抑制NRP2与神经丛蛋白A1之间的受体二聚化并且部分抑制NRP2与FLT4 (VEGFR3) 之间的二聚化。

[0385] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段对(i) 人NRP2多肽和(ii) 食蟹猴NRP2多肽的对应区中的每一个都具有亲和力(K_d或EC₅₀),其中对(i) 和(ii) 的所述亲和力在以下范围内:约20pM到约200pM、约30pM到约300pM、约40pM到约400pM、约50pM到约500pM、约60pM到约600pM、约70pM到约700pM、约80pM到约800pM、约90pM到约900pM、约100pM到约1nM、约0.4nM到约1.2nM、约0.9nM到约5.5nM、约0.9nM到约5nM或约1nM到约10nM。

[0386] 在一些实施例中,所述至少一种抗体或其抗原结合片段对(i) 人NRP2多肽和(ii) 鼠NRP2多肽的对应区中的每一个都具有亲和力(K_d或EC₅₀),其中对(i) 和(ii) 的所述亲和力在以下范围内:约20pM到约200pM、约30pM到约300pM、约40pM到约400pM、约50pM到约500pM、约60pM到约600pM、约70pM到约700pM、约80pM到约800pM、约90pM到约900pM、约100pM到约1nM或约1nM到约10nM。

[0387] 在某些实施例中,抗体或其抗原结合片段以重链可变区(V_H) 序列和轻链可变区(V_L) 序列为特征或包括所述V_H序列和V_L序列,所述V_H序列包括互补决定区V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列,所述V_L序列包括互补决定区V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列。下表A1中提供了示例性V_H、V_HCDR1、V_HCDR2、V_HCDR3、V_L、V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列。

[0388] **表 A1. 示例性 CDR 序列**

[0389]

描述	序列	SEQ ID NO:
克隆 17F7		
V _H CDR1 Ab/克隆 aNRP2-1	GYTFTSYWMH	23
V _H CDR2 Ab/克隆 aNRP2-1	AIYPGNSDTSYNQQFKGKA	24
V _H CDR3 Ab/克隆 aNRP2-1	RGGGYFDY	25
V _L CDR1 Ab/克隆 aNRP2-1	KASQNVGAAVA	26
V _L CDR2 Ab/克隆 aNRP2-1	SASNRYT	27
V _L CDR3 Ab/克隆 aNRP2-1	QQYSSYPLLT	28
克隆 3F2		
V _H CDR1 Ab/克隆 aNRP2-2	GYTFTSYWMH	29
V _H CDR2 Ab/克隆 aNRP2-2	VIHPNSASTFYNERFKT	30
V _H CDR3 Ab/克隆 aNRP2-2	PGTVRRSDY	31
V _L CDR1 Ab/克隆 aNRP2-2	RSSQNIVHSTGNTYLE	32
V _L CDR2 Ab/克隆 aNRP2-2	KVSNRFS	33
V _L CDR3 Ab/克隆 aNRP2-2	FQGSHVPWT	34
克隆 8E2		
V _H CDR1 Ab/克隆 aNRP2-6	GFNIKDYIYH	35
V _H CDR2 Ab/克隆 aNRP2-6	RIDVEDDETKYAPKFQG	36
V _H CDR3 Ab/克隆 aNRP2-6	PIYGSREAWFAY	37
V _L CDR1 Ab/克隆 aNRP2-6	TASSSVSSSYLH	38
V _L CDR2 Ab/克隆 aNRP2-6	RTSNLAS	39
V _L CDR3 Ab/克隆 aNRP2-6	HQYYRSPPT	40
克隆 5H11		
V _H CDR1 Ab/克隆 aNRP2-7	GFNIKDYIYH	41
V _H CDR2 Ab/克隆 aNRP2-7	RIDVEDDETKYAPKFQG	42

[0390]

V _H CDR3 Ab/克隆 aNRP2-7	PIYGSREAFFAY	43
V _L CDR1 Ab/克隆 aNRP2-7	TASSSVSSSYLH	44
V _L CDR2 Ab/克隆 aNRP2-7	STSNLAS	45
V _L CDR3 Ab/克隆 aNRP2-7	HQYYRSPPT	46
克隆 7G10		
V _H CDR1 Ab/克隆 aNRP2-8	GFNVKDYYVH	47
V _H CDR2 Ab/克隆 aNRP2-8	RIDVEDDETKYAPKFQG	48
V _H CDR3 Ab/克隆 aNRP2-8	PIYGAREAWFAY	49
V _L CDR1 Ab/克隆 aNRP2-8	TANSSVSSSYLH	50
V _L CDR2 Ab/克隆 aNRP2-8	STSNLAS	51
V _L CDR3 Ab/克隆 aNRP2-8	HQYHRSPPT	52
克隆 9E7		
V _H CDR1 Ab/克隆 aNRP2-9	GFSLTNYGVY	53
V _H CDR2 Ab/克隆 aNRP2-9	VIWSGGSTDYNAAFIS	54
V _H CDR3 Ab/克隆 aNRP2-9	NGPNWDRGYAMDY	55
V _L CDR1 Ab/克隆 aNRP2-9	KSSQSLLNSRNQKNYLA	56
V _L CDR2 Ab/克隆 aNRP2-9	FASTRES	57
V _L CDR3 Ab/克隆 aNRP2-9	QQHYSTPFT	58
克隆 1E3		
V _H CDR1 Ab/克隆 aNRP2-10	GFNIKDYIYH	59
V _H CDR2 Ab/克隆 aNRP2-10	RIDVEDDETKYAPKFQG	60
V _H CDR3 Ab/克隆 aNRP2-10	PIYGSREAWFAY	61
V _L CDR1 Ab/克隆 aNRP2-10	TASSSVSSSYLH	62
V _L CDR2 Ab/克隆 aNRP2-10	STSNLAS	63

[0391]

V _L CDR3 Ab/克隆 aNRP2-10	HQYYRSPPT	64
克隆 13D7		
V _H CDR1 Ab/克隆 aNRP2-11	GYTFTSFGIS	65
V _H CDR2 Ab/克隆 aNRP2-11	EIYPRSGNTYYNENFKG	66
V _H CDR3 Ab/克隆 aNRP2-11	SSGYYGSTPPFY	67
V _L CDR1 Ab/克隆 aNRP2-11	RASQDISNYLN	68
V _L CDR2 Ab/克隆 aNRP2-11	YTSRLHS	69
V _L CDR3 Ab/克隆 aNRP2-11	QQGNTLPWT	70
克隆 20F3		
V _H CDR1 Ab/克隆 aNRP2-12	GYTFTTSGMS	71
V _H CDR2 Ab/克隆 aNRP2-12	WINTYSGVPTYADDFKG	72
V _H CDR3 Ab/克隆 aNRP2-12	YYSYYVDFDY	73
V _L CDR1 Ab/克隆 aNRP2-12	SASSSVSSSYLY	74
V _L CDR2 Ab/克隆 aNRP2-12	STSNLAS	75
V _L CDR3 Ab/克隆 aNRP2-12	HQWSSYPRT	76
克隆 18B8		
V _H CDR1 Ab/克隆 aNRP2-14	GFSLTSYGVH	77
V _H CDR2 Ab/克隆 aNRP2-14	LIWSGGSTDYSPAFIS	78
V _H CDR3 Ab/克隆 aNRP2-14	NSYSSGGYAMDY	79
V _L CDR1 Ab/克隆 aNRP2-14	KASQNVGTAVA	80
V _L CDR2 Ab/克隆 aNRP2-14	SASNRYT	81
V _L CDR3 Ab/克隆 aNRP2-14	QQYSSYPPT	82
克隆 19E8		
V _H CDR1 Ab/克隆 aNRP2-15	GFNIKDSFIH	83
V _H CDR2 Ab/克隆 aNRP2-15	RIDPEDETKYAPKFQG	84

[0392]	V _H CDR3 Ab/克隆 aNRP2-15	PIYGSREAWFAY	85
	V _L CDR1 Ab/克隆 aNRP2-15	TASSSVSSSYLH	86
	V _L CDR2 Ab/克隆 aNRP2-15	RTSNLAS	87
	V _L CDR3 Ab/克隆 aNRP2-15	HQYYRSPPT	88

[0393] 因此,在某些实施例中,抗体或其抗原结合片段包括:

[0394] 重链可变区(V_H)序列,所述V_H序列包括与人NRP2多肽(例如,选自表N1)特异性结合的选自表A1的互补决定区V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列和其变体;以及

[0395] 轻链可变区(V_L)序列,所述V_L序列包括与所述人NRP2多肽(例如,选自表N1)特异性结合的选自表A1的互补决定区V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列和其变体。

[0396] 在某些实施例中,所述CDR序列如下:

[0397] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:23-25,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:26-28,包含其变体;

[0398] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:29-31,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:32-34,包含其变体;

[0399] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:35-37,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:38-40,包含其变体;

[0400] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:41-43,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:44-46,包含其变体;

[0401] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:47-49,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:50-52,包含其变体;

[0402] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:53-55,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:56-58,包含其变体;

[0403] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:59-61,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:62-64,包含其变体;

[0404] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:65-67,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:68-70,包含其变体;

[0405] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:71-73,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:74-76,包含其变体;

[0406] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:77-79,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:80-82,包含其变体;

[0407] 所述V_HCDR1、V_HCDR2和V_HCDR3序列分别包括SEQ ID NO:83-85,并且所述V_LCDR1、V_LCDR2和V_LCDR3序列分别包括SEQ ID NO:86-88,包含其变体。

[0408] 还包含与人NRP2结合的其变体,包含亲和力成熟变体,例如,在所述CDR区中的一个或多个CDR区中具有1种、2种、3种、4种、5种或6种改变的变体,例如,本文所描述的V_HCDR1、V_HCDR2、V_HCDR3、V_LCDR1、V_LCDR2和/或V_LCDR3序列中的一个或多个。示例性“改变”包含氨基酸取代、添加和缺失。

[0409] 仅出于说明性目的,人NRP2多肽与NRP2配体之间的结合相互作用可以使用各种常规方法来检测和定量,所述方法包含biacore测定(例如,用与传感器芯片结合的适当标记的可溶性试剂),用在细胞表面表达NRP2多肽的细胞(天然的或重组的)进行的FACS分析、免疫测定、荧光染色测定、ELISA测定和微量量热法,如ITC(等温滴定量热法)。

[0410] 在某些实施例中,抗体或其抗原结合片段包括一个或多个变体Fc区或以其它方式修饰的Fc区,包含性质或生物活性相对于一个或多个野生型Fc区有所改变的区。经修饰的Fc区的实例包含:例如通过相对于野生型序列取代、插入、缺失或截短一个或多个氨基酸而具有突变序列的Fc区;由来自不同免疫球蛋白类/亚类的结构域构成的杂交Fc多肽;糖基化/唾液酸化模式发生改变的Fc多肽;以及例如通过生物素化(参见例如美国申请第2010/0209424号)、磷酸化、硫酸化等修饰或衍生化的Fc多肽;或前述各项的任何组合。可以相对于抗体或其抗原结合片段的对应野生型Fc序列采用这种修饰来改变(例如,增加、减少)Fc区与一种或多种特定FcR(例如,Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIb、Fc γ RIIc、Fc γ RIIIa、Fc γ RIIIb、FcRn)的结合性质、其药代动力学性质(例如,稳定性或半衰期、生物利用度、组织分布、分布体积、浓度、消除速率常数、消除速率、曲线下面积(AUC)、清除率、 $C_{\max}$ 、 $t_{\max}$ 、 $C_{\min}$ 、波动)、其免疫原性、其补体结合或活化和/或Fc区的CDC/ADCC/ADCP相关活性以及本文所描述的其它性质。包含人和/或小鼠来源的经修饰的Fc区。

[0411] 还包含包括杂交Fc区的抗体或其抗原结合片段,所述杂交Fc区例如包括来自不同物种(例如,人、小鼠)、不同Ig类和/或不同Ig亚类的免疫球蛋白的Fc结构域(例如,铰链、CH₂、CH₃、CH₄)的组合物。一般实例包含包括以下CH₂/CH₃结构域的以下组合、由其组成或(基本上由其组成的杂交Fc区: IgA1/IgA1、IgA1/IgA2、IgA1/IgD、IgA1/IgE、IgA1/IgG1、IgA1/IgG2、IgA1/IgG3、IgA1/IgG4、IgA1/IgM、IgA2/IgA1、IgA2/IgA2、IgA2/IgD、IgA2/IgE、IgA2/IgG1、IgA2/IgG2、IgA2/IgG3、IgA2/IgG4、IgA2/IgM、IgD/IgA1、IgD/IgA2、IgD/IgD、IgD/IgE、IgD/IgG1、IgD/IgG2、IgD/IgG3、IgD/IgG4、IgD/IgM、IgE/IgA1、IgE/IgA2、IgE/IgD、IgE/IgE、IgE/IgG1、IgE/IgG2、IgE/IgG3、IgE/IgG4、IgE/IgM、IgG1/IgA1、IgG1/IgA2、IgG1/IgD、IgG1/IgE、IgG1/IgG1、IgG1/IgG2、IgG1/IgG3、IgG1/IgG4、IgG1/IgM、IgG2/IgA1、IgG2/IgA2、IgG2/IgD、IgG2/IgE、IgG2/IgG1、IgG2/IgG2、IgG2/IgG3、IgG2/IgG4、IgG2/IgM、IgG3/IgA1、IgG3/IgA2、IgG3/IgD、IgG3/IgE、IgG3/IgG1、IgG3/IgG2、IgG3/IgG3、IgG3/IgG4、IgG3/IgM、IgG4/IgA1、IgG4/IgA2、IgG4/IgD、IgG4/IgE、IgG4/IgG1、IgG4/IgG2、IgG4/IgG3、IgG4/IgG4、IgG4/IgM、IgM/IgA1、IgM/IgA2、IgM/IgD、IgM/IgE、IgM/IgG1、IgM/IgG2、IgM/IgG3、IgM/IgG4、IgM/IgM(或其片段或变体),并且任选地包含来自IgA1、IgA2、IgD、IgG1、IgG2、IgG3或IgG4中的一种或多种的铰链和/或来自IgE和/或IgM的CH₄结构域。在具体实施例中,铰链、CH₂、CH₃和CH₄结构域来自人Ig。

[0412] 另外的实例包含包括以下CH₂/CH₄结构域的以下组合、由其组成或(基本上由其组成的杂交Fc区: IgA1/IgE、IgA2/IgE、IgD/IgE、IgE/IgE、IgG1/IgE、IgG2/IgE、IgG3/IgE、IgG4/IgE、IgM/IgE、IgA1/IgM、IgA2/IgM、IgD/IgM、IgE/IgM、IgG1/IgM、IgG2/IgM、IgG3/IgM、IgG4/IgM、IgM/IgM(或其片段或变体),并且任选地包含来自IgA1、IgA2、IgD、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或IgM中的一种或多种的CH₃结构域。在具体实施例中,铰链、CH₂、CH₃和CH₄结构域来自人Ig。

[0413] 某些实例包含包括以下CH₃/CH₄结构域的以下组合、由其组成或(基本上由其组成的杂交Fc区: IgA1/IgE、IgA2/IgE、IgD/IgE、IgE/IgE、IgG1/IgE、IgG2/IgE、IgG3/IgE、IgG4/IgE、IgM/IgE、IgA1/IgM、IgA2/IgM、IgD/IgM、IgE/IgM、IgG1/IgM、IgG2/IgM、IgG3/IgM、IgG4/IgM、IgM/IgM(或其片段或变体), 并且任选地包含来自IgA1、IgA2、IgD、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4中的一种或多种的铰链和/或来自IgA1、IgA2、IgD、IgE、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或IgM中的一种或多种的CH₂结构域。在具体实施例中, 铰链、CH₂、CH₃和CH₄结构域来自人Ig。

[0414] 特定实例包含包括以下铰链/CH₂结构域的以下组合、由其组成或(基本上由其组成的杂交Fc区: IgA1/IgA1、IgA1/IgA2、IgA1/IgD、IgA1/IgE、IgA1/IgG1、IgA1/IgG2、IgA1/IgG3、IgA1/IgG4、IgA1/IgM、IgA2/IgA1、IgA2/IgA2、IgA2/IgD、IgA2/IgE、IgA2/IgG1、IgA2/IgG2、IgA2/IgG3、IgA2/IgG4、IgA2/IgM、IgD/IgA1、IgD/IgA2、IgD/IgD、IgD/IgE、IgD/IgG1、IgD/IgG2、IgD/IgG3、IgD/IgG4、IgD/IgM、IgG1/IgA1、IgG1/IgA2、IgG1/IgD、IgG1/IgE、IgG1/IgG1、IgG1/IgG2、IgG1/IgG3、IgG1/IgG4、IgG1/IgM、IgG2/IgA1、IgG2/IgA2、IgG2/IgD、IgG2/IgE、IgG2/IgG1、IgG2/IgG2、IgG2/IgG3、IgG2/IgG4、IgG2/IgM、IgG3/IgA1、IgG3/IgA2、IgG3/IgD、IgG3/IgE、IgG3/IgG1、IgG3/IgG2、IgG3/IgG3、IgG3/IgG4、IgG3/IgM、IgG4/IgA1、IgG4/IgA2、IgG4/IgD、IgG4/IgE、IgG4/IgG1、IgG4/IgG2、IgG4/IgG3、IgG4/IgG4、IgG4/IgM(或其片段或变体), 并且任选地包含来自IgA1、IgA2、IgD、IgE、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或IgM中的一种或多种的CH₃结构域和/或来自IgE和/或IgM的CH₄结构域。在具体实施例中, 铰链、CH₂、CH₃和CH₄结构域来自人Ig。

[0415] 某些实例包含包括以下铰链/CH₃结构域的以下组合、由其组成或(基本上由其组成的杂交Fc区: IgA1/IgA1、IgA1/IgA2、IgA1/IgD、IgA1/IgE、IgA1/IgG1、IgA1/IgG2、IgA1/IgG3、IgA1/IgG4、IgA1/IgM、IgA2/IgA1、IgA2/IgA2、IgA2/IgD、IgA2/IgE、IgA2/IgG1、IgA2/IgG2、IgA2/IgG3、IgA2/IgG4、IgA2/IgM、IgD/IgA1、IgD/IgA2、IgD/IgD、IgD/IgE、IgD/IgG1、IgD/IgG2、IgD/IgG3、IgD/IgG4、IgD/IgM、IgG1/IgA1、IgG1/IgA2、IgG1/IgD、IgG1/IgE、IgG1/IgG1、IgG1/IgG2、IgG1/IgG3、IgG1/IgG4、IgG1/IgM、IgG2/IgA1、IgG2/IgA2、IgG2/IgD、IgG2/IgE、IgG2/IgG1、IgG2/IgG2、IgG2/IgG3、IgG2/IgG4、IgG2/IgM、IgG3/IgA1、IgG3/IgA2、IgG3/IgD、IgG3/IgE、IgG3/IgG1、IgG3/IgG2、IgG3/IgG3、IgG3/IgG4、IgG3/IgM、IgG4/IgA1、IgG4/IgA2、IgG4/IgD、IgG4/IgE、IgG4/IgG1、IgG4/IgG2、IgG4/IgG3、IgG4/IgG4、IgG4/IgM(或其片段或变体), 并且任选地包含来自IgA1、IgA2、IgD、IgE、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或IgM中的一种或多种的CH₂结构域和/或来自IgE和/或IgM的CH₄结构域。在具体实施例中, 铰链、CH₂、CH₃和CH₄结构域来自人Ig。

[0416] 一些实例包含包括以下铰链/CH₄结构域的以下组合、由其组成或(基本上由其组成的杂交Fc区: IgA1/IgE、IgA1/IgM、IgA2/IgE、IgA2/IgM、IgD/IgE、IgD/IgM、IgG1/IgE、IgG1/IgM、IgG2/IgE、IgG2/IgM、IgG3/IgE、IgG3/IgM、IgG4/IgE、IgG4/IgM(或其片段或变体), 并且任选地包含来自IgA1、IgA2、IgD、IgE、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或IgM中的一种或多种的CH₂结构域和/或来自IgA1、IgA2、IgD、IgE、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或IgM中的一种或多种的CH₃结构域。

[0417] 可以例如在W0 2008/147143中找到杂交Fc区的具体实例, 所述杂交Fc区来自IgG亚类的组合或人IgD和IgG的组合。

[0418] 还包含具有衍生化的或以其它方式修饰的Fc区的抗体或其抗原结合片段。在某些

方面,可以相对于野生型或天然存在的Fc区通过例如磷酸化、硫酸化、丙烯酸化、糖基化、甲基化、法尼基化、乙酰化、酰胺化等来修饰Fc区。在某些实施例中,Fc区可以包括野生型或天然糖基化模式,或者可替代地,其糖基化相对于天然形式可以有所增加、相对于天然形式有所降低,或者其可以是完全去糖基化的。作为经修饰的Fc糖型的一个实例,Fc区的糖基化降低会减少与第一补体成分C1的C1q区的结合、ADCC相关活性的降低和/或CDC相关活性的降低。因此,某些实施例采用去糖基化或无糖基化的Fc区。关于示例性无糖基化的Fc区的产生,参见例如WO 2005/047337。可以通过用半胱氨酸残基取代根据Kabat等人的编号系统的Q295位置来产生Fc区糖型的另一个实例(参见例如美国申请第2010/0080794号)。某些实施例可以包含Fc区,其中Fc区中约80-100%的糖蛋白包括缺乏果糖的成熟的核心碳水化合物结构(参见例如美国申请第2010/0255013号)。一些实施例可以包含通过取代或缺失进行优化以降低岩藻糖基化水平,例如增加对Fc γ RI、Fc γ RIa或Fc γ RIIIa的亲合力和/或改善Fc γ RIIa表达性细胞的吞噬作用的Fc区(参见美国申请第2010/0249382号和第2007/0148170号)。

[0419] 作为经修饰的Fc糖型的另一个实例,抗体或其抗原结合片段的Fc区可以包括甘露寡糖型N-聚糖,并且相对于含有复合型N-聚糖的对应Fc区任选地具有以下一种或多种:ADCC效应子活性增加、对Fc γ RIIIA(和某些其它FcR)的结合亲和力增加、对NRP2多肽的靶标的结合特异性类似或增加、对NRP2多肽的靶标的结合亲和力类似或更高和/或对甘露糖受体的结合亲和力类似或更低(参见例如美国申请第2007/0092521号和美国专利第7,700,321号)。作为另一个实例,已经使用通过在经过工程化的或变体细胞系中表达抗体而产生的经过工程化的糖型增强了Fc区对Fc γ R的亲和力(参见例如Umana等人,《自然-生物技术》17:176-180,1999;Davies等人,《生物技术与生物工程(Biotechnol.Bioeng.)》74:288-294,2001;Shields等人,《生物化学杂志(J Biol Chem.)》277:26733-26740,2002;Shinkawa等人,2003《生物化学杂志》278:3466-3473,2003;以及美国申请第2007/0111281号)。某些Fc区糖型包括比例增加的N-糖苷键型复合糖链,所述N-糖苷键型复合糖链在糖链的还原端处不具有岩藻糖的与N-乙酰氨基葡萄糖的第6位置结合的第1位置(参见例如美国申请第2010/0092997号)。特定实施例可以包含IgG Fc区,所述IgG Fc区用至少一个半乳糖部分进行糖基化,所述至少一个半乳糖部分通过 α -2,6键连接到相应的末端唾液酸部分,任选地其中Fc区相对于对应的野生型Fc区具有更高的抗炎活性(参见美国申请第2008/0206246号)。这些和相关的改变糖基化方法中的某些方法大大提高了Fc区选择性结合FcR(如Fc γ RIII)以介导ADCC并改变Fc区的如本文所描述的其它性质的能力。

[0420] 相对于对应的野生型Fc序列(例如,同一物种、同一Ig类、同一Ig亚类),抗体或其抗原结合片段的某些变体Fc区、片段Fc区、杂交Fc区或以其它方式修饰的Fc区与一种或多种FcR的结合可能改变和/或其效应子功能可能对应地发生变化。例如,相对于对应的野生型Fc序列,这种Fc区与Fc γ 受体、Fc α 受体、Fc ϵ 受体和/或新生儿Fc受体中的一种或多种的结合可能增加。在其它实施例中,相对于对应的野生型Fc序列,变体Fc区、片段Fc区、杂交Fc区或经修饰的Fc区与Fc γ 受体、Fc α 受体、Fc ϵ 受体和/或新生儿Fc受体中的一种或多种的结合可能减少。在本文其它地方描述了具体的FcR。

[0421] 在一些实施例中,抗体包括Fc结构域,相对于对应的野生型Fc序列,所述Fc结构域包括增加与Fc γ 受体、Fc α 受体、Fc ϵ 受体和/或新生儿Fc受体中的一种或多种的结合的一种

或多种突变。在一些实施例中,抗体包括IgG1或IgG3 Fc结构域,相对于对应的野生型Fc序列,所述IgG1或IgG3 Fc结构域包括增加与Fc γ 受体、Fc α 受体、Fc ϵ 受体和/或新生儿Fc受体中的一种或多种的结合的一种或多种突变。在一些实施例中,抗体包括Fc结构域,所述Fc结构域包括增加效应子功能的一种或多种突变。在一些实施例中,所述至少一种抗体包括选自人IgG1和IgG3的Fc结构域,所述Fc结构域包括增加效应子功能的一种或多种突变。

[0422] 在一些实施例中,抗体是包括具有高效应子活性的Fc结构域的封闭抗体。在一些实施例中,所述封闭抗体包括选自人IgG1和IgG3的Fc结构域,所述Fc结构域包括增加效应子功能的一种或多种突变。在一些实施例中,抗体是包括具有高效应子活性的Fc结构域的部分封闭抗体。在一些实施例中,所述部分封闭抗体包括选自人IgG1和IgG3的Fc结构域,所述Fc结构域包括增加效应子功能的一种或多种突变。在一些实施例中,抗体是包括具有高效应子活性的Fc结构域的非封闭抗体。在一些实施例中,所述非封闭抗体包括选自人IgG1或IgG3的Fc结构域,所述Fc结构域包括增加效应子功能的一种或多种突变。

[0423] 在一些实施例中,抗体包括Fc结构域,相对于对应的野生型Fc序列,所述Fc结构域包括减少与Fc γ 受体、Fc α 受体、Fc ϵ 受体和/或新生儿Fc受体中的一种或多种的结合的一种或多种突变。在一些实施例中,抗体包括IgG1或IgG3 Fc结构域,相对于对应的野生型Fc序列,所述IgG1或IgG3 Fc结构域包括减少与Fc γ 受体、Fc α 受体、Fc ϵ 受体和/或新生儿Fc受体中的一种或多种的结合的一种或多种突变。在一些实施例中,抗体包括Fc结构域,所述Fc结构域包括降低效应子功能的一种或多种突变。在一些实施例中,抗体包括选自人IgG2和IgG4的Fc结构域,所述Fc结构域包括降低效应子功能的一种或多种突变。

[0424] 在一些实施例中,抗体是包括具有低效应子活性的Fc结构域的封闭抗体。在一些实施例中,所述封闭抗体包括选自人IgG2和IgG4的Fc结构域,所述Fc结构域包括降低效应子功能的一种或多种突变。在一些实施例中,抗体是包括具有低效应子活性的Fc结构域的部分封闭抗体。在一些实施例中,所述部分封闭抗体包括选自人IgG2和IgG4的Fc结构域,所述Fc结构域包括降低效应子功能的一种或多种突变。在一些实施例中,抗体是包括具有低效应子活性的Fc结构域的非封闭抗体。在一些实施例中,所述非封闭抗体包括选自人IgG2和IgG4的Fc结构域,所述Fc结构域包括降低效应子功能的一种或多种突变。

[0425] 可以例如在以下文献中找到效应子功能/FcR结合改变(例如,增加、减少)的Fc变体的具体实例:美国专利第5,624,821号和第7,425,619号;美国申请第2009/0017023号、第2009/0010921号和第2010/0203046号;以及WO 2000/42072和WO 2004/016750。某些实例包含在位置298、333和/或334处具有一种或多种取代,例如S298A、E333A和/或K334A(基于Kabat等人的EU索引的编号)的人Fc区,已经显示所述一种或多种取代增加与活化受体Fc γ RIIIa的结合并减少与抑制性受体Fc γ RIIb的结合。可以将这些突变组合以获得进一步改善与FcR的结合的双和三突变变体。某些实施例包含S298A/E333A/K334A三突变体,所述三突变体与Fc γ RIIIa的结合增加,与Fc γ RIIb的结合减少并且ADCC增加(参见例如Shields等人,《生物化学杂志》276:6591-6604,2001;和Presta等人,《生物化学学会学报(Biochem Soc Trans.)》30:487-490,2002)。还参见与FcR的结合增加的经过工程化的Fc糖型,如Umana等人,同上;和美国专利第7,662,925号中公开的。一些实施例包含Fc区,所述Fc区包括选自基于Kabat等人的EU索引的434S、252Y/428L、252Y/434S和428L/434S(参见美国申请第2009/0163699号和第20060173170号)的一种或多种取代。

[0426] 相对于对应的野生型Fc序列,某些变体Fc区、片段Fc区、杂交Fc区或经修饰的Fc区的效应子功能可能有所改变。例如,相对于对应的野生型Fc序列,这种Fc区的补体固定或活化可能增加、C1q结合亲和力可能增加、CDC相关活性可能增加、ADCC相关活性可能增加和/或ADCP相关活性可能增加。在其它实施例中,相对于对应的野生型Fc序列,这种Fc区的补体固定或活化可能降低、C1q结合亲和力可能降低、CDC相关活性可能降低、ADCC相关活性可能降低和/或ADCP相关活性可能降低。仅作为一个说明性实例,Fc区可以包括如C1q结合位点等补体结合位点中的缺失或取代和/或ADCC位点中的缺失或取代。在例如美国专利第7,030,226号中描述了这种缺失/取代的实例。可以根据本领域中的常规技术测定许多Fc效应子功能,如ADCC。(参见例如Zuckerman等人,《CRC微生物学关键评论(CRC Crit Rev Microbiol.)》7:1-26,1978)。用于这种测定的有用效应细胞包含但不限于自然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞和其它外周血单核细胞(PBMC)。可替代地或另外,可以例如通过采用Clynes等人《美国国家科学院院刊》95:652-656,1998中描述的动物模型在体内评估某些Fc效应子功能。

[0427] 相对于对应的野生型Fc序列,某些变体Fc区、杂交Fc区或经修饰的Fc区的稳定性或半衰期可能有所改变。在某些实施例中,相对于对应的野生型Fc序列,这种Fc区的半衰期可能增加。在其它实施例中,相对于对应的野生型Fc序列,变体Fc区、杂交Fc区或经修饰的Fc区的半衰期可能减少。可以根据本领域的常规技术(如放射性标记、ELISA或其它方法)在体外(例如,在生理条件下)或体内测量半衰期。可以在一种或多种体液或给定组织中测量稳定性或半衰期的体内测量结果,所述体液包含血液、血清、血浆、尿液或脑脊液,所述给定组织如肝、肾、肌肉、中枢神经系统组织、骨等。作为一个实例,改变Fc区与FcRn的结合能力的修饰可以改变其体内半衰期。例如在以下文献中描述了用于测量体内药代动力学性质(例如,体内平均消除半衰期)的测定和改变Fc与FcRn的结合的Fc修饰的非限制性实例:美国专利第7,217,797号和第7,732,570号;以及美国申请第US2010/0143254号和第2010/0143254号。

[0428] 改变稳定性或半衰期的修饰的另外的非限制性实例包含在选自CH₂结构域中的251-256、285-290和308-314以及CH₃结构域中的385-389和428-436的氨基酸残基中的一个或多个氨基酸残基处的取代/缺失,所述编号根据Kabat等人的编号系统。参见美国申请第2003/0190311号。具体实例包含:在位置251处用亮氨酸进行取代,在位置252处用酪氨酸、色氨酸或苯丙氨酸进行取代,在位置254处用苏氨酸或丝氨酸进行取代,在位置255处用精氨酸进行取代,在位置256处用谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸或谷氨酸进行取代,在位置308处用苏氨酸进行取代,在位置309处用脯氨酸进行取代,在位置311处用丝氨酸进行取代,在位置312处用天冬氨酸进行取代,在位置314处用亮氨酸进行取代,在位置385处用精氨酸、天冬氨酸或丝氨酸进行取代,在位置386处用苏氨酸或脯氨酸进行取代,在位置387处用精氨酸或脯氨酸进行取代,在位置389处用脯氨酸、天冬酰胺或丝氨酸进行取代,在位置428处用蛋氨酸或苏氨酸进行取代,在位置434处用酪氨酸或苯丙氨酸进行取代,在位置433处用组氨酸、精氨酸、赖氨酸或丝氨酸进行取代和/或在位置436处用组氨酸、酪氨酸、精氨酸或苏氨酸进行取代,包含其任何组合。相对于对应的野生型Fc区,这种修饰任选地增加Fc区对FcRn的亲和力并且由此增加半衰期。

[0429] 相对于对应的野生型Fc序列,某些变体Fc区、杂交Fc区或经修饰的Fc区的溶解度

可能有所改变。在某些实施例中,相对于对应的野生型Fc序列,这种Fc区的溶解度可能增加。在其它实施例中,相对于对应的野生型Fc序列,变体Fc区、杂交Fc区或经修饰的Fc区的溶解度可能降低。可以例如根据本领域的常规技术在体外(例如,在生理条件下)测量溶解度。在本文其它地方描述了示例性溶解度测量。

[0430] 变体的另外的实例包含在重链的位置250、314或428中的一个或多个位置处或其任意组合中(如在位置250和428处,或在位置250和314处,或在位置314和428处,或在位置250、314和428处)具有保守或非保守取代(如本文其它地方所述)的IgG Fc区(参见例如美国申请第2011/0183412号)。在具体实施例中,位置250处的残基被谷氨酸或谷氨酰胺取代,和/或位置428处的残基被亮氨酸或苯丙氨酸取代。作为IgG Fc变体的另一个说明性实例,位置214到238、297到299、318到322和/或327到331处的氨基酸残基中的任何一个或多个氨基酸残基可以用作供修饰(例如,保守或非保守取代、缺失)的合适靶标。在特定实施例中,IgG Fc变体CH₂结构域在位置228、234、235和/或331处含有氨基酸取代(例如,具有Ser228Pro和Leu235Ala突变的人IgG4),以减弱Fc区的效应子功能(参见美国专利第7,030,226号)。此处,重链中的残基的编号是EU索引的编号(参见Kabat等人,“免疫学上关注的蛋白质的序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)”,第5版,马里兰州贝塞斯达国立卫生研究院(National Institutes of Health,Bethesda,Md.)(1991))。这些和相关实施例中的某些实施例的FcRn结合和/或血清半衰期有所改变(例如,增加、减少),而任选地如ADCC或CDC相关活性等效应子功能未降低。

[0431] 另外的实例包含变体Fc区,所述变体Fc区在野生型Fc区的位置279、341、343或373处包括一种或多种氨基酸取代或其任何组合(参见例如美国申请第2007/0224188号)。人IgG的这些位置处的野生型氨基酸残基是缬氨酸(279)、甘氨酸(341)、脯氨酸(343)和酪氨酸(373)。所述一种或多种取代可以是保守的或非保守的,或者可以包含如本文所描述的非天然存在的氨基酸或模拟物。单独地或结合这些取代,某些实施例还可以采用变体Fc区,所述变体Fc区包括选自以下的至少1种、2种、3种、4种、5种、6种、7种、8种、9种、10种或更多种氨基酸取代:235G、235R、236F、236R、236Y、237K、237N、237R、238E、238G、238H、238I、238L、238V、238W、238Y、244L、245R、247A、247D、247E、247F、247M、247N、247Q、247R、247S、247T、247W、247Y、248F、248P、248Q、248W、249L、249M、249N、249P、249Y、251H、251I、251W、254D、254E、254F、254G、254H、254I、254K、254L、254M、254N、254P、254Q、254R、254V、254W、254Y、255K、255N、256H、256I、256K、256L、256V、256W、256Y、257A、257I、257M、257N、257S、258D、260S、262L、264S、265K、265S、267H、267I、267K、268K、269N、269Q、271T、272H、272K、272L、272R、279A、279D、279F、279G、279H、279I、279K、279L、279M、279N、279Q、279R、279S、279T、279W、279Y、280T、283F、283G、283H、283I、283K、283L、283M、283P、283R、283T、283W、283Y、285N、286F、288N、288P、292E、292F、292G、292I、292L、293S、293V、301W、304E、307E、307M、312P、315F、315K、315L、315P、315R、316F、316K、317P、317T、318N、318P、318T、332F、332G、332L、332M、332S、332V、332W、339D、339E、339F、339G、339H、339I、339K、339L、339M、339N、339Q、339R、339S、339W、339Y、341D、341E、341F、341H、341I、341K、341L、341M、341N、341P、341Q、341R、341S、341T、341V、341W、341Y、343A、343D、343E、343F、343G、343H、343I、343K、343L、343M、343N、343Q、343R、343S、343T、343V、343W、343Y、373D、373E、373F、373G、373H、373I、373K、373L、373M、373N、373Q、373R、373S、373T、373V、373W、375R、376E、376F、376G、

376H、376I、376L、376M、376N、376P、376Q、376R、376S、376T、376V、376W、376Y、377G、377K、377P、378N、379N、379Q、379S、379T、380D、380N、380S、380T、382D、382F、382H、382I、382K、382L、382M、382N、382P、382Q、382R、382S、382T、382V、382W、382Y、385E、385P、386K、423N、424H、424M、424V、426D、426L、427N、429A、429F、429M、430A、430D、430F、430G、430H、430I、430K、430L、430M、430N、430P、430Q、430R、430S、430T、430V、430W、430Y、431H、431K、431P、432R、432S、438G、438K、438L、438T、438W、439E、439H、439Q、440D、440E、440F、440G、440H、440I、440K、440L、440M、440Q、440T、440V或442K。如上所述,重链中的残基的编号是EU索引的编号(参见Kabat等人,同上)。这种变体Fc区通常使变体Fc区与其可操作连接的抗体的效应子功能或血清半衰期发生改变。优选地,效应子功能改变是与缺乏此一种或多种此类氨基酸取代的对应Fc区相比,ADCC增加、ADCC减少、CDC增加、CDC减少、C1q结合亲和力增加、C1q结合亲和力降低、FcR(优选FcRn)结合亲和力增加或FcR(优选FcRn)结合亲和力降低。

[0432] 另外的实例包含变体Fc区,所述变体Fc区在以下位置中的一个或多个位置处包括氨基酸取代:221、222、224、227、228、230、231、223、233、234、235、236、237、238、239、240、241、243、244、245、246、247、249、250、258、262、263、264、265、266、267、268、269、270、271、272、273、274、275、276、278、280、281、283、285、286、288、290、291、293、294、295、296、297、298、299、300、302、313、317、318、320、322、323、324、325、326、327、328、329、330、331、332、333、334、335、336和/或428(参见例如美国专利第7,662,925号)。在具体实施例中,变体Fc区包括选自由以下组成的组的至少一种氨基酸取代:P230A、E233D、L234E、L234Y、L234I、L235D、L235S、L235Y、L235I、S239D、S239E、S239N、S239Q、S239T、V240I、V240M、F243L、V264I、V264T、V264Y、V266I、E272Y、K274T、K274E、K274R、K274L、K274Y、F275W、N276L、Y278T、V302I、E318R、S324D、S324I、S324V、N325T、K326I、K326T、L328M、L328I、L328Q、L328D、L328V、L328T、A330Y、A330L、A330I、I332D、I332E、I332N、I332Q、T335D、T335R和T335Y。在其它具体实施例中,变体Fc区包括选自由以下组成的组的至少一种氨基酸取代:V264I、F243L/V264I、L328M、I332E、L328M/I332E、V264I/I332E、S298A/I332E、S239E/I332E、S239Q/I332E、S239E、A330Y、I332D、L328I/I332E、L328Q/I332E、V264T、V240I、V266I、S239D、S239D/I332D、S239D/I332E、S239D/I332N、S239D/I332Q、S239E/I332D、S239E/I332N、S239E/I332Q、S239N/I332D、S239N/I332E、S239Q/I332D、A330Y/I332E、V264I/A330Y/I332E、A330L/I332E、V264I/A330L/I332E、L234E、L234Y、L234I、L235D、L235S、L235Y、L235I、S239T、V240M、V264Y、A330I、N325T、L328D/I332E、L328V/I332E、L328T/I332E、L328I/I332E、S239E/V264I/I332E、S239Q/V264I/I332E、S239E/V264I/A330Y/I332E、S239D/A330Y/I332E、S239N/A330Y/I332E、S239D/A330L/I332E、S239N/A330L/I332E、V264I/S298A/I332E、S239D/S298A/I332E、S239N/S298A/I332E、S239D/V264I/I332E、S239D/V264I/S298A/I332E、S239D/V264I/A330L/I332E、S239D/I332E/A330I、P230A、P230A/E233D/I332E、E272Y、K274T、K274E、K274R、K274L、K274Y、F275W、N276L、Y278T、V302I、E318R、S324D、S324I、S324V、K326I、K326T、T335D、T335R、T335Y、V240I/V266I、S239D/A330Y/I332E/L234I、S239D/A330Y/I332E/L235D、S239D/A330Y/I332E/V240I、S239D/A330Y/I332E/V264T、S239D/A330Y/I332E/K326E和S239D/A330Y/I332E/K326T。在更具体的实施例中,变体Fc区包括选自由以下组成的组的一系列取代:N297D/I332E、F241Y/F243Y/V262T/V264T/N297D/I332E、S239D/N297D/I332E、S239E/

N297D/I332E、S239D/D265Y/N297D/I332E、S239D/D265H/N297D/I332E、V264E/N297D/I332E、Y296N/N297D/I332E、N297D/A330Y/I332E、S239D/D265V/N297D/I332E、S239D/D265I/N297D/I332E和N297D/S298A/A330Y/I332E。在具体实施例中,变体Fc区在位置332处(使用EU索引的编号,Kabat等人,同上)包括氨基酸取代。取代的实例包含332A、332D、332E、332F、332G、332H、332K、332L、332M、332N、332P、332Q、332R、332S、332T、332V、332W和332Y。Fc区中的残基的编号是Kabat等人的EU索引的编号。在本文描述的其它性质中,相对于对应的野生型Fc区,这种变体Fc区对Fc γ R增加的亲和力可能增加、其稳定性可能增加和/或其溶解度可能增加。

[0433] 进一步的实例包含包括以下氨基酸取代中的一种或多种氨基酸取代的变体Fc区: 224N/Y、225A、228L、230S、239P、240A、241L、243S/L/G/H/I、244L、246E、247L/A、252T、254T/P、258K、261Y、265V、266A、267G/N、268N、269K/G、273A、276D、278H、279M、280N、283G、285R、288R、289A、290E、291L、292Q、297D、299A、300H、301C、304G、305A、306I/F、311R、312N、315D/K/S、320R、322E、323A、324T、325S、326E/R、332T、333D/G、335I、338R、339T、340Q、341E、342R、344Q、347R、351S、352A、354A、355W、356G、358T、361D/Y、362L、364C、365Q/P、370R、372L、377V、378T、383N、389S、390D、391C、393A、394A、399G、404S、408G、409R、411I、412A、414M、421S、422I、426F/P、428T、430K、431S、432P、433P、438L、439E/R、440G、441F、442T、445R、446A、447E,任选地其中与亲本Fc多肽相比,变体对Fc配体的识别和/或其效应子功能有所改变,并且其中残基的编号是如Kabat等人中的EU索引的编号。这些和相关实施例的具体实例包含变体Fc区,所述变体Fc区包括以下取代组或由其组成: (1) N276D、R292Q、V305A、I377V、T394A、V412A和K439E; (2) P244L、K246E、D399G和K409R; (3) S304G、K320R、S324T、K326E和M358T; (4) F243S、P247L、D265V、V266A、S383N和T411I; (5) H224N、F243L、T393A和H433P; (6) V240A、S267G、G341E和E356G; (7) M252T、P291L、P352A、R355W、N390D、S408G、S426F和A431S; (8) P228L、T289A、L365Q、N389S和S440G; (9) F241L、V273A、K340Q和L441F; (10) F241L、T299A、I332T和M428T; (11) E269K、Y300H、Q342R、V422I和G446A; (12) T225A、R301c、S304G、D312N、N315D、L351S和N421S; (13) S254T、L306I、K326R和Q362L; (14) H224Y、P230S、V323A、E333D、K338R和S364C; (15) T335I、K414M和P445R; (16) T335I和K414M; (17) P247A、E258K、D280N、K288R、N297D、T299A、K322E、Q342R、S354A和L365P; (18) H268N、V279M、A339T、N361D和S426P; (19) C261Y、K290E、L306F、Q311R、E333G和Q438L; (20) E283G、N315K、E333G、R344Q、L365P和S442T; (21) Q347R、N361Y和K439R; (22) S239P、S254P、S267N、H285R、N315S、F372L、A378T、N390D、Y391C、F404S、E430K、L432P和K447E; 以及 (23) E269G、Y278H、N325S和K370R,其中残基的编号是如Kabat等人中的EU索引的编号(参见例如美国申请第2010/0184959号)。

[0434] 变体Fc区还可以具有例如在美国申请第2003/0118592号中描述的一个或多个突变铰链区。例如,铰链区中的一个或多个半胱氨酸可以缺失或被不同的氨基酸取代。突变铰链区可以不包括半胱氨酸残基,或者其包含的半胱氨酸残基可以比对应的野生型铰链区的半胱氨酸残基少1个、2个或3个。在一些实施例中,相对于野生型Ig铰链区,具有这种类型的突变铰链区的Fc区表现出二聚化能力降低。

[0435] 在特定实施例中,Fc区包括以下、由以下组成或基本上由以下组成: 来自人IgG1或IgG4的Fc(参见例如Allberse和Schuurman,《免疫学(Immunology)》105:9-19,2002),或其

片段或变体。下表F1提供了来自人IgG1和IgG4的示例性序列(CH1、铰链(下划线)、CH2和CH3区)。例如在Peters等人,《生物化学杂志》287:24525-24533,2012中描述了可以采用的变体IgG4序列的实例,并且其包含以下位置处的取代:C227、C230、C127(例如,C127S)和C131(例如,C131S)。可以使用的其它变体包含IgG4中的L445P取代(表示为IgG4-2)或IgG1中的D356E和L358M取代(表示为IgG1m(zf))。

[0436]

表 F1. 示例性 IgG4 Fc 序列		
名称	序列	SEQ ID NO:
野生型 IgG4	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYTCNVDPKPSNTKVDK RVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK	116
S241P	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYTCNVDPKPSNTKVDK RVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK	117
IgG1m (za) GenBank: AH007035.2	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG K	118
Kappa Km3	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC	119

[0437] 如上所述,相对于对应的野生型Fc区,Fc区有所改变的抗体的药代动力学性质通常有所改变(例如,改善、增加、减少)。药代动力学性质的实例包含:稳定性或半衰期、生物利用度(药物被吸收的分数)、组织分布、分布体积(药物紧接着在被静脉注射且在血浆与周围组织之间达到平衡之后分布的表观体积)、浓度(药物在血浆中的初始或稳态浓度)、消除速率常数(药物从体内去除的速率)、消除速率(平衡消除所需的输注速率)、曲线下面积(AUC或暴露;单次给药后或稳定状态下,浓度-时间曲线的积分)、清除率(单位时间内清除药物的血浆体积)、 C_{max} (口服施用后药物的峰值血浆浓度)、 t_{max} (达到 C_{max} 的时间)、 C_{min} (药物在下次施用前达到的最低浓度)和波动(稳定状态下一次给药间隔内的峰谷波动)。

[0438] 在特定实施例中,抗体或其抗原结合片段在约pH 7.4、约生理pH、约25°C或室温和/或约37°C或人体温度(例如,体内、血清中、给定组织中、如大鼠、小鼠、猴或人等给定物种中)下的生物半衰期为约或至少约30分钟、约1小时、约2小时、约3小时、约4小时、约5小时、约6小时、约12小时、约18小时、约20小时、约24小时、约30小时、约36小时、约40小时、约48小时、约50小时、约60小时、约70小时、约72小时、约80小时、约84小时、约90小时、约96小时、约120小时或约144小时或更多,或约1周、或约2周、或约3周、或约4周、或约5周、或约6周

或更多,或包含其间所有范围的任何中间半衰期。

[0439] 在一些实施例中,抗体或其抗原结合片段的 T_m 为约或至少约60°C、62°C、64°C、66°C、68°C、70°C、72°C、74°C或75°C。在一些实施例中,抗体或其抗原结合片段的 T_m 为约60°C或更高。

[0440] 在一些实施例中,抗体或其抗原结合片段与一种或多种细胞毒性剂或化疗剂缀合。细胞毒性剂或化疗剂的一般实例包含但不限于:烷化剂、抗代谢物、蒽环类药物、抗肿瘤抗生素、铂、I型拓扑异构酶抑制剂、II型拓扑异构酶抑制剂、长春花生物碱和紫杉烷。细胞毒性剂或化疗剂的具体实例包含但不限于:环磷酰胺、西仑吉肽(cilengitide)、洛莫司汀(CCNU)、美法仑、丙卡巴肼、卡莫斯汀(BCNU)、恩扎妥林(enzastaurin)、白消安、柔红霉素、阿霉素、吉非替尼、厄洛替尼、伊达比星、替莫唑胺、表柔比星、米托蒽醌、博来霉素、顺铂、卡铂、奥沙利铂、喜树碱、伊立替康、拓扑替康、安吡啶(amsacrine)、依托泊苷、磷酸依托泊苷(etoposide phosphate)、替尼泊苷(teniposide)、替西罗莫司(temsirolimus)、依维莫司(everolimus)、长春新碱、长春碱、长春瑞滨、长春地辛、CT52923、紫杉醇、伊马替尼、达沙替尼、索拉非尼、帕唑帕尼、舒尼替尼、瓦他拉尼(vatalanib)、吉非替尼、厄洛替尼、AEE-788、二氯乙酸盐(dichloroacetate)、泰莫昔芬(tamoxifen)、法舒地尔(fasudil)、SB-681323、司马沙尼(semaxanib)、多奈哌齐(donepezil)、加兰他敏(galantamine)、美金刚(memantine)、卡巴拉汀(rivastigmine)、他克林(tacrine)、雷沙吉兰(rasagiline)、纳曲酮(naltrexone)、鲁比前列酮(lubiprostone)、沙芬酰胺(safinamide)、伊曲茶碱(istradefylline)、匹莫范色林(pimavanserin)、pitolisant、依拉地平(isradipine)、普利多匹定(pridopidine, ACR16)、丁苯那嗪(tetrabenazine)、蓓萨罗丁(bexarotene)、醋酸格拉替雷(glatirimer acetate)、芬戈莫德(fingolimod)和米托蒽醌,包含其药学上可接受的盐和酸。细胞毒性剂或化疗剂的另外的实例包含:烷化剂,如噻替派、环磷酰胺(CYTOXANTM);烷基磺酸盐,如白消安、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan);氮杂环丙烷,如苯佐替派(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、美妥替派(meturedopa)和乌瑞替派(uredopa);乙烯亚胺和甲基蜜胺(methylamelamine),包含六甲蜜胺(altretamine)、三亚乙基密胺(triethylenemelamine)、三亚乙基磷酰胺(triethylenephosphoramidate)、三亚乙基硫代磷酰胺(triethylenethiophosphoramidate)和三羟甲密胺(trimethylolomelamine);氮芥,如瘤可宁、萘氮芥(chloronaphazine)、氯磷酰胺(chlorophosphamide)、雌莫司汀(estramustine)、异环磷酰胺(ifosfamide)、二氯甲基二乙胺、盐酸甲氧氮芥(mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法仑、新恩比兴(novembichin)、苯芥胆甾醇(phenesterine)、泼尼莫司汀(prednimustine)、曲洛磷胺(trofosfamide)、乌拉莫司汀(uracil mustard);亚硝基脲,如卡莫司汀、氯脲霉素(chlorozotocin)、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimustine);抗生素,如阿克拉霉素(aclacinomycin)、放线菌素、安曲霉素(authramycin)、重氮丝氨酸(azaserine)、博来霉素、放线菌素(cactinomycin)、卡奇霉素(calicheamicin)、卡拉比星(carabycin)、洋红霉素(carminomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色霉素(chromomycin)、放线菌素D(dactinomycin)、柔红霉素、地托比星(detorubicin)、6-二氮-5-氧代-L-正亮氨酸(6-diazo-5-oxo-L-norleucine)、阿霉素、表柔比星、依索比星(esorubicin)、伊达比星、麻西罗霉素(marcellomycin)、丝裂霉素、菌酚酸(mycophenolic

acid)、诺加霉素(nogalamycin)、橄榄霉素(olivomycin)、培洛霉素(peplomycin)、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素(puromycin)、三铁阿霉素(quelamycin)、罗多比星(rodorubicin)、链黑菌素(streptonigrin)、链脲菌素(streptozocin)、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、净司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin);抗代谢物,如甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物,如二甲叶酸(denopterin)、甲氨蝶呤、蝶罗呤(pterapterin)、三甲曲沙(trimetrexate);嘌呤类似物,如氟达拉滨、6-巯嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鸟嘌呤;嘧啶类似物,如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷、二脱氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依诺他滨、氟尿苷(floxuridine)、5-FU;雄激素,如卡普睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、环硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾内酯(testolactone);抗肾上腺,如氨鲁米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane);叶酸补充剂,如亚叶酸(frolic acid);醋葡萄糖内酯;醛磷酸糖苷;氨基乙酰丙酸;安吡啶;百垂布西(bestabucil);比生群(bisantrene);依达曲沙(edatraxate);地磷酰胺(defofamine);地美可辛(demecolcine);地吡醌;依氟鸟氨酸(elformithine);依利醋铵(elliptinium acetate);依托格鲁(etoglucid);硝酸镓(gallium nitrate);羟基脲(hydroxyurea);香菇多糖(lentinan);氯尼达明(lonidamine);米托胍酮(mitoguazone);米托蒽醌;莫哌达醇(mopidamol);二胺硝吡啶(nitracrine);喷司他丁;蛋氨酸芥(phenamet);吡柔比星;鬼臼酸(podophyllinic acid);2-乙基酰肼(2-ethylhydrazide);丙卡巴肼;PSK;雷佐生(razoxane);西佐喃(sizofiran);螺旋锗(spirogermanium);细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid);三亚胺醌(triaziquone);2,2',2''-三氯三乙胺;尿烷;长春地辛;达卡巴嗪;甘露莫司汀(mannomustine);二溴甘露醇(mitobronitol);二溴卫矛醇(mitolactol);哌泊溴烷(pipobroman);盖克托辛(gacytosine);阿拉伯糖苷("Ara-C");环磷酰胺;噻替派;紫杉烷,如紫杉醇(TAXOL®,新泽西州普林斯顿市百时美施贵宝公司肿瘤学部门(Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)和多西紫杉醇(doxetaxel, TAXOTERE®,法国安东尼罗纳普朗克乐安公司(Rhne-Poulenc Rorer, Antony, France));苯丁酸氮芥;吉西他滨;6-巯鸟嘌呤;巯嘌呤;氨甲喋呤;铂类似物,如顺铂和卡铂;长春碱;铂;依托泊苷(VP-16);异环磷酰胺;丝裂霉素C;米托蒽醌;长春新碱;长春瑞滨;诺维本(navelbine);诺安托(novantrone);替尼泊苷;道诺霉素(daunomycin);氨蝶呤(aminopterin);希罗达(xeloda);伊班膦酸盐(ibandronate);CPT-11;拓扑异构酶抑制剂RFS2000;二氟甲基鸟氨酸(DMF0);视黄酸衍生物,如Targretin™(萆萨罗丁)、Panretin™(阿利维A酸(alitretinoin));ONTAK™(地尼白介素(denileukin diftitox));埃斯波霉素(esperamicin);卡培他滨;以及上述各项中的任一项的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0441] 抗体或其抗原结合片段可以用于本文所描述的组合物、方法和/或试剂盒中的任一种中使用并且可以与本文所描述的免疫治疗剂中的一种或多种免疫治疗剂组合。

[0442] 另外的治疗剂和组合物

[0443] 免疫治疗剂某些实施例采用一种或多种癌症免疫治疗剂。在某些情况下,免疫治疗剂调节受试者的免疫应答例如以增加或维持癌症相关或癌症特异性免疫应答,并且由此使免疫细胞抑制增加或癌细胞减少。示例性免疫治疗剂包含多肽,例如,抗体和其抗原结合

片段、配体和小肽以及其混合物。免疫治疗剂还包含小分子、细胞(例如,如T细胞等免疫细胞)、各种癌症疫苗、基因治疗剂或其它基于多核苷酸的药剂,包含如溶瘤病毒等病毒药剂以及本领域已知的其它药剂。因此,在某些实施例中,癌症免疫治疗剂选自免疫检查点调节剂、癌症疫苗、溶瘤病毒、细胞因子和基于细胞的免疫疗法中的一种或多种。

[0444] 在某些实施例中,癌症免疫治疗剂是免疫检查点调节剂。具体实例包含一种或多种抑制性免疫检查点分子的“拮抗剂”和一种或多种刺激性免疫检查点分子的“激动剂”。通常,免疫检查点分子是免疫系统的增强信号(共刺激分子)或减弱信号的组分,所述组分的靶向对癌症具有治疗潜力,因为癌细胞可能扰乱免疫检查点分子的天然功能(参见例如Sharma和Allison,《科学》348:56-61,2015;Topalian等人,《癌细胞(Cancer Cell)》27:450-461,2015;Pardoll,《自然癌症综述(Nature Reviews Cancer)》12:252-264,2012)。在一些实施例中,免疫检查点调节剂(例如,拮抗剂、激动剂)与如本文所描述的一种或多种免疫检查点分子“结合”或“特异性结合”。

[0445] 在特定实施例中,免疫检查点调节剂是多肽或肽。术语“肽”和“多肽”在本文中可互换使用,然而,在某些情况下,术语“肽”可以指较短的多肽,例如由约2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、25个、30个、35个、40个、45个或50个氨基酸组成的多肽,包含其间的所有整数和范围(例如,5-10、8-12、10-15)。多肽和肽可以由如本文所描述的天然存在的氨基酸和/或非天然存在的氨基酸构成。

[0446] 抗体还作为多肽被包含。因此,在一些实施例中,免疫检查点调节性多肽药剂是如本文其它地方所描述的抗体或“其抗原结合片段”。

[0447] 在一些实施例中,药剂是或包括免疫检查点分子的“配体”,例如,天然配体。“配体”通常指形成与靶分子(例如,生物分子)形成复合物以用于生物目的的物质或分子并且包含“蛋白质配体”,所述蛋白质配体通常通过与靶分子或靶蛋白质上的位点结合而产生信号。因此,某些药剂是与免疫检查点分子天然结合并产生信号的蛋白质配体。还包含“经修饰的配体”,例如,与药代动力学修饰剂,例如源自免疫球蛋白的Fc区融合的蛋白质配体。

[0448] 可以使用本领域熟知的方法对多肽的结合性质进行定量(参见Davies等人,《生物化学年度评论》59:439-473,1990)。在一些实施例中,多肽以约或范围为约 $\leq 10^{-7}$ M到约 10^{-8} M的平衡解离常数与靶分子(例如,免疫检查点分子或其表位)特异性结合。在一些实施例中,平衡解离常数为约或范围为约 $\leq 10^{-9}$ M到约 $\leq 10^{-10}$ M。在某些说明性实施例中,多肽对本文所述的靶标(所述多肽与其特异性结合)的亲和力(Kd或EC₅₀)为约、至少约或小于约0.01nM、0.05nM、0.1nM、0.2nM、0.3nM、0.4nM、0.5nM、0.6nM、0.7nM、0.8nM、0.9nM、1nM、2nM、3nM、4nM、5nM、6nM、7nM、8nM、9nM、10nM、11nM、12nM、13nM、14nM、15nM、16nM、17nM、18nM、19nM、20nM、21nM、22nM、23nM、24nM、25nM、26nM、27nM、28nM、29nM、30nM、40nM或50nM。

[0449] 在一些实施例中,药剂是“小分子”,所述小分子是指具有合成来源或生物来源(生物分子)但通常不是聚合物的有机化合物。有机化合物是指一大类化合物,其分子含有碳,通常不包括仅含有碳酸盐、简单的碳氧化物或氰化物的化合物。“生物分子”通常指由活生物体产生的有机分子,包含如肽、多糖以及核酸等大聚合分子(生物聚合物)以及如初级次级代谢产物、脂质、磷脂、糖脂、固醇、甘油酯、维生素和激素等小分子。“聚合物”通常指由重复结构单元构成的大分子或高分子,所述重复结构单元通常通过共价化学键连接。

[0450] 在某些实施例中,小分子的分子量为约或小于约1000-2000道尔顿,通常介于约300道尔顿与700道尔顿之间,并且包含约或小于约50道尔顿、100道尔顿、150道尔顿、200道尔顿、250道尔顿、300道尔顿、350道尔顿、400道尔顿、450道尔顿、500道尔顿、550道尔顿、600道尔顿、650道尔顿、700道尔顿、750道尔顿、800道尔顿、850道尔顿、900道尔顿、950道尔顿、1000道尔顿或2000道尔顿。

[0451] 某些小分子可以具有针对本文的多肽,如抗体描述的“特异性结合”特性。例如,在一些实施例中,小分子以约、至少约或小于约以下的结合亲和力(K_d或EC₅₀)与靶标(例如,免疫检查点分子)特异性结合:0.01nM、0.05nM、0.1nM、0.2nM、0.3nM、0.4nM、0.5nM、0.6nM、0.7nM、0.8nM、0.9nM、1nM、2nM、3nM、4nM、5nM、6nM、7nM、8nM、9nM、10nM、11nM、12nM、13nM、14nM、15nM、16nM、17nM、18nM、19nM、20nM、21nM、22nM、23nM、24nM、25nM、26nM、27nM、28nM、29nM、30nM、40nM或50nM。

[0452] 在一些实施例中,免疫检查点调节剂是一种或多种抑制性免疫检查点分子的拮抗剂或抑制剂。示例性抑制性免疫检查点分子包含:程序性死亡-配体1(PD-L1)、程序性死亡-配体2(PD-L2)、程序性死亡受体1(PD-1)、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(CTLA-4)、吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)、色氨酸2,3-双加氧酶(TDO)、T细胞免疫球蛋白结构域和粘蛋白结构域3(TIM-3)、淋巴细胞活化基因-3(LAG-3)、T细胞活化V结构域Ig抑制剂(VISTA)、B和T淋巴细胞弱化子(BTLA)、CD160以及具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体(TIGIT)。

[0453] 在某些实施例中,药剂是PD-1(受体)拮抗剂或抑制剂,已经显示其靶向在肿瘤环境中恢复免疫功能(参见,例如Phillips等人,《国际免疫学杂志(Int Immunol.)》27:39-46,2015)。PD-1是属于免疫球蛋白超家族并且在T细胞和祖B细胞上表达的细胞表面受体。PD-1与两种配体PD-L1和PD-L2相互作用。PD-1例如通过减少或防止T细胞的活化来充当抑制性免疫检查点分子,所述减少或防止进而降低自身免疫并且促进自身耐受。PD-1的抑制效应至少部分地通过促进淋巴结中的抗原特异性T细胞的细胞凋亡,同时还减少调节性T细胞(抑制性T细胞)的细胞凋亡的双重机制来实现。PD-1拮抗剂或抑制剂的一些实例包含与PD-1特异性结合并且减少其免疫抑制活性(例如,其下游信号传导或其与PD-L1的相互作用)中的一种或多种免疫抑制活性的抗体或抗原结合片段或小分子。PD-1拮抗剂或抑制剂的具体实例包含抗体纳武单抗、派姆单抗、PDR001、MK-3475、AMP-224、AMP-514和皮地利珠单抗和其抗原结合片段(参见例如美国专利第8,008,449号、第8,993,731号、第9,073,994号、第9,084,776号、第9,102,727号、第9,102,728号、第9,181,342号、第9,217,034号、第9,387,247号、第9,492,539号、第9,492,540号和美国申请第2012/0039906号、第2015/0203579号)。

[0454] 在一些实施例中,药剂是PD-L1拮抗剂或抑制剂。如上所述,PD-L1是PD-1受体的天然配体之一。PD-L1拮抗剂或抑制剂的一般实例包含与PD-L1特异性结合并且减少其免疫抑制活性(例如,其与PD-1受体的结合)中的一种或多种免疫抑制活性的抗体或抗原结合片段或小分子。PD-L1拮抗剂的具体实例包含抗体阿特朱单抗(MPDL3280A)、阿维鲁单抗(MSB0010718C)和度伐单抗(MEDI4736)和其抗原结合片段(参见例如美国专利第9,102,725号;第9,393,301号;第9,402,899号;第9,439,962号)。

[0455] 在一些实施例中,药剂是PD-L2拮抗剂或抑制剂。如上所述,PD-L2是PD-1受体的天然配体之一。PD-L2拮抗剂或抑制剂的一般实例包含与PD-L2特异性结合并且减少其免疫抑

制活性(例如,其与PD-1受体的结合)中的一种或多种免疫抑制活性的抗体或抗原结合片段或小分子。

[0456] 在一些实施例中,药剂是CTLA-4拮抗剂或抑制剂。CTLA4或CTLA-4(细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4),也被称为CD152(分化簇152),是例如通过在与抗原呈递细胞表面上的CD80或CD86结合时向T细胞传递抑制信号来充当抑制性免疫检查点分子的蛋白质受体。CTLA-4拮抗剂或抑制剂的一般实例包含与CTLA-4特异性结合的抗体或抗原结合片段或小分子。特定实例包含抗体伊匹单抗和曲美木单抗和其抗原结合片段。据信,伊匹单抗的活性中的至少一些活性由表达CTLA-4的抑制因子Treg的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)杀伤介导。

[0457] 在一些实施例中,药剂是IDO拮抗剂或抑制剂或TDO拮抗剂或抑制剂。IDO和TDO是具有免疫抑制性质的色氨酸分解代谢酶。例如,已知IDO抑制T细胞和NK细胞,产生并活化Treg和髓源性抑制细胞并且促进肿瘤血管生成。IDO和TDO拮抗剂或抑制剂的一般实例包含与IDO或TDO特异性结合(参见,例如,Platten等人,《免疫学前沿(Front Immunol.)》5:673,2014)并且降低或抑制一种或多种免疫抑制活性的抗体或抗原结合片段或小分子。IDO拮抗剂或抑制剂的具体实例包含吡啶莫德(NLG-8189)、1-甲基-色氨酸(1MT)、 β -咔啉(去甲哈尔满、9H-吡啶并[3,4-b]吡啶)、迷迭香酸和艾卡噪司他(参见例如Sheridan,《自然-生物技术》33:321-322,2015)。TDO拮抗剂或抑制剂的具体实例包含680C91和LM10(参见例如Pilotte等人,《美国国家科学院院刊》109:2497-2502,2012)。

[0458] 在一些实施例中,药剂是TIM-3拮抗剂或抑制剂。T细胞免疫球蛋白结构域和粘蛋白结构域3(TIM-3)在经活化的人CD4+T细胞上表达并且调节Th1和Th17细胞因子。TIM-3还通过在其配体——半乳糖凝集素-9相互作用时触发细胞死亡充当Th1/Tc1功能的负调节剂。TIM-3有助于抑制性肿瘤微环境,并且其过表达与各种癌症的不良预后相关(参见例如Li等人,《肿瘤学报(Acta Oncol.)》54:1706-13,2015)。TIM-3拮抗剂或抑制剂的一般实例包含与TIM-3特异性结合并且减少或抑制其免疫抑制活性中的一种或多种免疫抑制活性的抗体或抗原结合片段或小分子。

[0459] 在一些实施例中,药剂是LAG-3拮抗剂或抑制剂。淋巴细胞活化基因-3(LAG-3)在经活化的T细胞、天然杀伤细胞、B细胞和浆细胞样树突状细胞上表达。其负调节T细胞的细胞增殖、活化和稳态,方式与CTLA-4和PD-1的方式类似(参见例如Workman和Vignali,《欧洲免疫学杂志》33:970-9,2003;以及Workman等人,《欧洲免疫学杂志》172:5450-5,2004),并且已报道在Treg抑制功能中发挥作用(参见例如Huang等人,《免疫(Immunity)》21:503-13,2004)。LAG3还使CD8+T细胞保持处于致耐受性状态,并且与PD-1组合以维持CD8+T细胞耗竭。LAG-3拮抗剂或抑制剂的一般实例包含与LAG-3特异性结合并且抑制其免疫抑制活性中的一种或多种免疫抑制活性的抗体或抗原结合片段或小分子。具体实例包含抗体BMS-986016和其抗原结合片段。

[0460] 在一些实施例中,药剂是VISTA拮抗剂或抑制剂。T细胞活化V结构域Ig抑制剂(VISTA)主要在造血细胞上表达并且是抑制性免疫检查点调节剂,所述抑制性免疫检查点调节剂抑制T细胞活化,诱导Foxp3表达并且在肿瘤微环境内高度表达,在所述肿瘤微环境内,其抑制抗肿瘤T细胞应答(参见例如Lines等人,《癌症研究》74:1924-32,2014)。VISTA拮抗剂或抑制剂的一般实例包含与VISTA特异性结合并减少其免疫抑制活性中的一种或多种

的抗体或抗原结合片段或小分子。

[0461] 在一些实施例中,药剂是BTLA拮抗剂或抑制剂。B和T淋巴细胞弱化子(BTLA; CD272)表达在T细胞活化期间诱导,并且其通过与肿瘤坏死家族受体(TNF-R)和B7细胞表面受体家族相互作用来抑制T细胞。BTLA是肿瘤坏死因子(受体)超家族成员14(TNFRSF14),也被称为疱疹病毒进入介导子(HVEM)的配体。BTLA-HVEM复合物例如通过抑制人CD8+癌症特异性T细胞的功能来负调节T细胞免疫应答(参见例如Derré等人,《临床研究杂志(J Clin Invest)》120:157-67,2009)。BTLA拮抗剂或抑制剂的一般实例包含与BTLA-4特异性结合并且减少其免疫抑制活性中的一种或多种免疫抑制活性的抗体或抗原结合片段或小分子。

[0462] 在一些实施例中,药剂是HVEM拮抗剂或抑制剂,例如,与HVEM特异性结合并且干扰其与BTLA或CD160的相互作用的拮抗剂或抑制剂。HVEM拮抗剂或抑制剂的一般实例包含与HVEM特异性结合,任选地减少HVEM/BTLA和/或HVEM/CD160相互作用并且由此减少HVEM的免疫抑制活性中的一种或多种免疫抑制活性的抗体或抗原结合片段或小分子。

[0463] 在一些实施例中,药剂是CD160拮抗剂或抑制剂,例如,与CD160特异性结合并且干扰其与HVEM的相互作用的拮抗剂或抑制剂。CD160拮抗剂或抑制剂的一般实例包含与CD160特异性结合,任选地减少CD160/HVEM相互作用并且由此减少或抑制其免疫抑制活性中的一种或多种免疫抑制活性的抗体或抗原结合片段或小分子。

[0464] 在一些实施例中,药剂是TIGIT拮抗剂或抑制剂。T细胞Ig和ITIM结构域(TIGIT)是在各种淋巴细胞的表面上发现并且例如通过Treg抑制抗肿瘤免疫的共抑制性受体(Kurtulus等人,《临床研究杂志》125:4053-4062,2015)。TIGIT拮抗剂或抑制剂的一般实例包含与TIGIT特异性结合并减少其免疫抑制活性中的一种或多种的抗体或抗原结合片段或小分子(参见例如Johnston等人,《癌细胞》26:923-37,2014)。

[0465] 在某些实施例中,免疫检查点调节剂是一种或多种刺激性免疫检查点分子的激动剂。示例性刺激性免疫检查点分子包含OX40、CD40、糖皮质激素诱导的TNFR家族相关基因(GITR)、CD137(4-1BB)、CD27、CD28、CD226和疱疹病毒进入介导子(HVEM)。

[0466] 在一些实施例中,药剂是OX40激动剂。OX40(CD134)促进效应T细胞和记忆T细胞的扩增并且抑制T调节性细胞的分化和活性(参见例如Croft等人,《免疫学评论(Immunol Rev.)》229:173-91,2009)。其配体是OX40L(CD252)。由于OX40信号传导影响T细胞活化和存活两者,因此其在启动淋巴结中的抗肿瘤免疫应答以及维持肿瘤微环境中的抗肿瘤免疫应答方面起重要作用。OX40激动剂的一般实例包含与OX40特异性结合并且增加其免疫刺激活性中的一种或多种免疫刺激活性的抗体或抗原结合片段或小分子或配体。具体实例包含OX86、OX-40L、Fc-OX40L、GSK3174998、MEDI0562(人源化OX40激动剂)、MEDI6469(鼠OX40激动剂)和MEDI6383(OX40激动剂)和其抗原结合片段。

[0467] 在一些实施例中,药剂是CD40激动剂。CD40在抗原呈递细胞(APC)和一些恶性肿瘤上表达。其配体是CD40L(CD154)。在APC上,连接引起共刺激分子上调,从而潜在地绕过抗肿瘤免疫应答中对T细胞辅助的需要。CD40激动剂疗法在APC成熟和其从肿瘤到淋巴结的迁移(从而使抗原呈递和T细胞活化提高)中起重要作用。抗CD40激动剂抗体在动物模型中产生实质应答和持久的抗癌免疫,这是至少部分地由细胞毒性T细胞介导的效应(参见例如Johnson等人,《临床癌症研究(Clin Cancer Res.)》21:1321-1328,2015;以及Vonderheide和Glennie,《临床癌症研究》19:1035-43,2013)。CD40激动剂的一般实例包含与CD40特异性

结合并且增加其免疫刺激活性中的一种或多种免疫刺激活性的抗体或抗原结合片段或小分子或配体。具体实例包含CP-870,893、达西珠单抗、Chi Lob 7/4、ADC-1013、CD40L、rhCD40L和其抗原结合片段。

[0468] 在一些实施例中,药剂是GITR激动剂。糖皮质激素诱导的TNFR家族相关基因(GITR)增加T细胞扩增,抑制Tregs的抑制活性并且延长T效应细胞的存活。已经显示,GITR激动剂通过Treg谱系稳定性的丧失来促进抗肿瘤应答(参见例如Schaer等人,《癌症免疫学研究(Cancer Immunol Res.)》1:320-31,2013)。这些不同机制表明,GITR在启动淋巴结中的免疫应答以及维持肿瘤组织中的免疫应答方面起重要作用。其配体是GITRL。GITR激动剂的一般实例包含与GITR特异性结合并且增加其免疫刺激活性中的一种或多种免疫刺激活性的抗体或抗原结合片段或小分子或配体。特定实例包含GITRL、INCAGN01876、DTA-1、MEDI1873和其抗原结合片段。

[0469] 在一些实施例中,药剂是CD137激动剂。CD137(4-1BB)是肿瘤坏死因子(TNF)受体家族的成员,并且CD137的交联会增强T细胞增殖、IL-2分泌、存活和溶细胞活性。CD137介导的信号传导还保护如CD8+T细胞等T细胞免于活化诱导的细胞死亡。CD137激动剂的一般实例包含与CD137特异性结合并且增加其免疫刺激活性中的一种或多种免疫刺激活性的抗体或抗原结合片段或小分子或配体。具体实例包含CD137(或4-1BB)配体(参见例如Shao和Schwarz,《白细胞生物学杂志(J Leukoc Biol.)》89:21-9,2011)和抗体乌托米卢单抗,包含其抗原结合片段。

[0470] 在一些实施例中,药剂是CD27激动剂。刺激CD27会增加初始T细胞的抗原特异性扩增并且有助于T细胞记忆和T细胞免疫的长期维持。其配体是CD70。用激动剂抗体靶向人CD27会刺激T细胞活化和抗肿瘤免疫(参见例如Thomas等人,《肿瘤免疫学(Oncoimmunology)》2014;3:e27255.doi:10.4161/onci.27255;以及He等人,《免疫学杂志》191:4174-83,2013)。CD27激动剂的一般实例包含与CD27特异性结合并且增加其免疫刺激活性中的一种或多种免疫刺激活性的抗体或抗原结合片段或小分子或配体。具体实例包含CD70和抗体万利鲁单抗和CDX-1127(1F5),包含其抗原结合片段。

[0471] 在一些实施例中,药剂是CD28激动剂。CD28是组成性表达的CD4+T细胞、一些CD8+T细胞。其配体包含CD80和CD86,并且其刺激增加T细胞扩增。CD28激动剂的一般实例包含与CD28特异性结合并且增加其免疫刺激活性中的一种或多种免疫刺激活性的抗体或抗原结合片段或小分子或配体。具体实例包含CD80、CD86、抗体TAB08和其抗原结合片段。

[0472] 在一些实施例中,药剂是CD226激动剂。CD226是与TIGIT共享配体的刺激受体,并且与TIGIT相反,CD226的接合增强T细胞活化(参见例如Kurtulus等人,《临床研究杂志》125:4053-4062,2015;Bottino等人,《实验医学杂志(J Exp Med.)》1984:557-567,2003;以及Tahara-Hanaoka等人,《国际免疫学杂志》16:533-538,2004)。CD226激动剂的一般实例包含与CD226特异性结合并且增加其免疫刺激活性中的一种或多种免疫刺激活性的抗体或抗原结合片段或小分子或配体(例如,CD112、CD155)。

[0473] 在一些实施例中,药剂是HVEM激动剂。疱疹病毒进入诱导子(HVEM),也被称为肿瘤坏死因子受体超家族成员14(TNFRSF14),是TNF受体超家族的人细胞表面受体。HVEM发现于包含T细胞、APC和其它免疫细胞的各种细胞上。与其它受体不同,HVEM在静息T细胞上高水平表达并且在活化时下调。已经表明,HVEM信号传导在T细胞活化的早期阶段中以及在淋巴

结中的肿瘤特异性淋巴细胞群的扩增期间起重要作用。HVEM激动剂的一般实例包含与HVEM特异性结合并且增加其免疫刺激活性中的一种或多种免疫刺激活性的抗体或抗原结合片段或小分子或配体。

[0474] 在某些实施例中,癌症免疫治疗剂是癌症疫苗。示例性癌症疫苗包含Oncophage,如加德西或希瑞适等人乳头瘤病毒HPV,如安在时-B、Recombivax HB或Twinrix等乙型肝炎疫苗以及西普鲁塞-T(普罗文奇)。在一些实施例中,癌症疫苗包括或利用一种或多种癌症抗原或癌症相关抗原。示例性癌症抗原包含但不限于:人Her2/neu、Her1/EGF受体(EGFR)、Her3、A33抗原、B7H3、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23(IgE受体)、MAGE-3、C242抗原、5T4、IL-6、IL-13、血管内皮生长因子VEGF(例如,VEGF-A)、VEGFR-1、VEGFR-2、VEGR-3、NRP2、CD30、CD33、CD37、CD40、CD44、CD51、CD52、CD56、CD74、CD80、CD152、CD200、CD221、CCR4、HLA-DR、CTLA-4、NPC-1C、生腱蛋白、波形蛋白、胰岛素样生长因子1受体(IGF-1R)、 α -胎儿蛋白、胰岛素样生长因子1(IGF-1)、碳酸酐酶9(CA-IX)、癌胚抗原(CEA)、鸟苷酸环化酶C、NY-ESO-1、p53、生存素、整合素 $\alpha v \beta 3$ 、整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 、叶酸受体1、跨膜糖蛋白NMB、成纤维细胞活化蛋白 α (FAP)、糖蛋白75、TAG-72、MUC1、MUC16(或CA-125)、磷脂酰丝氨酸、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、NR-LU-13抗原、TRAIL-R1、肿瘤坏死因子受体超家族成员10b(TNFRSF10B或TRAIL-R2)、SLAM家族成员7(SLAMF7)、EGP40泛癌症抗原、B细胞活化因子(BAFF)、血小板源性生长因子受体、糖蛋白EpCAM(17-1A)、程序性死亡受体-1、蛋白质二硫键异构酶(PDI)、肝再生磷酸酶3(PRL-3)、前列腺酸性磷酸酶、Lewis-Y抗原、GD2(在神经外胚层来源的肿瘤上表达的二唾液酸神经节苷酯)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3)以及间皮素。

[0475] 在某些实施例中,癌症免疫治疗剂是溶瘤病毒。溶瘤病毒是优先感染和杀死癌细胞的病毒。包含天然存在和人造的或经过工程化的溶瘤病毒。大多数溶瘤病毒都针对肿瘤选择性被工程化,但是存在如呼肠孤病毒(Reovirus)和SVV-001塞内加谷病毒等天然存在的实例。溶瘤病毒的一般实例包含VSV、脊髓灰质炎病毒(Poliovirus)、呼肠孤病毒、塞尼卡病毒(Senecavirus)和RIGVIR以及其经过工程化的版本。溶瘤病毒的非限制性实例包含单纯疱疹病毒(HSV)和其经过工程化的版本、塔利拉赫(T-VEC)、柯萨奇病毒A21(CAVATAK™)、安柯瑞(H101)、佩拉雷奥雷普(REOLYSIN®)、塞内加谷病毒(NTX-010)、塞尼卡病毒SVV-001、ColoAd1、SEPREHVIR(HSV-1716)、CGTG-102(Ad5/3-D24-GMCSF)、GL-ONC1、MV-NIS和DNX-2401等等。

[0476] 在某些实施例中,癌症免疫治疗剂是细胞因子。示例性细胞因子包含干扰素(IFN)- α 、IL-2、IL-12、IL-7、IL-21和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)。

[0477] 在某些实施例中,癌症免疫治疗剂是基于细胞的免疫疗法,例如基于T细胞的过继免疫疗法。在一些实施例中,基于细胞的免疫疗法包括癌症抗原特异性T细胞,任选地离体源性T细胞。在一些实施例中,所述癌症抗原特异性T细胞选自以下中的一种或多种:嵌合抗原受体(CAR)修饰的T细胞和T细胞受体(TCR)修饰的T细胞、肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)以及肽诱导的T细胞。在具体实施例中,CAR修饰的T细胞靶向CD-19(参见例如Maude等人,《血液(Blood)》125:4017-4023,2015)。

[0478] 在某些情况下,要治疗的癌症与癌症抗原缔合,即,癌症抗原特异性T细胞靶向已知与要治疗的癌症缔合的至少一种抗原或针对所述至少一种抗原而富集。在一些实施例中,癌症抗原选自以下中的一种或多种:CD19、人Her2/neu、Her1/EGF受体(EGFR)、Her3、A33

抗原、B7H3、CD5、CD20、CD22、CD23 (IgE受体)、MAGE-3、C242抗原、5T4、IL-6、IL-13、血管内皮生长因子VEGF (例如, VEGF-A)、VEGFR-1、VEGFR-2、CD30、CD33、CD37、CD40、CD44、CD51、CD52、CD56、CD74、CD80、CD152、CD200、CD221、CCR4、HLA-DR、CTLA-4、NPC-1C、生腱蛋白、波形蛋白、胰岛素样生长因子1受体 (IGF-1R)、 α -胎儿蛋白、胰岛素样生长因子1 (IGF-1)、碳酸酐酶9 (CA-IX)、癌胚抗原 (CEA)、鸟苷酸环化酶C、NY-ESO-1、p53、生存素、整合素 $\alpha v \beta 3$ 、整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 、叶酸受体1、跨膜糖蛋白NMB、成纤维细胞活化蛋白 α (FAP)、糖蛋白75、TAG-72、MUC1、MUC16 (或CA-125)、磷脂酰丝氨酸、前列腺特异性膜抗原 (PSMA)、NR-LU-13抗原、TRAIL-R1、肿瘤坏死因子受体超家族成员10b (TNFRSF10B或TRAIL-R2)、SLAM家族成员7 (SLAMF7)、EGP40泛癌抗原、B细胞活化因子 (BAFF)、血小板源性生长因子受体、糖蛋白EpCAM (17-1A)、程序性死亡受体-1、蛋白质二硫键异构酶 (PDI)、肝再生磷酸酶3 (PRL-3)、前列腺酸性磷酸酶、Lewis-Y抗原、GD2 (在神经外胚层来源的肿瘤上表达的二唾液酸神经节苷酯)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 (GPC3) 以及间皮素。

[0479] 另外的示例性癌症抗原包含: 5T4、707-AP、9D7、AFP、A1bZIP HPG1、 α -5- β -1-整合素、 α -5- β -6-整合素、 α -辅肌动蛋白-4/m、 α -甲基酰基-辅酶A消旋酶、ART-4、ARTC1/m、B7H4、BAGE-1、BCL-2、bcr/abl、 β -连环蛋白/m、BING-4、BRCA1/m、BRCA2/m、CA 15-3/CA 27-29、CA19-9、CA72-4、CA125、钙网蛋白、CAMEL、CASP-8/m、组织蛋白酶B、组织蛋白酶L、CDC27/m、CDK4/m、CDKN2A/m、CEA、CLCA2、CML28、CML66、COA-1/m、毛状蛋白样蛋白、胶原蛋白XXIII、COX-2、CT-9/BRD6、Cten、周期素B1、周期素D1、cyp-B、CYPB1、DAM-10、DAM-6、DEK-CAN、EFTUD2/m、EGFR、ELF2/m、EMMPRIN、EpCam、EphA2、EphA3、ErbB3、ETV6-AML1、EZH2、FGF-5、FN、Frau-1、G250、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE7b、GAGE-8、GDEP、GnT-V、gp100、GPC3、GPNMB/m、HAGE、HAST-2、hepsin、Her2/neu、HERV-K-MEL、HLA-A*0201-R1 7I、HLA-A1 1/m、HLA-A2/m、HNE、同源盒NKX3.1、HOM-TES-14/SCP-1、HOM-TES-85、HPV-E6、HPV-E7、HSP70-2M、HST-2、hTERT、iCE、IGF-1R、IL-13Ra2、IL-2R、IL-5、不成熟层粘连蛋白受体、激肽释放酶-2、激肽释放酶-4、Ki67、KIAA0205、KIAA0205/m、KK-LC-1、K-Ras/m、LAGE-A1、LDLR-FUT、MAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGE-A9、MAGE-A10、MAGE-A12、MAGE-B1、MAGE-B2、MAGE-B3、MAGE-B4、MAGE-B5、MAGE-B6、MAGE-B10、MAGE-B16、MAGE-B17、MAGE-C1、MAGE-C2、MAGE-C3、MAGE-D1、MAGE-D2、MAGE-D4、MAGE-E1、MAGE-E2、MAGE-F1、MAGE-H1、MAGEL2、乳腺珠蛋白A、MART-1/melan-A、MART-2、MART-2/m、基质蛋白22、MCI R、M-CSF、ME1/m、间皮素、MG50/PXDN、MMP11、MN/CAIX-抗原、MRP-3、MUC-1、MUC-2、MUM-1/m、MUM-2/m、MUM-3/m、I类肌凝蛋白/m、NA88-A、N-乙酰葡萄糖氨基转移酶-V、新-PAP、新-PAP/m、NFYC/m、NGEP、NMP22、NPM/ALK、N-Ras/m、NSE、NY-ESO-B、NY-ESO-1、OA1、OFA-iLRP、OGT、OGT/m、OS-9、OS-9/m、骨钙蛋白、骨桥蛋白、pi 5、p190小bcr-abl、p53、p53/m、PAGE-4、PAI-1、PAI-2、PAP、PART-1、PATE、PDEF、Pim-1激酶、Pin-1、Pml/PAR α 、POTE、PRAME、PRDX5/m、prostein、蛋白酶-3、PSA、PSCA、PSGR、PSM、PSMA、PTPRK/m、RAGE-1、RBAF600/m、RHAMM/CD1 68、RU1、RU2、S-100、SAGE、SART-1、SART-2、SART-3、SCC、SIRT2/m、Sp1 7、SSX-1、SSX-2/HOM-MEL-40、SSX-4、STAMP-1、STEAP-1、存活素、存活素-2B、SYT-SSX-1、SYT-SSX-2、TA-90、TAG-72、TARP、TEL-AML1、TGF- β 、TGF β RII、TGM-4、TPI/m、TRAG-3、TRG、TRP-1、TRP-2/6b、TRP/INT2、TRP-p8、酪氨酸酶、UPA、VEGFR1、VEGFR-2/FLK-1和WT1。某些优选的抗原包含p53、CA125、EGFR、Her2/neu、hTERT、PAP、MAGE-A1、MAGE-A3、间皮素、MUC-1、GP100、MART-1、酪氨酸酶、PSA、PSCA、PSMA、

STEAP-1、Ras、CEA和WT1,并且更优选地PAP、MAGE-A3、WT1和MUC-1。

[0480] 在一些实施例中,抗原选自:MAGE-A1(例如,根据登录号M77481的MAGE-A1)、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A6(例如,根据登录号NM_005363的MAGE-A6)、MAGE-C1、MAGE-C2、melan-A(例如,根据登录号NM_005511的melan-A)、GP100(例如,根据登录号M77348的GP100)、酪氨酸酶(例如,根据登录号NM_000372的酪氨酸酶)、存活素(例如,根据登录号AF077350的存活素)、CEA(例如,根据登录号NM_004363的CEA)、Her-2/neu(例如,根据登录号M11730的Her-2/neu)、WT1(例如,根据登录号NM_000378的WT1)、PRAME(例如,根据登录号NM_006115的PRAME)、EGFRI(表皮生长因子受体1)(例如,根据登录号AF288738的EGFRI(表皮生长因子受体1))、MUC1、粘蛋白-1(例如,根据登录号NM_002456的粘蛋白-1)、SEC61 G(例如,根据登录号NM_014302的SEC61 G)、hTERT(例如,hTERT登录号NM_198253)、5T4(例如,根据登录号NM_006670的5T4)、TRP-2(例如,根据登录号NM_001922的TRP-2)、STEAP1(前列腺六次跨膜上皮抗原1)、PSCA、PSA、PSMA等。

[0481] 在一些实施例中,癌症抗原选自PCA、PSA、PSMA、STEAP和任选地MUC-1,包含其片段、变体和衍生物。在一些实施例中,癌症抗原选自NY-ESO-1、MAGE-C1、MAGE-C2、存活素、5T4和任选地MUC-1,包含其片段、变体和衍生物。

[0482] 在一些情况下,癌症抗原涵盖与癌症或肿瘤疾病,特别是例如淋巴瘤或淋巴瘤相关疾病相关的独特型抗原,其中独特型抗原是淋巴血细胞的免疫球蛋白独特型或淋巴血细胞的T细胞受体独特型。

[0483] 在一些情况下,癌症抗原特异性T细胞选自以下中的一种或多种:嵌合抗原受体(CAR)修饰的T细胞(例如,靶向癌症抗原)和T细胞受体(TCR)修饰的T细胞、肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)以及肽诱导的T细胞。

[0484] 技术人员将理解,本文所描述的各种癌症免疫治疗剂可以与本文所描述的各种抗NRP2抗体(包含其抗原结合片段)中的任何一种或多种组合,并且根据本文所描述的方法或组合物的任何一种或多种方法或组合物使用。

[0485] 化疗剂某些实施例采用一种或多种化疗剂,例如,小分子化疗剂。化疗剂的非限制性实例包含烷化剂、抗代谢物、细胞毒性抗生素、拓扑异构酶抑制剂(I型或II型)、抗微管剂等。

[0486] 烷化剂的实例包含:氮芥(例如,二氯甲基二乙胺、环磷酰胺、氮芥、美法仑、苯丁酸氮芥、异环磷酰胺和白消安)、亚硝基脲(例如,N-亚硝基-N-甲基脲(MNU)、卡莫司汀(BCNU)、洛莫司汀(CCNU)、司莫司汀(MeCCNU)、福莫司汀和链脲佐菌素)、四嗪(例如,达卡巴嗪、米托唑胺和替莫唑胺)、氮丙啶(例如,噻替派、丝裂霉素和地吡啶(AZQ))、顺铂和其衍生物(例如,卡铂和奥沙利铂)以及非典型烷化剂(任选地丙卡巴肼和六甲密胺)。

[0487] 抗代谢物的实例包含:抗叶酸剂(例如,甲氨蝶呤和培美曲塞)、氟嘧啶(例如,5-氟尿嘧啶和卡培他滨)、脱氧核苷类似物(例如,安西他滨、依诺他滨、阿糖胞苷、吉西他滨、地西他滨、阿扎胞苷、氟达拉滨、奈拉滨、克拉屈滨、氯法拉滨、氟达拉滨和喷司他丁)以及硫嘌呤(例如,硫鸟嘌呤和巯嘌呤)。

[0488] 细胞毒性抗生素的实例包含:蒽环类药物(例如,阿霉素、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、吡柔比星、阿柔比星和米托蒽醌)、博来霉素、丝裂霉素C、米托蒽醌和放线菌素。拓扑异构酶抑制剂的实例包含:喜树碱、伊立替康、拓扑替康、依托泊苷、阿霉素、米托蒽醌、替

尼泊昔、新生霉素、美巴龙和阿柔比星。

[0489] 抗微管剂的实例包含紫杉烷(例如,紫杉醇和多西他赛)和长春花生物碱(例如,长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨)。

[0490] 技术人员将理解,本文所描述的各种化疗剂可以与本文所描述的各种抗NRP2抗体(包含其抗原结合片段)中的任何一种或多种组合,并且根据本文所描述的方法或组合物的任何一种或多种方法或组合物使用。

[0491] 激素治疗剂某些实施例采用至少一种激素治疗剂。激素治疗剂的一般实例包含激素激动剂和激素拮抗剂。激素激动剂的特定实例包含:孕激素(孕酮)、皮质类固醇(例如,泼尼松龙、甲基泼尼松龙、地塞米松)、胰岛素样生长因子、VEGF源性血管生成和淋巴管生成因子(例如,VEGF-A、VEGF-A145、VEGF-A165、VEGF-C、VEGF-D、PlGF-2)、成纤维细胞生长因子(FGF)、半乳凝素、肝细胞生长因子(HGF)、血小板源性生长因子(PDGF)、转化生长因子(TGF)- β 、雄激素、雌激素和生长抑素类似物。激素拮抗剂的实例包含激素合成抑制剂,如芳香酶抑制剂和促性腺激素释放激素(GnRH)激动剂(例如,亮丙瑞林(leuprolide)、戈舍瑞林(goserelin)、曲普瑞林(triptorelin)、组氨瑞林(histrelin)),包含其类似物。还包含激素受体拮抗剂,如选择性雌激素受体调节剂(SERM,例如,它莫西芬、雷洛昔芬(raloxifene)、托瑞米芬(toremifene)) and 抗雄激素(例如,氟他胺(flutamide)、比卡鲁胺(bicalutamide)、尼鲁米特(nilutamide))。

[0492] 还包含激素途径抑制剂,如针对激素受体的抗体。实例包含IGF受体(例如,IGF-IR1)的抑制剂,如西妥木单抗、多妥珠单抗、芬妥木单抗、加尼妥单抗、异妥单抗和罗妥木单抗;血管内皮生长因子受体1、2或3(VEGFR1、VEGFR2或VEGFR3)的抑制剂,如培阿赛珠单抗、贝伐单抗、伊鲁库单抗、雷莫芦单抗;TGF- β 受体R1、R2和R3的抑制剂,如夫苏木单抗和美替木单抗;c-Met的抑制剂,如那昔妥单抗;EGF受体的抑制剂,如西妥昔单抗、莫福汀德帕妥昔单抗、伏妥昔单抗、伊马曲单抗、恩星拉妥昔单抗、马妥珠单抗、莫妥昔单抗、奈昔木单抗、尼妥珠单抗、帕尼单抗、托木妥昔单抗和扎芦木单抗;FGF受体的抑制剂,如aprutumab ixadotin和贝马里妥珠单抗;PDGF受体的抑制剂,如奥拉单抗和托维单抗。

[0493] 技术人员将理解,本文所描述的各种激素治疗剂可以与本文所描述的各种抗NRP2抗体(包含其抗原结合片段)中的任何一种或多种组合,并且根据本文所描述的方法或组合物的任何一种或多种方法或组合物使用。

[0494] 激酶抑制剂某些实施例采用至少一种激酶抑制剂,包含酪氨酸激酶抑制剂。激酶抑制剂的实例包含:阿达索替尼、阿法替尼、阿柏西普、阿昔替尼、贝伐单抗、博舒替尼、卡博替尼、西妥昔单抗、考比替尼、克唑替尼、达沙替尼、恩曲替尼、厄达替尼、厄洛替尼、福坦替尼、吉非替尼、依鲁替尼、伊马替尼、拉帕替尼、乐伐替尼、木利替尼、尼罗替尼、帕尼单抗、帕唑帕尼、哌加他尼、帕纳替尼、兰尼单抗、瑞戈非尼、鲁索替尼、索拉非尼、舒尼替尼、SU6656、托法替尼、曲妥珠单抗、凡德他尼和威罗菲尼。

[0495] 技术人员将理解,本文所描述的各种激酶抑制剂可以与本文所描述的各种抗NRP2抗体(包含其抗原结合片段)中的任何一种或多种组合,并且根据本文所描述的方法或组合物的任何一种或多种方法或组合物使用。

[0496] 使用方法和治疗性组合物

[0497] 本公开的实施例涉及以下发现:人组氨酰-tRNA合成酶(HRS)多肽具有与治疗广泛

的疾病和病状有关的意向不到生物学性质,并且这些性质中的某些性质与HRS与人神经纤毛蛋白2(NRP2)之间的相互作用有关。因此,干扰NRP2与NRP2配体(包含例如,人HRS)之间的结合的针对人NRP2的抗体可以作为独立疗法用于治疗疾病(包含,NRP2相关疾病)或可以与本文所描述的其它治疗剂组合使用。

[0498] 因此,某些实施例包含治疗有需要的受试者的疾病或病状、改善其症状和/或减缓其进展的方法,所述方法包括向受试者施用与人神经纤毛蛋白-2(NRP2)多肽特异性结合的至少一种抗体或其抗原结合片段。在一些情况下,所述至少一种抗体或其抗原结合片段拮抗所述NRP2多肽与所述至少一种NRP2配体之间的所述结合/信号传导活性。在一些情况下,所述至少一种抗体或其抗原结合片段例如通过充当激动剂抗体来模拟或以其它方式增强NRP2/NRP2配体相互作用的一种或多种信号传导活性。

[0499] 在一些情况下,所述至少一种抗体或其抗原结合片段干扰人NRP2多肽与人HRS多肽的结合。在一些情况下,所述至少一种抗体或其抗原结合片段例如通过充当激动剂抗体来模拟HRS多肽与NRP2多肽的结合的一种或多种信号传导活性。本文其它地方描述了示例性抗NRP2抗体和包括所述抗体的治疗性组合物。

[0500] 在某些实施例中,所述疾病或病状是NRP2相关疾病或病状。在一些实施例中,所述NRP2相关疾病或病状选自以下中的一种或多种:癌症和与癌症相关的疾病和途径,包含癌细胞生长、起始、迁移、粘附、侵袭和/或转移;与炎症、自身免疫和相关炎性疾病相关的疾病,包含与不适当的免疫细胞活化或迁移相关的疾病,如移植物抗宿主病(GVHD);与淋巴发育、淋巴管生成和淋巴损伤相关的疾病,包含例如水肿、淋巴水肿、继发性淋巴水肿、不适当的脂肪吸收和沉积、过量脂肪沉积和血管通透性;与感染相关的疾病,包含潜伏感染;与过敏性病症/疾病、过敏反应相关的疾病,包含例如慢性阻塞性肺病症(COPD)、中性粒细胞性哮喘、抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)相关的全身性血管炎、全身性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎性小体相关疾病和皮肤相关中性粒细胞介导的疾病,如坏疽性脓皮病;与肉芽肿性炎性疾病相关的疾病,包含结节病和肉芽肿;与纤维化相关的疾病,包含纤维化疾病、纤维化、内皮-间充质转化(EMT)和伤口愈合;与不适当的平滑肌收缩性和不适当的血管平滑肌细胞迁移和粘附相关的疾病;与不适当的自噬、吞噬作用和胞葬作用相关的疾病;与神经元疾病、周围神经系统重塑和疼痛感知相关的疾病;以及与骨骼发育和骨骼重塑相关的疾病。

[0501] 在一些实施例中,所述疾病是癌症。此处,NRP2表达的上调与肿瘤发生,尤其是肿瘤转移相关,并且与多种肿瘤类型中的侵袭性更强的疾病相关。此外,臂板蛋白/神经丛蛋白/神经纤毛蛋白信号传导轴影响许多癌症标志(参见例如Franzolin和Tamagnone《国际分子科学杂志》20,377;doi:10.3390/ijms20020377,2019;Nassarre等人,《肿瘤靶标与疗法(OncoTargets and Therapy)》2014:7 1663-1687;Neufeld等人,《冷泉港医学展望(Cold Spring Harb Perspect Med)》,2:a006718,2012)。与这些研究一致,前列腺癌细胞中NRP2表达的增加是由磷酸酶和张力蛋白同源物(PTEN缺失)诱导的,并且其表达与格里森等级(Gleason grade)相关(参见例如Zhao等人,《胸癌(Thoracic Cancer)》8:203-213,2017)。另外,P53突变通过抑制DLX2转录来上调NRP2表达,从而使细胞运动性增加。约50%的人类肿瘤和癌症含有p53基因的突变,其中绝大多数突变在DNA结合结构域中发生,并且这与不良预后有关(参见例如Drabkin等人,《肿瘤靶标》8(第57期)96464-96465,2017)。此外,TGF- β 信号传导参与癌症中NRP2B的表达和EMT的上调,这可以解释为什么在晚期肿瘤中,较高的

TGF- β 产量与肿瘤侵袭性和不良预后呈正相关(参见例如Malfettone等人,《癌症通讯(Cancer Lett.)》392:39-50,2017)。

[0502] 因此,某些实施例包含治疗有需要的受试者的癌症、改善其症状或抑制其进展的方法,所述方法包括向受试者施用与人NRP2多肽特异性结合(抗NRP2抗体)并且调节(例如,干扰)人NRP2多肽与NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体和/或来自表H1的人HRS多肽)的结合的至少一种抗体或其抗原结合片段。某些实施例包含减少或预防有需要的受试者的癌症,例如转移性癌症的复发,其中施用治疗性组合物能够产生对癌症的免疫记忆。在一些实施例中,受试者患有糖尿病(例如,1型糖尿病或2型糖尿病)或有患糖尿病的风险,。

[0503] 在一些实施例中,相对于健康对照物,受试者患有与至少一种NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体和/或来自表H1的HRS多肽)和/或其编码mRNA的水平或表达增加相关的疾病和/或基于患有所述疾病而被选择进行治疗。例如,在一些实施例中,疾病受试者、细胞或组织中的所述至少一种NRP2配体的水平是健康对照物中的所述至少一种NRP2配体的水平的约或至少约1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、1000倍或更多倍。在一些实施例中,相对于非癌性对照细胞或组织,受试者患有至少一种NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体和/或来自表H1的HRS多肽)和/或其编码mRNA的水平或表达增加的癌症和/或基于患有所述癌症而被选择进行治疗。例如,在一些实施例中,癌细胞或组织中的所述至少一种NRP2配体的水平是非癌性对照物或标准物中的所述至少一种NRP2配体的水平的约或至少约1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、1000倍或更多倍。因此,某些实施例包含选择受试者进行治疗的方法,所述方法包括(i)检测受试者的所述至少一种NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体和/或来自表H1的HRS多肽)和/或其编码mRNA的水平相对于对照或参考物有所增加,和(ii)向受试者施用包括如本文所描述的至少一种抗NRP2抗体的治疗性组合物。在特定实施例中,HRS多肽是全长HRS的剪接变体。在一些实施例中,HRS剪接变体选自以下中的一种或多种:HisRS^{N1}、HisRS^{N2}、HisRS^{N3}、HisRS^{N4}、HisRS^{N5}、HisRS^{C1}、HisRS^{C2}、HisRS^{C3}、HisRS^{C4}、HisRS^{C5}、HisRS^{C6}、HisRS^{C7}、HisRS^{C8}和HisRS^{C9}。

[0504] 在一些实施例中,相对于由一个或多个受试者构成的健康或匹配对照群体的可溶性神经纤毛蛋白质2(NRP2)多肽(例如,选自表N1)——与HRS多肽结合或游离的——的循环或血清水平,受试者的所述水平有所增加和/或基于所述水平有所增加而被选择进行治疗。例如,在某些实施例中,循环或血清水平为约或至少约10pM、20pM、30pM、50pM、100pM、200pM、300pM、400pM、500pM、600pM、700pM、800pM、900pM、1000pM、1100pM、1200pM、1300pM、1400pM、1500pM、1600pM、1700pM、1800pM、1900pM、2000pM、3000pM、4000pM、5000pM的可溶性NRP2多肽,或循环或血清水平为约30-50pM、50-100pM、100-2000pM、200-2000pM、300-2000pM、400-2000pM、500-2000pM、600-2000pM、700-2000pM、800-2000pM、900-2000pM、1000-2000pM、2000-3000pM、3000-4000pM、4000-5000pM的可溶性NRP2多肽。

[0505] 在某些实施例中,相对于健康对照物,受试者患有与NRP2多肽(任选地选自表N1)和/或其编码mRNA的水平或表达增加相关的疾病(例如,NRP2相关疾病)和/或基于患有所述疾病而被选择进行治疗。例如,在某些实施例中,患病受试者、细胞或组织中的NRP2多肽的水平是健康对照物中NRP2多肽的水平的约或至少约1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8

倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍或更多倍。在一些实施例中,相对于对照细胞或组织,任选地相对于类型与癌症的类型相同的非癌性细胞或组织,受试者患有NRP2多肽(例如,选自表N1)和/或其编码mRNA的水平或表达增加的癌症和/或基于患有所述癌症而被选择进行治疗。例如,在一些实施例中,癌细胞或组织中的NRP2多肽的水平是非癌性对照物或标准物中的NRP2多肽水平的约或至少约1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍或更多倍。因此,一些实施例包含选择受试者进行治疗的方法,所述方法包括(i)检测受试者的NRP2多肽和/或其编码mRNA的表达水平相对于对照物或参考物有所增加,和(ii)向受试者施用包括如本文所描述的至少一种抗NRP2抗体的治疗性组合物。

[0506] 在一些实施例中,相对于健康对照或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体,所述受试者患有与NRP2A和/或NRP2B的水平或表达有所增加或NRP2A:NRP2B表达的比率有所改变相关的疾病和/或基于患有所述疾病而被选择进行治疗。在一些实施例中,相对于健康对照或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体,所述受试者的NRP2B表达或水平显著较高。在一些实施例中,与健康对照或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体相比,NRP2B的所述水平增加约或至少约10%、20%、30%、40%、50%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%。在一些实施例中,相对于健康或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体,所述受试者的HRS:NRP2复合物的循环水平有所增加和/或基于所述HRS:NRP2复合物的所述循环水平有所增加而被选择进行治疗。因此,某些实施例包含选择受试者进行癌症治疗的方法,所述方法包括(i)检测受试者的HRS:NRP2复合物的表达水平相对于对照物或参考物有所增加,和(ii)向受试者施用包括如本文所描述的至少一种抗NRP2抗体的治疗性组合物。

[0507] 在一些实施例中,所述健康对照或匹配对照标准物或由一个或多个受试者构成的受试者群体包括类型与所述癌症相同的癌性或非癌性细胞或组织的年龄匹配样品的平均范围,所述平均范围包括如耐药性、转移潜能、攻击性、遗传特征(例如,p53突变、PTEN缺失、IGFR表达)和/或表达模式等具体特性。

[0508] 一些实施例包括以足以实现约或小于约500pM、400pM、300pM、200pM、100pM、50pM、40pM、30pM、20pM或10pM的可溶性NRP2的平均持续性血浆浓度的量和频率向受试者施用至少一种抗NRP2抗体。

[0509] 某些实施例包括以足以使HRS:NRP2复合物的所述循环水平降低,例如降低约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%的量和频率施用至少一种抗NRP2抗体。

[0510] 对于癌症的治疗,在一些情况下,相对于未经处理的对照物,抗NRP2抗体使对癌症的免疫应答增强约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。示例性免疫应答包含增加或增强实体瘤的免疫细胞侵袭以及增加抗癌生物活性。在某些实施例中,抗NRP2抗体增强对癌症的后天免疫应答,并且在一些实施例中,抗NRP2抗体增强对癌症的先天免疫应答。在一些情况下,抗NRP2抗体直接或间接增强T细胞介导的对癌症的应答。在一些情况下,抗NRP2抗体增强B细胞介导或抗体介导的对癌症的应答。在一

些情况下,抗NRP2抗体调节巨噬细胞对癌症的应答。在一些情况下,抗NRP2抗体调节免疫细胞或癌症自噬。在一些情况下,抗NRP2抗体调节免疫细胞吞噬作用。在一些情况下,抗NRP2抗体调节癌细胞凋亡。在一些情况下,抗NRP2抗体调节免疫细胞胞葬作用和/或癌细胞自噬。

[0511] 在一些实施例中,抗NRP2抗体增强巨噬细胞对癌症的应答。在一些实施例中,抗NRP2抑制巨噬细胞对癌症的应答。在抗NRP2抗体的一些实施例中,抗体增强自噬。在一些实施例中,抗NRP2抑制自噬。在一些实施例中,抗NRP2增强吞噬作用。在一些实施例中,抗NRP2抑制吞噬作用。在一些实施例中,抗NRP2增强细胞凋亡。在抗NRP2抗体的一些实施例中,抗体抑制细胞凋亡。在一些实施例中,抗NRP2抗体增强胞葬作用。在一些实施例中,抗NRP2抑制胞葬作用。

[0512] 在一些情况下,相对于未经处理的对照物,抗NRP2抗体使癌症起始、癌细胞迁移、粘附或癌细胞转移减少约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。在一些情况下,相对于未经处理的对照物,抗NRP2抗体使癌症介导的淋巴管生成减少约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。

[0513] 在一些实施例中,相对于未经处理的对照物,所述至少一种抗NRP2抗体使癌症(例如,从活检切片或体外生长的其它样品中分离的癌细胞)的体外生长速率降低约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。

[0514] 在一些实施例中,相对于未经处理的对照物,所述至少一种抗NRP2抗体使癌症(例如,从活检切片或体外生长的其它样品中分离的癌细胞)对基质的粘附性降低约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。在一些情况下,所述基质包括层粘连蛋白。

[0515] 在一些实施例中,相对于未经处理的对照物,所述至少一种抗NRP2抗体使癌症(例如,从活检切片或体外生长的其它样品中分离的癌细胞)的侵袭性降低约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。

[0516] 在一些实施例中,相对于未经处理的对照物,所述至少一种抗NRP2抗体将癌症或游走细胞(例如,从活检切片或体外生长的其它样品中分离的癌细胞或免疫细胞)的迁移或运动速率抑制约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。

[0517] 在一些实施例中,相对于未经处理的对照物,所述至少一种抗NRP2抗体将所述癌症或相关免疫细胞的自噬或内体成熟(例如,内体酸化)速率抑制约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。

[0518] 在一些实施例中,相对于仅使用另外的药剂,所述至少一种抗NRP2抗体使癌症对另外的药剂(例如,化疗剂、激素治疗剂和/或激酶抑制剂)的易感性增强约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。在一些实施例中,相对于仅使用癌症免疫治疗剂,所述至少一种抗NRP2抗体使癌症免疫治疗剂的抗肿瘤和/或免疫刺激活性增强约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。

[0519] 一些实施例包含以足以实现约1nM与约1 μ M之间、约1nM与约100nM之间、约1nM与约10nM之间或约1nM与约3 μ M之间的所述至少一种抗NRP2抗体的稳态浓度或平均循环浓度的量和频率施用所述至少一种抗NRP2抗体。

[0520] 还包含用于治疗癌症的组合法,包含治疗有需要的受试者的癌症、改善其症状或抑制其进展的方法,所述方法包括向受试者施用与人NRP2多肽(抗NRP2抗体)特异性结合的至少一种抗体或其抗原结合片段与至少一种另外的药剂的组合,所述至少一种另外的药剂例如癌症免疫治疗剂、化疗剂、激素治疗剂和/或激酶抑制剂。本文其它地方描述了示例性癌症免疫治疗剂、化疗剂、激素治疗剂和激酶抑制剂。

[0521] 在一些情况下,抗NRP2抗体和至少一种另外的药剂单独施用,例如,在单独的治疗性组合物中并且在相同或不同的时间施用。在一些实施例中,抗NRP2抗体和所述至少一种另外的药剂作为同一治疗性组合物的一部分同时施用。

[0522] 特定方法将一种或多种抗NRP2抗体或其抗原结合片段用作组合治疗方案的一部分(即,除组合治疗方案之外还采用一种或多种抗NRP2抗体或其抗原结合片段)。下表M1中提供了示例性组合方案。

表 M1. 组合法方案		
癌症类型	药剂	首字母缩略词
乳腺癌	环磷酰胺、甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、长春瑞滨	CMF
	阿霉素、环磷酰胺	AC
霍奇金氏淋巴瘤	多西他赛、阿霉素、环磷酰胺	TAC
	阿霉素、博莱霉素、长春碱、达卡巴嗪	ABVD
	氮芥、长春新碱、丙卡巴肼、泼尼松龙	MOPP
非霍奇金氏淋巴瘤	环磷酰胺、阿霉素、长春新碱、泼尼松龙	CHOP
生殖细胞瘤	博莱霉素、依托泊苷、顺铂	BEP
胃癌	表柔比星、顺铂、5-氟尿嘧啶	ECF
	表柔比星、顺铂、卡培他滨	ECX
膀胱癌	甲氨蝶呤、长春新碱、阿霉素、顺铂	MVAC
肺癌	环磷酰胺、阿霉素、长春新碱、长春瑞滨	CAV
结肠直肠癌	5-氟尿嘧啶、亚叶酸、奥沙利铂	FOLFOX
胰腺癌	亚叶酸(Leucovorin)、氟尿嘧啶、伊立替康(开普拓(Camptosar))、奥沙利铂	FOLFIRINOX
	吉西他滨、纳米颗粒白蛋白结合型紫杉醇(nabpaclitaxel)	ABRAXANE

[0524] 在一些实施例中,本文所描述的方法和治疗性组合物(例如,抗NRP2抗体,单独地或与至少一种另外的药剂组合)使受试者的中值存活时间增加4周、5周、6周、7周、8周、9周、

10周、15周、20周、25周、30周、40周或更长时间。在某些实施例中,本文所描述的方法和/治疗性组合(例如,抗NRP2抗体,单独地或与至少一种另外的药剂组合)使受试者的中值存活时间增加1年、2年、3年或更长时间。在一些实施例中,本文所描述的方法和/治疗性组合(例如,抗NRP2抗体,单独地或与癌症免疫治疗剂组合)使无进展存活期增加2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周或更长时间。在某些实施例中,本文所描述的方法或/治疗性组合使无进展存活期增加1年、2年、3年或更长时间。

[0525] 在某些实施例中,本文所描述的方法和/治疗性组合(例如,抗NRP2抗体,单独地或与至少一种另外的药剂组合)足以使肿瘤消退,如活肿瘤的量在统计学上显著降低所指示的,例如,肿瘤质量降低至少10%、20%、30%、40%、50%或更多,或如扫描尺寸发生改变(例如,统计学上显著的降低)所指示的。在某些实施例中,本文所描述的方法和/治疗性组合(例如,抗NRP2抗体,单独地或与至少一种另外的药剂组合)足以使疾病稳定。在某些实施例中,本文所描述的方法和/治疗性组合(例如,抗NRP2抗体,单独地或与至少一种另外的药剂组合)足以使专业临床医生已知的特定疾病适应症的临床症状产生临床上相关的减少。

[0526] 在一些实施例中,相对于仅使用癌症免疫治疗剂,抗NRP2抗体增加、补充或以其它方式增强癌症免疫治疗剂的抗肿瘤和/或免疫刺激活性。在一些实施例中,相对于仅使用癌症免疫治疗剂,抗NRP2抗体使癌症免疫治疗剂的抗肿瘤和/或免疫刺激活性增强约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、2000%或更多。

[0527] 本文所描述的方法和/治疗性组合可以用于治疗任何种类的癌症或肿瘤。在一些实施例中,癌症是原发性癌症,即,在肿瘤进展开始并且产生癌块的解剖部位处生长的癌症。在一些实施例中,癌症是继发性癌症或转移性癌症,即,已经从起源的原发部位或组织扩散到一个或多个不同部位或组织中的癌症。在一些实施例中,癌症表达或过表达NRP2。在一些实施例中,受试者或患者患有选自以下中的一种或多种的癌症:黑色素瘤(例如,转移性黑色素瘤)、上皮或上皮源性肿瘤、胰腺癌、骨癌、前列腺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(NSCLC)、间皮瘤、白血病(例如,淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、急性骨髓性白血病、复发性急性骨髓性白血病)、淋巴瘤、肝癌(肝细胞癌或HCC)、肉瘤、B细胞恶性肿瘤、乳腺癌(例如,雌激素受体阳性(ER+)、雌激素受体阴性(ER-)、Her2阳性(Her2+)、Her2阴性(Her2-)或其组合,例如,ER+/Her2+、ER+/Her2-、ER-/Her2+或ER-/Her2-;或“三阴性”乳腺癌,所述“三阴性”乳腺癌是雌激素受体阴性、黄体酮受体阴性和HER2阴性)、卵巢癌、结直肠癌、神经胶质瘤(例如,星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤、室管膜瘤或脉络丛乳头状瘤)、多形性胶质母细胞瘤(例如,巨细胞胶质母细胞瘤或神经胶质肉瘤)、脑膜瘤、垂体腺瘤、前庭神经鞘瘤、原发性CNS淋巴瘤、原始神经外胚层肿瘤(成神经管细胞瘤)、肾癌(例如,肾细胞癌)、膀胱癌、子宫癌、食管癌、脑癌、头颈癌、宫颈癌、睾丸癌、甲状腺癌、胃癌、病毒诱导性肿瘤,例如,乳头状瘤病毒诱导性肿瘤(例如,宫颈肿瘤、宫颈癌)、腺癌、疱疹病毒诱导性肿瘤(例如,伯基特淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、EBV诱导性B细胞淋巴瘤)、乙型肝炎诱导性肿瘤(肝细胞癌)、HTLV-1诱导性淋巴瘤和HTLV-2诱导性淋巴瘤、听神经瘤、肺癌(例如,肺肿瘤、支气管肿瘤)、小细胞肺肿瘤、咽喉癌、肛管癌、胶质母细胞瘤、直肠肿瘤、星形细胞瘤、脑肿瘤、视网膜母细胞瘤、基底细胞瘤、脑转移瘤、成神经管细胞瘤、阴道癌、胰腺癌、睾丸癌、霍奇金氏综合征(Hodgkin's syndrome)、脑膜瘤、施耐博格病(Schneeberger disease)、垂体

肿瘤、蕈样肉芽肿、类癌瘤、神经鞘瘤、脊柱瘤(spinalioma)、伯基特淋巴瘤、喉癌、肾癌、胸腺瘤、子宫体肿瘤、骨癌、非霍奇金氏淋巴瘤、尿道癌、CUP综合征、头/颈肿瘤、少突胶质母细胞瘤、外阴癌、肠癌、结肠直肠肿瘤、食管癌(例如,食管肿瘤)、疣损害(wart involvement)、小肠肿瘤、颅咽管瘤、卵巢肿瘤、生殖系统肿瘤、卵巢癌(例如,卵巢肿瘤)、胰腺癌(例如,胰腺肿瘤)、子宫内膜肿瘤、肝转移瘤、阴茎癌、舌癌、胆囊癌、白血病、浆细胞瘤和眼睑肿瘤。

[0528] 在一些实施例中,如上所述,癌症或肿瘤是转移性癌症,例如,表达NRP2和/或NRP2B的转移性癌症。进一步地,对于以上癌症,示例性转移性癌症包括但不限于:已经转移到骨、肝和/或肺的膀胱癌;已经转移到骨、脑、肝和/或肺的乳腺癌;已经转移到肝、肺和/或腹膜的结肠直肠癌;已经转移到肾上腺、骨、脑、肝和/或肺的肾癌;已经转移到肾上腺、骨、脑、肝和/或其它肺部位的肺癌;已经转移到骨、脑、肝、肺和/或皮肤/肌肉的黑色素瘤;已经转移到肝、肺和/或腹膜的卵巢癌;已经转移到肝、肺和/或腹膜的胰腺癌;已经转移到肾上腺、骨、肝和/或肺的前列腺癌;已经转移到肝、肺和/或腹膜的胃癌;已经转移到骨、肝和/或肺的甲状腺癌;以及已经转移到骨、肝、肺、腹膜和/或阴道的子宫癌;等等。

[0529] 在例如癌症免疫治疗剂是PD-1或PD-L1拮抗剂或抑制剂的一些实施例中,受试者具有使其适于PD-1或PD-L1抑制剂疗法的生物标志物(例如,如癌细胞或癌症特异性CTL等细胞中的PD-1或PD-L1水平增加)。例如,在一些实施例中,受试者的在肿瘤浸润性CD8⁺T细胞亚群内的程序性细胞死亡受体1高/细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4高(例如,PD-1^{hi}CTLA-4^{hi})细胞的分数增加(参见例如Daud等人,《临床研究杂志》126:3447-3452,2016)。作为另一个实例,在一些实施例中,受试者的在循环肿瘤反应性(例如,PD-1⁺CD11a^{hi}CD8⁺)T细胞中的Bim(B细胞淋巴瘤2-相互作用(Bcl2-相互作用)介导子)的水平增加,并且任选地患有转移性黑色素瘤(参见例如Dronca等人,《临床调查洞察杂志(JCI Insight)》5月5日;1(6):e86014,2016)。

[0530] 某些具体组合包含用于治疗选自结肠直肠癌、黑色素瘤、乳腺癌、非小细胞肺癌、膀胱癌和肾细胞癌中的一种或多种的癌症的抗NRP2抗体和PD-L1拮抗剂或抑制剂,例如,阿特朱单抗(MPDL3280A)、阿维单抗(MSB0010718C)和度伐鲁单抗(MEDI4736)。

[0531] 一些具体组合包含用于治疗选自霍奇金氏淋巴瘤、黑色素瘤、非小细胞肺癌、肝细胞癌、肾细胞癌和卵巢癌中的一种或多种的癌症的抗NRP2抗体和PD-1拮抗剂,例如,纳武单抗。

[0532] 特定的具体组合包含用于治疗选自黑色素瘤、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、头颈癌和尿路上皮癌中的一种或多种的癌症的抗NRP2抗体和PD-1拮抗剂,例如,派姆单抗。

[0533] 某些具体组合包含用于治疗选自黑色素瘤、前列腺癌、肺癌和膀胱癌中的一种或多种的癌症的抗NRP2抗体和CTLA-4拮抗剂,例如,伊匹单抗和曲美木单抗。

[0534] 一些具体组合包含用于治疗选自转移性乳腺癌和脑癌,任选地多形性胶质母细胞瘤、神经胶质瘤、胶质肉瘤或恶性脑肿瘤中的一种或多种的癌症的抗NRP2抗体和IDO拮抗剂,例如,吲哚莫德(NLG-8189)、1-甲基-色氨酸(1MT)、 β -咔啉(去甲哈尔满、9H-吡啶并[3,4-b]吲哚)、迷迭香酸或艾卡咪司他。

[0535] 某些具体组合包含用于治疗黑色素瘤、卡波西肉瘤(Kaposi sarcoma)和血液癌症的抗NRP2抗体和细胞因子INF- α 。还包含用于治疗转移性肾癌或转移性黑色素瘤的抗NRP2抗体和IL-2(例如,阿地白介素(Aldesleukin))的组合。

[0536] 一些具体组合包含用于治疗如急性淋巴性白血病(ALL)、慢性淋巴性白血病(CLL)和B细胞肿瘤的血液癌症的抗NRP2抗体和基于T细胞的过继性免疫疗法,例如,包括靶向CD-19的CAR修饰T细胞(参见例如Maude等人,2015,同上;Lorentzen和Straten,《斯堪的纳维亚免疫学杂志(Scand J Immunol.)》82:307-19,2015;以及Ramos等人,《癌症杂志(Cancer J.)》20:112-118,2014)。

[0537] 用于治疗癌症的方法可以与其它治疗方式组合。例如,本文所描述的组合疗法可以在其它治疗性干预之前、期间或之后施用于受试者,所述其它治疗性干预包含对症护理、放射疗法、外科手术、移植、激素疗法、光动力疗法、抗生素疗法或其任何组合。对症护理包含施用皮质类固醇,以减轻脑水肿、头痛、认知功能障碍和呕吐,以及施用抗惊厥药,以减少癫痫。放射疗法包含可以进一步与传统外科手术组合的全脑照射、分次放射疗法和如立体定向放射外科手术等放射外科手术。

[0538] 用于鉴定患有本文所描述的疾病或病状(例如,NRP2相关疾病或病状)中的一种或多种疾病或病状的受试者的方法在本领域中是已知的。

[0539] 如上所述,对于用于治疗人或非人哺乳动物疾病或用于测试的体内用途,本文所描述的药剂通常在施用前掺入到一种或多种治疗性组合物或药物组合物中,包含兽用治疗性组合物。

[0540] 因此,某些实施例涉及包括如本文所描述的与人NRP2多肽特异性结合的至少一种抗体或其抗原结合片段的治疗性组合物。在一些情况下,治疗性组合物或药物组合物包括本文所描述的药剂中的一种或多种药剂与药学上或生理学上可接受的载剂或赋形剂的组合。某些治疗性组合物进一步包括如本文所描述的至少一种癌症免疫治疗剂。

[0541] 一些治疗性组合物包括(并且某些方法利用)仅一种抗NRP2抗体或其抗原结合片段。某些治疗性组合物包括(并且某些方法利用)至少两种、三种、四种或五种不同的抗NRP2抗体或其抗原结合片段的混合物。

[0542] 例如,某些治疗性组合物包括至少两种抗NRP2抗体,包含与人NRP2多肽的至少一个第一表位特异性结合的第一抗体或其抗原结合片段,以及与人NRP2多肽的至少一个第二表位特异性结合的第二抗体或其抗原结合片段,其中所述至少一个第一表位不同于所述至少一个第二表位。在一些实施例中,第一抗体和第二抗体或其抗原结合片段与NRP2多肽的同一结构域特异性和非竞争性结合。

[0543] 在一些实施例中,第一抗体和第二抗体或其抗原结合片段与NRP2多肽的不同结构域特异性和非竞争性结合。

[0544] 在某些实施例中,第一抗体或抗原结合片段是拮抗性抗体(例如,干扰HRS/NRP2结合相互作用的一种或多种信号传导活性),并且第二抗体或抗原结合片段是激动剂抗体(例如,模拟或激动HRS/NRP2结合相互作用的一种或多种信号传导活性)。在一些实施例中,第一抗体拮抗NRP2多肽与所述至少一种NRP2配体之间的结合/信号传导活性。在某些实施例中,第二抗体或其抗原结合片段激动或增强NRP2多肽与至少一种NRP2配体之间的结合/信号传导活性。

[0545] 在一些实施例中,第一抗体和第二抗体或其抗原结合片段都是封闭抗体,例如,针对至少两种不同的NRP2配体。在一些实施例中,第一抗体和第二抗体或其抗原结合片段都是部分封闭抗体,例如,针对至少两种不同的NRP2配体。在一些情况下,第一抗体和第二抗

体或其抗原结合片段都是非封闭抗体,例如,关于至少两种不同的NRP2配体。

[0546] 在一些情况下,第一抗体或其抗原结合片段是封闭抗体,并且第二抗体或其抗原结合片段是部分封闭抗体。在某些情况下,第一抗体或其抗原结合片段是封闭抗体,并且第二抗体或其抗原结合片段是非封闭抗体。

[0547] 在一些实施例中,第一抗体和第二抗体或其抗原结合片段都包括在人类中具有高效应子功能的IgG Fc结构域,例如,IgG1或IgG3 Fc结构域。在一些实施例中,第一抗体和第二抗体或其抗原结合片段包括在人类中具有低效应子功能的IgG Fc结构域,例如,IgG2或IgG4 Fc结构域。

[0548] 在一些情况下,第一抗体或其抗原结合片段包括在人类中具有高效应子功能的IgG Fc结构域,例如,IgG1或IgG3 Fc结构域,而第二抗体或其抗原结合片段包括在人类中具有低效应子功能的IgG Fc结构域,例如,IgG2或IgG4 Fc结构域。

[0549] 在特定实施例中,以蛋白质计或以重量-重量计,包括如抗体或其它多肽药剂(例如,抗NRP2抗体)等药剂的治疗性组合物基本上是纯的,例如,以蛋白质计或以重量-重量计,所述组合物的纯度为至少约80%、85%、90%、95%、98%或99%。

[0550] 在一些实施例中,本文所提供的抗体(例如,抗NRP2抗体)或其它多肽剂不会形成聚集体,具有期望的溶解度和/或具有适用于人类的免疫原性简况,如本文所描述的且如本领域已知的。因此,在一些实施例中,包括多肽剂(例如,如抗NRP2抗体等抗体)的治疗性组合物基本上不含聚集体。例如,某些组合物包括少于约10%(以蛋白质计)的高分子量聚集蛋白、或少于约5%的高分子量聚集蛋白、或少于约4%的高分子量聚集蛋白、或少于约3%的高分子量聚集蛋白、或少于约2%的高分子量聚集蛋白、或少于约1%的高分子量聚集蛋白。一些组合物包括多肽药剂(例如,如抗NRP2抗体等抗体),相对于所述多肽药剂表观分子质量,所述多肽药剂是至少约50%、约60%、约70%、约80%、约90%或约95%单分散的。

[0551] 在一些实施例中,如抗体(例如,抗NRP2抗体)等多肽药剂浓缩到约或至少约0.1mg/ml、0.2mg/ml、0.3mg/ml、0.4mg/ml、0.5mg/ml、0.6、0.7、0.8、0.9、1mg/ml、2mg/ml、3mg/ml、4mg/ml、5mg/ml、6mg/ml、7mg/ml、8mg/ml、9mg/ml、10mg/ml、11mg/ml、12mg/ml、13mg/ml、14mg/ml或15mg/ml,并且被调配用于生物治疗用途。

[0552] 为了制备治疗性组合物或药物组合物,将有效或期望量的一种或多种药剂与本领域的技术人员已知的一种或多种任何药物载剂或赋形剂混合,以适合于特定药剂和/或施用方式。药物载剂可以呈液体、半液体或固体的形式。用于肠胃外、皮内、皮下或局部应用的溶液或悬浮液可以包含例如无菌稀释剂(如水)、盐水溶液(例如,磷酸盐缓冲盐水,PBS)、固定油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂;抗微生物剂(如苯甲醇和对羟苯甲酸甲酯);抗氧化剂(如抗坏血酸和亚硫酸氢钠)和螯合剂(如乙二胺四乙酸(EDTA));缓冲剂(如乙酸盐、柠檬酸盐和磷酸盐)。如果静脉内施用(例如,通过IV输注),则合适的载剂包含生理盐水或磷酸盐缓冲盐水(PBS),以及含有如葡萄糖、聚乙二醇、聚丙二醇和其混合物等增稠剂和增溶剂的溶液。

[0553] 以纯形式或在合适的治疗性组合物或药物组合物中施用本文所描述的药剂可以通过用于实现类似效用的任何所接受的药剂施用方式进行。治疗性组合物或药物组合物可以通过将含有药剂的组合物与适当的生理学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂混合来制备,并且可以调配成固体、半-固体、液体或气体形式的制剂,如片剂、胶囊、粉剂、颗粒剂、软

膏剂、溶液剂、栓剂、注射剂、吸入剂、凝胶剂、微球剂和气雾剂。另外,组合物中可以但不必存在其它药物活性成分(包含本文其它地方描述的其它小分子)和/或如盐、缓冲剂和稳定剂等合适的赋形剂。

[0554] 可以通过各种不同途径进行施用,包含口服施用、肠胃外施用、经鼻施用、静脉内施用、皮内施用、肌肉内施用、皮下施用或局部施用。优选的施用方式取决于要治疗或预防的病状的性质。特定实施例包含通过IV输注进行施用。

[0555] 载剂可以包含例如药学上或生物学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂,其对于暴露于其中的细胞或哺乳动物来说在所采用的剂量和浓度下是无毒的。通常,生理学上可接受的载剂是含水pH缓冲溶液。生理学上可接受的载剂的实例包含如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸等缓冲剂;抗氧化剂,包含抗坏血酸;低分子量(少于约10个残基)的多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其它碳水化合物,包含葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,如EDTA;糖醇,如甘露醇或山梨醇;成盐平衡离子,如钠;和/或非离子型表面活性剂,如聚山梨醇酯20(TWEENTM)、聚乙二醇(PEG)和泊洛沙姆(poloxamer, PLURONICSTM)等。

[0556] 在一些实施例中,一种或多种药剂可以包埋在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊(例如,分别地,羟甲基纤维素或明胶-微胶囊以及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊)中、在胶体药物递送系统(例如,脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒以及纳米胶囊)中或在粗乳液中。在《雷明顿氏药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)》,第16版,Oslo A.,编辑,(1980)中公开了此类技术。所述一种或多种颗粒或脂质体可以进一步包括其它治疗剂或诊断剂。

[0557] 精确的剂量和治疗持续时间随所治疗疾病而变化,并且可以使用已知的测试方案凭经验测定或者可以通过在本领域中已知的模型系统中测试组合物并从中进行推断来测定。还可以执行受控的临床试验。剂量还可以随要减轻的病状的严重程度而变化。药物组合物通常被调配和施用成发挥治疗上有用的效果,同时使不期望的副作用最小化。组合物可以一次施用,或者可以分成多个较小的剂量每隔一段时间施用。对于任何特定受试者,可以根据个体需要随时间推移而调整具体剂量方案。

[0558] 因此,施用这些和相关治疗性组合物或药物组合物的典型途径包含但不限于口服施用、局部施用、透皮施用、吸入施用、肠胃外施用、舌下施用、经颊施用、直肠施用、阴道施用和鼻内施用。本文所使用的术语肠胃外包含皮下注射、静脉内、肌肉内、胸骨内注射或输注技术。根据本公开的某些实施例的治疗性组合物或药物组合物被调配成使其中含有的活性成分在将组合物施用于受试者或患者时是生物可利用的。将要施用于受试者或患者的组合物可以采取一个或多个剂量单位的形式,其中例如片剂可以是单个剂量单位,并且本文所描述的气雾剂形式的药剂的容器可以容纳多个剂量单位。制备此类剂型的实际方法对于本领域的技术人员来说是已知的或者将是显而易见的;例如,参见《雷明顿:药学科学与实践(Remington:The Science and Practice of Pharmacy)》,第20版(费城医药科学学院(Philadelphia College of Pharmacy and Science),2000)。要施用的组合物通常含有用于治疗所关注的疾病或病状的治疗有效量的本文所描述的药剂。

[0559] 治疗性组合物或药物组合物可以呈固体或液体的形式。在一个实施例中,所述一

种或多种载剂为微粒,使得组合物呈例如片剂或粉剂形式。所述一种或多种载剂可以为液体,其中组合物为例如可用于例如吸入施用的口服油、可注射液体或气雾剂。当旨在用于口服施用时,药物组合物优选地呈固体或液体形式,其中半-固体、半-液体、悬浮液和凝胶形式包含在本文所考虑的形式内作为固体或液体中。某些实施例包含无菌可注射溶液。

[0560] 作为用于口服施用的固体组合物,药物组合物可以被调配成粉剂、颗粒剂、压缩片剂、丸剂、胶囊、口香糖、圆片等。这种固体组合物通常将含有一种或多种惰性稀释剂或可食用载剂。另外,可以存在以下中的一种或多种:粘合剂,如羧甲基纤维素、乙基纤维素、微晶纤维素、黄蓍胶或明胶;赋形剂,如淀粉、乳糖或糊精;崩解剂,如海藻酸、海藻酸钠、Primogel、玉米淀粉等;润滑剂,如硬脂酸镁或Sterotex;助流剂,如胶体二氧化硅;甜味剂,如蔗糖或糖精;调味剂,如薄荷、水杨酸甲酯、或橙味调味剂;以及着色剂。当药物组合物呈胶囊,例如明胶胶囊的形式时,除了上述类型的材料外,所述药物组合物还可以含有如聚乙二醇或油等液体载剂。

[0561] 治疗性组合物或药物组合物可以呈液体,例如酏剂、糖浆、溶液、乳液或悬浮液的形式。作为两个实例,液体可以用于口服施用或通过注射递送。当旨在用于口服施用时,除本发明化合物外,优选的组合物含有甜味剂、防腐剂、染料/着色剂和增味剂中的一种或多种。在旨在通过注射施用的组合物中,可以包含表面活性剂、防腐剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、缓冲剂、稳定剂和等渗剂中的一种或多种。

[0562] 液体治疗性组合物或药物组合物,无论是溶液、悬浮液还是其它类似形式,都可以包含以下佐剂中的一种或多种佐剂:无菌稀释剂,如注射用水、盐水溶液,优选地生理盐水、林格氏溶液(Ringer's solution)、等渗氯化钠、固定油,如可以充当溶剂或悬浮介质的合成单酸甘油酯或二酸甘油酯、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它溶剂;抗菌剂,如苯甲醇或对羟苯甲酸甲酯;抗氧化剂,如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,如乙二胺四乙酸;缓冲剂,如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐,以及用于调节张力的药剂,如氯化钠或右旋糖。肠胃外制剂可以封装在由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。生理盐水是优选佐剂。可注射药物组合物优选地是无菌的。

[0563] 旨在用于肠胃外或口服施用的液体治疗性组合物或药物组合物应含有一定量的药剂,使得将获得合适的剂量。通常,此量为组合物中所关注的药剂的至少0.01%。当旨在用于口服施用时,可以将此量改变为介于组合物重量的0.1%与约70%之间。某些口服治疗性组合物或药物组合物含有介于约4%与约75%之间的所关注的药剂。在某些实施例中,治疗性组合物或药物组合物和制剂被制备成使得肠胃外剂量单位在稀释前含有所关注的药剂的重量的0.01%到10%。

[0564] 治疗性组合物或药物组合物可以旨在用于局部施用,在这种情况下,载剂可以适当地包括溶液、乳剂、软膏或凝胶基质。例如,基质可以包括以下中的一种或多种:凡士林、羊毛脂、聚乙二醇、蜂蜡、矿物油、如水和醇等稀释剂以及乳化剂和稳定剂。在用于局部施用的治疗性组合物或药物组合物中可以存在增稠剂。如果旨在用于透皮施用,则所述组合物可以包含透皮贴剂或离子电渗疗法装置。

[0565] 治疗性组合物或药物组合物可以旨在用于以例如栓剂的形式进行直肠施用,所述栓剂将在直肠中融化并释放药物。用于直肠施用的组合物可以含有油性基质作为适合的无刺激性赋形剂。此类基质包含但不限于羊毛脂、可可脂和聚乙二醇。

[0566] 治疗性组合物或药物组合物可以包含各种材料,所述材料修改固体或液体剂量单位的物理形式。例如,组合物可以包含在活性成分周围形成包衣壳的材料。形成包衣壳的材料通常是惰性的,并且可以选自例如糖、虫胶和其它肠溶包衣剂。可替代地,可以将活性成分包裹在明胶胶囊中。固体或液体形式的治疗性组合物或药物组合物可以包含与药剂结合并且由此有助于化合物的递送的组分。可以以这种能力起作用的合适组分包含单克隆抗体或多克隆抗体、一种或多种蛋白质或脂质体。

[0567] 治疗性组合物或药物组合物可以基本上由可以作为气雾剂施用的剂量单位组成。术语气雾剂用于表示范围从胶体性质的系统到由加压包装组成的系统的各种系统。递送可以通过液化或压缩气体或通过分配活性成分的合适泵系统进行。气雾剂可以以单相、双相或三相系统递送,以递送所述一种或多种活性成分。气雾剂的递送包含必要的容器、激活器、阀门、子容器等,这些可以一起形成试剂盒。本领域的普通技术人员无需过多实验即可确定优选的气雾剂。

[0568] 本文所描述的组合物可以制备有载剂,所述载剂保护药剂不会从身体中快速消除,如延时释放调配物或包衣。此类载剂包含控释调配物,如但不限于植入物和微囊化递送系统,以及可生物降解的生物相容性聚合物,如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、聚原酸酯、聚乳酸以及本领域的普通技术人员已知的其它聚合物。

[0569] 治疗性组合物或药物组合物可以通过制药领域熟知的方法制备。例如,旨在通过注射施用的治疗性组合物或药物组合物可以包括盐、缓冲剂和/或稳定剂中的一种或多种,其与无菌蒸馏水一起形成溶液。可以加入表面活性剂以促进均匀溶液或悬浮液的形成。表面活性剂是与药剂非共价相互作用以促进药剂在含水递送系统中的溶解或均匀悬浮的化合物。

[0570] 治疗性组合物或药物组合物或IVIG组合物可以以治疗有效量施用,所述治疗有效量将根据各种因素而变化,所述因素包含所采用的特定化合物的活性;化合物的代谢稳定性和作用时间;受试者的年龄、体重、总体健康状况、性别和饮食;施用方式和时间;排泄率;药物组合;特定病症或病状的严重程度;以及经历治疗的受试者。在一些情况下,治疗有效日剂量(对于70kg哺乳动物)为约0.001mg/kg(即,约0.07mg)到约100mg/kg(即,约7.0g);优选地,治疗有效剂量(对于70kg哺乳动物)为约0.01mg/kg(即,约0.7mg)到约50mg/kg(即,约3.5g);更优选地,治疗有效剂量(对于70kg哺乳动物)为约1mg/kg(即,约70mg)到约25mg/kg(即,约1.75g)。在一些实施例中,治疗有效剂量每周一次、每两周一次或每月一次施用。在具体实施例中,治疗有效剂量例如以约1-10mg/kg或1-5mg/kg,或约1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、7mg/kg、8mg/kg、9mg/kg或10mg/kg的剂量每周一次、每两周一次或每月一次施用。

[0571] 本文所描述的组合法可以包含施用含有抗NRP2抗体和另外的治疗剂(例如,免疫治疗剂、化疗剂、激素治疗剂、激酶抑制剂)的单个药物剂量调配物,以及施用包括呈自身的单独的剂量调配物的形式的抗NRP2抗体和另外的治疗剂的组合物。例如,本文所描述的抗NRP2抗体和另外的治疗剂可以以单个口服剂量组合物(如片剂或胶囊)的形式一起施用于受试者,或者每种药剂可以以单独的口服剂量调配物的形式施用。类似地,本文所描述的抗NRP2抗体和另外的治疗剂可以以单个胃肠外剂量组合物的形式,如以盐水溶液或其它生理上可接受的溶液的形式一起施用于受试者,或者每种药剂可以以单独的胃肠外剂量

调配物的形式施用。作为另一实例,对于基于细胞的疗法,抗NRP2抗体可以在施用前与细胞混合,作为单独组合物的一部分施用,或两者。当使用单独的剂量调配物时,组合物可以在基本上同一时间(即,同时)施用,或在单独的交错时间(即,依次)并且以任何顺序施用;组合治疗应被理解为包含所有这些方案。

[0572] 还包含患者护理试剂盒,所述患者护理试剂盒包括:(a)如本文所描述的与人神经纤毛蛋白2(NRP2)多肽特异性结合的至少一种抗体或其抗原结合片段(抗NRP2抗体);和任选地(b)至少一种另外的治疗剂(例如,免疫治疗剂、化疗剂、激素治疗剂、激酶抑制剂)。在某些试剂盒中,(a)和(b)位于单独的治疗性组合物中。在一些试剂盒中,(a)和(b)位于同一治疗性组合物中。

[0573] 本文的试剂盒还可以包含适合于或期望用于所治疗的适应症或用于期望诊断应用的一种或多种另外的治疗剂或其它组分。本文的试剂盒还可以包含促进预期递送模式所需或期望的一个或多个注射器或其它组件(例如,支架、可植入的贮库等)。

[0574] 在一些实施例中,患者护理试剂盒含有用于一或多种组合物和一种或多种信息材料的单独容器、分隔物或隔室。例如,所述一种或多种组合物可以包含在瓶子、小瓶或注射器中,并且所述一种或多种信息材料可以与容器相关联地包含。在一些实施例中,试剂盒的单独元件包含在单个未分隔的容器内。例如,组合物包含在其上贴有标签形式的信息材料的瓶子、小瓶或注射器中。在一些实施例中,试剂盒包含各自含有抗NRP2抗体和任选地至少一种另外的治疗剂的一种或多种单位剂型(例如,本文所描述的剂型)的多个(例如,一包)单独的容器。例如,试剂盒包含各自含有抗NRP2抗体和任选地至少一种另外的治疗剂的单个单位剂量的多个注射器、安瓿、箔袋或泡罩包装。试剂盒的容器可以是气密的、防水的(例如,不透于水分变化或蒸发)和/或不透光的。

[0575] 患者护理试剂盒任选地包含适于施用组合物的装置,例如,注射器、吸入器、滴管(例如,眼滴管)、药签(例如,棉签或木签)或任何此类递送装置。在一些实施例中,所述装置是分配一种或多种药剂的计量剂量的可植入装置。还包含例如通过组合本文所描述的组分来提供试剂盒的方法。

[0576] 药物的生物测定和分析测定、释放测定和产品规格、诊断和试剂

[0577] 还包含涉及抗NRP2抗体和相关药剂(如治疗剂和诊断剂)的生物测定。实例包含测量纯度、生物活性、亲和力、溶解度、pH、内毒素水平等的生物测定和分析测定,本文中对所述特性中的许多特性进行了描述。还包含建立剂量-反应曲线和/或为不同批次抗体之间的比较提供一个或多个基础的测定。批次比较可以基于化学表征、生物表征和临床表征中的任何一个或多个。还包含评估所选抗体的效力、稳定性、药代动力学和免疫原性的方法。这些方法和其它方法可以用于生物或化学药剂,包含本文所描述的抗NRP2抗体的批量释放测试以及其它用途。

[0578] 某些实施例包含生物亲和性测定的用途。这种测定可以用于评估例如抗NRP2抗体与至少一种NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体和/或来自表H1的HRS多肽)之间的结合亲和力,包含抗NRP2抗体干扰人NRP2多肽与至少一种NRP2配体或其它细胞结合配偶体之间相互作用的能力。某些示例性结合亲和力测定可以利用ELISA测定,以及本文所描述的和本领域已知的其它免疫测定。某些测定利用高效受体结合色谱法(参见例如Roswall等人,《生物制剂(Biologicals)》24:25-39,1996)。其它示例性结合亲和力测定可以利用基于

表面等离子体共振 (SPR) 的技术。实例包含BIACore技术,其中某些技术将SPR技术与微流体系统整合,以实时监测范围从pM到mM的浓度下的分子相互作用。还包含KINEXA™测定,其提供结合特异性、结合亲和力和结合动力学/速率常数的精确测量结果。

[0579] 某些实施例涉及用于评估或优化抗NRP2抗体的免疫原性的免疫测定。实例包含用于提供关于治疗性蛋白质的免疫原性潜力的有用信息的离体人细胞测定和体外免疫酶测定。离体细胞应答测定可以用于例如再现抗原呈递细胞 (APC) 与T细胞之间的细胞合作,并且由此测量在与所关注的蛋白质接触后的T细胞活化。某些体外酶促测定可以利用覆盖大部分相关人群的一些重组HLA-DR分子,并且可以包含用于测试肽(源于治疗性蛋白质的片段化)与HLA-DR分子的结合的自动化免疫酶促测定。还包含如通过使用这些方法和相关方法从抗NRP2抗体鉴定一个或多个T细胞表位并且然后去除或改变所述一个或多个T细胞表位来降低所选蛋白质的免疫原性的方法。

[0580] 还包含用于测量如特定生物活性(包含非典型生物活性)和细胞毒性等参数的生物释放测定(例如,基于细胞的测定)。某些具体生物测定包含例如基于细胞的测定,所述基于细胞的测定利用细胞结合配偶体(例如,细胞表面受体(例如,存在于细胞表面上的NRP2多肽和/或至少一种NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体)),其在细胞表面上内源性或重组性地表达),所述细胞结合配偶体与读出物,如本文所描述的NRP2或NRP2配体结合或功能活性的荧光或发光指示剂功能性地偶联。

[0581] 例如,具体实施例包含在细胞表面上内源性或重组性地表达人NRP2多肽的细胞,其允许评估抗NRP2抗体与NRP2结合的能力。在一些实施例中,抗NRP2抗体和/或NRP2多肽与读出物或指示剂,如荧光或发光指示剂功能性地偶联以测量NRP2多肽的结合和/或生物活性。在一些实施例中,细胞还表达至少一种NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体和/或来自表H1的HRS多肽),其中所述至少一种NRP2配体与读出物或指示剂,如所述至少一种NRP2配体的结合和/或生物活性的荧光或发光指示剂偶联。

[0582] 还包含用于通常利用经过工程化的或野生型小鼠、大鼠、猴或其它哺乳动物来表征抗NRP2抗体的药代动力学的体内生物测定(参见例如Lee等人,《药理学杂志(The Journal of Pharmacology)》281:1431-1439,1997)。基于细胞毒性的生物测定的实例包含释放测定(例如,用于测量细胞凋亡的铬或钼释放测定;参见例如,von Zons等人,《临床及诊断实验室免疫学(Clin Diagn Lab Immunol.)》4:202-207,1997)等,其可以评估抗NRP2抗体的细胞毒性,以便建立剂量-反应曲线、进行批量测试或测量与各种监管机构(如食品和药物管理局(FDA))的批准相关的其它性质。

[0583] 还包含用于评估抗NRP2抗体对免疫细胞的影响的测定。实例包含测定系统,所述测定系统包括经过活化的T细胞群和至少一种抗NRP2抗体,其中所述至少一种抗NRP2抗体干扰NRP2与至少一种NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体和/或来自表H1的HRS多肽)的结合。

[0584] 某些实施例包含测定系统,所述测定系统包括单一单克隆抗NRP2抗体和至少一种人NRP2多肽,其中抗NRP2抗体与NRP2多肽结合。在一些情况下,所述至少一种抗体包括IgG4 Fc结构域。

[0585] 还包含一种或多种测试材料,所述测试材料包括经过纯化的NRP2多肽的,其中所述经过纯化的NRP2多肽以能够实现抗体结合检测的方式与固体基质结合。

[0586] 这种测定和材料可以用于例如产生所选抗NRP2抗体的剂量-反应曲线和/或比较不同批次的蛋白质或其它药剂的剂量-反应曲线。剂量-反应曲线是使应激源的大小与受体的反应相关的X-Y图,所述受体的反应如NRP2-NRP2配体(例如,来自表N2或表N3的NRP2配体和/或来自表H1的HRS多肽)相互作用;反应可以是生理反应或生化反应,如体外细胞或体内细胞或组织中的非典型生物活性、如在体内测量的(例如,通过 EC_{50} 测量的)治疗有效量或死亡,无论是在体外还是在体内测量的死亡(例如,细胞死亡、生物体死亡)。死亡通常表示为 LD_{50} ,其是对模拟群体的50%具有致命性的统计上得出的剂量,但是其还可以用 LC_{01} (动物试验群体的1%的致死剂量)、 LC_{100} (对动物试验群体的100%的致死剂量)或 LC_{L0} (导致致死的最低剂量)来表示。几乎任何期望的效果或终点都可以用这种方式来表征。

[0587] 反应曲线的所测量剂量通常绘制在X轴上,并且反应绘制在Y轴上。更典型地,剂量的对数绘制在X轴上,最常见的是生成最陡部分位于中间的S形曲线。无可见效应水平(No Observable Effect Level, NOEL)是指未观察到可测量效应的最低实验剂量,并且阈值剂量是指曲线图上指示高于零的反应的第一点。一般而言,药物越强,所产生的剂量-反应曲线越陡。对于许多药物而言,在略大于阈值剂量的剂量下会发现期望的效果,这通常是因为较低的剂量相对无效,而较高的剂量会导致不期望的副作用。对于体内产生的剂量-反应曲线,如果需要,曲线可以用如 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 mg/kg 或 g/kg 体重等值来表征。

[0588] 对于批次比较,可能有用的是,计算不同批次的不同剂量-反应曲线之间(例如,不同批次的抗NRP2抗体之间)的变异系数(CV),部分是因为CV允许以不同单位或不同方式来进行数据集之间的比较。例如,在某些示例性实施例中,对于4、5、6、7或8点剂量曲线,两个或三个或更多不同批次的抗NRP2抗体或其它药剂之间的CV小于约30%、20%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%。在某些实施例中,在基于细胞的测定中测量剂量-反应曲线,并且其读数与抗NRP2抗体的所选活性的增加或降低相关。在某些实施例中,在细胞释放测定或动物模型(例如,小鼠模型)中测量剂量-反应曲线,并且其读数与细胞死亡或动物死亡相关。对于本领域的技术人员而言,其它变化将是显而易见的。

[0589] 表达和纯化系统

[0590] 某些实施例包含用于表达和纯化本文所描述的抗NRP2抗体或其它基于多肽的药剂的方法和相关组合物。此类重组抗NRP2抗体可以使用如在以下文献中所描述的标准方案方便地制备:例如,Sambrook等人(1989,同上),特别是第16节和第17节;Ausubel等人,(1994,同上),特别是第10章和第16章;以及Coligan等人,《蛋白质科学实验室指南(Current Protocols in Protein Science)》(约翰·威利父子出版公司(John Wiley & Sons, Inc.), 1995-1997),特别是第1章、第5章和第6章。作为一个一般实例,抗NRP2抗体可以通过包含以下步骤中的一个或多个步骤的程序来制备:(a)制备包括多核苷酸序列的构建体,所述多核苷酸序列对抗NRP2抗体重链和轻链进行编码并且与调节元件可操作地连接;(b)将构建体引入宿主细胞中;(c)培养宿主细胞以表达抗NRP2抗体;以及(d)从宿主细胞中分离抗NRP2抗体。

[0591] 本文其它地方描述了抗NRP2抗体多核苷酸。为了表达期望的多肽,可以将对抗NRP2抗体进行编码的核苷酸序列或功能等同物插入到合适的表达载体中,即含有转录和翻译所插入的编码序列所必需的元件的载体。可以使用本领域的技术人员熟知的方法来构建

含有对所关注的多肽进行编码的序列和适当的转录和翻译控制元件的表达载体。这些方法包含体外重组DNA技术、合成技术和体内基因重组。在以下文献中描述了此类技术：Sambrook等人,《分子克隆:实验室手册 (Molecular Cloning, A Laboratory Manual)》(1989)和Ausubel等人,《分子生物学实验室指南 (Current Protocols in Molecular Biology)》(1989)。

[0592] 已知了多种表达载体/宿主系统,并且其可以用于容纳和表达多核苷酸序列。所述表达载体/宿主系统包含但不限于微生物,如用重组噬菌体、质粒或粘粒DNA表达载体转化的细菌;用酵母表达载体转化的酵母;用病毒表达载体(例如,杆状病毒)感染的昆虫细胞系统;用病毒表达载体(例如,花椰菜花叶病毒,CaMV;烟草花叶病毒,TMV)或用细菌表达载体(例如,Ti或pBR322质粒)转化的植物细胞系统;或动物细胞系统,包含哺乳动物细胞,并且更具体地,人类细胞系统。

[0593] 表达载体中存在的“控制元件”或“调节序列”是载体的那些非翻译区——增强子、启动子、5'和3'未翻译区,其与宿主细胞蛋白质相互作用以进行转录和翻译。此类元件的强度和特异性可能有所不同。根据所利用的载体系统和宿主,可以使用任何数量的适合的转录和翻译元件,包含组成型和诱导型启动子。例如,当在细菌系统中克隆时,可以使用诱导型启动子,如PBLUESCRIPT噬菌粒(加利福尼亚州拉荷亚Stratagene公司(Stratagene, La Jolla, Calif.))或PSPORT1质粒(马里兰州盖瑟斯堡Gibco BRL公司(Gibco BRL, Gaithersburg, Md.)市)等的杂交lacZ启动子。在哺乳动物细胞系统中,通常优选来自哺乳动物基因或哺乳动物病毒的启动子。如果需要产生含有对多肽进行编码的序列的多个拷贝的细胞系,则可以有利地将基于SV40或EBV的载体与适当的可选择标志物一起使用。

[0594] 在细菌系统中,可以根据所表达的多肽的预期用途来选择许多表达载体。例如,当大量需要时,可以使用引导易于纯化的融合蛋白的高水平表达的载体。此类载体包含但不限于多功能大肠杆菌克隆和表达载体,如BLUESCRIPT(Stratagene公司),其中对所关注的多肽进行编码的序列可以与 β -半乳糖苷酶的氨基端Met和随后的7个残基的序列同框连接到载体中,从而产生杂交蛋白;pIN载体(Van Heeke和Schuster,《生物化学杂志》264:5503-5509(1989));等等。还可以使用pGEX载体(威斯康星州麦迪逊普洛麦格公司(Promega, Madison, Wis.))来将外源多肽表达为与谷胱甘肽S-转移酶(GST)形成的融合蛋白。通常,此类融合蛋白是可溶的并且可以通过吸附到谷胱甘肽-琼脂糖珠粒上,随后在游离谷胱甘肽的存在下进行洗脱而从裂解的细胞中容易地纯化。在此类系统中制备的蛋白质可以被设计成包含肝素、凝血酶或因子XA蛋白酶切割位点,使得所关注的克隆多肽可以随意从GST部分释放。

[0595] 某些实施例可以采用基于大肠杆菌的表达系统(参见例如,结构基因组学联盟(Structural Genomics Consortium)等,《自然-方法(Nature Methods)》5:135-146, 2008)。这些实施例和相关实施例可以部分或完全依赖独立于连接的克隆(ligation-independent cloning, LIC)以产生合适的表达载体。在具体实施例中,蛋白质表达可以由T7 RNA聚合酶(例如,pET载体系列)控制。这些实施例和相关实施例可以利用表达宿主菌株BL21(DE3),其是BL21的支持T7介导的表达并且缺乏用于改善靶蛋白稳定性的lon和ompT蛋白酶的 λ DE3溶原体。还包含携带大肠杆菌中很少使用的对tRNA进行编码的质粒的表达宿主菌株,如ROSETTA™(DE3)和Rosetta 2(DE3)菌株。还可以使用以商标BENZONASE®核酸酶

和BUGBUSTER®蛋白质提取试剂销售的试剂来改善细胞裂解和样品处理。对于细胞培养,自诱导培养基可以提高许多表达系统,包含高吞吐量表达系统的效率。这种类型的培养基(例如,OVERNIGHT EXPRESS™自动诱导系统)通过代谢迁移逐渐引发蛋白质表达,无需添加如IPTG等人工诱导剂。特定实施例采用六聚组氨酸标签(如以商标HIS•TAG®融合物销售的标签),然后采用固定化金属亲和色谱法(IMAC)纯化或相关技术。然而,在某些方面,可以在没有或不使用亲和标签的情况下从大肠杆菌包涵体中分离临床级蛋白质(参见例如Shimp等人,《蛋白质表达与纯化(Protein Expr Purif.)》50:58-67,2006)。作为另外一个实例,某些实施例可以采用冷休克诱导的大肠杆菌高产量生产系统,因为大肠杆菌中的蛋白质在低温下的过表达会改善其溶解度和稳定性(参见例如,Qing等人,《自然-生物技术》22:877-882,2004)。

[0596] 还包含高密度细菌发酵系统。例如,真氧雷尔氏菌(*Ralstonia eutropha*)的高细胞密度培养允许以超过150g/L的细胞密度产生蛋白质,以及以超过10g/L的滴度表达重组蛋白。

[0597] 在酵母——酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中,可以使用许多含有如 α 因子、醇氧化酶和PGH等组成型或诱导型启动子的载体。对于评论,参见Ausubel等人(同上)和Grant等人,《酶学方法(Methods Enzymol.)》153:516-544(1987)。还包含巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*)表达系统(参见例如Li等人,《自然-生物技术》24,210-215,2006;以及Hamilton等人,《科学》,301:1244,2003)。某些实施例包含被工程化以选择性地糖基化蛋白质的酵母系统,包含具有人源化N-糖基化途径的酵母等(参见例如Hamilton等人,《科学》313:1441-1443,2006;Wildt等人,《自然综述-微生物学(Nature Reviews Microbiol.)》3:119-28,2005;以及Gerngross等人,《自然-生物技术》22:1409-1414,2004;美国专利第7,629,163号;第7,326,681号;和第7,029,872号)。仅举例来说,重组酵母培养物可以在费恩巴赫培养瓶或15L、50L、100L和200L发酵罐等中生长。

[0598] 在使用植物表达载体的情况下,对多肽进行编码的序列的表达可以通过许多启动子中的任何启动子驱动。例如,如CaMV的35S和19S启动子等病毒启动子可以单独使用或与来自TMV的 ω 前导序列组合使用(Takamatsu,《欧洲分子生物学组织杂志》6:307-311(1987))。可替代地,可以使用如RUBISCO的小亚基或热休克启动子等植物启动子(Coruzzi等人,《欧洲分子生物学组织杂志》3:1671-1680(1984);Broglie等人,《科学》224:838-843(1984);以及Winter等人,《细胞分化的结果与问题(Results Probl. Cell Differ.)》17:85-105(1991))。可以通过直接DNA转化或病原体介导的转染将这些构建体引入到植物细胞中。在许多普遍可获得的评论中描述了此类技术(参见例如McGraw Hill的Hobbs,《科学与技术年鉴(Yearbook of Science and Technology)》第191-196页(1992))。

[0599] 还可以使用昆虫系统来表达所关注的多肽。例如,在一个此类系统中,使用苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒(*Autographa californica nuclear polyhedrosis virus*, AcNPV)作为载体在草地贪夜蛾细胞(*Spodoptera frugiperda* cell)或粉纹夜蛾细胞(*Trichoplusia* cell)中表达外源基因。可以将对多肽进行编码的序列克隆到病毒的非必需区,如多角体蛋白基因中,并且使其受多角体蛋白启动子的控制。成功插入多肽编码性序列将使多角体蛋白基因失活并且产生缺少外壳蛋白的重组病毒。然后可以将重组病毒用于感染例如可以在其中表达所关注的多肽的草地贪夜蛾细胞或粉纹夜蛾细胞(Engelhard等

人,《美国科学院院刊》91:3224-3227(1994))。还包含杆状病毒表达系统,包含利用SF9、SF21和T.ni细胞的杆状病毒表达系统(参见例如Murphy和Piwnica-Worms,《蛋白质科学实验室指南(Curr Protoc Protein Sci.)》,第5章:第5.4单元,2001)。昆虫系统可以提供类似于哺乳动物系统的翻译后修饰的翻译后修饰。

[0600] 在哺乳动物宿主细胞中,许多基于病毒的表达系统普遍可用。例如,在腺病毒被用作表达载体的情况下,可以将对所关注的多肽进行编码的序列连接到由晚期启动子和三联前导序列组成的腺病毒转录/翻译复合物中。可以使用在病毒基因组的非必需E1或E3区中进行的插入来获得能够在受感染宿主细胞中表达多肽的活病毒(Logan和Shenk,《美国国家科学院院刊》81:3655-3659(1984))。另外,可以使用如劳斯肉瘤病毒(RSV)增强子等转录增强子来增加哺乳动物宿主细胞中的表达。

[0601] 有用的哺乳动物宿主细胞系的实例包含由SV40(COS-7,ATCC CRL 1651)转化的猴肾CV1细胞系;人胚肾细胞系(被亚克隆以在悬浮培养基中生长的293或293细胞,Graham等人,《普通病毒学期刊(J.Gen.Virol.)》36/59(1977));幼仓鼠肾细胞(BHK,ATCC CCL 10);小鼠塞托利细胞(sertoli cell)(TM4,Mather,《生殖生物学(Biol.Reprod.)》23:243-251(1980));猴肾细胞(CV1 ATCC CCL 70);非洲绿猴肾细胞(VERO-76,ATCC CRL-1587);人宫颈癌细胞(HELA,ATCC CCL 2);犬肾细胞(MDCK,ATCC CCL 34);布法罗大鼠(buffalo rat)肝细胞(BRL 3A,ATCC CRL 1442);人肺细胞(W138,ATCC CCL 75);人肝细胞(Hep G2,HB 8065);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562,ATCC CCL51);TR1细胞(Mather等人,《纽约科学院年报(Annals N.Y.Acad.Sci.)》383:44-68(1982));MRC 5细胞;FS4细胞;以及人肝癌细胞系(Hep G2)。其它有用的哺乳动物宿主细胞系包含中国仓鼠卵巢(Chinese hamster ovary,CHO)细胞,包含DHFR-CHO细胞(Urlaub等人,《美国国家科学院院刊》77:4216(1980));以及如NS0和Sp2/0等骨髓瘤细胞系。对于适于抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的评论,参见例如Yazaki和Wu,《分子生物学方法》,第248卷(B.K.C Lo,编辑,新泽西州托托瓦瑚玛娜出版社(Humana Press,Totowa,N.J.),2003),第255-268页。某些优选哺乳动物细胞表达系统包含基于CHO和HEK293细胞的表达系统。哺乳动物表达系统可以利用本领域中已知的附着的细胞系,例如,在T-烧瓶、滚瓶或细胞工厂中的附着的细胞系,或悬浮培养基,例如,1L和5L旋转瓶,5L、14L、40L、100L和200L搅拌槽生物反应器中,或20/50L和100/200L WAVE生物反应器中的悬浮培养基等。

[0602] 还包含蛋白质的无细胞表达。这些实施例和相关实施例通常利用经过纯化的RNA聚合酶、核糖体、tRNA和核糖核苷酸;这些试剂可以通过从细胞或基于细胞的表达系统中提取来产生。

[0603] 还可以使用特异性起始信号来实现对所关注的多肽进行编码的序列的更高效翻译。此类信号包含ATG起始密码子和相邻序列。在对多肽进行编码的序列、其起始密码子和上游序列被插入到合适的表达载体中的情况下,可能不需要另外的转录或翻译控制信号。然而,在仅插入编码序列或其部分的情况下,应提供包含ATG起始密码子的外源翻译控制信号。此外,起始密码子应位于正确的阅读框中,以确保整个插入物的翻译。外源翻译元件和起始密码子可以具有各种天然和合成来源。可以通过包含适于所使用的特定细胞系统的增强子,如文献中所描述的增强子来增强表达效率(Scharf.等人,《细胞分化的结果与问题》20:125-162(1994))。

[0604] 另外,可以针对调节所插入序列的表达或以所期望方式加工经过表达的蛋白质的能力选择宿主细胞株。多肽的此类修饰包含但不限于翻译后修饰,如乙酰化、羧化、糖基化、磷酸化、脂化以及酰化。还可以使用切割蛋白质的“前原(prepro)”形式的翻译后加工来促进正确的插入、折叠和/或功能。除细菌细胞以外,还可以选择如酵母、CHO、HeLa、MDCK、HEK293和W138等具有或甚至缺乏用于此类翻译后活动的特定细胞机器和特有机制的不同宿主细胞,以确保正确修饰和加工外来蛋白质。

[0605] 为了长期、高产率地产生重组蛋白,通常优选稳定表达。例如,可以使用表达载体来转化稳定地表达所关注的多核苷酸的细胞系,所述表达载体可以含有病毒复制起点和/或内源性表达元件以及同一载体或不同载体上的可选择标志物基因。在引入载体后,可以使细胞在切换到到选择性培养基之前在富集的培养基中生长约1-2天。可选择标志物的目的是赋予选择抗性,并且其存在允许成功表达所引入序列的细胞生长和回收。可以使用适于细胞类型的组织培养技术来使稳定转化细胞的抗性克隆增殖。还可以采用如通过瞬时转染或感染进行的瞬时产生。适于瞬时产生的示例性哺乳动物表达系统包含基于HEK293和CHO的系统。

[0606] 可以使用任何数量的选择系统来回收经过转化或转导的细胞系。所述选择系统包含但不限于可以分别在tk细胞或aprt细胞中使用的单纯疱疹病毒胸苷激酶(Wigler等人,《细胞(Cell)》11:223-232(1977))和腺嘌呤磷酸核糖转移酶(Lowy等人,《细胞》22:817-823(1990))基因。而且,抗代谢物、抗生素或除草剂抗性可以用作选择基础;例如,dhfr,其赋予对甲氨蝶呤的抗性(Wigler等人,《美国国家科学院院刊》77:3567-70(1980));npt,其赋予对氨基糖苷类抗生素、新霉素和G-418的抗性(Colbere-Garapin等人,《分子生物学杂志(J.Mol.Biol.》150:1-14(1981));以及als或pat,其分别赋予对氯磺隆和膦丝菌素乙酰转移酶的抗性(Murry,同上)。已经描述了另外的可选择基因,例如,trpB,其允许细胞用吡啶代替色氨酸,或hisD,其允许细胞利用组氨酸代替组氨酸(Hartman和Mulligan,《美国国家科学院院刊》85:8047-51(1988))。可见标志物的使用得到了广泛的应用,其中如绿色荧光蛋白(GFP)和其它荧光蛋白(例如,RFP、YFP)、花青素、 β -葡萄糖醛酸酶和其基质GUS以及荧光素酶和其基质荧光素等标志物不但广泛用于鉴定转化子,而且用于量化属于特定载体系统的瞬时或稳定蛋白质表达的量(参见例如,Rhodes等人,《分子生物学方法》55:121-131(1995))。

[0607] 还包含高吞吐量蛋白质生产系统或微生产系统。某些方面可以利用例如六聚组氨酸融合标签在金属螯合物修饰的载玻片表面或MagneHis镍颗粒上进行蛋白质表达和纯化(参见例如Kwon等人,《BMC生物技术(BMC Biotechnol.》9:72,2009;和Lin等人,《分子生物学方法》498:129-41,2009)。还包含高吞吐量无细胞蛋白质表达系统(参见例如Sitaraman等人,《分子生物学方法》498:229-44,2009)。这些实施例和相关实施例可以用于例如产生抗NRP2抗体的微阵列,然后所述微阵列可以用于筛选文库以鉴定与所关注的一种或多种NRP2多肽相互作用的抗体和抗原结合结构域。

[0608] 用于使用结合剂或抗体(如对产物具有特异性的多克隆或单克隆抗体)检测和测量多核苷酸编码的产物的表达的多种方案在本领域中是已知的。实例包含酶联免疫吸附测定(ELISA)、蛋白质免疫印迹(western immunoblot)、放射免疫测定(RIA)和荧光激活细胞分选术(FACS)。除其它地方外,还在Hampton等人,《血清学方法:实验室手册(Serological

Methods, a Laboratory Manual)》(1990)和Maddox等人,《实验医学杂志》158:1211-1216 (1983)中描述了这些测定和其它测定。

[0609] 本领域的技术人员熟知各种标记和缀合技术,并且其可以在各种核酸和氨基酸测定中使用。用于生产用于检测与多核苷酸相关的序列的经标记的杂交或PCR探针的手段包含寡标记(oligolabeling)、切口平移、末端标记或使用经标记核苷酸进行的PCR扩增。可替代地,可以将序列或其任何部分克隆到载体中以生产mRNA探针。此类载体在本领域中是已知的,是可商购获得的,并且可以用于通过添加合适的RNA聚合酶(如T7、T3或SP6和经标记的核苷酸)来在体外合成RNA探针。可以使用各种可商购获得的试剂盒来进行这些程序。可以使用的合适的报告分子或标记包含放射性核素、酶、荧光剂、化学发光剂或显色剂以及基质、辅因子、抑制剂、磁性颗粒等。

[0610] 可以在适合于从细胞培养物中表达和回收蛋白质的条件下培养用所关注的多核苷酸序列转化的宿主细胞。某些具体实施例利用无血清细胞表达系统。实例包含可以在无血清培养基上生长的HEK293细胞和CHO细胞(参见例如Rosser等人,《蛋白质表达与纯化》40:237-43,2005;和美国专利第6,210,922号)。

[0611] 由重组细胞产生的抗体或其抗原结合片段可以根据所使用的序列和/或载体在细胞内分泌或包含在细胞内。如本领域的技术人员将理解的,含有多核苷酸的表达载体可以被设计成含有引导经编码多肽通过原核或真核细胞膜分泌的信号序列。可以使用其它重组构造物来将对所关注的多肽进行编码的序列与对多肽结构域进行编码的核苷酸序列连接,这将有助于可溶性蛋白质的纯化和/或检测。此类结构域的实例包含可切割和不可切割的亲纯化和表位标签,如抗生物素蛋白、FLAG标签、聚组氨酸标签(例如,6xHis)、cMyc标签、V5标签、谷胱甘肽S-转移酶(GST)标签等。

[0612] 可以根据本领域中已知的各种技术纯化和表征由重组细胞产生的蛋白质。用于执行蛋白质纯化和分析蛋白质纯度的示例性系统包含快速蛋白质液相色谱法(FPLC)(例如,AKTA和伯乐(Bio-Rad)FPLC系统)、高压液相色谱法(HPLC)(例如,贝克曼(Beckman)和沃特世(Waters)HPLC)。用于纯化的示例性化学反应包含本领域中已知的离子交换色谱法(例如,Q、S)、尺寸排阻色谱法、盐梯度、亲和纯化(例如,Ni、Co、FLAG、麦芽糖、谷胱甘肽、蛋白质A/G)、凝胶过滤、反相、陶瓷HYPERD®离子交换色谱法和疏水相互作用柱(HIC)等。还包含分析方法,如SDS-PAGE(例如,考马斯(coomassie)、银染色)、免疫印迹、布拉德福(Bradford)和ELISA,所述分析方法可以在生产或纯化过程的任何步骤期间使用,通常用于测量蛋白质组合物的纯度。

[0613] 还包含浓缩抗NRP2抗体和其抗原结合片段以及包括浓缩可溶性蛋白质的组合物的方法。在不同方面,抗NRP2抗体的此类浓缩溶液可以包括以下浓度的蛋白质:约5mg/mL;或约8mg/mL;或约10mg/mL;约15mg/mL;或约20mg/mL。

[0614] 在一些方面,此类组合物可以是基本上单分散的,从而意味着当例如通过尺寸排阻色谱法、动态光散射或分析超速离心进行评估时,至少一种抗NRP2抗体主要(即,至少约90%或更高)以一种表观分子量形式存在。

[0615] 在一些方面,此类组合物的纯度(以蛋白质计)为至少约90%,或者在一些方面,纯度为至少约95%,或者在一些实施例中,纯度为至少98%。纯度可以通过本领域中已知的任何常规分析方法测定。

[0616] 在一些方面,与存在的蛋白质的总量相比,此类组合物的高分子量聚集体含量小于约10%,或者在一些实施例中,此类组合物的高分子量聚集体含量小于约5%,或者在一些方面,此类组合物的高分子量聚集体含量小于约3%,或者在一些实施例中,高分子量聚集体含量小于约1%。高分子量聚集体含量可以通过各种分析技术,包含例如尺寸排阻色谱法、动态光散射或分析超速离心来测定。

[0617] 本文设想的浓缩方法的实例包含冻干,所述冻干通常在溶液中除了所关注的蛋白质之外几乎不含可溶性组分时采用。冻干通常在HPLC运行后执行,并且可以从混合物中去除大部分或所有挥发性组分。还包含超滤技术,其通常采用一个或多个选择性渗透膜来浓缩蛋白质溶液。所述膜允许水和小分子通过并保留蛋白质;可以通过机械泵、气压或离心以及其它技术将溶液压在膜上。

[0618] 在某些实施例中,试剂、抗NRP2抗体或相关药剂的纯度为至少约90%,如根据本领域中的常规技术所测量的。在某些实施例,如诊断组合物或某些治疗性组合物中,抗NRP2抗体组合物的纯度为至少约95%。在具体实施例,如治疗性组合物或药物组合物中,抗NRP2抗体组合物的纯度为至少约97%或98%或99%。在其它实施例中,如当用作参考或研究试剂时,抗NRP2抗体的纯度可能较低,并且纯度可以为至少约50%、60%、70%或80%。可以整体测量纯度,或者相对于所选组分(如其它蛋白质)测量纯度,例如,基于蛋白质的纯度。

[0619] 经过纯化的抗NRP2抗体还可以根据其生物学特性进行表征。结合亲和力和结合动力学可以根据本领域中已知的各种技术来测量,如Biacore®和利用表面等离子体共振(SPR)的相关技术,所述SPR是一种能够实时检测未标记的相互作用体的光学现象。可以使用基于SPR的生物传感器来测定活性浓度、进行筛选和在亲和力和动力学两者方面进行表征。可以根据基于细胞的测定,包含利用所选抗NRP2抗体的细胞结合配偶体的测定来确定一种或多种典型或非典型生物活性的存在或水平,所述细胞结合配偶体与读出物或指示剂,如本文所描述的生物活性的荧光或发光指示剂功能性地偶联。

[0620] 在某些实施例中,如上所述,抗NRP2抗体组合物基本上不含内毒素,包含例如约95%不含内毒素,优选地约99%不含内毒素,并且更优选地约99.99%不含内毒素。可以根据如本文所描述的本领域中的常规技术来检测内毒素的存在。在具体实施例中,抗NRP2抗体组合物由真核细胞(如哺乳动物或人细胞)在基本上无血清的培养基中制备。在某些实施例中,如本文所述,抗NRP2抗体组合物的内毒素含量小于约10EU/mg抗NRP2抗体,或小于约5EU/mg抗NRP2抗体,或小于约3EU/mg抗NRP2抗体,或小于约1EU/mg抗NRP2抗体。

[0621] 在某些实施例中,抗NRP2抗体组合物包括少于约10%wt/wt的高分子量聚集体,或少于约5%wt/wt的高分子量聚集体,或少于约2%wt/wt的高分子量聚集体,或少于约1%wt/wt的高分子量聚集体。

[0622] 还包含基于蛋白质的分析测定和方法,其可以用于评估例如蛋白质纯度、大小、溶解度和聚集程度以及其它特性。可以通过多种方式来评估蛋白质纯度。例如,可以基于一级结构、高级结构、大小、电荷、疏水性和糖基化来评估纯度。用于评估一级结构的方法的实例包含N端和C端测序以及肽图分析(参见例如,Allen等人,《生物制剂》24:255-275,1996)。用于评估高级结构的方法的实例包含圆二色性(参见例如Kelly等人,《生物化学与生物物理学报(Biochim Biophys Acta.)》1751:119-139,2005)、荧光光谱法(参见例如Meagher等人,《生物化学杂志》273:23283-89,1998)、FT-IR、酰胺氢-氘交换动力学、差示扫描量热法、

NMR波谱法、与构象敏感抗体的免疫反应性。高级结构还可以根据各种参数(如pH、温度或添加的盐)来评估。用于评估如大小等蛋白质特性的方法的实例包含分析超速离心和大小排阻HPLC (SEC-HPLC), 并且用于测量电荷的示例性方法包含离子交换色谱法和等电聚焦。疏水性可以例如通过反相HPLC和疏水性相互作用色谱HPLC来评估。糖基化可能影响药代动力学(例如, 清除率)、构象或稳定性、受体结合和蛋白质功能, 并且可以例如通过质谱法和核磁共振(NMR)波谱法来评估。

[0623] 如上所述, 某些实施例包含使用SEC-HPLC来评估如纯度、大小(例如, 大小均匀性)或聚集程度等蛋白质特性和/或纯化蛋白质以及其它用途。SEC, 还包含凝胶过滤色谱法(GFC)和凝胶渗透色谱法(GPC), 是指一种色谱方法, 在所述色谱方法中, 溶液中的分子在多孔材料中基于其大小, 或更具体地, 基于其流体动力学体积、扩散系数和/或表面性质进行分离。所述过程通常用于分离生物分子并且用于测定聚合物的分子量和分子量分布。通常, 将生物或蛋白质样品(如根据本文提供的和本领域中已知的蛋白质表达方法产生的蛋白质提取物)装载到具有限定的固定相(多孔材料), 优选地不与样品中的蛋白质相互作用的相的所选尺寸排阻柱中。在某些方面, 固定相由包装在玻璃或钢柱内的稠密三维基质中的惰性颗粒构成。流动相可以是纯水、水性缓冲液、有机溶剂或其混合物。固定相颗粒通常具有仅允许小于一定尺寸的分子进入的孔和/或通道。因此, 大颗粒排除在这些孔和通道之外, 并且其与固定相的有限相互作用使其在实验开始时作为“完全排除”的峰洗脱。可以装入孔中的较小分子从流动的流动相中去除, 并且其在固定相孔中固定的时间部分取决于其渗透到孔中的程度。将其从流动相流中去除使其耗费更多时间从柱中洗脱, 并且基于大小差异而产生颗粒之间的分离。给定大小的排阻柱具有可以分离的一系列分子量。总的来说, 大于上限的分子不会被固定相捕集, 小于下限的分子将完全进入固相并且作为单个谱带洗脱, 并且所述范围内的分子将以不同的速率洗脱, 所述速率由其性质(如流体力学体积)限定。关于这些方法与药用蛋白质的实践的实例, 参见Bruner等人, 《药物与生物医学分析杂志(Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis)》15:1929-1935, 1997。

[0624] 例如Anicetti等人(《生物技术趋势(Trends in Biotechnology)》7:342-349, 1989)还讨论了用于临床应用的蛋白质纯度。用于分析蛋白质纯度的最新技术包含但不限于LabChip GXII, 其是一种用于快速分析蛋白质和核酸的自动化平台, 其提供蛋白质滴度、大小和纯度分析的高吞吐量分析。在某些非限制性实施例中, 可以通过在至少两个正交步骤中利用色谱材料的组合以及其它方法获得临床级蛋白质(如蛋白质片段和抗体)(参见例如, 《治疗性蛋白质: 方法和方案(Therapeutic Proteins: Methods and Protocols)》第308卷, 编辑, Smales和James, 瑚玛娜出版社公司, 2005)。通常, 蛋白质药剂(例如, 抗NRP2抗体和抗原结合片段)基本上不含内毒素, 如根据本领域中已知的和本文所描述的技术进行测量的。

[0625] 还包含蛋白质溶解度测定。可以利用此类测定例如来测定实现重组产生的最佳生长和纯化条件, 优化一种或多种缓冲液的选择, 并且优化抗NRP2抗体或其变体的选择。溶解度或聚集度可以根据各种参数, 包含温度、pH、盐以及是否存在其它添加剂来评估。溶解度筛选测定的实例包含但不限于使用浊度或其它度量作为终点来测量蛋白质溶解度的基于微孔板的方法、用于分析经过纯化的重组蛋白质的溶解度的高吞吐量测定(例如参见Stenvall等人, 《生物化学与生物物理学报》1752:6-10, 2005)、使用遗传标记蛋白的结构互

补来监测和测量体内蛋白质折叠和溶解度的测定(例如参见Wigley等人,《自然-生物技术》19:131-136,2001)以及使用扫描电化学显微术(SECM)对大肠杆菌中的重组蛋白溶解度进行电化学筛选(参见例如Nagamine等人,《生物技术与生物工程(Biotechnology and Bioengineering)》96:1008-1013,2006)等。可以根据本领域中的常规技术来鉴定或选择溶解度增加(或聚集度降低)的抗NRP2抗体,所述技术包含蛋白质溶解度的简单体内测定(参见例如Maxwell等人,《蛋白质科学(Protein Sci.)》8:1908-11,1999)。

[0626] 还可以通过动态光散射技术来测量蛋白质溶解度和聚集度。聚集是通用术语,其涵盖几种类型的相互作用或特性,包含可溶/不溶、共价/非共价、可逆/不可逆和天然/变性相互作用和特性。对于蛋白质治疗剂,聚集体的存在通常被认为是不令人期望的,因为担心聚集体可能引起免疫原性反应(例如,小聚集体),或者可能引起施用不良事件(例如,微粒)。动态光散射是指一种可以用于测定悬浮液或聚合物中的小颗粒(如溶液中的蛋白质)的大小分布的技术。还被称为光子相关光谱法(PCS)或准弹性光散射(QELS)的这项技术使用散射光来测量蛋白质颗粒的扩散速率。由于溶液中的分子和颗粒的布朗运动,可以观察到散射强度的波动。可以对此运动数据进行常规处理以得到样品的大小分布,其中大小由蛋白质颗粒的斯托克斯半径(Stokes radius)或流体动力学半径给出。流体动力学大小取决于质量和形状(构象)。动态散射可以检测非常少量的聚集蛋白质(<0.01重量%)的存在,甚至是在含有大范围质量的样品中。其还可以用于比较不同调配物的稳定性,包含例如依赖于实时监测高温下的变化的应用。因此,某些实施例包含使用动态光散射来分析含有本公开的抗NRP2抗体的样品中聚集体的溶解度和/或存在。

[0627] 尽管已经出于清楚理解的目的通过说明和举例的方式稍微详细地描述了前述实施例,但是根据本文设想的教导,本领域的普通技术人员将容易清楚的是,可以在不脱离随附权利要求的精神或范围的情况下对其进行某些改变和修改。仅通过说明的方式而不是通过限制的方式提供以下实例。本领域的技术人员将易于认识到可以改变或修改以产生基本上类似的结果的各种非关键参数。

[0628] 实例1

[0629] 人神经纤毛蛋白2的抗体的产生

[0630] 抗体产生:通过使用标准方法用 1×10^6 个Expi293细胞进行IP施用来免疫小鼠从而产生表E1中所列的抗NRP2抗体,所述细胞稳定地过表达人NRP2A变体2(傲锐东源科技公司(Origene Technologies),目录号:RC220706)(如以下更全面描述的那样制备)。使用IFA鼠或Magic鼠(Magic Mouse)作为佐剂,通过S.C.施用10 μ g/小鼠的在表E2中列出的对应重组NRP2多肽来提高滴度。每2-3周对小鼠进行一次提高,并且然后使用表E2中列出的NRP2多肽筛选其初始滴度和特异性。

[0631]

表 E1. 抗体				
抗体	免疫原编号	克隆	同型	靶结构域

[0632]

aNRP2-1	1023	17f7	mlgG1k	b2
aNRP2-2	1085	3f2	mlgG2ak	c
aNRP2-6	1024	8e2	mlgG1k	b1
aNRP2-7	1024	5h11	mlgG1k	b1
aNRP2-8	1024	7g10	mlgG1k	b1
aNRP2-9	1024	9e7	mlgG1k	b1
aNRP2-10	1024	1e3	mlgG1k	b1
aNRP2-11	1024	13d7	mlgG2ak	b2
aNRP2-12	1085	20f3	mlgG2ak	c
aNRP2-14	1024	18b8	mlgG1k	a2
aNRP2-15	1024	19e8	mlgG2bk	b1

[0633]

表 E2. NRP2 免疫原			
免疫原	编号	序列	SEQ ID NO:
NRP2 (23-595)-Fc	1023	QPDPPCGRLNSKDAGYITSPGYQQDYPSHQNCEWIVYAPEP NQKIVLNFNPHFEIEKHDKYDFIEIRDGDSEADLLGKHCGNI APPTIISSGSMYIKFTSDYARQGAGFSLRYEIFKTGSEDCSKNF TSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEIILQFLIFDLEH DPLQVGEGDCKYDWLDIWDGIPHVGPLIGKYCGTKTPSELRS STGILSLTFHTDMAVAKDGFSARYLVHQEPLNFQCNVPLG MESGRIANEQISASSTYS DGRWTPQQSRLHGDDNGWTPNL DSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRETQNGYYVKSYLEVS TNGEDWMVYRHGKNHKVFQANNDATEVVLNKLHAPLLTRF VRIRPQTWHSGLALRLELFGCRVTDAPCSNMLGMLSGLIADS QISASSTQEYLWSPSAARLVSSRSGWFPRIPQAQPGEEWLQV DLGTPKTVKGVIIQGARGGDSITAVEARAFVRKFKVSYSLNGK DWEYIQDPRTQQPKLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYP ERWSPAGIGMRLEVLGCDWTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	120
NRP2 (145-595)-Fc		GSEDCSKNFTSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEIIL QFLIFDLEHDPLQVGEGDCKYDWLDIWDGIPHVGPLIGKYCG TKTPSELRSSTGILSLTFHTDMAVAKDGFSARYLVHQEPLNF QCNVPLGMESGRIANEQISASSTYS DGRWTPQQSRLHGDDN GWTPNLDSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRETQNGYYV KSYKLEVSTNGEDWMVYRHGKNHKVFQANNDATEVVLNKL HAPLLTRFVRIRPQTWHSGLALRLELFGCRVTDAPCSNMLGM LSGLIADSQISASSTQEYLWSPSAARLVSSRSGWFPRIPQAQ GEEWLQVDLGTPKTVKGVIIQGARGGDSITAVEARAFVRKFK VSYSLNGKDWEYIQDPRTQQPKLFEGNMHYDTPDIRRFDPI AQYVRVYPERWSPAGIGMRLEVLGCDWTDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSG	22

[0634]

		SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
NRP2 (23-855)-Fc	1085	QPDPPCGGRLNSK DAGYITSPGYQQDYPSHQNCEWIVYAPEP NQKIVLNFNPHFEIEKHDCKYDFIEIRDGDSEADLLGKHCGNI APPTIISSGSMYIKFTSDYARQGAGFSLRYEIKTGEEDCSKNF TSPNGTIESPGFPEKYPHNLDCTFTILAKPKMEIILQFLFDLEH DPLQVGEGDCKYDWLDIWDGIPHVGPLIGKYCGTKTPSELRS STGILSLTFHTDMAVAKDGFSARYLVHQEPLNFQCNVPLG MESGRIANEQISASSTYSDGRWTPQQSRLHGDDNGWTPNL DSNKEYLQVDLRFLTMLTAIATQGAISRETQNGYVYKSKLEVS TNGEDWMVYRHGKNHKVFQANNDATEVVNLKLHAPLLTRF VRIRPQTWHSIALRLLELFGCRVTDAPCSNMLGMLSGLIADS QISASSTQEYLWSPSAARLVSSRSGWFPRIPQAQPGEEWLQV DLGTPKTVKGVIIQGARGGDSITAVEARAFVRKFKVSYSLNGK DWEYIQDPRTQQPKLFEGNMHYDTPDIRRFDPIPAQYVRVYP ERWSPAGIGMRLEVLGCDWTDKPTVETLGPTVKSEETTPY PTEEEATECGENCSFEDDKDLQLPSGFNCNFDLEPCGWMY DHAKWLRTTWASSSPNDRTFPDDRNFLRLQSDSQREGQYA RLISPPVHLPRSPVCMFQYQATGGRGVALQVVREASQESKLL WVIREDQGGGEWKHGRILPSYDMEYQIVFEGVIGKGRSGEIAI DDIRISTDVPLENCMEPISAFVDIPEIHEREGYEDEIDDEYEVD WSNSSSATSGSGAPSTDKEKSWLYDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	21

[0635] 对于所有抗体,从经过免疫的动物中分离脾脏,并使用标准技术与小鼠骨髓瘤细胞融合以产生杂交瘤。在斯克里普斯研究所(The Scripps Research Institute,TSRI)抗体开发和生产中心执行融合、平板接种到96孔板中、杂交瘤的ELISA筛选、阳性杂交瘤的扩增和表征(滴度和同型)以及每抗原至多15个杂交瘤的冷冻。使用Lake制药公司(Lake Pharma)的标准测序方法获得抗体可变结构域序列,并且所述序列列于表A1中。

[0636] 扩增后由杂交瘤细胞产生重组抗体,并在培养2周时通过流过蛋白质A亲和柱从条件培养基中将其纯化,将其洗脱并储存在pH为7.4的磷酸盐缓冲盐水(1×PBS)中。检测每批的蛋白质浓度、纯度和内毒素水平。通过SDS-PAGE测得的纯度常规地>90%。

[0637] 实例2

[0638] 抗人神经纤毛蛋白2抗体的表征

[0639] 表E3呈现了通过与表达重组NRP2的细胞系的酶联免疫吸附测定(ELISA)、表面等离子共振(SPR)和流式细胞术(FACS)结合测量的结合亲和力的初步评估结果以及抗体封闭Fc-HRS(2-60)、VEGF-C结合或臂板蛋白3F的能力。

[0640] 抗NRP2抗体结合和亲和力测量:使用表面等离子共振(SPR)方法来展示抗NRP2抗体与人NRP2抗原的结合并测量如表E3中所总结的结合亲和力。在伯乐ProteOn XPR36蛋白质相互作用阵列仪器上进行SPR实验。通过胺偶联将山羊抗小鼠抗体固定在ProteOn GLC传感器芯片上。随后使抗NRP2抗体流过抗小鼠抗体并被其捕获。使人NRP2抗原蛋白以不同浓度(150nM、50nM、16.67nM、5.56nM、1.85nM)流过所捕获的抗体。在每次分析物运行之间再生传感器芯片表面,以去除抗NRP2抗体和NRP2蛋白。相对于未捕获抗NRP2抗体的表面(仅经过

固定化的山羊抗小鼠抗体)和仅缓冲液空白的表面双重参考数据。通过在ProteOn管理软件中相对于朗缪尔(1:1) (Langmuir(1:1))相互作用模型拟合传感图来得出亲和力常数。对于每种抗NRP2抗体,将来自多种NRP2浓度的数据拟合为单一数据集,其中解离速率常数(k_d)、缔合速率常数(k_a)和 R_{max} 值作为全局参数。所报告的结合亲和力是根据 k_d/k_a 计算的平衡解离常数(K_D)。

[0641] ●运行缓冲液:50mM HEPES,300mM NaCl,5mM $CaCl_2$,0.005%吐温20,pH 7.4

[0642] ●胺偶联:ProteOn胺偶联试剂盒(伯乐,编号:1762410)

[0643] ●抗体偶联缓冲液:10mM乙酸钠,pH 5.5

[0644] ●经过固定化的抗体:

[0645] AffiniPure山羊抗小鼠IgG,Fc γ 片段(杰克逊免疫研究公司(JacksonImmunoResearch),编号:115-005-071)

[0646] ●抗原:具有C端Avi标签、Myc标签和His标签的人NRP2(aa23-855)

[0647] ●再生缓冲液:10mM甘氨酸,pH 1.5

[0648] 配体封闭研究:使用SPR方法展示如表E3所示的抗NRP2抗体对Fc-HRS(2-60)、VEGF-C和SEMS3F与NRP2的结合的封闭。在伯乐ProteOn XPR36蛋白质相互作用阵列仪器上进行SPR实验。通过胺偶联将山羊抗小鼠抗体固定在ProteOn GLC传感器芯片上。使抗NRP2抗体流过抗小鼠抗体并被其捕获。通过使人NRP2蛋白以400nM流过抗NRP2抗体使人NRP2蛋白被抗NRP2抗体捕获。然后,使VEGF-C或SEMA3F-Fc以50nM流过捕获到的NRP2:抗NRP2复合物。仅相对于缓冲液的添加参考配体添加时的信号。如果随后观察到配体(VEGF-C或SEMA3F-Fc)的结合,则确定所述抗体不会封闭NRP2配体的结合。相反,如果未观察到配体与NRP2:抗NRP2复合物的结合,则确定抗体封闭所述NRP2配体的结合。如实例4所描述的那样对293Epi NRP2过表达性细胞进行流式细胞术结合研究。

[0649] ●运行缓冲液:50mM HEPES,300mM NaCl,5mM $CaCl_2$,0.005%吐温20,pH 7.4

[0650] ●胺偶联:ProteOn胺偶联试剂盒(伯乐,编号:1762410)

[0651] ●抗体偶联缓冲液:10mM乙酸钠,pH 5.0

[0652] ●经过固定化的抗体:

[0653] AffiniPure山羊抗小鼠IgG,Fc γ 片段(杰克逊免疫研究公司(JacksonImmunoResearch),编号:115-005-071)

[0654] ●抗原:具有C端Avi标签、Myc标签和His标签的人NRP2(aa23-855)

[0655] ●再生缓冲液:10mM甘氨酸,pH 1.5

[0656] ●NRP2配体:人SEMA3F-Fc(R&D系统公司,编号:9878-S3)

[0657] VEGF-C(R&D系统公司,编号:9199-VC/CF)

表 E3 抗体表征								
克隆	结合 NRP2			配体封闭				
	表位结构域 (ELISA)	293Expi -NRP2 细胞	通过 SPR 测量 的亲和力: 经 过纯化的抗体 (nM)	Fc-HRS(2-60) 293Expi -NRP2 细胞	SPR	VEGF-C SPR	SEMA 3F SPR	
[0658]	18B8 aNRP2-14	a2	是	27	封闭	封闭	未封闭	封闭
	8E2 aNRP2-6	b1	是	0.4	封闭	封闭	封闭	封闭
	5H11 aNRP2-7	b1	是	0.3	封闭	封闭	封闭	封闭
	7G10 aNRP2-8	b1	是	1.4	封闭	封闭	封闭	封闭
	9E7 aNRP2-9	b1	是	8	封闭	封闭	封闭	封闭
	1E3 aNRP2-10	b1	是	0.8	封闭	封闭	封闭	封闭
	19E8 aNRP2-15	b1	是	2.7	封闭	封闭	封闭	未封闭
	17F7 aNRP2-1	b2	是	41.8	封闭	部分	未封闭	未封闭
	13D7 aNRP2-11	b2	是	0.1	封闭	封闭	部分	未封闭
	3F2 aNRP2-2	c	是	1.7	未封闭	未封闭	未封闭	未封闭
[0659]	20F3 aNRP2-12	c	是	17.3	未封闭	未封闭	未封闭	未封闭

[0660] 结果表明,即使在不同的a2、b1、b2和c结构域抗体中,特存在关于配体封闭的显著差异,如通过SPR所测量的。重要的是,抗体在封闭VEGF-C、臂板蛋白3F和HRS多肽结合的选择性方面表现出显著的特异性。例如但不限于,抗体克隆18B8(aNRP2-14)显示出选择性封闭Sema 3F和HRS结合而不封闭VEGF-C结合的能力,并且抗体19E8(aNRP2-15)显示出选择性封闭VEGF-C而不封闭Sema 3F结合的能力。

[0661] 实例3

[0662] 使用天然表达人NRP2的野生型A549细胞对NRP2空细胞进行的可商购获得的抗体的抗体结合特性的比较

[0663] 另外,使用A549野生型对A549 NRP2敲除克隆细胞来验证内部抗NRP2抗体与NRP2结合的特异性。通过CRISPR-Cas9敲除产生NRP2敲除克隆细胞,选择单一菌落并通过遵循文献方法进行蛋白质印迹和细胞表面免疫染色来验证无NRP2表达。基本上如以下实例4所述

那样进行流式细胞术分析。这些内部抗NRP2与A549野生型细胞结合,但未显示出或显示出很少与NRP2敲除克隆细胞的结合(见表E4)。

[0664]

表 E4 信噪结合特性与可商购获得的抗体的比较					
抗体*/克隆	结构域特异性	a-NRP2 相对于对照物的变化倍数 (FC)			KO/WT%
		A549 WT	NRP2 KO_107	NRP2 KO_235	
18B8 aNRP2-14	a2	232.8	1.1	1.1	0.5
19E8 aNRP2-15	b1	521.3	1.1	1.0	0.2
1E3 aNRP2-10	b1	410.2	1.6	1.4	0.4
5H11 aNRP2-7	b1	397.6	1.5	1.4	0.4
7G10 aNRP2-8	b1	390.9	1.2	1.1	0.3
8E2 aNRP2-6	b1	431.5	1.3	1.2	0.3
9E7 aNRP2-9	b1	461.9	1.2	1.1	0.2
13D7 aNRP2-11	b2	286.6	1.2	1.5	0.5
17F7 aNRP2-1	b2	246.6	1.5	1.3	0.6

[0665]

20F3 aNRP2-12	c	61.1	1.2	1.4	2.1
3F2 aNRP2-2	c	348.9	2.1	2.0	0.6
商业单克隆抗体					
R&D 系统公司, 编号: AF567	23-857	57.6	5.4	5.4	9.4
BAF2215 博士德公司 (Boster)	25-855	137.2	8.6	7.3	5.8
C9-PE 圣克鲁斯生物技术公司 (Santa Cruz Biotech)	560-858 hNRP2	6.0	1.7	1.7	27.9
C9-AF647 圣克鲁斯生物技术公司	560-858 hNRP2	2.6	1.8	1.9	71.8
C9-AF647 圣克鲁斯生物技术公司	560-858 hNRP2	1.8	1.3	1.7	-
CS, 编号: 3366	小鼠 N 端	0.9	1.0	1.4	-

[0666] 这些结果表明,与现有的可商购获得的抗体相比,所要求保护的抗NRP2抗体对在

细胞系上表达的天然NRP2表现出显著优异的特异性和敏感性。这些结果与用NRP2表达性细胞系来免疫动物产生对天然NRP2(非变性蛋白)的抗体反应的想法一致,这更准确地反映了在体内发现的NRP2蛋白的天然构象。因此,与如下文进一步描述的抗体培育的重组蛋白相比,预期所要求保护的抗体表现出优异的生物活性。

[0667] 实例4

[0668] 抗人神经纤毛蛋白2抗体与人和食蟹猴NRP2过表达性细胞的结合

[0669] 为了评估抗NRP2抗体对人和食蟹猴NRP2的交叉反应性。在HEK 293细胞表面上表达NRP2,并且如下文更全面描述的那样进行流式细胞术研究。在食蟹猴和人类NRP2之间建立交叉反应性是确保在动物研究中可以很容易地评估潜在治疗性候选物的毒性的治疗剂开发考虑因素;特别是在人与啮齿动物NRP2之间的抗体交叉反应性很少或不存在所述抗体交叉反应性的情况下。

[0670] 质粒DNA的纯化从傲锐东源公司购买含有人或食蟹猴NRP2的质粒。为了产生大量质粒并纯化DNA,根据制造商的说明将每个质粒转化到化学感受态大肠杆菌细胞(One Shot TOP10)中。将经过转化的细菌在含有作为抗生素的单硫酸卡拉霉素(50 μ g/mL)的推荐的液体培养基(重悬于水中的Difco脱水Miller Luria-Bertani培养基粉末)中生长。然后根据试剂盒的说明,使用凯杰DNA基质制备试剂盒纯化质粒DNA。在分光光度计(Nanodrop 2000)上测量DNA浓度和纯度。转染需要A260/A280吸光度比介于1.8与2.0之间。

[0671] Expi293繁殖和瞬时转染:使用Expi293细胞——其是维持于悬浮培养基中的HEK293瞬时表达系统——来表达食蟹猴NRP2。将细胞在250mL通气悬浮培养瓶中的60mL Expi293培养基中生长。在37 $^{\circ}$ C下在Multitron细胞培养箱中进行细胞的繁殖,其中CO₂浓度为8%,湿度为80%,并且以225rpm振荡。在维持和扩增阶段,使Expi293细胞以0.3e6个细胞/mL每周分裂两次,以便使密度保持在对于转染来说最佳的范围内并保持高活力。使用细胞计数器(Cedex HiRes细胞分析仪)测定细胞密度和活力。

[0672] 在进行DNA转染的前一天,将Expi293细胞以2.0e6个细胞/mL的密度接种,以便维持高活力(>95%)和低密度(不超过3-5e6个细胞/mL),由此为细胞提供新鲜的营养物并避免由任何分泌物质引起的转染障碍。

[0673] 在进行DNA转染之前,对Expi293细胞进行计数,并以2.5e6个细胞/mL重新接种到50mL摇瓶(TPP TubeSpin生物反应器管)中。使用Expifectamine试剂盒执行转染程序。制造商的方案适用于总体积为5mL而不是30mL的转染(即,将所有体积除以因子6)。将5 μ g的每种质粒DNA在Opti-MEM还原血清培养基中稀释,与Expifectamine转染试剂复合,并转染到Expi293细胞中。在以225rpm振荡下培养经过转染的池,以确保细胞完全悬浮于50mL生物反应器中。按照制造商的方案,在16-18小时后添加Expifectamine试剂盒增强剂,并且在转染后2天通过流式细胞术分析培养物。

[0674] 稳定过表达人NRP2的Expi293-hNRP2克隆细胞的产生:购买对与Myc-DDK标签融合的人NRP2变体2转录物NM_003872(hNRP2)进行编码的质粒(傲锐东源科技公司,目录号:RC220706)。使用Q5聚合酶(新英格兰生物实验室公司(New England Biolabs),目录号:M0491)和以下引物对对载体进行PCR扩增:

[0675] 5'-TGAGGATGACAAAGATTTGCAGCT-3'(SEQ ID NO:125)

[0676] 5'-ACCGCGCCGCGCGTTTATGCCTCGGAGCAGCACTT-3'(SEQ ID NO:126)

[0677] 5'-AGTGCCAAGCAAGCAACTCAAA-3' (SEQ ID NO:127)

[0678] 5'-AAGTGCTGCTCCGAGGCATAAACGGCCGCGCGGT-3' (SEQ ID NO:128)

[0679] 然后将所得PCR产物融合,用MfeI/AgeI (新英格兰生物实验室公司,目录号:R3589,R3552) 切割,并连接到用相同酶切割的RC220706的载体片段中。然后使含有未标记的hNRP2转录物的此载体线性化并重新悬浮在10mM Tris-0.1mM EDTA中。将悬浮Expi293细胞(赛默飞世尔公司(ThermoFisher),目录号:A14527) 在表达培养基(赛默飞世尔公司目录号:A1435101) 中在37℃和8% CO₂下生长。将上述经过线性化的质粒使用SF细胞系4D-Nucleofector®X试剂盒L(龙沙公司(Lonza),目录号:V4XC-2012) 和悬浮HEK293细胞的标准方案T-030转染到Expi293细胞中。使细胞在静置培养下回收17小时,转移到悬浮液中并回收另外72小时,并且然后用200-350μg/mL G418以50μg增量进行选择(赛默飞世尔公司,目录号:10131035)。监测细胞密度和活力,为期3周,其中每2-3天进行一次一次新鲜培养基/抗生素更换。

[0680] 为了选择hNRP2过表达性克隆细胞,通过有限稀释将细胞悬浮到96孔板中。将单一菌落转移到falcon管中,以便在维持的选择压力下进一步扩增。将过表达人NRP2的克隆细胞通过α-NRP2染色和随后的流式细胞术分析进行验证。

[0681] α-NRP2与Expi293-hNRP2克隆细胞或食蟹猴NRP2转染的Expi293细胞的结合:通过以300g离心5分钟来收集Expi293-hNRP2克隆细胞或食蟹猴(cynomolgus monkey或cyno) NRP2转染的Expi293细胞,并通过具有钙和镁的DPBS(赛默飞世尔公司,目录号:14040133) 洗涤两次。将经洗涤的细胞以100,000个细胞/孔添加到96孔V形底板(赛默飞世尔公司,目录号:1424572) 中到25μL的具有钙和镁的DPBS溶液中。将25μL Zombie Violet活力染色剂(百进公司(Biolegend),目录号:423114,按1:250稀释) 添加到除无染色剂对照物之外的每个孔中。从这一步开始,保护细胞免受光照。将细胞在室温下保持10分钟,并在4℃下以300g沉淀5分钟。丢弃含有Zombie Violet的上清液,并且在不经洗涤的情况下,将在流动洗涤缓冲液(FWB,具有钙和镁加上2%FBS的DPBS) 中稀释的30μL抗体添加到细胞中。对于Expi293-hNRP2克隆细胞上的α-NRP2染色,在0.05-30nM或0.02-10nM的最终浓度下以3倍稀释度测试内部小鼠抗NRP2抗体。对于食蟹猴NRP2转染的Expi293细胞上的α-NRP2染色,在0.01-200nM的最终浓度下以5倍稀释度测试内部α-NRP2抗体。对于每个测试,通过在单独的孔中的α-NRP2染色(内部αNRP2-2v2-1327,5μg/mL和/或10μg/mL R&D#AF567 α-NRP2) 来验证细胞表面上的NRP2过表达。使结合在冰上进行1小时。然后将细胞在4℃下以300g沉淀5分钟,去除上清液,并且将细胞通过添加150μL FWB洗涤两次,并在相同条件下再次离心细胞。为了检测细胞表面上的α-NRP2结合,将AF647缀合的山羊抗小鼠IgG或AF647-缀合的驴抗山羊IgG(杰克逊免疫研究公司,目录号:115606062和705605147) 以2.5μg/mL的最终浓度添加到30μL FWB中的细胞中。在冰上温育30-45分钟后,将细胞在4℃下以300g沉淀5分钟并去除上清液,并且将细胞如前所述那样洗涤两次。然后,在Cytoflex上获取前,将细胞重悬于FWB中。基于染色对照物设定增益。收集通常通过超过10,000个事件的细胞。然后在FlowJo分析软件上通过排除死亡细胞来分析细胞。

[0682] 作为另外的对照物,测试以下条件:1) 使用同型对照小鼠IgG1(百进公司,目录号:400102) 代替小鼠抗NRP2抗体来证明染色的特异性;以及2) 还使用模拟和未转染的Expi293细胞来测定用αNRP2-2v2-1327或R&D#AF567 α-NRP2进行的染色,以证明人或食蟹猴NRP2在

Expi293细胞上的过表达。使用GraphPad棱镜执行统计分析。使用非线性回归相对于数据拟合四参数可变斜率曲线([激动剂]与反应),并测定每条曲线的EC₅₀和r²。

[0683] 针对与人和食蟹猴NRP2转染的Expi293细胞的结合测量各自针对NRP2的不同结构域的四种抗NRP2抗体的EC₅₀(表E5)。所述抗体都显示出以纳摩尔范围内的EC₅₀与NRP2的特异性结合。相反,未观察到同型对照小鼠IgG1抗体的结合。

[0684]

表 E5 与人和食蟹猴 NRP2 的结合亲和力的比较			
抗体克隆	结构域特异性	EC50 人 (nM)	EC50 食蟹猴 (nM)
18B8 aNRP2-14	a2	0.9	5.5
1E3 aNRP2-10	b1	0.4	1.2
13D7 aNRP2-11	b2	0.9	4.5
3F2 aNRP2-2	c	2.0	1.8
同型对照抗体	未检出	未检出	无结合

[0685] 这些研究的结果表明,所测试的抗体中的每种抗体都显示出对人和食蟹猴NRP2的结合亲和力相当,所述亲和力全都是低纳摩尔的,并且在物种之间彼此相差约5-6倍。

[0686] 实例5

[0687] 抗人神经纤毛蛋白2抗体与天然表达NRP2的细胞的结合。

[0688] 为了评估抗NRP2抗体与天然表达细胞的结合,对已知内源性表达NRP2的多种细胞系进行流式细胞术。为了初步评估NRP2表达水平,使用6μg总细胞裂解物进行蛋白质印迹,并且按照标准方法用可商购获得的抗NRP2抗体BAF2215(美国加利福尼亚州博士德生物技术公司)进行探测。所测试的细胞系包含U251(胶质母细胞瘤)、A549(肺癌)、HUVEC(人脐静脉细胞)、THP-1(向M1表型预分化的人巨噬细胞系)和HLEC(人淋巴内皮细胞)。基本上如实例4所描述的那样进行流式细胞术分析。图3示出了蛋白质印迹结果,图4和5示出了流式细胞术结果。表E6(如下)还总结了流式细胞术结合数据。

[0689]

表 E6 抗人神经纤毛蛋白 2 抗体与天然表达 NRP2 的细胞的结合。							
细胞类型	所测试抗体 范围 (nM)	NRP2 水平 3F2 与对 照 FC*	a-NRP2 细胞表面结合 EC50 (nM)				
			18B8 aNRP2-14	1E3 aNRP2-10	13D7 aNRP2- 11	3F2 aNRP2-2	同型对照
U251	0.01 - 1000	214.6	8.9	1.7	7.4	2.2	无结合
HUVEC	0.06 - 1000	21.9	不饱和	27.1	0.4	30.3	无结合
HLEC	0.06 - 1000	8.6	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
THP-1 M1	0.01 - 1000	33.7	8.4	0.1	4.2	3.3	无结合
THP-1M0	0.01 - 1000	3.0	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
THP-1 WT	0.01 - 1000	25.2	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
A549	0.01 - 1000	25.2	不饱和	不饱和	6.3	2.3	无结合

[0690] 这些研究的结果表明,抗NRP2抗体对内源性表达NRP2的广泛的细胞显示出良好的特异性。结果证实,所测试的抗体对广泛的细胞类型——包含源自神经元、上皮、免疫、肺和癌症谱系的细胞——的细胞表面上表达的人内源性NRP2表现出高敏感性。

[0691] 实例6**[0692] 对过表达NRP2的细胞的配体置换研究**

[0693] 为了评估抗NRP2抗体置换VEGF-C、臂板蛋白3F和HRS多肽结合的能力,使用流式细胞术。通过如实例4所描述的免疫染色测定来测定重组人VEGF-C (R&D, 目录号:9199-VC-025, 未标记)、Sema3F-Fc (R&D, 目录号:9878-S3-025, Fc嵌合体蛋白) 或Sema3F-p95m (内部制备)、Myc标记的Sema3F-p95 (R583AR586A-1359) 与过表达人NRP2的Expi293-hNRP2细胞的结合。用在0.05-100nM下以3倍稀释度在冰上与这些蛋白质中的每一种蛋白质温育1小时的细胞进行研究。然后如之前所描述的那样将细胞用二级抗体和/或检测抗体进行洗涤和染色。通过兔抗VEGF-C抗体 (艾博抗公司, 目录号:AB9546) 对在细胞表面上结合的VEGF-C进行染色, 然后通过AF647缀合的山羊抗兔IgG (杰克逊免疫研究公司, 目录号:111605144) 进行检测。通过Cy3缀合的山羊抗人Fc IgG (杰克逊免疫研究公司, 目录号:109165098) 检测Sema3F-Fc。通过AF555缀合的抗Myc抗体 (赛默飞世尔公司, 目录号:MA1980A555) 检测Sema3F-p95m。

[0694] 如以上所描述的那样拟合结合曲线并测定 EC_{50} 值。确定VEGF-C与以0.6nM的 EC_{50} 与Expi293-hNRP2细胞结合。确定Sema3F-Fc以约8.2nM的 EC_{50} 与Expi293-hNRP2细胞结合, 并且Sema3F-p95m以5.7nM的 EC_{50} 与Expi293-hNRP2细胞结合。

[0695] 对于VEGF-C结合的抗NRP2封闭, 首先将Expi293-hNRP2细胞与抗NRP2一起在冰上温育30分钟。在不经洗涤的情况下, 将VEGF-C以0.6nM添加到细胞中。在冰上温育1小时后, 将细胞洗涤, 并且然后与兔抗VEGF-C抗体一起温育, 随后通过如上所述的AF647缀合的山羊抗小鼠IgG进行检测。

[0696] 对于Sema3F结合的抗NRP2封闭, 首先将Expi293-hNRP2细胞与抗NRP2一起在冰上温育30分钟。在不经洗涤的情况下, 将Sema3F-p95m以6nM添加到细胞中。在冰上温育1小时后, 将细胞洗涤, 并且然后与如上所述的AF555缀合的抗Myc抗体一起温育。

[0697] 使用GraphPad棱镜执行统计分析。使用非线性回归相对于数据拟合四参数可变斜率曲线 ([抑制剂] 与反应), 并测定每条曲线的 IC_{50} 和 r^2 。

[0698] 所测试的抗NRP2在封闭VEGF-C或Sema3F-p95m与Expi293-hNRP2细胞的结合方面表现出不同的能力, 并且归类为封闭剂 (>90%抑制)、部分封闭剂 (30-90%抑制) 或非封闭剂 (无明显抑制)。表E7示出了结合数据的汇总, 包含这些抗NRP2抗体的计算出的 IC_{50} 值 (在次纳摩尔到纳摩尔范围内), 而图6示出了在没有添加配体的情况下, 抗NRP2抗体与过表达人NRP2的Expi293-hNRP2细胞的结合曲线。图7示出了人VEGF-C与过表达人NRP2的Expi293-hNRP2细胞的结合的结合曲线和FACS图。图8示出了对VEGF-C与过表达人NRP2的Expi293-hNRP2细胞的结合的封闭和/或置换。图9示出了Sema3F-p95和Sema 3F-p65 (0.05-100nM) 与过表达人NRP2的Expi293-hNRP2克隆细胞的结合。图10和11示出了所指示抗体对Sema 3F-p95与过表达人NRP2的Expi293-hNRP2克隆细胞结合的抗NRP2抗体封闭置换曲线。

表 E7 对过表达 NRP2 的细胞的配体置换研究									
克隆	表位结构域 (ELISA)	结合		封闭配体与 293F-hNRP2 的结合					
		293F-hNRP2 (EC ₅₀ nM)		VEGF-C (IC ₅₀ nM)		Fc-HRS(2-60) (IC ₅₀ nM)		SEMA3F (IC ₅₀ nM)	
[0699]	18B8 aNRP2-14	结合	0.9	部分	6.7	未封闭	不适用	封闭	2.2
	8E2 aNRP2-6	未检出	未检出	封闭	1.1	封闭	未检出	未检出	未检出
	5H11 aNRP2-7	未检出	未检出	封闭	0.8	封闭	未检出	未检出	未检出
	7G10 aNRP2-8	结合	0.3	封闭	0.3	封闭	0.3	部分	2.7
	9E7 aNRP2-9	结合	0.7	封闭	0.7	封闭	0.2	部分	0.3
[0700]	1E3 aNRP2-10	结合	0.3	封闭	0.4	封闭	0.5	部分	0.4
	19E8 aNRP2-15	结合	0.3	未检出	未检出	未检出	未检出	部分	0.4
	17F7 aNRP2-1	未检出	未检出	未封闭	不适用	未检出	未检出	未检出	未检出
	13D7 aNRP2-11	结合	0.9	封闭	5.8	部分	34.3	部分	0.2
	3F2 aNRP2-2	结合	未检出	未封闭	不适用	未封闭	不适用	未封闭	不适用
	20F3 aNRP2-12	未检出	未检出	未封闭	不适用	未检出	未检出	未检出	未检出

[0701] 这些研究的结果显示了具体抗体关于置换VEGF-C、臂板蛋白3F和HRS多肽的结合的特异性和选择性结合。重要的是,这些结果验证并扩展了天然细胞环境中的NRP2-配体相互作用的背景下这些机体的初始配体置换能力。例如,结果显示,克隆18B8(aNRP2-14)显示出选择性封闭臂板蛋白结合而仅部分封闭VEGF-C结合和HRS多肽结合的能力,并且克隆7G10(aNRP2-8)、9E7(aNRP2-9)和1E3(aNRP2-10)显示出选择性封闭VEGF-C和HRS多肽而仅部分封闭结合臂板蛋白结合的能力。克隆13D7(aNRP2-11)显示出选择性封闭VEGF-C而仅部分封闭结合臂板蛋白结合和HRS多肽结合的能力。而克隆3F2(aNRP2-2)显示出与NRP2结合而不置换测试的配体中的任何配体的能力,从而使其可用作NRP2表达的诊断试剂,特别是例如在IHC应用中。

[0702] 实例7

[0703] 抗NRP2抗体对受体NRP2二聚化的表征

[0704] 为了进一步扩展对抗NRP2抗体的生物活性的评估,在受体二聚化测定中评估其活

性。简而言之,从普洛麦格公司获得对分裂荧光素酶pBiT1.1和pBiT2.1进行编码的载体。将NRP2v2、FLT4 (VEGFR3) 和神经丛蛋白A1 (PLXNA1) 的完整胞外结构域和跨膜螺旋克隆到载体中,并按照已确定的方法筛选其最佳定向。在用等质量的NRP2v2和共受体进行测定前,将Expi293细胞(世尔公司)以1百万个细胞/mL转染约20小时。对细胞进行计数,并将100,000个活细胞接种在Optimem培养基(世尔公司)中的白色光度计板孔中。添加Nano-Glo测定基质(普洛麦格公司),在室温下在MicroBeta光度计上读取板,以建立基线发光。将抗体以100nM添加到孔中,并再次读取板以建立新的基线,并监测抗体对自发受体二聚化的影响。然后分别以200nM或20nM添加SEMA3F-p95(aTyr制药公司(aTyr pharma))或VEGF-C(R&D系统公司),并再次读取板以测量受体的二聚化。示出了对NRP2/PLXNA1二聚化的原始反应,由于弱反应和高可变性,在添加配体之前相对于基线归一化NRP2/FLT4。下表E8中并且在图12和13以图表形式总结了结果。

表 E8 受体二聚化封闭概述:			
抗体	结构域特异性	封闭 NRP2/PLXNA1 的能力	封闭 NRP2/FLT4 (VEGFR3) 的能力
aNRP2-14	a2	非常强	无
aNRP2-9	b1	部分	部分
aNRP2-10	b1	弱/无	非常强
aNRP2-1	b2	部分	无
aNRP2-11	b2	强	非常强
aNRP2-2	c	部分	无
aNRP2-12	c	强	部分

[0706] 结果表明,所有测试的抗体在这些测定中都显示出功能活性。令人惊讶的是,特定抗体显示出极具特异性且不明显的功能分化。例如,抗体aNRP2-14表现出对NRP2-神经丛蛋白异源二聚化的极其强效的抑制,而对NRP2-VEGFR3异二聚化没有显著影响。另外,抗体aNRP2-10显示出强效抑制NRP2-VEGFR3异二聚化的能力,而未显著抑制NRP2-神经丛蛋白异源二聚化。相比之下,抗体克隆aNRP2-11显示出强烈抑制NRP2与VEGFR3和神经丛蛋白受体二者的异二聚化的能力。另外,抗体aNRP2-12显示出强烈抑制NRP2与神经丛蛋白受体的异二聚化的令人惊讶的能力,但仅部分影响NRP2-VEGFR3二聚化。

[0707] 实例8

[0708] 抗体FAB和NRP2复合晶体结构的表征

[0709] 将具有N端His标签的人NRP2(aa25-595)在Expi293细胞中表达并通过Ni-NTA亲和色谱法进行纯化。将aNRP2-14 Fab轻链和His标记的重链在ExpiCHO细胞中共表达并通过Ni-NTA亲和色谱法进行纯化。通过混合获得NRP2和aNRP2-14 Fab的结合复合物并通过尺寸排阻色谱法进行纯化。将蛋白质复合物在pH为7.4的1x PBS下浓缩至18.1mg/ml。通过沉滴法(0.5μl蛋白质加0.5μl沉淀剂)筛选蛋白质的结晶命中,并将其在16°C下温育。温育2-4天后,将复合晶体在含有30%v/v聚乙二醇300和0.1M三水乙酸钠的pH为4.5的条件下生长。将进行闪速冷却并储存在液氮中之前,在添加15%v/v甘油的同时在相同条件下对晶体进行冷冻保护。

[0710] 将所有衍射数据以100K收集在上海光源(Shanghai Synchrotron Radiation Facility)光束线BL19U的PILATUS3 6M探测器上,并用HKL3000软件(Minor等人,2006)进行索引和处理。使用以前发布的模型作为搜索模型,通过在CCP4套件(Winn等人,2011)中的移相器(McCoy等人,2007)进行分子替代来测定复合物的结构[PDB编码:NRP2(2QQK)、Fab(2D03)]。通过在Coot(Emsley等人,2004)中进行构建和在CCP4套件中的Refmac(Murshudov等人,2004)中进行细化的多个步骤来生成最终的模型。在PyMOL(DeLano,2015)中生成所有结构图像和比对。通过EBI PISA服务器(www.ebi.ac.uk/msd-srv/prot_int/cgibin/piserver)计算掩埋表面积。

[0711] NRP2/aNRP2-14 Fab的晶体具有C2空间群,其中细胞常数为 $a = 89.5 \text{ \AA}$, $b = 89.4 \text{ \AA}$, $c = 130.9 \text{ \AA}$,并且衍射到 $1.90 \text{ \AA}$ 的最大分辨率。将结构细化到 $1.90 \text{ \AA}$ 的分辨率,其中最终的 R_{work} 和 R_{free} 分别为19.71%和23.46%。虽然NRP2的Fab和a2、b1和b2结构域分辨率很好(图14,表E10)但是无法检测到对应于NRP2蛋白的a1结构域的电子密度。

[0712] aNRP2-14抗体识别人NRP2,但不识别小鼠NRP2。在晶体结构中Fab接触的NRP2残基中(图15,表E9),人与小鼠之间唯一不保守的残基是残基237,其是人的谷氨酸并且是小鼠的赖氨酸。人NRP2中的E237残基与抗体重链的CDR2区中的S57残基形成氢键(图16),并且因此在结合相互作用中起关键作用。

表 E9
NRP2 与 aNRP2-14 Fab 之间的相互作用残基的概述

NRP2 结构域	NRP2 残基	Fab 结构域	Fab 残基	键
a2	D258	VL	T32	H 键
	L192	VH	Y105	H 键
	T232	VH	Y106	H 键
	T234	VH	S103、Y106	H 键
	P235	VH	S103	H 键
	E237	VH	S57	H 键
	R263	VH	T58、D59、Y105	H 键
b1		VH	D59	盐桥
	E284	VH	N74	H 键
	S285	VH		H 键
	R287	VH	G55, S57	H 键
[0714]	N290	VH	S32	H 键
	D314	VH	S77	H 键

表 E10.
晶体学数据收集和细化统计

数据收集	
空间群	C2
波长 (Å)	0.97915
单位细胞参数	89.501Å 89.411Å 130.877Å 90° 94.18° 90°
分辨率范围 (Å)	50-1.90 (1.93-1.90)
独特反射的编号	78778 (3849)
冗余度	5.9 (6.1)
I/σ	23.3 (2.4)
完整度 (%)	97.4 (96.1)
R _{merge} ^a (%)	7.4 (59.0)
CC _{1/2} (最高分辨率壳) ^b	0.816
结构细化	
分辨率 (Å)	1.90
R _{work} ^c (%)	19.71
R _{free} ^d (%)	23.46
RMSD 键 (Å)	0.009
RMSD 角度 (°)	1.555
平均 B 因子 (Å ²)	40.2
拉马钱德兰图 (%)	
优选	95.68
允许	3.58
离群值	6
括号中的数字表示最高分辨率壳的值。	
^a R _{merge} = $\sum I_i - \langle I \rangle / \sum I_i$, 其中 I_i 是所测量反射的强度, 并且 $\langle I \rangle$ 是所有对称相关反射的平均强度。	
^b CC _{1/2} 在[4]中定义。	
^c R _{work} = $\sum W F_{\text{calc}} - F_{\text{obs}} / \sum F_{\text{obs}} $, 其中 F_{obs} 和 F_{calc} 是观察和计算的结构因子。W 是随机选择并用于细化的全部唯一反射的约 95% 的工作数据集。	
^d R _{free} = $\sum T F_{\text{calc}} - F_{\text{obs}} / \sum F_{\text{obs}} $, 其中 T 是随机选择并在细化前留出的总唯一反射的约 5% 的测试数据集。	

[0716] 本说明书中引用的所有出版物、专利申请和所发布专利通过均引用并入本文, 如同每个单独的出版物、专利申请或所发布专利具体地且单独地指示通过引用并入一样。

[0001] 序列表
 [0002] <110> aTyr制药公司(aTyr Pharma, Inc.)
 [0003] Burman, Luke
 [0004] Chong, Yee Ting
 [0005] Gang, Yanyan
 [0006] Green, Leslie Nangle
 [0007] Hamel, Kristina
 [0008] King, David
 [0009] Menefee, Ann
 [0010] Rauch, Kaitlyn
 [0011] Xu, Zhiwen
 [0012] Zhao, Liting
 [0013] <120> 包括抗NRP2抗体的组合物和方法
 [0014] <130> ATYR-134/01W0 315789-2761
 [0015] <150> US 62/653,823
 [0016] <151> 2018-04-06
 [0017] <160> 128
 [0018] <170> PatentIn版本3.5
 [0019] <210> 1
 [0020] <211> 931
 [0021] <212> PRT
 [0022] <213> 智人(Homo sapiens)
 [0023] <400> 1
 [0024] Met Asp Met Phe Pro Leu Thr Trp Val Phe Leu Ala Leu Tyr Phe Ser
 [0025] 1 5 10 15
 [0026] Arg His Gln Val Arg Gly Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu
 [0027] 20 25 30
 [0028] Asn Ser Lys Asp Ala Gly Tyr Ile Thr Ser Pro Gly Tyr Pro Gln Asp
 [0029] 35 40 45
 [0030] Tyr Pro Ser His Gln Asn Cys Glu Trp Ile Val Tyr Ala Pro Glu Pro
 [0031] 50 55 60
 [0032] Asn Gln Lys Ile Val Leu Asn Phe Asn Pro His Phe Glu Ile Glu Lys
 [0033] 65 70 75 80
 [0034] His Asp Cys Lys Tyr Asp Phe Ile Glu Ile Arg Asp Gly Asp Ser Glu
 [0035] 85 90 95
 [0036] Ser Ala Asp Leu Leu Gly Lys His Cys Gly Asn Ile Ala Pro Pro Thr
 [0037] 100 105 110
 [0038] Ile Ile Ser Ser Gly Ser Met Leu Tyr Ile Arg Phe Thr Ser Asp Tyr

[0039]	115	120	125
[0040]	Ala Arg Gln Gly Ala Gly Phe Ser Leu Arg Tyr Glu Ile Phe Lys Thr		
[0041]	130	135	140
[0042]	Gly Ser Glu Asp Cys Ser Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile		
[0043]	145	150	155
[0044]	Glu Ser Pro Gly Phe Pro Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr		
[0045]	165	170	175
[0046]	Phe Thr Ile Leu Ala Lys Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu		
[0047]	180	185	190
[0048]	Ile Phe Asp Leu Glu His Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys		
[0049]	195	200	205
[0050]	Lys Tyr Asp Trp Leu Asp Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro		
[0051]	210	215	220
[0052]	Leu Ile Gly Lys Tyr Cys Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser		
[0053]	225	230	235
[0054]	Ser Thr Gly Ile Leu Ser Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala		
[0055]	245	250	255
[0056]	Lys Asp Gly Phe Ser Ala Arg Tyr Tyr Leu Val His Gln Glu Pro Leu		
[0057]	260	265	270
[0058]	Glu Asn Phe Gln Cys Asn Val Pro Leu Gly Met Glu Ser Gly Arg Ile		
[0059]	275	280	285
[0060]	Ala Asn Glu Gln Ile Ser Ala Ser Ser Thr Tyr Ser Asp Gly Arg Trp		
[0061]	290	295	300
[0062]	Thr Pro Gln Gln Ser Arg Leu His Gly Asp Asp Asn Gly Trp Thr Pro		
[0063]	305	310	315
[0064]	Asn Leu Asp Ser Asn Lys Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Phe Leu		
[0065]	325	330	335
[0066]	Thr Met Leu Thr Ala Ile Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr		
[0067]	340	345	350
[0068]	Gln Asn Gly Tyr Tyr Val Lys Ser Tyr Lys Leu Glu Val Ser Thr Asn		
[0069]	355	360	365
[0070]	Gly Glu Asp Trp Met Val Tyr Arg His Gly Lys Asn His Lys Val Phe		
[0071]	370	375	380
[0072]	Gln Ala Asn Asn Asp Ala Thr Glu Val Val Leu Asn Lys Leu His Ala		
[0073]	385	390	395
[0074]	Pro Leu Leu Thr Arg Phe Val Arg Ile Arg Pro Gln Thr Trp His Ser		
[0075]	405	410	415
[0076]	Gly Ile Ala Leu Arg Leu Glu Leu Phe Gly Cys Arg Val Thr Asp Ala		
[0077]	420	425	430

[0078]	Pro Cys Ser Asn Met Leu Gly Met Leu Ser Gly Leu Ile Ala Asp Ser
[0079]	435 440 445
[0080]	Gln Ile Ser Ala Ser Ser Thr Gln Glu Tyr Leu Trp Ser Pro Ser Ala
[0081]	450 455 460
[0082]	Ala Arg Leu Val Ser Ser Arg Ser Gly Trp Phe Pro Arg Ile Pro Gln
[0083]	465 470 475 480
[0084]	Ala Gln Pro Gly Glu Glu Trp Leu Gln Val Asp Leu Gly Thr Pro Lys
[0085]	485 490 495
[0086]	Thr Val Lys Gly Val Ile Ile Gln Gly Ala Arg Gly Gly Asp Ser Ile
[0087]	500 505 510
[0088]	Thr Ala Val Glu Ala Arg Ala Phe Val Arg Lys Phe Lys Val Ser Tyr
[0089]	515 520 525
[0090]	Ser Leu Asn Gly Lys Asp Trp Glu Tyr Ile Gln Asp Pro Arg Thr Gln
[0091]	530 535 540
[0092]	Gln Pro Lys Leu Phe Glu Gly Asn Met His Tyr Asp Thr Pro Asp Ile
[0093]	545 550 555 560
[0094]	Arg Arg Phe Asp Pro Ile Pro Ala Gln Tyr Val Arg Val Tyr Pro Glu
[0095]	565 570 575
[0096]	Arg Trp Ser Pro Ala Gly Ile Gly Met Arg Leu Glu Val Leu Gly Cys
[0097]	580 585 590
[0098]	Asp Trp Thr Asp Ser Lys Pro Thr Val Glu Thr Leu Gly Pro Thr Val
[0099]	595 600 605
[0100]	Lys Ser Glu Glu Thr Thr Thr Pro Tyr Pro Thr Glu Glu Glu Ala Thr
[0101]	610 615 620
[0102]	Glu Cys Gly Glu Asn Cys Ser Phe Glu Asp Asp Lys Asp Leu Gln Leu
[0103]	625 630 635 640
[0104]	Pro Ser Gly Phe Asn Cys Asn Phe Asp Phe Leu Glu Glu Pro Cys Gly
[0105]	645 650 655
[0106]	Trp Met Tyr Asp His Ala Lys Trp Leu Arg Thr Thr Trp Ala Ser Ser
[0107]	660 665 670
[0108]	Ser Ser Pro Asn Asp Arg Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg
[0109]	675 680 685
[0110]	Leu Gln Ser Asp Ser Gln Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser
[0111]	690 695 700
[0112]	Pro Pro Val His Leu Pro Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr
[0113]	705 710 715 720
[0114]	Gln Ala Thr Gly Gly Arg Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala
[0115]	725 730 735
[0116]	Ser Gln Glu Ser Lys Leu Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly

[0117]	740	745	750
[0118]	Glu Trp Lys His Gly Arg Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr		
[0119]	755	760	765
[0120]	Gln Ile Val Phe Glu Gly Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile		
[0121]	770	775	780
[0122]	Ala Ile Asp Asp Ile Arg Ile Ser Thr Asp Val Pro Leu Glu Asn Cys		
[0123]	785	790	795
[0124]	Met Glu Pro Ile Ser Ala Phe Ala Gly Glu Asn Phe Lys Val Asp Ile		
[0125]	805	810	815
[0126]	Pro Glu Ile His Glu Arg Glu Gly Tyr Glu Asp Glu Ile Asp Asp Glu		
[0127]	820	825	830
[0128]	Tyr Glu Val Asp Trp Ser Asn Ser Ser Ser Ala Thr Ser Gly Ser Gly		
[0129]	835	840	845
[0130]	Ala Pro Ser Thr Asp Lys Glu Lys Ser Trp Leu Tyr Thr Leu Asp Pro		
[0131]	850	855	860
[0132]	Ile Leu Ile Thr Ile Ile Ala Met Ser Ser Leu Gly Val Leu Leu Gly		
[0133]	865	870	875
[0134]	Ala Thr Cys Ala Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Thr Cys Ser Tyr Ser Gly		
[0135]	885	890	895
[0136]	Leu Ser Ser Arg Ser Cys Thr Thr Leu Glu Asn Tyr Asn Phe Glu Leu		
[0137]	900	905	910
[0138]	Tyr Asp Gly Leu Lys His Lys Val Lys Met Asn His Gln Lys Cys Cys		
[0139]	915	920	925
[0140]	Ser Glu Ala		
[0141]	930		
[0142]	<210> 2		
[0143]	<211> 926		
[0144]	<212> PRT		
[0145]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0146]	<400> 2		
[0147]	Met Asp Met Phe Pro Leu Thr Trp Val Phe Leu Ala Leu Tyr Phe Ser		
[0148]	1	5	10
[0149]	Arg His Gln Val Arg Gly Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu		
[0150]	20	25	30
[0151]	Asn Ser Lys Asp Ala Gly Tyr Ile Thr Ser Pro Gly Tyr Pro Gln Asp		
[0152]	35	40	45
[0153]	Tyr Pro Ser His Gln Asn Cys Glu Trp Ile Val Tyr Ala Pro Glu Pro		
[0154]	50	55	60
[0155]	Asn Gln Lys Ile Val Leu Asn Phe Asn Pro His Phe Glu Ile Glu Lys		

[0156]	65	70	75	80
[0157]	His Asp Cys Lys Tyr Asp Phe Ile Glu Ile Arg Asp Gly Asp Ser Glu			
[0158]	85	90	95	
[0159]	Ser Ala Asp Leu Leu Gly Lys His Cys Gly Asn Ile Ala Pro Pro Thr			
[0160]	100	105	110	
[0161]	Ile Ile Ser Ser Gly Ser Met Leu Tyr Ile Lys Phe Thr Ser Asp Tyr			
[0162]	115	120	125	
[0163]	Ala Arg Gln Gly Ala Gly Phe Ser Leu Arg Tyr Glu Ile Phe Lys Thr			
[0164]	130	135	140	
[0165]	Gly Ser Glu Asp Cys Ser Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile			
[0166]	145	150	155	160
[0167]	Glu Ser Pro Gly Phe Pro Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr			
[0168]	165	170	175	
[0169]	Phe Thr Ile Leu Ala Lys Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu			
[0170]	180	185	190	
[0171]	Ile Phe Asp Leu Glu His Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys			
[0172]	195	200	205	
[0173]	Lys Tyr Asp Trp Leu Asp Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro			
[0174]	210	215	220	
[0175]	Leu Ile Gly Lys Tyr Cys Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser			
[0176]	225	230	235	240
[0177]	Ser Thr Gly Ile Leu Ser Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala			
[0178]	245	250	255	
[0179]	Lys Asp Gly Phe Ser Ala Arg Tyr Tyr Leu Val His Gln Glu Pro Leu			
[0180]	260	265	270	
[0181]	Glu Asn Phe Gln Cys Asn Val Pro Leu Gly Met Glu Ser Gly Arg Ile			
[0182]	275	280	285	
[0183]	Ala Asn Glu Gln Ile Ser Ala Ser Ser Thr Tyr Ser Asp Gly Arg Trp			
[0184]	290	295	300	
[0185]	Thr Pro Gln Gln Ser Arg Leu His Gly Asp Asp Asn Gly Trp Thr Pro			
[0186]	305	310	315	320
[0187]	Asn Leu Asp Ser Asn Lys Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Phe Leu			
[0188]	325	330	335	
[0189]	Thr Met Leu Thr Ala Ile Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr			
[0190]	340	345	350	
[0191]	Gln Asn Gly Tyr Tyr Val Lys Ser Tyr Lys Leu Glu Val Ser Thr Asn			
[0192]	355	360	365	
[0193]	Gly Glu Asp Trp Met Val Tyr Arg His Gly Lys Asn His Lys Val Phe			
[0194]	370	375	380	

[0195]	Gln	Ala	Asn	Asn	Asp	Ala	Thr	Glu	Val	Val	Leu	Asn	Lys	Leu	His	Ala
[0196]	385					390					395					400
[0197]	Pro	Leu	Leu	Thr	Arg	Phe	Val	Arg	Ile	Arg	Pro	Gln	Thr	Trp	His	Ser
[0198]					405					410					415	
[0199]	Gly	Ile	Ala	Leu	Arg	Leu	Glu	Leu	Phe	Gly	Cys	Arg	Val	Thr	Asp	Ala
[0200]				420					425					430		
[0201]	Pro	Cys	Ser	Asn	Met	Leu	Gly	Met	Leu	Ser	Gly	Leu	Ile	Ala	Asp	Ser
[0202]			435					440						445		
[0203]	Gln	Ile	Ser	Ala	Ser	Ser	Thr	Gln	Glu	Tyr	Leu	Trp	Ser	Pro	Ser	Ala
[0204]	450						455					460				
[0205]	Ala	Arg	Leu	Val	Ser	Ser	Arg	Ser	Gly	Trp	Phe	Pro	Arg	Ile	Pro	Gln
[0206]	465					470					475					480
[0207]	Ala	Gln	Pro	Gly	Glu	Glu	Trp	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Pro	Lys
[0208]				485					490						495	
[0209]	Thr	Val	Lys	Gly	Val	Ile	Ile	Gln	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Asp	Ser	Ile
[0210]			500						505					510		
[0211]	Thr	Ala	Val	Glu	Ala	Arg	Ala	Phe	Val	Arg	Lys	Phe	Lys	Val	Ser	Tyr
[0212]			515					520					525			
[0213]	Ser	Leu	Asn	Gly	Lys	Asp	Trp	Glu	Tyr	Ile	Gln	Asp	Pro	Arg	Thr	Gln
[0214]	530						535					540				
[0215]	Gln	Pro	Lys	Leu	Phe	Glu	Gly	Asn	Met	His	Tyr	Asp	Thr	Pro	Asp	Ile
[0216]	545					550					555					560
[0217]	Arg	Arg	Phe	Asp	Pro	Ile	Pro	Ala	Gln	Tyr	Val	Arg	Val	Tyr	Pro	Glu
[0218]				565					570					575		
[0219]	Arg	Trp	Ser	Pro	Ala	Gly	Ile	Gly	Met	Arg	Leu	Glu	Val	Leu	Gly	Cys
[0220]			580						585					590		
[0221]	Asp	Trp	Thr	Asp	Ser	Lys	Pro	Thr	Val	Glu	Thr	Leu	Gly	Pro	Thr	Val
[0222]			595					600					605			
[0223]	Lys	Ser	Glu	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Tyr	Pro	Thr	Glu	Glu	Glu	Ala	Thr
[0224]	610						615					620				
[0225]	Glu	Cys	Gly	Glu	Asn	Cys	Ser	Phe	Glu	Asp	Asp	Lys	Asp	Leu	Gln	Leu
[0226]	625					630					635					640
[0227]	Pro	Ser	Gly	Phe	Asn	Cys	Asn	Phe	Asp	Phe	Leu	Glu	Glu	Pro	Cys	Gly
[0228]				645					650					655		
[0229]	Trp	Met	Tyr	Asp	His	Ala	Lys	Trp	Leu	Arg	Thr	Thr	Trp	Ala	Ser	Ser
[0230]			660						665					670		
[0231]	Ser	Ser	Pro	Asn	Asp	Arg	Thr	Phe	Pro	Asp	Asp	Arg	Asn	Phe	Leu	Arg
[0232]			675					680				685				
[0233]	Leu	Gln	Ser	Asp	Ser	Gln	Arg	Glu	Gly	Gln	Tyr	Ala	Arg	Leu	Ile	Ser

[0234]	690	695	700
[0235]	Pro Pro Val His Leu Pro Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr		
[0236]	705	710	715
[0237]	Gln Ala Thr Gly Gly Arg Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala		
[0238]	725	730	735
[0239]	Ser Gln Glu Ser Lys Leu Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly		
[0240]	740	745	750
[0241]	Glu Trp Lys His Gly Arg Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr		
[0242]	755	760	765
[0243]	Gln Ile Val Phe Glu Gly Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile		
[0244]	770	775	780
[0245]	Ala Ile Asp Asp Ile Arg Ile Ser Thr Asp Val Pro Leu Glu Asn Cys		
[0246]	785	790	795
[0247]	Met Glu Pro Ile Ser Ala Phe Ala Val Asp Ile Pro Glu Ile His Glu		
[0248]	805	810	815
[0249]	Arg Glu Gly Tyr Glu Asp Glu Ile Asp Asp Glu Tyr Glu Val Asp Trp		
[0250]	820	825	830
[0251]	Ser Asn Ser Ser Ser Ala Thr Ser Gly Ser Gly Ala Pro Ser Thr Asp		
[0252]	835	840	845
[0253]	Lys Glu Lys Ser Trp Leu Tyr Thr Leu Asp Pro Ile Leu Ile Thr Ile		
[0254]	850	855	860
[0255]	Ile Ala Met Ser Ser Leu Gly Val Leu Leu Gly Ala Thr Cys Ala Gly		
[0256]	865	870	875
[0257]	Leu Leu Leu Tyr Cys Thr Cys Ser Tyr Ser Gly Leu Ser Ser Arg Ser		
[0258]	885	890	895
[0259]	Cys Thr Thr Leu Glu Asn Tyr Asn Phe Glu Leu Tyr Asp Gly Leu Lys		
[0260]	900	905	910
[0261]	His Lys Val Lys Met Asn His Gln Lys Cys Cys Ser Glu Ala		
[0262]	915	920	925
[0263]	<210> 3		
[0264]	<211> 909		
[0265]	<212> PRT		
[0266]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0267]	<400> 3		
[0268]	Met Asp Met Phe Pro Leu Thr Trp Val Phe Leu Ala Leu Tyr Phe Ser		
[0269]	1	5	10
[0270]	Arg His Gln Val Arg Gly Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu		
[0271]	20	25	30
[0272]	Asn Ser Lys Asp Ala Gly Tyr Ile Thr Ser Pro Gly Tyr Pro Gln Asp		

[0273]	35	40	45
[0274]	Tyr Pro Ser His Gln Asn Cys Glu Trp Ile Val Tyr Ala Pro Glu Pro		
[0275]	50	55	60
[0276]	Asn Gln Lys Ile Val Leu Asn Phe Asn Pro His Phe Glu Ile Glu Lys		
[0277]	65	70	75
[0278]	His Asp Cys Lys Tyr Asp Phe Ile Glu Ile Arg Asp Gly Asp Ser Glu		
[0279]	85	90	95
[0280]	Ser Ala Asp Leu Leu Gly Lys His Cys Gly Asn Ile Ala Pro Pro Thr		
[0281]	100	105	110
[0282]	Ile Ile Ser Ser Gly Ser Met Leu Tyr Ile Lys Phe Thr Ser Asp Tyr		
[0283]	115	120	125
[0284]	Ala Arg Gln Gly Ala Gly Phe Ser Leu Arg Tyr Glu Ile Phe Lys Thr		
[0285]	130	135	140
[0286]	Gly Ser Glu Asp Cys Ser Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile		
[0287]	145	150	155
[0288]	Glu Ser Pro Gly Phe Pro Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr		
[0289]	165	170	175
[0290]	Phe Thr Ile Leu Ala Lys Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu		
[0291]	180	185	190
[0292]	Ile Phe Asp Leu Glu His Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys		
[0293]	195	200	205
[0294]	Lys Tyr Asp Trp Leu Asp Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro		
[0295]	210	215	220
[0296]	Leu Ile Gly Lys Tyr Cys Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser		
[0297]	225	230	235
[0298]	Ser Thr Gly Ile Leu Ser Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala		
[0299]	245	250	255
[0300]	Lys Asp Gly Phe Ser Ala Arg Tyr Tyr Leu Val His Gln Glu Pro Leu		
[0301]	260	265	270
[0302]	Glu Asn Phe Gln Cys Asn Val Pro Leu Gly Met Glu Ser Gly Arg Ile		
[0303]	275	280	285
[0304]	Ala Asn Glu Gln Ile Ser Ala Ser Ser Thr Tyr Ser Asp Gly Arg Trp		
[0305]	290	295	300
[0306]	Thr Pro Gln Gln Ser Arg Leu His Gly Asp Asp Asn Gly Trp Thr Pro		
[0307]	305	310	315
[0308]	Asn Leu Asp Ser Asn Lys Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Phe Leu		
[0309]	325	330	335
[0310]	Thr Met Leu Thr Ala Ile Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr		
[0311]	340	345	350

[0312]	Gln	Asn	Gly	Tyr	Tyr	Val	Lys	Ser	Tyr	Lys	Leu	Glu	Val	Ser	Thr	Asn
[0313]			355					360					365			
[0314]	Gly	Glu	Asp	Trp	Met	Val	Tyr	Arg	His	Gly	Lys	Asn	His	Lys	Val	Phe
[0315]			370					375					380			
[0316]	Gln	Ala	Asn	Asn	Asp	Ala	Thr	Glu	Val	Val	Leu	Asn	Lys	Leu	His	Ala
[0317]	385						390				395					400
[0318]	Pro	Leu	Leu	Thr	Arg	Phe	Val	Arg	Ile	Arg	Pro	Gln	Thr	Trp	His	Ser
[0319]					405					410					415	
[0320]	Gly	Ile	Ala	Leu	Arg	Leu	Glu	Leu	Phe	Gly	Cys	Arg	Val	Thr	Asp	Ala
[0321]				420					425					430		
[0322]	Pro	Cys	Ser	Asn	Met	Leu	Gly	Met	Leu	Ser	Gly	Leu	Ile	Ala	Asp	Ser
[0323]				435					440					445		
[0324]	Gln	Ile	Ser	Ala	Ser	Ser	Thr	Gln	Glu	Tyr	Leu	Trp	Ser	Pro	Ser	Ala
[0325]			450					455					460			
[0326]	Ala	Arg	Leu	Val	Ser	Ser	Arg	Ser	Gly	Trp	Phe	Pro	Arg	Ile	Pro	Gln
[0327]	465					470					475					480
[0328]	Ala	Gln	Pro	Gly	Glu	Glu	Trp	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Pro	Lys
[0329]					485					490					495	
[0330]	Thr	Val	Lys	Gly	Val	Ile	Ile	Gln	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Asp	Ser	Ile
[0331]				500						505				510		
[0332]	Thr	Ala	Val	Glu	Ala	Arg	Ala	Phe	Val	Arg	Lys	Phe	Lys	Val	Ser	Tyr
[0333]			515					520					525			
[0334]	Ser	Leu	Asn	Gly	Lys	Asp	Trp	Glu	Tyr	Ile	Gln	Asp	Pro	Arg	Thr	Gln
[0335]		530						535					540			
[0336]	Gln	Pro	Lys	Leu	Phe	Glu	Gly	Asn	Met	His	Tyr	Asp	Thr	Pro	Asp	Ile
[0337]	545					550					555					560
[0338]	Arg	Arg	Phe	Asp	Pro	Ile	Pro	Ala	Gln	Tyr	Val	Arg	Val	Tyr	Pro	Glu
[0339]				565						570				575		
[0340]	Arg	Trp	Ser	Pro	Ala	Gly	Ile	Gly	Met	Arg	Leu	Glu	Val	Leu	Gly	Cys
[0341]				580					585					590		
[0342]	Asp	Trp	Thr	Asp	Ser	Lys	Pro	Thr	Val	Glu	Thr	Leu	Gly	Pro	Thr	Val
[0343]			595						600				605			
[0344]	Lys	Ser	Glu	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Tyr	Pro	Thr	Glu	Glu	Glu	Ala	Thr
[0345]		610						615					620			
[0346]	Glu	Cys	Gly	Glu	Asn	Cys	Ser	Phe	Glu	Asp	Asp	Lys	Asp	Leu	Gln	Leu
[0347]	625					630					635					640
[0348]	Pro	Ser	Gly	Phe	Asn	Cys	Asn	Phe	Asp	Phe	Leu	Glu	Glu	Pro	Cys	Gly
[0349]					645					650					655	
[0350]	Trp	Met	Tyr	Asp	His	Ala	Lys	Trp	Leu	Arg	Thr	Thr	Trp	Ala	Ser	Ser

[0351]	660	665	670
[0352]	Ser Ser Pro Asn Asp Arg Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg		
[0353]	675	680	685
[0354]	Leu Gln Ser Asp Ser Gln Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser		
[0355]	690	695	700
[0356]	Pro Pro Val His Leu Pro Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr		
[0357]	705	710	715
[0358]	Gln Ala Thr Gly Gly Arg Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala		
[0359]	725	730	735
[0360]	Ser Gln Glu Ser Lys Leu Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly		
[0361]	740	745	750
[0362]	Glu Trp Lys His Gly Arg Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr		
[0363]	755	760	765
[0364]	Gln Ile Val Phe Glu Gly Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile		
[0365]	770	775	780
[0366]	Ala Ile Asp Asp Ile Arg Ile Ser Thr Asp Val Pro Leu Glu Asn Cys		
[0367]	785	790	795
[0368]	Met Glu Pro Ile Ser Ala Phe Ala Asp Glu Tyr Glu Val Asp Trp Ser		
[0369]	805	810	815
[0370]	Asn Ser Ser Ser Ala Thr Ser Gly Ser Gly Ala Pro Ser Thr Asp Lys		
[0371]	820	825	830
[0372]	Glu Lys Ser Trp Leu Tyr Thr Leu Asp Pro Ile Leu Ile Thr Ile Ile		
[0373]	835	840	845
[0374]	Ala Met Ser Ser Leu Gly Val Leu Leu Gly Ala Thr Cys Ala Gly Leu		
[0375]	850	855	860
[0376]	Leu Leu Tyr Cys Thr Cys Ser Tyr Ser Gly Leu Ser Ser Arg Ser Cys		
[0377]	865	870	875
[0378]	Thr Thr Leu Glu Asn Tyr Asn Phe Glu Leu Tyr Asp Gly Leu Lys His		
[0379]	885	890	895
[0380]	Lys Val Lys Met Asn His Gln Lys Cys Cys Ser Glu Ala		
[0381]	900	905	
[0382]	<210> 4		
[0383]	<211> 906		
[0384]	<212> PRT		
[0385]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0386]	<400> 4		
[0387]	Met Asp Met Phe Pro Leu Thr Trp Val Phe Leu Ala Leu Tyr Phe Ser		
[0388]	1	5	10
[0389]	Arg His Gln Val Arg Gly Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu		

[0390]	20	25	30
[0391]	Asn Ser Lys Asp Ala Gly Tyr Ile Thr Ser Pro Gly Tyr Pro Gln Asp		
[0392]	35	40	45
[0393]	Tyr Pro Ser His Gln Asn Cys Glu Trp Ile Val Tyr Ala Pro Glu Pro		
[0394]	50	55	60
[0395]	Asn Gln Lys Ile Val Leu Asn Phe Asn Pro His Phe Glu Ile Glu Lys		
[0396]	65	70	75
[0397]	His Asp Cys Lys Tyr Asp Phe Ile Glu Ile Arg Asp Gly Asp Ser Glu		
[0398]	85	90	95
[0399]	Ser Ala Asp Leu Leu Gly Lys His Cys Gly Asn Ile Ala Pro Pro Thr		
[0400]	100	105	110
[0401]	Ile Ile Ser Ser Gly Ser Met Leu Tyr Ile Lys Phe Thr Ser Asp Tyr		
[0402]	115	120	125
[0403]	Ala Arg Gln Gly Ala Gly Phe Ser Leu Arg Tyr Glu Ile Phe Lys Thr		
[0404]	130	135	140
[0405]	Gly Ser Glu Asp Cys Ser Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile		
[0406]	145	150	155
[0407]	Glu Ser Pro Gly Phe Pro Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr		
[0408]	165	170	175
[0409]	Phe Thr Ile Leu Ala Lys Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu		
[0410]	180	185	190
[0411]	Ile Phe Asp Leu Glu His Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys		
[0412]	195	200	205
[0413]	Lys Tyr Asp Trp Leu Asp Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro		
[0414]	210	215	220
[0415]	Leu Ile Gly Lys Tyr Cys Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser		
[0416]	225	230	235
[0417]	Ser Thr Gly Ile Leu Ser Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala		
[0418]	245	250	255
[0419]	Lys Asp Gly Phe Ser Ala Arg Tyr Tyr Leu Val His Gln Glu Pro Leu		
[0420]	260	265	270
[0421]	Glu Asn Phe Gln Cys Asn Val Pro Leu Gly Met Glu Ser Gly Arg Ile		
[0422]	275	280	285
[0423]	Ala Asn Glu Gln Ile Ser Ala Ser Ser Thr Tyr Ser Asp Gly Arg Trp		
[0424]	290	295	300
[0425]	Thr Pro Gln Gln Ser Arg Leu His Gly Asp Asp Asn Gly Trp Thr Pro		
[0426]	305	310	315
[0427]	Asn Leu Asp Ser Asn Lys Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Phe Leu		
[0428]	325	330	335

[0429]	Thr Met Leu Thr Ala Ile Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr
[0430]	340 345 350
[0431]	Gln Asn Gly Tyr Tyr Val Lys Ser Tyr Lys Leu Glu Val Ser Thr Asn
[0432]	355 360 365
[0433]	Gly Glu Asp Trp Met Val Tyr Arg His Gly Lys Asn His Lys Val Phe
[0434]	370 375 380
[0435]	Gln Ala Asn Asn Asp Ala Thr Glu Val Val Leu Asn Lys Leu His Ala
[0436]	385 390 395 400
[0437]	Pro Leu Leu Thr Arg Phe Val Arg Ile Arg Pro Gln Thr Trp His Ser
[0438]	405 410 415
[0439]	Gly Ile Ala Leu Arg Leu Glu Leu Phe Gly Cys Arg Val Thr Asp Ala
[0440]	420 425 430
[0441]	Pro Cys Ser Asn Met Leu Gly Met Leu Ser Gly Leu Ile Ala Asp Ser
[0442]	435 440 445
[0443]	Gln Ile Ser Ala Ser Ser Thr Gln Glu Tyr Leu Trp Ser Pro Ser Ala
[0444]	450 455 460
[0445]	Ala Arg Leu Val Ser Ser Arg Ser Gly Trp Phe Pro Arg Ile Pro Gln
[0446]	465 470 475 480
[0447]	Ala Gln Pro Gly Glu Glu Trp Leu Gln Val Asp Leu Gly Thr Pro Lys
[0448]	485 490 495
[0449]	Thr Val Lys Gly Val Ile Ile Gln Gly Ala Arg Gly Gly Asp Ser Ile
[0450]	500 505 510
[0451]	Thr Ala Val Glu Ala Arg Ala Phe Val Arg Lys Phe Lys Val Ser Tyr
[0452]	515 520 525
[0453]	Ser Leu Asn Gly Lys Asp Trp Glu Tyr Ile Gln Asp Pro Arg Thr Gln
[0454]	530 535 540
[0455]	Gln Pro Lys Leu Phe Glu Gly Asn Met His Tyr Asp Thr Pro Asp Ile
[0456]	545 550 555 560
[0457]	Arg Arg Phe Asp Pro Ile Pro Ala Gln Tyr Val Arg Val Tyr Pro Glu
[0458]	565 570 575
[0459]	Arg Trp Ser Pro Ala Gly Ile Gly Met Arg Leu Glu Val Leu Gly Cys
[0460]	580 585 590
[0461]	Asp Trp Thr Asp Ser Lys Pro Thr Val Glu Thr Leu Gly Pro Thr Val
[0462]	595 600 605
[0463]	Lys Ser Glu Glu Thr Thr Thr Pro Tyr Pro Thr Glu Glu Glu Ala Thr
[0464]	610 615 620
[0465]	Glu Cys Gly Glu Asn Cys Ser Phe Glu Asp Asp Lys Asp Leu Gln Leu
[0466]	625 630 635 640
[0467]	Pro Ser Gly Phe Asn Cys Asn Phe Asp Phe Leu Glu Glu Pro Cys Gly

[0468]		645		650		655
[0469]	Trp Met Tyr Asp His Ala Lys Trp Leu Arg Thr Thr Trp Ala Ser Ser					
[0470]		660		665		670
[0471]	Ser Ser Pro Asn Asp Arg Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg					
[0472]		675		680		685
[0473]	Leu Gln Ser Asp Ser Gln Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser					
[0474]		690		695		700
[0475]	Pro Pro Val His Leu Pro Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr					
[0476]	705		710		715	720
[0477]	Gln Ala Thr Gly Gly Arg Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala					
[0478]		725		730		735
[0479]	Ser Gln Glu Ser Lys Leu Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly					
[0480]		740		745		750
[0481]	Glu Trp Lys His Gly Arg Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr					
[0482]		755		760		765
[0483]	Gln Ile Val Phe Glu Gly Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile					
[0484]		770		775		780
[0485]	Ala Ile Asp Asp Ile Arg Ile Ser Thr Asp Val Pro Leu Glu Asn Cys					
[0486]	785		790		795	800
[0487]	Met Glu Pro Ile Ser Ala Phe Ala Gly Glu Asn Phe Lys Gly Gly Thr					
[0488]		805		810		815
[0489]	Leu Leu Pro Gly Thr Glu Pro Thr Val Asp Thr Val Pro Met Gln Pro					
[0490]		820		825		830
[0491]	Ile Pro Ala Tyr Trp Tyr Tyr Val Met Ala Ala Gly Gly Ala Val Leu					
[0492]		835		840		845
[0493]	Val Leu Val Ser Val Ala Leu Ala Leu Val Leu His Tyr His Arg Phe					
[0494]		850		855		860
[0495]	Arg Tyr Ala Ala Lys Lys Thr Asp His Ser Ile Thr Tyr Lys Thr Ser					
[0496]	865		870		875	880
[0497]	His Tyr Thr Asn Gly Ala Pro Leu Ala Val Glu Pro Thr Leu Thr Ile					
[0498]		885		890		895
[0499]	Lys Leu Glu Gln Asp Arg Gly Ser His Cys					
[0500]		900		905		
[0501]	<210> 5					
[0502]	<211> 901					
[0503]	<212> PRT					
[0504]	<213> 智人(Homo sapiens)					
[0505]	<400> 5					
[0506]	Met Asp Met Phe Pro Leu Thr Trp Val Phe Leu Ala Leu Tyr Phe Ser					

[0507]	1	5	10	15
[0508]	Arg His Gln Val	Arg Gly Gln Pro	Asp Pro Pro Cys	Gly Gly Arg Leu
[0509]	20	25	30	
[0510]	Asn Ser Lys Asp	Ala Gly Tyr Ile	Thr Ser Pro Gly	Tyr Pro Gln Asp
[0511]	35	40	45	
[0512]	Tyr Pro Ser His	Gln Asn Cys Glu	Trp Ile Val Tyr	Ala Pro Glu Pro
[0513]	50	55	60	
[0514]	Asn Gln Lys Ile	Val Leu Asn Phe	Asn Pro His Phe	Glu Ile Glu Lys
[0515]	65	70	75	80
[0516]	His Asp Cys Lys	Tyr Asp Phe Ile	Glu Ile Arg Asp	Gly Asp Ser Glu
[0517]	85	90	95	
[0518]	Ser Ala Asp Leu	Leu Gly Lys His	Cys Gly Asn Ile	Ala Pro Pro Thr
[0519]	100	105	110	
[0520]	Ile Ile Ser Ser	Gly Ser Met Leu	Tyr Ile Lys Phe	Thr Ser Asp Tyr
[0521]	115	120	125	
[0522]	Ala Arg Gln Gly	Ala Gly Phe Ser	Leu Arg Tyr Glu	Ile Phe Lys Thr
[0523]	130	135	140	
[0524]	Gly Ser Glu Asp	Cys Ser Lys Asn	Phe Thr Ser Pro	Asn Gly Thr Ile
[0525]	145	150	155	160
[0526]	Glu Ser Pro Gly	Phe Pro Glu Lys	Tyr Pro His Asn	Leu Asp Cys Thr
[0527]	165	170	175	
[0528]	Phe Thr Ile Leu	Ala Lys Pro Lys	Met Glu Ile Ile	Leu Gln Phe Leu
[0529]	180	185	190	
[0530]	Ile Phe Asp Leu	Glu His Asp Pro	Leu Gln Val Gly	Glu Gly Asp Cys
[0531]	195	200	205	
[0532]	Lys Tyr Asp Trp	Leu Asp Ile Trp	Asp Gly Ile Pro	His Val Gly Pro
[0533]	210	215	220	
[0534]	Leu Ile Gly Lys	Tyr Cys Gly Thr	Lys Thr Pro Ser	Glu Leu Arg Ser
[0535]	225	230	235	240
[0536]	Ser Thr Gly Ile	Leu Ser Leu Thr	Phe His Thr Asp	Met Ala Val Ala
[0537]	245	250	255	
[0538]	Lys Asp Gly Phe	Ser Ala Arg Tyr	Tyr Leu Val His	Gln Glu Pro Leu
[0539]	260	265	270	
[0540]	Glu Asn Phe Gln	Cys Asn Val Pro	Leu Gly Met Glu	Ser Gly Arg Ile
[0541]	275	280	285	
[0542]	Ala Asn Glu Gln	Ile Ser Ala Ser	Ser Thr Tyr Ser	Asp Gly Arg Trp
[0543]	290	295	300	
[0544]	Thr Pro Gln Gln	Ser Arg Leu His	Gly Asp Asp Asn	Gly Trp Thr Pro
[0545]	305	310	315	320

[0546]	Asn	Leu	Asp	Ser	Asn	Lys	Glu	Tyr	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Arg	Phe	Leu
[0547]					325					330					335	
[0548]	Thr	Met	Leu	Thr	Ala	Ile	Ala	Thr	Gln	Gly	Ala	Ile	Ser	Arg	Glu	Thr
[0549]					340					345					350	
[0550]	Gln	Asn	Gly	Tyr	Tyr	Val	Lys	Ser	Tyr	Lys	Leu	Glu	Val	Ser	Thr	Asn
[0551]					355					360					365	
[0552]	Gly	Glu	Asp	Trp	Met	Val	Tyr	Arg	His	Gly	Lys	Asn	His	Lys	Val	Phe
[0553]					370					375					380	
[0554]	Gln	Ala	Asn	Asn	Asp	Ala	Thr	Glu	Val	Val	Leu	Asn	Lys	Leu	His	Ala
[0555]					385					390					395	
[0556]	Pro	Leu	Leu	Thr	Arg	Phe	Val	Arg	Ile	Arg	Pro	Gln	Thr	Trp	His	Ser
[0557]					405					410					415	
[0558]	Gly	Ile	Ala	Leu	Arg	Leu	Glu	Leu	Phe	Gly	Cys	Arg	Val	Thr	Asp	Ala
[0559]					420					425					430	
[0560]	Pro	Cys	Ser	Asn	Met	Leu	Gly	Met	Leu	Ser	Gly	Leu	Ile	Ala	Asp	Ser
[0561]					435					440					445	
[0562]	Gln	Ile	Ser	Ala	Ser	Ser	Thr	Gln	Glu	Tyr	Leu	Trp	Ser	Pro	Ser	Ala
[0563]					450					455					460	
[0564]	Ala	Arg	Leu	Val	Ser	Ser	Arg	Ser	Gly	Trp	Phe	Pro	Arg	Ile	Pro	Gln
[0565]					465					470					475	
[0566]	Ala	Gln	Pro	Gly	Glu	Glu	Trp	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Pro	Lys
[0567]					485					490					495	
[0568]	Thr	Val	Lys	Gly	Val	Ile	Ile	Gln	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Asp	Ser	Ile
[0569]					500					505					510	
[0570]	Thr	Ala	Val	Glu	Ala	Arg	Ala	Phe	Val	Arg	Lys	Phe	Lys	Val	Ser	Tyr
[0571]					515					520					525	
[0572]	Ser	Leu	Asn	Gly	Lys	Asp	Trp	Glu	Tyr	Ile	Gln	Asp	Pro	Arg	Thr	Gln
[0573]					530					535					540	
[0574]	Gln	Pro	Lys	Leu	Phe	Glu	Gly	Asn	Met	His	Tyr	Asp	Thr	Pro	Asp	Ile
[0575]					545					550					555	
[0576]	Arg	Arg	Phe	Asp	Pro	Ile	Pro	Ala	Gln	Tyr	Val	Arg	Val	Tyr	Pro	Glu
[0577]					565					570					575	
[0578]	Arg	Trp	Ser	Pro	Ala	Gly	Ile	Gly	Met	Arg	Leu	Glu	Val	Leu	Gly	Cys
[0579]					580					585					590	
[0580]	Asp	Trp	Thr	Asp	Ser	Lys	Pro	Thr	Val	Glu	Thr	Leu	Gly	Pro	Thr	Val
[0581]					595					600					605	
[0582]	Lys	Ser	Glu	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Tyr	Pro	Thr	Glu	Glu	Glu	Ala	Thr
[0583]					610					615					620	
[0584]	Glu	Cys	Gly	Glu	Asn	Cys	Ser	Phe	Glu	Asp	Asp	Lys	Asp	Leu	Gln	Leu

[0585]	625	630	635	640
[0586]	Pro Ser Gly Phe Asn Cys Asn Phe Asp Phe Leu Glu Glu Pro Cys Gly			
[0587]		645	650	655
[0588]	Trp Met Tyr Asp His Ala Lys Trp Leu Arg Thr Thr Trp Ala Ser Ser			
[0589]		660	665	670
[0590]	Ser Ser Pro Asn Asp Arg Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg			
[0591]		675	680	685
[0592]	Leu Gln Ser Asp Ser Gln Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser			
[0593]		690	695	700
[0594]	Pro Pro Val His Leu Pro Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr			
[0595]	705	710	715	720
[0596]	Gln Ala Thr Gly Gly Arg Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala			
[0597]		725	730	735
[0598]	Ser Gln Glu Ser Lys Leu Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly			
[0599]		740	745	750
[0600]	Glu Trp Lys His Gly Arg Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr			
[0601]		755	760	765
[0602]	Gln Ile Val Phe Glu Gly Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile			
[0603]		770	775	780
[0604]	Ala Ile Asp Asp Ile Arg Ile Ser Thr Asp Val Pro Leu Glu Asn Cys			
[0605]	785	790	795	800
[0606]	Met Glu Pro Ile Ser Ala Phe Ala Gly Gly Thr Leu Leu Pro Gly Thr			
[0607]		805	810	815
[0608]	Glu Pro Thr Val Asp Thr Val Pro Met Gln Pro Ile Pro Ala Tyr Trp			
[0609]		820	825	830
[0610]	Tyr Tyr Val Met Ala Ala Gly Gly Ala Val Leu Val Leu Val Ser Val			
[0611]		835	840	845
[0612]	Ala Leu Ala Leu Val Leu His Tyr His Arg Phe Arg Tyr Ala Ala Lys			
[0613]		850	855	860
[0614]	Lys Thr Asp His Ser Ile Thr Tyr Lys Thr Ser His Tyr Thr Asn Gly			
[0615]	865	870	875	880
[0616]	Ala Pro Leu Ala Val Glu Pro Thr Leu Thr Ile Lys Leu Glu Gln Asp			
[0617]		885	890	895
[0618]	Arg Gly Ser His Cys			
[0619]		900		
[0620]	<210> 6			
[0621]	<211> 555			
[0622]	<212> PRT			
[0623]	<213> 智人 (Homo sapiens)			

[0624]	<400> 6
[0625]	Met Asp Met Phe Pro Leu Thr Trp Val Phe Leu Ala Leu Tyr Phe Ser
[0626]	1 5 10 15
[0627]	Arg His Gln Val Arg Gly Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu
[0628]	20 25 30
[0629]	Asn Ser Lys Asp Ala Gly Tyr Ile Thr Ser Pro Gly Tyr Pro Gln Asp
[0630]	35 40 45
[0631]	Tyr Pro Ser His Gln Asn Cys Glu Trp Ile Val Tyr Ala Pro Glu Pro
[0632]	50 55 60
[0633]	Asn Gln Lys Ile Val Leu Asn Phe Asn Pro His Phe Glu Ile Glu Lys
[0634]	65 70 75 80
[0635]	His Asp Cys Lys Tyr Asp Phe Ile Glu Ile Arg Asp Gly Asp Ser Glu
[0636]	85 90 95
[0637]	Ser Ala Asp Leu Leu Gly Lys His Cys Gly Asn Ile Ala Pro Pro Thr
[0638]	100 105 110
[0639]	Ile Ile Ser Ser Gly Ser Met Leu Tyr Ile Lys Phe Thr Ser Asp Tyr
[0640]	115 120 125
[0641]	Ala Arg Gln Gly Ala Gly Phe Ser Leu Arg Tyr Glu Ile Phe Lys Thr
[0642]	130 135 140
[0643]	Gly Ser Glu Asp Cys Ser Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile
[0644]	145 150 155 160
[0645]	Glu Ser Pro Gly Phe Pro Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr
[0646]	165 170 175
[0647]	Phe Thr Ile Leu Ala Lys Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu
[0648]	180 185 190
[0649]	Ile Phe Asp Leu Glu His Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys
[0650]	195 200 205
[0651]	Lys Tyr Asp Trp Leu Asp Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro
[0652]	210 215 220
[0653]	Leu Ile Gly Lys Tyr Cys Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser
[0654]	225 230 235 240
[0655]	Ser Thr Gly Ile Leu Ser Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala
[0656]	245 250 255
[0657]	Lys Asp Gly Phe Ser Ala Arg Tyr Tyr Leu Val His Gln Glu Pro Leu
[0658]	260 265 270
[0659]	Glu Asn Phe Gln Cys Asn Val Pro Leu Gly Met Glu Ser Gly Arg Ile
[0660]	275 280 285
[0661]	Ala Asn Glu Gln Ile Ser Ala Ser Ser Thr Tyr Ser Asp Gly Arg Trp
[0662]	290 295 300

[0663]	Thr Pro Gln Gln Ser Arg Leu His Gly Asp Asp Asn Gly Trp Thr Pro
[0664]	305 310 315 320
[0665]	Asn Leu Asp Ser Asn Lys Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Phe Leu
[0666]	325 330 335
[0667]	Thr Met Leu Thr Ala Ile Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr
[0668]	340 345 350
[0669]	Gln Asn Gly Tyr Tyr Val Lys Ser Tyr Lys Leu Glu Val Ser Thr Asn
[0670]	355 360 365
[0671]	Gly Glu Asp Trp Met Val Tyr Arg His Gly Lys Asn His Lys Val Phe
[0672]	370 375 380
[0673]	Gln Ala Asn Asn Asp Ala Thr Glu Val Val Leu Asn Lys Leu His Ala
[0674]	385 390 395 400
[0675]	Pro Leu Leu Thr Arg Phe Val Arg Ile Arg Pro Gln Thr Trp His Ser
[0676]	405 410 415
[0677]	Gly Ile Ala Leu Arg Leu Glu Leu Phe Gly Cys Arg Val Thr Asp Ala
[0678]	420 425 430
[0679]	Pro Cys Ser Asn Met Leu Gly Met Leu Ser Gly Leu Ile Ala Asp Ser
[0680]	435 440 445
[0681]	Gln Ile Ser Ala Ser Ser Thr Gln Glu Tyr Leu Trp Ser Pro Ser Ala
[0682]	450 455 460
[0683]	Ala Arg Leu Val Ser Ser Arg Ser Gly Trp Phe Pro Arg Ile Pro Gln
[0684]	465 470 475 480
[0685]	Ala Gln Pro Gly Glu Glu Trp Leu Gln Val Asp Leu Gly Thr Pro Lys
[0686]	485 490 495
[0687]	Thr Val Lys Gly Val Ile Ile Gln Gly Ala Arg Gly Gly Asp Ser Ile
[0688]	500 505 510
[0689]	Thr Ala Val Glu Ala Arg Ala Phe Val Arg Lys Phe Lys Val Ser Tyr
[0690]	515 520 525
[0691]	Ser Leu Asn Gly Lys Asp Trp Glu Tyr Ile Gln Asp Pro Arg Thr Gln
[0692]	530 535 540
[0693]	Gln Pro Lys Val Gly Cys Ser Trp Arg Pro Leu
[0694]	545 550 555
[0695]	<210> 7
[0696]	<211> 904
[0697]	<212> PRT
[0698]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0699]	<400> 7
[0700]	Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu Asn Ser Lys Asp Ala Gly
[0701]	1 5 10 15

[0702]	Tyr	Ile	Thr	Ser	Pro	Gly	Tyr	Pro	Gln	Asp	Tyr	Pro	Ser	His	Gln	Asn
[0703]				20					25					30		
[0704]	Cys	Glu	Trp	Ile	Val	Tyr	Ala	Pro	Glu	Pro	Asn	Gln	Lys	Ile	Val	Leu
[0705]			35					40					45			
[0706]	Asn	Phe	Asn	Pro	His	Phe	Glu	Ile	Glu	Lys	His	Asp	Cys	Lys	Tyr	Asp
[0707]		50					55					60				
[0708]	Phe	Ile	Glu	Ile	Arg	Asp	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Ala	Asp	Leu	Leu	Gly
[0709]	65					70					75					80
[0710]	Lys	His	Cys	Gly	Asn	Ile	Ala	Pro	Pro	Thr	Ile	Ile	Ser	Ser	Gly	Ser
[0711]					85					90					95	
[0712]	Met	Leu	Tyr	Ile	Lys	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ala	Arg	Gln	Gly	Ala	Gly
[0713]				100					105					110		
[0714]	Phe	Ser	Leu	Arg	Tyr	Glu	Ile	Phe	Lys	Thr	Gly	Ser	Glu	Asp	Cys	Ser
[0715]			115					120					125			
[0716]	Lys	Asn	Phe	Thr	Ser	Pro	Asn	Gly	Thr	Ile	Glu	Ser	Pro	Gly	Phe	Pro
[0717]		130					135					140				
[0718]	Glu	Lys	Tyr	Pro	His	Asn	Leu	Asp	Cys	Thr	Phe	Thr	Ile	Leu	Ala	Lys
[0719]	145					150				155						160
[0720]	Pro	Lys	Met	Glu	Ile	Ile	Leu	Gln	Phe	Leu	Ile	Phe	Asp	Leu	Glu	His
[0721]				165					170					175		
[0722]	Asp	Pro	Leu	Gln	Val	Gly	Glu	Gly	Asp	Cys	Lys	Tyr	Asp	Trp	Leu	Asp
[0723]			180						185					190		
[0724]	Ile	Trp	Asp	Gly	Ile	Pro	His	Val	Gly	Pro	Leu	Ile	Gly	Lys	Tyr	Cys
[0725]			195				200						205			
[0726]	Gly	Thr	Lys	Thr	Pro	Ser	Glu	Leu	Arg	Ser	Ser	Thr	Gly	Ile	Leu	Ser
[0727]		210					215					220				
[0728]	Leu	Thr	Phe	His	Thr	Asp	Met	Ala	Val	Ala	Lys	Asp	Gly	Phe	Ser	Ala
[0729]	225					230				235						240
[0730]	Arg	Tyr	Tyr	Leu	Val	His	Gln	Glu	Pro	Leu	Glu	Asn	Phe	Gln	Cys	Asn
[0731]				245					250					255		
[0732]	Val	Pro	Leu	Gly	Met	Glu	Ser	Gly	Arg	Ile	Ala	Asn	Glu	Gln	Ile	Ser
[0733]			260						265					270		
[0734]	Ala	Ser	Ser	Thr	Tyr	Ser	Asp	Gly	Arg	Trp	Thr	Pro	Gln	Gln	Ser	Arg
[0735]			275					280					285			
[0736]	Leu	His	Gly	Asp	Asp	Asn	Gly	Trp	Thr	Pro	Asn	Leu	Asp	Ser	Asn	Lys
[0737]		290					295					300				
[0738]	Glu	Tyr	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Arg	Phe	Leu	Thr	Met	Leu	Thr	Ala	Ile
[0739]	305					310				315						320
[0740]	Ala	Thr	Gln	Gly	Ala	Ile	Ser	Arg	Glu	Thr	Gln	Asn	Gly	Tyr	Tyr	Val

[0741]					325				330				335				
[0742]	Lys	Ser	Tyr	Lys	Leu	Glu	Val	Ser	Thr	Asn	Gly	Glu	Asp	Trp	Met	Val	
[0743]					340				345				350				
[0744]	Tyr	Arg	His	Gly	Lys	Asn	His	Lys	Val	Phe	Gln	Ala	Asn	Asn	Asp	Ala	
[0745]					355				360				365				
[0746]	Thr	Glu	Val	Val	Leu	Asn	Lys	Leu	His	Ala	Pro	Leu	Leu	Thr	Arg	Phe	
[0747]					370				375				380				
[0748]	Val	Arg	Ile	Arg	Pro	Gln	Thr	Trp	His	Ser	Gly	Ile	Ala	Leu	Arg	Leu	
[0749]	385					390				395				400			
[0750]	Glu	Leu	Phe	Gly	Cys	Arg	Val	Thr	Asp	Ala	Pro	Cys	Ser	Asn	Met	Leu	
[0751]					405				410				415				
[0752]	Gly	Met	Leu	Ser	Gly	Leu	Ile	Ala	Asp	Ser	Gln	Ile	Ser	Ala	Ser	Ser	
[0753]					420				425				430				
[0754]	Thr	Gln	Glu	Tyr	Leu	Trp	Ser	Pro	Ser	Ala	Ala	Arg	Leu	Val	Ser	Ser	
[0755]					435				440				445				
[0756]	Arg	Ser	Gly	Trp	Phe	Pro	Arg	Ile	Pro	Gln	Ala	Gln	Pro	Gly	Glu	Glu	
[0757]					450				455				460				
[0758]	Trp	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Pro	Lys	Thr	Val	Lys	Gly	Val	Ile	
[0759]	465					470				475				480			
[0760]	Ile	Gln	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Asp	Ser	Ile	Thr	Ala	Val	Glu	Ala	Arg	
[0761]					485				490				495				
[0762]	Ala	Phe	Val	Arg	Lys	Phe	Lys	Val	Ser	Tyr	Ser	Leu	Asn	Gly	Lys	Asp	
[0763]					500				505				510				
[0764]	Trp	Glu	Tyr	Ile	Gln	Asp	Pro	Arg	Thr	Gln	Gln	Pro	Lys	Leu	Phe	Glu	
[0765]					515				520				525				
[0766]	Gly	Asn	Met	His	Tyr	Asp	Thr	Pro	Asp	Ile	Arg	Arg	Phe	Asp	Pro	Ile	
[0767]					530				535				540				
[0768]	Pro	Ala	Gln	Tyr	Val	Arg	Val	Tyr	Pro	Glu	Arg	Trp	Ser	Pro	Ala	Gly	
[0769]	545					550				555				560			
[0770]	Ile	Gly	Met	Arg	Leu	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Asp	Trp	Thr	Asp	Ser	Lys	
[0771]					565				570				575				
[0772]	Pro	Thr	Val	Glu	Thr	Leu	Gly	Pro	Thr	Val	Lys	Ser	Glu	Glu	Thr	Thr	
[0773]					580				585				590				
[0774]	Thr	Pro	Tyr	Pro	Thr	Glu	Glu	Glu	Ala	Thr	Glu	Cys	Gly	Glu	Asn	Cys	
[0775]					595				600				605				
[0776]	Ser	Phe	Glu	Asp	Asp	Lys	Asp	Leu	Gln	Leu	Pro	Ser	Gly	Phe	Asn	Cys	
[0777]					610				615				620				
[0778]	Asn	Phe	Asp	Phe	Leu	Glu	Glu	Pro	Cys	Gly	Trp	Met	Tyr	Asp	His	Ala	
[0779]	625					630				635				640			

[0780]	Lys Trp Leu Arg Thr Thr Trp Ala Ser Ser Ser Ser Pro Asn Asp Arg
[0781]	645 650 655
[0782]	Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg Leu Gln Ser Asp Ser Gln
[0783]	660 665 670
[0784]	Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser Pro Pro Val His Leu Pro
[0785]	675 680 685
[0786]	Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr Gln Ala Thr Gly Gly Arg
[0787]	690 695 700
[0788]	Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala Ser Gln Glu Ser Lys Leu
[0789]	705 710 715 720
[0790]	Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly Glu Trp Lys His Gly Arg
[0791]	725 730 735
[0792]	Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr Gln Ile Val Phe Glu Gly
[0793]	740 745 750
[0794]	Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile Ala Ile Asp Asp Ile Arg
[0795]	755 760 765
[0796]	Ile Ser Thr Asp Val Pro Leu Glu Asn Cys Met Glu Pro Ile Ser Ala
[0797]	770 775 780
[0798]	Phe Ala Val Asp Ile Pro Glu Ile His Glu Arg Glu Gly Tyr Glu Asp
[0799]	785 790 795 800
[0800]	Glu Ile Asp Asp Glu Tyr Glu Val Asp Trp Ser Asn Ser Ser Ser Ala
[0801]	805 810 815
[0802]	Thr Ser Gly Ser Gly Ala Pro Ser Thr Asp Lys Glu Lys Ser Trp Leu
[0803]	820 825 830
[0804]	Tyr Thr Leu Asp Pro Ile Leu Ile Thr Ile Ile Ala Met Ser Ser Leu
[0805]	835 840 845
[0806]	Gly Val Leu Leu Gly Ala Thr Cys Ala Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Thr
[0807]	850 855 860
[0808]	Cys Ser Tyr Ser Gly Leu Ser Ser Arg Ser Cys Thr Thr Leu Glu Asn
[0809]	865 870 875 880
[0810]	Tyr Asn Phe Glu Leu Tyr Asp Gly Leu Lys His Lys Val Lys Met Asn
[0811]	885 890 895
[0812]	His Gln Lys Cys Cys Ser Glu Ala
[0813]	900
[0814]	<210> 8
[0815]	<211> 879
[0816]	<212> PRT
[0817]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0818]	<400> 8

[0819]	Gln	Pro	Asp	Pro	Pro	Cys	Gly	Gly	Arg	Leu	Asn	Ser	Lys	Asp	Ala	Gly
[0820]	1				5				10						15	
[0821]	Tyr	Ile	Thr	Ser	Pro	Gly	Tyr	Pro	Gln	Asp	Tyr	Pro	Ser	His	Gln	Asn
[0822]				20				25					30			
[0823]	Cys	Glu	Trp	Ile	Val	Tyr	Ala	Pro	Glu	Pro	Asn	Gln	Lys	Ile	Val	Leu
[0824]			35					40					45			
[0825]	Asn	Phe	Asn	Pro	His	Phe	Glu	Ile	Glu	Lys	His	Asp	Cys	Lys	Tyr	Asp
[0826]		50					55				60					
[0827]	Phe	Ile	Glu	Ile	Arg	Asp	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Ala	Asp	Leu	Leu	Gly
[0828]	65				70					75						80
[0829]	Lys	His	Cys	Gly	Asn	Ile	Ala	Pro	Pro	Thr	Ile	Ile	Ser	Ser	Gly	Ser
[0830]					85				90						95	
[0831]	Met	Leu	Tyr	Ile	Lys	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ala	Arg	Gln	Gly	Ala	Gly
[0832]				100					105					110		
[0833]	Phe	Ser	Leu	Arg	Tyr	Glu	Ile	Phe	Lys	Thr	Gly	Ser	Glu	Asp	Cys	Ser
[0834]			115					120					125			
[0835]	Lys	Asn	Phe	Thr	Ser	Pro	Asn	Gly	Thr	Ile	Glu	Ser	Pro	Gly	Phe	Pro
[0836]		130						135					140			
[0837]	Glu	Lys	Tyr	Pro	His	Asn	Leu	Asp	Cys	Thr	Phe	Thr	Ile	Leu	Ala	Lys
[0838]	145					150					155					160
[0839]	Pro	Lys	Met	Glu	Ile	Ile	Leu	Gln	Phe	Leu	Ile	Phe	Asp	Leu	Glu	His
[0840]					165				170						175	
[0841]	Asp	Pro	Leu	Gln	Val	Gly	Glu	Gly	Asp	Cys	Lys	Tyr	Asp	Trp	Leu	Asp
[0842]				180					185					190		
[0843]	Ile	Trp	Asp	Gly	Ile	Pro	His	Val	Gly	Pro	Leu	Ile	Gly	Lys	Tyr	Cys
[0844]			195					200						205		
[0845]	Gly	Thr	Lys	Thr	Pro	Ser	Glu	Leu	Arg	Ser	Ser	Thr	Gly	Ile	Leu	Ser
[0846]		210						215					220			
[0847]	Leu	Thr	Phe	His	Thr	Asp	Met	Ala	Val	Ala	Lys	Asp	Gly	Phe	Ser	Ala
[0848]	225					230					235					240
[0849]	Arg	Tyr	Tyr	Leu	Val	His	Gln	Glu	Pro	Leu	Glu	Asn	Phe	Gln	Cys	Asn
[0850]					245					250					255	
[0851]	Val	Pro	Leu	Gly	Met	Glu	Ser	Gly	Arg	Ile	Ala	Asn	Glu	Gln	Ile	Ser
[0852]				260					265					270		
[0853]	Ala	Ser	Ser	Thr	Tyr	Ser	Asp	Gly	Arg	Trp	Thr	Pro	Gln	Gln	Ser	Arg
[0854]			275					280						285		
[0855]	Leu	His	Gly	Asp	Asp	Asn	Gly	Trp	Thr	Pro	Asn	Leu	Asp	Ser	Asn	Lys
[0856]		290						295					300			
[0857]	Glu	Tyr	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Arg	Phe	Leu	Thr	Met	Leu	Thr	Ala	Ile

[0858]	305	310	315	320
[0859]	Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr Gln Asn Gly Tyr Tyr Val			
[0860]		325	330	335
[0861]	Lys Ser Tyr Lys Leu Glu Val Ser Thr Asn Gly Glu Asp Trp Met Val			
[0862]		340	345	350
[0863]	Tyr Arg His Gly Lys Asn His Lys Val Phe Gln Ala Asn Asn Asp Ala			
[0864]		355	360	365
[0865]	Thr Glu Val Val Leu Asn Lys Leu His Ala Pro Leu Leu Thr Arg Phe			
[0866]		370	375	380
[0867]	Val Arg Ile Arg Pro Gln Thr Trp His Ser Gly Ile Ala Leu Arg Leu			
[0868]	385	390	395	400
[0869]	Glu Leu Phe Gly Cys Arg Val Thr Asp Ala Pro Cys Ser Asn Met Leu			
[0870]		405	410	415
[0871]	Gly Met Leu Ser Gly Leu Ile Ala Asp Ser Gln Ile Ser Ala Ser Ser			
[0872]		420	425	430
[0873]	Thr Gln Glu Tyr Leu Trp Ser Pro Ser Ala Ala Arg Leu Val Ser Ser			
[0874]		435	440	445
[0875]	Arg Ser Gly Trp Phe Pro Arg Ile Pro Gln Ala Gln Pro Gly Glu Glu			
[0876]		450	455	460
[0877]	Trp Leu Gln Val Asp Leu Gly Thr Pro Lys Thr Val Lys Gly Val Ile			
[0878]	465	470	475	480
[0879]	Ile Gln Gly Ala Arg Gly Gly Asp Ser Ile Thr Ala Val Glu Ala Arg			
[0880]		485	490	495
[0881]	Ala Phe Val Arg Lys Phe Lys Val Ser Tyr Ser Leu Asn Gly Lys Asp			
[0882]		500	505	510
[0883]	Trp Glu Tyr Ile Gln Asp Pro Arg Thr Gln Gln Pro Lys Leu Phe Glu			
[0884]		515	520	525
[0885]	Gly Asn Met His Tyr Asp Thr Pro Asp Ile Arg Arg Phe Asp Pro Ile			
[0886]		530	535	540
[0887]	Pro Ala Gln Tyr Val Arg Val Tyr Pro Glu Arg Trp Ser Pro Ala Gly			
[0888]	545	550	555	560
[0889]	Ile Gly Met Arg Leu Glu Val Leu Gly Cys Asp Trp Thr Asp Ser Lys			
[0890]		565	570	575
[0891]	Pro Thr Val Glu Thr Leu Gly Pro Thr Val Lys Ser Glu Glu Thr Thr			
[0892]		580	585	590
[0893]	Thr Pro Tyr Pro Thr Glu Glu Glu Ala Thr Glu Cys Gly Glu Asn Cys			
[0894]		595	600	605
[0895]	Ser Phe Glu Asp Asp Lys Asp Leu Gln Leu Pro Ser Gly Phe Asn Cys			
[0896]		610	615	620

[0897]	Asn Phe Asp Phe Leu Glu Glu Pro Cys Gly Trp Met Tyr Asp His Ala
[0898]	625 630 635 640
[0899]	Lys Trp Leu Arg Thr Thr Trp Ala Ser Ser Ser Ser Pro Asn Asp Arg
[0900]	645 650 655
[0901]	Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg Leu Gln Ser Asp Ser Gln
[0902]	660 665 670
[0903]	Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser Pro Pro Val His Leu Pro
[0904]	675 680 685
[0905]	Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr Gln Ala Thr Gly Gly Arg
[0906]	690 695 700
[0907]	Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala Ser Gln Glu Ser Lys Leu
[0908]	705 710 715 720
[0909]	Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly Glu Trp Lys His Gly Arg
[0910]	725 730 735
[0911]	Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr Gln Ile Val Phe Glu Gly
[0912]	740 745 750
[0913]	Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile Ala Ile Asp Asp Ile Arg
[0914]	755 760 765
[0915]	Ile Ser Thr Asp Val Pro Leu Glu Asn Cys Met Glu Pro Ile Ser Ala
[0916]	770 775 780
[0917]	Phe Ala Gly Gly Thr Leu Leu Pro Gly Thr Glu Pro Thr Val Asp Thr
[0918]	785 790 795 800
[0919]	Val Pro Met Gln Pro Ile Pro Ala Tyr Trp Tyr Tyr Val Met Ala Ala
[0920]	805 810 815
[0921]	Gly Gly Ala Val Leu Val Leu Val Ser Val Ala Leu Ala Leu Val Leu
[0922]	820 825 830
[0923]	His Tyr His Arg Phe Arg Tyr Ala Ala Lys Lys Thr Asp His Ser Ile
[0924]	835 840 845
[0925]	Thr Tyr Lys Thr Ser His Tyr Thr Asn Gly Ala Pro Leu Ala Val Glu
[0926]	850 855 860
[0927]	Pro Thr Leu Thr Ile Lys Leu Glu Gln Asp Arg Gly Ser His Cys
[0928]	865 870 875
[0929]	<210> 9
[0930]	<211> 533
[0931]	<212> PRT
[0932]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0933]	<400> 9
[0934]	Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu Asn Ser Lys Asp Ala Gly
[0935]	1 5 10 15

[0936]	Tyr	Ile	Thr	Ser	Pro	Gly	Tyr	Pro	Gln	Asp	Tyr	Pro	Ser	His	Gln	Asn
[0937]				20					25					30		
[0938]	Cys	Glu	Trp	Ile	Val	Tyr	Ala	Pro	Glu	Pro	Asn	Gln	Lys	Ile	Val	Leu
[0939]			35					40					45			
[0940]	Asn	Phe	Asn	Pro	His	Phe	Glu	Ile	Glu	Lys	His	Asp	Cys	Lys	Tyr	Asp
[0941]		50					55					60				
[0942]	Phe	Ile	Glu	Ile	Arg	Asp	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Ala	Asp	Leu	Leu	Gly
[0943]	65				70					75						80
[0944]	Lys	His	Cys	Gly	Asn	Ile	Ala	Pro	Pro	Thr	Ile	Ile	Ser	Ser	Gly	Ser
[0945]					85					90					95	
[0946]	Met	Leu	Tyr	Ile	Lys	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ala	Arg	Gln	Gly	Ala	Gly
[0947]				100					105					110		
[0948]	Phe	Ser	Leu	Arg	Tyr	Glu	Ile	Phe	Lys	Thr	Gly	Ser	Glu	Asp	Cys	Ser
[0949]			115					120					125			
[0950]	Lys	Asn	Phe	Thr	Ser	Pro	Asn	Gly	Thr	Ile	Glu	Ser	Pro	Gly	Phe	Pro
[0951]		130					135					140				
[0952]	Glu	Lys	Tyr	Pro	His	Asn	Leu	Asp	Cys	Thr	Phe	Thr	Ile	Leu	Ala	Lys
[0953]	145					150					155					160
[0954]	Pro	Lys	Met	Glu	Ile	Ile	Leu	Gln	Phe	Leu	Ile	Phe	Asp	Leu	Glu	His
[0955]					165					170					175	
[0956]	Asp	Pro	Leu	Gln	Val	Gly	Glu	Gly	Asp	Cys	Lys	Tyr	Asp	Trp	Leu	Asp
[0957]				180					185					190		
[0958]	Ile	Trp	Asp	Gly	Ile	Pro	His	Val	Gly	Pro	Leu	Ile	Gly	Lys	Tyr	Cys
[0959]			195				200						205			
[0960]	Gly	Thr	Lys	Thr	Pro	Ser	Glu	Leu	Arg	Ser	Ser	Thr	Gly	Ile	Leu	Ser
[0961]		210					215						220			
[0962]	Leu	Thr	Phe	His	Thr	Asp	Met	Ala	Val	Ala	Lys	Asp	Gly	Phe	Ser	Ala
[0963]	225					230					235					240
[0964]	Arg	Tyr	Tyr	Leu	Val	His	Gln	Glu	Pro	Leu	Glu	Asn	Phe	Gln	Cys	Asn
[0965]				245					250						255	
[0966]	Val	Pro	Leu	Gly	Met	Glu	Ser	Gly	Arg	Ile	Ala	Asn	Glu	Gln	Ile	Ser
[0967]				260					265						270	
[0968]	Ala	Ser	Ser	Thr	Tyr	Ser	Asp	Gly	Arg	Trp	Thr	Pro	Gln	Gln	Ser	Arg
[0969]			275					280					285			
[0970]	Leu	His	Gly	Asp	Asp	Asn	Gly	Trp	Thr	Pro	Asn	Leu	Asp	Ser	Asn	Lys
[0971]		290					295					300				
[0972]	Glu	Tyr	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Arg	Phe	Leu	Thr	Met	Leu	Thr	Ala	Ile
[0973]	305					310					315					320
[0974]	Ala	Thr	Gln	Gly	Ala	Ile	Ser	Arg	Glu	Thr	Gln	Asn	Gly	Tyr	Tyr	Val

[0975]					325				330				335							
[0976]	Lys	Ser	Tyr	Lys	Leu	Glu	Val	Ser	Thr	Asn	Gly	Glu	Asp	Trp	Met	Val				
[0977]					340				345				350							
[0978]	Tyr	Arg	His	Gly	Lys	Asn	His	Lys	Val	Phe	Gln	Ala	Asn	Asn	Asp	Ala				
[0979]					355				360				365							
[0980]	Thr	Glu	Val	Val	Leu	Asn	Lys	Leu	His	Ala	Pro	Leu	Leu	Thr	Arg	Phe				
[0981]					370				375				380							
[0982]	Val	Arg	Ile	Arg	Pro	Gln	Thr	Trp	His	Ser	Gly	Ile	Ala	Leu	Arg	Leu				
[0983]	385								390								400			
[0984]	Glu	Leu	Phe	Gly	Cys	Arg	Val	Thr	Asp	Ala	Pro	Cys	Ser	Asn	Met	Leu				
[0985]					405								410				415			
[0986]	Gly	Met	Leu	Ser	Gly	Leu	Ile	Ala	Asp	Ser	Gln	Ile	Ser	Ala	Ser	Ser				
[0987]					420								425				430			
[0988]	Thr	Gln	Glu	Tyr	Leu	Trp	Ser	Pro	Ser	Ala	Ala	Arg	Leu	Val	Ser	Ser				
[0989]					435								440				445			
[0990]	Arg	Ser	Gly	Trp	Phe	Pro	Arg	Ile	Pro	Gln	Ala	Gln	Pro	Gly	Glu	Glu				
[0991]	450								455								460			
[0992]	Trp	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Pro	Lys	Thr	Val	Lys	Gly	Val	Ile				
[0993]	465								470								475		480	
[0994]	Ile	Gln	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Asp	Ser	Ile	Thr	Ala	Val	Glu	Ala	Arg				
[0995]					485								490				495			
[0996]	Ala	Phe	Val	Arg	Lys	Phe	Lys	Val	Ser	Tyr	Ser	Leu	Asn	Gly	Lys	Asp				
[0997]					500								505				510			
[0998]	Trp	Glu	Tyr	Ile	Gln	Asp	Pro	Arg	Thr	Gln	Gln	Pro	Lys	Val	Gly	Cys				
[0999]					515								520				525			
[1000]	Ser	Trp	Arg	Pro	Leu															
[1001]	530																			
[1002]	<210> 10																			
[1003]	<211> 114																			
[1004]	<212> PRT																			
[1005]	<213> 智人(Homo sapiens)																			
[1006]	<400> 10																			
[1007]	Cys	Gly	Gly	Arg	Leu	Asn	Ser	Lys	Asp	Ala	Gly	Tyr	Ile	Thr	Ser	Pro				
[1008]	1	5								10				15						
[1009]	Gly	Tyr	Pro	Gln	Asp	Tyr	Pro	Ser	His	Gln	Asn	Cys	Glu	Trp	Ile	Val				
[1010]	20								25				30							
[1011]	Tyr	Ala	Pro	Glu	Pro	Asn	Gln	Lys	Ile	Val	Leu	Asn	Phe	Asn	Pro	His				
[1012]	35								40				45							
[1013]	Phe	Glu	Ile	Glu	Lys	His	Asp	Cys	Lys	Tyr	Asp	Phe	Ile	Glu	Ile	Arg				

[1014]	50	55	60
[1015]	Asp Gly Asp Ser Glu Ser Ala Asp Leu Leu Gly Lys His Cys Gly Asn		
[1016]	65	70	75
[1017]	Ile Ala Pro Pro Thr Ile Ile Ser Ser Gly Ser Met Leu Tyr Ile Lys		
[1018]	85	90	95
[1019]	Phe Thr Ser Asp Tyr Ala Arg Gln Gly Ala Gly Phe Ser Leu Arg Tyr		
[1020]	100	105	110
[1021]	Glu Ile		
[1022]	<210> 11		
[1023]	<211> 117		
[1024]	<212> PRT		
[1025]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[1026]	<400> 11		
[1027]	Cys Ser Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile Glu Ser Pro Gly		
[1028]	1	5	10
[1029]	Phe Pro Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr Phe Thr Ile Leu		
[1030]	20	25	30
[1031]	Ala Lys Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu Ile Phe Asp Leu		
[1032]	35	40	45
[1033]	Glu His Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys Lys Tyr Asp Trp		
[1034]	50	55	60
[1035]	Leu Asp Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro Leu Ile Gly Lys		
[1036]	65	70	75
[1037]	Tyr Cys Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser Ser Thr Gly Ile		
[1038]	85	90	95
[1039]	Leu Ser Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala Lys Asp Gly Phe		
[1040]	100	105	110
[1041]	Ser Ala Arg Tyr Tyr		
[1042]	115		
[1043]	<210> 12		
[1044]	<211> 147		
[1045]	<212> PRT		
[1046]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[1047]	<400> 12		
[1048]	Pro Leu Gly Met Glu Ser Gly Arg Ile Ala Asn Glu Gln Ile Ser Ala		
[1049]	1	5	10
[1050]	Ser Ser Thr Tyr Ser Asp Gly Arg Trp Thr Pro Gln Gln Ser Arg Leu		
[1051]	20	25	30
[1052]	His Gly Asp Asp Asn Gly Trp Thr Pro Asn Leu Asp Ser Asn Lys Glu		

[1053]	35	40	45
[1054]	Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Phe Leu Thr Met Leu Thr Ala Ile Ala		
[1055]	50	55	60
[1056]	Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr Gln Asn Gly Tyr Tyr Val Lys		
[1057]	65	70	75
[1058]	Ser Tyr Lys Leu Glu Val Ser Thr Asn Gly Glu Asp Trp Met Val Tyr		
[1059]	85	90	95
[1060]	Arg His Gly Lys Asn His Lys Val Phe Gln Ala Asn Asn Asp Ala Thr		
[1061]	100	105	110
[1062]	Glu Val Val Leu Asn Lys Leu His Ala Pro Leu Leu Thr Arg Phe Val		
[1063]	115	120	125
[1064]	Arg Ile Arg Pro Gln Thr Trp His Ser Gly Ile Ala Leu Arg Leu Glu		
[1065]	130	135	140
[1066]	Leu Phe Gly		
[1067]	145		
[1068]	<210> 13		
[1069]	<211> 154		
[1070]	<212> PRT		
[1071]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[1072]	<400> 13		
[1073]	Leu Gly Met Leu Ser Gly Leu Ile Ala Asp Ser Gln Ile Ser Ala Ser		
[1074]	1	5	10
[1075]	Ser Thr Gln Glu Tyr Leu Trp Ser Pro Ser Ala Ala Arg Leu Val Ser		
[1076]	20	25	30
[1077]	Ser Arg Ser Gly Trp Phe Pro Arg Ile Pro Gln Ala Gln Pro Gly Glu		
[1078]	35	40	45
[1079]	Glu Trp Leu Gln Val Asp Leu Gly Thr Pro Lys Thr Val Lys Gly Val		
[1080]	50	55	60
[1081]	Ile Ile Gln Gly Ala Arg Gly Gly Asp Ser Ile Thr Ala Val Glu Ala		
[1082]	65	70	75
[1083]	Arg Ala Phe Val Arg Lys Phe Lys Val Ser Tyr Ser Leu Asn Gly Lys		
[1084]	85	90	95
[1085]	Asp Trp Glu Tyr Ile Gln Asp Pro Arg Thr Gln Gln Pro Lys Leu Phe		
[1086]	100	105	110
[1087]	Glu Gly Asn Met His Tyr Asp Thr Pro Asp Ile Arg Arg Phe Asp Pro		
[1088]	115	120	125
[1089]	Ile Pro Ala Gln Tyr Val Arg Val Tyr Pro Glu Arg Trp Ser Pro Ala		
[1090]	130	135	140
[1091]	Gly Ile Gly Met Arg Leu Glu Val Leu Gly		

[1092]	145	150
[1093]	<210> 14	
[1094]	<211> 154	
[1095]	<212> PRT	
[1096]	<213> 智人(Homo sapiens)	
[1097]	<400> 14	
[1098]	Pro Ser Gly Phe Asn Cys Asn Phe Asp Phe Leu Glu Glu Pro Cys Gly	
[1099]	1 5 10 15	
[1100]	Trp Met Tyr Asp His Ala Lys Trp Leu Arg Thr Thr Trp Ala Ser Ser	
[1101]	20 25 30	
[1102]	Ser Ser Pro Asn Asp Arg Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg	
[1103]	35 40 45	
[1104]	Leu Gln Ser Asp Ser Gln Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser	
[1105]	50 55 60	
[1106]	Pro Pro Val His Leu Pro Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr	
[1107]	65 70 75 80	
[1108]	Gln Ala Thr Gly Gly Arg Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala	
[1109]	85 90 95	
[1110]	Ser Gln Glu Ser Lys Leu Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly	
[1111]	100 105 110	
[1112]	Glu Trp Lys His Gly Arg Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr	
[1113]	115 120 125	
[1114]	Gln Ile Val Phe Glu Gly Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile	
[1115]	130 135 140	
[1116]	Ala Ile Asp Asp Ile Arg Ile Ser Thr Asp	
[1117]	145 150	
[1118]	<210> 15	
[1119]	<211> 243	
[1120]	<212> PRT	
[1121]	<213> 智人(Homo sapiens)	
[1122]	<400> 15	
[1123]	Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu Asn Ser Lys Asp Ala Gly	
[1124]	1 5 10 15	
[1125]	Tyr Ile Thr Ser Pro Gly Tyr Pro Gln Asp Tyr Pro Ser His Gln Asn	
[1126]	20 25 30	
[1127]	Cys Glu Trp Ile Val Tyr Ala Pro Glu Pro Asn Gln Lys Ile Val Leu	
[1128]	35 40 45	
[1129]	Asn Phe Asn Pro His Phe Glu Ile Glu Lys His Asp Cys Lys Tyr Asp	
[1130]	50 55 60	

[1131]	Phe Ile Glu Ile Arg Asp Gly Asp Ser Glu Ser Ala Asp Leu Leu Gly
[1132]	65 70 75 80
[1133]	Lys His Cys Gly Asn Ile Ala Pro Pro Thr Ile Ile Ser Ser Gly Ser
[1134]	85 90 95
[1135]	Met Leu Tyr Ile Lys Phe Thr Ser Asp Tyr Ala Arg Gln Gly Ala Gly
[1136]	100 105 110
[1137]	Phe Ser Leu Arg Tyr Glu Ile Phe Lys Thr Gly Ser Glu Asp Cys Ser
[1138]	115 120 125
[1139]	Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile Glu Ser Pro Gly Phe Pro
[1140]	130 135 140
[1141]	Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr Phe Thr Ile Leu Ala Lys
[1142]	145 150 155 160
[1143]	Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu Ile Phe Asp Leu Glu His
[1144]	165 170 175
[1145]	Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys Lys Tyr Asp Trp Leu Asp
[1146]	180 185 190
[1147]	Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro Leu Ile Gly Lys Tyr Cys
[1148]	195 200 205
[1149]	Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser Ser Thr Gly Ile Leu Ser
[1150]	210 215 220
[1151]	Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala Lys Asp Gly Phe Ser Ala
[1152]	225 230 235 240
[1153]	Arg Tyr Tyr
[1154]	<210> 16
[1155]	<211> 278
[1156]	<212> PRT
[1157]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1158]	<400> 16
[1159]	Cys Ser Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile Glu Ser Pro Gly
[1160]	1 5 10 15
[1161]	Phe Pro Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr Phe Thr Ile Leu
[1162]	20 25 30
[1163]	Ala Lys Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu Ile Phe Asp Leu
[1164]	35 40 45
[1165]	Glu His Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys Lys Tyr Asp Trp
[1166]	50 55 60
[1167]	Leu Asp Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro Leu Ile Gly Lys
[1168]	65 70 75 80
[1169]	Tyr Cys Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser Ser Thr Gly Ile

[1209]	65	70	75	80
[1210]	Lys His Cys Gly Asn Ile Ala Pro Pro Thr Ile Ile Ser Ser Gly Ser			
[1211]		85	90	95
[1212]	Met Leu Tyr Ile Lys Phe Thr Ser Asp Tyr Ala Arg Gln Gly Ala Gly			
[1213]		100	105	110
[1214]	Phe Ser Leu Arg Tyr Glu Ile Phe Lys Thr Gly Ser Glu Asp Cys Ser			
[1215]		115	120	125
[1216]	Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile Glu Ser Pro Gly Phe Pro			
[1217]		130	135	140
[1218]	Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr Phe Thr Ile Leu Ala Lys			
[1219]	145	150	155	160
[1220]	Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu Ile Phe Asp Leu Glu His			
[1221]		165	170	175
[1222]	Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys Lys Tyr Asp Trp Leu Asp			
[1223]		180	185	190
[1224]	Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro Leu Ile Gly Lys Tyr Cys			
[1225]		195	200	205
[1226]	Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser Ser Thr Gly Ile Leu Ser			
[1227]		210	215	220
[1228]	Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala Lys Asp Gly Phe Ser Ala			
[1229]	225	230	235	240
[1230]	Arg Tyr Tyr Leu Val His Gln Glu Pro Leu Glu Asn Phe Gln Cys Asn			
[1231]		245	250	255
[1232]	Val Pro Leu Gly Met Glu Ser Gly Arg Ile Ala Asn Glu Gln Ile Ser			
[1233]		260	265	270
[1234]	Ala Ser Ser Thr Tyr Ser Asp Gly Arg Trp Thr Pro Gln Gln Ser Arg			
[1235]		275	280	285
[1236]	Leu His Gly Asp Asp Asn Gly Trp Thr Pro Asn Leu Asp Ser Asn Lys			
[1237]		290	295	300
[1238]	Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Phe Leu Thr Met Leu Thr Ala Ile			
[1239]	305	310	315	320
[1240]	Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr Gln Asn Gly Tyr Tyr Val			
[1241]		325	330	335
[1242]	Lys Ser Tyr Lys Leu Glu Val Ser Thr Asn Gly Glu Asp Trp Met Val			
[1243]		340	345	350
[1244]	Tyr Arg His Gly Lys Asn His Lys Val Phe Gln Ala Asn Asn Asp Ala			
[1245]		355	360	365
[1246]	Thr Glu Val Val Leu Asn Lys Leu His Ala Pro Leu Leu Thr Arg Phe			
[1247]		370	375	380

[1248]	Val Arg Ile Arg Pro Gln Thr Trp His Ser Gly Ile Ala Leu Arg Leu
[1249]	385 390 395 400
[1250]	Glu Leu Phe Gly
[1251]	<210> 18
[1252]	<211> 573
[1253]	<212> PRT
[1254]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1255]	<400> 18
[1256]	Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu Asn Ser Lys Asp Ala Gly
[1257]	1 5 10 15
[1258]	Tyr Ile Thr Ser Pro Gly Tyr Pro Gln Asp Tyr Pro Ser His Gln Asn
[1259]	20 25 30
[1260]	Cys Glu Trp Ile Val Tyr Ala Pro Glu Pro Asn Gln Lys Ile Val Leu
[1261]	35 40 45
[1262]	Asn Phe Asn Pro His Phe Glu Ile Glu Lys His Asp Cys Lys Tyr Asp
[1263]	50 55 60
[1264]	Phe Ile Glu Ile Arg Asp Gly Asp Ser Glu Ser Ala Asp Leu Leu Gly
[1265]	65 70 75 80
[1266]	Lys His Cys Gly Asn Ile Ala Pro Pro Thr Ile Ile Ser Ser Gly Ser
[1267]	85 90 95
[1268]	Met Leu Tyr Ile Lys Phe Thr Ser Asp Tyr Ala Arg Gln Gly Ala Gly
[1269]	100 105 110
[1270]	Phe Ser Leu Arg Tyr Glu Ile Phe Lys Thr Gly Ser Glu Asp Cys Ser
[1271]	115 120 125
[1272]	Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile Glu Ser Pro Gly Phe Pro
[1273]	130 135 140
[1274]	Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr Phe Thr Ile Leu Ala Lys
[1275]	145 150 155 160
[1276]	Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu Ile Phe Asp Leu Glu His
[1277]	165 170 175
[1278]	Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys Lys Tyr Asp Trp Leu Asp
[1279]	180 185 190
[1280]	Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro Leu Ile Gly Lys Tyr Cys
[1281]	195 200 205
[1282]	Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser Ser Thr Gly Ile Leu Ser
[1283]	210 215 220
[1284]	Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala Lys Asp Gly Phe Ser Ala
[1285]	225 230 235 240
[1286]	Arg Tyr Tyr Leu Val His Gln Glu Pro Leu Glu Asn Phe Gln Cys Asn

[1287]					245					250						255
[1288]	Val	Pro	Leu	Gly	Met	Glu	Ser	Gly	Arg	Ile	Ala	Asn	Glu	Gln	Ile	Ser
[1289]					260					265						270
[1290]	Ala	Ser	Ser	Thr	Tyr	Ser	Asp	Gly	Arg	Trp	Thr	Pro	Gln	Gln	Ser	Arg
[1291]					275					280						285
[1292]	Leu	His	Gly	Asp	Asp	Asn	Gly	Trp	Thr	Pro	Asn	Leu	Asp	Ser	Asn	Lys
[1293]					290					295						300
[1294]	Glu	Tyr	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Arg	Phe	Leu	Thr	Met	Leu	Thr	Ala	Ile
[1295]	305							310				315				320
[1296]	Ala	Thr	Gln	Gly	Ala	Ile	Ser	Arg	Glu	Thr	Gln	Asn	Gly	Tyr	Tyr	Val
[1297]					325					330						335
[1298]	Lys	Ser	Tyr	Lys	Leu	Glu	Val	Ser	Thr	Asn	Gly	Glu	Asp	Trp	Met	Val
[1299]					340					345						350
[1300]	Tyr	Arg	His	Gly	Lys	Asn	His	Lys	Val	Phe	Gln	Ala	Asn	Asn	Asp	Ala
[1301]					355					360						365
[1302]	Thr	Glu	Val	Val	Leu	Asn	Lys	Leu	His	Ala	Pro	Leu	Leu	Thr	Arg	Phe
[1303]					370					375						380
[1304]	Val	Arg	Ile	Arg	Pro	Gln	Thr	Trp	His	Ser	Gly	Ile	Ala	Leu	Arg	Leu
[1305]	385							390				395				400
[1306]	Glu	Leu	Phe	Gly	Cys	Arg	Val	Thr	Asp	Ala	Pro	Cys	Ser	Asn	Met	Leu
[1307]					405					410						415
[1308]	Gly	Met	Leu	Ser	Gly	Leu	Ile	Ala	Asp	Ser	Gln	Ile	Ser	Ala	Ser	Ser
[1309]					420					425						430
[1310]	Thr	Gln	Glu	Tyr	Leu	Trp	Ser	Pro	Ser	Ala	Ala	Arg	Leu	Val	Ser	Ser
[1311]					435					440						445
[1312]	Arg	Ser	Gly	Trp	Phe	Pro	Arg	Ile	Pro	Gln	Ala	Gln	Pro	Gly	Glu	Glu
[1313]					450					455						460
[1314]	Trp	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Pro	Lys	Thr	Val	Lys	Gly	Val	Ile
[1315]	465							470				475				480
[1316]	Ile	Gln	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Asp	Ser	Ile	Thr	Ala	Val	Glu	Ala	Arg
[1317]					485					490						495
[1318]	Ala	Phe	Val	Arg	Lys	Phe	Lys	Val	Ser	Tyr	Ser	Leu	Asn	Gly	Lys	Asp
[1319]					500					505						510
[1320]	Trp	Glu	Tyr	Ile	Gln	Asp	Pro	Arg	Thr	Gln	Gln	Pro	Lys	Leu	Phe	Glu
[1321]					515					520						525
[1322]	Gly	Asn	Met	His	Tyr	Asp	Thr	Pro	Asp	Ile	Arg	Arg	Phe	Asp	Pro	Ile
[1323]					530					535						540
[1324]	Pro	Ala	Gln	Tyr	Val	Arg	Val	Tyr	Pro	Glu	Arg	Trp	Ser	Pro	Ala	Gly
[1325]	545							550				555				560

[1326]	Ile Gly Met Arg Leu Glu Val Leu Gly Cys Asp Trp Thr
[1327]	565 570
[1328]	<210> 19
[1329]	<211> 451
[1330]	<212> PRT
[1331]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1332]	<400> 19
[1333]	Gly Ser Glu Asp Cys Ser Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile
[1334]	1 5 10 15
[1335]	Glu Ser Pro Gly Phe Pro Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr
[1336]	20 25 30
[1337]	Phe Thr Ile Leu Ala Lys Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu
[1338]	35 40 45
[1339]	Ile Phe Asp Leu Glu His Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys
[1340]	50 55 60
[1341]	Lys Tyr Asp Trp Leu Asp Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro
[1342]	65 70 75 80
[1343]	Leu Ile Gly Lys Tyr Cys Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser
[1344]	85 90 95
[1345]	Ser Thr Gly Ile Leu Ser Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala
[1346]	100 105 110
[1347]	Lys Asp Gly Phe Ser Ala Arg Tyr Tyr Leu Val His Gln Glu Pro Leu
[1348]	115 120 125
[1349]	Glu Asn Phe Gln Cys Asn Val Pro Leu Gly Met Glu Ser Gly Arg Ile
[1350]	130 135 140
[1351]	Ala Asn Glu Gln Ile Ser Ala Ser Ser Thr Tyr Ser Asp Gly Arg Trp
[1352]	145 150 155 160
[1353]	Thr Pro Gln Gln Ser Arg Leu His Gly Asp Asp Asn Gly Trp Thr Pro
[1354]	165 170 175
[1355]	Asn Leu Asp Ser Asn Lys Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Phe Leu
[1356]	180 185 190
[1357]	Thr Met Leu Thr Ala Ile Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr
[1358]	195 200 205
[1359]	Gln Asn Gly Tyr Tyr Val Lys Ser Tyr Lys Leu Glu Val Ser Thr Asn
[1360]	210 215 220
[1361]	Gly Glu Asp Trp Met Val Tyr Arg His Gly Lys Asn His Lys Val Phe
[1362]	225 230 235 240
[1363]	Gln Ala Asn Asn Asp Ala Thr Glu Val Val Leu Asn Lys Leu His Ala
[1364]	245 250 255

[1365]	Pro	Leu	Leu	Thr	Arg	Phe	Val	Arg	Ile	Arg	Pro	Gln	Thr	Trp	His	Ser
[1366]				260					265					270		
[1367]	Gly	Ile	Ala	Leu	Arg	Leu	Glu	Leu	Phe	Gly	Cys	Arg	Val	Thr	Asp	Ala
[1368]			275					280					285			
[1369]	Pro	Cys	Ser	Asn	Met	Leu	Gly	Met	Leu	Ser	Gly	Leu	Ile	Ala	Asp	Ser
[1370]		290					295					300				
[1371]	Gln	Ile	Ser	Ala	Ser	Ser	Thr	Gln	Glu	Tyr	Leu	Trp	Ser	Pro	Ser	Ala
[1372]	305					310				315					320	
[1373]	Ala	Arg	Leu	Val	Ser	Ser	Arg	Ser	Gly	Trp	Phe	Pro	Arg	Ile	Pro	Gln
[1374]				325					330					335		
[1375]	Ala	Gln	Pro	Gly	Glu	Glu	Trp	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Pro	Lys
[1376]			340					345					350			
[1377]	Thr	Val	Lys	Gly	Val	Ile	Ile	Gln	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Asp	Ser	Ile
[1378]		355					360					365				
[1379]	Thr	Ala	Val	Glu	Ala	Arg	Ala	Phe	Val	Arg	Lys	Phe	Lys	Val	Ser	Tyr
[1380]		370				375				380						
[1381]	Ser	Leu	Asn	Gly	Lys	Asp	Trp	Glu	Tyr	Ile	Gln	Asp	Pro	Arg	Thr	Gln
[1382]	385				390					395					400	
[1383]	Gln	Pro	Lys	Leu	Phe	Glu	Gly	Asn	Met	His	Tyr	Asp	Thr	Pro	Asp	Ile
[1384]			405					410						415		
[1385]	Arg	Arg	Phe	Asp	Pro	Ile	Pro	Ala	Gln	Tyr	Val	Arg	Val	Tyr	Pro	Glu
[1386]			420					425					430			
[1387]	Arg	Trp	Ser	Pro	Ala	Gly	Ile	Gly	Met	Arg	Leu	Glu	Val	Leu	Gly	Cys
[1388]		435					440					445				
[1389]	Asp	Trp	Thr													
[1390]		450														
[1391]	<210>	20														
[1392]	<211>	320														
[1393]	<212>	PRT														
[1394]	<213>	智人(Homo sapiens)														
[1395]	<400>	20														
[1396]	Gln	Cys	Asn	Val	Pro	Leu	Gly	Met	Glu	Ser	Gly	Arg	Ile	Ala	Asn	Glu
[1397]	1			5					10					15		
[1398]	Gln	Ile	Ser	Ala	Ser	Ser	Thr	Tyr	Ser	Asp	Gly	Arg	Trp	Thr	Pro	Gln
[1399]			20					25					30			
[1400]	Gln	Ser	Arg	Leu	His	Gly	Asp	Asp	Asn	Gly	Trp	Thr	Pro	Asn	Leu	Asp
[1401]		35					40					45				
[1402]	Ser	Asn	Lys	Glu	Tyr	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Arg	Phe	Leu	Thr	Met	Leu
[1403]		50					55					60				

[1404]	Thr	Ala	Ile	Ala	Thr	Gln	Gly	Ala	Ile	Ser	Arg	Glu	Thr	Gln	Asn	Gly
[1405]	65					70				75					80	
[1406]	Tyr	Tyr	Val	Lys	Ser	Tyr	Lys	Leu	Glu	Val	Ser	Thr	Asn	Gly	Glu	Asp
[1407]				85						90					95	
[1408]	Trp	Met	Val	Tyr	Arg	His	Gly	Lys	Asn	His	Lys	Val	Phe	Gln	Ala	Asn
[1409]				100						105					110	
[1410]	Asn	Asp	Ala	Thr	Glu	Val	Val	Leu	Asn	Lys	Leu	His	Ala	Pro	Leu	Leu
[1411]				115						120					125	
[1412]	Thr	Arg	Phe	Val	Arg	Ile	Arg	Pro	Gln	Thr	Trp	His	Ser	Gly	Ile	Ala
[1413]				130						135					140	
[1414]	Leu	Arg	Leu	Glu	Leu	Phe	Gly	Cys	Arg	Val	Thr	Asp	Ala	Pro	Cys	Ser
[1415]	145					150					155					160
[1416]	Asn	Met	Leu	Gly	Met	Leu	Ser	Gly	Leu	Ile	Ala	Asp	Ser	Gln	Ile	Ser
[1417]					165						170					175
[1418]	Ala	Ser	Ser	Thr	Gln	Glu	Tyr	Leu	Trp	Ser	Pro	Ser	Ala	Ala	Arg	Leu
[1419]				180						185					190	
[1420]	Val	Ser	Ser	Arg	Ser	Gly	Trp	Phe	Pro	Arg	Ile	Pro	Gln	Ala	Gln	Pro
[1421]				195						200					205	
[1422]	Gly	Glu	Glu	Trp	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Pro	Lys	Thr	Val	Lys
[1423]				210						215					220	
[1424]	Gly	Val	Ile	Ile	Gln	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Asp	Ser	Ile	Thr	Ala	Val
[1425]	225					230					235					240
[1426]	Glu	Ala	Arg	Ala	Phe	Val	Arg	Lys	Phe	Lys	Val	Ser	Tyr	Ser	Leu	Asn
[1427]					245						250					255
[1428]	Gly	Lys	Asp	Trp	Glu	Tyr	Ile	Gln	Asp	Pro	Arg	Thr	Gln	Gln	Pro	Lys
[1429]					260						265					270
[1430]	Leu	Phe	Glu	Gly	Asn	Met	His	Tyr	Asp	Thr	Pro	Asp	Ile	Arg	Arg	Phe
[1431]					275						280					285
[1432]	Asp	Pro	Ile	Pro	Ala	Gln	Tyr	Val	Arg	Val	Tyr	Pro	Glu	Arg	Trp	Ser
[1433]				290							295					300
[1434]	Pro	Ala	Gly	Ile	Gly	Met	Arg	Leu	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Asp	Trp	Thr
[1435]	305					310					315					320
[1436]	<210>	21														
[1437]	<211>	1060														
[1438]	<212>	PRT														
[1439]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)														
[1440]	<220>															
[1441]	<223>	合成的构建体-NRP2 v2-Fc融合蛋白														
[1442]	<400>	21														

[1443]	Gln	Pro	Asp	Pro	Pro	Cys	Gly	Gly	Arg	Leu	Asn	Ser	Lys	Asp	Ala	Gly
[1444]	1				5				10						15	
[1445]	Tyr	Ile	Thr	Ser	Pro	Gly	Tyr	Pro	Gln	Asp	Tyr	Pro	Ser	His	Gln	Asn
[1446]				20					25					30		
[1447]	Cys	Glu	Trp	Ile	Val	Tyr	Ala	Pro	Glu	Pro	Asn	Gln	Lys	Ile	Val	Leu
[1448]			35						40				45			
[1449]	Asn	Phe	Asn	Pro	His	Phe	Glu	Ile	Glu	Lys	His	Asp	Cys	Lys	Tyr	Asp
[1450]		50					55					60				
[1451]	Phe	Ile	Glu	Ile	Arg	Asp	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Ala	Asp	Leu	Leu	Gly
[1452]	65					70					75					80
[1453]	Lys	His	Cys	Gly	Asn	Ile	Ala	Pro	Pro	Thr	Ile	Ile	Ser	Ser	Gly	Ser
[1454]					85					90					95	
[1455]	Met	Leu	Tyr	Ile	Lys	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ala	Arg	Gln	Gly	Ala	Gly
[1456]				100					105					110		
[1457]	Phe	Ser	Leu	Arg	Tyr	Glu	Ile	Phe	Lys	Thr	Gly	Ser	Glu	Asp	Cys	Ser
[1458]			115						120				125			
[1459]	Lys	Asn	Phe	Thr	Ser	Pro	Asn	Gly	Thr	Ile	Glu	Ser	Pro	Gly	Phe	Pro
[1460]		130						135					140			
[1461]	Glu	Lys	Tyr	Pro	His	Asn	Leu	Asp	Cys	Thr	Phe	Thr	Ile	Leu	Ala	Lys
[1462]	145					150					155					160
[1463]	Pro	Lys	Met	Glu	Ile	Ile	Leu	Gln	Phe	Leu	Ile	Phe	Asp	Leu	Glu	His
[1464]					165				170						175	
[1465]	Asp	Pro	Leu	Gln	Val	Gly	Glu	Gly	Asp	Cys	Lys	Tyr	Asp	Trp	Leu	Asp
[1466]			180						185					190		
[1467]	Ile	Trp	Asp	Gly	Ile	Pro	His	Val	Gly	Pro	Leu	Ile	Gly	Lys	Tyr	Cys
[1468]			195						200					205		
[1469]	Gly	Thr	Lys	Thr	Pro	Ser	Glu	Leu	Arg	Ser	Ser	Thr	Gly	Ile	Leu	Ser
[1470]		210					215						220			
[1471]	Leu	Thr	Phe	His	Thr	Asp	Met	Ala	Val	Ala	Lys	Asp	Gly	Phe	Ser	Ala
[1472]	225					230					235					240
[1473]	Arg	Tyr	Tyr	Leu	Val	His	Gln	Glu	Pro	Leu	Glu	Asn	Phe	Gln	Cys	Asn
[1474]				245						250					255	
[1475]	Val	Pro	Leu	Gly	Met	Glu	Ser	Gly	Arg	Ile	Ala	Asn	Glu	Gln	Ile	Ser
[1476]				260					265					270		
[1477]	Ala	Ser	Ser	Thr	Tyr	Ser	Asp	Gly	Arg	Trp	Thr	Pro	Gln	Gln	Ser	Arg
[1478]			275						280					285		
[1479]	Leu	His	Gly	Asp	Asp	Asn	Gly	Trp	Thr	Pro	Asn	Leu	Asp	Ser	Asn	Lys
[1480]		290						295				300				
[1481]	Glu	Tyr	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Arg	Phe	Leu	Thr	Met	Leu	Thr	Ala	Ile

[1482]	305	310	315	320
[1483]	Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr Gln Asn Gly Tyr Tyr Val			
[1484]		325	330	335
[1485]	Lys Ser Tyr Lys Leu Glu Val Ser Thr Asn Gly Glu Asp Trp Met Val			
[1486]		340	345	350
[1487]	Tyr Arg His Gly Lys Asn His Lys Val Phe Gln Ala Asn Asn Asp Ala			
[1488]		355	360	365
[1489]	Thr Glu Val Val Leu Asn Lys Leu His Ala Pro Leu Leu Thr Arg Phe			
[1490]		370	375	380
[1491]	Val Arg Ile Arg Pro Gln Thr Trp His Ser Gly Ile Ala Leu Arg Leu			
[1492]	385	390	395	400
[1493]	Glu Leu Phe Gly Cys Arg Val Thr Asp Ala Pro Cys Ser Asn Met Leu			
[1494]		405	410	415
[1495]	Gly Met Leu Ser Gly Leu Ile Ala Asp Ser Gln Ile Ser Ala Ser Ser			
[1496]		420	425	430
[1497]	Thr Gln Glu Tyr Leu Trp Ser Pro Ser Ala Ala Arg Leu Val Ser Ser			
[1498]		435	440	445
[1499]	Arg Ser Gly Trp Phe Pro Arg Ile Pro Gln Ala Gln Pro Gly Glu Glu			
[1500]		450	455	460
[1501]	Trp Leu Gln Val Asp Leu Gly Thr Pro Lys Thr Val Lys Gly Val Ile			
[1502]	465	470	475	480
[1503]	Ile Gln Gly Ala Arg Gly Gly Asp Ser Ile Thr Ala Val Glu Ala Arg			
[1504]		485	490	495
[1505]	Ala Phe Val Arg Lys Phe Lys Val Ser Tyr Ser Leu Asn Gly Lys Asp			
[1506]		500	505	510
[1507]	Trp Glu Tyr Ile Gln Asp Pro Arg Thr Gln Gln Pro Lys Leu Phe Glu			
[1508]		515	520	525
[1509]	Gly Asn Met His Tyr Asp Thr Pro Asp Ile Arg Arg Phe Asp Pro Ile			
[1510]		530	535	540
[1511]	Pro Ala Gln Tyr Val Arg Val Tyr Pro Glu Arg Trp Ser Pro Ala Gly			
[1512]	545	550	555	560
[1513]	Ile Gly Met Arg Leu Glu Val Leu Gly Cys Asp Trp Thr Asp Ser Lys			
[1514]		565	570	575
[1515]	Pro Thr Val Glu Thr Leu Gly Pro Thr Val Lys Ser Glu Glu Thr Thr			
[1516]		580	585	590
[1517]	Thr Pro Tyr Pro Thr Glu Glu Glu Ala Thr Glu Cys Gly Glu Asn Cys			
[1518]		595	600	605
[1519]	Ser Phe Glu Asp Asp Lys Asp Leu Gln Leu Pro Ser Gly Phe Asn Cys			
[1520]		610	615	620

[1521]	Asn Phe Asp Phe Leu Glu Glu Pro Cys Gly Trp Met Tyr Asp His Ala
[1522]	625 630 635 640
[1523]	Lys Trp Leu Arg Thr Thr Trp Ala Ser Ser Ser Ser Pro Asn Asp Arg
[1524]	645 650 655
[1525]	Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg Leu Gln Ser Asp Ser Gln
[1526]	660 665 670
[1527]	Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser Pro Pro Val His Leu Pro
[1528]	675 680 685
[1529]	Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr Gln Ala Thr Gly Gly Arg
[1530]	690 695 700
[1531]	Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala Ser Gln Glu Ser Lys Leu
[1532]	705 710 715 720
[1533]	Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly Glu Trp Lys His Gly Arg
[1534]	725 730 735
[1535]	Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr Gln Ile Val Phe Glu Gly
[1536]	740 745 750
[1537]	Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile Ala Ile Asp Asp Ile Arg
[1538]	755 760 765
[1539]	Ile Ser Thr Asp Val Pro Leu Glu Asn Cys Met Glu Pro Ile Ser Ala
[1540]	770 775 780
[1541]	Phe Ala Val Asp Ile Pro Glu Ile His Glu Arg Glu Gly Tyr Glu Asp
[1542]	785 790 795 800
[1543]	Glu Ile Asp Asp Glu Tyr Glu Val Asp Trp Ser Asn Ser Ser Ser Ala
[1544]	805 810 815
[1545]	Thr Ser Gly Ser Gly Ala Pro Ser Thr Asp Lys Glu Lys Ser Trp Leu
[1546]	820 825 830
[1547]	Tyr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
[1548]	835 840 845
[1549]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
[1550]	850 855 860
[1551]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
[1552]	865 870 875 880
[1553]	His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
[1554]	885 890 895
[1555]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
[1556]	900 905 910
[1557]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
[1558]	915 920 925
[1559]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

[1560]	930	935	940
[1561]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
[1562]	945	950	955 960
[1563]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val		
[1564]	965	970	975
[1565]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
[1566]	980	985	990
[1567]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
[1568]	995	1000	1005
[1569]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu		
[1570]	1010	1015	1020
[1571]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys		
[1572]	1025	1030	1035
[1573]	Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
[1574]	1040	1045	1050
[1575]	Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[1576]	1055	1060	
[1577]	<210> 22		
[1578]	<211> 678		
[1579]	<212> PRT		
[1580]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1581]	<220>		
[1582]	<223> 合成的构建体-NRP2 A2B1B2-Fc		
[1583]	<400> 22		
[1584]	Gly Ser Glu Asp Cys Ser Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile		
[1585]	1 5 10 15		
[1586]	Glu Ser Pro Gly Phe Pro Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr		
[1587]	20 25 30		
[1588]	Phe Thr Ile Leu Ala Lys Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu		
[1589]	35 40 45		
[1590]	Ile Phe Asp Leu Glu His Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys		
[1591]	50 55 60		
[1592]	Lys Tyr Asp Trp Leu Asp Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro		
[1593]	65 70 75 80		
[1594]	Leu Ile Gly Lys Tyr Cys Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser		
[1595]	85 90 95		
[1596]	Ser Thr Gly Ile Leu Ser Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala		
[1597]	100 105 110		
[1598]	Lys Asp Gly Phe Ser Ala Arg Tyr Tyr Leu Val His Gln Glu Pro Leu		

[1599]	115	120	125
[1600]	Glu Asn Phe Gln Cys Asn Val Pro Leu Gly Met Glu Ser Gly Arg Ile		
[1601]	130	135	140
[1602]	Ala Asn Glu Gln Ile Ser Ala Ser Ser Thr Tyr Ser Asp Gly Arg Trp		
[1603]	145	150	155
[1604]	Thr Pro Gln Gln Ser Arg Leu His Gly Asp Asp Asn Gly Trp Thr Pro		
[1605]	165	170	175
[1606]	Asn Leu Asp Ser Asn Lys Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Phe Leu		
[1607]	180	185	190
[1608]	Thr Met Leu Thr Ala Ile Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr		
[1609]	195	200	205
[1610]	Gln Asn Gly Tyr Tyr Val Lys Ser Tyr Lys Leu Glu Val Ser Thr Asn		
[1611]	210	215	220
[1612]	Gly Glu Asp Trp Met Val Tyr Arg His Gly Lys Asn His Lys Val Phe		
[1613]	225	230	235
[1614]	Gln Ala Asn Asn Asp Ala Thr Glu Val Val Leu Asn Lys Leu His Ala		
[1615]	245	250	255
[1616]	Pro Leu Leu Thr Arg Phe Val Arg Ile Arg Pro Gln Thr Trp His Ser		
[1617]	260	265	270
[1618]	Gly Ile Ala Leu Arg Leu Glu Leu Phe Gly Cys Arg Val Thr Asp Ala		
[1619]	275	280	285
[1620]	Pro Cys Ser Asn Met Leu Gly Met Leu Ser Gly Leu Ile Ala Asp Ser		
[1621]	290	295	300
[1622]	Gln Ile Ser Ala Ser Ser Thr Gln Glu Tyr Leu Trp Ser Pro Ser Ala		
[1623]	305	310	315
[1624]	Ala Arg Leu Val Ser Ser Arg Ser Gly Trp Phe Pro Arg Ile Pro Gln		
[1625]	325	330	335
[1626]	Ala Gln Pro Gly Glu Glu Trp Leu Gln Val Asp Leu Gly Thr Pro Lys		
[1627]	340	345	350
[1628]	Thr Val Lys Gly Val Ile Ile Gln Gly Ala Arg Gly Gly Asp Ser Ile		
[1629]	355	360	365
[1630]	Thr Ala Val Glu Ala Arg Ala Phe Val Arg Lys Phe Lys Val Ser Tyr		
[1631]	370	375	380
[1632]	Ser Leu Asn Gly Lys Asp Trp Glu Tyr Ile Gln Asp Pro Arg Thr Gln		
[1633]	385	390	395
[1634]	Gln Pro Lys Leu Phe Glu Gly Asn Met His Tyr Asp Thr Pro Asp Ile		
[1635]	405	410	415
[1636]	Arg Arg Phe Asp Pro Ile Pro Ala Gln Tyr Val Arg Val Tyr Pro Glu		
[1637]	420	425	430

[1638]	Arg Trp Ser Pro Ala Gly Ile Gly Met Arg Leu Glu Val Leu Gly Cys
[1639]	435 440 445
[1640]	Asp Trp Thr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[1641]	450 455 460
[1642]	Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[1643]	465 470 475 480
[1644]	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[1645]	485 490 495
[1646]	Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[1647]	500 505 510
[1648]	Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
[1649]	515 520 525
[1650]	Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[1651]	530 535 540
[1652]	Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[1653]	545 550 555 560
[1654]	Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[1655]	565 570 575
[1656]	Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
[1657]	580 585 590
[1658]	Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[1659]	595 600 605
[1660]	Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[1661]	610 615 620
[1662]	Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[1663]	625 630 635 640
[1664]	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[1665]	645 650 655
[1666]	Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[1667]	660 665 670
[1668]	Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1669]	675
[1670]	<210> 23
[1671]	<211> 10
[1672]	<212> PRT
[1673]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1674]	<220>
[1675]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-1 VH CDR1
[1676]	<400> 23

[1677]	Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met His
[1678]	1 5 10
[1679]	<210> 24
[1680]	<211> 19
[1681]	<212> PRT
[1682]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1683]	<220>
[1684]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-1 VH CDR2
[1685]	<400> 24
[1686]	Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Gln Phe Lys
[1687]	1 5 10 15
[1688]	Gly Lys Ala
[1689]	<210> 25
[1690]	<211> 8
[1691]	<212> PRT
[1692]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1693]	<220>
[1694]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-1 VH CDR3
[1695]	<400> 25
[1696]	Arg Gly Gly Gly Tyr Phe Asp Tyr
[1697]	1 5
[1698]	<210> 26
[1699]	<211> 11
[1700]	<212> PRT
[1701]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1702]	<220>
[1703]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-1 VL CDR1
[1704]	<400> 26
[1705]	Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Ala Ala Val Ala
[1706]	1 5 10
[1707]	<210> 27
[1708]	<211> 7
[1709]	<212> PRT
[1710]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1711]	<220>
[1712]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-1 VL CDR2
[1713]	<400> 27
[1714]	Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
[1715]	1 5

[1716]	<210> 28
[1717]	<211> 10
[1718]	<212> PRT
[1719]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1720]	<220>
[1721]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-1 VL CDR3
[1722]	<400> 28
[1723]	Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Leu Thr
[1724]	1 5 10
[1725]	<210> 29
[1726]	<211> 10
[1727]	<212> PRT
[1728]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1729]	<220>
[1730]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-2 VH CDR1
[1731]	<400> 29
[1732]	Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met His
[1733]	1 5 10
[1734]	<210> 30
[1735]	<211> 17
[1736]	<212> PRT
[1737]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1738]	<220>
[1739]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-2 VH CDR2
[1740]	<400> 30
[1741]	Val Ile His Pro Asn Ser Ala Ser Thr Phe Tyr Asn Glu Arg Phe Lys
[1742]	1 5 10 15
[1743]	Thr
[1744]	<210> 31
[1745]	<211> 9
[1746]	<212> PRT
[1747]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1748]	<220>
[1749]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-2 VH CDR3
[1750]	<400> 31
[1751]	Pro Gly Thr Val Arg Arg Ser Asp Tyr
[1752]	1 5
[1753]	<210> 32
[1754]	<211> 16

[1755] <212> PRT
[1756] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1757] <220>
[1758] <223> 实验室制备-合成的aNRP2-2 VL CDR1
[1759] <400> 32
[1760] Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser Thr Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
[1761] 1 5 10 15
[1762] <210> 33
[1763] <211> 7
[1764] <212> PRT
[1765] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1766] <220>
[1767] <223> 实验室制备-合成的aNRP2-2 VL CDR2
[1768] <400> 33
[1769] Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
[1770] 1 5
[1771] <210> 34
[1772] <211> 9
[1773] <212> PRT
[1774] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1775] <220>
[1776] <223> 实验室制备-合成的aNRP2-2 VL CDR3
[1777] <400> 34
[1778] Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr
[1779] 1 5
[1780] <210> 35
[1781] <211> 10
[1782] <212> PRT
[1783] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1784] <220>
[1785] <223> 实验室制备-合成的aNRP2-6 VH CDR1
[1786] <400> 35
[1787] Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Tyr Ile His
[1788] 1 5 10
[1789] <210> 36
[1790] <211> 17
[1791] <212> PRT
[1792] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1793] <220>

[1794]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-6 VH CDR2
[1795]	<400> 36
[1796]	Arg Ile Asp Val Glu Asp Asp Glu Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
[1797]	1 5 10 15
[1798]	Gly
[1799]	<210> 37
[1800]	<211> 12
[1801]	<212> PRT
[1802]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1803]	<220>
[1804]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-6 VH CDR3
[1805]	<400> 37
[1806]	Pro Ile Tyr Gly Ser Arg Glu Ala Trp Phe Ala Tyr
[1807]	1 5 10
[1808]	<210> 38
[1809]	<211> 12
[1810]	<212> PRT
[1811]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1812]	<220>
[1813]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-6 VL CDR1
[1814]	<400> 38
[1815]	Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His
[1816]	1 5 10
[1817]	<210> 39
[1818]	<211> 7
[1819]	<212> PRT
[1820]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1821]	<220>
[1822]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-6 VL CDR2
[1823]	<400> 39
[1824]	Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser
[1825]	1 5
[1826]	<210> 40
[1827]	<211> 9
[1828]	<212> PRT
[1829]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1830]	<220>
[1831]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-6 VL CDR3
[1832]	<400> 40

[1833]	His Gln Tyr Tyr Arg Ser Pro Pro Thr
[1834]	1 5
[1835]	<210> 41
[1836]	<211> 10
[1837]	<212> PRT
[1838]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1839]	<220>
[1840]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-7 VH CDR1
[1841]	<400> 41
[1842]	Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Tyr Ile His
[1843]	1 5 10
[1844]	<210> 42
[1845]	<211> 17
[1846]	<212> PRT
[1847]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1848]	<220>
[1849]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-7 VH CDR2
[1850]	<400> 42
[1851]	Arg Ile Asp Val Glu Asp Asp Glu Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
[1852]	1 5 10 15
[1853]	Gly
[1854]	<210> 43
[1855]	<211> 12
[1856]	<212> PRT
[1857]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1858]	<220>
[1859]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-7 VH CDR3
[1860]	<400> 43
[1861]	Pro Ile Tyr Gly Ser Arg Glu Ala Phe Phe Ala Tyr
[1862]	1 5 10
[1863]	<210> 44
[1864]	<211> 12
[1865]	<212> PRT
[1866]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1867]	<220>
[1868]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-7 VL CDR1
[1869]	<400> 44
[1870]	Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His
[1871]	1 5 10

[1872]	<210>	45	
[1873]	<211>	7	
[1874]	<212>	PRT	
[1875]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[1876]	<220>		
[1877]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-7 VL CDR2	
[1878]	<400>	45	
[1879]		Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser	
[1880]	1	5	
[1881]	<210>	46	
[1882]	<211>	9	
[1883]	<212>	PRT	
[1884]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[1885]	<220>		
[1886]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-7 VL CDR3	
[1887]	<400>	46	
[1888]		His Gln Tyr Tyr Arg Ser Pro Pro Thr	
[1889]	1	5	
[1890]	<210>	47	
[1891]	<211>	10	
[1892]	<212>	PRT	
[1893]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[1894]	<220>		
[1895]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-8 VH CDR1	
[1896]	<400>	47	
[1897]		Gly Phe Asn Val Lys Asp Tyr Tyr Val His	
[1898]	1	5	10
[1899]	<210>	48	
[1900]	<211>	17	
[1901]	<212>	PRT	
[1902]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[1903]	<220>		
[1904]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-8 VH CDR2	
[1905]	<400>	48	
[1906]		Arg Ile Asp Val Glu Asp Asp Glu Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe Gln	
[1907]	1	5	10 15
[1908]		Gly	
[1909]	<210>	49	
[1910]	<211>	12	

[1911] <212> PRT
[1912] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1913] <220>
[1914] <223> 实验室制备-合成的aNRP2-8 VH CDR3
[1915] <400> 49
[1916] Pro Ile Tyr Gly Ala Arg Glu Ala Trp Phe Ala Tyr
[1917] 1 5 10
[1918] <210> 50
[1919] <211> 12
[1920] <212> PRT
[1921] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1922] <220>
[1923] <223> 实验室制备-合成的aNRP2-8 VL CDR1
[1924] <400> 50
[1925] Thr Ala Asn Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His
[1926] 1 5 10
[1927] <210> 51
[1928] <211> 7
[1929] <212> PRT
[1930] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1931] <220>
[1932] <223> 实验室制备-合成的aNRP2-8 VL CDR2
[1933] <400> 51
[1934] Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
[1935] 1 5
[1936] <210> 52
[1937] <211> 9
[1938] <212> PRT
[1939] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1940] <220>
[1941] <223> 实验室制备-合成的aNRP2-8 VL CDR3
[1942] <400> 52
[1943] His Gln Tyr His Arg Ser Pro Pro Thr
[1944] 1 5
[1945] <210> 53
[1946] <211> 10
[1947] <212> PRT
[1948] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1949] <220>

[1950]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-9 VH CDR1
[1951]	<400>	53
[1952]		Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Gly Val Tyr
[1953]	1	5 10
[1954]	<210>	54
[1955]	<211>	16
[1956]	<212>	PRT
[1957]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1958]	<220>	
[1959]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-9 VH CDR2
[1960]	<400>	54
[1961]		Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile Ser
[1962]	1	5 10 15
[1963]	<210>	55
[1964]	<211>	14
[1965]	<212>	PRT
[1966]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1967]	<220>	
[1968]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-9 VH CDR3
[1969]	<400>	55
[1970]		Asn Gly Pro Asn Trp Asp Arg Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
[1971]	1	5 10
[1972]	<210>	56
[1973]	<211>	17
[1974]	<212>	PRT
[1975]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1976]	<220>	
[1977]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-9 VL CDR1
[1978]	<400>	56
[1979]		Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
[1980]	1	5 10 15
[1981]		Ala
[1982]	<210>	57
[1983]	<211>	7
[1984]	<212>	PRT
[1985]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[1986]	<220>	
[1987]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-9 VL CDR2
[1988]	<400>	57

[1989]	Phe Ala Ser Thr Arg Glu Ser
[1990]	1 5
[1991]	<210> 58
[1992]	<211> 9
[1993]	<212> PRT
[1994]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1995]	<220>
[1996]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-9 VL CDR3
[1997]	<400> 58
[1998]	Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
[1999]	1 5
[2000]	<210> 59
[2001]	<211> 10
[2002]	<212> PRT
[2003]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2004]	<220>
[2005]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-10 VH CDR1
[2006]	<400> 59
[2007]	Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Tyr Ile His
[2008]	1 5 10
[2009]	<210> 60
[2010]	<211> 17
[2011]	<212> PRT
[2012]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2013]	<220>
[2014]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-10 VH CDR2
[2015]	<400> 60
[2016]	Arg Ile Asp Val Glu Asp Asp Glu Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
[2017]	1 5 10 15
[2018]	Gly
[2019]	<210> 61
[2020]	<211> 12
[2021]	<212> PRT
[2022]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2023]	<220>
[2024]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-10 VH CDR3
[2025]	<400> 61
[2026]	Pro Ile Tyr Gly Ser Arg Glu Ala Trp Phe Ala Tyr
[2027]	1 5 10

[2028]	<210> 62
[2029]	<211> 12
[2030]	<212> PRT
[2031]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2032]	<220>
[2033]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-10 VL CDR1
[2034]	<400> 62
[2035]	Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His
[2036]	1 5 10
[2037]	<210> 63
[2038]	<211> 7
[2039]	<212> PRT
[2040]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2041]	<220>
[2042]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-10 VL CDR2
[2043]	<400> 63
[2044]	Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
[2045]	1 5
[2046]	<210> 64
[2047]	<211> 9
[2048]	<212> PRT
[2049]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2050]	<220>
[2051]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-10 VL CDR3
[2052]	<400> 64
[2053]	His Gln Tyr Tyr Arg Ser Pro Pro Thr
[2054]	1 5
[2055]	<210> 65
[2056]	<211> 10
[2057]	<212> PRT
[2058]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2059]	<220>
[2060]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-11 VH CDR1
[2061]	<400> 65
[2062]	Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Phe Gly Ile Ser
[2063]	1 5 10
[2064]	<210> 66
[2065]	<211> 17
[2066]	<212> PRT

[2067]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2068]	<220>	
[2069]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-11 VH CDR2
[2070]	<400>	66
[2071]		Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Asn Phe Lys
[2072]	1	5 10 15
[2073]		Gly
[2074]	<210>	67
[2075]	<211>	12
[2076]	<212>	PRT
[2077]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2078]	<220>	
[2079]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-11 VH CDR3
[2080]	<400>	67
[2081]		Ser Ser Gly Tyr Tyr Gly Ser Thr Pro Phe Pro Tyr
[2082]	1	5 10
[2083]	<210>	68
[2084]	<211>	11
[2085]	<212>	PRT
[2086]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2087]	<220>	
[2088]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-11 VL CDR1
[2089]	<400>	68
[2090]		Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
[2091]	1	5 10
[2092]	<210>	69
[2093]	<211>	7
[2094]	<212>	PRT
[2095]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2096]	<220>	
[2097]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-11 VL CDR2
[2098]	<400>	69
[2099]		Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
[2100]	1	5
[2101]	<210>	70
[2102]	<211>	9
[2103]	<212>	PRT
[2104]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2105]	<220>	

[2106]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-11 VL CDR3
[2107]	<400> 70
[2108]	Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr
[2109]	1 5
[2110]	<210> 71
[2111]	<211> 10
[2112]	<212> PRT
[2113]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2114]	<220>
[2115]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-12 VH CDR1
[2116]	<400> 71
[2117]	Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Ser Gly Met Ser
[2118]	1 5 10
[2119]	<210> 72
[2120]	<211> 17
[2121]	<212> PRT
[2122]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2123]	<220>
[2124]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-12 VH CDR2
[2125]	<400> 72
[2126]	Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys
[2127]	1 5 10 15
[2128]	Gly
[2129]	<210> 73
[2130]	<211> 10
[2131]	<212> PRT
[2132]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2133]	<220>
[2134]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-12 VH CDR3
[2135]	<400> 73
[2136]	Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Val Asp Phe Asp Tyr
[2137]	1 5 10
[2138]	<210> 74
[2139]	<211> 12
[2140]	<212> PRT
[2141]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2142]	<220>
[2143]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-12 VL CDR1
[2144]	<400> 74

[2145]	Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Tyr
[2146]	1 5 10
[2147]	<210> 75
[2148]	<211> 7
[2149]	<212> PRT
[2150]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2151]	<220>
[2152]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-12 VL CDR2
[2153]	<400> 75
[2154]	Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
[2155]	1 5
[2156]	<210> 76
[2157]	<211> 9
[2158]	<212> PRT
[2159]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2160]	<220>
[2161]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-12 VL CDR3
[2162]	<400> 76
[2163]	His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Arg Thr
[2164]	1 5
[2165]	<210> 77
[2166]	<211> 10
[2167]	<212> PRT
[2168]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2169]	<220>
[2170]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-14 VH CDR1
[2171]	<400> 77
[2172]	Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Gly Val His
[2173]	1 5 10
[2174]	<210> 78
[2175]	<211> 16
[2176]	<212> PRT
[2177]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2178]	<220>
[2179]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-14 VH CDR2
[2180]	<400> 78
[2181]	Leu Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Ser Pro Ala Phe Ile Ser
[2182]	1 5 10 15
[2183]	<210> 79

[2184]	<211>	12
[2185]	<212>	PRT
[2186]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2187]	<220>	
[2188]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-14 VH CDR3
[2189]	<400>	79
[2190]	Asn Ser Tyr Ser Ser Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr	
[2191]	1	5 10
[2192]	<210>	80
[2193]	<211>	11
[2194]	<212>	PRT
[2195]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2196]	<220>	
[2197]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-14 VL CDR1
[2198]	<400>	80
[2199]	Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala	
[2200]	1	5 10
[2201]	<210>	81
[2202]	<211>	7
[2203]	<212>	PRT
[2204]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2205]	<220>	
[2206]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-14 VL CDR2
[2207]	<400>	81
[2208]	Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr	
[2209]	1	5
[2210]	<210>	82
[2211]	<211>	10
[2212]	<212>	PRT
[2213]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2214]	<220>	
[2215]	<223>	实验室制备-合成的aNRP2-14 VL CDR3
[2216]	<400>	82
[2217]	Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Pro Tyr Thr	
[2218]	1	5 10
[2219]	<210>	83
[2220]	<211>	10
[2221]	<212>	PRT
[2222]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)

[2223]	<220>
[2224]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-15 VH CDR1
[2225]	<400> 83
[2226]	Gly Phe Asn Ile Lys Asp Ser Phe Ile His
[2227]	1 5 10
[2228]	<210> 84
[2229]	<211> 17
[2230]	<212> PRT
[2231]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2232]	<220>
[2233]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-15 VH CDR2
[2234]	<400> 84
[2235]	Arg Ile Asp Pro Glu Asp Asp Glu Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
[2236]	1 5 10 15
[2237]	Gly
[2238]	<210> 85
[2239]	<211> 12
[2240]	<212> PRT
[2241]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2242]	<220>
[2243]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-15 VH CDR3
[2244]	<400> 85
[2245]	Pro Ile Tyr Gly Ser Arg Glu Ala Trp Phe Ala Tyr
[2246]	1 5 10
[2247]	<210> 86
[2248]	<211> 12
[2249]	<212> PRT
[2250]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2251]	<220>
[2252]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-15 VL CDR1
[2253]	<400> 86
[2254]	Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His
[2255]	1 5 10
[2256]	<210> 87
[2257]	<211> 7
[2258]	<212> PRT
[2259]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2260]	<220>
[2261]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-15 VL CDR2

[2262]	<400> 87
[2263]	Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser
[2264]	1 5
[2265]	<210> 88
[2266]	<211> 9
[2267]	<212> PRT
[2268]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2269]	<220>
[2270]	<223> 实验室制备-合成的aNRP2-15 VL CDR3
[2271]	<400> 88
[2272]	His Gln Tyr Tyr Arg Ser Pro Pro Thr
[2273]	1 5
[2274]	<210> 89
[2275]	<211> 357
[2276]	<212> PRT
[2277]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2278]	<400> 89
[2279]	Leu Gly Met Leu Ser Gly Leu Ile Ala Asp Ser Gln Ile Ser Ala Ser
[2280]	1 5 10 15
[2281]	Ser Thr Gln Glu Tyr Leu Trp Ser Pro Ser Ala Ala Arg Leu Val Ser
[2282]	20 25 30
[2283]	Ser Arg Ser Gly Trp Phe Pro Arg Ile Pro Gln Ala Gln Pro Gly Glu
[2284]	35 40 45
[2285]	Glu Trp Leu Gln Val Asp Leu Gly Thr Pro Lys Thr Val Lys Gly Val
[2286]	50 55 60
[2287]	Ile Ile Gln Gly Ala Arg Gly Gly Asp Ser Ile Thr Ala Val Glu Ala
[2288]	65 70 75 80
[2289]	Arg Ala Phe Val Arg Lys Phe Lys Val Ser Tyr Ser Leu Asn Gly Lys
[2290]	85 90 95
[2291]	Asp Trp Glu Tyr Ile Gln Asp Pro Arg Thr Gln Gln Pro Lys Leu Phe
[2292]	100 105 110
[2293]	Glu Gly Asn Met His Tyr Asp Thr Pro Asp Ile Arg Arg Phe Asp Pro
[2294]	115 120 125
[2295]	Ile Pro Ala Gln Tyr Val Arg Val Tyr Pro Glu Arg Trp Ser Pro Ala
[2296]	130 135 140
[2297]	Gly Ile Gly Met Arg Leu Glu Val Leu Gly Cys Asp Trp Thr Asp Ser
[2298]	145 150 155 160
[2299]	Lys Pro Thr Val Glu Thr Leu Gly Pro Thr Val Lys Ser Glu Glu Thr
[2300]	165 170 175

[2301]	Thr	Thr	Pro	Tyr	Pro	Thr	Glu	Glu	Glu	Ala	Thr	Glu	Cys	Gly	Glu	Asn
[2302]				180					185					190		
[2303]	Cys	Ser	Phe	Glu	Asp	Asp	Lys	Asp	Leu	Gln	Leu	Pro	Ser	Gly	Phe	Asn
[2304]				195				200					205			
[2305]	Cys	Asn	Phe	Asp	Phe	Leu	Glu	Glu	Pro	Cys	Gly	Trp	Met	Tyr	Asp	His
[2306]		210					215					220				
[2307]	Ala	Lys	Trp	Leu	Arg	Thr	Thr	Trp	Ala	Ser	Ser	Ser	Ser	Pro	Asn	Asp
[2308]	225					230					235				240	
[2309]	Arg	Thr	Phe	Pro	Asp	Asp	Arg	Asn	Phe	Leu	Arg	Leu	Gln	Ser	Asp	Ser
[2310]					245				250						255	
[2311]	Gln	Arg	Glu	Gly	Gln	Tyr	Ala	Arg	Leu	Ile	Ser	Pro	Pro	Val	His	Leu
[2312]				260				265						270		
[2313]	Pro	Arg	Ser	Pro	Val	Cys	Met	Glu	Phe	Gln	Tyr	Gln	Ala	Thr	Gly	Gly
[2314]			275					280					285			
[2315]	Arg	Gly	Val	Ala	Leu	Gln	Val	Val	Arg	Glu	Ala	Ser	Gln	Glu	Ser	Lys
[2316]		290					295					300				
[2317]	Leu	Leu	Trp	Val	Ile	Arg	Glu	Asp	Gln	Gly	Gly	Glu	Trp	Lys	His	Gly
[2318]	305					310				315					320	
[2319]	Arg	Ile	Ile	Leu	Pro	Ser	Tyr	Asp	Met	Glu	Tyr	Gln	Ile	Val	Phe	Glu
[2320]					325					330					335	
[2321]	Gly	Val	Ile	Gly	Lys	Gly	Arg	Ser	Gly	Glu	Ile	Ala	Ile	Asp	Asp	Ile
[2322]				340					345					350		
[2323]	Arg	Ile	Ser	Thr	Asp											
[2324]			355													
[2325]	<210>	90														
[2326]	<211>	519														
[2327]	<212>	PRT														
[2328]	<213>	智人(Homo sapiens)														
[2329]	<400>	90														
[2330]	Gln	Cys	Asn	Val	Pro	Leu	Gly	Met	Glu	Ser	Gly	Arg	Ile	Ala	Asn	Glu
[2331]	1			5					10					15		
[2332]	Gln	Ile	Ser	Ala	Ser	Ser	Thr	Tyr	Ser	Asp	Gly	Arg	Trp	Thr	Pro	Gln
[2333]				20					25					30		
[2334]	Gln	Ser	Arg	Leu	His	Gly	Asp	Asp	Asn	Gly	Trp	Thr	Pro	Asn	Leu	Asp
[2335]			35					40					45			
[2336]	Ser	Asn	Lys	Glu	Tyr	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Arg	Phe	Leu	Thr	Met	Leu
[2337]		50					55					60				
[2338]	Thr	Ala	Ile	Ala	Thr	Gln	Gly	Ala	Ile	Ser	Arg	Glu	Thr	Gln	Asn	Gly
[2339]	65					70					75				80	

[2340]	Tyr	Tyr	Val	Lys	Ser	Tyr	Lys	Leu	Glu	Val	Ser	Thr	Asn	Gly	Glu	Asp
[2341]					85					90					95	
[2342]	Trp	Met	Val	Tyr	Arg	His	Gly	Lys	Asn	His	Lys	Val	Phe	Gln	Ala	Asn
[2343]					100					105					110	
[2344]	Asn	Asp	Ala	Thr	Glu	Val	Val	Leu	Asn	Lys	Leu	His	Ala	Pro	Leu	Leu
[2345]					115					120					125	
[2346]	Thr	Arg	Phe	Val	Arg	Ile	Arg	Pro	Gln	Thr	Trp	His	Ser	Gly	Ile	Ala
[2347]					130					135					140	
[2348]	Leu	Arg	Leu	Glu	Leu	Phe	Gly	Cys	Arg	Val	Thr	Asp	Ala	Pro	Cys	Ser
[2349]																
[2350]	Asn	Met	Leu	Gly	Met	Leu	Ser	Gly	Leu	Ile	Ala	Asp	Ser	Gln	Ile	Ser
[2351]					165										175	
[2352]	Ala	Ser	Ser	Thr	Gln	Glu	Tyr	Leu	Trp	Ser	Pro	Ser	Ala	Ala	Arg	Leu
[2353]					180										190	
[2354]	Val	Ser	Ser	Arg	Ser	Gly	Trp	Phe	Pro	Arg	Ile	Pro	Gln	Ala	Gln	Pro
[2355]					195										205	
[2356]	Gly	Glu	Glu	Trp	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Pro	Lys	Thr	Val	Lys
[2357]					210										220	
[2358]	Gly	Val	Ile	Ile	Gln	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Asp	Ser	Ile	Thr	Ala	Val
[2359]					225										240	
[2360]	Glu	Ala	Arg	Ala	Phe	Val	Arg	Lys	Phe	Lys	Val	Ser	Tyr	Ser	Leu	Asn
[2361]					245										255	
[2362]	Gly	Lys	Asp	Trp	Glu	Tyr	Ile	Gln	Asp	Pro	Arg	Thr	Gln	Gln	Pro	Lys
[2363]					260										270	
[2364]	Leu	Phe	Glu	Gly	Asn	Met	His	Tyr	Asp	Thr	Pro	Asp	Ile	Arg	Arg	Phe
[2365]					275										285	
[2366]	Asp	Pro	Ile	Pro	Ala	Gln	Tyr	Val	Arg	Val	Tyr	Pro	Glu	Arg	Trp	Ser
[2367]					290										300	
[2368]	Pro	Ala	Gly	Ile	Gly	Met	Arg	Leu	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Asp	Trp	Thr
[2369]					305										320	
[2370]	Asp	Ser	Lys	Pro	Thr	Val	Glu	Thr	Leu	Gly	Pro	Thr	Val	Lys	Ser	Glu
[2371]					325										335	
[2372]	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Tyr	Pro	Thr	Glu	Glu	Glu	Ala	Thr	Glu	Cys	Gly
[2373]					340										350	
[2374]	Glu	Asn	Cys	Ser	Phe	Glu	Asp	Asp	Lys	Asp	Leu	Gln	Leu	Pro	Ser	Gly
[2375]					355										365	
[2376]	Phe	Asn	Cys	Asn	Phe	Asp	Phe	Leu	Glu	Glu	Pro	Cys	Gly	Trp	Met	Tyr
[2377]					370										380	
[2378]	Asp	His	Ala	Lys	Trp	Leu	Arg	Thr	Thr	Trp	Ala	Ser	Ser	Ser	Ser	Pro

[2379]	385	390	395	400
[2380]	Asn Asp Arg Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg Leu Gln Ser			
[2381]	405	410	415	
[2382]	Asp Ser Gln Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser Pro Pro Val			
[2383]	420	425	430	
[2384]	His Leu Pro Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr Gln Ala Thr			
[2385]	435	440	445	
[2386]	Gly Gly Arg Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala Ser Gln Glu			
[2387]	450	455	460	
[2388]	Ser Lys Leu Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly Glu Trp Lys			
[2389]	465	470	475	480
[2390]	His Gly Arg Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr Gln Ile Val			
[2391]	485	490	495	
[2392]	Phe Glu Gly Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile Ala Ile Asp			
[2393]	500	505	510	
[2394]	Asp Ile Arg Ile Ser Thr Asp			
[2395]	515			
[2396]	<210> 91			
[2397]	<211> 509			
[2398]	<212> PRT			
[2399]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[2400]	<400> 91			
[2401]	Met Ala Glu Arg Ala Ala Leu Glu Glu Leu Val Lys Leu Gln Gly Glu			
[2402]	1	5	10	15
[2403]	Arg Val Arg Gly Leu Lys Gln Gln Lys Ala Ser Ala Glu Leu Ile Glu			
[2404]	20	25	30	
[2405]	Glu Glu Val Ala Lys Leu Leu Lys Leu Lys Ala Gln Leu Gly Pro Asp			
[2406]	35	40	45	
[2407]	Glu Ser Lys Gln Lys Phe Val Leu Lys Thr Pro Lys Gly Thr Arg Asp			
[2408]	50	55	60	
[2409]	Tyr Ser Pro Arg Gln Met Ala Val Arg Glu Lys Val Phe Asp Val Ile			
[2410]	65	70	75	80
[2411]	Ile Arg Cys Phe Lys Arg His Gly Ala Glu Val Ile Asp Thr Pro Val			
[2412]	85	90	95	
[2413]	Phe Glu Leu Lys Glu Thr Leu Met Gly Lys Tyr Gly Glu Asp Ser Lys			
[2414]	100	105	110	
[2415]	Leu Ile Tyr Asp Leu Lys Asp Gln Gly Gly Glu Leu Leu Ser Leu Arg			
[2416]	115	120	125	
[2417]	Tyr Asp Leu Thr Val Pro Phe Ala Arg Tyr Leu Ala Met Asn Lys Leu			

[2418]	130	135	140
[2419]	Thr Asn Ile Lys Arg Tyr His Ile Ala Lys Val Tyr Arg Arg Asp Asn		
[2420]	145	150	155
[2421]	Pro Ala Met Thr Arg Gly Arg Tyr Arg Glu Phe Tyr Gln Cys Asp Phe		
[2422]	165	170	175
[2423]	Asp Ile Ala Gly Asn Phe Asp Pro Met Ile Pro Asp Ala Glu Cys Leu		
[2424]	180	185	190
[2425]	Lys Ile Met Cys Glu Ile Leu Ser Ser Leu Gln Ile Gly Asp Phe Leu		
[2426]	195	200	205
[2427]	Val Lys Val Asn Asp Arg Arg Ile Leu Asp Gly Met Phe Ala Ile Cys		
[2428]	210	215	220
[2429]	Gly Val Ser Asp Ser Lys Phe Arg Thr Ile Cys Ser Ser Val Asp Lys		
[2430]	225	230	235
[2431]	Leu Asp Lys Val Ser Trp Glu Glu Val Lys Asn Glu Met Val Gly Glu		
[2432]	245	250	255
[2433]	Lys Gly Leu Ala Pro Glu Val Ala Asp Arg Ile Gly Asp Tyr Val Gln		
[2434]	260	265	270
[2435]	Gln His Gly Gly Val Ser Leu Val Glu Gln Leu Leu Gln Asp Pro Lys		
[2436]	275	280	285
[2437]	Leu Ser Gln Asn Lys Gln Ala Leu Glu Gly Leu Gly Asp Leu Lys Leu		
[2438]	290	295	300
[2439]	Leu Phe Glu Tyr Leu Thr Leu Phe Gly Ile Asp Asp Lys Ile Ser Phe		
[2440]	305	310	315
[2441]	Asp Leu Ser Leu Ala Arg Gly Leu Asp Tyr Tyr Thr Gly Val Ile Tyr		
[2442]	325	330	335
[2443]	Glu Ala Val Leu Leu Gln Thr Pro Ala Gln Ala Gly Glu Glu Pro Leu		
[2444]	340	345	350
[2445]	Gly Val Gly Ser Val Ala Ala Gly Gly Arg Tyr Asp Gly Leu Val Gly		
[2446]	355	360	365
[2447]	Met Phe Asp Pro Lys Gly Arg Lys Val Pro Cys Val Gly Leu Ser Ile		
[2448]	370	375	380
[2449]	Gly Val Glu Arg Ile Phe Ser Ile Val Glu Gln Arg Leu Glu Ala Leu		
[2450]	385	390	395
[2451]	Glu Glu Lys Ile Arg Thr Thr Glu Thr Gln Val Leu Val Ala Ser Ala		
[2452]	405	410	415
[2453]	Gln Lys Lys Leu Leu Glu Glu Arg Leu Lys Leu Val Ser Glu Leu Trp		
[2454]	420	425	430
[2455]	Asp Ala Gly Ile Lys Ala Glu Leu Leu Tyr Lys Lys Asn Pro Lys Leu		
[2456]	435	440	445

[2457]	Leu Asn Gln Leu Gln Tyr Cys Glu Glu Ala Gly Ile Pro Leu Val Ala
[2458]	450 455 460
[2459]	Ile Ile Gly Glu Gln Glu Leu Lys Asp Gly Val Ile Lys Leu Arg Ser
[2460]	465 470 475 480
[2461]	Val Thr Ser Arg Glu Glu Val Asp Val Arg Arg Glu Asp Leu Val Glu
[2462]	485 490 495
[2463]	Glu Ile Lys Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Cys Ile Cys
[2464]	500 505
[2465]	<210> 92
[2466]	<211> 141
[2467]	<212> PRT
[2468]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2469]	<400> 92
[2470]	Met Ala Glu Arg Ala Ala Leu Glu Glu Leu Val Lys Leu Gln Gly Glu
[2471]	1 5 10 15
[2472]	Arg Val Arg Gly Leu Lys Gln Gln Lys Ala Ser Ala Glu Leu Ile Glu
[2473]	20 25 30
[2474]	Glu Glu Val Ala Lys Leu Leu Lys Leu Lys Ala Gln Leu Gly Pro Asp
[2475]	35 40 45
[2476]	Glu Ser Lys Gln Lys Phe Val Leu Lys Thr Pro Lys Gly Thr Arg Asp
[2477]	50 55 60
[2478]	Tyr Ser Pro Arg Gln Met Ala Val Arg Glu Lys Val Phe Asp Val Ile
[2479]	65 70 75 80
[2480]	Ile Arg Cys Phe Lys Arg His Gly Ala Glu Val Ile Asp Thr Pro Val
[2481]	85 90 95
[2482]	Phe Glu Leu Lys Glu Thr Leu Met Gly Lys Tyr Gly Glu Asp Ser Lys
[2483]	100 105 110
[2484]	Leu Ile Tyr Asp Leu Lys Asp Gln Gly Gly Glu Leu Leu Ser Leu Arg
[2485]	115 120 125
[2486]	Tyr Asp Leu Thr Val Pro Phe Ala Arg Tyr Leu Ala Met
[2487]	130 135 140
[2488]	<210> 93
[2489]	<211> 408
[2490]	<212> PRT
[2491]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2492]	<400> 93
[2493]	Met Ala Glu Arg Ala Ala Leu Glu Glu Leu Val Lys Leu Gln Gly Glu
[2494]	1 5 10 15
[2495]	Arg Val Arg Gly Leu Lys Gln Gln Lys Ala Ser Ala Glu Leu Ile Glu

[2496]	20	25	30
[2497]	Glu Glu Val Ala Lys Leu Leu Lys Leu Lys Ala Gln Leu Gly Pro Asp		
[2498]	35	40	45
[2499]	Glu Ser Lys Gln Lys Phe Val Leu Lys Thr Pro Lys Gly Thr Arg Asp		
[2500]	50	55	60
[2501]	Tyr Ser Pro Arg Gln Met Ala Val Arg Glu Lys Val Phe Asp Val Ile		
[2502]	65	70	75
[2503]	Ile Arg Cys Phe Lys Arg His Gly Ala Glu Val Ile Asp Thr Pro Val		
[2504]	85	90	95
[2505]	Phe Glu Leu Lys Glu Thr Leu Met Gly Lys Tyr Gly Glu Asp Ser Lys		
[2506]	100	105	110
[2507]	Leu Ile Tyr Asp Leu Lys Asp Gln Gly Gly Glu Leu Leu Ser Leu Arg		
[2508]	115	120	125
[2509]	Tyr Asp Leu Thr Val Pro Phe Ala Arg Tyr Leu Ala Met Asn Lys Leu		
[2510]	130	135	140
[2511]	Thr Asn Ile Lys Arg Tyr His Ile Ala Lys Val Tyr Arg Arg Asp Asn		
[2512]	145	150	155
[2513]	Pro Ala Met Thr Arg Gly Arg Tyr Arg Glu Phe Tyr Gln Cys Asp Phe		
[2514]	165	170	175
[2515]	Asp Ile Ala Gly Asn Phe Asp Pro Met Ile Pro Asp Ala Glu Cys Leu		
[2516]	180	185	190
[2517]	Lys Ile Met Cys Glu Ile Leu Ser Ser Leu Gln Ile Gly Asp Phe Leu		
[2518]	195	200	205
[2519]	Val Lys Val Asn Asp Arg Arg Ile Leu Asp Gly Met Phe Ala Ile Cys		
[2520]	210	215	220
[2521]	Gly Val Ser Asp Ser Lys Phe Arg Thr Ile Cys Ser Ser Val Asp Lys		
[2522]	225	230	235
[2523]	Leu Asp Lys Val Ser Trp Glu Glu Val Lys Asn Glu Met Val Gly Glu		
[2524]	245	250	255
[2525]	Lys Gly Leu Ala Pro Glu Val Ala Asp Arg Ile Gly Asp Tyr Val Gln		
[2526]	260	265	270
[2527]	Gln His Gly Gly Val Ser Leu Val Glu Gln Leu Leu Gln Asp Pro Lys		
[2528]	275	280	285
[2529]	Leu Ser Gln Asn Lys Gln Ala Leu Glu Gly Leu Gly Asp Leu Lys Leu		
[2530]	290	295	300
[2531]	Leu Phe Glu Tyr Leu Thr Leu Phe Gly Ile Asp Asp Lys Ile Ser Phe		
[2532]	305	310	315
[2533]	Asp Leu Ser Leu Ala Arg Gly Leu Asp Tyr Tyr Thr Gly Val Ile Tyr		
[2534]	325	330	335

[2535]	Glu Ala Val Leu Leu Gln Thr Pro Ala Gln Ala Gly Glu Glu Pro Leu
[2536]	340 345 350
[2537]	Gly Val Gly Ser Val Ala Ala Gly Gly Arg Tyr Asp Gly Leu Val Gly
[2538]	355 360 365
[2539]	Met Phe Asp Pro Lys Gly Arg Lys Val Pro Cys Val Gly Leu Ser Ile
[2540]	370 375 380
[2541]	Gly Val Glu Arg Ile Phe Ser Ile Val Glu Gln Arg Leu Glu Ala Leu
[2542]	385 390 395 400
[2543]	Glu Glu Lys Ile Arg Thr Thr Glu
[2544]	405
[2545]	<210> 94
[2546]	<211> 113
[2547]	<212> PRT
[2548]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2549]	<400> 94
[2550]	Met Ala Glu Arg Ala Ala Leu Glu Glu Leu Val Lys Leu Gln Gly Glu
[2551]	1 5 10 15
[2552]	Arg Val Arg Gly Leu Lys Gln Gln Lys Ala Ser Ala Glu Leu Ile Glu
[2553]	20 25 30
[2554]	Glu Glu Val Ala Lys Leu Leu Lys Leu Lys Ala Gln Leu Gly Pro Asp
[2555]	35 40 45
[2556]	Glu Ser Lys Gln Lys Phe Val Leu Lys Thr Pro Lys Gly Thr Arg Asp
[2557]	50 55 60
[2558]	Tyr Ser Pro Arg Gln Met Ala Val Arg Glu Lys Val Phe Asp Val Ile
[2559]	65 70 75 80
[2560]	Ile Arg Cys Phe Lys Arg His Gly Ala Glu Val Ile Asp Thr Pro Val
[2561]	85 90 95
[2562]	Phe Glu Leu Lys Glu Thr Leu Met Gly Lys Tyr Gly Glu Asp Ser Lys
[2563]	100 105 110
[2564]	Leu
[2565]	<210> 95
[2566]	<211> 60
[2567]	<212> PRT
[2568]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2569]	<400> 95
[2570]	Met Ala Glu Arg Ala Ala Leu Glu Glu Leu Val Lys Leu Gln Gly Glu
[2571]	1 5 10 15
[2572]	Arg Val Arg Gly Leu Lys Gln Gln Lys Ala Ser Ala Glu Leu Ile Glu
[2573]	20 25 30

[2574]	Glu Glu Val Ala Lys Leu Leu Lys Leu Lys Ala Gln Leu Gly Pro Asp
[2575]	35 40 45
[2576]	Glu Ser Lys Gln Lys Phe Val Leu Lys Thr Pro Lys
[2577]	50 55 60
[2578]	<210> 96
[2579]	<211> 270
[2580]	<212> PRT
[2581]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2582]	<400> 96
[2583]	Met Ala Glu Arg Ala Ala Leu Glu Glu Leu Val Lys Leu Gln Gly Glu
[2584]	1 5 10 15
[2585]	Arg Val Arg Gly Leu Lys Gln Gln Lys Ala Ser Ala Glu Leu Ile Glu
[2586]	20 25 30
[2587]	Glu Glu Val Ala Lys Leu Leu Lys Leu Lys Ala Gln Leu Gly Pro Asp
[2588]	35 40 45
[2589]	Glu Ser Lys Gln Lys Phe Val Leu Lys Thr Pro Lys Gly Thr Arg Asp
[2590]	50 55 60
[2591]	Tyr Ser Pro Arg Gln Met Ala Val Arg Glu Lys Val Phe Asp Val Ile
[2592]	65 70 75 80
[2593]	Ile Arg Cys Phe Lys Arg His Gly Ala Glu Val Ile Asp Thr Pro Val
[2594]	85 90 95
[2595]	Phe Glu Leu Lys Glu Thr Leu Met Gly Lys Tyr Gly Glu Asp Ser Lys
[2596]	100 105 110
[2597]	Leu Ile Tyr Asp Leu Lys Asp Gln Gly Gly Glu Leu Leu Ser Leu Arg
[2598]	115 120 125
[2599]	Tyr Asp Leu Thr Val Pro Phe Ala Arg Tyr Leu Ala Met Asn Lys Leu
[2600]	130 135 140
[2601]	Thr Asn Ile Lys Arg Tyr His Ile Ala Lys Val Tyr Arg Arg Asp Asn
[2602]	145 150 155 160
[2603]	Pro Ala Met Thr Arg Gly Arg Tyr Arg Glu Phe Tyr Gln Cys Asp Phe
[2604]	165 170 175
[2605]	Asp Ile Ala Gly Asn Phe Asp Pro Met Ile Pro Asp Ala Glu Cys Leu
[2606]	180 185 190
[2607]	Lys Ile Met Cys Glu Ile Leu Ser Ser Leu Gln Ile Gly Asp Phe Leu
[2608]	195 200 205
[2609]	Val Lys Val Asn Asp Arg Arg Ile Leu Asp Gly Met Phe Ala Ile Cys
[2610]	210 215 220
[2611]	Gly Val Ser Asp Ser Lys Phe Arg Thr Ile Cys Ser Ser Val Asp Lys
[2612]	225 230 235 240

[2613]	Leu	Asp	Lys	Val	Gly	Tyr	Pro	Trp	Trp	Asn	Ser	Cys	Ser	Arg	Ile	Leu
[2614]					245					250					255	
[2615]	Asn	Tyr	Pro	Lys	Thr	Ser	Arg	Pro	Trp	Arg	Ala	Trp	Glu	Thr		
[2616]					260					265					270	
[2617]	<210> 97															
[2618]	<211> 105															
[2619]	<212> PRT															
[2620]	<213> 智人(Homo sapiens)															
[2621]	<400> 97															
[2622]	Arg	Thr	Thr	Glu	Thr	Gln	Val	Leu	Val	Ala	Ser	Ala	Gln	Lys	Lys	Leu
[2623]	1				5					10					15	
[2624]	Leu	Glu	Glu	Arg	Leu	Lys	Leu	Val	Ser	Glu	Leu	Trp	Asp	Ala	Gly	Ile
[2625]					20					25					30	
[2626]	Lys	Ala	Glu	Leu	Leu	Tyr	Lys	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Leu	Asn	Gln	Leu
[2627]					35					40					45	
[2628]	Gln	Tyr	Cys	Glu	Glu	Ala	Gly	Ile	Pro	Leu	Val	Ala	Ile	Ile	Gly	Glu
[2629]					50					55					60	
[2630]	Gln	Glu	Leu	Lys	Asp	Gly	Val	Ile	Lys	Leu	Arg	Ser	Val	Thr	Ser	Arg
[2631]	65					70					75					80
[2632]	Glu	Glu	Val	Asp	Val	Arg	Arg	Glu	Asp	Leu	Val	Glu	Glu	Ile	Lys	Arg
[2633]						85					90					95
[2634]	Arg	Thr	Gly	Gln	Pro	Leu	Cys	Ile	Cys							
[2635]					100					105						
[2636]	<210> 98															
[2637]	<211> 395															
[2638]	<212> PRT															
[2639]	<213> 智人(Homo sapiens)															
[2640]	<400> 98															
[2641]	Met	Ala	Glu	Arg	Ala	Ala	Leu	Glu	Glu	Leu	Val	Lys	Leu	Gln	Gly	Glu
[2642]	1				5					10					15	
[2643]	Arg	Val	Arg	Gly	Leu	Lys	Gln	Gln	Lys	Ala	Ser	Ala	Glu	Leu	Ile	Glu
[2644]					20					25					30	
[2645]	Glu	Glu	Val	Ala	Lys	Leu	Leu	Lys	Leu	Lys	Ala	Gln	Leu	Gly	Pro	Asp
[2646]					35					40					45	
[2647]	Glu	Ser	Lys	Gln	Lys	Phe	Val	Leu	Lys	Thr	Pro	Lys	Asp	Phe	Asp	Ile
[2648]					50					55					60	
[2649]	Ala	Gly	Asn	Phe	Asp	Pro	Met	Ile	Pro	Asp	Ala	Glu	Cys	Leu	Lys	Ile
[2650]	65					70					75					80
[2651]	Met	Cys	Glu	Ile	Leu	Ser	Ser	Leu	Gln	Ile	Gly	Asp	Phe	Leu	Val	Lys

[2652]					85					90					95				
[2653]	Val	Asn	Asp	Arg	Arg	Ile	Leu	Asp	Gly	Met	Phe	Ala	Ile	Cys	Gly	Val			
[2654]					100					105					110				
[2655]	Ser	Asp	Ser	Lys	Phe	Arg	Thr	Ile	Cys	Ser	Ser	Val	Asp	Lys	Leu	Asp			
[2656]					115					120					125				
[2657]	Lys	Val	Ser	Trp	Glu	Glu	Val	Lys	Asn	Glu	Met	Val	Gly	Glu	Lys	Gly			
[2658]					130					135					140				
[2659]	Leu	Ala	Pro	Glu	Val	Ala	Asp	Arg	Ile	Gly	Asp	Tyr	Val	Gln	Gln	His			
[2660]	145								150					155					160
[2661]	Gly	Gly	Val	Ser	Leu	Val	Glu	Gln	Leu	Leu	Gln	Asp	Pro	Lys	Leu	Ser			
[2662]					165					170					175				
[2663]	Gln	Asn	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Gly	Leu	Gly	Asp	Leu	Lys	Leu	Leu	Phe			
[2664]					180					185					190				
[2665]	Glu	Tyr	Leu	Thr	Leu	Phe	Gly	Ile	Asp	Asp	Lys	Ile	Ser	Phe	Asp	Leu			
[2666]					195					200					205				
[2667]	Ser	Leu	Ala	Arg	Gly	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Thr	Gly	Val	Ile	Tyr	Glu	Ala			
[2668]					210					215					220				
[2669]	Val	Leu	Leu	Gln	Thr	Pro	Ala	Gln	Ala	Gly	Glu	Glu	Pro	Leu	Gly	Val			
[2670]	225								230					235					240
[2671]	Gly	Ser	Val	Ala	Ala	Gly	Gly	Arg	Tyr	Asp	Gly	Leu	Val	Gly	Met	Phe			
[2672]					245					250					255				
[2673]	Asp	Pro	Lys	Gly	Arg	Lys	Val	Pro	Cys	Val	Gly	Leu	Ser	Ile	Gly	Val			
[2674]					260					265					270				
[2675]	Glu	Arg	Ile	Phe	Ser	Ile	Val	Glu	Gln	Arg	Leu	Glu	Ala	Leu	Glu	Glu			
[2676]					275					280					285				
[2677]	Lys	Ile	Arg	Thr	Thr	Glu	Thr	Gln	Val	Leu	Val	Ala	Ser	Ala	Gln	Lys			
[2678]					290					295					300				
[2679]	Lys	Leu	Leu	Glu	Glu	Arg	Leu	Lys	Leu	Val	Ser	Glu	Leu	Trp	Asp	Ala			
[2680]	305								310					315					320
[2681]	Gly	Ile	Lys	Ala	Glu	Leu	Leu	Tyr	Lys	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Leu	Asn			
[2682]					325					330					335				
[2683]	Gln	Leu	Gln	Tyr	Cys	Glu	Glu	Ala	Gly	Ile	Pro	Leu	Val	Ala	Ile	Ile			
[2684]					340					345					350				
[2685]	Gly	Glu	Gln	Glu	Leu	Lys	Asp	Gly	Val	Ile	Lys	Leu	Arg	Ser	Val	Thr			
[2686]					355					360					365				
[2687]	Ser	Arg	Glu	Glu	Val	Asp	Val	Arg	Arg	Glu	Asp	Leu	Val	Glu	Glu	Ile			
[2688]					370					375					380				
[2689]	Lys	Arg	Arg	Thr	Gly	Gln	Pro	Leu	Cys	Ile	Cys								
[2690]	385								390						395				

[2691]	<210> 99															
[2692]	<211> 399															
[2693]	<212> PRT															
[2694]	<213> 智人(Homo sapiens)															
[2695]	<400> 99															
[2696]	Met	Ala	Glu	Arg	Ala	Ala	Leu	Glu	Glu	Leu	Val	Lys	Leu	Gln	Gly	Glu
[2697]	1				5					10					15	
[2698]	Arg	Val	Arg	Gly	Leu	Lys	Gln	Gln	Lys	Ala	Ser	Ala	Glu	Leu	Ile	Glu
[2699]				20					25					30		
[2700]	Glu	Glu	Val	Ala	Lys	Leu	Leu	Lys	Leu	Lys	Ala	Gln	Leu	Gly	Pro	Asp
[2701]			35					40					45			
[2702]	Glu	Ser	Lys	Gln	Lys	Phe	Val	Leu	Lys	Thr	Pro	Lys	Gly	Thr	Arg	Asp
[2703]		50					55					60				
[2704]	Tyr	Ser	Pro	Arg	Gln	Met	Ala	Val	Arg	Glu	Lys	Val	Phe	Asp	Val	Ile
[2705]	65					70				75						80
[2706]	Ile	Arg	Cys	Phe	Lys	Arg	His	Gly	Ala	Glu	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Val
[2707]					85					90					95	
[2708]	Phe	Glu	Leu	Lys	Val	Asn	Asp	Arg	Arg	Ile	Leu	Asp	Gly	Met	Phe	Ala
[2709]				100					105					110		
[2710]	Ile	Cys	Gly	Val	Ser	Asp	Ser	Lys	Phe	Arg	Thr	Ile	Cys	Ser	Ser	Val
[2711]			115					120					125			
[2712]	Asp	Lys	Leu	Asp	Lys	Val	Ser	Trp	Glu	Glu	Val	Lys	Asn	Glu	Met	Val
[2713]		130					135					140				
[2714]	Gly	Glu	Lys	Gly	Leu	Ala	Pro	Glu	Val	Ala	Asp	Arg	Ile	Gly	Asp	Tyr
[2715]	145					150					155					160
[2716]	Val	Gln	Gln	His	Gly	Gly	Val	Ser	Leu	Val	Glu	Gln	Leu	Leu	Gln	Asp
[2717]					165					170					175	
[2718]	Pro	Lys	Leu	Ser	Gln	Asn	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Gly	Leu	Gly	Asp	Leu
[2719]				180					185					190		
[2720]	Lys	Leu	Leu	Phe	Glu	Tyr	Leu	Thr	Leu	Phe	Gly	Ile	Asp	Asp	Lys	Ile
[2721]			195					200					205			
[2722]	Ser	Phe	Asp	Leu	Ser	Leu	Ala	Arg	Gly	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Thr	Gly	Val
[2723]		210					215					220				
[2724]	Ile	Tyr	Glu	Ala	Val	Leu	Leu	Gln	Thr	Pro	Ala	Gln	Ala	Gly	Glu	Glu
[2725]	225					230					235					240
[2726]	Pro	Leu	Gly	Val	Gly	Ser	Val	Ala	Ala	Gly	Gly	Arg	Tyr	Asp	Gly	Leu
[2727]					245					250					255	
[2728]	Val	Gly	Met	Phe	Asp	Pro	Lys	Gly	Arg	Lys	Val	Pro	Cys	Val	Gly	Leu
[2729]				260					265					270		

[2730]	Ser Ile Gly Val Glu Arg Ile Phe Ser Ile Val Glu Gln Arg Leu Glu		
[2731]	275	280	285
[2732]	Ala Leu Glu Glu Lys Ile Arg Thr Thr Glu Thr Gln Val Leu Val Ala		
[2733]	290	295	300
[2734]	Ser Ala Gln Lys Lys Leu Leu Glu Glu Arg Leu Lys Leu Val Ser Glu		
[2735]	305	310	315
[2736]	Leu Trp Asp Ala Gly Ile Lys Ala Glu Leu Leu Tyr Lys Lys Asn Pro		
[2737]	325	330	335
[2738]	Lys Leu Leu Asn Gln Leu Gln Tyr Cys Glu Glu Ala Gly Ile Pro Leu		
[2739]	340	345	350
[2740]	Val Ala Ile Ile Gly Glu Gln Glu Leu Lys Asp Gly Val Ile Lys Leu		
[2741]	355	360	365
[2742]	Arg Ser Val Thr Ser Arg Glu Glu Val Asp Val Arg Arg Glu Asp Leu		
[2743]	370	375	380
[2744]	Val Glu Glu Ile Lys Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Cys Ile Cys		
[2745]	385	390	395
[2746]	<210> 100		
[2747]	<211> 473		
[2748]	<212> PRT		
[2749]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[2750]	<400> 100		
[2751]	Met Ala Glu Arg Ala Ala Leu Glu Glu Leu Val Lys Leu Gln Gly Glu		
[2752]	1	5	10
[2753]	Arg Val Arg Gly Leu Lys Gln Gln Lys Ala Ser Ala Glu Leu Ile Glu		
[2754]	20	25	30
[2755]	Glu Glu Val Ala Lys Leu Leu Lys Leu Lys Ala Gln Leu Gly Pro Asp		
[2756]	35	40	45
[2757]	Glu Ser Lys Gln Lys Phe Val Leu Lys Thr Pro Lys Gly Thr Arg Asp		
[2758]	50	55	60
[2759]	Tyr Ser Pro Arg Gln Met Ala Val Arg Glu Lys Val Phe Asp Val Ile		
[2760]	65	70	75
[2761]	Ile Arg Cys Phe Lys Arg His Gly Ala Glu Val Ile Asp Thr Pro Val		
[2762]	85	90	95
[2763]	Phe Glu Leu Lys Glu Thr Leu Met Gly Lys Tyr Gly Glu Asp Ser Lys		
[2764]	100	105	110
[2765]	Leu Ile Tyr Asp Leu Lys Asp Gln Gly Gly Glu Leu Leu Ser Leu Arg		
[2766]	115	120	125
[2767]	Tyr Asp Leu Thr Val Pro Phe Ala Arg Tyr Leu Ala Met Asn Lys Leu		
[2768]	130	135	140

[2769]	Thr	Asn	Ile	Lys	Arg	Tyr	His	Ile	Ala	Lys	Val	Tyr	Arg	Arg	Asp	Asn
[2770]	145					150					155					160
[2771]	Pro	Ala	Met	Thr	Arg	Gly	Arg	Tyr	Arg	Glu	Phe	Tyr	Gln	Cys	Val	Asn
[2772]					165					170					175	
[2773]	Asp	Arg	Arg	Ile	Leu	Asp	Gly	Met	Phe	Ala	Ile	Cys	Gly	Val	Ser	Asp
[2774]				180					185					190		
[2775]	Ser	Lys	Phe	Arg	Thr	Ile	Cys	Ser	Ser	Val	Asp	Lys	Leu	Asp	Lys	Val
[2776]			195					200					205			
[2777]	Ser	Trp	Glu	Glu	Val	Lys	Asn	Glu	Met	Val	Gly	Glu	Lys	Gly	Leu	Ala
[2778]		210					215					220				
[2779]	Pro	Glu	Val	Ala	Asp	Arg	Ile	Gly	Asp	Tyr	Val	Gln	Gln	His	Gly	Gly
[2780]	225					230					235					240
[2781]	Val	Ser	Leu	Val	Glu	Gln	Leu	Leu	Gln	Asp	Pro	Lys	Leu	Ser	Gln	Asn
[2782]				245					250						255	
[2783]	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Gly	Leu	Gly	Asp	Leu	Lys	Leu	Leu	Phe	Glu	Tyr
[2784]			260					265						270		
[2785]	Leu	Thr	Leu	Phe	Gly	Ile	Asp	Asp	Lys	Ile	Ser	Phe	Asp	Leu	Ser	Leu
[2786]			275					280					285			
[2787]	Ala	Arg	Gly	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Thr	Gly	Val	Ile	Tyr	Glu	Ala	Val	Leu
[2788]		290					295					300				
[2789]	Leu	Gln	Thr	Pro	Ala	Gln	Ala	Gly	Glu	Glu	Pro	Leu	Gly	Val	Gly	Ser
[2790]	305					310					315					320
[2791]	Val	Ala	Ala	Gly	Gly	Arg	Tyr	Asp	Gly	Leu	Val	Gly	Met	Phe	Asp	Pro
[2792]				325					330					335		
[2793]	Lys	Gly	Arg	Lys	Val	Pro	Cys	Val	Gly	Leu	Ser	Ile	Gly	Val	Glu	Arg
[2794]			340						345					350		
[2795]	Ile	Phe	Ser	Ile	Val	Glu	Gln	Arg	Leu	Glu	Ala	Leu	Glu	Glu	Lys	Ile
[2796]			355				360						365			
[2797]	Arg	Thr	Thr	Glu	Thr	Gln	Val	Leu	Val	Ala	Ser	Ala	Gln	Lys	Lys	Leu
[2798]		370					375					380				
[2799]	Leu	Glu	Glu	Arg	Leu	Lys	Leu	Val	Ser	Glu	Leu	Trp	Asp	Ala	Gly	Ile
[2800]	385					390					395					400
[2801]	Lys	Ala	Glu	Leu	Leu	Tyr	Lys	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Leu	Asn	Gln	Leu
[2802]				405					410					415		
[2803]	Gln	Tyr	Cys	Glu	Glu	Ala	Gly	Ile	Pro	Leu	Val	Ala	Ile	Ile	Gly	Glu
[2804]				420				425					430			
[2805]	Gln	Glu	Leu	Lys	Asp	Gly	Val	Ile	Lys	Leu	Arg	Ser	Val	Thr	Ser	Arg
[2806]			435					440					445			
[2807]	Glu	Glu	Val	Asp	Val	Arg	Arg	Glu	Asp	Leu	Val	Glu	Glu	Ile	Lys	Arg

[2808]	450	455	460
[2809]	Arg Thr Gly Gln Pro Leu Cys Ile Cys		
[2810]	465	470	
[2811]	<210> 101		
[2812]	<211> 469		
[2813]	<212> PRT		
[2814]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[2815]	<400> 101		
[2816]	Met Ala Glu Arg Ala Ala Leu Glu Glu Leu Val Lys Leu Gln Gly Glu		
[2817]	1	5	10
[2818]	Arg Val Arg Gly Leu Lys Gln Gln Lys Ala Ser Ala Glu Leu Ile Glu		15
[2819]	20	25	30
[2820]	Glu Glu Val Ala Lys Leu Leu Lys Leu Lys Ala Gln Leu Gly Pro Asp		
[2821]	35	40	45
[2822]	Glu Ser Lys Gln Lys Phe Val Leu Lys Thr Pro Lys Glu Thr Leu Met		
[2823]	50	55	60
[2824]	Gly Lys Tyr Gly Glu Asp Ser Lys Leu Ile Tyr Asp Leu Lys Asp Gln		
[2825]	65	70	75
[2826]	Gly Gly Glu Leu Leu Ser Leu Arg Tyr Asp Leu Thr Val Pro Phe Ala		80
[2827]	85	90	95
[2828]	Arg Tyr Leu Ala Met Asn Lys Leu Thr Asn Ile Lys Arg Tyr His Ile		
[2829]	100	105	110
[2830]	Ala Lys Val Tyr Arg Arg Asp Asn Pro Ala Met Thr Arg Gly Arg Tyr		
[2831]	115	120	125
[2832]	Arg Glu Phe Tyr Gln Cys Asp Phe Asp Ile Ala Gly Asn Phe Asp Pro		
[2833]	130	135	140
[2834]	Met Ile Pro Asp Ala Glu Cys Leu Lys Ile Met Cys Glu Ile Leu Ser		
[2835]	145	150	155
[2836]	Ser Leu Gln Ile Gly Asp Phe Leu Val Lys Val Asn Asp Arg Arg Ile		
[2837]	165	170	175
[2838]	Leu Asp Gly Met Phe Ala Ile Cys Gly Val Ser Asp Ser Lys Phe Arg		
[2839]	180	185	190
[2840]	Thr Ile Cys Ser Ser Val Asp Lys Leu Asp Lys Val Ser Trp Glu Glu		
[2841]	195	200	205
[2842]	Val Lys Asn Glu Met Val Gly Glu Lys Gly Leu Ala Pro Glu Val Ala		
[2843]	210	215	220
[2844]	Asp Arg Ile Gly Asp Tyr Val Gln Gln His Gly Gly Val Ser Leu Val		
[2845]	225	230	235
[2846]	Glu Gln Leu Leu Gln Asp Pro Lys Leu Ser Gln Asn Lys Gln Ala Leu		240

[2847]		245		250		255
[2848]	Glu Gly Leu Gly Asp Leu Lys Leu Leu Phe Glu Tyr Leu Thr Leu Phe					
[2849]		260		265		270
[2850]	Gly Ile Asp Asp Lys Ile Ser Phe Asp Leu Ser Leu Ala Arg Gly Leu					
[2851]		275		280		285
[2852]	Asp Tyr Tyr Thr Gly Val Ile Tyr Glu Ala Val Leu Leu Gln Thr Pro					
[2853]		290		295		300
[2854]	Ala Gln Ala Gly Glu Glu Pro Leu Gly Val Gly Ser Val Ala Ala Gly					
[2855]	305		310		315	320
[2856]	Gly Arg Tyr Asp Gly Leu Val Gly Met Phe Asp Pro Lys Gly Arg Lys					
[2857]		325		330		335
[2858]	Val Pro Cys Val Gly Leu Ser Ile Gly Val Glu Arg Ile Phe Ser Ile					
[2859]		340		345		350
[2860]	Val Glu Gln Arg Leu Glu Ala Leu Glu Glu Lys Ile Arg Thr Thr Glu					
[2861]		355		360		365
[2862]	Thr Gln Val Leu Val Ala Ser Ala Gln Lys Lys Leu Leu Glu Glu Arg					
[2863]		370		375		380
[2864]	Leu Lys Leu Val Ser Glu Leu Trp Asp Ala Gly Ile Lys Ala Glu Leu					
[2865]	385		390		395	400
[2866]	Leu Tyr Lys Lys Asn Pro Lys Leu Leu Asn Gln Leu Gln Tyr Cys Glu					
[2867]		405		410		415
[2868]	Glu Ala Gly Ile Pro Leu Val Ala Ile Ile Gly Glu Gln Glu Leu Lys					
[2869]		420		425		430
[2870]	Asp Gly Val Ile Lys Leu Arg Ser Val Thr Ser Arg Glu Glu Val Asp					
[2871]		435		440		445
[2872]	Val Arg Arg Glu Asp Leu Val Glu Glu Ile Lys Arg Arg Thr Gly Gln					
[2873]		450		455		460
[2874]	Pro Leu Cys Ile Cys					
[2875]	465					
[2876]	<210> 102					
[2877]	<211> 435					
[2878]	<212> PRT					
[2879]	<213> 智人(Homo sapiens)					
[2880]	<400> 102					
[2881]	Met Ala Glu Arg Ala Ala Leu Glu Glu Leu Val Lys Leu Gln Gly Glu					
[2882]	1	5		10		15
[2883]	Arg Val Arg Gly Leu Lys Gln Gln Lys Ala Ser Ala Glu Leu Ile Glu					
[2884]		20		25		30
[2885]	Glu Glu Val Ala Lys Leu Leu Lys Leu Lys Ala Gln Leu Gly Pro Asp					

[2886]	35	40	45
[2887]	Glu Ser Lys Gln Lys Phe Val Leu Lys Thr Pro Lys Gly Thr Arg Asp		
[2888]	50	55	60
[2889]	Tyr Ser Pro Arg Gln Met Ala Val Arg Glu Lys Val Phe Asp Val Ile		
[2890]	65	70	75
[2891]	Ile Arg Cys Phe Lys Arg His Gly Ala Glu Val Ile Asp Thr Pro Val		
[2892]	85	90	95
[2893]	Phe Glu Leu Lys Asp Phe Asp Ile Ala Gly Asn Phe Asp Pro Met Ile		
[2894]	100	105	110
[2895]	Pro Asp Ala Glu Cys Leu Lys Ile Met Cys Glu Ile Leu Ser Ser Leu		
[2896]	115	120	125
[2897]	Gln Ile Gly Asp Phe Leu Val Lys Val Asn Asp Arg Arg Ile Leu Asp		
[2898]	130	135	140
[2899]	Gly Met Phe Ala Ile Cys Gly Val Ser Asp Ser Lys Phe Arg Thr Ile		
[2900]	145	150	155
[2901]	Cys Ser Ser Val Asp Lys Leu Asp Lys Val Ser Trp Glu Glu Val Lys		
[2902]	165	170	175
[2903]	Asn Glu Met Val Gly Glu Lys Gly Leu Ala Pro Glu Val Ala Asp Arg		
[2904]	180	185	190
[2905]	Ile Gly Asp Tyr Val Gln Gln His Gly Gly Val Ser Leu Val Glu Gln		
[2906]	195	200	205
[2907]	Leu Leu Gln Asp Pro Lys Leu Ser Gln Asn Lys Gln Ala Leu Glu Gly		
[2908]	210	215	220
[2909]	Leu Gly Asp Leu Lys Leu Leu Phe Glu Tyr Leu Thr Leu Phe Gly Ile		
[2910]	225	230	235
[2911]	Asp Asp Lys Ile Ser Phe Asp Leu Ser Leu Ala Arg Gly Leu Asp Tyr		
[2912]	245	250	255
[2913]	Tyr Thr Gly Val Ile Tyr Glu Ala Val Leu Leu Gln Thr Pro Ala Gln		
[2914]	260	265	270
[2915]	Ala Gly Glu Glu Pro Leu Gly Val Gly Ser Val Ala Ala Gly Gly Arg		
[2916]	275	280	285
[2917]	Tyr Asp Gly Leu Val Gly Met Phe Asp Pro Lys Gly Arg Lys Val Pro		
[2918]	290	295	300
[2919]	Cys Val Gly Leu Ser Ile Gly Val Glu Arg Ile Phe Ser Ile Val Glu		
[2920]	305	310	315
[2921]	Gln Arg Leu Glu Ala Leu Glu Glu Lys Ile Arg Thr Thr Glu Thr Gln		
[2922]	325	330	335
[2923]	Val Leu Val Ala Ser Ala Gln Lys Lys Leu Leu Glu Glu Arg Leu Lys		
[2924]	340	345	350

[2925]	Leu Val Ser Glu Leu Trp Asp Ala Gly Ile Lys Ala Glu Leu Leu Tyr
[2926]	355 360 365
[2927]	Lys Lys Asn Pro Lys Leu Leu Asn Gln Leu Gln Tyr Cys Glu Glu Ala
[2928]	370 375 380
[2929]	Gly Ile Pro Leu Val Ala Ile Ile Gly Glu Gln Glu Leu Lys Asp Gly
[2930]	385 390 395 400
[2931]	Val Ile Lys Leu Arg Ser Val Thr Ser Arg Glu Glu Val Asp Val Arg
[2932]	405 410 415
[2933]	Arg Glu Asp Leu Val Glu Glu Ile Lys Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu
[2934]	420 425 430
[2935]	Cys Ile Cys
[2936]	435
[2937]	<210> 103
[2938]	<211> 171
[2939]	<212> PRT
[2940]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2941]	<400> 103
[2942]	Met Ala Glu Arg Ala Ala Leu Glu Glu Leu Val Lys Leu Gln Gly Glu
[2943]	1 5 10 15
[2944]	Arg Val Arg Gly Leu Lys Gln Gln Lys Ala Ser Ala Glu Leu Ile Glu
[2945]	20 25 30
[2946]	Glu Glu Val Ala Lys Leu Leu Lys Leu Lys Ala Gln Leu Gly Pro Asp
[2947]	35 40 45
[2948]	Glu Ser Lys Gln Lys Phe Val Leu Lys Thr Pro Lys Ala Leu Glu Glu
[2949]	50 55 60
[2950]	Lys Ile Arg Thr Thr Glu Thr Gln Val Leu Val Ala Ser Ala Gln Lys
[2951]	65 70 75 80
[2952]	Lys Leu Leu Glu Glu Arg Leu Lys Leu Val Ser Glu Leu Trp Asp Ala
[2953]	85 90 95
[2954]	Gly Ile Lys Ala Glu Leu Leu Tyr Lys Lys Asn Pro Lys Leu Leu Asn
[2955]	100 105 110
[2956]	Gln Leu Gln Tyr Cys Glu Glu Ala Gly Ile Pro Leu Val Ala Ile Ile
[2957]	115 120 125
[2958]	Gly Glu Gln Glu Leu Lys Asp Gly Val Ile Lys Leu Arg Ser Val Thr
[2959]	130 135 140
[2960]	Ser Arg Glu Glu Val Asp Val Arg Arg Glu Asp Leu Val Glu Glu Ile
[2961]	145 150 155 160
[2962]	Lys Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Cys Ile Cys
[2963]	165 170

[2964] <210> 104
 [2965] <211> 211
 [2966] <212> PRT
 [2967] <213> 智人(Homo sapiens)
 [2968] <400> 104
 [2969] Met Ala Glu Arg Ala Ala Leu Glu Glu Leu Val Lys Leu Gln Gly Glu
 [2970] 1 5 10 15
 [2971] Arg Val Arg Gly Leu Lys Gln Gln Lys Ala Ser Ala Glu Leu Ile Glu
 [2972] 20 25 30
 [2973] Glu Glu Val Ala Lys Leu Leu Lys Leu Lys Ala Gln Leu Gly Pro Asp
 [2974] 35 40 45
 [2975] Glu Ser Lys Gln Lys Phe Val Leu Lys Thr Pro Lys Gly Thr Arg Asp
 [2976] 50 55 60
 [2977] Tyr Ser Pro Arg Gln Met Ala Val Arg Glu Lys Val Phe Asp Val Ile
 [2978] 65 70 75 80
 [2979] Ile Arg Cys Phe Lys Arg His Gly Ala Glu Val Ile Asp Thr Pro Val
 [2980] 85 90 95
 [2981] Phe Glu Leu Lys Ala Leu Glu Glu Lys Ile Arg Thr Thr Glu Thr Gln
 [2982] 100 105 110
 [2983] Val Leu Val Ala Ser Ala Gln Lys Lys Leu Leu Glu Glu Arg Leu Lys
 [2984] 115 120 125
 [2985] Leu Val Ser Glu Leu Trp Asp Ala Gly Ile Lys Ala Glu Leu Leu Tyr
 [2986] 130 135 140
 [2987] Lys Lys Asn Pro Lys Leu Leu Asn Gln Leu Gln Tyr Cys Glu Glu Ala
 [2988] 145 150 155 160
 [2989] Gly Ile Pro Leu Val Ala Ile Ile Gly Glu Gln Glu Leu Lys Asp Gly
 [2990] 165 170 175
 [2991] Val Ile Lys Leu Arg Ser Val Thr Ser Arg Glu Glu Val Asp Val Arg
 [2992] 180 185 190
 [2993] Arg Glu Asp Leu Val Glu Glu Ile Lys Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu
 [2994] 195 200 205
 [2995] Cys Ile Cys
 [2996] 210
 [2997] <210> 105
 [2998] <211> 141
 [2999] <212> PRT
 [3000] <213> 智人(Homo sapiens)
 [3001] <400> 105
 [3002] Met Phe Asp Pro Lys Gly Arg Lys Val Pro Cys Val Gly Leu Ser Ile

[3003]	1	5	10	15
[3004]	Gly Val Glu Arg Ile Phe Ser Ile Val Glu Gln Arg Leu Glu Ala Leu			
[3005]	20	25	30	
[3006]	Glu Glu Lys Ile Arg Thr Thr Glu Thr Gln Val Leu Val Ala Ser Ala			
[3007]	35	40	45	
[3008]	Gln Lys Lys Leu Leu Glu Glu Arg Leu Lys Leu Val Ser Glu Leu Trp			
[3009]	50	55	60	
[3010]	Asp Ala Gly Ile Lys Ala Glu Leu Leu Tyr Lys Lys Asn Pro Lys Leu			
[3011]	65	70	75	80
[3012]	Leu Asn Gln Leu Gln Tyr Cys Glu Glu Ala Gly Ile Pro Leu Val Ala			
[3013]	85	90	95	
[3014]	Ile Ile Gly Glu Gln Glu Leu Lys Asp Gly Val Ile Lys Leu Arg Ser			
[3015]	100	105	110	
[3016]	Val Thr Ser Arg Glu Glu Val Asp Val Arg Arg Glu Asp Leu Val Glu			
[3017]	115	120	125	
[3018]	Glu Ile Lys Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Cys Ile Cys			
[3019]	130	135	140	
[3020]	<210> 106			
[3021]	<211> 143			
[3022]	<212> PRT			
[3023]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[3024]	<400> 106			
[3025]	Cys Leu Lys Ile Met Cys Glu Ile Leu Ser Ser Leu Gln Ile Gly Asp			
[3026]	1	5	10	15
[3027]	Phe Leu Val Lys Val Asn Asp Arg Arg Ile Leu Asp Gly Met Phe Ala			
[3028]	20	25	30	
[3029]	Ile Cys Gly Val Ser Asp Ser Lys Phe Arg Thr Ile Cys Ser Ser Val			
[3030]	35	40	45	
[3031]	Asp Lys Leu Asp Lys Val Ser Trp Glu Glu Val Lys Asn Glu Met Val			
[3032]	50	55	60	
[3033]	Gly Glu Lys Gly Leu Ala Pro Glu Val Ala Asp Arg Ile Gly Asp Tyr			
[3034]	65	70	75	80
[3035]	Val Gln Gln His Gly Gly Val Ser Leu Val Glu Gln Leu Leu Gln Asp			
[3036]	85	90	95	
[3037]	Pro Lys Leu Ser Gln Asn Lys Gln Ala Leu Glu Gly Leu Gly Asp Leu			
[3038]	100	105	110	
[3039]	Lys Leu Leu Phe Glu Tyr Leu Thr Leu Phe Gly Ile Asp Asp Lys Ile			
[3040]	115	120	125	
[3041]	Ser Phe Asp Leu Ser Leu Ala Arg Gly Leu Asp Tyr Tyr Thr Gly			

[3042]	130	135	140
[3043]	<210> 107		
[3044]	<211> 506		
[3045]	<212> PRT		
[3046]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[3047]	<220>		
[3048]	<221> MISC_FEATURE		
[3049]	<222> (1) .. (506)		
[3050]	<223> 线粒体		
[3051]	<400> 107		
[3052]	Met Pro Leu Leu Gly Leu Leu Pro Arg Arg Ala Trp Ala Ser Leu Leu		
[3053]	1 5 10 15		
[3054]	Ser Gln Leu Leu Arg Pro Pro Cys Ala Ser Cys Thr Gly Ala Val Arg		
[3055]	20 25 30		
[3056]	Cys Gln Ser Gln Val Ala Glu Ala Val Leu Thr Ser Gln Leu Lys Ala		
[3057]	35 40 45		
[3058]	His Gln Glu Lys Pro Asn Phe Ile Ile Lys Thr Pro Lys Gly Thr Arg		
[3059]	50 55 60		
[3060]	Asp Leu Ser Pro Gln His Met Val Val Arg Glu Lys Ile Leu Asp Leu		
[3061]	65 70 75 80		
[3062]	Val Ile Ser Cys Phe Lys Arg His Gly Ala Lys Gly Met Asp Thr Pro		
[3063]	85 90 95		
[3064]	Ala Phe Glu Leu Lys Glu Thr Leu Thr Glu Lys Tyr Gly Glu Asp Ser		
[3065]	100 105 110		
[3066]	Gly Leu Met Tyr Asp Leu Lys Asp Gln Gly Gly Glu Leu Leu Ser Leu		
[3067]	115 120 125		
[3068]	Arg Tyr Asp Leu Thr Val Pro Phe Ala Arg Tyr Leu Ala Met Asn Lys		
[3069]	130 135 140		
[3070]	Val Lys Lys Met Lys Arg Tyr His Val Gly Lys Val Trp Arg Arg Glu		
[3071]	145 150 155 160		
[3072]	Ser Pro Thr Ile Val Gln Gly Arg Tyr Arg Glu Phe Cys Gln Cys Asp		
[3073]	165 170 175		
[3074]	Phe Asp Ile Ala Gly Gln Phe Asp Pro Met Ile Pro Asp Ala Glu Cys		
[3075]	180 185 190		
[3076]	Leu Lys Ile Met Cys Glu Ile Leu Ser Gly Leu Gln Leu Gly Asp Phe		
[3077]	195 200 205		
[3078]	Leu Ile Lys Val Asn Asp Arg Arg Ile Val Asp Gly Met Phe Ala Val		
[3079]	210 215 220		
[3080]	Cys Gly Val Pro Glu Ser Lys Phe Arg Ala Ile Cys Ser Ser Ile Asp		

[3081]	225	230	235	240
[3082]	Lys Leu Asp Lys Met Ala Trp Lys Asp Val Arg His Glu Met Val Val			
[3083]		245	250	255
[3084]	Lys Lys Gly Leu Ala Pro Glu Val Ala Asp Arg Ile Gly Asp Tyr Val			
[3085]		260	265	270
[3086]	Gln Cys His Gly Gly Val Ser Leu Val Glu Gln Met Phe Gln Asp Pro			
[3087]		275	280	285
[3088]	Arg Leu Ser Gln Asn Lys Gln Ala Leu Glu Gly Leu Gly Asp Leu Lys			
[3089]		290	295	300
[3090]	Leu Leu Phe Glu Tyr Leu Thr Leu Phe Gly Ile Ala Asp Lys Ile Ser			
[3091]	305	310	315	320
[3092]	Phe Asp Leu Ser Leu Ala Arg Gly Leu Asp Tyr Tyr Thr Gly Val Ile			
[3093]		325	330	335
[3094]	Tyr Glu Ala Val Leu Leu Gln Thr Pro Thr Gln Ala Gly Glu Glu Pro			
[3095]		340	345	350
[3096]	Leu Asn Val Gly Ser Val Ala Ala Gly Gly Arg Tyr Asp Gly Leu Val			
[3097]		355	360	365
[3098]	Gly Met Phe Asp Pro Lys Gly His Lys Val Pro Cys Val Gly Leu Ser			
[3099]		370	375	380
[3100]	Ile Gly Val Glu Arg Ile Phe Tyr Ile Val Glu Gln Arg Met Lys Thr			
[3101]	385	390	395	400
[3102]	Lys Gly Glu Lys Val Arg Thr Thr Glu Thr Gln Val Phe Val Ala Thr			
[3103]		405	410	415
[3104]	Pro Gln Lys Asn Phe Leu Gln Glu Arg Leu Lys Leu Ile Ala Glu Leu			
[3105]		420	425	430
[3106]	Trp Asp Ser Gly Ile Lys Ala Glu Met Leu Tyr Lys Asn Asn Pro Lys			
[3107]		435	440	445
[3108]	Leu Leu Thr Gln Leu His Tyr Cys Glu Ser Thr Gly Ile Pro Leu Val			
[3109]		450	455	460
[3110]	Val Ile Ile Gly Glu Gln Glu Leu Lys Glu Gly Val Ile Lys Ile Arg			
[3111]	465	470	475	480
[3112]	Ser Val Ala Ser Arg Glu Glu Val Ala Ile Lys Arg Glu Asn Phe Val			
[3113]		485	490	495
[3114]	Ala Glu Ile Gln Lys Arg Leu Ser Glu Ser			
[3115]		500	505	
[3116]	<210> 108			
[3117]	<211> 247			
[3118]	<212> PRT			
[3119]	<213> 智人(Homo sapiens)			

[3120]	<400> 108
[3121]	His Val Gly Lys Val Trp Arg Arg Glu Ser Pro Thr Ile Val Gln Gly
[3122]	1 5 10 15
[3123]	Arg Tyr Arg Glu Phe Cys Gln Cys Asp Phe Asp Ile Ala Gly Gln Phe
[3124]	20 25 30
[3125]	Asp Pro Met Ile Pro Asp Ala Glu Cys Leu Lys Ile Met Cys Glu Ile
[3126]	35 40 45
[3127]	Leu Ser Gly Leu Gln Leu Gly Asp Phe Leu Ile Lys Val Asn Asp Arg
[3128]	50 55 60
[3129]	Arg Ile Val Asp Gly Met Phe Ala Val Cys Gly Val Pro Glu Ser Lys
[3130]	65 70 75 80
[3131]	Phe Arg Ala Ile Cys Ser Ser Ile Asp Lys Leu Asp Lys Met Ala Trp
[3132]	85 90 95
[3133]	Lys Asp Val Arg His Glu Met Val Val Lys Lys Gly Leu Ala Pro Glu
[3134]	100 105 110
[3135]	Val Ala Asp Arg Ile Gly Asp Tyr Val Gln Cys His Gly Gly Val Ser
[3136]	115 120 125
[3137]	Leu Val Glu Gln Met Phe Gln Asp Pro Arg Leu Ser Gln Asn Lys Gln
[3138]	130 135 140
[3139]	Ala Leu Glu Gly Leu Gly Asp Leu Lys Leu Leu Phe Glu Tyr Leu Thr
[3140]	145 150 155 160
[3141]	Leu Phe Gly Ile Ala Asp Lys Ile Ser Phe Asp Leu Ser Leu Ala Arg
[3142]	165 170 175
[3143]	Gly Leu Asp Tyr Tyr Thr Gly Val Ile Tyr Glu Ala Val Leu Leu Gln
[3144]	180 185 190
[3145]	Thr Pro Thr Gln Ala Gly Glu Glu Pro Leu Asn Val Gly Ser Val Ala
[3146]	195 200 205
[3147]	Ala Gly Gly Arg Tyr Asp Gly Leu Val Gly Met Phe Asp Pro Lys Gly
[3148]	210 215 220
[3149]	His Lys Val Pro Cys Val Gly Leu Ser Ile Gly Val Glu Arg Ile Phe
[3150]	225 230 235 240
[3151]	Tyr Ile Val Glu Gln Arg Met
[3152]	245
[3153]	<210> 109
[3154]	<211> 79
[3155]	<212> PRT
[3156]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3157]	<400> 109
[3158]	Gln Ala Leu Glu Gly Leu Gly Asp Leu Lys Leu Leu Phe Glu Tyr Leu

[3159]	1	5	10	15
[3160]	Thr Leu Phe Gly Ile Asp Asp Lys Ile Ser Phe Asp Leu Ser Leu Ala			
[3161]	20	25	30	
[3162]	Arg Gly Leu Asp Tyr Tyr Thr Gly Val Ile Tyr Glu Ala Val Leu Leu			
[3163]	35	40	45	
[3164]	Gln Thr Pro Ala Gln Ala Gly Glu Glu Pro Leu Gly Val Gly Ser Val			
[3165]	50	55	60	
[3166]	Ala Ala Gly Gly Arg Tyr Asp Gly Leu Val Gly Met Phe Asp Pro			
[3167]	65	70	75	
[3168]	<210> 110			
[3169]	<211> 456			
[3170]	<212> PRT			
[3171]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[3172]	<400> 110			
[3173]	Phe Val Leu Lys Thr Pro Lys Gly Thr Arg Asp Tyr Ser Pro Arg Gln			
[3174]	1	5	10	15
[3175]	Met Ala Val Arg Glu Lys Val Phe Asp Val Ile Ile Arg Cys Phe Lys			
[3176]	20	25	30	
[3177]	Arg His Gly Ala Glu Val Ile Asp Thr Pro Val Phe Glu Leu Lys Glu			
[3178]	35	40	45	
[3179]	Thr Leu Met Gly Lys Tyr Gly Glu Asp Ser Lys Leu Ile Tyr Asp Leu			
[3180]	50	55	60	
[3181]	Lys Asp Gln Gly Gly Glu Leu Leu Ser Leu Arg Tyr Asp Leu Thr Val			
[3182]	65	70	75	80
[3183]	Pro Phe Ala Arg Tyr Leu Ala Met Asn Lys Leu Thr Asn Ile Lys Arg			
[3184]	85	90	95	
[3185]	Tyr His Ile Ala Lys Val Tyr Arg Arg Asp Asn Pro Ala Met Thr Arg			
[3186]	100	105	110	
[3187]	Gly Arg Tyr Arg Glu Phe Tyr Gln Cys Asp Phe Asp Ile Ala Gly Asn			
[3188]	115	120	125	
[3189]	Phe Asp Pro Met Ile Pro Asp Ala Glu Cys Leu Lys Ile Met Cys Glu			
[3190]	130	135	140	
[3191]	Ile Leu Ser Ser Leu Gln Ile Gly Asp Phe Leu Val Lys Val Asn Asp			
[3192]	145	150	155	160
[3193]	Arg Arg Ile Leu Asp Gly Met Phe Ala Ile Cys Gly Val Ser Asp Ser			
[3194]	165	170	175	
[3195]	Lys Phe Arg Thr Ile Cys Ser Ser Val Asp Lys Leu Asp Lys Val Ser			
[3196]	180	185	190	
[3197]	Trp Glu Glu Val Lys Asn Glu Met Val Gly Glu Lys Gly Leu Ala Pro			

[3198]	195	200	205
[3199]	Glu Val Ala Asp Arg Ile Gly Asp Tyr Val Gln Gln His Gly Gly Val		
[3200]	210	215	220
[3201]	Ser Leu Val Glu Gln Leu Leu Gln Asp Pro Lys Leu Ser Gln Asn Lys		
[3202]	225	230	235
[3203]	Gln Ala Leu Glu Gly Leu Gly Asp Leu Lys Leu Leu Phe Glu Tyr Leu		
[3204]	245	250	255
[3205]	Thr Leu Phe Gly Ile Asp Asp Lys Ile Ser Phe Asp Leu Ser Leu Ala		
[3206]	260	265	270
[3207]	Arg Gly Leu Asp Tyr Tyr Thr Gly Val Ile Tyr Glu Ala Val Leu Leu		
[3208]	275	280	285
[3209]	Gln Thr Pro Ala Gln Ala Gly Glu Glu Pro Leu Gly Val Gly Ser Val		
[3210]	290	295	300
[3211]	Ala Ala Gly Gly Arg Tyr Asp Gly Leu Val Gly Met Phe Asp Pro Lys		
[3212]	305	310	315
[3213]	Gly Arg Lys Val Pro Cys Val Gly Leu Ser Ile Gly Val Glu Arg Ile		
[3214]	325	330	335
[3215]	Phe Ser Ile Val Glu Gln Arg Leu Glu Ala Leu Glu Glu Lys Ile Arg		
[3216]	340	345	350
[3217]	Thr Thr Glu Thr Gln Val Leu Val Ala Ser Ala Gln Lys Lys Leu Leu		
[3218]	355	360	365
[3219]	Glu Glu Arg Leu Lys Leu Val Ser Glu Leu Trp Asp Ala Gly Ile Lys		
[3220]	370	375	380
[3221]	Ala Glu Leu Leu Tyr Lys Lys Asn Pro Lys Leu Leu Asn Gln Leu Gln		
[3222]	385	390	395
[3223]	Tyr Cys Glu Glu Ala Gly Ile Pro Leu Val Ala Ile Ile Gly Glu Gln		
[3224]	405	410	415
[3225]	Glu Leu Lys Asp Gly Val Ile Lys Leu Arg Ser Val Thr Ser Arg Glu		
[3226]	420	425	430
[3227]	Glu Val Asp Val Arg Arg Glu Asp Leu Val Glu Glu Ile Lys Arg Arg		
[3228]	435	440	445
[3229]	Thr Gly Gln Pro Leu Cys Ile Cys		
[3230]	450	455	
[3231]	<210> 111		
[3232]	<211> 345		
[3233]	<212> PRT		
[3234]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[3235]	<400> 111		
[3236]	Phe Val Leu Lys Thr Pro Lys Gly Thr Arg Asp Tyr Ser Pro Arg Gln		

[3237]	1	5	10	15
[3238]	Met Ala Val Arg Glu Lys Val Phe Asp Val Ile Ile Arg Cys Phe Lys			
[3239]	20	25	30	
[3240]	Arg His Gly Ala Glu Val Ile Asp Thr Pro Val Phe Glu Leu Lys Glu			
[3241]	35	40	45	
[3242]	Thr Leu Met Gly Lys Tyr Gly Glu Asp Ser Lys Leu Ile Tyr Asp Leu			
[3243]	50	55	60	
[3244]	Lys Asp Gln Gly Gly Glu Leu Leu Ser Leu Arg Tyr Asp Leu Thr Val			
[3245]	65	70	75	80
[3246]	Pro Phe Ala Arg Tyr Leu Ala Met Asn Lys Leu Thr Asn Ile Lys Arg			
[3247]	85	90	95	
[3248]	Tyr His Ile Ala Lys Val Tyr Arg Arg Asp Asn Pro Ala Met Thr Arg			
[3249]	100	105	110	
[3250]	Gly Arg Tyr Arg Glu Phe Tyr Gln Cys Asp Phe Asp Ile Ala Gly Asn			
[3251]	115	120	125	
[3252]	Phe Asp Pro Met Ile Pro Asp Ala Glu Cys Leu Lys Ile Met Cys Glu			
[3253]	130	135	140	
[3254]	Ile Leu Ser Ser Leu Gln Ile Gly Asp Phe Leu Val Lys Val Asn Asp			
[3255]	145	150	155	160
[3256]	Arg Arg Ile Leu Asp Gly Met Phe Ala Ile Cys Gly Val Ser Asp Ser			
[3257]	165	170	175	
[3258]	Lys Phe Arg Thr Ile Cys Ser Ser Val Asp Lys Leu Asp Lys Val Ser			
[3259]	180	185	190	
[3260]	Trp Glu Glu Val Lys Asn Glu Met Val Gly Glu Lys Gly Leu Ala Pro			
[3261]	195	200	205	
[3262]	Glu Val Ala Asp Arg Ile Gly Asp Tyr Val Gln Gln His Gly Gly Val			
[3263]	210	215	220	
[3264]	Ser Leu Val Glu Gln Leu Leu Gln Asp Pro Lys Leu Ser Gln Asn Lys			
[3265]	225	230	235	240
[3266]	Gln Ala Leu Glu Gly Leu Gly Asp Leu Lys Leu Leu Phe Glu Tyr Leu			
[3267]	245	250	255	
[3268]	Thr Leu Phe Gly Ile Asp Asp Lys Ile Ser Phe Asp Leu Ser Leu Ala			
[3269]	260	265	270	
[3270]	Arg Gly Leu Asp Tyr Tyr Thr Gly Val Ile Tyr Glu Ala Val Leu Leu			
[3271]	275	280	285	
[3272]	Gln Thr Pro Ala Gln Ala Gly Glu Glu Pro Leu Gly Val Gly Ser Val			
[3273]	290	295	300	
[3274]	Ala Ala Gly Gly Arg Tyr Asp Gly Leu Val Gly Met Phe Asp Pro Lys			
[3275]	305	310	315	320

[3276]	Gly Arg Lys Val Pro Cys Val Gly Leu Ser Ile Gly Val Glu Arg Ile
[3277]	325 330 335
[3278]	Phe Ser Ile Val Glu Gln Arg Leu Glu
[3279]	340 345
[3280]	<210> 112
[3281]	<211> 338
[3282]	<212> PRT
[3283]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3284]	<400> 112
[3285]	Gly Thr Arg Asp Tyr Ser Pro Arg Gln Met Ala Val Arg Glu Lys Val
[3286]	1 5 10 15
[3287]	Phe Asp Val Ile Ile Arg Cys Phe Lys Arg His Gly Ala Glu Val Ile
[3288]	20 25 30
[3289]	Asp Thr Pro Val Phe Glu Leu Lys Glu Thr Leu Met Gly Lys Tyr Gly
[3290]	35 40 45
[3291]	Glu Asp Ser Lys Leu Ile Tyr Asp Leu Lys Asp Gln Gly Gly Glu Leu
[3292]	50 55 60
[3293]	Leu Ser Leu Arg Tyr Asp Leu Thr Val Pro Phe Ala Arg Tyr Leu Ala
[3294]	65 70 75 80
[3295]	Met Asn Lys Leu Thr Asn Ile Lys Arg Tyr His Ile Ala Lys Val Tyr
[3296]	85 90 95
[3297]	Arg Arg Asp Asn Pro Ala Met Thr Arg Gly Arg Tyr Arg Glu Phe Tyr
[3298]	100 105 110
[3299]	Gln Cys Asp Phe Asp Ile Ala Gly Asn Phe Asp Pro Met Ile Pro Asp
[3300]	115 120 125
[3301]	Ala Glu Cys Leu Lys Ile Met Cys Glu Ile Leu Ser Ser Leu Gln Ile
[3302]	130 135 140
[3303]	Gly Asp Phe Leu Val Lys Val Asn Asp Arg Arg Ile Leu Asp Gly Met
[3304]	145 150 155 160
[3305]	Phe Ala Ile Cys Gly Val Ser Asp Ser Lys Phe Arg Thr Ile Cys Ser
[3306]	165 170 175
[3307]	Ser Val Asp Lys Leu Asp Lys Val Ser Trp Glu Glu Val Lys Asn Glu
[3308]	180 185 190
[3309]	Met Val Gly Glu Lys Gly Leu Ala Pro Glu Val Ala Asp Arg Ile Gly
[3310]	195 200 205
[3311]	Asp Tyr Val Gln Gln His Gly Gly Val Ser Leu Val Glu Gln Leu Leu
[3312]	210 215 220
[3313]	Gln Asp Pro Lys Leu Ser Gln Asn Lys Gln Ala Leu Glu Gly Leu Gly
[3314]	225 230 235 240

[3315]	Asp	Leu	Lys	Leu	Leu	Phe	Glu	Tyr	Leu	Thr	Leu	Phe	Gly	Ile	Asp	Asp
[3316]						245					250				255	
[3317]	Lys	Ile	Ser	Phe	Asp	Leu	Ser	Leu	Ala	Arg	Gly	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Thr
[3318]						260					265				270	
[3319]	Gly	Val	Ile	Tyr	Glu	Ala	Val	Leu	Leu	Gln	Thr	Pro	Ala	Gln	Ala	Gly
[3320]						275					280				285	
[3321]	Glu	Glu	Pro	Leu	Gly	Val	Gly	Ser	Val	Ala	Ala	Gly	Gly	Arg	Tyr	Asp
[3322]						290									300	
[3323]	Gly	Leu	Val	Gly	Met	Phe	Asp	Pro	Lys	Gly	Arg	Lys	Val	Pro	Cys	Val
[3324]	305									310					315	320
[3325]	Gly	Leu	Ser	Ile	Gly	Val	Glu	Arg	Ile	Phe	Ser	Ile	Val	Glu	Gln	Arg
[3326]						325						330				335
[3327]	Leu	Glu														
[3328]	<210>	113														
[3329]	<211>	111														
[3330]	<212>	PRT														
[3331]	<213>	智人(Homo sapiens)														
[3332]	<400>	113														
[3333]	Ala	Leu	Glu	Glu	Lys	Ile	Arg	Thr	Thr	Glu	Thr	Gln	Val	Leu	Val	Ala
[3334]	1				5					10					15	
[3335]	Ser	Ala	Gln	Lys	Lys	Leu	Leu	Glu	Glu	Arg	Leu	Lys	Leu	Val	Ser	Glu
[3336]					20					25					30	
[3337]	Leu	Trp	Asp	Ala	Gly	Ile	Lys	Ala	Glu	Leu	Leu	Tyr	Lys	Lys	Asn	Pro
[3338]					35					40					45	
[3339]	Lys	Leu	Leu	Asn	Gln	Leu	Gln	Tyr	Cys	Glu	Glu	Ala	Gly	Ile	Pro	Leu
[3340]					50					55					60	
[3341]	Val	Ala	Ile	Ile	Gly	Glu	Gln	Glu	Leu	Lys	Asp	Gly	Val	Ile	Lys	Leu
[3342]	65					70					75					80
[3343]	Arg	Ser	Val	Thr	Ser	Arg	Glu	Glu	Val	Asp	Val	Arg	Arg	Glu	Asp	Leu
[3344]					85						90				95	
[3345]	Val	Glu	Glu	Ile	Lys	Arg	Arg	Thr	Gly	Gln	Pro	Leu	Cys	Ile	Cys	
[3346]					100					105					110	
[3347]	<210>	114														
[3348]	<211>	96														
[3349]	<212>	PRT														
[3350]	<213>	智人(Homo sapiens)														
[3351]	<400>	114														
[3352]	Thr	Thr	Glu	Thr	Gln	Val	Leu	Val	Ala	Ser	Ala	Gln	Lys	Lys	Leu	Leu
[3353]	1					5					10				15	

[3354]	Glu Glu Arg Leu Lys Leu Val Ser Glu Leu Trp Asp Ala Gly Ile Lys
[3355]	20 25 30
[3356]	Ala Glu Leu Leu Tyr Lys Lys Asn Pro Lys Leu Leu Asn Gln Leu Gln
[3357]	35 40 45
[3358]	Tyr Cys Glu Glu Ala Gly Ile Pro Leu Val Ala Ile Ile Gly Glu Gln
[3359]	50 55 60
[3360]	Glu Leu Lys Asp Gly Val Ile Lys Leu Arg Ser Val Thr Ser Arg Glu
[3361]	65 70 75 80
[3362]	Glu Val Asp Val Arg Arg Glu Asp Leu Val Glu Glu Ile Lys Arg Arg
[3363]	85 90 95
[3364]	<210> 115
[3365]	<211> 138
[3366]	<212> PRT
[3367]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3368]	<220>
[3369]	<223> 共有HRS WHEP序列
[3370]	<220>
[3371]	<221> MOD_RES
[3372]	<222> (1) .. (50)
[3373]	<223> Xaa是任何氨基酸或不存在
[3374]	<220>
[3375]	<221> misc_feature
[3376]	<222> (52) .. (56)
[3377]	<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
[3378]	<220>
[3379]	<221> MOD_RES
[3380]	<222> (57) .. (58)
[3381]	<223> Xaa是任何氨基酸或不存在
[3382]	<220>
[3383]	<221> MOD_RES
[3384]	<222> (61) .. (62)
[3385]	<223> Xaa是任何氨基酸
[3386]	<220>
[3387]	<221> MOD_RES
[3388]	<222> (65) .. (65)
[3389]	<223> Xaa是任何氨基酸
[3390]	<220>
[3391]	<221> MOD_RES
[3392]	<222> (68) .. (69)

[3393]	<223> Xaa是任何氨基酸
[3394]	<220>
[3395]	<221> misc_feature
[3396]	<222> (72) .. (78)
[3397]	<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
[3398]	<220>
[3399]	<221> MOD_RES
[3400]	<222> (79) .. (80)
[3401]	<223> Xaa是任何氨基酸或不存在
[3402]	<220>
[3403]	<221> MOD_RES
[3404]	<222> (82) .. (83)
[3405]	<223> Xaa是任何氨基酸
[3406]	<220>
[3407]	<221> MOD_RES
[3408]	<222> (86) .. (86)
[3409]	<223> Xaa是任何氨基酸
[3410]	<220>
[3411]	<221> MOD_RES
[3412]	<222> (89) .. (138)
[3413]	<223> Xaa是任何氨基酸或不存在
[3414]	<400> 115
[3415]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
[3416]	1 5 10 15
[3417]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
[3418]	20 25 30
[3419]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
[3420]	35 40 45
[3421]	Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Gly Xaa Xaa Val Arg
[3422]	50 55 60
[3423]	Xaa Leu Lys Xaa Xaa Lys Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
[3424]	65 70 75 80
[3425]	Val Xaa Xaa Leu Leu Xaa Leu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
[3426]	85 90 95
[3427]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
[3428]	100 105 110
[3429]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
[3430]	115 120 125
[3431]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

[3432]	130	135
[3433]	<210> 116	
[3434]	<211> 327	
[3435]	<212> PRT	
[3436]	<213> 智人(Homo sapiens)	
[3437]	<400> 116	
[3438]	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg	
[3439]	1 5 10 15	
[3440]	Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr	
[3441]	20 25 30	
[3442]	Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser	
[3443]	35 40 45	
[3444]	Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser	
[3445]	50 55 60	
[3446]	Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr	
[3447]	65 70 75 80	
[3448]	Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys	
[3449]	85 90 95	
[3450]	Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro	
[3451]	100 105 110	
[3452]	Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys	
[3453]	115 120 125	
[3454]	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val	
[3455]	130 135 140	
[3456]	Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp	
[3457]	145 150 155 160	
[3458]	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe	
[3459]	165 170 175	
[3460]	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp	
[3461]	180 185 190	
[3462]	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu	
[3463]	195 200 205	
[3464]	Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg	
[3465]	210 215 220	
[3466]	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys	
[3467]	225 230 235 240	
[3468]	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp	
[3469]	245 250 255	
[3470]	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys	

[3471]					260					265					270		
[3472]	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	
[3473]					275					280					285		
[3474]	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	
[3475]					290					295					300		
[3476]	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	
[3477]	305							310					315				320
[3478]	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys										
[3479]						325											
[3480]	<210>	117															
[3481]	<211>	327															
[3482]	<212>	PRT															
[3483]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)															
[3484]	<220>																
[3485]	<223>	合成的IgG4变体															
[3486]	<400>	117															
[3487]	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	
[3488]	1				5					10					15		
[3489]	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	
[3490]					20					25					30		
[3491]	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	
[3492]					35					40					45		
[3493]	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	
[3494]					50					55					60		
[3495]	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	
[3496]	65							70				75					80
[3497]	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	
[3498]						85					90						95
[3499]	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	
[3500]						100					105						110
[3501]	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	
[3502]						115									120		
[3503]	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	
[3504]								130							135		
[3505]	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	
[3506]	145							150				155					160
[3507]	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	
[3508]						165					170						175
[3509]	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	

[3510]	180							185							190													
[3511]	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu												
[3512]	195							200							205													
[3513]	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg												
[3514]	210							215							220													
[3515]	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys												
[3516]	225							230							235							240						
[3517]	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp												
[3518]	245							250							255													
[3519]	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys												
[3520]	260							265							270													
[3521]	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser												
[3522]	275							280							285													
[3523]	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser												
[3524]	290							295							300													
[3525]	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser												
[3526]	305							310							315							320						
[3527]	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys																					
[3528]	325																											
[3529]	<210> 118																											
[3530]	<211> 330																											
[3531]	<212> PRT																											
[3532]	<213> 智人(Homo sapiens)																											
[3533]	<400> 118																											
[3534]	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys												
[3535]	1 5 10 15																											
[3536]	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr												
[3537]	20							25							30													
[3538]	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser												
[3539]	35							40							45													
[3540]	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser												
[3541]	50							55							60													
[3542]	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr												
[3543]	65							70							75							80						
[3544]	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys												
[3545]	85							90							95													
[3546]	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys												
[3547]	100							105							110													
[3548]	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro												

[3549]	115	120	125
[3550]	Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
[3551]	130	135	140
[3552]	Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
[3553]	145	150	155
[3554]	Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
[3555]	165	170	175
[3556]	Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
[3557]	180	185	190
[3558]	His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
[3559]	195	200	205
[3560]	Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
[3561]	210	215	220
[3562]	Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu		
[3563]	225	230	235
[3564]	Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
[3565]	245	250	255
[3566]	Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
[3567]	260	265	270
[3568]	Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
[3569]	275	280	285
[3570]	Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
[3571]	290	295	300
[3572]	Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
[3573]	305	310	315
[3574]	Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[3575]	325	330	
[3576]	<210> 119		
[3577]	<211> 107		
[3578]	<212> PRT		
[3579]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[3580]	<400> 119		
[3581]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
[3582]	1	5	10
[3583]	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
[3584]	20	25	30
[3585]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
[3586]	35	40	45
[3587]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		

[3588]	50	55	60
[3589]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
[3590]	65	70	75
[3591]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
[3592]	85	90	95
[3593]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
[3594]	100	105	
[3595]	<210> 120		
[3596]	<211> 800		
[3597]	<212> PRT		
[3598]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[3599]	<220>		
[3600]	<223> 合成的构建体-NRP2 (23-595)Fc融合蛋白		
[3601]	<400> 120		
[3602]	Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu Asn Ser Lys Asp Ala Gly		
[3603]	1	5	10
[3604]	Tyr Ile Thr Ser Pro Gly Tyr Pro Gln Asp Tyr Pro Ser His Gln Asn		
[3605]	20	25	30
[3606]	Cys Glu Trp Ile Val Tyr Ala Pro Glu Pro Asn Gln Lys Ile Val Leu		
[3607]	35	40	45
[3608]	Asn Phe Asn Pro His Phe Glu Ile Glu Lys His Asp Cys Lys Tyr Asp		
[3609]	50	55	60
[3610]	Phe Ile Glu Ile Arg Asp Gly Asp Ser Glu Ser Ala Asp Leu Leu Gly		
[3611]	65	70	75
[3612]	Lys His Cys Gly Asn Ile Ala Pro Pro Thr Ile Ile Ser Ser Gly Ser		
[3613]	85	90	95
[3614]	Met Leu Tyr Ile Lys Phe Thr Ser Asp Tyr Ala Arg Gln Gly Ala Gly		
[3615]	100	105	110
[3616]	Phe Ser Leu Arg Tyr Glu Ile Phe Lys Thr Gly Ser Glu Asp Cys Ser		
[3617]	115	120	125
[3618]	Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile Glu Ser Pro Gly Phe Pro		
[3619]	130	135	140
[3620]	Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr Phe Thr Ile Leu Ala Lys		
[3621]	145	150	155
[3622]	Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu Ile Phe Asp Leu Glu His		
[3623]	165	170	175
[3624]	Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys Lys Tyr Asp Trp Leu Asp		
[3625]	180	185	190
[3626]	Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro Leu Ile Gly Lys Tyr Cys		

[3627]	195	200	205
[3628]	Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser Ser Thr Gly Ile Leu Ser		
[3629]	210	215	220
[3630]	Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala Lys Asp Gly Phe Ser Ala		
[3631]	225	230	235
[3632]	Arg Tyr Tyr Leu Val His Gln Glu Pro Leu Glu Asn Phe Gln Cys Asn		
[3633]	245	250	255
[3634]	Val Pro Leu Gly Met Glu Ser Gly Arg Ile Ala Asn Glu Gln Ile Ser		
[3635]	260	265	270
[3636]	Ala Ser Ser Thr Tyr Ser Asp Gly Arg Trp Thr Pro Gln Gln Ser Arg		
[3637]	275	280	285
[3638]	Leu His Gly Asp Asp Asn Gly Trp Thr Pro Asn Leu Asp Ser Asn Lys		
[3639]	290	295	300
[3640]	Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Phe Leu Thr Met Leu Thr Ala Ile		
[3641]	305	310	315
[3642]	Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr Gln Asn Gly Tyr Tyr Val		
[3643]	325	330	335
[3644]	Lys Ser Tyr Lys Leu Glu Val Ser Thr Asn Gly Glu Asp Trp Met Val		
[3645]	340	345	350
[3646]	Tyr Arg His Gly Lys Asn His Lys Val Phe Gln Ala Asn Asn Asp Ala		
[3647]	355	360	365
[3648]	Thr Glu Val Val Leu Asn Lys Leu His Ala Pro Leu Leu Thr Arg Phe		
[3649]	370	375	380
[3650]	Val Arg Ile Arg Pro Gln Thr Trp His Ser Gly Ile Ala Leu Arg Leu		
[3651]	385	390	395
[3652]	Glu Leu Phe Gly Cys Arg Val Thr Asp Ala Pro Cys Ser Asn Met Leu		
[3653]	405	410	415
[3654]	Gly Met Leu Ser Gly Leu Ile Ala Asp Ser Gln Ile Ser Ala Ser Ser		
[3655]	420	425	430
[3656]	Thr Gln Glu Tyr Leu Trp Ser Pro Ser Ala Ala Arg Leu Val Ser Ser		
[3657]	435	440	445
[3658]	Arg Ser Gly Trp Phe Pro Arg Ile Pro Gln Ala Gln Pro Gly Glu Glu		
[3659]	450	455	460
[3660]	Trp Leu Gln Val Asp Leu Gly Thr Pro Lys Thr Val Lys Gly Val Ile		
[3661]	465	470	475
[3662]	Ile Gln Gly Ala Arg Gly Gly Asp Ser Ile Thr Ala Val Glu Ala Arg		
[3663]	485	490	495
[3664]	Ala Phe Val Arg Lys Phe Lys Val Ser Tyr Ser Leu Asn Gly Lys Asp		
[3665]	500	505	510

[3666]	Trp	Glu	Tyr	Ile	Gln	Asp	Pro	Arg	Thr	Gln	Gln	Pro	Lys	Leu	Phe	Glu
[3667]				515				520					525			
[3668]	Gly	Asn	Met	His	Tyr	Asp	Thr	Pro	Asp	Ile	Arg	Arg	Phe	Asp	Pro	Ile
[3669]			530					535					540			
[3670]	Pro	Ala	Gln	Tyr	Val	Arg	Val	Tyr	Pro	Glu	Arg	Trp	Ser	Pro	Ala	Gly
[3671]	545					550					555					560
[3672]	Ile	Gly	Met	Arg	Leu	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Asp	Trp	Thr	Asp	Lys	Thr
[3673]					565					570					575	
[3674]	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
[3675]				580					585						590	
[3676]	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
[3677]				595				600							605	
[3678]	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
[3679]				610				615							620	
[3680]	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
[3681]	625					630					635					640
[3682]	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
[3683]					645					650						655
[3684]	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
[3685]				660					665						670	
[3686]	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
[3687]				675					680						685	
[3688]	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
[3689]				690				695							700	
[3690]	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys
[3691]	705					710					715					720
[3692]	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser
[3693]					725					730					735	
[3694]	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp
[3695]				740					745						750	
[3696]	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser
[3697]				755				760							765	
[3698]	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala
[3699]				770				775							780	
[3700]	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys
[3701]	785					790					795					800
[3702]	<210>			121												
[3703]	<211>			654												
[3704]	<212>			PRT												

[3705]	<213> 智人(Homo sapiens)															
[3706]	<400> 121															
[3707]	Cys	Ser	Lys	Asn	Phe	Thr	Ser	Pro	Asn	Gly	Thr	Ile	Glu	Ser	Pro	Gly
[3708]	1				5					10					15	
[3709]	Phe	Pro	Glu	Lys	Tyr	Pro	His	Asn	Leu	Asp	Cys	Thr	Phe	Thr	Ile	Leu
[3710]					20					25					30	
[3711]	Ala	Lys	Pro	Lys	Met	Glu	Ile	Ile	Leu	Gln	Phe	Leu	Ile	Phe	Asp	Leu
[3712]					35					40					45	
[3713]	Glu	His	Asp	Pro	Leu	Gln	Val	Gly	Glu	Gly	Asp	Cys	Lys	Tyr	Asp	Trp
[3714]					50					55					60	
[3715]	Leu	Asp	Ile	Trp	Asp	Gly	Ile	Pro	His	Val	Gly	Pro	Leu	Ile	Gly	Lys
[3716]	65					70					75					80
[3717]	Tyr	Cys	Gly	Thr	Lys	Thr	Pro	Ser	Glu	Leu	Arg	Ser	Ser	Thr	Gly	Ile
[3718]					85						90					95
[3719]	Leu	Ser	Leu	Thr	Phe	His	Thr	Asp	Met	Ala	Val	Ala	Lys	Asp	Gly	Phe
[3720]					100						105					110
[3721]	Ser	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Leu	Val	His	Gln	Glu	Pro	Leu	Glu	Asn	Phe	Gln
[3722]					115											125
[3723]	Cys	Asn	Val	Pro	Leu	Gly	Met	Glu	Ser	Gly	Arg	Ile	Ala	Asn	Glu	Gln
[3724]					130											140
[3725]	Ile	Ser	Ala	Ser	Ser	Thr	Tyr	Ser	Asp	Gly	Arg	Trp	Thr	Pro	Gln	Gln
[3726]	145					150					155					160
[3727]	Ser	Arg	Leu	His	Gly	Asp	Asp	Asn	Gly	Trp	Thr	Pro	Asn	Leu	Asp	Ser
[3728]					165						170					175
[3729]	Asn	Lys	Glu	Tyr	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Arg	Phe	Leu	Thr	Met	Leu	Thr
[3730]					180						185					190
[3731]	Ala	Ile	Ala	Thr	Gln	Gly	Ala	Ile	Ser	Arg	Glu	Thr	Gln	Asn	Gly	Tyr
[3732]					195						200					205
[3733]	Tyr	Val	Lys	Ser	Tyr	Lys	Leu	Glu	Val	Ser	Thr	Asn	Gly	Glu	Asp	Trp
[3734]					210						215					220
[3735]	Met	Val	Tyr	Arg	His	Gly	Lys	Asn	His	Lys	Val	Phe	Gln	Ala	Asn	Asn
[3736]	225					230						235				240
[3737]	Asp	Ala	Thr	Glu	Val	Val	Leu	Asn	Lys	Leu	His	Ala	Pro	Leu	Leu	Thr
[3738]					245						250					255
[3739]	Arg	Phe	Val	Arg	Ile	Arg	Pro	Gln	Thr	Trp	His	Ser	Gly	Ile	Ala	Leu
[3740]					260						265					270
[3741]	Arg	Leu	Glu	Leu	Phe	Gly	Cys	Arg	Val	Thr	Asp	Ala	Pro	Cys	Ser	Asn
[3742]					275							280				285
[3743]	Met	Leu	Gly	Met	Leu	Ser	Gly	Leu	Ile	Ala	Asp	Ser	Gln	Ile	Ser	Ala

[3744]	290	295	300
[3745]	Ser Ser Thr Gln Glu Tyr Leu Trp Ser Pro Ser Ala Ala Arg Leu Val		
[3746]	305	310	315 320
[3747]	Ser Ser Arg Ser Gly Trp Phe Pro Arg Ile Pro Gln Ala Gln Pro Gly		
[3748]	325	330	335
[3749]	Glu Glu Trp Leu Gln Val Asp Leu Gly Thr Pro Lys Thr Val Lys Gly		
[3750]	340	345	350
[3751]	Val Ile Ile Gln Gly Ala Arg Gly Gly Asp Ser Ile Thr Ala Val Glu		
[3752]	355	360	365
[3753]	Ala Arg Ala Phe Val Arg Lys Phe Lys Val Ser Tyr Ser Leu Asn Gly		
[3754]	370	375	380
[3755]	Lys Asp Trp Glu Tyr Ile Gln Asp Pro Arg Thr Gln Gln Pro Lys Leu		
[3756]	385	390	395 400
[3757]	Phe Glu Gly Asn Met His Tyr Asp Thr Pro Asp Ile Arg Arg Phe Asp		
[3758]	405	410	415
[3759]	Pro Ile Pro Ala Gln Tyr Val Arg Val Tyr Pro Glu Arg Trp Ser Pro		
[3760]	420	425	430
[3761]	Ala Gly Ile Gly Met Arg Leu Glu Val Leu Gly Cys Asp Trp Thr Asp		
[3762]	435	440	445
[3763]	Ser Lys Pro Thr Val Glu Thr Leu Gly Pro Thr Val Lys Ser Glu Glu		
[3764]	450	455	460
[3765]	Thr Thr Thr Pro Tyr Pro Thr Glu Glu Glu Ala Thr Glu Cys Gly Glu		
[3766]	465	470	475 480
[3767]	Asn Cys Ser Phe Glu Asp Asp Lys Asp Leu Gln Leu Pro Ser Gly Phe		
[3768]	485	490	495
[3769]	Asn Cys Asn Phe Asp Phe Leu Glu Glu Pro Cys Gly Trp Met Tyr Asp		
[3770]	500	505	510
[3771]	His Ala Lys Trp Leu Arg Thr Thr Trp Ala Ser Ser Ser Ser Pro Asn		
[3772]	515	520	525
[3773]	Asp Arg Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg Leu Gln Ser Asp		
[3774]	530	535	540
[3775]	Ser Gln Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser Pro Pro Val His		
[3776]	545	550	555 560
[3777]	Leu Pro Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr Gln Ala Thr Gly		
[3778]	565	570	575
[3779]	Gly Arg Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala Ser Gln Glu Ser		
[3780]	580	585	590
[3781]	Lys Leu Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly Glu Trp Lys His		
[3782]	595	600	605

[3783]	Gly Arg Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr Gln Ile Val Phe
[3784]	610 615 620
[3785]	Glu Gly Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile Ala Ile Asp Asp
[3786]	625 630 635 640
[3787]	Ile Arg Ile Ser Thr Asp Val Pro Leu Glu Asn Cys Met Glu
[3788]	645 650
[3789]	<210> 122
[3790]	<211> 780
[3791]	<212> PRT
[3792]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3793]	<400> 122
[3794]	Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu Asn Ser Lys Asp Ala Gly
[3795]	1 5 10 15
[3796]	Tyr Ile Thr Ser Pro Gly Tyr Pro Gln Asp Tyr Pro Ser His Gln Asn
[3797]	20 25 30
[3798]	Cys Glu Trp Ile Val Tyr Ala Pro Glu Pro Asn Gln Lys Ile Val Leu
[3799]	35 40 45
[3800]	Asn Phe Asn Pro His Phe Glu Ile Glu Lys His Asp Cys Lys Tyr Asp
[3801]	50 55 60
[3802]	Phe Ile Glu Ile Arg Asp Gly Asp Ser Glu Ser Ala Asp Leu Leu Gly
[3803]	65 70 75 80
[3804]	Lys His Cys Gly Asn Ile Ala Pro Pro Thr Ile Ile Ser Ser Gly Ser
[3805]	85 90 95
[3806]	Met Leu Tyr Ile Lys Phe Thr Ser Asp Tyr Ala Arg Gln Gly Ala Gly
[3807]	100 105 110
[3808]	Phe Ser Leu Arg Tyr Glu Ile Phe Lys Thr Gly Ser Glu Asp Cys Ser
[3809]	115 120 125
[3810]	Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile Glu Ser Pro Gly Phe Pro
[3811]	130 135 140
[3812]	Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr Phe Thr Ile Leu Ala Lys
[3813]	145 150 155 160
[3814]	Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu Ile Phe Asp Leu Glu His
[3815]	165 170 175
[3816]	Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys Lys Tyr Asp Trp Leu Asp
[3817]	180 185 190
[3818]	Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro Leu Ile Gly Lys Tyr Cys
[3819]	195 200 205
[3820]	Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser Ser Thr Gly Ile Leu Ser
[3821]	210 215 220

[3822]	Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala Lys Asp Gly Phe Ser Ala		
[3823]	225	230	235 240
[3824]	Arg Tyr Tyr Leu Val His Gln Glu Pro Leu Glu Asn Phe Gln Cys Asn		
[3825]	245	250	255
[3826]	Val Pro Leu Gly Met Glu Ser Gly Arg Ile Ala Asn Glu Gln Ile Ser		
[3827]	260	265	270
[3828]	Ala Ser Ser Thr Tyr Ser Asp Gly Arg Trp Thr Pro Gln Gln Ser Arg		
[3829]	275	280	285
[3830]	Leu His Gly Asp Asp Asn Gly Trp Thr Pro Asn Leu Asp Ser Asn Lys		
[3831]	290	295	300
[3832]	Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Phe Leu Thr Met Leu Thr Ala Ile		
[3833]	305	310	315 320
[3834]	Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr Gln Asn Gly Tyr Tyr Val		
[3835]	325	330	335
[3836]	Lys Ser Tyr Lys Leu Glu Val Ser Thr Asn Gly Glu Asp Trp Met Val		
[3837]	340	345	350
[3838]	Tyr Arg His Gly Lys Asn His Lys Val Phe Gln Ala Asn Asn Asp Ala		
[3839]	355	360	365
[3840]	Thr Glu Val Val Leu Asn Lys Leu His Ala Pro Leu Leu Thr Arg Phe		
[3841]	370	375	380
[3842]	Val Arg Ile Arg Pro Gln Thr Trp His Ser Gly Ile Ala Leu Arg Leu		
[3843]	385	390	395 400
[3844]	Glu Leu Phe Gly Cys Arg Val Thr Asp Ala Pro Cys Ser Asn Met Leu		
[3845]	405	410	415
[3846]	Gly Met Leu Ser Gly Leu Ile Ala Asp Ser Gln Ile Ser Ala Ser Ser		
[3847]	420	425	430
[3848]	Thr Gln Glu Tyr Leu Trp Ser Pro Ser Ala Ala Arg Leu Val Ser Ser		
[3849]	435	440	445
[3850]	Arg Ser Gly Trp Phe Pro Arg Ile Pro Gln Ala Gln Pro Gly Glu Glu		
[3851]	450	455	460
[3852]	Trp Leu Gln Val Asp Leu Gly Thr Pro Lys Thr Val Lys Gly Val Ile		
[3853]	465	470	475 480
[3854]	Ile Gln Gly Ala Arg Gly Gly Asp Ser Ile Thr Ala Val Glu Ala Arg		
[3855]	485	490	495
[3856]	Ala Phe Val Arg Lys Phe Lys Val Ser Tyr Ser Leu Asn Gly Lys Asp		
[3857]	500	505	510
[3858]	Trp Glu Tyr Ile Gln Asp Pro Arg Thr Gln Gln Pro Lys Leu Phe Glu		
[3859]	515	520	525
[3860]	Gly Asn Met His Tyr Asp Thr Pro Asp Ile Arg Arg Phe Asp Pro Ile		

[3861]	530	535	540
[3862]	Pro Ala Gln Tyr Val Arg Val Tyr Pro Glu Arg Trp Ser Pro Ala Gly		
[3863]	545	550	555
[3864]	Ile Gly Met Arg Leu Glu Val Leu Gly Cys Asp Trp Thr Asp Ser Lys		
[3865]	565	570	575
[3866]	Pro Thr Val Glu Thr Leu Gly Pro Thr Val Lys Ser Glu Glu Thr Thr		
[3867]	580	585	590
[3868]	Thr Pro Tyr Pro Thr Glu Glu Glu Ala Thr Glu Cys Gly Glu Asn Cys		
[3869]	595	600	605
[3870]	Ser Phe Glu Asp Asp Lys Asp Leu Gln Leu Pro Ser Gly Phe Asn Cys		
[3871]	610	615	620
[3872]	Asn Phe Asp Phe Leu Glu Glu Pro Cys Gly Trp Met Tyr Asp His Ala		
[3873]	625	630	635
[3874]	Lys Trp Leu Arg Thr Thr Trp Ala Ser Ser Ser Ser Pro Asn Asp Arg		
[3875]	645	650	655
[3876]	Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg Leu Gln Ser Asp Ser Gln		
[3877]	660	665	670
[3878]	Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser Pro Pro Val His Leu Pro		
[3879]	675	680	685
[3880]	Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr Gln Ala Thr Gly Gly Arg		
[3881]	690	695	700
[3882]	Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala Ser Gln Glu Ser Lys Leu		
[3883]	705	710	715
[3884]	Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly Glu Trp Lys His Gly Arg		
[3885]	725	730	735
[3886]	Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr Gln Ile Val Phe Glu Gly		
[3887]	740	745	750
[3888]	Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile Ala Ile Asp Asp Ile Arg		
[3889]	755	760	765
[3890]	Ile Ser Thr Asp Val Pro Leu Glu Asn Cys Met Glu		
[3891]	770	775	780
[3892]	<210> 123		
[3893]	<211> 837		
[3894]	<212> PRT		
[3895]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[3896]	<400> 123		
[3897]	Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu Asn Ser Lys Asp Ala Gly		
[3898]	1	5	10
[3899]	Tyr Ile Thr Ser Pro Gly Tyr Pro Gln Asp Tyr Pro Ser His Gln Asn		

[3900]	20	25	30
[3901]	Cys Glu Trp Ile Val Tyr Ala Pro Glu Pro Asn Gln Lys Ile Val Leu		
[3902]	35	40	45
[3903]	Asn Phe Asn Pro His Phe Glu Ile Glu Lys His Asp Cys Lys Tyr Asp		
[3904]	50	55	60
[3905]	Phe Ile Glu Ile Arg Asp Gly Asp Ser Glu Ser Ala Asp Leu Leu Gly		
[3906]	65	70	75
[3907]	Lys His Cys Gly Asn Ile Ala Pro Pro Thr Ile Ile Ser Ser Gly Ser		
[3908]	85	90	95
[3909]	Met Leu Tyr Ile Lys Phe Thr Ser Asp Tyr Ala Arg Gln Gly Ala Gly		
[3910]	100	105	110
[3911]	Phe Ser Leu Arg Tyr Glu Ile Phe Lys Thr Gly Ser Glu Asp Cys Ser		
[3912]	115	120	125
[3913]	Lys Asn Phe Thr Ser Pro Asn Gly Thr Ile Glu Ser Pro Gly Phe Pro		
[3914]	130	135	140
[3915]	Glu Lys Tyr Pro His Asn Leu Asp Cys Thr Phe Thr Ile Leu Ala Lys		
[3916]	145	150	155
[3917]	Pro Lys Met Glu Ile Ile Leu Gln Phe Leu Ile Phe Asp Leu Glu His		
[3918]	165	170	175
[3919]	Asp Pro Leu Gln Val Gly Glu Gly Asp Cys Lys Tyr Asp Trp Leu Asp		
[3920]	180	185	190
[3921]	Ile Trp Asp Gly Ile Pro His Val Gly Pro Leu Ile Gly Lys Tyr Cys		
[3922]	195	200	205
[3923]	Gly Thr Lys Thr Pro Ser Glu Leu Arg Ser Ser Thr Gly Ile Leu Ser		
[3924]	210	215	220
[3925]	Leu Thr Phe His Thr Asp Met Ala Val Ala Lys Asp Gly Phe Ser Ala		
[3926]	225	230	235
[3927]	Arg Tyr Tyr Leu Val His Gln Glu Pro Leu Glu Asn Phe Gln Cys Asn		
[3928]	245	250	255
[3929]	Val Pro Leu Gly Met Glu Ser Gly Arg Ile Ala Asn Glu Gln Ile Ser		
[3930]	260	265	270
[3931]	Ala Ser Ser Thr Tyr Ser Asp Gly Arg Trp Thr Pro Gln Gln Ser Arg		
[3932]	275	280	285
[3933]	Leu His Gly Asp Asp Asn Gly Trp Thr Pro Asn Leu Asp Ser Asn Lys		
[3934]	290	295	300
[3935]	Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Phe Leu Thr Met Leu Thr Ala Ile		
[3936]	305	310	315
[3937]	Ala Thr Gln Gly Ala Ile Ser Arg Glu Thr Gln Asn Gly Tyr Tyr Val		
[3938]	325	330	335

[3939]	Lys	Ser	Tyr	Lys	Leu	Glu	Val	Ser	Thr	Asn	Gly	Glu	Asp	Trp	Met	Val
[3940]				340					345					350		
[3941]	Tyr	Arg	His	Gly	Lys	Asn	His	Lys	Val	Phe	Gln	Ala	Asn	Asn	Asp	Ala
[3942]				355					360					365		
[3943]	Thr	Glu	Val	Val	Leu	Asn	Lys	Leu	His	Ala	Pro	Leu	Leu	Thr	Arg	Phe
[3944]		370						375					380			
[3945]	Val	Arg	Ile	Arg	Pro	Gln	Thr	Trp	His	Ser	Gly	Ile	Ala	Leu	Arg	Leu
[3946]	385					390					395					400
[3947]	Glu	Leu	Phe	Gly	Cys	Arg	Val	Thr	Asp	Ala	Pro	Cys	Ser	Asn	Met	Leu
[3948]					405					410					415	
[3949]	Gly	Met	Leu	Ser	Gly	Leu	Ile	Ala	Asp	Ser	Gln	Ile	Ser	Ala	Ser	Ser
[3950]				420					425					430		
[3951]	Thr	Gln	Glu	Tyr	Leu	Trp	Ser	Pro	Ser	Ala	Ala	Arg	Leu	Val	Ser	Ser
[3952]			435					440					445			
[3953]	Arg	Ser	Gly	Trp	Phe	Pro	Arg	Ile	Pro	Gln	Ala	Gln	Pro	Gly	Glu	Glu
[3954]		450					455					460				
[3955]	Trp	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Pro	Lys	Thr	Val	Lys	Gly	Val	Ile
[3956]	465					470					475					480
[3957]	Ile	Gln	Gly	Ala	Arg	Gly	Gly	Asp	Ser	Ile	Thr	Ala	Val	Glu	Ala	Arg
[3958]					485					490					495	
[3959]	Ala	Phe	Val	Arg	Lys	Phe	Lys	Val	Ser	Tyr	Ser	Leu	Asn	Gly	Lys	Asp
[3960]				500					505					510		
[3961]	Trp	Glu	Tyr	Ile	Gln	Asp	Pro	Arg	Thr	Gln	Gln	Pro	Lys	Leu	Phe	Glu
[3962]			515					520					525			
[3963]	Gly	Asn	Met	His	Tyr	Asp	Thr	Pro	Asp	Ile	Arg	Arg	Phe	Asp	Pro	Ile
[3964]		530					535					540				
[3965]	Pro	Ala	Gln	Tyr	Val	Arg	Val	Tyr	Pro	Glu	Arg	Trp	Ser	Pro	Ala	Gly
[3966]	545					550				555						560
[3967]	Ile	Gly	Met	Arg	Leu	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Asp	Trp	Thr	Asp	Ser	Lys
[3968]					565				570					575		
[3969]	Pro	Thr	Val	Glu	Thr	Leu	Gly	Pro	Thr	Val	Lys	Ser	Glu	Glu	Thr	Thr
[3970]				580					585					590		
[3971]	Thr	Pro	Tyr	Pro	Thr	Glu	Glu	Glu	Ala	Thr	Glu	Cys	Gly	Glu	Asn	Cys
[3972]			595					600					605			
[3973]	Ser	Phe	Glu	Asp	Asp	Lys	Asp	Leu	Gln	Leu	Pro	Ser	Gly	Phe	Asn	Cys
[3974]		610					615					620				
[3975]	Asn	Phe	Asp	Phe	Leu	Glu	Glu	Pro	Cys	Gly	Trp	Met	Tyr	Asp	His	Ala
[3976]	625					630				635						640
[3977]	Lys	Trp	Leu	Arg	Thr	Thr	Trp	Ala	Ser	Ser	Ser	Ser	Pro	Asn	Asp	Arg

[3978]		645		650		655	
[3979]	Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg Leu Gln Ser Asp Ser Gln						
[3980]		660		665		670	
[3981]	Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser Pro Pro Val His Leu Pro						
[3982]		675		680		685	
[3983]	Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr Gln Ala Thr Gly Gly Arg						
[3984]		690		695		700	
[3985]	Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala Ser Gln Glu Ser Lys Leu						
[3986]	705		710		715		720
[3987]	Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly Glu Trp Lys His Gly Arg						
[3988]		725		730		735	
[3989]	Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr Gln Ile Val Phe Glu Gly						
[3990]		740		745		750	
[3991]	Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile Ala Ile Asp Asp Ile Arg						
[3992]		755		760		765	
[3993]	Ile Ser Thr Asp Val Pro Leu Glu Asn Cys Met Glu Pro Ile Ser Ala						
[3994]		770		775		780	
[3995]	Phe Ala Val Asp Ile Pro Glu Ile His Glu Arg Glu Gly Tyr Glu Asp						
[3996]	785		790		795		800
[3997]	Glu Ile Asp Asp Glu Tyr Glu Val Asp Trp Ser Asn Ser Ser Ser Ala						
[3998]		805		810		815	
[3999]	Thr Ser Gly Ser Gly Ala Pro Ser Thr Asp Lys Glu Lys Ser Trp Leu						
[4000]		820		825		830	
[4001]	Tyr Thr Leu Asp Pro						
[4002]		835					
[4003]	<210> 124						
[4004]	<211> 809						
[4005]	<212> PRT						
[4006]	<213> 智人(Homo sapiens)						
[4007]	<400> 124						
[4008]	Gln Pro Asp Pro Pro Cys Gly Gly Arg Leu Asn Ser Lys Asp Ala Gly						
[4009]	1	5		10		15	
[4010]	Tyr Ile Thr Ser Pro Gly Tyr Pro Gln Asp Tyr Pro Ser His Gln Asn						
[4011]		20		25		30	
[4012]	Cys Glu Trp Ile Val Tyr Ala Pro Glu Pro Asn Gln Lys Ile Val Leu						
[4013]		35		40		45	
[4014]	Asn Phe Asn Pro His Phe Glu Ile Glu Lys His Asp Cys Lys Tyr Asp						
[4015]		50		55		60	
[4016]	Phe Ile Glu Ile Arg Asp Gly Asp Ser Glu Ser Ala Asp Leu Leu Gly						

[4017]	65					70										80
[4018]	Lys	His	Cys	Gly	Asn	Ile	Ala	Pro	Pro	Thr	Ile	Ile	Ser	Ser	Gly	Ser
[4019]						85					90					95
[4020]	Met	Leu	Tyr	Ile	Lys	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ala	Arg	Gln	Gly	Ala	Gly
[4021]						100					105					110
[4022]	Phe	Ser	Leu	Arg	Tyr	Glu	Ile	Phe	Lys	Thr	Gly	Ser	Glu	Asp	Cys	Ser
[4023]						115					120					125
[4024]	Lys	Asn	Phe	Thr	Ser	Pro	Asn	Gly	Thr	Ile	Glu	Ser	Pro	Gly	Phe	Pro
[4025]						130					135					140
[4026]	Glu	Lys	Tyr	Pro	His	Asn	Leu	Asp	Cys	Thr	Phe	Thr	Ile	Leu	Ala	Lys
[4027]	145						150				155					160
[4028]	Pro	Lys	Met	Glu	Ile	Ile	Leu	Gln	Phe	Leu	Ile	Phe	Asp	Leu	Glu	His
[4029]						165					170					175
[4030]	Asp	Pro	Leu	Gln	Val	Gly	Glu	Gly	Asp	Cys	Lys	Tyr	Asp	Trp	Leu	Asp
[4031]						180					185					190
[4032]	Ile	Trp	Asp	Gly	Ile	Pro	His	Val	Gly	Pro	Leu	Ile	Gly	Lys	Tyr	Cys
[4033]						195					200					205
[4034]	Gly	Thr	Lys	Thr	Pro	Ser	Glu	Leu	Arg	Ser	Ser	Thr	Gly	Ile	Leu	Ser
[4035]						210					215					220
[4036]	Leu	Thr	Phe	His	Thr	Asp	Met	Ala	Val	Ala	Lys	Asp	Gly	Phe	Ser	Ala
[4037]	225						230				235					240
[4038]	Arg	Tyr	Tyr	Leu	Val	His	Gln	Glu	Pro	Leu	Glu	Asn	Phe	Gln	Cys	Asn
[4039]						245					250					255
[4040]	Val	Pro	Leu	Gly	Met	Glu	Ser	Gly	Arg	Ile	Ala	Asn	Glu	Gln	Ile	Ser
[4041]						260					265					270
[4042]	Ala	Ser	Ser	Thr	Tyr	Ser	Asp	Gly	Arg	Trp	Thr	Pro	Gln	Gln	Ser	Arg
[4043]						275					280					285
[4044]	Leu	His	Gly	Asp	Asp	Asn	Gly	Trp	Thr	Pro	Asn	Leu	Asp	Ser	Asn	Lys
[4045]						290					295					300
[4046]	Glu	Tyr	Leu	Gln	Val	Asp	Leu	Arg	Phe	Leu	Thr	Met	Leu	Thr	Ala	Ile
[4047]	305						310				315					320
[4048]	Ala	Thr	Gln	Gly	Ala	Ile	Ser	Arg	Glu	Thr	Gln	Asn	Gly	Tyr	Tyr	Val
[4049]						325					330					335
[4050]	Lys	Ser	Tyr	Lys	Leu	Glu	Val	Ser	Thr	Asn	Gly	Glu	Asp	Trp	Met	Val
[4051]						340					345					350
[4052]	Tyr	Arg	His	Gly	Lys	Asn	His	Lys	Val	Phe	Gln	Ala	Asn	Asn	Asp	Ala
[4053]						355					360					365
[4054]	Thr	Glu	Val	Val	Leu	Asn	Lys	Leu	His	Ala	Pro	Leu	Leu	Thr	Arg	Phe
[4055]						370					375					380

[4056]	Val Arg Ile Arg Pro Gln Thr Trp His Ser Gly Ile Ala Leu Arg Leu
[4057]	385 390 395 400
[4058]	Glu Leu Phe Gly Cys Arg Val Thr Asp Ala Pro Cys Ser Asn Met Leu
[4059]	405 410 415
[4060]	Gly Met Leu Ser Gly Leu Ile Ala Asp Ser Gln Ile Ser Ala Ser Ser
[4061]	420 425 430
[4062]	Thr Gln Glu Tyr Leu Trp Ser Pro Ser Ala Ala Arg Leu Val Ser Ser
[4063]	435 440 445
[4064]	Arg Ser Gly Trp Phe Pro Arg Ile Pro Gln Ala Gln Pro Gly Glu Glu
[4065]	450 455 460
[4066]	Trp Leu Gln Val Asp Leu Gly Thr Pro Lys Thr Val Lys Gly Val Ile
[4067]	465 470 475 480
[4068]	Ile Gln Gly Ala Arg Gly Gly Asp Ser Ile Thr Ala Val Glu Ala Arg
[4069]	485 490 495
[4070]	Ala Phe Val Arg Lys Phe Lys Val Ser Tyr Ser Leu Asn Gly Lys Asp
[4071]	500 505 510
[4072]	Trp Glu Tyr Ile Gln Asp Pro Arg Thr Gln Gln Pro Lys Leu Phe Glu
[4073]	515 520 525
[4074]	Gly Asn Met His Tyr Asp Thr Pro Asp Ile Arg Arg Phe Asp Pro Ile
[4075]	530 535 540
[4076]	Pro Ala Gln Tyr Val Arg Val Tyr Pro Glu Arg Trp Ser Pro Ala Gly
[4077]	545 550 555 560
[4078]	Ile Gly Met Arg Leu Glu Val Leu Gly Cys Asp Trp Thr Asp Ser Lys
[4079]	565 570 575
[4080]	Pro Thr Val Glu Thr Leu Gly Pro Thr Val Lys Ser Glu Glu Thr Thr
[4081]	580 585 590
[4082]	Thr Pro Tyr Pro Thr Glu Glu Glu Ala Thr Glu Cys Gly Glu Asn Cys
[4083]	595 600 605
[4084]	Ser Phe Glu Asp Asp Lys Asp Leu Gln Leu Pro Ser Gly Phe Asn Cys
[4085]	610 615 620
[4086]	Asn Phe Asp Phe Leu Glu Glu Pro Cys Gly Trp Met Tyr Asp His Ala
[4087]	625 630 635 640
[4088]	Lys Trp Leu Arg Thr Thr Trp Ala Ser Ser Ser Ser Pro Asn Asp Arg
[4089]	645 650 655
[4090]	Thr Phe Pro Asp Asp Arg Asn Phe Leu Arg Leu Gln Ser Asp Ser Gln
[4091]	660 665 670
[4092]	Arg Glu Gly Gln Tyr Ala Arg Leu Ile Ser Pro Pro Val His Leu Pro
[4093]	675 680 685
[4094]	Arg Ser Pro Val Cys Met Glu Phe Gln Tyr Gln Ala Thr Gly Gly Arg

[4095]	690	695	700
[4096]	Gly Val Ala Leu Gln Val Val Arg Glu Ala Ser Gln Glu Ser Lys Leu		
[4097]	705	710	715 720
[4098]	Leu Trp Val Ile Arg Glu Asp Gln Gly Gly Glu Trp Lys His Gly Arg		
[4099]	725	730	735
[4100]	Ile Ile Leu Pro Ser Tyr Asp Met Glu Tyr Gln Ile Val Phe Glu Gly		
[4101]	740	745	750
[4102]	Val Ile Gly Lys Gly Arg Ser Gly Glu Ile Ala Ile Asp Asp Ile Arg		
[4103]	755	760	765
[4104]	Ile Ser Thr Asp Val Pro Leu Glu Asn Cys Met Glu Pro Ile Ser Ala		
[4105]	770	775	780
[4106]	Phe Ala Gly Gly Thr Leu Leu Pro Gly Thr Glu Pro Thr Val Asp Thr		
[4107]	785	790	795 800
[4108]	Val Pro Met Gln Pro Ile Pro Ala Tyr		
[4109]	805		
[4110]	<210> 125		
[4111]	<211> 24		
[4112]	<212> DNA		
[4113]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[4114]	<220>		
[4115]	<223> 实验室制备-引物		
[4116]	<400> 125		
[4117]	tgaggatgac aaagatttgc agct 24		
[4118]	<210> 126		
[4119]	<211> 36		
[4120]	<212> DNA		
[4121]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[4122]	<220>		
[4123]	<223> 实验室制备-引物		
[4124]	<400> 126		
[4125]	accgcggccg gccgtttatg cctcggagca gcactt 36		
[4126]	<210> 127		
[4127]	<211> 22		
[4128]	<212> DNA		
[4129]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[4130]	<220>		
[4131]	<223> 实验室制备-引物		
[4132]	<400> 127		
[4133]	agtgccaagc aagcaactca aa 22		

-
- [4134] <210> 128
[4135] <211> 36
[4136] <212> DNA
[4137] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4138] <220>
[4139] <223> 实验室制备-引物
[4140] <400> 128
[4141] aagtgctgct ccgaggcata aacggccggc cgcggt 36

神经纤毛蛋白的一般结构域结构

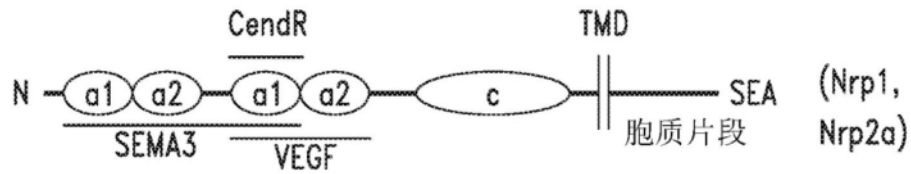


图1A

神经纤毛蛋白共受体功能

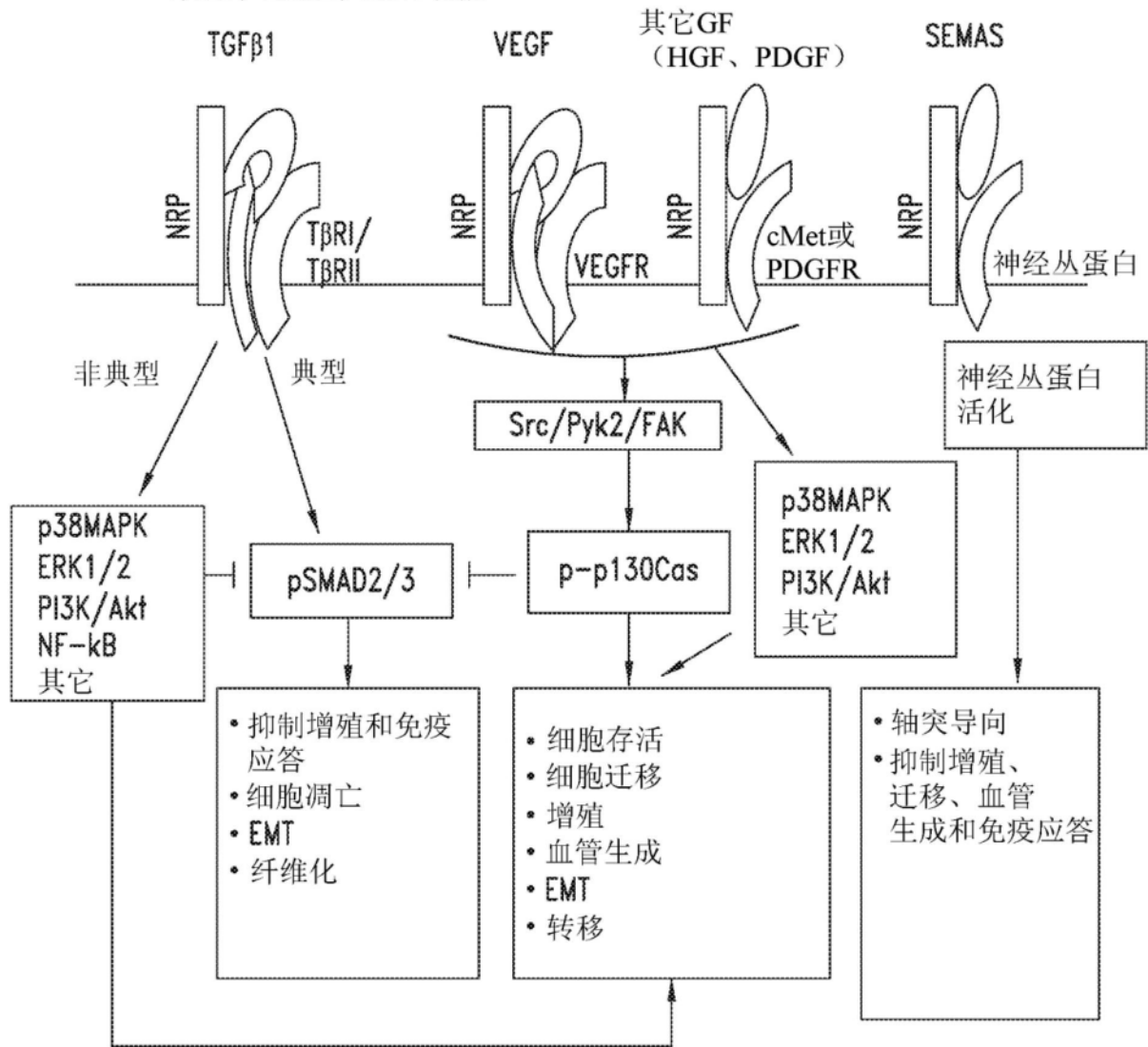


图1B

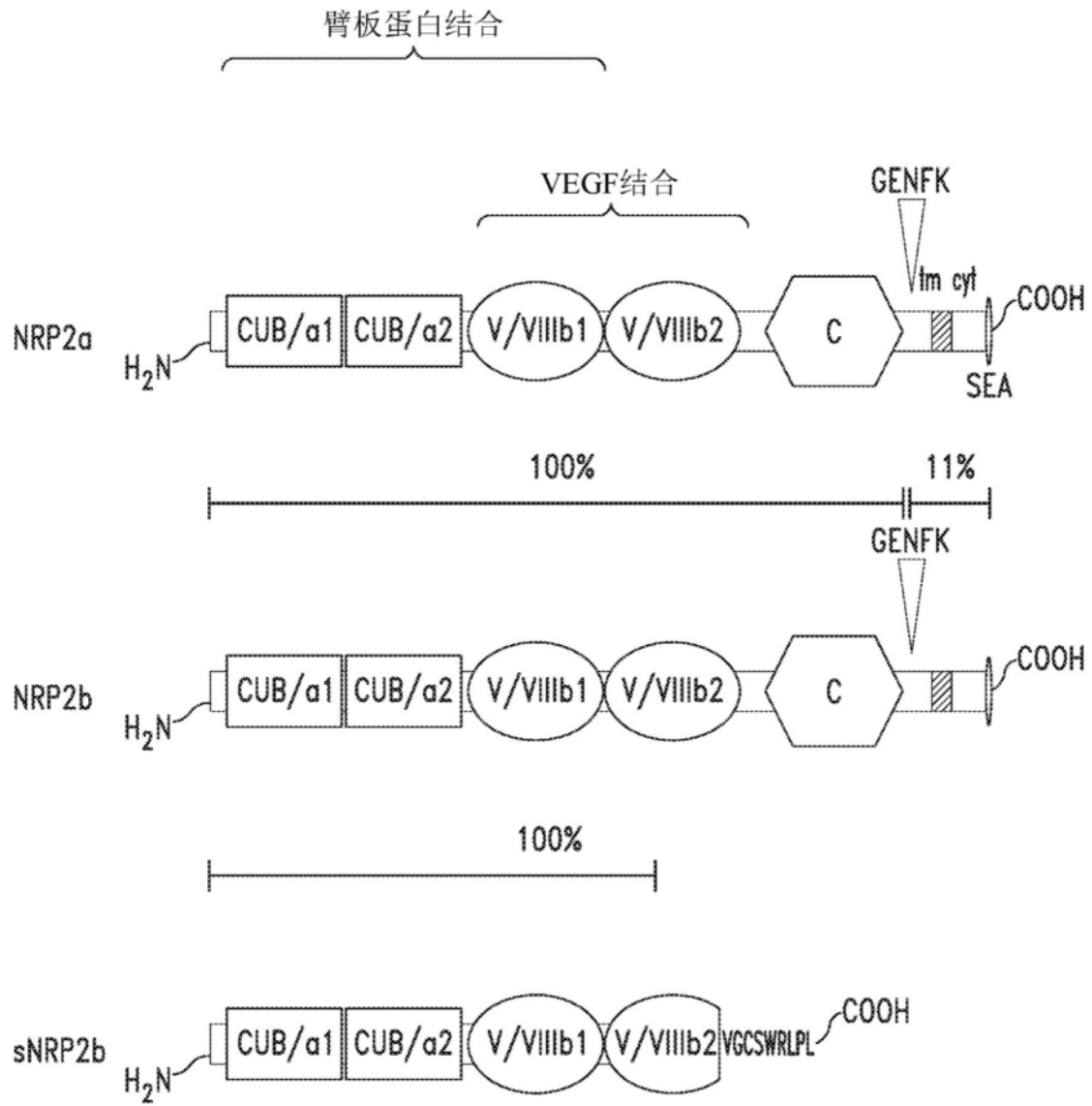


图2

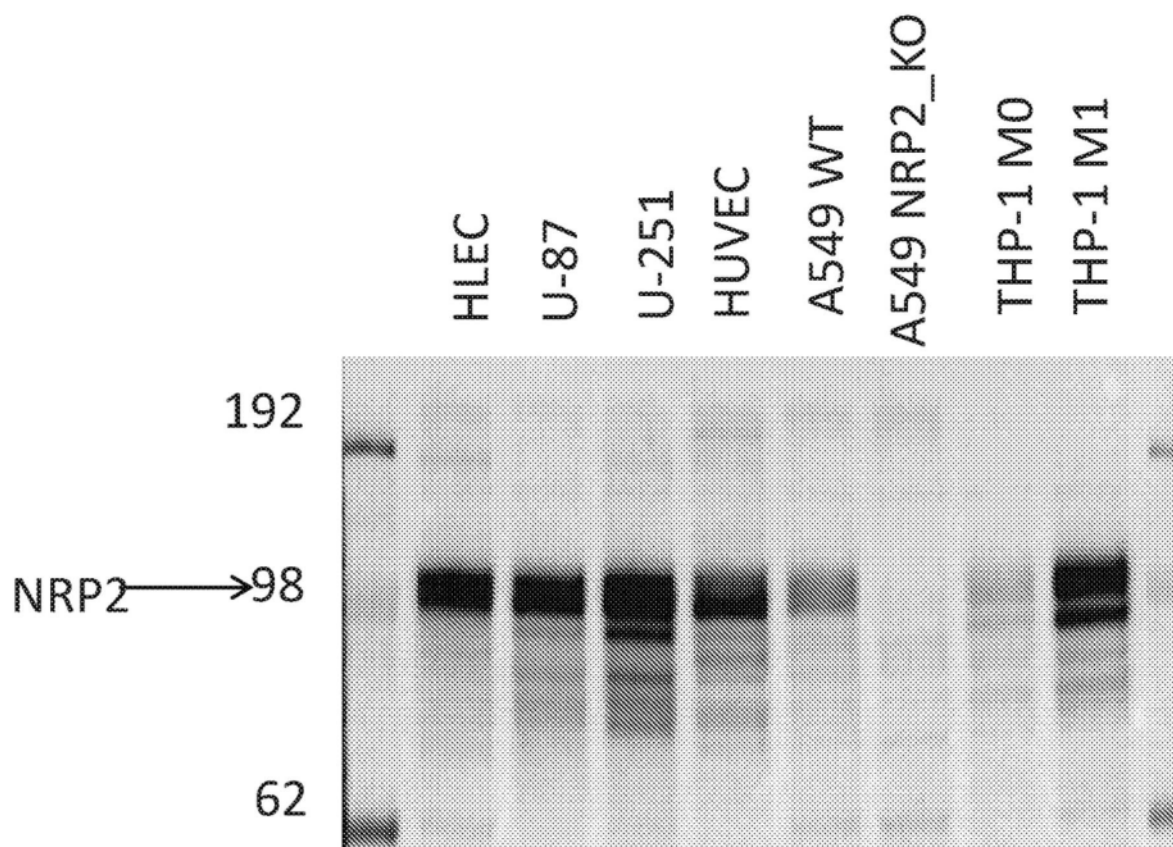


图3

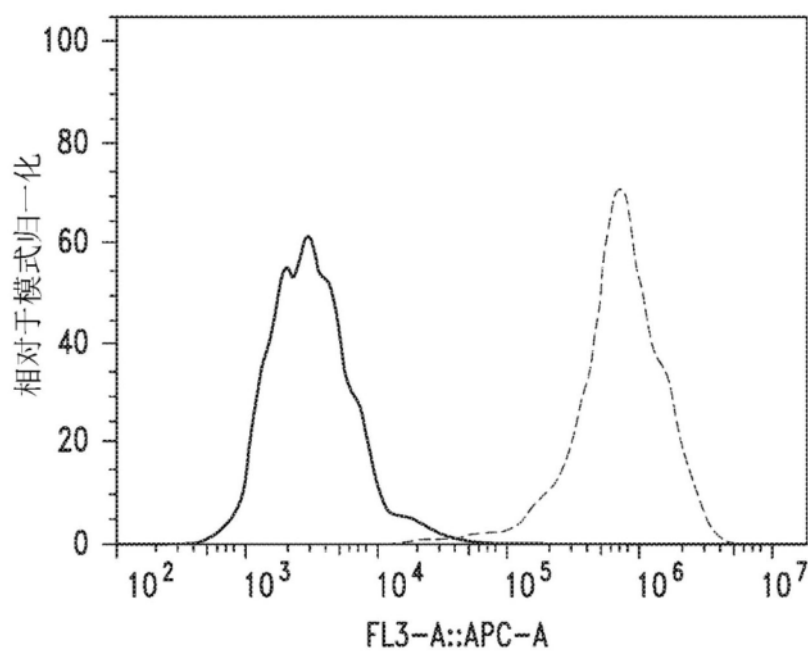


图4A

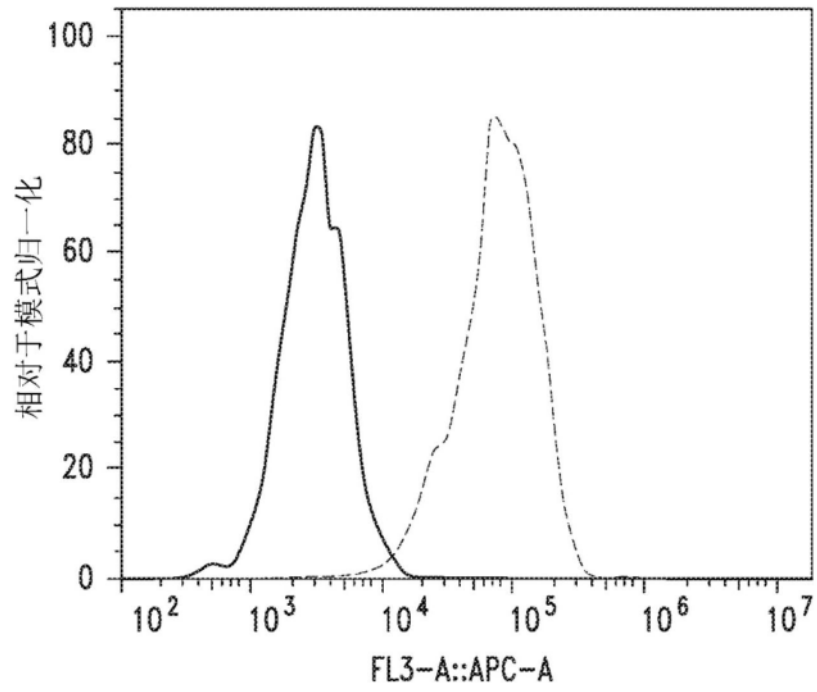


图4B

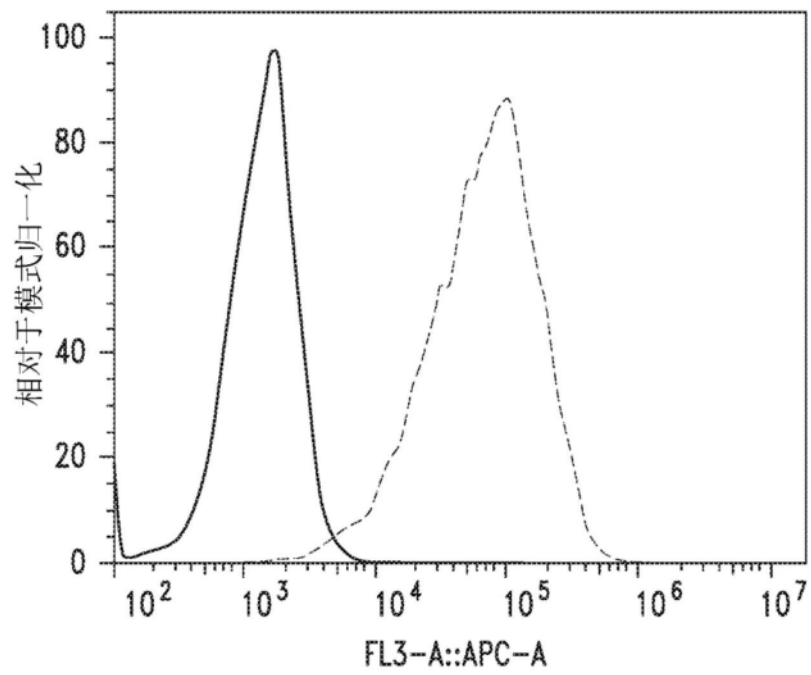


图4C

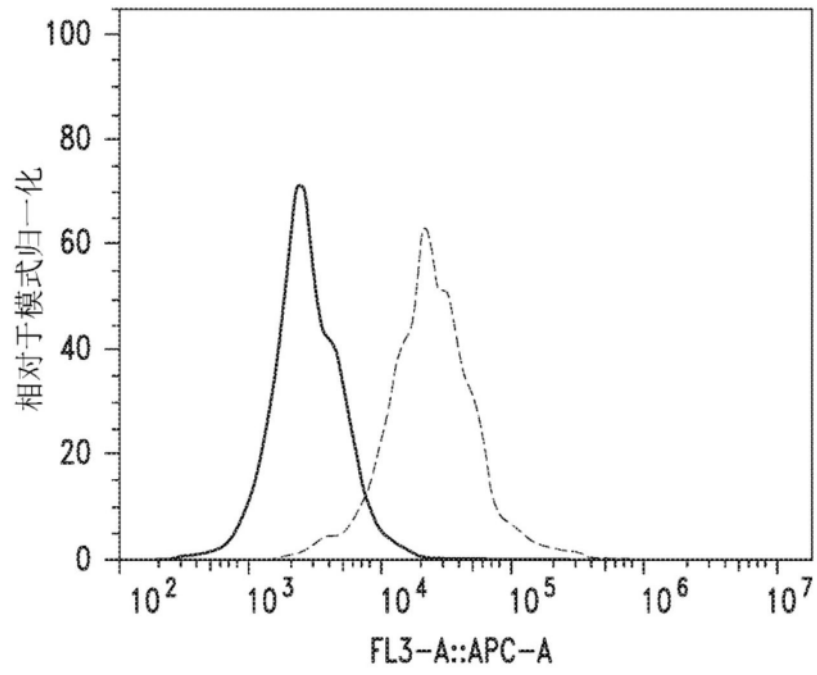


图4D

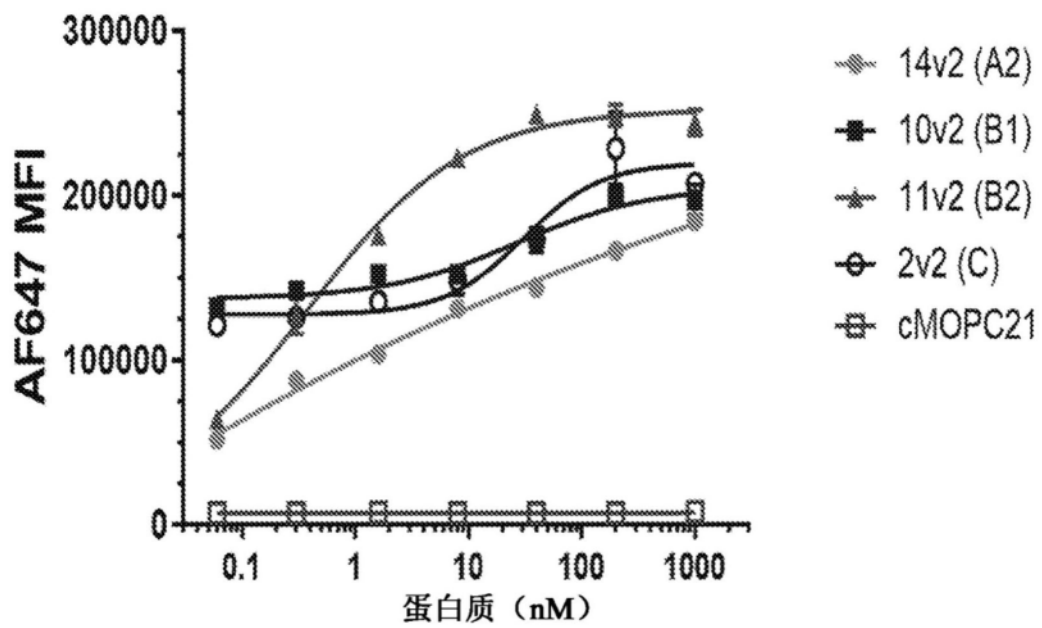


图5A

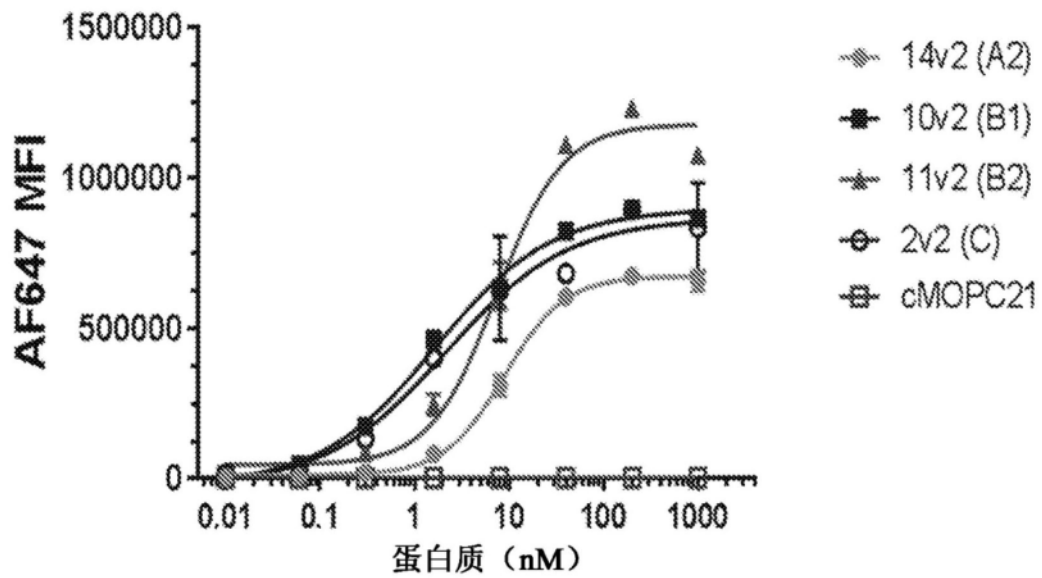


图5B

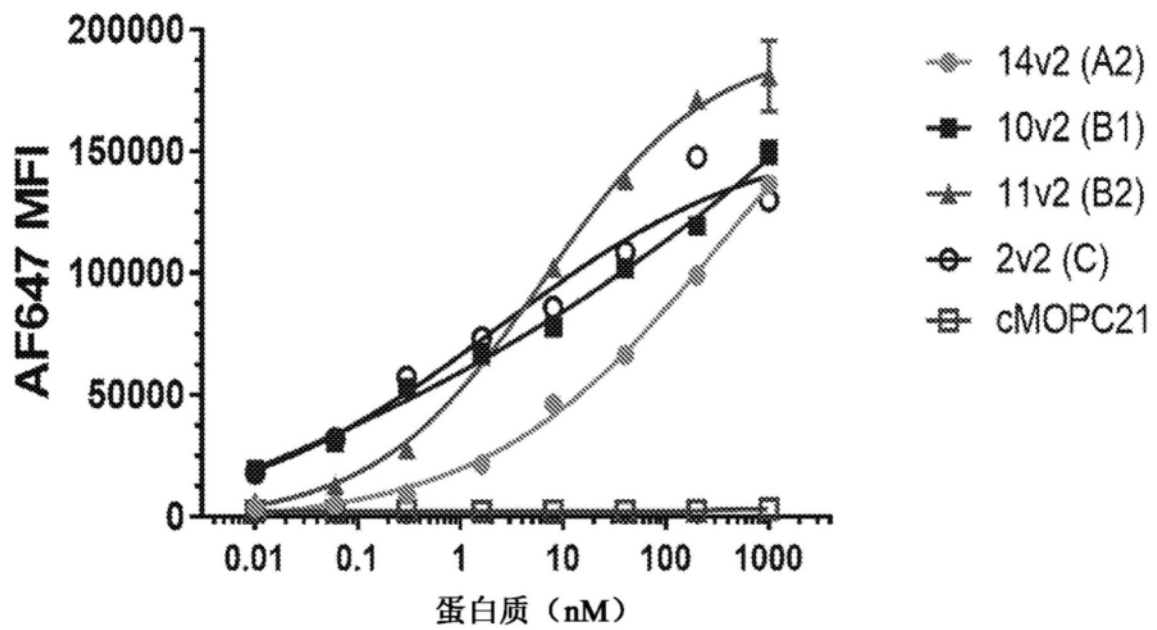


图5C

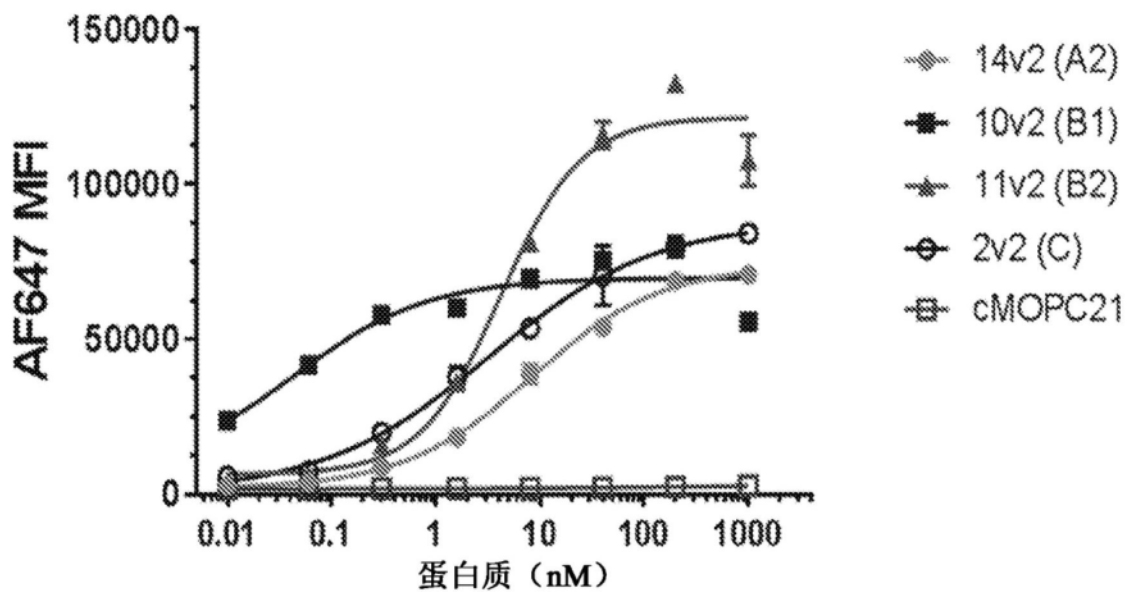


图5D

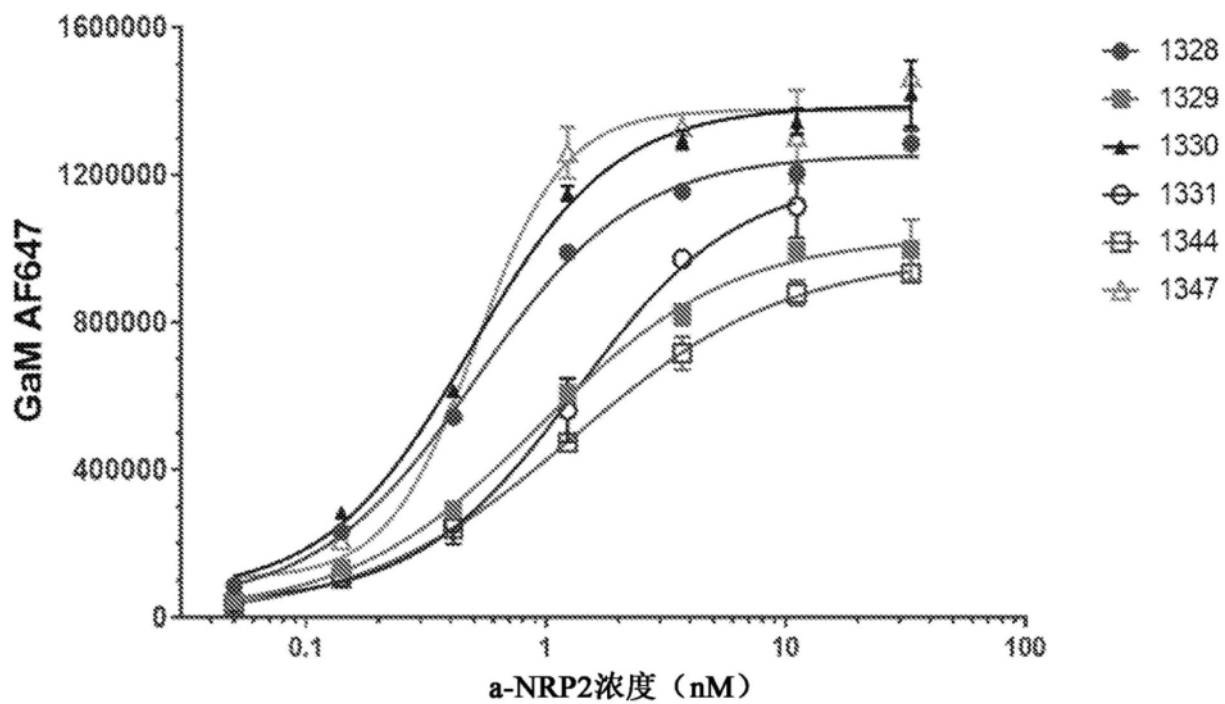


图6A

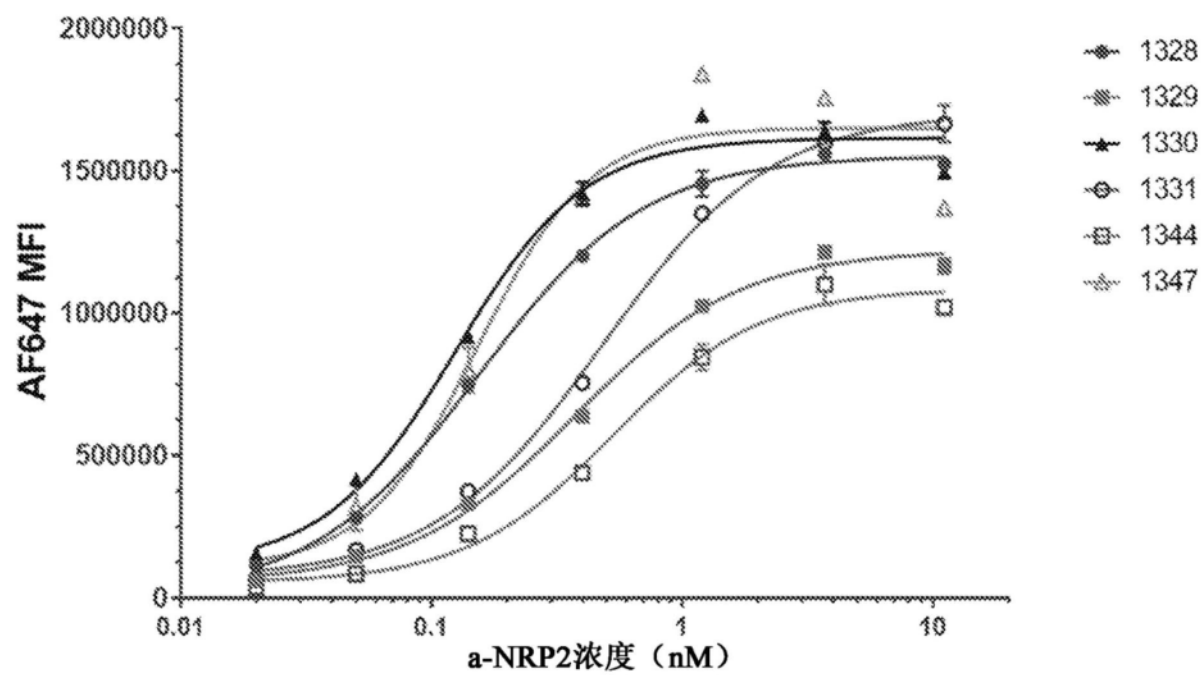


图6B

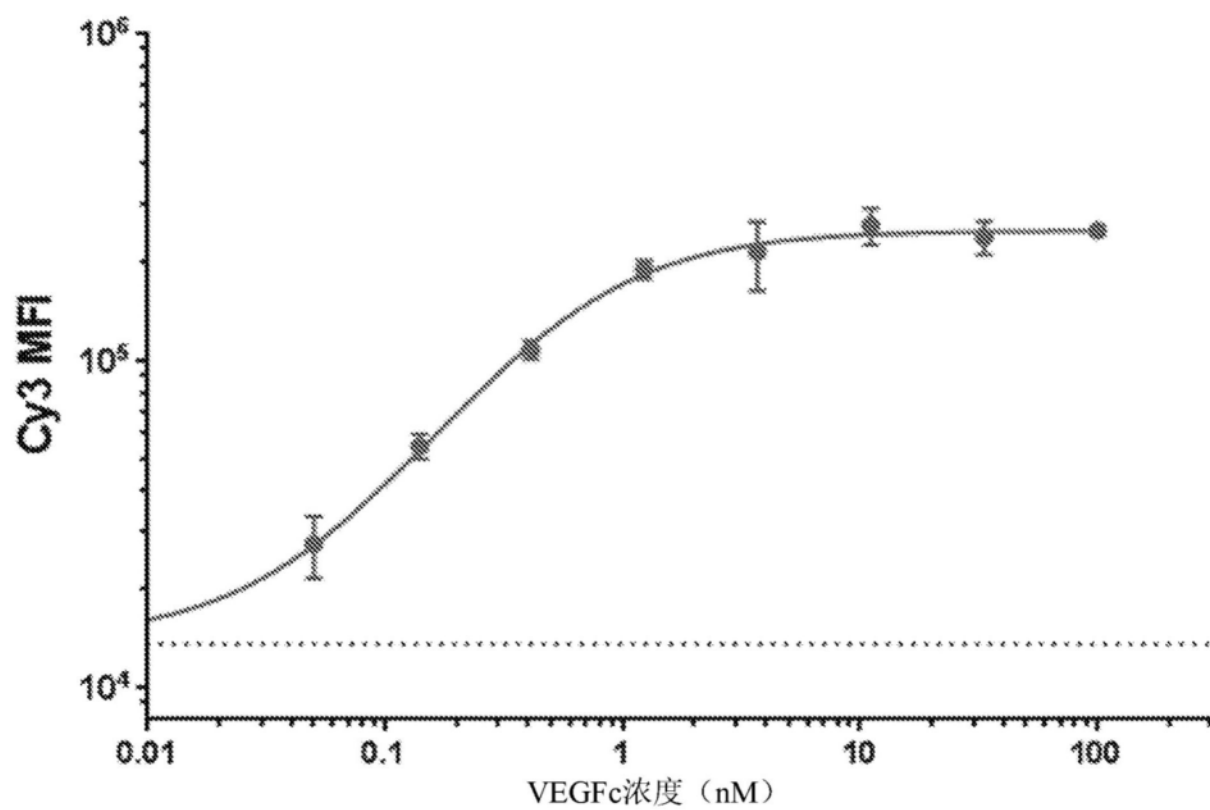


图7A

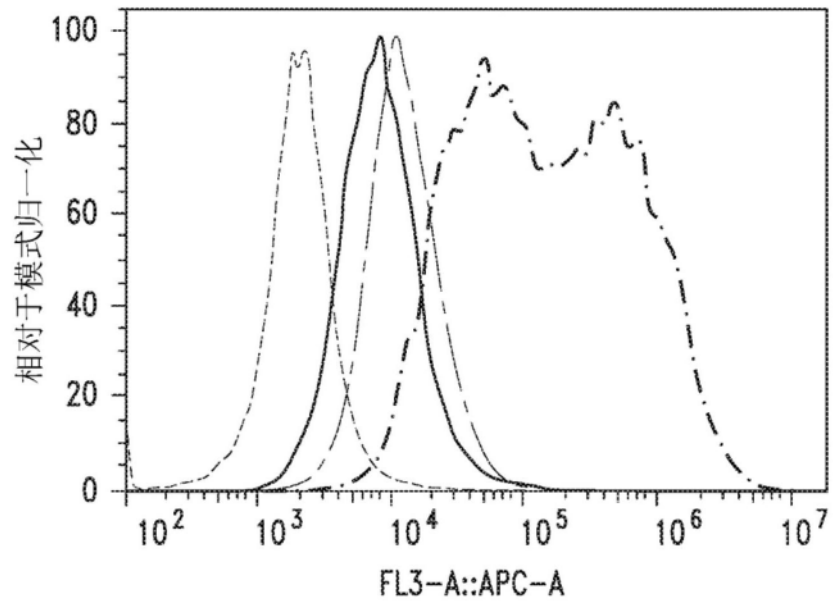


图7B

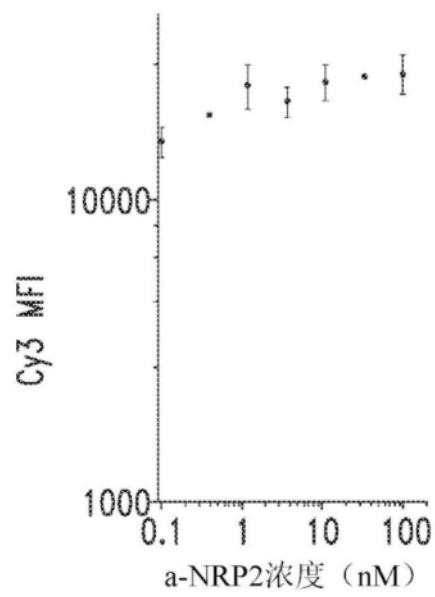


图8A

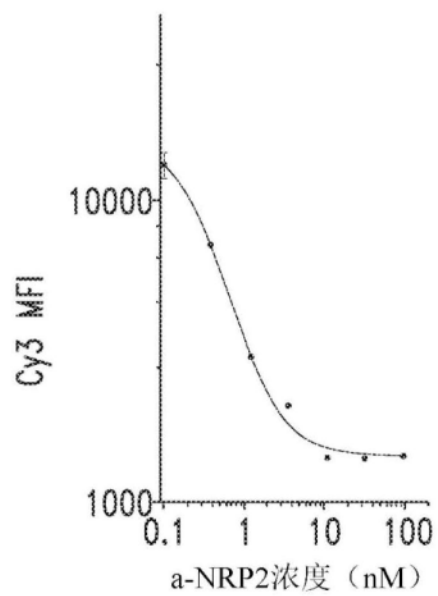


图8B

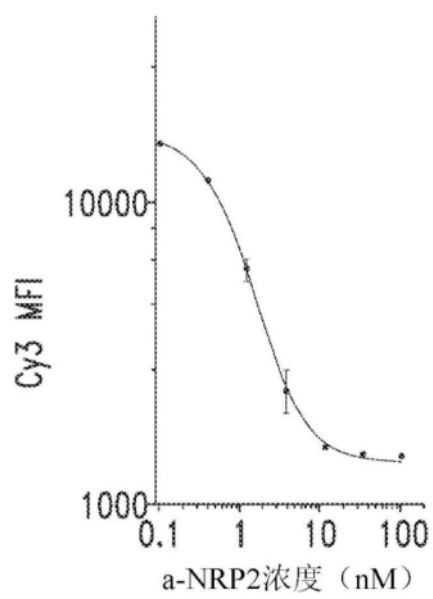


图8C

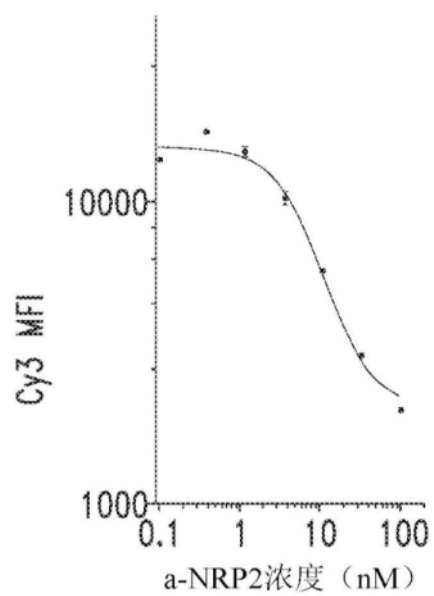


图8D

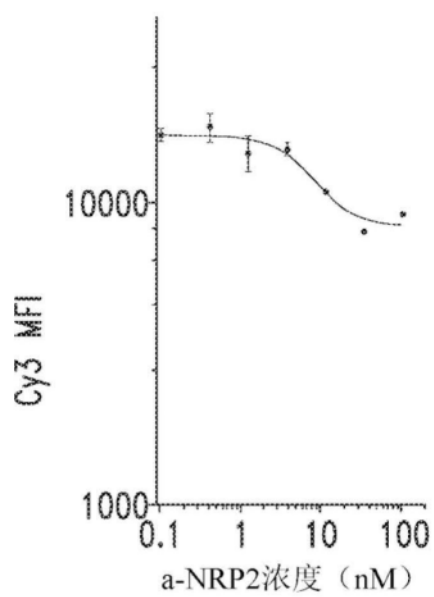


图8E

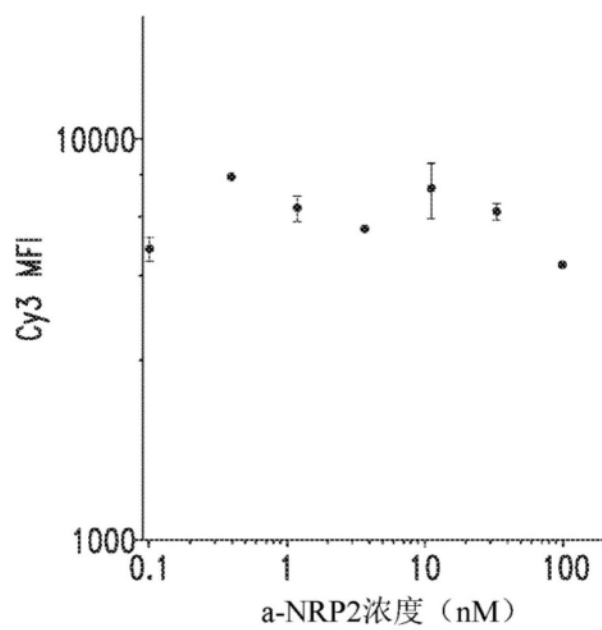


图8F

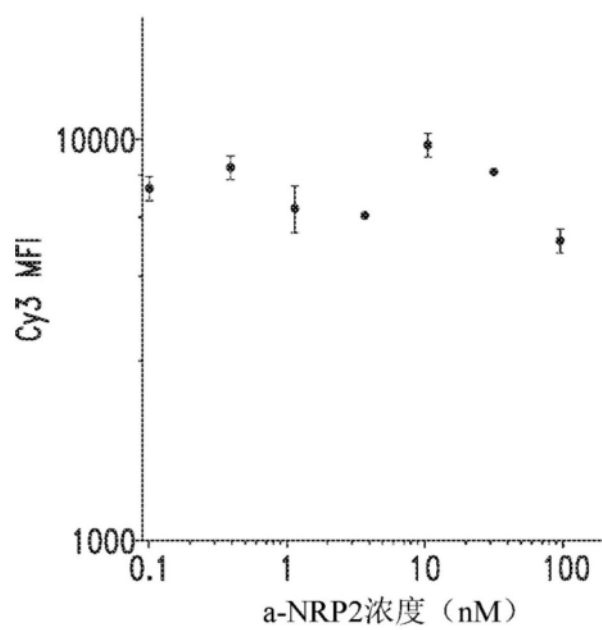


图8G

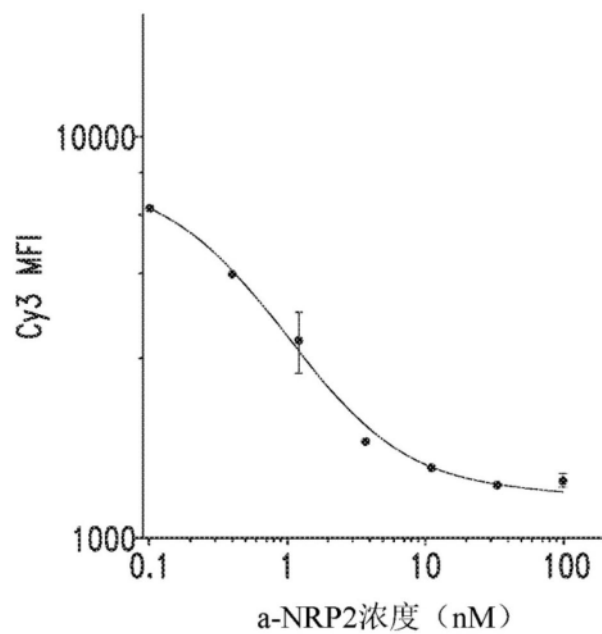


图8H

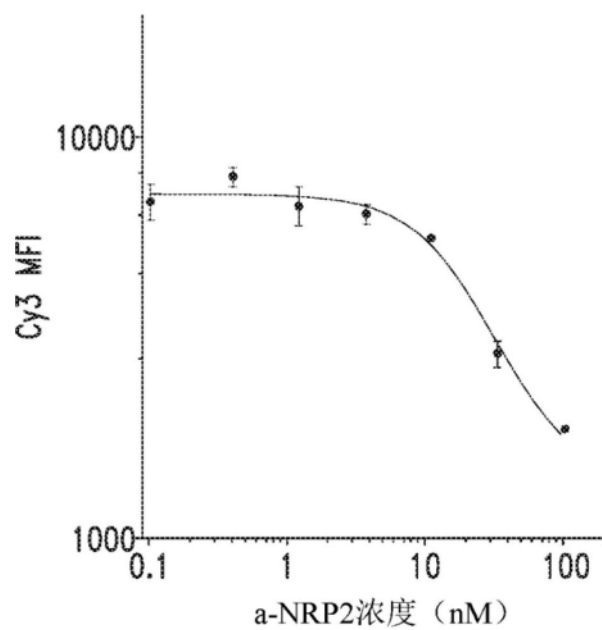


图8I

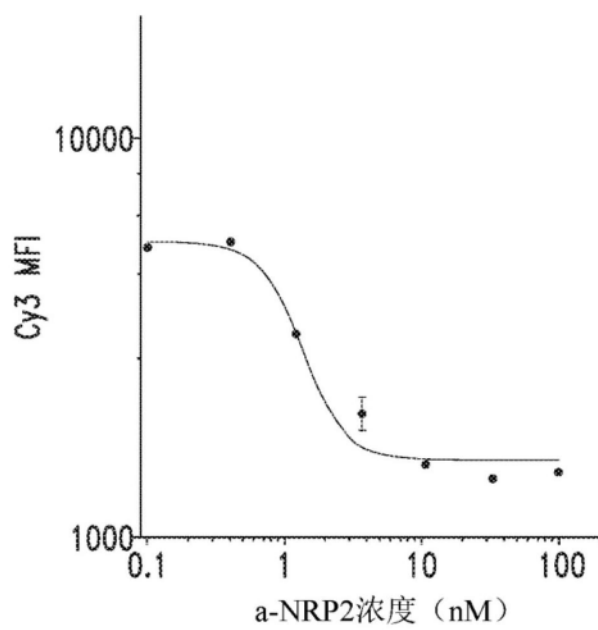


图8J

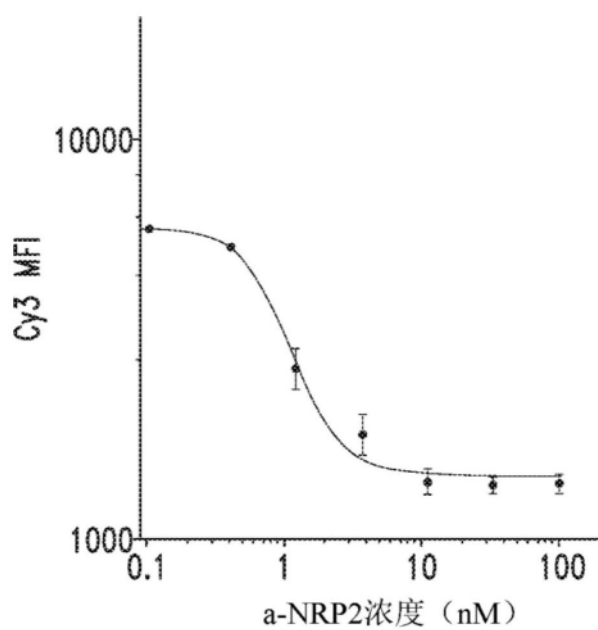


图8K

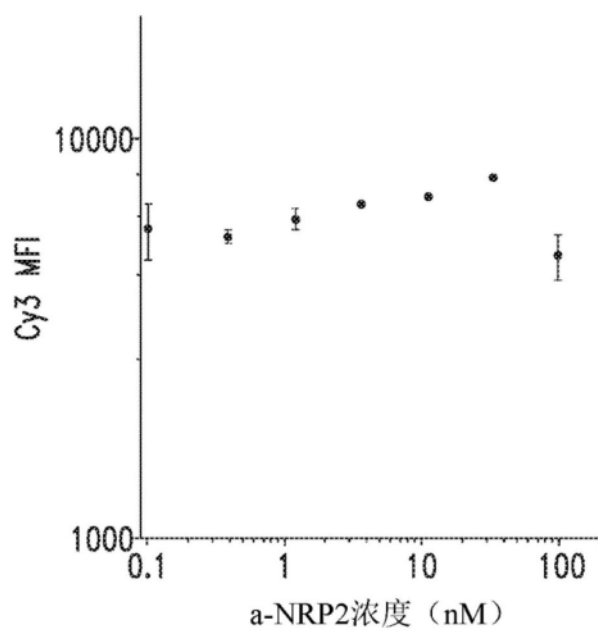


图8L

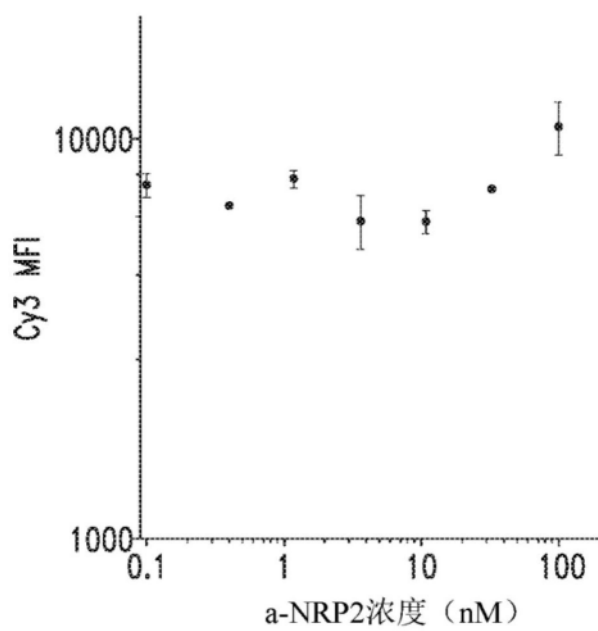


图8M

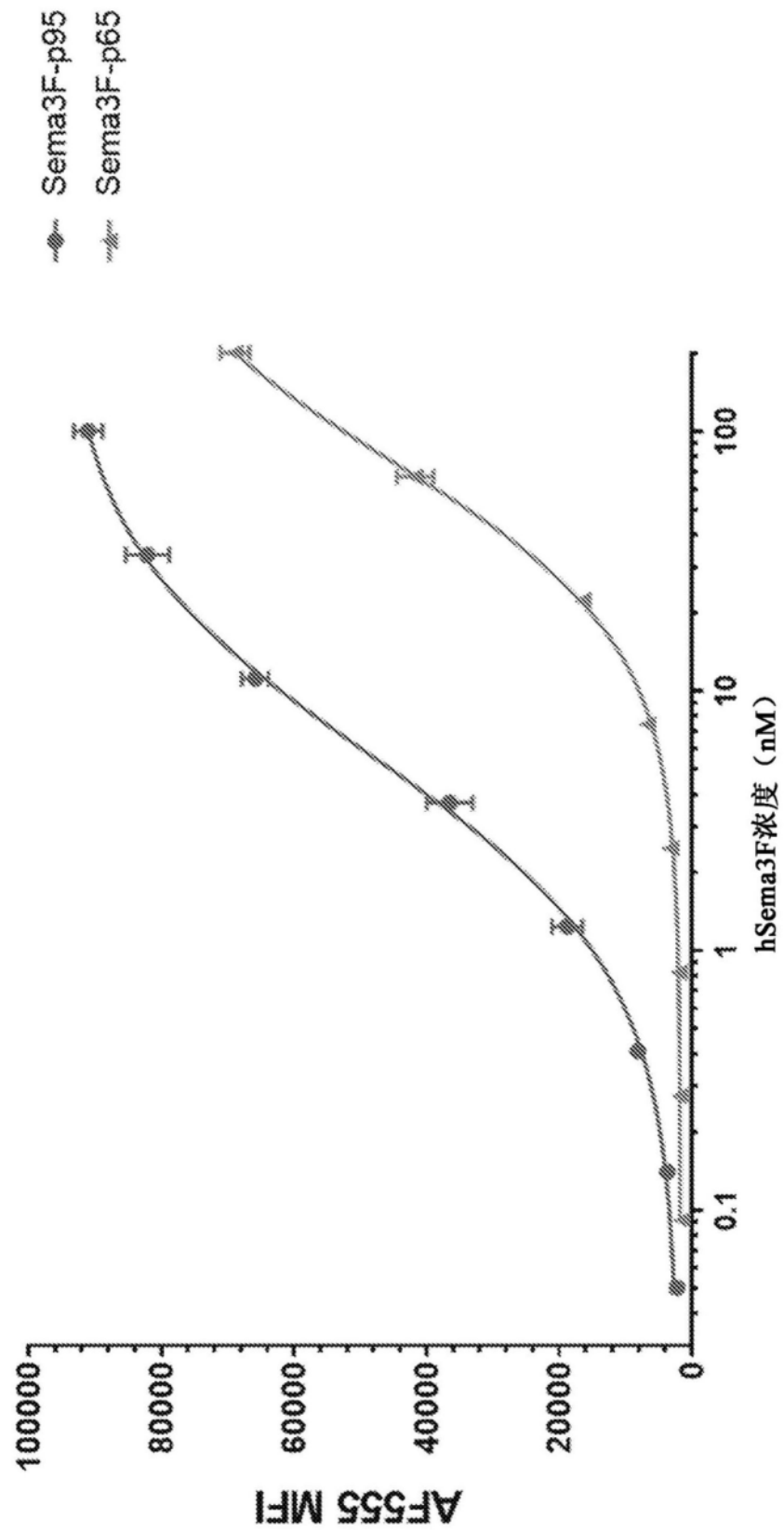


图9

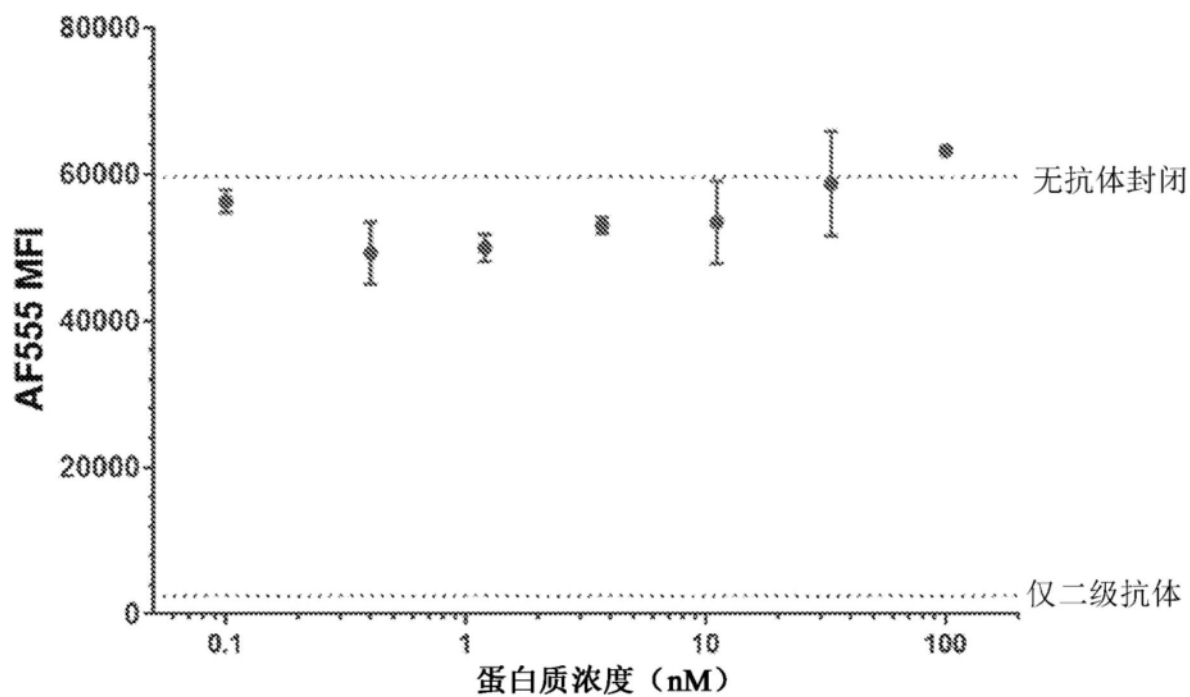


图10A

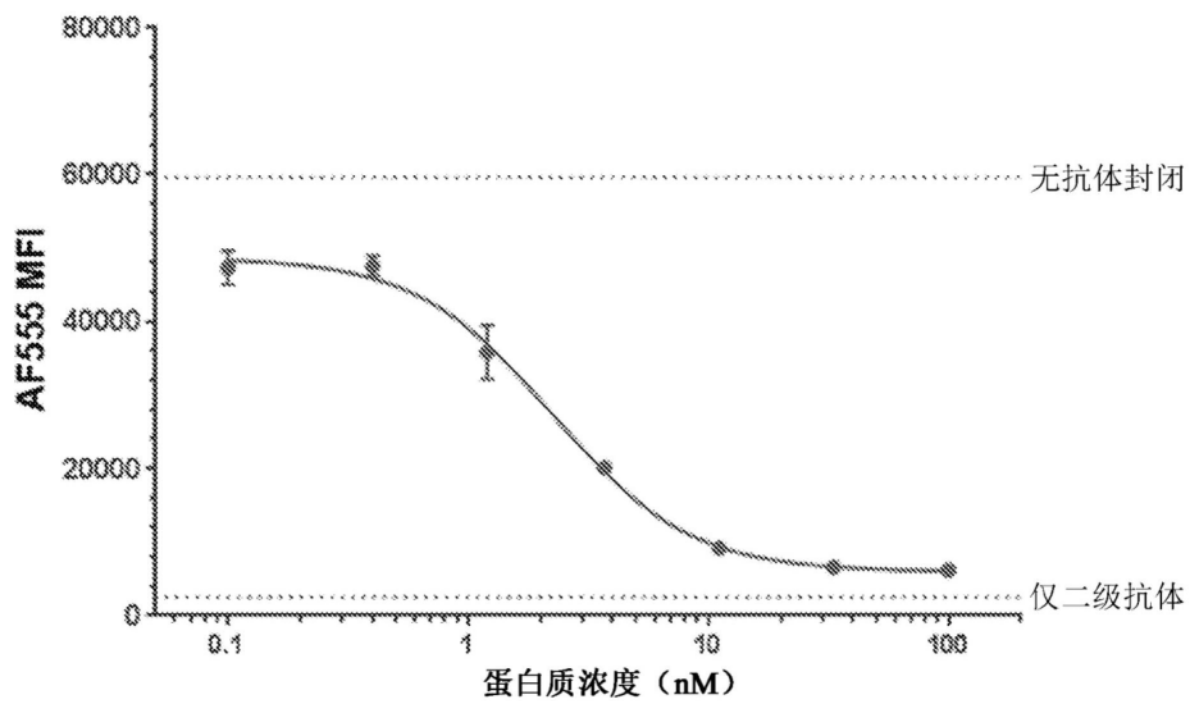


图10B

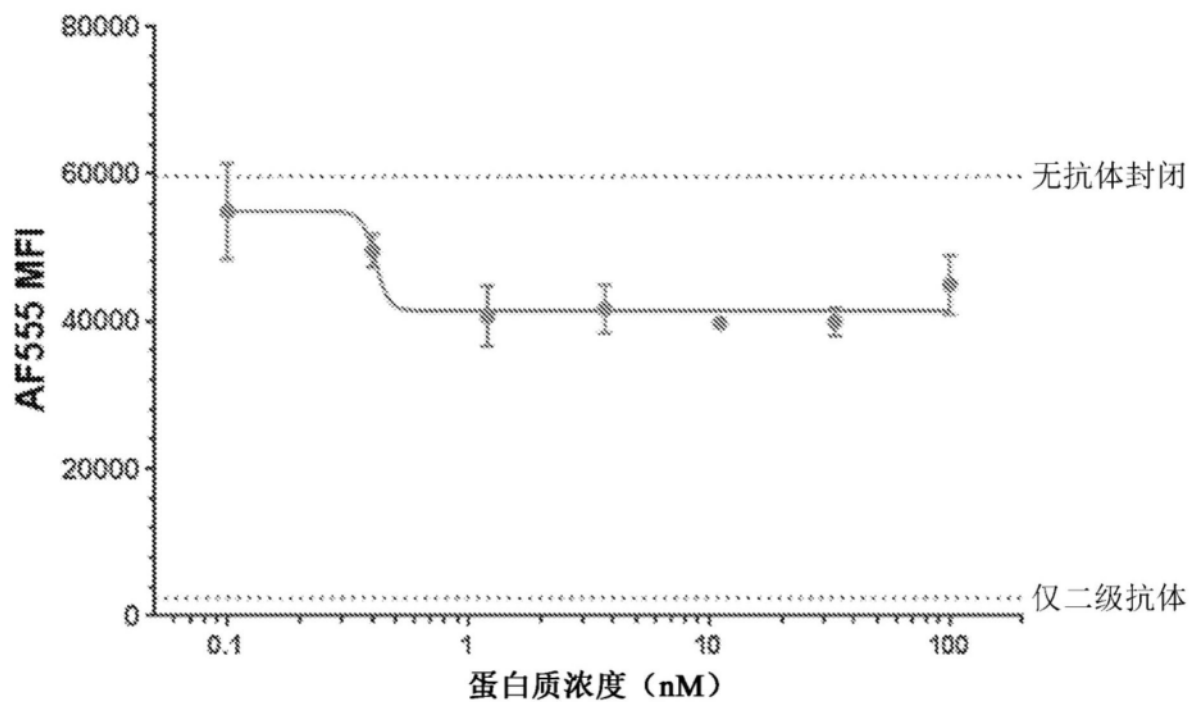


图10C

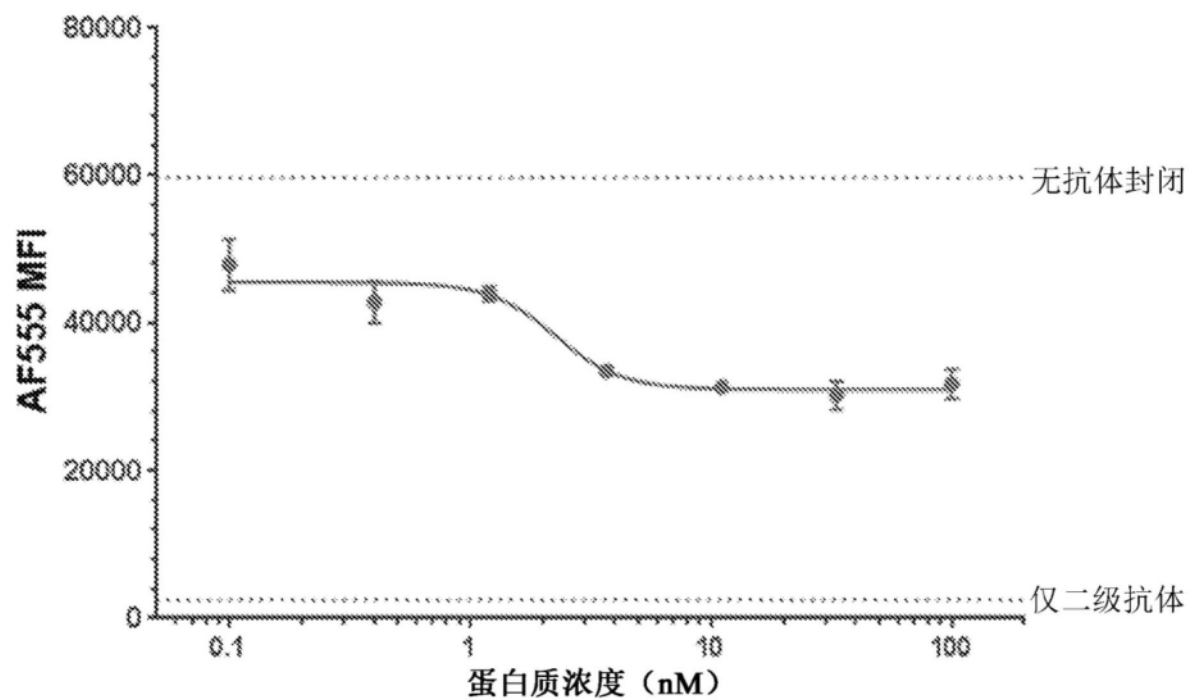


图10D

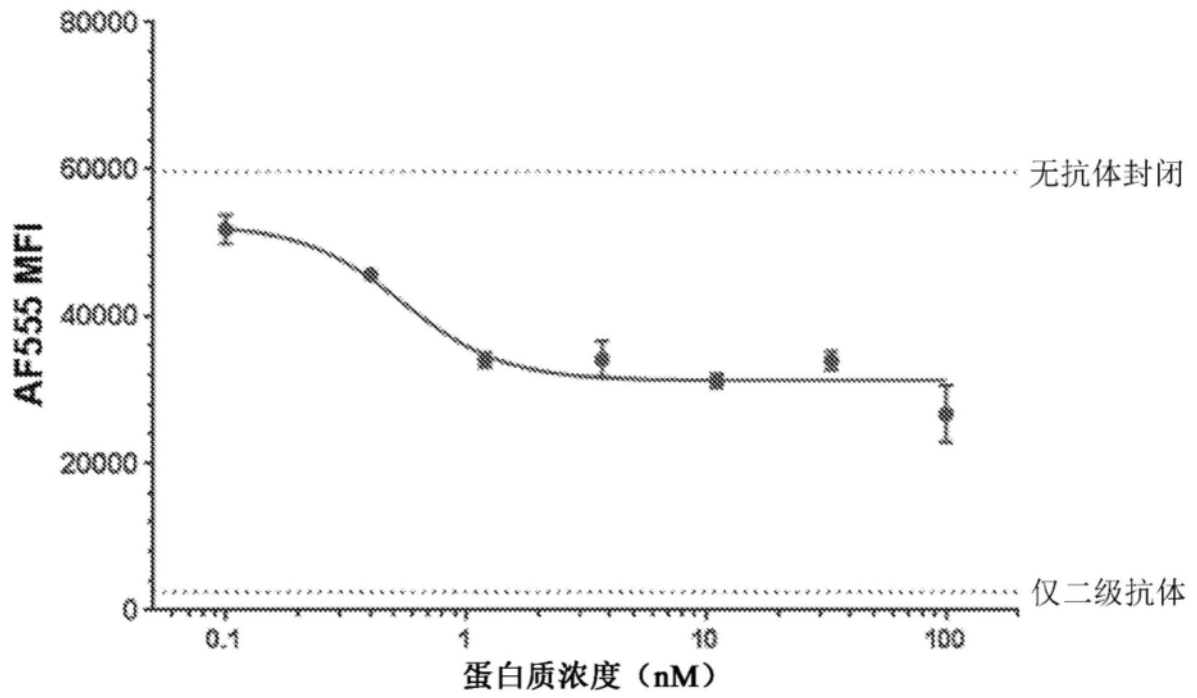


图10E

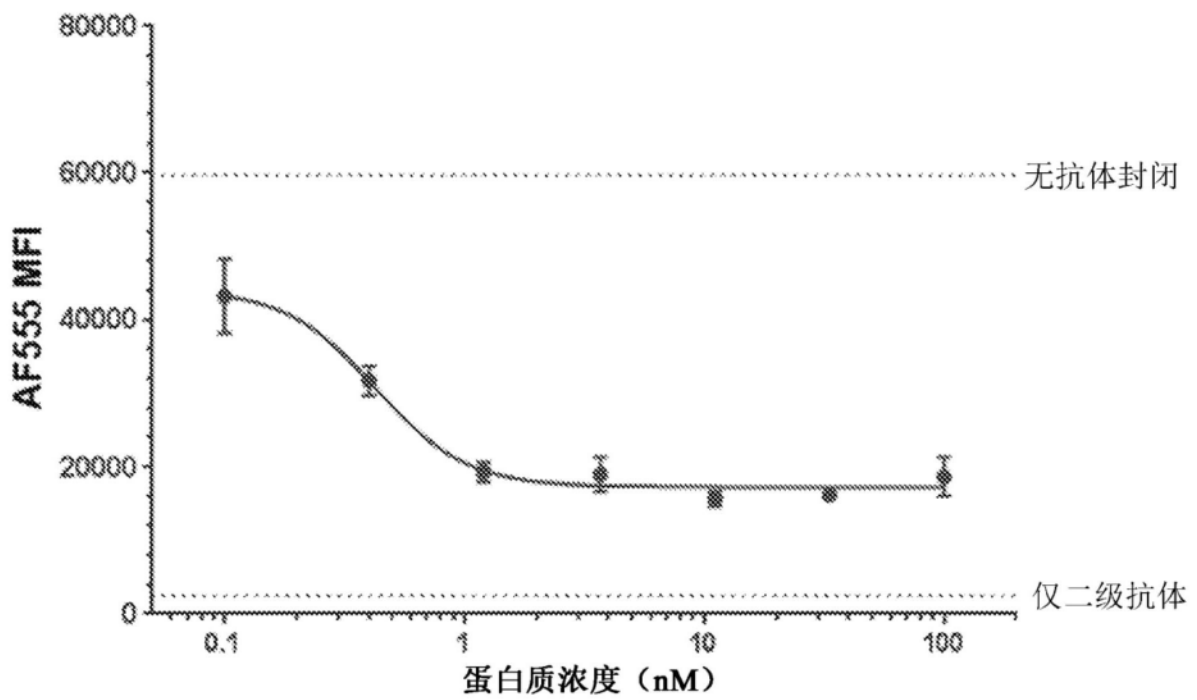


图10F

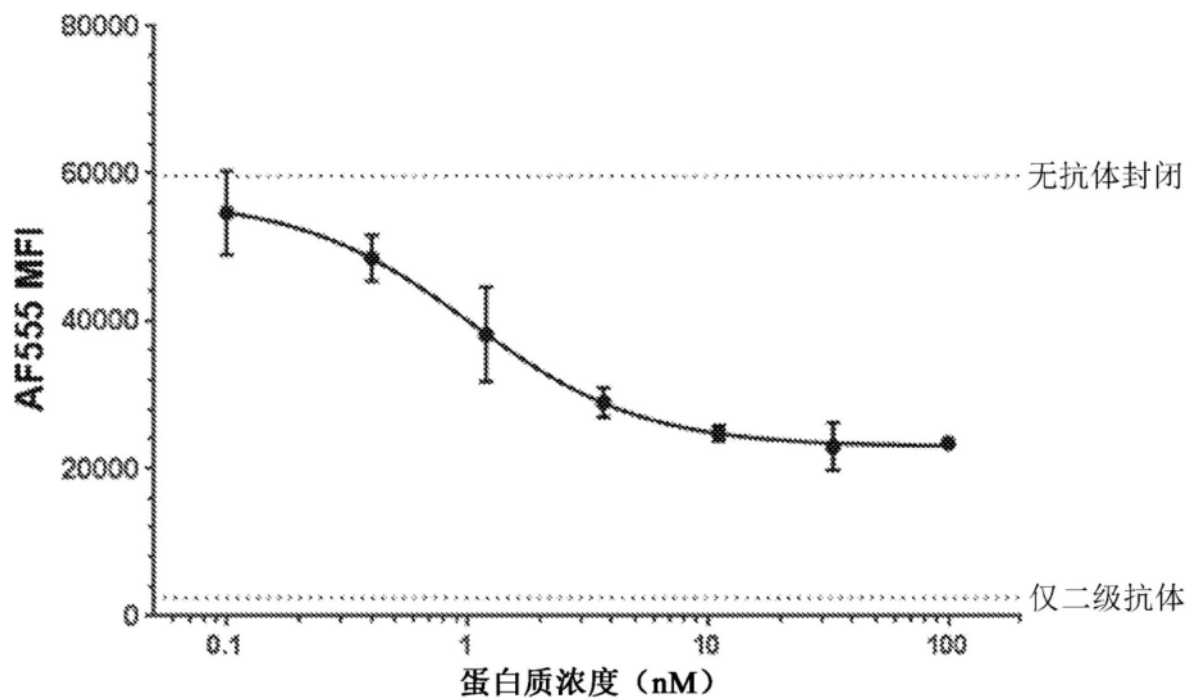


图10G

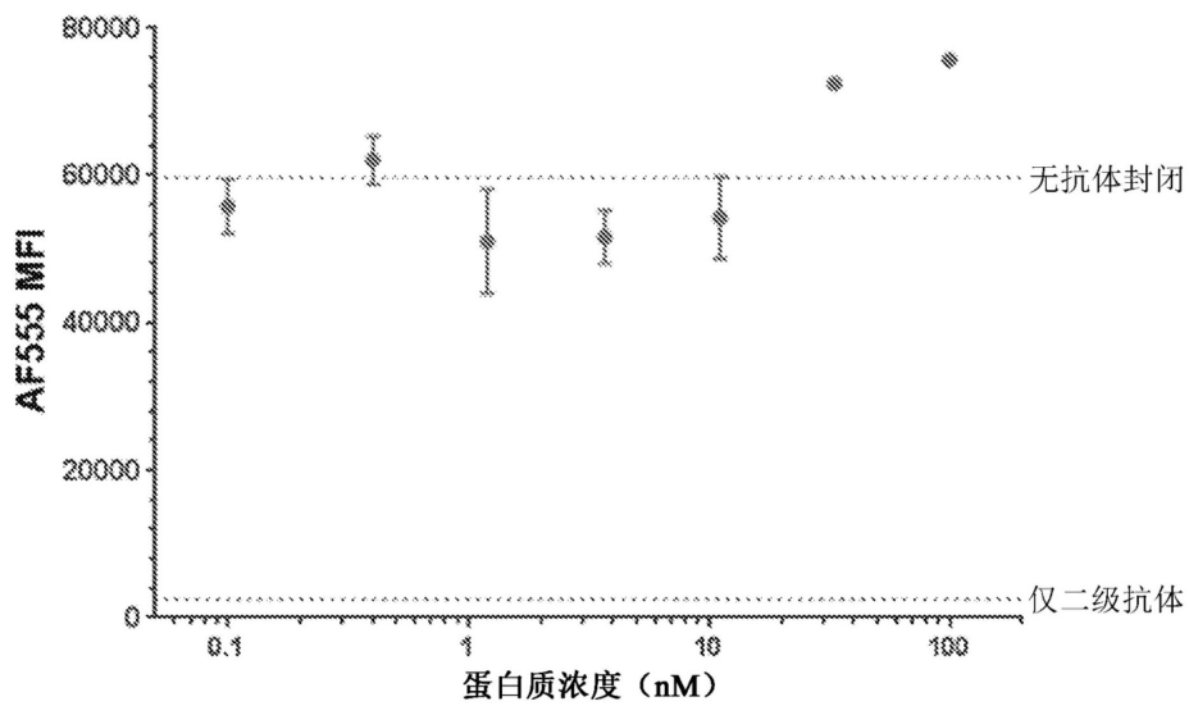


图10H

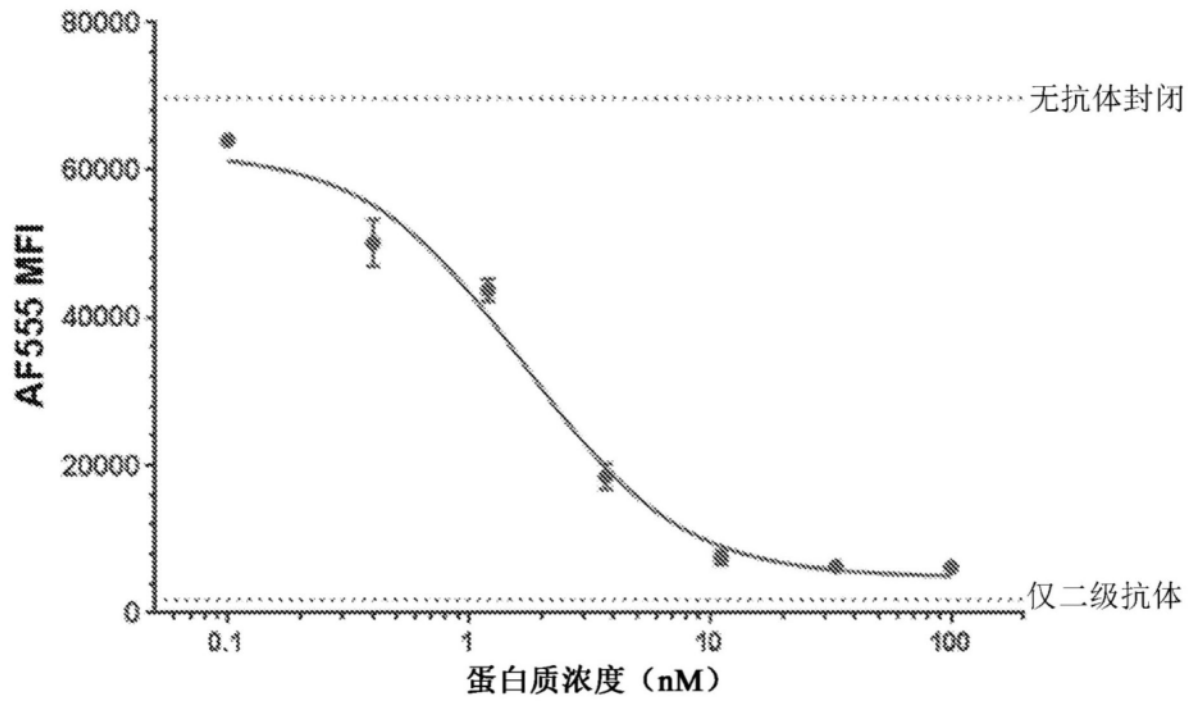


图11A

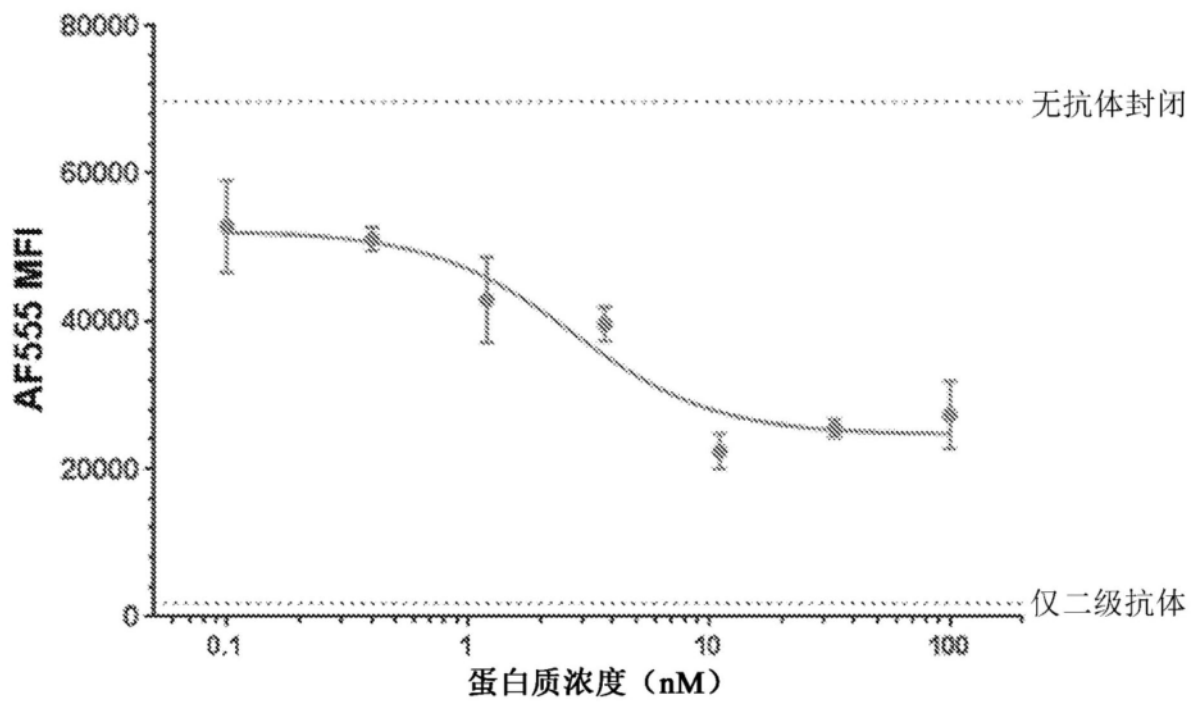


图11B

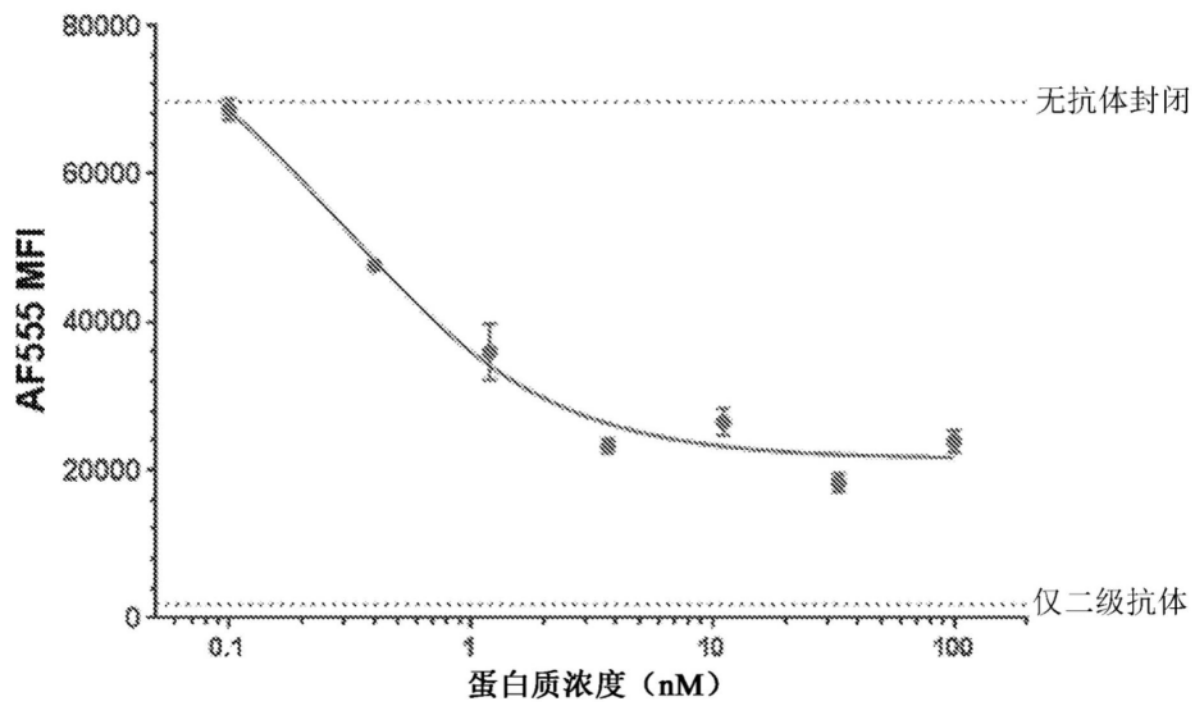


图11C

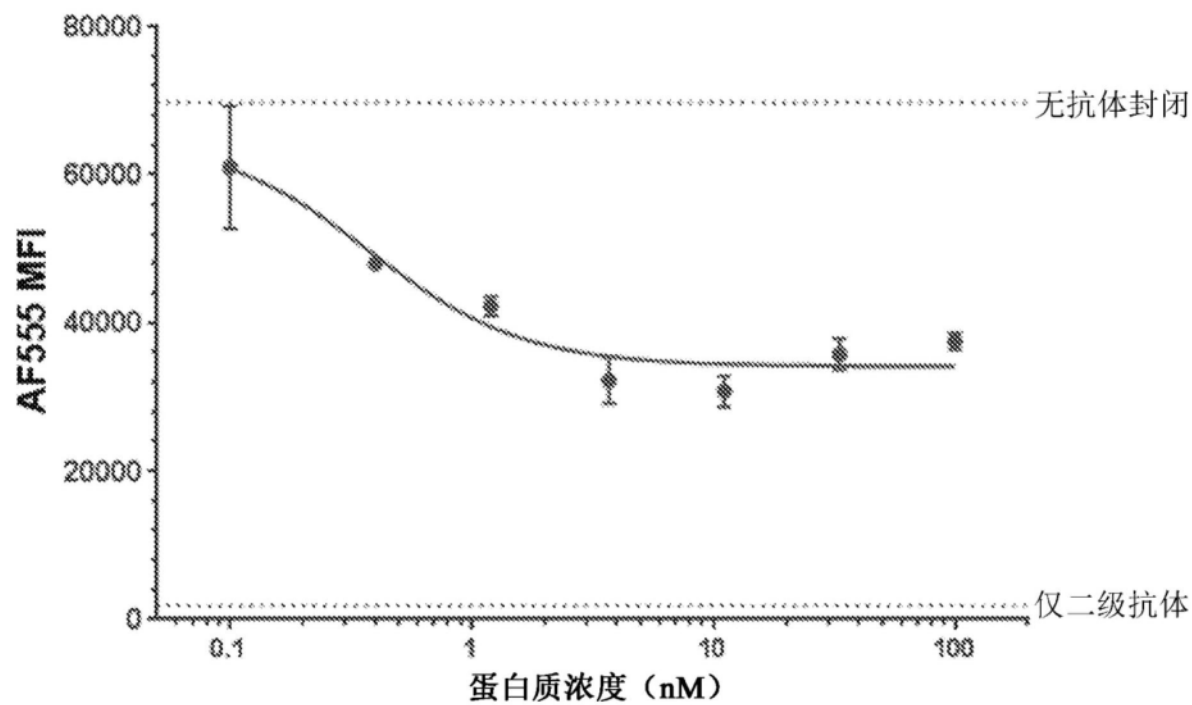


图11D

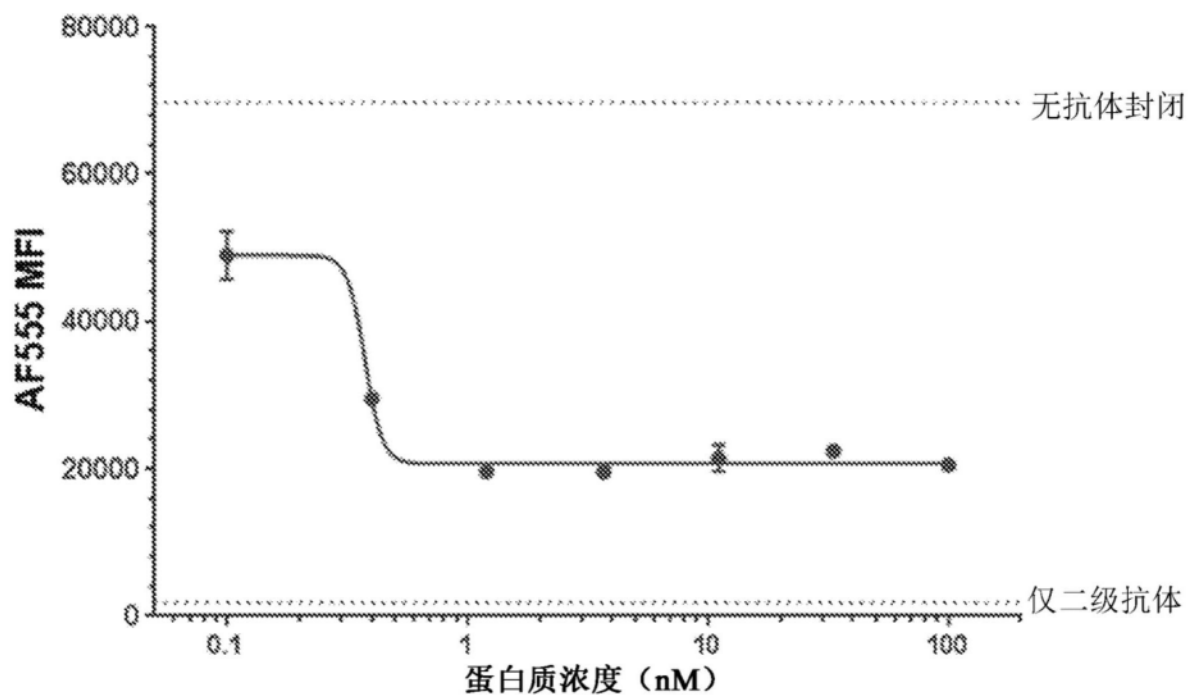


图11E

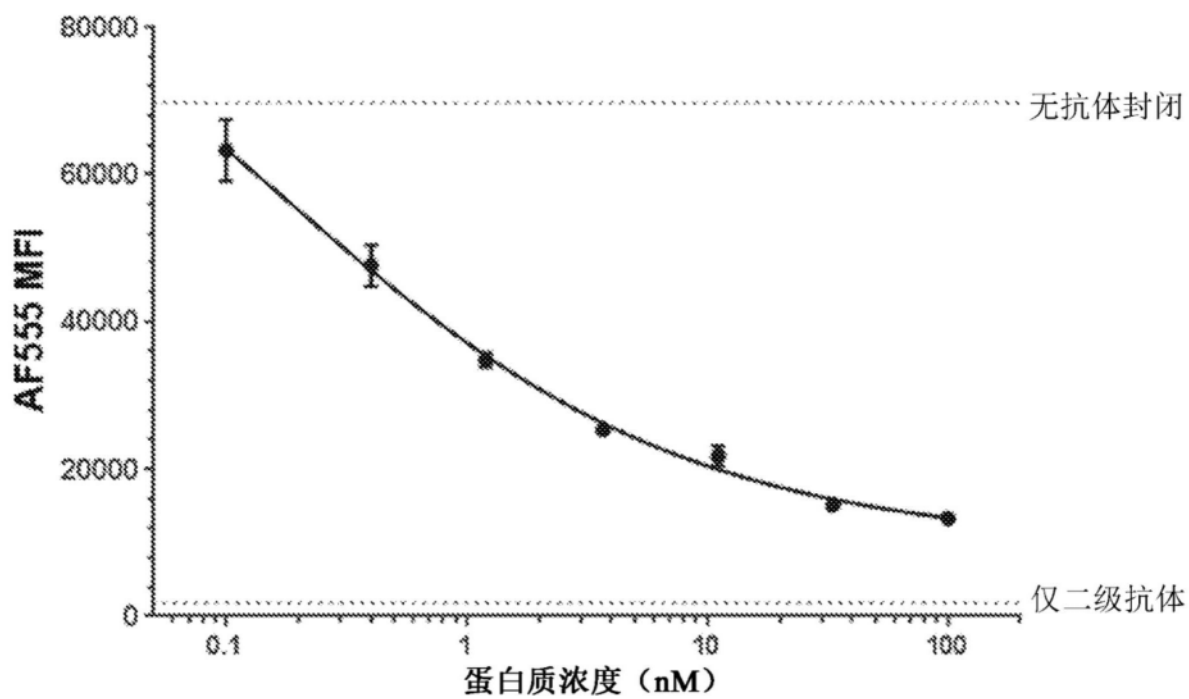


图11F

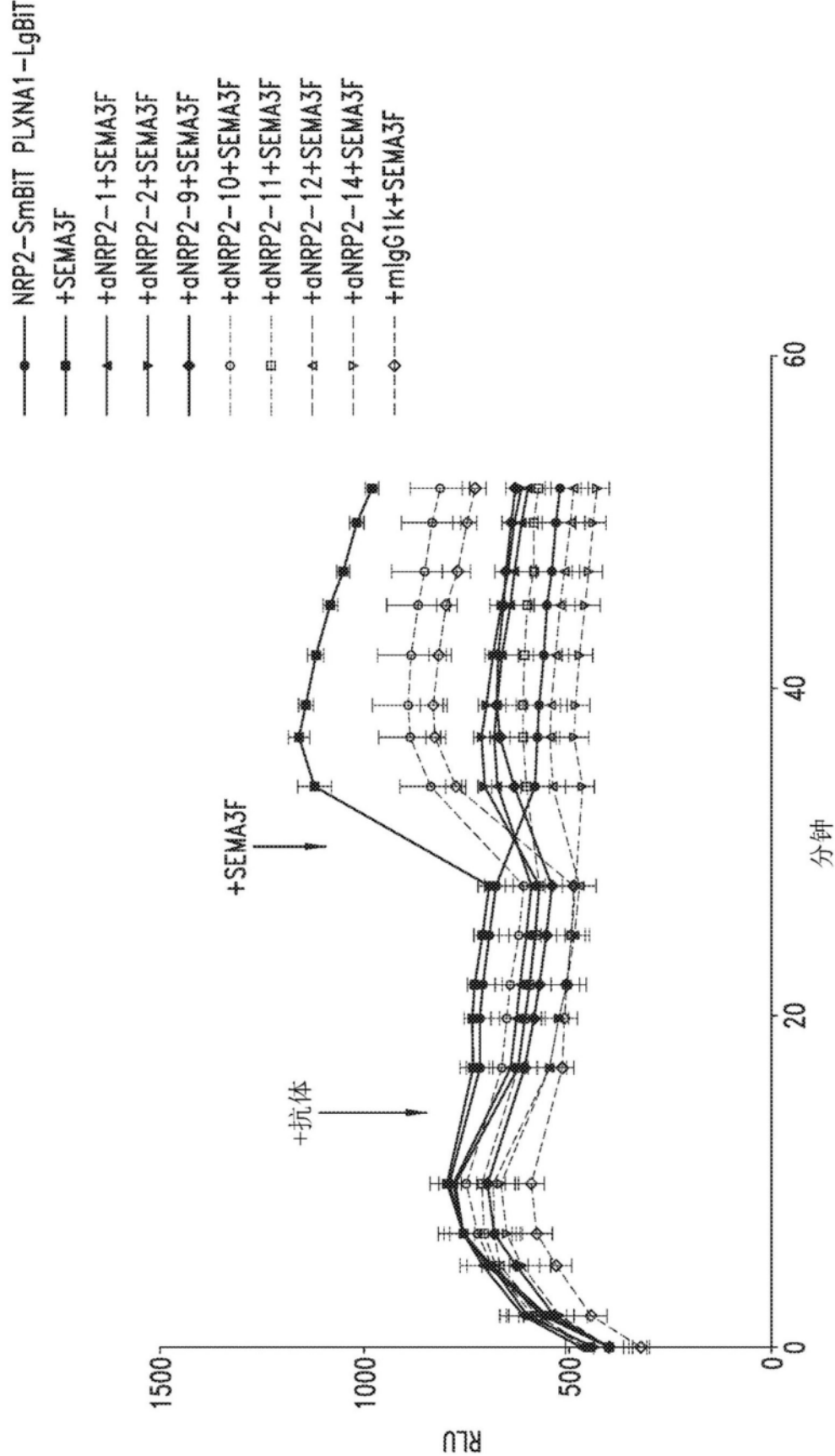


图12

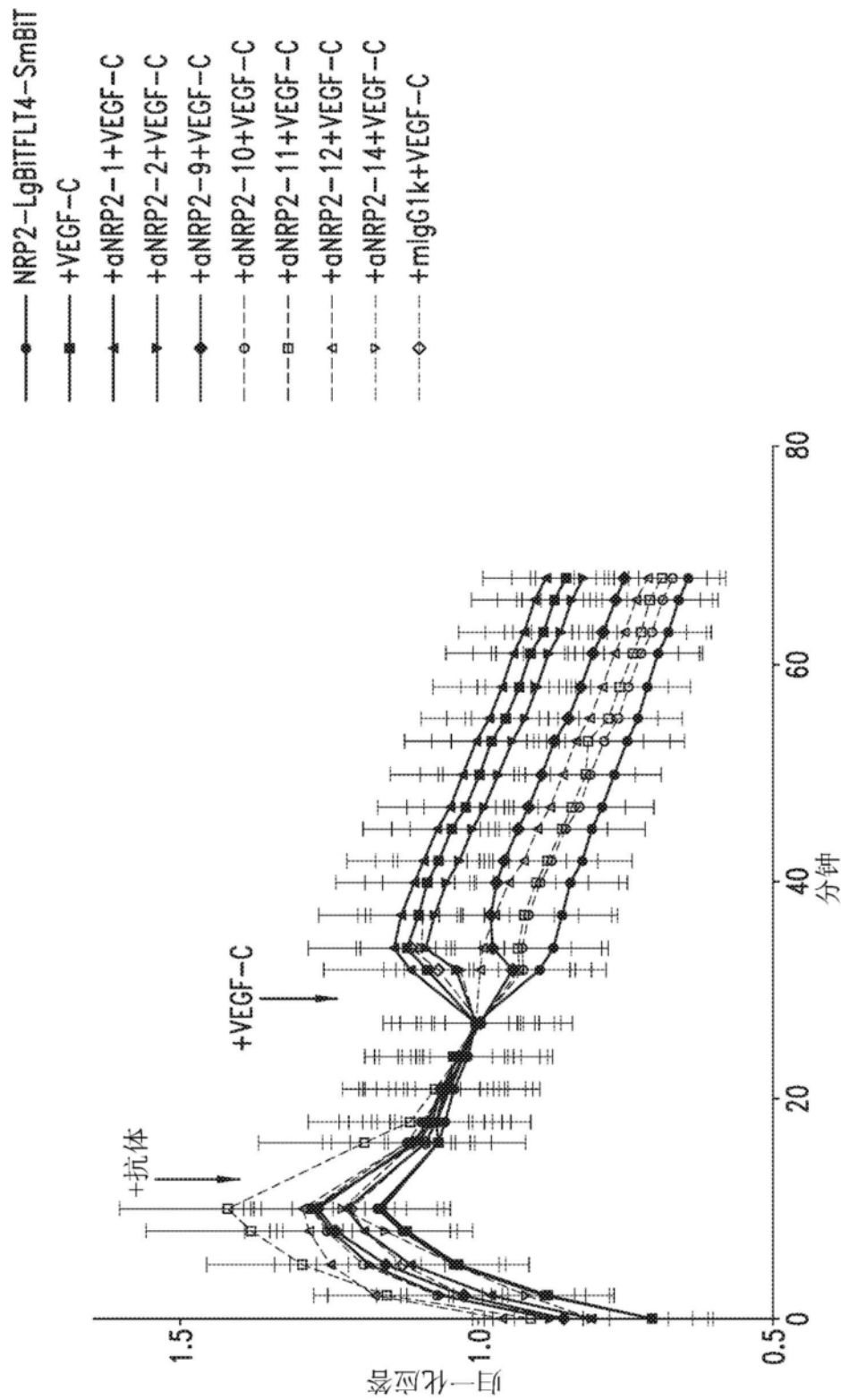


图13

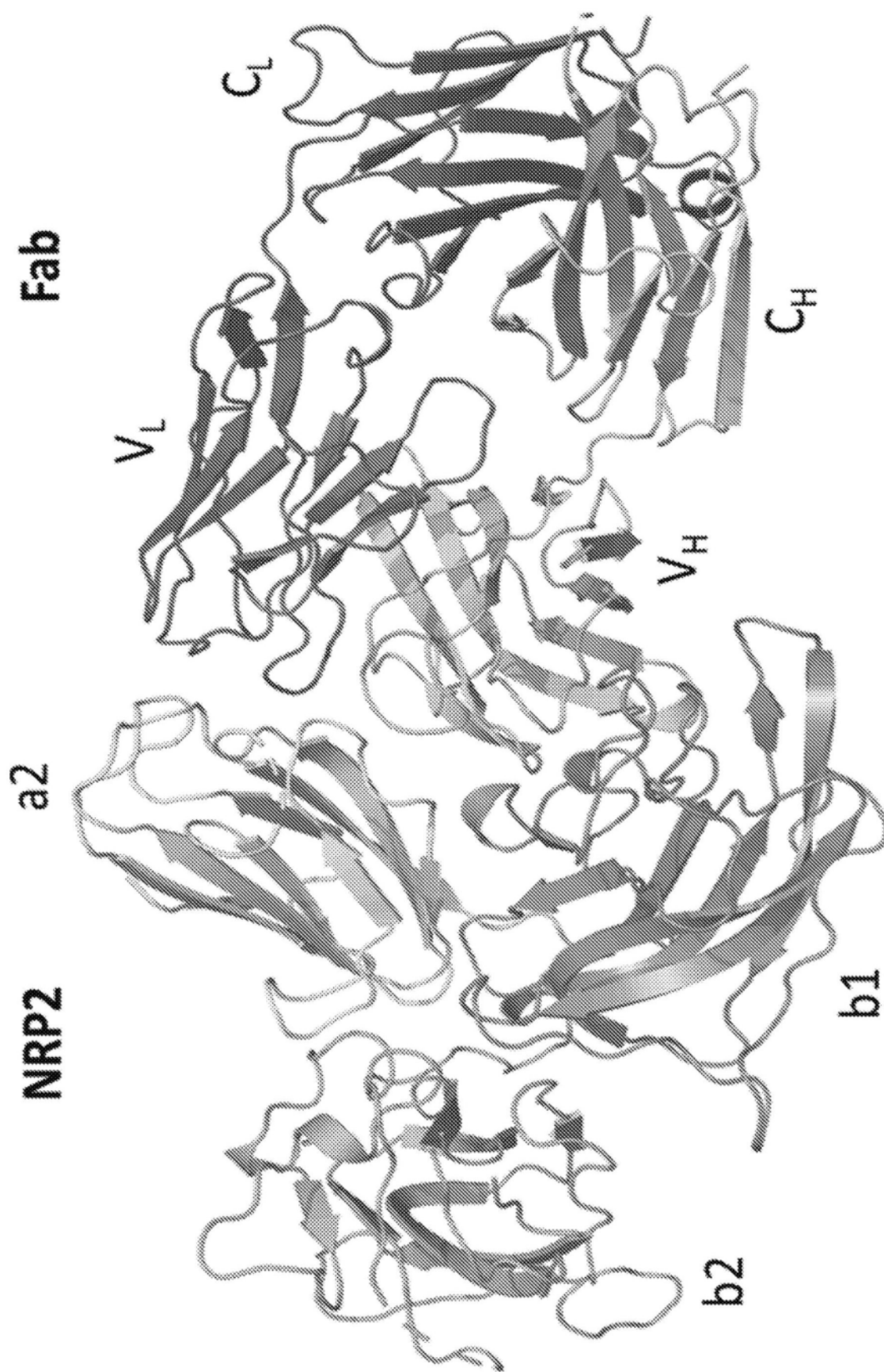


图14

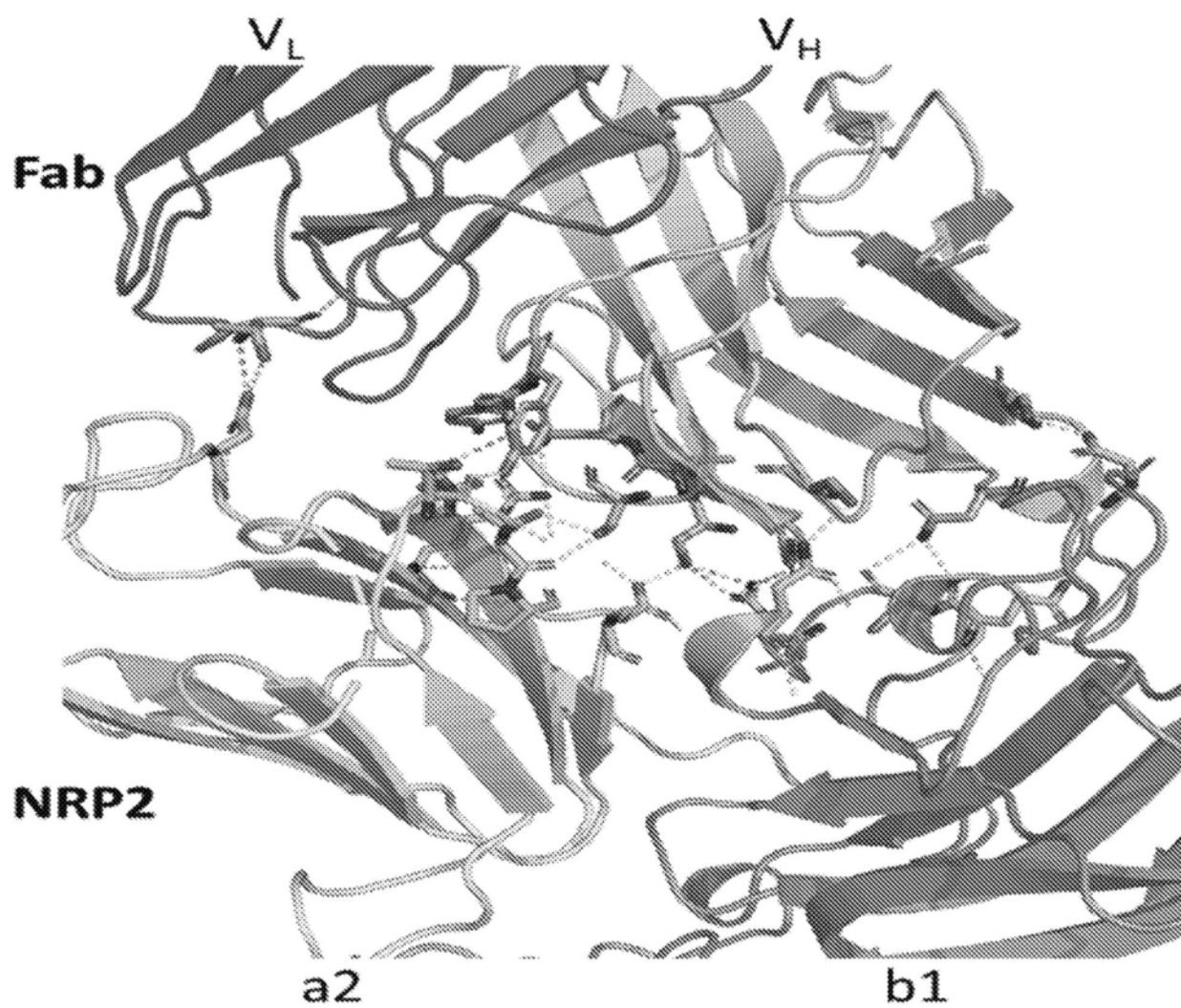


图15

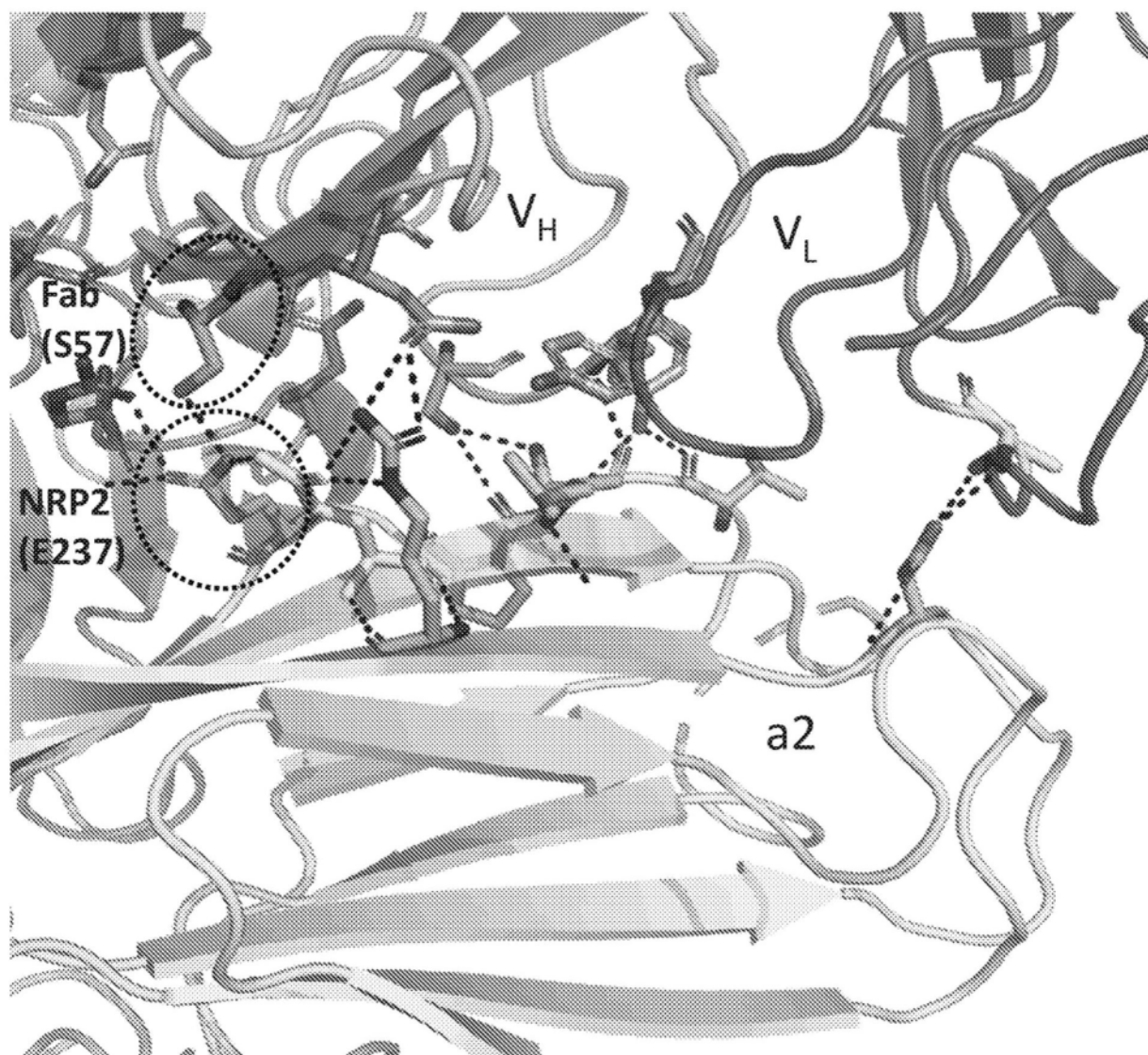


图16