



(21) 申请号 201880049949.7

A61K 39/00 (2006.01)

(22) 申请日 2018.05.31

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

WO 2007134350 A2, 2007.11.29

申请公布号 CN 110997713 A

US 2009304752 A1, 2009.12.10

(43) 申请公布日 2020.04.10

EP 0619323 A1, 1994.10.12

(30) 优先权数据

V Visco等.Human IgG monoclonal

62/513,872 2017.06.01 US

antibodies that modulate the binding of

62/571,696 2017.10.12 US

specific IgE to birch pollen Bet v 1.《J

62/662,165 2018.04.24 US

Immunol》.1996,第157卷(第2期),第956-962页.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

S Denépoux等.Molecular

2020.02.03

characterization of human IgG monoclonal

(86) PCT国际申请的申请数据

antibodies specific for the major birch

PCT/US2018/035366 2018.05.31

pollen allergen Bet v 1. Anti-allergen

(87) PCT国际申请的公布数据

IgG can enhance the anaphylactic

W02018/222854 EN 2018.12.06

reaction.《FEBS Lett》.2000,第465卷(第1期),

(73) 专利权人 瑞泽恩制药公司

第39-46页.

地址 美国纽约州

Charlotte GJakobsen等.Isolation of

(72) 发明人 J·M·奥伦戈 A·J·莫菲

high-affinity human IgE and IgG

A·T·巴迪斯 V·卡玛 Y·刘

antibodies recognising Bet v 1 and

Humicola lanuginosa lipase from

combinatorial phage libraries.《Mol

Immunol》.2004,第41卷(第10期),第941-953页.

(74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所

审查员 杨莽嘉

11517

专利代理师 吴瑜 孙倩

(51) Int.Cl.

权利要求书3页 说明书58页

C07K 16/16 (2006.01)

序列表101页 附图11页

(54) 发明名称

抗BET V 1人抗体及其使用方法

组胺和其他炎性介质从肥大细胞和/或嗜碱粒细胞释放的作用,由此改善敏感个体对壳斗目植物过敏原的不良反应。

(57) 摘要

本文提供了结合壳斗目植物过敏原、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或Bet v 1的抗体;包含所述抗体的组合物;编码所述抗体的核酸;以及使用所述抗体的方法。根据某些实施方式,所述抗体是结合至Bet v 1的全人单克隆抗体。所述抗体可用于在体内结合Bet v 1,由此防止过敏原结合至肥大细胞或嗜碱粒细胞表面上的预先形成的IgE。在这种情况下,所述抗体起到防止

1. 一种分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其结合至天然Bet v 1,其中所述抗体或其片段包含:

(a) 如SEQ ID NO: 148所示的重链互补决定区(HCDR)1; 如SEQ ID NO:150所示的HCDR2; 如SEQ ID NO:152所示的HCDR3;如SEQ ID NO:156所示的轻链互补决定区(LCDR)1; 如SEQ ID NO:158所示的LCDR2; 和如SEQ ID NO:160所示的LCDR3; 或

(b) 如SEQ ID NO:292所示的HCDR1; 如SEQ ID NO:294所示的HCDR2; 如SEQ ID NO:296所示的HCDR3;如SEQ ID NO:300所示的LCDR1; 如SEQ ID NO:302所示的LCDR2; 和如SEQ ID NO:304所示的LCDR3; 或

(c) 如SEQ ID NO:100所示的HCDR1; 如SEQ ID NO:102所示的HCDR2; 如SEQ ID NO:104所示的HCDR3;如SEQ ID NO:108所示的LCDR1; 如SEQ ID NO:110所示的LCDR2; 和如SEQ ID NO:112所示的LCDR3; 或

(d) 如SEQ ID NO:116所示的HCDR1; 如SEQ ID NO:118所示的HCDR2; 如SEQ ID NO:120所示的HCDR3;如SEQ ID NO:124所示的LCDR1; 如SEQ ID NO:126所示的LCDR2; 和如SEQ ID NO:128所示的LCDR3。

2. 根据权利要求1所述的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段是全人单克隆抗体。

3. 根据权利要求1或2中所述的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含选自下组的重链可变区(HCVR)/轻链可变区(LCVR)氨基酸序列对:SEQ ID NO: 146/154、290/298、98/106及114/122。

4. 根据权利要求1所述的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO:148所示的HCDR1; 如SEQ ID NO:150所示的HCDR2; 如SEQ ID NO:152所示的HCDR3;如SEQ ID NO:156所示的LCDR1; 如SEQ ID NO:158所示的LCDR2; 和如SEQ ID NO:160所示的LCDR3。

5. 根据权利要求4所述的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其片段包括包含氨基酸序列SEQ ID NO:146的HCVR 和包含氨基酸序列SEQ ID NO:154的LCVR。

6. 根据权利要求1所述的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO:292所示的HCDR1; 如SEQ ID NO:294所示的HCDR2; 如SEQ ID NO:296所示的HCDR3; 如SEQ ID NO:300所示的LCDR1; 如SEQ ID NO:302所示的LCDR2; 和如SEQ ID NO:304所示的LCDR3。

7. 根据权利要求6所述的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其片段包括包含氨基酸序列SEQ ID NO:290的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:298的LCVR。

8. 根据权利要求1所述的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO:100所示的HCDR1; 如SEQ ID NO:102所示的HCDR2; 如SEQ ID NO:104所示的HCDR3; 如SEQ ID NO:108所示的LCDR1; 如SEQ ID NO:110所示的LCDR2; 和如SEQ ID NO:112所示的LCDR3。

9. 根据权利要求8所述的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其片段包括包含氨基酸序列SEQ ID NO:98的HCVR 和包含氨基酸序列SEQ ID NO:106的LCVR。

10. 根据权利要求1所述的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其

片段包括如SEQ ID NO:116所示的HCDR1；如SEQ ID NO:118所示的HCDR2；如SEQ ID NO:120所示的HCDR3；如SEQ ID NO:124所示的LCDR1；如SEQ ID NO:126所示的LCDR2；和如SEQ ID NO:128所示的LCDR3。

11.根据权利要求10所述的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其片段包括包含氨基酸序列SEQ ID NO:114的HCVR 和包含氨基酸序列SEQ ID NO:122的LCVR。

12.根据权利要求6或7所述的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段与一种或多种选自下组的过敏原交叉反应:Cor a1和Mal d1。

13.根据权利要求1所述的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段与Car b1交叉反应。

14.根据权利要求6、7、10和11中任一项所述的分离的人单克隆抗体或者其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段与A1n g1交叉反应。

15.一种药物组合物，其包括治疗有效量的两种或多种根据权利要求1至14中任一项所述的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段，以及一种或多种药学上可接受的赋形剂。

16.根据权利要求15所述的药物组合物，其包括：

a) 分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段，其包含具有SEQ ID NO: 146 所示氨基酸序列的HCVR 和具有SEQ ID NO: 154所示氨基酸序列的LCVR；和

b) 一种或多种分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段，其包含具有选自下组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO: 290/298、98/106 和 114/122。

17.根据权利要求15所述的药物组合物，其包括：

a) 包含具有SEQ ID NO: 146所示氨基酸序列的HCVR以及具有SEQ ID NO:154所示氨基酸序列的LCVR的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段；和

b) 包含具有SEQ ID NO: 290所示氨基酸序列的HCVR以及具有SEQ ID NO:298所示氨基酸序列的LCVR的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段。

18.根据权利要求15所述的药物组合物，其包括：

a) 包含具有SEQ ID NO: 146所示氨基酸序列的HCVR以及具有SEQ ID NO: 154所示氨基酸序列的LCVR的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段；

b) 包含具有SEQ ID NO: 290所示氨基酸序列的HCVR以及具有SEQ ID NO: 298所示氨基酸序列的LCVR的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段；和

c) 包含具有SEQ ID NO: 98所示氨基酸序列的HCVR以及具有SEQ ID NO: 106所示氨基酸序列的LCVR的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段。

19.根据权利要求15所述的药物组合物，其包括三种分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO: 148/150/152/156/158/160、292/294/296/300/302/304 和 100/102/104/108/110/112所示的HCDR1/HCDR2/HCDR3/ LCDR1/LCDR2/LCDR3 氨基酸序列组合。

20.根据权利要求15所述的药物组合物，其包括四种分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段包含分别由 SEQ ID NO: 148/150/152/156/158/160、292/294/296/300/302/304、100/102/104/108/110/112和116/118/120/124/126/128所示的HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3 氨基酸序列组合。

21. 一种核酸分子,其编码权利要求1至14中任一项所述的分离的人单克隆抗体或其片段。

22. 一种表达载体,其包含权利要求21所述的核酸分子。

23. 一种宿主细胞,其含有根据权利要求22所述的表达载体。

24. 权利要求15至20中任一项所述的药物组合物在制备用于治疗表现有针对桦树花粉或其提取物、或Bet v1蛋白质的敏感性或过敏反应的患者的药物中的用途,或在制备用于治疗与针对桦树花粉或其提取物、或Bet v1蛋白质的敏感性或过敏反应相关的至少一种症状或并发症的药物中的用途。

25. 根据权利要求24所述的用途,其中所述桦树花粉提取物选自下组:天然Bet v1、垂枝桦BPE、河桦BPE 及杨叶桦BPE。

26. 根据权利要求1至14中任一项所述的两种或多种分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段或者根据权利要求15至20中任一项所述的药物组合物在制备用于一种治疗过敏的药物的用途,其中所述治疗包括向患者组合施用所述药物和过敏原特异性免疫疗法(SIT)方案,其中所述SIT方案的功效和/或安全性被增强。

27. 根据权利要求26所述的用途,其中所述SIT方案包括剂量递增阶段,随后是维持阶段。

28. 根据权利要求27所述的用途,其中所述SIT方案是紧急SIT方案。

## 抗BET V 1人抗体及其使用方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及结合至桦树花粉过敏原Bet v 1的人抗体和人抗体的抗原结合片段、包含所述抗体的治疗性组合物以及使用所述抗体的方法。

### [0002] 序列表

[0003] 序列表的正式副本通过EFS-Web以电子方式与本说明书同时提交,该序列表为ASCII格式,文件名是10301W001\_SEQ\_LIST\_ST25,创建日期为2018年5月31日,大小是约137千字节。该ASCII格式的文件中包含的序列表是说明书的一部分,并且以全文引用的方式并入本文中。

### 背景技术

[0004] 桦树是在美国导致23%的患者过敏和在欧洲导致14%的患者过敏的主要致敏物(Datamonitor关于过敏性鼻炎的报告(Datamonitor report on Allergic Rhinitis),2010年7月),而且还是在春季引起整个欧洲、北美、俄罗斯及澳大利亚发生1型过敏的主要原因(Breiteneder等人,《欧洲分子生物学杂志(EMBO J.)》1989,8(7):1935-8)。Bet v 1蛋白质是在来自疣皮桦(*Betula verrucosa*) (欧洲白桦树,也与垂枝桦(*Betula pendula*)同义)的花粉中鉴别出的一种主要桦树过敏原,并且在超过95%的桦树花粉过敏患者中引起IgE结合(Breiteneder,前述)。Bet v 1是具有三个 $\alpha$ 螺旋的较小的7股反平行 $\beta$ 折叠,具有已知的结晶结构(Kofler等人,2012,422(1):109-23;Markovic Housley等人,《分子生物学杂志(J Mol Biol.)》2003,325(1):123-33;Spangfort等人,《免疫学杂志(J Immunol.)》2003,171(6):3084-90)。W094/10194涉及来源于壳斗目(Fagales order)树木的肽。

[0005] 百分之六十的桦树花粉过敏患者仅仅对Bet v 1起反应(Jarolim等人,《国际变态反应学与应用免疫学文集(Int Arch Allergy Appl Immunol.)》1989,88(1-2):180-2)。仅仅一颗桦树就可以产生多达五百万个花粉粒,这些花粉粒通过空气传播到距该树多达100码的地方。桦树花粉过敏的症状可以从轻度鼻炎和结膜炎到危及生命的哮喘反应。

[0006] 免疫球蛋白E(IgE)会引起1型超敏反应,其表现为过敏性鼻炎、过敏性结膜炎、花粉热、过敏性哮喘、蜂毒过敏及食物过敏。IgE在血液中循环并结合至嗜碱粒细胞和肥大细胞上的针对IgE的高亲和力Fc $\epsilon$ R1 $\alpha$ 受体。在大多数过敏反应中,过敏原通过吸入、摄入或通过皮肤进入身体。接着,过敏原与已结合至肥大细胞和嗜碱粒细胞表面上的高亲和力受体的预先形成的IgE结合,使得若干IgE分子交联并触发组胺和其他炎性介质的释放,由此引起各种过敏症状。

[0007] 过敏的治疗包括用于抑制免疫活性的类固醇和用于缓解哮喘症状的支气管扩张剂。脱敏疗法也被用于严重过敏患者。已对使个体对特定过敏原(例如Bet v 1)脱敏的肽疫苗组合进行测试(参见US9,017,689)。抗体已被提议作为过敏的疗法,因为抗体能够阻止致敏分子进入粘膜组织中,或可以在过敏原有机会与结合至肥大细胞或嗜碱粒细胞上的高亲和力受体的IgE结合之前,结合该过敏原,由此防止组胺和其他炎性介质从这些细胞释放。

[0008] 美国专利号5,670,626描述了使用单克隆抗体,通过阻断过敏原与粘膜组织的结

合来治疗IgE介导的过敏性疾病(如过敏性鼻炎、过敏性哮喘和过敏性结膜炎)。美国专利号6,849,259描述了使用过敏原特异性抗体来抑制小鼠过敏模型体内的过敏性炎症。基于牛奶和基于蛋的抗体系统也有描述。例如,US2003/0003133A1公开了使用牛奶作为过敏原的载体来诱导针对桦树花粉和其他过敏原的口服耐受性。W01994/024164A2中描述了通过使用抑制过敏原结合至肥大细胞的能力的分子来减轻动物对环境中过敏原的过敏反应的组合和方法。在US2010/0034812中还提到了其他抗Bet v 1抗体。

[0009] 本发明旨在解决上文所论述的一个或多个问题。

#### [0010] 发明概述

[0011] 本文提供了结合桦树花粉,例如天然Bet v 1、垂枝桦花粉提取物(BPE)、河桦(*Betula nigra*)BPE或杨叶桦(*Betula populifolia*)BPE的全人单克隆抗体和其抗原结合片段。在敏感患者暴露于桦树过敏原之后,所述抗体可用于在体内结合Bet v 1过敏原,并因此可以用以促进天然Bet v 1、垂枝桦花粉提取物(BPE)、河桦BPE或杨叶桦BPE的清除,或阻断过敏原与肥大细胞或嗜碱粒细胞表面上预先形成的IgE的结合。借此,本文所述的抗体可以防止组胺或其他炎性介质从肥大细胞或嗜碱粒细胞释放,从而预防或减少在对桦树过敏原敏感的患者中所观察到的不良影响。在某些实施方式中,所述抗体能够减轻、最大限度地减少或预防对桦树过敏原或桦树相关过敏原敏感的患者至少一种症状,如打喷嚏、鼻腔充血(congestion)、鼻塞、咳嗽、喘鸣、支气管收缩、鼻炎或结膜炎。在一些实施方式中,所述抗体能够预防敏感个体与暴露于桦树花粉过敏原相关的甚至更严重的体内并发症,如哮喘反应、全身性过敏反应(anaphylaxis),甚至是死亡。

[0012] 本文提供的抗体可以是全长的例如IgG1或IgG4抗体,或可仅包含抗原结合部分例如Fab、F(ab')<sub>2</sub>或scFv片段,并且可以被修饰成影响功能性,例如消除残留效应功能(Reddy等人,2000,《免疫学杂志(J. Immunol.)》164:1925-1933)。

[0013] 本发明的第一方面提供了一种结合天然Bet v 1、垂枝桦花粉提取物(BPE)、河桦BPE和/或杨叶桦BPE的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0014] 在一个实施方式中,所述分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段抑制天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE或杨叶桦BPE结合至过敏原特异性的IgE。

[0015] 在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段以等于或小于 $10^{-8}$ M的K<sub>D</sub>结合至Bet v 1。在一个实施方式中,所述人抗体或其抗原结合片段以在约 $10^{-8}$ 至约 $10^{-11}$ M范围内的K<sub>D</sub>结合至Bet v 1。在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段以等于或小于27.9nM的K<sub>D</sub>结合至Bet v 1。在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段以在约0.66nM至约27.9nM等效范围内的K<sub>D</sub>结合至Bet v 1。

[0016] 在一个实施方式中,所述分离的人抗体是全人单克隆抗体。

[0017] 在一个实施方式中,所述分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段与一种或多种选自下组的过敏原交叉反应:Aln g1、Cor a1、Car b1、Que a1、Api g2、Api g1、Dau c1、Mal d1、Ost c1、Fag s1和Cas s1。这些过敏原也可以称为PR-10蛋白质,或所谓的致病相关(PR)蛋白质。另外的PR-10蛋白质(Bet v 1家族成员)还包括Act c 8和Act d 8(奇异果)、Ara h 8(花生)、Pru ar 1(杏)、Pru av 1(樱桃)、Pru p 1(桃)、Pyr c 1(梨)、Gly m 4(大豆)、Vig r 1(绿豆)、Sola I 4(番茄)、Cuc m 3(瓜)、Rub i 1(覆盆子)和Fra a 1(草莓)。这些过敏原也可以被视为壳斗目植物相关过敏原。

[0018] 在一个实施方式中,所述抗体或其抗原结合片段与一种或多种选自下组的过敏原交叉反应:Aln g1、Mal d1、Api g1、Car b1和Cor a1。

[0019] 在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段包含三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3),所述重链CDR包含于选自下组的任一重链可变区 (HCVR) 序列内: SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、282 及290;以及三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3),所述三个轻链CDR包含于选自下组的任一轻链可变区 (LCVR) 序列内:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266及298。用于鉴别HCVR和LCVR氨基酸序列内的CDR的方法和技术是本领域中众所周知的,并且可以用于鉴别本文所公开的指定HCVR和/或LCVR氨基酸序列内的CDR。可以用于鉴别CDR边界的示例性约定包括例如卡巴特定义 (Kabat定义)、科西亚定义 (Chothia定义) 和AbM定义。一般来说,卡巴特定义是基于序列可变性,科西亚定义是基于各结构环区域的位置,并且AbM定义是卡巴特法与科西亚法之间的折中。参见例如Kabat,“免疫相关蛋白质的序列 (Sequences of Proteins of Immunological Interest)”,美国国家卫生研究院 (National Institutes of Health), 马里兰州贝塞斯达 (Bethesda, Md.) (1991); Al-Lazikani等人, (1997),《分子生物学杂志》273:927-948;以及Martin等人, (1989),《美国国家科学院院刊 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA)》86:9268-9272。公共数据库也可用于鉴别抗体内的CDR序列。

[0020] 在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段包含三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3),所述重链CDR包含于选自下组的任一重链可变区 (HCVR) 序列内: SEQ ID NO:114、146、98及290;以及三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3),所述三个轻链CDR包含于选自下组的任一轻链可变区 (LCVR) 序列内:SEQ ID NO:122、154、106及298。

[0021] 在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段包含具有选自下组的氨基酸序列的HCVR:SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、282及290。

[0022] 在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段包含具有选自下组的氨基酸序列的HCVR:SEQ ID NO:114、146、98及290。

[0023] 在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段包含具有选自下组的氨基酸序列的LCVR:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266及298。

[0024] 在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段包含具有选自下组的氨基酸序列的LCVR:SEQ ID NO:122、154、106及298。

[0025] 在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段包含:(a) 具有选自下组的氨基酸序列的HCVR:SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、282及290;和(b) 具有选自下组的氨基酸序列的LCVR:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266及298。

[0026] 在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段包含:(a) 具有选自下组的氨基酸序列的HCVR:SEQ ID NO:114、146、98及290;和(b) 具有选自下组的氨基酸序列的LCVR:SEQ ID NO:122、154、106及298。

[0027] 在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段包含:

[0028] (a) 具有选自下组的氨基酸序列的HCDR1结构域:SEQ ID NO:4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、284及292;

[0029] (b) 具有选自下组的氨基酸序列的HCDR2结构域:SEQ ID NO:6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、286及294;

[0030] (c) 具有选自下组的氨基酸序列的HCDR3结构域:SEQ ID NO:8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、288及296;

[0031] (d) 具有选自下组的氨基酸序列的LCDR1结构域:SEQ ID NO:12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268及300;

[0032] (e) 具有选自下组的氨基酸序列的LCDR2结构域:SEQ ID NO:14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270及302;以及

[0033] (f) 具有选自下组的氨基酸序列的LCDR3结构域:SEQ ID NO:16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272及304。

[0034] 在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段包含选自下组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/266、282/266及290/298。

[0035] 在一个实施方式中,所述分离的人抗体或其抗原结合片段包含选自下组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO:114/122、146/154、98/106及290/298。

[0036] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段包含选自SEQ ID NO:146/154和290/298的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

[0037] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与选自下组的氨基酸序列的至少一个相互作用:在SEQ ID NO:306的约23位至约44位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约44位至约70位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约2位至约19位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约57位至约70位范围内的氨基酸残基;以及在SEQ ID NO:306的约81位至约96位范围内的氨基酸残基。

[0038] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与在SEQ ID NO:306的约23位至约44位范围内的氨基酸残基相互作用。

[0039] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与在SEQ ID NO:306的约23位至约43位范围内的氨基酸残基相互作用。

[0040] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与在SEQ ID NO:306的约44位至约70位范围内的氨基酸残基相互作用。

[0041] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与在SEQ ID NO:306的约44位至约56位范围内的氨基酸残基相互作用。

[0042] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与在SEQ ID NO:306的约2位至约19位范围内的氨基酸残基相互作用。

[0043] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与在SEQ ID NO:306的约57位至约70位范围内的氨基酸残基相互作用。

[0044] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与在SEQ ID NO:306的约57位至约66位范围内的氨基酸残基相互作用。



[0045] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与在SEQ ID NO:306的约81位至约96位范围内的氨基酸残基相互作用。

[0046] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与在SEQ ID NO:306的约81位至约89位范围内的氨基酸残基相互作用。

[0047] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与选自下组的氨基酸序列的至少一个相互作用:SEQ ID NO:307、308、309、310及311。包含SEQ ID NO:307、308、309、310或311的表位可以在C末端或N末端上延伸1至5个氨基酸、或5至10个氨基酸。例如,SEQ ID NO:311所示表位延伸5至10个氨基酸时,则涵盖了SEQ ID NO:115所示表位。换句话说,包含SEQ ID NO:311的表位例如包括SEQ ID NO:315所示表位。

[0048] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与SEQ ID NO:307相互作用。

[0049] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与SEQ ID NO:308相互作用。

[0050] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与SEQ ID NO:309相互作用。

[0051] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与SEQ ID NO:310相互作用。

[0052] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与SEQ ID NO:311相互作用。

[0053] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与SEQ ID NO:315相互作用。

[0054] 在一个实施方式中,所述结合至Bet v 1的分离的人抗体或其抗原结合片段与选自下组的氨基酸序列的至少一个相互作用:SEQ ID NO:307、308、309、310、311及315,并且包含选自下组的HCVR/LCVR序列对:SEQ ID NO:114/122、146/154、98/106及290/298。

[0055] 在一个实施方式中,与SEQ ID NO:307相互作用的分离的人抗体或其抗原结合片段包含包含于SEQ ID NO:146所示重链可变区中的三个HCDR以及包含于SEQ ID NO:154所示轻链可变区中的三个LCDR。

[0056] 在一个实施方式中,与SEQ ID NO:310相互作用的分离的人抗体或其抗原结合片段包含包含于SEQ ID NO:290所示重链可变区中的三个HCDR以及包含于SEQ ID NO:298所示轻链可变区中的三个LCDR。

[0057] 在一个实施方式中,结合Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:148、150和152所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:156、158和160所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0058] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:292、294和296所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:300、302和304所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0059] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:4、6和8所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:12、14和16所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0060] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:20、22和24所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:28、30和32所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0061] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:36、38和40所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:44、46和48所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0062] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:52、54和56所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:60、62和64所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0063] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:68、70和72所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:76、78和80所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0064] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:84、86和88所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:92、94和96所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0065] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:100、102和104所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:108、110和112所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0066] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:116、118和120所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:124、126和128所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0067] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:132、134和136所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:140、142和144所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0068] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:164、166和168所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:172、174和176所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0069] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:180、182和184所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:188、190和192所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0070] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:196、198和200所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:204、206和208所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0071] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:212、214和216所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:220、222和224所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0072] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:228、230和232所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:236、238和234所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0073] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:244、246和248所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:252、254和256所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0074] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:260、262和264所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:268、270和272所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0075] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:276、278和280所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:SEQ ID NO:268、270和272所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0076] 在一个实施方式中,结合至Bet v 1的人抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:284、286和288所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别由SEQ ID NO:SEQ ID NO:268、270和272所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列。

[0077] 在一个实施方式中,本发明提供一种结合至天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE或杨叶桦BPE的全人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其片段展现以下特征中的一种或多种:(i)包含具有选自下组的氨基酸序列的HCVR:SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、282及290、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(ii)包含具有选自下组的氨基酸序列的LCVR:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266及298、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(iii)包含具有选自下组的氨基酸序列的HCDR3结构域:SEQ ID NO:8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、288及296、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;以及具有选自下组的氨基酸序列的LCDR3结构域:SEQ ID NO:16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272及304、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(iv)包含具有选自下组的氨基酸序列的HCDR1结构域:SEQ ID NO:4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、284及292、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;具有选自下组的氨基酸序列的HCDR2结构域:SEQ ID NO:6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、286及294、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;具有选自下组的氨基酸序列的LCDR1结构域:SEQ ID NO:12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268及300、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;以及具有选自下组的氨基酸序列的LCDR2结构域:SEQ ID NO:14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270及302、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(v)以等于或小于 $10^{-8}$ 且在约 $10^{-8}$ 至约 $10^{-11}$ 范围内的 $K_D$ 结合至Bet v 1;(vi)在至少一种具有全身性过敏反应或炎症的动物模型中表现出功效;或(vii)与参照抗体竞争结合至天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE或杨叶桦BPE。

[0078] 在一个实施方式中,“参照抗体”可以包括例如具有选自下组的重链和轻链氨基酸

序列对组合的抗体:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/266、282/266及290/298。

[0079] 本发明涵盖具有修饰的糖基化模式的抗体。在一些应用中,去除不合需要的糖基化位点的修饰可能是有用的,或例如去除岩藻糖部分可增加抗体依赖性细胞毒性(ADCC)功能(参见Shield等人,2002、JBC 277:26733)。在其他应用中,可以进行半乳糖基化修饰以改变补体依赖性细胞毒性(CDC)。

[0080] 第二方面提供了一种分离的抗体或其抗原结合片段,其与这样的抗体或抗原结合片段竞争特异性结合至天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE或杨叶桦BPE:包含重链可变区(HCVR)的互补决定区(CDR),其中所述HCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、282及290;以及包含轻链可变区(LCVR)的CDR,其中所述LCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266及298。

[0081] 一个实施方式提供了一种分离的抗体或其抗原结合片段,其与这样的抗体或抗原结合片段竞争特异性结合至天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE或杨叶桦BPE:包含重链可变区(HCVR)的互补决定区(CDR),其中所述HCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:114、146、98和290;以及包含轻链可变区(LCVR)的CDR,其中所述LCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:122、154、106和298。

[0082] 在一个相关实施方式中,本发明提供了一种分离的抗体或其抗原结合片段,其与这样的抗体或抗原结合片段竞争特异性结合至天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE或杨叶桦BPE:包括包含于选自下组的重链和轻链序列对内的重链和轻链CDR:SEQ ID NO:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/266、282/266及290/298。

[0083] 第三方面提供了一种分离的抗体或其抗原结合片段,其结合Bet v 1上的与以下抗体或抗原结合片段结合的相同表位,抗体或抗原结合片段包含:重链可变区(HCVR)的互补决定区(CDR),其中所述HCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、282及290;以及轻链可变区(LCVR)的CDR,其中所述LCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266及298。

[0084] 一个实施方式提供了一种分离的抗体或其抗原结合片段,其结合Bet v 1上的与以下抗体或抗原结合片段结合的相同表位,抗体或抗原结合片段包含:重链可变区(HCVR)的互补决定区(CDR),其中所述HCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:114、146、98及290;以及轻链可变区(LCVR)的CDR,其中所述LCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:122、154、106及298。

[0085] 在一个相关实施方式中,本文提供了一种分离的抗体或其抗原结合片段,其结合Bet v1上的与以下抗体或抗原结合片段结合的相同表位,抗体或抗原结合片段包含包含于选自下组的重链和轻链序列对内的重链和轻链CDR:SEQ ID NO:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/266、282/266及290/298。

[0086] 在第四方面,本发明提供了编码Bet v 1抗体或其片段的核酸分子。本文还涵盖了携带此类核酸的重组表达载体,和引入了此类载体的宿主细胞,以及产生所述抗体的方法,该方法通过在允许产生所述抗体的条件下培养所述宿主细胞,并收集所产生的抗体。

[0087] 在一个实施方式中,本文提供了核酸分子,其编码结合至天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE或杨叶桦BPE的人单克隆抗体或其片段。

[0088] 在一个实施方式中,本文提供了一种抗体或其片段,其包含选自下组的核酸序列所编码的HCVR:SEQ ID NO:1、17、33、49、65、81、97、113、129、145、161、177、193、209、225、241、257、273、281及289、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同源性的基本上一致的序列。

[0089] 在一个实施方式中,HCVR是由选自下组的核酸序列编码:SEQ ID NO:113、145、257及289。

[0090] 在一个实施方式中,所述抗体或其片段还包含由选自下组的核酸序列所编码的LCVR:SEQ ID NO:9、25、41、57、73、89、105、121、137、153、169、185、201、217、233、249、265及297、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同源性的基本上一致的序列。

[0091] 在一个实施方式中,LCVR是由选自下组的核酸序列编码:SEQ ID NO:121、153、265及297。

[0092] 在一个实施方式中,本文提供了一种抗体或抗体的抗原结合片段,其包含:由选自下组的核苷酸序列所编码的HCDR3结构域:SEQ ID NO:7、23、39、55、71、87、103、119、135、151、167、183、199、215、231、247、263、279、287及295、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;以及由选自下组的核苷酸序列所编码的LCDR3结构域:SEQ ID NO:15、31、47、63、79、95、111、127、143、159、175、191、207、223、239、255、271及303、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列。

[0093] 在一个实施方式中,本文提供了一种抗体或其片段,其还包含:由选自下组的核苷酸序列所编码的HCDR1结构域:SEQ ID NO:3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、179、195、211、227、243、259、275、283及291、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;由选自下组的核苷酸序列所编码的HCDR2结构域:SEQ ID NO:5、21、37、53、69、85、101、117、133、149、165、181、197、213、229、245、261、277、285及293、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;由选自下组的核苷酸序列所编码的LCDR1结构域:SEQ ID NO:11、27、43、59、75、91、107、123、139、155、171、187、203、219、235、251、267及299、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;以及由选自下组的核苷酸序列所编码的LCDR2结构域:SEQ ID NO:13、29、45、61、77、93、109、125、141、157、173、189、205、221、237、253、269及301、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列。

[0094] 第五方面提供了一种药物组合物,其包括治疗有效量的一种或多种结合天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE或杨叶桦BPE的分离的人抗体或其抗原结合片段,以及一种或多种药理学上可接受的赋形剂。

[0095] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括治疗有效量的两种或更多种结合Bet v

1的分离的人抗体或其抗原结合片段,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0096] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括:

[0097] a) 结合Bet v 1的第一分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含具有如SEQ ID NO:146所示氨基酸序列的HCVR;以及具有如SEQ ID NO:154所示氨基酸序列的LCVR;

[0098] b) 结合Bet v 1的第二分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含具有选自SEQ ID NO:114、98和290的氨基酸序列的HCVR;以及具有选自SEQ ID NO:122、106和298的氨基酸序列的LCVR;和

[0099] c) 一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0100] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括:

[0101] a) 结合Bet v 1的第一分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含具有如SEQ ID NO:290所示氨基酸序列的HCVR;以及具有如SEQ ID NO:298所示氨基酸序列的LCVR;

[0102] b) 结合Bet v 1的第二分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含具有选自SEQ ID NO:114、146和98的氨基酸序列的HCVR;以及具有选自SEQ ID NO:122、154和106的氨基酸序列的LCVR;和

[0103] c) 一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0104] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括:

[0105] a) 结合Bet v 1的第一分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含具有如SEQ ID NO:146所示氨基酸序列的HCVR;以及具有如SEQ ID NO:154所示氨基酸序列的LCVR;

[0106] b) 结合Bet v 1的第二分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含具有如SEQ ID NO:290所示氨基酸序列的HCVR;以及具有如SEQ ID NO:298所示氨基酸序列的LCVR;和

[0107] c) 一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0108] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括:

[0109] a) 第一分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含具有SEQ ID NO:146所示氨基酸序列的HCVR以及具有SEQ ID NO:154所示氨基酸序列的LCVR;

[0110] b) 第二分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含具有SEQ ID NO:290所示氨基酸序列的HCVR以及具有SEQ ID NO:298所示氨基酸序列的LCVR;

[0111] c) 一种或多种其他分离的人单克隆抗体或抗原结合片段,其包含具有选自SEQ ID NO:114和98的氨基酸序列的HCVR,以及具有选自SEQ ID NO:122和106的氨基酸序列的LCVR;和

[0112] d) 一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0113] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括:

[0114] 结合Bet v 1的第一分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含由SEQ ID NO:146/154组成的HCVR/LCVR氨基酸序列对;

[0115] 结合Bet v 1的第二分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含选自下组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO:114/122、98/106和290/298;和

[0116] 一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0117] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括:

[0118] 结合至Bet v 1的第一分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含由SEQ ID NO:146/154组成的HCVR/LCVR氨基酸序列对;

[0119] 结合至Bet v 1的第二分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含由SEQ ID NO:290/298组成的HCVR/LCVR氨基酸序列对;和

[0120] 一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0121] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括两种或更多种结合至Bet v 1的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段以及一种或多种药学上可接受的赋形剂,所述分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段包含选自下组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/266、282/266及290/298。

[0122] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括三种或更多种结合至Bet v 1的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段以及一种或多种药学上可接受的赋形剂,所述分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段包含选自下组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/266、282/266及290/298。

[0123] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括四种结合至Bet v 1的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段以及一种或多种药学上可接受的赋形剂,其中所述人抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:114/122、146/154、98/106及290/298所示的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

[0124] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括:命名为H4H16992P的抗体,其具有SEQ ID NO:146/154所示的HCVR/LCVR氨基酸序列对;命名为H4H17082P2的抗体,其具有SEQ ID NO:290/298所示的HCVR/LCVR氨基酸序列对;和命名为H4H17038P2的抗体,其具有SEQ ID NO:98/106所示的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

[0125] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括:命名为H4H16992P的抗体,其具有SEQ ID NO:146/154所示的HCVR/LCVR氨基酸序列对;命名为H4H17082P2的抗体,其具有SEQ ID NO:290/298所示的HCVR/LCVR氨基酸序列对;命名为H4H17038P2的抗体,其具有SEQ ID NO:98/106所示的HCVR/LCVR氨基酸序列对;和命名为H4H16987P的抗体,其具有SEQ ID NO:114/122所示的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

[0126] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括治疗有效量的结合至Bet v 1的第一分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗体或其片段与在SEQ ID NO:306的约23位至约44位范围内的氨基酸残基相互作用;和结合至Bet v 1的第二分离人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗体或其片段与在SEQ ID NO:306的约44位至约70位范围内的氨基酸残基相互作用;以及一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0127] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括治疗有效量的结合至Bet v 1的第一分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂,其中所述第一抗体或其片段与在SEQ ID NO:306的约23位至约43位范围内的氨基酸残基相互作用;和结合至Bet v 1的第二分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗体或其片段与在SEQ ID NO:306的约44位至约56位范围内的氨基酸残基相互作用。

[0128] 在一个实施方式中,所述药物组合物包含治疗有效量的结合至Bet v 1的第一分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂,其中所述第一抗体或其片段与SEQ ID NO:307所示的氨基酸序列相互作用;和结合至Bet v 1的第二

分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗体或其片段与SEQ ID NO:308、309、310、311或315所示的氨基酸序列相互作用。

[0129] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括治疗有效量的结合至Bet v 1的第一分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,和结合至Bet v 1的一种或多种其他分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂,其中所述第一抗体或其片段与选自下组的氨基酸序列至少一个相互作用:在SEQ ID NO:306的约23位至约43位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约44位至约56位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约2位至约19位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约57位至约70位范围内的氨基酸残基;和在SEQ ID NO:306的约81位至89位或约81位至约96位范围内的氨基酸残基。

[0130] 在一个实施方式中,所述一种或多种其他分离的人单克隆抗体或其片段与选自下组的氨基酸序列的至少一个相互作用:在SEQ ID NO:306的约23位至约43位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约44位至约56位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约2位至约19位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约57位至约70位范围内的氨基酸残基;以及在SEQ ID NO:306的约81位至89位或约81位至约96位范围内的氨基酸残基,其中所述一种或多种其他分离的人单克隆抗体中的至少一种与不同于所述第一分离的人单克隆抗体的氨基酸序列相互作用。

[0131] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括治疗有效量的结合至Bet v 1的第一分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,和结合至Bet v 1的一种或多种其他分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂,其中所述第一抗体或其片段与SEQ ID NO:307所示的氨基酸序列相互作用,并且其中所述一种或多种其他抗体或其片段与选自下组的氨基酸序列相互作用:SEQ ID NO:308、309、310、311及315。

[0132] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括治疗有效量的至少两种结合至天然Bet v 1或BPE的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂,其中所述至少两种抗体并不竞争结合天然Bet v 1或BPE。在某些方面,所述抗体或其抗原结合片段是Bet v 1抗体H4H16992P和H4H17082P2,其分别包含SEQ ID NO:146/154和290/298所示的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

[0133] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括治疗有效量的至少三种结合至天然Bet v 1或BPE的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂,其中所述至少三种抗体并不竞争结合天然Bet v 1或BPE。在某些方面,所述抗体或其抗原结合片段是Bet v 1抗体H4H16992P、H4H17082P2和H4H17038P2,其分别包含SEQ ID NO:146/154、290/298和98/106所示的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

[0134] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括治疗有效量的至少四种结合至天然Bet v 1或BPE的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂,其中所述至少四种抗体不竞争结合天然Bet v 1或BPE。在某些方面,所述抗体或其抗原结合片段是Bet v 1抗体H4H16992P、H4H17082P2、H4H17038P2和H4H16987P,其分别包含SEQ ID NO:146/154、290/298、98/106及114/122所示的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

[0135] 在一个实施方式中,所述药物组合物包括治疗有效量的结合至Bet v 1的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂,其中所述抗体



或其抗原结合片段与一种或多种选自下组的过敏原交叉反应:Aln g1、Cor a1、Car b1、Que a1、Api g2、Api g1、Dau c1、Mal d1、Ost c1、Fag s1和Cas s1。在一些实施方式中,所述抗体或其抗原结合片段与一种或多种选自下组的过敏原交叉反应:Aln g1、Mal d1、Api g1、Car b1和Cor a1。

[0136] 在一个实施方式中,本发明的特征在于一种组合物,所述组合物是治疗有效量的一种或多种本发明的抗Bet v 1抗体或其抗原结合片段和治疗有效量的第二治疗剂,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂的组合。

[0137] 第二治疗剂可以是小分子药物、蛋白质/多肽、抗体、核酸分子,如反义分子或siRNA。第二治疗剂可以是合成的或天然来源的。

[0138] 第二治疗剂可以是任何能有利地与本发明的抗体或其片段组合的药剂,例如除本文所描述的抗体外的能够阻断Bet v 1与肥大细胞或嗜碱粒细胞上存在的IgE结合的另一抗体。第二治疗剂也可以是如何用作治疗针对过敏原的过敏反应的标准护理的药剂。此类第二治疗剂可以是抗组胺剂、肾上腺素、解充血剂、皮质类固醇或肽疫苗。

[0139] 在某些实施方式中,如果可能发生与本发明的抗体或抗体的抗原结合片段相关的任何可能副作用,则所述第二治疗剂可以是有助于抵消或减轻此类副作用的药剂。

[0140] 还应了解,本发明的抗体和药学上可接受的组合物可以用于组合疗法中,即所述抗体和药学上可接受的组合物可以在一种或多种其他期望的治疗剂或医疗程序的同时、之前或之后进行施用,包括例如与过敏原特异性免疫疗法(SIT)方案的组合,其中在SIT之前或期间施用所述抗体。用于组合方案中的特定疗法组合(治疗剂或程序)将考虑所期望的治疗剂和/或程序的相容性和待实现的所期望的治疗作用。还应了解,所用疗法可以实现针对相同病症的所期望的作用(例如抗体可以与用于治疗相同病症的另一种药剂并行地施用),或这些疗法可以实现不同的作用(例如控制任何不良作用)。如本文所使用,通常施用以治疗或预防特定疾病或病况的另外治疗剂适于所治疗的疾病或病况。

[0141] 如相关领域所认可的,当共施用多种治疗剂时,可以相应地调整剂量。

[0142] 第六方面提供了一种治疗表现有针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应的患者,或治疗与针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应相关的至少一种症状或并发症的方法,该方法包括向有需要的患者施用有效量的一种或多种结合至天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE或杨叶桦BPE的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,或包括有效量的一种或多种结合至天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE或杨叶桦BPE的分离的人单克隆抗体或其片段的药物组合物,其中在施用一种或多种所述结合至天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE或杨叶桦BPE的分离的人单克隆抗体或其片段之后,或在施用包括了前述抗体中的任一种或多种的组合物之后,所述针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应得到预防,或其严重程度降低和/或持续时间减少,或与所述针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应相关的至少一种症状或并发症得到预防或改善,或所述针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关蛋白质、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应的频率降低和/或持续时间减少、或严重程度降低。

[0143] 在一些实施方式中,桦树花粉提取物选自下组:天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE及杨叶桦BPE。

[0144] 在一些实施方式中,所述治疗使得患者暴露于在壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质之后引起的过敏性鼻炎、过敏性结膜炎、过敏性哮喘或全身性过敏反应(anaphylactic response)减轻。

[0145] 在一些实施方式中,所述方法还包括施用有效量的可用于减轻针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的过敏反应的所述第二治疗剂。第二治疗剂可选自下组:皮质类固醇、支气管扩张剂、抗组胺剂、肾上腺素、解充血剂、另一种不同的抗Bet v 1抗体及肽疫苗。

[0146] 在一些实施方式中,所述方法还包括刚好用所述抗体或其片段、或包括了所述抗体的药物组合物治疗所述患者之后或同时,用过敏原特异性免疫疗法(SIT)方案治疗所述患者。

[0147] 在一个实施方式中,本发明提供一种治疗表现有针对一种或多种壳斗目植物过敏原或壳斗目植物相关过敏原的敏感性或过敏反应的壳斗目植物过敏性患者,或治疗与针对一种或多种壳斗目植物过敏原或壳斗目植物相关过敏原的敏感性或过敏反应相关的至少一种症状或并发症的方法,该方法包括向有需要的患者施用有效量的一种或多种结合至Bet v 1的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,或包括了有效量的一种或多种结合至Bet v 1的分离的人单克隆抗体或其片段的药物组合物,其中在施用一种或多种所述结合至Bet v 1的分离的人单克隆抗体或其片段之后,或在施用包含了前述抗体中的任一种或多种的组合物之后,所述针对壳斗目植物过敏原或壳斗目植物相关过敏原的敏感性或过敏反应得到预防,或其严重程度降低和/或持续时间减少,或与所述针对壳斗目植物过敏原或壳斗目植物相关过敏原的敏感性或过敏反应相关的至少一种症状或并发症得到预防或改善,或所述针对壳斗目植物过敏原或壳斗目植物相关过敏原的敏感性或过敏反应的频率降低和/或持续时间减少、或严重程度降低。

[0148] 在一些实施方式中,所述一种或多种壳斗目植物过敏原选自下组:Bet v 1、Aln g1、Cor a1、Car b1和Que a1。

[0149] 在一个实施方式中,本发明提供了一种包括了一种或多种结合天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE及杨叶桦BPE的本文所描述的抗体的药物组合物,其用于治疗表现有针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应的患者,或用于治疗与针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应相关的至少一种症状或并发症,其中所述针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应得到预防,或其严重程度降低和/或持续时间减少,或与所述针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应相关的至少一种症状或并发症得到预防或改善,或所述针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应的频率降低和/或持续时间减少、或严重程度降低。

[0150] 在一个实施方式中,本发明提供包括了一种或多种本发明结合至Bet v 1的抗体的药物组合物在制备用于治疗表现有针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦

树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应的患者,或治疗与针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应相关的至少一种症状或并发症的药物种的用途,其中所述针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应得到预防,或其严重程度降低和/或持续时间减少,或与所述针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应相关的至少一种症状或并发症得到预防或改善,或所述针对壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的敏感性或过敏反应的频率降低和/或持续时间减少、或严重程度降低。

[0151] 在一个实施方式中,本发明提供了如上文所描述的药物组合物的用途,其中所述组合物是与可用于减轻针对壳斗目植物蛋白质、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1蛋白质的过敏反应的第二治疗剂组合施用。在一个实施方式中,本发明提供如上文所描述的药物组合物的用途,其中所述第二治疗剂选自皮质类固醇、支气管扩张剂、抗组胺剂、肾上腺素、解充血剂、另一种不同的抗Bet v 1抗体及肽疫苗。

[0152] 在某些实施方式中,本发明的结合至Bet v 1的抗体能够减轻、最大限度地减少或预防对桦树花粉或Bet v 1敏感的患者至少一种症状,如打喷嚏、鼻腔充血、鼻塞、咳嗽、喘鸣、支气管收缩、鼻炎或结膜炎。

[0153] 在一个实施方式中,本发明的结合至Bet v 1的抗体、或包括了一种或多种本发明的抗体的组合物可用于预防与Bet v 1过敏相关的甚至更严重的体内并发症,包括哮喘反应、过敏性休克,甚至是由全身性过敏反应引起的死亡。

[0154] 在一个实施方式中,所述药物组合物与第二治疗剂组合施用给患者。

[0155] 在另一个实施方式中,第二治疗剂选自下组:抗组胺剂、肾上腺素、解充血剂、皮质类固醇、另一种不同的抗Bet v 1抗体、肽疫苗以及可用于减轻过敏反应之严重程度或用于改善与过敏反应相关的至少一种症状的任何其他姑息性疗法。

[0156] 在又一个实施方式中,所述药物组合物在一种或多种其他期望的治疗剂或医疗程序的同时、之前或之后进行施用,包括例如在过敏原特异性免疫疗法(SIT)方案之前或同时进行施用。在一些方面,将SIT方案与本文所提供的抗体一起使用来提供协同作用。

[0157] 在一个实施方式中,提供了用于增强过敏原特异性免疫疗法(SIT)方案的功效和/或安全性的方法,所述方法包括在即将施用SIT方案之前或同时,向有需要的患者施用有效量的一种或多种如本文所提供的分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段,或包括了有效量的一种或多种分离的人单克隆抗体或其片段的药物组合物,其中针对SIT方案的过敏反应的严重程度减轻。在一些实施方式中,所述SIT方案包括递增剂量阶段,随后是维持阶段。在一些实施方式中,所述SIT方案是紧急SIT方案。

[0158] 在另一个方面,提供了用于防止或减少与壳斗目植物蛋白质、壳斗目植物相关过敏原、桦树花粉或桦树花粉提取物、或Bet v 1致敏作用相关的肥大细胞脱粒的方法,所述方法包括向有需要的患者施用本文所描述的药物组合物。

[0159] 在一些实施方式中,BPE选自下组:天然Bet v 1、垂枝桦BPE、河桦BPE及杨叶桦BPE。

[0160] 通过阅读以下详细说明,其他实施方式将变得显而易见。

## 附图说明

[0161] 图1提供了有关H4H16992P与Bet v 1相互作用的H/D交换/MS表位的定位。

[0162] 图2提供了有关H4H17082P与Bet v 1相互作用的H/D交换/MS表位的定位。

[0163] 图3提供了有关H4H17038P2与Bet v 1相互作用的H/D交换/MS表位的定位。

[0164] 图4提供了有关H4H16987P与Bet v 1相互作用的H/D交换/MS表位的定位。

[0165] 图5提供了有关H4H16992P、H4H17082P、H4H17038P2及H4H16987P与Bet v 1相互作用的H/D交换/MS表位的定位。

[0166] 图6是用于确定抗体组合在人源化小鼠PCA模型中阻止由Bet v 1诱导的肥大细胞脱粒方面的有效性的方案的图。

[0167] 图7描绘了抗Bet v 1抗体组合在人源化小鼠PCA模型中阻断利用获自三名Bet v 1敏感供体的含IgE的血清引起肥大细胞脱粒的能力。

[0168] 图8描绘了两个图,第一个图提供了展示抗Bet v 1抗体组合阻断从一名桦树过敏供体获得的PBMC中嗜碱性粒细胞活化的代表性数据。条形图提供的数据描绘了相对于各单独抗体,抗Bet v 1抗体组合阻断获自多名供体的PBMC中的嗜碱性粒细胞活化的阻断百分比。

## [0169] 发明内容详述

[0170] 在描述本发明组合物和方法之前,应理解,本发明不限于所描述的特定组合物和方法以及实验条件,因为这些方法、组合物和条件可以变化。还应理解,本文中使用的术语仅出于描述特定实施方式的目的,而不旨在为限制性的,因为本发明的范围仅由权利要求书限定。

[0171] 除非另外定义,否则本文中所使用的所有技术和科学术语都具有与本发明所属领域的一般技术人员通常所理解的相同的含义。如本文所使用的术语“约”,当用于所叙述的特定数字值时,意思指该值可与所述值有不超过1%的差异。例如,如本文所使用,表述“约100”包括99和101以及两者之间的所有值(例如99.1、99.2、99.3、99.4等)。

[0172] 尽管可以在本发明的实践或测试中使用与本文所描述的方法和材料类似或等效的方法和材料,但本文描述的是优选的方法和材料。

## [0173] 定义

[0174] 如本文所使用,术语“Bet v 1”是指至少一种呈天然/原生形式或以重组方式制造的Bet v 1蛋白质。Bet v 1蛋白质包含SEQ ID NO:306所示的氨基酸序列和SEQ ID NO:305所示的核酸序列。天然Bet v 1蛋白质约17kD,并且以这样的方式存在:7股反平行 $\beta$ -折叠( $\beta$ 1- $\beta$ 7)形式,两个短 $\alpha$ -螺旋( $\alpha$ 1和 $\alpha$ 2)连接 $\beta$ 1和 $\beta$ 2、一个长C末端 $\alpha$ -螺旋( $\alpha$ 3),并在 $\beta$ 2与 $\beta$ 3之间存在富含甘氨酸的环基元(Kofler等人(2012),《分子生物学杂志》422(1):109-123)。以重组方式制造的突变型Bet v 1,即SEQ ID NO:312,包含Uniprot P15494的G2-N160以及S85A的取代,并含有Myc-Myc-六聚组氨酸标签。来自Uniprot:P15494的Bet v 1氨基酸序列,即SEQ ID NO:314,也可以称为Bet v 1。

[0175] “Bet v 1”是包含SEQ ID NO:306或SEQ ID NO:314或其同源序列所示的氨基酸序列,或替代地由该氨基酸序列组成的多肽。如本文所使用,短语“SEQ ID NO:306或SEQ ID NO:314的同源序列”是指与SEQ ID NO:306或SEQ ID NO:314具有大于70%、优选地大于80%、更优选地大于90%并且甚至更优选地大于95%的同一性的多肽。

[0176] 如本文所使用,术语“Bet v 1片段”是指包含Bet v 1的至少一个抗原位点或替代地由该至少一个抗原位点组成的多肽。在一个实施方式中,如本文所使用,术语“Bet v 1片段”是指包含Bet v 1的至少两个抗原位点或替代地由该至少两个抗原位点组成的多肽。在一个实施方式中,抗原位点是共价连接的。在一个实施方式中,抗原位点是通过至少一个肽键连接的。在一个实施方式中,两个抗原位点是通过至少一个肽键以及在所述抗原位点之间的间隔子连接的。在一个实施方式中,所述至少两个抗原位点包含了Uniprot P15494的氨基酸序列的23-44位和44-56位。在一个实施方式中,所述至少两个抗原位点包含了在SEQ ID NO:306、307、308、309、310、311及315中的任一个内的氨基酸序列。在一个实施方式中,所述Bet v 1片段中的任一个能够在体内诱导产生特异性结合至天然存在的Bet v 1或以重组方式产生的Bet v 1的抗体。

[0177] 如本文所使用,术语“抗体”意思指包含至少一个特异性结合至特定抗原(例如Bet v1)或与所述特定抗原相互作用的互补决定区(CDR)的任何抗原结合分子或分子复合物。如本文所使用,术语“抗体”意图指免疫球蛋白分子,其包含四条多肽链,即通过二硫键互连的两条重(H)链与两条轻(L)链(即“完全抗体分子”);以及其多聚体(例如IgM),或其抗原结合片段。每条重链包含重链可变区(“HCVR”或“V<sub>H</sub>”)和重链恒定区(包含结构域C<sub>H</sub>1、C<sub>H</sub>2和C<sub>H</sub>3)。每条轻链包含轻链可变区(“LCVR”或“V<sub>L</sub>”)和轻链恒定区(C<sub>L</sub>)。V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>区可以进一步细分成称为互补决定区(CDR)高变区,其穿插分布于被称为构架区(FR)的更为保守的区域。每个V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>都由从氨基末端至羧基末端按以下顺序布置的三个CDR和四个FR组成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本发明的某些实施方式中,抗体(或其抗原结合片段)的FR可以与人类种系序列一致,或可以被天然地或人工地修饰。氨基酸共有序列可基于两个或更多个CDR的并行分析来限定。

[0178] 一个或多个CDR残基的替换或一个或多个CDR的省略也是可能的。已有科学文献中描述了这样的抗体,其中省去一个或两个CDR仍可以达到结合目的。Padlan等人(1995,《美国实验生物学学会联合会杂志(FASEB J.)》9:133-139)基于已公开的晶体结构分析了抗体与其抗原之间的接触区,并由此得出结论——仅约五分之一至三分之一的CDR残基实际接触抗原。Padlan还发现在许多抗体中有一个或两个CDR中没有与抗原接触的氨基酸(另参见Vajdos等人,2002,《分子生物学杂志》320:415-428)。

[0179] 可以基于先前的研究,通过分子建模和/或经验从位于Chothia CDR外侧的Kabat CDR区域鉴定不接触抗原的CDR残基(例如CDRH2中的残基H60-H65通常是不需要的)。如果一个CDR或其残基被省略,则它通常被在另一人抗体序列或此类序列的共有序列中占据相应位置的氨基酸所替换。还可根据经验选择CDR中替换的位置和替换的氨基酸。经验性替换可以是保守或非保守性取代。

[0180] 本文所公开的特异性结合至Bet v 1的全人单克隆抗体相较于相应种系序列可在重链和轻链可变结构域的框架区和/或CDR区中包含一个或多个氨基酸替换、插入和/或缺失。通过将本文所公开的氨基酸序列与从例如公共抗体序列数据库得到的种系序列相进行比较,可以容易地确定这些突变。本发明包括来源于本文所公开的任一氨基酸序列的抗体和其抗原结合片段,其中一个或多个框架区和/或CDR区内的一个或多个氨基酸突变成该抗体所来源的种系序列中的相应残基,或突变成另一人种系序列中的相应残基,或突变成相应种系残基的保守氨基酸替换(此类序列变化在本文中统称为“种系突变”)。本领域的普通

技术人员从本文所公开的重链和轻链可变区序列开始,可以容易地产生许多包含一个或多个单种系突变或其组合的抗体和抗原结合片段。在某些实施方式中, $V_H$ 和/或 $V_L$ 结构域内的所有框架和/或CDR残基回复突变成在所述抗体来源的原始种系序列中存在的残基。在其他实施方式中,只有某些残基回复突变成原始种系序列,例如仅在FR1的前8个氨基酸内或在FR4的后8个氨基酸内发现的突变残基,或仅在CDR1、CDR2或CDR3内发现的突变残基。在其他实施方式中,一个或多个框架和/或CDR残基突变成不同种系序列(即与最初得到所述抗体的种系序列不同的生殖系序列)中的相应残基。

[0181] 此外,本发明的抗体可以包含在框架区和/或CDR区内的两个或更多个种系突变的任意组合,例如其中某些单个的残基突变成特定种系序列中的相应的残基,而不同于原始种系序列的某些其他残基以保持不变或突变成不同种系序列中的相应残基。一旦得到含有一个或多个种系突变的抗体和抗原结合片段后,就可以容易地测试所述抗体和抗原结合片段的一种或多种所期望的性质,如改善的结合特异性、提高的结合亲和力、改善或增强的拮抗或激动生物学性质(视具体情况而定)、降低的免疫原性等。以这种通用方式获得的抗体和抗原结合片段涵盖在本发明内。

[0182] 本发明还包括全人单克隆抗体,其包含了具有一个或多个保守性替换的本文所公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中的任一个的变体。例如,本发明包括的抗体具有相对于本文所公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中的任一个的有例如10个或更少、8个或更少、6个或更少、4个或更少等保守氨基酸替换的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列。

[0183] 如本文所使用,术语“人抗体”意图包括非天然存在的人抗体。该术语包括在非人类哺乳动物中或在非人类哺乳动物的细胞中以重组方式产生的抗体。该术语不旨在包括从人类受试者中分离或在人类受试者体内产生的抗体。

[0184] 在一些实施方式中,本发明的抗体可以是重组和/或非天然存在的人抗体。如本文所使用,术语“重组人抗体”意图包括通过重组手段制备、表达、产生或分离的所有人抗体,如使用转染至宿主细胞(在下文进一步描述)中的重组表达载体表达的抗体、从重组、组合人抗体文库(在下文进一步描述)中分离的抗体、从人免疫球蛋白基因转基因动物(例如小鼠)中分离的抗体(参见例如Taylor等人(1992),《核酸研究(Nucl.Acids Res.)》20:6287-6295),或通过包含将人免疫球蛋白基因序列剪接至其他DNA序列的任何其他手段制备、表达、产生或分离的抗体。在某些实施方式中,这类重组人抗体经历体外诱变(或当使用人Ig序列转基因动物时,经历体内体细胞诱变),因此,重组抗体的 $V_H$ 和 $V_L$ 区的氨基酸序列是与人类种系 $V_H$ 和 $V_L$ 序列相关的,但可能在体内并非天然存在于人抗体种系谱系内的序列。

[0185] 人抗体可以呈与铰链异质性有关的两种形式存在。在一种形式中,免疫球蛋白分子包含约150-160kDa的稳定四链构建体,其中二聚体通过链间重链二硫键保持在一起。在另一种形式中,二聚体不是通过链间二硫键连接,并且约75-80kDa的分子是由共价偶合的轻链和重链构成(半抗体)。这些形式极难分离,即使是在亲和纯化之后也是如此。

[0186] 在各种完整IgG同型中另一种形式(second form)的频繁出现,是由于但不限于与抗体的铰链区同型有关的结构差异引起。人IgG4铰链的铰链区中的单个氨基酸替换可以使所述另一种形式的出现明显减少(Angal等人,1993,《分子免疫学(Molecular Immunology)》30:105)至使用人IgG1铰链时通常观察到的水平。本发明涵盖了在铰链区、 $C_H2$ 区或 $C_H3$ 区中具有一个或多个突变的抗体,所述突变可能是提高所期待的抗体形式的产

率(例如在制造过程中)所期待的。

[0187] 如本文所使用,表述“抗原结合分子”意指包含至少一个互补决定区(CDR)或由其组成的蛋白质、多肽或分子复合物,所述CDR单独地或与一个或多个另外的CDR和/或框架区(FR)组合地特异性结合至特定抗原。在某些实施方式中,抗原结合分子是抗体或抗体的片段,这些术语如本文其他地方所定义。

[0188] 术语“特异性结合”或“特异性结合至”等意指抗体或其抗原结合片段与抗原形成在生理条件下相对较稳定的复合物。特异性结合可以通过至少约 $1 \times 10^{-6}$ M或更低的平衡解离常数表征(例如较小的 $K_D$ 表示更紧密的结合)。用于确定两个分子是否特异性结合的方法是本领域众所周知的,并且包括例如平衡透析、表面等离子体共振等。如本文所描述,已通过表面等离子体共振(例如BIAcore™)鉴定了特异性结合至Bet v 1的抗体。

[0189] 短语“高亲和力”抗体是指如通过表面等离子体共振(例如BIAcore™)或溶液亲和力ELISA所测量,与Bet v 1的结合亲和力以 $K_D$ 表示是至少 $10^{-8}$ M;优选地是 $10^{-9}$ M;更优选地是 $10^{-10}$ M,甚至更优选地是 $10^{-11}$ M,甚至更优选地是 $10^{-12}$ M的单克隆抗体。

[0190] 术语“低解离速率”、“Koff”或“kd”意指如通过表面等离子体共振(例如BIAcore™)所测定,抗体以 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 或更低、优选地以 $1 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ 或更低的速率常数与Bet v 1解离。

[0191] 如本文所使用,术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括特异性结合抗原以形成复合物的任何天然存在的、可酶促获得、合成或经过基因工程改造的多肽或糖蛋白。如本文所使用,术语抗体的“抗原结合部分”或“抗体片段”是指保留结合至Bet v 1的能力的抗体的一个或多个片段。

[0192] 本发明的具体实施方式,抗体或抗体片段可以与治疗性部分(如皮质类固醇、另一种抗Bet v 1抗体或肾上腺素、疫苗或任何其他可用于治疗针对Bet v 1的过敏反应的治疗性部分)缀合(“免疫缀合物”)。

[0193] 本发明的抗体可以是分离的抗体。如本文所使用,“分离的抗体”意指从天然环境的至少一种组分中鉴别和分离和/或回收的抗体。例如,出于本发明的目的,从生物体的至少一种组分,或从天然存在或天然产生抗体的组织或细胞中分离或移出的抗体是“分离的抗体”。分离的抗体还包括在重组细胞内原位产生的抗体。分离的抗体是经历至少一个纯化或分离步骤的抗体。根据某些实施方式,分离的抗体可以基本上不含其他细胞物质和/或化学试剂。

[0194] 根据某些实施方式,分离的抗体可以基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体(Ab)(例如特异性结合Bet v 1的分离的抗体或其片段基本上不含特异性结合除壳斗目植物抗原外的抗原或在一些方面除Bet v 1外的抗原的Ab)。

[0195] 如本文所使用,“阻断抗体”或“中和抗体”(或“中和Bet v 1活性的抗体”)意指与Bet v 1的结合会引起至少一种Bet v 1生物活性抑制的抗体或其抗原结合部分。例如,本发明的抗体可以帮助预防针对Bet v 1的原发性过敏反应。或者,本发明的抗体可以表现有预防针对Bet v 1的继发性过敏反应、或针对Bet v 1的过敏反应的至少一症状(包括由Bet v 1引起的打喷嚏、咳嗽、哮喘病况或全身性过敏反应)的能力。可通过用若干标准的体外或体内分析法(如本文中所描述的被动皮肤全身性过敏反应分析法)或本领域中已知的其他体内分析法(例如用于观察在施用一种或多种本文所描述的抗体之后对Bet v 1激发的防护作用的其他动物模型)中的一种或多种来测量一种或多种Bet v 1生物活性的指示物而



评估针对Bet v 1生物活性的抑制作用。

[0196] 如本文所使用,“表面等离子体共振”是指一种光学现象,其允许通过例如使用BIACORE™系统(瑞典乌普萨拉(Uppsala, Sweden)和新泽西州皮斯卡塔威(Piscataway, N.J.)的Pharmacia Biosensor AB)检测生物传感器基质内蛋白质浓度的变化来分析实时生物分子相互作用。

[0197] 如本文使用,术语“ $K_D$ ”意指特定抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。

[0198] 术语“表位”是指与抗体分子可变区中的特定抗原结合位点(称为互补位)相互作用的抗原决定簇。单个抗原可以具有一个以上的表位。因此,不同抗体可以结合至抗原上的不同区域,并且可以具有不同的生物效应。术语“表位”还指抗原上的引发B细胞和/或T细胞应答的位点。它还指抗体所结合的抗原的区域。表位可以是线性的或具有空间构象的。线性表位是由多肽链中的相邻氨基酸残基产生的表位。构象表位是通过空间并置来自线性多肽链不同区段的氨基酸而产生的表位。在某些实施方式中,表位可以包括作为分子的化学活性表面基团的决定簇,例如氨基酸、糖侧链、磷酸基或磺酰基,并且在某些实施方式中,表位可具有特定的三维结构特征和/或特定的电荷特征。表位也可以定义为结构性或功能性表位。功能性表位一般是结构性表位的子集并且具有直接贡献了相互作用的亲和力的那些残基。由连续氨基酸形成的表位在暴露于变性溶剂时通常被保留,而由三级折叠形成的表位在用变性溶剂处理时通常丢失。表位通常包括至少3个且更经常至少5个或8-10个氨基酸,呈独特的空间构象。

[0199] 当涉及核酸或其片段时,术语“基本同一性”或“基本上一致”是指当通过适当核苷酸插入或缺失而与另一核酸(或其互补链)最佳地比对时,核苷酸碱基存在至少约90%并且更优选地至少约95%、96%、97%、98%或99%的核苷酸序列同一性,所述同一性通过任何公知的序列同一性的算法(如FASTA、BLAST或GAP)测量。在某些情况下,与参照核酸分子具有基本同一性的核酸分子可以编码与参照核酸分子所编码的多肽具有相同或基本上类似的氨基酸序列的多肽。

[0200] 当应用于多肽时,术语“基本相似性”或“基本上类似”意指当使用默认空位权重,如通过程序GAP或BESTFIT进行最佳地比对时,两肽序列共有至少90%的序列同一性,甚至更优选地至少95%、98%或99%的序列同一性。优选地,不相同的残基位置是因保守氨基酸替换而不同。“保守氨基酸替换”是指氨基酸残基被侧链(R基团)具有类似化学特性(例如电荷或疏水性)的另一氨基酸残基替换的氨基酸替换。一般来说,保守氨基酸替换基本上不会改变蛋白质的功能特性。在两个或更多个氨基酸序列因保守性替换而彼此不同的情况下,可以上调相似性百分比或程度以校正替换的保守性。做出这一调整的手段是本领域的技术人员众所周知的。(参见例如Pearson, 1994,《分子生物学方法(Methods Mol. Biol.》24: 307-331)。侧链具有类似化学特性的氨基酸组的实例包括1)脂肪族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;2)脂肪族羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;3)含酰胺的侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;4)芳香族侧链:苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;5)碱性侧链:赖氨酸、精氨酸和组氨酸;6)酸性侧链:天冬氨酸和谷氨酸;以及7)含硫侧链:半胱氨酸和甲硫氨酸。优选的保守氨基酸替换组是:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸、谷氨酸-天冬氨酸以及天冬酰胺-谷氨酰胺。或者,保守替换是在Gonnet等人(1992,《科学(Science)》256:1443-45)中所公开的PAM250对数似然矩阵(log-likelihood



matrix)中具有正值的任何变化。“适度保守”替换是在PAM250对数似然矩阵中具有非负值的任何变化。

[0201] 通常使用序列分析软件测量多肽的序列相似性。蛋白质分析软件使用了指定给包括保守氨基酸替换在内的各种替换、缺失和其他修饰的相似性量度来匹配相似序列。例如，GCG软件含有可以使用默认参数的程序如GAP和BESTFIT，以测定密切相关的多肽之间(如来自不同生物物种的同源多肽之间或野生型蛋白质与其突变蛋白质之间)的序列同源性或序列同一性。参见例如6.1版GCG。还可以使用FASTA，利用默认或推荐的参数比较多肽序列；6.1.FASTA版GCG的程序(例如FASTA2和FASTA3)提供了查询序列与搜索序列之间最佳重叠区域的比对和序列同一性百分比(Pearson, 2000, 同上)。当比较本发明序列与含有来自不同生物的大量序列的数据库时，另一优选的算法是使用默认参数的计算机程序BLAST，尤其是BLASTP或TBLASTN。(参见例如Altschul等人, 1990,《分子生物学杂志》215:403-410以及1997《核酸研究(Nucleic Acids Res.)》25:3389-3402)。

[0202] 短语“治疗有效量”意指产生施用其所期望达成的作用的量。确切的量将取决于治疗目的,并且可由本领域的技术人员使用已知技术来确定(参见例如Lloyd(1999)《药物混配的艺术、科学和技术(The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding)》)。

[0203] 本发明的抗体可用于使壳斗目植物过敏性个体“脱敏”。术语“脱敏”在本文中定义为减少壳斗目植物过敏性个体暴露于壳斗目植物过敏原(如桦树花粉,例如Bet v 1、Aln g1、Cor a1、Car b1、Que a1、Api g2、Api g1、Dau c1、Mal d1、Ost c1、Fag s1和/或Cas s1)的过敏反应(减少至低于否则壳斗目植物过敏性个体将经历的水平),或暴露于壳斗目植物相关过敏原的过敏反应。术语“脱敏”在本文中还定义为减少个体针对PR-10蛋白质的过敏反应,所述PR-10蛋白质包括Act c 8和Act d 8(奇异果)、Ara h 8(花生)、Pru ar 1(杏)、Pru av 1(樱桃)、Pru p 1(桃)、Pyr c 1(梨)、Gly m 4(大豆)、Vig r 1(绿豆)、Sola I 4(番茄)、Cuc m 3(瓜)、Rub i 1(覆盆子)及Fra a 1(草莓)。

[0204] 一般描述

[0205] 属于壳斗目的树是春季过敏症状的来源,并且主要的桦树过敏原Bet v 1在超过95%的桦树花粉过敏性患者中引起IgE结合(Breiteneder,《欧洲分子生物学杂志》1989,8(7):1935-8)。桦树是美国23%的过敏患者和欧洲14%的过敏患者的主要致敏物。(DataMonitor关于过敏性鼻炎的报告,2010年7月)。对桦树花粉表现有敏感性的个体的症状的严重程度范围从相对较轻的鼻炎和结膜炎到可能危及生命的哮喘病况。据显示,对桦树花粉过敏患者中超过60%具有针对Bet v 1的IgE抗体(Jarolim等人,《国际变态反应学与应用免疫学文集》1989,88(1-2):180-2)。

[0206] 壳斗目树木显示了独特的地理分布,其中桦树和桤木是欧洲和北美的北方地区特有的,而榛树、角树和橡树则偏好温暖的气候,由此实际上生活于这些大陆的南方地区。全部五个物种的共同群体常常见于温带气候区5。(Spieksma FTM., Regional European pollen calendars. D'Amato G, Spieksma FTM, Bonini S 编, Allergenic pollen and pollinosis in Europe. Hoboken, NJ: Wiley Blackwell; 1991. 第49-65页)包括桤木、榛树和角树在内的若干桦木科树木有可能在敏感个体中引发针对Bet v 1样过敏原的敏感,由此产生高交叉反应性IgE抗体。(Hauser等人, 2011,《临床与实验变态反应(Clin Exp

Allergy.)》41:1804-14)

[0207] 本文所定义的壳斗目植物过敏原或壳斗目植物过敏原包括桦树花粉 (Bet v 1)、桤木花粉 (Aln g1和Aln g4)、榛树花粉 (Cor a1、Cor a2、Cor a8、Cor a9、Cor a10、Cor a11、Cor a12、Cor a13及Cor a14)、角树花粉 (Car b1)、霍布叶铁木 (hop-hornbeam) 花粉 (Ost c1)、栗树花粉 (Cas s1、Cas s5、Cas s8及Cas s9)、山毛榉花粉 (Fag s1) 及白橡树花粉 (Que a1和Que a2)。在非桦树花粉中, Aln g1、Cor a1、Car b1、Ost c1、Cas s1、Fag s1及Que a1与Bet v 1即壳斗目植物相关过敏原类似或相关。这些过敏原也在壳斗目树木的坚果以及属于蔷薇目的不相关树木的果实中表达。这些过敏原的交叉反应性可促使花粉过敏患者的食物过敏症状。示例性的交叉反应性食物过敏包括苹果、樱桃、杏、梨、苜蓿、豌豆、大豆、番茄、芹菜、胡萝卜及芦笋。(《过敏原和过敏原免疫疗法:皮下、舌下和口服 (Allergens and Immunotherapy:Subcutaneous,Sublingual,and Oral)》,第5版,Richard F.Lockey,Dennis K.Ledford编,CRC Press,Taylor&Francis Group,纽约州伦敦(London,NY),2014,第114、118-119页)。

[0208] 如本文所使用,短语“壳斗目植物过敏原”包括壳斗目植物相关过敏原。在一些实施方式中,“壳斗目植物相关过敏原”定义为与Bet v 1具有至少约35%总体序列同源性、或与Bet v 1的表位1具有至少约50%序列同源性、或与Bet v 1的表位2具有至少约40%序列同源性、或与Bet v 1的表位3具有至少约25%序列同源性、或与Bet v 1的表位4具有至少约15%序列同源性的蛋白质。在一些实施方式中,“壳斗目植物相关过敏原”定义为与抗Bet v 1抗体发生交叉反应的蛋白质,包括来自蔷薇目的过敏原。

[0209] 免疫球蛋白E (IgE) 会引起1型超敏反应,其表现为过敏性鼻炎、过敏性结膜炎、花粉热、过敏性哮喘、蜂毒过敏及食物过敏。IgE在血液中循环,并结合至嗜碱粒细胞和肥大细胞上的针对IgE的高亲和力Fc受体。在大多数过敏反应中,过敏原通过吸入、摄入或通过皮肤进入身体。接着,过敏原与已结合至肥大细胞和嗜碱粒细胞表面上的高亲和力受体的预先形成的IgE结合,使得若干IgE分子交联并触发组胺和其他炎性介质的释放,由此引起各种过敏症状。

[0210] 桦树花粉过敏的治疗包括脱敏疗法,该疗法涉及重复注射递增剂量的粗桦树花粉提取物或来源于Bet v 1的短肽。过敏原特异性免疫疗法的不足包括较长的治疗持续时间,这导致患者顺应性问题,以及导致针对注射的蛋白质的常见过敏反应(高达30%)。在认为脱敏疗法有效之前,可能要花费若干年。成功治疗取决于提取物的组成和质量,并且在重度哮喘/食物过敏患者中,由于存在IgE介导的严重不良事件风险而禁忌该疗法。因此,桦树花粉过敏治疗领域中需要针对治疗对壳斗目植物过敏原(特别是Bet v 1)敏感的患者替代策略。

[0211] 抗体已被提议作为过敏的通用治疗策略,因为抗体能够阻止致敏分子进入粘膜组织中,或可以在过敏原有机会与结合至肥大细胞或嗜碱粒细胞上的高亲和力受体的IgE结合之前,结合该过敏原,由此防止组胺和其他炎性介质从这些细胞释放。美国专利号5,670,626描述了使用单克隆抗体,通过阻断过敏原与粘膜组织的结合来治疗IgE介导的过敏性疾病,如过敏性鼻炎、过敏性哮喘和过敏性结膜炎。美国专利号6,849,259描述了使用过敏原特异性抗体来抑制小鼠过敏模型体内的过敏性炎症。基于牛奶和基于蛋的抗体系统也有描述。例如,US20030003133A1公开了使用牛奶作为过敏原的载体来诱导针对桦树花粉和其他

过敏原的口服耐受性。WO1994/024164A2中描述了通过使用抑制过敏原结合至肥大细胞的能力的分子来减少动物对环境中过敏原的过敏反应的组合物和方法。在U.S.2010/0034812中也提到了其他抗Bet v 1抗体。

[0212] 本文所描述的全人抗体展示了与Bet v 1的特异性结合,并且可用于治疗遭受桦树花粉过敏的患者,特别是对Bet v 1过敏原表现有敏感性的患者。使用此类抗体可以是治疗遭受壳斗目树木花粉过敏的患者的有效手段,或这些抗体可用于防止在二次暴露时针对Bet v 1的反应加强,或预防与过敏相关的伴随症状,或可用于降低/减少与初次暴露于桦树花粉过敏原或在二次暴露时症状复发相关的过敏反应的严重程度和/或持续时间。这些抗体可单独使用,或作为辅助疗法与本领域中已知用于治疗此类过敏的其他治疗部分或方式(例如但不限于皮质类固醇或肾上腺素治疗)一起使用。它们可与第二种或第三种不同的Bet v 1特异性抗体结合使用。它们可与过敏原特异性免疫疗法(SIT)一起使用。在一些实施方式中,与SIT组合的结果是协同起效的。

[0213] 与脱敏疗法不同,用本文所描述的抗体治疗可以在开始治疗的约2周内、或在开始治疗的约10天或约8天内实现有效缓解。结合暴露于Bet v 1蛋白质或肽、或一种或多种另外的壳斗目植物过敏原,用本文所描述的全人抗体治疗不仅可以阻断过敏反应,而且还能更有效地或协同地使遭受壳斗目树木花粉过敏的患者脱敏。

[0214] 在某些实施方式中,本发明的抗体是从免疫接种第一免疫原(如天然Bet v 1)的小鼠获得,所述免疫原可以是商购的(例如购自弗吉尼亚州(VA)的Indoor Biotechnologies, #NA-BV1-1),或可以通过重组方式制备。Bet v 1的全长氨基酸序列如SEQ ID NO:306所示。全长Bet v 1氨基酸序列还可见于来自Uniprot:P15494的SEQ ID NO:314。

[0215] 所述免疫原可以是天然、原生或以重组方式制备的Bet v 1的生物活性和/或免疫原性片段,或是编码其活性片段的DNA。所述片段可以来源于Bet v 1的N末端或C末端,或来源于Bet v 1氨基酸序列内的任何位点。

[0216] 抗体的抗原结合片段

[0217] 除非另外具体指示,否则如本文所使用,术语“抗体”应理解为涵盖了包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链的抗体分子(即“完全抗体分子”)以及其抗原结合片段。如本文所使用,术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括特异性结合抗原以形成复合物的任何天然存在的、以酶促可获得的、合成或经过基因工程改造的多肽或糖蛋白。如本文所使用,术语抗体的“抗原结合部分”或“抗体片段”是指抗体的保留了特异性结合至Bet v 1的能力的一个或多个片段。抗体片段可以包括Fab片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、Fv片段、dAb片段、含有CDR的片段或分离的CDR。抗体的抗原结合片段可使用任何适合的标准技术(例如蛋白质水解消化或涉及操纵和表达编码抗体可变域和(任选地)恒定域的DNA的重组基因工程技术)从例如完整抗体分子中得到。此类DNA是已知的和/或易于从例如商业来源、DNA文库(包括例如噬菌体-抗体文库)得到,或可合成得到。可以通过化学方式或通过使用分子生物学技术对DNA进行测序和操作,从而例如将一个或多个可变和/或恒定结构域排列成适合的构型,或引入密码子,产生半胱氨酸残基,修饰、添加或缺失氨基酸等。

[0218] 抗原结合片段的非限制性实例包括:(i) Fab片段;(ii) F(ab')<sub>2</sub>片段;(iii) Fd片段;(iv) Fv片段;(v) 单链Fv(scFv)分子;(vi) dAb片段;及(vii) 由模拟抗体高变区的氨基酸

残基组成的最小识别单元(例如分离的互补决定区(CDR),如CDR3肽)或受约束的FR3-CDR3-FR4肽。其他工程改造的分子,如结构域特异性抗体、单域抗体、域缺失的抗体、嵌合抗体、CDR移植抗体、双功能抗体、三抗体、四抗体、微抗体、纳米抗体(例如单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小模块免疫药物(small modular immunopharmaceuticals, SMIP)及鲨鱼可变IgNAR结构域也涵盖在如本文所使用的表述“抗原结合片段”内。

[0219] 抗体的抗原结合片段通常包含至少一个可变结构域。所述可变结构域可具有任何尺寸的或氨基酸组成,并且一般包含至少一个邻近一个或多个框架序列或与一个或多个框架序列同框的CDR。在具有 $V_H$ 结构域与 $V_L$ 结构域缔合的抗原结合片段中, $V_H$ 结构域和 $V_L$ 结构域可以以任何适合的排列彼此相对定位。例如,可变区可以是二聚体并且含有 $V_H$ - $V_H$ 、 $V_H$ - $V_L$ 或 $V_L$ - $V_L$ 二聚体。或者,抗体的抗原结合片段可含有单体 $V_H$ 或 $V_L$ 结构域。

[0220] 在某些实施方式中,抗体的抗原结合片段可含有与至少一个恒定结构域共价连接的至少一个可变结构域。可以在本发明抗体的抗原结合片段内存在的可变结构域和恒定结构域的非限制性、示例性构型包括:(i)  $V_H$ - $C_H1$ ; (ii)  $V_H$ - $C_H2$ ; (iii)  $V_H$ - $C_H3$ ; (iv)  $V_H$ - $C_H1$ - $C_H2$ ; (v)  $V_H$ - $C_H1$ - $C_H2$ - $C_H3$ ; (vi)  $V_H$ - $C_H2$ - $C_H3$ ; (vii)  $V_H$ - $C_L$ ; (viii)  $V_L$ - $C_H1$ ; (ix)  $V_L$ - $C_H2$ ; (x)  $V_L$ - $C_H3$ ; (xi)  $V_L$ - $C_H1$ - $C_H2$ ; (xii)  $V_L$ - $C_H1$ - $C_H2$ - $C_H3$ ; (xiii)  $V_L$ - $C_H2$ - $C_H3$ ; 以及(xiv)  $V_L$ - $C_L$ 。在可变结构域和恒定结构域的任何构型(包括上文所列的示例性构型)中,可变结构域和恒定结构域可以彼此直接连接,或可通过完整的或部分的铰链区或连接子区连接。铰链区可以由至少2个(例如5、10、15、20、40、60个或更多个)氨基酸组成,其在单一多肽分子中的邻近可变结构域和/或恒定结构域之间产生柔性或半柔性连接。此外,本发明抗体的抗原结合片段可以包含彼此非共价缔合和/或与一个或多个单体 $V_H$ 或 $V_L$ 域非共价缔合(例如通过二硫键缔合)的以上所列的任何可变结构域和恒定结构域构型的同二聚体或异二聚体(或其他多聚体)。

[0221] 人抗体的制备

[0222] 在转基因小鼠中产生人抗体的方法是本领域中已知的。任何此类已知方法都可用于本发明中以制备特异性结合至Bet v 1的人抗体。

[0223] 使用VELOCIMMUNE™技术(参见例如US 6,596,541, Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE®)或用于产生单克隆抗体的任何其他已知方法,先分离出具有人可变区和小鼠恒定区的高亲和力抗Bet v 1嵌合抗体。VELOCIMMUNE®技术涉及转基因小鼠的产生,所述转基因小鼠具有含可操作地连接至内源性小鼠恒定区基因座的人重链和轻链可变区的基因组,使得所述小鼠应答抗原刺激而产生包含人可变区和小鼠恒定区的抗体。分离出编码抗体重链和轻链可变区的DNA,并将其可操作地连接至编码人重链和轻链恒定区的DNA。接着,在能够表达全人抗体的细胞中表达所述DNA。

[0224] 一般来说,用目标抗原激发VELOCIMMUNE®小鼠,并从表达抗体的小鼠中回收淋巴细胞(如B细胞)。淋巴细胞可与骨髓瘤细胞系融合以制备无限增殖的杂交瘤细胞系,并且对这些杂交瘤细胞系进行筛选和选择,以鉴别出产生对目标抗原具有特异性的抗体的杂交瘤细胞系。可将编码重链和轻链可变区的DNA分离,并连接至所期望的同种型的重链和轻链恒定区。可在细胞,如CHO细胞中产生此类抗体蛋白。或者,可直接从抗原特异性淋巴细胞中分离出编码抗原特异性嵌合抗体或轻链和重链可变结构域的DNA。

[0225] 首先,分离出具有人可变区和小鼠恒定区的高亲和力嵌合抗体。如以下实验部分中所述,界定抗体的特征并针对所期望的特征(包括亲和力、选择性、表位等)来进行选择。

小鼠恒定区被期望的人恒定区置换以产生本发明的全人抗体,例如野生型或修饰的IgG1或IgG4。虽然选择的恒定区可根据具体用途而变化,但是高亲和力抗原结合和目标特异性特征仍存在于可变区中。

[0226] 一般来说,本发明的抗体具有极高亲和力,当通过结合至固定于固相上或处于溶液相中的抗原来测量时,通常具有约 $10^{-12}$ 至约 $10^{-9}$ M的 $K_D$ 。用所期望的人恒定区置换小鼠恒定区以产生本发明的全人抗体。虽然选择的恒定区可根据具体用途而变化,但是高亲和力抗原结合和目标特异性特征仍存在于可变区中。

[0227] 生物等效物

[0228] 本发明的抗Bet v 1抗体和抗体片段涵盖了具有这样的氨基酸序列的蛋白质:所述氨基酸序列不同于所述抗体的氨基酸序列,但仍保留了结合Bet v 1的能力。当与亲本序列相比较时,这些变体抗体和抗体片段包含一个或多个氨基酸添加、缺失或替换,但显示出与所述抗体的生物活性基本上等效的生物活性。同样,本发明的编码抗体的DNA序列涵盖了这样的序列:当与所公开的序列相比较时包含一个或多个核苷酸添加、缺失或替换,但其编码的抗体或抗体片段与本发明的抗体或抗体片段基本上是生物等效。

[0229] 如果例如两种抗原结合蛋白质或抗体是药物等效物或药物替代物,如当在类似实验条件下以单次剂量或多次剂量施用相同摩尔剂量时,它们的吸收速率和程度未显示显著差异,则将其视为生物等效的。如果一些抗体的吸收程度相同但吸收速率不同,则认为这些抗体是等效物或药物替代物,且由于这种吸收速率的差异是有意产生的并以标记反映,对于在例如长期使用中达到有效的身体药物浓度无影响并且被视为对于所研究的特定药品是医学不显著的,则仍可以将其视为生物等效的。

[0230] 在一个实施方式中,如果两种抗原结合蛋白质的安全性、纯度和效力无临床上有意义的差异,则这两种抗原结合蛋白质是生物等效的。

[0231] 在一个实施方式中,如果患者可以在参照产品与生物产品之间转换一次或多次且与无此类转换的持续疗法相比,没有预计的不良作用风险增加(包括临床上显著的免疫原性变化)或有效性降低,则两种抗原结合蛋白质是生物等效的。

[0232] 在一个实施方式中,如果两种抗原结合蛋白质在使用条件方面均通过共同的作用机理来起作用(在已知的这样的机理范围内),则这两种抗原结合蛋白质是生物等效的。

[0233] 生物等效性可以通过体内和体外方法证明。生物等效性测量包括例如(a)在人体或其他哺乳动物中进行的体内测试,其中随时间测量在血液、血浆、血清或其他生物流体中所述抗体或其代谢物的浓度;(b)与人体内生物利用率数据相关,并可合理地预测这些数据的体外测试;(c)在人体或其他哺乳动物中进行的体内测试,其中随时间测量抗体(或其靶点)的适当急性药理学作用;以及(d)确定抗体的安全性、功效或生物利用率或生物等效性的具有良好控制的临床试验。

[0234] 可以通过例如对残基或序列进行各种替换,或缺失生物活性不需要的末端或内部的残基或序列来构建本发明抗体的生物等效变体。例如,可以缺失或用其他氨基酸替换对于生物活性不重要的半胱氨酸残基,以防止在复性时形成不必要或不正确的分子内二硫桥。在其他情况下,生物等效抗体可以包括含氨基酸变化的抗体变体,这些变化改变抗体的糖基化特征,例如消除或去除糖基化的突变。

[0235] 抗体的生物特征

[0236] 一般来说,本发明的抗体可以通过结合至Bet v 1、Bet v 1的片段、或Bet v 1和一种或多种壳斗目植物过敏原或壳斗目植物相关过敏原起作用。

[0237] 在某些实施方式中,本发明的抗体可以结合至位于Bet v 1蛋白质内的表位或片段,例如包含SEQ ID NO:306的约23位至约43位范围内的氨基酸残基的表位或片段;包含SEQ ID NO:306的约44位至约56位范围内的氨基酸残基的表位或片段;包含SEQ ID NO:306的约2位至约19位范围内的氨基酸残基的表位或片段;包含SEQ ID NO:306的约57位至约70位范围内的氨基酸残基的表位或片段;或包含SEQ ID NO:306的约81位至约89位或约81位至约96位范围内的氨基酸残基的表位或片段。在某些实施方式中,本发明的抗体可以结合到至少一个选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:307、308、309、310、311及315,其中表位序列可以在C末端或N末端延伸1至5个氨基酸、或约5至约10个氨基酸。

[0238] 在某些实施方式中,本发明的抗体可以通过阻断或抑制对Bet v 1过敏原敏感的患者中IgE与肥大细胞或嗜碱粒细胞的结合来起作用。在某些实施方式中,当与同型对照抗体相比较时,本文提供的抗体抑制或阻断嗜碱性粒细胞活化例如至少约70%。在某些实施方式中,当与同型对照抗体相比较时,所述抗体抑制或阻止肥大细胞脱粒例如至少约70%、或至少约75%、或至少约80%、或至少约85%、或至少约90%、或至少约95%。

[0239] 在一个实施方式中,本发明提供一种结合至Bet v 1的全人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其片段展现以下特征中的一种或多种:(i) 包含HCVR,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、282及290、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(ii) 包含LCVR,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266及298、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(iii) 包含具有选自下组的氨基酸序列的HCDR3结构域:SEQ ID NO:8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、288及296、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列,以及具有选自以组的氨基酸序列的LCDR3结构域:SEQ ID NO:16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272及304、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(iv) 包含具有选自下组的氨基酸序列的HCDR1结构域:SEQ ID NO:4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、284及292、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;具有选自下组的氨基酸序列的HCDR2结构域:SEQ ID NO:6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、286及294、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;具有选自下组的氨基酸序列的LCDR1结构域:SEQ ID NO:12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268及300、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;以及具有选自下组的氨基酸序列的LCDR2结构域:SEQ ID NO:14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270及302、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(v) 以等于或小于 $10^{-8}$ 或在约 $10^{-8}$ 至约 $10^{-11}$ 范围内的 $K_D$ 结合至Bet v 1;(vi) 在至少一种全身性过敏反应或炎症动物模型中表现有功效;或

(vii)与参照抗体竞争结合至Bet v 1。

[0240] 在一个实施方式中,本发明提供了两种或更多种本发明的全人抗体或其片段的组合用于制备组合物的用途,其中所述抗体结合至Bet v 1,并且其中所述组合物内所包含的各抗体或其片段展现以下特征中的一种或多种:(i)包含HCVR,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、282及290、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(ii)包含LCVR,其具有选自以下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266及298、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(iii)包含具有选自下组的氨基酸序列的HCDR3结构域:SEQ ID NO:8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、288及296、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;及具有选自下组的氨基酸序列的LCDR3结构域:SEQ ID NO:16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272及304、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(iv)包含具有选自下组的氨基酸序列的HCDR1结构域:SEQ ID NO:4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、284及292、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;具有选自下组的氨基酸序列的HCDR2结构域:SEQ ID NO:6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、286及294、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;具有选自下组的氨基酸序列的LCDR1结构域:SEQ ID NO:12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268及300、或与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;以及具有选自下组的氨基酸序列的LCDR2结构域:SEQ ID NO:14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270及302、或其其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(v)以等于或小于 $10^{-8}$ 或在约 $10^{-8}$ 至约 $10^{-11}$ 范围内的 $K_D$ 结合至Bet v 1;(vi)在至少一种全身性过敏反应或炎症动物模型中表现有功效;或(vii)与参照抗体竞争结合至Bet v 1。

[0241] 如通过体外或体内测定所确定,本发明的某些Bet v 1抗体在单独或组合使用时能够结合至Bet v 1并中和其至少一种生物作用。如本文所描述,本发明的抗体结合至Bet v 1并中和其活性的能力可以使用本领域的技术人员已知的任何标准方法进行测量,包括结合测定或活性中和(例如防止全身性过敏反应)测定。

[0242] 用于测量结合活性的非限制性、示例性的体外测定示于本文实施例3中。在实施例3中,通过表面等离子体共振确定人抗Bet v 1抗体的结合亲和力和动力学常数。

[0243] Bet v 1蛋白质或肽可以被修饰成包括某些残基的添加或替换以进行标记或达到与载体分子如KLH缀合的目的。例如,可以在肽的N末端或C末端处添加半胱氨酸,或可添加连接子序列以制备供与例如KLH缀合的肽来进行免疫接种。对Bet v 1具有特异性的抗体可不含另外的标记或部分,或这些抗体可含有N末端或C末端标记或部分。在一个实施方式中,所述标记或部分生物素。在结合测定中,标记(如果存在的话)的位置可以确定肽相对于该肽所结合的表面的取向。例如,如果用抗生物素蛋白涂布表面,则含N末端生物素的肽的

取向将使得该肽的C末端部分远离所述表面。

[0244] 表位定位和相关技术

[0245] 如本文所使用,术语“表位”是指与抗体分子可变区中的特定抗原结合位点(互补位)相互作用的抗原决定簇。单个抗原可以具有一个以上的表位。因此,不同抗体可以结合至抗原上的不同区域并且可以具有不同的生物作用。表位可以是构象表位或线性表位。构象表位是通过空间并置来自线性多肽链不同区段的氨基酸产生的。线性表位是由多肽链中的相邻氨基酸残基产生的表位。在某些情况中,表位可以包括抗原上的糖、磷酸基或磺酰基部分。

[0246] 本文提供了抗Bet v 1抗体,所述抗体与Bet v 1分子内的,包括例如SEQ ID NO: 306所示的Bet v 1的任何片段内,或以重组方式制备的Bet v 1蛋白质的类似区域内发现的一个或多个氨基酸相互作用。抗体所结合的表位可以由位于Bet v 1分子内的3个或更多个(例如3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)氨基酸构成的单一连续序列组成。示例性的连续序列包括在SEQ ID NO:306的约23位至约44位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约23位至约43位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约23位至约38位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约23位至约41位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约26位至约43位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约29位至约43位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约44位至约70位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约44位至约56位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约45位至约56位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约2位至约19位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约5位至约10位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约5位至约19位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约8位至约19位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约11位至约19位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约57位至约70位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约57位至约66位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约81位至约96位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约84位至约96位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约85位至约96位范围内的氨基酸残基;以及在SEQ ID NO:306的约81位至约89位范围内的氨基酸残基。其他示例性的连续序列包括至少一个选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:307、308、309、310、311及315,其中此类序列可以在C末端或N末端延伸约1至约5个氨基酸、或约5至约10个氨基酸。或者,所述表位可以由位于Bet v 1分子内的多个不连续氨基酸(或氨基酸序列)组成(例如构象表位)。

[0247] 本领域的普通技术人员已知的各种技术都可以用于确定抗体是否“与多肽或蛋白质内的一个或多个氨基酸相互作用”。示例性的技术包括例如常规交叉阻断测定,如Harlow和Lane的《抗体(Antibodies)》(Cold Spring Harbor Press,纽约州冷泉港(Cold Spring Harb.,NY))中所描述的。其他方法包括丙氨酸扫描突变分析、肽印迹分析(Reineke (2004)《分子生物学方法(Methods Mol Biol)》248:443-63)、肽裂解分析、结晶研究及NMR分析。此外,还可以采用如抗原的表位切除、表位提取和化学修饰等方法(Tomer (2000),《蛋白质科学(Protein Science)》9:487-496)。可以用于鉴别多肽内与抗体相互作用的氨基酸的另一方法是由质谱法检测的氢/氘交换。一般来说,氢/氘交换法包括以氘标记所关注的蛋白质,随后使抗体结合至氘标记的蛋白质。接下来,将蛋白质/抗体复合物转移至水中,并且抗体复合物所保护的氨基酸内的可交换质子经历氘-氢逆交换的速率比不作为界面一部分的氨



氨基酸内的可交换质子要慢。因此,形成蛋白质/抗体界面的一部分的氨基酸可以保留氘,并因此相较于不包括在界面中的氨基酸,展现出相对较高的质量。在抗体解离之后,对靶蛋白进行蛋白酶裂解和质谱分析,由此揭露出氘标记的残基,这些残基对应于与抗体相互作用的特定氨基酸。参见例如Ehring (1999)《分析生物化学 (Analytical Biochemistry)》267 (2):252-259;Engen和Smith (2001)《分析化学 (Anal.Chem.)》73:256A-265A。抗原/抗体复合物的X射线晶体学也可以用于表位定位目的。

[0248] 修饰辅助分型 (Modification-Assisted Profiling, MAP),又称为基于抗原结构的抗体图谱分析 (Antigen Structure-based Antibody Profiling, ASAP),是根据各抗体与以化学或以酶促修饰的抗原表面的结合特征的相似性,对针对同一抗原的大量单克隆抗体 (单克隆抗体) 分类的一种方法 (US 2004/0101920)。每一类别可以反映与另一类别所表示的表位明显不同或部分地重叠的特有表位。这一技术允许快速过滤在遗传上一致的抗体,由此使得表征可以集中于遗传上不同的抗体。当应用于杂交瘤筛选时,MAP可有助于鉴别产生具有所期望特征的单克隆抗体的稀少杂交瘤克隆。可用MAP将本发明的抗体分选为结合不同表位的抗体组。

[0249] 在某些实施方式中,抗Bet v 1抗体或其抗原结合片段结合Bet v 1内的表位或其片段,所述Bet v 1呈天然或原生形式,例如SEQ ID NO:306或SEQ ID NO:314所示 (来自Uniprot:P15494的Bet v 1氨基酸序列),或以重组方式制备。在某些实施方式中,如表1中所示,本发明的抗体与至少一个选自下组的氨基酸序列相互作用:在SEQ ID NO:306的约23位至约44位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约23位至约43位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约23位至约38位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约23位至约41位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约26位至约43位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约29位至约43位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约44位至约70位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约44位至约56位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约45位至约56位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约2位至约19位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约5位至约10位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约5位至约19位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约8位至约19位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约11位至约19位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约57位至约70位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约57位至约66位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约81位至约96位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约84位至约96位范围内的氨基酸残基;在SEQ ID NO:306的约85位至约96位范围内的氨基酸残基;以及在SEQ ID NO:306的约81位至约89位范围内的氨基酸残基。这些区域进一步以例如SEQ ID NO:307、308、309、310、311及315所示。

[0250] 本发明还包括与本文在表1中所描述的特定示例性抗体中的任一种、或具有表1中所述示例性抗体中任一种的CDR序列的抗体结合至同一表位或所述表位的一部分的抗Bet v 1抗体。同样,本发明还包括与本文在表1中所描述的特定示例性抗体中的任一种、或具有表1中所述示例性抗体中任一种的CDR序列的抗体竞争结合至Bet v 1或Bet v 1片段的抗Bet v 1抗体。

[0251] 通过使用本领域中已知的常规方法可以容易地确定抗体是否与参照抗Bet v 1抗体结合至同一表位,或是否与参照抗Bet v 1抗体竞争结合。例如,为了确定测试抗体是否

与本发明的参照抗Bet v 1抗体结合至同一表位,使参照抗体在饱和条件下结合至Bet v 1蛋白质或肽。接下来,评估测试抗体结合至Bet v 1分子的能力。如果在用参照抗Bet v 1抗体饱和结合之后,测试抗体仍能够结合至Bet v 1,则可以得出测试抗体与参照抗Bet v 1抗体结合至不同的表位的结论。另一方面,如果在用参照抗Bet v 1抗体饱和结合之后,测试抗体不能结合至Bet v 1分子,则测试抗体可以结合至与本发明的参照抗Bet v 1抗体所结合的表位相同的表位。

[0252] 为了确定抗体是否与参照抗Bet v 1抗体竞争结合,以两个方向执行上文所描述的结合方法:在第一种方向中,使参照抗体在饱和条件下结合至Bet v 1分子,随后评估测试抗体与Bet v 1分子的结合。在第二种方向中,使测试抗体在饱和条件下结合至Bet v 1分子,随后评估参照抗体与Bet v 1分子的结合。如果在两种方向中,仅第一种(饱和)抗体能够结合至Bet v 1分子,则可得出测试抗体与参照抗体竞争结合至Bet v 1的结论。本领域的普通技术人员应了解,与参照抗体竞争结合的抗体可能未必与参照抗体结合至同一表位,但可以通过结合重叠或相邻的表位,空间阻断参照抗体的结合。

[0253] 如果两种抗体各自竞争性抑制(阻断)另一抗体抗原的结合,则这两种抗体结合至相同或重叠的表位。也就是说,如在竞争性结合分析中所测量,1、5、10、20或100倍过量的抗体使另一抗体的结合抑制至少50%,但优选地75%、90%或甚至99%(参见例如Junghans等人,《癌症研究(Cancer Res.)》1990 50:1495-1502)。或者,如果抗原中减少或消除一种抗体结合的所有氨基酸突变,基本上也减少或消除另一种抗体的结合,则这两种抗体具有相同表位。如果减少或消除一种抗体结合的氨基酸突变,其一些也减少或消除另一种抗体的结合,则这两种抗体具有重叠表位。

[0254] 接着,可以进行另外的常规实验(例如肽突变和结合分析)以确定所观察到的测试抗体结合的缺乏是否实际上是由与参照抗体结合至同一表位引起,或空间阻断(或另一现象)是否引起所观察到的结合的缺乏。此类实验可以使用ELISA、RIA、表面等离子体共振、流式细胞术或本领域中可利用的任何其他定量或定性抗体结合分析进行。

[0255] 免疫缀合物

[0256] 本发明涵盖了人抗Bet v 1单克隆抗体与治疗性部分的缀合物(“免疫缀合物”),所述治疗性部分例如是这样的药剂:能够减轻针对Bet v 1过敏原或在存在壳斗目树木的环境中的过敏反应的严重程度,或改善与暴露于桦树花粉或Bet v 1过敏原相关的至少一种症状,包括鼻炎、结膜炎或呼吸困难或其严重程度。此类药剂可以是皮质类固醇、另一种不同的抗Bet v 1抗体或疫苗。可与Bet v 1抗体缀合的治疗性部分的类型将考虑待治疗的病况以及期望实现的治疗作用。或者,如果所期望的治疗作用是治疗与暴露于Bet v 1过敏原相关的后遗症或症状、或由此类暴露引起的任何和其他病况,如但不限于鼻炎或结膜炎,则缀合适于治疗所述病况的后遗症或症状、或缓解本发明抗体的任何副作用的药剂可能有利的。适于形成免疫缀合物的药剂的实例是本领域中已知的,参见例如W005/103081。

[0257] 治疗性施用和制剂

[0258] 本发明提供了包含本发明的抗Bet v 1抗体或其抗原结合片段的治疗性组合物。本发明的治疗性组合物的施用将通过适合途径施用,包括但不限于静脉内、皮下、肌肉内、鼻内施用,其中利用适合的载体、赋形剂以及并入制剂中以提供改善的转移、递送、耐受性等的其他试剂。众多的适当制剂可见于所有医药化学家已知的处方集中:《雷氏药学大全

(Remington's Pharmaceutical Sciences)》,宾夕法尼亚州伊斯顿 (Easton,PA) 的Mack Publishing Company。这些配制物包括例如散剂、糊剂、软膏、凝胶剂、蜡、油、脂质、含囊泡(阳离子或阴离子脂质)的脂质(如LIPOFECTIN™)、DNA缀合物、无水吸收糊剂、水包油和油包水乳液、卡波蜡乳剂(carbowax)(各种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶及含有卡波蜡的半固体混合物。还参见Powell等人,“用于肠胃外配制物的赋形剂的概要(Compendium of excipients for parenteral formulations)”,PDA(1998),《药物科学与技术杂志(J Pharm Sci Technol)》52:238-311。

[0259] 抗体的剂量可以依据患者的年龄和体格、目标疾病、状况、施用途等而变化。当使用本发明的抗体治疗对Bet v 1敏感的个体的与暴露于壳斗目树木的花粉、或桦树花粉、或Bet v 1相关的鼻炎或结膜炎,或预防对壳斗目植物的全身性过敏反应,或减轻过敏反应的严重程度时,有利地,通常以每公斤体重约0.01至约30mg、更优选地每公斤体重约0.02mg至约7mg、约0.03mg至约5mg、或约0.05mg至约3mg的单次剂量静脉内施用本发明的抗体。取决于病况的严重程度,可以调整治疗的频率和持续时间。在某些实施方式中,本发明的抗体或其抗原结合片段可以按至少约0.1mg至约800mg、约1至约500mg、约5至约300mg、约10至约200mg、至约100mg或至约50mg的初始剂量施用。在某些实施方式中,初始剂量之后可以施用所述抗体或其抗原结合片段的第二次或多次后续剂量,其量可以大致等于或小于初始剂量,其中所述后续剂量间隔至少1天至3天;至少一周;至少2周;至少3周;至少4周;至少5周;至少6周;至少7周;至少8周;至少9周;至少10周;至少12周;或至少14周。

[0260] 各种递送系统是已知的并且都可以用于施用本发明的药物组合物,例如以脂质体包封、微米粒子、微胶囊、能够表达突变病毒的重组细胞、受体介导的内吞作用(参见例如Wu等人,1987,《生物化学杂志(J.Biol.Chem.)》262:4429-4432)。引入方法包括但不限于皮内、透皮、肌肉内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外及口服途径。所述组合物可以通过任何便利的途径,例如通过输注或快速注射、通过经上皮或粘膜皮肤内层(例如口腔粘膜、直肠和肠道粘膜等)吸收施用,并且可以与其他生物活性剂一起施用。施用可以是全身或局部的。

[0261] 所述药物组合物也可以通过囊泡,特别是脂质体递送(参见例如Langer,1990,《科学》249:1527-1533)。

[0262] 在某些情形下,药物组合物可以通过控制释放系统递送。在一个实施方式中,可使用泵。在另一个实施方式中,可以使用聚合材料。在又一个实施方式中,可以将控制释放系统放入组合物的目标附近,由此仅需要一部分全身剂量。

[0263] 可注射制剂可以包括用于静脉内、皮下、皮内和肌肉内注射、滴液输注等的剂型。这些可注射制剂可以通过众所周知的方法制备。例如,可注射制剂可例如通过在常用于注射的无菌水性介质或油性介质中溶解、悬浮或乳化上述抗体或其盐来制备。作为注射用水性介质,存在例如生理盐水、含有葡萄糖和其他助剂的等渗溶液等,这些可以与适当增溶剂如醇(例如乙醇)、多元醇(例如丙二醇、聚乙二醇)、非离子型表面活性剂[例如聚山梨醇酯80、HCO-50(聚氧乙烯(50mol)与氢化蓖麻油的加合物)]等组合使用。作为油性介质,采用了例如芝麻油、大豆油等,它们可以与增溶剂如苯甲酸苯甲酯、苯甲醇等组合使用。由此制备的注射剂优选地填充于适当安瓿中。

[0264] 本发明的药物组合物可用标准针和注射器皮下或静脉内递送。此外,对于皮下递

送,笔式递送装置易于递送本发明的药物组合物。这种笔式递送装置可重复使用或是一次性的。可重复使用的笔式递送装置一般利用含药物组合物的可更换药筒。一旦药筒内的所有药物组合物都被施用并且药筒变空时,可以容易地丢弃空药筒并更换为含药物组合物的新药筒。所述笔式递送装置随后可再使用。在一次性笔式传递装置中,没有可更换的药筒。实际上,一次性笔式递送装置在装置内的储集器中预填充有药物组合物。一旦排空储集器中的药物组合物,就丢弃整个装置。

[0265] 多种可重复使用的笔式和自动注射器递送装置可用于皮下递送本发明的药物组合物。实例包括但不限于AUTOPEN<sup>TM</sup>(英国伍德斯托克(Woodstock,UK)的Owen Mumford, Inc.)、DISETRONIC<sup>TM</sup>笔(瑞士布格多夫(Burghdorf,Switzerland)的Disetronic Medical Systems)、HUMALOG MIX 75/25<sup>TM</sup>笔、HUMALOG<sup>TM</sup>笔、HUMALIN 70/30<sup>TM</sup>笔(印第安纳州印第安纳波利斯(Indianapolis,IN)的Eli Lilly and Co.)、NOVOPEN<sup>TM</sup>I、II和III(丹麦哥本哈根(Copenhagen,Denmark)的Novo Nordisk)、NOVOPEN JUNIOR<sup>TM</sup>(丹麦哥本哈根的Novo Nordisk)、BD<sup>TM</sup>笔(新泽西州富兰克林湖(Franklin Lakes,NJ)的Becton Dickinson)、OPTIPEN<sup>TM</sup>、OPTIPEN PRO<sup>TM</sup>、OPTIPEN STARLET<sup>TM</sup>及OPTICLIK<sup>TM</sup>(德国法兰克福(Frankfurt, Germany)的sanofi-aventis)等。可用于皮下递送本发明的药物组合物的一次性笔式递送装置的实例包括但不限于SOLOSTAR<sup>TM</sup>笔(sanofi-aventis)、FLEXPEN<sup>TM</sup>(Novo Nordisk)和KWIKPEN<sup>TM</sup>(Eli Lilly)、SURECLICK<sup>TM</sup>自动注射器(加利福尼亚州千橡树市(Thousand Oaks, CA)的Amgen)、PENLET<sup>TM</sup>(德国斯图加特(Stuttgart,Germany)的Haselmeier)、EPIPEN(Dey, L.P.)以及HUMIRA<sup>TM</sup>笔(伊利诺伊州阿博特帕克(Abbott Park IL)的Abbott Labs)等。

[0266] 有利地,将供上述口服或肠胃外使用的药物组合物制备成呈适合于符合活性成分剂量的单位剂量的剂型。这类呈单位剂量的剂型包括例如片剂、丸剂、胶囊、注射液(安瓿)、栓剂等。所包含的前述抗体的量一般是单位剂量中每种剂型约5至约500mg;尤其是对于注射液形式,优选所包含的前述抗体是约5至约100mg,并且对于其他剂型优选是约10至约250mg。

[0267] 抗体的治疗用途

[0268] 由于可与Bet v 1相互作用,本发明的抗体可用于治疗在个体暴露于壳斗目植物过敏原、桦树花粉或含有Bet v 1蛋白质的环境之后的原发反应,或与过敏反应相关的至少一种症状,如眼睛发痒、结膜炎、鼻炎、喘鸣、呼吸困难;或用于预防针对Bet v 1过敏原的继发反应,包括更严重的全身性过敏反应;或用于再暴露于壳斗目植物过敏原之后、降低症状的严重程度、减少持续时间和/或降低频率。因此,设想本发明的抗体可以用于预防或治疗目的。

[0269] 在本发明的又一个实施方式中,本发明抗体被用于制备治疗遭受对桦树花粉或其提取物和/或Bet v 1蛋白质敏感的患者药物组合物。在本发明的又一个实施方式中,本发明的抗体被用于制备降低初次暴露于Bet v 1的严重程度、或降低针对Bet v 1的过敏性反应的严重程度、持续时间和/或减少其次数的药物组合物。在本发明的另一个实施方式中,使用本发明的抗体作为可用于治疗壳斗目植物过敏原的任何其他药剂的辅助疗法,所述药剂包括皮质类固醇、疫苗、过敏原特异性免疫疗法(SIT)或本领域的技术人员已知的任何其他姑息性疗法。

[0270] 组合疗法

[0271] 组合疗法可以包括本发明的抗Bet v 1抗体以及可以有利地与本发明的抗体或与本发明抗体的生物活性片段组合的任何其他治疗剂。

[0272] 例如,可以使用第二治疗剂来帮助减轻在暴露于壳斗目植物过敏原、桦树花粉或其提取物、或Bet v 1,或暴露于存在壳斗目树木和开花的环境之后的过敏性症状,如皮质类固醇。所述抗体还可与其他疗法,如对Bet v 1过敏原具有特异性的疫苗结合使用。所述其他治疗活性组分可以在施用本发明的抗Bet v 1抗体之前、同时或之后施用。出于本公开的目的,此类施用方案被视为抗Bet v 1抗体与第二治疗活性组分“组合”施用。

[0273] 过敏原特异性免疫疗法(SIT)

[0274] 如本文所使用,表述“过敏原特异性免疫疗法”、“特异性免疫疗法”、“SIT”、“SIT方案”等是指随时间向患者重复施用过敏原作为治疗或预防过敏和过敏性反应、或减少或消除过敏性反应的手段。在典型SIT方案中,先向过敏性患者施用少量过敏原,随后施用增加量的过敏原。在某些情况下,SIT方案包含至少两个连续阶段:(1)递增剂量阶段,和(2)维持阶段。在递增剂量阶段中,施用递增剂量的过敏原,直至获得有效且安全的剂量。随后,在整个维持阶段过程中向患者施用在递增剂量阶段结束时确定的剂量。递增剂量阶段的持续时间可以是若干周或若干个月。然而,在某些实施方式中,递增剂量阶段具有基本上较短的持续时间(例如少于一周、少于6天、少于5天、少于4天、少于3天或少于2天)。包含少于5天的递增剂量阶段的SIT方案有时称为“紧急”免疫疗法或“紧急SIT”。SIT方案的维持阶段可以持续若干周、若干个月、若干年或是无限期的。

[0275] 施用方案

[0276] 根据本发明的某些实施方式,可在指定时程内向患者施用多次剂量的一种或多种抗Bet v 1抗体(抗体组合)。根据本发明这一方面,该方法包含向患者依序施用多次剂量的抗体、抗体组合。如本文所使用,“依序施用”意思指在不同时间点(例如在间隔预定时间间隔(例如数小时、数天、数周或数月)的不同日子)向患者施用每剂抗体或抗体组合。本发明包括的方法包含向患者依序施用单初始剂量的抗体或抗体组合,随后施用一次或多次第二剂量的抗体,任选地随后施用一次或多次第三剂量的抗体。

[0277] 术语“初始剂量”、“第二剂量”和“第三剂量”针对施用本文提供的抗体或抗体组合的时间顺序。因此,“初始剂量”是在治疗方案开始时施用的剂量(又称“基线剂量”);“第二剂量”是在初始剂量之后施用的剂量;并且“第三剂量”是在第二剂量之后施用的剂量。初始剂量、第二剂量和第三剂量都可以含有相同量的抗体或抗体组合,但施用频率一般可能彼此不同。然而,在某些实施方式中,初始剂量、第二剂量和/或第三剂量中所包含的抗体或抗体组合的量在治疗过程期间彼此不同(例如适当时上调或下调)。在某些实施方式中,在治疗方案开始时施用两次或更多次(例如2、3、4或5次)剂量作为“负荷剂量”(loading doses),随后以较小频率施用后续剂量(例如“维持剂量”(maintenance doses))。

[0278] 在本发明的一个示例性实施方式中,在紧接着前次剂量之后1至26(例如1、1<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、2、2<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、3、3<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、4、4<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、5、5<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、6、6<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、7、7<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、8、8<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、9、9<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、10、10<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、11、11<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、12、12<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、13、13<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、14、14<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、15、15<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、16、16<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、17、17<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、18、18<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、19、19<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、20、20<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、21、21<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、22、22<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、23、23<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、24、24<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、25、25<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、26、26<sup>1</sup>/<sub>2</sub>或更长)周施用各第二剂量和/或第三剂量。如本文所使用,短语“紧接着前次剂量”意思指在多次施用序列中,在施用所述序列中紧接着的下次剂量之前施用给患者的抗体或抗体组合的剂量,且无中间剂量。

[0279] 根据本发明这一方面的方法,可包含向患者施用多种第二和/或第三剂量的抗体或抗体组合。例如,在某些实施方式中,仅向患者施用单次第二剂量。在其他实施方式中,向患者施用两次或更多次(例如2、3、4、5、6、7、8或更多次)第二剂量。同样,在某些实施方式中,仅向患者施用单次第三剂量。在其他实施方式中,向患者施用两次或更多次(例如2、3、4、5、6、7、8或更多次)第三剂量。

[0280] 在涉及多次第二剂量的实施方式中,每次第二剂量可以按与其他第二剂量相同的频率施用。例如,在紧接着前次剂量之后的1至2周,可向患者施用每次的第二剂量。类似地,在涉及多次第三剂量的实施方式中,每次第三剂量可以按与其他第三剂量相同的频率施用。例如,在紧接着前次剂量之后的2至4周,可向患者施用每次的第三剂量。或者,向患者施用第二和/或第三剂量的频率在治疗方案的过程内可以变化。医师在临床检查后,可以在治疗过程期间根据个别患者的需要来调整施用频率。

[0281] 抗体的诊断用途

[0282] 本发明的抗Bet v 1抗体还可用于检测和/或测量样品中的Bet v 1,例如用于诊断目的。设想可以通过使用本发明抗体中的任一种或多种测量任一Bet v 1的存在来确定被认为由Bet v 1引起的过敏反应。关于Bet v 1的示例性诊断测定可包含例如使获自患者的样品与本发明的抗Bet v 1抗体接触,其中所述抗Bet v 1抗体标记有可检测标记或报告分子或被用作捕捉配体以从患者样品中选择性分离出Bet v 1蛋白质。或者,未标记的抗Bet v 1抗体可以与本身作为可检测标记的二次抗体组合用于诊断应用中。可检测标记或报告分子可以是放射性同位素,如<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S或<sup>125</sup>I;荧光或化学发光部分,如异硫氰酸荧光素或罗丹明(rhodamine);或酶,如碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶、辣根过氧化物酶或荧光素酶。可以用于检测或测量样品中的Bet v 1的具体示例性测定包括酶联结免疫吸附分析法(ELISA)、放射免疫分析(RIA)和荧光活化细胞分选(FACS)。

[0283] 可以用于根据本发明的Bet v 1诊断分析中的样品包括在正常或病理条件下获自患者的含有可检测量的Bet v 1蛋白质或其片段的任何组织或流体样品。一般来说,将测量获自健康/非过敏性患者(例如未患有与Bet v 1的存在相关的敏感的患者)的特定样品中Bet v 1的水平,以先建立Bet v 1的基线或标准水平。随后,可将这一基线Bet v 1水平与获自疑似对桦树花粉中的Bet v 1敏感或疑似患有与此类病况相关的症状的个体的样品中所测量的Bet v 1水平相比较。

[0284] 尽管已参照多个实施方式具体地展示和描述本发明,但本领域的技术人员应理解,可在不脱离本发明的主旨和范围的情况下对本文所公开的各种实施方式的形式和细节作出修改,并且本文所公开的各种实施方式不打算用作对权利要求书范围的限制。

## 实施例

[0285] 阐述以下实施例以便向本领域的普通技术人员提供有关如何制备并使用本发明方法和组合物的完整公开内容和描述,并且这些实施例不旨在限制本发明人认为是他们的发明的内容的范围。已经努力确保关于所用数字(例如量、温度等)的准确性,但应该考虑到仍存在一些实验误差和偏差。除非另外指明,否则份数是重量份,分子量是平均分子量,温度以摄氏度为单位,并且压力是或接近大气压。

[0286] 实施例1:针对Bet v 1的人抗体的生成

[0287] 可使用包含以下任一种的免疫原产生抗Bet v 1抗体。在某些实施例中,本发明的抗体是从免疫接种了第一免疫原、随后免疫接种了第二免疫原或天然蛋白质的免疫原性活性片段的小鼠中获得,所述第一免疫原例如是全长天然Bet v 1(nBet v 1),它可以是商购的(例如购自北卡罗来纳州勒诺(Lenoir,NC)的Stallergenes Greer,#XP527D3A25),或从桦树花粉分离(参见例如Buters等人(2012),《大气环境(Atmospheric Environment)》55:496-505),或可以通过重组方式制备(关于Bet v 1的全长氨基酸序列,参见GenBank寄存编号P15494),或所述第一免疫原是所述Bet v 1蛋白质的片段。可以使用本领域的技术人员已知的Bet v 1蛋白质的各部分制备各种构建体。这些构建体可单独使用或以各种组合使用,以在体内引起抗体反应。例如,可以使用重组Bet v 1构建体,如SEQ ID NO:307、308、309、310、311及315中举例说明的构建体或其片段作为免疫原。

[0288] 在某些实施例中,本发明的抗体是从免疫接种了第一免疫原如天然Bet v 1的生物活性和/或免疫原性片段,或编码其活性片段的DNA的小鼠中获得。所述片段可以来源于Bet v1的N末端或C端部分。

[0289] 在某些实施例中,本文所描述的研究中使用的重组Bet v 1蛋白质构建体还可以包括如下文所指示的C末端标签(myc-myc-六组氨酸标签)。在其他实施例中,重组Bet v 1蛋白质构建体包括Uniprot P15494的氨基酸G2至N160。在一些实施例中,所述构建体包含S85A取代。所述蛋白质是在中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中表达。用于促进在CHO细胞中的表达的外源信号序列不包括在序列表中。

[0290] 在某些实施例中,免疫原可以是Bet v 1片段或融合蛋白,其包含以下任一种或多种:i)Bet v 1的氨基酸残基23-43(参见Uniprot P15494和SEQ ID NO:307);ii)Bet v 1的氨基酸残基44-56(参见Uniprot P15494和SEQ ID NO:308);iii)Bet v 1的氨基酸残基2-19(参见Uniprot P15494和SEQ ID NO:309);iv)Bet v 1的氨基酸残基57-70(参见Uniprot P15494和SEQ ID NO:310);v)Bet v 1的氨基酸残基81-89(参见Uniprot P15494和SEQ ID NO:311)和vi)Bet v 1的氨基酸残基81-96(参见Uniprot P15494以及和SEQ ID NO:315)。

[0291] 在某些实施例中,可以使用上述区域的片段,或从本文所描述的区域N末端或C末端或两者延伸超过所述区域约5至约20个氨基酸残基的肽来制备特异性结合至Bet v 1的抗体。在某些实施例中,可以使用上述区域或其片段的任何组合来制备Bet v 1特异性抗体。在某些实施例中,可以使用上述Bet v 1区域中的任一个或多个,或其片段来制备单特异性、双特异性或多特异性抗体。

[0292] 将如上所述用作免疫原的全长蛋白质或其片段与刺激免疫反应的佐剂一起直接施用给VELOCIMMUNE®小鼠(该小鼠包含编码人免疫球蛋白重链和κ轻链可变区的DNA)。

[0293] 如美国专利7,582,298中所描述,直接从抗原阳性B细胞(未与骨髓瘤细胞融合)中分离出抗Bet v 1抗体。使用这一方法,获得若干全人抗Bet v 1抗体(即,具有人可变域和人恒定域的抗体);以此方式产生的示例性抗体命名如下:H4H16943P、H4H16946P、H4H16950P、H4H16960P、H4H16967P、H4H16971P、H4H16979P、H4H16987P、H4H16991P、H4H16992P、H4H17001P、H4H17015P、H4H17027P、H4H17028P、H4H17031P、H4H17033P、H4H17038P2、H4H17045P2、H4H17067P2及H4H17082P2。

[0294] 根据本实施例的方法产生的示例性抗体的生物特性详细地描述于以下所示实施例中。

[0295] 实施例2:重链和轻链氨基酸序列

[0296] 表1a提供了所选的抗Bet v 1抗体的重链和轻链可变区及CDR的氨基酸序列标识符。表1b提供了所选的抗Bet v 1抗体的重链和轻链可变区及CDR的核酸序列标识符。

[0297] 表1a:氨基酸序列标识符

[0298]

抗体名称	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H4H16943P	2	4	6	8	10	12	14	16
H4H16946P	18	20	22	24	26	28	30	32
H4H16950P	34	36	38	40	42	44	46	48
H4H16960P	50	52	54	56	58	60	62	64
H4H16967P	66	68	70	72	74	76	78	80
H4H16971P	82	84	86	88	90	92	94	96
H4H17038P2	98	100	102	104	106	108	110	112
H4H16987P	114	116	118	120	122	124	126	128
H4H16991P	130	132	134	136	138	140	142	144
H4H16992P	146	148	150	152	154	156	158	160
H4H17001P	162	164	166	168	170	172	174	176
H4H17015P	178	180	182	184	186	188	190	192
H4H17027P	194	196	198	200	202	204	206	208
H4H17028P	210	212	214	216	218	220	222	224
H4H17031P	226	228	230	232	234	236	238	240
H4H17033P	242	244	246	248	250	252	254	256
H4H16979P	258	260	262	264	266	268	270	272
H4H17045P2	274	276	278	280	266	268	270	272
H4H17067P2	282	284	286	288	266	268	270	272
H4H17082P2	290	292	294	296	298	300	302	304

[0299] 表1b:核酸序列标识符

[0300]

抗体名称	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H4H16943P	1	3	5	7	9	11	13	15

[0301]

H4H16946P	17	19	21	23	25	27	29	31
H4H16950P	33	35	37	39	41	43	45	47
H4H16960P	49	51	53	55	57	59	61	63
H4H16967P	65	67	69	71	73	75	77	79
H4H16971P	81	83	85	87	89	91	93	95
H4H17038P2	97	99	101	103	105	107	109	111
H4H16987P	113	115	117	119	121	123	125	127
H4H16991P	129	131	133	135	137	139	141	143
H4H16992P	145	147	149	151	153	155	157	159
H4H17001P	161	163	165	167	169	171	173	175
H4H17015P	177	179	181	183	185	187	189	191
H4H17027P	193	195	197	199	201	203	205	207
H4H17028P	209	211	213	215	217	219	221	223
H4H17031P	225	227	229	231	233	235	237	239
H4H17033P	241	243	245	247	249	251	253	255
H4H16979P	257	259	261	263	265	267	269	271
H4H17045P2	273	275	277	279	265	267	269	271
H4H17067P2	281	283	285	287	265	267	269	271
H4H17082P2	289	291	293	295	297	299	301	303

[0302] 抗体在本文中通常根据以下命名法命名:Fc前缀(例如“H4H”、“H2M”等),随后是数



字标识符(例如“16943”、“17001”等,如表1中所示),随后是“P”或“P2”后缀。本文使用的抗体名称中的H4H和H2H前缀指示抗体的特定的Fc区同种型。因此,根据这一命名法,抗体在本文中可称为例如“H4H16943P”等,如“H4H”表示抗体具有人IgG4Fc(如由抗体名称中的第一个‘H’所示,所有可变区都是全人可变区)。本领域的普通技术人员应了解,具有特定Fc同种型的抗体可以被转化成具有不同Fc同种型的抗体(例如具有人IgG1 Fc的抗体可以被转化成具有人IgG4的抗体等),但在任何情况下,由表1中所示数字标识符指示的可变域(包括CDR)将保持不变,并且预期与抗原的结合特性也一致或基本上类似,而不论Fc域的性质如何。

[0303] 表1c提供了所选的抗Bet v 1抗体的全长重链和轻链的氨基酸序列标识符。

[0304] 表1c:重链和轻链氨基酸序列标识符

抗体名称	SEQ ID NO:	
	重链	轻链
H4H17038P2	316	317
H4H16987P	318	319
H4H16992P	320	321
H4H17082P2	322	323

[0306] 实施例3:通过表面等离子体共振测定抗体结合至Bet v 1

[0307] 在Biacore 4000仪器上使用实时表面等离子体共振生物传感器(SPR-Biacore)测定天然Bet v 1与纯化的抗Bet v 1单克隆抗体的结合的平衡解离常数( $K_D$ )。所有结合研究都是在25℃和37℃下于10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA及0.05%v/v表面活性剂Tween-20, pH 7.4(HBS-ET)操作缓冲液中执行。Biacore CM5传感器表面先通过与单克隆小鼠抗人Fc抗体(GE, #BR-1008-39)胺偶合进行衍生化,随后捕捉抗Bet v 1单克隆抗体。先在HBS-ET操作缓冲液中制备不同浓度的天然Bet v 1(Indoor, 目录号NA-BV1-1)或CHO制备的含有S85A突变且C末端具有myc-myc六组氨酸标签的重组Bet v 1(突变Bet v 1-MMH; SEQ ID NO:312)试剂(100nM-1.23nM;连续稀释3倍),并将其以30μL/分钟流动速率注射于抗人Fc捕捉的抗Bet v 1单克隆抗体表面上,保持4分钟,同时在HBS-ET操作缓冲液中监测单克隆抗体结合的Bet v 1试剂的解离,保持10分钟。通过使用Scrubber 2.0c曲线拟合软件将实时结合传感图与1:1结合模型相拟合,测定缔合( $k_a$ )和解离( $k_d$ )速率常数。根据动力学速率常数计算结合解离平衡常数( $K_D$ )和解离半衰期( $t^{1/2}$ ):

$$[0308] \quad K_D = \frac{k_d}{k_a}, \text{ 且 } t^{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_d}$$

[0309] 在25℃和37℃下天然Bet v 1和突变Bet v 1-MMH与本发明的不同抗Bet v 1单克隆抗体的结合动力学参数显示于表2至表5中。

[0310] 如表2中所示,在25℃下,本发明的所有抗Bet v 1单克隆抗体都以在0.66nM至13.5nM范围内的 $K_D$ 值结合至天然Bet v 1。如表3中所示,在37℃下,本发明的所有抗Bet v 1单克隆抗体都以在1.59nM至27.9nM范围内的 $K_D$ 值结合至天然Bet v 1。在25℃和37℃下,同种型对照抗体未展示出与天然Bet v 1的任何明显结合。

[0311] 在25℃和37℃下,20种本发明的抗Bet v 1单克隆抗体中有3种不结合至突变Bet v 1-MMH。如表4中所示,在25℃下,20种抗Bet v 1单克隆抗体中有17种结合至突变Bet v 1-MMH,其 $K_D$ 值在348pM至43.8nM范围内。如表5中所示,在37℃下,20种本发明的抗Bet v 1

单克隆抗体中有17种结合至突变的Bet v 1-MMH,其 $K_D$ 值在655pM至106nM范围内。在25℃和37℃下,同种型对照抗体未展示出与突变Bet v 1-MMH的任何明显结合。

[0312] 表2:在25℃下天然Bet v 1结合至Bet v 1单克隆抗体的结合动力学参数。

	抗体	mAb 捕捉 水平 (RU)	结合的 100 nM 天然 Bet v 1 (RU)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$t_{1/2}$ (分钟)
[0313]	H4H16943P	346 ± 1.5	71	1.64E+05	2.30E-04	1.40E-09	50
	H4H16946P	355 ± 1.8	74	2.05E+05	2.01E-04	9.82E-10	58
	H4H16950P	357 ± 2.3	58	9.61E+04	5.03E-04	5.23E-09	23
	H4H16960P	342 ± 2.2	57	4.22E+05	6.90E-04	1.64E-09	17
	H4H16967P	332 ± 0.9	27	3.76E+04	1.49E-04	3.98E-09	77
[0314]	H4H16971P	343 ± 0.5	57	2.40E+05	7.81E-04	3.26E-09	15
	H4H16979P	295 ± 0.8	41	2.30E+05	2.78E-04	1.21E-09	42
	H4H16987P	334 ± 0.5	61	4.10E+05	1.14E-03	2.77E-09	10
	H4H16991P	313 ± 0.4	57	2.95E+05	3.12E-04	1.06E-09	37
	H4H16992P	351 ± 0.7	64	3.73E+05	2.48E-04	6.65E-10	47
	H4H17001P	352 ± 0.6	71	3.29E+05	3.29E-04	1.00E-09	35
	H4H17015P	370 ± 0.7	68	1.84E+05	2.46E-04	1.34E-09	47
	H4H17027P	340 ± 0.6	48	6.24E+04	2.70E-04	4.32E-09	43
	H4H17028P	350 ± 0.7	63	2.81E+05	1.07E-03	3.79E-09	11
	H4H17031P	335 ± 0.7	54	1.24E+05	1.68E-03	1.35E-08	6.8
	H4H17033P	336 ± 0.4	61	3.94E+05	4.69E-04	1.19E-09	25
	H4H17038P2	324 ± 0.9	64	2.77E+05	3.64E-04	1.32E-09	32
	H4H17045P2	368 ± 0.9	69	1.22E+05	1.49E-04	1.22E-09	78
	H4H17067P2	344 ± 0.5	58	1.13E+05	4.02E-04	3.56E-09	29
	H4H17082P2	366 ± 0.6	72	5.45E+05	5.97E-04	1.09E-09	19
	同种型对照	345 ± 0.5	1	NB*	NB*	NB*	NB*

[0315] \*NB指示在当前实验条件下未观察到结合。

[0316] 表3:在37℃下天然Bet v 1结合至Bet v 1单克隆抗体的结合动力学参数。

[0317]

抗体	mAb 捕捉 水平 (RU)	结合的 100nM 天然 Bet v 1 (RU)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$t_{1/2}$ (分钟)
H4H16943P	451 ± 2.7	88	2.60E+05	1.27E-03	4.89E-09	9.1
H4H16946P	469 ± 2.6	93	2.89E+05	6.01E-04	2.08E-09	19
H4H16950P	471 ± 2.1	76	1.41E+05	1.21E-03	8.57E-09	10
H4H16960P	422 ± 0.9	65	6.62E+05	1.68E-03	2.54E-09	6.8
H4H16967P	412 ± 1.9	45	5.04E+04	7.19E-04	1.43E-08	16
H4H16971P	433 ± 1.3	66	3.52E+05	2.44E-03	6.93E-09	4.7
H4H16979P	352 ± 1.3	52	3.42E+05	6.16E-04	1.80E-09	19
H4H16987P	436 ± 1.7	74	5.20E+05	4.77E-03	9.16E-09	2.4
H4H16991P	379 ± 1.0	66	5.00E+05	1.08E-03	2.16E-09	11
H4H16992P	436 ± 1.1	73	5.38E+05	8.53E-04	1.59E-09	14
H4H17001P	457 ± 0.8	87	4.85E+05	1.22E-03	2.52E-09	9.5
H4H17015P	464 ± 1.4	84	2.93E+05	7.92E-04	2.70E-09	15
H4H17027P	427 ± 0.9	67	9.81E+04	9.30E-04	9.48E-09	12
H4H17028P	435 ± 1.3	71	3.73E+05	2.90E-03	7.77E-09	3.9
H4H17031P	419 ± 1.8	63	4.85E+05	5.44E-03	2.79E-08	2.1
H4H17033P	417 ± 1.4	74	6.27E+05	1.19E-03	1.90E-09	10
H4H17038P2	406 ± 1.4	74	3.73E+05	1.62E-03	4.33E-09	7.1
H4H17045P2	465 ± 1.4	90	2.37E+05	4.41E-04	1.86E-09	26
H4H17067P2	440 ± 1.2	80	2.68E+05	1.47E-03	5.48E-09	7.9
H4H17082P2	453 ± 1.1	83	7.48E+05	1.82E-03	2.43E-09	6.3
同种型对照	426 ± 1	1	NB*	NB*	NB*	NB*

[0318] \*NB指示在当前实验条件下未观察到结合。

[0319] 表4:在25℃下突变Bet v 1-MMH结合至Bet v 1单克隆抗体的结合动力学参数。

[0320]

抗体	mAb 捕捉 水平 (RU)	结合的 100nM 突变的 Bet v 1-MMH (RU)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$t_{1/2}$ (分钟)
H4H16943P	344 ± 0.8	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16946P	354 ± 0.5	83	4.05E+05	1.41E-04	3.48E-10	82
H4H16950P	357 ± 0.6	70	1.51E+05	3.35E-04	2.21E-09	35
H4H16960P	343 ± 0.8	64	5.62E+05	4.43E-04	7.89E-10	26
H4H16967P	331 ± 0.3	0	NB	NB	NB	NB
H4H16971P	343 ± 0.5	58	4.07E+05	3.86E-03	9.48E-09	3.0
H4H16979P	293 ± 1.0	46	2.86E+05	2.30E-04	8.04E-10	50
H4H16987P	334 ± 0.4	46	4.90E+05	2.15E-02	4.38E-08	0.5
H4H16991P	312 ± 0.5	61	3.90E+05	2.87E-04	7.35E-10	40
H4H16992P	350 ± 0.4	70	4.59E+05	2.76E-04	6.01E-10	42
H4H17001P	351 ± 0.7	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17015P	368 ± 0.8	76	2.72E+05	2.81E-04	1.03E-09	41
H4H17027P	340 ± 0.4	63	1.10E+05	3.19E-04	2.90E-09	36
H4H17028P	349 ± 0.5	71	8.11E+05	6.93E-04	8.54E-10	17
H4H17031P	333 ± 0.5	63	1.87E+05	1.05E-03	5.61E-09	11
H4H17033P	336 ± 0.5	67	5.40E+05	4.15E-04	7.68E-10	28
H4H17038P2	324 ± 1	63	6.42E+05	6.41E-03	9.98E-09	1.8
H4H17045P2	368 ± 1.1	60	8.00E+04	4.98E-04	6.23E-09	23
H4H17067P2	344 ± 0.3	55	1.00E+05	1.17E-03	1.17E-08	9.9
H4H17082P2	366 ± 0.5	78	5.30E+05	6.12E-04	1.16E-09	19
同种型对照	344 ± 0.8	1	NB*	NB*	NB*	NB*

[0321] \*NB指示在当前实验条件下未观察到结合。

[0322] 表5:在37℃下突变的Bet v 1-MMH结合至Bet v 1单克隆抗体的结合动力学参数。

	抗体	mAb 捕捉 水平 (RU)	结合的 100nM 突变的 Bet v 1-MMH (RU)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$t_{1/2}$ (分钟)
[0323]	H4H16943P	441 ± 1.3	0	NB*	NB*	NB*	NB*
	H4H16946P	459 ± 1.8	97	6.03E+05	3.95E-04	6.55E-10	29
	H4H16950P	461 ± 1.2	83	2.15E+05	1.25E-03	5.81E-09	9.2
	H4H16960P	417 ± 1.4	72	8.79E+05	1.77E-03	2.01E-09	6.5
	H4H16967P	405 ± 0.8	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
	H4H16971P	427 ± 1.2	60	6.48E+05	1.20E-02	1.86E-08	1.0
	H4H16979P	348 ± 0.7	56	4.62E+05	7.30E-04	1.58E-09	16
	H4H16987P	429 ± 1.1	36	7.95E+05	8.47E-02	1.06E-07	0.14
	H4H16991P	376 ± 0.7	67	7.17E+05	1.06E-03	1.48E-09	11
	H4H16992P	432 ± 0.6	78	7.84E+05	8.85E-04	1.13E-09	13
[0324]	H4H17001P	451 ± 0.8	2	NB*	NB*	NB*	NB*
	H4H17015P	458 ± 1.1	89	4.45E+05	8.99E-04	2.02E-09	13
	H4H17027P	421 ± 0.8	78	1.71E+05	1.16E-03	6.80E-09	9.9
	H4H17028P	430 ± 0.8	77	1.01E+06	2.35E-03	2.32E-09	4.9
	H4H17031P	413 ± 1.4	71	2.78E+05	4.06E-03	1.46E-08	2.8
	H4H17033P	414 ± 0.8	79	8.83E+05	1.18E-03	1.34E-09	9.8
	H4H17038P2	399 ± 0.9	56	8.33E+05	2.96E-02	3.56E-08	0.39
	H4H17045P2	458 ± 1.2	84	1.62E+05	2.32E-03	1.43E-08	5.0
	H4H17067P2	435 ± 0.7	76	2.53E+05	4.28E-03	1.69E-08	2.7
	H4H17082P2	448 ± 1	89	8.21E+05	1.90E-03	2.31E-09	6.1
	同种型对照	421 ± 0.7	-2	NB*	NB*	NB*	NB*

[0325] \*NB指示在当前实验条件下未观察到结合。

[0326] 实施例4:通过表面等离子体共振测定抗体结合至相关过敏原

[0327] 在Biacore 4000仪器上使用实时表面等离子体共振生物传感器 (SPR-Biacore) 测定不同的相关过敏原与纯化的抗Bet v 1单克隆抗体的结合的平衡解离常数 ( $K_D$ )。所有结合研究都是在25℃下于10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA及0.05% v/v表面活性剂Tween-20, pH 7.4 (HBS-ET) 操作缓冲液中执行。Biacore CM5传感器表面先通过与单克隆小鼠抗人Fc抗体 (GE, #BR-1008-39) 胺偶合进行衍生化, 以捕捉抗Bet v 1单克隆抗体。针对以下相关过敏原进行结合研究: 桉木 (Aln g 1, MyBiosource, 目录号MBS1041484)、苹果 (Mal d 1, MyBiosource, 目录号MBS1224919)、胡萝卜 (Dau c 1.2, MyBiosource, 目录号MBS1212920)、芹菜 (Api g 1, MyBiosource, 目录号MBS1171376)、芹菜 (Api g 2, MyBiosource, 目录号MBS1047880)、欧洲角树 (Car b 1同种型1A和1B, MyBiosource, 目录号MBS1200018)、欧洲角树 (Car b 1同种型2, MyBiosource, 目录号MBS1043940)、榛树 (Cor A1, MyBiosource, 目录号MBS5304600) 及白色橡树 (Que a 1, MyBiosource, 目录号MBS1258822)。在HBS-ET操作缓冲液中制备不同浓度的相关过敏原 (100nM-6.25nM; 连续稀释4倍), 接着将其以30μL/分钟流动速率注射于抗人Fc捕捉的抗Bet v 1单克隆抗体表面上, 保持3分钟, 同时在HBS-ET作缓冲液中监测单克隆抗体结合的过敏原的解离, 保持8分钟。通过使用Scrubber 2.0c曲线拟合软件将实时结合传感图与1:1结合模型相拟合, 测定缔合 ( $k_a$ ) 和解离 ( $k_d$ ) 速率常数。根据动力学速率常数计算结合解离平衡常数 ( $K_D$ ) 和解离半衰期 ( $t_{1/2}$ ):

[0328] 
$$K_D = \frac{kd}{ka}, \text{ 且 } t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{kd}$$

[0329] 在25℃下相关过敏原与本发明的不同抗Bet v 1单克隆抗体的结合动力学参数显示于表6至表11中。

[0330] 如表6中所示,在25℃下,20种本发明的抗Bet v 1抗体中有9种展示出与Aln g 1的可测量的结合,其 $K_D$ 值在1.03nM至175nM范围内。另外11种抗体在该测试条件下未展示出与Aln g 1的任何可测量的结合。

[0331] 如表7中所示,在25℃下,20种本发明的抗Bet v 1抗体中有两种展示出与Mal d 1的可测量的结合,其 $K_D$ 值是29.8nM和494nM。另外18种抗体在该测试条件下未展示出与Mal d 1的任何可测量的结合。

[0332] 如表8中所示,在25℃下,本发明的抗Bet v 1抗体中有1种展示出与Api g 1的可测量的结合,其 $K_D$ 值是167nM。另外19种抗体在该测试条件下未展示出与Api g 1的任何可测量的结合。

[0333] 如表9中所示,在25℃下,20种本发明的抗Bet v 1抗体中有8种展示出与Car b 1同工型1A和1B的可测量的结合,其 $K_D$ 值在1.2nM至380nM范围内。另外12种抗体在该测试条件下未展示出与Car b 1同工型1A和1B的任何可测量的结合。

[0334] 如表10中所示,在25℃下,20种本发明的抗Bet v 1抗体中有14种展示出与Car b 1同工型2的可测量的结合,其 $K_D$ 值在335pM至564nM范围内。另外6种抗体在该测试条件下未展示出与Car b 1同工型2的任何可测量的结合。

[0335] 如表11中所示,在25℃下,本发明的抗Bet v 1抗体中有1种展示出与Cor A 1的可测量的结合,其 $K_D$ 值是396nM。另外19种抗体在该测试条件下未展示与Cor A 1的任何可测量的结合。

[0336] 本发明的抗体在测试条件下都未展示与Dau c 1.2、Api g 2或Que a 1(数据未示出)的可测量的结合。同种型对照抗体未展示出与任何测试过敏原的任何可测量的结合。

[0337] 表6:在25℃下桤木(Aln g1)结合至Bet v 1单克隆抗体的结合动力学参数。

[0338]

抗体	mAb 捕捉水平 (RU)	结合的 100nM 分析物 (RU)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$t_{1/2}$ (分钟)
H4H16943P	675 ± 0.9	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16946P	668 ± 1.2	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16950P	634 ± 1.7	15	9.12E+04	1.60E-02	1.75E-07	0.7
H4H16960P	681 ± 2.1	29	2.26E+05	3.32E-02	1.47E-07	0.3
H4H16967P	666 ± 3.1	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16971P	668 ± 2.1	41	9.30E+04	1.18E-02	1.26E-07	1.0
H4H16979P	545 ± 0.4	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16987P	667 ± 1.6	139	2.21E+05	8.70E-04	3.94E-09	13
H4H16991P	608 ± 0.4	3	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16992P	653 ± 1.3	5	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17001P	630 ± 1.6	49	2.64E+05	2.78E-02	1.05E-07	0.4
H4H17015P	745 ± 3	8	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17027P	772 ± 0.4	9	9.29E+04	6.43E-03	6.92E-08	1.8
H4H17028P	708 ± 1.5	16	5.17E+04	1.90E-03	3.67E-08	6.1
H4H17031P	727 ± 1.3	59	5.29E+04	2.38E-03	4.50E-08	4.8
H4H17033P	649 ± 0.2	3	NB*	NB*	NB*	NB*

[0339]

H4H17038P2	660 ± 1.3	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17045P2	746 ± 1.2	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17067P2	617 ± 2.2	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17082P2	662 ± 3.6	132	3.12E+05	3.23E-04	1.03E-09	36
同种型对照	686 ± 1.3	0	NB*	NB*	NB*	NB*

[0340] \*NB指示在当前实验条件下未观察到结合。

[0341] 表7:在25℃下苹果(Ma1 d 1)结合至Bet v 1单克隆抗体的结合动力学参数。

[0342]

抗体	mAb 捕捉水平 (RU)	结合的 100nM 分析物 (RU)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$t_{1/2}$ (分钟)
H4H16943P	676 ± 0.7	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16946P	668 ± 2.2	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16950P	635 ± 1.9	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16960P	690 ± 8.2	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16967P	671 ± 3.2	-2	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16971P	667 ± 3.4	25	1.61E+05	7.95E-02	4.94E-07	0.2
H4H16979P	545 ± 0.5	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16987P	668 ± 0.8	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16991P	608 ± 1.4	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16992P	652 ± 0.8	3	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17001P	626 ± 0.8	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17015P	741 ± 2.6	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17027P	767 ± 1.4	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17028P	704 ± 2.3	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17031P	727 ± 1.6	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17033P	650 ± 1.6	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17038P2	658 ± 1.5	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17045P2	747 ± 1.3	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17067P2	616 ± 2	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17082P2	662 ± 1.9	112	1.25E+06	3.74E-02	2.98E-08	0.3
同种型对照	686 ± 1.1	0	NB*	NB*	NB*	NB*

[0343] \*NB指示在当前实验条件下未观察到结合。

[0344] 表8:在25℃下芹菜(Api g 1)结合至Bet v 1单克隆抗体的结合动力学参数。

[0345]

抗体	mAb 捕捉水平 (RU)	结合的 100 nM 分析物 (RU)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$t_{1/2}$ (分钟)
H4H16943P	674 ± 0.7	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16946P	666 ± 0.4	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16950P	632 ± 3	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16960P	684 ± 3.6	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16967P	668 ± 4.2	-1	NB*	NB*	NB*	NB*

[0346]

H4H16971P	666 ± 0.7	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16979P	546 ± 1.1	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16987P	668 ± 0.8	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16991P	607 ± 1.3	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16992P	651 ± 2.9	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17001P	625 ± 1.3	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17015P	740 ± 1.5	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17027P	765 ± 1.1	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17028P	705 ± 2.2	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17031P	727 ± 1.3	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17033P	648 ± 0.3	39	4.75E+05	7.91E-02	1.67E-07	0.2
H4H17038P2	659 ± 0.6	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17045P2	747 ± 0.5	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17067P2	613 ± 0.6	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17082P2	660 ± 3.1	0	NB*	NB*	NB*	NB*
同种型对照	684 ± 3.1	-1	NB*	NB*	NB*	NB*

[0347] \*NB指示在当前实验条件下未观察到结合。

[0348] 表9:在25℃下欧洲角树 (Car b 1同种型1A和1B) 结合至Bet v 1单克隆抗体的结合动力学参数。

[0349]

抗体	mAb 捕捉水平 (RU)	结合的 100 nM 分析物 (RU)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$t_{1/2}$ (分钟)
H4H16943P	674 ± 1	26	1.52E+05	5.78E-02	3.80E-07	0.2
H4H16946P	667 ± 1.6	63	1.43E+05	2.40E-02	1.68E-07	0.5
H4H16950P	633 ± 1.6	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16960P	687 ± 0.8	4	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16967P	666 ± 3.3	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16971P	669 ± 4.6	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16979P	545 ± 0.4	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16987P	668 ± 0.3	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16991P	608 ± 1.8	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16992P	653 ± 0.6	161	2.81E+05	3.37E-04	1.20E-09	34
H4H17001P	626 ± 1	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17015P	742 ± 1.8	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17027P	767 ± 0.3	41	3.14E+04	6.73E-03	2.14E-07	1.7
H4H17028P	705 ± 0.7	159	2.10E+05	5.11E-04	2.43E-09	23
H4H17031P	726 ± 3.2	126	8.04E+04	1.11E-03	1.38E-08	10
H4H17033P	650 ± 1.3	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17038P2	659 ± 0.9	105	1.51E+05	6.23E-03	4.14E-08	1.9
H4H17045P2	748 ± 1	5	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17067P2	616 ± 1	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17082P2	664 ± 1.6	69	3.90E+05	3.53E-02	9.05E-08	0.3
同种型对照	686 ± 0.7	0	NB*	NB*	NB*	NB*

[0350] \*NB指示在当前实验条件下未观察到结合。

[0351] 表10:在25℃下欧洲角树 (Car b 1同种型2) 结合至Bet v 1单克隆抗体的结合动力学参数。

[0352]

抗体	mAb 捕捉 水平 (RU)	结合的 100 nM 分析物 (RU)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$t_{1/2}$ (分钟)
H4H16943P	675 ± 1.6	183	1.11E+06	3.71E-04	3.35E-10	31
H4H16946P	666 ± 0.7	63	7.69E+04	1.38E-02	1.79E-07	0.8
H4H16950P	633 ± 3	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16960P	682 ± 4.5	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16967P	663 ± 5.4	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16971P	668 ± 4.1	23	2.59E+05	1.46E-01	5.64E-07	0
H4H16979P	547 ± 1.1	114	9.71E+05	2.41E-03	2.48E-09	4.8
H4H16987P	667 ± 1.3	153	1.01E+06	5.61E-03	5.56E-09	2.1
H4H16991P	607 ± 3.4	93	1.07E+06	4.04E-02	3.78E-08	0.3
H4H16992P	652 ± 0.6	156	1.40E+06	8.61E-04	6.17E-10	13
H4H17001P	625 ± 1.1	157	2.03E+06	3.20E-03	1.58E-09	3.6
H4H17015P	741 ± 1.6	2	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17027P	765 ± 1.8	42	5.84E+04	5.77E-03	9.89E-08	2.0
H4H17028P	703 ± 4.1	95	9.71E+04	4.37E-03	4.50E-08	2.6
H4H17031P	727 ± 1.2	160	3.95E+05	5.17E-03	1.31E-08	2.2
H4H17033P	650 ± 1.2	111	1.34E+06	4.47E-02	3.34E-08	0.3
H4H17038P2	660 ± 1.6	73	1.28E+05	6.48E-03	5.05E-08	1.8
H4H17045P2	747 ± 1.2	5	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17067P2	616 ± 1	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17082P2	661 ± 2	166	2.18E+06	1.24E-03	5.67E-10	9.3
同种型对照	685 ± 1.2	0	NB*	NB*	NB*	NB*

[0353] \*NB指示在当前实验条件下未观察到结合。

[0354] 表11:在25℃下榛树(Cor A1)结合至Bet v 1单克隆抗体的结合动力学参数。

[0355]

抗体	mAb 捕捉 水平 (RU)	结合的 100 nM 分析物 (RU)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$t_{1/2}$ (分钟)
H4H16943P	673 ± 0.4	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16946P	665 ± 0.6	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16950P	635 ± 3.3	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16960P	687 ± 7	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16967P	668 ± 1.7	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16971P	666 ± 5.8	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16979P	546 ± 1.1	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16987P	668 ± 0.7	0	NB*	NB*	NB*	NB*

[0356]

H4H16991P	607 ± 1.3	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H16992P	652 ± 1.6	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17001P	626 ± 0.4	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17015P	740 ± 0.7	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17027P	766 ± 2.8	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17028P	704 ± 1.3	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17031P	727 ± 1.2	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17033P	649 ± 1.5	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17038P2	659 ± 0.1	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17045P2	748 ± 0.8	0	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17067P2	614 ± 0.7	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H17082P2	661 ± 0.8	20	1.06E+05	4.18E-02	3.96E-07	0.3
同种型对照	685 ± 0.5	1	NB*	NB*	NB*	NB*



[0357] \*NB指示在当前实验条件下未观察到结合。

[0358] 实施例5:抗Bet v 1 IgG抗体阻断Bet v 1与过敏原特异性IgE的结合

[0359] 使用ELISA测定单一的本发明抗Bet v 1抗体或本发明抗Bet v 1抗体的组合阻断Bet v 1与板捕捉的来自过敏的人供体血浆/血清的IgE的结合的能力。测试单独或呈多克隆混合物形式的抗体。对于所述测定,在4℃下,用被制备成具有C末端小鼠Fc标签的人FcεR1α(IgE的高亲和力受体)细胞外域蛋白质(hFcεR1α-mFc;SEQ ID NO:313)涂布微量滴定板,过夜。随后,在室温(RT)下,用0.5%BSA(w/v)阻断该板1小时。稀释来自过敏供体的血浆,接着总IgE被捕捉于受体涂布的表面上。将恒定量0.1nM生物素标记的天然Bet v 1(Indoor Biotechnologies,#NA-BV1-1)与1μg/mL单一浓度的或从10μg/mL开始连续稀释的抗Bet v 1抗体或1μg/mL的各抗体预混合,并在室温下培育1小时,以使Bet v 1-抗体相互作用达到平衡。随后,将抗体-Bet v 1混合物添加至IgE涂布的板上,保持1小时。随后,洗涤板并使用1:10,000稀释的抗链蛋白菌素与辣根过氧化酶的缀合物(Thermo Scientific,#N200/QJ223091)来检测结合至板的天然Bet v 1的量,并且在室温下培育1小时。在上述ELISA方案的每个步骤之间用PB-T洗涤板。为了使比色反应显色,将TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>底物(BD Pharmingen试剂A#51-2602KC+试剂B,#51-2607KC)添加至板中并在室温下培育20分钟。使用2N硫酸(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>;VWR,BDH3500-1)以停止反应。随后,在分光光度计(Victor,Perkin Elmer)上,在450nm下测量吸光度。使用如下所述的各测定中所使用的最高抗体浓度来计算阻断百分比。

[0360] 
$$\text{阻断百分比} = \frac{(\text{在无抗体情况下的} A_{450}) - (\text{在最高抗体浓度下的} A_{450})}{(\text{在无抗体情况下的} A_{450})} \times 100$$

[0361] 以单一抗体的形式使用所述ELISA测试20种抗Bet v 1抗体阻断Bet v 1与板捕捉的来自过敏的人供体血浆的IgE的结合能力。个别单克隆抗体能够部分地阻断IgE与Bet v 1的结合达8.5-64%,由此表明IgE的多克隆性。如表12中所示,有7种抗体在10μg/mL的最高测试抗体浓度下显示出36-64%范围内的阻断。

[0362] 在单点阻断测定中测试4种抗Bet v 1抗体,即H4H17082P2、H4H17038P2、H4H16987P及H4H16992P。H4H17082P2和H4H16992P的组合在十名IgE供体中的七名中展示出大于90%的阻断。如表13中所示,三种和四种单克隆抗体组合展示出类似的结果,并且相较于H4H17082P2与H4H16992P两种抗体的组合,其看起来没有增加任何额外的阻断效应。

[0363] 随后,以单一单克隆抗体形式和以2种、3种和4种单克隆抗体的组合形式,在利用3名供体IgE样品进行的剂量反应阻断测定中测试四种单克隆抗体,即H4H17082P2、H4H17038P2、H4H16987P及H4H16992P。如表14中所示,结果显示,H4H17082P2与H4H16992P两种抗Bet v 1单克隆抗体的组合使Bet v 1与3名供体中过敏原特异性IgE的结合阻断超过90%且接近于基线。测试的3种和4种抗体的组合显示类似的阻断活性广度和效力。作为阳性对照,纯化的小鼠抗Bet v 1多克隆IgG展示>90%的阻断。

[0364] 表12:抗Bet v 1抗体阻断Bet v 1与过敏原特异性IgE的结合

[0365]

供体 ID:	23397-PB	24606-AB
抗体	Bet v 1 与捕捉的 IgE 的结合的阻断%	
H4H17082P2 MAB2	56.6	60.3
H4H16971P	35.4	12.8
H4H17027P	23.0	28.4
H4H17028P	19.7	16.6
H4H16946P	27.6	22.8
H4H17038P2 MAB3	49.0	55.3
H4H16950P	32.3	20.7
H4H16987P MAB4	15.2	12.8
H4H17045P2	27.4	27.2
H4H17067P2	25.7	22.2
H4H16967P	21.8	23.5
H4H17015P	41.8	63.4
H4H16979P	33.6	12.9
H4H16991P	30.0	32.6
H4H17033P	51.8	49.0
H4H16992 MAB1	36.7	64.4
H4H16960P	8.5	17.6
H4H17031	16.7	20.5
H4H17001P	47.2	52.7
H4H16943P	47.7	52.5

[0366] 在这些测定中,以1:50稀释过敏供体的血浆。

[0367] 表13:单一抗体和抗体组合阻断Bet v 1与过敏原特异性IgE的结合

[0368]

供体 ID:	23658-MD	23939-MH	23035-BL	25414-CW	25340-RR	25299-RJ	25609-MS	26532-CC	29718-MW	22627-MN
抗体	阻断百分比 (1 µg/mL 各抗体)									

[0369]

H4H17082P2 MAB2	62	79	52	38	81	66	51	74	49	61
H4H17038P2 MAB3	24	17	36	23	28	24	17	23	14	23
H4H16987P MAB4	27	16	-46	-4	15	9	16	4	13	12
H4H16992P MAB1	44	53	43	53	67	70	89	80	82	62
H4H17082P2 + H4H17038P2	70	85	73	57	90	78	65	83	60	79
H4H17082P2 + H4H16987P	74	88	21	45	84	69	65	75	61	76
H4H17082P2 + H4H16992P	79	93	72	77	91	91	98	94	94	96
H4H17038P2 + H4H16987P	47	31	16	28	41	29	33	29	28	47
H4H17038P2 + H4H16992P	58	62	51	77	83	75	93	87	87	77
H4H16987P + H4H16992P	61	61	-6	63	75	69	94	81	89	64
H4H17082P2 + H4H17038P2 + H4H16987P	78	88	39	63	91	79	72	83	68	85
H4H17082P2 + H4H17038P2 + H4H16992P	83	92	65	91	96	89	98	94	94	90
H4H17082P2 + H4H16987P + H4H16992P	83	91	16	85	91	79	96	90	95	78
H4H17038P2 + H4H16987P + H4H16992P	71	69	3	82	88	71	95	86	93	76
H4H17082P2 + H4H17038P2 + H4H16987P + H4H16992P	86	93	44	89	95	84	98	94	97	87
0.1nM 生物素化 Bet v 1 (无抗体)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
同种型对照	-3	-2	-5	-4	-1	-4	-2	-4	-2	-3

[0370] 在本测定中,将过敏供体的血浆归一化至1:20(6名供体)、1:10(3名供体)或1:9(1名供体)的Bet v 1特异性IgE效价,随后以1:50稀释。

[0371] 表14:抗体组合阻断Bet v 1与过敏原特异性IgE的结合

[0372]

供体 ID:	23939-MH	25340-RR	25609-MS
抗体	阻断百分比 (各抗体 1 $\mu\text{g/mL}$ )		
H4H17082P2	82.9	82.7	56.4
H4H17038P2	20.2	23.2	22.8
H4H16987P	19.6	11.1	21.6
H4H16992P	63.3	70.2	86.9

[0373]	H4H17082P2 + H4H16992P	94.8	93.8	96.5
	H4H17082P2 + H4H17038P2 + H4H16992P	93.4	96.4	95.2
	H4H17082P2 + H4H16987P + H4H16992P	91.5	93.1	94.2
	H4H17082P2 + H4H17038P2 + H4H16987P + H4H16992P	92.6	95.4	95.7
	同种型对照	16.8	10.6	8.8
	333.3 nM 纯化的抗 Bet v 1 小鼠 IgG	92.7	93.9	94.6

[0374] 实施例6:通过氘氘(H/D)交换进行抗Bet v 1抗体与Bet v 1的结合的表位定位

[0375] 为了确定Bet v 1中与H4H16992P2、H4H17082P2、H4H17038P2及H4H16987P相互作用的氨基酸残基[ (Uniprot P15494的氨基酸M1-N160)],进行利用质谱研究的H/D交换表位定位。关于H/D交换方法的大体说明阐述于例如Ehring (1999)《分析生物化学 (Analytical Biochemistry)》267 (2):252-259;以及Engen和Smith (2001)《分析化学 (Anal.Chem.)》73:256A-265A中。

[0376] 在一体式Waters HDX/MS平台上进行HDX-MS实验,所述HDX/MS平台由以下组成:用于氘标记的Leaptec HDX PAL系统、用于样品消化和装载的Waters Acquity M-Class(辅助溶剂管理器(Auxiliary solvent manager))、用于分析柱梯度的Waters Acquity M-Class (μBinary溶剂管理器)及用于胃蛋白酶肽质量测量的Synapt G2-Si质谱仪。

[0377] 在pD 7.0(等效于pH 6.6)的于D<sub>2</sub>O中的10mM PBS缓冲液中制备标记溶液。对于氘标记,将3.8μL天然Bet v 1(Indoor Biotech,目录号NA-BV1-1,28pmol/μL)、与各抗体预混合的Bet v 1、或呈1:1摩尔比的全部4种抗Bet v 1抗体的混合物与56.2μL D<sub>2</sub>O标记溶液一起培育不同的时间(例如非氘化对照=0秒,标记1分钟、5分钟、10分钟及20分钟)。通过将50μL样品转移至50μL预先冷却的含0.2M TCEP、6M氯化胍的100mM磷酸盐缓冲液pH 2.5(淬灭缓冲液)中来淬灭氘化,并在1.0℃培育混合样品2分钟。接着,将淬灭的样品注射至Waters HDX管理器中以进行在线胃蛋白酶/蛋白酶XIII消化。在0℃下,将消化的肽截留至ACQUITY UPLC BEH C18 1.7μm,2.1×5mm VanGuard前置柱上并洗脱至分析柱ACQUITY UPLC BEH C18 1.7μm,1.0×50mm上,以5%-40%B进行9分钟的梯度分离(流动相A:含0.1%甲酸的水,流动相B:含0.1%甲酸的乙腈)。质谱仪设置成37V锥孔电压、0.5秒扫描时间及50-1700Th的质量/电荷范围。

[0378] 为鉴别来自Bet v 1的肽,通过Waters ProteinLynx Global Server (PLGS)软件处理来自非氘化样品的LC-MS<sup>E</sup>数据并搜索包括Bet v1和其随机化序列的数据库。将鉴别出的肽输入DynamX软件中并根据两个标准进行过滤:1)每个氨基酸的最小产物:0.3;和2)复制文件阈值:3。随后,DynamX软件基于滞留时间和多个时间点的高质量准确性(<10ppm)自动测定各肽的氘吸收,其中每个时间重复测定3次。

[0379] 使用结合MS<sup>E</sup>数据采集的在线胃蛋白酶/蛋白酶XIII柱,在抗体不存在或存在下,可再现地鉴别来自Bet v 1的总计36种肽,其表示了91.2%的序列覆盖。当结合至

H4H16992P2、H4H17082P2、H4H17038P2、H4H16987P及4种抗体的组合时,氘吸收明显减少的肽分别示于图1至4和5中。记录的肽质量对应于Bet v 1与一种或多种抗Bet v 1抗体的复合物的三个重复试样的质心MH<sup>+</sup>质量平均值。

[0380] 如图1中所示,在H4H16992P的存在下,对应于氨基酸23-43(FILDGDNLF PKVAPQAISSE,SEQ ID NO:307)的肽具有较慢的氘化速率。

[0381] 如图2中所示,在H4H17082P的存在下,对应于氨基酸44-56(NIEGNGGPGTIKK,SEQ ID NO:308)的肽具有较慢的氘化速率。

[0382] 如图3中所示,在H4H17038P2的存在下,对应于氨基酸2至19(GVFNYETETTSVIPAAARL,SEQ ID NO:309)的肽具有较慢的氘化速率。

[0383] 如图4中所示,在H4H16987P的存在下,对应于氨基酸57-70(ISFPEGFPFKYVKD,SEQ ID NO:310)和81-96(KYNYSVIEGGPIGDTL,SEQ ID NO:315)的肽具有较慢的氘化速率。

[0384] 如图5中所示,在4种抗Bet v 1抗体的组合(H4H16992P、H4H17082P、H4H17038P2及H4H16987P)的存在下,对应于氨基酸23-43(FILDGDNLF PKVAPQAISSE,SEQ ID NO:307)、氨基酸44-56(NIEGNGGPGTIKK,SEQ ID NO:308)、氨基酸2-19(GVFNYETETTSVIPAAARL,SEQ ID NO:309)、氨基酸57-70(ISFPEGFPFKYVKD,SEQ ID NO:310)及81-96(KYNYSVIEGGPIGDTL,SEQ ID NO:315)的肽具有较慢的氘化速率。

[0385] 此外,在H4H17082P、H4H17038P2和H4H16987P的存在下,还观察到对肽23-43的适当的保护,由此鉴别出这一区域可以表示针对这些单克隆抗体的次级表位。

[0386] 实施例7:抗Bet v 1抗体在被动皮肤全身性过敏反应(PCA)体内模型中的作用

[0387] 为了测定本发明的抗Bet v 1抗体阻止过敏原诱导的肥大细胞脱粒的功效,使用了被动皮肤全身性过敏反应(PCA)体内模型。这一模型涉及将过敏原特异性抗血清皮内注射至皮肤上的局部区域中,随后静脉内注射抗原以及染料。过敏反应在敏感部位处引起毛细管扩张和血管渗透性的增加,使得染料优先在此部位积累。可以从所述组织提取出染料并以分光光度法定量。随后,可将用测试抗血清致敏的组织中的染料外渗与用不相关抗血清致敏的组织中的外渗相比较。

[0388] 在第0天,通过对Balb/c小鼠免疫接种含5μg天然Bet v 1蛋白质(Indoor Biotechnologies, #NA-BV1-1)的1mg/mL的1×磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)溶液,产生抗血清用于所述测定。一周后(第7天),用含5μg天然Bet v 1蛋白质的1mg/mL的1×PBS溶液对敏感小鼠进行增强免疫。增强免疫之后两周,在第21天、第24天和第28天,用含0.5μg天然Bet v 1蛋白质的20μL PBS对小鼠进行鼻内气管激发。随后,在第31天处死小鼠并收集血清。根据制造商的说明书,使用OptEIA™ELISA试剂盒(BD Biosciences, #555248)测定分离的抗血清中的总IgE浓度。在PBS中将Bet v 1抗血清的最终浓度稀释至2600ng/mL IgE。

[0389] 在第0天,通过对Balb/c小鼠免疫接种含5μg从猫毛提取物中纯化的天然Fel d 1蛋白质(Indoor Biotechnologies, #LTN-FD1-1)的1mg/mL的PBS溶液,产生在所述测定中用作阴性对照的抗血清。在第14天和第21天,用含5μg Fel d 1蛋白质的1mg/mL的PBS溶液对小鼠进行增强免疫。最后一次增强免疫之后一周(第28天),处死小鼠并收集血清。根据制造商的说明书,使用OptEIA™ELISA试剂盒(BD Biosciences, #555248)测定分离的抗血清中的总IgE浓度。在PBS中将抗血清的最终浓度稀释至2500ng/mL IgE。

[0390] 对于PCA测定,先对数组Balb/c小鼠(每个实验n≥5只)皮下注射1mg/kg剂量(总抗

体剂量)的同种型对照抗体、抗Bet v 1抗体或抗Bet v 1抗体组合。施用抗体之后三天,将10 $\mu$ L的1.5ng Bet v 1抗血清或3ng阴性对照抗血清分别注射至每组中小鼠的右耳和左耳中。在局部施用过敏原特异性抗血清之后二十四小时,通过静脉内注射(每只小鼠100 $\mu$ L)溶解于含0.5% (w/v)伊凡氏蓝色染料(Evan's blue dye) (Sigma Aldrich, #E2129)的PBS中的1 $\mu$ g/mL天然Bet v 1的溶液来激发小鼠。在抗原激发之后一小时,处死小鼠,切除其双耳,放入1mL甲酰胺中,随后在50-56 $^{\circ}$ C下培育3天,以提取伊凡氏蓝色染料。随后,从甲酰胺中取出耳组织,进行印迹以去除过量液体并称重。将二百微升各甲酰胺提取物的等分试样转移至96孔板中,一式两份,接着在620nm下测量其吸光度。使用标准曲线将测量的光学密度转化成伊凡氏蓝色染料浓度,并表示为每毫克组织中伊凡氏蓝色染料的纳克数。每组的平均值 $\pm$ 标准差显示于表15中。在GraphPad Prism中,使用邦费罗尼多重比较测试(Bonferroni's multiple comparisons test)计算相较于同种型对照的平均差异。

[0391] 如表15中所示,在第一项研究中,相较于同种型对照,单一抗Bet v 1抗体H4H17082P2未展示出染料外渗的显著减少。相比之下,在研究2中,本发明的两种抗Bet v 1抗体(H4H16992P和H4H17082P2)的组合以及本发明的四种抗Bet v 1抗体(H4H16992P、H4H17082P2、H4H17038P2及H4H16987P)的组合相较于同种型对照治疗展示出染料外渗的显著减少,且分别减少35.26ng/mg和36.49ng/mg。类似地,在研究3中,本发明的两种抗Bet v 1抗体(H4H16992P和H4H17082P2)的组合相较于同种型对照治疗也展示出染料外渗的显著减少,且减少41.09ng/mg。如先前在研究1中所展示,在研究3中,单一抗Bet v 1抗体H4H17082P2相较于同种型对照未展示出染料外渗的显著减少。然而,另一种单独的抗体H4H16992P相较于同种型对照展示出染料外渗的显著减少,且减少25.86ng/mg。根据进行的研究可以看出,在被动皮肤全身性过敏反应体内模型中,通过双因素方差分析和邦费罗尼事后检验所测定,与同种型对照相比,单一抗体H4H16992P、H4H17082P2+H4H16992P两种抗体的组合以及H4H17082P2+H4H16992P+H4H17038P2+H4H16987P四种抗体的组合通过染料外渗的显著减少指示其能够阻止肥大细胞脱粒。在进行的两项研究中,相较于同种型,染料外渗的增加指示单独的H4H17082P2抗体不能阻止肥大细胞脱粒。每组使用的小鼠数量(n)在表中的圆括号内示出。

[0392] 表15:抗Bet v 1抗体在被动皮肤全身性过敏反应体内模型中的作用。

治疗组	阴性对照过敏原 (ng 伊凡氏蓝色染料/mg 组织±SD)	相较于同种 型对照的平 均差异	Bet v 1 (ng 伊凡氏蓝色染料/mg 组织±SD)	相较于同种 型对照的平 均差异
<u>研究 1</u>				
H4H17082P2 (n=8)	2.1±0.9	-0.31	46.6±17.3	7.5
<u>研究 2</u>				
H4H17082P2 + H4H16992P (n=10)	6.3±3.8	1.807	8.3±7.7	<b>-35.26 (****)</b>
H4H17082P2 + H4H16992P + H4H17038P2 + H4H16987P (n=10)	7.6±5.5	3.090	7.1±4.1	<b>-36.49 (****)</b>
<u>研究 3</u>				
H4H17082P2 (n=5)	6.5±1.4	-0.311	89.4±28.3	27.37 (*)
H4H16992P (n=5)	6.4±2.1	-0.324	36.2±14	<b>-25.86 (*)</b>
H4H17082P2 + H4H16992P (n=5)	3.6±.31	-3.118	21±9.6	<b>-41.09 (***)</b>

[0394] 所有抗体治疗组使用1mg/kg总抗体浓度

[0395] \*P≤.05,\*\*\*P≤.001,\*\*\*P≤.0001

[0396] n=每组中小鼠的数量

[0397] 实施例8:在被动皮肤全身性过敏反应(PCA)体内模型中抗Bet v 1抗体针对三种不同桦树花粉提取物的作用

[0398] 在被动皮肤全身性过敏反应(PCA)体内模型中测试本文提供的抗Bet v 1抗体阻止过敏原诱导的肥大细胞脱粒的功效。将过敏原特异性抗血清经皮注射至皮肤上的局部区域中,随后静脉内注射抗原以及染料。过敏反应在敏感部位处引起毛细管扩张和血管渗透性的增加,使得染料优先在此部位积累。可以从所述组织提取出染料并以分光光度法定量。随后,可将用测试抗血清致敏的组织中的染料外渗与用不相关抗血清致敏的组织中的外渗相比较。

[0399] 在第0天,通过对Balb/c小鼠免疫接种含5μg天然Bet v 1蛋白质(Indoor Biotechnologies,目录号NA-BV1-1,批号36164)或5μg花粉提取物(BPE)(即垂枝桦(Stallargenes Greer,目录号XP527D3A25,批号#277329)、河桦(Stallargenes Greer,目录号XP79D3A25,批号#285077)或杨叶桦(Stallargenes Greer,目录号XP80D3A2.5,批号#273622)BPE)的1mg/mL的1×磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)溶液,产生针对天然Bet v1、垂枝桦(又称为疣皮桦)BPE、河桦BPE及杨叶桦BPE的抗血清用于本测定。一周后(第7天),用含5μg天然Bet v 1蛋白质或5μg对应的BPE(垂枝桦、河桦或杨叶桦)的1mg/mL的1×PBS溶液对敏感小鼠进行增强免疫。增强免疫之后两周,在第21天、第24天和第28天,用含0.5μg天然Bet v 1蛋白质或0.5μg对应的桦树花粉提取物的20μL 1×PBS对小鼠进行鼻内气管激发。随后,在第31天处死小鼠并收集血清。根据制造商的说明书,使用OptEIA™ELISA试剂盒(BD Biosciences,#555248)测定分离的抗血清批料中的总IgE浓度。在1×PBS中将Bet v 1抗血清的最终浓度稀释至2500ng/mL IgE,并将桦树花粉提取物抗血清批料的最终浓度针对垂枝桦稀释至3000ng/mL、针对河桦稀释至1900ng/mL、和针对杨叶桦稀释至3700ng/mL。

[0400] 通过对Balb/c小鼠免疫接种含5μg从猫毛提取物中纯化的天然Fel d 1蛋白质(Indoor Biotechnologies,目录号LTN-FD1-1,批号#36099)的1mg/mL的1×PBS溶液,产

生在所述测定中用作阴性对照的抗血清。在第14天和第21天,用含5 $\mu$ g Fel d 1蛋白质的1mg/mL矾的1 $\times$ PBS溶液对小鼠进行增强免疫。最后一次增强免疫之后一周(第28天),处死小鼠并收集血清。根据制造商的说明书,使用OptEIA<sup>TM</sup>ELISA试剂盒(BD Biosciences,#555248)测定分离的抗血清中的总IgE浓度。在PBS中将抗血清的最终浓度稀释至4800ng/mL IgE。

[0401] 对于PCA测定,先向数组Balb/c小鼠(每个实验 $n \geq 4$ 只,重复三次)皮下注射1mg/kg剂量(总抗体剂量)的同种型对照抗体或两种抗Bet v 1抗体的组合。施用抗体之后三天,将10 $\mu$ L的1ng Bet v 1抗血清、25ng垂枝桦抗血清、25ng河桦抗血清或25ng杨叶桦抗血清注射至指定组中各小鼠的右耳中。向左耳施用1ng或25ng Fel d 1(阴性对照)以匹配相应右耳的抗血清浓度。局部施用过敏原特异性抗血清之后二十四小时,通过静脉内注射(每只小鼠100 $\mu$ L)溶解于含0.5% (w/v) 伊凡氏蓝色染料(Sigma Aldrich,#E2129)的1 $\times$ PBS中的1 $\mu$ g/mL天然Bet v 1(目录号NA-BV1-1,批号36164)或1 $\mu$ g/mL对应的BPE(Stallargenes Greer,目录号XP527D3A25,批号#277329;目录号XP79D3A25,批号#285077;及目录号XP80D3A2.5,批号#273622)的溶液来激发小鼠。抗原激发之后一小时,处死小鼠,切除双耳,放入1mL甲酰胺中,随后在50 $^{\circ}$ C下培育3天,以提取伊凡氏蓝色染料。随后,从甲酰胺中取出耳组织,进行印迹以去除过量液体并称重。将二百微升各甲酰胺提取物的等分试样转移至96孔板中,一式两份。在620nm下测量所得上清液的吸光度。使用标准曲线将测量的光学密度转化成伊凡氏蓝色染料浓度,并表示为每毫克耳组织中伊凡氏蓝色染料的纳克数。每组的平均值 $\pm$ 标准差显示于表1中。在GraphPad Prism中,使用邦费罗尼多重比较测试计算相较于同种型对照的平均差异。

[0402] 表16展示出当与所有测试组中的同种型对照相比较时,通过染料外渗的显著减少指示了H4H16992P和H4H17082P2两种抗Bet v 1抗体的组合具有功效。如所示,在针对致敏作用的被动皮肤体内模型中,H4H17082P2/H4H16992P两种抗Bet v 1单克隆抗体的组合阻止肥大细胞脱粒,随后相较于同种型对照,用天然Bet v 1激发,由此展示出染料外渗显著减少88.34。类似地,相较于对应同种型对照组,在针对全部三种桦树花粉提取物的H4H17082P2/H4H16992P治疗组中也观察到染料外渗的减少,且对于垂枝桦统计显著减少62.52,对于河桦统计显著减少71.19,和对于杨叶桦统计显著减少91.47。通过双因素方差分析和邦费罗尼事后检验计算相较于同种型对照的平均差异。每组使用的小鼠数量(n)在各表中的圆括号内示出。

[0403] 表16:抗Bet v 1抗体在被动皮肤全身性过敏反应(PCA)体内模型中的作用

[0404]	致敏和治疗	阴性对照过敏原 (ng 伊凡氏蓝色染料/mg 组织 $\pm$ SD)	相较于同种 型对照的平 均差异	Bet v 1 或 BPE (ng 伊凡氏蓝色染料 /mg 组织 $\pm$ SD)	相较于同种 型对照的平 均差异
	1ng nBet v 1 H4H17082P2+ H4H16992P (n $\geq$ 14)	7.59 $\pm$ 3.03	0.7623	9.56 $\pm$ 3.53	<b>-88.34</b> (****)
	25ng 垂枝桦 H4H17082P2+ H4H16992P (n $\geq$ 14)	7.76 $\pm$ 3.38	0.7337	15.54 $\pm$ 8.21	<b>-62.52</b> (****)
	25ng 河桦 H4H17082P2+ H4H16992P (n $\geq$ 14)	8.16 $\pm$ 4.44	1.05	23.94 $\pm$ 18.32	<b>-71.19</b> (****)
	25ng 杨叶桦 H4H17082P2+ H4H16992P (n $\geq$ 14)	7.11 $\pm$ 2.37	0.5416	10.09 $\pm$ 5.90	<b>-91.47</b> (****)



[0405] 所有抗体治疗组使用1mg/kg总抗体浓度

[0406]  $*P \leq .05, ***P \leq .001, ****P \leq .0001$

[0407]  $n$  = 每组中小鼠的数量

[0408] 实施例9:抗Bet v 1单克隆抗体之间的交叉竞争

[0409] 使用实时、无标记的生物层干涉测量测定,在Octet HTX生物传感器平台(Pa11 ForteBio Corp.)上测定一组抗Bet v 1单克隆抗体的结合竞争。在25℃下,在10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA及0.05%v/v表面活性剂Tween-20、1mg/mL BSA,pH 7.4(HBS-EBT)缓冲液中进行整个实验,同时以1000rpm速度振荡板。为了评估2种抗体是否能彼此竞争结合至其在表达带有C末端myc-myc-六组氨酸标签的重组突变Bet v 1(突变Bet v 1-MMH;SEQ ID NO:312)上的对应表位,先通过将涂布抗五组氨酸抗体的Octet生物传感器尖端(Fortebio Inc,#18-5122)浸入含有5μg/mL突变Bet v 1-MMH溶液的孔中,保持90秒,将约0.21nm突变Bet v 1-MMH捕捉至所述生物传感器尖端上。随后,通过将抗原捕捉的生物传感器尖端浸渍于含有50μg/mL mAb-1溶液的孔中,保持4分钟,以用第一种抗Bet v 1单克隆抗体(称为mAb-1)使所述生物传感器尖端饱和。随后,将生物传感器尖端浸渍于含有50μg/mL第二种抗Bet v 1单克隆抗体(称为mAb-2)溶液的孔中,保持3分钟。在本实验的每个步骤之间,在HBS-EBT缓冲液中洗涤生物传感器尖端。在整个实验过程中监测实时结合反应,并记录每个步骤结束时的结合反应。比较mAb-2结合至与mAb-1预先形成复合物的突变Bet v 1-MMH的反应,并如表17中所示,测定不同抗Bet v 1单克隆抗体的竞争性/非竞争性特性。

[0410] 20种抗Bet v 1单克隆抗体中有3种不结合至突变Bet v 1-MMH,并且发现交叉竞争数据并无说服力。

[0411] 表17.抗Bet v 1单克隆抗体之间的交叉竞争

[0412]

<b>mAb-1</b>	<b>与 mAb-1 竞争的 mAb-2</b>
H4H17082P2	H4H16971P
H4H16971P	H4H17082P2
	H4H17027P
	H4H17028P
	H4H16946P
	H4H17038P2
H4H17027P	H4H16971P
	H4H17028P
	H4H16946P
	H4H17038P2
	H4H16950P
H4H17028P	H4H16971P
	H4H17027P
	H4H16946P
	H4H17038P2
	H4H16950P
H4H16946P	H4H16971P
	H4H17027P
	H4H17028P
	H4H17038P2
	H4H16950P
H4H17038P2	H4H16971P
	H4H17027P
	H4H17028P
	H4H16946P
	H4H16950P
	H4H16979P
H4H16950P	H4H17027P
	H4H17028P
	H4H16946P
	H4H17038P2
	H4H17015P
H4H16987P	H4H17045P2
	H4H17067P2
	H4H16967P
H4H17045P2	H4H16987P
	H4H17067P2
	H4H16967P
	H4H17015P

[0413]

H4H17067P2	H4H16987P
	H4H17045P2
	H4H16967P
	H4H17015P
H4H16967P	H4H16987P
	H4H17045P2
	H4H17067P2
	H4H17015P
	H4H16992P
H4H17015P	H4H16950P
	H4H17045P2
	H4H17067P2
	H4H16967P
	H4H16979P
	H4H16991P
	H4H17033P
	H4H16992P
H4H16979P	H4H17038P2
	H4H17015P
	H4H16991P
	H4H17033P
	H4H16992P
H4H16991P	H4H17015P
	H4H16979P
	H4H17033P
	H4H16992P
H4H17033P	H4H17015P
	H4H16979P
	H4H16991P
	H4H16992P
H4H16992P	H4H16967P
	H4H17015P
	H4H16979P
	H4H16991P
	H4H17033P
	H4H16960P
	H4H17031P
H4H16960P	H4H16992P
	H4H17031P
H4H17031P	H4H16992P
	H4H16960P
H4H16943P	IC*
H4H17001P	IC*

[0414] \*IC表示这些抗Bet v 1单克隆抗体不结合至突变Bet v 1-MMH并且发现交叉竞争数据并无说服力。

[0415] 实施例10. 抗Bet v 1抗体组合在人源化小鼠PCA模型中阻止Bet v 1诱导的肥大细胞脱粒的能力

[0416] 为了探究人桦树过敏个体中过敏原特异性IgE反应的多克隆性,利用人源化FcεR1α小鼠模型以促进人IgE与小鼠肥大细胞表面上FcεR1α的结合。由于人IgE不能结合小鼠FcεR1α,故制备经过基因修饰的小鼠,其中内源性小鼠FcεR1α被相应人FcεR1α序列置换并表示为FcεR1α<sup>hu/hu</sup>。通过展示人FcεR1α的表面表达以及对过敏原起反应的能力来验证用于本模型中的FcεR1α<sup>hu/hu</sup>小鼠:IgE在被动皮肤全身性过敏反应(PCA)模型中以与野生型小鼠类似的方式活化。这一PCA模型涉及将过敏性人血清皮内注射至皮肤上的局部区域中,随后静脉内注射相关过敏原以及染料。过敏反应在敏感部位处引起毛细管扩张和血管渗透性的增加,使得染料优先在此部位积累。可以从所述组织提取出染料并以分光光度法定量。将用测试抗血清致敏的组织中的染料外渗与用非过敏性人血清致敏的组织中的外渗相比较。

#### [0417] 方法

[0418] 为了确定抗Bet v 1抗体对本模型中肥大细胞脱粒的作用,在第1天,人源化FcεR1α小鼠接受皮下注射同种型对照抗体或抗Bet v 1抗体组合。对于每名人供体,进行两个独立实验,n=5只小鼠/组并且合并数据。各组由无单克隆抗体阴性对照、同种型阴性对照、REGN5713+REGN5715两种抗Bet v 1抗体治疗组及REGN5713+REGN5714+REGN5715三种抗Bet v 1抗体治疗组组成。总抗体浓度或组合抗体浓度是1mg/kg或IgG4同种型对照抗体(抗IL6Rα作为阴性同型对照)。三天后,将来自桦树过敏患者的血清或来自非桦树过敏患者的血清(阴性对照)分别皮内(ID)注射至右耳和左耳中,以使过敏原特异性IgE结合肥大细胞上的FcεRI。为了确保在实验中使用相同量的来自各供体的过敏原特异性IgE,归一化各抗血清注射液至ImmunoCAP<sup>®</sup>10KU<sub>a</sub>/L的Bet v 1特异性IgE。

[0419] 局部施用过敏原特异性抗体之后二十四小时,通过IV注射稀释于含0.5%伊凡氏蓝色染料的PBS的1μg Bet v 1来激发小鼠。过敏原激发之后一小时,处死小鼠。从耳组织提取出伊凡氏蓝色染料并使用标准曲线以分光光度法定量。(关于所用方案的图,参见图6。)通过同种型对照抗体治疗组中伊凡氏蓝色染料的浓度B(同种型,平均值)减去抗体治疗组的施用桦树过敏血清的耳中伊凡氏蓝色染料的浓度B(mAb, i)(根据组织重量归一化),来计算伊凡氏蓝色染料外渗的平均减少值。随后,用这一数值除以B(同种型,平均值)与抗体治疗组的施用非过敏血清的耳中的染料浓度[N(mAb, i)]之间的差值并乘以100,从而得到染料外渗的总体平均减少百分比(减少%)。该公式显示于下:

[0420] 减少(平均)% =  $100 * [B(\text{同种型, 平均值}) - B(\text{mAb, i})] / [B(\text{同种型, 平均值}) - N(\text{mAb, i})]$

[0421] 相较于阴性同种型对照组,抗Bet v 1抗体治疗组中染料渗漏的减少百分比的增加是Bet v 1抗体或抗体组合阻止肥大细胞脱粒的有效量度。

#### [0422] 结论

[0423] 在这一模型中,当使用来自3名桦树过敏供体的含IgE血清时,组合使用命名为H4H16992P(又称为REGN5713)、H4H17038P2(又称为REGN5714)和H4H17082P2(又称为REGN5715)的抗Bet v 1抗体在3名供体中展示出对IgE介导的响应的最大阻断(参见图7)。使用来自桦树过敏供体25609的血清,相较于同种型对照,H4H16992P、H4H17038P2和H4H17082P2组合使用时,对肥大细胞脱粒的阻止达到95%(平均差异-42.04+/-6.9(p<0.0001)),并且相较于同种型对照,组合使用H4H16992P和H4H17082P2,对肥大细胞脱粒的阻止达到93%(平均差异-41.74+/-3.7(p<0.0001))。使用来自桦树过敏供体23658的血清,

相较于同种型对照,H4H16992P、H4H17038P2和H4H17082P2组合时,对肥大细胞脱粒的阻止达到90% (平均差异-53.67+/-7.1 ( $p<0.0001$ )),并且相较于同种型对照,H4H16992P与H4H17082P2的组合阻止肥大细胞脱粒达到74% (平均差异-44.58+/-11.4 ( $p<0.0001$ )).最后,使用来自桦树过敏供体25414的血清,相较于同种型对照,H4H16992P、H4H17038P2和H4H17082P2组合时,对肥大细胞脱粒的阻止达到92% (平均差异-39.72+/-7.5 ( $p<0.0001$ )),并且相较于同种型对照,H4H16992P与H4H17082P2的组合阻止肥大细胞脱粒达到80% (平均差异-34.27+/-7.8 ( $p<0.0001$ )).

[0424] 实施例11.在磷酸化流式分析测定(Phospho-Erk Phosphoflow Assay)中抗Bet v 1抗体组合阻断嗜碱性粒细胞活化的能力

[0425] 使用来自8名桦树过敏个体的样品,通过测试抗Bet v 1抗体H4H16992P(又称为REGN5713)、H4H17038P2(又称为REGN5714)和H4H17082P2(又称为REGN5715)的各种组合在抑制嗜碱性粒细胞活化方面的作用来探究人IgE反应。更确切地说,为了评估FcεR接合和活化,在功能性磷流式测定中测试嗜碱粒细胞,该测定测量了激酶ERK的磷酸化情况,即嗜碱性粒细胞活化和脱粒的近端读数(proximal readout) (Liu,Y.等人(2007),《实验医学杂志(J Exp Med)》204,93-103。

[0426] 方法

[0427] 从桦树过敏患者( $n=8$ )抽取血液,并通过在Ficoll层上进行密度离心而分离出PBMC,洗涤,再悬浮,并单点涂铺于96孔。同时,制备2×刺激板,该板包括纯化的Bet v 1的剂量反应以及与恒定剂量(最终浓度100pM)纯化的Bet v 1混合的抗Bet v 1抗体和抗体组合的剂量反应(2.56pM-200nM)。刺激细胞,随后用含有pErk-Alexa 488、CD123-BUV395和HLA-DR-APC抗体的抗体混合液染色。染色之后,使用LSR-Fortessa仪器获取数据并通过计算嗜碱性粒细胞门内的磷酸化Erk染色的MFI进行分析。如下计算最大抑制百分比:100-((100×最大抗体反应)/同种型反应)。“最大抗体反应”是剂量反应曲线(曲线平线区)中前三种剂量抗体中磷酸化Erk的平均中值荧光强度(MFI)减去基线MFI(复制的未刺激样品的平均值),并且“同种型反应”是Regeneron制造的同种型对照抗体(REGN1945抗Fel d 1 IgG4<sup>P</sup>)的剂量反应中所有MFI值的平均值减去基线MFI。

[0428] 结果

[0429] 来自全部8名桦树花粉过敏个体的嗜碱粒细胞对不同强度的Bet v 1刺激起反应。参见图8。H4H16992P、H4H17038P2和H4H17082P2抑制该8名供体至少70%的嗜碱性粒细胞活化,而H4H16992P与H4H17082P2的组合在8名供体中的6名中实现相同的抑制量值。值得注意的是,当分开测试时,个别抗体显示出影响过敏原结合至IgE的能力的高可变性。H4H16992P在8名供体中的3名中实现≥70%阻断,H4H17082P2在8名供体中的4名中实现70%的嗜碱性粒细胞活化阻断。H4H17038P2仅在8名测试供体中的1名中展示70%阻断。

[0430] 实施例12:三种抗Bet v 1单克隆抗体与天然Bet v 1的同时结合的测定

[0431] 进行本实验以确保三种所选Bet v 1单克隆抗体的结合表位是独特的,并且不考虑单克隆抗体结合的次序,当三种抗体同时结合时未展现空间位阻。另外,还评估所述三种Bet v 1单克隆抗体之间的次序依赖性竞争。

[0432] 使用基于实时、无标记表面等离子体共振的Biacore 3000生物传感器平台(GE Healthcare.)测定三种抗Bet v 1单克隆抗体与同一Bet v 1的同时结合。在25℃下,在含

有10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA及0.05%v/v表面活性剂Tween-20的pH7.4操作缓冲液(HBS-ET)中进行整个实验。使用EDC/NHS化学物质将抗体固定于CM5传感器的不同表面上,以达到5000-13,000RU的固定水平。同时固定REGN1945(Fel d 1单克隆抗体)作为阴性对照。将10nM或20nM天然Bet v 1(nBet v 1)注射于固定有不同Bet v 1单克隆抗体的传感器表面上,保持10-12秒,随后以15μL/分钟依序注射不同的Bet v 1单克隆抗体,保持6分钟。

[0433] 使用Scrubber 2.0c测量不同Bet v 1单克隆抗体与结合至固定有单克隆抗体的传感器表面的nBet v 1的结合。结果显示于表18中。结合信号小于1RU(共振单元)指示,当注射Bet v 1单克隆抗体时未观察到结合,而较高结合信号(大于2RU)表示无竞争。本实施例中包括的全部三种Bet v 1单克隆抗体能够同时结合至nBet v 1并且结合反应不受抗体添加次序的影响。

[0434] 表18:抗Bet v 1抗体同时结合竞争

3 种 Bet v 1 单克隆抗体的依序结合								
固定于表面上的 Bet v 1 单克隆抗体	nBet v 1 结合 (RU)	mAb-1	mAb-1 结合 (RU)	mAb-2	mAb-2 结合 (RU)	mAb-3	mAb-3 结合 (RU)	
[0435] REGN5713	10	REGN5713	0	REGN5714	59	REGN5715	44	
	11		0	REGN5715	48	REGN5714	53	
	10	REGN5714	59	REGN5713	-3	REGN5715	43	
	10		60	REGN5715	43	REGN5713	-6	
	10	REGN5715	46	REGN5713	-4	REGN5714	54	
	10		46	REGN5714	54	REGN5713	-5	
[0436] REGN5714	14	REGN5713	67	REGN5714	-4	REGN5715	40	
	14		63	REGN5715	38	REGN5714	-5	
	13	REGN5714	1	REGN5713	48	REGN5715	30	
	13		1	REGN5715	35	REGN5713	42	
	12	REGN5715	42	REGN5713	47	REGN5714	-3	
	12		40	REGN5714	-2	REGN5713	44	
	14	REGN5713	62	REGN5714	69	REGN5715	-5	
	14		60	REGN5715	-4	REGN5714	67	
	13	REGN5714	73	REGN5713	56	REGN5715	-5	
	13		73	REGN5715	-3	REGN5713	54	
	12	REGN5715	-1	REGN5713	51	REGN5714	65	
	12		0	REGN5714	69	REGN5713	47	

[0437] 数据表示至少3次独立注射Bet v 1单克隆抗体相对于nBet v 1与固定的Bet v 1单克隆抗体的复合物的平均值

[0438] 概述

[0439] 不管抗体与Bet v 1结合的次序如何,对全部三种抗体的同时结合都没有竞争阻碍,表明REGN5713、REGN5714和REGN5715结合至不重叠的独特表位。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 瑞泽恩制药公司
- [0003] J·M·奥伦戈
- [0004] A·J·莫菲
- [0005] A·T·巴迪斯
- [0006] V·卡玛
- [0007] Y·刘
- [0008] <120> 抗BET V 1人抗体及其使用方法
- [0009] <130> 10301W001
- [0010] <140> TBD
- [0011] <141> 2018-05-31
- [0012] <150> 62/513,872
- [0013] <151> 2017-06-01
- [0014] <150> 62/571,696
- [0015] <151> 2017-10-12
- [0016] <150> 62/662,165
- [0017] <151> 2018-04-24
- [0018] <160> 323
- [0019] <170> PatentIn 3.5版
- [0020] <210> 1
- [0021] <211> 375
- [0022] <212> DNA
- [0023] <213> 人工序列
- [0024] <220>
- [0025] <223> 合成
- [0026] <400> 1
- [0027] gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
- [0028] tcctgtacag cctctggatt catgtctagt atgtattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
- [0029] ccaggggaagg ggctggagtg ggtgtccaac ataaagcaag atggaactga gaaaaactat 180
- [0030] gtggagtctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat 240
- [0031] ctgcaaataa acagcctgag aggcgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatctg 300
- [0032] tatagcagtt cgtccggcta ctattactac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
- [0033] gtcaccgtct cctca 375
- [0034] <210> 2
- [0035] <211> 125
- [0036] <212> PRT
- [0037] <213> 人工序列
- [0038] <220>

[0039]	<223> 合成
[0040]	<400> 2
[0041]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0042]	1 5 10 15
[0043]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Met Ser Ser Met Tyr
[0044]	20 25 30
[0045]	Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0046]	35 40 45
[0047]	Ser Asn Ile Lys Gln Asp Gly Thr Glu Lys Asn Tyr Val Glu Ser Val
[0048]	50 55 60
[0049]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
[0050]	65 70 75 80
[0051]	Leu Gln Ile Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0052]	85 90 95
[0053]	Ala Arg Asp Leu Tyr Ser Ser Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu
[0054]	100 105 110
[0055]	Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
[0056]	115 120 125
[0057]	<210> 3
[0058]	<211> 24
[0059]	<212> DNA
[0060]	<213> 人工序列
[0061]	<220>
[0062]	<223> 合成
[0063]	<400> 3
[0064]	ggattcatgt ctagtatgta ttgg 24
[0065]	<210> 4
[0066]	<211> 8
[0067]	<212> PRT
[0068]	<213> 人工序列
[0069]	<220>
[0070]	<223> 合成
[0071]	<400> 4
[0072]	Gly Phe Met Ser Ser Met Tyr Trp
[0073]	1 5
[0074]	<210> 5
[0075]	<211> 24
[0076]	<212> DNA
[0077]	<213> 人工序列



[0078]	<220>
[0079]	<223> 合成
[0080]	<400> 5
[0081]	ataaagcaag atggaactga gaaa 24
[0082]	<210> 6
[0083]	<211> 8
[0084]	<212> PRT
[0085]	<213> 人工序列
[0086]	<220>
[0087]	<223> 合成
[0088]	<400> 6
[0089]	Ile Lys Gln Asp Gly Thr Glu Lys
[0090]	1 5
[0091]	<210> 7
[0092]	<211> 54
[0093]	<212> DNA
[0094]	<213> 人工序列
[0095]	<220>
[0096]	<223> 合成
[0097]	<400> 7
[0098]	gcgagagatc tgtatagcag ttcgtccggc tactattact acggtttgga cgtc 54
[0099]	<210> 8
[0100]	<211> 18
[0101]	<212> PRT
[0102]	<213> 人工序列
[0103]	<220>
[0104]	<223> 合成
[0105]	<400> 8
[0106]	Ala Arg Asp Leu Tyr Ser Ser Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu
[0107]	1 5 10 15
[0108]	Asp Val
[0109]	<210> 9
[0110]	<211> 336
[0111]	<212> DNA
[0112]	<213> 人工序列
[0113]	<220>
[0114]	<223> 合成
[0115]	<400> 9
[0116]	gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60

[0117] atctcctgca ggtctagtca gaggctcctg catagtaata aatacaatta tttggattgg 120  
 [0118] tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgagttc taatcgggcc 180  
 [0119] tccggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggctcaggca cagaatttac actgaaaatc 240  
 [0120] agcagagtgg aggctgagga tgttggtatt tattactgca tgcaagctct acacactccg 300  
 [0121] ctcaactttcg gcggaggac caaggtggag atcaaa 336  
 [0122] <210> 10  
 [0123] <211> 112  
 [0124] <212> PRT  
 [0125] <213> 人工序列  
 [0126] <220>  
 [0127] <223> 合成  
 [0128] <400> 10  
 [0129] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 [0130] 1 5 10 15  
 [0131] Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
 [0132] 20 25 30  
 [0133] Asn Lys Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 [0134] 35 40 45  
 [0135] Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ser Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 [0136] 50 55 60  
 [0137] Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Lys Ile  
 [0138] 65 70 75 80  
 [0139] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 [0140] 85 90 95  
 [0141] Leu His Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 [0142] 100 105 110  
 [0143] <210> 11  
 [0144] <211> 33  
 [0145] <212> DNA  
 [0146] <213> 人工序列  
 [0147] <220>  
 [0148] <223> 合成  
 [0149] <400> 11  
 [0150] cagagcctcc tgcataagtaa taaataacaat tat 33  
 [0151] <210> 12  
 [0152] <211> 11  
 [0153] <212> PRT  
 [0154] <213> 人工序列  
 [0155] <220>

[0156] <223> 合成  
[0157] <400> 12  
[0158] Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Lys Tyr Asn Tyr  
[0159] 1 5 10  
[0160] <210> 13  
[0161] <211> 9  
[0162] <212> DNA  
[0163] <213> 人工序列  
[0164] <220>  
[0165] <223> 合成  
[0166] <400> 13  
[0167] ttgagttct 9  
[0168] <210> 14  
[0169] <211> 3  
[0170] <212> PRT  
[0171] <213> 人工序列  
[0172] <220>  
[0173] <223> 合成  
[0174] <400> 14  
[0175] Leu Ser Ser  
[0176] 1  
[0177] <210> 15  
[0178] <211> 27  
[0179] <212> DNA  
[0180] <213> 人工序列  
[0181] <220>  
[0182] <223> 合成  
[0183] <400> 15  
[0184] atgcaagctc tacacactcc gctcact 27  
[0185] <210> 16  
[0186] <211> 9  
[0187] <212> PRT  
[0188] <213> 人工序列  
[0189] <220>  
[0190] <223> 合成  
[0191] <400> 16  
[0192] Met Gln Ala Leu His Thr Pro Leu Thr  
[0193] 1 5  
[0194] <210> 17

[0195]	<211> 357
[0196]	<212> DNA
[0197]	<213> 人工序列
[0198]	<220>
[0199]	<223> 合成
[0200]	<400> 17
[0201]	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggttcagc ctggagggtc cctgagactc 60
[0202]	tcctgtgtag cctctggatt caccttcagt aattatgaca tgaactgggt ccgccaggct 120
[0203]	ccaggggagg ggctggaatg gatttcatac attagtata gtgatacataa catatactat 180
[0204]	atagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat 240
[0205]	ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctatit attactgtgc gagagaggcc 300
[0206]	ctagcatcat ctctctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctctca 357
[0207]	<210> 18
[0208]	<211> 119
[0209]	<212> PRT
[0210]	<213> 人工序列
[0211]	<220>
[0212]	<223> 合成
[0213]	<400> 18
[0214]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0215]	1 5 10 15
[0216]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
[0217]	20 25 30
[0218]	Asp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
[0219]	35 40 45
[0220]	Ser Tyr Ile Ser Tyr Ser Asp His Asn Ile Tyr Tyr Ile Asp Ser Val
[0221]	50 55 60
[0222]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
[0223]	65 70 75 80
[0224]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
[0225]	85 90 95
[0226]	Ala Arg Glu Ala Leu Ala Ser Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[0227]	100 105 110
[0228]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0229]	115
[0230]	<210> 19
[0231]	<211> 24
[0232]	<212> DNA
[0233]	<213> 人工序列

[0234]	<220>
[0235]	<223> 合成
[0236]	<400> 19
[0237]	ggattcacct tcagtaatta tgac 24
[0238]	<210> 20
[0239]	<211> 8
[0240]	<212> PRT
[0241]	<213> 人工序列
[0242]	<220>
[0243]	<223> 合成
[0244]	<400> 20
[0245]	Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Asp
[0246]	1 5
[0247]	<210> 21
[0248]	<211> 24
[0249]	<212> DNA
[0250]	<213> 人工序列
[0251]	<220>
[0252]	<223> 合成
[0253]	<400> 21
[0254]	attagttata gtgatcataa cata 24
[0255]	<210> 22
[0256]	<211> 8
[0257]	<212> PRT
[0258]	<213> 人工序列
[0259]	<220>
[0260]	<223> 合成
[0261]	<400> 22
[0262]	Ile Ser Tyr Ser Asp His Asn Ile
[0263]	1 5
[0264]	<210> 23
[0265]	<211> 36
[0266]	<212> DNA
[0267]	<213> 人工序列
[0268]	<220>
[0269]	<223> 合成
[0270]	<400> 23
[0271]	gcgagagagg ccctagcatc atcttccttt gactac 36
[0272]	<210> 24

70

[0312]	85	90	95
[0313]	Thr Ile Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
[0314]	100	105	
[0315]	<210> 27		
[0316]	<211> 18		
[0317]	<212> DNA		
[0318]	<213> 人工序列		
[0319]	<220>		
[0320]	<223> 合成		
[0321]	<400> 27		
[0322]	cagagtgtta gtggcaac 18		
[0323]	<210> 28		
[0324]	<211> 6		
[0325]	<212> PRT		
[0326]	<213> 人工序列		
[0327]	<220>		
[0328]	<223> 合成		
[0329]	<400> 28		
[0330]	Gln Ser Val Ser Gly Asn		
[0331]	1 5		
[0332]	<210> 29		
[0333]	<211> 9		
[0334]	<212> DNA		
[0335]	<213> 人工序列		
[0336]	<220>		
[0337]	<223> 合成		
[0338]	<400> 29		
[0339]	agtgcattcc 9		
[0340]	<210> 30		
[0341]	<211> 3		
[0342]	<212> PRT		
[0343]	<213> 人工序列		
[0344]	<220>		
[0345]	<223> 合成		
[0346]	<400> 30		
[0347]	Ser Ala Ser		
[0348]	1		
[0349]	<210> 31		
[0350]	<211> 27		

[0351]	<212>	DNA
[0352]	<213>	人工序列
[0353]	<220>	
[0354]	<223>	合成
[0355]	<400>	31
[0356]	cagcagtata ataaatggcc tcggacg	27
[0357]	<210>	32
[0358]	<211>	9
[0359]	<212>	PRT
[0360]	<213>	人工序列
[0361]	<220>	
[0362]	<223>	合成
[0363]	<400>	32
[0364]	Gln Gln Tyr Asn Lys Trp Pro Arg Thr	
[0365]	1	5
[0366]	<210>	33
[0367]	<211>	354
[0368]	<212>	DNA
[0369]	<213>	人工序列
[0370]	<220>	
[0371]	<223>	合成
[0372]	<400>	33
[0373]	caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60
[0374]	tcctgcaaga cttctgggta cacctttacc aactatggta tcacctgggt gcgacaggcc	120
[0375]	cctggacaag gacttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat	180
[0376]	gcacagaatg tccagggcag agtcactatg accacggaca catccacgag cacagcctac	240
[0377]	atggaggtga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaagaagc	300
[0378]	agcatgttac acttccagca ctggggccag ggcaccctgg tcaactgtctc ctca	354
[0379]	<210>	34
[0380]	<211>	118
[0381]	<212>	PRT
[0382]	<213>	人工序列
[0383]	<220>	
[0384]	<223>	合成
[0385]	<400>	34
[0386]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[0387]	1	5 10 15
[0388]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr	
[0389]	20	25 30



[0390]	Gly Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[0391]	35 40 45
[0392]	Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Asn Val
[0393]	50 55 60
[0394]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[0395]	65 70 75 80
[0396]	Met Glu Val Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0397]	85 90 95
[0398]	Ala Arg Arg Ser Ser Met Leu His Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr
[0399]	100 105 110
[0400]	Leu Val Thr Val Ser Ser
[0401]	115
[0402]	<210> 35
[0403]	<211> 24
[0404]	<212> DNA
[0405]	<213> 人工序列
[0406]	<220>
[0407]	<223> 合成
[0408]	<400> 35
[0409]	ggttacacct ttaccaacta tggt 24
[0410]	<210> 36
[0411]	<211> 8
[0412]	<212> PRT
[0413]	<213> 人工序列
[0414]	<220>
[0415]	<223> 合成
[0416]	<400> 36
[0417]	Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly
[0418]	1 5
[0419]	<210> 37
[0420]	<211> 24
[0421]	<212> DNA
[0422]	<213> 人工序列
[0423]	<220>
[0424]	<223> 合成
[0425]	<400> 37
[0426]	atcagcgctt acaatggtaa caca 24
[0427]	<210> 38
[0428]	<211> 8

[0429]	<212>	PRT
[0430]	<213>	人工序列
[0431]	<220>	
[0432]	<223>	合成
[0433]	<400>	38
[0434]	Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr	
[0435]	1	5
[0436]	<210>	39
[0437]	<211>	33
[0438]	<212>	DNA
[0439]	<213>	人工序列
[0440]	<220>	
[0441]	<223>	合成
[0442]	<400>	39
[0443]	gcgagaagaa gcagcatgtt acacttccag cac	33
[0444]	<210>	40
[0445]	<211>	11
[0446]	<212>	PRT
[0447]	<213>	人工序列
[0448]	<220>	
[0449]	<223>	合成
[0450]	<400>	40
[0451]	Ala Arg Arg Ser Ser Met Leu His Phe Gln His	
[0452]	1	5 10
[0453]	<210>	41
[0454]	<211>	339
[0455]	<212>	DNA
[0456]	<213>	人工序列
[0457]	<220>	
[0458]	<223>	合成
[0459]	<400>	41
[0460]	gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc	60
[0461]	atcaactgca agtccagcca gcatgtttta tacgactcca gtaatgagaa ctacttagct	120
[0462]	tggttccagc agaagccagg acagcctcct aaactttctca tttactgggc atctaccgg	180
[0463]	gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc	240
[0464]	atcagcagtc tgcaggtga agatgtggcg gtttattact gtcagcaata ttctagtgt	300
[0465]	ccgtacactt ttggccaggg gaccaagctg gagatcaaa	339
[0466]	<210>	42
[0467]	<211>	113

[0468]	<212>	PRT
[0469]	<213>	人工序列
[0470]	<220>	
[0471]	<223>	合成
[0472]	<400>	42
[0473]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly	
[0474]	1 5 10 15	
[0475]	Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln His Val Leu Tyr Asp	
[0476]	20 25 30	
[0477]	Ser Ser Asn Glu Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln	
[0478]	35 40 45	
[0479]	Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val	
[0480]	50 55 60	
[0481]	Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr	
[0482]	65 70 75 80	
[0483]	Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln	
[0484]	85 90 95	
[0485]	Tyr Ser Ser Ala Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile	
[0486]	100 105 110	
[0487]	Lys	
[0488]	<210>	43
[0489]	<211>	36
[0490]	<212>	DNA
[0491]	<213>	人工序列
[0492]	<220>	
[0493]	<223>	合成
[0494]	<400>	43
[0495]	cagcatgttt tatacgactc cagtaatgag aactac	36
[0496]	<210>	44
[0497]	<211>	12
[0498]	<212>	PRT
[0499]	<213>	人工序列
[0500]	<220>	
[0501]	<223>	合成
[0502]	<400>	44
[0503]	Gln His Val Leu Tyr Asp Ser Ser Asn Glu Asn Tyr	
[0504]	1 5 10	
[0505]	<210>	45
[0506]	<211>	9

[0507] <212> DNA  
[0508] <213> 人工序列  
[0509] <220>  
[0510] <223> 合成  
[0511] <400> 45  
[0512] tgggcatct 9  
[0513] <210> 46  
[0514] <211> 3  
[0515] <212> PRT  
[0516] <213> 人工序列  
[0517] <220>  
[0518] <223> 合成  
[0519] <400> 46  
[0520] Trp Ala Ser  
[0521] 1  
[0522] <210> 47  
[0523] <211> 27  
[0524] <212> DNA  
[0525] <213> 人工序列  
[0526] <220>  
[0527] <223> 合成  
[0528] <400> 47  
[0529] cagcaatatt ctagtgctcc gtacact 27  
[0530] <210> 48  
[0531] <211> 9  
[0532] <212> PRT  
[0533] <213> 人工序列  
[0534] <220>  
[0535] <223> 合成  
[0536] <400> 48  
[0537] Gln Gln Tyr Ser Ser Ala Pro Tyr Thr  
[0538] 1 5  
[0539] <210> 49  
[0540] <211> 354  
[0541] <212> DNA  
[0542] <213> 人工序列  
[0543] <220>  
[0544] <223> 合成  
[0545] <400> 49

[0546] cagctgcagc tgcaggagtc gggcccaggg ctggtgaggc cttcggagac cctgtccctc 60  
 [0547] acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtagtaatt actggtgggg ctggatccgc 120  
 [0548] cagccccag ggaaggggct ggagtggatt ggtagtatct attatagcgg gatcacctac 180  
 [0549] tacaaccgt ccctcaagag tcgagtcacc atatccgcgg acacgtctaa ggaccagttc 240  
 [0550] tccctgaagc tgaggtctgt gaccgccgcg gacacggctg tgtattactg tgcgaaattg 300  
 [0551] gagtggctgc gcttggactt ctggggccag ggaaccacgg tcaccgtctc ctca 354  
 [0552] <210> 50  
 [0553] <211> 118  
 [0554] <212> PRT  
 [0555] <213> 人工序列  
 [0556] <220>  
 [0557] <223> 合成  
 [0558] <400> 50  
 [0559] Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Glu  
 [0560] 1 5 10 15  
 [0561] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser  
 [0562] 20 25 30  
 [0563] Asn Tyr Trp Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 [0564] 35 40 45  
 [0565] Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 [0566] 50 55 60  
 [0567] Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asp Gln Phe  
 [0568] 65 70 75 80  
 [0569] Ser Leu Lys Leu Arg Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 [0570] 85 90 95  
 [0571] Cys Ala Lys Leu Glu Trp Leu Arg Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr  
 [0572] 100 105 110  
 [0573] Thr Val Thr Val Ser Ser  
 [0574] 115  
 [0575] <210> 51  
 [0576] <211> 30  
 [0577] <212> DNA  
 [0578] <213> 人工序列  
 [0579] <220>  
 [0580] <223> 合成  
 [0581] <400> 51  
 [0582] ggtggctcca tcagcagtag taattactgg 30  
 [0583] <210> 52  
 [0584] <211> 10

[0585] <212> PRT  
[0586] <213> 人工序列  
[0587] <220>  
[0588] <223> 合成  
[0589] <400> 52  
[0590] Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Asn Tyr Trp  
[0591] 1 5 10  
[0592] <210> 53  
[0593] <211> 21  
[0594] <212> DNA  
[0595] <213> 人工序列  
[0596] <220>  
[0597] <223> 合成  
[0598] <400> 53  
[0599] atctattata gcgggatcac c 21  
[0600] <210> 54  
[0601] <211> 7  
[0602] <212> PRT  
[0603] <213> 人工序列  
[0604] <220>  
[0605] <223> 合成  
[0606] <400> 54  
[0607] Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr  
[0608] 1 5  
[0609] <210> 55  
[0610] <211> 30  
[0611] <212> DNA  
[0612] <213> 人工序列  
[0613] <220>  
[0614] <223> 合成  
[0615] <400> 55  
[0616] gcgaaattgg agtggctgcg cttggacttc 30  
[0617] <210> 56  
[0618] <211> 10  
[0619] <212> PRT  
[0620] <213> 人工序列  
[0621] <220>  
[0622] <223> 合成  
[0623] <400> 56

[0624]	Ala Lys Leu Glu Trp Leu Arg Leu Asp Phe	
[0625]	1	5 10
[0626]	<210>	57
[0627]	<211>	321
[0628]	<212>	DNA
[0629]	<213>	人工序列
[0630]	<220>	
[0631]	<223>	合成
[0632]	<400>	57
[0633]	gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
[0634]	atcacttgtc gggcgagtca gggtattagt agctggttag tctggtatca gcagaaacca	120
[0635]	gggaaagtcc ccaagctcct gatctatgct gcatccagtt tacaagtggt ggtcccatta	180
[0636]	aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct	240
[0637]	gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaaaagtt tccctctcac cttcggccaa	300
[0638]	gggacacgac tggagattaa a	321
[0639]	<210>	58
[0640]	<211>	107
[0641]	<212>	PRT
[0642]	<213>	人工序列
[0643]	<220>	
[0644]	<223>	合成
[0645]	<400>	58
[0646]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly	
[0647]	1	5 10 15
[0648]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp	
[0649]	20	25 30
[0650]	Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile	
[0651]	35	40 45
[0652]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Leu Arg Phe Ser Gly	
[0653]	50	55 60
[0654]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[0655]	65	70 75 80
[0656]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys Ser Phe Pro Leu	
[0657]	85	90 95
[0658]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys	
[0659]	100	105
[0660]	<210>	59
[0661]	<211>	18
[0662]	<212>	DNA

[0663] <213> 人工序列  
[0664] <220>  
[0665] <223> 合成  
[0666] <400> 59  
[0667] cagggtatta gtagctgg 18  
[0668] <210> 60  
[0669] <211> 6  
[0670] <212> PRT  
[0671] <213> 人工序列  
[0672] <220>  
[0673] <223> 合成  
[0674] <400> 60  
[0675] Gln Gly Ile Ser Ser Trp  
[0676] 1 5  
[0677] <210> 61  
[0678] <211> 9  
[0679] <212> DNA  
[0680] <213> 人工序列  
[0681] <220>  
[0682] <223> 合成  
[0683] <400> 61  
[0684] gctgcatcc 9  
[0685] <210> 62  
[0686] <211> 3  
[0687] <212> PRT  
[0688] <213> 人工序列  
[0689] <220>  
[0690] <223> 合成  
[0691] <400> 62  
[0692] Ala Ala Ser  
[0693] 1  
[0694] <210> 63  
[0695] <211> 27  
[0696] <212> DNA  
[0697] <213> 人工序列  
[0698] <220>  
[0699] <223> 合成  
[0700] <400> 63  
[0701] caacaggcta aaagtttccc tctcacc 27



[0702]	<210> 64
[0703]	<211> 9
[0704]	<212> PRT
[0705]	<213> 人工序列
[0706]	<220>
[0707]	<223> 合成
[0708]	<400> 64
[0709]	Gln Gln Ala Lys Ser Phe Pro Leu Thr
[0710]	1 5
[0711]	<210> 65
[0712]	<211> 369
[0713]	<212> DNA
[0714]	<213> 人工序列
[0715]	<220>
[0716]	<223> 合成
[0717]	<400> 65
[0718]	caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
[0719]	tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggtt ccgccaggct 120
[0720]	ccaggcaagg ggctggagtg ggtgggagtt atatggtctg atggaagtga taaaaagtat 180
[0721]	gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
[0722]	cttcttatga acagcctgag agacgatgac acggctgtgt atcactgtgc gagagagggg 300
[0723]	gggttccttt atagcagctc gtcccacttt gactactggg gccagggaac cctggtcacc 360
[0724]	gtctcctca 369
[0725]	<210> 66
[0726]	<211> 123
[0727]	<212> PRT
[0728]	<213> 人工序列
[0729]	<220>
[0730]	<223> 合成
[0731]	<400> 66
[0732]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
[0733]	1 5 10 15
[0734]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[0735]	20 25 30
[0736]	Gly Met His Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0737]	35 40 45
[0738]	Gly Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asp Lys Lys Tyr Ala Asp Ser Val
[0739]	50 55 60
[0740]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

[0741]	65	70	75	80
[0742]	Leu Leu Met Asn Ser Leu Arg Asp Asp Asp Thr Ala Val Tyr His Cys			
[0743]	85	90	95	
[0744]	Ala Arg Glu Gly Gly Phe Leu Tyr Ser Ser Ser Ser His Phe Asp Tyr			
[0745]	100	105	110	
[0746]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[0747]	115	120		
[0748]	<210> 67			
[0749]	<211> 24			
[0750]	<212> DNA			
[0751]	<213> 人工序列			
[0752]	<220>			
[0753]	<223> 合成			
[0754]	<400> 67			
[0755]	ggattcacct tcagtagcta tggc 24			
[0756]	<210> 68			
[0757]	<211> 8			
[0758]	<212> PRT			
[0759]	<213> 人工序列			
[0760]	<220>			
[0761]	<223> 合成			
[0762]	<400> 68			
[0763]	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly			
[0764]	1	5		
[0765]	<210> 69			
[0766]	<211> 24			
[0767]	<212> DNA			
[0768]	<213> 人工序列			
[0769]	<220>			
[0770]	<223> 合成			
[0771]	<400> 69			
[0772]	atatggtctg atggaagtga taaa 24			
[0773]	<210> 70			
[0774]	<211> 8			
[0775]	<212> PRT			
[0776]	<213> 人工序列			
[0777]	<220>			
[0778]	<223> 合成			
[0779]	<400> 70			

[0780]	Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asp Lys
[0781]	1 5
[0782]	<210> 71
[0783]	<211> 48
[0784]	<212> DNA
[0785]	<213> 人工序列
[0786]	<220>
[0787]	<223> 合成
[0788]	<400> 71
[0789]	gcgagagagg gggggttcct ttatagcagc tcgtcccact ttgactac 48
[0790]	<210> 72
[0791]	<211> 16
[0792]	<212> PRT
[0793]	<213> 人工序列
[0794]	<220>
[0795]	<223> 合成
[0796]	<400> 72
[0797]	Ala Arg Glu Gly Gly Phe Leu Tyr Ser Ser Ser Ser His Phe Asp Tyr
[0798]	1 5 10 15
[0799]	<210> 73
[0800]	<211> 321
[0801]	<212> DNA
[0802]	<213> 人工序列
[0803]	<220>
[0804]	<223> 合成
[0805]	<400> 73
[0806]	gccatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
[0807]	atcacttgcc ggacaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
[0808]	gggaaagccc ctaaactcct gatctttgct gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
[0809]	aggttcagcg gcagtggatc tggcacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
[0810]	gaagattttg caatttatta ctgtctacaa gattacaagt acccattcac tttcggcgga 300
[0811]	gggaccaagg tggagatcaa a 321
[0812]	<210> 74
[0813]	<211> 107
[0814]	<212> PRT
[0815]	<213> 人工序列
[0816]	<220>
[0817]	<223> 合成
[0818]	<400> 74

[0819]	Ala Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0820]	1 5 10 15
[0821]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
[0822]	20 25 30
[0823]	Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[0824]	35 40 45
[0825]	Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0826]	50 55 60
[0827]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0828]	65 70 75 80
[0829]	Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Lys Tyr Pro Phe
[0830]	85 90 95
[0831]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[0832]	100 105
[0833]	<210> 75
[0834]	<211> 18
[0835]	<212> DNA
[0836]	<213> 人工序列
[0837]	<220>
[0838]	<223> 合成
[0839]	<400> 75
[0840]	cagggcatta gaaatgat 18
[0841]	<210> 76
[0842]	<211> 6
[0843]	<212> PRT
[0844]	<213> 人工序列
[0845]	<220>
[0846]	<223> 合成
[0847]	<400> 76
[0848]	Gln Gly Ile Arg Asn Asp
[0849]	1 5
[0850]	<210> 77
[0851]	<211> 9
[0852]	<212> DNA
[0853]	<213> 人工序列
[0854]	<220>
[0855]	<223> 合成
[0856]	<400> 77
[0857]	gctgcatcc 9

[0858]	<210> 78
[0859]	<211> 3
[0860]	<212> PRT
[0861]	<213> 人工序列
[0862]	<220>
[0863]	<223> 合成
[0864]	<400> 78
[0865]	Ala Ala Ser
[0866]	1
[0867]	<210> 79
[0868]	<211> 27
[0869]	<212> DNA
[0870]	<213> 人工序列
[0871]	<220>
[0872]	<223> 合成
[0873]	<400> 79
[0874]	ctacaagatt acaagtaccc attcact 27
[0875]	<210> 80
[0876]	<211> 9
[0877]	<212> PRT
[0878]	<213> 人工序列
[0879]	<220>
[0880]	<223> 合成
[0881]	<400> 80
[0882]	Leu Gln Asp Tyr Lys Tyr Pro Phe Thr
[0883]	1 5
[0884]	<210> 81
[0885]	<211> 363
[0886]	<212> DNA
[0887]	<213> 人工序列
[0888]	<220>
[0889]	<223> 合成
[0890]	<400> 81
[0891]	caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
[0892]	tcctgtgcag cctctgggtt caccttcagt tcctatggcc tgcactgggt ccgccaggct 120
[0893]	ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcagatg atggaagtta taaattctat 180
[0894]	gcagactcca tgaagggccg attcaccatc tctagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
[0895]	ctgcaaatac acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagatcgg 300
[0896]	ggtcgcagtg gctggtacta ctttgactac tggggccagg gaaccctggc cactgtctcc 360

[0897]	tca 363
[0898]	<210> 82
[0899]	<211> 121
[0900]	<212> PRT
[0901]	<213> 人工序列
[0902]	<220>
[0903]	<223> 合成
[0904]	<400> 82
[0905]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
[0906]	1 5 10 15
[0907]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[0908]	20 25 30
[0909]	Gly Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0910]	35 40 45
[0911]	Ala Val Ile Ser Asp Asp Gly Ser Tyr Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Met
[0912]	50 55 60
[0913]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[0914]	65 70 75 80
[0915]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0916]	85 90 95
[0917]	Ala Lys Asp Arg Gly Arg Ser Gly Trp Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
[0918]	100 105 110
[0919]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0920]	115 120
[0921]	<210> 83
[0922]	<211> 24
[0923]	<212> DNA
[0924]	<213> 人工序列
[0925]	<220>
[0926]	<223> 合成
[0927]	<400> 83
[0928]	gggttcacct tcagttccta tggc 24
[0929]	<210> 84
[0930]	<211> 8
[0931]	<212> PRT
[0932]	<213> 人工序列
[0933]	<220>
[0934]	<223> 合成
[0935]	<400> 84

[0936]	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
[0937]	1 5
[0938]	<210> 85
[0939]	<211> 24
[0940]	<212> DNA
[0941]	<213> 人工序列
[0942]	<220>
[0943]	<223> 合成
[0944]	<400> 85
[0945]	atatcagatg atggaagtta taaa 24
[0946]	<210> 86
[0947]	<211> 8
[0948]	<212> PRT
[0949]	<213> 人工序列
[0950]	<220>
[0951]	<223> 合成
[0952]	<400> 86
[0953]	Ile Ser Asp Asp Gly Ser Tyr Lys
[0954]	1 5
[0955]	<210> 87
[0956]	<211> 42
[0957]	<212> DNA
[0958]	<213> 人工序列
[0959]	<220>
[0960]	<223> 合成
[0961]	<400> 87
[0962]	gcgaaagatc ggggtcgcag tggctggtac tactttgact ac 42
[0963]	<210> 88
[0964]	<211> 14
[0965]	<212> PRT
[0966]	<213> 人工序列
[0967]	<220>
[0968]	<223> 合成
[0969]	<400> 88
[0970]	Ala Lys Asp Arg Gly Arg Ser Gly Trp Tyr Tyr Phe Asp Tyr
[0971]	1 5 10
[0972]	<210> 89
[0973]	<211> 321
[0974]	<212> DNA

- [0975] <213> 人工序列
- [0976] <220>
- [0977] <223> 合成
- [0978] <400> 89
- [0979] gacatccaga tgacccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtagggga cagagtcacc 60
- [0980] atcacttgcc gggccagtca gaggattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120
- [0981] gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
- [0982] aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
- [0983] gatgattttg caacttatta ctgccaacag tatgatagtt attctcggac gttcggccaa 300
- [0984] gggaccaagg tggaatcaa a 321
- [0985] <210> 90
- [0986] <211> 107
- [0987] <212> PRT
- [0988] <213> 人工序列
- [0989] <220>
- [0990] <223> 合成
- [0991] <400> 90
- [0992] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
- [0993] 1 5 10 15
- [0994] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
- [0995] 20 25 30
- [0996] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
- [0997] 35 40 45
- [0998] Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
- [0999] 50 55 60
- [1000] Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
- [1001] 65 70 75 80
- [1002] Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Ser Arg
- [1003] 85 90 95
- [1004] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
- [1005] 100 105
- [1006] <210> 91
- [1007] <211> 18
- [1008] <212> DNA
- [1009] <213> 人工序列
- [1010] <220>
- [1011] <223> 合成
- [1012] <400> 91
- [1013] cagagtatta gtagctgg 18



---

[1014]	<210> 92
[1015]	<211> 6
[1016]	<212> PRT
[1017]	<213> 人工序列
[1018]	<220>
[1019]	<223> 合成
[1020]	<400> 92
[1021]	Gln Ser Ile Ser Ser Trp
[1022]	1 5
[1023]	<210> 93
[1024]	<211> 9
[1025]	<212> DNA
[1026]	<213> 人工序列
[1027]	<220>
[1028]	<223> 合成
[1029]	<400> 93
[1030]	aaggcgtct 9
[1031]	<210> 94
[1032]	<211> 3
[1033]	<212> PRT
[1034]	<213> 人工序列
[1035]	<220>
[1036]	<223> 合成
[1037]	<400> 94
[1038]	Lys Ala Ser
[1039]	1
[1040]	<210> 95
[1041]	<211> 27
[1042]	<212> DNA
[1043]	<213> 人工序列
[1044]	<220>
[1045]	<223> 合成
[1046]	<400> 95
[1047]	caacagtatg atagttattc tcggacg 27
[1048]	<210> 96
[1049]	<211> 9
[1050]	<212> PRT
[1051]	<213> 人工序列
[1052]	<220>

[1053]	<223> 合成
[1054]	<400> 96
[1055]	Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Ser Arg Thr
[1056]	1 5
[1057]	<210> 97
[1058]	<211> 357
[1059]	<212> DNA
[1060]	<213> 人工序列
[1061]	<220>
[1062]	<223> 合成
[1063]	<400> 97
[1064]	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac ttggtacagc ctggagggtc cctgagactc 60
[1065]	tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatgaaa tgaactgggt ccgccaggct 120
[1066]	ccagggaagg gtcttgagtg ggtttcattc attagtata gtagtagtaa catatactac 180
[1067]	gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa gtcactgtat 240
[1068]	cttcaaatga ccagcctgag ggccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagaagcc 300
[1069]	attggcagca cctcctttga caactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357
[1070]	<210> 98
[1071]	<211> 119
[1072]	<212> PRT
[1073]	<213> 人工序列
[1074]	<220>
[1075]	<223> 合成
[1076]	<400> 98
[1077]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1078]	1 5 10 15
[1079]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[1080]	20 25 30
[1081]	Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1082]	35 40 45
[1083]	Ser Phe Ile Ser Asp Ser Ser Ser Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1084]	50 55 60
[1085]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Ser Leu Tyr
[1086]	65 70 75 80
[1087]	Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1088]	85 90 95
[1089]	Ala Arg Glu Ala Ile Gly Ser Thr Ser Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly
[1090]	100 105 110
[1091]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[1092]	115
[1093]	<210> 99
[1094]	<211> 24
[1095]	<212> DNA
[1096]	<213> 人工序列
[1097]	<220>
[1098]	<223> 合成
[1099]	<400> 99
[1100]	ggattcacct tcagtagtta tgaa 24
[1101]	<210> 100
[1102]	<211> 8
[1103]	<212> PRT
[1104]	<213> 人工序列
[1105]	<220>
[1106]	<223> 合成
[1107]	<400> 100
[1108]	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Glu
[1109]	1 5
[1110]	<210> 101
[1111]	<211> 24
[1112]	<212> DNA
[1113]	<213> 人工序列
[1114]	<220>
[1115]	<223> 合成
[1116]	<400> 101
[1117]	attagtgata gtagtagtaa cata 24
[1118]	<210> 102
[1119]	<211> 8
[1120]	<212> PRT
[1121]	<213> 人工序列
[1122]	<220>
[1123]	<223> 合成
[1124]	<400> 102
[1125]	Ile Ser Asp Ser Ser Ser Asn Ile
[1126]	1 5
[1127]	<210> 103
[1128]	<211> 36
[1129]	<212> DNA
[1130]	<213> 人工序列

[1131]	<220>
[1132]	<223> 合成
[1133]	<400> 103
[1134]	gcgagagaag ccattggcag cacctccttt gacaac 36
[1135]	<210> 104
[1136]	<211> 12
[1137]	<212> PRT
[1138]	<213> 人工序列
[1139]	<220>
[1140]	<223> 合成
[1141]	<400> 104
[1142]	Ala Arg Glu Ala Ile Gly Ser Thr Ser Phe Asp Asn
[1143]	1 5 10
[1144]	<210> 105
[1145]	<211> 321
[1146]	<212> DNA
[1147]	<213> 人工序列
[1148]	<220>
[1149]	<223> 合成
[1150]	<400> 105
[1151]	gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
[1152]	ctctcctgca gggccagtca gagggttagc agcagtttag cctggtacca gcagaaacct 120
[1153]	ggccaggctc ccaggcgctt catctatagt gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180
[1154]	aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
[1155]	gaagattttg caatttatta ctgtcatcaa tataataact ggcctctcac ttccggcgga 300
[1156]	gggaccaagg tggagatcaa a 321
[1157]	<210> 106
[1158]	<211> 107
[1159]	<212> PRT
[1160]	<213> 人工序列
[1161]	<220>
[1162]	<223> 合成
[1163]	<400> 106
[1164]	Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
[1165]	1 5 10 15
[1166]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
[1167]	20 25 30
[1168]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Arg Leu Ile
[1169]	35 40 45

[1170]	Tyr Ser Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
[1171]	50 55 60
[1172]	Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
[1173]	65 70 75 80
[1174]	Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu
[1175]	85 90 95
[1176]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[1177]	100 105
[1178]	<210> 107
[1179]	<211> 18
[1180]	<212> DNA
[1181]	<213> 人工序列
[1182]	<220>
[1183]	<223> 合成
[1184]	<400> 107
[1185]	cagagtgtta gcagcagt 18
[1186]	<210> 108
[1187]	<211> 6
[1188]	<212> PRT
[1189]	<213> 人工序列
[1190]	<220>
[1191]	<223> 合成
[1192]	<400> 108
[1193]	Gln Ser Val Ser Ser Ser
[1194]	1 5
[1195]	<210> 109
[1196]	<211> 9
[1197]	<212> DNA
[1198]	<213> 人工序列
[1199]	<220>
[1200]	<223> 合成
[1201]	<400> 109
[1202]	agtgcattcc 9
[1203]	<210> 110
[1204]	<211> 3
[1205]	<212> PRT
[1206]	<213> 人工序列
[1207]	<220>
[1208]	<223> 合成

[1209]	<400> 110
[1210]	Ser Ala Ser
[1211]	1
[1212]	<210> 111
[1213]	<211> 27
[1214]	<212> DNA
[1215]	<213> 人工序列
[1216]	<220>
[1217]	<223> 合成
[1218]	<400> 111
[1219]	catcaatata ataactggcc tctcact 27
[1220]	<210> 112
[1221]	<211> 9
[1222]	<212> PRT
[1223]	<213> 人工序列
[1224]	<220>
[1225]	<223> 合成
[1226]	<400> 112
[1227]	His Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr
[1228]	1 5
[1229]	<210> 113
[1230]	<211> 357
[1231]	<212> DNA
[1232]	<213> 人工序列
[1233]	<220>
[1234]	<223> 合成
[1235]	<400> 113
[1236]	gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
[1237]	tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcagt agcaactcca tgagctgggt ccgccaggct 120
[1238]	ccaggggagg ggctggagtg ggtctcagtt attttttagcg gtggtatcac atactactca 180
[1239]	gactccgtga agggccgatt caccatctcc agacacaatt ccaagaacac gctgtatctt 240
[1240]	caaatgaaca gcctgagaac tgaggacacg gccgtatatt actgtgcgcg tcattctaac 300
[1241]	tggaactttg atgcttttga tatctggggc caagggacaa tggtcaccgt ctcttca 357
[1242]	<210> 114
[1243]	<211> 119
[1244]	<212> PRT
[1245]	<213> 人工序列
[1246]	<220>
[1247]	<223> 合成

[1248]	<400> 114
[1249]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1250]	1 5 10 15
[1251]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn
[1252]	20 25 30
[1253]	Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Val
[1254]	35 40 45
[1255]	Ser Val Ile Phe Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ser Asp Ser Val Lys
[1256]	50 55 60
[1257]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
[1258]	65 70 75 80
[1259]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
[1260]	85 90 95
[1261]	Arg His Ser Asn Trp Asn Phe Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
[1262]	100 105 110
[1263]	Thr Met Val Thr Val Ser Ser
[1264]	115
[1265]	<210> 115
[1266]	<211> 24
[1267]	<212> DNA
[1268]	<213> 人工序列
[1269]	<220>
[1270]	<223> 合成
[1271]	<400> 115
[1272]	gggttcaccg tcagtagcaa ctcc 24
[1273]	<210> 116
[1274]	<211> 8
[1275]	<212> PRT
[1276]	<213> 人工序列
[1277]	<220>
[1278]	<223> 合成
[1279]	<400> 116
[1280]	Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn Ser
[1281]	1 5
[1282]	<210> 117
[1283]	<211> 21
[1284]	<212> DNA
[1285]	<213> 人工序列
[1286]	<220>

[1287]	<223> 合成
[1288]	<400> 117
[1289]	atttttagcg gtggtatcac a 21
[1290]	<210> 118
[1291]	<211> 7
[1292]	<212> PRT
[1293]	<213> 人工序列
[1294]	<220>
[1295]	<223> 合成
[1296]	<400> 118
[1297]	Ile Phe Ser Gly Gly Ile Thr
[1298]	1 5
[1299]	<210> 119
[1300]	<211> 39
[1301]	<212> DNA
[1302]	<213> 人工序列
[1303]	<220>
[1304]	<223> 合成
[1305]	<400> 119
[1306]	gcgcgtcatt ctaactggaa ctttgatgct tttgatatc 39
[1307]	<210> 120
[1308]	<211> 13
[1309]	<212> PRT
[1310]	<213> 人工序列
[1311]	<220>
[1312]	<223> 合成
[1313]	<400> 120
[1314]	Ala Arg His Ser Asn Trp Asn Phe Asp Ala Phe Asp Ile
[1315]	1 5 10
[1316]	<210> 121
[1317]	<211> 321
[1318]	<212> DNA
[1319]	<213> 人工序列
[1320]	<220>
[1321]	<223> 合成
[1322]	<400> 121
[1323]	gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
[1324]	atcacttgcc gggcaagtca gagctttgac acctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
[1325]	gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180



[1326]	aggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct	240
[1327]	gaagattttg gaacttacta ttgtcaacag agttacagta tcccgtacac ttttggccag	300
[1328]	gggaccaagc tggagatcaa a	321
[1329]	<210>	122
[1330]	<211>	107
[1331]	<212>	PRT
[1332]	<213>	人工序列
[1333]	<220>	
[1334]	<223>	合成
[1335]	<400>	122
[1336]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[1337]	1 5 10 15	
[1338]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Phe Asp Thr Tyr	
[1339]	20 25 30	
[1340]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile	
[1341]	35 40 45	
[1342]	Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[1343]	50 55 60	
[1344]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[1345]	65 70 75 80	
[1346]	Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Tyr	
[1347]	85 90 95	
[1348]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
[1349]	100 105	
[1350]	<210>	123
[1351]	<211>	18
[1352]	<212>	DNA
[1353]	<213>	人工序列
[1354]	<220>	
[1355]	<223>	合成
[1356]	<400>	123
[1357]	cagagctttg acacctat	18
[1358]	<210>	124
[1359]	<211>	6
[1360]	<212>	PRT
[1361]	<213>	人工序列
[1362]	<220>	
[1363]	<223>	合成
[1364]	<400>	124

[1365]	Gln Ser Phe Asp Thr Tyr
[1366]	1 5
[1367]	<210> 125
[1368]	<211> 9
[1369]	<212> DNA
[1370]	<213> 人工序列
[1371]	<220>
[1372]	<223> 合成
[1373]	<400> 125
[1374]	gctacatcc 9
[1375]	<210> 126
[1376]	<211> 3
[1377]	<212> PRT
[1378]	<213> 人工序列
[1379]	<220>
[1380]	<223> 合成
[1381]	<400> 126
[1382]	Ala Thr Ser
[1383]	1
[1384]	<210> 127
[1385]	<211> 27
[1386]	<212> DNA
[1387]	<213> 人工序列
[1388]	<220>
[1389]	<223> 合成
[1390]	<400> 127
[1391]	caacagagtt acagtatccc gtacact 27
[1392]	<210> 128
[1393]	<211> 9
[1394]	<212> PRT
[1395]	<213> 人工序列
[1396]	<220>
[1397]	<223> 合成
[1398]	<400> 128
[1399]	Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Tyr Thr
[1400]	1 5
[1401]	<210> 129
[1402]	<211> 354
[1403]	<212> DNA

- [1404] <213> 人工序列
- [1405] <220>
- [1406] <223> 合成
- [1407] <400> 129
- [1408] caggtgcagc tggtagctc tggggctgag gtgaggaagc ctggggcctc agtgaaggctc 60
- [1409] tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactatc tacactgggt gcgacaggcc 120
- [1410] cctggacaag ggcttgagtg gatgggattg atcaacccta atactgggtg cacaaacttt 180
- [1411] gcacagaaat ttcagggcag ggtcaccatg accagggact cgtcaatcag cgcagcctac 240
- [1412] atggaactga gcaggtgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagacaacac 300
- [1413] tggaaccgtt attttgacaa ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354
- [1414] <210> 130
- [1415] <211> 118
- [1416] <212> PRT
- [1417] <213> 人工序列
- [1418] <220>
- [1419] <223> 合成
- [1420] <400> 130
- [1421] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Lys Pro Gly Ala
- [1422] 1 5 10 15
- [1423] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
- [1424] 20 25 30
- [1425] Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
- [1426] 35 40 45
- [1427] Gly Leu Ile Asn Pro Asn Thr Gly Gly Thr Asn Phe Ala Gln Lys Phe
- [1428] 50 55 60
- [1429] Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Ser Ser Ile Ser Ala Ala Tyr
- [1430] 65 70 75 80
- [1431] Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
- [1432] 85 90 95
- [1433] Ala Arg Gln His Trp Asn Arg Tyr Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr
- [1434] 100 105 110
- [1435] Leu Val Thr Val Ser Ser
- [1436] 115
- [1437] <210> 131
- [1438] <211> 24
- [1439] <212> DNA
- [1440] <213> 人工序列
- [1441] <220>
- [1442] <223> 合成

- [1443] <400> 131  
[1444] ggatacacct tcaccggcta ctat 24  
[1445] <210> 132  
[1446] <211> 8  
[1447] <212> PRT  
[1448] <213> 人工序列  
[1449] <220>  
[1450] <223> 合成  
[1451] <400> 132  
[1452] Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr  
[1453] 1 5  
[1454] <210> 133  
[1455] <211> 24  
[1456] <212> DNA  
[1457] <213> 人工序列  
[1458] <220>  
[1459] <223> 合成  
[1460] <400> 133  
[1461] atcaacccta atactggtgg caca 24  
[1462] <210> 134  
[1463] <211> 8  
[1464] <212> PRT  
[1465] <213> 人工序列  
[1466] <220>  
[1467] <223> 合成  
[1468] <400> 134  
[1469] Ile Asn Pro Asn Thr Gly Gly Thr  
[1470] 1 5  
[1471] <210> 135  
[1472] <211> 33  
[1473] <212> DNA  
[1474] <213> 人工序列  
[1475] <220>  
[1476] <223> 合成  
[1477] <400> 135  
[1478] gcgagacaac actggaaccg ttatitttgac aac 33  
[1479] <210> 136  
[1480] <211> 11  
[1481] <212> PRT

[1482]	<213>	人工序列
[1483]	<220>	
[1484]	<223>	合成
[1485]	<400>	136
[1486]	Ala Arg Gln His Trp Asn Arg Tyr Phe Asp Asn	
[1487]	1	5 10
[1488]	<210>	137
[1489]	<211>	321
[1490]	<212>	DNA
[1491]	<213>	人工序列
[1492]	<220>	
[1493]	<223>	合成
[1494]	<400>	137
[1495]	gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcct ctgttggaga cagagtcacc	60
[1496]	atcacttgcc gggccagtca gagggttggt aactgggttg cctggtatca gcagaaacca	120
[1497]	gggaaagccc ctaaactcct gatccaagag gcgtccagta tagaaagtgg ggtcccatca	180
[1498]	aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctta tcgtcagcag cctgcagcct	240
[1499]	gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtggac gttcggccac	300
[1500]	gggaccaagg tggaatcaa a	321
[1501]	<210>	138
[1502]	<211>	107
[1503]	<212>	PRT
[1504]	<213>	人工序列
[1505]	<220>	
[1506]	<223>	合成
[1507]	<400>	138
[1508]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[1509]	1	5 10 15
[1510]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Asn Trp	
[1511]	20	25 30
[1512]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[1513]	35	40 45
[1514]	Gln Glu Ala Ser Ser Ile Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[1515]	50	55 60
[1516]	Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Ile Val Ser Ser Leu Gln Pro	
[1517]	65	70 75 80
[1518]	Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp	
[1519]	85	90 95
[1520]	Thr Phe Gly His Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	

[1521]	100	105
[1522]	<210> 139	
[1523]	<211> 18	
[1524]	<212> DNA	
[1525]	<213> 人工序列	
[1526]	<220>	
[1527]	<223> 合成	
[1528]	<400> 139	
[1529]	cagagtgttg gtaactgg 18	
[1530]	<210> 140	
[1531]	<211> 6	
[1532]	<212> PRT	
[1533]	<213> 人工序列	
[1534]	<220>	
[1535]	<223> 合成	
[1536]	<400> 140	
[1537]	Gln Ser Val Gly Asn Trp	
[1538]	1 5	
[1539]	<210> 141	
[1540]	<211> 9	
[1541]	<212> DNA	
[1542]	<213> 人工序列	
[1543]	<220>	
[1544]	<223> 合成	
[1545]	<400> 141	
[1546]	gaggcgtcc 9	
[1547]	<210> 142	
[1548]	<211> 3	
[1549]	<212> PRT	
[1550]	<213> 人工序列	
[1551]	<220>	
[1552]	<223> 合成	
[1553]	<400> 142	
[1554]	Glu Ala Ser	
[1555]	1	
[1556]	<210> 143	
[1557]	<211> 27	
[1558]	<212> DNA	
[1559]	<213> 人工序列	

[1560]	<220>
[1561]	<223> 合成
[1562]	<400> 143
[1563]	caacagtata atagttattc gtggacg 27
[1564]	<210> 144
[1565]	<211> 9
[1566]	<212> PRT
[1567]	<213> 人工序列
[1568]	<220>
[1569]	<223> 合成
[1570]	<400> 144
[1571]	Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp Thr
[1572]	1 5
[1573]	<210> 145
[1574]	<211> 348
[1575]	<212> DNA
[1576]	<213> 人工序列
[1577]	<220>
[1578]	<223> 合成
[1579]	<400> 145
[1580]	caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
[1581]	acctgctctg tctctggtgg ctccatcact aattacttct ggacctggat ccggcagtcc 120
[1582]	ccagggaagg gactggaatg gattgggtat atctattaca gtggggggcac caactataac 180
[1583]	ccctccctca agagtcgagt caccatatca atagacacgt ccaagaacca attctccctg 240
[1584]	aatatgaatt ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtctatt actgtgcggg gagctactac 300
[1585]	tacggtgtgg acgtctgggg ccaagggacc acggtcaccg tctcctca 348
[1586]	<210> 146
[1587]	<211> 116
[1588]	<212> PRT
[1589]	<213> 人工序列
[1590]	<220>
[1591]	<223> 合成
[1592]	<400> 146
[1593]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
[1594]	1 5 10 15
[1595]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Gly Ser Ile Thr Asn Tyr
[1596]	20 25 30
[1597]	Phe Trp Thr Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
[1598]	35 40 45

[1599]	Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
[1600]	50 55 60
[1601]	Ser Arg Val Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
[1602]	65 70 75 80
[1603]	Asn Met Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
[1604]	85 90 95
[1605]	Gly Ser Tyr Tyr Tyr Gly Val Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
[1606]	100 105 110
[1607]	Thr Val Ser Ser
[1608]	115
[1609]	<210> 147
[1610]	<211> 24
[1611]	<212> DNA
[1612]	<213> 人工序列
[1613]	<220>
[1614]	<223> 合成
[1615]	<400> 147
[1616]	ggtggctcca tcactaatta cttc 24
[1617]	<210> 148
[1618]	<211> 8
[1619]	<212> PRT
[1620]	<213> 人工序列
[1621]	<220>
[1622]	<223> 合成
[1623]	<400> 148
[1624]	Gly Gly Ser Ile Thr Asn Tyr Phe
[1625]	1 5
[1626]	<210> 149
[1627]	<211> 21
[1628]	<212> DNA
[1629]	<213> 人工序列
[1630]	<220>
[1631]	<223> 合成
[1632]	<400> 149
[1633]	atctattaca gtgggggcac c 21
[1634]	<210> 150
[1635]	<211> 7
[1636]	<212> PRT
[1637]	<213> 人工序列



[1638]	<220>
[1639]	<223> 合成
[1640]	<400> 150
[1641]	Ile Tyr Tyr Ser Gly Gly Thr
[1642]	1 5
[1643]	<210> 151
[1644]	<211> 30
[1645]	<212> DNA
[1646]	<213> 人工序列
[1647]	<220>
[1648]	<223> 合成
[1649]	<400> 151
[1650]	gcggggagct actactacgg tgtggacgtc 30
[1651]	<210> 152
[1652]	<211> 10
[1653]	<212> PRT
[1654]	<213> 人工序列
[1655]	<220>
[1656]	<223> 合成
[1657]	<400> 152
[1658]	Ala Gly Ser Tyr Tyr Tyr Gly Val Asp Val
[1659]	1 5 10
[1660]	<210> 153
[1661]	<211> 321
[1662]	<212> DNA
[1663]	<213> 人工序列
[1664]	<220>
[1665]	<223> 合成
[1666]	<400> 153
[1667]	gaaatttgtt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
[1668]	ctctcctgca gggccagtca gagtattaaa agcttcttag cctggtaccg acagaaacct 120
[1669]	ggccaggctc ccagactcct catctatgat gcatccaaca ggcccactgg catcccagcc 180
[1670]	aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttactctca ccatcaacag cctagagtct 240
[1671]	gaagattttg cagtttattt ctgtcagcag cgtaacaact ggccattcac tttcggccct 300
[1672]	gggaccaaag tggatatcaa a 321
[1673]	<210> 154
[1674]	<211> 107
[1675]	<212> PRT
[1676]	<213> 人工序列

[1677]	<220>
[1678]	<223> 合成
[1679]	<400> 154
[1680]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[1681]	1 5 10 15
[1682]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Lys Ser Phe
[1683]	20 25 30
[1684]	Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
[1685]	35 40 45
[1686]	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Pro Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
[1687]	50 55 60
[1688]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ser
[1689]	65 70 75 80
[1690]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Arg Asn Asn Trp Pro Phe
[1691]	85 90 95
[1692]	Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
[1693]	100 105
[1694]	<210> 155
[1695]	<211> 18
[1696]	<212> DNA
[1697]	<213> 人工序列
[1698]	<220>
[1699]	<223> 合成
[1700]	<400> 155
[1701]	cagagtatta aaagcttc 18
[1702]	<210> 156
[1703]	<211> 6
[1704]	<212> PRT
[1705]	<213> 人工序列
[1706]	<220>
[1707]	<223> 合成
[1708]	<400> 156
[1709]	Gln Ser Ile Lys Ser Phe
[1710]	1 5
[1711]	<210> 157
[1712]	<211> 9
[1713]	<212> DNA
[1714]	<213> 人工序列
[1715]	<220>

[1716]	<223> 合成
[1717]	<400> 157
[1718]	gatgcatcc 9
[1719]	<210> 158
[1720]	<211> 3
[1721]	<212> PRT
[1722]	<213> 人工序列
[1723]	<220>
[1724]	<223> 合成
[1725]	<400> 158
[1726]	Asp Ala Ser
[1727]	1
[1728]	<210> 159
[1729]	<211> 27
[1730]	<212> DNA
[1731]	<213> 人工序列
[1732]	<220>
[1733]	<223> 合成
[1734]	<400> 159
[1735]	cagcagcgta acaactggcc attcact 27
[1736]	<210> 160
[1737]	<211> 9
[1738]	<212> PRT
[1739]	<213> 人工序列
[1740]	<220>
[1741]	<223> 合成
[1742]	<400> 160
[1743]	Gln Gln Arg Asn Asn Trp Pro Phe Thr
[1744]	1 5
[1745]	<210> 161
[1746]	<211> 375
[1747]	<212> DNA
[1748]	<213> 人工序列
[1749]	<220>
[1750]	<223> 合成
[1751]	<400> 161
[1752]	caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60
[1753]	tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gactactaca tgaactggat ccgccagget 120
[1754]	ccaggaaagg ggctagagtg gatttcactc attagtagta gtggtagtgc catatattac 180

[1755] tcagactctg tgaagggccg attcaccata tccagggaca atgccaggaa atcactgtat 240  
 [1756] ctgcaagtga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gagagatcgg 300  
 [1757] ggggagtggg ccctcggagc ctactactac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360  
 [1758] gtcaccgtct cctca 375  
 [1759] <210> 162  
 [1760] <211> 125  
 [1761] <212> PRT  
 [1762] <213> 人工序列  
 [1763] <220>  
 [1764] <223> 合成  
 [1765] <400> 162  
 [1766] Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly  
 [1767] 1 5 10 15  
 [1768] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
 [1769] 20 25 30  
 [1770] Tyr Met Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 [1771] 35 40 45  
 [1772] Ser Leu Ile Ser Ser Ser Gly Ser Ala Ile Tyr Tyr Ser Asp Ser Val  
 [1773] 50 55 60  
 [1774] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Lys Ser Leu Tyr  
 [1775] 65 70 75 80  
 [1776] Leu Gln Val Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [1777] 85 90 95  
 [1778] Ala Arg Asp Arg Gly Glu Trp Ala Leu Gly Ala Tyr Tyr Tyr Gly Leu  
 [1779] 100 105 110  
 [1780] Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 [1781] 115 120 125  
 [1782] <210> 163  
 [1783] <211> 24  
 [1784] <212> DNA  
 [1785] <213> 人工序列  
 [1786] <220>  
 [1787] <223> 合成  
 [1788] <400> 163  
 [1789] ggattcacct tcagtgacta ctac 24  
 [1790] <210> 164  
 [1791] <211> 8  
 [1792] <212> PRT  
 [1793] <213> 人工序列

[1794]	<220>
[1795]	<223> 合成
[1796]	<400> 164
[1797]	Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
[1798]	1 5
[1799]	<210> 165
[1800]	<211> 24
[1801]	<212> DNA
[1802]	<213> 人工序列
[1803]	<220>
[1804]	<223> 合成
[1805]	<400> 165
[1806]	attagtagta gtggtagtgc cata 24
[1807]	<210> 166
[1808]	<211> 8
[1809]	<212> PRT
[1810]	<213> 人工序列
[1811]	<220>
[1812]	<223> 合成
[1813]	<400> 166
[1814]	Ile Ser Ser Ser Gly Ser Ala Ile
[1815]	1 5
[1816]	<210> 167
[1817]	<211> 54
[1818]	<212> DNA
[1819]	<213> 人工序列
[1820]	<220>
[1821]	<223> 合成
[1822]	<400> 167
[1823]	gcgagagatc ggggggagtg ggccctcgga gcctactact acggtttgga cgtc 54
[1824]	<210> 168
[1825]	<211> 18
[1826]	<212> PRT
[1827]	<213> 人工序列
[1828]	<220>
[1829]	<223> 合成
[1830]	<400> 168
[1831]	Ala Arg Asp Arg Gly Glu Trp Ala Leu Gly Ala Tyr Tyr Tyr Gly Leu
[1832]	1 5 10 15

[1833]	Asp Val
[1834]	<210> 169
[1835]	<211> 336
[1836]	<212> DNA
[1837]	<213> 人工序列
[1838]	<220>
[1839]	<223> 合成
[1840]	<400> 169
[1841]	gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
[1842]	atctcctgca ggtctagtca gagcctccta catagtgatg gatacaacta tttggattgg 120
[1843]	tacctgcaga agtcaggga gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
[1844]	tccggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
[1845]	agcagaatgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
[1846]	tacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336
[1847]	<210> 170
[1848]	<211> 112
[1849]	<212> PRT
[1850]	<213> 人工序列
[1851]	<220>
[1852]	<223> 合成
[1853]	<400> 170
[1854]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
[1855]	1 5 10 15
[1856]	Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
[1857]	20 25 30
[1858]	Asp Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ser Gly Gln Ser
[1859]	35 40 45
[1860]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
[1861]	50 55 60
[1862]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[1863]	65 70 75 80
[1864]	Ser Arg Met Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
[1865]	85 90 95
[1866]	Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[1867]	100 105 110
[1868]	<210> 171
[1869]	<211> 33
[1870]	<212> DNA
[1871]	<213> 人工序列

- [1872] <220>  
[1873] <223> 合成  
[1874] <400> 171  
[1875] cagagcctcc tacatagtga tggatacaac tat 33  
[1876] <210> 172  
[1877] <211> 11  
[1878] <212> PRT  
[1879] <213> 人工序列  
[1880] <220>  
[1881] <223> 合成  
[1882] <400> 172  
[1883] Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Tyr Asn Tyr  
[1884] 1 5 10  
[1885] <210> 173  
[1886] <211> 9  
[1887] <212> DNA  
[1888] <213> 人工序列  
[1889] <220>  
[1890] <223> 合成  
[1891] <400> 173  
[1892] ttgggttct 9  
[1893] <210> 174  
[1894] <211> 3  
[1895] <212> PRT  
[1896] <213> 人工序列  
[1897] <220>  
[1898] <223> 合成  
[1899] <400> 174  
[1900] Leu Gly Ser  
[1901] 1  
[1902] <210> 175  
[1903] <211> 27  
[1904] <212> DNA  
[1905] <213> 人工序列  
[1906] <220>  
[1907] <223> 合成  
[1908] <400> 175  
[1909] atgcaagctc tacaaactcc gtacact 27  
[1910] <210> 176





[1950]	Ser Leu Met Leu His Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
[1951]	85 90 95
[1952]	Cys Ala Lys Val Leu Gln Gly Leu Val Arg Phe Arg Asp Tyr Gly Phe
[1953]	100 105 110
[1954]	Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
[1955]	115 120 125
[1956]	<210> 179
[1957]	<211> 30
[1958]	<212> DNA
[1959]	<213> 人工序列
[1960]	<220>
[1961]	<223> 合成
[1962]	<400> 179
[1963]	ggtggctcca tcagcagtgc tgatcactac 30
[1964]	<210> 180
[1965]	<211> 10
[1966]	<212> PRT
[1967]	<213> 人工序列
[1968]	<220>
[1969]	<223> 合成
[1970]	<400> 180
[1971]	Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ala Asp His Tyr
[1972]	1 5 10
[1973]	<210> 181
[1974]	<211> 21
[1975]	<212> DNA
[1976]	<213> 人工序列
[1977]	<220>
[1978]	<223> 合成
[1979]	<400> 181
[1980]	atttcttata gagggacaac c 21
[1981]	<210> 182
[1982]	<211> 7
[1983]	<212> PRT
[1984]	<213> 人工序列
[1985]	<220>
[1986]	<223> 合成
[1987]	<400> 182
[1988]	Ile Ser Tyr Arg Gly Thr Thr

[1989]	1	5	
[1990]	<210>	183	
[1991]	<211>	51	
[1992]	<212>	DNA	
[1993]	<213>	人工序列	
[1994]	<220>		
[1995]	<223>	合成	
[1996]	<400>	183	
[1997]	gcgaaagtac tccaagggtc cgtcagattc aggactacg gtttcgacgt c 51		
[1998]	<210>	184	
[1999]	<211>	17	
[2000]	<212>	PRT	
[2001]	<213>	人工序列	
[2002]	<220>		
[2003]	<223>	合成	
[2004]	<400>	184	
[2005]	Ala Lys Val Leu Gln Gly Leu Val Arg Phe Arg Asp Tyr Gly Phe Asp		
[2006]	1	5	10 15
[2007]	Val		
[2008]	<210>	185	
[2009]	<211>	321	
[2010]	<212>	DNA	
[2011]	<213>	人工序列	
[2012]	<220>		
[2013]	<223>	合成	
[2014]	<400>	185	
[2015]	gacatccagt tgaccagtc tccacccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60		
[2016]	atcacttgct gggccagtca ggacattagc agttatttag cctggtatca gcaaaatccc 120		
[2017]	gggaaatccc ctaaactcct gatctatgat gcttttactt tacacactgg ggtcccatca 180		
[2018]	aggttttagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca caatcagcag cctgcagcct 240		
[2019]	gaggattttg caacttttta ctgtcaacac ctttatagtt ttccattcac tttcggccct 300		
[2020]	gggaccaaag tggatatcaa a 321		
[2021]	<210>	186	
[2022]	<211>	107	
[2023]	<212>	PRT	
[2024]	<213>	人工序列	
[2025]	<220>		
[2026]	<223>	合成	
[2027]	<400>	186	

[2028]	Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Pro Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2029]	1 5 10 15
[2030]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
[2031]	20 25 30
[2032]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
[2033]	35 40 45
[2034]	Tyr Asp Ala Phe Thr Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2035]	50 55 60
[2036]	Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[2037]	65 70 75 80
[2038]	Glu Asp Phe Ala Thr Phe Tyr Cys Gln His Leu Tyr Ser Phe Pro Phe
[2039]	85 90 95
[2040]	Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
[2041]	100 105
[2042]	<210> 187
[2043]	<211> 18
[2044]	<212> DNA
[2045]	<213> 人工序列
[2046]	<220>
[2047]	<223> 合成
[2048]	<400> 187
[2049]	caggacatta gcagttat 18
[2050]	<210> 188
[2051]	<211> 6
[2052]	<212> PRT
[2053]	<213> 人工序列
[2054]	<220>
[2055]	<223> 合成
[2056]	<400> 188
[2057]	Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
[2058]	1 5
[2059]	<210> 189
[2060]	<211> 9
[2061]	<212> DNA
[2062]	<213> 人工序列
[2063]	<220>
[2064]	<223> 合成
[2065]	<400> 189
[2066]	gatgctttt 9

[2067]	<210> 190
[2068]	<211> 3
[2069]	<212> PRT
[2070]	<213> 人工序列
[2071]	<220>
[2072]	<223> 合成
[2073]	<400> 190
[2074]	Asp Ala Phe
[2075]	1
[2076]	<210> 191
[2077]	<211> 27
[2078]	<212> DNA
[2079]	<213> 人工序列
[2080]	<220>
[2081]	<223> 合成
[2082]	<400> 191
[2083]	caacaccttt atagttttcc attcact 27
[2084]	<210> 192
[2085]	<211> 9
[2086]	<212> PRT
[2087]	<213> 人工序列
[2088]	<220>
[2089]	<223> 合成
[2090]	<400> 192
[2091]	Gln His Leu Tyr Ser Phe Pro Phe Thr
[2092]	1 5
[2093]	<210> 193
[2094]	<211> 357
[2095]	<212> DNA
[2096]	<213> 人工序列
[2097]	<220>
[2098]	<223> 合成
[2099]	<400> 193
[2100]	gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcgggtc cctgagactc 60
[2101]	tcctgtgcag cctctggatt caccttttagg aattatgcca tgcactgggt ccgacaagct 120
[2102]	ccaggggagg gcctggagtg ggtcgcagcc atttatcgga atagtgattc catagactat 180
[2103]	gcggactctg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca acgccaagaa ctccctatat 240
[2104]	ctgcaaatga acagtctgaa aactgaggac acggcgttgt attactgtgc aaaagatgag 300
[2105]	ggatTTTTGG agtactttga ctcttggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctccctca 357

[2106]	<210> 194
[2107]	<211> 119
[2108]	<212> PRT
[2109]	<213> 人工序列
[2110]	<220>
[2111]	<223> 合成
[2112]	<400> 194
[2113]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2114]	1                      5                      10                      15
[2115]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr
[2116]	20                      25                      30
[2117]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Val
[2118]	35                      40                      45
[2119]	Ala Ala Ile Tyr Arg Asn Ser Asp Ser Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
[2120]	50                      55                      60
[2121]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
[2122]	65                      70                      75                      80
[2123]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
[2124]	85                      90                      95
[2125]	Ala Lys Asp Glu Gly Phe Leu Glu Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly
[2126]	100                      105                      110
[2127]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2128]	115
[2129]	<210> 195
[2130]	<211> 24
[2131]	<212> DNA
[2132]	<213> 人工序列
[2133]	<220>
[2134]	<223> 合成
[2135]	<400> 195
[2136]	ggattcacct ttaggaatta tgcc 24
[2137]	<210> 196
[2138]	<211> 8
[2139]	<212> PRT
[2140]	<213> 人工序列
[2141]	<220>
[2142]	<223> 合成
[2143]	<400> 196
[2144]	Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr Ala

[2145]	1	5
[2146]	<210>	197
[2147]	<211>	24
[2148]	<212>	DNA
[2149]	<213>	人工序列
[2150]	<220>	
[2151]	<223>	合成
[2152]	<400>	197
[2153]	atttatcgga atagtgattc cata 24	
[2154]	<210>	198
[2155]	<211>	8
[2156]	<212>	PRT
[2157]	<213>	人工序列
[2158]	<220>	
[2159]	<223>	合成
[2160]	<400>	198
[2161]	Ile Tyr Arg Asn Ser Asp Ser Ile	
[2162]	1	5
[2163]	<210>	199
[2164]	<211>	36
[2165]	<212>	DNA
[2166]	<213>	人工序列
[2167]	<220>	
[2168]	<223>	合成
[2169]	<400>	199
[2170]	gcaaaagatg agggattttt ggagtacttt gactcc 36	
[2171]	<210>	200
[2172]	<211>	12
[2173]	<212>	PRT
[2174]	<213>	人工序列
[2175]	<220>	
[2176]	<223>	合成
[2177]	<400>	200
[2178]	Ala Lys Asp Glu Gly Phe Leu Glu Tyr Phe Asp Ser	
[2179]	1	5 10
[2180]	<210>	201
[2181]	<211>	324
[2182]	<212>	DNA
[2183]	<213>	人工序列

[2184]	<220>
[2185]	<223> 合成
[2186]	<400> 201
[2187]	gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagcctcc 60
[2188]	ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagcttct tagcctggta ccagcagaaa 120
[2189]	cctggccagg ctcccaggct cctcatctac ggtgtatcca gcaggttcat tggcatccca 180
[2190]	gacaggttca gtggcggtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcac cagactggag 240
[2191]	cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta ggtcaccgtg gacgttcggc 300
[2192]	caagggacca aggtggaaat caaa 324
[2193]	<210> 202
[2194]	<211> 108
[2195]	<212> PRT
[2196]	<213> 人工序列
[2197]	<220>
[2198]	<223> 合成
[2199]	<400> 202
[2200]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[2201]	1 5 10 15
[2202]	Glu Arg Ala Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
[2203]	20 25 30
[2204]	Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
[2205]	35 40 45
[2206]	Ile Tyr Gly Val Ser Ser Arg Phe Ile Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[2207]	50 55 60
[2208]	Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Arg Leu Glu
[2209]	65 70 75 80
[2210]	Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Pro
[2211]	85 90 95
[2212]	Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[2213]	100 105
[2214]	<210> 203
[2215]	<211> 21
[2216]	<212> DNA
[2217]	<213> 人工序列
[2218]	<220>
[2219]	<223> 合成
[2220]	<400> 203
[2221]	cagagtgtta gcagcagctt c 21
[2222]	<210> 204

[2223] <211> 7  
[2224] <212> PRT  
[2225] <213> 人工序列  
[2226] <220>  
[2227] <223> 合成  
[2228] <400> 204  
[2229] Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe  
[2230] 1 5  
[2231] <210> 205  
[2232] <211> 9  
[2233] <212> DNA  
[2234] <213> 人工序列  
[2235] <220>  
[2236] <223> 合成  
[2237] <400> 205  
[2238] ggtgtatcc 9  
[2239] <210> 206  
[2240] <211> 3  
[2241] <212> PRT  
[2242] <213> 人工序列  
[2243] <220>  
[2244] <223> 合成  
[2245] <400> 206  
[2246] Gly Val Ser  
[2247] 1  
[2248] <210> 207  
[2249] <211> 27  
[2250] <212> DNA  
[2251] <213> 人工序列  
[2252] <220>  
[2253] <223> 合成  
[2254] <400> 207  
[2255] cagcagtatg gtaggtcacc gtggacg 27  
[2256] <210> 208  
[2257] <211> 9  
[2258] <212> PRT  
[2259] <213> 人工序列  
[2260] <220>  
[2261] <223> 合成



[2262]	<400> 208	
[2263]	Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Pro Trp Thr	
[2264]	1	5
[2265]	<210> 209	
[2266]	<211> 366	
[2267]	<212> DNA	
[2268]	<213> 人工序列	
[2269]	<220>	
[2270]	<223> 合成	
[2271]	<400> 209	
[2272]	caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgcgactc	60
[2273]	tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agatatgcca tacattgggt ccgccaggct	120
[2274]	ccaggcaagg gactggaatg ggtggcagtt atatcatatg atggagatga taaatactat	180
[2275]	ggagactccg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca attccaagac catggtgtat	240
[2276]	ctgcacatga acagcctgag aactgaggac acggctgtgt attattgtgc gaaagatgga	300
[2277]	tatagtctct acggaagga ctactttgac tattggggcc agggaaccct ggtcaccgtc	360
[2278]	tcctca	366
[2279]	<210> 210	
[2280]	<211> 122	
[2281]	<212> PRT	
[2282]	<213> 人工序列	
[2283]	<220>	
[2284]	<223> 合成	
[2285]	<400> 210	
[2286]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg	
[2287]	1	5 10 15
[2288]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr	
[2289]	20	25 30
[2290]	Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[2291]	35	40 45
[2292]	Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Asp Asp Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val	
[2293]	50	55 60
[2294]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Thr Met Val Tyr	
[2295]	65	70 75 80
[2296]	Leu His Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[2297]	85	90 95
[2298]	Ala Lys Asp Gly Tyr Ser Leu Tyr Gly Lys Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp	
[2299]	100	105 110
[2300]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	

---

[2301]	115	120
[2302]	<210> 211	
[2303]	<211> 24	
[2304]	<212> DNA	
[2305]	<213> 人工序列	
[2306]	<220>	
[2307]	<223> 合成	
[2308]	<400> 211	
[2309]	ggattcacct tcagtagata tgcc 24	
[2310]	<210> 212	
[2311]	<211> 8	
[2312]	<212> PRT	
[2313]	<213> 人工序列	
[2314]	<220>	
[2315]	<223> 合成	
[2316]	<400> 212	
[2317]	Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Ala	
[2318]	1 5	
[2319]	<210> 213	
[2320]	<211> 24	
[2321]	<212> DNA	
[2322]	<213> 人工序列	
[2323]	<220>	
[2324]	<223> 合成	
[2325]	<400> 213	
[2326]	atatcatatg atggagatga taaa 24	
[2327]	<210> 214	
[2328]	<211> 8	
[2329]	<212> PRT	
[2330]	<213> 人工序列	
[2331]	<220>	
[2332]	<223> 合成	
[2333]	<400> 214	
[2334]	Ile Ser Tyr Asp Gly Asp Asp Lys	
[2335]	1 5	
[2336]	<210> 215	
[2337]	<211> 45	
[2338]	<212> DNA	
[2339]	<213> 人工序列	

[2340]	<220>
[2341]	<223> 合成
[2342]	<400> 215
[2343]	gcgaaagatg gatatagtct ctacgggaag gactactttg actat 45
[2344]	<210> 216
[2345]	<211> 15
[2346]	<212> PRT
[2347]	<213> 人工序列
[2348]	<220>
[2349]	<223> 合成
[2350]	<400> 216
[2351]	Ala Lys Asp Gly Tyr Ser Leu Tyr Gly Lys Asp Tyr Phe Asp Tyr
[2352]	1 5 10 15
[2353]	<210> 217
[2354]	<211> 324
[2355]	<212> DNA
[2356]	<213> 人工序列
[2357]	<220>
[2358]	<223> 合成
[2359]	<400> 217
[2360]	gaaattgtgt tgacacagtc tccaggcacc ctgcctttgt ctccagggga aagagccacc 60
[2361]	ctctcctgca gggccagtca gagtattacc aacagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
[2362]	cctgaccagg ctcccagact cctcatctat ggtgcgtcca gcagggccac tggcatccca 180
[2363]	gacaggttca gtggcagtga gtctgggaca gactttactc tcaccatcag cagactggag 240
[2364]	cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatgtta ggtcaccgtg gacgttcggc 300
[2365]	caagggacca aggtggaaat caaa 324
[2366]	<210> 218
[2367]	<211> 108
[2368]	<212> PRT
[2369]	<213> 人工序列
[2370]	<220>
[2371]	<223> 合成
[2372]	<400> 218
[2373]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Pro Leu Ser Pro Gly
[2374]	1 5 10 15
[2375]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Thr Asn Ser
[2376]	20 25 30
[2377]	Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Arg Leu Leu
[2378]	35 40 45

[2379]	Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[2380]	50 55 60
[2381]	Gly Ser Glu Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
[2382]	65 70 75 80
[2383]	Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Val Arg Ser Pro
[2384]	85 90 95
[2385]	Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[2386]	100 105
[2387]	<210> 219
[2388]	<211> 21
[2389]	<212> DNA
[2390]	<213> 人工序列
[2391]	<220>
[2392]	<223> 合成
[2393]	<400> 219
[2394]	cagagtatta ccaacagcta c 21
[2395]	<210> 220
[2396]	<211> 7
[2397]	<212> PRT
[2398]	<213> 人工序列
[2399]	<220>
[2400]	<223> 合成
[2401]	<400> 220
[2402]	Gln Ser Ile Thr Asn Ser Tyr
[2403]	1 5
[2404]	<210> 221
[2405]	<211> 9
[2406]	<212> DNA
[2407]	<213> 人工序列
[2408]	<220>
[2409]	<223> 合成
[2410]	<400> 221
[2411]	ggtgcgtcc 9
[2412]	<210> 222
[2413]	<211> 3
[2414]	<212> PRT
[2415]	<213> 人工序列
[2416]	<220>
[2417]	<223> 合成

[2418]	<400> 222
[2419]	Gly Ala Ser
[2420]	1
[2421]	<210> 223
[2422]	<211> 27
[2423]	<212> DNA
[2424]	<213> 人工序列
[2425]	<220>
[2426]	<223> 合成
[2427]	<400> 223
[2428]	cagcagtatg ttaggtcacc gtggacg 27
[2429]	<210> 224
[2430]	<211> 9
[2431]	<212> PRT
[2432]	<213> 人工序列
[2433]	<220>
[2434]	<223> 合成
[2435]	<400> 224
[2436]	Gln Gln Tyr Val Arg Ser Pro Trp Thr
[2437]	1 5
[2438]	<210> 225
[2439]	<211> 363
[2440]	<212> DNA
[2441]	<213> 人工序列
[2442]	<220>
[2443]	<223> 合成
[2444]	<400> 225
[2445]	caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cctcggagac cctgtccctc 60
[2446]	acctgcgttg tctatggtga gtctttcggg aattaccatt ggaattggat ccgccagtc 120
[2447]	ccagggaagc ggctggagtg gattggggaa atcaatcaaa atggacacac caattacaac 180
[2448]	ccgtccctca agagtcgagt caccatatca gtggacacgt ccaagatcca attttccctg 240
[2449]	agactgaact ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt tctgtgcgag aggccataac 300
[2450]	tacgtaaatt cctacttcgg tttaggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360
[2451]	tca 363
[2452]	<210> 226
[2453]	<211> 121
[2454]	<212> PRT
[2455]	<213> 人工序列
[2456]	<220>

- [2457] <223> 合成
- [2458] <400> 226
- [2459] Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
- [2460] 1 5 10 15
- [2461] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Val Val Tyr Gly Glu Ser Phe Gly Asn Tyr
- [2462] 20 25 30
- [2463] His Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile
- [2464] 35 40 45
- [2465] Gly Glu Ile Asn Gln Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
- [2466] 50 55 60
- [2467] Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Ile Gln Phe Ser Leu
- [2468] 65 70 75 80
- [2469] Arg Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala
- [2470] 85 90 95
- [2471] Arg Gly His Asn Tyr Val Asn Ser Tyr Phe Gly Leu Asp Val Trp Gly
- [2472] 100 105 110
- [2473] Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
- [2474] 115 120
- [2475] <210> 227
- [2476] <211> 24
- [2477] <212> DNA
- [2478] <213> 人工序列
- [2479] <220>
- [2480] <223> 合成
- [2481] <400> 227
- [2482] ggtgagtcctt tcggttaatta ccat 24
- [2483] <210> 228
- [2484] <211> 8
- [2485] <212> PRT
- [2486] <213> 人工序列
- [2487] <220>
- [2488] <223> 合成
- [2489] <400> 228
- [2490] Gly Glu Ser Phe Gly Asn Tyr His
- [2491] 1 5
- [2492] <210> 229
- [2493] <211> 21
- [2494] <212> DNA
- [2495] <213> 人工序列

[2496]	<220>
[2497]	<223> 合成
[2498]	<400> 229
[2499]	atcaatcaaa atggacacac c 21
[2500]	<210> 230
[2501]	<211> 7
[2502]	<212> PRT
[2503]	<213> 人工序列
[2504]	<220>
[2505]	<223> 合成
[2506]	<400> 230
[2507]	Ile Asn Gln Asn Gly His Thr
[2508]	1 5
[2509]	<210> 231
[2510]	<211> 45
[2511]	<212> DNA
[2512]	<213> 人工序列
[2513]	<220>
[2514]	<223> 合成
[2515]	<400> 231
[2516]	gcgagaggcc ataactacgt aaattcctac ttcggtttgg acgtc 45
[2517]	<210> 232
[2518]	<211> 15
[2519]	<212> PRT
[2520]	<213> 人工序列
[2521]	<220>
[2522]	<223> 合成
[2523]	<400> 232
[2524]	Ala Arg Gly His Asn Tyr Val Asn Ser Tyr Phe Gly Leu Asp Val
[2525]	1 5 10 15
[2526]	<210> 233
[2527]	<211> 321
[2528]	<212> DNA
[2529]	<213> 人工序列
[2530]	<220>
[2531]	<223> 合成
[2532]	<400> 233
[2533]	gaaattgtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
[2534]	ctctcctgca ggaccagtca gagtgtgaagc atcagcttag cctggtacca gcggaaacct 120

[2535] gccaggctc ccaggctcct catctttggt tcatccacca gggccactgg tgtcccagcc 180  
 [2536] aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240  
 [2537] gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggccgtacac ttttggccag 300  
 [2538] gggaccaagc tggagatcaa a 321  
 [2539] <210> 234  
 [2540] <211> 107  
 [2541] <212> PRT  
 [2542] <213> 人工序列  
 [2543] <220>  
 [2544] <223> 合成  
 [2545] <400> 234  
 [2546] Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 [2547] 1 5 10 15  
 [2548] Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Gln Ser Val Ser Ile Ser  
 [2549] 20 25 30  
 [2550] Leu Ala Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 [2551] 35 40 45  
 [2552] Phe Gly Ser Ser Thr Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 [2553] 50 55 60  
 [2554] Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 [2555] 65 70 75 80  
 [2556] Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Tyr  
 [2557] 85 90 95  
 [2558] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 [2559] 100 105  
 [2560] <210> 235  
 [2561] <211> 18  
 [2562] <212> DNA  
 [2563] <213> 人工序列  
 [2564] <220>  
 [2565] <223> 合成  
 [2566] <400> 235  
 [2567] cagagtgtaa gcatcagc 18  
 [2568] <210> 236  
 [2569] <211> 6  
 [2570] <212> PRT  
 [2571] <213> 人工序列  
 [2572] <220>  
 [2573] <223> 合成



[2574]	<400> 236
[2575]	Gln Ser Val Ser Ile Ser
[2576]	1 5
[2577]	<210> 237
[2578]	<211> 9
[2579]	<212> DNA
[2580]	<213> 人工序列
[2581]	<220>
[2582]	<223> 合成
[2583]	<400> 237
[2584]	ggttcaccc 9
[2585]	<210> 238
[2586]	<211> 3
[2587]	<212> PRT
[2588]	<213> 人工序列
[2589]	<220>
[2590]	<223> 合成
[2591]	<400> 238
[2592]	Gly Ser Ser
[2593]	1
[2594]	<210> 239
[2595]	<211> 27
[2596]	<212> DNA
[2597]	<213> 人工序列
[2598]	<220>
[2599]	<223> 合成
[2600]	<400> 239
[2601]	cagcagtata ataactggcc gtacact 27
[2602]	<210> 240
[2603]	<211> 9
[2604]	<212> PRT
[2605]	<213> 人工序列
[2606]	<220>
[2607]	<223> 合成
[2608]	<400> 240
[2609]	Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Tyr Thr
[2610]	1 5
[2611]	<210> 241
[2612]	<211> 360

[2613]	<212> DNA
[2614]	<213> 人工序列
[2615]	<220>
[2616]	<223> 合成
[2617]	<400> 241
[2618]	caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
[2619]	tcctgcaagg cttctggata caccttcgcc gccactata tgcactgggt gcgacaggcc 120
[2620]	cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacactt acactgggtg cacaactat 180
[2621]	gggcagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcac cacagcctac 240
[2622]	atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgttt attactgtgc gcgagatcgg 300
[2623]	cggaactgga acttcgtctt tgaatattgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 360
[2624]	<210> 242
[2625]	<211> 120
[2626]	<212> PRT
[2627]	<213> 人工序列
[2628]	<220>
[2629]	<223> 合成
[2630]	<400> 242
[2631]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[2632]	1 5 10 15
[2633]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ala His
[2634]	20 25 30
[2635]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[2636]	35 40 45
[2637]	Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Gly Gln Lys Phe
[2638]	50 55 60
[2639]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Thr Thr Ala Tyr
[2640]	65 70 75 80
[2641]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2642]	85 90 95
[2643]	Ala Arg Asp Arg Arg Asn Trp Asn Phe Val Phe Glu Tyr Trp Gly Gln
[2644]	100 105 110
[2645]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2646]	115 120
[2647]	<210> 243
[2648]	<211> 24
[2649]	<212> DNA
[2650]	<213> 人工序列
[2651]	<220>

[2652] <223> 合成  
[2653] <400> 243  
[2654] ggatacacct tcgccgccca ctat 24  
[2655] <210> 244  
[2656] <211> 8  
[2657] <212> PRT  
[2658] <213> 人工序列  
[2659] <220>  
[2660] <223> 合成  
[2661] <400> 244  
[2662] Gly Tyr Thr Phe Ala Ala His Tyr  
[2663] 1 5  
[2664] <210> 245  
[2665] <211> 24  
[2666] <212> DNA  
[2667] <213> 人工序列  
[2668] <220>  
[2669] <223> 合成  
[2670] <400> 245  
[2671] atcaacactt acactggtgg caca 24  
[2672] <210> 246  
[2673] <211> 8  
[2674] <212> PRT  
[2675] <213> 人工序列  
[2676] <220>  
[2677] <223> 合成  
[2678] <400> 246  
[2679] Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Gly Thr  
[2680] 1 5  
[2681] <210> 247  
[2682] <211> 39  
[2683] <212> DNA  
[2684] <213> 人工序列  
[2685] <220>  
[2686] <223> 合成  
[2687] <400> 247  
[2688] gcgcgagatc ggcggaactg gaacttcgtc tttgaatat 39  
[2689] <210> 248  
[2690] <211> 13

[2691]	<212>	PRT	
[2692]	<213>	人工序列	
[2693]	<220>		
[2694]	<223>	合成	
[2695]	<400>	248	
[2696]	Ala Arg Asp Arg Arg Asn Trp Asn Phe Val Phe Glu Tyr		
[2697]	1	5	10
[2698]	<210>	249	
[2699]	<211>	321	
[2700]	<212>	DNA	
[2701]	<213>	人工序列	
[2702]	<220>		
[2703]	<223>	合成	
[2704]	<400>	249	
[2705]	gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60	
[2706]	atcagttgcc gggcaagtca gaacattaag aactatttaa attggtatca gcagaaacca	120	
[2707]	gggaaagccc ctaaactcct gatctatgaa gcactctaatt tgcaaagtgg ggcccatca	180	
[2708]	aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctggaacct	240	
[2709]	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agtttttagta ttccgtggac gttcggccaa	300	
[2710]	gggaccaagg tggaaatcaa a	321	
[2711]	<210>	250	
[2712]	<211>	107	
[2713]	<212>	PRT	
[2714]	<213>	人工序列	
[2715]	<220>		
[2716]	<223>	合成	
[2717]	<400>	250	
[2718]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[2719]	1	5	10 15
[2720]	Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Lys Asn Tyr		
[2721]		20	25 30
[2722]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[2723]		35	40 45
[2724]	Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Ala Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[2725]		50	55 60
[2726]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro		
[2727]		65	70 75 80
[2728]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Phe Ser Ile Pro Trp		
[2729]		85	90 95

[2730] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
[2731] 100 105  
[2732] <210> 251  
[2733] <211> 18  
[2734] <212> DNA  
[2735] <213> 人工序列  
[2736] <220>  
[2737] <223> 合成  
[2738] <400> 251  
[2739] cagaacatta agaactat 18  
[2740] <210> 252  
[2741] <211> 6  
[2742] <212> PRT  
[2743] <213> 人工序列  
[2744] <220>  
[2745] <223> 合成  
[2746] <400> 252  
[2747] Gln Asn Ile Lys Asn Tyr  
[2748] 1 5  
[2749] <210> 253  
[2750] <211> 9  
[2751] <212> DNA  
[2752] <213> 人工序列  
[2753] <220>  
[2754] <223> 合成  
[2755] <400> 253  
[2756] gaagcatct 9  
[2757] <210> 254  
[2758] <211> 3  
[2759] <212> PRT  
[2760] <213> 人工序列  
[2761] <220>  
[2762] <223> 合成  
[2763] <400> 254  
[2764] Glu Ala Ser  
[2765] 1  
[2766] <210> 255  
[2767] <211> 27  
[2768] <212> DNA

[2769]	<213>	人工序列
[2770]	<220>	
[2771]	<223>	合成
[2772]	<400>	255
[2773]	caacagagtt ttagtattcc gtggacg 27	
[2774]	<210>	256
[2775]	<211>	9
[2776]	<212>	PRT
[2777]	<213>	人工序列
[2778]	<220>	
[2779]	<223>	合成
[2780]	<400>	256
[2781]	Gln Gln Ser Phe Ser Ile Pro Trp Thr	
[2782]	1	5
[2783]	<210>	257
[2784]	<211>	366
[2785]	<212>	DNA
[2786]	<213>	人工序列
[2787]	<220>	
[2788]	<223>	合成
[2789]	<400>	257
[2790]	caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgaa gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60	
[2791]	tcctgcaagg cttctggata caccttcate gcctactatt tacactgggt gcgacaggcc 120	
[2792]	cctggacaag ggcttgagtg gatgggattg ctcaaccctt atactggtgg ctcatactat 180	
[2793]	acacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcga cacagcctac 240	
[2794]	atggaactga acagtctgag atctgacgac acggccatct attactgtgc gagagataag 300	
[2795]	aggagctact acatccctta tgcttttgaa atctggggcc aagggacaat ggtcaccgtc 360	
[2796]	tcttca 366	
[2797]	<210>	258
[2798]	<211>	122
[2799]	<212>	PRT
[2800]	<213>	人工序列
[2801]	<220>	
[2802]	<223>	合成
[2803]	<400>	258
[2804]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[2805]	1	5 10 15
[2806]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Ala Tyr	
[2807]	20	25 30

[2808]	Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[2809]	35 40 45
[2810]	Gly Leu Leu Asn Pro Tyr Thr Gly Gly Ser Tyr Tyr Thr Gln Lys Phe
[2811]	50 55 60
[2812]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr
[2813]	65 70 75 80
[2814]	Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
[2815]	85 90 95
[2816]	Ala Arg Asp Lys Arg Ser Tyr Tyr Ile Pro Tyr Ala Phe Glu Ile Trp
[2817]	100 105 110
[2818]	Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
[2819]	115 120
[2820]	<210> 259
[2821]	<211> 24
[2822]	<212> DNA
[2823]	<213> 人工序列
[2824]	<220>
[2825]	<223> 合成
[2826]	<400> 259
[2827]	ggatacacct tcatgccta ctat 24
[2828]	<210> 260
[2829]	<211> 8
[2830]	<212> PRT
[2831]	<213> 人工序列
[2832]	<220>
[2833]	<223> 合成
[2834]	<400> 260
[2835]	Gly Tyr Thr Phe Ile Ala Tyr Tyr
[2836]	1 5
[2837]	<210> 261
[2838]	<211> 24
[2839]	<212> DNA
[2840]	<213> 人工序列
[2841]	<220>
[2842]	<223> 合成
[2843]	<400> 261
[2844]	ctcaaccctt atactggtgg ctca 24
[2845]	<210> 262
[2846]	<211> 8

[2847]	<212>	PRT	
[2848]	<213>	人工序列	
[2849]	<220>		
[2850]	<223>	合成	
[2851]	<400>	262	
[2852]		Leu Asn Pro Tyr Thr Gly Gly Ser	
[2853]	1	5	
[2854]	<210>	263	
[2855]	<211>	45	
[2856]	<212>	DNA	
[2857]	<213>	人工序列	
[2858]	<220>		
[2859]	<223>	合成	
[2860]	<400>	263	
[2861]		gcgagagata agaggagcta ctacatccct tatgcttttg aaatc 45	
[2862]	<210>	264	
[2863]	<211>	15	
[2864]	<212>	PRT	
[2865]	<213>	人工序列	
[2866]	<220>		
[2867]	<223>	合成	
[2868]	<400>	264	
[2869]		Ala Arg Asp Lys Arg Ser Tyr Tyr Ile Pro Tyr Ala Phe Glu Ile	
[2870]	1	5	10 15
[2871]	<210>	265	
[2872]	<211>	324	
[2873]	<212>	DNA	
[2874]	<213>	人工序列	
[2875]	<220>		
[2876]	<223>	合成	
[2877]	<400>	265	
[2878]		gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60	
[2879]		atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120	
[2880]		gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180	
[2881]		aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240	
[2882]		gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300	
[2883]		caagggacac gactggagat taaa 324	
[2884]	<210>	266	
[2885]	<211>	108	



[2886]	<212>	PRT
[2887]	<213>	人工序列
[2888]	<220>	
[2889]	<223>	合成
[2890]	<400>	266
[2891]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[2892]	1 5 10 15	
[2893]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr	
[2894]	20 25 30	
[2895]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[2896]	35 40 45	
[2897]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[2898]	50 55 60	
[2899]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[2900]	65 70 75 80	
[2901]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro	
[2902]	85 90 95	
[2903]	Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys	
[2904]	100 105	
[2905]	<210>	267
[2906]	<211>	18
[2907]	<212>	DNA
[2908]	<213>	人工序列
[2909]	<220>	
[2910]	<223>	合成
[2911]	<400>	267
[2912]	cagagcatta gcagctat	18
[2913]	<210>	268
[2914]	<211>	6
[2915]	<212>	PRT
[2916]	<213>	人工序列
[2917]	<220>	
[2918]	<223>	合成
[2919]	<400>	268
[2920]	Gln Ser Ile Ser Ser Tyr	
[2921]	1 5	
[2922]	<210>	269
[2923]	<211>	9
[2924]	<212>	DNA

[2925]	<213>	人工序列
[2926]	<220>	
[2927]	<223>	合成
[2928]	<400>	269
[2929]	gctgcatcc 9	
[2930]	<210>	270
[2931]	<211>	3
[2932]	<212>	PRT
[2933]	<213>	人工序列
[2934]	<220>	
[2935]	<223>	合成
[2936]	<400>	270
[2937]	Ala Ala Ser	
[2938]	1	
[2939]	<210>	271
[2940]	<211>	30
[2941]	<212>	DNA
[2942]	<213>	人工序列
[2943]	<220>	
[2944]	<223>	合成
[2945]	<400>	271
[2946]	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30	
[2947]	<210>	272
[2948]	<211>	10
[2949]	<212>	PRT
[2950]	<213>	人工序列
[2951]	<220>	
[2952]	<223>	合成
[2953]	<400>	272
[2954]	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
[2955]	1	5 10
[2956]	<210>	273
[2957]	<211>	369
[2958]	<212>	DNA
[2959]	<213>	人工序列
[2960]	<220>	
[2961]	<223>	合成
[2962]	<400>	273
[2963]	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggttcagc ctgggggtgtc cctgagactc 60	

[2964]	tcctgtgtag cctctggatt caccttttagc aattatgaca taacctggat ccgccagatt 120
[2965]	ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcaaga atcagtggta gtggtggaag tacatatttc 180
[2966]	gcagactccg tgaagggtcg gttcatcatc tccagagaca attccaaaaa tacgggtgtat 240
[2967]	atgcaaataga acagtttgag agccgaagac tcggccgtat attactgtgc gagaagagat 300
[2968]	tccgtcttat ttagtatgaa cagttggctc gaccctggg gccaggaac cctggtcacc 360
[2969]	gtctcctca 369
[2970]	<210> 274
[2971]	<211> 123
[2972]	<212> PRT
[2973]	<213> 人工序列
[2974]	<220>
[2975]	<223> 合成
[2976]	<400> 274
[2977]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Val
[2978]	1 5 10 15
[2979]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
[2980]	20 25 30
[2981]	Asp Ile Thr Trp Ile Arg Gln Ile Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[2982]	35 40 45
[2983]	Ser Arg Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val
[2984]	50 55 60
[2985]	Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
[2986]	65 70 75 80
[2987]	Met Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
[2988]	85 90 95
[2989]	Ala Arg Arg Asp Ser Val Leu Phe Ser Met Asn Ser Trp Leu Asp Pro
[2990]	100 105 110
[2991]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2992]	115 120
[2993]	<210> 275
[2994]	<211> 24
[2995]	<212> DNA
[2996]	<213> 人工序列
[2997]	<220>
[2998]	<223> 合成
[2999]	<400> 275
[3000]	ggattcacct ttagcaatta tgac 24
[3001]	<210> 276
[3002]	<211> 8

[3003]	<212> PRT
[3004]	<213> 人工序列
[3005]	<220>
[3006]	<223> 合成
[3007]	<400> 276
[3008]	Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Asp
[3009]	1 5
[3010]	<210> 277
[3011]	<211> 24
[3012]	<212> DNA
[3013]	<213> 人工序列
[3014]	<220>
[3015]	<223> 合成
[3016]	<400> 277
[3017]	atcagtggta gtggtggaag taca 24
[3018]	<210> 278
[3019]	<211> 8
[3020]	<212> PRT
[3021]	<213> 人工序列
[3022]	<220>
[3023]	<223> 合成
[3024]	<400> 278
[3025]	Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
[3026]	1 5
[3027]	<210> 279
[3028]	<211> 48
[3029]	<212> DNA
[3030]	<213> 人工序列
[3031]	<220>
[3032]	<223> 合成
[3033]	<400> 279
[3034]	gcgagaagag attccgtctt atttagtatg aacagttggc tcgacccc 48
[3035]	<210> 280
[3036]	<211> 16
[3037]	<212> PRT
[3038]	<213> 人工序列
[3039]	<220>
[3040]	<223> 合成
[3041]	<400> 280

[3042]	Ala Arg Arg Asp Ser Val Leu Phe Ser Met Asn Ser Trp Leu Asp Pro
[3043]	1 5 10 15
[3044]	<210> 281
[3045]	<211> 369
[3046]	<212> DNA
[3047]	<213> 人工序列
[3048]	<220>
[3049]	<223> 合成
[3050]	<400> 281
[3051]	gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
[3052]	tcctgttcgg gatctggata caggtttacc aactactgga tcgcctgggt gcgccagatg 120
[3053]	cccgggaaag gcctggagtg gatgggtctc attcatcctg atgactctga tattagatac 180
[3054]	agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccttt tcagtcgaca agtccatcaa caccgcctac 240
[3055]	ctgcagtgga gcagcctgaa ggccctcgac accgccatgt attactgtac gcgacaagac 300
[3056]	ggaatactat ggtctcataa tgccctggttc gaccctggg gccagggaac cctgggtcacc 360
[3057]	gtctcctca 369
[3058]	<210> 282
[3059]	<211> 123
[3060]	<212> PRT
[3061]	<213> 人工序列
[3062]	<220>
[3063]	<223> 合成
[3064]	<400> 282
[3065]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[3066]	1 5 10 15
[3067]	Ser Leu Lys Ile Ser Cys Ser Gly Ser Gly Tyr Arg Phe Thr Asn Tyr
[3068]	20 25 30
[3069]	Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
[3070]	35 40 45
[3071]	Gly Leu Ile His Pro Asp Asp Ser Asp Ile Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
[3072]	50 55 60
[3073]	Gln Gly Gln Val Thr Phe Ser Val Asp Lys Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
[3074]	65 70 75 80
[3075]	Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[3076]	85 90 95
[3077]	Thr Arg Gln Asp Gly Ile Leu Trp Ser His Asn Ala Trp Phe Asp Pro
[3078]	100 105 110
[3079]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[3080]	115 120

---

[3081]	<210> 283
[3082]	<211> 24
[3083]	<212> DNA
[3084]	<213> 人工序列
[3085]	<220>
[3086]	<223> 合成
[3087]	<400> 283
[3088]	ggatacaggt ttaccaacta ctgg 24
[3089]	<210> 284
[3090]	<211> 8
[3091]	<212> PRT
[3092]	<213> 人工序列
[3093]	<220>
[3094]	<223> 合成
[3095]	<400> 284
[3096]	Gly Tyr Arg Phe Thr Asn Tyr Trp
[3097]	1 5
[3098]	<210> 285
[3099]	<211> 24
[3100]	<212> DNA
[3101]	<213> 人工序列
[3102]	<220>
[3103]	<223> 合成
[3104]	<400> 285
[3105]	attcatcctg atgactctga tatt 24
[3106]	<210> 286
[3107]	<211> 8
[3108]	<212> PRT
[3109]	<213> 人工序列
[3110]	<220>
[3111]	<223> 合成
[3112]	<400> 286
[3113]	Ile His Pro Asp Asp Ser Asp Ile
[3114]	1 5
[3115]	<210> 287
[3116]	<211> 48
[3117]	<212> DNA
[3118]	<213> 人工序列
[3119]	<220>

[3120]	<223> 合成
[3121]	<400> 287
[3122]	acgcgacaag acggaatact atggtctcat aatgcctggt tcgacccc 48
[3123]	<210> 288
[3124]	<211> 16
[3125]	<212> PRT
[3126]	<213> 人工序列
[3127]	<220>
[3128]	<223> 合成
[3129]	<400> 288
[3130]	Thr Arg Gln Asp Gly Ile Leu Trp Ser His Asn Ala Trp Phe Asp Pro
[3131]	1 5 10 15
[3132]	<210> 289
[3133]	<211> 360
[3134]	<212> DNA
[3135]	<213> 人工序列
[3136]	<220>
[3137]	<223> 合成
[3138]	<400> 289
[3139]	caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
[3140]	tcctgcaagg cctctggata caccttcatt agttacaata tcttctgggt gcgacaggcc 120
[3141]	actggtcagg gccttgattg gatgggatgg atgaaccctc tcagaaataa cgcaggttat 180
[3142]	gcacagaagt ttcagggcag agtcaccgtg acctgggaca cctccatcag cacagcctac 240
[3143]	atggaactgt ccagcctgag ctctgaggac acggccatat attactgtgc gagagaacat 300
[3144]	ggcagtagct ggggcttctt tgactactgg ggccagggaa ccctgggtcac cgtctcctca 360
[3145]	<210> 290
[3146]	<211> 120
[3147]	<212> PRT
[3148]	<213> 人工序列
[3149]	<220>
[3150]	<223> 合成
[3151]	<400> 290
[3152]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[3153]	1 5 10 15
[3154]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Ser Tyr
[3155]	20 25 30
[3156]	Asn Ile Phe Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Asp Trp Met
[3157]	35 40 45
[3158]	Gly Trp Met Asn Pro Phe Arg Asn Asn Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

[3159]	50	55	60
[3160]	Gln Gly Arg Val Thr Val Thr Trp Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
[3161]	65	70	75 80
[3162]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Ser Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys		
[3163]	85	90	95
[3164]	Ala Arg Glu His Gly Ser Ser Trp Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln		
[3165]	100	105	110
[3166]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[3167]	115	120	
[3168]	<210> 291		
[3169]	<211> 24		
[3170]	<212> DNA		
[3171]	<213> 人工序列		
[3172]	<220>		
[3173]	<223> 合成		
[3174]	<400> 291		
[3175]	ggatacacct tcattagtta caat 24		
[3176]	<210> 292		
[3177]	<211> 8		
[3178]	<212> PRT		
[3179]	<213> 人工序列		
[3180]	<220>		
[3181]	<223> 合成		
[3182]	<400> 292		
[3183]	Gly Tyr Thr Phe Ile Ser Tyr Asn		
[3184]	1 5		
[3185]	<210> 293		
[3186]	<211> 24		
[3187]	<212> DNA		
[3188]	<213> 人工序列		
[3189]	<220>		
[3190]	<223> 合成		
[3191]	<400> 293		
[3192]	atgaaccct tcagaaataa cgca 24		
[3193]	<210> 294		
[3194]	<211> 8		
[3195]	<212> PRT		
[3196]	<213> 人工序列		
[3197]	<220>		



[3198]	<223> 合成
[3199]	<400> 294
[3200]	Met Asn Pro Phe Arg Asn Asn Ala
[3201]	1 5
[3202]	<210> 295
[3203]	<211> 39
[3204]	<212> DNA
[3205]	<213> 人工序列
[3206]	<220>
[3207]	<223> 合成
[3208]	<400> 295
[3209]	gcgagagaac atggcagtag ctggggcttc ttgactac 39
[3210]	<210> 296
[3211]	<211> 13
[3212]	<212> PRT
[3213]	<213> 人工序列
[3214]	<220>
[3215]	<223> 合成
[3216]	<400> 296
[3217]	Ala Arg Glu His Gly Ser Ser Trp Gly Phe Phe Asp Tyr
[3218]	1 5 10
[3219]	<210> 297
[3220]	<211> 324
[3221]	<212> DNA
[3222]	<213> 人工序列
[3223]	<220>
[3224]	<223> 合成
[3225]	<400> 297
[3226]	gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
[3227]	ctctcctgca gggccagtca gagtggttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
[3228]	cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
[3229]	gacaggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
[3230]	cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gctcaccttg gacgttcggc 300
[3231]	caagggacca aggtggaaat caaa 324
[3232]	<210> 298
[3233]	<211> 108
[3234]	<212> PRT
[3235]	<213> 人工序列
[3236]	<220>

[3237]	<223> 合成
[3238]	<400> 298
[3239]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[3240]	1 5 10 15
[3241]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
[3242]	20 25 30
[3243]	Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
[3244]	35 40 45
[3245]	Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[3246]	50 55 60
[3247]	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
[3248]	65 70 75 80
[3249]	Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
[3250]	85 90 95
[3251]	Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[3252]	100 105
[3253]	<210> 299
[3254]	<211> 21
[3255]	<212> DNA
[3256]	<213> 人工序列
[3257]	<220>
[3258]	<223> 合成
[3259]	<400> 299
[3260]	cagagtgtta gcagcagcta c 21
[3261]	<210> 300
[3262]	<211> 7
[3263]	<212> PRT
[3264]	<213> 人工序列
[3265]	<220>
[3266]	<223> 合成
[3267]	<400> 300
[3268]	Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
[3269]	1 5
[3270]	<210> 301
[3271]	<211> 9
[3272]	<212> DNA
[3273]	<213> 人工序列
[3274]	<220>
[3275]	<223> 合成

[3276]	<400> 301
[3277]	ggtgcatcc 9
[3278]	<210> 302
[3279]	<211> 3
[3280]	<212> PRT
[3281]	<213> 人工序列
[3282]	<220>
[3283]	<223> 合成
[3284]	<400> 302
[3285]	Gly Ala Ser
[3286]	1
[3287]	<210> 303
[3288]	<211> 27
[3289]	<212> DNA
[3290]	<213> 人工序列
[3291]	<220>
[3292]	<223> 合成
[3293]	<400> 303
[3294]	cagcagtatg gtagctcacc ttggacg 27
[3295]	<210> 304
[3296]	<211> 9
[3297]	<212> PRT
[3298]	<213> 人工序列
[3299]	<220>
[3300]	<223> 合成
[3301]	<400> 304
[3302]	Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr
[3303]	1 5
[3304]	<210> 305
[3305]	<211> 483
[3306]	<212> DNA
[3307]	<213> 人工序列
[3308]	<220>
[3309]	<223> Bet v1
[3310]	<400> 305
[3311]	atgggtgtgt ttaattatga gactgagacc acctctgtta tcccagcagc tcgactgttc 60
[3312]	aaggccttta tccttgatgg cgataacctc ttcccaaagg ttgcacccca agccattagc 120
[3313]	agtgttgaaa acattgaagg aaatggaggg cctggaacca ttaagaagat cagctttccc 180
[3314]	gaaggcctcc ctttcaagta cgtgaaggac agagttgatg aggtggacca cacaaacttc 240

[3315]	aaatacaatt acagcgtgat cgagggcggt cccataggcg acacattgga gaagatctcc	300
[3316]	aacgagataa agatagtggc aacccctgat ggaggatcca tcttgaagat cagcaacaag	360
[3317]	taccacacca aaggtgacca tgaggtgaag gcagagcagg ttaaggcaag taaagaaatg	420
[3318]	ggcgagacac ttttgagggc cgttgagagc tacctcttgg cacactccga tgcctacaac	480
[3319]	taa	483
[3320]	<210>	306
[3321]	<211>	160
[3322]	<212>	PRT
[3323]	<213>	人工序列
[3324]	<220>	
[3325]	<223>	Bet v1(寄存编号CAB02159中的M1-N160)
[3326]	<400>	306
[3327]	Met Gly Val Phe Asn Tyr Glu Thr Glu Thr Thr Ser Val Ile Pro Ala	
[3328]	1 5 10 15	
[3329]	Ala Arg Leu Phe Lys Ala Phe Ile Leu Asp Gly Asp Asn Leu Phe Pro	
[3330]	20 25 30	
[3331]	Lys Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile Glu Gly Asn	
[3332]	35 40 45	
[3333]	Gly Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Phe Pro Glu Gly Leu Pro	
[3334]	50 55 60	
[3335]	Phe Lys Tyr Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Val Asp His Thr Asn Phe	
[3336]	65 70 75 80	
[3337]	Lys Tyr Asn Tyr Ser Val Ile Glu Gly Gly Pro Ile Gly Asp Thr Leu	
[3338]	85 90 95	
[3339]	Glu Lys Ile Ser Asn Glu Ile Lys Ile Val Ala Thr Pro Asp Gly Gly	
[3340]	100 105 110	
[3341]	Ser Ile Leu Lys Ile Ser Asn Lys Tyr His Thr Lys Gly Asp His Glu	
[3342]	115 120 125	
[3343]	Val Lys Ala Glu Gln Val Lys Ala Ser Lys Glu Met Gly Glu Thr Leu	
[3344]	130 135 140	
[3345]	Leu Arg Ala Val Glu Ser Tyr Leu Leu Ala His Ser Asp Ala Tyr Asn	
[3346]	145 150 155 160	
[3347]	<210>	307
[3348]	<211>	21
[3349]	<212>	PRT
[3350]	<213>	人工序列
[3351]	<220>	
[3352]	<223>	Bet v1的氨基酸23-43
[3353]	<400>	307

[3354]	Phe Ile Leu Asp Gly Asp Asn Leu Phe Pro Lys Val Ala Pro Gln Ala
[3355]	1 5 10 15
[3356]	Ile Ser Ser Val Glu
[3357]	20
[3358]	<210> 308
[3359]	<211> 13
[3360]	<212> PRT
[3361]	<213> 人工序列
[3362]	<220>
[3363]	<223> Bet v1的氨基酸44-56
[3364]	<400> 308
[3365]	Asn Ile Glu Gly Asn Gly Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys
[3366]	1 5 10
[3367]	<210> 309
[3368]	<211> 18
[3369]	<212> PRT
[3370]	<213> 人工序列
[3371]	<220>
[3372]	<223> Bet v1的氨基酸2-19
[3373]	<400> 309
[3374]	Gly Val Phe Asn Tyr Glu Thr Glu Thr Thr Ser Val Ile Pro Ala Ala
[3375]	1 5 10 15
[3376]	Arg Leu
[3377]	<210> 310
[3378]	<211> 14
[3379]	<212> PRT
[3380]	<213> 人工序列
[3381]	<220>
[3382]	<223> Bet v1的氨基酸57-70
[3383]	<400> 310
[3384]	Ile Ser Phe Pro Glu Gly Leu Pro Phe Lys Tyr Val Lys Asp
[3385]	1 5 10
[3386]	<210> 311
[3387]	<211> 9
[3388]	<212> PRT
[3389]	<213> 人工序列
[3390]	<220>
[3391]	<223> Bet v1的氨基酸81-89
[3392]	<400> 311

[3393]	Lys Tyr Asn Tyr Ser Val Ile Glu Gly
[3394]	1 5
[3395]	<210> 312
[3396]	<211> 187
[3397]	<212> PRT
[3398]	<213> 人工序列
[3399]	<220>
[3400]	<223> 带有Myc-Myc六组氨酸标签的突变Bet v 1-MMH w S85A
[3401]	(1-159:Bet v1(寄存编号CAB02159的G2-N160)
[3402]	<400> 312
[3403]	Gly Val Phe Asn Tyr Glu Thr Glu Thr Thr Ser Val Ile Pro Ala Ala
[3404]	1 5 10 15
[3405]	Arg Leu Phe Lys Ala Phe Ile Leu Asp Gly Asp Asn Leu Phe Pro Lys
[3406]	20 25 30
[3407]	Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile Glu Gly Asn Gly
[3408]	35 40 45
[3409]	Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Phe Pro Glu Gly Leu Pro Phe
[3410]	50 55 60
[3411]	Lys Tyr Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Val Asp His Thr Asn Phe Lys
[3412]	65 70 75 80
[3413]	Tyr Asn Tyr Ala Val Ile Glu Gly Gly Pro Ile Gly Asp Thr Leu Glu
[3414]	85 90 95
[3415]	Lys Ile Ser Asn Glu Ile Lys Ile Val Ala Thr Pro Asp Gly Gly Ser
[3416]	100 105 110
[3417]	Ile Leu Lys Ile Ser Asn Lys Tyr His Thr Lys Gly Asp His Glu Val
[3418]	115 120 125
[3419]	Lys Ala Glu Gln Val Lys Ala Ser Lys Glu Met Gly Glu Thr Leu Leu
[3420]	130 135 140
[3421]	Arg Ala Val Glu Ser Tyr Leu Leu Ala His Ser Asp Ala Tyr Asn Glu
[3422]	145 150 155 160
[3423]	Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile
[3424]	165 170 175
[3425]	Ser Glu Glu Asp Leu His His His His His His
[3426]	180 185
[3427]	<210> 313
[3428]	<211> 413
[3429]	<212> PRT
[3430]	<213> 人工序列
[3431]	<220>

[3432]	<223> hFceR1 $\alpha$ -mFc																		
[3433]	<400> 313																		
[3434]	Val	Pro	Gln	Lys	Pro	Lys	Val	Ser	Leu	Asn	Pro	Pro	Trp	Asn	Arg	Ile			
[3435]	1				5					10					15				
[3436]	Phe	Lys	Gly	Glu	Asn	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Asn	Gly	Asn	Asn	Phe	Phe			
[3437]					20					25					30				
[3438]	Glu	Val	Ser	Ser	Thr	Lys	Trp	Phe	His	Asn	Gly	Ser	Leu	Ser	Glu	Glu			
[3439]					35					40					45				
[3440]	Thr	Asn	Ser	Ser	Leu	Asn	Ile	Val	Asn	Ala	Lys	Phe	Glu	Asp	Ser	Gly			
[3441]		50						55					60						
[3442]	Glu	Tyr	Lys	Cys	Gln	His	Gln	Gln	Val	Asn	Glu	Ser	Glu	Pro	Val	Tyr			
[3443]	65					70					75					80			
[3444]	Leu	Glu	Val	Phe	Ser	Asp	Trp	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Ser	Ala	Glu	Val			
[3445]						85					90					95			
[3446]	Val	Met	Glu	Gly	Gln	Pro	Leu	Phe	Leu	Arg	Cys	His	Gly	Trp	Arg	Asn			
[3447]						100					105					110			
[3448]	Trp	Asp	Val	Tyr	Lys	Val	Ile	Tyr	Tyr	Lys	Asp	Gly	Glu	Ala	Leu	Lys			
[3449]						115					120					125			
[3450]	Tyr	Trp	Tyr	Glu	Asn	His	Asn	Ile	Ser	Ile	Thr	Asn	Ala	Thr	Val	Glu			
[3451]		130						135						140					
[3452]	Asp	Ser	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Gly	Lys	Val	Trp	Gln	Leu	Asp	Tyr			
[3453]	145					150					155					160			
[3454]	Glu	Ser	Glu	Pro	Leu	Asn	Ile	Thr	Val	Ile	Lys	Ala	Pro	Arg	Glu	Lys			
[3455]						165					170					175			
[3456]	Tyr	Trp	Leu	Gln	Glu	Pro	Arg	Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro	Cys	Pro	Pro			
[3457]						180					185					190			
[3458]	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala	Pro	Asn	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Ile			
[3459]						195					200					205			
[3460]	Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys	Asp	Val	Leu	Met	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	Ile			
[3461]		210						215					220						
[3462]	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Glu	Asp	Asp	Pro	Asp	Val	Gln			
[3463]	225						230					235				240			
[3464]	Ile	Ser	Trp	Phe	Val	Asn	Asn	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln			
[3465]						245					250					255			
[3466]	Thr	His	Arg	Glu	Asp	Tyr	Asn	Ser	Thr	Leu	Arg	Val	Val	Ser	Ala	Leu			
[3467]						260					265					270			
[3468]	Pro	Ile	Gln	His	Gln	Asp	Trp	Met	Ser	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	Lys			
[3469]						275					280					285			
[3470]	Val	Asn	Asn	Lys	Asp	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Arg	Thr	Ile	Ser	Lys			

[3471]	290	295	300
[3472]	Pro Lys Gly Ser Val	Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro	
[3473]	305	310	315 320
[3474]	Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr		
[3475]	325	330	335
[3476]	Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys		
[3477]	340	345	350
[3478]	Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly		
[3479]	355	360	365
[3480]	Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val		
[3481]	370	375	380
[3482]	Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn		
[3483]	385	390	395 400
[3484]	His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys		
[3485]	405	410	
[3486]	<210> 314		
[3487]	<211> 160		
[3488]	<212> PRT		
[3489]	<213> 人工序列		
[3490]	<220>		
[3491]	<223> 来自Uniprot: P15494的Bet v 1氨基酸序列		
[3492]	<400> 314		
[3493]	Met Gly Val Phe Asn Tyr Glu Thr Glu Thr Thr Ser Val Ile Pro Ala		
[3494]	1 5 10 15		
[3495]	Ala Arg Leu Phe Lys Ala Phe Ile Leu Asp Gly Asp Asn Leu Phe Pro		
[3496]	20 25 30		
[3497]	Lys Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile Glu Gly Asn		
[3498]	35 40 45		
[3499]	Gly Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Phe Pro Glu Gly Phe Pro		
[3500]	50 55 60		
[3501]	Phe Lys Tyr Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Val Asp His Thr Asn Phe		
[3502]	65 70 75 80		
[3503]	Lys Tyr Asn Tyr Ser Val Ile Glu Gly Gly Pro Ile Gly Asp Thr Leu		
[3504]	85 90 95		
[3505]	Glu Lys Ile Ser Asn Glu Ile Lys Ile Val Ala Thr Pro Asp Gly Gly		
[3506]	100 105 110		
[3507]	Ser Ile Leu Lys Ile Ser Asn Lys Tyr His Thr Lys Gly Asp His Glu		
[3508]	115 120 125		
[3509]	Val Lys Ala Glu Gln Val Lys Ala Ser Lys Glu Met Gly Glu Thr Leu		



[3510]	130	135	140
[3511]	Leu Arg Ala Val Glu Ser Tyr Leu Leu Ala His Ser Asp Ala Tyr Asn		
[3512]	145	150	155
[3513]	<210> 315		
[3514]	<211> 16		
[3515]	<212> PRT		
[3516]	<213> 人工序列		
[3517]	<220>		
[3518]	<223> Bet v1的氨基酸81-96		
[3519]	<400> 315		
[3520]	Lys Tyr Asn Tyr Ser Val Ile Glu Gly Gly Pro Ile Gly Asp Thr Leu		
[3521]	1	5	10
[3522]	<210> 316		
[3523]	<211> 446		
[3524]	<212> PRT		
[3525]	<213> 人工序列		
[3526]	<220>		
[3527]	<223> H4H17038P2 HC		
[3528]	<400> 316		
[3529]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[3530]	1	5	10
[3531]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr		
[3532]	20	25	30
[3533]	Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[3534]	35	40	45
[3535]	Ser Phe Ile Ser Asp Ser Ser Ser Asn Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[3536]	50	55	60
[3537]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Ser Leu Tyr		
[3538]	65	70	75
[3539]	Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[3540]	85	90	95
[3541]	Ala Arg Glu Ala Ile Gly Ser Thr Ser Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly		
[3542]	100	105	110
[3543]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe		
[3544]	115	120	125
[3545]	Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu		
[3546]	130	135	140
[3547]	Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp		
[3548]	145	150	155

[3549]	Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
[3550]	165 170 175
[3551]	Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
[3552]	180 185 190
[3553]	Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
[3554]	195 200 205
[3555]	Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
[3556]	210 215 220
[3557]	Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
[3558]	225 230 235 240
[3559]	Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
[3560]	245 250 255
[3561]	Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
[3562]	260 265 270
[3563]	Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
[3564]	275 280 285
[3565]	Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
[3566]	290 295 300
[3567]	Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
[3568]	305 310 315 320
[3569]	Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
[3570]	325 330 335
[3571]	Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
[3572]	340 345 350
[3573]	Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
[3574]	355 360 365
[3575]	Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
[3576]	370 375 380
[3577]	Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
[3578]	385 390 395 400
[3579]	Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
[3580]	405 410 415
[3581]	Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
[3582]	420 425 430
[3583]	Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
[3584]	435 440 445
[3585]	<210> 317
[3586]	<211> 214
[3587]	<212> PRT

[3588]	<213>	人工序列
[3589]	<220>	
[3590]	<223>	H4H17038P2 LC
[3591]	<400>	317
[3592]	Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly	
[3593]	1 5 10 15	
[3594]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser	
[3595]	20 25 30	
[3596]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Arg Leu Ile	
[3597]	35 40 45	
[3598]	Tyr Ser Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly	
[3599]	50 55 60	
[3600]	Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser	
[3601]	65 70 75 80	
[3602]	Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu	
[3603]	85 90 95	
[3604]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala	
[3605]	100 105 110	
[3606]	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly	
[3607]	115 120 125	
[3608]	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala	
[3609]	130 135 140	
[3610]	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln	
[3611]	145 150 155 160	
[3612]	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser	
[3613]	165 170 175	
[3614]	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr	
[3615]	180 185 190	
[3616]	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser	
[3617]	195 200 205	
[3618]	Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
[3619]	210	
[3620]	<210>	318
[3621]	<211>	446
[3622]	<212>	PRT
[3623]	<213>	人工序列
[3624]	<220>	
[3625]	<223>	H4H16987P HC
[3626]	<400>	318

[3627]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[3628]	1				5					10					15	
[3629]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Val	Ser	Ser	Asn
[3630]				20					25					30		
[3631]	Ser	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Glu	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[3632]			35					40					45			
[3633]	Ser	Val	Ile	Phe	Ser	Gly	Gly	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Ser	Asp	Ser	Val	Lys
[3634]	50						55					60				
[3635]	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	His	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu
[3636]	65					70					75				80	
[3637]	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala
[3638]					85					90					95	
[3639]	Arg	His	Ser	Asn	Trp	Asn	Phe	Asp	Ala	Phe	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly
[3640]				100					105					110		
[3641]	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
[3642]			115					120					125			
[3643]	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu
[3644]	130						135						140			
[3645]	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
[3646]	145					150					155				160	
[3647]	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
[3648]					165				170						175	
[3649]	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
[3650]				180					185					190		
[3651]	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro
[3652]			195					200					205			
[3653]	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro
[3654]	210						215					220				
[3655]	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
[3656]	225					230					235				240	
[3657]	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
[3658]					245				250					255		
[3659]	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
[3660]				260					265				270			
[3661]	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
[3662]			275					280					285			
[3663]	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
[3664]	290						295					300				
[3665]	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys

[3666]	305	310	315	320
[3667]	Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser			
[3668]		325	330	335
[3669]	Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro			
[3670]		340	345	350
[3671]	Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val			
[3672]		355	360	365
[3673]	Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly			
[3674]		370	375	380
[3675]	Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp			
[3676]	385	390	395	400
[3677]	Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp			
[3678]		405	410	415
[3679]	Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His			
[3680]		420	425	430
[3681]	Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys			
[3682]		435	440	445
[3683]	<210>	319		
[3684]	<211>	214		
[3685]	<212>	PRT		
[3686]	<213>	人工序列		
[3687]	<220>			
[3688]	<223>	H4H16987P LC		
[3689]	<400>	319		
[3690]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
[3691]	1	5	10	15
[3692]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Phe Asp Thr Tyr			
[3693]		20	25	30
[3694]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile			
[3695]		35	40	45
[3696]	Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
[3697]		50	55	60
[3698]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
[3699]	65	70	75	80
[3700]	Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Tyr			
[3701]		85	90	95
[3702]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala			
[3703]		100	105	110
[3704]	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly			

[3705]	115	120	125
[3706]	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		
[3707]	130	135	140
[3708]	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
[3709]	145	150	155
[3710]	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser		
[3711]	165	170	175
[3712]	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr		
[3713]	180	185	190
[3714]	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser		
[3715]	195	200	205
[3716]	Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
[3717]	210		
[3718]	<210> 320		
[3719]	<211> 443		
[3720]	<212> PRT		
[3721]	<213> 人工序列		
[3722]	<220>		
[3723]	<223> H4H16992P HC		
[3724]	<400> 320		
[3725]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu		
[3726]	1	5	10
[3727]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Gly Ser Ile Thr Asn Tyr		
[3728]	20	25	30
[3729]	Phe Trp Thr Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile		
[3730]	35	40	45
[3731]	Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys		
[3732]	50	55	60
[3733]	Ser Arg Val Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu		
[3734]	65	70	75
[3735]	Asn Met Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
[3736]	85	90	95
[3737]	Gly Ser Tyr Tyr Tyr Gly Val Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val		
[3738]	100	105	110
[3739]	Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala		
[3740]	115	120	125
[3741]	Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu		
[3742]	130	135	140
[3743]	Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly		

[3744]	145	150	155	160
[3745]	Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser			
[3746]		165	170	175
[3747]	Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu			
[3748]		180	185	190
[3749]	Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr			
[3750]		195	200	205
[3751]	Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro			
[3752]		210	215	220
[3753]	Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro			
[3754]	225	230	235	240
[3755]	Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr			
[3756]		245	250	255
[3757]	Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn			
[3758]		260	265	270
[3759]	Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg			
[3760]		275	280	285
[3761]	Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val			
[3762]		290	295	300
[3763]	Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser			
[3764]	305	310	315	320
[3765]	Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys			
[3766]		325	330	335
[3767]	Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu			
[3768]		340	345	350
[3769]	Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe			
[3770]		355	360	365
[3771]	Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu			
[3772]		370	375	380
[3773]	Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe			
[3774]	385	390	395	400
[3775]	Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly			
[3776]		405	410	415
[3777]	Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr			
[3778]		420	425	430
[3779]	Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys			
[3780]		435	440	
[3781]	<210>	321		
[3782]	<211>	214		

[3783]	<212>	PRT
[3784]	<213>	人工序列
[3785]	<220>	
[3786]	<223>	H4H16992P LC
[3787]	<400>	321
[3788]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
[3789]	1 5 10 15	
[3790]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Lys Ser Phe	
[3791]	20 25 30	
[3792]	Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile	
[3793]	35 40 45	
[3794]	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Pro Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly	
[3795]	50 55 60	
[3796]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ser	
[3797]	65 70 75 80	
[3798]	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Arg Asn Asn Trp Pro Phe	
[3799]	85 90 95	
[3800]	Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala	
[3801]	100 105 110	
[3802]	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly	
[3803]	115 120 125	
[3804]	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala	
[3805]	130 135 140	
[3806]	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln	
[3807]	145 150 155 160	
[3808]	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser	
[3809]	165 170 175	
[3810]	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr	
[3811]	180 185 190	
[3812]	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser	
[3813]	195 200 205	
[3814]	Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
[3815]	210	
[3816]	<210>	322
[3817]	<211>	447
[3818]	<212>	PRT
[3819]	<213>	人工序列
[3820]	<220>	
[3821]	<223>	H4H17082P2 HC



[3822]	<400> 322															
[3823]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
[3824]	1				5					10					15	
[3825]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Ile	Ser	Tyr
[3826]				20					25					30		
[3827]	Asn	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Thr	Gly	Gln	Gly	Leu	Asp	Trp	Met
[3828]				35					40					45		
[3829]	Gly	Trp	Met	Asn	Pro	Phe	Arg	Asn	Asn	Ala	Gly	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
[3830]		50						55				60				
[3831]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Val	Thr	Trp	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
[3832]	65					70					75				80	
[3833]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Ser	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys
[3834]				85					90					95		
[3835]	Ala	Arg	Glu	His	Gly	Ser	Ser	Trp	Gly	Phe	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
[3836]				100					105					110		
[3837]	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
[3838]				115					120				125			
[3839]	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala
[3840]		130						135				140				
[3841]	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
[3842]	145					150					155				160	
[3843]	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
[3844]				165					170					175		
[3845]	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
[3846]				180					185					190		
[3847]	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys
[3848]			195					200					205			
[3849]	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro
[3850]		210						215				220				
[3851]	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
[3852]	225					230					235				240	
[3853]	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
[3854]				245					250						255	
[3855]	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu
[3856]				260					265					270		
[3857]	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
[3858]				275					280					285		
[3859]	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
[3860]		290						295					300			

[3861]	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
[3862]	305					310					315					320
[3863]	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
[3864]					325					330						335
[3865]	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
[3866]					340					345					350	
[3867]	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
[3868]					355					360					365	
[3869]	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
[3870]		370						375					380			
[3871]	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
[3872]	385					390					395					400
[3873]	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
[3874]					405					410						415
[3875]	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
[3876]					420					425					430	
[3877]	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	
[3878]					435				440						445	
[3879]	<210>	323														
[3880]	<211>	215														
[3881]	<212>	PRT														
[3882]	<213>	人工序列														
[3883]	<220>															
[3884]	<223>	H4H17082P2 LC														
[3885]	<400>	323														
[3886]	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
[3887]	1				5					10					15	
[3888]	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Ser
[3889]					20					25					30	
[3890]	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu
[3891]					35					40					45	
[3892]	Ile	Tyr	Gly	Ala	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
[3893]					50					55					60	
[3894]	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu
[3895]	65					70					75					80
[3896]	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Gly	Ser	Ser	Pro
[3897]					85					90					95	
[3898]	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala
[3899]					100					105					110	

[3900]	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser
[3901]				115				120					125			
[3902]	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu
[3903]				130				135					140			
[3904]	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser
[3905]	145						150				155					160
[3906]	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu
[3907]					165					170					175	
[3908]	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val
[3909]				180					185					190		
[3910]	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys
[3911]				195					200					205		
[3912]	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys									
[3913]				210					215							

在结合至H4H16992P后具有显著保护的Bet v 1肽

Bet v 1		1分钟氘化		5分钟氘化	
	Bet v 1	Bet v 1 + H4H16992P		Bet v 1	Bet v 1 + H4H16992P
	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>	Δ	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>
23-38	1748.25	1747.47	<b>-0.78</b>	1749.37	1747.81
23-41	2035.88	2035.14	<b>-0.74</b>	2037.97	2035.48
23-43	2265.54	2264.25	<b>-1.29</b>	2267.30	2264.60
26-43	1890.50	1889.99	<b>-1.80</b>	1891.61	1890.02
29-43	1603.03	1602.35	<b>-0.67</b>	1603.78	1602.49
					<b>-1.56</b>
					<b>-2.49</b>
					<b>-2.70</b>
					<b>-1.58</b>
					<b>-1.29</b>

Bet v 1		10分钟氘化		20分钟氘化	
	Bet v 1	Bet v 1 + H4H16992P		Bet v 1	Bet v 1 + H4H16992P
	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>	Δ	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>
23-38	1750.00	1748.05	<b>-1.95</b>	1750.83	1748.28
23-41	2038.68	2035.86	<b>-2.82</b>	2039.74	2035.62
23-43	2267.93	2264.97	<b>-2.97</b>	2268.94	2265.22
26-43	1892.36	1890.15	<b>-2.22</b>	1893.15	1890.20
29-43	1604.51	1602.69	<b>-1.82</b>	1605.34	1602.76
					<b>-2.55</b>
					<b>-4.12</b>
					<b>-3.72</b>
					<b>-2.95</b>
					<b>-2.59</b>

图1

在结合至H4H17082P后具有显著保护的Bet v 1肽

Bet v 1	1分钟氧化			5分钟氧化	
	Bet v 1	Bet v 1 + H4H17082P2	Δ	Bet v 1	Bet v 1 + H4H17082P2
肽范围	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>	Δ	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>
44-56	1289.33	1286.44	-2.89	1289.83	1286.68
44-70	2948.26	2945.90	-2.36	2949.94	2946.68
45-56	1174.64	1172.13	-2.50	1175.00	1172.18
57-66	1172.15	1172.31	0.16	1172.33	1172.62
57-70	1678.31	1678.21	-0.10	1678.93	1678.90

Bet v 1	10分钟氧化			20分钟氧化	
	Bet v 1	Bet v 1 + H4H17082P2	Δ	Bet v 1	Bet v 1 + H4H17082P2
肽范围	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>	Δ	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>
44-56	1290.49	1286.72	-3.77	1290.74	1286.91
44-70	2950.45	2947.01	-3.45	2951.12	2947.05
45-56	1175.04	1172.36	-2.69	1175.43	1172.49
57-66	1172.48	1172.46	-0.02	1172.49	1172.61
57-70	1678.94	1678.82	-0.12	1679.17	1678.89

图2

在结合至H4H17038P2后具有显著保护的Bet v 1肽

Bet v 1	1分钟氘化			5分钟氘化	
	Bet v 1	Bet v 1 + H4H17038P2		Bet v 1	Bet v 1 + H4H17038P2
肽范围	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>	Δ	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>
2-19	1974.52	1972.83	-1.68	1975.52	1973.95
5-10	758.44	758.01	-0.43	758.46	758.14
5-19	1670.08	1669.3	-0.77	1670.94	1670.04
8-19	1262.02	1261.68	-0.34	1262.96	1262.49
11-19	929.74	929.46	-0.28	930.65	930.36
					-1.57
					-0.31
					-0.9
					-0.46
					-0.29

Bet v 1	10分钟氘化			20分钟氘化	
	Bet v 1	Bet v 1 + H4H17038P2		Bet v 1	Bet v 1 + H4H17038P2
肽范围	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>	Δ	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>
2-19	1976.06	1974.38	-1.68	1976.36	1974.98
5-10	758.48	758.18	-0.31	758.55	758.18
5-19	1671.51	1670.47	-1.04	1671.91	1670.92
8-19	1263.31	1262.9	-0.41	1263.57	1263.28
11-19	931.1	930.7	-0.4	931.41	931.11
					-1.39
					-0.36
					-0.98
					-0.29
					-0.31

图3

在结合至H4H16987P后具有显著保护的Bet v 1肽

Bet v 1	1分钟氘化			5分钟氘化	
	Bet v 1	Bet v 1 + H4H16987P		Bet v 1	Bet v 1 + H4H16987P
肽范围	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>	Δ	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>
57-66	1172.27	1169.98	<b>-2.38</b>	1172.64	1170.04
57-70	1678.61	1675.67	<b>-2.94</b>	1679.17	1676.05
81-96	1731.22	1730.33	<b>-0.89</b>	1731.66	1730.77
85-96	1162.24	1161.44	<b>-0.79</b>	1162.25	1161.74
89-96	732.56	732.41	-0.19	732.57	732.52
					<b>-2.61</b>
					<b>-3.13</b>
					<b>-0.89</b>
					<b>-0.51</b>
					-0.08

Bet v 1	10分钟氘化			20分钟氘化	
	Bet v 1	Bet v 1 + H4H16987P		Bet v 1	Bet v 1 + H4H16987P
肽范围	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>	Δ	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>
57-66	1172.74	1170.28	<b>-2.46</b>	1172.74	1170.46
57-70	1679.38	1676.22	<b>-3.16</b>	1679.44	1676.44
81-96	1731.67	1730.95	<b>-0.72</b>	1731.8	1731.27
85-96	1162.27	1161.92	<b>-0.34</b>	1162.31	1162.06
89-96	732.58	732.54	-0.08	732.62	732.53
					<b>-2.28</b>
					<b>-3</b>
					<b>-0.53</b>
					<b>-0.26</b>
					-0.13

图4

在结合至H4H16992P、H4H17082P、H4H17038P2及H4H16987P的4种抗体组合后具有显著保护的Bet v 1肽

Bet v 1		1分钟氘化			5分钟氘化		
	Bet v 1	Bet v 1+组合	Δ		Bet v 1	Bet v 1+组合	
肽范围	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>	Δ		质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>	Δ
2-19	1974.69	1973.29	<b>-1.41</b>		1975.83	1973.96	<b>-1.89</b>
5-19	1670.16	1670.00	<b>-0.41</b>		1671.12	1670.00	<b>-1.14</b>
23-41	2265.84	2264.15	<b>-1.75</b>		2267.69	2264.35	<b>-3.39</b>
23-43	1228.61	1227.58	<b>-1.04</b>		1229.22	1227.62	<b>-1.62</b>
44-70	2948.40	2942.57	<b>-5.75</b>		2950.06	2943.03	<b>-6.94</b>
57-66	1171.88	1169.99	<b>-1.44</b>		1172.10	1169.99	<b>-1.70</b>
81-96	1731.58	1729.88	<b>-1.72</b>		1731.64	1729.99	<b>-1.67</b>
84-96	1325.51	1324.33	<b>-1.24</b>		1325.43	1324.67	<b>-1.67</b>

Bet v 1		10分钟氘化			20分钟氘化		
	Bet v 1	Bet v 1+组合	Δ		Bet v 1	Bet v 1+组合	
肽范围	质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>	Δ		质心MH <sup>+</sup>	质心MH <sup>+</sup>	Δ
2-19	1976.61	1974.04	<b>-2.59</b>		1976.99	1974.04	<b>-3</b>
5-19	1671.77	1670.06	<b>-1.74</b>		1672.03	1670.12	<b>-1.96</b>
23-41	2268.43	2264.50	<b>-3.98</b>		2269.66	2264.72	<b>-4.99</b>
23-43	1230.15	1227.64	<b>-2.52</b>		1230.88	1227.71	<b>-3.24</b>
44-70	2950.52	2943.40	<b>-7.03</b>		2951.79	2943.42	<b>-8.28</b>
57-66	1172.18	1170.22	<b>-1.56</b>		1172.32	1170.09	<b>-1.85</b>
81-96	1731.76	1730.22	<b>-1.57</b>		1732.01	1730.61	<b>-1.49</b>
84-96	1325.53	1324.72	<b>-1.57</b>		1325.82	1324.98	<b>-1.5</b>

图5



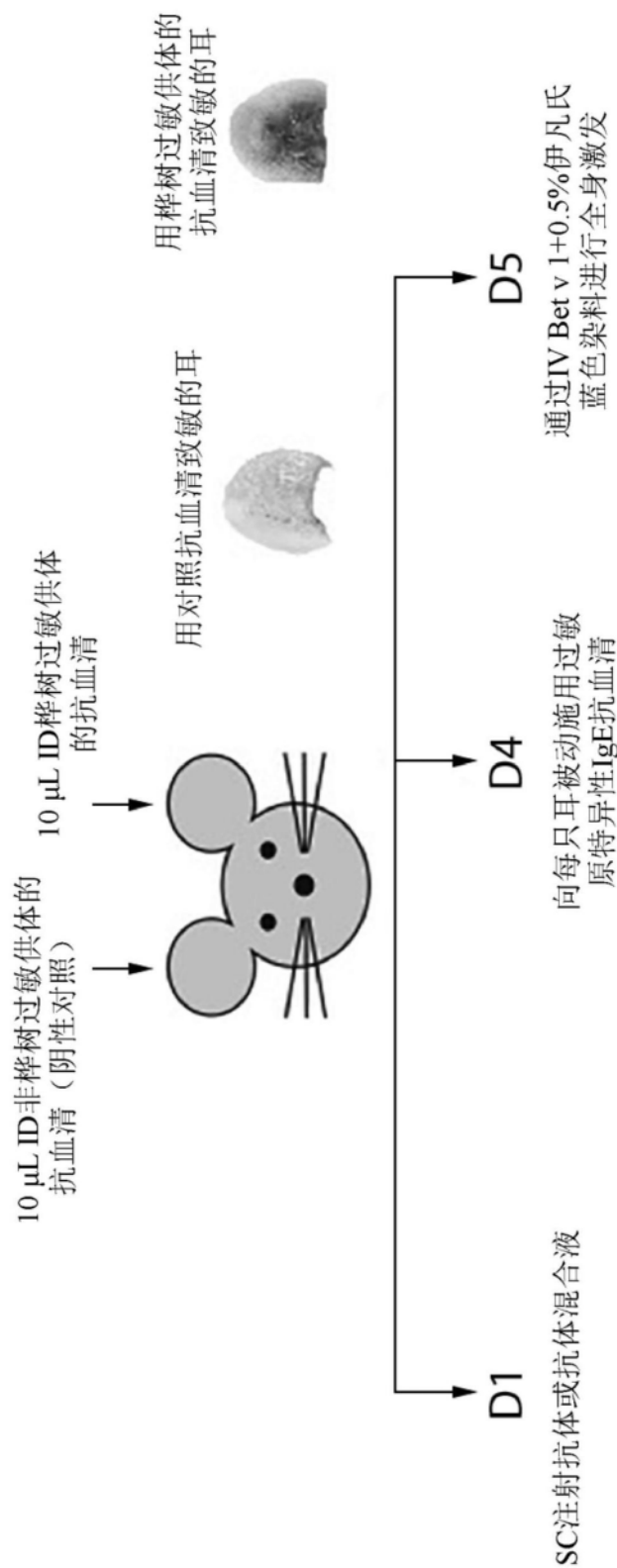


图6

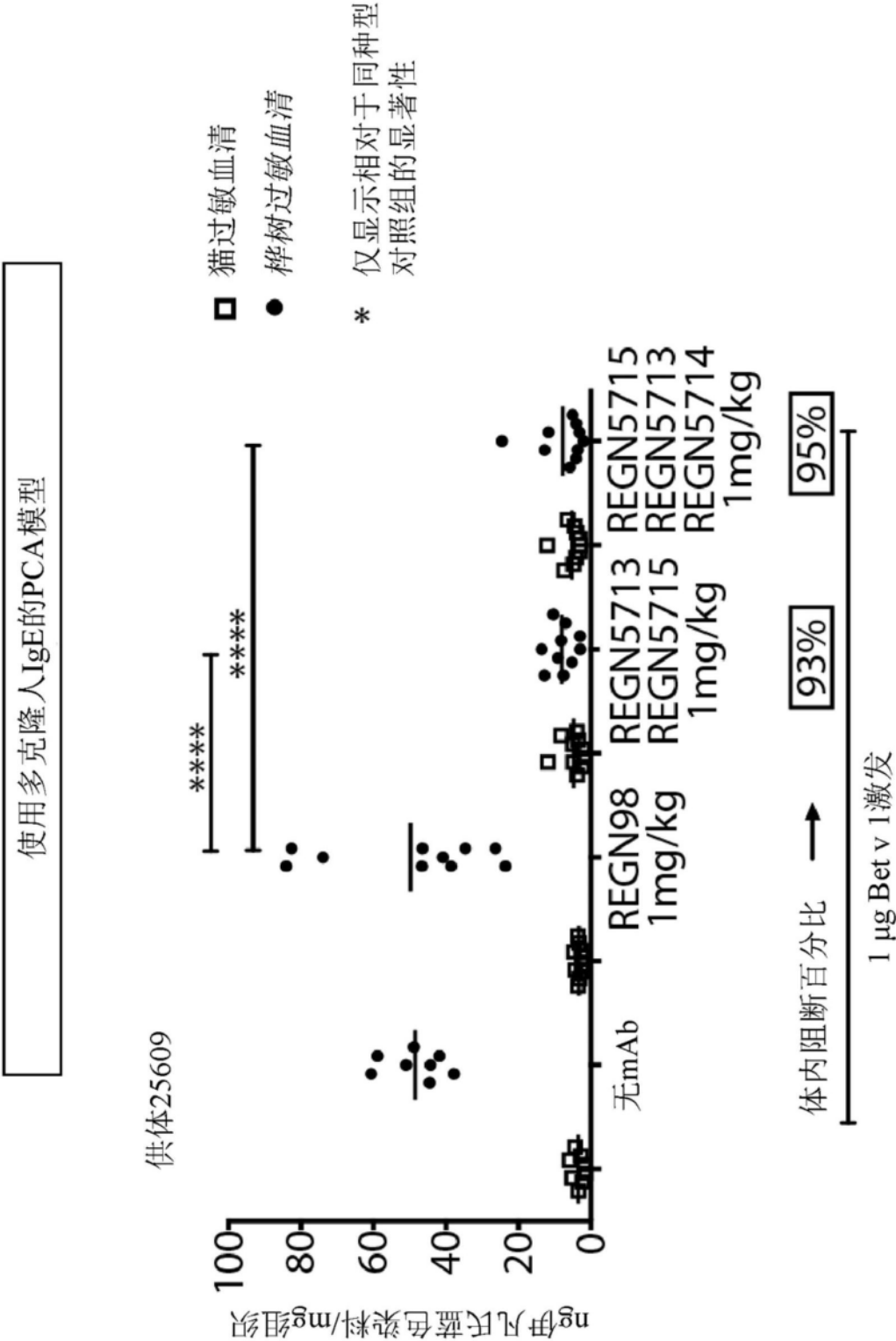


图7

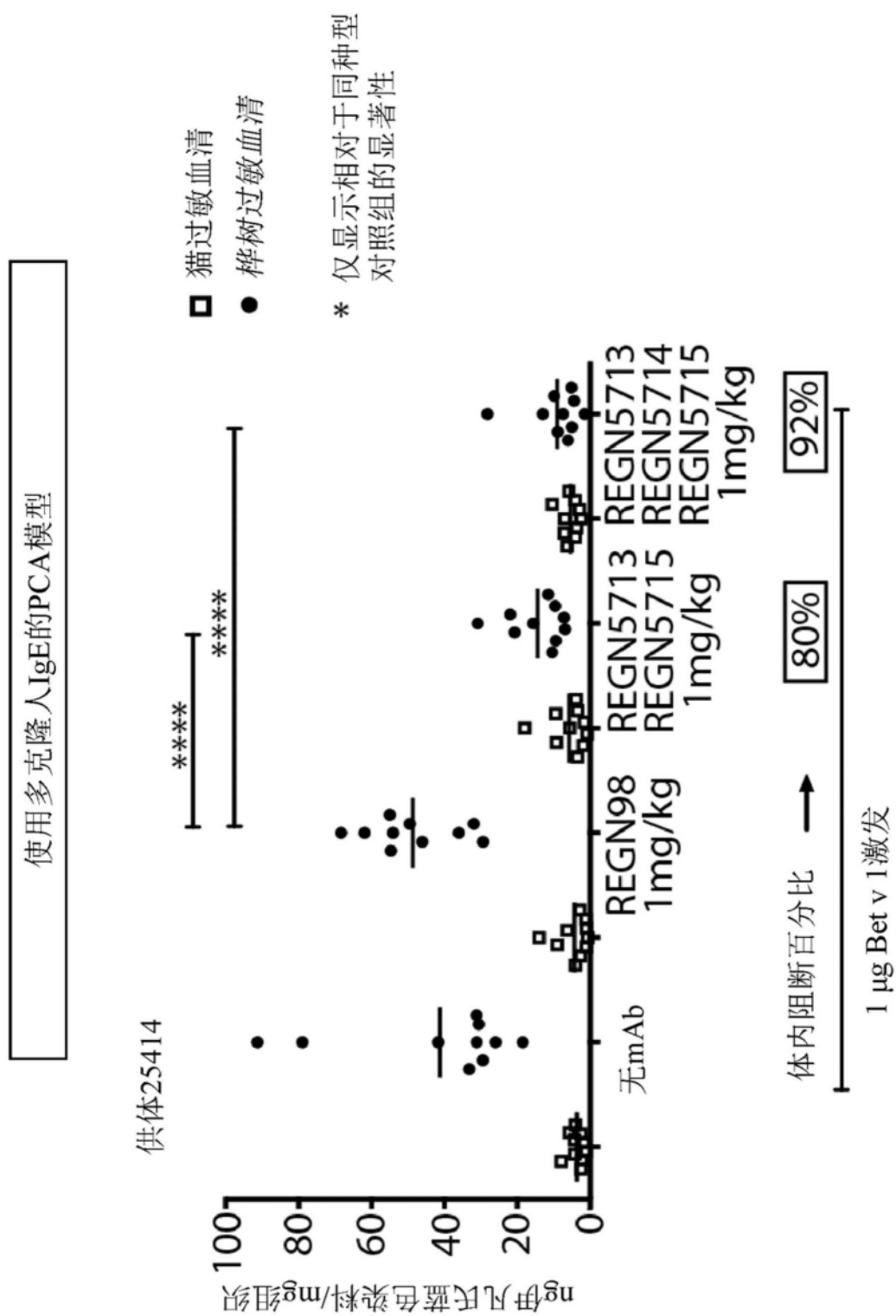


图7(续)

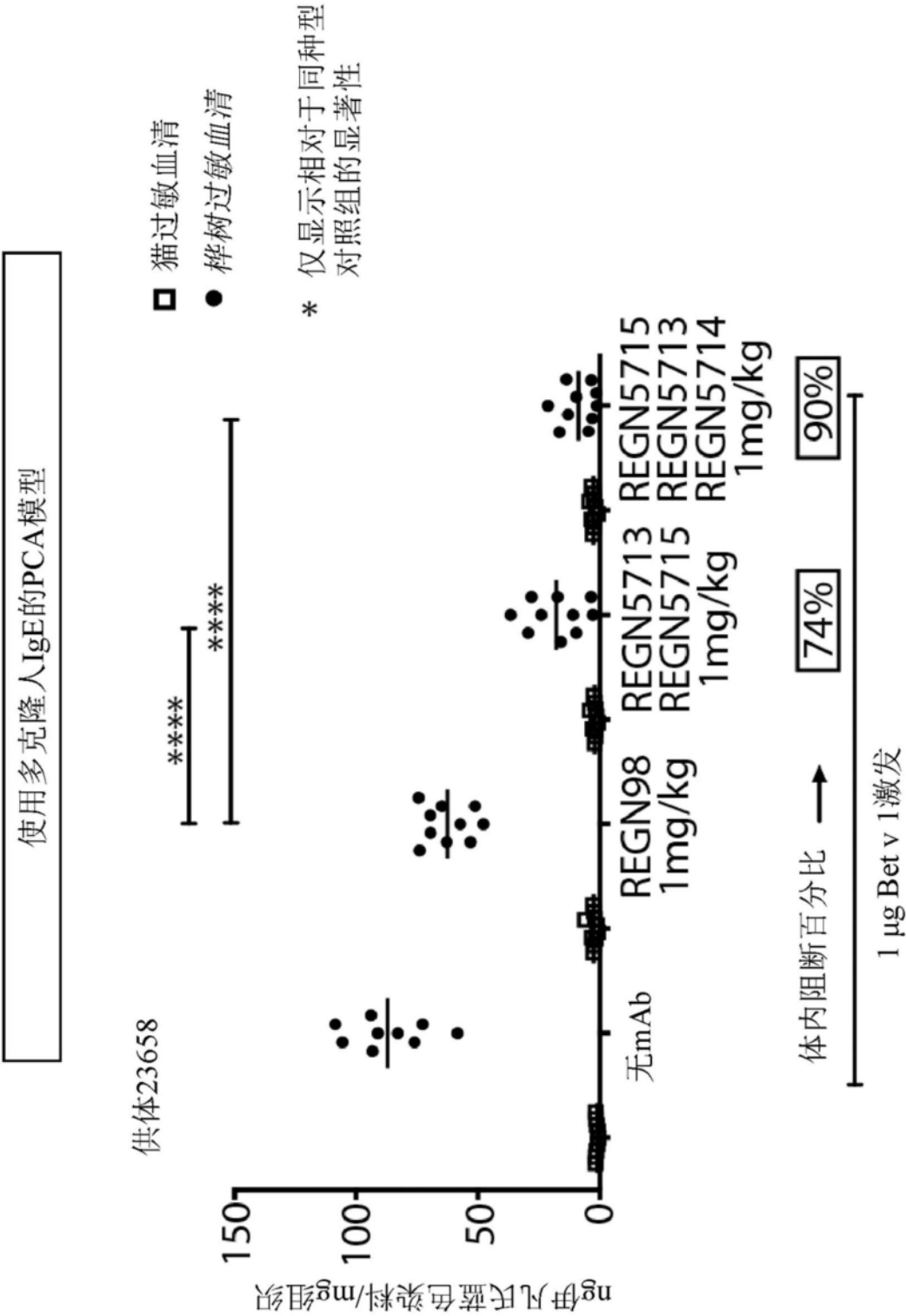


图7(续)

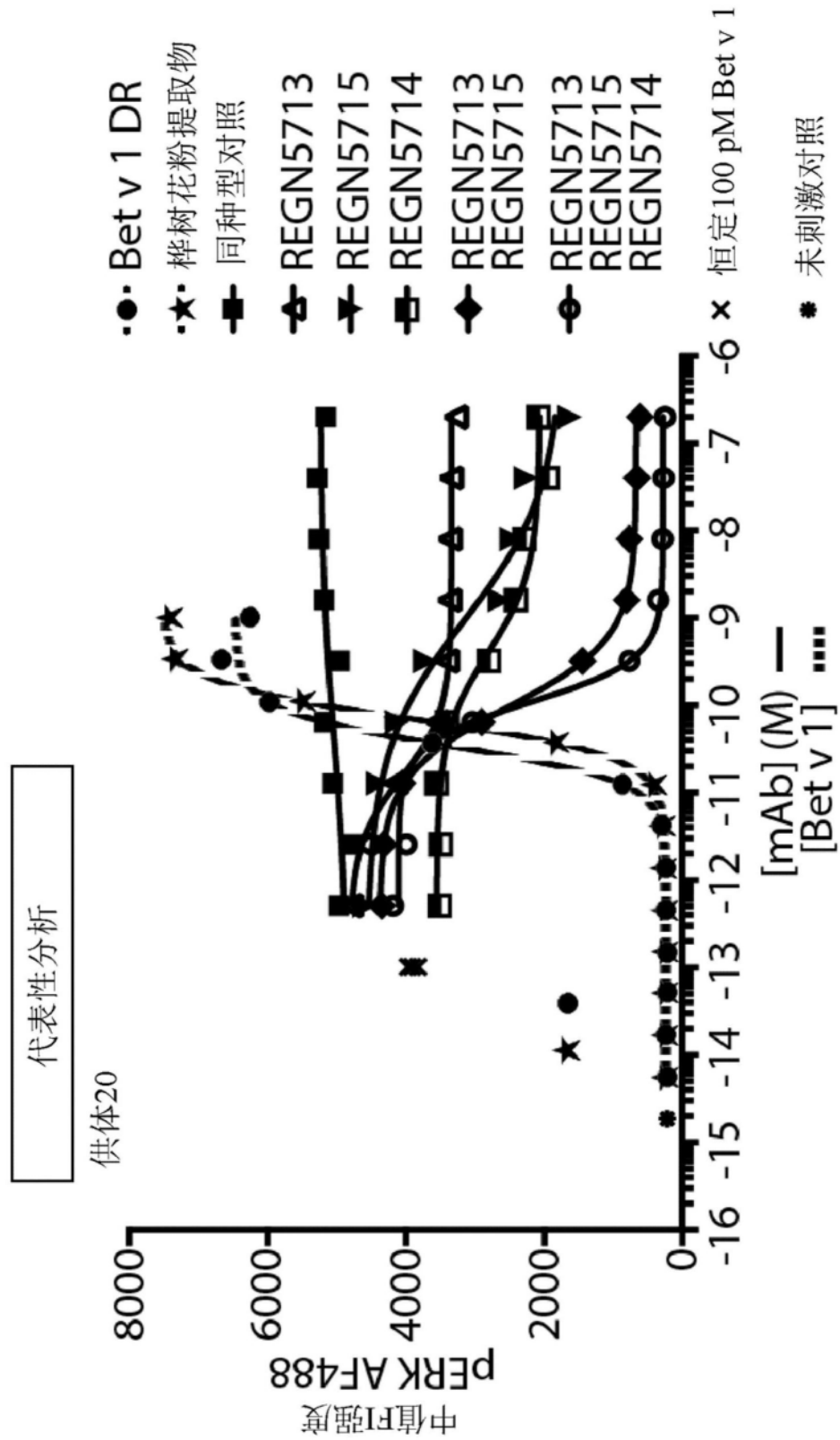


图8

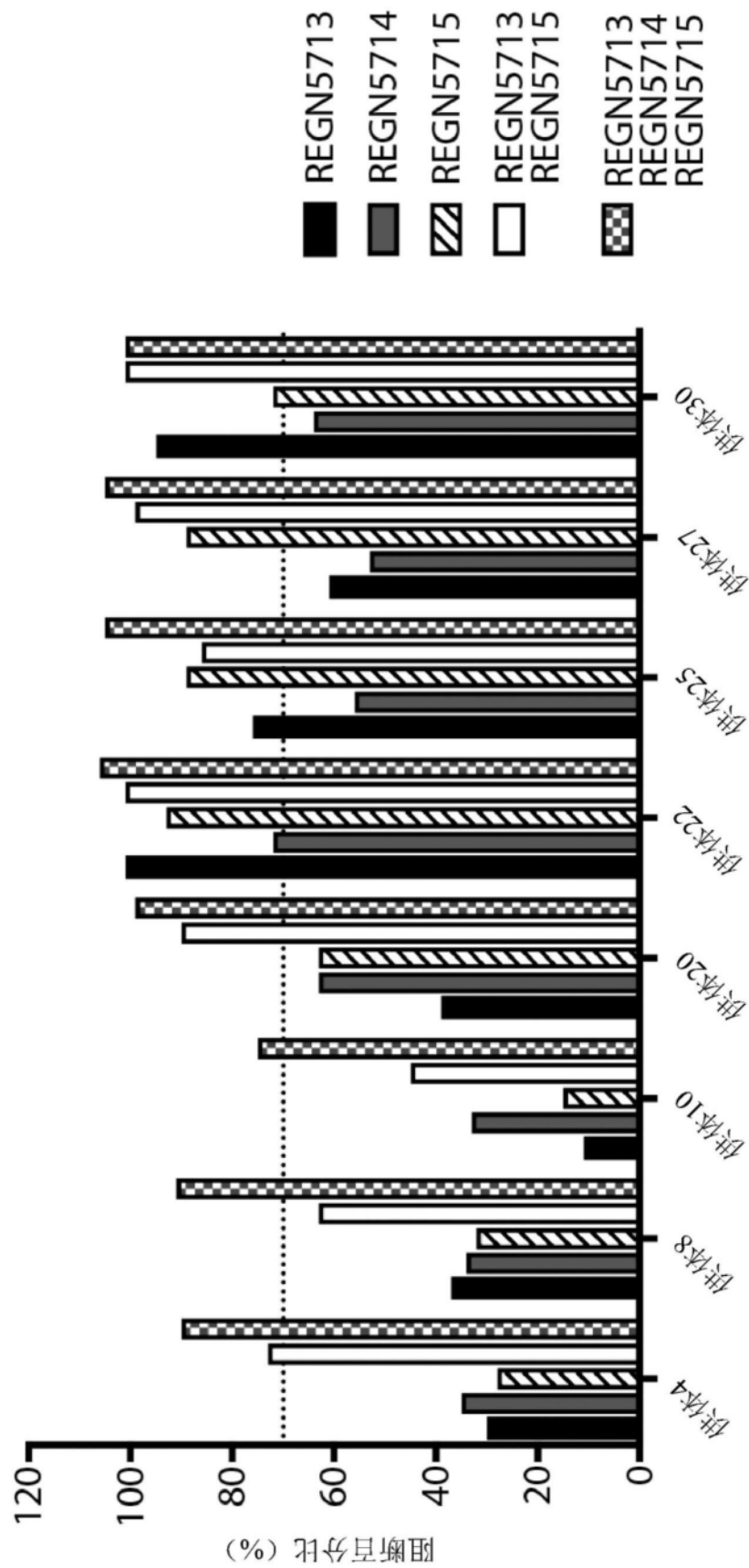


图8(续)