



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108699142 A

(43)申请公布日 2018.10.23

(21)申请号 201780011724.8

0 • 弗拉基米罗芙娜米提娜

(22)申请日 2017.02.17

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

(30)优先权数据

代理人 张莉 黄革生

62/296,282 2016.02.17 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

(51)Int.Cl.

2018.08.16

C07K 16/22(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

A61K 39/395(2006.01)

PCT/IB2017/050917 2017.02.17

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/141208 EN 2017.08.24

(71)申请人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 C • 伊贝邦乔 C • 雅各比

A • 迈耶 E • 沙特

A-U • 川德伦伯格

权利要求书3页 说明书83页

序列表75页 附图8页

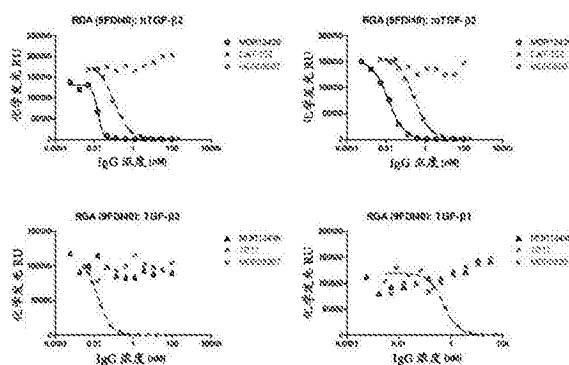
(54)发明名称

TGF β 2抗体

(57)摘要

本发明是抗转化生长因子 β 2(TGF- β 2)抗体的领域。具体地,本发明提供相对于人TGF- β 1或TGF- β 3同种型优先地结合人TGF- β 2同种型的人单克隆抗体。

通过 RGA 活性的生物学活性和同种型特异性 (MOR13436)



1. 一种中和人TGF- β 同种型TGF- β 2但不中和人同种型TGF- β 3的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段。

2. 根据权利要求1的抗体或其功能性片段,其中和人TGF- β 同种型TGF- β 2但不中和人同种型TGF- β 3和TGF- β 1。

3. 根据权利要求1或2的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段,其中通过Smad依赖性报告基因试验来测定中和。

4. 根据之前任一项权利要求的抗体或其功能性片段,其以低于250pM的半最大抑制浓度(IC50)中和人TGF- β 2并且以高于100nM的半最大抑制浓度(IC50)中和人TGF- β 1或TGF- β 3,如通过Smad依赖性报告基因试验测定的。

5. 一种以低于TGF- β 1或TGF- β 3的解离常数至少70倍的解离常数优于人同种型TGF- β 1和TGF- β 3择优结合人TGF- β 同种型TGF- β 2的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段,其中所述抗体中和人TGF- β 2。

6. 根据之前任一项权利要求的抗体或其功能性片段,其以1pM或更低的K_d结合人TGF- β 2。

7. 根据权利要求1-6任一项的抗体或其功能性片段,其中所述抗体或其功能性片段包括与SEQ ID NO:7、27、47、67、87或107中的至少一个具有至少95%序列同一性的VH多肽序列和与SEQ ID NO:17、37、57、77、97或117中的至少一个具有至少95%序列同一性的VL多肽序列。

8. 根据权利要求1-7任一项的抗体或其功能性片段,其中所述抗体或其功能性片段包括包含选自SEQ ID NO:1、21、41、61、81、101或4、24、44、64、84、104或124-129的氨基酸序列的重链可变区CDR1;包含选自SEQ ID NO:2、22、42、62、82、102或5、25、45、65、85、105的氨基酸序列的重链可变区CDR2;包含选自SEQ ID NO:3、23、43、63、83、103或6、26、46、66、86、106的氨基酸序列的重链可变区CDR3;包含选自SEQ ID NO:11、31、51、71、91、111或14、34、54、74、94、114的氨基酸序列的轻链可变区CDR1;包含选自SEQ ID NO:12、32、52、72、92、112或15、35、55、75、95、115的氨基酸序列的轻链可变区CDR2;和包含选自SEQ ID NO:13、33、53、73、93、113或16、36、56、76、96、116的氨基酸序列的轻链可变区CDR3。

9. 根据权利要求1-8任一项的人单克隆抗TGF- β 2抗体或功能性片段,其包括:

(a) SEQ ID NO:1的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:2的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:3的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:11的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:12的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:13的轻链可变区CDR3,

(b) SEQ ID NO:21的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:22的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:23的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:31的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:32的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR3,

(c) SEQ ID NO:41的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:42的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:43的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:51的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:52的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:53的轻链可变区CDR3,

(d) SEQ ID NO:61的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:62的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:63的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:71的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:72的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:73的轻链可变区CDR3,

(e) SEQ ID NO:81的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:82的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:83的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:91的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:92的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:93的轻链可变区CDR3,或

(f) SEQ ID NO:101的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:102的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:103的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:111的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:112的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:113的轻链可变区CDR3。

10.根据权利要求1-9任一项的抗体或功能性片段,其中所述抗体或其功能性片段包括与选自SEQ ID NO:9、29、49、69、89、109的至少一个序列具有至少95%序列同一性的全长重链氨基酸序列和与选自SEQ ID NO:19、39、59、79、99、119的至少一个序列具有至少95%序列同一性的全长轻链氨基酸序列。

11.一种人单克隆抗TGF- β 2抗体,其包括:

- (a) SEQ ID NO:7的可变重链序列和SEQ ID NO:17的可变轻链序列;
- (b) SEQ ID NO:27的可变重链序列和SEQ ID NO:37的可变轻链序列;
- (c) SEQ ID NO:47的可变重链序列和SEQ ID NO:57的可变轻链序列;
- (d) SEQ ID NO:67的可变重链序列和SEQ ID NO:77的可变轻链序列;
- (e) SEQ ID NO:87的可变重链序列和SEQ ID NO:97的可变轻链序列;或
- (f) SEQ ID NO:107的可变重链序列和SEQ ID NO:117的可变轻链序列。

12.人单克隆抗TGF- β 2抗体,其包括:

- (a) SEQ ID NO:9的重链序列和SEQ ID NO:19的轻链序列;
- (b) SEQ ID NO:29的重链序列和SEQ ID NO:39的轻链序列;
- (c) SEQ ID NO:49的重链序列和SEQ ID NO:59的轻链序列;
- (d) SEQ ID NO:69的重链序列和SEQ ID NO:79的轻链序列;
- (e) SEQ ID NO:89的重链序列和SEQ ID NO:99的轻链序列;或
- (f) SEQ ID NO:109的重链序列和SEQ ID NO:119的轻链序列。

13.根据之前任一项权利要求的抗TGF- β 2抗体,其中所述抗体是IgG1同种型。

14.根据之前任一项权利要求的人单克隆抗TGF- β 2抗体,其通过Fc区的突变具有改变的效应子功能。

15.一种分离的多核苷酸序列,其编码根据之前任一项权利要求的抗体或功能性片段。

16.根据权利要求15的分离的多核苷酸序列,包括SEQ ID NO:8、10、18、20、28、30、38、40、48、50、58、60、68、70、78、80、88、90、98、100、108、110、118或120中的一个或多个。

17.一种克隆或表达载体,其包括根据权利要求15或权利要求16的一个或多个分离的多核苷酸序列。

18.根据权利要求17的载体,其中所述载体包括SEQ ID NO:8、10、18、20、28、30、38、40、48、50、58、60、68、70、78、80、88、90、98、100、108、110、118或120中的一个或多个,或其编码至少一个CDR区的片段。

19.一种宿主细胞,其包括根据权利要求17或权利要求18的一个或多个载体。

20.一种用于产生权利要求1-14任一项的抗体或功能性片段的方法,包括培养权利要求24的宿主细胞并分离所述抗体或功能性片段。

21.一种药物组合物,其包括根据权利要求1-14任一项的抗体或其功能性片段。

22. 一种药物组合物,其包括权利要求9-14任一项的抗体或其功能性片段,用于治疗中或用作药物。

23. 根据权利要求21或22的药物组合物,进一步包括药物学上可接受的稀释剂或载体。

24. 根据权利要求21至23的药物组合物,进一步包括一种或多种其他的活性剂。

25. 权利要求21至24的药物组合物,用于治疗选自Dupuytren's病、Marfan相关病症或Marfan's病、大疱性表皮松解症、小梁切除术、Loeys-Dietz-综合征、皮肤系统性硬化症或肌肉骨骼疾病或病症的疾病或病理状况。

26. 一种治疗患有选自Dupuytren's病、Marfan相关病症或Marfan's病、大疱性表皮松解症、小梁切除术、Loeys-Dietz-综合征、皮肤系统性硬化症或肌肉骨骼疾病或病症的疾病或病理状况的患者,包括将有效剂量的根据权利要求21-24任一项的药物组合物施用于所述患者。

27. 根据权利要求1-14任一项的抗体或功能性片段、根据权利要求15或权利要求16的多核苷酸序列或根据权利要求21-24任一项的药物组合物在制造用于治疗Dupuytren's病、Marfan相关病症或Marfan's病、大疱性表皮松解症、小梁切除术、Loeys-Dietz-综合征、皮肤系统性硬化症或肌肉骨骼疾病或病症的药物中的用途。

28. 交叉阻断权利要求12的至少一个抗体与TGFβ-2结合或被权利要求12的至少一个抗体交叉阻断与TGFβ-2结合的抗体或其功能性片段。

TGF β 2抗体

[0001] 序列表

[0002] 本申请包含已经以ASCII格式电子递交的序列表,特此通过引用完整并入。所述ASCII拷贝于2017年2月13日创建,命名为PAT057206-WO-PCT_SL.TXT,具有162,071比特大小。

发明领域

[0003] 本发明涉及抗转化生长因子 β 2 (TGF- β 2) 抗体。特别地,本发明提供与人TGF- β 1或TGF- β 3同种型相比,优先结合人TGF- β 2同种型的人单克隆抗体。

[0004] 发明背景

[0005] 转化生长因子 β (TGF- β) 超家族的成员是与各种病理状况(如,纤维化、瘢痕形成、癌症) (Growth Factors.2011年8月;29 (4):140-52)、特定病症(如Marfan-相关病症) (US8,597,646) 和大疱性表皮松解症相关的细胞因子。US5,571,714公开了抗TGF β 抗体在治疗恶性和转移性癌症中的用途。抗TGF β 抗体已经用于各种疾病的治疗中,如:肺纤维化(S.N.Giri等,Thorax 48,959-966,1993);神经瘢痕形成(A.Logan等,Eur.J.Neurosci.6,355-363,1994);动脉损伤(Y.G.Wolf,L.M.Rasmussen&E.Ruoslahti J.Clin.Invest.93,1172-1178,1994);肾小球性肾炎(W.A Border等,Nature 346,371-374,1990);类风湿性关节炎(Wahl等,J.Exp.Medicine 177,225-230,1993) 和真皮瘢痕形成(M.Shah等,Lancet 339,213-214 1992;M.Shah等,J.Cell Science 107,1137-1157,1994;M.Shah等,108,985-1002,1995)。因此,靶向TGF- β 活性是活跃的研究领域,使用不同的方法,包括反义寡核苷酸(Curr Pharm Biotechnol.2011年12月;12 (12):2203-13.)、TGF- β 受体激酶的小分子抑制剂(例如,靶向I和II型的TGF- β 受体的LY2109761 (Mol Cancer Ther 2008 7;829))、捕获天然配体的可溶性受体胞外结构域和单克隆抗体(综述于Growth Factors.2011年8月29 (4):140-52;WO9713844)。

[0006] 转化生长因子 β 2 (TGF- β 2) 是TGF- β 蛋白家族的>30个成员中的一个成员。其与TGF- β 1/3同种型密切相关。所有TGF- β 前体蛋白由N-末端信号肽、大的前肽-区段和C-末端多肽组成。后者二聚化,形成活性的、成熟TGF- β 2蛋白,将其称为TGF- β 2。成熟TGF- β 1、TGF- β 2和TGF- β 3之间的同源性是相对高的(71-79%),而前肽区段是相当不保守的(43-54%同源性)。此外,TGF- β 2与其他TGF- β 家族蛋白的同源性仅为<33%,而在来自不同物种(包括人、猕猴和小鼠)的TGF- β 2之间观察到非常高的同源性(95-100%)。

[0007] 最多描述的TGF- β 信号途径是通过TGF- β II型受体、ALK5和Smad2/3的途径,但也已经确立了许多其他途径,包括ALK-和Smad-非依赖性途径。大部分商业上可获得的TGF- β 抗体是源自非人物种的多克隆抗体或小鼠单克隆抗体,如TGF- β 1特异性MAB240 (R&D SystemsTM),用于Western印迹分析中(J Immunol Methods.1999年5月27日;225 (1-2):87-93)。用于人临床研究中的抗体必须满足不同于工具抗体的需求。临床需求是通过使用嵌合的、人源化的或完全人的抗体降低潜在的免疫原性。在临床研发中有一些满足这些需求的TGF- β 同种型抗体,包括:

- [0008] 1. 中和TGF- β 同种型1、2和3的完全人单克隆抗体GC1008 (Fresolimumab) ,
- [0009] 2. 中和TGF- β 1的抗体LY2382770,
- [0010] 3. 中和TGF- β 1的抗体CAT-192 (Metelimumab) 和
- [0011] 4. 对TGF- β 2具有高亲和性并且具有与TGF- β 3的交叉反应性的抗体CAT-152 (Lerdelimumab, 也称为6B1) (以上全部综述于Growth Factors. 2011年8月; 29 (4) : 140-52)。
- [0012] CAT-152: CAT-152是对TGF- β 2具有亲和性 (0.89nM的Biacore® 系统解离常数) 并且与TGF- β 3具有9%交叉反应性 (10nM的Biacore® 系统解离常数) 的完全人IgG4抗体, 同时显示出没有可检测的与TGF- β 1的结合 (J Immunol Methods. 1999年7月30日; 227 (1-2) : 17-29; Drugs R&D 2002; 3 (2) : 106-108; W09713844)。CAT-152是作为青光眼引流术 (也称为小梁切除术) 辅助治疗研发的 (Drugs R&D 2002; 3 (2) : 106-108)。然而, 在III期临床试验中, 在第一次小梁切除术后, CAT-152未能防止某些青光眼患者中的纤维化进展 (Ophthalmology. 2007年10月; 114 (10) : 1822-30)。
- [0013] CAT-192: 在研究早期弥漫性皮肤系统性硬化症的I/II期试验中, TGF- β 1特异性重组人抗体CAR-192未能显示出功效证据 (Arthritis Rheum. 2007年1月; 56 (1) : 323-33)。此外, 在该试验中, 在接受CAT-192的患者中观察到比接受安慰剂的患者中更多的不良事件。这些发现进一步得到了突变小鼠模型中获得的結果的支持, 突变小鼠模型中获得的結果显示出降低的活性TGF- β 1水平与多器官炎症、表皮中缺少Langerhans细胞和肿瘤的发展相关 (Proc Natl Acad Sci U S A. 2008年12月2日; 105 (48))
- [0014] 三种密切相关的TGF- β 1/2/3同种型的存在, 导致对允许特异性地检测和中和人体中的这些蛋白的化合物的需求, 以避免可能与不良事件或不合需要的事件相关的任何其他途径干扰。更具体地, 这导致了对同种型特异性的抗TGF- β 2治疗抗体的强烈医学需求, 所述抗体有效地中和TGF- β 2并且呈现出相对于TGF- β 1或TGF- β 3优先地结合和中和TGF- β 2。理想地, 使TGF- β 2抗体的特异性与高结合亲和力组合, 因为高结合亲和力与提高的效力和较低的剂量需求相关, 有助于增强的功效、安全性和较低的成本 (MAbs. 2012年5月-6月; 4 (3) : 341-8)。这形成了对呈现出非常低的皮摩尔解离常数的同种型特异性TGF- β 2治疗抗体的强烈医学需求, 本发明解决了这种需求。
- [0015] 发明概述
- [0016] 以下方面中描述了本公开内容的某些实施方案:
- [0017] 1. 中和人TGF- β 同种型TGF- β 2并且不中和人同种型TGF- β 3的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段。
- [0018] 2. 根据方面1的抗体或其功能性片段, 其中中和人TGF- β 同种型TGF- β 2并且不中和人同种型TGF- β 3和TGF- β 1。
- [0019] 3. 根据方面1或2的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段, 其中通过Smad依赖性报告基因试验来测定中和。
- [0020] 4. 根据之前任一个方面的抗体或其功能性片段, 如通过Smad依赖性报告基因试验测定的, 其以低于250pM的半最大抑制浓度 (IC₅₀) 中和人TGF- β 2并且以高于100nM的半最大抑制浓度 (IC₅₀) 中和人TGF- β 1和/或TGF- β 3。
- [0021] 5. 人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段, 其中相对于人同种型TGF- β 1和TGF- β

3,所述抗体优先结合人TGF- β 同种型TGF- β 2,解离常数低于所述抗体对TGF- β 1或TGF- β 3的解离常数的至少70倍,其中抗体中和人TGF- β 2。

[0022] 6.根据之前任一个方面的抗体或其功能性片段,其以1pM或更低的 K_D 结合人TGF- β 2。

[0023] 7.根据1-6任一个方面的抗体或其功能性片段,其中所述抗体或其功能性片段包括:包括与选自SEQ ID NO:1、21、41、61、81、101或4、24、44、64、84、104或124-129的序列具有至少95%序列同一性的氨基酸序列的重链可变CDR1区;包括与选自SEQ ID NO:2、22、42、62、82、102或5、25、45、65、85、105的序列具有至少95%序列同一性的氨基酸序列的重链可变CDR2区;包括与选自SEQ ID NO:3、23、43、63、83、103或6、26、46、66、86、106的序列具有至少95%序列同一性的氨基酸序列的重链可变CDR3区;包括与选自SEQ ID NO:11、31、51、71、91、111或14、34、54、74、94、114的序列具有至少95%序列同一性的氨基酸序列的轻链可变CDR1区;包括与选自SEQ ID NO:12、32、52、72、92、112或15、35、55、75、95、115的序列具有至少95%序列同一性的氨基酸序列的轻链可变CDR2区;和包括与选自SEQ ID NO:13、33、53、73、93、113或16、36、56、76、96、116的序列具有至少95%序列同一性的氨基酸序列的轻链可变CDR3区。

[0024] 8.根据1-7任一个方面的抗体或其功能性片段,其中所述抗体或其功能性片段包括与SEQ ID NO:7、27、47、67、87或107中的至少一个具有至少95%序列同一性的重链可变区多肽序列。

[0025] 9.根据方面1-8中任一个的抗体或其功能性片段,其中所述抗体或其功能性片段包括与SEQ ID NO:17、37、57、77、97或117中的至少一个具有至少95%序列同一性的轻链可变区多肽序列。

[0026] 10.根据1-9任一个方面的抗体或其功能性片段,其中所述抗体或其功能性片段包括与SEQ ID NO:7、27、47、67、87或107中的至少一个具有至少95%序列同一性的重链可变区多肽序列和与SEQ ID NO:17、37、57、77、97或117中的至少一个具有至少95%序列同一性的轻链可变区多肽序列。

[0027] 11.根据1-10任一个方面的抗体或其功能性片段,其中所述抗体或其功能性片段包括:包括选自SEQ ID NO:1、21、41、61、81、101或4、24、44、64、84、104或124-129的氨基酸序列的重链可变区CDR1;包括选自SEQ ID NO:2、22、42、62、82、102或5、25、45、65、85、105的氨基酸序列的重链可变区CDR2;包括选自SEQ ID NO:3、23、43、63、83、103或6、26、46、66、86、106的氨基酸序列的重链可变区CDR3;包括选自SEQ ID NO:11、31、51、71、91、111或14、34、54、74、94、114的氨基酸序列的轻链可变区CDR1;包括选自SEQ ID NO:12、32、52、72、92、112或15、35、55、75、95、115的氨基酸序列的轻链可变区CDR2;和包括选自SEQ ID NO:13、33、53、73、93、113或16、36、56、76、96、116的氨基酸序列的轻链可变区CDR3。

[0028] 12.根据1-11任一个方面的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段,其包括:

[0029] (a) SEQ ID NO:1的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:2的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:3的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:11的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:12的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:13的轻链可变区CDR3,

[0030] (b) SEQ ID NO:21的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:22的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:23的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:31的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:32的轻链可变区

CDR2;和SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR3,

[0031] (c) SEQ ID NO:41的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:42的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:43的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:51的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:52的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:53的轻链可变区CDR3,

[0032] (d) SEQ ID NO:61的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:62的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:63的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:71的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:72的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:73的轻链可变区CDR3,

[0033] (e) SEQ ID NO:81的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:82的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:83的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:91的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:92的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:93的轻链可变区CDR3,或

[0034] (f) SEQ ID NO:101的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:102的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:103的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:111的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:112的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:113的轻链可变区CDR3。

[0035] 13.根据1-12任一个方面的抗体或功能性片段,其中所述抗体或其功能性片段包括与选自SEQ ID NO:9、29、49、69、89、109的至少一个序列具有至少95%序列同一性的全长重链氨基酸序列。

[0036] 14.根据1-13任一个方面的抗体或功能性片段,其中所述抗体或其功能性片段包括与选自SEQ ID NO:19、39、59、79、99、119的至少一个序列具有至少95%序列同一性的全长轻链氨基酸序列。

[0037] 15.根据1-14任一个方面的抗体或功能性片段,其中所述抗体或其功能性片段包括与选自SEQ ID NO:9、29、49、69、89、109的至少一个序列具有至少95%序列同一性的全长重链氨基酸序列和与选自SEQ ID NO:19、39、59、79、99、119的至少一个序列具有至少95%序列同一性的全长轻链氨基酸序列。

[0038] 16.人单克隆抗TGF- β 2抗体,其包括:

[0039] (a) SEQ ID NO:7的可变重链序列和SEQ ID NO:17的可变轻链序列;

[0040] (b) SEQ ID NO:27的可变重链序列和SEQ ID NO:37的可变轻链序列;

[0041] (c) SEQ ID NO:47的可变重链序列和SEQ ID NO:57的可变轻链序列;

[0042] (d) SEQ ID NO:67的可变重链序列和SEQ ID NO:77的可变轻链序列;

[0043] (e) SEQ ID NO:87的可变重链序列和SEQ ID NO:97的可变轻链序列;或

[0044] (f) SEQ ID NO:107的可变重链序列和SEQ ID NO:117的可变轻链序列。

[0045] 17.人单克隆抗TGF- β 2抗体,其包括:

[0046] (a) SEQ ID NO:9的重链序列和SEQ ID NO:19的轻链序列;

[0047] (b) SEQ ID NO:29的重链序列和SEQ ID NO:39的轻链序列;

[0048] (c) SEQ ID NO:49的重链序列和SEQ ID NO:59的轻链序列;

[0049] (d) SEQ ID NO:69的重链序列和SEQ ID NO:99的轻链序列;

[0050] (e) SEQ ID NO:89的重链序列和SEQ ID NO:99的轻链序列;或

[0051] (f) SEQ ID NO:109的重链序列和SEQ ID NO:119的轻链序列。

[0052] 18.根据之前任一个方面的抗TGF- β 2抗体,其中所述抗体是IgG1同种型。

[0053] 19.根据之前任一个方面的人单克隆抗TGF- β 2抗体,其通过Fc区的突变具有改变

的效应子功能。

[0054] 20. 编码根据之前任一个方面的抗体或功能性片段的分离多核苷酸序列。

[0055] 21. 根据方面20的分离多核苷酸序列, 包括SEQ ID NO:8、10、18、20、28、30、38、40、48、50、58、60、68、70、78、80、88、90、98、100、108、110、118或120中的一个或多个。

[0056] 22. 包括根据方面20或方面21的一个或多个分离多核苷酸序列的克隆或表达载体。

[0057] 23. 根据方面22的载体, 其中所述载体包括SEQ ID NO:8、10、18、20、28、30、38、40、48、50、58、60、68、70、78、80、88、90、98、100、108、110、118或120中的一个或多个, 或其编码至少一个CDR区的片段。

[0058] 24. 包括一个或多个根据方面22或方面23的载体的宿主细胞。

[0059] 25. 一种用于生产方面1-19中任一个的抗体或其功能性片段的方法, 包括培养方面24的宿主细胞并分离所述抗体或功能性片段。

[0060] 26. 一种包括根据方面1-19中任一个的抗体或其功能性片段的药物组合物。

[0061] 27. 包括方面12、15、16、17或26中任一个的抗体或其功能性片段的药物组合物, 用于治疗中。

[0062] 28. 包括方面12、15、16、17或26中任一个的抗体或其功能性片段的药物组合物, 用作药物。

[0063] 29. 根据方面26至28的药物组合物, 进一步包括药物学上可接受的稀释剂或载体。

[0064] 30. 根据方面26至29的药物组合物, 进一步包括一种或多种其他活性剂。

[0065] 31. 方面26至30的药物组合物, 用于Dupuytren病的治疗中。

[0066] 32. 方面26至30的药物组合物, 用于Loeys-Dietz-综合征的治疗中。

[0067] 33. 方面28至30的药物组合物, 用于Marfan相关病症或Marfan病的治疗中。

[0068] 34. 方面26至30的药物组合物, 用于大疱性表皮松解症的治疗中。

[0069] 35. 方面26至30的药物组合物, 用于小梁切除术的治疗中。

[0070] 36. 方面26至30的药物组合物, 用于皮肤系统性硬化症 (cutaneous systemic sclerosis) 的治疗中。

[0071] 37. 方面26至30的药物组合物, 用于肌肉骨骼疾病或病症的治疗中。

[0072] 38. 方面37的药物组合物, 其中所述肌肉骨骼疾病或病症是肌肉萎缩 (muscle atrophy), 例如, 由肌病 (myopathy) 引起的, 如肌强直 (myotonia), 先天性肌病 (congenital myopathy), 包括nemaline肌病, 多轴空/微轴空肌病 (multi/minicore myopathy) 和肌管 (中央核) 肌病 (myotubular (centronuclear) myopathy), 线粒体肌病 (mitochondrial myopathy), 家族性周期性麻痹 (familial periodic paralysis), 炎性肌病 (inflammatory myopathy), 代谢性肌病 (metabolic myopathy), 如糖原或脂质贮积病引起的, 皮肌炎 (dermatomyositis), 多肌炎 (polymyositis), 包涵体肌炎 (inclusion body myositis), 骨化性肌炎 (myositis ossificans), 横纹肌溶解 (rhabdomyolysis) 和myoglobinurias; 肌营养不良 (muscular dystrophy), 如Duchenne型、Becker型、肌强直型、面肩肱型 (fascioscapulohumeral), Emery-Dreifuss型, 眼咽型 (oculopharyngeal), 肩肱型 (scapulohumeral), 肢带型 (limb girdle), Fukuyama型, 先天性肌营养不良 (congenital muscular dystrophy), 或遗传性远端型肌病 (hereditary distal myopathy); 骨质疏松

(osteoporosis);骨折(bone fracture);矮小症(short stature);侏儒症(dwarfism);长期卧床(prolonged bed rest);有意识不活动(voluntary inactivity);或无意识不活动(involuntary inactivity)。

[0073] 39.治疗患有Dupuytren病的患者的方法,包括将有效剂量的根据26-30任一个方面的药物组合物施用于所述患者。

[0074] 40.治疗患有Marfan相关病症或Marfan病的患者的方法,包括将有效剂量的根据26-30任一个方面的药物组合物施用于所述患者。

[0075] 41.治疗患有大疱性表皮松解症的患者的方法,包括将有效剂量的根据26-30任一个方面的药物组合物施用于所述患者。

[0076] 42.治疗患有小梁切除术的患者的方法,包括将有效剂量的根据26-30任一个方面的药物组合物施用于所述患者。

[0077] 43.治疗患有皮肤系统性硬化症的患者的方法,包括将有效剂量的根据26-30任一个方面的药物组合物施用于所述患者。

[0078] 44.治疗患有Loeys-Dietz-综合症的患者的方法,包括将有效剂量的根据26-30任一个方面的药物组合物施用于所述患者。

[0079] 45.治疗患有肌肉骨骼疾病或病症的患者的方法,包括将有效剂量的根据26-30任一个方面的药物组合物施用于所述患者。

[0080] 46.根据方面45的方法,其中所述肌肉骨骼疾病或病症是肌肉萎缩(muscle atrophy),例如,由肌病(myopathy)引起的,如肌强直(myotonia),先天性肌病(congenital myopathy),包括nemalene肌病,多轴空/微轴空肌病(multi/minicore myopathy)和肌管(中央核)肌病(myotubular (centronuclear) myopathy),线粒体肌病(mitochondrial myopathy),家族性周期性麻痹(familial periodic paralysis),炎性肌病(inflammatory myopathy),代谢性肌病(metabolic myopathy),如糖原或脂质贮积病引起的,皮炎肌炎(dermatomyositis),多肌炎(polymyositis),包涵体肌炎(inclusion body myositis),骨化性肌炎(myositis ossificans),横纹肌溶解(rhabdomyolysis)和myoglobinurias;肌营养不良(muscular dystrophy),如Duchenne型、Becker型、肌强直型、面肩肱型(fascioscapulohumeral),Emery-Dreifuss型,眼咽型(oculopharyngeal),肩肱型(scapulohumeral),肢带型(limb girdle),Fukuyama型,先天性肌营养不良(congenital muscular dystrophy),或遗传性远端型肌病(hereditary distal myopathy);骨质疏松(osteoporosis);骨折(bone fracture);矮小症(short stature);侏儒症(dwarfism);长期卧床(prolonged bed rest);有意识不活动(voluntary inactivity);或无意识不活动(involuntary inactivity)。

[0081] 47.根据1-19任一个方面的抗体或功能性片段、根据方面20或21的多核苷酸序列或根据26-30任一个方面的药物组合物在制造用于治疗Dupuytren病、Marfan相关病症或Marfan病、大疱性表皮松解症、小梁切除术、Loeys-Dietz-综合征、皮肤系统性硬化症或肌肉骨骼疾病或病症的药物中的用途。

[0082] 48.方面47的用途,其中所述肌肉骨骼疾病或病症是肌肉萎缩(muscle atrophy),例如,由肌病(myopathy)引起的,如肌强直(myotonia),先天性肌病(congenital myopathy),包括nemalene肌病,多轴空/微轴空肌病(multi/minicore myopathy)和肌管

(中央核)肌病(myotubular(centronuclear)myopathy),线粒体肌病(mitochondrial myopathy),家族性周期性麻痹(familial periodic paralysis),炎性肌病(inflammatory myopathy),代谢性肌病(metabolic myopathy),如糖原或脂质贮积病引起的,皮肌炎(dermatomyositis),多肌炎(polymyositis),包涵体肌炎(inclusion body myositis),骨化性肌炎(myositis ossificans),横纹肌溶解(rhabdomyolysis)和myoglobinurias;肌营养不良(muscular dystrophy),如Duchenne型、Becker型、肌强直型、面肩肱型(fascioscapulohumeral),Emery-Dreifuss型,眼咽型(oculopharyngeal),肩肱型(scapulohumeral),肢带型(limb girdle),Fukuyama型,先天性肌营养不良(congenital muscular dystrophy),或遗传性远端型肌病(hereditary distal myopathy);骨质疏松(osteoporosis);骨折(bone fracture);矮小症(short stature);侏儒症(dwarfism);长期卧床(prolonged bed rest);有意识不活动(voluntary inactivity);或无意识不活动(involuntary inactivity)。

[0083] 49. 抗体或其功能性片段,其中所述抗体交叉阻断方面17的至少一种抗体与TGF β -2的结合或被方面17的至少一种抗体交叉阻断其与TGF β -2的结合。

[0084] 附图简述

[0085] 图1:显示了使用溶液平衡滴定(SET)方法(Sector Imager 6000(MSD))获得的人重组TGF- β 2上TGF- β 2-特异性AB MOR13436结合的浓度-响应曲线。按照文献(Friquet等,J Immunol Meth 77,305-319.1985)中所述的,进行了K_D亲和力测定。为了提高SET方法的灵敏度和准确性,从典型ELISA转移至基于ECL的技术(Haenel等,Anal Biochem 339,182-184.2005)。

[0086] 图2:显示了使用溶液平衡滴定(SET)方法(Sector Imager 6000(MSD))获得的人重组TGF- β 2和小鼠重组TGF- β 2上TGF- β 2特异性AB(A) MOR14799、(B) MOR14800、(C) MOR14797和(D) MOR14809的浓度-响应曲线。按照文献(Friquet等,J Immunol Meth 77,305-319.1985)中所述的,进行了K_D亲和力测定。为了提高SET方法的灵敏度和准确性,从典型ELISA转移至基于ECL的技术(Haenel等,Anal Biochem 339,182-184.2005)。

[0087] 图3:显示了TGF- β 2特异性AB MOR13436的生物学“中和”活性。显示了,在HEK293T/17 CAGA-12(HEK293T-RGA)(一种特异针对磷酸化Smad-2和Smad-3的荧光素酶报告分子试验)中,抗体相对于重组人TGF- β 2、小鼠TGF- β 2、人TGF- β 3和人TGF- β 1的作用的浓度-响应曲线。重组TGF- β 诱导Smad-2和Smad-3磷酸化,其结合CAGA-12报告分子并引起荧光素酶基因表达。MOR13436中和重组人和小鼠TGF- β 2,但不中和人TGF- β 1和TGF- β 3。IgG抗体MOR03207作为负对照。MOR03207识别作为人先天性免疫系统的一部分的酶。

[0088] 图4:显示了TGF- β 2-特异性AB MOR14799、MOR14800、MOR14797和MOR14809的生物学“中和”活性。显示了在HEK293T/17 CAGA-12(HEK293T-RGA)(一种特异针对磷酸化Smad-2和Smad-3的荧光素酶报告分子试验)中,AB相对于各种重组人TGF- β 家族蛋白的作用的浓度-响应曲线,所述重组人TGF- β 家族蛋白为:激活素A、激活素B、激活素AB、GDF-11、myostatin、TGF- β 2和TGF- β 3。重组TGF- β 诱导Smad-2和Smad-3磷酸化,其结合CAGA-12报告分子并引起荧光素酶基因表达。所有AB中和重组人TGF- β 2,但不中和任何其他TGF- β 蛋白家族成员。IgG抗体MOR03207(在100nM和33.3nM下评价)作为负对照。MOR03207识别作为人先天性免疫系统的一部分的酶。

[0089] 图5:显示了TGF- β 2特异性AB MOR13436的生物学“中和”活性。显示了AB的浓度-响应曲线,其中AB对抗重组人TGF- β 2 (●)、小鼠TGF- β 2 (■)和人TGF- β 3 (◆)对人骨骼肌细胞(skMC)分化的抑制作用。细胞分化长达120小时并且测量了肌酸激酶(CK)活性,肌酸激酶是一种充分确立的骨骼肌肉细胞分化标志物。所有TGF- β 抑制CK活性,并且Ab对抗TGF- β 2,但不对抗TGF- β 3反应。

[0090] 图6:显示了TGF- β 2特异性AB (A) MOR14799、(B) MOR14800、(C) MOR14797和(D) MOR14809的生物学“中和”活性。显示了AB的浓度-响应曲线,其中AB对抗重组人TGF- β 2 (●)、小鼠TGF- β 2 (■)和人TGF- β 3 (◆)对人骨骼肌细胞(skMC)分化的抑制作用。细胞分化长达120小时并且测量了肌酸激酶(CK)活性,肌酸激酶是一种充分确立的骨骼肌肉细胞分化标志物。所有TGF- β 抑制CK活性,并且Ab对抗TGF- β 2,但不对抗TGF- β 3反应。

[0091] 图7:显示了,在用TGF- β 2特异性AB MOR14797或pan-TGF- β 抗体1D11培养七天的Dupuytren患者样品中,胶原蛋白I免疫染色的定量条形图。将患者组织切片,在Ab存在下培养7天,随后针对胶原蛋白I进行免疫染色。

[0092] 图8:显示了,与同种型对照(A/C)相比,在用TGF- β 2特异性AB MOR14797 (B/D)培养七天的两个不同Dupuytren患者样品中胶原蛋白I的免疫染色。来自患者1的结果显示于A/B,而来自患者2的结果显示于C/D中。将患者组织切片,在Ab存在下培养7天,随后针对胶原蛋白I进行免疫染色。

[0093] 图9:显示了,在来自TGF- β 2特异性AB MOR13436处理的单侧输尿管梗阻模型(UUO)的小鼠肾脏中,胶原蛋白I的mRNA表达定量条形图。用Ab处理假模(Sham-)或UUO-操作的动物14天,取出肾脏,分离mRNA并通过qPCR分析。

[0094] 图10:结合TGF β -2的MOR14797的表位:(A)结合TGF β -2二聚体的两个MOR14797 Fab的整体结构。MOR14797显示表面,TGF β -2显示为带状。(B)与MOR14797距离5Å内的TGF β -2二聚体的残基。

[0095] 图11:结合TGF β -2的MOR14797的抗原互补位(paratope):列出了MOR14797VH (A)(以出现顺序,分别为SEQ ID NOS 67和67)和VL (B)的序列(以出现顺序,分别为SEQ ID NOS 77和77)。CDR环(Kabat和Chothia定义)加框。与TGF β -2二聚体距离5Å内的MOR14797的残基带灰色阴影。

[0096] 一般定义

[0097] 为了更容易理解本发明,首先定义某些术语。其他定义在详述中阐明。

[0098] 包含:术语“包含”表示“包括”,例如,“包含”X的组合物可以仅由X组成或可以包括一些其他的,例如,X+Y。

[0099] 术语“人TGF- β 同种型”用于描述转化生长因子 β (TGF- β)超家族的成员,即分别是人TGF- β 同种型TGF- β 1、TGF- β 2和TGF- β 3。术语“人TGF- β 同种型TGF- β 2”、“TGF- β 2同种型”、“TGF β 2”和“TGF- β 2”和TGF- β 2在本发明公开内容中同义使用。

[0100] 术语“抗体”在本文中包括完整抗体及其任何抗原结合片段(即,“抗原结合部分”)或单链。天然产生的“抗体”是糖蛋白,包括由二硫键互相连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链。每条重链由重链可变区(在本文中缩写为V_H)和重链恒定区组成。重链恒定区由三个结构域CH1、CH2和CH3组成。每条轻链由轻链可变区(在本文中缩写为V_L)和轻链恒定区组成。轻链恒定区由一个结构域C_L组成。V_H和V_L区可以进一步细分成超变区,称为互补决定区

(CDR), 间插着更保守的区域, 称为框架区 (FR)。每个 V_H 和 V_L 由三个CDR和四个FR组成, 以以下顺序从氨基端至羧基端排列: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合, 包括免疫系统的各种细胞 (例如, 效应子细胞) 和典型补体系统的第一成分 (C1q)。

[0101] 如本文中使用的, “分离的抗体” 是指, 抗体基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体 (例如, 特异性地结合抗原结合部分的分离抗体基本上不含特异性地结合TGF β 2以外的其他抗原的抗体)。

[0102] 如本文中使用的, 术语“ K_D ” 用来指解离常数, 其是从 K_d 与 K_a 的比值 (即, K_d/K_a) 获得的并且表示为摩尔浓度 (M)。可以使用本领域确定的方法来测定抗体的 K_D 值。用于测定抗体 K_D 的一个方法是表面等离子体共振, 如Biacore[®]生物传感器系统, 或溶液平衡滴定 (SET) (参见Friguet B等 (1985) J. Immunol Methods; 77 (2) : 305-319, 和Hanel C等 (2005) Anal Biochem; 339 (1) : 182-184)。术语“ K_{assoc} ” 或“ K_a ” 用来指特定抗体-抗原相互作用的结合速率, 而如本文中使用的, 术语 K_{dis} ” 或“ K_d ” 用来指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。

[0103] 在整个说明书中, 使用不同科学符号来书写10的指数。科学符号E (例如, $1.1E-15$) 可以用作书写10的指数的可选方案。例如, 0.000000001摩尔可以写成 3.0×10^{-9} 摩尔或 $3.0E-9$ 摩尔。

[0104] 如本文中使用的, 术语“ADCC” 或“抗体依赖性细胞毒性” 活性是指人B细胞耗尽活性。可以通过本领域已知的人B细胞耗尽试验来测量ADCC活性。

[0105] 如本文中使用的, 术语“人抗体” 用来包括可变区的框架和CDR区都源自人来源序列的抗体。此外, 如果抗体含有恒定区, 则恒定区也是源自这样的人序列, 例如, 人种系序列, 或人种系序列的突变形式, 或含有源自人框架序列分析的共有框架序列的抗体, 例如, 如Knappik等所述的 (2000. J Mol Biol 296, 57-86)。本发明的人抗体可以包括不是由人序列编码的氨基酸残基 (例如, 在体外由随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变; 或人源化抗体)。

[0106] 术语“人单克隆抗体” 是指显示出单一结合特异性的抗体, 且所述抗体具有框架和CDR区都源自人序列的可变区。在一个实施方案中, 人单克隆抗体通过杂交瘤产生, 所述杂交瘤包括获自转基因非人动物 (例如, 转基因小鼠) 的B细胞, 所述B细胞具有包含人重链转基因和轻链转基因的基因组并与永生化细胞融合。

[0107] 如本文中使用的, 术语“重组人抗体” 包括通过重组方式制备、表达、形成或分离的所有人抗体, 如从人免疫球蛋白基因的转基因动物或转染色体动物 (例如, 小鼠) 或从其制备的杂交瘤分离的抗体, 从转化来表达人抗体的宿主细胞分离的抗体, 例如, 从转染瘤分离的抗体, 从重组的组合人抗体文库分离的抗体, 以及通过涉及将人免疫球蛋白基因的全部或部分序列拼接到其他DNA序列上的任何其他方式制备、表达、形成或分离的抗体。这样的重组人抗体具有框架和CDR区均源自人种系免疫球蛋白序列的可变区。然而, 在某些实施方案中, 这样的重组人抗体可以接受体外诱变 (或, 在使用人Ig序列的转基因动物时, 体内体细胞突变), 并且因此重组抗体的 V_H 和 V_L 区的氨基酸序列源自人种系 V_H 和 V_L 序列并与其相关, 但可能不天然存在于体内人抗体种系库内。

[0108] 如本文中使用的, “同种型” 是指由重链恒定区基因提供的抗体类别 (例如, IgM、IgE、IgG, 如IgG1或IgG2)。

[0109] 如本文中使用的,术语“癌症”旨在包括所有类型的癌性生长或致癌过程,转移性组织或恶性转化的细胞、组织或器官,与组织病理学类型或入侵阶段无关。癌性疾病的实例包括,但不限于,实体肿瘤、血液学癌症、软组织肿瘤和转移性损伤。实体肿瘤的实例包括恶性肿瘤,例如,肉瘤,以及各种器官系统的癌瘤(包括腺癌和鳞状上皮细胞癌),如影响肝、肺、乳房、淋巴、胃肠(例如,结肠)、生殖泌尿道(例如,肾、膀胱上皮细胞)、前列腺和咽的那些。腺癌包括恶性肿瘤,如大部分的结肠癌、肾癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞肺癌、小肠癌和食道癌。鳞状上皮细胞癌包括恶性肿瘤,例如,肺、食道、皮肤、头颈区、口腔、肛门和宫颈中的。在一个实施方案中,癌症是黑素瘤,例如,晚期黑素瘤。上述癌症的转移性病灶也可以使用本发明的方法和组合物来治疗或预防。使用本文中公开的抗体分子可以抑制其生长的示例性癌症包括通常应答免疫治疗的癌症。用于治疗的优选癌症的非限制性实例包括黑素瘤(例如,转移性恶性黑素瘤)、肾癌(例如,透明细胞癌)、前列腺癌(例如,激素难治性前列腺腺癌)、乳癌、结肠癌和肺癌(例如,非小细胞肺癌)。另外,使用本文中所述的抗体分子可以治疗难治性或复发性恶性肿瘤。

[0110] 可以治疗的其他癌症的实例包括骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头或颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、卵巢癌、肾癌、肛门癌、胃-食道癌、胃癌、脂肪肉瘤、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌、外阴癌、Merkel细胞癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、慢性或急性白血病(包括急性髓性白血病、慢性髓性白血病、急性淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病)、儿童的实体肿瘤、淋巴细胞性淋巴瘤、膀胱癌、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、肾脏或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)肿瘤、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊髓轴肿瘤、脑干胶质细胞瘤、垂体腺瘤、Kaposi肉瘤、表皮样癌、鳞状上皮细胞癌、T-细胞淋巴瘤、环境诱发的癌症(包括石棉诱发的那些(例如,间皮瘤)),和所述癌症的组合。在某些实施方案中,癌症是皮肤癌,例如,Merkel细胞癌或黑素瘤。在一个实施方案中,癌症是Merkel细胞癌。在其他实施方案中,癌症是黑素瘤。在其他实施方案中,癌症是乳癌,例如,三阴性乳癌(TNBC)或HER2-阴性乳癌。在其他实施方案中,癌症是肾癌,例如,肾细胞癌(例如,透明细胞肾细胞癌(CCRCC)或非透明细胞肾细胞癌(nccRCC))。在其他实施方案中,癌症是甲状腺癌,例如,未分化甲状腺癌(ATC)。在其他实施方案中,癌症是神经内分泌肿瘤(NET),例如,非典型肺类癌、或胰腺、胃肠(GI)道或肺中的NET。在某些实施方案中,癌症是肺癌,例如,非小细胞肺癌(NSCLC)(例如,鳞状NSCLC或非鳞状NSCLC)。

[0111] 如本文中使用的,术语“程序化死亡1”或“PD-1”涉及例如在激活的CD4+和CD8+T细胞、Treg和B细胞上表达的CD28/CTLA-4家族成员。其负面地调节效应T细胞的信号传导和功能。PD-1在肿瘤浸润性T细胞上被诱导,并且可以导致功能衰竭或功能失调(Keir等(2008) *Annu. Rev. Immunol.* 26:677-704; Pardoll等, (2012) *Nat Rev Cancer* 12(4):252-64)。PD-1在结合其两个配体(程序化死亡配体1(PD-L1)或程序化死亡配体2(PD-L2))中的任一个时递送共抑制信号。PD-L1在各种细胞类型,包括T细胞、自然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞、树突细胞(DC)、B细胞、上皮细胞、血管内皮细胞以及许多类型的肿瘤上表达。鼠和人肿瘤上PD-L1的高表达已经与各种癌症中差的临床结果关联起来(Keir等(2008) *Annu. Rev. Immunol.* 26:677-704; Pardoll等(2012) *Nat Rev Cancer* 12(4):252-64)。PD-L2在树突细胞、巨噬细胞和一些肿瘤上表达。PD-L1途径的阻断已经在临床前和临床上验证可以用于癌症免疫治疗。

临床前和临床研究已经证明了抗PD-1阻断可以恢复效应T细胞的活性并导致强有力的抗肿瘤应答。例如,PD-1途径的阻断可以恢复耗竭的/功能失调的效应T细胞的功能(例如,增殖、IFN- γ 分泌或细胞溶解功能)和/或抑制Treg细胞功能(Keir等(2008) *Annu. Rev. Immunol.* 26:677-704; Pardoll等(2012) *Nat Rev Cancer* 12(4):252-64)。可以用PD-1、PD-L1和/或PD-L2的抗体、其抗原结合片段、免疫粘附素、融合蛋白或寡肽来实现PD-1途径的阻断。PD-1(例如,人PD-1)的氨基酸序列是本领域已知的,例如,Shinohara T等(1994) *Genomics* 23(3):704-6; Finger LR等, *Gene* (1997) 197(1-2):177-87。

[0112] 在以下分节中进一步详细地提供/描述本发明的各定义和方面。

[0113] 发明详述

[0114] 用人单克隆抗体特异性地中和与不同功能相关的几个高度同源靶标中的一个仍然是一个重要挑战。当与其他同源靶标的交叉反应性可能与不良事件或不合需要的事件相关时,这种挑战在治疗领域中更明显。由于同源同种型TGF- β 1和TGF- β 3的存在,用单克隆人抗体靶向TGF- β 2时,可能产生这些问题。根据来自敲除小鼠的实验数据,这些TGF- β 同种型与不同的功能相关。此外,已知TGF- β 1的抑制与不良事件的高风险相关。此外,本发明人公开了一个尚未被认识到的问题——在动物模型中同时抑制TGF- β 3和TGF- β 2与心瓣膜病相关,心瓣膜病是心脏瓣膜的严重疾病。由此需要提供特异性地中和TGF- β 2但不中和TGF- β 3或TGF- β 3和TGF- β 1的单克隆治疗抗体,该需要迄今为止尚未被满足。更特别地,需要在临床情况中有效的、呈现出非常低的皮摩尔解离常数的、中和抗TGF- β 2抗体。此外,具有高结合亲和力的中和抗TGF- β 2抗体与增强的功效和安全性相关,因为它们需要以较低剂量给药,这不太可能引起可能与不良事件相关的其他途径干扰。此外,较低剂量的单克隆抗TGF- β 2抗体的施用也与较低的成本相关。通过本发明解决了这些问题。

[0115] 可以在Smad依赖性报告基因试验中测定TGF- β 1/2/3同种型的中和。术语“中和抗体”和“拮抗抗体”同义使用并用来指在Smad依赖性报告基因试验中抑制TGF- β 1、-2和/或-3诱导的信号活性的抗体,具有低于或等于100nM的IC₅₀。如本发明内容中使用的短语“中和人TGF- β 同种型TGF- β 2但不中和人同种型TGF- β 3的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段”或“特异性地中和TGF- β 2但不中和TGF- β 3或TGF- β 1(或TGF- β 3和TGF- β 1两者)”是指,以低于150pM的半最大抑制浓度(IC₅₀)特异性地中和TGF- β 2,但不中和人TGF- β 1和/或TGF- β 3,如通过Smad依赖性报告基因试验测定的(例如,对于人TGF- β 1和/或TGF- β 3,具有高于100nM的IC₅₀)。因此,如通过Smad依赖性报告基因试验测定的,本发明的人TGF- β 2中和抗体以低于例如107pM的半最大抑制浓度(IC₅₀)中和人TGF- β 2,并以高于100nM的半最大抑制浓度(IC₅₀)中和人TGF- β 1和/或TGF- β 3。在一个实施方案中,本发明的人TGF- β 2中和抗体以低于例如107pM的半最大抑制浓度(IC₅₀)中和人TGF- β 2,但不中和人TGF- β 1和/或TGF- β 3,因为在Smad依赖性报告基因试验中,所述抗体呈现出基本上不可检测的针对这些蛋白的结合。

[0116] 如本文中使用的,术语“保守性序列修饰”用来指不显著地影响或改变含有所述氨基酸序列的抗体的结合特征的氨基酸修饰。这样的保守性修饰包括氨基酸置换、添加和缺失。可以通过本领域已知的标准技术,如定点诱变和PCR介导的诱变,将修饰引入本发明的抗体中。保守性氨基酸置换是其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基替代的置换。本领域已经定义了具有相似侧链的氨基酸残基的家族。这些家族包括具有碱性侧链的氨基

酸(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、具有酸性侧链的氨基酸(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸)、具有非极性侧链的氨基酸(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸)、具有 β 分支侧链的氨基酸(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和具有芳族侧链的氨基酸(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。因此,本发明抗体的CDR区内的一个或多个氨基酸残基可以被来自相同侧链家族的其他氨基酸残基替代,并且可以使用本文中所述的功能测试,针对保留的功能测试改变的抗体。

[0117] “交叉反应”的抗体是指结合超过一个抗原的抗体,其中所述结合可以但不是必需导致对所述抗原活性的操作(中和、降低或激活)。可以使用Smad依赖性报告基因测试和通过测定 K_D 来测定交叉反应性,所述 K_D 可以使用表面等离子体共振生物传感器系统(如Biacore®系统)或溶液平衡滴定来测定。

[0118] “结合人TGF- β 同种型TGF- β 2但不与人同种型TGF- β 3或TGF- β 1或TGF- β 3和TGF- β 1结合(交叉反应)的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段”也用来指,以约1pM或更低的 K_D 结合TGF- β 2并且以约 2×10^{-9} M,或约 5×10^{-9} M或约 10×10^{-9} M或更高的 K_D 结合TGF- β 1或TGF- β 3的抗体。在某些实施方案中,不与TGF- β 3和TGF- β 1抗原交叉反应的抗体实际上在标准结合试验中呈现出基本上不可检测的针对这些蛋白的结合。

[0119] 评价抗体针对不同物种的TGF- β 2的结合能力的标准试验是本领域已知的,包括例如,ELISA、western印迹和放射性免疫试验(RIA)。合适的试验详细描述于实施例部分中。还可以通过本领域已知的标准试验评价抗体的结合亲和力,如表面等离子体共振(例如,Biacore®系统分析)或溶液平衡滴定。基于表面等离子体共振的技术,如Biacore®系统,可以测定结合动力学,从而可以计算结合亲和力。评价抗体对TGF- β 2的功能性质的影响的试验进一步详细描述于实施例部分中。

[0120] 本发明提供了人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段。更特别地,提供了中和人TGF- β 同种型TGF- β 2 (SEQ ID NO:122) (UniProt ID:P61812-TGFB2_HUMAN(<http://www.uniprot.org/>);由HUGO基因命名委员会(HGNC)批准的基因符号=TGFB2;HGNC ID=HGNC:11768)但不中和人同种型TGF- β 3 (SEQ ID NO:123) (UniProt ID:P10600-TGFB3_HUMAN;基因符号=TGFB3;HGNC ID=HGNC:11769)的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段。特别地,本发明提供了中和人TGF- β 同种型TGF- β 2但不中和人同种型TGF- β 3和TGF- β 1 (SEQ ID NO:121) (UniProt ID:P01137-TGFB1_HUMAN;基因符号=TGFB1;HGNC ID=HGNC:11766)的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段。通过实施例部分中所述的Smad依赖性报告基因试验,可以测定抗体或其功能性片段对TGF- β 1、TGF- β 2或TGF- β 3的中和。优选,如通过Smad依赖性报告基因试验测定的,本发明提供的抗体或其功能性片段以低于150pM,或低于170pM,或低于100pM,或低于95pM或低于80pM,或低于30pM,或低于20pM,或低于10pM的半最大抑制浓度(IC50)中和人TGF- β 2,但不中和人TGF- β 1或TGF- β 3(具有高于100nM的IC50)。在本公开内容的另一个实施方案中,抗体或其功能片段以约1pM至约150pM,或约1pM至约107pM,或约1pM至约95pM或约1pM至约80pM的半最大抑制浓度(IC50)中和人TGF- β 2,但不中和人TGF- β 1或TGF- β 3(具有高于100nM的IC50),如通过Smad依赖性报告基因试验测定的。

[0121] 本发明还提供了,相对于人同种型TGF- β 1和/或TGF- β 3,优先结合人TGF- β 同种型TGF- β 2的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段。特别地,所提供的人单克隆抗TGF- β 2抗

体或其功能性片段结合人TGF- β 同种型TGF- β 2,且解离常数比所述抗体针对TGF- β 3的解离常数低至少约70倍,约1000倍,约2000倍,约10000倍,约20000倍,约200000倍,约3000000倍,约10000000倍,或约60000000倍,其中抗体或其功能性片段中和人TGF- β 2,但不中和TGF- β 3。

[0122] 在一个实施方案中,所提供的抗体对人TGF- β 2的解离常数比所述抗体对TGF- β 1或TGF- β 3的解离常数低约2000倍至约10000000倍。在另一个实施方案中,人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段结合人TGF- β 同种型TGF- β 2的解离常数,与所述抗体对TGF- β 3的解离常数低至少2000倍或至少10000000倍,其中抗体中和人TGF- β 2,但不中和TGF- β 3。还可以通过本文中所述的标准试验,评价抗体的结合亲和力,如表面等离子体共振(例如,**Biacore®**系统分析)或溶液平衡滴定。相对于人同种型TGF- β 1和TGF- β 3优先结合人TGF- β 2的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段以约1pM或更低,或约100fM或更低,或约50fM或更低的解离常数(K_D)结合TGF- β 2。在另一个实施方案中,所公开的抗体或功能性片段以1pM或更低或约1pM至约10fM的解离常数(K_D)结合人TGF- β 同种型TGF- β 2。

[0123] 在另一个实施方案中,人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段相对于人TGF- β 同种型TGF- β 3优先结合人TGF- β 同种型TGF- β 2,对人TGF- β 同种型TGF- β 2的解离常数比对人TGF- β 同种型TGF- β 3的解离常数低至少70倍,其中抗体中和人TGF- β 同种型TGF- β 2,但不中和人TGF- β 同种型TGF- β 3,并且以1pM或更低的解离常数(K_D)结合人TGF- β 同种型TGF- β 2。

[0124] 在优选实施方案中,人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段相对于人TGF- β 1和TGF- β 3优先结合人TGF- β 2,对人TGF- β 2的解离常数比对TGF- β 1和TGF- β 3的解离常数低至少70倍,其中抗体中和人TGF- β 2,但不中和TGF- β 3和TGF- β 1,并且以1pM或更低的解离常数(K_D)结合人TGF- β 2。

[0125] 如本文中所述的抗TGF- β 2抗体,或其抗原结合片段,可以是单链抗体、Fab片段、Fv片段、F(ab')₂片段或scFv片段,和/或IgG同种型。

[0126] 就特异性和选择性而言,现有技术中没有一种抗体匹配本文中公开的抗体,特别是抗体MOR14799、MOR14800、MOR14809、MOR14797、MOR14805或MOR14787。本发明的抗体包括人重组抗体,其分离和结构表征如实施例所述。本发明的分离抗体的V_H氨基酸序列分别显示于SEQ ID NO:7、27、47、67、87和107。本发明的分离抗体的V_L氨基酸序列分别显示于SEQ ID NO:17、37、57、77、97和117中。优选的本发明抗体的全长重链氨基酸序列的实例分别显示于SEQ ID NO:9、29、49、69、89和109。优选的本发明抗体的全长轻链氨基酸序列的实例分别显示于SEQ ID NO:19、39、59、79、99和119。本发明的其他抗体包括已经通过氨基酸缺失、插入或置换突变的但与上述序列中所述的全长重链氨基酸序列具有至少80、90、95、97或99同一性百分比的抗体。此外,可变重链核苷酸序列分别显示于SEQ ID NO:8、28、48、68、88和108。可变轻链核苷酸序列分别显示于SEQ ID NO:18、38、58、78、98和118。全长轻链核苷酸序列分别显示于SEQ ID NO:20、40、60、80、100和120。全长重链核苷酸序列分别显示于SEQ ID NO:10、30、50、70、90和110。本发明的其他抗体包括已经突变但与上述序列仍然具有至少90或更高(即,91、92、93、94、95、97、99或更高)的同一性百分比的氨基酸和核酸。一些实施方案包括,在与上述序列中所示的可变区相比时,可变区中不超过1、2、3、4或5个氨基酸已经通过氨基酸缺失、插入或置换突变的突变氨基酸序列。由于这些抗体中的每一个结合相同的靶标,V_H、V_L、全长轻链和全长重链序列(核苷酸序列和氨基酸序列)可以“混合和匹配”,形成本发明的其他抗TGF- β 2抗体。可以使用以上和实施例所述的结合试验(例

如,ELISA)来测试这样“混合和匹配”的抗体的TGF- β 2结合。当这些链进行混合和匹配时,来自特定V_H/V_L对的V_H序列应当被结构上相似的V_H序列替代。同样,来自特定全长重链/全长轻链对的全长重链序列应当被结构上相似的全长重链序列替代。同样,来自特定V_H/V_L对的V_L序列应当被结构上相似的V_L序列替代。同样,来自特定全长重链/全长轻链对的全长轻链序列应当被结构上相似的全长轻链序列替代。因此,在一个方面中,本发明提供了分离的重组抗TGF- β 2抗体或其抗原结合区,其具有:包含选自SEQ ID NO:7、27、47、67、87和107的氨基酸序列的重链可变区;和包含选自SEQ ID NO:17、37、57、77、97和117的氨基酸序列的轻链可变区。

[0127] 如本文中使用的,术语“互补决定区”和“CDR”是指抗体可变区内有助于抗原特异性和结合亲和力的氨基酸序列。通常,每个重链可变区中存在三个CDR(HCDR1、HCDR2、HCDR3)和每个轻链可变区中存在三个CDR(LCDR1、LCDR2、LCDR3)。可以使用各种公知方案中的任何一种来确定给定CDR的氨基酸序列边界,包括Kabat等(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD中所述的那些(“Kabat”编号方案)。确定CDR区的一个可替换方法使用Chothia设计的方法(Chothia等,1989,Nature,342:877-883)。Chothia定义基于结构环区的位置。存在其他用于定义CDR的系统并且是本领域技术人员已知的(参见,例如,<http://www.bioinf.org.uk/abs/>)。CDR被认为负责抗原识别和结合并且因此含有抗原结合区。在本发明公开内容的范围中,使用Kabat和Chothia编号系统定义CDR。使用Kabat系统定义的CDR称为“Kabat CDR”。使用Chothia系统定义的CDR称为“Chothia CDR”。使用Kabat和Chothia系统预测的CDR大部分是重叠的,但不一定相同。因此,可以通过合并由Kabat和Chothia系统预测的CDR氨基酸序列来定义抗体结合区(“Kabat/Chothia CDR”)。已知一些实际上结合抗原的氨基酸残基落在CDR外,并且因此,X-射线晶体学和X-射线衍射数据也可以用于定义另外的抗体结合区/氨基酸或互补位区域。

[0128] 术语“抗体结合区”、“抗体结合位点”和“互补位区”在整个申请文件中同义使用,并且是指抗体轻链和重链的可变区中与特定抗原相互作用的那些部分。互补位由包括在抗体可变区中的氨基酸链或单个氨基酸组成,其通过建立化学相互作用(例如,极性-、非极性-、氢键/-接触或盐桥)结合抗原。CDR(例如,基于Kabat/Chothia系统预测的)总称为抗体的Kabat/Chothia互补位。在本公开内容的范围中,互补位由抗体中参与抗体/抗原结合/组合的那些氨基酸残基组成,其中在抗原5Å距离内的氨基酸被视为参与抗体/抗原结合。互补位可以包含根据Kabat/Chothia定义的CDR氨基酸、以及包含在给定抗体的可变轻链和/或重链区的框架区中参与抗体/抗原结合/组合的氨基酸。除了基于Kabat/Chothia的互补位预测,还可以使用X-射线晶体学/X-射线衍射数据来鉴定给定抗体的完整互补位。

[0129] 用于抗体时,短语“其功能性片段”是指全长抗体中包含抗原结合区的蛋白质片段(单链抗体、Fab片段、Fv片段、F(ab')₂片段和/或scFv片段),其中(i)所述片段保留特异性结合抗原的能力或(ii)将所述功能性片段转移/融合至另一个抗体(序列替代)或抗体样结构上时,保留特异性结合抗原(TGF β -2的一部分)的能力。抗体的“功能性片段”的实例包括:Fab片段,由V_L、V_H、C_L和CH1结构域组成的单价片段;F(ab')₂片段,包括在铰链区通过二硫键连接的两个Fab片段的二价片段;由V_H和CH1结构域组成的Fd片段;由抗体单臂的V_L和V_H结构域组成的Fv片段;dAb片段(Ward等,1989Nature 341:544-546),其由V_H结构域组成;和分离

的互补决定区 (CDR)。此外, 尽管Fv片段的两个结构域, V_L 和 V_H , 可以由分开的基因编码, 但可以使用重组方法, 通过合成衔接物将它们连接, 从而能够将它们作为单个蛋白质链制备, 其中 V_L 和 V_H 区配对形成单价分子 (称为单链Fv (scFv); 参见, 例如, Bird等, 1988Science 242: 423-426; 和Huston等, 1988Proc. Natl. Acad. Sci. 85: 5879-5883)。这样的单链抗体也旨在包括在术语抗体的“功能性片段”内。可以使用本领域技术人员已知的常规技术, 获得这些抗体片段, 并且可以以与完整抗体相同的方式, 针对应用筛选所述片段。

[0130] 在一个方面中, 本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含以下由Kabat或Cothia或Kabat和Cothia定义的互补决定区 (CDR)

[0131] (i) SEQ ID NO: 1-3、11-13、21-23、31-33、41-43、51-53、61-63、71-73、81-83、101-103或111-113中所述的Kabat CDR, 或

[0132] (ii) SEQ ID NO: 4-6、14-16、24-26、34-36、44-46、54-56、64-66、74-76、84-86、94-96、104-106或114-116中所述的Chothia CDR, 或

[0133] (iii) SEQ ID NO: 124-129中所述的Kabat/Chothia CDR。

[0134] 本发明公开内容的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包括: 包含与选自SEQ ID NO: 1、21、41、61、81、101或4、24、44、64、84、104或124-129的序列具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的重链可变区CDR1; 包含与选自SEQ ID NO: 2、22、42、62、82、102或5、25、45、65、85、105的序列具有至少70%、80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的重链可变区CDR2; 包含与选自SEQ ID NO: 3、23、43、63、83、103或6、26、46、66、86、106的序列具有至少70%、80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的重链可变区CDR3; 包含与选自SEQ ID NO: 11、31、51、71、91、111或14、34、54、74、94、114的序列具有至少70%、80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的轻链可变区CDR1; 包含与选自SEQ ID NO: 12、32、52、72、92、112或15、35、55、75、95、115的序列具有至少80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的轻链可变区CDR2; 和包含与选自SEQ ID NO: 13、33、53、73、93、113或16、36、56、76、96、116的序列具有至少70%、80%、90%、95%或100%序列同一性的氨基酸序列的轻链可变区CDR3。

[0135] 本发明公开内容的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含: 与SEQ ID NO: 7、27、47、67、87或107中的至少一个具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的VH多肽序列。

[0136] 本发明公开内容的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含与SEQ ID NO: 17、37、57、77、97或117中的至少一个具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的VL多肽序列。

[0137] 本发明公开内容的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含与SEQ ID NO: 7、27、47、67、87或107中的至少一个具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的VH多肽序列以及 SEQ ID NO: 17、37、57、77、97或117中的至少一个具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的VL多肽序列。

[0138] 本领域技术人员知道可以用于评价两个DNA或蛋白质序列的同一性的方法。为了测定两个氨基酸序列或两个核酸序列的同一性百分比, 为了最佳比较目的比对所述序列 (例如, 为了最佳比对, 可以在第一和第二氨基酸或核酸序列中的一个或两个中引入空位, 并且可以为了比较目忽略非同源序列)。可以使用数学算法来完成两个序列之间的序列比

较和同一性百分比的确定。在一个优选实施方案中,使用Needleman和Wunsch ((1970) J.Mol.Biol.48:444-453) 算法测定两个氨基酸序列之间的百分比同一性,所述算法并入GCG软件包中GAP程序(可在<http://www.gcgc.com>获得),使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵,以及16、14、12、10、8、6或4的空位权重和1、2、3、4、5或6的长度权重。在再另一个优选的实施方案中,使用GCG软件包中的GAP程序(可在<http://www.gcgc.com>获得),测定两个核苷酸序列之间的同一性百分比,其中使用NMSGapdna.CMP矩阵,以及40、50、60、70或80的空位权重和1、2、3、4、5或6的长度权重。特别优选的参数组(除非另外指出,应当使用)是Blossum 62评分矩阵,以及12的空位罚分,4的空位延伸罚分和5的移框空位罚分。可以使用E.Meyers和W.Miller的算法((1989) CABIOS,4:11-17),测定两个氨基酸或核苷酸序列之间的同一性百分比,所述算法已经并入ALIGN程序中(版本2.0),使用PAM120权重残基表,12的空位长度罚分和4的空位罚分。本文中所述的核酸和蛋白质序列可以用作“查询序列”来进行针对公众数据库的搜索。这样的搜索可以使用Altschul等,(1990),J.Mol.Biol.215:403-10的NBLAST和XBLAST程序(版本2.0)来进行。可以使用NBLAST程序,评分=100,词长=12,进行BLAST核苷酸搜索,以获得与本发明核酸(SEQ ID NO:1) 分子同源的核苷酸序列。可以用XBLAST程序,评分=50,词长=3,进行BLAST蛋白质搜索,以获得与本发明的蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的带空位比对,可以按照Altschul等(1997) Nucleic Acids Res.25:3389-3402所述的,利用Gapped BLAST。利用BLAST和Gapped BLAST程序时,可以使用各自程序(例如,XBLAST和NBLAST)的缺省参数。参见<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>。

[0139] 本发明公开内容的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包括:包含选自SEQ ID NO:1、21、41、61、81、101或4、24、44、64、84、104或124-129的氨基酸序列的重链可变区CDR1;包含选自SEQ ID NO:2、22、42、62、82、102或5、25、45、65、85、105的氨基酸序列的重链可变区CDR2;包含选自SEQ ID NO:3、23、43、63、83、103或6、26、46、66、86、106的氨基酸序列的重链可变区CDR3;包含选自SEQ ID NO:11、31、51、71、91、111或14、34、54、74、94、114的氨基酸序列的轻链可变区CDR1;包含选自SEQ ID NO:12、32、52、72、92、112或15、35、55、75、95、115的氨基酸序列的轻链可变区CDR2;和包含选自SEQ ID NO:13、33、53、73、93、113或16、36、56、76、96、116的氨基酸序列的轻链可变区CDR3。

[0140] 因为这些抗体中的每一个都可以结合TGF- β 2,因此V_HCDR1、2和3序列和V_LCDR1、2和3序列可以“混合和匹配”。可以使用以上和实施例中所所述的结合试验(例如,ELISA)来测试这样“混合和匹配”的抗体的TGF- β 2结合。当V_HCDR序列混合和匹配时,来自特定V_H序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列应当用结构上相似的CDR序列来替代。同样,当V_LCDR序列混合和匹配时,来自特定V_L序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列应当用结构上相似的CDR序列来替代。本领域普通技术人员易于明了,将一个或多个V_H和或V_LCDR区序列用来自本文中所示本发明单克隆抗体的CDR序列的结构相似序列置换,可以形成新的V_H和V_L序列。

[0141] 本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(A) SEQ ID NO:1的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:2的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:3的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:11的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:12的轻链可变区CDR2;SEQ ID NO:13的轻链可变区CDR3。

[0142] 在一个实施方案中,上述(A)的抗体包含SEQ ID NO:124的重链可变区CDR1。

[0143] 本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(B) SEQ ID NO:4的重链可

变区CDR1;SEQ ID NO:5的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:6的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:14的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR2;SEQ ID NO:16的轻链可变区CDR3。

[0144] 在另一个实施方案中,上述(B)的抗体包含SEQ ID NO:124的重链可变区CDR1。

[0145] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段由(C)组成:包含SEQ ID NO:1、2和3的CDR的可变重链,以及包含SEQ ID NO:11、12和13的CDR的可变轻链,其中所述抗体的可变重链和可变轻链框架区分别与SEQ ID NO:7的可变重链(VH)序列的框架区和SEQ ID NO:17的可变轻链(VL)序列的框架区具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。

[0146] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体由(D)组成:包含SEQ ID NO:4、5和6的CDR的可变重链,以及包含SEQ ID NO:14、15和16的CDR的可变轻链,其中所述抗体的可变重链和可变轻链框架区分别与SEQ ID NO:7的可变重链(VH)序列的框架区和SEQ ID NO:17的可变轻链(VL)序列的框架区具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。

[0147] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体由(E)组成:包含SEQ ID NO:61、62和63的CDR的可变重链,以及包含SEQ ID NO:71、72和73的CDR的可变轻链,其中所述抗体的可变重链和可变轻链框架区分别与SEQ ID NO:67的可变重链序列(VH)的框架区和SEQ ID NO:77的可变轻链序列(VL)的框架区具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。

[0148] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(F)SEQ ID NO:61的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:62的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:63的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:71的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:72的轻链可变区CDR2;SEQ ID NO:73的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,上述抗体(F)包含SEQ ID NO:127的重链可变区CDR1。

[0149] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(F2)SEQ ID NO:61的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:62的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:63的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:71的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:72的轻链可变区CDR2;SEQ ID NO:73的轻链可变区CDR3,其中所述抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域框架区分别与SEQ ID NO:67的重链可变结构域(VH)和SEQ ID NO:77的轻链可变结构域(VL)的框架区具有至少95%序列同一性。在另一个实施方案中,上述抗体(F2)包含SEQ ID NO:127的重链可变结构域CDR1。

[0150] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含(G):重链可变结构域,其包括(i)SEQ ID NO:61、62和63的CDR和(ii)位置1的氨基酸Q和位置99的氨基酸R;以及轻链可变结构域,其包括(iii)SEQ ID NO:71、72和73的CDR,和(iv)位置49的F,其中所述抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域框架区分别与SEQ ID NO:67的重链可变结构域序列(VH)和SEQ ID NO:77的轻链可变结构域序列(VL)的框架区具有至少95%序列同一性,其中(ii)和(iv)中提及的氨基酸位置分别对应于SEQ ID NO:67和77的位置1、99和49。

[0151] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(H)SEQ ID NO:64的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:65的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:66的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:74的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:75的轻链可变区CDR2;SEQ ID

NO:76的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,上述抗体(H)包含SEQ ID NO:127的重链可变区CDR1。

[0152] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(H1) SEQ ID NO:64的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:65的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:66的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:74的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:75的轻链可变区CDR2;SEQ ID NO:76的轻链可变区CDR3,其中所述抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域框架区分别与SEQ ID NO:67的重链可变结构域(VH)和SEQ ID NO:77的轻链可变结构域(VL)的框架区具有至少95%序列同一性。在另一个实施方案中,上述抗体(H1)包含SEQ ID NO:127的重链可变结构域CDR1。

[0153] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含(H2):重链可变结构域,其包括(i) SEQ ID NO:64、65和66的CDR和(ii)位置1的氨基酸Q和位置99的氨基酸R;和轻链可变结构域,其包括(iii) SEQ ID NO:74、75和76的CDR,和(iv)位置49的氨基酸F,其中所述抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域框架区分别与SEQ ID NO:67的重链可变结构域(VH)和SEQ ID NO:77的轻链可变结构域(VL)的框架区具有至少95%序列同一性,其中(ii)和(iv)中提及的氨基酸位置分别对应于SEQ ID NO:67和77的位置1、99和49。

[0154] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含(I):重链可变结构域,其包括以下氨基酸:(i)位置1的Q,位置31的T,位置32的S,位置34的M,位置55的W,位置56的N,位置58的D,位置99的R,位置101的F,位置102和103的Y,位置104的S,位置106的Y和位置108的D,以及轻链可变结构域,其包括以下氨基酸:(ii)位置32的Y,位置49的F,位置53的S,位置54的L,位置55的Q,位置56的S,位置91的T,位置92的N和位置93的T,其中所述抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域框架区分别与SEQ ID NO:67的重链可变结构域(VH)和SEQ ID NO:77的轻链可变结构域(VL)的框架区具有至少95%序列同一性,其中(i)和(ii)中提及的氨基酸位置分别对应于SEQ ID NO:67的位置1、31、32、34、55、56、58、99、101、102、103、104、106和108,以及SEQ ID NO:77的位置32、49、53、54、55、56、91、92和93。

[0155] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含(I1):重链可变结构域,其包括(i)位置1、31、32、34、55、56、58、99、101-104、106和108的氨基酸,结合TGF β -2二聚体时,在所述抗原的5Å距离内;以及轻链可变结构域,其包括(ii)位置32、49、53-56和91-93的氨基酸,结合TGF β -2二聚体时,在所述抗原的5Å距离内,其中(i)和(ii)中提及的氨基酸位置分别对应于SEQ ID NO:67的位置1、31、32、34、55、56、58、99、101-104、106和108,以及SEQ ID NO:77的位置32、49、53-56、91、92和93。

[0156] 在另一个实施方案中,上述抗体(I2)或其功能性片段在重链可变结构域的位置1、31、32、34、55、56、58、99、101-104、106和108包含与SEQ ID NO:67的重链可变结构域蛋白中相同位置上的氨基酸相同的氨基酸,并且在轻链可变结构域的位置32、49、53-56和91-93包含与SEQ ID NO:77的轻链可变结构域蛋白中相同位置上的氨基酸相同的氨基酸。

[0157] 在另一个实施方案中,上述抗体(I3)或其功能性片段在重链可变结构域的位置1、31、32、34、55、56、58、99、101-104、106和108包含与SEQ ID NO:67的重链可变结构域蛋白中相同位置上的氨基酸具有相似侧链的氨基酸,并且在轻链可变结构域的位置32、49、53-56

和91-93包含与SEQ ID NO:77的轻链可变结构域蛋白中相同位置上的氨基酸具有相似侧链的氨基酸。

[0158] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含(I4):重链可变结构域,其包括以下氨基酸:位置1的Q,位置31的T,位置32的S,位置34的M,位置55的W,位置56的N,位置58的D,位置99的R,位置101的F,位置102和103的Y,位置104的S,位置106的Y和位置108的D,这些氨基酸在结合TGF β -2二聚体时在抗原的5Å距离内;以及轻链可变结构域,其包括以下氨基酸:位置32的Y,位置49的F,位置53的S,位置54的L,位置55的Q,位置56的S,位置91的T,位置92的N和位置93的T,这些氨基酸在结合TGF β -2二聚体时在抗原的5Å距离内,其中所述抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域框架区分别与SEQ ID NO:67的重链可变结构域(VH)和SEQ ID NO:77的轻链可变结构域(VL)的框架区具有至少95%序列同一性。

[0159] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(J)SEQ ID NO:21的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:22的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:23的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:31的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:32的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,上述抗体(J)包含SEQ ID NO:125的重链可变区CDR1。

[0160] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段由(K)组成:包含SEQ ID NO:21、22和23的CDR的可变重链和包含SEQ ID NO:31、32和33的CDR的可变轻链,其中所述抗体的可变重链和可变轻链框架区分别与SEQ ID NO:29的重链序列(VH)的框架区和SEQ ID NO:39的轻链序列(VL)的框架区具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。

[0161] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(L)SEQ ID NO:21的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:22的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:23的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:31的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:32的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR3;以及SEQ ID NO:131和132的框架互补位区。在另一个实施方案中,上述抗体(L)包含SEQ ID NO:125的重链可变区CDR1。

[0162] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(M)SEQ ID NO:24的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:25的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:26的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:34的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:35的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:36的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,上述抗体(M)包含SEQ ID NO:125的重链可变区CDR1。

[0163] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(N)SEQ ID NO:24的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:25的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:26的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:34的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:35的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:36的轻链可变区CDR3;以及SEQ ID NO:131和132的互补位区。在另一个实施方案中,上述抗体(N)包含SEQ ID NO:125的重链可变区CDR1。

[0164] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(O)SEQ ID NO:41的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:42的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:43的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:51的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:52的轻链可变区CDR2;和SEQ ID

NO:53的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,上述抗体(O)包含SEQ ID NO:125的重链可变区CDR1。

[0165] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体由(P)组成:包含SEQ ID NO:41、42和43的CDR的可变重链和包含SEQ ID NO:51、52和53的CDR的可变轻链,其中所述抗体的可变重链和可变轻链框架区分别与SEQ ID NO:47的重链序列(VH)的框架区和SEQ ID NO:57的轻链序列(VL)的框架区具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。

[0166] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(Q) SEQ ID NO:44的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:45的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:46的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:54的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:55的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:56的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,上述抗体(Q)包含SEQ ID NO:125的重链可变区CDR1。

[0167] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(R) SEQ ID NO:81的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:82的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:83的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:91的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:92的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:93的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,上述抗体(R)包含SEQ ID NO:128的重链可变区CDR1。

[0168] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体由(S)组成:包含SEQ ID NO:81、82和83的CDR的可变重链和包含SEQ ID NO:91、92和93的CDR的可变轻链,其中所述抗体的可变重链和可变轻链框架区分别与SEQ ID NO:87的重链序列(VH)的框架区和SEQ ID NO:97的轻链序列(VL)的框架区具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。

[0169] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(T) SEQ ID NO:84的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:85的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:86的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:94的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:95的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:96的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,上述抗体(T)包含SEQ ID NO:128的重链可变区CDR1。

[0170] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(U) SEQ ID NO:101的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:102的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:103的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:111的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:112的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:113的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,上述抗体(U)包含SEQ ID NO:129的重链可变区CDR1。

[0171] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体由(V)组成:包含SEQ ID NO:101、102和103的CDR的可变重链和包含SEQ ID NO:111、112和113的CDR的可变轻链,其中所述抗体的可变重链和可变轻链框架区分别与SEQ ID NO:107的重链序列(VH)的框架区和SEQ ID NO:117的轻链序列(VL)的框架区具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。

[0172] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段包含:(W) SEQ ID NO:104的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:105的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:106的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:114的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:115的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:116的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,上述抗体(W)包含SEQ ID NO:129

的重链可变区CDR1。

[0173] 在另一个优选实施方案中,上述人单克隆抗TGF- β 2抗体(A)至(W)或其功能性片段相对于人TGF- β 1和TGF- β 3优先结合人TGF- β 2,对TGF- β 2的解离常数比对TGF- β 1或TGF- β 3的解离常数低至少2,000倍,其中抗体中和人TGF- β 2,但不中和TGF- β 3,并且以1pM或更低的解离常数(K_D)结合人TGF- β 2。在另一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体包含与选自SEQ ID NO:9、29、49、69、89和109的至少一个序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的全长重链氨基酸序列。

[0174] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体包含与选自SEQ ID NO:19、39、59、79、99和119的至少一个序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的全长轻链氨基酸序列。

[0175] 在一个实施方案中,本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体包括与选自SEQ ID NO:9、29、49、69、89和109的至少一个序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的全长重链氨基酸序列,以及与选自SEQ ID NO:19、39、59、79、99和119的至少一个序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的全长轻链氨基酸序列。

[0176] 在一个方面中,本发明还提供人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段,其包含:

[0177] (a) SEQ ID NO:7的可变重链序列和SEQ ID NO:17的可变轻链序列; (b) SEQ ID NO:27的可变重链序列和SEQ ID NO:37的可变轻链序列; (c) SEQ ID NO:47的可变重链序列和SEQ ID NO:57的可变轻链序列; (d) SEQ ID NO:67的可变重链序列和SEQ ID NO:77的可变轻链序列; (e) SEQ ID NO:87的可变重链序列和SEQ ID NO:97的可变轻链序列;或(f) SEQ ID NO:107的可变重链序列和SEQ ID NO:117的可变轻链序列。

[0178] 在另一个实施方案中,人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段相对于人TGF- β 1和TGF- β 3优先结合人TGF- β 2,对TGF- β 2的解离常数比对TGF- β 1或TGF- β 3的解离常数低至少2,000倍,其中抗体中和人TGF- β 2但不中和TGF- β 3,并且以1pM或更低的解离常数(K_D)结合人TGF- β 2,其中抗体或其功能性片段包含: (a) SEQ ID NO:7的可变重链序列和SEQ ID NO:17的可变轻链序列; (b) SEQ ID NO:27的可变重链序列和SEQ ID NO:37的可变轻链序列; (c) SEQ ID NO:47的可变重链序列和SEQ ID NO:57的可变轻链序列; (d) SEQ ID NO:67的可变重链序列和SEQ ID NO:77的可变轻链序列; (e) SEQ ID NO:87的可变重链序列和SEQ ID NO:97的可变轻链序列;或(f) SEQ ID NO:107的可变重链序列和SEQ ID NO:117的可变轻链序列。

[0179] 本发明进一步提供了人单克隆抗TGF- β 2抗体,其包括:

[0180] (a) SEQ ID NO:9的重链序列和SEQ ID NO:19的轻链序列;

[0181] (b) SEQ ID NO:29的重链序列和SEQ ID NO:39的轻链序列;

[0182] (c) SEQ ID NO:49的重链序列和SEQ ID NO:59的轻链序列;

[0183] (d) SEQ ID NO:69的重链序列和SEQ ID NO:79的轻链序列;

[0184] (e) SEQ ID NO:89的重链序列和SEQ ID NO:99的轻链序列;或

[0185] (f) SEQ ID NO:109的重链序列和SEQ ID NO:119的轻链序列。

[0186] MOR14799:本文中称为MOR14799的本发明单克隆抗体包含SEQ ID NO:9的重链序列和SEQ ID NO:19的轻链序列。MOR14799包含SEQ ID NO:7的可变重链序列和SEQ ID NO:17的可变轻链序列。MOR14799包含SEQ ID NO:1的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:2的重链可

变区CDR2;SEQ ID NO:3的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:11的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:12的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:13的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,MOR14799包含SEQ ID NO:124的重链可变区CDR1。MOR14799的重链和重链可变区分别由SEQ ID NO:10和8的多核苷酸序列编码。MOR14799的轻链和轻链可变区分别由SEQ ID NO:20和18的多核苷酸序列编码。抗体MOR14799的 K_D 值对于(i)hTGF β -2为 $1.08E-15M$, (ii)没有可检测的与TGF β -1的结合和(iii)对于hTGF β -3的 K_D 值为 $1.99E-11M$ (参见表4)。由此看来,MOR14799对TGF β 2的 K_D 值比对TGF β 3的 K_D 值低18000倍以上。即使更保守解释MOR14799的 K_D 值测量,考虑可能由接近该试验检测限的非常低 K_D 值引起的测量误差,采用不超过100fM的 K_D 值,MOR14799对TGF β 2的 K_D 值仍然比TGF β 3的低200倍。这些数据说明了令人惊讶的MOR14799优于现有技术抗体的优越性,因为基于Thompson等公开的数据(J Immunol Methods.1999年7月30日;227(1-2):17-29),现有技术抗体CAT-152的 K_D 值,对于(i)hTGF β 2是0.89nM和(ii)对于hTGF β 3的 K_D 值为10nM。由此,CAT-152对TGF β 2的 K_D 值比对TGF β 3的 K_D 值低仅11倍。基于本文中提供的实验数据,CAT-152对于TGF β 2的 K_D 值为 $7.3E-11M$,而对于hTGF β -3的 K_D 值为 $1.18E-09M$,由此CAT-152对TGF β 2的 K_D 值仅比TGF β 3的低16倍。

[0187] 基于本文中提供的实验数据,1D11对TGF β 2的 K_D 值为 $1.17E-10M$,对hTGF β -3的 K_D 值为 $2.0E-11M$,由此1D11对TGF β 2的 K_D 值仅比TGF β 3的低17倍。

[0188] MOR14800:本文中称为MOR14800的本发明单克隆抗体包含SEQ ID NO:29的重链序列和SEQ ID NO:39的轻链序列。MOR14800包含SEQ ID NO:27的可变重链序列和SEQ ID NO:37的可变轻链序列。MOR14800包含SEQ ID NO:21的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:22的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:23的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:31的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:32的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,MOR14800包含SEQ ID NO:125的重链可变区CDR1。MOR14800的重链和重链可变区分别由SEQ ID NO:30和28的多核苷酸序列编码。MOR14800的轻链和轻链可变区分别由SEQ ID NO:40和38的多核苷酸序列编码。抗体MOR14800的 K_D 值对于(i)hTGF β -2为 $4.34E-16M$ (保守估计100fM), (ii)没有可检测的与TGF β -1的结合和(iii)没有可检测的与TGF β -3的结合(参见表4)。因此,抗体MOR14800不以任何方式与TGF β 1或TGF β 3反应。这些数据说明了令人惊讶的MOR14800优于现有技术抗体的优越性。在本公开内容的另一个实施方案中,单克隆抗体MOR14800包含SEQ ID NO:21的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:22的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:23的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:31的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:32的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR3;以及SEQ ID NO:131和132的框架互补位区。在另一个实施方案中,上述抗体MOR14800包含SEQ ID NO:125的重链可变区CDR1。

[0189] MOR14809:本文中称为MOR14809的本发明单克隆抗体包含SEQ ID NO:49的重链序列和SEQ ID NO:59的轻链序列。MOR14809包含SEQ ID NO:47的可变重链序列和SEQ ID NO:57的可变轻链序列。MOR14809包含SEQ ID NO:41的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:42的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:43的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:51的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:52的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:53的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,MOR14809包含SEQ ID NO:126的重链可变区CDR1。MOR14809的重链和重链可变区分别由SEQ ID NO:50和48的多核苷酸序列编码。MOR14809的轻链和轻链可变区分别由SEQ ID NO:60和58的多核苷酸序列编码。抗体MOR14809的 K_D 值对于(i)hTGF β -2为 $5.24E-14M$ (保守估计

100fM), (ii) 没有可检测的与TGFβ-1的结合和 (iii) 没有可检测的与TGFβ-3的结合 (参见表4)。因此, 抗体MOR14809没有以任何方式与TGFβ1或TGFβ3反应。这些数据说明了令人惊讶的MOR14809优于现有技术抗体的优越性。

[0190] MOR14797: 本文中称为MOR14797的本发明单克隆抗体包含SEQ ID NO:69的重链序列和SEQ ID NO:79的轻链序列。MOR14797包含SEQ ID NO:67的可变重链序列和SEQ ID NO:77的可变轻链序列。MOR14797包含SEQ ID NO:61的重链可变区CDR1; SEQ ID NO:62的重链可变区CDR2; SEQ ID NO:63的重链可变区CDR3; SEQ ID NO:71的轻链可变区CDR1; SEQ ID NO:72的轻链可变区CDR2; 和SEQ ID NO:73的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中, MOR14797包含SEQ ID NO:127的重链可变区CDR1。MOR14797的重链和重链可变区分别由SEQ ID NO:70和68的多核苷酸序列编码。MOR14797的轻链和轻链可变区分别由SEQ ID NO:80和78的多核苷酸序列编码。抗体MOR14797的 K_D 值对于 (i) hTGFβ-2为 $4.46E-15M$, (ii) 没有可检测的与TGFβ-1的结合和 (iii) 对于hTGFβ-3的 K_D 值为 $2.74E-08M$ (参见表4)。由此, MOR14797对TGFβ2的 K_D 值比对TGFβ3的 K_D 值低6百万倍。即使更保守解释MOR14799的 K_D 值测量, 考虑可能由接近该试验检测限的非常低 K_D 值引起的测量误差, 通过采用不超过100fM的 K_D 值, MOR14797对TGFβ2的 K_D 值仍然比对TGFβ3的低270000倍。这些数据说明了令人惊讶的MOR14797优于现有技术抗体的优越性。

[0191] 在一个实施方案中, 本发明的人单克隆抗TGF-β2抗体或其功能性片段包含: 重链可变结构域, 其包括 (i) SEQ ID NO:61、62和63的CDR和 (ii) 位置1的氨基酸Q和位置99的氨基酸R; 以及轻链可变结构域, 其包括 (iii) SEQ ID NO:71、72和73的CDR, 和 (iv) 位置49的氨基酸F, 其中所述抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域框架区分别与SEQ ID NO:67的重链可变结构域序列 (VH) 和SEQ ID NO:77的轻链可变结构域序列 (VL) 具有至少98%序列同一性, 其中 (ii) 和 (iv) 中提及的氨基酸位置分别对应于SEQ ID NO:67和77的位置1、99和49。

[0192] 在一个实施方案中, 本发明的人单克隆抗TGF-β2抗体或其功能性片段包含: 重链可变结构域, 其包括 (i) SEQ ID NO:64、65和66的CDR和 (ii) 位置1的氨基酸Q和位置99的氨基酸R; 以及轻链可变结构域, 其包括 (iii) SEQ ID NO:74、75和76的CDR, 和 (iv) 位置49的氨基酸F, 其中所述抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域框架区分别与SEQ ID NO:67的重链可变结构域 (VH) 和SEQ ID NO:77的轻链可变结构域 (VL) 的框架区具有至少98%序列同一性, 其中 (ii) 和 (iv) 中提及的氨基酸位置分别对应于SEQ ID NO:67和77的位置1、99和49。

[0193] MOR14805: 本文中称为MOR14805的本发明单克隆抗体包含SEQ ID NO:89的重链序列和SEQ ID NO:99的轻链序列。MOR14805包含SEQ ID NO:87的可变重链序列和SEQ ID NO:97的可变轻链序列。MOR14805包含SEQ ID NO:81的重链可变区CDR1; SEQ ID NO:82的重链可变区CDR2; SEQ ID NO:83的重链可变区CDR3; SEQ ID NO:91的轻链可变区CDR1; SEQ ID NO:92的轻链可变区CDR2; 和SEQ ID NO:93的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中, MOR14805包含SEQ ID NO:128的重链可变区CDR1。MOR14805的重链和重链可变区分别由SEQ ID NO:90和88的多核苷酸序列编码。MOR14805的轻链和轻链可变区分别由SEQ ID NO:100和98的多核苷酸序列编码。抗体MOR14805的 K_D 值对于 (i) hTGFβ-2为 $9.70E-13M$, (ii) 没有可检测的与TGFβ-1的结合和 (iii) 对于TGFβ-3的 K_D 值为 $7.05E-11M$ (参见表4)。由此, MOR14805

对TGF β 2的K_d值比对TGF β 3的低73倍。这些数据说明了令人惊讶的MOR14805优于现有技术抗体的优越性。

[0194] MOR14787:本文中称为MOR14787的本发明单克隆抗体包含SEQ ID NO:109的重链序列和SEQ ID NO:119的轻链序列。MOR14787包含SEQ ID NO:107的可变重链序列和SEQ ID NO:117的可变轻链序列。MOR14787包含SEQ ID NO:101的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:102的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:103的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:111的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:112的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:113的轻链可变区CDR3。在另一个实施方案中,MOR14787包含SEQ ID NO:129的重链可变区CDR1。MOR14787的重链和重链可变区分别由SEQ ID NO:110和108的多核苷酸序列编码。MOR14787的轻链和轻链可变区分别由SEQ ID NO:120和118的多核苷酸序列编码。抗体MOR14787的K_d值对于(i) hTGF β -2为7.38E-16M,(ii) 没有可检测的与TGF β -1的结合和(iii) 没有可检测的与TGF β -3的结合(参见表4)。因此,抗体MOR14787没有以任何方式与TGF β 1或TGF β 3反应。这些数据说明了令人惊讶的MOR14787优于现有技术抗体的优越性。

[0195] 具有高结合亲和力/选择性的中和性抗TGF- β 2抗体不太可能引起对其他途径的干扰(可能与不良事件相关)。本发明的抗体不结合和/或中和TGF β 同种型1和3。此外,本发明的抗体不结合在相同或相关代谢途径中具有活性的其他蛋白质。特别地,本发明的抗体不结合人蛋白GDF-11、GDF-8、激活素A、激活素B和激活素A/B(“反靶”(counter-target))。因此,在一个实施方案中,本发明涉及本文中公开的抗体MOR14799、MOR14800、MOR14809、MOR14797、MOR14805或MOR14787,其中所述抗体不中和反靶GDF-11、GDF-8、激活素A、激活素B和激活素A/B,直至100nM IgG抗体。

[0196] 在某些实施方案中,本发明的抗体具有包含CDR1、CDR2和CDR3序列的重链可变区和包含CDR1、CDR2和CDR3序列的轻链可变区,其中这些序列中的一个或多个具有基于本文中所述抗体的特定氨基酸序列或其保守性修饰,并且其中抗体保留本发明的抗TGF β 2抗体的所需功能特性。因此,本发明提供了分离的重组抗TGF β -2抗体,或其功能性片段,由包含CDR1、CDR2和CDR3序列的重链可变区和包含CDR1、CDR2、CDR3的轻链可变区组成,所述CDR(a)选自SEQ ID NO:1-3、11-13、21-23、31-33、41-43、51-53、61-63、71-73、81-83、91-93、101-103、111-113和124-129或其保守性修饰,或b)选自SEQ ID NO:4-6、14-16、24-26、34-36、44-46、54-56、64-66、74-76、84-86、94-96、104-106、114-116和124-129或其保守性修饰。优选,这样的抗体呈现出至少一种以下的功能特性:(i) 如通过Smad依赖性报告基因试验测定的,以低于150pM,或低于107pM,或低于100pM,或低于80pM或低于30pM,或低于20pM,或低于10pM的半最大抑制浓度(IC₅₀)中和人TGF- β 2,并且以高于100nM的半最大抑制浓度(IC₅₀)中和人TGF- β 1或TGF- β 3;或(ii) 如通过Smad依赖性报告基因试验测定的,以约1pM至约150pM,或约1pM至约107pM,或约1pM至约80pM的半最大抑制浓度(IC₅₀)中和人TGF- β 2,并且以高于100nM的半最大抑制浓度(IC₅₀)中和人TGF- β 1或TGF- β 3。这样的抗体可以是例如人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。

[0197] 在其他实施方案中,针对在哺乳动物细胞中表达而优化的本发明抗体具有全长重链序列和全长轻链序列,其中这些序列中的一个或多个具有基于本文中所述抗体的特定氨基酸序列或其保守性修饰,并且其中抗体保留本发明的抗TGF β -2抗体的所需功能特性。因此,本发明提供了针对在哺乳动物细胞中表达而优化的分离单克隆抗TGF β -2抗体,其由SEQ

ID NO:9、29、49、69、89和109的全长重链序列和SEQ ID NO:19、39、59、79、99或119的全长轻链序列组成,其中保守性修饰已经引入所述序列中。在多个实施方案中,抗体可以呈现出以上列出的功能特性中的一个或两个。这样的抗体可以是例如人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。

[0198] 本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或其功能性片段可以是IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM或IgD同种型,特别是选自例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4同种型的人重链恒定区。如本文中使用的,“同种型”是指由重链恒定区基因提供的抗体类别(例如,IgM、IgE、IgG,如IgG1或IgG2)。

[0199] 本发明的人单克隆抗TGF- β 2抗体或功能性片段可以通过Fc区的突变具有改变的效应子功能。在进一步的实施方案中,本发明的抗体是IgG1同种型的,并且通过Fc区的突变具有改变的效应子功能。在一个实施方案中,所述改变的效应子功能是降低的抗体依赖性细胞毒性(ADCC)活性和补体依赖性细胞毒性(CDC)活性。在一个实施方案中,所述改变的效应子功能是沉默的ADCC和CDC活性。抗体还可以转变成沉默IgG1LALA形式,其中位置234和235的亮氨酸突变成丙氨酸,以消除FcR γ 结合并减弱效应子功能。用于改变抗体恒定区的方法是本领域已知的。可以通过用不同的残基替代抗体恒定区中的至少一个氨基酸残基来产生具有改变的功能的抗体,例如,对效应子配体如细胞上的FcR或补体的C1成分具有改变的亲和力(参见,例如,EP388151;US5,624,821)。可以描述在应用于鼠或其他物种时降低或消除免疫球蛋白的这些功能的相似类型改变。

[0200] 与本发明的抗TGF- β 2抗体结合相同表位的抗体

[0201] 在另一个实施方案中,本发明提供了与本文中描述的本发明的各种具体抗TGF- β 2抗体结合相同表位的抗体。因此,本发明提供了与包含SEQ ID NO:67的重链可变结构域和SEQ ID NO:77的轻链可变结构域的抗体所识别的表位结合的抗体或其功能性片段。因此,本发明提供了与抗体MOR14797所识别的表位结合的抗体或其功能性片段。结晶和结构测定后,本发明优选抗体的结合区已经得到更清楚地定义。因此,本发明提供了结合人TGF β -2蛋白的表位的抗体,所述表位包含人TGF β -2蛋白的A链的氨基酸LEU 304、ASN 316、PRO 351、TYR 352、LEU 353、TRP 354、SER 355、SER 356、GLN 359、ARG 362、VAL 363、LEU 366、THR 369和ILE 370,以及人TGF β -2蛋白的B链的LYS 327、GLY 331、TRP 332、LYS 333、TRP 334、TYR 392、ILE 394、LYS 399、GLU 401和LEU 403。

[0202] 因此,本发明提供了与包含SEQ ID NO:27的重链可变结构域和SEQ ID NO:37的轻链可变结构域的抗体所识别的表位结合的抗体或其功能性片段。因此,本发明提供了结合抗体MOR14800所识别的表位的抗体或其功能性片段。因此,本发明提供了结合人TGF β -2蛋白的表位的抗体,所述表位包含人TGF β -2蛋白的A链的氨基酸GLY 29、TRP 30、LYS 31、TRP 32、TYR 90、TYR 91、ILE 92、GLU 99、LEU 101和MET 104;以及人TGF β -2蛋白的B链的ALA1、LEU 2、ASP 3、ALA 5、TYR 6、ASN 10、ASN 14、PRO 49、TYR 50、LEU 51、TRP 52、SER 53、SER 54、ASP 55、GLN 57、ARG 60、VAL 61、LEU 64、GLN 81、LYS 110。

[0203] 工程化和修饰的抗体

[0204] 可以进一步使用具有本文中显示的V_H和/或V_L序列中的一个或多个的抗体作为起始材料来工程化构建修饰的抗体,从而制备本发明的抗体,所述修饰的抗体可以具有不同于起始抗体的改变的特性。可以通过修饰一个或两个可变区(即,V_H和/或V_L)内(例如,一个

或多个CDR区内和/或一个或多个框架区内)的一个或多个残基来工程化抗体。另外地或备选地,可以通过修饰恒定区内的残基来工程化抗体,例如,以改变抗体的一或多种效应子功能。可以进行的一种类型的可变区工程化是抗体结合区/互补位或CDR嫁接。因为互补位序列负责抗体-抗原相互作用,可以通过构建包括来自具体天然抗体的CDR/互补位序列的表达载体,其中所述CDR/互补位序列嫁接至来自具有不同特性的不同抗体的框架序列上,可以表达模拟具体天然抗体的特性的重组抗体(参见,例如,Riechmann,L.等,1998Nature 332:323-327; Jones, P.等,1986Nature 321:522-525; Queen, C.等,1989Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:10029-10033; Winter的美国专利No. 5,225,539以及Queen等的美国专利No. 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762和6,180,370)。

[0205] 因此,本发明的另一个实施方案涉及分离的单克隆抗体TGFβ-2抗体或其功能性片段,其包含选自(a) SEQ ID NO:1-3、11-13、21-23、31-33、41-43、51-53、61-63、71-73、81-83、91-93、101-103、111-113和124-129,或b) SEQ ID NO:4-6、14-16、24-26、34-36、44-46、54-56、64-66、74-76、84-86、94-96、104-106、114-116和124-129中所述序列的互补决定区序列的混合物。因此,这样的抗体可以含有本公开抗体的V_H和V_LCDR序列,还可以含有与这些抗体不同的框架序列。这样的框架序列可以获自包括种系抗体基因序列的公众DNA数据库或公开的文献。例如,用于人重链和轻链可变区基因的种系DNA序列可以在“VBase”人种系序列数据库(可在www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase获得)以及Kabat, E. A.等,[上文]; Tomlinson, I. M.等,1992J. mol. Biol. 227:776-798; 和Cox, J. P. L.等,1994Eur. J Immunol. 24:827-836中找到。

[0206] 用于本发明抗体中的框架区序列的实例是结构上与本发明选定抗体使用的框架序列相似的那些,例如,由本发明的单克隆抗体使用的共有序列和/或框架序列。V_HCDR1、2和3序列,以及V_LCDR1、2和3序列可以嫁接至与衍生框架序列的种系免疫球蛋白基因中的序列相同的框架区上,或CDR序列可以嫁接至与种系序列相比含有一个或多个突变的框架区上。例如,已经发现在某些情况中,突变框架区内的残基有益于维持或增强抗体的抗原结合能力(参见,例如,US5,530,101; US5,585,089; US5,693,762和US6,180,370)。另一种类型的可变区修饰是突变V_H和/或V_LCDR1、2和/或3区内的氨基酸残基,由此提高目标抗体的一种或多种结合特性(例如,亲和力),称为“亲和力成熟”。可以进行定点突变或PCR介导的突变,以引入突变,并且可以在如本文中所述的和实施例中提供的体外或体内试验中评价对抗体结合或其他目标功能特性的影响。可以引入保守性修饰(如本文中讨论的)。突变可以是氨基酸置换、添加或缺失。此外,改变CDR区内的通常不超过一个、两个、三个、四个或五个残基。

[0207] 将抗原结合结构域嫁接至可选框架或支架上

[0208] 可以使用各种抗体/免疫球蛋白框架或支架,只要得到的多肽包括至少一个特异性地结合TGFβ-2的结合区。这样的框架或支架包括5种主要独特型的人免疫球蛋白或其片段(如本文中别处公开的那些),并且包括其他动物物种的免疫球蛋白,优选具有人源化特征。在这点上,特别感兴趣的是单重链抗体,如在骆驼科动物中鉴定的那些。本领域技术人员将持续发现和研发新的框架、支架和片段。

[0209] 骆驼抗体(camelid antibody)

[0210] 针对大小、结构复杂性和对于人受试者的抗原性,已经表征了从骆驼和单峰驼(Camelus bactrianus和Camelus dromaderius)家族的成员(包括新世界成员,如美洲驼物

种(Lama paccos、Lama glama和Lama vicugna))获得的抗体蛋白。来自哺乳动物该家族的某些IgG抗体天然缺少轻链,因此与来自其它动物的抗体的典型四链四级结构(具有两条重链和两条轻链)在结构上不同(参见W094/04678)。鉴定为V_HH的骆驼抗体区是小的单可变结构域,可以通过遗传工程获得,以产生对靶标具有高亲和力的小蛋白,由此得到低分子量的抗体衍生蛋白,称为“骆驼纳米抗体”(参见US5,759,808;Stijlemans,B.等,2004J Biol Chem 279:1256-1261;Dumoulin,M.等,2003Nature 424:783-788;Pleschberger,M.等,2003Bioconjugate Chem 14:440-448;Cortez-Retamozo,V.等,2002Int J Cancer 89:456-62;和Lauwereys,M.等,1998EMBO J 17:3512-3520)。骆驼抗体和抗体片段的工程化文库是商业上可获得的,例如,Ablynx,根特,比利时。与非人来源的其他抗体一样,可以重组改变骆驼抗体的氨基酸序列,以获得更接近人序列的序列,即,纳米抗体可以被“人源化”。因此,可以进一步降低骆驼抗体对人的天然低抗原性。骆驼纳米抗体具有人IgG分子的大约十分之一的分子量,并且该蛋白质具有仅为几纳米的物理直径。小尺寸的一个结果是骆驼抗体能够结合对于较大抗体而言功能性不可见的抗原位点,即,骆驼抗体可以作为试剂检测使用传统免疫技术无法检测的抗原,以及作为可能的治疗剂使用。因此,小尺寸的另一个结果是骆驼纳米抗体可以通过结合靶蛋白的沟或窄缝中的特定位点而具有抑制作用,并且因此可以比传统抗体更接近传统低分子量药物的功能。低分子量和压缩尺寸进一步导致骆驼纳米抗体是非常热稳定的,对极端pH和蛋白水解消化具有稳定性,并且具有弱抗原性。另一个结果是骆驼纳米抗体容易从循环系统移动至组织,甚至穿过血脑屏障,并且可以治疗影响神经组织的病症。纳米抗体可以进一步促进跨血脑屏障的药物输送(参见US2004/0161738)。这些特征结合对人的低抗原性,指示了高的治疗潜能。此外,这些分子可以在原核细胞(如,大肠杆菌)中完整表达并可以表达为与噬菌体的融合蛋白,并且是功能性的。因此,本发明的一个方面是,通过将本发明的人抗体的重链或轻链的CDR序列嫁接至纳米抗体或单结构域抗体框架序列中获得的骆驼抗体,如例如W094/04678中所述的。

[0211] 非抗体支架

[0212] 已知的非免疫球蛋白框架或支架包括,但不限于,s(纤连蛋白)(Compound Therapeutics,Inc.,Waltham,MA)、ankyrin(Molecular Partners AG,Zurich,瑞士)、结构域抗体(Domantis,Ltd(Cambridge,MA)和Ablynx nv(Zwijnaarde,比利时)),lipocalin(Anticalin)(Pieris Proteolab AG,Freising,德国),小模块免疫药物(Trubion Pharmaceuticals Inc.,Seattle,WA)、maxybodies(Avidia,Inc.(Mountain View,CA))、蛋白A(Affibody AG,瑞典)和affilin(γ 晶体蛋白或泛素)(Scil Proteins GmbH,Halle,德国)、蛋白表位模拟物(Polyphor Ltd,Allschwil,瑞士)。

[0213] (i) 纤连蛋白支架

[0214] 纤连蛋白支架优选基于III型纤连蛋白结构域(例如,III型纤连蛋白的第十个模块(10Fn3结构域))。III型纤连蛋白结构域具有7或8条 β 链,其分布在两个 β 片层之间,其自身彼此包裹,形成蛋白质的核心,并且进一步含有环(与CDR类似),所述环将 β 链彼此连接并且是溶剂暴露的。在 β 片夹层的每个边存在至少三个这样的环,其中所述边是与 β 链的方向垂直的蛋白质的边界(US 6,818,418)。这些基于纤连蛋白的支架不是免疫球蛋白,尽管整体折叠与最小的功能性抗体片段(重链的可变区,在骆驼和美洲驼IgG中其包含整个抗原识别单位)密切相关。由于该结构,该非免疫球蛋白抗体可以模拟抗原结合特性,与抗体的抗

原结合特性在性质和亲合力上相似。这些支架可以用于体外环随机化和改组策略中,类似于体内抗体的亲和力成熟过程。这些基于纤连蛋白的分子可以用作支架,使用标准克隆技术,用本发明的CDR替代该分子的环区。

[0215] 框架或Fc工程化

[0216] 本发明的工程化抗体包括已经对 V_H 和/或 V_L 内的框架残基进行了修饰的那些,例如,所述修饰用于改善抗体的特性。通常,形成这样的框架修饰,以降低抗体的免疫原性。例如,一种方法是将一个或多个框架残基“回复突变”成相应的种系序列。更具体地,已经经历体细胞突变的抗体可以含有不同于抗体所衍生自的种系序列的框架残基。可以通过将抗体框架序列与用于衍生抗体的种系序列进行比较,来鉴定这样的残基。为了将框架区序列返回至其种系构造,可以将体细胞突变“回复突变”成种系序列,例如,通过定点诱变或PCR介导的诱变。这样的“回复突变”抗体也旨在包括在本发明中。另一种类型的框架修饰涉及,突变框架区内的一个或多个残基,或甚至一个或多个CDR区内的残基,以除去T-细胞表位,由此降低潜在的抗体免疫原性。这种方法也称为“去免疫化”并且更多详细内容描述于US2003/0153043中。除了在框架或CDR区内进行修饰以外,或作为该方法的替代方法,可以工程化本发明的抗体以在Fc区内包括修饰,通常用于改变抗体的一个或多个功能特性,如血清半衰期、补体固定、Fc受体结合和/或抗原依赖性细胞毒性。此外,本发明的抗体可以化学修饰(例如,可以将一个或多个化学部分连接至抗体),或修饰来改变其糖基化,以用于改变抗体的一个或多个功能特性。在一个实施方案中,修饰CH1的铰链区,使得铰链区中的半胱氨酸残基的数量改变,例如,增加或减少。这种方法进一步描述于US5,677,425中。改变CH1的铰链区中的半胱氨酸残基的数量,例如,以促进轻链和重链的装配,或提高或降低抗体的稳定性。在另一个实施方案中,修饰抗体,以提高其生物半衰期。各种方法是可以的。例如,可以引入以下的一个或多个突变:T252L、T254S、T256F,如US6,277,375中所述的。或者,为了提高生物半衰期,可以在CH1或CL区内改变抗体,以含有取自IgG Fc区CH2结构域的两个环的拯救受体结合表位,如US5,869,046和US6,121,022中所述的。再在其他实施方案中,通过用不同氨基酸残基替代至少一个氨基酸残基来改变Fc区,以改变抗体的效应子功能。例如,可以用不同的氨基酸残基替代一个或多个氨基酸,使得抗体对于效应子配体具有改变的亲和力,但保留亲本抗体的抗原结合能力。待改变亲和力的效应子配体可以是例如Fc受体或补体的C1成分。这种方法进一步详细描述于US5,624,821和US5,648,260中,两篇都是Winter等的。特别地,可以突变残基234和235。特别地,这些突变可以是丙氨酸。因此,在一个实施方案中,本发明的抗体在Fc区中的氨基酸234和235中的一个或两个具有突变。在另一个实施方案中,氨基酸234和235中的一个或两个可以置换成丙氨酸。氨基酸234和235两个置换成丙氨酸导致降低的ADCC活性。在再另一个实施方案中,修饰Fc区,通过修饰一个或多个氨基酸,提高抗体介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的能力和/或提高抗体对Fc γ 受体的亲和力。这种方法进一步描述于W000/42072中。此外,人IgG1上针对Fc γ RI、Fc γ RII、Fc γ RIII和FcRn的结合位点已经作图并且已经描述了具有提高的结合的变体(参见,Shields,R.L.等,2001J.Biol.Chem.276:6591-6604)。在再另一个实施方案中,修饰抗体的糖基化。例如,可以制得缺糖基化抗体(即,抗体缺少糖基化)。可以改变糖基化,例如,以提高抗体对抗原的亲和力。这样的碳水化合物修饰可以通过例如改变抗体序列内的一个或多个糖基化位点来实现。例如,可以进行导致一个或多个可变区框架糖基化位点消除的一个

或多个氨基酸置换,由此消除该位点的糖基化。这样的缺糖基化可以提高抗体对抗原的亲合力。这样的方法进一步详细描述于Co等的美国专利No.5,714,350和6,350,861中。另外地或替换地,可以制备具有改变的糖基化类型的抗体,如具有降低的岩藻糖残基量的低岩藻糖基化抗体或具有提高的平分型GlcNac结构的抗体。已经证明这样改变的糖基化模式能够提高抗体的ADCC能力。这样的碳水化合物修饰可以通过例如在具有改变的糖基化机制的宿主细胞中表达抗体来实现。本领域中已经描述了具有改变的糖基化机制的细胞并且可以用作在其中表达本发明的重组抗体的宿主细胞,由此产生具有改变的糖基化的抗体。例如, Hang等的EP1,176,195描述了具有功能上破坏的FUT8基因的细胞系(FUT8基因编码岩藻糖基转移酶),使得在这样的细胞系中表达的抗体呈现出低岩藻糖基化。因此,在一个实施方案中,通过在呈现出低岩藻糖化模式的细胞系中重组表达来产生本发明的抗体,例如,具有编码岩藻糖基转移酶的FUT8基因的缺陷表达的哺乳动物细胞系。W003/035835描述了变体CHO细胞系, Lec13细胞,具有降低的将岩藻糖连接至Asn(297)-连接的碳水化合物上的能力,也导致在该宿主细胞中表达的抗体的低岩藻糖基化(还参见Shields, R.L.等, 2002J.Biol.Chem.277:26733-26740)。W099/54342描述了工程化来表达糖蛋白-修饰性糖基转移酶(例如, $\beta(1,4)$ -N乙酰氨基葡萄糖转移酶III(GnTIII))的细胞系,使得在工程化的细胞系中表达的抗体呈现出提高的平分型GlcNac结构,这导致抗体提高的ADCC活性(还参见Umana等,1999Nat.Biotech.17:176-180)。或者,可以在针对哺乳动物样糖基化模式工程化并且能够产生缺少岩藻糖作为糖基化模式的抗体的酵母或丝状真菌中,生产本发明的抗体(参见,例如,EP1297172B1)。

[0217] 编码本发明抗体的核酸分子

[0218] 术语“核酸”或“多核苷酸”是指脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)及其单链或双链形式的聚合物。除非另外指出,该术语包括含有天然核苷酸已知类似物的核酸,其与参照核酸具有相似的结合特性并且以天然核苷酸相似的方式代谢。具体地,可以通过产生其中一个或多个选定(或全部)密码子的第三个位置用混合的碱基和/或脱氧肌苷残基置换的序列,实现简并密码子置换(Batzer等,Nucleic Acid Res.19:5081(1991);Ohtsuka等,J.Biol.Chem.260:2605-2608(1985);和Rossolini等,Mol.Cell.Probes 8:91-98(1994))。本发明的另一个方面涉及编码本发明抗体的核酸分子。全长轻链核苷酸序列的实例显示于SEQ ID NO:20、40、60、80、100或120。全长重链核苷酸序列的实例显示于SEQ ID NO:10、30、50、70、90或110。核酸可以存在于完整细胞、细胞裂解物中,或可以是部分纯化或基本上纯形式的核酸。通过标准技术,包括碱/SDS处理、CsCl分带、柱色谱、琼脂糖凝胶电泳和本领域公知的其他技术,从其他细胞组分或其他杂质(例如,其他细胞核酸或蛋白质)纯化出来时,核酸是“分离的”或“基本上纯的”。参见,F.Ausubel等编辑,1987Current Protocols in Molecular Biology,Green Publishing and Wiley Interscience,New York。本发明的核酸可以是例如DNA或RNA,或可以含有或不含有内含子序列。在一个实施方案中,核酸是cDNA分子。核酸可以存在于载体中,如噬菌体展示载体,或重组质粒载体。可以使用标准分子生物学技术获得本发明的核酸。对于通过杂交瘤表达的抗体(例如,从携带人免疫球蛋白基因的转基因小鼠制得的杂交瘤,如以下进一步描述的),可以通过标准PCR扩增或cDNA克隆技术获得编码杂交瘤产生的抗体的轻链和重链的cDNA。对于获自免疫球蛋白基因文库的抗体(例如,使用噬菌体展示技术),可以从作为文库成员的各噬菌体克隆,回收编码抗体的

核酸。本发明的范围内还包括变体核酸序列,其包括一个或多个缺失、添加或置换。在一个实施方案中,本发明包括SEQ ID NO:8、10、18、20、28、30、38、40、48、50、58、60、68、70、78、80、88、90、98、100、108、110、118或120中的一个或多个。由于遗传密码的简并性,氨基酸可以由超过一个的密码子来编码。因此,可以改变核苷酸序列,而翻译的氨基酸序列仍然是相同的。

[0219] 一旦获得编码V_H和V_L区段的DNA片段,可以通过标准重组DNA技术进一步操纵这些DNA片段,例如,将可变区基因转变成全长抗体链基因、Fab片段基因或scFv基因。在这些操纵中,将V_L-或V_H-编码DNA片段可操作地连接另一个DNA分子、或编码另一蛋白质的片段,如抗体恒定区或柔性衔接物。在本上下文中使用时,术语“可操作地连接”用来表示两个DNA片段以功能性方式连接,例如,使得由两个DNA片段编码的氨基酸序列保持在框内,或使得在所需启动子的控制下表达蛋白质。通过将V_H-编码DNA可操作地连接编码重链恒定区(CH1、CH2和CH3)的另一个DNA分子,可以将编码V_H区的分离DNA转变为全长重链基因。人重链恒定区基因的序列是本领域已知的(参见,例如,Kabat,E.A.等,[上引文]),并且可以通过标准PCR扩增获得包括这些区域的DNA片段。重链恒定区可以是IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM或IgD恒定区。在一些实施方案中,重链恒定区选自IgG1同种型。对于Fab片段重链基因,V_H-编码DNA可以可操作地连接只编码重链CH1恒定区的另一个DNA分子。通过将V_L-编码DNA连接编码轻链恒定区CL的另一个DNA分子,可以将编码V_L区的分离DNA转变成全长轻链基因(以及Fab轻链基因)。人轻链恒定区基因的序列是本领域已知的(参见,例如,Kabat,E.A.等,[上引文]),并且可以通过标准PCR扩增获得包括这些区域的DNA片段。轻链恒定区可以是κ或λ恒定区。为了形成scFv基因,可以将V_H-和V_L-编码DNA片段可操作地连接编码柔性衔接物的另一个片段,例如,编码氨基酸序列(Gly4-Ser)₃的片段,使得可以作为连续单链蛋白质来表达V_H和V_L序列,其中V_L和V_H区通过柔性衔接物连接(Bird等,1988Science 242:423-426;Huston等,1988Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883;McCafferty等,1990Nature 348:552-554)。

[0220] 本发明单克隆抗体的产生

[0221] 可以通过各种技术,包括常规单克隆抗体方法,例如,Kohler和Milstein的标准体细胞杂交技术(1975Nature 256:495),来产生单克隆抗体(mAb)。许多用于生产单克隆抗体的技术可以使用,例如,B淋巴细胞的病毒或致癌转化。用于制备杂交瘤的动物系统是鼠系统。在鼠中产生杂交瘤是成熟确立的程序。用于分离用于融合的免疫脾细胞的免疫方案和技术是本领域已知的。融合配偶体(例如,鼠骨髓瘤细胞)和融合程序也是已知的。

[0222] 产生人单克隆抗体的杂交瘤的产生

[0223] 为了产生生产本发明的人单克隆抗体的杂交瘤,可以从免疫小鼠分离脾细胞和/或淋巴结细胞,并与合适的永生化细胞系(如小鼠骨髓瘤细胞系)融合。可以筛选所得到的杂交瘤用于抗原特异性抗体的生产。例如,可以使用50%PEG,将来自免疫小鼠的脾淋巴细胞的单细胞悬浮液与六分之一数量的P3X63-Ag8.653非分泌小鼠骨髓瘤细胞(ATCC,CRL 1580)融合。将细胞以大约2×145涂布于平底微滴定平板中,接着在含有20%胎牛克隆血清,18%“653”条件培养基,5%origen(IGEN),4mM L-谷氨酰胺,1mM丙酮酸钠,5mM HEPES,0.055mM 2-巯基乙醇,50单位/ml青霉素,50mg/ml链霉素,50mg/ml庆大霉素和1×HAT(Sigma;在融合后24小时添加HAT)的选择培养基中,孵育两周。大约两周后,可以在用HT替

代HAT的培养基中培养细胞。随后可以通过ELISA针对人单克隆IgM和IgG抗体筛选各孔。一旦出现大量杂交瘤生长,通常可以在10-14天后观察培养基。分泌抗体的杂交瘤可以再涂板,再次筛选,并且如果仍然是人IgG阳性的,可以通过有限稀释,将单克隆抗体亚克隆至少两次。随后可以将稳定的亚克隆在体外培养,以在组织培养基中产生少量抗体用于表征。为了纯化人单克隆抗体,可以将选定的杂交瘤在两升转瓶中生长,用于单克隆抗体纯化。可以将上清液过滤并浓缩,接着用蛋白A-琼脂糖(Pharmacia)进行亲和色谱。可以通过凝胶电泳和高性能液相色谱检查洗脱的IgG,以确保纯度。缓冲液可以换成PBS,并且可以使用1.43消光系数,通过OD₂₈₀测定浓度。可以将单克隆抗体等分,并储存在-80℃。

[0224] 生产单克隆抗体的转染瘤(transfectomas)的产生

[0225] 本发明的抗体也可以在宿主细胞转染瘤中产生,例如使用如本领域公知的重组DNA技术和基因转染方法的组合(例如,Morrison,S.(1985) Science 229:1202)。例如,为了表达抗体或其抗体片段,可以通过标准分子生物学技术(例如,使用表达目标抗体的杂交瘤,PCR扩增或cDNA克隆),获得编码部分或全长轻链和重链的DNA,并且可以将DNA插入表达载体中,使得基因可操作地连接转录和翻译控制序列。在本上下文内容中,术语“可操作地连接”用来表示抗体基因连接至载体中,使得载体内的转录和翻译控制序列起到其旨在调控抗体基因的转录和翻译的作用。选择表达载体和表达控制序列,与所用的表达宿主细胞相容。可以将抗体轻链基因和抗体重链基因插入分开的载体中,或更常见地,将两个基因插入相同表达载体中。通过标准方法,将抗体基因插入表达载体中(例如,连接抗体基因片段和载体上的互补限制性位点,或如果不存在限制性位点,进行钝末端连接)。通过将本文中所述抗体的轻链和重链可变区插入已经编码所需同种型的重链恒定区和轻链恒定区的表达载体中,使得V_H区段可操作地连接载体内的CH区段并且V_L区段可操作地连接载体内的CL区段,由此本文中所述抗体的轻链和重链可变区可以用于形成任何抗体同种型的全长抗体基因。另外地或替换地,重组表达载体可以编码有助于抗体链从宿主细胞分泌的信号肽。抗体链基因可以克隆至载体中,使得信号肽在框内连接至抗体链基因的氨基末端。信号肽可以是免疫球蛋白信号肽或异源信号肽(即,来自非免疫球蛋白蛋白的信号肽)。除了抗体链基因,本发明的重组表达载体还可以携带控制抗体链基因在宿主细胞中表达的调控序列。术语“调控序列”旨在包括启动子、增强子和其他控制抗体链基因的转录或翻译的表达控制元件(例如,多腺苷酸化信号)。这样的调控序列例如描述于Goeddel (Gene Expression Technology.Methods in Enzymology 185,Academic Press,San Diego,CA 1990)。本领域技术人员将认识到表达载体的设计,包括调控序列的选择,可以取决于如待转化的宿主细胞的选择、所需蛋白质的表达水平等因素。用于哺乳动物宿主细胞表达的调控序列包括指引哺乳动物细胞中高水平的蛋白质表达的病毒元件,如源自巨细胞病毒(CMA)、猿猴病毒40(SV40)、腺病毒(例如,腺病毒主要晚期启动子(AdMLP))和多瘤病毒的启动子和/或增强子。或者,可以使用非病毒调控序列,如泛素启动子或P-珠蛋白启动子。再有,调控元件可以由来自不同来源的序列组成,如SRa启动子系统,其含有来自SV40早期启动子的序列和1型人T细胞白血病病毒的长末端重复(Takebe,Y.等,1988Mol.Cell.Biol.8:466-472)。除了抗体链基因和调控序列,本发明的重组表达载体可以携带其他序列,如调控载体在宿主细胞中的复制的序列(例如,复制起点)和选择标记基因。选择标记基因有助于选择其中已经引入了载体的宿主细胞(参见,例如,美国专利No.4,399,216、4,634,665和5,179,017)。例如,通

常,选择标记基因赋予其中已经引入载体的宿主细胞对药物的抗性,如G418、潮霉素或氨甲喋呤。选择标记基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(用于dhfr-宿主细胞和氨甲喋呤选择/扩增中)和neo基因(用于G418选择)。因此,在另一个实施方案中,本发明涉及如上所述的克隆或表达载体,其包含SEQ ID NO:8、10、18、20、28、30、38、40、48、50、58、60、68、70、78、80、88、90、98、100、108、110、118或120中的一个或多个,或其编码至少一个CDR区的片段。对于轻链和重链的表达,通过标准技术,将编码重链和轻链的表达载体转染至宿主细胞中。术语“转染”的不同形式旨在包括各种通常用于将外源DNA引入原核或真核宿主细胞中的技术,例如,电穿孔、磷酸钙沉淀、DEAE-葡聚糖转染等。理论上可以在原核或真核宿主细胞中表达本发明的抗体。讨论在真核细胞(特别是哺乳动物宿主细胞)中的抗体表达,因为这样的真核细胞,并且特别是哺乳动物细胞,比原核细胞更可能装配和分泌正确折叠的和免疫学活性的抗体。已经报道了抗体基因的原核表达在生产高产量的活性抗体方面是无效的(Boss,M.A.和Wood,C.R.,1985Immunology Today 6:12-13)。用于表达本发明的重组抗体的哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(CHO细胞)(包括Urlaub和Chasin,1980Proc.Natl.Acad.Sci.USA77:4216-4220描述的dhfr-CHO细胞,与DHFR选择标记一起使用,例如,如R.J.Kaufman和P.A.Sharp,1982Mol.Biol.159:601-621中所述的)、NSO骨髓瘤细胞、COS细胞和SP2细胞。在一个实施方案中,宿主细胞是CHO K1PD细胞。特别地,对于与NSO骨髓瘤细胞一起使用,另一个表达系统是W087/04462、W089/01036和EP 338,841中显示的GS基因表达系统。在一个实施方案中,用于表达本发明的重组抗体的哺乳动物宿主细胞包括FUT8基因表达缺陷的哺乳动物细胞系,例如,如US6,946,292B2中所述的。因此,在一个方面中,本发明提供了包括一个或多个以上所述的或本文中公开的载体的宿主细胞。

[0226] 将编码抗体基因的重组表达载体引入哺乳动物宿主细胞中后,通过将宿主细胞培养足以允许抗体在宿主细胞中表达或抗体分泌至用于宿主细胞生长的细胞培养基中的时间段来生产抗体。可以使用标准蛋白质纯化方法,从培养基收集抗体。因此,本发明提供了一种用于生产本发明的TGFβ-2抗体或其功能性片段的方法,包括培养如上所述的宿主细胞并分离抗体或其功能性片段。

[0227] 药物组合物

[0228] 在另一个方面中,本发明提供了一种含有本公开的TGFβ-2抗体或其功能性片段的组合物,例如,药物组合物。在一个实施方案中,与药物学上可接受的载体一起配制组合物。本发明的药物组合物还可以在联合治疗中给药,即,组合其他药剂。例如,TGFβ-2抗体或其功能性片段可以组合至少一种肌肉质量/强度增强剂,例如,IGF-1或IGF-1变体、抗myostatin抗体、抗激活素抗体、myostatin前肽、结合ActRIIB但不激活其的myostatin诱饵蛋白、ActRIIB诱饵受体、β2激动剂、Ghrelin激动剂、SARM、GH激动剂/模拟物,或卵泡抑素(follistatin)。用本发明的TGFβ-2抗体或其功能性片段的治疗可以组合皮质类固醇、免疫抑制剂、抗细胞因子剂、抗癌剂;生长因子,如促红细胞生成素、G-CSF、GM-CSF或其他;用于治疗糖尿病的药物(包括胰岛素和口服降血糖药)、抗肺结核药和抗生素。组合可以包括小分子和生物分子药。

[0229] 本发明的药物组合物可以作为唯一活性剂或组合ActRIIB抗体、ActRIIA抗体、或ActRIIA和ActRIIB pan特异性抗体来给药。例如,本发明的药物可以组合如W02010125003中公开的ActRIIB抗体来使用。术语“药物学上可接受的”表示由联邦或州政府的管理机构

批准的或美国药典或其他公认用于动物并且更特别地用于人的药典中列出的。术语“载体”是指可以与治疗剂一起给药的稀释剂、助剂、赋形剂或溶媒。这样的药物载体可以是无菌液体,如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的那些,如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。合适的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、干脱脂奶、甘油、丙烯、甘醇、水、乙醇等。如果需要,组合物还可以含有少量润湿剂或乳化剂、或pH缓冲剂。这些组合物可以采用溶液、悬浮液、乳液、片剂、丸剂、胶囊、粉末、持续释放制剂等形式。可以使用传统的粘合剂和载体如甘油三酯,将组合物配制成栓剂。口服制剂可以包括标准载体,如药物级的甘露糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。合适的药物载体的实例描述于E.W.Martin的“Remington's Pharmaceutical Sciences”。在优选实施方案中,根据常规程序,将组合物配制成适用于静脉内施用于人的药物组合物。在需要的情况中,组合物还可以包括增溶剂和局部麻醉剂,如利多卡因以减轻注射部位的疼痛。在通过输注给药组合物的情况中,可以用含有无菌药物级水或盐水的输注瓶分配组合物。在通过注射给药组合物的情况中,可以提供注射用无菌水或盐水的安瓿,由此可以在给药前混合成分。药物学上可接受的载体包括生理学上相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂等。载体应当适用于静脉内、肌内、皮下、胃肠外、脊髓或表皮给药(例如,通过注射或输注)。根据给药途径,活性化合物,即,抗体、免疫缀合物或双特异性分子,可以包裹在材料中,以保护化合物免受酸或可能使化合物失活的其他天然条件的作用。本发明的药物组合物还可以包括药物学上可接受的抗氧化剂。药物学上可接受的抗氧化剂的实例包括:水溶性抗氧化剂,如抗坏血酸、盐酸半胱氨酸、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠等;油溶性抗氧化剂,如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基化羟基茴香醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚等;以及金属螯合剂,如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸等。

[0230] 合适的可以用于本发明的药物组合物中的水性和非水性载体的实例包括水、乙醇、多元醇(如甘油、丙二醇、聚乙二醇等),及其合适的混合物,植物油,如橄榄油,和可注射有机酯,如油酸乙酯。例如,通过使用包衣材料,如卵磷脂,在分散体的情况中通过维持所需的颗粒大小,以及通过使用表面活性剂,可以维持适当的流动性。

[0231] 这些组合物还可以含有助剂,如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。可以通过灭菌程序,上引文,以及通过包含各种杀细菌和杀真菌剂,例如,对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚山梨酸等,可以确保防止微生物的存在。还可能希望在组合物中包括等渗剂,如糖、氯化钠等。此外,通过包括延迟吸收的试剂,如单硬脂酸铝和明胶,可以实现注射药物形式的延长吸收。药物学上可接受的载体包括无菌水溶液或分散体,以及用于无菌注射液或分散体的现场制备的无菌粉。这些介质和试剂用于药物活性物质的用途是本领域已知的。除非与活性化合物不相容,否则任何常规介质或试剂均可以考虑在本发明的药物组合物中使用。补充活性化合物也可以掺入组合物中。治疗组合物通常在制造和储存条件下必须是无菌的并且是稳定的。组合物可以配制成溶液、微乳液、脂质体或其他适于高药物浓度的有序结构。载体可以是含有例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)及其合适的混合物的溶剂或分散介质。可以维持适当的流动性,例如,通过使用包衣如卵磷脂,在分散体的情况中通过维持所需的颗粒大小,以及通过使用表面活性剂。在许多情况中,可以在组

合物中包括等渗剂,例如,糖、多元醇(如甘露醇、山梨醇)或氯化钠。可以通过在组合物中包括延迟吸收的试剂,例如,单硬脂酸盐和明胶,来实现可注射组合物延长的吸收。可以通过将所需量的活性化合物掺入合适的溶剂中,并按照规定,使用上述的一种试剂或试剂的组合,接着除菌微过滤,来制备无菌注射液。通常,通过将活性化合物掺入含有基础分散介质和来自上述的所需其他试剂的无菌溶媒中,来制备分散体。在用于制备无菌注射液的无菌粉末的情况,制备方法可以是真空干燥和冷冻干燥(冻干),从之前无菌过滤的溶液产生活性剂加任何其他所需试剂的粉末。因此,本发明提供了包括本公开的TGFβ-2抗体或其功能性片段,并进一步包含药物学上可接受的稀释剂或载体的药物组合物。

[0232] 可以与载体材料混合来产生单剂型的活性剂量将根据待治疗的受试者和特定的给药方式而改变。可以与载体材料混合来产生单剂型的活性剂量通常将是产生治疗作用的组合物的量。通常,在百分之一百中,该量的范围为约0.0001%至约15%活性剂,约0.01%至约10%,或约0.1%至约5%活性剂,与药物学上可接受的载体混合。可以调节剂量方案来提供最佳的所需反应(例如,治疗反应)。例如,可以施用单次快速输注,可以在一定时间内给药几个分剂量,或可以按照治疗情况的紧急性所指示的,按比例降低或提高剂量。尤其有利的是,为了易于给药和剂量均一,配制剂量单位形式的胃肠外组合物。如本文中使用的剂量单位形式是指,适宜作为单个剂量用于待治疗受试者的物理上分开的单位;每个单位含有预定量的经计算可以产生所需治疗作用的活性化合物以及所需的药物载体。本发明的剂量单位形式的规格可以决定于并直接取决于,活性化合物的独特特征和待实现的特定治疗效果、以及在复合这样的化合物用于治疗时本领域固有的限制、个体的敏感性。本公开内容的TGFβ-2抗体或其功能性片段或包含所述TGFβ-2抗体或其功能性片段的组合物的治疗有效量,可以为约0.001至150mg/kg,或0.01至30mg/kg,并且更常见地是0.1至10mg/kg宿主体重。本领域技术人员知晓如何鉴定合适的有效剂量,其将根据给药途径而改变(例如,静脉内或皮下)。示例性治疗方案可以为每天给药一次,每周一次,每两周一次,每三周一次,每四周一次或一个月一次。这样的给药可以通过静脉内或皮下进行。用于本公开内容的TGFβ-2抗体或其功能性片段的给药方案包括,通过静脉内给药0.01mg/kg体重或0.1mg/kg体重或0.5mg/kg体重或1mg/kg体重或3mg/kg体重或10mg/kg体重。

[0233] 或者,组合物可以是持续释放制剂,在该情况中,需要较少频率的给药。剂量和频率根据抗体在患者中的半衰期而改变。给药剂量和频率可以根据治疗是预防性的或是治疗性的而改变。在预防性施用中,在长时段内以相对不太频繁的间隔给药相对低的剂量。一些患者在剩余的生命中持续接受治疗。在治疗性施用中,有时候需要以相对短的间隔应用相对高的剂量,直至疾病进展减缓或终止或直至患者显示出部分或完全的疾病症状改善。此后,可以给予患者预防性方案。本发明的药物组合物中的活性剂的实际剂量水平可以改变,以获得针对特定患者、组合物和给药方式能有效实现所需治疗反应的活性剂量,而对患者是无毒的。选定的剂量水平将取决于各种药物动力学因素,包括所用的本发明特定组合物或其酯、盐或酰胺的活性,给药途径,给药时间,待使用的特定化合物的排泄速率,治疗的持续时间,与特定组合物组合使用的其他药物、化合物和/或材料,待治疗患者的年龄、性别、体重、状况、整体健康和之前的医疗史,以及医学领域公知的其他因素。示例性治疗方案可以是每周给药一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、一个月一次、每2个月一次、或每三至6个月一次。或者,抗体可以约一年给药一次或只给药一次。这样的给药可以通过静

脉内或皮下进行。用于本发明的抗TGFβ-2抗体的剂量方案可以包括通过静脉内给药的0.1mg/kg体重或1mg/kg体重或3mg/kg体重,使用以下示例性的给药时间表中的一种来给予抗体:每四周给六剂,随后每三个月;每三周;一次3mg/kg体重,接着每三周1mg/kg体重。包括在本发明组合物中的本公开TGFβ-2抗体或其功能性片段的治疗有效剂量的施用可以导致疾病症状严重性降低、无疾病症状时间段的频率和持续时间提高,或预防由于疾病折磨引起的损伤或无能力,即,手掌和手指之间强纤维组织的减少(永久地破坏Dupuytren病患者中精细运动能力)。患者可以接受有效量的多肽活性成分,即,足以检测、治疗、改善或预防所讨论疾病或病症的量。治疗效果还可以包括身体症状的减少。针对任何特定受试者,治疗性蛋白的最佳有效量和浓度将取决于各种因素,包括患者年龄大小、健康和/或性别,病症的性质和程度,特定治疗蛋白的活性,身体清除治疗蛋白的速率,以及还取决于联合治疗蛋白给药的任何可能的其他治疗剂。针对给定情况,递送的有效量可以通过常规试验来确定并且在临床医生的判断中。剂量可以根据单剂量时间表或多剂量时间表进行。

[0234] 可以使用本领域已知的多种方法中的一种或多种,通过一种或多种给药途径来给药本发明的组合物。如本领域技术人员将认识到的,给药途径和/或给药方式将根据所需的结果而改变。用于本发明的治疗蛋白的给药途径包括静脉内、肌内、真皮内、腹膜内、皮下、脊髓或其他胃肠外给药途径,例如,通过注射或输注。如本文中使用的短语“胃肠外给药”表示除了肠道和局部给药以外的给药方式,通常是通过注射,并且包括,不限于,静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眶内,心内,皮内,腹膜内,经气管,皮下(subcutaneous),皮下(subcuticular),关节内,囊下(subcapsular),蛛网膜下,椎管内,硬膜外和胸腔内注射和输注。在一个实施方案中,静脉内给药包含抗体的组合物。在另一个实施方案中,皮下给药抗体。或者,可以通过非胃肠外途径,如局部、表皮或粘膜给药途径,例如,鼻内、经口、阴道、直肠、舌下或局部,来施用包含在本发明组合物中的本公开TGFβ-2抗体或其功能性片段。

[0235] 可以用保护化合物免于立即释放的载体来制备活性化合物,如受控释放制剂,包括植入物、经皮贴剂和微胶囊化递送系统。可以使用生物可降解的、生物相容性聚合物,如乙烯醋酸乙烯酯、聚酐、聚乙醇酸、胶原蛋白、聚原酸酯和聚乳酸。用于制备此类制剂的许多方法是专利方法或通常是本领域技术人员已知的。参见,例如,Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems,J.R.Robinson编辑,Marcel Dekker,Inc.,New York,1978。

[0236] 可以用本领域已知的医疗设备来施用治疗性组合物。例如,在一个实施方案中,可以用无针皮下注射装置来施用本发明的治疗组合物,如美国专利No.5,399,163;5,383,851;5,312,335;5,064,413;4,941,880;4,790,824或4,596,556中所示的装置。可以用于本发明的公知的植入物和模块的实例包括:美国专利No.4,487,603,其显示了用于以受控速率分配药物的可植入微输注泵;美国专利No.4,486,194,其显示了用于通过皮肤施用药物的治疗装置;美国专利No.4,447,233,其显示了用于以精确的输注速率递送药物的药物输注泵;美国专利No.4,447,224,其显示了用于持续药物递送的可变流动的可植入输注装置;美国专利No.4,439,196,其显示了具有多室区隔的渗透药物递送系统;和美国专利No.4,475,196,其显示了渗透药物递送系统。许多其他这样的植入物、递送系统和模块是本领域技术人员已知的并且包括由MicroCHIPSTM(Bedford,MA)制造的那些。

[0237] 在某些实施方案中,可以配制包含本公开的TGFβ-2抗体或其功能性片段的组合物

以确保在体内正确的分布。例如,血脑屏障(BBB)排除许多高亲水性化合物。为了确保本发明的治疗化合物穿过BBB(如果需要);例如,可以将其配制在脂质体中。对于制造脂质体的方法,参见,例如,美国专利4,522,811;5,374,548;和5,399,331。脂质体可以包括一个或多个选择性地运送至特定细胞或器官中的部分,由此增强靶向的药物递送(参见,例如,V.V.Ranade,1989 J.Clin Pharmacol.29:685)。示例性靶向部分包括叶酸或生物素(参见,例如,美国专利5,416,016);甘露糖苷(Umezawa等,1988 Biochem.Biophys.Res.Commun.153:1038);抗体(P.G.Bloeman等,1995 FEBS Lett.357:140;M.Owais等,1995 Antimicrob.Agents Chemothor.39:180);表面活性剂蛋白A受体(Briscoe等,1995 Am.J.Physiol.1233:134);p120(Schreier等,1994 J.Biol.Chem.269:9090);还可以参见K.Keinanen;M.L.Laukkanen,1994 FEBS Lett.346:123;J.J.Killion;I.J.Fidler,1994 Immunomethods 4:273。

[0238] 患者组

[0239] 可以得益于所提出的治疗的患者包括正从急性或严重疾病恢复的需要深度护理或长时间住院(超过1周)的患者;患有肌肉减少症的虚弱老年患者;正从严重创伤恢复的年轻成年人,如机动车事故、严重烧伤、打斗伤害和其他创伤性损伤;患有已知引起以上列出的恶病质的慢性疾病的患者;和患有以上列出的肌肉疾病的患者。由于肌肉损失是大部分严重或长期疾病的常见并发症,预期肌肉萎缩的逆转将加速经历肌肉损失(不管损失的根源)的患者的恢复和返回功能性。此外,具有病理状态的患者,如Dupuytren病(手的良性纤维增生性疾病,特征在于胞外基质(ECM)蛋白的过量产生,其在手掌和手指之间形成强的纤维组织,永久性地破坏精细运动能力)、纤维化、疤痕形成、癌症、特定的病症,如Madfan相关病症、大疱性表皮松解症,特别是营养不良性大疱性表皮松解症(dystrophic Epidermolysis bullosa)或交界性大疱性表皮松解症(junctional Epidermolysis bullosa)。

[0240] 小梁切除术和皮肤系统性硬化症可以得益于所提出的治疗。另外,患有青光眼、年龄相关性黄斑变性、糖尿病性视网膜病和fuchs营养不良的患者可以得益于所提出的治疗。此外,患有过度增生性疾病的患者,如Morbus Ledderhose、Peyronies病、指节垫(Knuckle Pads)、冻肩(Frozen shoulder)、腕管综合征手背部的纤维瘤病(Fibromatosis)、结节性筋膜炎(Fasciitis nodularis)、侵袭性纤维瘤病(Aggressive fibromatosis)、振动性白指活动指(Vibration white finger Moving fingers)(也称为手-臂振动综合征(HAVS))、跖部纤维瘤病(Plantar fibromatosis)和Garrods垫,可以得益于所提出的治疗。纤维化可以在体内的许多组织中产生,通常是作为炎症或损伤的结果,并且实例包括:肺、肝、心脏、膝、肩、其他关节。因此,患有退行性和纤维化疾病的患者,如硬皮病、肥厚性疤痕和疤痕瘤(Keloids)、特发性肺纤维化、心肌纤维化(也称为纤维性心肌炎)、动脉纤维化、心内膜心肌纤维化、肝纤维化(例如,NASH)、肺纤维化、肾纤维化(例如,Alport综合征)、囊性纤维化、系统性硬化病、原发性骨髓纤维化、关节纤维化、动脉粥样硬化和纵隔纤维化(mediastinal fibrosis),可以得益于所提出的治疗。

[0241] 本发明的用途和方法

[0242] 本发明的抗体具有治疗用途。例如,这些分子可以施用于受试者并且可以用于治疗疾病、预防和用于延迟疾病症状发作。本发明提供了本发明的多肽、核酸或药物组合物用

于治疗或作为药物。本发明进一步提供本发明的多肽、核酸或药物组合物用于病理病症的治疗。本发明进一步提供了本发明的多肽、核酸或药物组合物在制造用于治疗病理病症的药物中的用途。本发明进一步提供了治疗患有病理病症的患者的方法,包括将治疗有效量的本发明的多肽、核酸或药物组合物施用于所述患者。如本文中使用的术语“受试者”可以是哺乳动物,例如,灵长类,优选高等灵长类,例如,人(例如,患有本文中所述病症或处于患有本文中所述病症的风险中的患者)。在一个实施方案中,受试者是人受试者,例如,患有特征在于异常的TGF β -2功能的病症或病况的人患者。本发明提供了治疗患有病理病症的患者的方法,包括给药治疗有效量的本公开内容的TGF β 2抗体或其功能性片段。因此,本发明提供了治疗患有病理病症的患者的方法,包括给药治疗有效量的抗体MOR14799、MOR14800、MOR14809、MOR14797、MOR14805或MOR14787。本发明还提供了本公开TGF β 2抗体或其功能性片段用于治疗。因此,本发明提供了抗体MOR14799、MOR14800、MOR14809、MOR14797、MOR14805或MOR14787用于治疗中。如本文中使用的,“病理病症”包括,但不限于,肌肉骨骼疾病或病症,肌肉萎缩,肌肉营养不良,Dupuytren病,肌肉减少症,创伤性损伤,已知引起恶病质(例如,癌症)的慢性病,病理状态,如纤维化,Marfan相关病症,大疱性表皮松解症,特别是营养不良性大疱性表皮松解症或交界性大疱性表皮松解症,小梁切除术,Loeys-Dietz-综合征,皮肤系统性硬化病,过度增生性病症,如Morbus Ledderhose、Peyronies病、指节垫(Knuckle Pads)、冻肩(Frozen shoulder)、腕管综合征手背部的纤维瘤病(Fibromatosis)、结节性筋膜炎(Fasciitis nodularis)、侵袭性纤维瘤病(Aggressive fibromatosis)、振动性白指活动指(Vibration white finger Moving fingers)、跖部纤维瘤病(Plantar fibromatosis)和Garrods垫可以得益于所提出的治疗,以及退行性和纤维化疾病,如硬皮病、肥厚性疤痕和疤痕瘤、特发性肺纤维化、心肌纤维化(也称为纤维性心肌炎)、肝纤维化(例如,NASH)、肺纤维化、肾纤维化(例如,Alport)、囊性纤维化、系统性硬化病、原发性骨髓纤维化、动脉粥样硬化、青光眼、年龄相关性黄斑变性、糖尿病性视网膜病和fuchs营养不良。大疱性表皮松解症是指任何形式的大疱性表皮松解症,但特别是指营养不良性大疱性表皮松解症和交界性大疱性表皮松解症。

[0243] 存在许多肌肉萎缩的原因,包括由糖皮质激素(如,氢化可的松、地塞米松、倍他米松、强的松、甲基泼尼松龙或泼尼松龙)治疗引起。肌肉萎缩也可以是由于神经创伤引起的去神经支配的结果、或退行性、代谢性或炎性神经病(例如,Guillain-Barré综合征、外周神经病或暴露于环境毒素或药物)的结果。此外,肌肉萎缩可以是肌病的结果,如肌强直;先天性肌病,包括nemalene肌病,多轴空/微轴空肌病和肌管(中央核)肌病;线粒体肌病;家族性周期性麻痹;炎性肌病;代谢性肌病,如由糖原或脂质贮积病引起的;皮肌炎;多肌炎;包涵体肌炎;骨化性肌炎;横纹肌溶解和myoglobinurias。肌病可以由肌营养不良综合征引起的,如Duchenne型、Becker型、肌强直型、面肩肱型(fascioscapulohumeral),Emery-Dreifuss型,眼咽型(oculopharyngeal),肩肱型(scapulohumeral),肢带型(limb girdle),Fukuyama型,先天性肌营养不良(congenital muscular dystrophy),或遗传性远端型肌病(hereditary distal myopathy)。此外,肌肉萎缩可以是成人运动神经元病引起的,如肌萎缩侧索硬化;婴儿型脊髓性肌萎缩,青少年脊髓性肌萎缩,具有多病灶传导阻滞的自身免疫性运动神经病,由于中风或脊髓损伤引起的瘫痪,由于创伤引起的骨骼固定,长期卧床,有意识不活动,无意识不活动,代谢性应激或营养不足,癌症,AIDS,禁食,甲状腺或

肾上腺或垂体腺病症,糖尿病,良性先天性肌张力降低,中央轴空病,肝病(实例如纤维化、肝硬化)、脓毒症,肾衰竭,充血性心力衰竭,衰老,太空旅行或在零重力环境中消耗时间。在本公开内容的另一个实施方案中,本发明的药物组合物可以用于治疗以上列出的病理病症。因此,本发明的药物组合物可以用于治疗Dupuytren病,或用于治疗肌肉营养不良,或用于治疗肌肉减少症,或用于治疗纤维化病症,或用于治疗Marfan相关病症,或用于治疗大疱性表皮松解症,特别是营养不良性大疱性表皮松解症或交界性大疱性表皮松解症,Loeys-Dietz-综合征,或用于治疗小梁切除术,或用于治疗皮肤全身性硬化病。在一个实施方案中,本发明提供了抗体MOR14799、MOR14800、MOR14809、MOR14797、MOR14805或MOR14787,用于治疗Dupuytren's病,或用于治疗肌肉营养不良或治疗肌肉减少症,或治疗纤维化病症,或治疗Marfan相关病症,或治疗大疱性表皮松解症,特别是营养不良性大疱性表皮松解症或交界性大疱性表皮松解症,或治疗小梁切除术,或治疗皮肤全身性硬化病或治疗Loeys-Dietz-综合征。在特定实施方案中,包含选自MOR14799、MOR14800、MOR14809、MOR14797、MOR14805和MOR14787的抗体的本发明药物组合物,可以用于治疗Dupuytren's病或治疗Loeys-Dietz-综合征。在本公开内容的另一个特定实施方案中,包含选自MOR14799、MOR14800、MOR14809、MOR14797、MOR14805和MOR14787的抗体的本发明药物组合物,可以用于治疗肌肉营养不良。其它病症包括恶病质,与类风湿性关节炎相关的恶病质、和与癌症相关的恶病质。在本公开内容的另一个实施方案中,涉及治疗肌肉病症的方法,所述方法包括施用如上所述的治疗有效量的本发明的抗体或其功能性片段。因此,本公开内容涉及治疗肌肉病症的方法,所述方法包括给药治疗有效量的选自MOR14799、MOR14800、MOR14809、MOR14797、MOR14805和MOR14787的抗体。使用所公开的多肽或包括多肽的组合物来提高肌肉质量的治疗需求,可以由上述病症中的一种引起,特别是作为肌肉骨骼病或病症的结果,如肌肉萎缩,其中肌肉病症是选自肥胖相关的肌肉减少症、肌肉减少症和糖尿病相关的肌肉萎缩的肌肉萎缩。

[0244] 此外,本发明涉及本发明的抗体或其功能性片段,特别是选自MOR14799、MOR14800、MOR14809、MOR14797、MOR14805和MOR14787的抗体,用于制造用于治疗Dupuytren's病、Marfan相关病症或Marfan's病、大疱性表皮松解症、小梁切除术、Loeys-Dietz-综合征、皮肤全身性硬化病或肌肉骨骼病或病症的药物的用途。

[0245] TGF- β 属于结构上相关的细胞因子的大家族,该家族包括,例如,骨形态生成蛋白(BMP)、生长和分化因子、激活素和抑制素。

[0246] 在正常状况下,TGF- β 维持内环境稳定,限制上皮、内皮、神经元和造血细胞系的生长,例如,通过诱导抗增殖和凋亡反应。规范和非规范信号途径参与对TGF- β 的细胞应答。TGF- β /Smad规范途径的激活可以介导TGF- β 的抗增殖作用。非规范TGF- β 途径可以激活另外的胞内途径,例如,有丝分裂原激活的蛋白激酶(MAPK)、磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B、Rho-样GTP酶(Tian等,Cell Signal.2011;23(6):951-62;Blobe等,N Engl J Med.2000;342(18):1350-8),由此调节上皮至间充质转化(EMT)和/或细胞运动。

[0247] TGF- β 信号途径的改变与人疾病相关,例如,癌症、心血管病、纤维化、生殖病症和伤口愈合。不希望受到理论的束缚,认为TGF- β 在癌症中的作用取决于疾病背景(例如,肿瘤阶段和遗传改变)和/或细胞环境。例如,在癌症晚期,TGF- β 可以调节癌症相关的过程,例如,通过促进肿瘤生长(例如,诱导EMT)、阻断抗肿瘤免疫应答、提高肿瘤相关的纤维化、或

增强血管生成(Wakefield和Hill Nat Rev Cancer.2013;13(5):328-41)。

[0248] 临床前证据表明TGF- β 在免疫调节中起着重要作用(Wojtowicz-Praga Invest New Drugs.2003;21(1):21-32;Yang等,Trends Immunol.2010;31(6):220-7)。TGF- β 可以通过几种机制下调宿主免疫应答,例如,使T-辅助细胞平衡移向Th2免疫表型;抑制抗肿瘤Th1型应答和M1-型巨噬细胞;遏制细胞毒性CD8+T淋巴细胞(CTL)、NK淋巴细胞和树突细胞功能,产生CD4+CD25+T调节细胞;或促进具有促肿瘤活性的M2-型巨噬细胞(通过分泌免疫抑制性细胞因子(例如,IL10或VEGF)、促炎性细胞因子(例如,IL6、TNF α 或IL1)和产生具有遗传毒性作用的反应性氧物质(ROS)介导)(Yang等,Trends Immunol.2010;31(6):220-7;Truty和Urrutia Pancreatology.2007;7(5-6):423-35;Achyt等,Gastroenterology.2011;141(4):1167-78)。

[0249] 不希望受到理论的束缚,认为对PD-1免疫治疗的抵抗与转录标签的存在相关,所述转录标签包括例如与TGF- β 信号和TGF- β 依赖性过程(例如,伤口愈合或血管生成)相关的基因(Hugo等,Cell.2016;165(1):35-44)。TGF- β 阻断可以延伸抑制PD-1/PD-L1轴的疗法的治疗窗口。TGF- β 抑制剂可以影响PD-1免疫治疗的临床益处,例如,通过调节肿瘤微环境,例如,血管生成、纤维化、或影响效应子T细胞的募集的因素(Yang等,Trends Immunol.2010;31(6):220-7;Wakefield和Hill Nat Rev Cancer.2013;13(5):328-41;Truty和Urrutia Pancreatology.2007;7(5-6):423-35)。

[0250] 不希望受到理论的束缚,还认为抗肿瘤免疫周期的多个元素表达PD-1和TGF- β 受体两者,并且PD-1和TGF- β 受体很可能传播非冗余细胞信号。例如,在原位(autochthonous)前列腺癌的小鼠模型中,使用显性负向形式的TGFBR1,或消除T细胞中的TGF- β 产生,可以延迟肿瘤生长(Donkor等,Immunity.2011;35(1):123-34;Diener等,Lab Invest.2009;89(2):142-51)。在鼠前列腺(TRAMP)小鼠的转基因腺癌中的研究表明,阻断过继转移的T细胞中的TGF- β 信号可以增加这些T细胞的持久性和抗肿瘤活性(Chou等,J Immunol.2012;189(8):3936-46)。转移的T细胞的抗肿瘤活性随着时间降低,部分是由于肿瘤浸润性淋巴细胞中的PD-1上调,这支持本文中所述的PD-1和TGF- β 抑制的组合。考虑到T-细胞(Treg)的PD-1高表达水平及其对TGF- β 刺激的应答性,使用抗PD-1或TGF- β 的中和抗体也可以影响调节T-细胞(Treg)(Riella等,Am J Transplant.2012;12(10):2575-87),这支持通过组合PD-1和TGF- β 的抑制来治疗癌症,例如,通过增强对Treg的分化和功能的调节。

[0251] 不希望受到理论的束缚,认为癌症可以使用TGF- β 来逃逸免疫监视,以促进肿瘤生长和转移进展。例如,在某些晚期癌症中,高水平的TGF- β 与肿瘤侵袭性和差的预后相关,并且TGF- β 途径可以促进癌细胞移动性、侵袭、EMT或干细胞表型中的一种或多种。在某些患者中,通过癌细胞和白细胞群介导的免疫调节(例如,通过各种细胞表达的分或泌的分子,例如,IL-10或TGF- β)可能限制对作为单一治疗的检查点抑制剂的应答。在某些实施方案中,抑制TGF- β 与检查点抑制剂(例如,PD-1的抑制剂)组合,以治疗对检查点抑制剂(例如,抗PD-1)单一治疗没有应答或应答差的癌症,例如,胰腺癌或结直肠癌(例如,微卫星稳定结直肠癌(MSS-CRC))。在其他实施方案中,组合使用TGF- β 抑制和检查点抑制剂(例如,PD-1的抑制剂),来治疗显示出高水平的效应T细胞浸润的癌症,例如,肺癌(例如,非小细胞肺癌)、乳腺癌(例如,三阴性乳癌)、肝癌(例如,肝细胞癌)、前列腺癌或肾癌(例如,透明细胞肾细胞癌)。在一个实施方案中,本公开内容涉及治疗受试者癌症的方法,包括将TGF- β 2抗体和PD-

1抑制剂(例如,抗PD-1抗体)的组合施用于受试者。在一个实施方案中,所述组合包括本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段和PD-1的抑制剂(例如,抗PD-1抗体)。在一个实施方案中,以0.1mg/kg至15mg/kg(例如,0.3mg/kg至12mg/kg或1mg/kg至6mg,例如,约0.1mg/kg, 0.3mg/kg, 1mg/kg, 3mg/kg, 6mg/kg, 12mg/kg或15mg/kg)的剂量,给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段,例如,每三周一次,例如,静脉内给药,并且以50mg至500mg的剂量(例如,100mg至400mg,例如,以约100mg, 200mg, 300mg或400mg的剂量)给药能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白的抗体,所述抗体包括:包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VL,例如,每3周一次或每4周一次,例如,通过静脉内输注给药。在一些实施方案中,以约100mg至300mg的剂量(例如,约100mg, 200mg或300mg的剂量)给药能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白的抗体,所述抗体包括:包含包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VL,例如,每3周一次,例如,通过静脉内输注给药。

[0252] 在一些实施方案中,以约0.1mg/kg或0.3mg/kg的剂量给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段,例如,每3周一次,例如,通过静脉内输注给药;并且以约100mg的剂量给药能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH(VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL(VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列)的抗体,例如,每3周一次,例如,通过静脉内输注给药。在一些实施方案中,以约0.3mg/kg的剂量给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段,例如,每3周一次,例如,通过静脉内输注给药;并且以约100mg或300mg的剂量给药能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH(VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL(VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列)的抗体,例如,每3周一次,例如,通过静脉内输注给药。在一些实施方案中,以约1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、12mg/kg或15mg/kg的剂量给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段,例如,每3周一次,例如,通过静脉内输注给药;并且以约300mg的剂量给药能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH(VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL(VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列)的抗体,例如,每3周一次,例如,通过静脉内输注给药。

[0253] 在一些实施方案中,以约0.1mg至0.2mg的剂量(例如,约0.1mg/kg) 给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药;并且以约50mg至200mg的剂量(例如,约100mg) 给药能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH(VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL(VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列)的抗体,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药。

[0254] 在一些实施方案中,以约0.2mg至0.5mg的剂量(例如,约0.3mg/kg) 给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药;并且以约50mg至200mg的剂量(例如,约100mg) 给药能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH(VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL(VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列)的抗体,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药。

[0255] 在一些实施方案中,以约0.2mg至0.5mg的剂量(例如,约0.3mg/kg) 给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药;并且以约200mg至400mg的剂量(例如,约300mg) 给药能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH(VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL(VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列)的抗体,

例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药。

[0256] 在一些实施方案中,以约0.5mg至2mg的剂量(例如,约1mg/kg)给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药;并且以约200mg至400mg的剂量(例如,约300mg)给药能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH (VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL (VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列) 的抗体,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药。

[0257] 在一些实施方案中,以约2mg至5mg的剂量(例如,约3mg/kg)给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药;并且以约200mg至400mg的剂量(例如,约300mg)给药能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH (VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL (VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列) 的抗体,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药。

[0258] 在一些实施方案中,以约5mg至10mg的剂量(例如,约6mg/kg)给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药;并且以约200mg至400mg的剂量(例如,约300mg)给药能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH (VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL (VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列) 的抗体,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药。

[0259] 在一些实施方案中,以约10mg至15mg的剂量(例如,约12mg/kg)给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药;并且以约200mg至400mg的剂量(例如,约300mg)给药能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH (VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL (VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列) 的抗体,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药。

[0260] 在一些实施方案中,以约10mg至20mg的剂量(例如,约15mg/kg)给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药;并且以约200mg至400mg的剂量(例如,约300mg)给药能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH (VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL (VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列) 的抗体,例如,每三周一次,例如,通过静脉内输注给药。

[0261] 在一些实施方案中,在给药PD-1抑制剂(例如,能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH (VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL (VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列) 的抗体) 之前,给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段。在其他实施方案中,在给药PD-1抑制剂(例如,能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH (VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL (VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列) 的抗体) 之后,给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段。在某些实施方案中,分开给药本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段和PD-1抑制剂(例如,能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH (VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL (VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列) 的抗体),在两次给药之间至少30分钟间隔(例如,至少1、1.5或2小时)。

[0262] 在一个实施方案中,本文中公开的TGF- β 2抗体或其功能性片段,组合能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH (VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL (VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列) 的抗体,进行给药,来治疗胰腺癌、结直肠癌(例如,微卫星稳定性结直肠癌(MSS-CRC))、肺癌(例如,非小细胞肺癌)、乳癌(例如,三阴性乳癌)、肝癌(例如,肝

细胞癌)、前列腺癌或肾癌(例如,透明细胞肾细胞癌)。

[0263] 在一个实施方案中,与能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH (VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL (VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列) 的抗体组合给药的TGF- β 2抗体或其功能性片段,是抗体MOR14799、MOR14800、MOR14809、MOR14797、MOR14805或MOR14787。在一个实施方案中,与能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白且包括VH (VH包括SEQ ID NO:159的氨基酸序列) 和VL (VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列) 的抗体组合给药的TGF- β 2抗体或其功能性片段,是抗体MOR14797。

[0264] 癌症可以是例如本文中所述的癌症,如肺癌(鳞状)、肺癌(腺癌)、头颈癌、宫颈癌(鳞状)、胃癌、甲状腺癌、皮肤癌、黑素瘤、鼻咽癌(例如,分化或未分化转移的或局部复发的鼻咽癌)、肾癌、神经内分泌肿瘤(NET)、卵巢癌、输卵管癌、结直肠癌或乳癌。在某些实施方案中,癌症是皮肤癌,例如,Merkel细胞癌或黑素瘤。在一个实施方案中,癌症是Merkel细胞癌。在其他实施方案中,癌症是黑素瘤。在其他实施方案中,癌症是乳癌,例如,三阴性乳癌(TNBC) 或HER2-阴性乳癌。在其他实施方案中,癌症是肾癌,例如,肾细胞癌(例如,透明细胞肾细胞癌(CCRCC) 或非透明细胞肾细胞癌(nccRCC))。在其他实施方案中,癌症是甲状腺癌,例如,间变性甲状腺癌(ATC)。在其他实施方案中,癌症是神经内分泌肿瘤(NET),例如,非典型肺类癌,或胰腺、胃肠(GI) 道或肺中的NET。在某些实施方案中,癌症是肺癌,例如,非小细胞肺癌(NSCLC) (例如,鳞状NSCLC或非鳞状NSCLC)。在某些实施方案中,癌症是卵巢癌。在某些实施方案中,癌症是输卵管癌。在某些实施方案中,癌症是结直肠癌(CRC) (例如,微卫星不稳定性-高结直肠癌(MSI-高CRC) 或微卫星稳定性结直肠癌(MSS CRC))。

[0265] 在另一个方面中,提供了治疗受试者(例如,减轻或改善) 过度增生性病症或病症(例如,受试者中的癌症),例如,实体肿瘤、血液学癌症、软组织肿瘤或转移性病灶,的方法。所述方法包括将本文中公开的一种或多种TGF- β 2抗体/PD-1抗体组合施用于受试者。

[0266] 以下方面中描述了本公开内容的某些实施方案:

[0267] 50. 一种治疗癌症的方法,包括以有效治疗癌症的量向受试者施用人单克隆抗TGF- β 2抗体和能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白的抗体分子,所述人单克隆抗TGF- β 2抗体包含

[0268] (a) SEQ ID NO:7的可变重链序列和SEQ ID NO:17的可变轻链序列;

[0269] (b) SEQ ID NO:27的可变重链序列和SEQ ID NO:37的可变轻链序列;

[0270] (c) SEQ ID NO:47的可变重链序列和SEQ ID NO:57的可变轻链序列;

[0271] (d) SEQ ID NO:67的可变重链序列和SEQ ID NO:77的可变轻链序列;

[0272] (e) SEQ ID NO:87的可变重链序列和SEQ ID NO:97的可变轻链序列;或

[0273] (f) SEQ ID NO:107的可变重链序列和SEQ ID NO:117的可变轻链序列;

[0274] 其中能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白的抗体分子包含重链可变区(VH) 和轻链可变区(VL),重链可变区(VH) 包含SEQ ID NO:153的VHCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:155的VHCDR3氨基酸序列;和轻链可变区(VL) 包含SEQ ID NO:163的VLCDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:164的VLCDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:165的VLCDR3氨基酸序列。

[0275] 51. 方面50的方法,其中能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白的抗体分子包含VH和VL,VH包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列和VL包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列。

[0276] 52.方面50或51的方法,其中能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白的抗体分子包含重链和轻链,重链包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列和轻链包含SEQ ID NO:171的氨基酸序列。

[0277] 53.方面50的方法,其中能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白的抗体分子包含VH和VL,VH包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列和VL包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列。

[0278] 54.方面50或53的方法,其中能够结合人程序化死亡-1 (PD-1) 蛋白的抗体分子包含重链和轻链,重链包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列和轻链包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列。

[0279] 示例性PD-1抑制剂

[0280] 在一个实施方案中,PD-1抑制剂是抗PD-1抗体分子。在一个实施方案中,PD-1抑制剂是2015年7月30日公开的发明名称为“PD-1的抗体分子及其用途”的US 2015/0210769中所述的抗PD-1抗体分子,将该文献全部按引用并入。

[0281] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包含来自如下重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个互补决定区 (CDR) (或总地全部CDR),其中所述重链和轻链可变区包含序列表中所示的氨基酸序列(例如,序列表中公开的BAP049-Clone-E或BAP049-Clone-B的重链和轻链可变区序列)或由序列表中所示的核苷酸序列编码。在一些实施方案中,CDR是根据Kabat定义(例如,如序列表中列出的)。在一些实施方案中,CDR是根据Chothia定义(例如,如序列表中列出的)。在一些实施方案中,CDR是根据Kabat和Chothia的组合CDR定义(例如,如序列表中列出的)。在一个实施方案中,VH CDR1的Kabat和Chothia CDR的组合包含氨基酸序列GYTFTTYWMH (SEQ ID NO:203)。在一个实施方案中,一个或多个CDR (或总地全部CDR),相对于序列表中所示的氨基酸序列或由序列表中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如,氨基酸置换(例如,保守性氨基酸置换)或缺失。

[0282] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包含重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL),重链可变区 (VH) 包括SEQ ID NO:153的VHCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:154的VHCDR2氨基酸序列;SEQ ID NO:155的VHCDR3氨基酸序列;轻链可变区 (VL) 包括SEQ ID NO:163的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:164的VLCDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:165的VLCDR3氨基酸序列,各自公开于序列表中。

[0283] 在一个实施方案中,抗体分子包含VH和VL,VH包括由SEQ ID NO:173的核苷酸序列编码的VHCDR1;由SEQ ID NO:174的核苷酸序列编码的VHCDR2;由SEQ ID NO:175的核苷酸序列编码的VHCDR3;VL包括由SEQ ID NO:179的核苷酸序列编码的VLCDR1;由SEQ ID NO:180的核苷酸序列编码的VLCDR2;由SEQ ID NO:181的核苷酸序列编码的VLCDR3,各自公开于序列表中。

[0284] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包含VH,VH包括SEQ ID NO:139的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:139至少85%、90%、95%或99%或更高相同的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包含VL,VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:169至少85%、90%、95%或99%或更高相同的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包含VL,VL包括SEQ ID NO:149的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:149至少85%、90%、95%或99%或更高相同的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包含VH和VL,VH包括

SEQ ID NO:139的氨基酸序列,VL包括SEQ ID NO:169的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包含VH和VL,VH包括SEQ ID NO:139的氨基酸序列,VL包括SEQ ID NO:149的氨基酸序列。

[0285] 在一个实施方案中,抗体分子包含由SEQ ID NO:140的核苷酸序列或与SEQ ID NO:140至少85%、90%、95%或99%或更高相同的核苷酸序列编码的VH。在一个实施方案中,抗体分子包含由SEQ ID NO:170或150的核苷酸序列或与SEQ ID NO:170或150至少85%、90%、95%或99%或更高相同的核苷酸序列编码的VL。在一个实施方案中,抗体分子包含由SEQ ID NO:140的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:170或150的核苷酸序列编码的VL。

[0286] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包含重链,重链包括SEQ ID NO:141的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:141至少85%、90%、95%或99%或更高相同的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包含轻链,轻链包括SEQ ID NO:171的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:171至少85%、90%、95%或99%或更高相同的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包含轻链,轻链包括SEQ ID NO:151的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:151至少85%、90%、95%或99%或更高相同的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包含重链和轻链,重链包括SEQ ID NO:141的氨基酸序列,轻链包括SEQ ID NO:171的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包括重链和轻链,重链包括SEQ ID NO:141的氨基酸序列,轻链包括SEQ ID NO:151的氨基酸序列。

[0287] 在一个实施方案中,抗体分子包含由SEQ ID NO:162的核苷酸序列或与SEQ ID NO:162至少85%、90%、95%或99%或更高相同的核苷酸序列编码的重链。在一个实施方案中,抗体分子包含由SEQ ID NO:172或152的核苷酸序列或与SEQ ID NO:172或152至少85%、90%、95%或99%或更高相同的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施方案中,抗体分子包含由SEQ ID NO:142的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:172或152的核苷酸序列编码的轻链。

[0288] 通常,除非特意指出,抗PD-1抗体分子可以包括一个或多个Kabat CDR和/或Chothia CDR的任意组合,例如,本文中公开的序列表中所述的。在所有定义下,每个VH和VL通常包括三个CDR和四个框架(FR),以以下顺序从氨基端至羧基端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

[0289] 其他示例性PD-1抑制剂

[0290] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子是Nivolumab (Bristol-Myers Squibb),也称为MDX-1106、MDX-1106-04、ONO-4538、BMS-936558或**OPDIVO®**。Nivolumab (克隆5C4) 和其他抗PD-1抗体公开于US8,008,449和WO 2006/121168中,将其全部按引用并入。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包括序列表中公开的Nivolumab的一个或多个CDR序列(或总地全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列,或重链或轻链序列。

[0291] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子是派姆单抗(Pembrolizumab) (Merck&Co),也称为Lambrolizumab、MK-3475、MK03475、SCH-900475或**KEYTRUDA®**。派姆单抗和其他抗PD-1抗体公开于Hamid, O.等(2013) New England Journal of Medicine 369(2):134-44, US 8,354,509和WO 2009/114335,全部按引用并入。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包括序列表中公开的派姆单抗的一个或多个CDR序列(或总地全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列,或重链或轻链序列。

[0292] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子是Pidilizumab (CureTech),也称为CT-011。Pidilizumab和其他抗PD-1抗体公开于Rosenblatt, J.等(2011) J Immunotherapy 34 (5): 409-18, US 7,695,715, US 7,332,582和US 8,686,119,全部按引用并入。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包括序列表中公开的Pidilizumab的一个或多个CDR序列(或总地全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列,或重链或轻链序列。

[0293] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子是MEDI0680 (Medimmune),也称为AMP-514。MEDI0680和其他抗PD-1抗体公开于US 9,205,148和WO 2012/145493中,全部按引用并入。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包括MEDI0680的一个或多个CDR序列(或总地全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列,或重链或轻链序列。

[0294] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子是REGN2810 (Regeneron)。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包括REGN2810的一个或多个CDR序列(或总地全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列,或重链或轻链序列。

[0295] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子是PF-06801591 (Pfizer)。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包括PF-06801591的一个或多个CDR序列(或总地全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列,或重链或轻链序列。

[0296] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子是BGB-A317或BGB-108 (Beigene)。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包括BGB-A317或BGB-108的一个或多个CDR序列(或总地全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列,或重链或轻链序列。

[0297] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子是INCISHR1210 (Incyte),也称为INCISHR01210或SHR-1210。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包括INCISHR1210的一个或多个CDR序列(或总地全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列,或重链或轻链序列。

[0298] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子是TSR-042 (Tesar),也称为ANB011。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包括TSR-042的一个或多个CDR序列(或总地全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列,或重链或轻链序列。

[0299] 其它已知的抗PD-1抗体包括描述于例如WO 2015/112800、WO 2016/092419、WO 2015/085847、WO 2014/179664、WO 2014/194302、WO 2014/209804、WO 2015/200119、US 8,735,553、US 7,488,802、US 8,927,697、US 8,993,731和US 9,102,727中的抗体,全部按引用并入。在一个实施方案中,抗PD-1抗体是与本文中所述的抗PD-1抗体之一竞争结合PD-1上的相同表位和/或与之结合PD-1上的相同表位的抗体。在一个实施方案中,PD-1抑制剂是抑制PD-1信号途径的肽,例如,如US8,907,053中所述的,全部按引用并入。在一个实施方案中,PD-1抑制剂是免疫粘附素(例如,包含与恒定区(例如,免疫球蛋白序列的Fc区)融合的PD-L1或PD-L2的胞外或PD-1结合部分的免疫粘附素)。在一个实施方案中,PD-1抑制剂是AMP-224 (B7-DCIg (Amplimmune),例如,WO 2010/027827和WO 2011/066342中公开的,全部按引用并入)。

[0300] 根据前述,在再一个方面中,本发明提供:

[0301] 在本发明的抗体组合另一种活性剂施用的情况中,共施用的组合化合物的剂量当然将根据共同使用的药物的类型、使用的特定药物、待治疗的病症等而改变。本发明的范围包括由包含本发明的人抗体的组合物和使用说明书组成的药盒。所述药盒可以进一步含有至少一种其他试剂,或一种或多种本发明的其他抗体。药盒通常包括表明药盒内容物的计划用途的

标签。术语标签包括药盒上或与药盒一起提供的或另外伴随药盒的任何书写或记录的材料。

[0302] 药盒可以进一步包括用于诊断患者是否属于将应答抗TGFβ2抗体治疗的组的工具。这样的药盒可以包括冻干形式的本发明的抗体、稀释剂和使用说明书。本发明已经全面描述，通过以下实施例和权利要求进一步说明，这些实施例是举例说明性的并不意在进一步限制。

[0303] 序列/序列表

MCRL4799		
SEQ ID NO: 1 (Kabat)	HCDR1	RYYYVA
SEQ ID NO: 2 (Kabat)	HCDR2	WIDFGQSNTRYSPSFQG
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR3	MLAWGWFY
SEQ ID NO: 4 (Chothia)	HCDR1	GYSFTRY
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR2	DPGQSN
SEQ ID NO: 6 (Chothia)	HCDR3	MLAWGWFY
SEQ ID NO: 7	VH	QVQLVQSCAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTRYVVAWVRQMPGKGLEWMGWIDFGQSNTRYSPSFQCGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARMLAWGWFYWGQGTILVTVSS
SEQ ID NO: 8	DNA VH	caggtgcagctggtgcagtcaggcgccgaagtgaagaagcccggcagtcactgaagat tagctgtaaaggctcaggctatagcttcactaggtactacgtggcctgggtgagacaga tgcccgccaaggccctggagtgatgggtggatcgaccccgccagtcataacactaga tatagccctagctttcagggccaggtgacaattagcgcgcgataaagctattagcacccg ctacctgcagtggtctagcctgaaggctagtgacacccgctatgtactactgcgctagaa tgctggcctggggtggttcgactactggggccagggcaccccggtgacagtgctctagc
SEQ ID NO: 9	重链	QVQLVQSCAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTRYVVAWVRQMPGKGLEWMGWIDFGQSNTRYSPSFQCGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARMLAWGWFYWGQGTILVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSLSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHREALHNYITQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 10	DNA 重链	caggtgcagctggtgcagtcaggcgccgaagtgaagaagcccggcagtcactgaagat tagctgtaaaggctcaggctatagcttcactaggtactacgtggcctgggtgagacaga tgcccgccaaggccctggagtgatgggtggatcgaccccgccagtcataacactaga tatagccctagctttcagggccaggtgacaattagcgcgcgataaagctattagcacccg ctacctgcagtggtctagcctgaaggctagtgacacccgctatgtactactgcgctagaa tgctggcctggggtggttcgactactggggccagggcaccccggtgacagtgctctagc gctagcaccgaaggcccaagtggtttccctggcccccagcagcaagtcctactccgg cggaactgctgcctgggttgctggtgaaggactacttcccgagccogtgacagtg cctggaaactctggggctctgacttcggcgctgcacaccttcccgccgctgctgcagagc agcggcctgtacagcctgagcagcgtggtgacagtgccctccagctctctgggaaccca gaacctatatctgcaacgtgaaccacaagccagcaacaccaaggtggacaagagagtgg agcccaagagctgcgacaagaaccacacotgccccccctgcccagctccagaactgctg ggagggccttcgtgttccgtgttcccccccaagcccaaggacacccctgatgatcagcag

[0304]

[0305]

		gacccccgaggtgacctgcgtggtggtggacgtgtccacgaggaccagaggtgaagt tcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcacaacgccaaagacaaagccagagaggag cagtacaacagcacctacaggggtggtgtccgtgctgacgtgctgcaacaggactggct gaacggcaagaatacaagtgcaaggtctccacaaggccctgccagcccaatcgaaa agacaatcagcaaggccaaagggccagccacgggagccccaggtgtacaacctgcccccc agccgggaggagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgtetggtgaagggttcta ccccagcgatatcgccgtggagtgaggagagcaacggccagcccgagaaactacaaga ccacccccccagtgctggacagcgacggcagcttcttctgtacagcaagctgacccgtg gacaagtcaggtggcagcagggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgaacgagccct gcacaaccactacacccagaagtccctgagcctgagcccggaag
SEQ ID NO: 11 (Kabat)	LCDR1	SGDNLGGYYAH
SEQ ID NO: 12 (Kabat)	LCDR2	DKSDRFS
SEQ ID NO: 13 (Kabat)	LCDR3	ASYDSSLMMV
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR1	DNLGGYY
SEQ ID NO: 15 (Chothia)	LCDR2	DKS
SEQ ID NO: 16 (Chothia)	LCDR3	YDSSLMM
SEQ ID NO: 17	VL	SYELTQFLSVSVALGQTARITCSGDNLGGYYAHWYQQKPGQAPVLVIYDKSDRPSGIFE RFGSGSNSGNTATLTISRAGAGDEADYYCASYDSSLMMVFVGGGKLTVL
SEQ ID NO: 18	DNA VL	agctacgagctgactcagccctgtcagtgctcagtggtggccctgggcccagaccgctagaat cacctgtagcggcgataacccctggcggtactactcgcctcactgggtatcagcagaagcccg gccaggcccccgtgctggtgatctacgataagtcagatagacctagcgggaatccccgag cggtttagcggctctaatagcggcaacacccgtacccctgactatctctagggctcaggc cggcgacgaggccgactactactgcgctagttacgactctagcctgatgatggtgttcg goggaggcactaagctgacccgtgctg
SEQ ID NO: 19	轻链	SYELTQFLSVSVALGQTARITCSGDNLGGYYAHWYQQKPGQAPVLVIYDKSDRPSGIFE RFGSGSNSGNTATLTISRAGAGDEADYYCASYDSSLMMVFVGGGKLTVLCPKAAPSVTL FPFSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPPSKQSNKRYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 20	DNA 轻链	agctacgagctgactcagccctgtcagtgctcagtggtggccctgggcccagaccgctagaat cacctgtagcggcgataacccctggcggtactactcgcctcactgggtatcagcagaagcccg gccaggcccccgtgctggtgatctacgataagtcagatagacctagcgggaatccccgag cggtttagcggctctaatagcggcaacacccgtacccctgactatctctagggctcaggc cggcgacgaggccgactactactgcgctagttacgactctagcctgatgatggtgttcg goggaggcactaagctgacccgtgctgggcccagcctaaggctgccccagcgtgacctg ttccccccagcagcaggagctgcaggccacaaggccacccctggtgtgctgatcag cgactctacccaggcgccgtgacccgtggcctggaaggccgacagcagccccgtgaagg ccggcgtggagaccaccaccccccagcaagcagagcaacaacaagtacgcgcgcagcagc tacctgagcctgacccccgagcagtggaagagccacaggtcctacagctggcaggtgac

[0306]

		ccacgagggcagcaccgtggaaaagaccgtggccccaaccgagtgccgc
HER148C3		
SEQ ID NO: 21 (Kabat)	HCDR1	RYYVA
SEQ ID NO: 22 (Kabat)	HCDR2	WIDFGQSNTRYSPSFQG
SEQ ID NO: 23 (Kabat)	HCDR3	MLAWGWFY
SEQ ID NO: 24 (Chothia)	HCDR1	GYSFTRY
SEQ ID NO: 25 (Chothia)	HCDR2	DPGQSN
SEQ ID NO: 26 (Chothia)	HCDR3	MLAWGWFY
SEQ ID NO: 27	VH	QVQLVQSCAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTRYVAVVRQMPCKGLEWMCWIDFGQSNTRYSPSFQGGVTTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYICARMLAWGWFYDWGQGLVTVSS
SEQ ID NO: 28	DNA VH	caggtgcagctgggtgcagtcaggcgccgaagtgaagaagcccgccgagtcactgaagat- tagctgtaaaaggtcaggctatagcttcactaggtaactacgtggcctgggtgagacaga- tgcccgccaaggccctggagtggtgggtggatcgaccccgccagtcctaaactaga- tatagccctagctttcagggccaggtgacaattagcgccgataagctctattagcaccgc- ctacctgcagtggtctagcctgaaggctagtgacacccgctatgtaactactgcgctagaa- tgctggcctggggctggttcgaactactggggccagggcacccctggtgacagtgctctagc
SEQ ID NO: 29	重链	QVQLVQSCAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTRYVAVVRQMPCKGLEWMCWIDFGQSNTRYSPSFQGGVTTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYICARMLAWGWFYDWGQGLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSG SGLYSLSVTVFPSSSLGTQTYICNVNHKFSNTKVDKRVFPEKSCDKTHFTCPCPAPELL GCPVSVFLPPPKPKDILMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREZ QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIERTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSQSVMHREALHNYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 30	DNA 重链	caggtgcagctgggtgcagtcaggcgccgaagtgaagaagcccgccgagtcactgaagat- tagctgtaaaaggtcaggctatagcttcactaggtaactacgtggcctgggtgagacaga- tgcccgccaaggccctggagtggtgggtggatcgaccccgccagtcctaaactaga- tatagccctagctttcagggccaggtgacaattagcgccgataagctctattagcaccgc- ctacctgcagtggtctagcctgaaggctagtgacacccgctatgtaactactgcgctagaa- tgctggcctggggctggttcgaactactggggccagggcacccctggtgacagtgctctagc gctagcaccgaaggcccaagtggtgtttccctggcccccagcagcaagtcctactccgg- cggaactgcgcgcctgggttgctgggtgaaggactactcccgagcccgtagcagtgat

[0307]

		cctggaactctggggctctgacttccggcgtgcacacettccccgcgtgctgcagagc agcggcctgtacagcctgagcagcgtggtagcagtgcctccagctctctgggaacca gacctatatctgcaacgtgaaccacaagcccagcaacacaaaggtggacaagagagtg agcccaagagctgcgacaagaccacacctgccccctgcccagctccagaactgctg ggagggccttccgtgttctgttcccccccaagcccaggacacctgatgatcagcag gacccccgaggtgacctgcgtgggtggtagcgtgtccacgaggacccagaggtgaagt tcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcacacgcgaagacaaagcccagagaggag cagtacaacagcaacctacaggggtgggtgtccgtgctgacccgtgctgcaccaggaactggct gaacgggcaagaatacaagtgcacagcttcccaacaaggccctgccagccccaatcgaaa agacaatcagcaaggccaagggccagccacgggagccccaggtgtacacctgcccccc agccgggagggagatgacccaagaaccaggtgtccctgacctgtctggtagagggttcta ccccagcgatatcgccgtggagtgaggagagcaacggccagccccagagaacaactacaaga ccacccccccagtgctggacagcgacggcagcttcttctgtacagcaagctgacccgtg gacaagtccaggtggcagcagggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccct gcacaaccaactacaccagaagtccctgagcctgagccccggcaag
SEQ ID NO: 31 (Kabat)	LCDR1	SGDNLGGYYAH
SEQ ID NO: 32 (Kabat)	LCDR2	DTSDRFS
SEQ ID NO: 33 (Kabat)	LCDR3	ASYDSSLMMV
SEQ ID NO: 34 (Chothia)	LCDR1	DNLGGYY
SEQ ID NO: 35 (Chothia)	LCDR2	DTS
SEQ ID NO: 36 (Chothia)	LCDR3	YDSSLMM
SEQ ID NO: 37	VL	SYELTQPLSVSVVALGQTARITCSGDNLGGYYAHWYQQKPGQAPFVLVIYDTSDRFSGIPE RFSGSNSGNTATLTISRAGAGDEADYYCASYDSSLMMVFSGGKLTIVL
SEQ ID NO: 38	DNA VL	agctacgagctgactcagccccctgtcagtgctcagtgccctggggccagaccgctagaat cacctgtcagcggcgataacctgggcggctactacgctcactgggtatcagcagaagcccg gccaggcccccgctgctgggtgatctacgacactagcgatagacctagcgggaatccccgag cgggttagcggctctaatagcggcaacacccgctaccctgactatctctagggtcaggc cggcgacgagggcagactactactgcgcctagttacgactctagcctgatgatgggtgttcg gcggaggcactaagctgaccgtgctg
SEQ ID NO: 39	轻链	SYELTQPLSVSVVALGQTARITCSGDNLGGYYAHWYQQKPGQAPFVLVIYDTSDRFSGIPE RFSGSNSGNTATLTISRAGAGDEADYYCASYDSSLMMVFSGGKLTIVLCQPKAAPSVTL FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNKNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

[0308]

SEQ ID NO: 40	DNA 轻链	agctacgagctgactcagccctgtcagtggtcagtgccctgggccagaccgctagaat caactgttagcggcgataacctggggcgctactacgctcactggtaicagcagaagcccg gccaggcccccggtgctggtgatctacgacactagcgatagacctagcgaatccccgag cggttttagcggctctaatagcggcaacaccgctaccctgactatctctagggctcaggc cggcgacgaggccgactactctgctgctagttacgactctagcctgatgatggtgttcg gcggaggcactaagctgacccgtgctggggccagcctaaggctgccccccagcgtgacccctg ttccccccagcagcgaggagctgcaggccacaaggccaccctgggtgacccctgatcag cgacttctacccaggcgccgtgacccgtggcctgggaaggccgacagcagcccggaagg ccggcgtggagaccaccacccccagcaagcagagcaacaacaagtacgccgccagcagc tacctgagcctgacccccagcagctggaagagccacaggtcctacagcctgccaggtgac ccacgagggcagcaccgtggaaaagaccgtggcccccaaccgagtgcagc
MOE14809		
SEQ ID NO: 41 (Kabat)	HCDR1	RYWIA
SEQ ID NO: 42 (Kabat)	HCDR2	IIDPGTSDTRYSPSFQG
SEQ ID NO: 43 (Kabat)	HCDR3	IDKSLILHSAFDY
SEQ ID NO: 44 (Chothia)	HCDR1	GYSFTRY
SEQ ID NO: 45 (Chothia)	HCDR2	DPGTSD
SEQ ID NO: 46 (Chothia)	HCDR3	IDKSLILHSAFDY
SEQ ID NO: 47	VH	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSGYSFTRYWIAWVRQMPGKGLEWMGIIDPGTSDTR YSPSFQGGVTISADKSIISTAYLQWSSLKASDTAMYVCARIDKSLILHSAFDYWGQGLV TVSS
SEQ ID NO: 48	DNA VH	caggtgcagctggtgcagtcaggcgccgaagtgaagaagcccgccgagtcactgaagat tagctgtaaaggctcaggctatagcttactagatactggatcgccctgggtgagacaga tgcccgccaaaggccctggagtggtggaattatcgaccccgccactagcgacactaga tategccctagctttcagggccaggtgacaattagcgccgataagtcctattagcaccgc ctacctgcagtggtctagcctgaaggctagtgacaccgctatgtactactgcgctagaa tcgataagtcactgatcctgcactcagccttcgaactactggggccaggccaccctggtg acagtgctctagc
SEQ ID NO: 49	重链	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSGYSFTRYWIAWVRQMPGKGLEWMGIIDPGTSDTR YSPSFQGGVTISADKSIISTAYLQWSSLKASDTAMYVCARIDKSLILHSAFDYWGQGLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTFLQLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKCQPREPQVY TIPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0309]

SEQ ID NO: 50	DNA 重链	caggtgcagctggtgcagtcaggcgccgaagtgaagaagcccgcgagtcactyaagat- tagctgtaaaggctcaggctatagcttcactagatactggatcgccctgggtgagacaga- tgcccggaaggccctggagtggatgggaattatcgaccccggaactagcgaactaga- tatagccctagcttcaggggccaggcgacaattagcgccgataaagtctattagaccgc- ctacctgcagtggtctagcctgaaggctagtgcaccgctatgtactactgcgctagaa- tcgataaagtcactgatctgcactcagccttcgactactggggccagggcaccctggtg- acagtgtctagcgttagcaccaggcccaagtgtgtttccctggccccagcagcaa- gtctacttcgcgggaactgctgcctgggttgctggtgaaggactacttcgccgagc- ccgtgacagtgctccggaaactgtggggctctgauttcggcggtgcacaccttccccgcc- gtgctgcagagcagcgccctgtacagcccgagcagcgtggtgacagtgccctccagctc- ctgggaacccagacctatatctgcaactgaaccacaagcccgcaacaccaaaggtgg- acaagagagtgaggcccaagagctgcgacaagaccacacctgcacccccctgccagct- ccagaactgctgggaggcccttcctggttcctgttcccccccaagcccaaggacacct- gatgatcagcaggacccccgaggtgacctgcgtggtggtggacgtgtccacagaggacc- cagaggtgaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcacaacgccaaagaccaag- cccagagaggagcagtaacaacagcaactacagggtggtgtccctgctgacccgtgctgca- ccaggactggctgaacggcaaaatacaagtgcaaaagtctccaacaaaggccctgcag- ccccaatcgaaaagacaatcagcaaggccaaaggccagccacgggagccccagggtgtac- acctgccccccagccgggaggagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgtctggt- gaagggtcttctaccccagcgatatcgccgtggagtgggagagcaacggccagcccgaga- acaactacaagaccacccccagtgctggacagcgacggcagcttcttctctgacagc- aagctgacctggacaagtccaggtggcagcagggcaacgtgttcagctgcagcgtgat- gcacgaggccctgcacaacacactacacccagaagtcctctgagcctgagcccccgaag
SEQ ID NO: 51 (Kabat)	LCDR1	SGDNLGGYYAY
SEQ ID NO: 52 (Kabat)	LCDR2	ETNNRPS
SEQ ID NO: 53 (Kabat)	LCDR3	ASTTQDYLVFV
SEQ ID NO: 54 (Chothia)	LCDR1	DNLGGYY
SEQ ID NO: 55 (Chothia)	LCDR2	ETN
SEQ ID NO: 56 (Chothia)	LCDR3	TTQDYLVF
SEQ ID NO: 57	VL	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNLGGYYAYWYQKPGQAPVLVLYETNNRPSGIPE- RFSGSNSGNTATLTISRQAQAGDEADYYCASTTQDYLVFVFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 58	DNA VL	agctacgagctgactcagccctgtcagtgctcagtgccctggggccagaccgctagaat- cacctgttagcgccgataacctggcggtactacgcctactggtatcagcagaagcccg- gccaggcccccgtgctggtgatctacgagactaacaatagacctagcgggaatccccgag- cgggttagcggctctaatagcggcaacacccgtacctgactatctctagggctcaggc- cggcgacgaggccgactactactgcgctagtagtactactcaggactacctggtgttcgtgt- tcggcgaggaggaactaagctgacctgctg

[0310]

SEQ ID NO: 59	轻链	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNLGGYYAYWYQQKPGQAPFVLVIYETNNRPSGIFERFSGSNSGNTATITISRAQAGDEADYYCASTTQDYLVFVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYYAAS SYLSLTPEQWKSHRSYSQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 60	DNA 轻链	agctaogagagtgactcagccctgtcagtgzocagtggccctgggcccagaccgctagaat caccctgtagcggcgataacctgggcggtactacgcctacttggtatcagcagaagcccg gccaggcccccgtgctggtagatctacgagactaaccaatagacctagcgggaatccccgag cggcttagcgggtctaatagcgggaacacccgctaccctgactatctctagggtcagggc cggcgacgaggccgactactactgcccagtaactactcaggactaccctgggtgttcggt tcggcggaaggcaactaagctgacccgtgctgggcccagcctaaggctgcccccagcgtgacc ctgttcccccccagcagcgaggagctgcaggcccaacaaggccaccctgggtgtgectgat cagcgacttctaccagggcgccgtgacccgtggcctggaaggccgacagcagccccgtga aggccggcgtggagaccaccaccccagcaagcagagcaacaaagaagtaaggccgcaggc agctacctgagcctgacccccgagcagtggaagagccacaggtcctacagctgccaggt gacccacgaggggcagcaccgtggaaaagaccgtggcccccacccagagtgccagc
MOB14797		
SEQ ID NO: 61 (Kabat)	HCDR1	TSGMGVG
SEQ ID NO: 62 (Kabat)	HCDR2	HIYWNDKSYSTSLKT
SEQ ID NO: 63 (Kabat)	HCDR3	DFYYSGYFDS
SEQ ID NO: 64 (Chothia)	HCDR1	GFSLSTSGM
SEQ ID NO: 65 (Chothia)	HCDR2	YWNDK
SEQ ID NO: 66 (Chothia)	HCDR3	DFYYSGYFDS
SEQ ID NO: 67	VH	QVTLRESGFALVXPTQTLTLCTFSGFSLSTSGMGVGVIRQPPGKALEWLAHIYWNDK SYSTSLKTRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARDYYSGYFDSWGQGLVTV SS
SEQ ID NO: 68	DNA VH	caggtagacactgagagagtcagccctgcctcgtgaaacctactcagaccctgaccct gacctgcaccccttagcggctttagcctgagcaactagcgggaatgggctgggctggat gacagcccccctggcaaggccctggagtggtggtcaccatctactggaacgacgataag tctactctactagcctgaaaaactaggtgactatctctaaggacacctctaagaatca ggtaggtgctgactatgactaatatggaccccgtggacaccgctacctactactgcgcta gagacttctactatagcggctacttcgatatagctggggccagggcaccctggtagcagt tctagc
SEQ ID NO: 69	重链	QVTLRESGFALVXPTQTLTLCTFSGFSLSTSGMGVGVIRQPPGKALEWLAHIYWNDK SYSTSLKTRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARDYYSGYFDSWGQGLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNKKFSNTKVDKRVKPKSCDKHTCTPPCPAPE LLGGPSVFLFPEKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKER EEQYNSTYRVVSVLTVQLQDWLNKGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKCQPREPQVYTL

[0311]

		PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 70	DNA 重链	cagggtgacactgagagagteaggccctgccctggtgaacctaactcagaccctgaacct gacctggcaaccttttagcggtcttagcctgagcactagcgggaatgggcgtgggctggatta gacagcccccctggcaaggccctggagtggtggctcacatctactggaacgagataag tctactctactagacctgaaaactaggtgactatctctaaaggacacctctaaagaatca gggtggtgctgactatgactaatatggaccccggtggacaccgctacctactactgcgcta gagacttctactatagcggctacttccgatagctggggccaggccacctggtgacagt tctagcgctagcaaccaaggggcccaagtgtgtttccctggccccagcagcaagtctac ttccgggggaactgctgccctgggttgctggtgaaggactacttccccgagcccgta cagtgtcttggaactctgggctctgacttccggcggtgcacaccttcccgccgtgctg cagagcagcgccctgtacagcctgagcagcgtggtgacagtgccctccagctctctggg aaccacagacctatctgcacgtgaaccacaagccacgcaaacaccaagggtggacaaga gagtgaggcccaagagctgcgacaagacccacacctgccccccctgcccagctccagaa ctgctgggagggccttccgtgtctctgttcccccccaagcccaaggacacctgatgat cagcaggacccccgaggtgacctgctggtggtggacgtgtccacaggagaccagagg tgaagtccaactggtacgtggaacggtggtggtgcacaacgccaagaccaagcccaga gaggagcagtaaacacagcacctacagggtggtgtccgtgctgaecgtgctgcaccagga ctggctgcaacggcaagaatacaagtgaaggtctccacaaggccctgcccagcccaa tcgaaaagacaatcagcaaggccaaggcccgccacgggagccccaggtgtacacctg ccccccagccgggagagatgaccaagaaccagggtgtccctgacctgtctggtgaaggg ctctacccccagcgatatcgccgtggagtgaggagcaacggccagcccgagaaacaact acaagaccacccccccagtgctggacagcgacggcagotttctctgtacagcaagctg accgtggacaagtccaggtggtgagcagggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcaga ggccctgcacaaccactacaccagaagtccctgagcctgagccccggcaag
SEQ ID NO: 71 (Kabat)	LCDR1	RASQDISNYLN
SEQ ID NO: 72 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 73 (Kabat)	LCDR3	QQTNTMNT
SEQ ID NO: 74 (Chothia)	LCDR1	SQDISNY
SEQ ID NO: 75 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 76 (Chothia)	LCDR3	TNTMN
SEQ ID NO: 77	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKAPGKAPKLLIFGASSLQSGVF SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTNTMNTFGQGTKVEIK

[0312]

SEQ ID NO: 78	DNA VL	gatattcagatgactcagtcacctagtagcctgagcgctagtggtggcgatagagtgac tatcacctgtagagcctctcaggatatctctaaactacctgaactgggtatcagcagaagc ccggcaaggcccttaagctgctgatcttcggcgccctctagcctgcagtcaggcgtgccc tcaggttttagcggctcaggctcaggcaaccgaacttcacctgactattagtagcctgca gcccagggaacttcgctacctaactgctcagcagactaacactatgaacaccttcggcc agggcactaagggtggagattaag
SEQ ID NO: 79	轻链	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPKAPKLLIFGASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTNMTNFTGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSST LTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 80	DNA 轻链	gatattcagatgactcagtcacctagtagcctgagcgctagtggtggcgatagagtgac tatcacctgtagagcctctcaggatatctctaaactacctgaactgggtatcagcagaagc ccggcaaggcccttaagctgctgatcttcggcgccctctagcctgcagtcaggcgtgccc tcaggttttagcggctcaggctcaggcaaccgaacttcacctgactattagtagcctgca gcccagggaacttcgctacctaactgctcagcagactaacactatgaacaccttcggcc agggcactaagggtggagattaagcgtacgggtggcgcctcccagcgtgttcattctccc cccagcgacgagcagctgaagagcggcaccgcccagcgtggtgtgctgctgaacaattt ctacccccgggaggccaagggtgcagtggaagggtggacaacgccctgcagagcggcaaca gccagagagcgttcaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcagcacc ctgacccctgagcaaggccgactacgagaagcataagggtgtacgcctgcgagggtgaacca ccagggcctgtccagccccgtgaccaagagctccaacaggggcgagtgcc
MOR14805		
SEQ ID NO: 81 (Kabat)	HCDR1	RYIVA
SEQ ID NO: 82 (Kabat)	HCDR2	WIDPGTSNTRYSPSFQG
SEQ ID NO: 83 (Kabat)	HCDR3	MLAWGWFDY
SEQ ID NO: 84 (Chothia)	HCDR1	GYSFTRY
SEQ ID NO: 85 (Chothia)	HCDR2	DPGTSN
SEQ ID NO: 86 (Chothia)	HCDR3	MLAWGWFDY
SEQ ID NO: 87	VH	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTRYVAVVRQMFGKLEWMGWIDPGTSNTR YSPSPFQQQVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARMLAWGWFDYWGQGTLLTVVSS
SEQ ID NO: 88	DNA VH	cagggtgcagctggtgcagtcaggcgccgaagtgaagaagcccggcagtcactgaagat tagctgtaaaggctcaggctatagcttcactaggtaactacgtggcctgggtgagacaga tgcccggcaaggcccgagtggtggtggtggtgaccccgccacctctaactataga tatagccctagctttcaggggccaggcgaataatagcgcgataaagctctattagcaccgc ctacctgcagtggtctagcctgaaggctagtgacaccgctatgtactactgcgctagaa tgctggcctggggctgggttcgaactactggggccagggcaccctgggtgacagtgctctagc

[0313]

SEQ ID NO: 89	重链	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSGSYFTRYVVAWVRQMPGKGLEWMCWIDPGTSNTR YSPSFQGGVTTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARMLAWGWF DYWGQGLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGCTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSCVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPFKDTLMISRTEFVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAATKPREZ QYNSTYRVVSVLTIVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTIV DKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPER
SEQ ID NO: 90	DNA 重链	cagggtgcagctggtgcagtcaggcgccgaagtgaagaagcccggcagctcactgaagat tagctgttaaaggctcaggctctagcttcactaggtactactcgtggcctgggtgagacaga tgcccgcccaaggccctggagtggtgggtggatcgaccccggaacctctaacaactaga ta tagccctagcttccaggccaggtgacaattagcgccgataaagtctattagcaacgc ctacctgcagtggtctagcctgaaggctagtgacacgcctatgtactactgcgcctagaa tgctggccctggggctgggtcgactactggggccagggccacctgggtgacagtgctctagc gc tagcaaccaaggcccaagtggtttccctggccccagcagcaagttctacttccgg cggaactgctgcctgggttgctggaaggactacttccccgagcccgtagacagtg cctgggaacctggggctctgacttccggcgtgcacaccttccccgcctgctgcagagc agcggcctgtacagcctgagcagcgtggtgacagtgccctccagctctctgggaaccca gaacctatctctgaacgtgaacccacaagcccaagcaaacccaaggtggacaagagagtg agcccaagagctgcgacaagaacccacacctgccccccctgcccagctccagaactgctg ggagggccctccgtgttccctgttcccccccaagcccaaggacacctgatgatcagcag gacccccgaggtgaacctgcgtggtggtggaagtggtcccaagaggacccagaggtgaagt tcaactggtacgtggaacggcgtggaggtgcacaacgccaagaccaagccagagaggag cagtaacaacagcacctacagggtggtgtccgtgctgacagctgctgcaccaggactggct gaacggcaazagaatacaagtgcaaaagtctccaaagggccctgcagcccccaatcgaaa agacaatccagcaaggcccaaggccagccacgggagccccaggtgtacacctgcccccc agccgggagggagatgaccaagaaccagggtgtccctgacctgtctgggtgaaggcttcta ccccagcgatatcccggtggagtgaggagcaacggcccgcccgagaaactacaaga ccacccccccagtgctggacagcgaagcgaagcttcttccgtgtacagcaagctgacccgtg gacaagtcacaggtggcagcagggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacagggccct gcacacccactacacccagaagtcacctgagcctgagccccggcaag
SEQ ID NO: 91 (Kabat)	LCDR1	SGDNLGGYYAH
SEQ ID NO: 92 (Kabat)	LCDR2	DKSDRPS
SEQ ID NO: 93 (Kabat)	LCDR3	ASYDSSLMMV
SEQ ID NO: 94 (Chothia)	LCDR1	DNLGGYY
SEQ ID NO: 95 (Chothia)	LCDR2	DKS
SEQ ID NO: 96 (Chothia)	LCDR3	YDSSLMM

[0314]

SEQ ID NO: 97	VL	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNLGYYAHWYQQKPGQAPVLIYDKSDRPSGIFE RFGSGNSNGNTATLTISRAGAGDEADYYCASYDSSLMMVFVGGGKTLTVL
SEQ ID NO: 98	DNA VL	agctacgagctgactcagccctgtcagtggtcagtggtggccctgggccagaccgctagaat caacctgtagcggcgataacctggggcggtactacgctcaactgggtatcagcagaagcccy gccaggcccccgctgctggtgatctacgataagtcagatagacctagcgggaatccccgag cgggttagcgggtctataatagcggcacaacccgctaccccgactatctctagggctcaggc cggcgacgaggccgactactactgctaggttagtaagacctctagcctgatgatgggtgttcg gcggaggcactaaagctgaccgtgctg
SEQ ID NO: 99	轻链	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNLGYYAHWYQQKPGQAPVLIYDKSDRPSGIFE RFGSGNSNGNTATLTISRAGAGDEADYYCASYDSSLMMVFVGGGKTLTVLQPKAAPSVTL FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETITPPSKQSNMKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 100	DNA 轻链	agctacgagctgactcagccctgtcagtggtcagtggtggccctgggccagaccgctagaat caacctgtagcggcgataacctggggcggtactacgctcaactgggtatcagcagaagcccy gccaggcccccgctgctggtgatctacgataagtcagatagacctagcgggaatccccgag cgggttagcgggtctataatagcggcacaacccgctaccccgactatctctagggctcaggc cggcgacgaggccgactactactgctaggttagtaagacctctagcctgatgatgggtgttcg gcggaggcactaaagctgaccgtgctggtggccagcctaaggctggccccagcgtgacctg ttccccccagcagcggagagctgcaggccaacaaggccaccctgggtgtgctgatcag cgactttctacccaggcgccgtgaccgtggcctggaaggccgacagcagccccgtgaagg ccggcgtggagaccaccaccccccagcaagcagagcaacaacaagtaagcggccagcagc tacctgagcctgacccccgagcagtggaagagccacaggtctctacagcctgccaggtgac ccacgagggcagcaccgtggaaagaccgtggcccccaaccgagtgccagc
MORI4787		
SEQ ID NO: 101 (Kabat)	HCDR1	SYAIS
SEQ ID NO: 102 (Kabat)	HCDR2	VIVPKWGHFQYAQKFQG
SEQ ID NO: 103 (Kabat)	HCDR3	EGDFVVLVLTEHYMGGFDV
SEQ ID NO: 104 (Chothia)	HCDR1	GGTFSSY
SEQ ID NO: 105 (Chothia)	HCDR2	VPKWGH
SEQ ID NO: 106 (Chothia)	HCDR3	EGDFVVLVLTEHYMGGFDV
SEQ ID NO: 107	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYATISWVRQAPGQGLEWMGVIVPKWGHFQ YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGDFVVLVLTEHYMGGFDVW GQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 108	DNA VH	cagggtgcagctggtgcagtcagggcgccgaagtgaagaaaaccggctctagcgtgaaagt gagctgtaaagctagtggtgggcacattctctagctacgctattagctgggtgagacaggy ccccaggccaggccctggagtggtggcgtgatcgtgcttaagtggggccaccctcag tacgctcagaaaatttcagggcagagtgacctatcacccgcgcagagctctactagcaccgc ctatatggaactgtctagcctgagatcagaggacaccgcccgtgtactactgctagag

[0315]

		aaggcgacttcgtggtgctggtgctgaccgagcactatatggggcggtctcgacgtgtgg ggccagggcaccctggtgacagtgtctaga
SEQ ID NO: 109	重链	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIISWVRQAPGQGLEWMGVIVPKWGHPO YAQKFQGRVITITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGDFVVLVLTEHYMGGFVW GQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKTHT CFPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSRAKQGP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPFVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 110	DNA 重链	cagggtgcagctggtgcagtcaggcgccgaagtgaagaaaccggctctagcgtgaaagt gagctgtaaagctagtggcgccacctctctctagctacgtctattagctgggtgagacagg ccccaggccaggccctggagtggatggcgctgatcgtgcctaagtggggccaccctcag tacgtcagaaatttcaggggcagagtgactatcaccgcgcagcaggtctactagcacccgc ctatatggaactgcttagcctgagatcagaggacaccgcccgtgtaactactgcgctagag aaggcgacttcgtggtgctggtgctgaccgagcactatatggggcggtctcgacgtgtgg ggccagggcaccctggtgacagtgtctagcgttagcaccaggggcccaagtgtgtttcc cctggccccccagcagcaagtctacttcggcggaactgctgcctgggtgctgtga aggactaettccccgagcccgtagcagtgtcctggaaactctggggctctgacttcggc gtgcacaccttccccgcctgtgtgcagagcagcggcctgtacagcctgagcagcgtgg gacagtgccttcagctctctctgggaacccagaccttatctgcacagtgaaaccacaagc ccagcaacaccacaggtggacaagagagtgagccccagagctgcgacaagaccacacc tgccccccctgcccagctccagaaactgctgggagggccttcctgttctctgttcccccc caagcccaaggacacccctgatgatcagcaggacccccgaggtgacctgcgtggtgtgg acgtgtccacagagaccaccagaggtgaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtg cacaacgccacagaccagccagagagcagtcacacagcaccctacagggtggtgtc cgtgtctgaccgtgctgcaccaggaactggctgaacggcaagaatacaagtgcacagtc ccaaacaaggccctgcacagccccaatcgaaaagacaatcagcaaggccaaaggccagcca cgggagccccaggtgtacacccctgccccccagccgggaggagatgacaaagaaccagg gtccctgacctgtctggtgaagggtctctaccccagcgatatcgccgtggagtgggaga gcaacggccagcccgagacacactacaaagaccacccccccagtgctgacagcgcagcgc agcttcttctctgtacagcaagctgacccgtggacaagtccaggtggcagcagggcaacgt gttcagctgcagcgtgatgcacgagggcctgcacaaaccactacacccagaagtccctga gcctgagccccggcaag
SEQ ID NO: 111 (Kabat)	LCDR1	RASQSIDEYLN
SEQ ID NO: 112 (Kabat)	LCDR2	AGSNLQS
SEQ ID NO: 113 (Kabat)	LCDR3	LQGYSYPRT
SEQ ID NO: 114 (Chothia)	LCDR1	SGSIDEY

[0316]

SEQ ID NO: 115 (Chothia)	LCDR2	AGS
SEQ ID NO: 116 (Chothia)	LCDR3	GYSYPR
SEQ ID NO: 117	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIDEYLNWYQQKPGAKFLITYAGSNLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCLQGYSPRTFGQGTKEIK
SEQ ID NO: 118	DNA VL	gatatccagatgactcagtcacctagtagcctgagcgctagtgtggtggatagagtgac tatcaccctgtagagcctctcagtttatcgacgagtagcctgaactggatcagcagaagc ccggcaaggcccttaagctgctgatctacgcccggctctaacctggagtcaggcgtgccc tctaggttttagcggctcaggctcaggcacccgacttcacccctgactatctctagcctgca gcccaggagacttcgctactactactgtctgcagggtatagctaccctagaaccttcg gccagggcactaaggtggagattaag
SEQ ID NO: 119	轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIDEYLNWYQQKPGAKFLITYAGSNLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCLQGYSPRTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTSYLSLS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 120	DNA 轻链	gatatccagatgactcagtcacctagtagcctgagcgctagtgtggtggatagagtgac tatcaccctgtagagcctctcagtttatcgacgagtagcctgaactggatcagcagaagc ccggcaaggcccttaagctgctgatctacgcccggctctaacctggagtcaggcgtgccc tctaggttttagcggctcaggctcaggcacccgacttcacccctgactatctctagcctgca gcccaggagacttcgctactactactgtctgcagggtatagctaccctagaaccttcg gccagggcactaaggtggagattaagcgtacggcgccgctcccagcgtgttcatcttc ccccccagcgcagcgcagctgaagagcggcaccgcccagcgtggtgtgctgctgaacaa cttctaccccgaggagcccaaggtgcagtygaaggtggacaacgcccctgcagagcgga acagccaggagagcgtcaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcagc acctgaccccgagcaagccgactacgagaagcataaaggtgtacgctgcaaggtgac ccaccagggcctgtccagcccgtgacccaagagcttcaacaggggagagtg
SEQ ID NO: 121	蛋白质 TGFβ1 UniProt ID: P01137	MPPSGLRLLLLLPLLLVITPGRPAAGLSTCKTIDMELVXKRRIEFAIRGOILSKLRL ASPPSQGEVPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAKSVTRVLMVETHN EIYDKFKQSTHSIYMFNTSELREAVPEPVLLSRAELRLRLKVEQHVELYQKYSNN SWRYLSNRLLAPSDSPEWLSFDVPGVVRQWLSRGGEIEGFRLSAHCSCDSRDNTLQVDI NGFTTGRRGDLATIHGMNRPFLLMATPLERAQHLQSSRHRRALDTNYCFSSTEKNCCV RQLYIDFRKDLGKWIHEPKGYHANFCLGCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNFGASAAP CCVPQALEPLPIVYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS
SEQ ID NO: 122	蛋白质 TGFβ2 UniProt ID: P61812	MHYCVLSAFLILHLVTVALSLTCTSLDMDQPMRKRIEFAIRGOILSKLKLTSPPEDYPE PEEVPPPEVISIYNSTRDILQEKASRRAAACERERSDEEYVYKEVYKIDMPFFPSENAI PPTFYRPFYFRIVRFDVSAEKNASNLVKAEFRVFRQLQNPKEVFEQRIELYQILKSKDL TSPTQRYIDSKVKTRAEGEWLSFDVTDVHVEWLHKKDRNLGPKISLHCPCCTFVPSNN YIIPNKSEELARFAGIDGSTYTSQDQKTIKSTRKKNKGKTPHLLIMLLPSYRLESQQ TNRKKRALDAAYCFRNVQDNCCLRPLYIDFKRDLGKWIHEPKGYANFACACAPYLW SSDTQHSRVLSLYNTINEASAPCCVVSQDLEPLTILYIGTKFKIEQLSNMIVRSCKCS

[0317]

SEQ ID NO: 123	蛋白质 TGFβ3 UniProt ID: P10600	MKMHQLQRAIVVLALLNFATVSLSLSTCTTLDLDFGHKKRVEAIRGQILSKLRITSPPEP TVMTHVPYQVLALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQENTSEYYAKEIHKFDMIQGLAEHN ELAVCPKGITSKVFRFNVSSVEKNRTNLFRAEFVLRVVPNPSSKRNEQRIELFQILRPD ZHIKQRYIGGKNLPTRGTAEWLSFDVTDTVREWLLRRESNLGLEISIHCPCHTFQPNG DILENIHEVMEIKFKGVNDNDDHGRGDLGRLLKQKDHNNPHLILYMMIFPHRLDNPGQGG QRKKRALDNTNYCFRNLEENCCVRPLYIDFRQDLGWXWVHEPKGYVANFCSGPCPYLRSA DTTASTVLGLYNTLNPEASASPCCVFQDLEPLTILYVGRTPKVEQLSNMVKSKCS
SEQ ID NO:124 (Kabat SEQ ID NO:1 /Chothia SEQ ID NO: 4)	HCDR1	GYSFTRYVA
SEQ ID NO:125 (Kabat SEQ ID NO:21/Chothia SEQ ID NO: 24)	HCDR1	GYSFTRYVA
SEQ ID NO:126 (Kabat SEQ ID NO:41 /Chothia SEQ ID NO:44)	HCDR1	GYSFTRYWIA
SEQ ID NO:127 (Kabat SEQ ID NO:61 /Chothia SEQ ID NO: 64)	HCDR1	GFSLSTSGMGVG
SEQ ID NO:128 (Kabat SEQ ID NO:81 /Chothia SEQ ID NO: 84)	HCDR1	GYSFTRYVA
SEQ ID NO:129 (Kabat SEQ ID NO:101 /Chothia SEQ ID NO: 104)	HCDR1	GGTFSSYAIS
SEQ ID NO:131 paratope sequence MOR14800	VL	NSCN
SEQ ID NO:132 paratope sequence MOR14800	VL	GSGT
BAP049-Clone-		

[0318]

B HC		
SEQ ID NO: 133 (Kabat)	HCDR1	TYWMH
SEQ ID NO: 134 (Kabat)	HCDR2	NIYPGTGGSNFDEKFKN
SEQ ID NO: 135 (Kabat)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 136 (Chothia)	HCDR1	GYTFTTY
SEQ ID NO: 137 (Chothia)	HCDR2	YPGTGG
SEQ ID NO: 138 (Chothia)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 139	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYFTFTTYWMHWVQATGQGLEWMGNIIYPGTGGSN FDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAVYYCTRWTTGTGAYWQGGTITVSS
SEQ ID NO: 140	DNA VH	Gaggtgcagctgggtgcagtcaggcgccgaagtgaagaagccggcgagtcactgagaat tagctgtaaaggttcaggctacacaccttactacactctggatgcactgggtccgccagg ctaccggtaagggctcgagtggaagggaatatctaccccggaacggcggtcttaac ttcgacgagaagtttaagaatagagtgactatcacccgcgataagttctactagcaccgc ctataaggaaactgtctagcctgagatcagaggacacccgcctctactactgcactaggt ggactaccggcacaggcgctactggggtaaggccactaccgtgaccgtgtctagc
SEQ ID NO: 141	HC	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYFTFTTYWMHWVQATGQGLEWMGNIIYPGTGGSN FDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLSRSEDTAVYYCTRWTTGTGAYWQGGTITVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVFSSSLGTQKTYTCNVDPKFKSTPKVDKRVESKYGPFCPCPAPEFLGGPS VFLEPPPKKDTLMISRTPEVFCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN TYRVVSVLTVQLHQLDNLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQE MFKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLEWESNGQPRMNYKRTTPPVLDSDGSPFLYSRLTVDKSK WQECNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 142	DNA HC	gaggtgcagctgggtgcagtcaggcgccgaagtgaagaagccggcgagtcactgagaat tagctgtaaaggttcaggctacacaccttactacactctggatgcactgggtccgccagg ctaccggtaagggctcgagtggaagggaatatctaccccggaacggcggtcttaac ttcgacgagaagtttaagaatagagtgactatcacccgcgataagttctactagcaccgc ctataaggaaactgtctagcctgagatcagaggacacccgcctctactactgcactaggt ggactaccggcacaggcgctactggggtaaggccactaccgtgaccgtgtctagcgt agcactaaagggcccgctccgtgttcccccctggcacctttagccggagcacttagcgaatc caccgctgccctcggtgcctgggtcaaggattacttcccggaacccgtgaccgtgtcc ggaaacaggagccctgaacctccggagtgacacaccttcccccgtgtgtgcagagctcc gggtgtactcgtctgtcgtcgtgtcacgggtgccttctctagccctgggtaccgaac ctacacttgcaacgtggaccacaagccttccaaactaaaggtggacaagcgctcgaat cgaagtaaggcccaacgtgccgccttgtcccgccggaggttccctcggggtccctcg gtcttctgtgttcccaacgaagcccaaggacactttagatgatttcccgcaacccctgaagt gacatgcgtgggtcgtggaggtgtcacaggaagatccggaggtgcagttcaactggtaag

[0319]

		tggatggcgtcgaggtgcacaaacgcgaacaaagccgagggagggagcagttcaactcc acttacccgcgtcgtcgtccgtgctgaacgggtgctgcacacaggaactggtgaacgggaagga gtacaagtgcacaaagtgtccaaacagggacttcctagctcaatcgaaaagaccatctcga aagccaagggacagcccccgggaaccccaagtgatatccctgccaccgagccaggaagaa atgactaagaacaaagtctcattgacattgccttggaagggtctctacccatcgqatac cgcgtgggaatgggagtcacacggccagccggaaaacaactcagaaccacccctccgg tgcaggacacagacggatccttctcctctactcgcggtgcacgtggataagagcaga tggcaggagggaaatgtgtttvagctgtctgtgatgcacgaagccctgcacacccacta cactcagaagtcctgtccctctcctcccgga
BAP049-Clone- B LC		
SEQ ID NO: 143 (Kabat)	LCDR1	KSSQSLLSGNQKNFLT
SEQ ID NO: 144 (Kabat)	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 145 (Kabat)	LCDR3	QNDYSYPY
SEQ ID NO: 146 (Chothia)	LCDR1	SQSLDSGNQKNF
SEQ ID NO: 147 (Chothia)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 148 (Chothia)	LCDR3	DYSYPY
SEQ ID NO: 149	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSGNQKNFLTWYQQKPGKAPKLLIYWAST RESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDVATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 150	DNA VL	Ggagatcgtcctgactcagtcacccgcctaccctgagccctgagccctggcgagcgggctac actgagctgtaaatctagtcagtcactgctggatagcggtaactcagaagaacttctga cctggatcagcagaagcccggtaaagcccctaagctgctgactctactggcctctact agagaatcaggcgtgccctctaggtttagcggtagcggtagtggcacccgacttccacct caactatctctagcctgcagcccgaggatctcgtacactactactgtcagaacgactata gctacccctacaccttcgggtcaaggcactaaggctcagatttaag
SEQ ID NO: 151	LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSGNQKNFLTWYQQKPGKAPKLLIYWAST RESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDVATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIIPPSEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSNLSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 152	DNA LC	Ggagatcgtcctgactcagtcacccgcctaccctgagccctgagccctggcgagcgggctac actgagctgtaaatctagtcagtcactgctggatagcggtaactcagaagaacttctga cctggatcagcagaagcccggtaaagcccctaagctgctgactctactggcctctact agagaatcaggcgtgccctctaggtttagcggtagcggtagtggcacccgacttccacct caactatctctagcctgcagcccgaggatctcgtacactactactgtcagaacgactata gctacccctacaccttcgggtcaaggcactaaggctcagatttaagcgtacgggtggcgcct cccagcgtgttctctctcccccagcgacgagcagctgaagagcggcaccccgacgcgt

[0320]

		gggtgtgctgtgtgaacaaatttctacccccgggagggccaaggtgcagtggaagggtggaca acgccctgcagagcggcaacagccaggagagcgtcaccgagcaggacagcaaggactcc acctacagcctgagcagcaccctgacctgagcaaggccgactacgagaagcataaggt gtacgcctgcgaggtgacccacagggcctgtccagcccgctgaccaagagcttcaaca ggggcgaagtgc
BAP049-Clone- E HC		
SEQ ID NO: 153 (Kabat)	HCDR1	TYWMH
SEQ ID NO: 154 (Kabat)	HCDR2	NIYPGTGGSNFDEKFKN
SEQ ID NO: 155 (Kabat)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 156 (Chothia)	HCDR1	GYTFTTY
SEQ ID NO: 157 (Chothia)	HCDR2	YPGTGG
SEQ ID NO: 158 (Chothia)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 159	VH	EVQLVQSGAEVKKPGE\$LRISCKGSGYFTFTYWMHWVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSN FDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED\$TAVYYCTRWITGTGAYWCQGT\$TVVSS
SEQ ID NO: 160	DNA VA	Gaggtgcagctgggagcagtcaggcgccgaagtgaagaagccggcgagtcactgagaat tagctgtaaaggttcaggctacacctcactacctaactggatgcactgggtccgccagg ctaccggtcaaggcctcgagtgatgggtaatatctaccccggaaccggcggtctaac ttcgacgagaagtttaagaatagagtgactatcaccgcgataagttctactagaccgc ctatatggaactgtctagcctgagatcagaggacaccgcgctctactactgcactaggt ggactacgggcacaggcgctactggggtcaaggcactaccgtgacggtgtctagc
SEQ ID NO: 161	HC	EVQLVQSGAEVKKPGE\$LRISCKGSGYFTFTYWMHWVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSN FDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED\$TAVYYCTRWITGTGAYWCQGT\$TVVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTISGVTFTPAVLQSS GLYSLS\$VTVFSSSLG\$PKYTCNV\$DHKPSNTKVDKRV\$SKYGPFCFPCPAPEFLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV\$QEDPEVQFNWYVDG\$EVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLT\$V\$LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI\$SKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKCFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMH\$EALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 162	DNA HC	gaggtgcagctgggagcagtcaggcgccgaagtgaagaagccggcgagtcactgagaat tagctgtaaaggttcaggctacacctcactacctaactggatgcactgggtccgccagg ctaccggtcaaggcctcgagtgatgggtaatatctaccccggaaccggcggtctaac ttcgacgagaagtttaagaatagagtgactatcaccgcgataagttctactagaccgc ctatatggaactgtctagcctgagatcagaggacaccgcgctctactactgcactaggt ggactacgggcacaggcgctactggggtcaaggcactaccgtgacggtgtctagcgt agcactaagggcctcgctgttcccccctggcaccctctgagccgagcactagagaatc

[0321]

		caccgctgccctcggctgccctggccaaggattacttcccggaagcccgtagccgtgtcct ggaaacagcggagccctgaacctccggagtgcacacctcccccgtgtgtgcagagctcc gggtgtactcgtcgtcgtcggtaggtcacggtagcctccatctagccctgggtaccagac ctacacttgcaacgtggaccacaagccttccaaactaagggtggacaagcgcgtcgaat cgaaagtacggccaccgtgccgccttgteccgcgcggagttcctcggcggccctcg gtctttctgtcccccgaagcccaaggacactttgatgatttcccgcaacctgaagt gacatgcgtgggtcgtggacgtgtcacaggaagatccggaggtgcagttcaattggtaag tggatggcgtcaggtgcacacgcccacaaaccaagccgaggaggagcagttcaactcc acttacccggtcgtgtccgtgtgcaggtgtgtgcacaggaactggctgaacgggaagga gtacaagtgcacaagtgtccacaaagggaacttcttagctcaatcgaaaagaccatctcga aagccaagggaacagcccggggaaccccaagtgtataccctgcacccagagccaggaagaa atgactaagaaccaagtctcattgacttgccttgtgaagggtctctaccatcggatat cgccgtggaaatgggagttccacggccagccggaaaaaactacaagaccacccctccgg tgctggactcagaaggatccctctctctctactcgcggctgacccgtggataagagcaga tggcaggagggaaatgtgttcagctgttctgtgatgcagccctgcacacgaacta cactcagaagtcctgtccctctccctggga
BAPC49-Clone- E LC		
SEQ ID NO: 163 (Kabat)	LCDR1	KSSQSLDSCNQKNFLT
SEQ ID NO: 164 (Kabat)	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 165 (Kabat)	LCDR3	QNDYSYPYT
SEQ ID NO: 166 (Chothia)	LCDR1	SQSLDSCNQKNF
SEQ ID NO: 167 (Chothia)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 168 (Chothia)	LCDR3	DYSYPY
SEQ ID NO: 169	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSCNQKNFLTWYQQKPGQAPRLIIYWAST RESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 170	DNA VL	Gagatcgtcctgactcagtcacccgctacccctgagcctgagccctggcgagcgggctac actgagctgtaaatctagtcagtcactgctggatagcggtaatcagaagaacttcctga cctgggtatcagcagaagcccggtcaagccctagacagctgatctactgggcctctact agagaatcaggcgtgccctctaggttttagcggtagcggtagtggaacgcacttcacctt cactatctctagcctggaagccgaggacgcgcgtacctactactgtcagaacgactata getaccctacaccttcgggtcaaggcactaaggctcgagattaag
SEQ ID NO: 171	LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSCNQKNFLTWYQQKPGQAPRLIIYWAST RESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEXHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0322]

SEQ ID NO: 172	DNA LC	Gagaicgtcctgactcagtcaccccgctacccctgagcctgagccctggcgagcgggctad actgagctgtaaatctagtccagtcactgctggatagcggtaatcagaagaacttcctga cctgggtatcagcagaagcccggtcaagcccctagactgctgatctactgggcctctact agagaatcaggcgtgcccctctagggttagcggtagcggtagtggaaccgacttccactt cactatctctagcctgggaagccgaggacgcgcgtacctactactgtcagaacgactata gtaccccctacacottcggtcaaggcaactaaggtegagattaaagcgtacgggtggccgct cccagcgtgttctatcttcccccagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc gggtgctgctgaacaacttctaccccgggagggccaagggtgcagtggaaggtggaca acgcccctgcagagcggcaacagccaggagagcgtcaccgagcaggacagcaaggactcc aactacagcctgagcagcaccctgaccctgagcaaggccgactacgagaagcataagggt gtacgcctgagaggtgacccacccaggcctgtccagcccgtgacccaagagcttcaaca ggggcgagtgcc
BAP049-Clone- B HC		
SEQ ID NO: 173 (Kabat)	HCDR1	ACCTACTGGATGCAC
SEQ ID NO: 174 (Kabat)	HCDR2	AAATATCTACCCCGGCACCCGGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTAAGAAT
SEQ ID NO: 175 (Kabat)	HCDR3	TGCACTACCCGGCACAGGCCCTAC
SEQ ID NO: 176 (Chothia)	HCDR1	GGCTACACCTTCACCTACCTAC
SEQ ID NO: 177 (Chothia)	HCDR2	TACCCCGGCACCCGGCGGC
SEQ ID NO: 178 (Chothia)	HCDR3	TGCACTACCCGGCACAGGCCCTAC
BAP049-Clone- B LC		
SEQ ID NO: 179 (Kabat)	LCDR1	AAATCTAGTCAGTCAGTCGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACTTCCTGACC
SEQ ID NO: 180 (Kabat)	LCDR2	TGGGCTCTCTACTAGAGAAATCA
SEQ ID NO: 181 (Kabat)	LCDR3	CACAACGACTATAGCTACCCCTACACC
SEQ ID NO: 182 (Chothia)	LCDR1	AGTCAGTCAGTCGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACTTC
SEQ ID NO: 183 (Chothia)	LCDR2	TGGGCTCTCT
SEQ ID NO: 184 (Chothia)	LCDR3	GACTATAGCTACCCCTAC
BAP049-Clone- E HC		
SEQ ID NO: 185	HCDR1	ACCTACTGGATGCAC

[0323]

(Kabat)		
SEQ ID NO: 186 (Kabat)	HCDR2	AATATCTACCCCGGCACCGCGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTAAGAAT
SEQ ID NO: 187 (Kabat)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
SEQ ID NO: 188 (Chothia)	HCDR1	GGCTACACCTTCACTACCTAC
SEQ ID NO: 189 (Chothia)	HCDR2	TACCCCGGCACCGCGGCGC
SEQ ID NO: 190 (Chothia)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
BAP049-Clone- E LC		
SEQ ID NO: 191 (Kabat)	LCDR1	AAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACTTCCTGACC
SEQ ID NO: 192 (Kabat)	LCDR2	TGGGCGCTCTACTAGAGAATCA
SEQ ID NO: 193 (Kabat)	LCDR3	CAGAACGACTATAGCTACCCCTACACC
SEQ ID NO: 194 (Chothia)	LCDR1	AGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACTTC
SEQ ID NO: 195 (Chothia)	LCDR2	TGGGCGCTCT
SEQ ID NO: 196 (Chothia)	LCDR3	CAGTATAGCTACCCCTAC
Nivolumab		
SEQ ID NO: 197	HC	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPFGKGLEWVAVIWDGSKRY YADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVPRSSSLGKTKYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGFPCPCPAPEFLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVGFNWNVVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTISSAKGQFPREPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLLTVDKSRWQEG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
SEQ ID NO: 198	LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISISLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Pembrolizumab		
SEQ ID NO: 199	HC	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFITNYMYWVRQAPFGQGLEWMMGINPSNGGTN FNEKFKNRVTLTDSSTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFYWGQGTITVTV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL

[0324]

		QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPFCPPCPAPEFLG GPSVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVFQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGPQPREPQVYTLPPS QSEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPFVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
SEQ ID NO: 200	LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAAYLE SGVPAREFSGSGSTDFLTITSSLEPEDFAVYYCQASRDLEFLTFGGGTKEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLINNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSY SLSSITLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Padilimumab		
SEQ ID NO: 201	HC	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYFTNYGMNWVRQAPGQGLQWMCWINTDSGEST YAEFEKGRFVFSIDTSVNTAYLQITSLTAEDTGMVFCVRVGYDALDYWGQGLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSCGTAAALCCLVKDYFPEPVTVSWNSCALTSCTVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGPQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPFVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 202	LC	EIVLTQSPSSLSASVGRVYITTCARSGVSYMHWFQQKPGKAPKLWIYRTSNLASGVPS RFSGSGSGTSYCLTINSIQPEDFATYYCQQRSSFLPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLINNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 203		GYTFTTYWMH

[0325] 发明实施方式

[0326] HuCAL**PLATINUM**®淘选

[0327] 噬菌粒文库基于HuCAL®概念 (Knappik等, J Mol Biol 296, 57-86. 2000), 并且使用CysDisplay®技术用于在噬菌体表面上展示Fab (WO 01/05950)。

[0328] 针对TGF-β2的基于珠子的淘选

[0329] 在基于珠子的淘选之前, 抗原必须固定于羧基珠子上 (Dynabeads®M-270羧酸, Invitrogen)。对于每个噬菌体集合 (pool), 用等体积的PBS/0.1% Tween20/5% 奶粉封闭 1×10^7 个抗原包被的珠子。平行地, 对于每个淘选, 用等体积的PBS/0.05% Tween20/5% 奶粉/5% BSA封闭HuCAL**PLATINUM**®噬菌体抗体。对于结合珠子的噬菌体的移出, 每次使用 $0.5-1.0 \times 10^7$ BSA包被的珠子, 对经封闭的噬菌体颗粒进行两次预吸附。随后, 将封闭的抗原包被的珠子加入预吸附的并经封闭的噬菌体颗粒中, 并在RT (室温) 下在转子上孵育1-2h。用磁分离器收集结合抗原包被的珠子的噬菌体颗粒。通过使用PBS/0.05% Tween20和PBS的几个洗涤步骤, 洗掉非特异性结合的噬菌体, 并使用DDT从抗原包被的珠子洗脱特异性结合的噬菌体。随后将DDT洗脱液转染至大肠杆菌TG1中并在37℃水浴中孵育45min, 用于噬菌体感染。将细菌沉淀物重悬浮于 $2 \times$ YT培养基中, 涂布于LB/Cam琼脂平板上, 并过夜孵育。从平板刮下菌落, 并用于噬菌体拯救、选定克隆的多克隆扩增和噬菌体生产。用纯化的噬菌体开始下一轮淘选。根据第一轮的方案, 进行第二和第三轮的基于珠子的淘选, 但是使用了更严格的洗涤条件。

[0330] 针对TGF- β 2的溶液淘选

[0331] 用于溶液淘选的先决条件是抗原的生物素化和生物素化抗原的保留活性的证实。在溶液淘选过程中,将Fab展示噬菌体和生物素化抗原在促进噬菌体接近抗原的溶液中孵育。

[0332] 使用偶合链霉亲和素的磁珠的溶液淘选方案

[0333] 对于每个噬菌体集合(pool),用1 $\times$ Chemiblocker封闭4mg链霉亲和素珠子(Dynabeads[®] M-280 Streptavidin, Invitrogen)。平行地,对于每个淘选,用Chemiblocker/0.1% Tween20封闭HuCAL PLATINUM[®]噬菌体-抗体。随后,为了移出结合链霉亲和素或结合珠子的噬菌体,每次使用链霉亲和素珠子,进行两次封闭的噬菌体颗粒预吸附。随后,将100nM生物素化的抗原TGF- β 2加入预吸附的并经封闭的噬菌体颗粒中,并在RT下在转子上孵育1-2h。使用2mg封闭的链霉亲和素珠子捕获噬菌体-抗原复合物并用磁分离器收集结合至链霉亲和素珠子的噬菌体颗粒。通过使用PBS/0.05% Tween20和PBS的几个洗涤步骤,洗掉非特异性结合的噬菌体。使用DTT从链霉亲和素珠子洗脱特异性结合的噬菌体。随后将DTT洗脱液转染至大肠杆菌TG1中,并孵育TG1和DTT洗脱液的混合物,用于噬菌体感染。将细菌沉淀物重悬浮于2 $\times$ YT培养基中,涂布于LB/Cam琼脂平板上,并过夜孵育。从平板刮下菌落,并用于噬菌体拯救、选定克隆的多克隆扩增和噬菌体生产。用纯化的噬菌体开始下一轮淘选。根据第一轮的方案进行第二和第三轮的溶液淘选,但是使用降低的抗原含量和更严格的洗涤条件。

[0334] **RapMAT[®]**淘选

[0335] 为了获得具有提高的亲合力的特异性抗体,进行了**RapMAT[®]**淘选(Prassler等, Immunotherapy 1, 571-583, 2009)。为了这个目的,如上所述,用抗原TGF- β 2进行了两轮基于珠子的淘选或溶液淘选。a) 对于LCDR3**RapMAT[®]**:第2轮淘选后,通过酶消化噬菌体衍生的pMORPH30[®]载体DNA的Fab编码片段,并通过酶连接插入TRIM[™]LCDR3成熟盒(Virnekas等, 1994),使LCDR3s多样化。b) 对于HCDR2**RapMAT[®]**:第2轮淘选后,通过酶消化噬菌体衍生的pMORPH[®]30载体DNA的Fab编码片段,并通过酶连接插入TRIM[™]HCDR2成熟盒(Virnekas等, Nucleic Acids Res 22, 5600-5607, 1994),使HCDR2s多样化。

[0336] 在大肠杆菌TOP10F[']细胞中,将连接混合物电穿孔,产生 $>5 \times 10^6$ 个独立菌落。将产生的文库扩增并再接受两轮严格性提高的淘选,对于第3轮和第4轮溶液淘选,分别使用5nM和0.5nM的抗原浓度。

[0337] 选定的Fab片段的亚克隆和筛选规模表达

[0338] 为了促进可溶性Fab的快速表达,将选定的HuCAL PLATINUM[®]噬菌体的Fab编码插入片段从pMORPH[®]30展示载体亚克隆至pMORPH[®] $\times$ 11表达载体pMORPH[®] $\times$ 11_Fab_FH中。转化大肠杆菌TG1-F[']后,按照之前所述的(Rauchenberger等, J Biol Chem 278, 38194-38205, 2003),进行了单克隆表达和含有HuCAL[®]-Fab片段的周质提取物的制备。

[0339] 主板(masterplate)的产生

[0340] 将氯霉素抗性单克隆挑取至预装了 $2 \times \text{YT-CG}$ ($34 \mu\text{g/ml}$ 氯霉素 (Cam); 0.1% 葡萄糖) 培养基的无菌384-孔微滴定板的孔中,并在 37°C 下过夜生长。第二天早上,将含有丙三醇的无菌 $2 \times \text{YT}$ 培养基加入主板的每个孔中;用铝箔将平板密封并储存在 -80°C 。以下两个章节描述了分别以394-和96-孔格式从表达Fab的大肠杆菌制备裂解物。这些表达平板随后用于筛选方法。

[0341] 用于ELISA和FMAT筛选的含Fab细菌裂解物的制备

[0342] 将 $5 \mu\text{l}$ 的每个过夜培养物转移至每孔预装了 $2 \times \text{YT-CG}$ 培养基 ($34 \mu\text{g/ml}$ 氯霉素 (Cam); 0.1% 葡萄糖) 的无菌384-孔微滴定板中。将平板在 37°C 下孵育,直至培养物略有混浊,每孔添加含有Cam和IPTG的 $2 \times \text{YT}$ 培养基。过夜孵育后,加入BEL缓冲液 (2.5mg/ml 溶菌酶, 4mM EDTA, $10 \text{U}/\mu\text{l}$ Benzonase),并将平板孵育1小时。

[0343] 用于pSMAD3**SureFire®**试验的含Fab细菌裂解物的制备

[0344] 将 $5 \mu\text{l}$ 的每个过夜培养物转移至每孔预装了 $100 \mu\text{l}$ 的 $2 \times \text{YT-CG}$ 培养基 ($34 \mu\text{g/ml}$ Cam; 0.1% 葡萄糖) 的无菌96-孔微滴定板中。将平板在 22°C 孵育直至培养物略有混浊,并且每孔添加含有Cam和IPTG的 $2 \times \text{YT}$ 培养基。第二天早上,通过离心沉淀细菌,丢弃上清液,并将BEL缓冲液 (2.5mg/ml 溶菌酶,完全(无EDTA;Roche), $20 \text{U}/\mu\text{l}$ Benzonase) 加入每孔中。将平板孵育2h,并将BEL-裂解物(通过使用BEL缓冲液产生的裂解物)离心,以沉淀细菌细胞碎片。将含有Fab的上清液用于筛选目的(例如,pSMAD3**SureFire®**试验)。

[0345] 含Fab的原始细菌裂解物的筛选

[0346] ELISA筛选

[0347] 使用ELISA筛选,从淘选产出物鉴定Fab单克隆,用于结合靶抗原人TGF- $\beta 2$ 蛋白。使用上述含Fab的粗制大肠杆菌裂解物测试Fab。

[0348] 在直接包被的抗原上的ELISA筛选

[0349] 在SET之前,将这种方法用于筛选一些**RapMAT®**淘选物。分别用PBS中 $5 \mu\text{g/ml}$ 或 $1 \mu\text{g/ml}$ 浓度的小鼠TGF- $\beta 2$ 包被Maxisorp™384-孔平板。用PBS中的 5% 脱脂奶粉封闭平板后,加入含Fab的大肠杆菌裂解物。使用Attophos荧光底物 (Roche, #11681982001),通过缀合碱性磷酸酶的F(ab) $_2$ 特异性山羊抗人IgG (Jackson Immuno Research, #109-055-097) 来检测Fab的结合。用 430nm 处的激发,记录了 535nm 处的荧光发射。

[0350] 生物素化抗原的ELISA筛选 (Fab捕获ELISA)

[0351] 在ELISA设定中评价了抗TGF- $\beta 2$ Fab抗体对人TGF- $\beta 2$ 和小鼠TGF- $\beta 2$ 的特异性以及与大鼠TGF- $\beta 3$ 的交叉反应性。

[0352] 为此,如果没有另外陈述,用PBS中 $1:1000$ 稀释的Fd片段特异性绵羊抗人IgG (The binding site, #PC075) 包被Maxisorp™384-孔平板。用PBS中的 5% 脱脂奶粉封闭后,加入含Fab的大肠杆菌裂解物。随后,使捕获的**HuCAL®** Fab片段结合生物素化抗原。使用以下浓度的生物素化抗原,用于筛选:

[0353] $-1 \mu\text{g/ml}$ 生物素化人TGF- $\beta 2$ /生物素化转铁蛋白(用于在无关生物素化蛋白上的反筛选),用于标准淘选物的基于Fab捕获ELISA的筛选;

[0354] $-0.01 \mu\text{g/ml}$ 生物素化人TGF- $\beta 2$,用于SET前一些**RapMAT®**淘选物的基于Fab捕

获ELISA的筛选;

[0355] 通过与缀合碱性磷酸酶(磷酸酶(Invitrogen (Zymed), #43-4322))的链霉亲和素孵育,接着添加AttoPhos荧光底物(Roche, #11681982001),来检测抗TGF- β 2Fab抗体结合的生物素化抗原。用430nm激发,记录了535nm的荧光发射。

[0356] FMAT筛选

[0357] 使用FMAT(荧光微体积测定技术, Fluorometric Microvolume Assay Technology)筛选,从淘选产出物鉴定Fab单克隆,用于结合固定于珠子上的靶抗原(将抗原或BSA固定于如上所述的羧基珠子上)。使用含Fab的粗制大肠杆菌裂解物(如上述制备的)测试Fab。

[0358] 将含Fab的裂解物和珠子在PBS/0.1% Tween20/3% BSA中封闭。将封闭的裂解物、封闭的珠子和CyTM5-缀合的AffiniPure F(ab')₂片段山羊抗人IgG(Jackson ImmunoResearch, #109-176-097)转移至FMAT平板。将平板在黑暗中在室温下孵育~3小时。根据制造商的说明,使用8200 Cellular检测系统(Applied Biosystems),获取了FMAT读数。

[0359] SET筛选

[0360] 基本上如上所述,进行了亲和力分级。为了通过基于(Haenel等, Anal Biochem 339, 182-184, 2005)所述原理的溶液平衡滴定对成熟结合物分级,用不同浓度的抗原将恒定量的稀释的BEL提取物(使用BEL缓冲液产生的裂解物:2.5mg/ml溶菌酶,4mM EDTA,10U/ μ l Benzonase)平衡过夜。

[0361] 随后,将混合物转移至之前用抗原包被的MSD平板,并在孵育和洗涤后,加入合适的MSD-Sulfo-Tag标记的检测抗体。随后,使用Sector成像仪6000(Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD, USA),经由ECL检测,定量未结合Fab的浓度。使用XLift(IDBS)软件处理结果,应用相应的拟合模型(参见以下的)来估算亲和力,并由此鉴定通过成熟提高最多的克隆。

[0362] **HuCAL®**Fab片段的表达和纯化

[0363] 大肠杆菌中His-标记的**HuCAL®**Fab片段的微表达和微纯化

[0364] 使用补充了0.1%葡萄糖、34 μ g/ml氯霉素和0.1mM IPTG(异丙基- β -D-硫代半乳-吡喃糖苷)的25ml 2xYT培养基,在50ml Falcon中,在大肠杆菌TG1F⁻细胞中表达由pMORPH[®]x11_Fab_FH编码的Fab片段。将培养物在30℃下振荡18h。收集细胞并使用溶菌酶和Bug Buster蛋白提取试剂(Novagen, 德国)的组合破坏。经由IMAC(Qiagen, 德国)分离His₆-标记的Fab片段(SEQ ID NO:204公开的“His₆”)。使用D-Tube96TM-分析仪(MWCO 6-8kDa, Novagen, 德国),进行缓冲液更换,更换成1×Dulbecco's PBS(pH7.2)。通过UV-分光光度测定法测定了蛋白质浓度。在变性还原15%SDS-PAGE中分析了代表性选定的样品的纯度。

[0365] 大肠杆菌中His-标记的**HuCAL®**Fab片段的表达和纯化

[0366] 使用500ml补充了0.1%葡萄糖和34 μ g/ml氯霉素的2×YT培养基,在摇瓶培养中进行了大肠杆菌TG1F⁻细胞中pMORPH[®]×11_Fab_FH编码的Fab片段的表达。将培养物在30℃下振荡,直至OD₆₀₀达到0.5的值。通过添加0.75mM终浓度的IPTG(异丙基- β -D-硫代半乳

糖吡喃糖苷)来诱导Fab表达,并在30℃下进一步培养20h。收集细胞并使用溶菌酶破坏。经由IMAC(Bio-Rad,德国)分离His₆-标记的Fab片段(SEQ ID NO:204公开的“His₆”),并使用咪唑洗脱。使用PD10柱(GE Healthcare,德国)进行缓冲液交换,交换成1×Dulbecco's PBS(pH7.2)。将样品无菌过滤(0.2μm)。通过UV-分光光度测定法测定了蛋白质浓度。在变性还原15%SDS-PAGE中分析了样品的纯度。使用校准标品,通过大小排阻色谱(HP-SEC),以天然状态测定了Fab制备物的均一性。

[0367] 功能性Bio-测定试验

[0368] 报告基因测定试验(RGA)

[0369] HEK293T/17细胞系的培养

[0370] 在含有10%FBS(胎牛血清)、2mM L-谷氨酰胺、青霉素(50IE/ml)和链霉素(50μg/ml)的DMEM(Dulbecco's改良Eagle's培养基)中维持HEK293T/17细胞。将细胞在37℃和5%CO₂的培养箱中生长,并且每3-4天传代培养。使用Accutase™使细胞脱壁,并随后转移至含有新鲜培养基的新烧瓶中。按照以上针对亲本HEK293T/17细胞所述的,培养用CAGA-12luc稳定转染的HEK293T/17细胞,但细胞生长培养基除了FBS、青霉素和链霉素还补充了4mM L-谷氨酰胺和3μg/ml杀稻瘟菌素(blasticidin)。

[0371] TGF-β蛋白诱导的荧光素酶报告基因测定试验

[0372] 为了测定抗TGF-β2抗体抑制TGF-β2诱导的信号传导的能力和相对于其他TGF-β1、TGF-β3、myostatin、激活素和GDF-11的特异性,进行了使用稳定的报告细胞系HEK293T/17 CAGA-12luc的报告基因测定试验。CAGA-12荧光素酶报告构建体携带位于最小启动子和多CAGA盒(其特异于磷酸化的Smad-2和Smad-3)下游的荧光素酶基因。添加纯化的重组TGF-β2(以及TGF-β3、TGF-β1、myostatin、GDF-11和激活素)可以诱导Smad-2和Smad-3磷酸化并因此诱导与CAGA-12报告分子的结合,和导致荧光素酶基因表达。在HEK293T/17 CAGA-12luc细胞90%汇合时,使用accutase将细胞脱壁,并在测定培养基(补充了2%FBS和2mM L-谷氨酰胺的DMEM)中稀释至 2.5×10^5 细胞/ml浓度。随后,将每孔100μl细胞接种至白色平底96-孔平板中(BD Falcon,#353296)并在37℃和5%CO₂下孵育过夜。第二天,将所需浓度的TGF-β2抗体(Fab或IgG)与TGF-β蛋白在PBS中混合。在该测定中混合物中抗原的终浓度对应于其相应的~EC₈₀浓度,并且如下:TGF-β1/2/3蛋白-12pM(活性二聚物),激活素A、GDF-8、GDF-11-1nM(活性二聚物),和激活素B、激活素AB-100pM(活性二聚物)。将抗原和抗体在室温下孵育30分钟。从细胞除去测定培养基,并将混合物加入接种的细胞中。过夜孵育后,除去测定培养基,并将70μl PBS(含有CaCl₂和MgCl₂)加入每个孔中。适应至室温后,将50μl新鲜制备的BriteLite Plus试剂(PerkinElmer,#6016761)加入每个孔中。5min孵育时间后,在Luminometer(GeniosPro,Tecan)中阅读化学发光。在各抗体完全滴定后,使用Prism软件(GraphPad软件)计算了半最大抑制浓度(IC₅₀值)。

[0373] 受体/配体相互作用Elisa

[0374] 为了评价抑制性Fab是否通过阻断人TGF-βRIII/Fc的TGF-β2结合位点起作用,进行了TGF-β受体-TGF-β相互作用ELISA。

[0375] TGF-β2-TGF-βRIII相互作用测定试验

[0376] 为此,用2μg/ml(~22nM)TGF-βRIII(R&D Systems,#LF1309051),在4℃下将Maxisorp™384-孔平板包被过夜。用不同的Fab/IgG浓度,将1.25μg/ml(~100nM)生物素化

的人TGF- β 2孵育30min,并随后加入用Chemiblocker封闭的包被孔中。通过用缀合碱性磷酸酶(Invitrogen(Zymed),#43-4322)的链霉亲和素孵育,接着添加AttoPhos荧光底物(Roche,#11681982001),检测了结合的生物素化的人TGF- β 2。用430nm激发,记录了535nm的荧光发射。

[0377] pSMAD3**SureFire®**测定试验

[0378] 为了此功能性筛选,将特别制备的含Fab细菌裂解物(BEL缓冲液)用于测定HEK293T细胞中TGF- β 诱导的Smad3磷酸化,使用**AlphaScreen® SureFire®** for phospho-SMAD3(Ser423/425)试剂盒(PerkinElmer#TGRSM3S10K)和**AlphaScreen®** IgG(蛋白A)检测试剂盒(#6760617C)。为了测定BEL裂解物的TGF- β 2/3中和能力,将来自报告细胞系HEK293T(CAGA-12荧光素酶)的细胞以每孔8,000个接种于胶原蛋白包被的proxiplate™中的测定培养基(补充了2%FBS和2mM L-谷氨酰胺的DMEM)中,并在37℃和5%CO₂下培养过夜。第二天,制备了含有25 μ l BEL裂解物和75 μ l分别补充了0.3ng/ml TGF- β 2或3的无血清测定培养基的主板。通过将平板在纸巾上轻击和敲打,从细胞除去测定培养基。随后,将15 μ l从主板转移至HEK293T细胞,并在37℃和5%CO₂下刺激1h。除去培养基并将4 μ l 1 $\times$ 裂解缓冲液加入每个孔中。在-80℃下储存平板,直至分析。为了分析,加入5 μ l“受体珠子混合物”,持续两小时,接着加入2 μ l“供体珠子混合物”,并再孵育两小时。使用AlphaScreen设定,将平板在AlphaScreen平板阅读器上阅读平板。

[0379] 骨骼肌细胞分化测定试验(肌酸激酶(CK)测定试验)

[0380] 使用由补充了20%FCS(PAA)的骨骼肌基础培养基(skBM;Lonza)组成的生长培养基(GM),在96-孔平板(7500细胞/孔)中培养人骨骼肌细胞(HsKMC;Lonza)。接种后24至48小时,通过变成由skBM组成的无血清分化培养基(DM)来启动分化。在分化开始时添加0.3ng/ml TGF- β 2和7个不同浓度(高达3 μ g/ml)的相应IgG1来评价对HuSKMC分化的作用,并且使细胞分化成肌管长达120h。用PBS将细胞洗涤三次并随后用报告裂解缓冲液(Promega)裂解,并在-80℃下储存直至测量。使用CK(IFCC)试剂(Thermo Electron)测量了CK活性。根据制造商的说明制备CK试剂。为了允许调节至室温(RT),至少在测量前90分钟,从-80℃取出测定平板。每个孔添加75 μ l CK试剂后(参见平板设计),将测定平板立即转移至ELISA阅读器,并且在340nm下阅读吸光值20min,阅读间隔为1min。为了计算CK活性,使用来自兔肌肉的CK(#10127566001;Roche Diagnostics),在报告裂解缓冲液中新鲜制备了标准曲线(0.02-40 μ g/ml)。

[0381] 使用二喹啉甲酸(bicinchoninic acid,BCA)试剂(#BCA-1;Sigma),测定了蛋白质含量。根据制造商的说明,制备了BCA试剂。每个孔中添加200 μ l BCA试剂后,将测定平板在37℃下孵育30min,并随后在562nm下阅读吸光值。为了计算蛋白质含量,制备了蛋白质标准曲线(报告裂解缓冲液中0.25-1mg/ml)。如下计算了CK活性(还参见Florini等,1989)。将在21个时间点的每一个记录的吸光值取平均,并绘制曲线。从这些曲线的线性部分,通过线性回归(使用SigmaPlot软件)测定了最大斜率,并借助CK标准曲线转化成CK活性(毫单位)。随后用相应的蛋白质含量将值标准化,并且将CK活性表示为毫单位/mg蛋白或对照的百分比(如果可能,通过sigmoid曲线拟合(使用XLift软件)评价了CK活性浓度-反应数据,产生EC₅₀值(引起半最大效应的浓度)和E_{max}(最大效应))。

[0382] 亲和力测定

[0383] 使用表面等离子体共振(Biacore)的亲和力测定

[0384] 为了直接的抗原固定,使用了标准EDC-NHS胺偶联化学。用10mM醋酸盐缓冲液pH4.5中的合适共振单位(RU)的人或小鼠TGFβ-2/Fc(根据抗原的活性),包被了CM5芯片(Biacore,瑞典)。对于参照流动池,使用相应量的HAS。使用5μl 10mM甘氨酸/HCl缓冲液pH1.5进行再生。或者,不直接固定抗原,而是将抗原捕获在CM5芯片上,芯片用抗人Fc抗体(Fc捕获试剂盒,GE Healthcare/Biacore)修饰。在参照流动池上,固定了捕获抗体,但不捕获抗原。使用2次注射5μL 3M MgCl₂,实现再生。使用一排连续稀释的Fab样品,以20μl/min的流速,在Dulbecco's PBS中进行了动力学测量。Fab浓度范围从15.6至500nM。每个浓度的注射时间为1min。将解离时间设定为至少2min(或更长,根据测定的亲和力)。使用运行缓冲液的空白注射,用于双重参照。使用BIA评价软件3.2(Biacore,瑞典),全面地拟合所有传感图。

[0385] 使用溶液平衡滴定(SET)方法(Sector Imager 6000(MSD))进行选定的抗人TGF-β2Fab和IgG的亲和力测定

[0386] 对于KD测定,使用抗体蛋白的单体级分(至少90%单体含量,通过分析性SEC分析的;分别地,对于Fab为Superdex75(Amersham Pharmacia),或对于IgG为Tosoh G3000SWXL(Tosoh Bioscience))。基本上按照文献中所述的,进行了溶液中的亲和力测定(Friquet等,J Immunol Meth 77,305-319.1985)。为了提高SET方法的灵敏度和准确性,从经典ELISA转移至基于ECL的技术(Haenel等,Anal Biochem 339,182-184.2005)。根据制造商的说明,用MSD-磺基-TAGTM NHS-酯(Meso Scale Discovery,Gaithersburg,MD,USA)标记1mg/ml山羊抗人(Fab)2片段特异性抗体(Dianova)。在含有0.5%BSA和0.02%Tween-20的聚丙烯微滴定平板和PBS pH7.4中进行了试验。以2n系列稀释了未标记的抗原,从高于预期KD至少10倍的浓度开始。将不含抗原的孔用于测定B_{max}值;将只含测定缓冲液的孔用于测定背景。添加合适量的结合剂后(抗体浓度与预期的KD相似或低于预期的KD,60μl终体积),将混合物在RT下孵育过夜。用抗原(30μl/孔)包被MSD平板。用含有0.02%Tween-20的PBS洗涤平板后,将经平衡的样品转移至这些平板(30μl/孔)并孵育20min。洗涤后,将30μl/孔的MSD-磺基-Tag标记的检测抗体(抗人(Fab)2,最终稀释通常为1:2,000)加入MSD平板中,并在Eppendorf振荡器(700rpm)上在RT下孵育30min。洗涤MSD平板并添加30μl/孔带表面活性剂的MSD阅读缓冲液T后,使用Sector Imager 6000(Meso Scale Discovery,Gaithersburg,MD,USA)检测了电化学发光信号。

[0387] 应用定制拟合模型,用XLfit(IDBS)软件评价了数据。对于Fab分子的KD测定,使用以下拟合模型(根据(Haenel等,Anal Biochem 339,182-184.2005),根据(Abraham等,J Mol Recognit.9,456-461.1996)修改):

$$[0388] \quad y = B_{\max} - \left(\frac{B_{\max}}{2[Fab]} \left([Fab]_t + x + K_D - \sqrt{([Fab]_t + x + K_D)^2 - 4x[Fab]_t} \right) \right)$$

[0389] [Fab]_t:应用的总Fab浓度

[0390] x:应用的总可溶性抗原浓度(结合位点)

[0391] B_{max}:无抗原的Fab的最大信号

[0392] KD:亲和力

[0393] Fab的亲合力测定

[0394] 基本上如下进行了抗TGF- β 2Fab的KD测定:对于所有稀释,用4mMHC1预先稀释人TGF- β 2至100 μ g/mL。为了包被,将抗原在PBS中进一步稀释至0.05 μ g/ml (TGF- β 2),并在标准MSD平板上在4 $^{\circ}$ C过夜包被。随后,用PBS中的3%BSA在RT下将MSD平板封闭1h。

[0395] 与TGF- β 1/3和反靶(counter-targets)的结合

[0396] 对于基于SET分析与TGF- β 1、TGF- β 3和反靶(Myostatin,GDF-11、激活素A、激活素B和激活素AB)的结合,如所述的,分别包被特异性抗原人TGF- β 1或TGF- β 3。将待测蛋白用于滴定并以2ⁿ系列稀释。分别地,起始浓度对于TGF- β 1为2 μ M,对于TGF- β 3为0.05 μ g/ml或对于所有反靶为100nM。

[0397] 表位分箱(binining)

[0398] 用PBS中稀释的2.5 μ g/ml的TGF- β 2特异性Fab,在4 $^{\circ}$ C下,将MaxisorpTM384-孔平板包被过夜。用含有0.1 μ g/ml (~8nM) 恒定TGF- β 2浓度以及滴定度的Fab(使用与TGF- β 2蛋白相比12.5摩尔过量的Fab(5 μ g/ml(100nM))开始),在溶液中将生物素化的TGF- β 2蛋白在室温下孵育一小时。随后将Fab-TGF- β 2复合物加入用BSA封闭的Fab包被的孔中30分钟。通过用缀合碱性磷酸酶(Invitrogen(Zymed), #43-4322)的链霉亲和素孵育,接着添加AttoPhos荧光底物(Roche, #11681982001),来检测结合的生物素化的TGF- β 2。用430nm激发,记录了535nm的荧光发射。

[0399] 转化成IgG

[0400] 为了表达全长IgG,将重链(VH)和轻链(VL)的可变结构域片段从Fab表达载体亚克隆至用于人IgG1f_LALA的pMorph[®]4_hlg1f_LALA_ κ 或pMorph[®]4_hlg1f_LALA_ λ 载体。

[0401] **HuCAL[®]**免疫球蛋白的产生

[0402] 使用pMORPH[®]4载体系统的人IgG的瞬时探索性表达和纯化。用编码IgG重链和轻链的pMORPH[®]4表达载体DNA转染真核HEK293T细胞。在转染后第3天或第7天,收集细胞培养物上清液,并接受标准蛋白A亲和色谱(MabSelect SURE,GE Healthcare)。如果没有另外指出,进行缓冲液交换,交换成1 $\times$ Dulbecco's PBS(pH7.2,Invitrogen)并将样品无菌过滤(0.2 μ m孔径)。使用Labchip System(Caliper Life Science,USA或Agilent,USA)或在SDS-PAGE上,在变性、还原或非还原条件下,分析了IgG的纯度。通过UV-分光光度测定法测定了蛋白质浓度,并进行HP-SEC来分析非变性状态下的IgG制备物。

[0403] 淘选、抗体鉴定和表征

[0404] 使用商业上可购得的噬菌体展示文库MorphoSys HuCAL[®]PLATINUM[®]文库作为抗体变体蛋白的来源,通过选择具有高结合亲和力的克隆,产生了中和抗原TGF- β 2蛋白的生物活性的治疗抗体。HuCAL[®]PLATINUM[®]噬菌粒文库基于HuCAL[®]概念(Knappik等, J Mol Biol 296,57-86,2000)并使用CysDisplay[®]技术用于在噬菌体表面上展示Fab(WO 01/05950)。

[0405] 进行了五个淘选策略,三个基于珠子的和两个溶液淘选。使用标准淘选的第二轮产出物,进行了RapMAT[®]淘选。为了提高选择高度多样的HuCAL[®]抗体的可能性,文库

合并物(library pools)保持主要分离的。为了提高产生高亲和力抗体的可能性,将标准淘选的第二轮产出物用于进行**RapMAT[®]**。将H-CDR2和L-CDR3分开多样化。针对与人TGF- β 2的结合,筛选标准淘选产出物。基于淘选策略选择了筛选方法:使用FMAT方法筛选了珠子淘选物,使用Fab捕获ELISA方法筛选了溶液淘选物。使用FMAT进行了针对TGF- β 1的反筛。进行了基于pSmad3**SureFire[®]**的筛选,用于反向针对rhTGF- β 2的淘选。使用SET方法,主要针对大部分亲和(affine)命中物,筛选了**RapMAT[®]**淘选产出物。作为标准**vs.RapMAT[®]**淘选的一部分,进行了基于pSmad3**SureFire[®]**的筛选,用于针对rhTGF- β 2的反向淘选。使用这些方法,分析了对hTGF- β 2的抑制。应用了严格的ELISA筛选来选择hTGF- β 2和TGF- β 3阴性克隆。另外,SET筛选包括针对TGF- β 1的反筛,以排除高亲和(TGF- β 1上的KD<25nM)TGF- β 1结合剂。在标准淘选的初级筛选中鉴定的初级命中物中,在强化的基于pSmad3**SureFire[®]**的筛选中鉴定了27个单克隆TGF- β 2抑制性抗体。随后,以探索性规模表达和纯化了10/27独特的强化克隆。随后还在RGA中分析了这些纯化的Fab蛋白。将**RapMAT[®]**淘选的初级筛选中鉴定的初级命中物以Fab-FH格式微表达和微纯化并随后针对RGA中hTGF- β 2、mTGF- β 2、TGF- β 3和TGF- β 1的抑制进行分析。结合pSmad3**SureFire[®]**筛选方法中鉴定的mTGF- β 2抑制性命中物,38个独特的强化抗体随后以Fab-FH格式以探索性规模表达,并且也在RGA中进行了分析。针对强化步骤选择了最有效的二级命中物,所述强化步骤包括在ELISA中分析与不同TGF- β 同种型的结合并测序。从所有淘选和筛选策略,总共190个独特的Fab可以被强化。190个独特的强化的抗体的序列分析显示:

[0406] -90个HCDR3家族;

[0407] -89个 κ 和101个 λ 抗体。

[0408] 在大肠杆菌中表达这190个强化的Fab并纯化。169/190个表达的Fab通过质量控制,并针对人TGF- β 2、小鼠TGF- β 2、人TGF- β 3和人TGF- β 1的抑制,在RGA中表征。基于表征结果,选择最有前景的116个抗体,用于通过**RapCLONE[®]**转化成hIgG1f_LALA格式。

[0409] 包括选择-可研发性评价(s-DAS)的IgG表征

[0410] 将116个IgG在真核HKB11细胞中表达并纯化。90/116个表达的IgG通过了质量控制,并针对人TGF- β 2、小鼠TGF- β 2、人TGF- β 3和人TGF- β 1的抑制,在RGA中进行了表征。发现由于聚集倾向,高比例的抗体具有高或中等的可研发性风险。在延伸的s-DAS分析内,还进行了疏水性分析。结果揭示了高比例的非常疏水的抗体。发现高疏水性与抗体的聚集趋势相关:与描述为具有研发性低风险的抗体相比,在描述为具有高或中等研发性风险的抗体中发现了更高比例的具有高/中等疏水性的抗体。

[0411] 候选物的表征(在种系化和PTM去除前)

[0412] 56个通过s-DAS的抗体在RGA中显示出亲和力和效力。基于RGA和CK测定中的活性以及延伸的s-DAS数据(s-DAS+疏水性评价),选择了六个抗TGF- β 2抗体用于体内表征和PTM去除/种系化(germlining)。在以下的多个试验中表征了这6个选定的抗体(MOR12733、MOR13436、MOR13438、MOR12413、MOR13416、MOR13426)。

[0413] 亲和力测定

[0414] 根据上述的原理和条件,使用SET测定了抗体抗原相互作用的 K_D 值。TGF- β 2特异性Ab MOR13436和选定TGF- β 2抗体的 K_D 值总结于表1中。此项目的 K_D 成功标准设定为对于人TGF- β 2低于200pM。所有选定的TGF- β 2特异性抗体候选物满足此标准。TGF- β 2特异性应当优选以5倍放松的标准 (relaxed criteria) 结合小鼠TGF- β 2。6个选定的TGF- β 2特异性抗体中的4个满足该标准。

[0415] 表1通过SET测量的 K_D 测定值 (在种系化/PTM去除前)

[0416]

编号	hTGF- β 2 KD [pM]	mTGF- β 2 KD [pM]	hTGF- β 3 KD [pM]
MOR12773	23	2700	无信号
MOR13436	4	18	n.a.
MOR13438	2	110	n.a.
MOR12413	8	2000	n.a.

[0417]

MOR13416	2	130	n.a.
MOR13426	8	4	n.a.

[0418] n.a.没有亲和力,直至2 μ M

[0419] 与反靶的交叉反应性

[0420] 根据上述的原理和条件,使用SET分析了最终抗体 (在PTM去除和种系化之前) 与TGF- β 1和五个反靶 (Myostatin、GDF-11、激活素A、激活素B和激活素AB) 的结合。所有选定的TGF- β 2特异性Ab满足成功标准。

[0421] RGA中的活性

[0422] 使用上述条件,在RGA中针对hTGF- β 2、mTGF- β 2、TGF- β 3和TGF- β 1的抑制,分析了最终抗体 (PTM去除和种系化前) 的活性。针对MOR13436,RGA活性数据的例子在图3中给出。针对此项目,RGA中 IC_{50} 的成功标准设定为针对人TGF- β 2低于200pM。所有选定的TGF- β 2特异性抗体候选物满足此标准。

[0423] CK测定试验中的活性

[0424] 使用上述条件,在CK测定试验中分析了最终抗体 (PTM去除和种系化前) 的活性。CK测定数据与RGA数据很好地相关,通常在CK测定中具有较低效力。针对此项目,CK测定中 IC_{50} 的成功标准设定为分别针对人TGF- β 2和TGF- β 3抗体低于1000pM。MOR13436的浓度-响应曲线的实例呈现于图5中。

[0425] 受体-配体相互作用测定试验

[0426] 使用上述条件,在受体-配体相互作用测定试验中分析了最终抗体 (PTM去除和种系化前) 抑制TGF- β 2与TGF- β RIII结合的能力。

[0427] 最终候选物的种系化/工程化

[0428] 表2:针对必需的PTM去除和种系化,分析了TGF- β 2特异性抗体的序列。

[0429]

编号	VH	VL	待去除的 PTM						待进行的种系化							
			HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3	VH-FR1	VH-FR2	VH-FR3	VH-FR4	VL-FR1	VL-FR2	VL-FR3	VL-FR4
MOR12773	VH2	κ 1	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-
MOR13436	VH5	λ 3	-	NS	-	-	NS	-	-	-	-	-	6	-	3	-
MOR13438	VH5	λ 3	-	NS	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	3	-
MOR12413	VH1A	κ 1	-	-	DG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[0430] 在PTM去除和种系化后,在pM4_hIgG1f_LALA_ κ 或pM4_hIgG1f_LALA_ λ 中产生了总共23个衍生物。表提供了PTM去除和种系化后抗体衍生物的概览。

[0431] 表3:PTM去除/种系化后的抗体衍生物

[0432]

亲本抗体	抗体衍生物	PTM 去除/种系化详细内容
MOR12773	14797	VH2 种系化: aa 位置根据 Chothia
MOR13436	14799	N54Q (HCDR2) + λ 3 种系化至 VL3_3j + N51K (LCDR2)
	14800	N54Q (HCDR2) + λ 3 种系化至 VL3_3j + N51T (LCDR2)
	14805	N54T (HCDR2) + λ 3 种系化至 VL3_3j + N51K (LCDR2)
MOR13438	14809	N54T (HCDR2) + λ 3 种系化至 VL3_3j
MOR12413	14787	D95E (HCDR3)

[0433] RGA中的活性

[0434] 使用上述条件,在RGA中,针对hTGF- β 2、mTGF- β 2、TGF- β 3和TGF- β 1的抑制,分析了最终抗体 (PTM去除和种系化后) 的活性。数据总结于表4中。

[0435] CK测定中的活性

[0436] 使用上述条件,在CK测定中分析了最终抗体 (PTM去除和种系化后) 的活性。数据总结于表4中。

[0437] 表4:TGF- β 2特异性Ab的结合和生物活性

[0438]

	RGA(CAGA-12 luc/Smad-2/3 RGA; IC50 [pM])				BiaCORE (表面等离子体共振; KD [M])			CK(IC 50 [pM])	
Ab	人 TGF-β2	小鼠 TGF-β2	人 TGF-β3	人 TGF-β1	人 TGF-β2	小鼠 TGF-β2	人 TGF-β3	人 TGF-β2	小鼠 TGF-β2
MOR 14797	8.4	329	n.e.	n.e.	4.46E-15	6.33E-13	2.74E-08	105	1504
MOR 14799	78	138	n.e.	n.e.	1.08E-15	2.77E-15	1.99E-11	1050	909
MOR 14800	29	123	n.e.	n.e.	4.34E-16	1.09E-15	> 1 E-06	491	1200
MOR 14805	106	248	n.e.	n.e.	9.70E-13	1.31E-16	7.05E-11	315	629
MOR 14809	94	598	n.e.	n.e.	5.24E-14	2.36E-15	> 1 E-06	220	800
MOR 14787	2.8	n.e.	n.e.	n.e.	7.38E-16	1.89E-12	> 1 E-06	366	3000
CAT -152	26	298	1234	n.e.	7.3E-11		1.175 E-09		
1D11	4370	n.e.	32	108	1.17E-10		2.0E-11		

[0439] CK:骨骼肌细胞分化测定试验(肌酸激酶);n.e.没有作用,直至100nM

[0440] 与反靶的交叉反应性(RGA)

[0441] 使用上述条件在RGA中分析了最终抗体(PTM去除和种系化后)与TGF-β3和五个反靶(Myostatin,GDF-11、激活素A、激活素B和激活素AB)的交叉反应性,显示于图4。

[0442] 总的来说,针对任一个测试的抗体,没有检测到对TGF-β3和五个反靶的浓度依赖性抑制。还针对TGF-β1的抑制,测试了最终抗体。直至100nM IgG,没有一个抗体显示出对TGF-β1的浓度依赖性抑制。

[0443] 统计学分析

[0444] 结果表示为平均值+/-SEM。单因素方差分析后,使用Dunnett's多项比较检验,进行了统计学分析。当概率值<0.05时,认为处理(测试抗TGF-β2抗体MOR14797、MOR14799、MOR14800、MOR14805、MOR14809和MOR14787与对照抗体的差异)和差异是显著的。*:P<0.05,**:P<0.01,NS:相对IgG对照无显著性。通过GraphPad Prism版本5.0(GraphPad

Software, Inc.) 进行了统计学分析。通过减去第0天的体重来计算体重,并且通过第0天的体重(初始体重)来标准化肌肉重量。

[0445] 在来自患有Dupuytren病的患者的组织中抗TGF- β 2抗体的离体(ex vivo)测试

[0446] 在最近描述的Dupuytren挛缩病的3-D离体培养系统(Karkampouna等,2014, Molecular Therapy-Nucleic Acids, (2014) 3,e142)中,测试了TGF- β 2特异性Ab MOR14797并与pan-TGF- β Ab 1D11进行了比较,以确定其抗纤维化活性,通过免疫组织化学和mRNA测量纤维化标志物。结果显示于图7和8中。按照Karkampouna等,2014的描述,制得了ex vivo模型。将患者组织切片并在3 μ g/ml抗体存在下在硝基纤维素膜上培养七天。在第7天时,收集组织切片用于mRNA分离或固定,并且如果用于免疫组织化学分析,进行加工用于低温包埋。

[0447] 对于免疫组织化学,切5 μ m切片并用针对胶原蛋白1和 α -平滑肌肌动蛋白的抗体染色。使用核染色DAPI评价了核。使用标记的样本的共焦显微镜检获取了每个切片3个图像,并通过成像分析定量。对于RNA分析,分离总RNA并进行了定量PCR(qPCR)。结果表示为标准化至管家基因表达的mRNA表达。在来自三个不同患者的培养物中,3 μ g/ml的MOR14797有效地降低了纤维化标志物胶原蛋白1和 α -平滑肌肌动蛋白(SMA;参见图7),如通过免疫组织化学测量的;MOR14797比pan-TGF- β Ab 1D11更有效。在来自两名另外的患者的培养物中,显示出纤维化标志物胶原蛋白1和 α -平滑肌肌动蛋白的剂量依赖性(0.03-3 μ g/ml)降低。图8中显示了TGF- β 2特异性Ab MOR14797的胶原蛋白1免疫染色抑制的实例。MOR14797还降低了各种纤维化标志物的mRNA水平的表达。

[0448] 在单侧输尿管梗阻(UUO)小鼠肾脏纤维化模型中的体内测试

[0449] 在单侧输尿管梗阻(UUO)小鼠肾脏纤维化模型中,通过mRNA测量纤维化标志物,测定了TGF- β 2-特异性Ab MOR13436的抗纤维化活性。结果显示于图9中。按照Kitamoto等,2009(J Pharmacol Sci,111,285-292)中所述的制得了ex vivo模型。简而言之,通过完全结扎左侧输尿管进行UUO,并用5mg/kg的TGF- β 2-特异性Ab MOR14346处理14天。收集肾脏,用于mRNA分离。对于RNA分析,分离总RNA并进行了定量PCR(qPCR)。结果表示为标准化至管家基因表达的mRNA表达。

[0450] 人TGF β -2/MOR14797 Fab复合物的X-射线晶体结构

[0451] 测定了结合MOR14797的Fab片段(SEQ ID NO:69(部分序列)和79,表5)的人TGF β -2(残基303-414,SEQ ID NO:122)的晶体结构。如下详述的,使用分开的表达系统产生了复合物的单独组分并将其组合以产生纯化的复合物。随后使用X-射线晶体学来产生结合了MOR14797 Fab的TGF β -2的衍射数据,从而阐明抗原结合位点。

[0452] 表5:用于晶体结构测定的蛋白质

构建体	单字母氨基酸序列	SEQ ID NO
[0453] MOR14797 Fab 重链	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVGVIRQPPGKALEWLAHIYWDDK SYSTSLKTRITISKDTSKNQVVLMTNMDPVDIATYYCARDFFYYSGYFDSWCQGITLVTV SSASTKGFSEVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQIYICNVNHRKPSNTKVDKRVKPSCKDTHFC	69 (部分 序列)
MOR14797 Fab 轻链	DIQMTQSPFSSLSASVGDRTTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIFGASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQNTNMNTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	79

[0454] 蛋白质产生

[0455] 从IgG的木瓜蛋白酶断裂产生Fab:通过用固定的木瓜蛋白酶(Thermo Scientific Pierce)断裂全长MOR14797 IgG,产生了MOR14797 Fab。将20mM磷酸钠(pH7.0),10mM EDTA中的20mg/ml的MOR14797 IgG以80:1的重量比与固定的木瓜蛋白酶混合,并且将混合物在旋转平台上在37℃下孵育过夜。随后使用重力流动柱,从固定的木瓜蛋白酶分离出Fab和Fc片段。随后将收集的流通物加载至HiTrap MabSelect SURE柱(GE Healthcare Life Sciences)上,以除去任何Fc片段。随后将含Fab的流通物浓缩并加载于用20mM HEPES(pH7.5),150mM NaCl平衡的HiLoad 16/600 Superdex 200柱(GE Healthcare Life Sciences)上。通过SDS-PAGE进行峰级分分析,并随后将合并的级分用于形成与TGFβ-2的复合物。

[0456] TGFβ-2-MOR14797 Fab复合物的体外重构:通过添加1:10(v/v)的1M柠檬酸三钠(pH3.5),将1mg/ml浓度的Fab酸化。随后将纯化的TGFβ-2与MOR14797 Fab以1:1.5的摩尔比混合(通过OD A280测量的浓度)。用1:5(v/v)的1M Tris-HCl(pH8.5)中和复合物,并随后浓缩,然后加载于用20mM HEPES(pH7.5),150mM NaCl平衡的HiLoad 16/600Superdex 200柱(GE Healthcare Life Sciences)上。通过SDS-PAGE分析了峰级分,并将选定的级分混合用于结晶试验。

[0457] 结晶和结构测定

[0458] 将TGF-β2-MOR14797复合物浓缩至20mg/ml,接着在20,000×g下离心10min,接着分配结晶筛。使用坐滴蒸汽扩散装置,使晶体在20℃下生长。将0.1μl TGFβ2-MOR14797复合物与0.1μl含有0.1M HEPES(pH7.5)和70%(v/v)MPD的储溶液混合,并将液滴相对45μl储溶液平衡。将晶体在液氮中直接快速冷却并送至Advanced Photon Source(Argonne国家实验室,USA),用于收集在光束17-ID下的衍射数据。使用autoPROC(版本1.1.6,Global Phasing Ltd.),将数据集加工至2.4Å分辨率,空间群P2₁2₁2₁,晶胞尺寸a=77.2 Å, b=122.1 Å, c=130.1 Å, α=90°,β=90°和γ=90°。使用Phaser(版本2.5.5,McCoy等,J.Appl.Cryst.40,658-674,2007),通过分子置换,解析了复合物的结构,在COOT(版本0.8.7,Emsley等,Acta Cryst.D66,486-501,2010)中构建了最终模型,并使用Phenix(版本1.11.1,Afonine等,Acta Cryst.D66,213-221,2010)精修。R_{work}和R_{free}值分别为17.5%和23.0%。键长和角度的RMSD值为0.008Å和1.054Å。

[0459] 表位被定义为TGF-β2中含有距MOR14797 Fab的任何原子5Å内的原子的残基,使用PyMOL(版本1.8,Schrödinger,LLC.)鉴定并列表于表6中。存在两个拷贝的TGFβ-2/MOR14797 Fab复合物在不对称单位(晶体中的最小独特单位)中,并且只有在两个拷贝中共有的那些抗体接触残基被列为表位残基。

[0460] 表位和结合TGFβ-2的MOR14797的互补位

[0461] 使用TGFβ-2-MOR14797 Fab复合物的晶体结构来鉴定表位和结合TGFβ-2的MOR14797的互补位。如表6中详述的,几个非连续序列形成与MOR14797 Fab相互作用的TGFβ-2上的表面。这些残基形成被MOR14797 Fab识别的三维构象表位(图1)。如表6中详述的,几个非连续序列形成与TGFβ-2相互作用的MOR14797上的表面。这些残基形成结合TGFβ-2的MOR14797的三维互补位(图11)。

[0462] 表6:人TGFβ-2和MOR14797 Fab之间的相互作用。基于UniProt entry P61812 (SEQ ID NO:122) 将TGFβ-2残基编号,并将TGFβ-2二聚体的两条链标为A和B。基于其线性氨基酸序列 (SEQ ID NO:69 (部分序列) 和79), 将Fab残基编号,并标记相应的链 (“H”用于重链,“L”用于轻链)。所示的TGFβ-2残基具有至少一个原子距离MOR14797 Fab的一个原子5Å内,以引起潜在的水介导的相互作用。

[0463]

TGFβ-2			MOR14797		
氨基酸	编号	链	氨基酸	编号	链
LEU	304	A	GLN	1	H
ASN	316	A	SER	56	L
LYS	327	B	TYR	32	L
GLY	331	B	TYR	32	L
TRP	332	B	TYR	32	L
			PHE	101	H
			TYR	102	H
LYS	333	B	TYR	32	L
			THR	91	L
			ASN	92	L
			THR	93	L
TRP	334	B	TRP	55	H
			TYR	102	H
			TYR	103	H
PRO	351	A	SER	56	L
TYR	352	A	GLN	55	L
			PHE	101	H
			SER	104	H
			TYR	106	H
			ASP	108	H
LEU	353	A	GLN	1	H
			MET	34	H

[0464]

			ARG	99	H
			PHE	101	H
			ASP	108	H
TRP	354	A	GLN	1	H
SER	355	A	GLN	1	H
SER	356	A	GLN	1	H
GLN	359	A	SER	32	H
			TYR	102	H
ARG	362	A	THR	31	H
			SER	32	H
			MET	34	H
			PHE	101	H
VAL	363	A	PHE	101	H
			TYR	102	H
LEU	366	A	PHE	49	L
			PHE	101	H
			TYR	102	H
THR	369	A	PHE	49	L
			SER	53	L
			LEU	54	L
			GLN	55	L
ILE	370	A	PHE	49	L
			SER	53	L
TYR	392	B	TRP	55	H
			ASN	56	H
			TYR	103	H
ILE	394	B	ASN	56	H
			ASP	58	H
			TYR	103	H
LYS	399	B	ASN	56	H
GLU	401	B	SER	32	H

[0465]

			TRP	55	H
			ASN	56	H
LEU	403	B	SER	32	H
			TYR	102	H

[0466] MOR14800结合TGFβ-2的表位

[0467] 表7：人TGFβ-2和MOR14800Fab之间的相互作用。基于UniProt entry P61812 (SEQ ID NO:122) 将TGFβ-2残基编号, 并将TGFβ-2二聚体的两条链标为A和B。所示的TGFβ-2残基具有至少一个原子距离MOR14797 Fab的一个原子5Å内, 以引起潜在的水介导的相互作用。

[0468]

蛋白	氨基酸	序列位置
TGF_B2_链 B	1(ALA).	1
TGF_B2_链 B	2(LEU).	2
TGF_B2_链 B	3(ASP).	3
TGF_B2_链 B	5(ALA).	5
TGF_B2_链 B	6(TYR).	6
TGF_B2_链 B	10(ASN).	10
TGF_B2_链 B	14(ASN).	14
TGF_B2_链 A	29(GLY).	29
TGF_B2_链 A	30(TRP).	30
TGF_B2_链 A	31(LYS).	31
TGF_B2_链 A	32(TRP).	32
TGF_B2_链 B	49(PRO).	49
TGF_B2_链 B	50(TYR).	50
TGF_B2_链 B	51(LEU).	51
TGF_B2_链 B	52(TRP).	52
TGF_B2_链 B	53(SER).	53
TGF_B2_链 B	54(SER).	54
TGF_B2_链 B	55(ASP).	55
TGF_B2_链 B	57(GLN).	57

[0469]

TGF_B2_链 B	60(ARG).	60
TGF_B2_链 B	61(VAL).	61
TGF_B2_链 B	64(LEU).	64
TGF_B2_链 B	81(GLN).	81
TGF_B2_链 A	90(TYR).	90
TGF_B2_链 A	91(TYR).	91
TGF_B2_链 A	92(ILE).	92
TGF_B2_链 A	99(GLU).	99
TGF_B2_链 A	101(LEU).	101
TGF_B2_链 A	104(MET)	104
TGF_B2_链 B	110(LYS)	110

<110> 诺华股份有限公司 (NOVARTIS AG)
<120> TGFβ 2 抗体
<130> PAT057206-WO-PCT
<140>
<141>
<150> 62/296,282
<151> 2016-02-17
<160> 204
<170> PatentIn 版本 3.5
<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 1
Arg Tyr Tyr Val Ala
1 5
<210> 2
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0001] <221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 2
Trp Ile Asp Pro Gly Gln Ser Asn Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 3
Met Leu Ala Trp Gly Trp Phe Asp Tyr
1 5
<210> 4
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

肽”
 <400> 4
 Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr
 1 5
 <210> 5
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释=“人工序列的描述：合成的
 肽”
 <400> 5
 Asp Pro Gly Gln Ser Asn
 1 5
 <210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释=“人工序列的描述：合成的
 肽”
 <400> 6
 Met Leu Ala Trp Gly Trp Phe Asp Tyr
 1 5
 <210> 7
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释=“人工序列的描述：合成的
 多肽”
 <400> 7
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr
 20 25 30
 Tyr Val Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Gly Gln Ser Asn Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Met Leu Ala Trp Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

[0002]

<210> 8
 <211> 354
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 多核苷酸"
 <400> 8
 caggtgcagc tgggtgcagtc aggcgcgcgaa gtgaagaagc cggcgagtc actgaagatt 60
 agctgtaaag gctcaggcta tagcttcact aggtactacg tgacctgggt gagacagatg 120
 cccggcaagg gctgggagtg gatgggctgg atcgaccccg gccagtctaa cactagatat 180
 agccctagct ttcagggccca ggtgacaatt agcgccgata agtetattag caccgcctac 240
 ctgcagtggt ctagcctgaa ggctagtgc accgctatgt actactgcgc tagaatgtg 300
 gcctggggct ggttcgacta ctggggccag ggcacctgg tgacagtgc tagc 354
 <210> 9
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 多肽"
 <400> 9
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr
 20 25 30
 Tyr Val Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Gly Gln Ser Asn Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Met Leu Ala Trp Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

[0003]

	210	215	220	
	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser			
	225	230	235	240
	Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg			
	245	250	255	
	Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro			
	260	265	270	
	Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala			
	275	280	285	
	Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val			
	290	295	300	
	Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
	305	310	315	320
	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
	325	330	335	
	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
	340	345	350	
	Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys			
	355	360	365	
	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
	370	375	380	
	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp			
	385	390	395	400
	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser			
	405	410	415	
[0004]	Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala			
	420	425	430	
	Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	435	440	445	
	<210> 10			
	<211> 1344			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<221> 来源			
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的			
	多核苷酸"			
	<400> 10			
	caggtgcagc tgggtgcagtc aggcgcgcgaa gtgaagaagc ccggcgagtc actgaagatt	60		
	agetgtaaag gctcaggeta tagcttcact aggtactacg tggcctgggt gagacagatg	120		
	cccggaagg gcctggagtg gatgggctgg atcgaccccg gccagtctaa cactagatat	180		
	agccctagct ttcaggggcca ggtgacaatt agcgcgcgata agtctattag caccgectac	240		
	ctgcagtggt ctagcctgaa ggctagtgac accgctatgt actactgcgc tagaatgctg	300		
	gcctggggct ggttcgacta ctggggccag ggcacctgg tgacagtgc tagcgctagc	360		
	accaagggcc caagtgtgtt tccctggcc ccagcagca agtctacttc cggcggaaact	420		
	gtgcccctgg gttgcctggg gaaggactac ttcccgcgag ccgtgacagt gtccctggaac	480		
	tctggggctc tgacttcgg cgtgcacacc tteccgcgag tgctgcagag cagcggcctg	540		
	tacagcctga gcagcgtggt gacagtgcc tccagctctc tgggaaccca gacctatctc	600		
	tgcacgtga accacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agagagtgga gcccagagc	660		
	tgcgacaaga cccacacctg ccccccctgc ccagctccag aactgctggg agggccttcc	720		
	gtgttccctgt tcccccccaa gcccaaggac acctgatga tcagcaggac ccccgagggtg	780		

```

acctgcgtgg tggtagacgt gtccacagag gaccagagg tgaagttcaa ctggtacgtg      840
gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc aagcccagag aggagcagta caacagcacc      900
tacagggtgg tgtccgtgct gaccgtgctg caccaggact ggctgaacgg caaagaatac      960
aagtgc aaag tctccaacaa ggccctgcc a gccc aatcg aaaagacaat cagcaaggcc     1020
aagggccagc caccggagcc ccaggtgtac accctgcccc ccagccggga ggagatgacc     1080
aagaaccagg tgtccctgac ctgtctggtg aagggtctct accccagcga tatcccgctg     1140
gagtgggaga gcaacggcca gcccgagaac aactacaaga ccaccccccc agtgctggac     1200
agcgacggca gctttcttct gtacagcaag ctgaccgtgg acaagtccag gtggcagcag     1260
ggcaacgtgt tcnctgtcag cgtgaltcac gagggcctgc acaaccacta caccagaag     1320
tcctgagcc tgagccccgg caag                                           1344

```

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 11

Ser Gly Asp Asn Leu Gly Gly Tyr Tyr Ala His

1 5 10

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 12

Asp Lys Ser Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 13

Ala Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Met Met Val

1 5 10

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

[0005]

[0006]

<400> 14
 Asp Asn Leu Gly Gly Tyr Tyr
 1 5
 <210> 15
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 肽"
 <400> 15
 Asp Lys Ser
 1
 <210> 16
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 肽"
 <400> 16
 Tyr Asp Ser Ser Leu Met Met
 1 5
 <210> 17
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 多肽"
 <400> 17
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Leu Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Leu Gly Gly Tyr Tyr Ala
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Lys Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ala Gln Ala Gly
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Met Met
 85 90 95
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 18
 <211> 321
 <212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多核苷酸"

<400> 18

```

agctacgagc tgactcagcc cctgtcagtg tcagtggccc tgggccagac cgtagaatc      60
acctgtagcg gcgataacct gggcggctac tacgtcact ggtatcagca gaagcccggc      120
caggcccccg tgcgtgtgat ctacgataag tcagatagac ctacgggaat ccccgagcgg      180
tttagcggct ctaatagcgg caacaccgct accctgacta tccttagggc tcaggccggc      240
gacgaggccg actactactg cgctagttag gactctagcc tgatgatggt gttcggcgga      300
ggcactaagc tgaccgtgct g

```

321

<210> 19

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

<400> 19

```

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Leu Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1          5          10          15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Leu Gly Gly Tyr Tyr Ala
20         25         30
[0007] His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35         40         45
Asp Lys Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50         55         60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ala Gln Ala Gly
65         70         75         80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Met Met
85         90         95
Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala
100        105        110
Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115        120        125
Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130        135        140
Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145        150        155        160
Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165        170        175
Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180        185        190
Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala
195        200        205
Pro Thr Glu Cys Ser

```

210

<210> 20

<211> 639

<212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 多核苷酸"
 <400> 20
 agctacgagc tgactcagcc cctgtcagtg tcagtggccc tgggccagac cgetagaatc 60
 acctgtagcg gcgataacct gggcggtac tacgtcact ggtatcagca gaagcccggc 120
 caggcccccg tgetggtgat ctacgataag tcagatagac ctacgggaat ccccgagcgg 180
 tttagcggtc ctaatagcgg caacaccgt accctgacta tctctagggc tcaggccggc 240
 gaagaggccg actactactg cgetagttae gactctagcc tgatgatggt gttcggcgga 300
 ggcactaagc tgaccgtgtt gggccagcct aaggtgccc ccagcgtgac cctgttcccc 360
 cccagcagcg aggagctgca ggccaacaag gccaccctgg tgtgcctgat cagcgacttc 420
 taccagggcg ccgtgaccgt ggcctggaag gccgacagca gcccctgaa ggccggcggtg 480
 gagaccacca ccccagcaa gcagagcaac aacaagtacg ccgccagcag ctacctgagc 540
 ctgacccccg agcagtggaa gaggcacagg tctacagct gccaggtgac ccacgagggc 600
 agcacctggg aaaagaccgt ggccccaacc gagtgcagc 639
 <210> 21
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 肽"
 <400> 21
 Arg Tyr Tyr Val Ala
 1 5
 <210> 22
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 肽"
 <400> 22
 Trp Ile Asp Pro Gly Gln Ser Asn Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 23
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 肽"
 <400> 23

[0008]

[0009]

Met Leu Ala Trp Gly Trp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 24

Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr

1 5

<210> 25

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 25

Asp Pro Gly Gln Ser Asn

1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 26

Met Leu Ala Trp Gly Trp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 27

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

<400> 27

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Gly Gln Ser Asn Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

```

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

```

115

<210> 28

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
多核苷酸"

<400> 28

```

cagggtgcagc tgggtgcagtc aggcgcgcgaa gtgaagaagc ccggcgagtc actgaagatt      60
agetgtaaag getcaggeta tagcttcact aggtactacg tggcctgggt gagacagatg      120
cccgcaagg gectggagtg gatgggetgg atcgaccccg gccagtctaa cactagatat      180
agccctagct ttcagggccca ggtagacaatt agcgcgcgata agtctattag caccgectac      240
ctgcagtggg ctagcctlgaa ggctagtgac accgctatgt actactgcgc tagaatgctg      300
gectggggct ggctcgacta ctggggccag ggcaccctgg tgacagtgtc tagc      354

```

<210> 29

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
多肽"

<400> 29

```

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

Ala Arg Met Leu Ala Trp Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
      100              105              110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
      115              120              125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

```

[0010]

[0011]

130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 30

<211> 1344

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

 <223> /注释="人工序列的描述：合成的
 多核苷酸"

<400> 30

caggtgcagc tgggtgcagtc aggcgccgaa gtgaagaagc ccggcgagtc actgaagatt
 agctgtaaag gctcaggcta tagcttcaact aggtactacg tggcctgggt gagacagatg

60

120

```

ccccgcaagg gcctggagtg gatgggctgg atcgaccccg gccagtctaa cactagatat 180
agccctagct ttcagggcc a ggtgacaatt agcgccgata agtctattag caccgcctac 240
ctgcagtggt ctagcctgaa ggctagtgac accgctatgt actactgcgc tagaatgctg 300
gcctggggct gggttgacta ctggggccag ggcacccctg tgacagtgic tagcgtatgc 360
accaagggcc caagtgtgtt tcccctggcc ccagcagca agtctacttc cggcggaact 420
gctgccctgg gttgectggt gaaggactac tccccgagc ccgtgacagt gtccctggaac 480
tctggggctc tgacttccgg cgtgcacacc tccccgcgc tgcctgcagag cagcggcctg 540
tacagcctga gcagcgtggt gacagtgcgc tccagctctc tgggaacca gacctatata 600
tgcaacgtga acccaagcc cagcaacacc aagggtggaca agagagtgg a gccaagagc 660
tgcgacaaga cccacacctg cccccctgc ccagctccag aactgctggg agggccttcc 720
gtgttctgt tccccccaa gcccaaggac accctgatga tcagcaggac ccccgaggtg 780
acctgcgtgg tgggtggact gtcccacgag gaccagagg tgaagticaa ctggtactgt 840
gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc aagcccagag aggagcagta caacagcacc 900
tacagggtgg tgtccgtgct gaccgtgctg caccaggact ggctgaacgg caaagaatac 960
aagtcaaaag tctccaacaa ggcctgcc a gcccacatc aaaagacaat cagcaaggcc 1020
aagggccagc caggggagcc ccaggtgtac accctgccc ccagccggga ggagatgacc 1080
aagaaccagg tgtccctgac ctgtctggcg aagggtctct accccagcga tatgcctgt 1140
gagtgggaga gcaacggcca gcccgagaac aactacaaga ccaccccccc agtgcctggac 1200
agcgacggca gcttcttctt glacagcaag ctgacctgg acaaagtcag gtggcagcag 1260
ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggeectgc acaaccaata caccagaag 1320
tccctgagcc tgagccccgg caag 1344

```

<210> 31

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

[0012]

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 31

Ser Gly Asp Asn Leu Gly Gly Tyr Tyr Ala His

1 5 10

<210> 32

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 32

Asp Thr Ser Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

[0013]

<400> 33
 Ala Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Met Met Val
 1 5 10
 <210> 34
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 肽"
 <400> 34
 Asp Asn Leu Gly Gly Tyr Tyr
 1 5
 <210> 35
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 肽"
 <400> 35
 Asp Thr Ser
 1
 <210> 36
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 肽"
 <400> 36
 Tyr Asp Ser Ser Leu Met Met
 1 5
 <210> 37
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 多肽"
 <400> 37
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Leu Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Leu Gly Gly Tyr Tyr Ala
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

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

<210> 38

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 多核苷酸"

<400> 38

agetacgagc tgactcagcc cctgtcagtg tcagtggccc tgggccagac cgctagaatc 60
 aactgtageg gcgataacct gggeggctac tacgtcact ggtatcagca gaagcccggc 120
 caggcccccg tgcgtgtgat ctacgacact agcgatagac ctagecggaat ccccgagcgg 180
 tttagcgget ctaatagcgg caacaccgct accctgaacta tctctagggc tcaggccggc 240
 gacgaggcgg actactactg cgctagttag gactetagcc tgatgatggt gtteggcgga 300
 ggcactaagc tgaccgtgct g 321

<210> 39

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 多肽"

<400> 39

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

[0014]

	145	150	155	160
	Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser			
		165	170	175
	Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr			
		180	185	190
	Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala			
		195	200	205
	Pro Thr Glu Cys Ser			
	210			
	<210> 40			
	<211> 639			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<221> 来源			
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的 多核苷酸"			
	<400> 40			
	agctacgagc tgactcagcc cctgtcagtg tcagtggccc tgggccagac cgetagaatc	60		
	acctgtagcg gcgataacct gggeggctac tacgtctact ggtatcagca gaagcccggc	120		
	caggcccccg tgetgtgat ctacgacact agcgatagac ctageggant ccccgagcgg	180		
	tttagcggct ctaatagegg caacaccgt accctgacta tctctagggc tcaggccggc	240		
	gacgagccg actactactg cgttagttac gactctagcc tgatgatggt gttcggcgga	300		
	ggcactaagc tgaccgtgct ggccagcct aaggetgccc ccagcgtgac cctgttcccc	360		
	cccagcagcg aggagctgca ggccaacaag gccaccctgg tgtgcctgat cagcgacttc	420		
[0015]	taccagggcg ccgtgaccgt ggccctggaag gccgacagca gcccogtgaa ggccggcggtg	480		
	gagaccacca cccccagcaa gcagagcaac aacaagtagc ccgccagcag ctacctgagc	540		
	ctgacccccg agcagtggaa gagccacagg tcctacagct gccaggtgac ccacgagggc	600		
	agcaccgtgg aaaagaccgt ggcccccaacc gagtgcagc	639		
	<210> 41			
	<211> 5			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<221> 来源			
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的 肽"			
	<400> 41			
	Arg Tyr Trp Ile Ala			
	1 5			
	<210> 42			
	<211> 17			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<221> 来源			
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的 肽"			
	<400> 42			
	Ile Ile Asp Pro Gly Thr Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln			
	1 5 10 15			

Gly

<210> 43
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 43
Ile Asp Lys Ser Leu Ile Leu His Ser Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 44
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 44
Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr
1 5

[0016] <210> 45
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 45
Asp Pro Gly Thr Ser Asp
1 5

<210> 46
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 46
Ile Asp Lys Ser Leu Ile Leu His Ser Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 47
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"
 <400> 47
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asp Pro Gly Thr Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ile Asp Lys Ser Leu Ile Leu His Ser Ala Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 48

<211> 366

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

[0017]

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 多核苷酸"

<400> 48

cagggtgcagc tgggtgcagtc aggcgcgcgaa gigaagaagc ccggcgagtc actgaagatt	60
agctgtaaag getcaggcta tagcttcact agatactgga tcgcctgggt gagacagatg	120
cccgcaagg gcctggagtg gatgggaatt atcgaccccg gcactagcga cactagatat	180
agccctagct ttcagggccca ggtgacaatt agcgcgcgata agtctattag caccgcctac	240
ctgcagtggt cttagcctgaa ggetagtga accgctaigt actactgcgc tagaatcgat	300
aagtcactga tcttgcactc agccttcgac tactggggcc agggcacccct ggtgacagtg	360
tctagc	366

<210> 49

<211> 452

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 多肽"

<400> 49

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

[0018]

Gly Ile Ile Asp Pro Gly Thr Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ile Asp Lys Ser Leu Ile Leu His Ser Ala Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys

450		
<210> 50		
<211> 1356		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多核苷酸"		
<400> 50		
cagggtgcagc tgggtgcagtc aggcgcgcgaa gtgaagaagc ccggcgagtc actgaagatt	60	
agctgtaaag gctcaggeta tagcttcaact agatactgga tcgcctgggt gagacagatg	120	
cccggaagg gectggagtg gatgggaatt atcgaccccg gcaactagega cactagatat	180	
agccctagct ttcagggccca ggtgacaatt agcgcgcgata agtctattag caccgcctac	240	
ctgcagtggt ctagcctgaa ggctagtgac accgctatgt actactgcgc tagaatcgat	300	
aagtcaactga tcctgcactc agccttcgac tactggggcc agggcacccct ggtgacagtg	360	
tctagcgcta gcaccaaggg cccaagtgtg ttccccctgg ccccagcag caagtctact	420	
tccggcgga ctgctgcctt gggttgcctg gtgaaggact acttccccga gcccgtgaca	480	
gtgtccctgga acctcggggc tctgacttcc gggtgcaca ccttccccgc cgtgctgcag	540	
agcagcggcc tgtacagcct gacgagcgtg gtgacagtcg cctccagetc tctgggaacc	600	
cagacctata tctgcaacgt gaaccacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtg	660	
gagcccaaga gctgcgacaa gaccacacac tccccccct gccagctcc agaactgctg	720	
ggagggcctt cctgttctct gtcccccctc aagcccaagg acacctgat gatcagcagg	780	
acccccgagg tgacctgcgt ggtggtggac gtgtccacg aggacceaga ggtgaagtc	840	
aactggtagc tggacggcgt ggaggtgcac aacgccaaga ccaagcccag agaggagcag	900	
[0019] tacaacagca cctacagggt ggtgtccgtg ctgacctgc tgcaccagga ctggctgaac	960	
ggcaagaat acaagtgcaa agtcaccaac aaggccctgc cagecccaat cgaaaagaca	1020	
atcagcaagg ccaagggccca gccacgggag cccaggtgt acaccttgc cccagccgg	1080	
gaggagatga ccaagaacca ggtgtccctg acctgtcttg tgaagggtt ctacccagc	1140	
gatatgcgcg tggagtggga gagcaacgga cagcccgaga acaactacaa gaccacccc	1200	
ccagtgtctg acagcgacgg cagcttcttc ctgtacagca agctgaacct ggacaagtc	1260	
aggtggcagc agggcaacgt gttcagctgc agcgtgatgc acgaggccct gcacaaccac	1320	
tacacccaga agtccctgag cctgagcccc ggcaag	1356	
<210> 51		
<211> 11		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"		
<400> 51		
Ser Gly Asp Asn Leu Gly Gly Tyr Tyr Ala Tyr		
1 5 10		
<210> 52		
<211> 7		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的"		

肽”
<400> 52
Glu Thr Asn Asn Arg Pro Ser
1 5
<210> 53
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述：合成的
肽”
<400> 53
Ala Ser Thr Thr Gln Asp Tyr Leu Val Phe Val
1 5 10
<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述：合成的
肽”
<400> 54
Asp Asn Leu Gly Gly Tyr Tyr
[0020] 1 5
<210> 55
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述：合成的
肽”
<400> 55
Glu Thr Asn
1
<210> 56
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述：合成的
肽”
<400> 56
Thr Thr Gln Asp Tyr Leu Val Phe
1 5
<210> 57
<211> 108
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

<400> 57

```

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

```

<210> 58

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

[0021] <221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多核苷酸"

<400> 58

```

agctacgagc tgactcagcc cctgtcagtg tcagtggecc tgggccagac cgctagaatc      60
acctgtagcg gcgataacct gggcggctac tacgcctact ggtatcagca gaagcccggc      120
caggcccccg tgcgtggtgat ctacgagact aacaatagac ctacgcggaat ccccgagcgg      180
tttagcggtc ctaatagcgg caacaccgct acctgacta tctctagggc tcaggccggc      240
gacgaggceg actactactg cgetagtact actcaggact acctggtgtt cgtgttcggc      300
ggaggcacta agctgaccgt gctg                                     324

```

<210> 59

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

<400> 59

```

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

```


50 55 60
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ala Gln Ala Gly
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Cys Ala Ser Thr Thr Gln Asp Tyr Leu Val
 85 90 95
 Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
 100 105 110
 Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
 115 120 125
 Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
 130 135 140
 Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
 145 150 155 160
 Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
 165 170 175
 Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
 180 185 190
 Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
 195 200 205
 Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210

<210> 60

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列

[0022]

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"

<400> 60

agctacgagc tgactcagcc cctgtcagtg tcagtggccc tgggccagac cgctagaate	60
acctgtageg gcgataacct gggcggctac tacgectact ggtatcagca gaagcccggc	120
caggcccccg tgetgtgat ctacgagact aacaatagac ctagecggaat ccccgagegg	180
tttagcggct etaatagegg caacaccgct accctgacta tctetagggc tcaggccggc	240
gacgaggccg actactactg cgetagtact actcaggact acctgggtgtt cgtgttcggc	300
ggaggcacta agctgaccgt gctgggccag cctaaggctg cccccagcgt gaccctgttc	360
ccccccagca gcgaggagct gcaggccaac aaggccaccc tgggtgtgcct gatcagcgac	420
ttctacccag gcgcctgac cgtggcctgg aaggccgaca gcagccccgt gaaggccggc	480
gtggagacca ccacccccag caagcagagc aacaacaagt acgcgccag cagctacctg	540
agcctgaccc cagagcagtg gaagagccac aggtctaca gctgccaggt gacccacgag	600
ggcagcaccg tggaaaagac cgtggcccca accgagtgca gc	642

<210> 61

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的
肽"

<400> 61

Thr Ser Gly Met Gly Val Gly

1 5
<210> 62
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 62
His Ile Tyr Trp Asn Asp Asp Lys Ser Tyr Ser Thr Ser Leu Lys Thr
1 5 10 15
<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 63
Asp Phe Tyr Tyr Ser Gly Tyr Phe Asp Ser
1 5 10
<210> 64
<211> 9
[0023] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 64
Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met
1 5
<210> 65
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 65
Tyr Trp Asn Asp Asp
1 5
<210> 66
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"
 <400> 66
 Asp Phe Tyr Tyr Ser Gly Tyr Phe Asp Ser
 1 5 10
 <210> 67
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"
 <400> 67
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30
 Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asn Asp Asp Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
 50 55 60
 Leu Lys Thr Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Phe Tyr Tyr Ser Gly Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 68
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的多核苷酸"
 <400> 68
 caggtagaac tgagagagtc aggccttgcc ctggtgaaac ctactcagac cctgaccttg 60
 acctgcacct itagcggett tagcctgagc actagcggaa tgggegtggg ctggattaga 120
 eagccccctg gcaaggccct ggagtggctg gctcacatct actggaacga cgataagtcc 180
 tactctacta gcctgaaaac taggtgact atctctaagg acacctctaa gaatcagggtg 240
 gtgtgacta tgactaatat ggaccccggtg gacaccgcta cctactactg cgctagagac 300
 ttctactata gcggtactt cgatagctgg ggccagggea ccttggtgac agtgtctagc 360
 <210> 69
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

<400> 69

Gln	Val	Thr	Leu	Arg	Glu	Ser	Gly	Pro	Ala	Leu	Val	Lys	Pro	Thr	Gln
1				5					10					15	
Thr	Leu	Thr	Leu	Thr	Cys	Thr	Phe	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Thr	Ser
			20					25					30		
Gly	Met	Gly	Val	Gly	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Ala	Leu	Glu
	35						40					45			
Trp	Leu	Ala	His	Ile	Tyr	Trp	Asn	Asp	Asp	Lys	Ser	Tyr	Ser	Thr	Ser
	50					55					60				
Leu	Lys	Thr	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Val
65				70						75				80	
Val	Leu	Thr	Met	Thr	Asn	Met	Asp	Pro	Val	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr
			85						90					95	
Cys	Ala	Arg	Asp	Phe	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Phe	Asp	Ser	Trp	Gly	Gln
		100						105					110		
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
	115					120						125			
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
	130					135						140			
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145				150						155				160	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
			165					170					175		
[0025]	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
			180					185					190		
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
	195					200						205			
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
	210				215							220			
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly
225				230						235				240	
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
			245					250					255		
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
	260					265						270			
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
	275					280					285				
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
	290					295					300				
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
305				310						315				320	
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu
			325					330					335		
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr
	340					345						350			
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
	355					360					365				
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp
	370					375					380				

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

Gly Lys
 450

<210> 70

<211> 1350

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 多核苷酸"

<400> 70

[0026]

```
caggtagaac tgagagagtc aggcctgccc ctggtgaaac ctactcagac cctgacctg      60
acctgcacct ttagcggttt tagcctgagc actagcggaa tgggcgtggg ctggattaga      120
cagccccctg gcaaggccct ggagtggttg gctcacatct actggaacga cgataagtcc      180
tactctacta gcctgaaaac taggtgact atctctaagg acacctctaa gaatcaggtg      240
gtgtgacta tgactaataa ggacccctg gacaccgcta cctactactg cgttagagac      300
ttctactata gggctactt cgatagctgg ggccaggcca ccctggtgac agtgtctagc      360
gctagcaacca agggcccaag tgtgttccc ctggcccca gcagcaagtc tacttccggc      420
ggaaactgtg cctgggttg cctgggaag gactacttcc ccgagcccg gacagtgtcc      480
tggaactctg gggctctgac ttccggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagcagc      540
ggcctgtaca gcctgagcag cgtggtgaca gtgcccctcca gctctctggg aaccagacc      600
tatatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agtggagccc      660
aagagctgag acaagaccca cactgcccc cctgcccag ctccagaact gctgggaggg      720
ccttcctgtt tectgttccc ccccagccc aaggacccc tgatgatcag caggacccc      780
gaggtgacct gcgtgggttg ggacgtgtcc caagaggacc cagaggtaga gtccaactgg      840
taactggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagg ccagagagga gcagtacaa      900
agcacctaca ggggtggtgt cgtgtgtgac gtgtgtgacc aggactggct gaacggcaaa      960
gaatacaagt gcaaagtcct caacaaggcc ctgccagccc caatcgaaa gacaatcagc      1020
aaggccaagg gccagccacg ggagccccag glgtacaccc tgccccccag ccgggaggag      1080
atgaccaaga accaggtgt cctgacctgt ctggtgaagg gcttctaccc cagcgatctc      1140
gccgtggagt gggagagcaa cggccagccc gagaaacact acaagaccac cccccagtg      1200
ctggacagcg acggcagctt ctccctgtac agcaagctga ccgtggacaa gtccaggtg      1260
cagcagggca acgtgttcag ctgcagcgtg atgcacgagg cctgcacaa ccactacacc      1320
cagaagtcct tgagcctgag ccccgcaag
```

<210> 71

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 肽"

<400> 71

[0027]

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 72

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"

<400> 72

Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 73

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"

<400> 73

Gln Gln Thr Asn Thr Met Asn Thr

1 5

<210> 74

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"

<400> 74

Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 75

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"

<400> 75

Gly Ala Ser

1

<210> 76

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"
 <400> 76
 Thr Asn Thr Met Asn
 1 5
 <210> 77
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"

<400> 77
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Phe Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Thr Met Asn Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

[0028]

<210> 78
 <211> 318
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的多核苷酸"

<400> 78
 gatattcaga tgactcagtc acctagtagc ctgagcgcta gtgtgggcga tagagtgaact 60
 atcacctgta gagectetca ggatatctct aactacciga actggtatca gcagaagccc 120
 ggcaaggccc ctaagctgct gatcttcggc gcctettagcc tgcagtcagg cgtgccctct 180
 aggttttagcg gctcaggctc aggcaccgac ttcaccctga ctattagtag cctgcagccc 240
 gaggacttcg ctacctacta ctgtcagcag actaacacta tgaacacctt cggccagggc 300
 actaaggtgg agattaag 318

<210> 79
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"

<400> 79

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Phe Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Thr Met Asn Thr
85 90 95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205
Asn Arg Gly Glu Cys
210

[0029]

<210> 80

<211> 639

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的多核苷酸"

<400> 80

gatattcaga tgactcagtc acctagtagc ctgagcgcta gtgtgggcga tagagtgaact 60
atcacctgta gagcctctca ggatatctct aactacctga actggtatca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ctaagctget gatcttcggc gcctctagcc tgcagtcagg cgtgccctct 180
aggcttagcg gctcaggctc aggcacggac ttacacctga ctattagtag cctgcagccc 240
gaggacttcg ctacctacta ctgtcagcag actaacacta tgaacacctt eggccagggc 300
actaagggtgg agattaagcg tacgggtggc gctcccagcg tgttcattct cccccccagc 360
gacgagcagc tgaagagcgg caccgccagc gtgggtgtgc tgcctgaacaa ctctacccc 420
cgggaggcca aggtgcagtg gaaggtggac aagccctgc agagcggcaa cagccaggag 480
agcgtcaccc agcaggacag caaggactcc acctacagcc tgagcagcac cctgacctg 540
agcaaggccg actacgagaa gcataagggtg tacgectgcg aggtgaccca ccagggcctg 600
tcagcccccg tgaccaagag ctccaacagg ggcgagtg 639

<210> 81
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 81
Arg Tyr Tyr Val Ala
1 5
<210> 82
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 82
Trp Ile Asp Pro Gly Thr Ser Asn Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15
Gly
[0030] <210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 83
Met Leu Ala Trp Gly Trp Phe Asp Tyr
1 5
<210> 84
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 84
Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr
1 5
<210> 85
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"
 <400> 85
 Asp Pro Gly Thr Ser Asn
 1 5
 <210> 86
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"
 <400> 86
 Met Leu Ala Trp Gly Trp Phe Asp Tyr
 1 5
 <210> 87
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"
 [0031] <400> 87
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr
 20 25 30
 Tyr Val Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Gly Thr Ser Asn Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

 Ala Arg Met Leu Ala Trp Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 88
 <211> 354
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的多核苷酸"

<400> 88	
caggtgcagc tgggtgcagtc aggcgcgcgaa gtgaagaagc ccggcgagtc actgaagatt	60
agctglaaag getcaggcta tagcttcact aggtactacg tggcctgggt gagacagatg	120
cccggcaagg gcctggagtg gatgggctgg ategaceccg gcacctctaa cactagatat	180
agccctaget ttcagggccca ggtgacaatt agcgcgcgata agtetattag caccgcctac	240
ctgcagtggc ctagcctgaa ggctagtgc accgctatgt actactgcgc tagaatgctg	300
gcctggggct ggttcgacta ctggggccag ggcaaccctg tgacagtgc tagc	354
<210> 89	
<211> 448	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"	
<400> 89	
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu	
1 5 10 15	
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr	
20 25 30	
Tyr Val Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met	
35 40 45	
Gly Trp Ile Asp Pro Gly Thr Ser Asn Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe	
50 55 60	
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr	
65 70 75 80	
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys	
85 90 95	
Ala Arg Met Leu Ala Trp Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr	
100 105 110	
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro	
115 120 125	
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly	
130 135 140	
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn	
145 150 155 160	
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln	
165 170 175	
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser	
180 185 190	
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser	
195 200 205	
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr	
210 215 220	
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser	
225 230 235 240	
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg	
245 250 255	
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro	
260 265 270	
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala	

[0032]

```

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

```

<210> 90

<211> 1344

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"

<400> 90

```

caggatgcagc tggatgcagtc aggcgcgcgaa gtgaagaagc ccggcgagtc actgaagatt      60
agctgtaaaag getcaggcta tagcttcaact aggtactacg tggectgggt gagacagatg      120
cccgcaagg gcctggagtg gatgggctgg ategaccccg gcacctetaa cactagatat      180
agecctaget ttcagggccca ggtgacaatt agegcgcgata agtctattag caccgcctac      240
ctgcagtggc ctagcctgaa ggetagtgc accgctatgt actactgcgc tagaatgctg      300
gacctggggt ggttcgacta ctggggccag ggcaccttg tgacagtgtc tagcgttagc      360
accaagggcc caagtgtgtt tcccttgccc ccagcagca agtctacttc cggcggaact      420
gctgccctgg gttgcctggt gaaggactac tccccgagc ccgtgacagt gtcttggaac      480
tctggggctc tgaattccgg cgtgcacacc tccccgcgc tgctgcagag cagcggcctg      540
tacagcctga gcagcgtggt gacagtgcgc tccagctctc tgggaacca gacctatctc      600
tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agagagtgga gcccaagagc      660
tgcgacaaga cccacacctg cccccctgc ccagctccag aactgctggg agggccttcc      720
gtgttcctgt tcccccccaa gcccaaggac accctgatga tcagcaggac ccccgaggtg      780
acctgcgtgg tggatggacgt gtcccaagag gaccagagg tgaagttaa ctggtacgtg      840
gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc aagcccagag aggagcagta caacagcacc      900
tacagggtgg tgtccgtgct gaccgtgctg caccaggact ggctgaacgg caaagaatac      960
aagtgc aaag tctccaacaa ggccctgcca gcccacatcg aaaagacaat cagcaaggcc      1020
aagggccagc caccggagcc ccaggtgtac accctgcccc ccagccggga ggagatgacc      1080
aagaaccagg tgctcctgac ctgtctggtg aagggtctct accccagcga tategccgtg      1140
gagtgaggaga gcaacggcca gcccgagaac aactacaaga cccccccc agtgctggac      1200
agcgacggca gctttcttct gtacagcaag ctgaccgtgg acaagtccag gtggcagcag      1260

```

	ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggccctgc acaaccacta caccagaag	1320
	tccttgagcc tgagccccgg caag	1344
	<210> 91	
	<211> 11	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"	
	<400> 91	
	Ser Gly Asp Asn Leu Gly Gly Tyr Tyr Ala His	
	1 5 10	
	<210> 92	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"	
	<400> 92	
	Asp Lys Ser Asp Arg Pro Ser	
	1 5	
	<210> 93	
[0034]	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"	
	<400> 93	
	Ala Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Met Met Val	
	1 5 10	
	<210> 94	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"	
	<400> 94	
	Asp Asn Leu Gly Gly Tyr Tyr	
	1 5	
	<210> 95	
	<211> 3	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	

<221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
 <400> 95
 Asp Lys Ser
 1
 <210> 96
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
 <400> 96
 Tyr Asp Ser Ser Leu Met Met
 1 5
 <210> 97
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"
 [0035] <400> 97
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Leu Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Leu Gly Gly Tyr Tyr Ala
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Lys Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ala Gln Ala Gly
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Met Met
 85 90 95
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 98
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的多核苷酸"
 <400> 98
 agctacgagc tgactcagcc cctgtcagtg tcagtggccc tgggccagac cgctagaatc 60
 acctgtagcg gcgataacct gggcggtac tacgtcact ggtatcagca gaagcccgcc 120

	caggcccccg tgctggtgat ctacgataag tcagatagac ctagecggaat ccccgagcgg	180
	tttagcggct ctaatagcgg caacacgct accctgacta tctctagggc tcaggccggc	240
	gacgaggccg actactactg cgctagttac gactctagcc tgatgatggt gtccggcgga	300
	ggcactaagc tgaccgtgct g	321
	<210> 99	
	<211> 213	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"	
	<400> 99	
	Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Leu Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln	
	1 5 10 15	
	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Leu Gly Gly Tyr Tyr Ala	
	20 25 30	
	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr	
	35 40 45	
	Asp Lys Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser	
	50 55 60	
	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ala Gln Ala Gly	
	65 70 75 80	
	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Met Met	
	85 90 95	
[0036]	Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala	
	100 105 110	
	Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala	
	115 120 125	
	Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala	
	130 135 140	
	Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val	
	145 150 155 160	
	Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser	
	165 170 175	
	Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr	
	180 185 190	
	Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala	
	195 200 205	
	Pro Thr Glu Cys Ser	
	210	
	<210> 100	
	<211> 639	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多核苷酸"	
	<400> 100	
	agctacgagc tgacteagcc cctgtcagtg tcagtggecc tgggccagac cgctagaatc	60

```

acctgttagcg gcgataacct gggcggtac tacgtcact ggtatcagca gaagcccggc 120
caggcccccgg tgcctggtgat ctacgataag teagatagac ctacgggaat ccccgagcgg 180
tttagcggtct ctaatagcgg caacaccgct accctgacta tctctagggc tcaggccggc 240
gacgaggccg actactactg cgctagttac gactctagcc lgaigatggt gtlcggcgga 300
ggcactaagc tgaccgtgct gggccagcct aaggtgccc ccagcgtgac cctgttcccc 360
cccagcagcg aggagctgca ggccaacaag gccaccctgg tgtgccgat cagcgacttc 420
taeccagcgg cegtgaccgt ggccctggaag gccgacagca gcccctgaa ggccggcgtg 480
gagaccacca ccccagcaa gcagagcaac aacaagtaag ccgccagcag ctacctgagc 540
ctgaccccccg agcagtggaa gagccacagg tectacagct gccaggtgac ccacgagggc 600
agcaccgtgg aaaagaccgt ggccccaacc gagtgcagc 639

```

<210> 101

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 101

Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 102

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

[0037]

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 102

Val Ile Val Pro Lys Trp Gly His Pro Gln Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 103

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 103

Glu Gly Asp Phe Val Val Leu Val Leu Thr Glu His Tyr Met Gly Gly

1 5 10 15

Phe Asp Val

<210> 104

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

[0038]

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
 <400> 104
 Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 1 5
 <210> 105
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
 <400> 105
 Val Pro Lys Trp Gly His
 1 5
 <210> 106
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
 <400> 106
 Glu Gly Asp Phe Val Val Leu Val Leu Thr Glu His Tyr Met Gly Gly
 1 5 10 15
 Phe Asp Val
 <210> 107
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"
 <400> 107
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Val Ile Val Pro Lys Trp Gly His Pro Gln Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
	Ala Arg Glu Gly Asp Phe Val Val Leu Val Leu Thr Glu His Tyr Met	
	100 105 110	
	Gly Gly Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
	115 120 125	
	<210> 108	
	<211> 384	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的	
	多核苷酸"	
	<400> 108	
	cagggtgcagc tgggtgcagtc aggcgcgcgaa gtgaagaac ccggctctag cgtgaaagtg	60
	agctgtaaag ctagtggcgg caccctctct agctacgcta ttagecigggt gagacaggec	120
	ccagccagg gccctggagtg gatgggcgig atcgtgccta agtggggcca cctcaglac	180
	gctcagaaat ttcagggcag agtactatc accgcgcacg agtctactag caccgcctat	240
	atggaactgt ctagectgag atcagaggac accgcctgt actactgcgc tagagaagge	300
	gaattcgtgg tgctgtgtgt gaccgagcac tatatgggcg gcttegacgt gtggggccag	360
	ggcaccctgg tgacagtgtc tagc	384
	<210> 109	
	<211> 458	
	<212> PRT	
[0039]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的	
	多肽"	
	<400> 109	
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser	
	1 5 10 15	
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr	
	20 25 30	
	Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
	35 40 45	
	Gly Val Ile Val Pro Lys Trp Gly His Pro Gln Tyr Ala Gln Lys Phe	
	50 55 60	
	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr	
	65 70 75 80	
	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
	Ala Arg Glu Gly Asp Phe Val Val Leu Val Leu Thr Glu His Tyr Met	
	100 105 110	
	Gly Gly Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
	115 120 125	
	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys	
	130 135 140	
	Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr	
	145 150 155 160	

[0040]

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 165 170 175
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 180 185 190
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 195 200 205
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 210 215 220
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 225 230 235 240
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 245 250 255
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 260 265 270
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 275 280 285
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 290 295 300
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 305 310 315 320
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 325 330 335
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 340 345 350
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 355 360 365
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 370 375 380
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 385 390 395 400
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 405 410 415
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 420 425 430
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 435 440 445
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455

<210> 110

<211> 1374

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 多核苷酸"

<400> 110

caggtgcagc tgggtgcagtc aggcgcgcgaa gtgaagaaac ccggtctctag cgtgaaagtg	60
agctgtaaag ctagtggcggg caccctctct agctacgcta ttagctgggt gagacaggcc	120
ccagccagg gcctggagtg gatggcgctg atcgctgcta agtggggcca cctcagtaac	180
gctcagaaat ttcagggcag agtgactatc accgcgcacg agtctactag caccgcctat	240

```

atggaactgt ctacgctgag atcagaggac accgcegtgt actactgcgc tagagaaggc 300
gacttcgtgg tgctggtgct gaccgagcac tatatgggcg gcttcgacgt gtggggccag 360
ggcaccctgg tgacagtgtc tagcgctagc accaagggcc caagtgtgtt tcccctggcc 420
cccagcagca agtctacttc cggcggaact gctgccctgg gtgcctggt gaaggactac 480
ttccccgagc cegtacaggt gtectggaac tctggggctc tgaattccgg cgtgcacacc 540
ttccccgcgg tgctgcagag cagcgccctg tacagcctga gcagcgtggt gacagtgccc 600
tccagctctc tgggaaccca gacctatata tgcaacgtga accacaagcc cagcaccacc 660
aagttggaca agagagtgga gcccaagagc tgcgacaaga cccacacctg cccccctgc 720
ccagctccag aactgctggg agggccttcc gtgttctgt tccccccaa gcccaaggac 780
acccgatga tcagcaggac ccccgaggcg acctgcgtgg tgglggacgt gtcaccagag 840
gaccagagg tgaagttcaa ctggtaoetg gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc 900
aagcccagag aggagcagta caacagcacc tacagggtgg tgtecggtct gaccgtgctg 960
caccaggact ggctgaacgg caaagaatac aagtgcacaa tctccaacaa ggccctgcca 1020
gccccaatcg aaaagacaat cagcaaggcc aagggccagc caggggagcc ccagggtgtc 1080
acctgcctcc ccagccggga ggagatgacc aagaaccagg tgteccctgac ctgtctggtg 1140
aagggtctct accccagcga tatcgccgtg gactgggaga gcaacggcca gcccgagaac 1200
aactacaaga ccaccccccc agtgcctggc agcgacggca gcttcttct gtacagcaag 1260
ctgaccgtgg acaagtccag gtggcagcag ggeaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac 1320
gaggccctgc acaaccacta caccagaag tccctgagcc tgagccccgg caag 1374

```

<210> 111

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

[0041] <223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"

<400> 111

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asp Glu Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"

<400> 112

Ala Gly Ser Asn Leu Gln Ser

1 5

<210> 113

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"

<400> 113

Leu Gln Gly Tyr Ser Tyr Pro Arg Thr

[0042]

```

1           5
<210> 114
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述：合成的
      肽"
<400> 114
Ser Gln Ser Ile Asp Glu Tyr
1           5
<210> 115
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述：合成的
      肽"
<400> 115
Ala Gly Ser
1
<210> 116
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述：合成的
      肽"
<400> 116
Gly Tyr Ser Tyr Pro Arg
1           5
<210> 117
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述：合成的
      多肽"
<400> 117
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asp Glu Tyr
           20           25           30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
           35           40           45
Tyr Ala Gly Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60

```

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

<210> 118

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"

<400> 118

gatattcaga tgactcagtc acctagtagc ctgagcgcta gtgtgggcga tagagtgact 60
 atcacctgta gaccctetca gtcctatcgac gactacctga actggatatca gcagaagccc 120
 ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc ggcctetaacc tgcagtcagg cgtgccctct 180
 aggttttagcg getcaggttc aggcaccgac ttcacctga ctatctctag cctgcagccc 240
 gaggacttcg ctacctacta ctgctctgcag ggcctatagct acctagaac ctccggccag 300
 ggcactaagg tggagattaa g 321

<210> 119

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的
多肽"

<400> 119

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asp Glu Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Gly Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly Tyr Ser Tyr Pro Arg
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

[0043]

```

                165                170                175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
                180                185                190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
                195                200                205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
                210
<210> 120
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述：合成的
        多核苷酸"
<400> 120
gataatcaga tgactcagtc acctagtagc ctgagcgcta gtgtgggcga tagagtgact      60
atcacctgta gagcctetca gtctategac gagtacctga actgggtatca gcagaagccc      120
ggcaaggccc ctaagctget gatctacgcc ggetctaacc tgcagtcagg cgtgcectct      180
aggttttagcg getcaggetc aggeaccgac ttcacctga ctatctctag cctgcagccc      240
gaggactteg ctacctacta ctgtctgcag ggetatagct acctagaac cttcggccag      300
ggcactaagg tggagattaa gcgtacggtg gccgctccca gcgtgttcac cttccccccc      360
agcgacgagc agctgaagag cggcaaccgc agcgtgggtg gcctgctgaa caacttctac      420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag      480
gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc      540
[0044] ctgagcaagg ccgactacga gaagcataag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc      600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc                          642
<210> 121
<211> 390
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 121
Met Pro Pro Ser Gly Leu Arg Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu
1                5                10                15
Trp Leu Leu Val Leu Thr Pro Gly Arg Pro Ala Ala Gly Leu Ser Thr
                20                25                30
Cys Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg Ile Glu Ala
                35                40                45
Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser Pro Pro Ser
                50                55                60
Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val Leu Ala Leu
65                70                75                80
Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala Glu Pro Glu
                85                90                95
Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr Arg Val Leu
                100                105                110
Met Val Glu Thr His Asn Glu Ile Tyr Asp Lys Phe Lys Gln Ser Thr
                115                120                125
His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Glu Leu Arg Glu Ala Val
                130                135                140
Pro Glu Pro Val Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu Leu Arg Leu

```

```

145          150          155          160
Lys Leu Lys Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys Tyr Ser Asn
          165          170          175
Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Ser Asn Arg Leu Leu Ala Pro Ser Asp Ser
          180          185          190
Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg Gln Trp Leu
          195          200          205
Ser Arg Gly Gly Glu Ile Glu Gly Phe Arg Leu Ser Ala His Cys Ser
          210          215          220
Cys Asp Ser Arg Asp Asn Thr Leu Gln Val Asp Ile Asn Gly Phe Thr
225          230          235          240
Thr Gly Arg Arg Gly Asp Leu Ala Thr Ile His Gly Met Asn Arg Pro
          245          250          255
Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln His Leu Gln
          260          265          270
Ser Ser Arg His Arg Arg Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe Ser Ser
          275          280          285
Thr Glu Lys Asn Cys Cys Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp Phe Arg Lys
          290          295          300
Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr His Ala Asn
305          310          315          320
Phe Cys Leu Gly Pro Cys Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp Thr Gln Tyr
          325          330          335
Ser Lys Val Leu Ala Leu Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly Ala Ser Ala
          340          345          350
[0045] Ala Pro Cys Cys Val Pro Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro Ile Val Tyr
          355          360          365
Tyr Val Gly Arg Lys Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met Ile Val
          370          375          380
Arg Ser Cys Lys Cys Ser
385          390
<210> 122
<211> 414
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 122
Met His Tyr Cys Val Leu Ser Ala Phe Leu Ile Leu His Leu Val Thr
1          5          10          15
Val Ala Leu Ser Leu Ser Thr Cys Ser Thr Leu Asp Met Asp Gln Phe
          20          25          30
Met Arg Lys Arg Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu
          35          40          45
Lys Leu Thr Ser Pro Pro Glu Asp Tyr Pro Glu Pro Glu Glu Val Pro
          50          55          60
Pro Glu Val Ile Ser Ile Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Leu Leu Gln Glu
65          70          75          80
Lys Ala Ser Arg Arg Ala Ala Ala Cys Glu Arg Glu Arg Ser Asp Glu
          85          90          95
Glu Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Tyr Lys Ile Asp Met Pro Pro Phe Phe
          100          105          110
Pro Ser Glu Asn Ala Ile Pro Pro Thr Phe Tyr Arg Pro Tyr Phe Arg

```


	115	120	125
	Ile Val Arg Phe Asp Val Ser Ala Met Glu Lys Asn Ala Ser Asn Leu		
	130	135	140
	Val Lys Ala Glu Phe Arg Val Phe Arg Leu Gln Asn Pro Lys Ala Arg		
	145	150	155
	Val Pro Glu Gln Arg Ile Glu Leu Tyr Gln Ile Leu Lys Ser Lys Asp		160
	165	170	175
	Leu Thr Ser Pro Thr Gln Arg Tyr Ile Asp Ser Lys Val Val Lys Thr		
	180	185	190
	Arg Ala Glu Gly Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Asp Ala Val His		
	195	200	205
	Glu Trp Leu His His Lys Asp Arg Asn Leu Gly Phe Lys Ile Ser Leu		
	210	215	220
	His Cys Pro Cys Cys Thr Phe Val Pro Ser Asn Asn Tyr Ile Ile Pro		
	225	230	235
	Asn Lys Ser Glu Glu Leu Glu Ala Arg Phe Ala Gly Ile Asp Gly Thr		240
	245	250	255
	Ser Thr Tyr Thr Ser Gly Asp Gln Lys Thr Ile Lys Ser Thr Arg Lys		
	260	265	270
	Lys Asn Ser Gly Lys Thr Pro His Leu Leu Leu Met Leu Leu Pro Ser		
	275	280	285
	Tyr Arg Leu Glu Ser Gln Gln Thr Asn Arg Arg Lys Lys Arg Ala Leu		
	290	295	300
	Asp Ala Ala Tyr Cys Phe Arg Asn Val Gln Asp Asn Cys Cys Leu Arg		
	305	310	315
[0046]	Pro Leu Tyr Ile Asp Phe Lys Arg Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His		320
	325	330	335
	Glu Pro Lys Gly Tyr Asn Ala Asn Phe Cys Ala Gly Ala Cys Pro Tyr		
	340	345	350
	Leu Trp Ser Ser Asp Thr Gln His Ser Arg Val Leu Ser Leu Tyr Asn		
	355	360	365
	Thr Ile Asn Pro Glu Ala Ser Ala Ser Pro Cys Cys Val Ser Gln Asp		
	370	375	380
	Leu Glu Pro Leu Thr Ile Leu Tyr Tyr Ile Gly Lys Thr Pro Lys Ile		
	385	390	395
	Glu Gln Leu Ser Asn Met Ile Val Lys Ser Cys Lys Cys Ser		400
	405	410	
	<210> 123		
	<211> 412		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 123		
	Met Lys Met His Leu Gln Arg Ala Leu Val Val Leu Ala Leu Leu Asn		
	1	5	10
	Phe Ala Thr Val Ser Leu Ser Leu Ser Thr Cys Thr Thr Leu Asp Phe		15
	20	25	30
	Gly His Ile Lys Lys Lys Arg Val Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu		
	35	40	45
	Ser Lys Leu Arg Leu Thr Ser Pro Pro Glu Pro Thr Val Met Thr His		
	50	55	60

[0047]

```

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

Ser Ala Asp Thr Thr His Ser Thr Val Leu Gly Leu Tyr Asn Thr Leu
355            360            365
Asn Pro Glu Ala Ser Ala Ser Pro Cys Cys Val Pro Gln Asp Leu Glu
370            375            380
Pro Leu Thr Ile Leu Tyr Tyr Val Gly Arg Thr Pro Lys Val Glu Gln
385            390            395            400
Leu Ser Asn Met Val Val Lys Ser Cys Lys Cys Ser
405            410

```

<210> 124

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 124
Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr Tyr Val Ala
1 5 10
<210> 125
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 125
Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr Tyr Val Ala
1 5 10
<210> 126
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
[0048] <400> 126
Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr Trp Ile Ala
1 5 10
<210> 127
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 127
Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly
1 5 10
<210> 128
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 128
Gly Tyr Ser Phe Thr Arg Tyr Tyr Val Ala
1 5 10
<210> 129

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 129
Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5 10
<210> 130
<400> 130
000
<210> 131
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 131
Asn Ser Gly Asn
1
[0049] <210> 132
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 132
Gly Ser Gly Thr
1
<210> 133
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 133
Thr Tyr Trp Met His
1 5
<210> 134
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 134
Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Asn

<210> 135
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 135
Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr
1 5

<210> 136
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0050] <221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 136
Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
1 5

<210> 137
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 137
Tyr Pro Gly Thr Gly Gly
1 5

<210> 138
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"

<400> 138
 Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr
 1 5
 <210> 139
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"
 <400> 139
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asn Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 140
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的多核苷酸"
 <400> 140
 gaggtgcagc tgggtgcagtc aggcgcgcgaa gtgaagaagc ccggcgagtc actgagaatt 60
 agctgtaaag gttcaggcta caccitcact acctactgga tgcactgggt ccgccagget 120
 accggteaag gccctcgagtg gatgggtaat atetaccccg gcaccggcgg ctetaaette 180
 gacgagaagt ttaagaatag agtgaetate accgccgata agtctactag caccgcctat 240
 atggaactgt ctagcctgag atcagaggac accgccgtct actactgcac taggtggact 300
 accggcacag gcgcctactg gggteaaggc actaccgtga ccgtgtctag c 351
 <210> 141
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

[0051]

<400> 141
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asn Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 [0052] Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 225 230 235 240
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 245 250 255
 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
 260 265 270
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 275 280 285
 Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 290 295 300
 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 305 310 315 320
 Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 325 330 335
 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
 340 345 350
 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 355 360 365
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 370 375 380
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 385 390 395 400

	Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu	
	405 410 415	
	Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His	
	420 425 430	
	Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly	
	435 440	
	<210> 142	
	<211> 1329	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的	
	多核苷酸"	
	<400> 142	
	gagggtgcagc tgggtgcagtc aggcgcgcgaa gtgaagaagc ccggcgagtc actgagaatt 60	
	agetgtaaag gttcaggeta cacccttact acctactgga tgcactgggt ccgccagget 120	
	accgggtcaag gcctcgagtg gatgggtaat atctaccccg gcaccggcgg ctctaacttc 180	
	gacgagaagt ttaagaatag agtgactatc accgcgcgata agtctactag caccgcctat 240	
	atggaactgt ctagectgag atcagaggac accgcgcgtct actactgcac taggtggact 300	
	accggcacag gcgcctactg gggtcgaaggc actaccgtga cegtgtctag cgctageact 360	
	aagggcccggt cegtgttccc cctggcacct tgtagccgga gcactagcga atccaccgt 420	
	gcctctgggt gcctgggtcaa ggattacttc ccggagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480	
	ggagccctga cctccggagt gcacaccttc cccgtgtgtc tgcagagctc cgggctgtac 540	
[0053]	tcgtgtgtgt cgggtgtcac ggtgccttca tctagcctgg gtaccaagac ctacacttgc 600	
	aacgtggacc acaagccttc caacactaag gtggacaagc gcgtcgaatc gaagtacggc 660	
	ccaccgtgcc cgccttgtec ccgcgccggag ttctctggcg gtccctcgggt ctttctgttc 720	
	ccaccgaagc ccaaggacac ttigtatgatt tccgcaccc ctgaagtgac atgcgtggtc 780	
	gtggacgtgt cacaggaaga tccggaggtg cagttcaatt ggtacgtgga tggcgtcgag 840	
	gtgcacaacg ccaaaaccaa gccgagggag gagcagttca actccactta ccgcgtcgtg 900	
	tccgtgtctga cgggtgtgca tcaggactgg ctgaacggga aggagtacaa gtgcaaagtg 960	
	tccaacaagg gacttcttag ctcaatcgaa aagaccatct cgaaagccaa gggacagccc 1020	
	cgggaacccc aagtgtatac cctgccaccg agccaggaag aaatgactaa gaaccaagtc 1080	
	tcattgactt gccttgtgaa gggctttctac ccacggata tcgcctgga atgggagtc 1140	
	aacggccagc cggaaaacaa ctacaagacc acccctccgg tgcctggactc agacggatcc 1200	
	ttcttctct actcgcggct gaccgtggat aagagcagat ggcaggaggg aaatgtgttc 1260	
	agetgtttctg tgatgcataa agccctgcac aaccactaca ctcagaagtc cctgtccctc 1320	
	tccctggga 1329	
	<210> 143	
	<211> 17	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的	
	肽"	
	<400> 143	
	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu	
	1 5 10 15	
	Thr	

<210> 144
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 144
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5
<210> 145
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 145
Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 146
<211> 13
<212> PRT
[0054] <213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 146
Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Phe
1 5 10
<210> 147
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 147
Trp Ala Ser
1
<210> 148
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

肽”

<400> 148
 Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr
 1 5
 <210> 149
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释=“人工序列的描述：合成的
 多肽”

<400> 149
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 35 40 45
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 [0055] Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110
 Lys

<210> 150
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释=“人工序列的描述：合成的
 多核苷酸”

<400> 150
 gagatcgtcc tgactcagtc acccgctacc ctgagcctga gccctggcga gegggtaca 60
 ctgagctgta aatctagtea gtcactgetg gatageggta atcagaagaa cttectgacc 120
 tggatcagc agaagcccg taaagccct aagctgetga tctactgggc ctctactaga 180
 gaatcaggcg tgcctcttag gtttagcggg agcggtagtg gcaccgacit caccttcaact 240
 atctctagcc tgcagcccga ggatacgcct acctactact gtcagaacga ctatagctac 300
 ccctacacct tcggtcaagg cactaaggtc gagattaag 339

<210> 151
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释=“人工序列的描述：合成的

多肽”

<400> 151

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 35 40 45
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110
 Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 115 120 125
 Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 130 135 140
 Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 145 150 155 160
 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 165 170 175
 Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 180 185 190
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 195 200 205
 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215 220

[0056]

<210> 152

<211> 660

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释=“人工序列的描述：合成的
 多核苷酸”

<400> 152

gagatcgtec tgactcagtc acccgetacc ctgagcciga gccctggcga gcgggctaca 60
 ctgagctgta aatctagtea gtcactgctg gatagcggta atcagaagaa ctccctgacc 120
 tggatcagc agaagcccg taaagccct aagctgctga tctactgggc ctctactaga 180
 gaateaggcg tgccctetag gtttagcgg agcggtagtg gcaccgactt caccttcaact 240
 atctctagcc tgcagcccg gatatcgct acctactact gtcagaacga ctatagctac 300
 cctacacct tcggtcaagg cactaaggtc gagattaagc gtacgggtggc cgtcccagc 360
 ggttcatet tccccccag cgacgagcag ctgaagagcg gcaccgccag cgtgggtgtgc 420
 ctgtgaaca actttetacc cggggaggcc aaggtgcagt ggaagggtgga caacgcctg 480
 cagagcggca acagccagga gagegtcacc gagcaggaca gcaaggactc cacctacagc 540
 ctgagcagca cctgaccct gagcaaggcc gactacgaga agcataaggt gtacgcctgc 600
 gaggtgaccc accaggcct gtccagcccc gtgaccaaga gcttcaacag gggcgagtgc 660

<210> 153

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 153
Thr Tyr Trp Met His
1 5
<210> 154
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 154
Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asn

[0057] <210> 155
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 155
Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr
1 5
<210> 156
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 156
Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
1 5
<210> 157
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

[0058]

<221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"
 <400> 157
 Tyr Pro Gly Thr Gly Gly
 1 5
 <210> 158
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的肽"
 <400> 158
 Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr
 1 5
 <210> 159
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"
 <400> 159
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asn Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 160
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的多核苷酸"

<400> 160		
gaggtgcagc tggatgcagtc aggcgcgcgaa gtgaagaagc ccggcgagtc actgagaatt		60
agctgtaaaag gttcaggcta cacccttcaact acctactgga tgcactgggt ccgccaggct		120
accggtcaag gcctcgagtg gatgggtaat atctaccgag gcaccggcgg ctctaacctc		180
gaagagaagt ttaagaatag agtgactatc accgcccata agtctactag caccgcctat		240
atggaactgt ctagccctgag atcagaggac accgcccgtc actactgcac taggtggact		300
accggcacag gcgcctactg gggtaagga actaccgtga ccgtgtctag c		351
<210> 161		
<211> 443		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"		
<400> 161		
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu		
1 5 10 15		
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr		
20 25 30		
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35 40 45		
Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Gly Gly Ser Asn Phe Asp Glu Lys Phe		
50 55 60		
Lys Asn Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
65 70 75 80		
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85 90 95		
Thr Arg Trp Thr Thr Gly Thr Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr		
100 105 110		
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu		
115 120 125		
Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys		
130 135 140		
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser		
145 150 155 160		
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
165 170 175		
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		
180 185 190		
Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn		
195 200 205		
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro		
210 215 220		
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe		
225 230 235 240		
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val		
245 250 255		
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe		
260 265 270		
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro		

[0059]

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

<210> 162

<211> 1329

<212> DNA

<213> 人工序列

[0060]

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的多核苷酸"

<400> 162

gaggatgcagc tggatgcagtc aggcgcgcgaa gtgaagaagc ccggcgcagtc actgagaatt	60
agctgtaaaag gttcaggcta cactttcaact acctactgga tgcactgggt ccgccagget	120
accggatcaag gcctcgagtg gatgggtaat atctaccccg gcaccggcgg ctctaaattc	180
gacgagaagt ttaagaatag agtgactatc accgccgata agtctactag caccgcctat	240
atggaactgt ctagcctgag atcagaggac accgccgtct actactgcac taggtggact	300
accggcacag gcgcctactg gggteaaggc actaccgtga ccgtgtctag cgttagcaat	360
aaggggccgt ccgtgttccc cctggcacct tctagccgga gcactagcga atccaccgt	420
gccctcgggt gcctgggtaa ggattacttc ccggagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc	480
ggagccctga cctccggagt gcacaccttc ccgcgtgtgc tgcagagctc cgggctgtac	540
tcgtgtgtgt cgggtgtcac ggtgccttca tctagcctgg gtaccaagac ctacacttgc	600
aacgtggacc acaagccttc caacactaag gtggacaagc gcgtcgaatc gaagtacggc	660
ccaccgtgcc cgccttgttc cgcgcgggag ttccctggcg gtccctcggg ctttctgttc	720
ccaccgaagc ccaaggacac ttgatgatt tcccgcaccc ctgaagtgtc atgcgtggtc	780
gtggacgtgt cacaggaaga tccggagggt cagtccaatt ggtacgtgga tggcgtcgag	840
gtgcacaacg ccaaaaccaa gccgagggag gacaggttca actccactta ccgcgtcgtg	900
tccgtgtctga cgggtgtgca tcaggactgg ctgaacggga aggagtacaa gtgcaaatgt	960
tccaacaagg gacttcctag ctcaatcgaa aagaccatct cgaaagccaa gggacagccc	1020
cgggaacccc aagtgatata cctgccaccg agccagggaag aaatgactaa gaaccaagtc	1080
tcattgactt gcctttgtga gggtttctac ccacgggata tcgccgtgga atgggagttc	1140
aacggccagc cggaaacaaa ctacaagacc acccctccgg tgcgtgactc agacggatcc	1200
ttcttctctt actcgcgggt gaccgtggat aagagcagat ggcaggaggg aaatgtgttc	1260

	agctgtttctg tgaatcatga agccctgcac aaccactaca ctcagaagtc cctgtccctc	1320
	tccttgga	1329
	<210> 163	
	<211> 17	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"	
	<400> 163	
	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu	
	1 5 10 15	
	Thr	
	<210> 164	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"	
	<400> 164	
	Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser	
[0061]	1 5	
	<210> 165	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"	
	<400> 165	
	Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr	
	1 5	
	<210> 166	
	<211> 13	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"	
	<400> 166	
	Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Gly Asn Gln Lys Asn Phe	
	1 5 10	
	<210> 167	
	<211> 3	
	<212> PRT	

<213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
 <400> 167
 Trp Ala Ser
 1
 <210> 168
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
 <400> 168
 Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr
 1 5
 <210> 169
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 [0062] <223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"
 <400> 169
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110
 Lys
 <210> 170
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的

多核苷酸”

<400> 170
 gagatgctcc tgactcagtc acccgetacc ctgagcctga gccctggcga gcgggetaca 60
 ctgagctgta aatctagtea gtcactgctg gatagcggta atcagaagaa ctctctgacc 120
 tgggtatcagc agaagcccgg tcaagcccct agactgctga tctactgggc ctctactaga 180
 gaatcaggcg tgcctctag gtttagcggt agcggtagtg gcaecgactt cacccttact 240
 atctctagcc tgggaagccga ggacgcctgt acctactact gtcagaacga ctatagctac 300
 cctacaact tcggtcaagg cactaaggtc gagattaag 339

<210> 171

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释=“人工序列的描述：合成的
 多肽”

<400> 171

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 [0063] Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110
 Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 115 120 125
 Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 130 135 140
 Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 145 150 155 160
 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 165 170 175
 Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215 220

<210> 172

<211> 660

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的 多核苷酸"	
	<400> 172	
	gagatcgtec tgactcagtc acccgctacc ctgagcctga gccctggcga gcgggctaca	60
	ctgagctgta aatctagtea gtcactgctg gatagcggta atcagaagaa cttectgacc	120
	tggtatcagc agaagcccg tcaagcccct agactgctga tctactgggc ctctactaga	180
	gaatcaggcg tgcctctag gtttagcggt agcggtagtg gcaccgactt caccttcact	240
	atctctagcc tgggaagcga ggacgcgct acctactact gtcagaacga ctatagctac	300
	ccctacacct tcggtaagg cactaaggtc gagattaage gtaegggtgc cgtcccage	360
	gtgttcattt tccccccag cgacgagcag ctgaagagcg gcaccgccag cgtggtgtgc	420
	ctgctgaaca acttctacc ccgggagggc aagggtcagt ggaagggtga caacgcctg	480
	cagagcggca acagccagga gagcgtaacc gagcaggaca gcaaggactc cacctacagc	540
	ctgagcagca cctgacct gagcaaggcc gactacgaga agcataaggt gtacgcctgc	600
	gaggtgacc accagggcct gtccagcccc gtgaccaaga gcttcaacag gggcgagtgc	660
	<210> 173	
	<211> 15	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的 寡核苷酸"	
	<400> 173	
	acctactgga tgcac	15
[0064]	<210> 174	
	<211> 51	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的 寡核苷酸"	
	<400> 174	
	aatatctacc ccggcaccgg cggtcttaac ttgcagcaga agtttaagaa t	51
	<210> 175	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的 寡核苷酸"	
	<400> 175	
	tgactaccg gcacaggcgc ctac	24
	<210> 176	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	

	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 176	
	ggetacacct tcactacctt c	21
	<210> 177	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 177	
	taccccgga cggcggc	18
	<210> 178	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 178	
	tggactaccg gcacaggcgc ctac	24
	<210> 179	
[0065]	<211> 51	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 179	
	aaatctagtc agtcactgct ggatagcggt aatcagaaga acttcctgac c	51
	<210> 180	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 180	
	tgggcctcta ctagagaatc a	21
	<210> 181	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	

[0066]	寡核苷酸”	
	<400> 181	
	cagaacgact atagctaccc ctacacc	27
	<210> 182	
	<211> 39	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释=“人工序列的描述: 合成的寡核苷酸”	
	<400> 182	
	agtcagtcac tgctggatag cggtaatcag aagaacttc	39
	<210> 183	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释=“人工序列的描述: 合成的寡核苷酸”	
	<400> 183	
	tgggcctct	9
	<210> 184	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释=“人工序列的描述: 合成的寡核苷酸”	
	<400> 184	
	gactataget acccctac	18
	<210> 185	
	<211> 15	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释=“人工序列的描述: 合成的寡核苷酸”	
	<400> 185	
	acctactgga tgcac	15
	<210> 186	
	<211> 51	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释=“人工序列的描述: 合成的寡核苷酸”	

	<400> 186	
	aatatctacc cggcaccgg cggtctaac ttgcacgaga agtttaagaa t	51
	<210> 187	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 187	
	tggaactaccg gcacaggcgc ctac	24
	<210> 188	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 188	
	ggetacacct tcactaccta c	21
	<210> 189	
	<211> 18	
	<212> DNA	
[0067]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 189	
	taccccgga cggcggc	18
	<210> 190	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 190	
	tggaactaccg gcacaggcgc ctac	24
	<210> 191	
	<211> 51	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 191	

	aaatctagtc agtcactgct ggatagcggg aatcagaaga acttcctgac c	51
	<210> 192	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 192	
	tgggcctcta ctagagaatc a	21
	<210> 193	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 193	
	cagaacgact atagctaccc ctacacc	27
	<210> 194	
	<211> 39	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0068]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 194	
	agtcagtcac tgctggatag cggtaatcag aagaacttc	39
	<210> 195	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 195	
	tgggcctct	9
	<210> 196	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
	<400> 196	
	gactatagct acccctac	18

<210> 197
 <211> 440
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"
 <400> 197
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 100 105 110
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
 115 120 125
 [0069] Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
 130 135 140
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
 145 150 155 160
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
 165 170 175
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
 180 185 190
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
 195 200 205
 Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 210 215 220
 Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 225 230 235 240
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 245 250 255
 Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
 260 265 270
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 275 280 285
 Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 290 295 300
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
 305 310 315 320
 Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 325 330 335


```

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
      340                      345                      350
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
      355                      360                      365
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
      370                      375                      380
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
      385                      390                      395                      400
Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
      405                      410                      415
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
      420                      425                      430
Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
      435                      440
<210> 198
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述：合成的
      多肽"
<400> 198
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1          5          10          15
[0070] Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
      20          25          30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
      35          40          45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
      50          55          60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
      65          70          75          80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg
      85          90          95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
      100         105         110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
      115         120         125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
      130         135         140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
      145         150         155         160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
      165         170         175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
      180         185         190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
      195         200         205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
      210

```

<210> 199
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"
 <400> 199
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 [0071] Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

```

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
      340              345              350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
      355              360              365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
      370              375              380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385              390              395              400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
      405              410              415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
      420              425              430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
      435              440              445
<210> 200
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述：合成的
      多肽"
<400> 200
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1              5              10              15
[0072] Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser
      20              25              30
Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
      35              40              45
Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
      50              55              60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65              70              75              80
Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
      85              90              95
Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
      100             105             110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
      115             120             125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
      130             135             140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145             150             155             160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
      165             170             175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
      180             185             190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
      195             200             205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
      210             215

```

<210> 201
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"
 <400> 201
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Asp Ser Gly Glu Ser Thr Tyr Ala Glu Glu Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Thr Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Gly Met Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Val Arg Val Gly Tyr Asp Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 [0073] Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 202
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 多肽"
 <400> 202
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 [0074] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Arg Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
 35 40 45
 Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Cys Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro Glu
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Phe Pro Leu Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 203
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 203
Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Trp Met His
1 5 10
[0075]
<210> 204
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
6xHis tag"
<400> 204
His His His His His His
1 5

通过 SET 测量确定 K_d (MOR13436)

通过 SET 确定 K_D (10CBE25):
MOR13436 在 hTGF- β 2 上

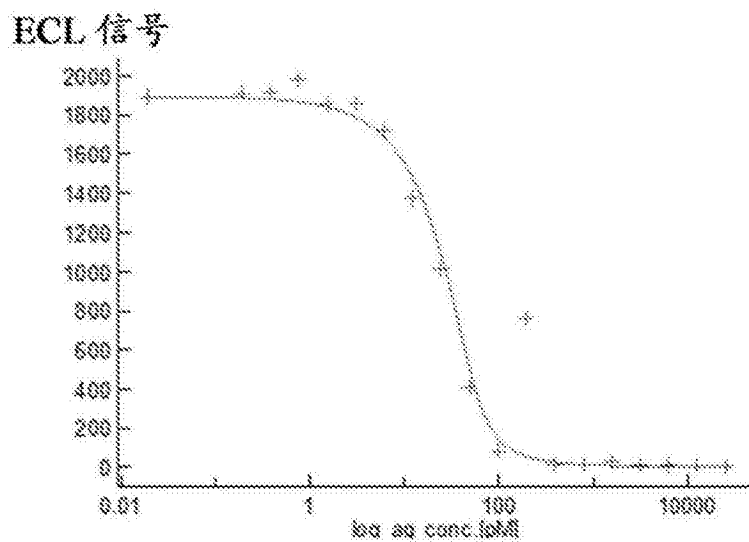
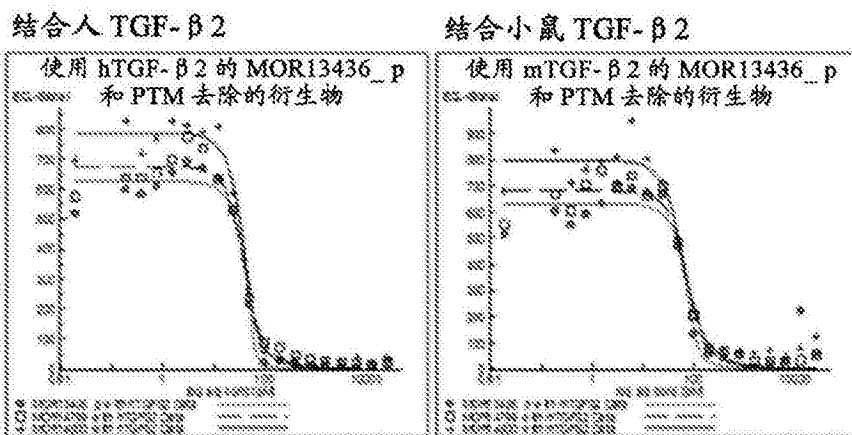


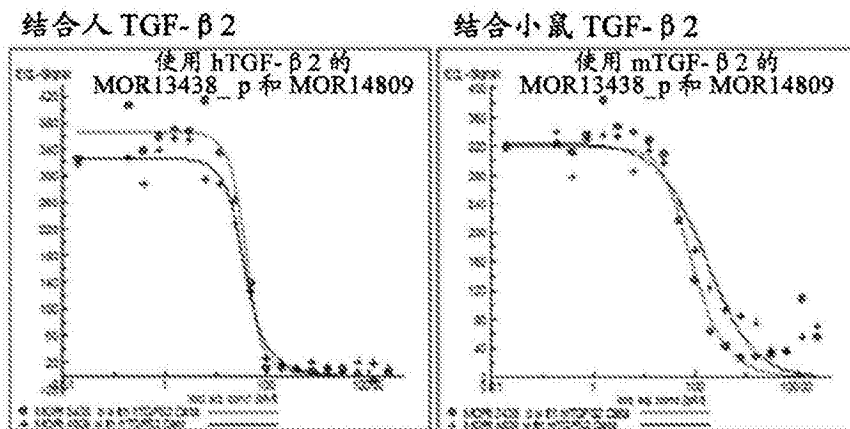
图1

通过 SET 测量确定 K_D (种系化的 /PTM 去除的)

SET (13CBE18): MOR14799 和 MOR14800 与亲本 Ab MOR13436 比较



SET (13CBE18): MOR14809 与亲本 Ab MOR13438 比较



SET (13CBE17): MOR14797 与亲本 Ab MOR12773 比较

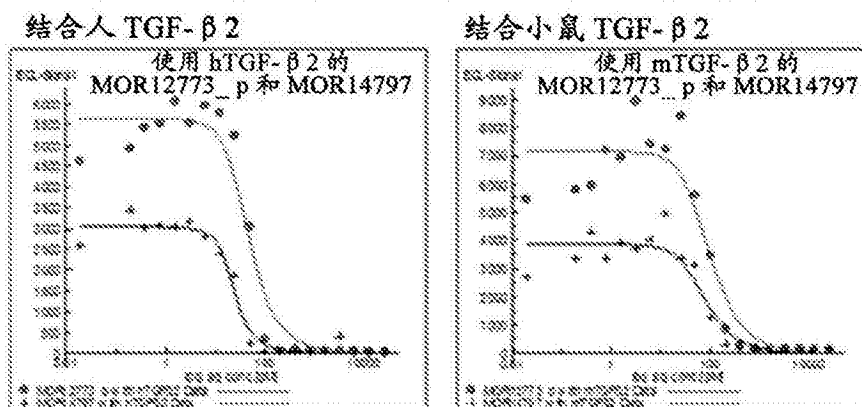


图2

通过 RGA 活性的生物学活性和同种型特异性 (MOR13436)

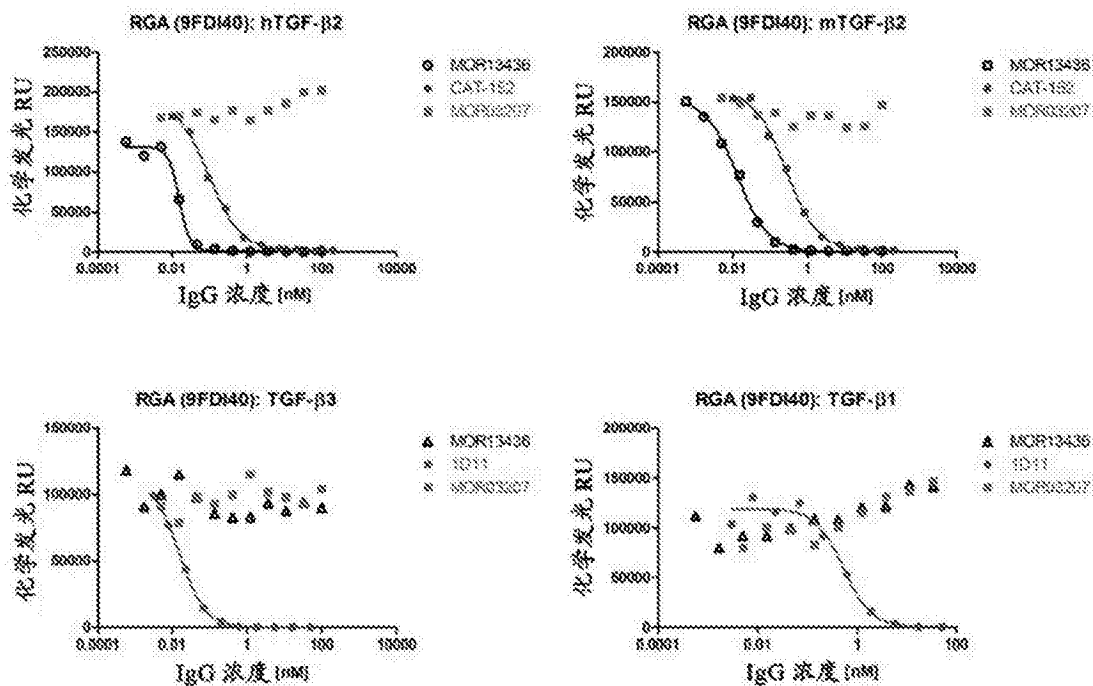


图3

通过 RGA 活性的生物学活性和同种型特异性
(种系化的 /PTM 去除的)

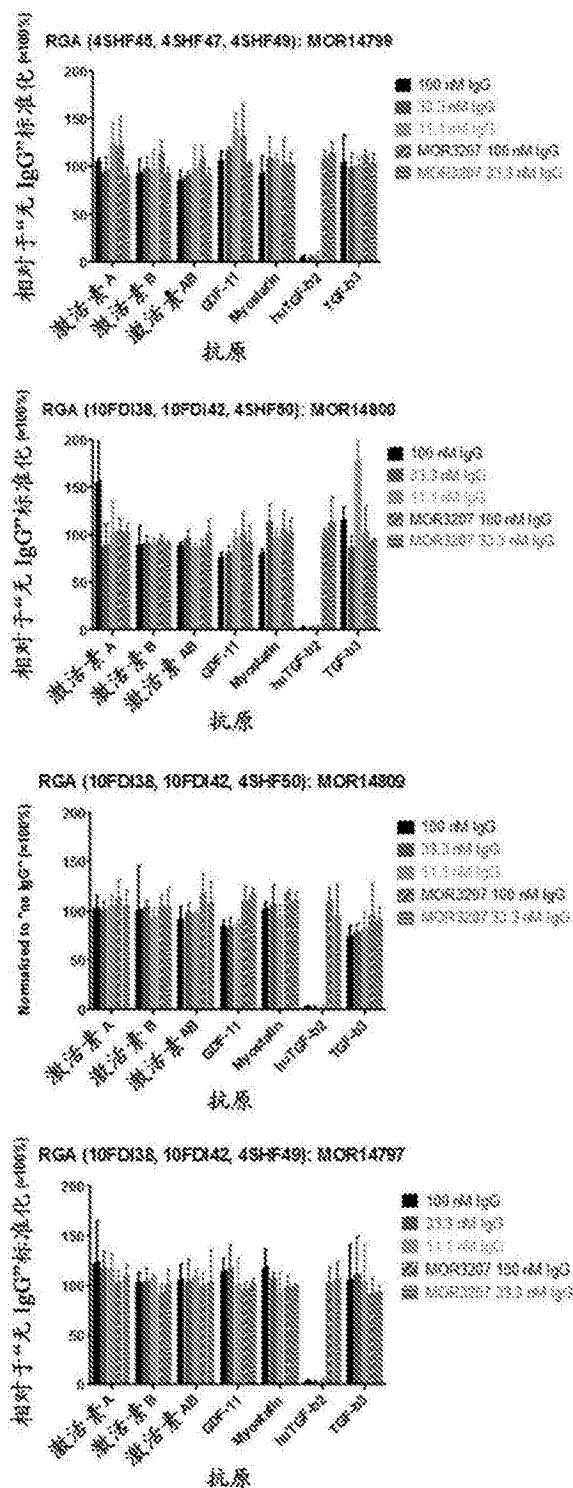


图4

通过抵抗 skMC 分化的生物学活性和选择性

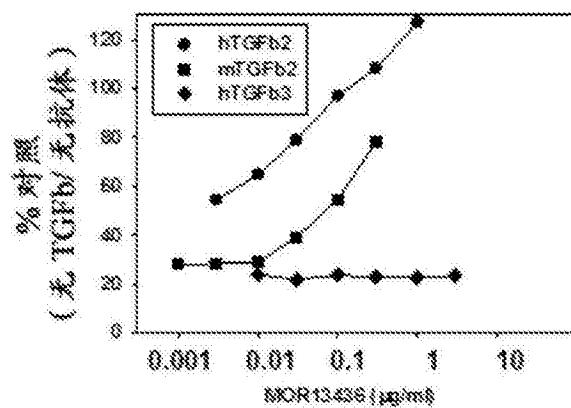


图5

通过抵抗 skMC 分化的生物学活性和选择性

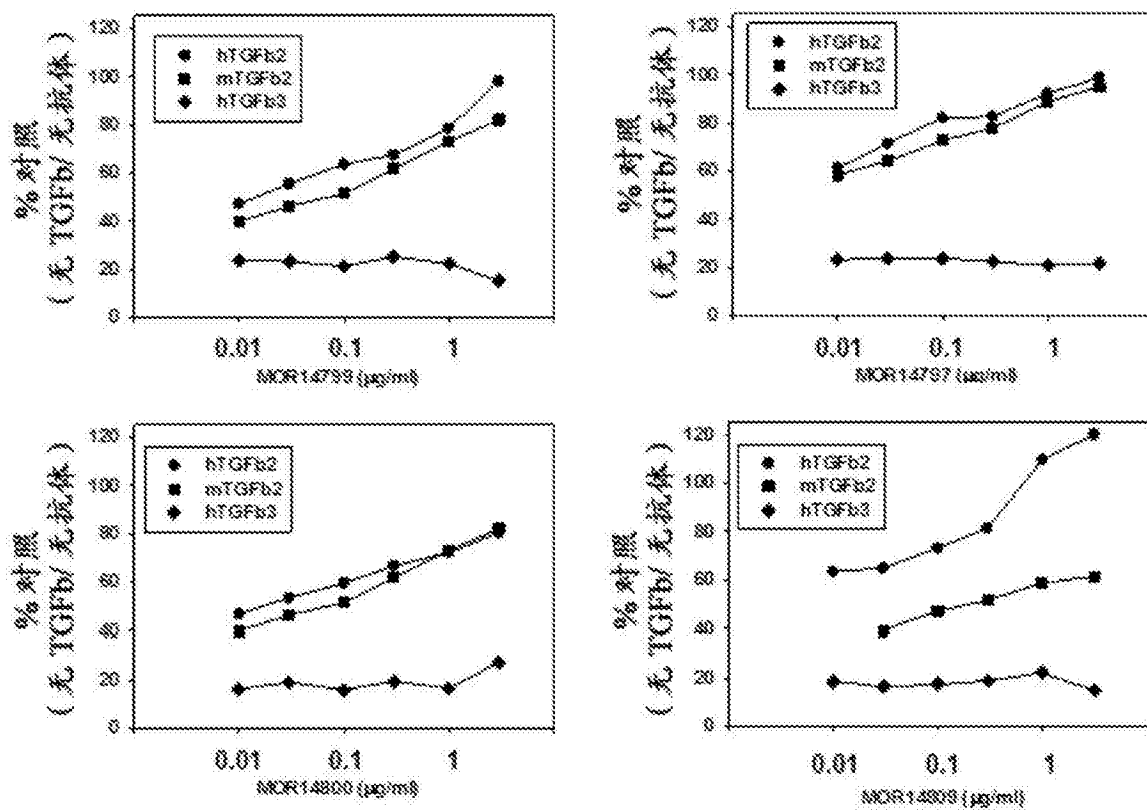


图6

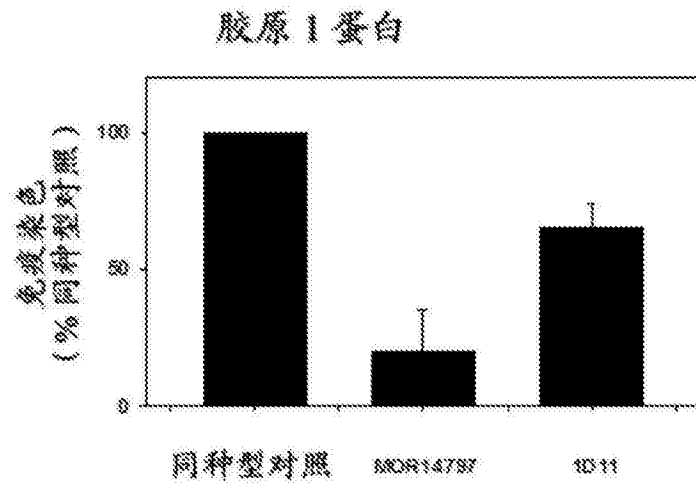
Dupuytren 患者培养物中在胶原 1 蛋白上的生物学活性

图7

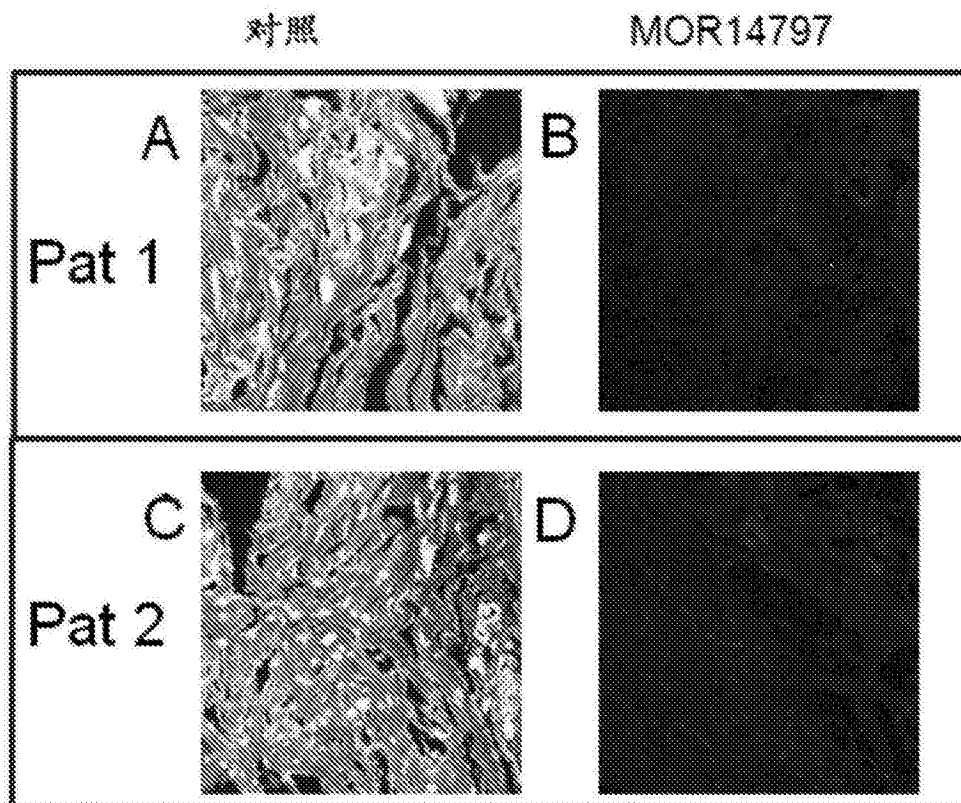
Dupuytren 患者培养物中在胶原 1 蛋白上的生物学活性

图8

单侧输尿管梗阻 (UVO) 中的生物学活性

胶原蛋白 1 (Col1A1) mRNA

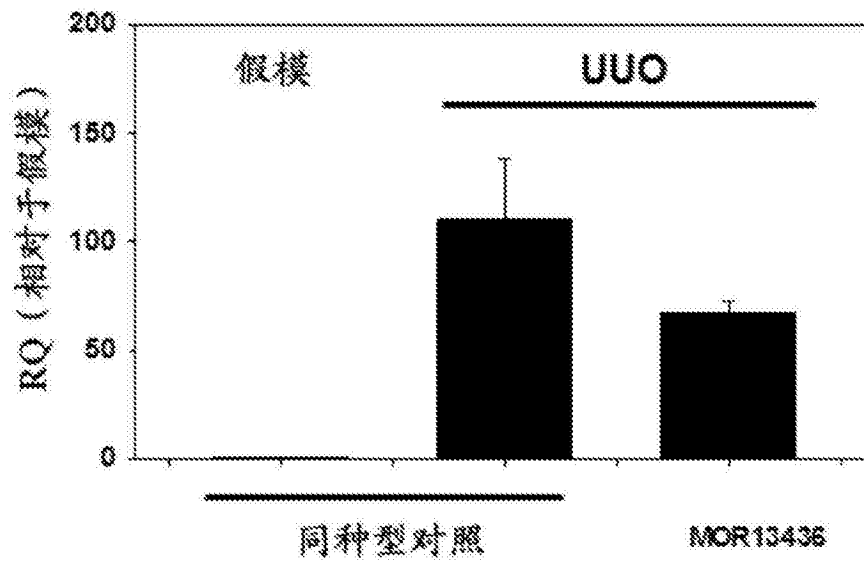


图9

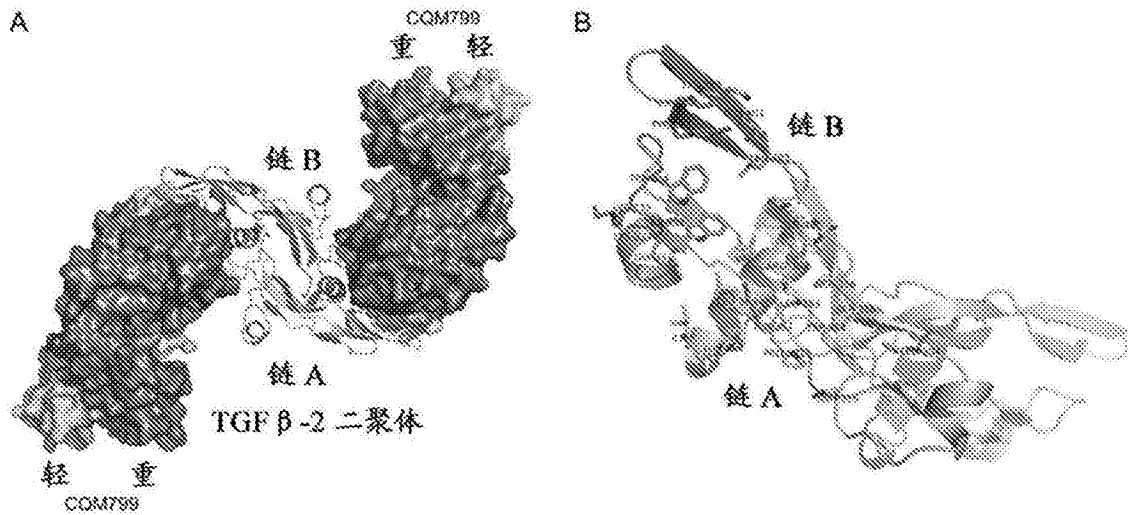
结合 TGF β -2 的 MOR14797 的表位

图10

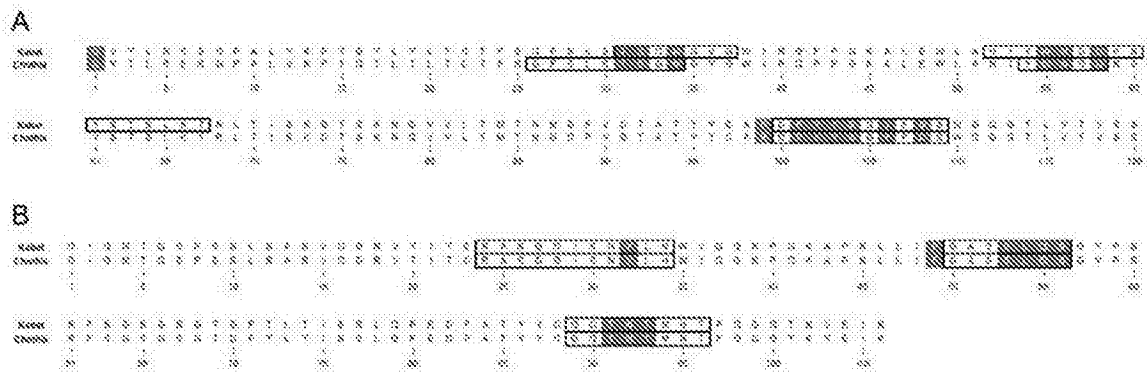
结合 TGF β -2 的 MOR14797 的互补位

图11